



Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

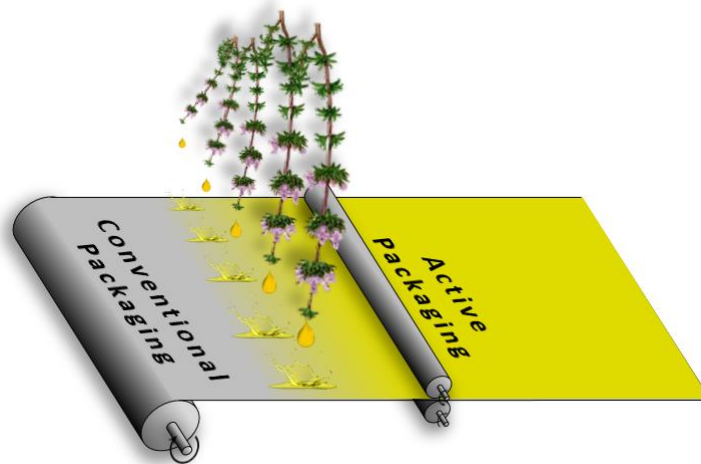
Σχολή Χημικών Μηχανικών

Τομέας IV: Σύνθεση και Ανάπτυξη Βιομηχανικών Διαδικασιών

Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων

Διδακτορική Διατριβή

Μελέτη δράσης φυσικών αντιοξειδωτικών σε συστήματα τροφίμων και ενεργό ή βρώσιμη συσκευασία



Χουλιτούδη Ευανθία

Αθήνα 2022

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή: Βασιλική Ωραιοπούλου, καθηγήτρια ΕΜΠ
Κωνσταντίνα Τζιά, καθηγήτρια ΕΜΠ
Πέτρος Ταούκης, καθηγητής ΕΜΠ

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ανωτάτη Σχολή Χημικών Μηχανικών του Ε.Μ.Πολυτεχνείου δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα. (Ν. 5343/1932, Άρθρο 202).

Στην οικογένειά μου

Πρόλογος

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Με την ολοκλήρωση της εργασίας αυτής θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους όσους συνέβαλαν και βοήθησαν στην ολοκλήρωσή της. Καταρχάς θα ήθελα να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια και επιβλέπουσα κα. Βασιλική Ωραιοπούλου, που μου ανέθεσε το θέμα και ανέλαβε την εποπτεία διεξαγωγής της έρευνας. Επίσης, την ευχαριστώ για τη διαθεσιμότητα, την προθυμία και την αμέριστη συμπαράστασή της, καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής των εργασιών μου. Οι πολύτιμες συμβουλές της ήταν καθοριστικές για τη διαμόρφωση και ολοκλήρωση της μελέτης μου.

Δεν θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια κα. Κωνσταντίνα Τζιά, η οποία ήταν πάντοτε πρόθυμη να συζητήσουμε θέματα που αφορούσαν την εργασία μου. Την ευχαριστώ για την συμμετοχή της στην τριμελή συμβουλευτική επιτροπή μου και την πολύτιμη συμβολή της στη διαμόρφωση του τελικού κειμένου της εργασίας μου. Με μεγάλη χαρά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Πέτρο Ταούκη, για τις εύστοχες παρατηρήσεις και υποδείξεις του καθώς και για τη συμμετοχή του στη τριμελή συμβουλευτική επιτροπή.

Ευχαριστώ τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής μου, που μου έκαναν την τιμή να συμμετέχουν στην εξέταση του διδακτορικού μου. Ευχαριστώ την Καθηγήτρια κα. Δέτση, τον Καθηγητή κ. Καλογερόπουλο, την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα. Χούχουλα και την Επίκουρη Καθηγήτρια κα. Τσιρώνη.

Τα χρόνια αυτά συνεργάστηκα με εξαιρετους συναδέλφους και επιστήμονες, μέλη του εργαστηρίου, συζητώντας από τα πιο απλά θέματα της καθημερινότητας έως και πολύπλοκα ερευνητικά. Θα ήθελα λοιπόν να ευχαριστήσω τους διδάκτορες κ. Δημήτρη Τσιμογιάννη, κα. Βιργινία Γιάννου, κα. Μαρία Τσεβδού και κα Ελένη Γώγου.

Επίσης θέλω να ευχαριστήσω θερμά άτομα του στενού οικογενειακού μου περιβάλλοντος που όπως πάντα βρίσκονται κοντά μου, μοιράζονται τις αγωνίες μου και με στηρίζουν. Ευχαριστώ την μητέρα μου Ελένη και τις αδερφές μου Βίκυ και Παναγιώτα. Επίσης ευχαριστώ τον σύζυγό μου Ανδρέα, για την αμέριστη κατανόηση και στήριξη καθ' όλη τη διάρκεια των αγώνων μου για την επίτευξη των στόχων μου.

Περίληψη

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή εξετάστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα ορισμένων αρωματικών φυτών. Τα αρωματικά φυτά που μελετήθηκαν ήταν το θυμάρι (*Thymus capitatus*), η ρίγανη (*Origanum vulgare hirtum*), το θρούμπι (*Satureja thymbra*) και το δεντρολίβανο (*Rosmarinus officinalis*). Ιδιαίτερα για τη ρίγανη, χρησιμοποιήθηκαν δύο χημειότυποι, ένας πλούσιος σε καρβακρόλη και ένας μεικτός με καρβακρόλη και θυμόλη, ώστε να εντοπιστούν τυχόν διαφορές. Για την παραλαβή και ταυτοποίηση των αντιοξειδωτικών συστατικών έγιναν διαδοχικές εκχυλίσεις των φυτών με οξικό αιθυλεστέρα και αιθανόλη. Στη ρίγανη μικτού χημειότυπου και στο δεντρολίβανο έγινε παραλαβή των φαινολικών τους συστατικών και απευθείας με αιθανόλη προκειμένου να εκτιμηθεί η δράση του εκχυλίσματος και επομένως η δυνατότητα παραλαβής αντιοξειδωτικών απ'ευθείας με μία εκχύλιση. Τα φυτά πριν την εκχύλιση ξηράνθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου και υποβλήθηκαν σε υδροατμοαπόσταξη για την απομάκρυνση των αιθερίων ελαίων. Στόχος ήταν η εκμετάλλευση της αποσμημένης φυτόμαζας, καθώς είναι πηγή φαινολικών ενώσεων αλλά αποτελεί παραπροϊόν της βιομηχανίας παρασκευής αιθέριων ελαίων. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την εκχύλιση των αντιοξειδωτικών συστατικών επιλέχθηκαν ώστε να είναι ασφαλείς για τρόφιμα και να παραλάβουν χωριστά τα πολικά και τα μη πολικά συστατικών των φυτών. Τα εκχυλίσματα αναλύθηκαν με υγρή χρωματογραφία.

Τα εκχυλίσματα αιθανόλης, εκχυλίζουν τα πιο πολικά φαινολικά συστατικά, όπως το ροσμαρινικό οξύ και τους γλυκοζίτες των φλαβονοειδών. Αντίστοιχα τα εκχυλίσματα του οξικού αιθυλεστέρα είναι πλούσια σε λιγότερο πολικά φαινολικά συστατικά όπως οι αγλυκόνες των φλαβονοειδών. Το ροσμαρινικό οξύ ανιχνεύθηκε σε όλα τα εκχυλίσματα που εξετάστηκαν. Η περιεκτικότητά του, ωστόσο, διαφοροποιείται σημαντικά, με το θρούμπι να εμφανίζει τη μέγιστη σύσταση στο αιθανολικό του εκχύλισμα (129.11 mg/g ξηρού εκχυλίσματος), ακολουθούμενο από το αιθανολικό και πάλι εκχύλισμα της

ρίγανης πλούσια σε καρβακρόλη (116.17 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Τα υπόλοιπα εκχυλίσματα βρέθηκε να έχουν χαμηλότερες τιμές ροσμαρινικού οξέος, με τη μικρότερη να εντοπίζεται στο εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από το θυμάρι (12.98 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Γενικά, παρατηρείται για το κάθε αρωματικό φυτό πως τα αιθανολικά του εκχυλίσματα είναι πιο πλούσια σε ροσμαρινικό οξύ από τα αντίστοιχα του οξικού αιθυλεστέρα.

Ένα άλλο συστατικό που ανιχνεύτηκε στα αρωματικά φυτά που εξετάστηκαν ήταν η καρβακρόλη και το ισομερές της, η θυμόλη. Οι ενώσεις αυτές αποτελούν συστατικά των αιθέριων ελαίων των αρωματικών φυτών, αλλά η φυτόμαζα που παραμένει ως απόβλητο μετά την απομόνωση των αιθέριων ελαίων, και χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των εκχυλισμάτων της παρούσας διδακτορικής διατριβής, φαίνεται πως περιέχει αρκετά σημαντικές ποσότητες των δύο αυτών ουσιών. Συνεπώς, ο οξικός αιθυλεστέρας και η αιθανόλη εκχυλίζουν τις εναπομένουσες ποσότητες των δύο αυτών ουσιών από την απελαιωμένη φυτόμαζα. Συγκεκριμένα, η καρβακρόλη ανιχνεύθηκε στα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα, με το θυμάρι να διαθέτει τη μεγαλύτερη σύσταση (176.34 mg/g ξηρού εκχυλίσματος) και το θρούμπι τη μικρότερη (16.99 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Το ολικό αιθανολικό εκχύλισμα τη ρίγανης του μικτού χημειότυπου παρουσίασε επίσης χαμηλή τιμή (25.45 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Από την άλλη μεριά, η ρίγανη μικτού χημειότυπου, όπως αποδεικνύει και το όνομά της, περιείχε και θυμόλη.

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

Το ροσμαρινικό οξύ ήταν το κύριο φαινολικό οξύ σε όλα τα εκχυλίσματα από θρούμπι, ακολουθούμενο από το σαλβιανολικό οξύ Α και το λιθοσπερμικό οξύ. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως το σαλβιανολικό οξύ Α αποτελεί συστατικό μόνο του αρωματικού φυτού *S. thymbra*. Τέλος, το καφεϊκό οξύ ανιχνεύθηκε σε μικρές ποσότητες στο υδατικό και το αιθανολικό εκχύλισμα.

Τα παρασκευασθέντα εκχυλίσματα ενσωματώθηκαν σε έλαια, ώστε να ερευνηθεί η ικανότητά τους ως προς την παρεμπόδιση της οξειδωσης. Τα έλαια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αραβοσιτέλαιο και φοινικέλαιο. Πιο συγκεκριμένα, για το αραβοσιτέλαιο εξετάστηκαν όλα τα εκχυλίσματα του μικτού χημειότυπου της ρίγανης (οξικού αιθυλεστέρα, αιθανολικό και ολικό αιθανολικό εκχύλισμα) ώστε να συγκριθούν μεταξύ τους. Η πορεία της οξειδωσης του καθαρού αραβοσιτέλαιου και των εμπλουτισμένων ελαίων παρακολουθήθηκε στους 70 °C με τον προσδιορισμό του αριθμού υπεροξειδίων και των συζυγών διενίων και τριενίων. Παρατηρήθηκε αύξηση των πρωτογενών αυτών προϊόντων οξειδωσης όλων των δειγμάτων ελαίου, για χρονικό διάστημα περίπου 20 ημερών. Τα αιθανολικά εκχυλίσματα δεν φαίνεται να ήταν αποτελεσματικά, καθώς η πορεία οξειδωσης των εμπλουτισμένων με αυτά δειγμάτων, με βάση τη μέτρηση του αριθμού υπεροξειδίων, σχεδόν συμπίπτει με εκείνη του καθαρού αραβοσιτέλαιου. Η συμπεριφορά τους αυτή πιθανώς οφείλεται στην αδυναμία των αιθανολικών εκχυλισμάτων για καλή ενσωμάτωσή τους στο έλαιο. Συγκεκριμένα, τα πολικά συστατικά που περιέχουν δεν διαλύονται εύκολα σε έλαια, και γενικά σε υψηλής λιποπεριεκτικότητας τρόφιμα, σε τόσο ικανοποιητικό βαθμό όσο οι μη πολικές ενώσεις.

Το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα της ρίγανης παρείχε καλύτερη αντιοξειδωτική δράση. Κατάφερε να επιμηκύνει το χρόνο επώασης του εμπλουτισμένου ελαίου κατά 1.5 περίπου ημέρες σε σύγκριση με το καθαρό έλαιο. Όσον αφορά στην περίοδο επιταχυνόμενης οξειδωσης, ο αριθμός υπεροξειδίων των δειγμάτων ελαίου αυξάνεται σχεδόν γραμμικά με το χρόνο, ακολουθώντας κινητική ψευδο-μηδενικής τάξης. Για το λόγο αυτό, προσδιορίστηκε η εξίσωση της ευθείας που προσεγγίζει πιο ικανοποιητικά τη συμπεριφορά του κάθε ελαίου κατά την περίοδο της επιταχυνόμενης οξειδωσής τους. Οι τιμές της σταθεράς του ρυθμού αύξησης του αριθμού υπεροξειδίων (k) των εμπλουτισμένων ελαιοδιαλυμάτων δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές από την αντίστοιχη τιμή του καθαρού ελαίου, γεγονός που αποδεικνύει ότι τα εκχυλίσματα δεν ήταν ικανά να εμποδίσουν σε μεγάλο βαθμό την παραγωγή πρωτογενών προϊόντων οξειδωσης. Συγκεκριμένα, το μη εμπλουτισμένο αραβοσιτέλαιο εμφανίζει ρυθμό οξειδωσης ίσο με $(7.50 \pm 0.16) \text{ days}^{-1}$, ενώ το έλαιο που περιέχει το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα, το οποίο έδειξε έναν από τους μικρότερους ρυθμούς οξειδωσης, παρουσιάζει αντίστοιχη τιμή ίση με $(7.27 \pm 0.04) \text{ days}^{-1}$. Η αύξηση του ρυθμού

παραγωγής των συζυγών διενίων φαίνεται να είναι παρόμοια με εκείνη του αριθμού υπεροξειδίων, επιβεβαιώνοντας τα συμπεράσματα που προαναφέρθηκαν.

Επιπλέον, στο αραβοσιτέλαιο μελετήθηκαν τα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα από θυμάρι και από ρίγανη πλούσια σε καρβακρόλη, με σκοπό να κριθεί η αποτελεσματικότητα τους έναντι της οξείδωσης του ελαίου. Οι σταθερές του ρυθμού επιταχυνόμενης οξείδωσης (k) των εμπλουτισμένων ελαιοδιαλυμάτων δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές από την αντίστοιχη τιμή του καθαρού ελαίου, γεγονός που αποδεικνύει ότι τα εκχυλίσματα δεν ήταν ικανά να εμποδίσουν σε μεγάλο βαθμό την παραγωγή πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης.

Όσον αφορά στο φοινικέλαιο, εξετάστηκε η δράση των εκχυλισμάτων οξικού αιθυλεστέρα των ίδιων φυτών (θυμαριού και των δύο χημειότυπων της ρίγανης) για να παρατηρηθούν τυχόν διαφορές ή ομοιότητες στην αντιοξειδωτική τους δράση σε μία άλλη λιπαρή ύλη, αλλά και της *Satureja thymbra* (θρούμπι). Όλα τα εκχυλίσματα παρεμπόδισαν την οξείδωση του φοινικέλαιου, πολύ πιο ικανοποιητικά από ότι του αραβοσιτέλαιου, τόσο παρατείνοντας το χρόνο επώασής του όσο και μειώνοντας το ρυθμό αύξησης των υπεροξειδίων, κατά την περίοδο της επιταχυνόμενης οξείδωσής του. Η σύγκριση της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων κατά την περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης προσδιορίστηκε με την παράμετρο Προστασίας (P), η οποία εκφράζει την % μείωση της σταθεράς σχηματισμού υδροϋπεροξειδίων, ως προς τη σταθερά του καθαρού ελαίου. Συγκρίνοντας τις τιμές Προστασίας (P) συμπεραίνεται πως τα εκχυλίσματα του φυτού *Satureja thymbra* και της ρίγανης μικτού χημειότυπου παρουσίασαν την καλύτερη προστασία έναντι της οξείδωσης, ενώ και τα άλλα εκχυλίσματα έδειξαν ικανοποιητική αντιοξειδωτική προστασία, μειώνοντας το ρυθμό οξείδωσης κατά $\geq 30\%$.

Στη συνέχεια, επιλέγοντας το φοινικέλαιο, στο οποίο εμφανίστηκε η καλύτερη αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων και διακρίνοντας το θρούμπι (*S. thymbra*) που προσέφερε θετικά αποτελέσματα στις προηγούμενες δοκιμές οξείδωσης, μελετήθηκε η επίδραση των εκχυλισμάτων του στην οξείδωση γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό. Χρησιμοποιήθηκαν το υδατικό εκχύλισμα που προέκυψε μετά την υδροατμοαπόσταξη του φυτού, το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα και το αιθανολικό του εκχύλισμα. Τόσο το υδατικό, όσο και το αιθανολικό εκχύλισμα του αρωματικού φυτού μείωσαν τον

ρυθμό αύξησης των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης στα γαλακτώματα σε σύγκριση με τα μη εμπλουτισμένα γαλακτώματα. Το γαλάκτωμα με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα του φυτού παρουσίασε παρόμοιο ρυθμό αύξησης των υδροϋπεροξειδίων με το γαλάκτωμα χωρίς πρόσθετο. Τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης των εμπλουτισμένων γαλακτωμάτων με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα και το αιθανολικό εκχύλισμα από θρούμπι, όπως και του γαλακτώματος χωρίς πρόσθετο, όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο του αριθμού της p-ανισιδίνης, παρέμειναν χαμηλά σε όλη τη διάρκεια της οξείδωσης και εμφάνισαν μία τάση αύξησης μετά από περίπου 20 ημέρες αποθήκευσης στους 70 °C. Εξάιρεση αποτέλεσε το γαλάκτωμα με το υδατικό εκχύλισμα του φυτού, για το οποίο παρατηρήθηκε αύξηση του ρυθμού παραγωγής δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης.

Ακολουθώς, παρασκευάστηκαν γαλακτώματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε το ηλιέλαιο ως λιπαρή ύλη, το οποίο είναι από τα συνηθέστερα έλαια που χρησιμοποιούνται σε ευρέως καταναλισκόμενα γαλακτώματα, όπως μαγιονέζα και σάλτσες για σαλάτα. Στα γαλακτώματα προστέθηκαν εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης από το θρούμπι, ενώ το υδατικό εκχύλισμα του φυτού δεν χρησιμοποιήθηκε καθώς δεν έδειξε καλή δράση στις προηγούμενες δοκιμές οξείδωσης των γαλακτωμάτων φοινικέλαιου. Επίσης προστέθηκαν οι πρότυπες φαινολικές ενώσεις, κερκετίνη και ροσμαρινικό οξύ, ώστε να συσχετισθεί η δράση των εκχυλισμάτων με τα συστατικά τους. Στόχος της παρούσας έρευνας ήταν, επιπλέον της αντιοξειδωτικής προστασίας των γαλακτωμάτων, να προσδιορισθεί τόσο για τις πρότυπες ενώσεις όσο και για τις δραστικές ενώσεις που εντοπίζονται στα εκχυλίσματα η διάρκεια ζωής μετά τον εγκλεισμό στα γαλακτώματα ώστε να εξακριβωθεί αν ο εμπλουτισμός οδηγεί δυνητικά σε διατήρηση των λειτουργικών προϊόντων. Η οξείδωση των γαλακτωμάτων μελετήθηκε σε τρεις θερμοκρασίες, 5, 25 και 40 °C, ώστε να ελεγχθεί η υποβάθμισή τους σε θερμοκρασία ψυγείου, περιβάλλοντος και σε καταπόνηση λόγω κακής χρήσης. Μέσω της εξίσωσης του Arrhenius μελετήθηκε η εξάρτηση του ρυθμού οξείδωσής τους από τη θερμοκρασία.

Όλα τα αντιοξειδωτικά πρόσθετα μείωσαν το ρυθμό σχηματισμού υδροϋπεροξειδίων, με το αιθανολικό εκχύλισμα να παρέχει την υψηλότερη προστασία, ακολουθούμενο από την καθαρή κερκετίνη, το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα και το ροσμαρινικό οξύ. Καμία σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων με διαφορετικά

φαινορικά πρόσθετα δεν παρατηρήθηκε στους 5 °C, ενώ σε υψηλότερες θερμοκρασίες τα εμπλουτισμένα δείγματα με το αιθανολικό εκχύλισμα ή την κερκετίνη παρουσίασαν χαμηλότερους ρυθμούς οξειδωσης από εκείνα με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα ή το ροσμαρινικό οξύ. Συγκρίνοντας τις δύο καθαρές ενώσεις, φαίνεται ότι η κερκετίνη, προσέφερε σημαντικά υψηλότερη προστασία από το ροσμαρινικό οξύ, το οποίο μπορεί να αποδοθεί στην υψηλότερη πολικότητα του οξέος, σύμφωνα με το πολικό παράδοξο. Το ροσμαρινικό οξύ, ως πολική ένωση, κατανέμεται κατά προτίμηση στην υδατική φάση και δεν μπορεί να προστατεύσει το έλαιο από αντιδράσεις οξειδωσης, που λαμβάνουν χώρα κυρίως στη διεπιφάνεια του γαλακτώματος, σε αντίθεση με την κερκετίνη που μπορεί να εντοπιστεί τόσο στην υδατική και τη λιπαρή φάση του γαλακτώματος όσο και στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων. Το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα είναι πλούσιο σε μη πολικές ενώσεις, όπως τα φλαβονοειδή και οι αγλυκόνες των φλαβονοειδών, οι οποίες είναι ευδιάλυτες στο έλαιο του γαλακτώματος. Επομένως, είναι πιθανό οι ενώσεις αυτές να εντοπίζονται στο εσωτερικό των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης των γαλακτωμάτων και όχι στη διεπιφάνεια αυτών. Οι ελεύθερες ρίζες δημιουργούνται στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων του γαλακτώματος και συνεπώς τα φαινορικά συστατικά του εκχυλίσματος του οξικού αιθυλεστέρα δεν είναι ικανά να προστατέψουν το έλαιο του γαλακτώματος από την οξειδωση στον ίδιο βαθμό με το εκχύλισμα της αιθανόλης. Αντιθέτως, το αιθανολικό εκχύλισμα του φυτού, το οποίο είναι πλούσιο σε πιο πολικά φαινορικά συστατικά, όπως φαινορικά οξέα και γλυκοζίτες των φλαβονοειδών, που εντοπίζονται στη διεπιφάνεια του γαλακτώματος, ήταν αποτελεσματικό στη μείωση του ρυθμού αύξησης των πρωτογενών προϊόντων οξειδωσης.

Η αύξηση της θερμοκρασίας είχε μεγαλύτερη επίδραση στο ρυθμό οξειδωσης των γαλακτωμάτων ηλιέλαιου με το καθαρό ροσμαρινικό οξύ και με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα. Η χαμηλότερη επίδραση από τη θερμοκρασία παρατηρήθηκε για τα δείγματα με την κερκετίνη και με το αιθανολικό εκχύλισμα. Όλα τα αντιοξειδωτικά πρόσθετα που εξετάστηκαν προστάτευσαν αποτελεσματικά τα γαλακτώματα στους 5 °C, ενώ φαίνεται πως οι παράγοντες προστασίας (P) μειώθηκαν σημαντικά με αύξηση της θερμοκρασίας, ειδικά στην περίπτωση της προσθήκης του ροσμαρινικού οξέος. Προστασία (P) της τάξης του 50% επιτεύχθηκε με την προσθήκη του αιθανολικού εκχυλίσματος και της κερκετίνης ακόμα και στους 40 °C.

Τα αποτελέσματα από τη μέτρηση των ολικών φαινολικών συστατικών (TPC) των γαλακτωμάτων υποδεικνύουν την ταχύτερη απώλεια φαινολικών ενώσεων στο γαλάκτωμα που έχει υποστεί επεξεργασία με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα, η οποία συμπίπτει με τους υψηλότερους ρυθμούς οξειδωσης του γαλακτώματος αυτού. Επιπλέον, η επίδραση της θερμοκρασίας στη μείωση του ολικού φαινολικού περιεχομένου ήταν πιο έντονη στα γαλακτώματα που είχαν εμπλουτισθεί με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα σε σύγκριση με εκείνα με το αιθανολικό εκχύλισμα, και οι υπολογισμένες τιμές ενέργειας ενεργοποίησης, σύμφωνα με την εξίσωση Arrhenius, ήταν 27.20 kJ/mol και 19.30 kJ/mol, αντίστοιχα. Ανάλυση των φαινολικών συστατικών με υγρή χρωματογραφία αποκάλυψε ότι το ροσμαρινικό οξύ ήταν το κύριο συστατικό που μειώθηκε στα γαλακτώματα που περιείχαν και τα δύο εκχυλίσματα ακολουθώντας κινητική πρώτης τάξης και επομένως ο ρυθμός κατανώσής του εξαρτάται κυρίως από τη συγκέντρωση. Έπομένως ο ρυθμός μείωσης του ροσμαρινικού οξέος είναι πολύ μεγαλύτερος στο γαλάκτωμα που περιέχει αιθανολικό εκχύλισμα σε σύγκριση με το γαλάκτωμα που περιέχει εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα. Η μεταβολή της συγκέντρωσης της κερκετίνης στα γαλακτώματα που εμπλουτίστηκαν με αυτή την πρότυπη ουσία, εξετάστηκε επίσης με υγρή χρωματογραφία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κερκετίνη μειώθηκε σε σημαντικό ποσοστό σε σύγκριση με τα φλαβονοειδή του αρωματικού φυτού *S. thymbra*. Η προσαρμογή των δεδομένων της υπολειπόμενης κερκετίνης ακολούθησε κινητική πρώτης τάξης και οι ρυθμοί μείωσης ανήλθαν σε 0.006, 0.010 και 0.014 days⁻¹, στους 5, 25 και 40 °C, αντίστοιχα. Αξιοσημείωτο είναι ότι οι ρυθμοί μείωσης της κερκετίνης είναι μία τάξη μεγέθους χαμηλότεροι από εκείνους του ροσμαρινικού οξέος. Στην πραγματικότητα η κερκετίνη είναι ένα από τα πιο ενεργά φλαβονοειδή αντιοξειδωτικά, λόγω της δομής της, και κατά συνέπεια μέρος της οξειδώνεται κατά την αποθήκευση των γαλακτωμάτων, προσφέροντας υψηλή αντιοξειδωτική προστασία.

Στη συνέχεια, η μελέτη της παρούσας διδακτορικής διατριβής στράφηκε στη δράση των φυσικών αντιοξειδωτικών κατά την προσθήκη τους σε εδώδιμες μεμβράνες για την επικάλυψη φιλέτων τσιπούρας. Η τσιπούρα είναι ψάρι υψηλής εμπορικής αξίας με υψηλή περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Ως πηγές φυσικών αντιοξειδωτικών χρησιμοποιήθηκαν τα εκχυλίσματα του φυτού *S. thymbra* (αιθανολικό και οξικού αιθυλεστέρα), ώστε να κριθεί η αποτελεσματικότητά τους κατά πρώτον, στην

τεχνολογία των επικαλυπτικών και κατά δεύτερον, στην αλληλεπίδρασή τους με ένα πιο σύνθετο τρόφιμο. Επιπροσθέτως, διερευνήθηκε η καταλληλότητα και του αιθέριου ελαίου της *S. thymbra*, καθώς τα κλάσματα αυτά των αρωματικών φυτών διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παρεμπόδιση της μικροβιακής ανάπτυξης και είναι ενδιαφέρον να διερευνηθεί η πιθανή παρεμπόδιση της οξείδωσης. Συγκεκριμένα, παρασκευάστηκαν 3 σειρές δειγμάτων, στις οποίες η επικαλυπτική μεμβράνη από καρβοξυ-μεθυλο-κυτταρίνη (CMC) περιείχε ένα από τα παραπάνω κλάσματα σε συγκέντρωση 500 mg GAE/L διαλύματος επικαλυπτικού. Επίσης, παρασκευάστηκαν άλλες 2 σειρές δειγμάτων εκ των οποίων η μία περιείχε συνδυασμό του αιθέριου ελαίου (2% v/v) με το αιθανολικό εκχύλισμα και η άλλη συνδυασμό αιθέριου ελαίου (2% v/v) με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα. Όλα τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας στους 0 °C, για την παρακολούθηση της πορείας οξείδωσής τους. Οι τιμές του αριθμού υδροϋπεροξειδίων των δειγμάτων που είχαν επικαλυφθεί με CMC χωρίς κάποιο αντιοξειδωτικό πρόσθετο ήταν χαμηλότερες από εκείνες των δειγμάτων χωρίς επικάλυψη από τις πρώτες δειγματοληψίες, υποδεικνύοντας ότι η ίδια η βρώσιμη επικάλυψη προσέφερε κάποια προστασία από την οξείδωση. Το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα της *S. thymbra* δεν εμφάνισε σημαντική αντιοξειδωτική δράση, σε αντίθεση με το αιθανολικό εκχύλισμα που ήταν πολύ αποτελεσματικό στην επιβράδυνση της παραγωγής πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης. Η ενσωμάτωση του αιθέριου ελαίου στη βρώσιμη επικάλυψη επιβράδυνε σημαντικά τη αύξηση του αριθμού των υδροϋπεροξειδίων.

Μία άλλη πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών που μελετήθηκε στην παρούσα διατριβή αποτέλεσε το φυτό *Rosmarinus officinalis* (δενδρολίβανο), το οποίο είναι γνωστό για τις αντιοξειδωτικές ιδιότητές του και αποτελεί αναγνωρισμένο από την ευρωπαϊκή ένωση φυσικό αντιοξειδωτικό. Εκχυλίσματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις αιθανολικού εκχυλίσματος από δεντρολίβανο ενσωματώθηκαν σε εδώδιμη επικαλυπτική μεμβράνη για την αντιοξειδωτική προστασία φιλέτων από καπνιστό χέλι, ώστε να κριθεί η αποτελεσματικότητά του τόσο στην τεχνολογία των εδώδιμων επικαλυπτικών, όσο και στην αλληλεπίδρασή του με τα τρόφιμα. Επίσης, διερευνήθηκε η καταλληλότητα του αιθέριου ελαίου του *R. officinalis* (0.2% v/v) στην πιθανή παρεμπόδιση της οξείδωσης σε δείγματα στα οποία είχε ενσωματωθεί αιθέριο έλαιο στο επικαλυπτικό. Καθώς η

ενσωμάτωση του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι στο διάλυμα βρώσιμης επικάλυψης CMC δεν εμφάνισε αντιοξειδωτική δράση, σε αυτές τις δοκιμές οξείδωσης των καπνιστών ιχθυηρών επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί μόνο το αιθανολικό εκχύλισμα δεντρολίβανου. Παρασκευάστηκαν τρεις σειρές δειγμάτων στις οποίες η επικαλυπτική μεμβράνη περιείχε αιθανολικό εκχύλισμα δεντρολίβανου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις 200, 500 και 800 mg GAE / L διαλύματος επικαλυπτικού, ώστε να βρεθεί η βέλτιστη συγκέντρωση για την αντιοξειδωτική προστασία των ιχθυηρών. Επιπρόσθετα, παρασκευάστηκαν άλλες δύο σειρές δειγμάτων εκ των οποίων η μία περιείχε συνδυασμό του αιθέριου ελαίου με το αιθανολικό εκχύλισμα και η άλλη περιείχε μόνο αιθέριο έλαιο. Παρατηρήθηκε ότι αύξηση της συγκέντρωσης του αιθανολικού εκχυλίσματος είχε ως αποτέλεσμα μείωση της συσσώρευσης υδροϋπεροξειδίων και συζυγών διενίων, με την καλύτερη αντιοξειδωτική προστασία να προσφέρει η επικάλυψη με την υψηλότερη συγκέντρωση, 800 mg GAE / L διαλύματος επικαλυπτικού. Η προσθήκη αιθέριου ελαίου από δεντρολίβανο σε διάλυμα εδώδιμου επικαλυπτικού, και ακόμη περισσότερο ο συνδυασμός του με το αιθανολικό εκχύλισμα ανέστειλε αποτελεσματικά το σχηματισμό πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι τόσο η προσθήκη του αιθέριου ελαίου όσο και ο συνδυασμός της προσθήκης του αιθέριου ελαίου με το αιθανολικό εκχύλισμα προστάτευσε τα καπνιστά ιχθυηρά έναντι της δημιουργίας δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης σε μεγαλύτερο βαθμό από την προσθήκη μόνο του αιθανολικού εκχυλίσματος στην χαμηλότερη συγκέντρωση.

Σε συνέχεια των πειραμάτων της παρούσας διδακτορικής διατριβής μελετήθηκε η επίδραση των εκχυλισμάτων από θρούμπι στην οξειδωτική σταθερότητα τηγανισμένων chips πατάτας, κατά την προσθήκη τους στο έλαιο τηγανίσματος, στο τηγανισμένο προϊόν ή στο υλικό συσκευασίας. Το έλαιο του τηγανίσματος ήταν το φοινικέλαιο και συνολικά παρασκευάστηκαν 5 σειρές δειγμάτων chips. Η πρώτη σειρά αφορούσε πατάτες, οι οποίες τηγανίστηκαν σε εμπλουτισμένο φοινικέλαιο με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από το φυτό θρούμπι. Το ίδιο εκχύλισμα, καθώς και το αιθανολικό εκχύλισμα ενσωματώθηκαν στην επιφάνεια των chips που τηγανίστηκαν σε καθαρό φοινικέλαιο ή προστέθηκαν στο υλικό συσκευασίας των chips. Η προσθήκη των εκχυλισμάτων απευθείας στην επιφάνεια των τηγανισμένων chips και στο έλαιο του τηγανίσματος μείωσαν τον ρυθμό αύξησης των υδροϋπεροξειδίων σε σύγκριση με τα

δείγματα χωρίς κάποιο πρόσθετο. Το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα που προστέθηκε στο έλαιο του τηγανίσματος, παρουσίασε αντιοξειδωτική δράση καλύτερη από το ίδιο εκχύλισμα όταν αυτό ψεκάστηκε στην επιφάνεια του τροφίμου, αλλά παραπλήσια με το εκχύλισμα αιθανόλης που ενσωματώθηκε στο προϊόν με τη διεργασία του ψεκασμού. Η επικάλυψη των αντιοξειδωτικών στο υλικό συσκευασίας είχε ως αποτέλεσμα την βραδύτερη αύξηση των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης και επομένως την υψηλότερη προστασία του προϊόντος.

Εφόσον η προσθήκη στο υλικό συσκευασίας προσέφερε την καλύτερη αντιοξειδωτική προστασία, μελετήθηκε περαιτέρω η ενεργός συσκευασία σε chips πατάτας χρησιμοποιώντας ως αντιοξειδωτικά τα φυσικά εκχυλίσματα του αποξηραμένου φυτού *S. thymbra*. Ακολούθησε η ενσωμάτωση των εκχυλισμάτων στο υλικό της συσκευασίας ως επίστρωση σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις και για τα δύο εκχυλίσματα, 100, 200, 300 mg GAE/m². Διαπιστώθηκε πως η ενεργός συσκευασία ήταν αποτελεσματική για όλες τις συγκεντρώσεις του αιθανολικού εκχυλίσματος με βέλτιστη προστασία από την συγκέντρωση 300 mg GAE/m² που αύξησε τον χρόνο επώασης σχεδόν κατά 20 ημέρες και μείωσε τον ρυθμό παραγωγής υπεροξειδίων κατά 78.4%. Το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα προστάτευσε και αυτό σε ικανοποιητικό βαθμό τα chips από τον ταγγισμό μόνο για τις συγκεντρώσεις 100 και 200 mg GAE/m² καθώς η συγκέντρωση 300 mg GAE/m² παρουσίασε προοξειδωτική δράση αυξάνοντας τον ρυθμό παραγωγής των υπεροξειδίων κατά 7.44% στο στάδιο επιταχυνόμενης οξείδωσης και μειώνοντας τον χρόνο επώασης σχεδόν κατά 10 ημέρες. Η προοξειδωτική δράση που παρατηρήθηκε για τη συγκέντρωση των 300 mg GAE/m² για το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα μπορεί να αποδοθεί σε προοξειδωτικές ιδιότητες των φλαβονοειδών που φαίνεται να εξαρτώνται από τη συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως υπήρχε έντονη διάχυση προς τα chips κυρίως από το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα που αποδίδεται στην άπολη φύση και των δύο. Μετά από 55 ημέρες αποθήκευσης, το άθροισμα των ολικών φαινολικών συστατικών της συσκευασίας και των chips παρουσίασε πάνω από 50% κατανάλωση αυτών για όλα τα δείγματα.

Συμπερασματικά, τα αρωματικά φυτά της οικογένειας Lamiales συνιστούν πηγές φυσικών αντιοξειδωτικών και είναι ικανά να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής των λιπαρών τροφίμων, παρεμποδίζοντας την οξείδωση τους. Εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα από

θρούμπι, θυμάρι και δύο χημειότυπους της ρίγανης, αποδείχθηκαν ικανά στην προστασία φοινικέλαιου. Παρατηρήθηκε ότι η σειρά δραστικότητάς τους δεν ήταν ανάλογη του ολικού φαινολικού περιεχομένου τους, αλλά εξαρτήθηκε από τη σύστασή τους στις επιμέρους κατηγορίες φαινολικών συστατικών. Αυξανόμενης της περιεκτικότητας σε φαινολικά οξέα και λοιπά φλαβονοειδή βελτιωνόταν η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων, ενώ υψηλές τιμές μονοφαινολών, και κυρίως καρβακρόλης, είχαν αντίθετα αποτελέσματα. Η ενσωμάτωση εκχυλισμάτων οξικού αιθυλεστέρα των αρωματικών φυτών σε αραβοσιτέλαιο δεν προσέφερε σημαντική αντιοξειδωτική προστασία, αποδεικνύοντας πως το είδος της λιπαρής ύλης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ικανότητα δράσης των αντιοξειδωτικών. Η προσθήκη αιθανολικών εκχυλισμάτων στο αραβοσιτέλαιο έδειξε ακόμα χειρότερη συμπεριφορά, καθώς επιβεβαιώθηκε η δυσκολία της διάλυσης των πολικών συστατικών τους σε υψηλής λιπαρότητας προϊόντα.

Εκχυλίσματα του φυτού *S. thymbra* μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον εμπλουτισμό γαλακτωμάτων ο/w με πολυφαινόλες, και ως εκ τούτου να αναβαθμιστεί το διατροφικό τους προφίλ. Η περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά των γαλακτωμάτων μειώνεται κατά την αποθήκευσή τους, κυρίως λόγω της μείωσης της συγκέντρωσης του ροσμαρινικού οξέος. Εκτός από τον εμπλουτισμό των γαλακτωμάτων σε φαινολικές ενώσεις, τα εκχυλίσματα προσφέρουν προστασία έναντι της οξείδωσης. Σε θερμοκρασίες ψύξης (5 °C) τα εκχυλίσματα μείωσαν τον ρυθμό οξείδωσης κατά 75-80%. Οι υψηλότερες θερμοκρασίες αποθήκευσης επιτάχυναν την οξείδωση των γαλακτωμάτων και είχαν ως αποτέλεσμα χαμηλότερους παράγοντες προστασίας και μεγαλύτερη απώλεια φαινολικών ενώσεων.

Με βάση τα αποτελέσματα της επικάλυψης ιχθύων με εμπλουτισμένες εδώδιμες μεμβράνες αποδείχθηκε η αποδοτικότητα αυτής της μεθόδου στην προστασία των συγκεκριμένων τροφίμων ως προς την οξείδωση. Αν και η απλή μεμβράνη CMC παρείχε χαμηλότερες τιμές πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης, η προσθήκη σε αυτή αιθανολικού εκχυλίσματος από θρούμπι παρεμπόδισε την οξείδωση του τροφίμου σε μεγαλύτερο βαθμό. Το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι δεν ήταν ικανό να προσδώσει αντίστοιχη δράση σε ιχθυηρά. Το αποτέλεσμα αυτό δείχνει πως τα άπολα φλαβονοειδή συστατικά ενώ είναι κατάλληλα για τρόφιμα με υψηλό περιεχόμενο σε λιπαρά, δεν

πρέπει πιθανώς να προτιμώνται σε προϊόντα που περιέχουν σε μεγάλο βαθμό υδατικά συστατικά. Το αιθέριο έλαιο του φυτού αποδείχθηκε ισχυρό αντιοξειδωτικό, παρέχοντας παρόμοια δράση με εκείνη του αιθανολικού εκχυλίσματος.

Σε ότι αφορά την επικάλυψη των ιχθυηρών και την αποθήκευσή τους στους 4 °C, τα διαγράμματα αύξησης των πρωτογενών (αριθμός υπεροξειδίων, PV) και δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης (αριθμός p-ανισιδίνης, p-AV), έδειξαν ότι το αιθανολικό εκχύλισμα δενδρολίβανου, με το οποίο εμπλουτίστηκε το εδώδιμο επικαλυπτικό CMC, προσέφερε προστασία στα δείγματα από την οξείδωση. Μικρή σχετικά προστασία στην οξείδωση προσέφεραν οι μη εμπλουτισμένες μεμβράνες CMC, και αυτές που είχαν εμπλουτιστεί με αιθέριο έλαιο. Με αύξηση της συγκέντρωσης του αιθανολικού εκχυλίσματος στο διάλυμα της εδώδιμης επικάλυψης παρατηρήθηκε αύξηση της αντιοξειδωτικής προστασίας.

Η προσθήκη εκχυλισμάτων από το αρωματικό φυτό *S. thymbra* στο υλικό συσκευασίας, έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενεργού συσκευασίας, η οποία είναι ικανή να καθυστερήσει σε μεγαλύτερο βαθμό την οξειδωτική υποβάθμιση τηγανισμένων chips πατάτας, σε σύγκριση με την προσθήκη των ίδιων εκχυλισμάτων στο έλαιο του τηγανίσματος ή απευθείας πάνω στο τηγανισμένο προϊόν. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των εκχυλισμάτων εξαρτώνται από τη συγκέντρωσή τους στο υλικό συσκευασίας. Σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να παρατηρηθούν προοξειδωτικά φαινόμενα όταν η συγκέντρωση των φλαβονοειδών υπερβαίνει ορισμένα επίπεδα.

Abstract

In this doctoral thesis, the antioxidant capacity of certain aromatic plants was examined. The studied aromatic plants were thyme (*Thymus capitatus*), oregano (*Origanum vulgare hirtum*), savory (*Satureja thymbra*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*). Two chemotypes of oregano, rich in carvacrol and rich in carvacrol and thymol, were used to identify the differences between them. The extraction and identification of the antioxidant components of the plants were carried out with ethyl acetate and ethanol. In mixed chemotype of oregano and rosemary, their phenolic components were also extracted directly with ethanol in order to assess the possibility to obtain antioxidants directly with one extraction. The plants before extraction were dried at room temperature and subjected to hydro-distillation to remove essential oils. The aim was to exploit the deodorized plant mass, as it is a source of phenolic compounds but is a by-product of the essential oil manufacturing industry. The solvents used to extract the antioxidant components were chosen to be food grade and to separate polar and nonpolar plant components. The extracts were analyzed by liquid chromatography.

Ethanol extracts are rich in polar phenolic components, such as rosmarinic acid and flavonoid glycosides. On the other hand, ethyl acetate extracts are rich in non polar phenolic compounds such as flavonoid aglycones. Rosmarinic acid was detected in all the tested extracts. Its content, however, varies significantly, with savory showing the highest concentration of rosmarinic acid in ethanol extract (129.11 mg/g dry extract), followed by the ethanol extract of carvacrol-rich oregano (116.17 mg/g dry extract). All the other extracts have lower rosmarinic acid values, with the lowest found in the ethyl acetate extract from thyme (12.98 mg/g dry extract). It is observed that ethanol extracts are richer in rosmarinic acid than ethyl acetate extracts for all the studied aromatic plants.

Carvacrol and its isomer, thymol were detected in the studied aromatic plants. These compounds are components of the essential oils of aromatic plants, but the plant

mass that remains as waste after the hydro-distillation of the essential oils, and was used for the preparation of the extracts, contains significant amount of these two substances. Specifically, carvacrol was detected in the ethyl acetate extracts, with thyme having the highest concentration (176.34 mg/g dry extract) and savory the lowest (16.99 mg/g dry extract). The total ethanolic extract of oregano of the mixed chemotype also showed a low value (25.45 mg/g of dry extract). On the other hand, oregano of mixed chemotype contains thymol.

Flavonoids, such as taxifolin, dihydrokaempferol, eriodictyol and naringenin, were detected in ethyl acetate extracts of aromatic plants and identified with reference standards. Savory showed the highest content of all the above mentioned flavonoids, while thyme showed the lowest.

Rosmarinic acid was the major phenolic acid in all savory extracts, followed by salvianolic acid A and lithospermic acid. Salvianolic acid A was identified only in *Satureja thymbra* extracts. Caffeic acid was detected in small amounts in the aqueous and ethanolic extract of the plant.

The extracts were incorporated in vegetable oils to investigate their ability to inhibit oxidation. The oils used were corn oil and palm oil. More specifically, all extracts of the mixed oregano chemotype (ethyl acetate, ethanolic and total ethanolic extract) were incorporated in corn oil to compare each other. The oxidation of pure corn oil and enriched oils was carried out at 70 °C. Peroxide value (PV) and conjugated dienes and trienes were measured. The primary oxidation products of all oil samples were observed over a period of 20 days. Ethanol extracts do not show antioxidant protection, as the oxidation rate of the samples enriched with them, coincides with that of pure corn oil, based on the measurement of the peroxide value. This behavior is probably due to the inability of ethanolic extracts to integrate well into the oil. In particular, their polar components do not dissolve in oils, and in general in high-fat food products, as the non-polar compounds.

Ethyl acetate extract of oregano provided antioxidant activity and was able to prolong the incubation period of the enriched oil by 1.5 days compared to the pure oil. Linear regression of peroxide value of the oil samples in the accelerated oxidation period was estimated, following pseudo-zero-order kinetics. The constant rate (k) of peroxide

value of the enriched oil samples do not show significant differences from the corresponding value of the pure oil, which proves that the extracts were not able to inhibit the production of primary oxidation products. In particular, the pure corn oil shows oxidation rate equal to (7.50 ± 0.16) days⁻¹, while the oil containing the ethyl acetate extract, which showed one of the lowest oxidation rates, shows an oxidation rate equal to (7.27 ± 0.04) days⁻¹. The increase of conjugated dienes appears to be similar to that of peroxides, confirming the above mentioned conclusions.

Ethyl acetate extracts from thyme and carvacrol-rich oregano were incorporated in corn oil, in order to study their effectiveness against oil oxidation. The rate constants (k) of the accelerated oxidation period of the enriched oil samples did not show significant differences from the pure corn oil, which proves that the extracts were not able to inhibit the production of primary oxidation products.

Ethyl acetate extracts of the same plants (thyme and the two types of oregano) as well as *Satureja thymbra* (savory), were incorporated in palm oil in order to observe any differences or similarities of their antioxidant activity in a different vegetable oil. All extracts showed better antioxidant protection of palm oil, than in corn oil, both by prolonging its incubation period and by reducing the rate constant of peroxides, during the accelerated oxidation period. In order to compare the antioxidant activity of the extracts during the accelerated oxidation period, the Protection parameter (P) was determined. Protection parameter (P) expresses the % reduction of the hydroperoxide formation, in terms of the pure oil hydroperoxide formation. Comparing the Protection (P) values, it is concluded that the extracts of the *Satureja thymbra* and mixed chemotype of oregano showed the best protection against oxidation, while the other extracts showed satisfactory antioxidant protection, reducing the oxidation rate by $\geq 30\%$.

Choosing palm oil, in which the best antioxidant activity of the extracts appeared and distinguishing savory (*Satureja thymbra*) that offered the best antioxidant protection in the previous oxidation tests, the effect of its extracts on the oxidation of oil-in-water emulsions was studied. The studied extracts were ethyl acetate, ethanol and the aqueous extract obtained after hydro-distillation of the plant. Both aqueous and ethanol extracts of the plant reduced the increase of primary oxidation products in the emulsions compared to the non-enriched emulsions. The emulsion with ethyl acetate extract of the plant

showed a similar increase of peroxide value as the emulsion without additive. The secondary oxidation products of the emulsions enriched with ethyl acetate and ethanol extracts of savory, as well as the emulsion without additive, remained low and only after 20 days of storage at 70 °C showed an increasing trend, as determined by the p-anisidine method. The secondary oxidation products of the emulsion with the aqueous extract of the plant, increased significantly during storage.

Sunflower oil is one of the most common oil widely consumed and used to prepare emulsions, such as mayonnaise and salad dressings. Ethyl acetate and ethanol extracts of savory were added to sunflower oil-in-water emulsions, while the aqueous extract of the plant was not incorporated, as it did not show good antioxidant activity in the previous oxidation tests of palm oil emulsions. Quercetin and rosmarinic acid were also added, in order to correlate the action of the extracts with their components. The aim of the present research was to investigate the antioxidant protection of the emulsions, to study the shelf life of quercetin, rosmarinic acid and the active compounds found in the extracts after encapsulation in the emulsions in order to ascertain whether the enrichment potentially leads to the preservation of the functional products. The oxidation of the emulsions was studied at three temperatures, 5, 25 and 40 °C, in order to check their degradation at refrigerator, ambient temperature and under stress due to bad storage conditions. The dependence of oxidation rate on temperature was studied, through the Arrhenius equation.

All antioxidant additives reduced the rate constant (k) of hydroperoxide formation, with the ethanol extract presenting the highest protection, followed by quercetin, ethyl acetate extract, and rosmarinic acid. No significant differences between the samples with different phenolic additives was observed at 5 °C, while at higher temperatures the samples enriched with the ethanol extract or quercetin showed lower oxidation rates than those with the ethyl acetate extract or rosmarinic acid. Comparing the two pure compounds, quercetin presented significantly higher protection than rosmarinic acid, which can be attributed to the polarity of the acid, according to the polar paradox. Rosmarinic acid, as a polar compound, is distributed in the aqueous phase and cannot protect the oil from oxidation reactions, which take place mainly at the emulsion interface. Quercetin can be located in both aqueous and oily phases of the emulsion as

well as at the droplet interface. Ethyl acetate extract is rich in non-polar compounds, such as flavonoids and flavonoid aglycones, which are soluble in the emulsion oily phase. Therefore, it is possible that these compounds are located inside the droplets of the dispersed phase of the emulsions and not at their interface. Free radicals are generated at the interface of the emulsion droplets and therefore the phenolic components of the ethyl acetate extract are not able to protect the emulsion oil from oxidation to the same extent as the ethanol extract. In contrast, ethanol extract of the plant, which is rich in polar phenolic components, such as phenolic acids and glycosides of flavonoids, located at the emulsion interface, was effective in reducing the increasing rate of primary oxidation products.

Temperature affect the oxidation rate of sunflower oil-in-water emulsions with pure rosmarinic acid and with ethyl acetate extract. The lowest effect of temperature was observed for the samples with quercetin and ethanol extract. All the tested additives protect the emulsions at 5 °C. Protection factors (P) decreased as the temperature increased, especially in the emulsions with rosmarinic acid. Protection (P) of 50% was achieved with the addition of ethanol extract and quercetin even at 40 °C.

Measurement of total phenolic components (TPC) of the emulsions indicate the fast loss of phenolic compounds in the emulsion treated with the ethyl acetate extract, which coincides with the higher oxidation rates of this emulsion. Furthermore, the effect of temperature on the reduction of total phenolic content was more pronounced in the emulsions enriched with ethyl acetate extract compared to those with ethanol extract, and the calculated activation energy values, according to the Arrhenius equation, were 27.20 kJ/mol and 19.30 kJ/mol, respectively. Rosmarinic acid was the main component reduced in emulsions containing both extracts, as determined by liquid chromatography, following first-order kinetics and the rate of consumption was concentration dependent. The reduction rate reduction of rosmarinic acid is higher in the emulsion containing ethanol extract compared to the emulsion containing ethyl acetate extract. The reduction rate of quercetin in the emulsions was also examined by liquid chromatography. The results showed that quercetin concentration reduced significantly compared to other flavonoids of *Satureja thymbra*. The decrease of quercetin concentration followed first order kinetics and the reduction rates were 0.006, 0.010 and 0.014 days⁻¹ at 5, 25 and 40

°C, respectively. The reduction rates of quercetin are lower than those of rosmarinic acid. In fact quercetin is one of the most active flavonoid antioxidants, due to its structure, and consequently part of it is oxidized during storage, offering high antioxidant protection.

In the next experiment, natural antioxidants were added to edible films for coating sea bream fillets. Sea bream has high commercial value and high content of polyunsaturated fatty acids. Extracts of *Satureja thymbra* (ethanol and ethyl acetate) were used as sources of natural antioxidants, in order to investigate their effectiveness in the coating technology and to study their interaction with a complex food. Essential oils of aromatic plants play an important role in the inhibition of microbial growth and it is interesting to investigate the possible inhibition of oxidation with the use of essential oil of *Satureja thymbra* in the coating solution. Specifically, 3 series of samples were prepared, in which the carboxy-methyl-cellulose (CMC) coating membrane contained one of the above fractions at a concentration of 500 mg GAE/L coating solution. Also, another 2 series of samples were prepared, one of which contained a combination of essential oil (2% v/v) and ethanol extract and the other a combination of essential oil (2% v/v) and ethyl acetate extract. All samples were stored at 0 °C, to monitor their oxidation course. The peroxide values of CMC-coated samples without antioxidant additive were lower than those of the uncoated samples, indicating that edible coating itself provide protection against oxidation. Ethyl acetate extract of *Satureja thymbra* did not show antioxidant activity, while ethanol extract was effective in retarding the production of primary oxidation products. The incorporation of essential oil in edible coating solution retard the increase of peroxide value.

Rosmarinus officinalis (rosemary), which is known for its antioxidant properties and is recognized by the European Union as a natural antioxidant, was studied as source of natural antioxidants. Extracts with different concentrations of rosemary ethanol extract were incorporated in edible coating films to protect smoked eel fillets from oxidation. The essential oil of *Rosmarinus officinalis* (0.2% v/v) was also incorporated in edible coating solutions to investigate its antioxidant protection. The incorporation of savory ethyl acetate extract in the CMC edible coating solution did not show antioxidant activity, so only rosemary ethanol extract was studied in these smoked fish oxidation tests. Three series of experiment were prepared in which the coating film contained ethanol extract of

rosemary at different concentrations of 200, 500 and 800 mg GAE / L coating solution, in order to find the optimal concentration for the antioxidant protection of the fish. In addition, two other sets of experiments were prepared, one of which contained a combination of the essential oil with the ethanol extract and the other contained only the essential oil. As the concentration of ethanol extract increased, the accumulation of hydroperoxides and conjugated dienes decreased and the best antioxidant protection found in the coating with the highest concentration, 800 mg GAE / L coating solution. The addition of rosemary essential oil to edible coating solution, its combination with the ethanol extract inhibit the formation of primary oxidation products. Both of the addition of essential oil and the combination of essential oil and ethanol extract protect smoked fish fillets against the formation of secondary oxidation products to a greater extent than the addition of ethanol extract at the lowest concentration.

The effect of savory extracts on the oxidative stability of fried potato chips, when added to the frying oil, on the fried product or the packaging material, was studied. The frying oil was palm oil and 5 series of experiments were prepared. The first series involved potatoes, which were fried in palm oil enriched with ethyl acetate extract from savory. The same extract as well as the ethanol extract were sprayed at the surface of chips fried in pure palm oil or coated the packaging material of the chips. The addition of the extracts to the surface of the fried chips and to the frying oil reduced the formation of hydroperoxides compared to the samples without additive. Ethyl acetate extract added to the frying oil showed antioxidant activity better than the same extract when it was sprayed on the surface of the food, but similar to the ethanol extract sprayed at the product surface. Coating the packaging material with the natural antioxidants resulted in slower increase of primary oxidation products and therefore higher oxidation protection.

Since the addition of natural antioxidants to the surface of the packaging material provided the best antioxidant protection, the active packaging of potato chips was further studied using the natural extracts of the dried *Satureja thymbra* as antioxidants. Three different concentrations of ethyl acetate and ethanol extracts were incorporated on the packaging material, 100, 200 and 300 mg GAE/m². All concentrations of ethanol extract active packaging protect against oxidation the fried potato. The best antioxidant protection found at the concentration of 300 mg GAE/m², which increased the incubation

period 20 days and reduced the peroxide formation rate by 78.4%. The concentrations of 100 and 200 mg GAE/m² of ethyl acetate extracts protect chips from oxidation, while the concentration of 300 mg GAE/m² showed a pro-oxidant activity increasing the formation of peroxides by 7.44% in the accelerated oxidation period and reducing the incubation period by almost 10 days. The pro-oxidant activity of 300 mg GAE/m² for the ethyl acetate extract can be attributed to pro-oxidant properties of the flavonoids which appear to be concentration-dependent. Results showed that migration of the antioxidants to the chips occurred mainly from the ethyl acetate extracts, which is attributed to the non-polar nature of both the extract and the food. After 55 days of storage, the sum of total phenolic content of the packaging and chips showed more than 50% consumption of antioxidant compounds for all the treatments.

In conclusion, aromatic plants of Lamiaceae family are sources of natural antioxidants and can extend the shelf life of food products, preventing their oxidation. Ethyl acetate extracts of savory, thyme and two chemotypes of oregano were effective in protecting palm oil from oxidation. Their activity was not proportional to their total phenolic content. It depended on their phenolic composition. As the content of phenolic acids and other flavonoids increased, the antioxidant capacity of the extracts improved. High values of monophenols, and mainly carvacrol, had the opposite results. Incorporation of ethyl acetate and ethanol extracts of aromatic plants in corn oil did not provide antioxidant protection.

Extracts of *Satureja thymbra* can be incorporated in o/w emulsions and upgrade their nutritional profile. Total phenolic components of the emulsions decreased during storage, mainly due to the decrease of rosmarinic acid. In addition to enriching the emulsions in phenolic compounds, The extracts of savory offer protection against oxidation to the emulsion. At low temperatures (5 °C) the extracts reduce the oxidation rate by 75-80%. Higher storage temperatures accelerate oxidation of the emulsions and resulted in lower protection factors and greater loss of phenolic compounds.

Edible films and coatings enriched with natural antioxidants can protect fish and fish products from lipid oxidation. CMC coating present lower peroxide values of the product than without it. The incorporation of savorys' ethanol extract to CMC coating solution reduce food oxidation. Ethyl acetate extract of savory did not offer antioxidant

protection on fish. The essential oil of savory proved to be a strong antioxidant, providing similar antioxidant protection to that of ethanol extract.

Primary (peroxide value, PV) and secondary oxidation products (p-anisidine value, p-AV) of fish, stored at 4 °C and coated with CMC enriched with ethanol extract of rosemary, showed that natural antioxidants can offer protection to food and food products from oxidation. CMC films with essential oil and without additive did not protect smoked eel filets from oxidation phenomena. As the concentration of ethanol extract increased in the coating solution, an increase in antioxidant protection was observed.

Incorporation of *Satureja thymbra* extracts in the packaging material creating active packaging films, can delay oxidative degradation of fried potato chips to a greater extent, compared to the addition of the same extracts in the frying oil or directly on the fried product. The antioxidant properties of the extracts depend on their concentration in the packaging material. Pro-oxidant phenomena can be observed when the concentration of flavonoids exceeds certain levels.

Περιεχόμενα

Περίληψη	9
Κεφάλαιο 1ο: Οξείδωση λιπαρών υλών.....	37
1.1 Εισαγωγή στην οξείδωση των λιπαρών υλών	37
1.2 Γενικά για τα λιπίδια.....	37
1.3 Τριγλυκερίδια – Λιπαρά οξέα.....	38
1.4 Οξείδωση των λιπαρών υλών	43
1.5 Σχηματισμός πρωτογενών και δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης.....	46
1.6 Μέθοδοι μέτρησης των προϊόντων της οξείδωσης των λιπαρών υλών	54
1.7 Οξειδωτική σταθερότητα ελαίων με βάση τη σύστασή τους σε λιπαρά οξέα	62
Βιβλιογραφία 1 ^{ου} Κεφαλαίου	70
Κεφάλαιο 2ο: Αντιοξειδωτικά.....	75
2.1 Αντιοξειδωτικές ουσίες	75
2.2 Πρωτογενή αντιοξειδωτικά.....	76
2.3 Δευτερογενή αντιοξειδωτικά	78
2.4 Συνεργιστικά συστήματα αντιοξειδωτικών	80
2.5 Συνθετικά και φυσικά αντιοξειδωτικά.....	82
2.6 Τοκοφερόλες	85
2.7 Φλαβονοειδή	89
2.8 Φαινολικά οξέα.....	94
2.9 Αρωματικά φυτά ως πηγές αντιοξειδωτικών.....	96
2.10 <i>Satureja thymbra</i> - Θρούμπι	99
2.11 <i>Rosmarinus officinalis</i> – Δενδρολίβανο	103
Βιβλιογραφία 2ου Κεφαλαίου	112
Κεφάλαιο 3ο: Γαλακτώματα	125
3.1 Εισαγωγή στα γαλακτώματα.....	125

3.2	Δομή γαλακτωμάτων	125
3.3	Γαλακτωματοποιητές.....	129
3.3.1	Γαλακτωματοποιητές μικρού μοριακού βάρους.....	129
3.3.2	Γαλακτωματοποιητές μεγάλου μοριακού βάρους	134
3.4	Σχηματισμός γαλακτώματος	135
3.5	Μέγεθος σταγονιδίων	140
3.6	Παράγοντες που επηρεάζουν την οξείδωση των γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό	141
3.6.1	Επίδραση του είδους και της συγκέντρωσης των λιπαρών	142
3.6.2	Επίδραση του είδους και της συγκέντρωσης του γαλακτωματοποιητή και του pH	146
3.6.3	Παράγοντες που αφορούν στις συνθήκες αποθήκευσης.....	150
3.6.3.1	Επίδραση της συγκέντρωσης του οξυγόνου.....	150
3.6.3.2	Επίδραση της θερμοκρασίας.....	151
3.7	Παρεμπόδιση της οξείδωσης στα γαλακτώματα τροφίμων τύπου έλαιο σε νερό .	152
	<i>Βιβλιογραφία 3^{ov} κεφαλαίου</i>	<i>166</i>
	 Κεφάλαιο 4ο : Ενεργός συσκευασία.....	 175
4.1	Ορισμός ενεργού συσκευασίας.....	175
4.2	Κατηγορίες ενεργού συσκευασίας	176
4.2.1	Δέσμευση οξυγόνου (Oxygen scavengers).....	176
4.2.2	Παγίδευση ή απελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα (Carbon dioxide scavengers and emitters).....	178
4.2.3	Δέσμευση αιθυλενίου (Ethylene scavengers).....	179
4.2.4	Απορρόφηση υγρασίας (Moisture absorbers).....	180
4.2.5	Αντιοξειδωτική συσκευασία (Antioxidant packaging)	181
4.2.6	Αντιμικροβιακή συσκευασία (Antimicrobial packaging).....	183
4.2.7	Απελευθέρωση ή απορρόφηση γεύσεων και οσμών (Release or absorption of flavours and odours).....	185
4.2.8	Μελλοντικές τάσεις και ζητήματα ασφαλείας για την ενεργό συσκευασία.....	185

4.3	Εδώδιμες μεμβράνες - Επικαλυπτικά	187
4.3.1	Εισαγωγή	187
4.3.2	Χρήση εδώδιμων μεμβρανών	188
4.3.3	Συστατικά εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων	190
4.3.3.1	Εδώδιμες μεμβράνες από πρωτεΐνες	192
4.3.3.2	Εδώδιμες μεμβράνες από πολυσακχαρίτες	195
4.3.3.3	Εδώδιμες μεμβράνες από λιπίδια	199
4.3.3.4	Σύνθετες επιστρώσεις	201
4.4	Επίδραση της ενσωμάτωσης αντιοξειδωτικών στις ιδιότητες των εδώδιμων μεμβρανών και των επικαλύψεων	202
4.5	Αντιοξειδωτική δράση εμπλουτισμένων εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων	209
4.6	Εφαρμογές εμπλουτισμένων ενεργών μεμβρανών συσκευασίας για την αντιοξειδωτική προστασία των τροφίμων	215
	<i>Βιβλιογραφία 4^ο κεφαλαίου</i>	227
Κεφάλαιο 5ο: Πειραματική διαδικασία		243
5.1	Σκοπός	243
5.2	Σχεδιασμός πειραματικής διαδικασίας	245
5.3	Πρώτες Ύλες – Αντιδραστήρια	253
5.4	Παραλαβή αιθέριων ελαίων και εκχυλίσματων	255
5.5	Ενσωμάτωση φυσικών αντιοξειδωτικών σε έλαια και δοκιμή επιταχυνόμενης οξείδωσης	258
5.6	Ενσωμάτωση φυσικών αντιοξειδωτικών σε γαλακτώματα τύπου o/w	259
5.7	Βρώσιμη επικάλυψη εμπλουτισμένη με εκχυλίσματα του αρωματικού φυτού <i>S. thymbra</i> για την αντιοξειδωτική προστασία φιλέτων τσιπούρας	261
5.8	Βρώσιμη επικάλυψη εμπλουτισμένη με εκχυλίσματα του αρωματικού φυτού <i>R. officinalis</i> για την αντιοξειδωτική προστασία φιλέτων από καπνιστό χέλι	264
5.9	Ενεργός συσκευασία με εκχυλίσματα του αρωματικού φυτού <i>S. thymbra</i> για την οξειδωτική σταθερότητα τηγανισμένων chips πατάτας	268
5.10	Μέθοδοι ανάλυσης	273

5.9.1	Προσδιορισμός στερεού υπολείμματος.....	273
5.9.2.	Ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών με τη μέθοδο DPPH	273
5.9.3.	Μέθοδος Folin-Ciocalteu	274
5.9.4.	Ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των συστατικών των αιθέριων ελαίων των αρωματικών φυτών της οικογένειας Lamiales με αέρια χρωματογραφία, GC-MS.....	275
5.9.5.	Ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων των αρωματικών φυτών της οικογένειας Lamiales με HPLC-DAD και HPLC-ESI-MS/MS.....	276
5.9.6.	Προσδιορισμός αριθμού υπεροξειδίων (Peroxide Value, PV).....	278
5.9.7.	Προσδιορισμός συζυγών διενίων και τριενίων (Conjugated Dienes, CD).....	280
5.9.8.	Μέθοδος μέτρησης αριθμού p-ανισιδίνης (p – Anisidine Value, p – AV).....	281
5.9.9.	Προσδιορισμός πτητικών προϊόντων οξείδωσης με μικροεκχύλιση σε στερεή φάση και αέρια χρωματογραφία με φασματογράφο μάζας.....	282
5.11	Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων.....	284
	<i>Βιβλιογραφία 5^ο κεφαλαίου</i>	285
	Κεφάλαιο 6ο: Αποτελέσματα – Σχολιασμός αποτελεσμάτων.....	287
6.1	Απόδοση των εκχυλίσεων των αρωματικών φυτών και εκλεκτικότητα στην παραλαβή φαινολικών συστατικών	287
6.2	Χρωματογραφική ανάλυση των συστατικών των εκχυλισμάτων.....	290
6.3	Χρωματογραφική ανάλυση των συστατικών των αιθέριων ελαίων.....	301
6.4	Αντιοξειδωτική δράση εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών κατά την προσθήκη τους σε φυτικά έλαια.....	304
6.4.1.	Επίδραση εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών στην οξείδωση αραβοσιτέλαιου.....	304
6.4.2.	Επίδραση εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών στην οξείδωση φοινικέλαιου....	312
6.5	Επίδραση των εκχυλισμάτων σε γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό (o/w)	317
6.5.1	Γαλακτώματα φοινικέλαιου.....	317
6.5.2	Γαλακτώματα ηλιέλαιου o/w	321

6.5.2.2	Συσχέτιση της αντιοξειδωτικής δράσης με το φαινολικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων.....	332
6.5.2.	Μεταβολές των φαινολικών ενώσεων κατά τη διάρκεια αποθήκευσης των γαλακτωμάτων.....	334
6.6	Αντιοξειδωτική δράση κλασμάτων του αρωματικού φυτού <i>S. thymbra</i> κατά την ενσωμάτωσή τους σε εδώδιμες μεμβράνες για την επικάλυψη ιχθύων.....	339
6.7	Αντιοξειδωτική δράση κλασμάτων του αρωματικού φυτού <i>Rosmarinus officinalis</i> κατά την ενσωμάτωσή τους σε εδώδιμες μεμβράνες για την επικάλυψη ιχθύων..	346
6.8	Επίδραση της ενεργού συσκευασίας με εκχυλίσματα του αρωματικού φυτού <i>Satureja thymbra</i> στην οξειδωτική σταθερότητα chips πατάτας.....	354
6.8.1.	Σύγκριση της αποτελεσματικότητας των εκχυλισμάτων κατά την χρήση τους με διαφορετικούς τρόπους για την αντιοξειδωτική προστασία chips πατάτας.....	355
6.8.2.	Επίδραση της ενεργούς συσκευασίας με διαφορετικές συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων στη οξειδωτική σταθερότητα chips πατάτας.....	361
6.8.3.	Μεταβολές της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων της συσκευασίας κατά την αποθήκευση τηγανισμένων chips πατάτας.....	369
6.9	Συμπεράσματα – Προτάσεις.....	373
	<i>Βιβλιογραφία 6^{ov} κεφαλαίου</i>	377
	Παραρτήματα.....	391
	Παράρτημα I: Χρωματογραφήματα.....	391
	Παράρτημα II: Πρόσθετοι πίνακες.....	397
	Δημοσιεύσεις σε επιστημονικά περιοδικά.....	401

Κεφάλαιο 1ο: Οξείδωση λιπαρών υλών

1.1 Εισαγωγή στην οξείδωση των λιπαρών υλών

Η οξείδωση των λιπαρών υλών στα τρόφιμα είναι μία χημική αντίδραση που λαμβάνει χώρα μεταξύ των ακόρεστων λιπαρών οξέων και του ατμοσφαιρικού οξυγόνου. Τα προϊόντα αυτής της αντίδρασης επηρεάζουν τόσο τις οργανοληπτικές ιδιότητες (γεύση, οσμή) όσο και τη διατροφική αξία των τροφίμων, ώστε πολύ συχνά τα καθιστούν μη αποδεκτά και ακατάλληλα για κατανάλωση. Το χημικό αυτό φαινόμενο παρουσιάζει ιδιαίτερο οικονομικό ενδιαφέρον για τη βιομηχανία τροφίμων, καθώς τα παραπροϊόντα της οξείδωσης υποβαθμίζουν ποιοτικά τόσο τα ίδια τα έλαια, όσο και τα τρόφιμα που περιέχουν λιπαρά, μειώνοντας έτσι τη διατηρησιμότητά τους.

Για τους λόγους αυτούς, τα τελευταία χρόνια έχει γένει εντατική έρευνα για την κατανόηση όχι μόνο των μηχανισμών που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια εξέλιξης αυτού του πολύπλοκου φαινομένου, αλλά και για την ταυτοποίηση των παραπροϊόντων της οξείδωσης και των συνθηκών που επηρεάζουν το σχηματισμό τους (Choe & Min, 2006; Frankel, 2014). Ωστόσο, πριν την αναλυτική περιγραφή του φαινομένου της οξείδωσης κρίνεται σκόπιμο να γίνει μία σύντομη αναφορά στα πιο σημαντικά λιπίδια.

1.2 Γενικά για τα λιπίδια

Μία κατηγορία βασικών θρεπτικών συστατικών των τροφίμων αποτελούν τα λιπίδια. Δεν υπάρχει ένας ευρέως αποδεκτός ορισμός για τα λιπίδια, τα οποία παρουσιάζουν υδρόφοβη συμπεριφορά. Αυτό το χαρακτηριστικό διαλυτότητας, και όχι κάποια κοινή δομική μονάδα, είναι το κύριο γνώρισμα αυτής της ομάδας. Γενικά, με τον όρο λιπίδια περιγράφεται μία κατηγορία ενώσεων διαλυτών κυρίως σε μη πολικούς, οργανικούς διαλύτες και ελάχιστα διαλυτών στο νερό. Τα λιπίδια εμφανίζουν ετερογενή φύση, καθώς δεν έχουν κοινές δομικές μονάδες και έτσι, η ταξινόμησή τους θεωρείται δύσκολη

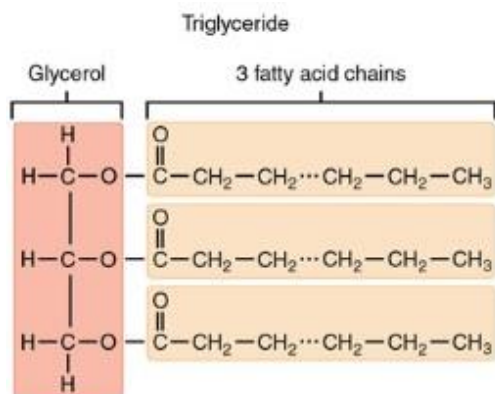
(Θωμόπουλος, 1986, Γεωργάτσος, 1989). Μία κατηγοριοποίηση που έχει προταθεί (Θωμόπουλος, 1986), κατατάσσει τα λιπίδια στις εξής τρεις ομάδες:

- Απλά λιπίδια : εστέρες λιπαρών οξέων με αλκοόλες. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα γλυκερίδια, δηλαδή εστέρες λιπαρών οξέων με γλυκερίνη και οι κηροί, εστέρες λιπαρών οξέων με αλκοόλες εκτός από γλυκερίνη.
- Σύνθετα λιπίδια : ενώσεις που περιέχουν και άλλες πρόσθετες ομάδες σε έναν εστέρα λιπαρού οξέος με μια αλκοόλη. Μερικά σύνθετα λιπίδια είναι τα φωσφατίδια (εστέρες που περιέχουν λιπαρά οξέα, φωσφορικό οξύ και άλλες ομάδες, που συνήθως περιέχουν άζωτο), και τα γλυκολιπίδια (ενώσεις που περιέχουν λιπαρά οξέα, έναν υδατάνθρακα και ένα αζωτούχο τμήμα, αλλά όχι φωσφορικό οξύ).
- Παράγωγα λιπίδια : ουσίες οι οποίες προέρχονται από απλά ή σύνθετα λιπίδια και έχουν γενικές ιδιότητες των λιπιδίων, αλλά και ουσίες που απαντώνται ως έχουν μέσα στα λιπαρά σώματα. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν λιπαρά οξέα, αλκοόλες, υδρογονάνθρακες (π.χ. τερπένια) και λιποδιαλυτές βιταμίνες.

1.3 Τριγλυκερίδια – Λιπαρά οξέα

Τα εδάδιμα λίπη και έλαια αποτελούνται από λιπίδια της πρώτης ομάδας και κυρίως από τριγλυκερίδια. Ως τριγλυκερίδια χαρακτηρίζονται οι εστέρες που περιέχουν ένα μόριο γλυκερίνης ενωμένο με τρία μόρια λιπαρών οξέων, όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.1.

Μπορούν να διακριθούν σε απλά και μικτά τριγλυκερίδια. Στην πρώτη περίπτωση οι τρεις υδροξυλομάδες της γλυκερίνης είναι εστεροποιημένες με το ίδιο λιπαρό οξύ, ενώ στη δεύτερη με διάφορα λιπαρά οξέα. Σε πολύ χαμηλά επίπεδα στα φυτικά έλαια συναντώνται



Σχήμα 1.1: Δομή τριγλυκεριδίου

επίσης και μονογλυκερίδια και διγλυκερίδια, καθώς και στερόλες, τοκοφερόλες, λιποχρωστικές, φωσφατίδια και υδρογονάνθρακες (Θωμόπουλος, 1986; Gunstone, 1996).

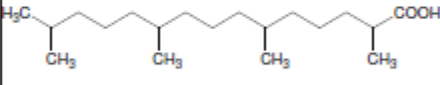
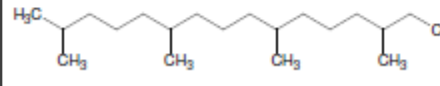
Ανάλογα με τη φυσική τους κατάσταση, τα λίπη σε θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι στερεά ή ημιστερεά, ενώ έλαια ονομάζονται εκείνα τα οποία είναι υγρά. Τέλος, με βάση την πηγή προέλευσής τους διακρίνονται σε φυτικά έλαια (περιέχουν φυτοστερόλες) και σε ζωικά λίπη (περιέχουν ζωοστερόλες).

Τα λιπαρά οξέα διακρίνονται σε διάφορες ομάδες με τη σειρά τους ανάλογα με το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας, τον αριθμό, τη θέση, και τη διαμόρφωση των διπλών δεσμών, εφόσον υπάρχουν, και την ύπαρξη ή μη πρόσθετων ομάδων. Το ευθύγραμμο μέρος της αλυσίδας τους αποτελείται από δύο έως ογδόντα άτομα άνθρακα, με συνηθέστερο αριθμό από δώδεκα έως είκοσι δύο άτομα άνθρακα. Λιπαρά οξέα με περιττό αριθμό ατόμων άνθρακα ή και με διακλαδισμένη ανθρακική αλυσίδα απαντώνται σπανίως στη φύση και σε πολύ μικρά ποσοστά (Πίνακας 1.1). Με βάση την ύπαρξη ή όχι διπλών δεσμών, τα λιπαρά οξέα διακρίνονται σε κορεσμένα και ακόρεστα και ταξινομούνται ανάλογα με τη διαμόρφωση και τη θέση του διπλού δεσμού (**Σφάλμα! Το αρχείο προέλευσης της αναφοράς δεν βρέθηκε.**).

Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα (polyunsaturated fatty acids – PUFA) είναι κυρίως πολυολεφινικές ενώσεις, όπου μεθύλια παρεμβάλλονται μεταξύ των διπλών δεσμών και έχουν cis (Z) διαμόρφωση, αν και υπάρχουν περιπτώσεις trans διαμόρφωσης. Τέλος, τα λιπαρά οξέα σπάνια περιλαμβάνουν πέρα από την καρβοξυλομάδα πρόσθετες ομάδες στο μόριό τους, όπως υδροξυ-, κετο- ή εποξυ- ομάδες.

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), είναι απαραίτητα για την υγεία των ανθρώπων αλλά καθώς δεν μπορεί ο ανθρώπινος οργανισμός να τα συνθέσει, πρέπει να προσληφθούν έτοιμα από τις τροφές.

Πίνακας 1.1: Διάκριση κορεσμένων λιπαρών οξέων σε ομάδες (Belitz et al. 1999).

Συντετημημένος προσδιορισμός	Δομή	Επίσημη ονομασία	Κοινή ονομασία	Σημείο τήξης (°C)
A. Ευθύγραμμες ανθρακικές αλυσίδες λιπαρών οξέων με ζυγό αριθμό ατόμων άνθρακα				
4:0	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH	βουτανικό οξύ	βουτυρικό οξύ	-7.9
6:0	CH ₃ (CH ₂) ₄ COOH	εξανοϊκό οξύ	καπροϊκό οξύ	-3.9
8:0	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH	οκτανοϊκό οξύ	καπρυλικό οξύ	16.3
10:0	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH	δεκανοϊκό οξύ	καπρικό οξύ	31.3
12:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH	δωδεκανοϊκό οξύ	λαυρικό οξύ	44.0
14:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	δεκατετρανοϊκό οξύ	μυριστικό οξύ	54.4
16:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	δεκαεξανοϊκό οξύ	παλμιτικό οξύ	62.9
18:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	δεκαοκτανοϊκό οξύ	στεατικό οξύ	69.6
20:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	εικοσανοϊκό οξύ	αραχιδικό οξύ	75.4
22:0	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH	εικοσιδυανοϊκό οξύ	βεγενικό οξύ	80.0
24:0	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH	εικοσιτετρανοϊκό οξύ	λιγνοκηρικό οξύ	84.2
26:0	CH ₃ (CH ₂) ₂₄ COOH	εικοσιεξανοϊκό οξύ	κηροτικό οξύ	87.7
B. Ευθύγραμμες ανθρακικές αλυσίδες λιπαρών οξέων με μονό αριθμό ατόμων άνθρακα				
5:0	CH ₃ (CH ₂) ₃ COOH	πεντανοϊκό οξύ	βαλερικό οξύ	-34.5
7:0	CH ₃ (CH ₂) ₅ COOH	επτανοϊκό οξύ	ενανθικό οξύ	-7.5
9:0	CH ₃ (CH ₂) ₇ COOH	εννεανοϊκό οξύ	πελαργονικό οξύ	12.4
15:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₃ COOH	δεκαπεντανοϊκό οξύ	-	52.1
17:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₅ COOH	δεκαεπτανοϊκό οξύ	μαργαρικό οξύ	61.3
Γ. Διακλαδισμένες ανθρακικές αλυσίδες λιπαρών οξέων				
		2,6,10,14-τετρα- μέθυλο- δεκαπεντανοϊκό οξύ	πριτανικό οξύ	
		3,7,11,15-τετρα- μέθυλο- δεκαεξανοϊκό οξύ	φυτανικό οξύ	

Πάνω από 1000 λιπαρά οξέα είναι σήμερα γνωστά, ωστόσο ένας μικρός αριθμός τους (20-50) εμφανίζει ιδιαίτερη σημασία για τα λίπη και έλαια (Shahidi, 2005; Gunstone, 1996). Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα που απαντώνται κυρίως στα εδώδιμα λίπη και έλαια έχουν άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα, ο οποίος κυμαίνεται από 4 έως 24. Βέβαια υπάρχουν και περιπτώσεις λιπαρών οξέων με περιττό αριθμό ατόμων άνθρακα σε ζωικά, φυτικά λιπαρά σώματα και ιχθυέλαια, ωστόσο η αναλογία τους δε ξεπερνά το 1-2% του συνόλου της λιπαρής ουσίας. Τα κυριότερα κορεσμένα λιπαρά οξέα είναι το δαφνικό (C₁₂), το μυριστικό (C₁₄), το παλμιτικό (C₁₆) και το στεατικό (C₁₈). Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα διαφοροποιούνται ως προς το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας και το βαθμό ακορεστότητας, καθώς μπορούν να περιέχουν από ένα μέχρι έξι διπλούς δεσμούς. Οι

διπλοί δεσμοί στα ακόρεστα λιπαρά οξέα όλων των εδώδιμων ελαίων έχουν εις διαμόρφωση (Gunstone, 2002). Το παλμιτελαϊκό (C₁₆, Δ₉₋₁₀), το ελαϊκό (C₁₈, Δ₉₋₁₀), το λινελαϊκό (C₁₈, Δ_{9-10, 12-13}), το λινολενικό (C₁₈, Δ_{9-10, 12-13, 15-16}), το αραχιδονικό (C₂₀, Δ_{5-6, 8-9, 11-13, 14-15}) και το ερουκικό (C₂₂, Δ₁₃₋₁₄) αποτελούν τα συνήθη ακόρεστα λιπαρά οξέα. Το σύμβολο Δ στην ονομασία των ακόρεστων λιπαρών οξέων υποδηλώνει το διπλό δεσμό και ο αριθμός που ακολουθεί τη θέση των ατόμων άνθρακα, οι οποίοι ενώνονται με διπλό δεσμό, με την αρίθμηση να ξεκινά από το άτομο άνθρακα της καρβοξυλομάδας (Θωμόπουλος, 1986).

Τα ω-3 λιπαρά οξέα είναι πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Πήραν αυτό το όνομα λόγω του ότι πρώτος διπλός δεσμός εμφανίζεται στο τρίτο άτομο άνθρακα, εν αντιθέσει με τα ω-6 λιπαρά οξέα στα οποία ο πρώτος διπλός δεσμός βρίσκεται στο έκτο άτομο άνθρακα ξεκινώντας τη μέτρηση από το μεθυλενικό άκρο που αναφέρεται ως ωμέγα. Από την ομάδα των ακόρεστων λιπαρών οξέων, το ελαϊκό, C_{18:1} (9), είναι το πιο διαδεδομένο στα ω₃ ακόρεστα λιπαρά οξέα. Περιέχεται σε μεγάλο ποσοστό στο ελαιόλαδο (60 – 80%), στο αμυγδαλέλαιο (60 – 70%), όπως επίσης και στα έλαια πολλών ξηρών καρπών, κάσιους, φυστίκια, καρύδια τύπου μακαντέμια (55 – 75%). Περιέχεται σε μικρότερο ποσοστό στο κραμβέλαιο, στο έλαιο διαφόρων σπόρων (φυστίκια, αμύγδαλα, πεκάν κτλ.), στο φοινικέλαιο και στο ηλιέλαιο.

Το λινελαϊκό οξύ, C_{18:2} (9, 12), χαρακτηρίζει την ομάδα ω₆ λιπαρών οξέων. Περιέχεται σε όλα τα φυτικά λιπαρά, όπως για παράδειγμα στο σογιέλαιο (45 – 60%), στο τροποποιημένο κραμβέλαιο (10 – 30%), στα έλαια από διάφορους ξηρούς καρπούς (15 – 45%), στο έλαιο από φλοιούς ρυζιού (35 – 40%) (ricebran oil), στο βαμβακέλαιο (35 – 60%) και στο σησαμέλαιο (45%). Το λινελαϊκό οξύ είναι απαραίτητο λιπαρό οξύ στη διατροφή των ανθρώπων, καθώς η έλλειψή του συνδέεται με καθυστέρηση της ανάπτυξης και προβλήματα στο δέρμα. Το λινελαϊκό οξύ μετατρέπεται από ένζυμα μέσω αντιδράσεων επιμήκυνσης και οξειδωσης της ανθρακικής αλυσίδας σε γ – λινολενικό οξύ, C_{18:3} (6, 9, 12), και στη συνέχεια σε αραχιδονικό οξύ, C_{20:4} (5, 8, 11, 14), τα οποία ανήκουν ομοίως μαζί με το λινελαϊκό οξύ στα απαραίτητα λιπαρά οξέα. Τα λιπαρά αυτά οξέα είναι υψηλής σπουδαιότητας, αφού είναι οι πρόδρομες ενώσεις σημαντικών μεταβολιτών, όπως οι προσταγλαδίνες (Hoffmann, 1989).

Το λινολενικό οξύ, C18:3 (9, 12, 15), είναι σημαντικό συστατικό των λιπαρών των φύλλων, των μίσχων και του ριζικού συστήματος των φυτών. Απαντάται στο σογιέλαιο, αραβοσιτέλαιο και ηλιέλαιο σε μικρά όμως ποσοστά. Είναι αντιπροσωπευτικό της ομάδας ω3 λιπαρών οξέων, στην οποία περιλαμβάνονται το εικοσιπεντενοϊκό (EPA), C20:5 (5, 8, 11, 14, 17) και εικοσιδυοεξανοϊκό (DHA), C22:6 (4, 7, 10, 13, 16, 19). Η κύρια πηγή EPA και DHA είναι τα ιχθυέλαια, στα οποία περιέχονται σε ποσοστό έως και 30% (Gunstone, 1996).

Πίνακας 1.2: Διάκριση των ακόρεστων λιπαρών οξέων σε ομάδες (Belitz et al. 1999).

Συντεταγμένος προσδιορισμός	Δομή	Κοινή ονομασία	Σημείο τήξης (°C)
A. Λιπαρά οξέα με μη συζυγείς <i>cis</i> διπλούς δεσμούς			
ω9 – λιπαρά οξέα			
18:1 (9)	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-CH ₂ -(CH ₂) ₆ -COOH	ελαϊκό οξύ	13.4
22:1 (13)	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-CH ₂ -(CH ₂) ₁₀ -COOH	ερουκικό οξύ	34.7
24:1 (15)	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-CH ₂ -(CH ₂) ₁₂ -COOH	νερβονικό οξύ	42.5
ω6 – λιπαρά οξέα			
18:2 (9, 12)	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -(CH=CH-CH ₂) ₂ -(CH ₂) ₆ -COOH	λινελαϊκό οξύ	-5.0
18:3 (6, 9, 12)	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -(CH=CH-CH ₂) ₃ -(CH ₂) ₃ -COOH	γ-λινολενικό οξύ	-
20:4 (5, 8, 11, 14)	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -(CH=CH-CH ₂) ₄ -(CH ₂) ₂ -COOH	αραχιδονικό οξύ	-49.5
ω3 – λιπαρά οξέα			
18:3 (9, 12, 15)	CH ₃ -CH ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₃ -(CH ₂) ₆ -COOH	α-λινολενικό οξύ	-11.0
20:5 (5, 8, 11, 14, 17)	CH ₃ -CH ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₅ -(CH ₂) ₂ -COOH	εικοσιπεντενοϊκό οξύ	-
20:6 (4, 7, 10, 13, 16, 19)	CH ₃ -CH ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₆ -CH ₂ -COOH	εικοσιδυοεξανοϊκό οξύ	-
Δ9 – λιπαρά οξέα			
18:1 (9)	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-CH ₂ -(CH ₂) ₆ -COOH	ελαϊκό οξύ	13.4
16:1 (9)	CH ₃ -(CH ₂) ₅ -CH=CH-CH ₂ -(CH ₂) ₆ -COOH	παλμιτελαϊκό οξύ	0.5
14:1 (9)	CH ₃ -(CH ₂) ₃ -CH=CH-CH ₂ -(CH ₂) ₆ -COOH	μυριστελαϊκό οξύ	-
B. Λιπαρά οξέα με μη συζυγείς <i>trans</i> διπλούς δεσμούς			
18:1 (tr9)	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH	ελαϊδικό οξύ	46.0
18:1 (tr9, tr12)	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH	λινελαϊδικό οξύ	28.0
Γ. Λιπαρά οξέα με συζυγείς διπλούς δεσμούς			
18:2 (9, tr11)	CH ₃ -(CH ₂) ₅ -CH=CH-CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH		
18:3 (9, tr11, tr13)	CH ₃ -(CH ₂) ₃ -CH=CH-CH=CH-CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH	α-ελαϊοστεατικό οξύ	48.0
18:3 (tr9, tr11, tr13)	CH ₃ -(CH ₂) ₃ -CH=CH-CH=CH-CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH	β-ελαϊοστεατικό οξύ	71.5
18:4 (9, 11, 13, 15)	CH ₃ -CH ₂ -(CH=CH) ₄ -(CH ₂) ₇ -COOH	παριναρικό οξύ	85.0

Ένα άλλο σημαντικό λιπαρό οξύ στα ω9 λιπαρά οξέα είναι το ερουκικό οξύ, C22:1 (13), το οποίο περιέχεται σε μεγάλο ποσοστό στους σπόρους της οικογένειας *Brassicaceae*, από τους οποίους προκύπτουν το κραμβέλαιο και το σιναπέλαιο. Ωστόσο, εξαιτίας των πιθανών προβλημάτων υγείας που μπορεί να προκαλέσει η κατανάλωση του ερουκικού οξέος, δημιουργήθηκαν νέες ποικιλίες σπόρων για την παραγωγή κραμβέλαιου. Το έλαιο, που προκύπτει από τους σπόρους των νέων ποικιλιών, έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε ερουκικό οξύ και αντίστοιχα υψηλή σε ελαϊκό οξύ και είναι γνωστό ως «τροποποιημένο κραμβέλαιο» (canola oil) (deMan, 1990).

1.4 Οξείδωση των λιπαρών υλών

Τα λιπαρά μπορεί να υποστούν ανεπιθύμητες μεταβολές τόσο ως προς τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά όσο και ως προς την θρεπτικότητά τους. Κύρια αιτία της υποβάθμισης αυτής είναι η οξείδωση των λιπαρών οξέων και κυρίως των πολυακόρεστων. Η οξείδωση τους αποτελεί σοβαρό πρόβλημα για τις βιομηχανίες τροφίμων, διότι έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη ανεπιθύμητων γεύσεων, οσμών και δυνητικά τοξικών προϊόντων. Επίσης οι αλλοιώσεις είναι ικανές να αποτελέσουν κίνδυνο για την υγεία των καταναλωτών (αθηροσκλήρωση, σακχαρώδη διαβήτη, καρκίνο, και αυτοάνοσα νοσήματα) (Saguy et al. 2001; Catala, 2012). Οι συνθήκες επεξεργασίας και αποθήκευσης των τροφίμων που περιέχουν λιπαρά έχουν τον κύριο ρόλο στην ποιοτική υποβάθμιση αυτή. Η οξείδωση των λιπιδίων μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε ενζυμικά είτε μη ενζυμικά, με την τελευταία περίπτωση να διακρίνεται στην αυτοοξείδωση και στη φωτοοξείδωση (Gunstone, 1996).

Η οξειδωτική υποβάθμιση οφείλεται κυρίως στην αυθόρμητη αντίδραση οξείδωσης, γνωστή με τον όρο αυτοοξείδωση (autoxidation). Η αυτοοξείδωση προκαλείται από την αντίδραση των ακόρεστων λιπαρών οξέων με μοριακό οξυγόνο και ολοκληρώνεται μέσω μίας αυτοκαταλυόμενης διαδικασίας, ακολουθώντας μηχανισμό αλυσιδωτών αντιδράσεων μέσω ελευθέρων ριζών (radical chain reaction). Ο βασικός μηχανισμός της αντίδρασης έχει ευρέως μελετηθεί (Frankel, 1980; Gunstone, 1996; Choe

& Min, 2006; Hamilton et al., 1997) και περιλαμβάνει βασικά τρία στάδια: την έναρξη, τη διάδοση και τον τερματισμό.

Στάδιο έναρξης: Κατά την έναρξη σχηματίζεται μια ρίζα υπεροξειδίου ($\text{RO}_2\cdot$), αλκοξυλίου ($\text{RO}\cdot$) ή αλκυλίου ($\text{R}\cdot$) ενός λιπαρού οξέος από την δράση μιας ενεργής ρίζας, που περιέχει συνήθως οξυγόνο και η οποία αποσπά ένα άτομο H, συνήθως από το μεθυλένιο μιας 1,4-πενταδιενικής ομάδας του λιπαρού οξέος (αντίδραση 1). Γενικά, η έναρξη της αυτοξειδωσης μπορεί να οφείλεται σε ελεύθερες ρίζες άγνωστης προέλευσης, ίχνη μετάλλων, επίδραση θέρμανσης ή ακτινοβολίας, οπότε αποσπάται το άτομο H από συγκεκριμένες θέσεις της αλυσίδας του λιπαρού οξέος.

Στάδιο διάδοσης: Η ρίζα του λιπαρού οξέος ($\text{R}\cdot$) που δημιουργήθηκε στο πρώτο στάδιο είναι ιδιαίτερα ασταθής, ώστε να αντιδρά με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο για να σχηματίσει μία υπεροξειδική ρίζα ενός λιπαρού οξέος (αντίδραση 2), με σταθερά ρυθμού αντίδρασης $k_2 = 109 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Η υπεροξειδική ρίζα ή και οι άλλες από το πρώτο στάδιο ($\text{RO}\cdot$, $\text{RO}_2\cdot$), αντιδρά με ένα γειτονικό μόριο λιπαρού οξέος (RH) και σχηματίζεται πάλι μία ελεύθερη ρίζα ($\text{R}\cdot$) και ένα υδροϋπεροξειδίο, ROOH (αντίδραση 3), με σταθερά ρυθμού αντίδρασης $k_3 = 10 - 60 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Λόγω της σταθερότητας των υπεροξειδικών ριζών και με βάση τις τιμές k_2 και k_3 , προκύπτει ότι το περιοριστικό στάδιο στην όλη διαδικασία δημιουργίας νέων ριζών είναι το στάδιο απόσπασης ενός ατόμου υδρογόνου από ένα λιπαρό οξύ (αντίδραση 3) (Belitz & Grosch, 1999). Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για όσο χρονικό διάστημα υπάρχουν διαθέσιμα ακόρεστα λιπαρά οξέα, καθώς η νέα ρίζα που σχηματίζεται δρα με τον ίδιο ακριβώς τρόπο.

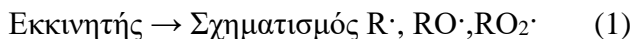
Ο σχηματισμός μια ρίζας $\text{RO}\cdot$ είναι δυνατός και από τη διάσπαση ενός λιπαρού οξέος μέσω ενός μονομοριακού μηχανισμού αντίδρασης, ο οποίος επιταχύνεται παρουσία μετάλλων ή ενώσεων που περιέχουν σίδηρο (αντίδραση 5) (Belitz & Grosch, 1999). Η συγκέντρωση των υδροϋπεροξειδίων φτάνει σε ένα επίπεδο στο οποίο αρχίζει να δημιουργεί ελεύθερες ρίζες μέσω ενός διμοριακού μηχανισμού αποικοδόμησης (αντίδραση 6). Ο μηχανισμός αυτός ωστόσο δεν έχει ιδιαίτερη σημασία καθώς η οξείδωση των λιπαρών σε ένα τρόφιμο, το καθιστά δυσάρεστο στη γεύση και γενικότερα μη αποδεκτό, πολύ πριν η παραγωγή των υδροϋπεροξειδίων φτάσει το απαιτούμενο

επίπεδο, ώστε να επιτευχθεί αυτή η αντίδραση. Οι αντιδράσεις 5 και 6 είναι παράπλευρες αντιδράσεις της αλυσιδωτής αντίδρασης των ελευθέρων ριζών.

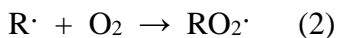
Στάδιο τερματισμού: Στο στάδιο του τερματισμού η αλυσιδωτή αντίδραση τερματίζεται με την αντίδραση δύο υπεροξειδικών ριζών (αντίδραση 9) ενώ όταν το οξυγόνο βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις λαμβάνουν χώρα και οι αντιδράσεις 7 και 8. Σε πολλά τρόφιμα οι αντιδράσεις τερματισμού της οξείδωσης δεν έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον όσο τα δύο προηγούμενα στάδια (έναρξη, διάδοση), καθώς το τρόφιμο έχει ήδη ταγγιστεί, δηλαδή έχει ήδη υποστεί σοβαρές αλλοιώσεις προτού πραγματοποιηθούν οι αντιδράσεις τερματισμού (Chaiyasit, 2007).

Στάδια Αυτοοξείδωσης

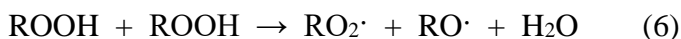
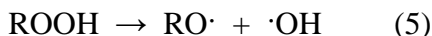
Στάδιο Έναρξης:



Στάδιο Διάδοσης:



Πιθανές παράπλευρες αντιδράσεις :



Στάδιο Τερματισμού:



Όπου R· : ρίζα λιπαρού οξέος, RO₂· : υπεροξειδική ρίζα, ROOH : υπεροξειδίο

Η οξείδωση των λιπαρών τροφίμων επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως από την σύστασή τους σε λιπαρά οξέα, την περιεκτικότητά τους σε προοξειδωτικά αλλά και αντιοξειδωτικά, την επιφάνεια που έρχεται σε επαφή με το οξυγόνο, την ενεργότητα του νερού, την πίεση του οξυγόνου και τη θερμοκρασία (Kolakowska, 2003).

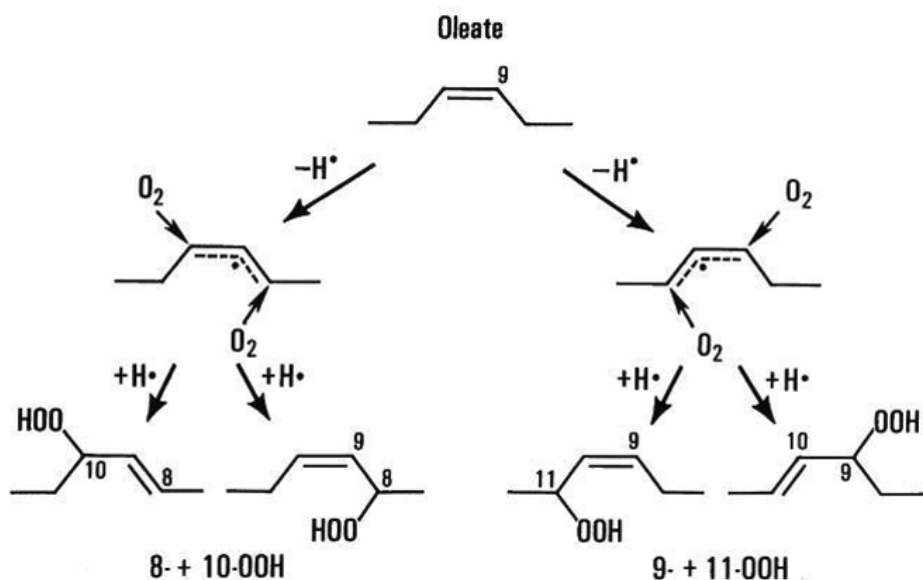
Τα αρχικά προϊόντα της οξείδωσης είναι ανιχνεύσιμα μόνο μετά από μία ορισμένη παρερχόμενη περίοδο αποθήκευσης. Αυτό γίνεται καθώς στην αρχή τα υποστρώματα αντιστέκονται στην οξείδωση. Όταν αυτή η επαγωγική περίοδος ή «περίοδος επώασης» που είναι χαρακτηριστική για μια δεδομένη διαδικασία αυτοοξείδωσης, παρέλθει, εμφανίζεται μία απότομη άνοδος στην ταχύτητα αντίδρασης. Ορισμένα τρόφιμα, περιέχουν ενώσεις με προοξειδωτική δράση σε υψηλή συγκέντρωση και έτσι η περίοδος επώασης σε αυτά τα τρόφιμα μπορεί να είναι σχεδόν ανύπαρκτη.

Στο μηχανισμό αλυσιδωτής αντίδρασης μέσω ελευθέρων ριζών κατά την αυτοοξείδωση ακόρεστων λιπαρών οξέων, το πιο αδιευκρίνιστο στάδιο είναι το στάδιο της έναρξης. Αυτό συμβαίνει διότι η απευθείας αντίδραση ενός λιπαρού οξέος με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο είναι θερμοδυναμικά δύσκολη, καθώς η ενέργεια ενεργοποίησης της αντίδρασης είναι περίπου 35 kcal mol⁻¹ (Nawar, 1985). Ωστόσο, το στάδιο έναρξης μπορεί να προκληθεί λόγω διαφορετικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα, όπως για παράδειγμα η φωτοοξείδωση (μέσω του οξυγόνου σε απλή διηγευμένη κατάσταση – ¹O₂ singlet oxygen), η μεταλλοοξείδωση (π.χ. μέσω ιόντων μετάλλων αίμης), η διάσπαση των υδροϋπεροξειδίων ή οι ενζυμικές αντιδράσεις του ενζύμου λιποξυγενάση (Belitz & Grosch, 1999; Carlsen et al., 2005; Choe & Min, 2006).

1.5 Σχηματισμός πρωτογενών και δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης

Τα προϊόντα της αυτοοξείδωσης των λιπαρών οξέων μπορούν να διακριθούν σε πρωτογενή και δευτερογενή. Στην πρώτη ομάδα ανήκουν τα υδροϋπεροξειδία. Τα πιο σημαντικά υδροϋπεροξειδία που σχηματίζονται προέρχονται από την αυτοοξείδωση του ελαϊκού, λινελαϊκού και λινολενικού οξέος.

Οξείδωση ελαϊκού οξέος

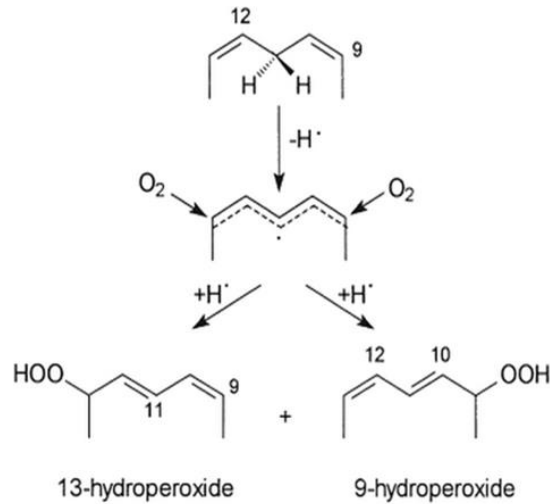


Σχήμα 1.2: Μηχανισμός οξείδωσης ελαϊκού οξέος.

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

υδροϋπεροξειδίου και trans-10-υδροϋπεροξειδίου δεν μεταβάλλονται (Frankel, 2005). Ο μηχανισμός της οξείδωσης του ελαιϊκού οξέος απεικονίζεται στο Σχήμα 1.2.

Οξείδωση λινελαϊκού οξέος



Σχήμα 1.3: Μηχανισμός οξείδωσης λινελαϊκού οξέος.

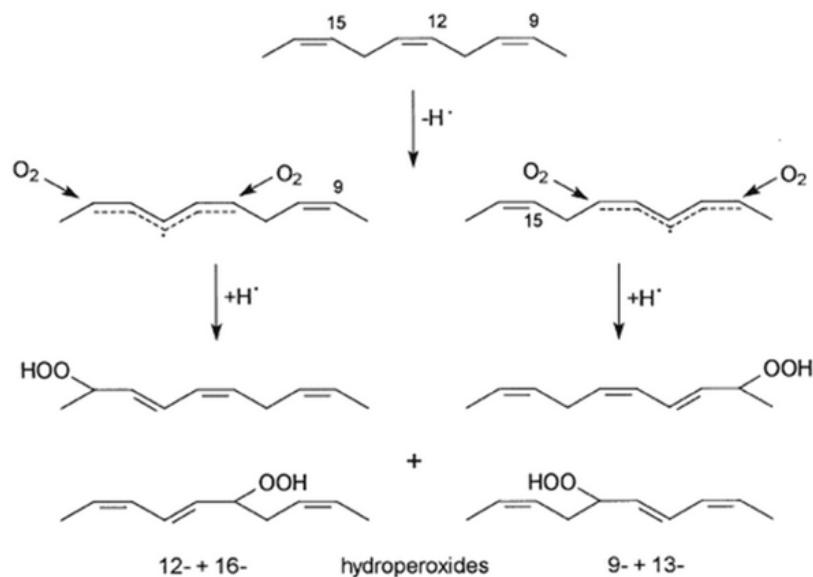
Το λινελαϊκό οξύ, που διαθέτει δύο διπλούς δεσμούς, μπορεί να χάσει υδρογόνο από την δις-αλλυλική θέση, η οποία συγκεκριμένα βρίσκεται στη θέση 11. Έτσι, το οξυγόνο αντιδρά με τον άνθρακα στη θέση 9 και 13, με αποτέλεσμα την παραγωγή του 9-υδροϋπεροξυ-10-12-διενίου και του 13-υδροϋπεροξυ-9-11-διενίου. Ο μηχανισμός της αυτοοξείδωσης του λινελαϊκού οξέος παρουσιάζεται στο Σχήμα 1.3. Τα δύο προϊόντα εμφανίζονται σε ίσες συγκεντρώσεις στα διάφορα στάδια της οξείδωσης, καθώς και σε ένα μεγάλο θερμοκρασιακό εύρος (47-53%) (Frankel, 2005, Hamilton, 1997). Με μελέτες που βασίζονται στην HPLC και την C-NMR έχει διαπιστωθεί πως το κάθε υδροϋπεροξειδίο παρουσιάζει δύο μορφές: cis-trans, trans-trans, με την πρώτη να είναι η επικρατέστερη στα πρώτα στάδια της οξείδωσης και σε χαμηλές θερμοκρασίες, ενώ η περιεκτικότητα της δεύτερης μορφής αυξάνεται με την πορεία της οξείδωσης και την άνοδο της θερμοκρασίας (Frankel, 2005).

Οξείδωση λινολενικού οξέος

Με τον ίδιο μηχανισμό όπως και το λινελαϊκό, το λινολενικό οξύ που διαθέτει δύο δις-αλλυλικές ομάδες στις θέσεις 11 και 14, χάνει υδρογόνο από τις θέσεις αυτές και με την αντίδραση με το οξυγόνο που ακολουθεί παράγονται τα προϊόντα 13-υδροϋπεροξυ-9,11,15-τριένιο, 9-υδροϋπεροξυ-10,12,15-τριένιο και 16-υδροϋπεροξυ-9,12,14-τριένιο, 12-υδροϋπεροξυ-9,13,15-τριένιο, αντίστοιχα. Η πορεία της αυτοοξείδωσης του λινολενικού οξέος φαίνεται στο Σχήμα 1.4. Σύμφωνα με αναλύσεις της οξείδωσης του λινολενικού σε ένα εύρος της πορείας της οξείδωσης του 2-30% και σε ένα θερμοκρασιακό εύρος 25-80°C, το 16-υδροϋπεροξειδίο εμφανίζει την υψηλότερη περιεκτικότητα (43-49%), ακολουθούμενο από το 9-υδροϋπεροξειδίο (29-34%) και τελευταία τα άλλα δύο προϊόντα με περιεκτικότητα 10-12%, το καθένα (Frankel, 2005, Hamilton, 1997). Στην περίπτωση της οξείδωσης του λινολενικού οξέος, η τάση των *cis-trans* ισομερών του να μετατρέπονται σε *trans-trans* είναι πολύ μικρότερη από εκείνη που αναφέρθηκε για τα υδροϋπεροξειδία που αναπτύσσονται κατά την αυτοοξείδωση του λινελαϊκού οξέος (Frankel, 1983).

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

Τα πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης είναι άοσμα και άγευστα, οπότε η ποιότητα των τροφίμων δεν επηρεάζεται από αυτά. Η οξείδωση των τροφίμων γίνεται αντιληπτή όταν σχηματιστούν τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης και κυρίως τα πτητικά προϊόντα, ορισμένα από τα οποία παρουσιάζουν δυσάρεστη οσμή και γεύση και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Πολλά από αυτά είναι ιδιαίτερα ενεργά και μπορούν να προάγουν την οξείδωση των λιπαρών *in vivo*, προκαλώντας πολλές παθήσεις όπως καρκίνο, αθηροσκλήρωση, καρδιακά νοσήματα και αλλεργικές αντιδράσεις (Simic & Karel, 1980).



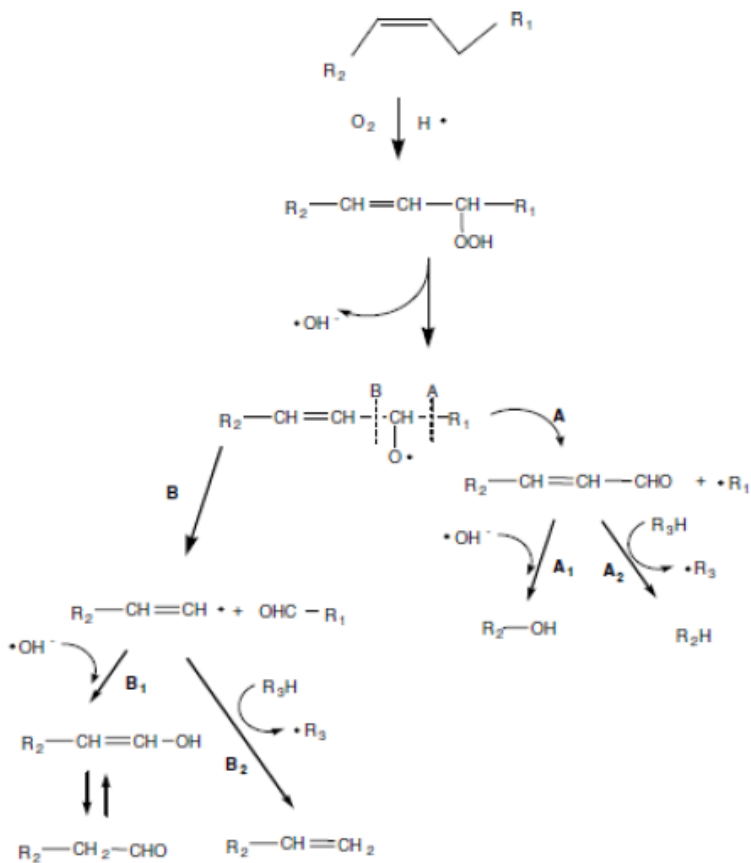
Σχήμα 1.4: Μηχανισμός οξειδωσης λινολενικού οξέος.

Η διάσπαση των υδροϋπεροξειδίων ξεκινά σχεδόν από τη στιγμή που αυτά σχηματίζονται. Στα πρώτα στάδια της αυτοοξειδωσης, ο ρυθμός σχηματισμός τους υπερβαίνει το ρυθμό διάσπασής τους, γεγονός που αντιστρέφεται στα επόμενα στάδια της οξειδωσης. Ωστόσο, ο χρόνος που αρχίζουν να σχηματίζονται τα δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης ποικίλει μεταξύ των διαφορετικών ελαίων. Έτσι μπορεί να σχηματίζονται άμεσα από τη στιγμή που δημιουργούνται τα υδροϋπεροξειδία στο ελαιόλαδο και στην ελαιοκράμβη, ενώ στο ηλιέλαιο, ο σχηματισμός τους ξεκινά από τη στιγμή που ο αριθμός των υδροϋπεροξειδίων έχει φτάσει σε μία ικανοποιητική συγκέντρωση (Guillen & Cabo, 2002).

Το πιο σύνηθες μονοπάτι διάσπασης των υδροϋπεροξειδίων είναι η ομολυτική διάσπαση του δεσμού μεταξύ των ατόμων οξυγόνου, οπότε παράγονται μία αλκοξυ – (RO[•]) και μία υδροξυ – ρίζα (HO[•]). Η ενέργεια ενεργοποίησης για τη διάσπαση του δεσμού μεταξύ ατόμων οξυγόνου είναι 46 kcal/mol χαμηλότερη, από την ενέργεια για τη διάσπαση του δεσμού μεταξύ οξυγόνου και υδρογόνου (90 kcal/mol) (Min & Boff, 2002). Η διάσπαση αυτή επιταχύνεται από την παρουσία ιόντων μετάλλων ή ενώσεων που περιέχουν σίδηρο. Εν συνεχεία, η αλκοξυ-ρίζα υφίσταται ομολυτική β-σχάση του δεσμού μεταξύ των ατόμων άνθρακα κοντά στο διπλό δεσμό (

Σχήμα 1.5). Ειδικότερα, η διαίρεση αυτή μπορεί να γίνει είτε στο δεσμό, ο οποίος συνδέει την ομάδα CH-OOH με τους άνθρακες του διπλού δεσμού (θέση B), είτε στο δεσμό, ο οποίος την συνδέει με το αμέσως γειτονικό αλκύλιο (θέση A). Η τελευταία ευνοείται ενεργειακά καθώς οδηγεί στο σχηματισμό οξυγονούχων ενώσεων που σταθεροποιούνται με συντονισμό, όπως επίσης σε κορεσμένες και ακόρεστες αλκοξυρίζες (R'). Η διαίρεση στη θέση A, οδηγεί στο σχηματισμό μίας ένωσης που περιέχει οξυγόνο και μίας αλκυλικής ρίζας. Η διαίρεση στη θέση B οδηγεί στο σχηματισμό ολεφινικής ρίζας και μίας οξο-αλκυλικής ένωσης.

Ο μηχανισμός που λαμβάνει έπειτα χώρα είναι είτε η προσθήκη μίας υδροξυρίζας (HO•), είτε η προσθήκη ενός ατόμου υδρογόνου (H⁺), οπότε σχηματίζονται τα δευτερογενή προϊόντα της οξείδωσης. Τα κυριότερα δευτερογενή προϊόντα παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.3.



Σχήμα 1.5: Διάσπαση υδροϋπεροξειδίων προς δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης (Min & Boff. 2002).

Ο σχηματισμός ενώσεων όπως π.χ. η εξανάλη, μπορεί να προκύψει, είτε άμεσα από τη διάσπαση του μονοϋδροϋπεροξειδίου του λινελαϊκού οξέος, είτε έμμεσα από περαιτέρω διάσπαση των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης (αλδεΐδες, κετόνες κτλ). Οι ακόρεστες αλδεΐδες μπορεί να οξειδωθούν περαιτέρω σε υδρογονάνθρακες και αλδεΐδες μικρότερου μοριακού βάρους και διαλδεΐδες.

Πίνακας 1.3: Τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης (αλδεΐδες, αλκοόλες, οξέα, υδρογονάνθρακες) που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της αυτοοξείδωσης, από τα υδροϋπεροξειδία του ελαϊκού, λινελαϊκού και λινολενικού οξέος (Nawar, 1985; Frankel, 1982; Kezler et al., 2000).

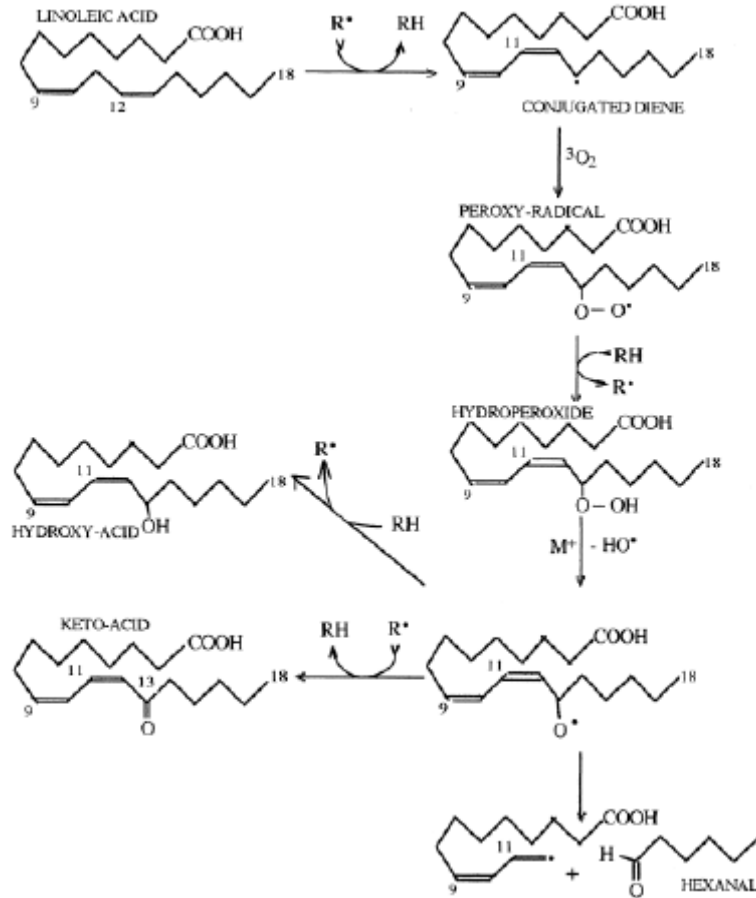
Λιπαρό οξύ	ROOH	Θέση διπλού δεσμού	Δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης
Ελαϊκό	8-OOH	9	2-ενδεκανάλη, δεκανάλη, δεκενάλη, μεθυλεστέρας του επτανοϊκού οξέος, 1-δεκένιο
	9-OOH	10	εννεανάλη, 2-δεκενάλη, εστέρας του οκτανοϊκού οξέος, μεθυλεστέρας του 9-οξο-εννεανοϊκού οξέος, 1-εννένιο
	10-OOH	8	1-οκτανόλη, εννεανάλη, μεθυλεστέρας του 9-οξο-εννεανοϊκού οξέος, μεθυλεστέρας του 10-οξο-δεκανοϊκού οξέος, οκτάνιο
	11-OOH	9	1-επτανόλη, οκτανόλη, επτανάλη, οκτανάλη, μεθυλεστέρας του 10-οξο-δεκανοϊκού οξέος, επτάνιο
	8-OOH	9, 12	
	9-OOH	10, 12	επτανάλη, 2-επτανάλη, 2-επτανόνη, επτανοϊκό οξύ, οκτανοϊκό οξύ, 2-εννεανάλη, 3-εννεανάλη, 2,4-εννεαδιενάλη, 2,4-δεκαδιενάλη
	10-OOH	8, 12	2-επτενάλη, οκτάνιο
	12-OOH	9, 13	

Λινελαϊκό	13-OOH	9, 11	Πεντάνιο, 1-πεντανόλη, πεντανάλη, πεντανοϊκό οξύ, εξανάλη, εξανοϊκό οξύ, 2,4-δεκαδιενάλη, μεθυλεστέρας του οκτανοϊκού οξέος, μεθυλεστέρας του 9-οξο-εννεανοϊκού οξέος, μεθυλεστέρας του 9, 11-δωδεκανοϊκού οξέος, εστέρας του 12-οξο-10-δωδεκανοϊκού οξέος, μεθυλεστέρας του 13-οξο-9,11-δεκατριαδινοϊκού οξέος
	14-OOH	9, 12	
Λινολενικό	9-OOH	10, 12, 15	3,6-εννεαδιενάλη, 2,4,7-δεκατριενάλη
	10-OOH	8, 12, 15	οκτάνιο
	12-OOH	9, 13, 15	3-εξενάλη, 2,4-επταδιενάλη
	13-OOH	9, 11, 15	2-πεντενάλη, 3-εξενάλη, αιθάνιο, αιθυλένιο
	15-OOH	9, 12, 16	
	16-OOH	9, 12,14	προπανάλη

Έτσι, από την αυτοοξειδωση της 2,4 – δεκαδιενάλης προκύπτουν η εξανάλη και άλλες ενώσεις, όπως άλλωστε και από την οξειδωση του λινελαϊκού οξέος. Το γεγονός ότι η εξανάλη δεν παράγεται άμεσα κατά την αποθήκευση λιπών και ελαίων που περιέχουν σε μεγάλο ποσοστό το λινελαϊκό οξύ, σε σύγκριση με το πεντάνιο και τη 2,4 – δεκαδιενάλη, ενισχύει την παραπάνω υπόθεση, ότι δηλαδή προέρχεται και από τη διάσπαση της 2,4 – δεκαδιενάλης. Οι 2 – αλκενάλες και οι 2,4 – αλκαδιενάλες οξειδώνονται ταχύτερα από τα ακόρεστα λιπαρά οξέα. Ο σχηματισμός της εξανάλης από την οξειδωση του λινελαϊκού οξέος απεικονίζεται στο Σχήμα 1.6.

Τέλος, στα δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης συγκαταλέγονται, πέρα από τις καρβονυλικές ενώσεις, τα αλκάνια και τα αλκένια. Οι πιο συχνοί πτητικοί υδρογονάνθρακες που σχηματίζονται είναι το αιθάνιο και το πεντάνιο. Το πεντάνιο

προέρχεται από την ομολυτική β-σγάση του 13-OOH του λινελαϊκού οξέος ενώ το αιθάνιο από την αντίστοιχη του 16-OOH του λινολενικού οξέος.



Σχήμα 1.6: Το χημικό «μονοπάτι» παραγωγής εξανάλης από το λινελαϊκό οξύ (Wheatley, 2000).

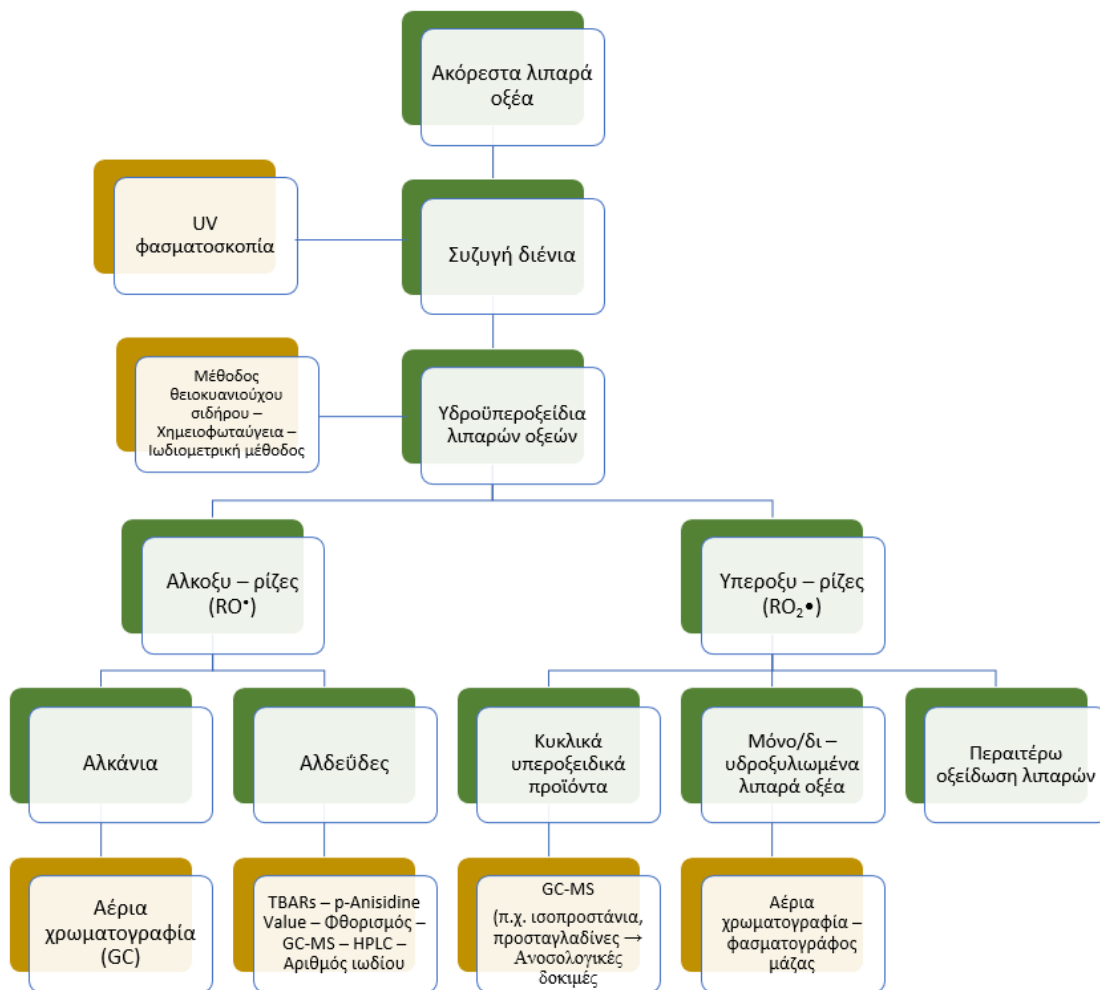
1.6 Μέθοδοι μέτρησης των προϊόντων της οξείδωσης των λιπαρών υλών

Ποικίλες μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί για τον προσδιορισμό της οξείδωσης των λιπιδίων στα τρόφιμα. Αλλαγές σε φυσικές, χημικές καθώς και οργανοληπτικές ιδιότητες στα λίπη και έλαια κατά τη διάρκεια της οξείδωσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν, ώστε να εκτιμηθεί ο βαθμός της οξείδωσης. Αυτό που πρέπει να επισημανθεί είναι ότι καμία

μέθοδος δεν είναι κατάλληλη για να μετρήσει όλα τα προϊόντα της οξειδωσης απευθείας, καμία δεν είναι κατάλληλη για όλα τα στάδια της οξειδωσης και καμία δεν είναι κατάλληλη για ανάλυση όλων των τροφίμων. Για το λόγο αυτό, συνιστάται ο συνδυασμός μεθόδων, ώστε να υπάρχει μία ολοκληρωμένη παρακολούθηση του φαινομένου της οξειδωσης. Οι διαθέσιμες μέθοδοι προσδιορισμού των προϊόντων της οξειδωσης μπορεί να κατηγοριοποιηθούν σε δύο μεγάλες ομάδες. Οι μέθοδοι της πρώτης ομάδας μετρούν τα πρωτογενή προϊόντα της οξειδωσης και της δεύτερης τα δευτερογενή, αντίστοιχα. Στο Σχήμα 1.7, παρουσιάζονται οι μέθοδοι μέτρησης των προϊόντων της οξειδωσης των λιπαρών οξέων *in vitro* και *in vivo*.

Οι απόψεις των ερευνητών διαφέρουν σχετικά με το ποιος είναι ο πιο ολοκληρωμένος συνδυασμός για την πλήρη παρακολούθηση του φαινομένου της οξειδωσης. Η ανάλυση των υδροϋπεροξειδίων πραγματοποιείται όταν μελετάται ολόκληρη η πορεία της οξειδωσης και συνήθως συνδυάζεται με την αξιολόγηση δευτερογενών προϊόντων οξειδωσης όπως η MDA (Kerrihard et al., 2015). Η μέτρηση των συζυγών διενίων είναι μια ευαίσθητη μέθοδος για την παρακολούθηση των πρώιμων σταδίων της οξειδωσης των λιπαρών (Sun et al., 2011) και έχει εφαρμοστεί ευρέως σε προϊόντα κρέατος, καθώς είναι γρήγορη και απλή (Pegg, 2001). Η ανάλυση TBARS είναι η πιο κοινή δοκιμή για την παρακολούθηση της οξειδωσης των λιπαρών στο κρέας και τα προϊόντα του (Pegg, 2001). Οι Reitznerová et al. (2017) συνέκριναν την κλασική μέθοδο TBARS με ένα πρωτόκολλο HPLC-DAD για τον ποσοτικό προσδιορισμό της MDA που προέρχεται από δινιτροφαινυλδραζίνη και τόνισαν τα οφέλη της χρωματογραφικής μεθόδου σε σχέση με την αντίστοιχη ρουτίνας. Η ανίχνευση πτητικών ενώσεων χρησιμοποιείται ευρέως για την αξιολόγηση της οξειδωσης των λιπαρών υλών λόγω των πλεονεκτημάτων της παροχής πληροφοριών σχετικά με την έκταση της οξειδωτικής υποβάθμισης και τον αντίκτυπο στις οργανοληπτικές ιδιότητες των τροφίμων. Το προφίλ λιπαρών οξέων του τροφίμου μπορεί να επηρεάσει την αξιοπιστία των δεικτών οξειδωσης. Οι Shahidi et al. (2002) ανέφεραν ότι η μέτρηση της παραγόμενης εξανάλης είναι κατάλληλος δείκτης οξειδωσης για προϊόντα πλούσια σε ω-6 λιπαρά οξέα, ενώ η προπανάλη για προϊόντα κρέατος με υψηλά επίπεδα ω-3 λιπαρών οξέων.

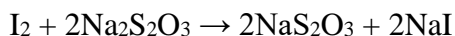
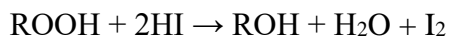
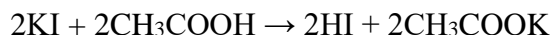
Παρακάτω παρουσιάζονται οι βασικές αρχές των μεθόδων μέτρησης των προϊόντων της οξείδωσης, οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διδακτορική διατριβή. Από αυτές ο προσδιορισμός του αριθμού των υπεροξειδίων και των συζυγών διενίων αναφέρονται στα πρωτογενή προϊόντα της οξείδωσης, ενώ η μέθοδος προσδιορισμού του αριθμού της p-ανισιδίνης και η μέτρηση των πτητικών προϊόντων με αέρια χρωματογραφία στα δευτερογενή. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της κατανάλωσης του οξυγόνου.



Σχήμα 1.7: Μέθοδοι μέτρησης των προϊόντων οξείδωσης.

Αριθμός υπεροξειδίων (Peroxide Value, PV)

Καθώς τα υδροϋπεροξειδία αναπτύσσονται κατά τα πρώτα στάδια της οξείδωσης των λιπιδίων, η μέθοδος του αριθμού υπεροξειδίων είναι κατάλληλη για να παρέχει μια πρώτη ένδειξη για τον ταγγισμό τροφίμων. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για τη μέτρηση του αριθμού υπεροξειδίου. Η κλασική μέθοδος ποσοτικοποίησης των υδροϋπεροξειδίων είναι η ιωδιομετρική μέθοδος (AOCS, Official Method Cd 8-53 και η παραλλαγή της Cd 8b-90), η οποία βασίζεται στη μέτρηση του ιωδίου που παράγεται από το ιωδιούχο κάλιο υπό την παρουσία υπεροξειδίων στο τρόφιμο. Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιείται αντίδραση μεταξύ των υδροϋπεροξειδίων (ROOH) και του ιόντος του ιωδίου (I⁻). Η ποσότητα του ελεύθερου ιωδίου (I₂) που παράγεται μετριέται με τιτλοδότηση με θειοθειικό νάτριο (Na₂S₂O₃) χρησιμοποιώντας ως δείκτη άμυλο και είναι στοιχειομετρικά ανάλογη της συγκέντρωσης των υδροϋπεροξειδίων που έχουν αναπτυχθεί στο τρόφιμο (Akoḥ & Min, 2008). Οι χημικές αντιδράσεις, οι οποίες πραγματοποιούνται σε φάση διαλυτών οξικού οξέος-χλωροφορμίου ή οξικού οξέος-ισοοκτανίου, είναι οι εξής:



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

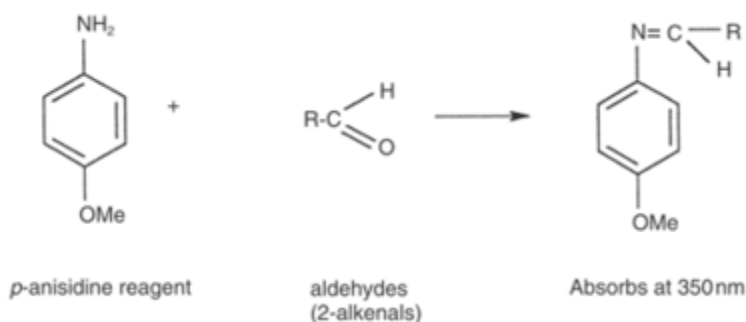
Η ιωδιομετρική μέθοδος για τον προσδιορισμό του αριθμού υπεροξειδίων είναι εφαρμόσιμη για όλα τα καθαρά λίπη και έλαια, παρόλα τα μειονεκτήματα που παρουσιάζει. Μερικά από αυτά είναι οι πιθανές αντιδράσεις προσθήκης του ιωδίου στα ακόρεστα λιπαρά οξέα και η απελευθέρωση του ιωδίου από το ιωδιούχο κάλιο με την

παρουσία οξυγόνου στο διάλυμα που τιτλοδοτείται. Τα αποτελέσματα της μέτρησης επηρεάζονται επίσης από τη δομή και τη δραστικότητα των υπεροξειδίων (Akoḥ & Min, 2008). Επιπλέον, αποτελεί μια εμπειρική μέθοδο και όποια παραλλαγή στη διαδικασία μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στα αποτελέσματα. Τέλος, εμφανίζει δυσκολίες στη μέτρηση χαμηλών τιμών υπεροξειδίων, λόγω δυσκολίας εντοπισμού του τελικού σημείου τιτλοδότησης. Για την επίλυση του τελευταίου προβλήματος έχει αναπτυχθεί μια τροποποίηση στην ιωδιομετρική μέθοδο. Κατά την τροποποίηση αυτή, η διαδικασία της τιτλοδότησης μπορεί να αντικατασταθεί από μια ηλεκτροχημική τεχνική, στην οποία το ιώδιο που παράγεται ανάγεται σε ηλεκτρόδιο λευκόχρυσου (Akoḥ & Min, 2008).

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

Ο αριθμός της p-ανισιδίνης αφορά στη μέτρηση αλδευδών σε ένα τρόφιμο, και συγκεκριμένα εκείνες οι οποίες είναι ακόρεστες (κυρίως τις 2-αλκενάλες). Για να γίνει ο συγκεκριμένος προσδιορισμός, ένα διάλυμα της λιπαρής ύλης σε ισοοκτάνιο αντιδρά με την p-ανισιδίνη, η οποία έχει διαλυθεί σε οξικό οξύ, δίνοντας ένα κίτρινο χρώμα. Τέλος, μετράται η απορρόφηση στα 350 nm, πριν και μετά την αντίδραση. Η αντίδραση δίνεται στο Σχήμα 1.8.

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



Σχήμα 1.8: Αντίδραση *p*-ανισιδίνης με αλκενάλες.

Δείκτης TOTOX

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

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

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

Μέθοδος Συζυγών Διενίων (Conjugated Dienes Assay – CD)

Η φασματοσκοπία υπεριώδους ακτινοβολίας χρησιμοποιείται κυρίως για τον προσδιορισμό των συζυγών δεσμών. Η οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σχετίζεται άμεσα με αύξηση της απορρόφησης στην περιοχή του υπεριώδους φάσματος ακτινοβολίας. Αυτό συμβαίνει διότι στα πρώτα στάδια της οξείδωσής τους, συμβαίνει μετατόπιση των θέσεων των διπλών δεσμών. Η μετατόπιση αυτή λαμβάνει χώρα καθώς χάνεται ένα άτομο υδρογόνου από τη μεθυλενομάδα που βρίσκεται μεταξύ δύο διπλών δεσμών της κύριας ανθρακικής αλυσίδας του λιπαρού οξέος. Το ηλεκτρόνιο της ενδιάμεσης ρίζας που σχηματίζεται μετατοπίζεται, για να σχηματίσει μία από τις δύο πιθανές δομές συζυγών διενίων. Υπό αυτή τη μορφή τα συστατικά αντιδρούν με το

μοριακό οξυγόνο, για να σχηματίσουν τελικά συζυγή υπεροξειδία, με αποτέλεσμα την άμεση συσχέτιση των συζυγών μορφών με το βαθμό οξειδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων.

Τα μέγιστα απορρόφησης των συζυγών διενίων και τριενίων εμφανίζονται στα 232 - 234 nm (IUPAC 2.505, 1987) και 268 nm, αντίστοιχα. Η μέτρηση των συζυγών διενίων μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της οξειδωτικής σταθερότητας των τροφίμων, σε αντικατάσταση ή επιπρόσθετα του αριθμού υπεροξειδίων (Shahidi & Wanasundara, 2002). Η μέθοδος χρησιμοποιείται συχνά λόγω της ευκολίας της και παρά τις ασάφειες που υπάρχουν στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων, μπορεί να είναι χρήσιμη στην παρακολούθηση των αλλαγών των λιπιδίων υπό διαφορετικές συνθήκες (Kolakowska, 2003).

Προσδιορισμός πτητικών προϊόντων με αέρια χρωματογραφία (GC-MS)

Τα πτητικά δευτερογενή προϊόντα, π.χ. αλδεΐδες, κετόνες, μπορούν να προσδιοριστούν αρκετά εύκολα με αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC), η οποία συχνά συνδυάζεται με φασματομετρία μάζας (Mass Spectrometer, MS). Το σημαντικότερο πρόβλημα που αντιμετωπίζει ο αναλυτής είναι η επιλογή και βελτιστοποίηση της τεχνικής ανάκτησης των πτητικών ενώσεων από την οξειδωμένη λιπαρή ύλη. Για την απομόνωση των πτητικών ενώσεων, πολλές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί και μπορούν να εφαρμοστούν, όπως απευθείας έγχυση του δείγματος, δυναμική και στατική απομόνωση των πτητικών προϊόντων από τον υπερκείμενο χώρο του δείγματος (dynamic & static headspace), μέθοδος απομάκρυνσης και παγίδευσης των πτητικών από το δείγμα (purge and trap) και μέθοδος μικροεκχύλισης σε στερεή φάση (solid-phase microextraction – SPME).

Η τεχνική SPME αναπτύχθηκε από τους Arthur και Pawliszyn (1990) και αποτελεί μία νέα μέθοδο προετοιμασίας δειγμάτων, η οποία απαλείφει τα περισσότερα από τα μειονεκτήματα που εμφανίζουν οι υπόλοιπες μέθοδοι απομόνωσης πτητικών ενώσεων. Αυτό συμβαίνει, διότι είναι γρήγορη, φθηνή, δεν απαιτεί ιδιαίτερη προετοιμασία του δείγματος, ούτε τη χρήση διαλυτών, είναι εύκολη στην εφαρμογή και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μεγάλο αριθμό δειγμάτων. Η προσρόφηση των πτητικών ενώσεων πραγματοποιείται σε ένα ειδικού πληρωτικού υλικού.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την απομόνωση των ουσιών με την τεχνική SPME είναι ο τύπος της ίνας, ο οποίος πρέπει να επιλέγεται με βάση το είδος των ενώσεων που πρόκειται να απομονωθούν, η θερμοκρασία, η ιονική ισχύς, το pH, ο όγκος και η ανάδευση ή μη του δείγματος. Οι παράγοντες αυτοί πρέπει να βελτιστοποιούνται πριν από την ανάλυση ορισμένου δείγματος.

Η μέθοδος SPME έχει πολλά πλεονεκτήματα, αφού είναι κατάλληλη για την απομόνωση πτητικών προϊόντων σε υδατικά διαλύματα, στερεά, υγρά και αέρια δείγματα. Μία ίνα μπορεί να απομονώσει διαφορετικά πτητικά προϊόντα, ενώ η επιλεκτικότητα επιτυγχάνεται με τη χρήση ινών με διαφορετικά πληρωτικά υλικά. Κάθε ίνα είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί για περισσότερες από πενήντα φορές και μπορεί να ανιχνεύσει ουσίες ακόμη και σε ίχνη (Jung & Ebeler, 2003; Sala et al., 2002; Mallouchos et al., 2002).

Ως βασικά μειονεκτήματα της μεθόδου αναφέρονται η ευθραυστότητα των ινών, η θερμοκρασία εκρόφησης, που πρέπει να είναι χαμηλότερη από τη μέγιστη θερμοκρασία αντοχής της ίνας, όπως άλλωστε και το pH του δείγματος. Ένα τελευταίο μειονέκτημα αναφέρεται στην απομόνωση πτητικών ουσιών που δεν υπάρχουν σε ένα δείγμα και που οφείλεται σε επιμολύνσεις, λόγω μη σωστού καθαρισμού της ίνας. Ωστόσο, τα μειονεκτήματα αυτά δεν μπορεί να υπερκεράσουν τα πλεονεκτήματα από τη χρήση της (Prosen & Zupančič-Kralj, 1999; Murray, 2001).

Εν συνεχεία, η ταυτοποίηση των πτητικών προϊόντων μπορεί να επιτευχθεί μέσω σύγκρισης των χρόνων κατακράτησης διαλυμάτων πρότυπων ενώσεων ή στην περίπτωση που ο αέριος χρωματογράφος συνδέεται με φασματογράφο μάζας (GC-MS), μέσω της σύγκρισης των θραυσμάτων της άγνωστης ουσίας με εκείνα των γνωστών ενώσεων, όπως έχουν καταχωρηθεί στις βιβλιοθήκες του μηχανήματος. Τέλος, η ποσοτικοποίηση των ουσιών αυτών μπορεί να γίνει είτε με τη βοήθεια καμπυλών αναφοράς πρότυπων ουσιών, είτε με τη βοήθεια εσωτερικού προτύπου γνωστής συγκέντρωσης.

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

Τα κυριότερα έλαια που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων είναι φυτικής προέλευσης, όπως το αραβοσιτέλαιο, το βαμβακέλαιο, το σογιέλαιο, το φοινικέλαιο και το ηλιέλαιο. Στον Πίνακα 1.4 παρουσιάζεται η σύσταση σε λιπαρά οξέα των κυριότερων φυτικών ελαίων. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στο φοινικέλαιο και στο ηλιέλαιο, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στον κύριο όγκο των πειραμάτων της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Υπάρχει μεγάλη ποικιλία φυτικών ελαίων λόγω της διαφορετικής περιεκτικότητας τους σε τριγλυκερίδια και λιπαρά οξέα. Η οξειδωτική σταθερότητα των ελαίων επηρεάζεται κυρίως από τη σύστασή τους σε λιπαρά οξέα και συγκεκριμένα από το βαθμό της ακορεστότητάς τους. Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας είναι τα αντιοξειδωτικά και κατά κύριο λόγο οι τοκοφερόλες που υπάρχουν στα έλαια (Kamal-Eldin, 2006). Η ευπάθεια των λιπαρών οξέων αυξάνεται με την αύξηση του βαθμού ακορεστότητας. Έτσι, η σειρά οξειδωτικής σταθερότητας των κυριότερων λιπαρών οξέων που συναντώνται στα έλαια είναι η εξής (Carvalho de Souza et al. 2009):

παλμιτικό και στεατικό > ελαϊκό > λινολεϊκό > λινολενικό

Η επιστημονική ονομασία του φυτού από τους σπόρους του οποίου παράγεται το ηλιέλαιο είναι *Helianthus annuus*. Καλλιεργείται κυρίως στην Ουκρανία, στην Ευρώπη (Γαλλία, Ισπανία, Ιταλία), στην Αργεντινή, στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (Μινεσότα, Ντακότα) και στην Κίνα. Οι σπόροι του φυτού περιέχουν χαμηλό ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων, ενώ σε μεγάλο ποσοστό (70 %) περιέχουν λινελαϊκό οξύ. Ωστόσο έχουν δημιουργηθεί και ποικιλίες του φυτού (HighSun™, Sunola™), οι σπόροι των οποίων περιέχουν σε μεγαλύτερο ποσοστό (80 %) ελαϊκό οξύ (Gunstone, 1996). Χρησιμοποιείται κυρίως στη μαγειρική ή στις σαλάτες και στην παραγωγή μαργαρινών.

Το ακατέργαστο ηλιέλαιο είναι οπτικά αδιαφάνες, ενώ το εξευγενισμένο είναι διαυγές και έχει απαλό κίτρινο χρώμα. Έχει μία ελαφρώς δυσάρεστη οσμή, η οποία απαλείφεται κατά τη διεργασία της απόσμησης. Οι βασικές ποιοτικές παράμετροι του

ηλιέλαιου κυμαίνονται ως εξής: ειδικό βάρος 0.915 – 0.919, δείκτης διάθλασης 1.472 – 1.474, αριθμός ιωδίου 125 – 136, αριθμός σαπωνοποίησης 188 – 194, ασαπωνοποίητο κλάσμα < 1.5 % (Sonntag, 1979). Το ηλιέλαιο, το οποίο παράγεται από σπόρους του φυτού, οι οποίοι έχουν μείνει αποθηκευμένοι για μακρό χρονικό διάστημα, περιέχει μικρό ποσοστό ελευθέρων ριζών, που ευθύνονται για την υποβάθμιση της οξειδωτικής του σταθερότητας (Sonntag, 1979).

Πίνακας 1.4: Λιπαρά οξέα (%w/v) στα κυριότερα φυτικά έλαια (Gunstone, 1996).

Φυτικό έλαιο	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
Αραβοσιτέλαιο	13	3	31	52	1
Βαμβακέλαιο	27	2	18	51	ίχνη
Ελαιόλαδο	10	2	78	7	1
Φοινικέλαιο	44	4	40	10	ίχνη
Σησαμέλαιο	9	6	38	45	1
Ηλιέλαιο	6	5	20	69	ίχνη
Καρδαμέλαιο	7	3	14	75	-
Σογιέλαιο	11	4	22	53	8

Το κυριότερο φυσικό αντιοξειδωτικό στο ηλιέλαιο είναι οι τοκοφερόλες, ενώ στη βιομηχανική επεξεργασία, τα συνθετικά αντιοξειδωτικά που προστίθενται συνήθως είναι η τριτοταγής βουτυλο – υδροξυανισόλη (BHA – butylated hydroxyanisole), και η τριτοταγής βουτυλο – υδροξυκινόνη (TBHQ – tertiary butyl hydroquinone).

Το φοινικέλαιο, χρησιμοποιείται ως τρόφιμο πάνω από 5000 χρόνια και παράγεται κατά κύριο λόγο στην Αφρική και τη Νοτιοανατολική Ασία, καθώς και σε περιοχές προς Νότιας Αμερικής με πολύ χαμηλό κόστος παραγωγής και μεγάλη αποδοτικότητα καλλιεργειών. Το φοινικέλαιο παράγεται από τον πολτό των φρούτων

από 3 διαφορετικά είδη φοινίκων: *Elaeis guineensis*, *Cocos nucifera*, *Orbignya speciosa* τα χαρακτηριστικά των οποίων παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.5.

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

Πίνακας 1.5: Χαρακτηριστικά φοινικοπυρηνέλαιων (Belitz et al., 1999).

	Ελαιοφοίνικας (<i>Elaeis guineensis</i>)	Κοκοφοίνικας (<i>Cocos nucifera</i>)	Φοίνικας Μπαμπάσου (<i>Orbignya speciosa</i>)
Περιεκτικότητα του πυρήνα σε λάδι (% κ.β)	40-52	63-70	67-69
Εύρος σημείου τήξης λίπους (°C)	23-30	20-28	22-26
Μέση σύσταση σε λιπαρά οξέα(% κ.β)			
8:0	6	8	4,5
10:0	4	6	7
12:0	47	47	45
14:0	16	18	16
16:0	8	9	7
18:0	2,5	2,5	4
18:1 (9)	14	7	14
18:2 (9,12)	2,5	2,5	2,5

Τόσο το φοινικέλαιο όσο και τα προϊόντα του, κυρίως η φοινικελαΐνη, χρησιμοποιούνται ευρέως για την παρασκευή τηγανισμένων προϊόντων. Οι παράγοντες που οδηγούν σε αυτή τη χρήση είναι η χαμηλή τιμή του, η μεγάλη διαθεσιμότητα, η υψηλή οξειδωτική και θερμική σταθερότητα καθώς και η ποιότητα και η αρεστή γεύση από τους καταναλωτές. Η υψηλή θερμική και οξειδωτική σταθερότητα είναι ιδιαίτερα σημαντικές για τα τηγανητά τρόφιμα καθότι απορροφούν σημαντική ποσότητα ελαίου κατά το τηγάνισμα αλλάζοντας έτσι την σύνθεσή τους σε λιπαρά οξέα και κατ' επέκταση τις οξειδωτικές τους ιδιότητες. Συγκεκριμένα τα τσιπς πατάτας από 0.1 % λίπους φτάνουν το 40 % μετά από τηγάνισμα. Επίσης το φοινικέλαιο προκαλεί μια λιπαρή, κηρώδη υφή στα τρόφιμα κυρίως όταν έχει κρύο καθώς έχει σημείο τήξης τους 38.7 °C. Το πιο δημοφιλές εμπορικό έλαιο τηγανίσματος είναι το φοινικέλαιο που έχει προέλθει από κλασμάτωση. Ως αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι τα τριγλυκερίδια υψηλής τήξης να απομακρύνονται και οι ενώσεις χαμηλής τήξης να εμπλουτίζουν το έλαιο. Κατ' αυτόν τον τρόπο παραλαμβάνεται έλαιο με μεγάλο ποσοστό ακόρεστων λιπαρών οξέων και μικρό ποσοστό κορεσμένων.

Στη συνέχεια καταγράφεται η σύσταση ορισμένων ελαίων στα παραπάνω λιπαρά οξέα και δίνεται μια σύγκρισή τους ως προς την οξειδωτική τους σταθερότητα με κριτήριο το περιεχόμενό τους σε λιπαρά οξέα. Τα έλαια που καταγράφονται αφορούν σε έλαια που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διδακτορική διατριβή, αλλά και άλλα εξίσου μεγάλης σημασίας και καθημερινώς χρησιμοποιούμενα.

Αραβοσιτέλαιο

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

Σογιέλαιο

Το σογιέλαιο εμφανίζει υψηλή περιεκτικότητα σε λινελαϊκό οξύ (48-59%) και χαμηλότερη περιεκτικότητα σε λινολενικό οξύ (4.5-10%) (El-Nakhlawy & Shiboob, 2011; Carvalho de Souza et al. 2009; Kamal-Eldin, 2006; Köckritz & Martin, 2008). Παρόλο που τα δύο αυτά λιπαρά οξέα είναι ιδιαίτερα μεγάλης σημασίας για τη διατροφή του ανθρώπου, είναι η αιτία για την οξειδωτική αστάθεια του συγκεκριμένου ελαίου (Gunstone, 2002).

Ηλιέλαιο

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

Βαμβακέλαιο

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

Φοινικέλαιο

Η σύσταση του φοινικέλαιου σε πολυακόρεστα και κορεσμένα λιπαρά οξέα βρίσκεται στα ίδια επίπεδα. Το παλμιτικό (44-50%) και το ελαϊκό (36-40%) είναι τα κυριότερα λιπαρά οξέα, ακολουθούμενα από το λινελαϊκό (9-11%), ενώ το λινολενικό οξύ βρίσκεται σε ίχνη. Τα χαμηλά επίπεδα σε λινελαϊκό και η σχεδόν απουσία του

λινολενικού καθιστούν το φοινικέλαιο σχετικά σταθερό ως προς την οξείδωση (El-Nakhlawy & Shiboob, 2011; Kamal-Eldin, 2006; Gunstone, 2002). Η οξειδωτική σταθερότητα του φοινικέλαιου είναι ο λόγος για τον οποίο θεωρείται κατάλληλο έλαιο για τηγάνισμα (Gunstone, 2002).

Στον Πίνακα

Πίνακας καταγράφονται οι μέσες περιεκτικότητες των κύριων λιπαρών οξέων, καθώς και των ολικών κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων στα παραπάνω έλαια, σύμφωνα με μελέτη των El-Nakhlawy & Shiboob (2011).

Πίνακας 1.6: Μέσες τιμές λιπαρών οξέων (%) σε διάφορα είδη ελαίων.

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

Σύμφωνα με τα στοιχεία του Πίνακα 1.6, τα έλαια θα μπορούσαν να ταξινομηθούν ως εξής:

- ως προς τα ολικά κορεσμένα λιπαρά οξέα:
ηλιέλαιο < σογιέλαιο < αραβοσιτέλαιο < βαμβακέλαιο < φοινικέλαιο
- ως προς τα ολικά ακόρεστα λιπαρά οξέα:
φοινικέλαιο < βαμβακέλαιο < αραβοσιτέλαιο < σογιέλαιο < ηλιέλαιο
- ως προς τα ολικά μονο-ακόρεστα λιπαρά οξέα:
βαμβακέλαιο < ηλιέλαιο < σογιέλαιο < αραβοσιτέλαιο < φοινικέλαιο
- ως προς τα ολικά πολυ-ακόρεστα λιπαρά οξέα:
φοινικέλαιο < αραβοσιτέλαιο < βαμβακέλαιο < σογιέλαιο < ηλιέλαιο
- ως προς το λινελαϊκό οξύ:
φοινικέλαιο < αραβοσιτέλαιο < βαμβακέλαιο, σογιέλαιο < ηλιέλαιο
- ως προς το λινολενικό οξύ:
φοινικέλαιο, βαμβακέλαιο < αραβοσιτέλαιο, ηλιέλαιο < σογιέλαιο

Συμπερασματικά, το φοινικέλαιο είναι το πιο σταθερό ως προς την οξειδωση, καθώς εμφανίζει τη χαμηλότερη περιεκτικότητα στο συνολικό αριθμό των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, αλλά και πολύ χαμηλές τιμές μεμονωμένα στο λινολενικό και στο λινελαϊκό οξύ, τα οποία είναι τα πιο ασταθή έναντι της οξειδωσης. Το αραβοσιτέλαιο φαίνεται να είναι το αμέσως επόμενο σταθερότερο έλαιο, με περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και λινελαϊκό οξύ συγκριτικά μικρότερη από τα βαμβακέλαιο, ηλιέλαιο και σογιέλαιο. Επίσης, εμφανίζει πολύ χαμηλή τιμή σε λινολενικό οξύ. Ακολουθούν το βαμβακέλαιο και το σογιέλαιο, ενώ το ηλιέλαιο παρουσιάζει τη μεγαλύτερη αστάθεια ως προς την οξειδωση, με την υψηλότερη σύσταση

σε πολυακόρεστα και λινελαϊκό και τη μικρότερη περιεκτικότητα σε κορεσμένα οξέα. Ίδια συμπεράσματα προκύπτουν και από την μελέτη του Kamal-Eldin (2006), καθώς χαρακτηριστικά φαίνεται η πολύ χαμηλότερη τιμή του φοινικέλαιου ως προς το λινελαϊκό οξύ (10.3%) συγκριτικά με την υψηλή τιμή του ασταθούς ηλιέλαιου (64.4%), αλλά και σε σχέση με το βαμβακέλαιο (55.5%) και το σογιέλαιο (52.6%).

Βιβλιογραφία 1^{ου} Κεφαλαίου

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

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

Akoh, C. C., & Min, D. B. (2008). Antioxidants. *Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology*, 409–435.

AOCS SURPLUS Method Cd 8-53, Declared Surplus 2003, Peroxide Value – Acetic Acid – Chloroform Method

AOCS Official Method Cd 8b-90, Reapproved 2017, Peroxide Value – Acetic Acid – Isooctane Method

Baron, C. P., Bro, R., Skibsted, L. H., & Andersen, H. J. (1997). Direct measurement of lipid peroxidation in oil-in-water emulsions using multiwavelength derivative UV-spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(5), 1741–1745.

Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (1999). Lipids. Chapter 3. Food chemistry, 152–236.

Carlsen, C. U., Møller, J. K., & Skibsted, L. H. (2005). Heme-iron in lipid oxidation. *Coordination Chemistry Reviews*, 249(3-4), 485–498.

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

Catalá, A. (2012). Lipid peroxidation modifies the picture of membranes from the “Fluid Mosaic Model” to the “Lipid Whisker Model”. *Biochimie*, 94(1), 101–109.

Choe, E., & Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 5(4), 169–186.

DeMan, J. (1990). Principles of Food Chemistry. London, New York.

Chaiyasit, W., Elias, R. J., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2007). Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. *Critical reviews in food science and nutrition*, 47(3), 299–317.

Christensen, T. C. & Hoelmer, G. (1996). Lipid oxidation determination in butter and dairy spreads by HPLC. *Journal of food science*, 61(3), 486–489.

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

Fernández, J., Pérez-Álvarez, J. A., & Fernández-López, J. A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food chemistry*, 59(3), 345–353.

Frankel, E. N. (1980). Lipid oxidation. *Progress in lipid research*, 19(1-2), 1–22.

Frankel, E. N. (2005). Lipid oxidation. Bridgewater.

Frankel, E. N. (2014). Lipid oxidation. Elsevier.

Guillén, M. D., & Cabo, N. (2002). Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chemistry*, 77(4), 503–510.

Gunstone F. (1996). Fatty acid and Lipid Chemistry, Blackie Academic & Professional, London, U.K., p. 1–204

Gunstone F. (2002). Vegetable oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses, Blackwell publishing, USA, p. 18–296

Hamilton, R. J., Kalu, C., Prisk, E., Padley, F. B., & Pierce, H. (1997). Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chemistry*, 60(2), 193–199.

Hoffmann, G. (1989). The chemistry of edible fats. The chemistry and technology of edible oils and fats and their high fat products. Academic Press, London, 1–28.

Jung, D. M., & Ebeler, S. E. (2003). Headspace solid-phase microextraction method for the study of the volatility of selected flavor compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(1), 200–205.

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

Karel, M. (1980). Lipid oxidation, secondary reactions, and water activity of foods. Ch. 12. *Autoxidation in Food and Biological Systems*, MG Simic and M. Karel, 191.

Kerrihard, A. L., Nagy, K., Craft, B. D., Beggio, M., & Pegg, R. B. (2015). Oxidative stability of commodity fats and oils: modeling based on fatty acid composition. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(8), 1153–1163.

Kolakowska, A. (2003). Lipid oxidation in food systems. *Chemical and functional properties of food lipids*, 133–165.

Köckritz, A., & Martin, A. (2008). Oxidation of unsaturated fatty acid derivatives and vegetable oils. *European journal of lipid science and technology*, 110(9), 812–824.

Mallouchos, A., Komaitis, M., Koutinas, A., & Kanellaki, M. (2002). Investigation of volatiles evolution during the alcoholic fermentation of grape must using free and immobilized cells with the help of solid phase microextraction (SPME) headspace sampling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3840–3848.

Min, D. B., & Boff, J. M. (2002). Lipid oxidation of edible oil. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker-*, 335–364.

Murray, R. A. (2001). Limitations to the use of solid-phase microextraction for quantitation of mixtures of volatile organic sulfur compounds. *Analytical Chemistry*, 73(7), 1646–1649.

Nawar, W. W. (1985). Chemistry of thermal oxidation of lipids. *Flavor chemistry of fats and oils*, 39–60.

Pegg, R. B. (2001). Spectrophotometric measurement of secondary lipid oxidation products. *Current protocols in food analytical chemistry*, 1(1), D2–4.

Prosen, H., & Zupančič-Kralj, L. (1999). Solid-phase microextraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 18(4), 272–282.

Porter, N. A. (1986). Mechanisms for the autoxidation of polyunsaturated lipids. *Accounts of Chemical Research*, 19(9), 262–268.

Reitznerová, A., Šuleková, M., Nagy, J., Marcincák, S., Semjon, B., Čertík, M., & Klemková, T. (2017). Lipid peroxidation process in meat and meat products: A comparison study of malondialdehyde determination between modified 2-thiobarbituric

acid spectrophotometric method and reverse-phase high-performance liquid chromatography. *Molecules*, 22(11), 1988.

Sun, Y. E., Wang, W. D., Chen, H. W., & Li, C. (2011). Autoxidation of unsaturated lipids in food emulsion. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(5), 453–466.

Uzan-Saguy, C., Reznik, A., Cytermann, C., Brener, R., Kalish, R., Bustarret, E., Bernard, M., Deneuille, A., Gheeraert, E. & Chevallier, J. (2001). Hydrogen diffusion in B-ion-implanted and B-doped homo-epitaxial diamond: passivation of defects vs. passivation of B acceptors. *Diamond and related materials*, 10(3-7), 453–458.

Sala, C., Mestres, M., Martí, M. P., Busto, O., & Guasch, J. (2002). Headspace solid-phase microextraction analysis of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in wines. *Journal of Chromatography A*, 953(1–2), 1–6.

Shahidi, F., & Wanasundara, U. N. (2002). Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 465–488.

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

Sonntag, N. O. V. (1979). Composition and characteristics of individual fats and oils. *Bailey's industrial oil and fat products*, 1, 289–477.

Κεφάλαιο 2ο: Αντιοξειδωτικά

2.1 Αντιοξειδωτικές ουσίες

Για να προστατευτούν τα τρόφιμα που περιέχουν λιπαρά από την οξείδωση είναι απαραίτητο να ελαχιστοποιείται η έκθεσή τους στον αέρα, στο φως και σε υψηλές θερμοκρασίες κατά την παρασκευή και αποθήκευσή τους. Σημαντικό ρόλο στην προφύλαξη των τροφίμων από την οξείδωση διαδραματίζει και η χρήση των αντιοξειδωτικών. Ως αντιοξειδωτικό ορίζεται οποιαδήποτε ουσία, η οποία σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε σύγκριση με εκείνες του υποστρώματος, καθυστερεί σημαντικά ή αναστέλλει την οξείδωσή του. Επομένως, τα αντιοξειδωτικά συμβάλλουν στη βελτίωση της ποιότητας των τροφίμων και στην παράταση της διάρκειας ζωής τους. Μπορεί να υπάρχουν φυσικά στα τρόφιμα ή να προστίθενται σε αυτά κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας τους.

Όλα τα αντιοξειδωτικά τα οποία χρησιμοποιούνται σε τρόφιμα και συστήματα τροφίμων είναι αναγκαίο να ικανοποιούν κάποιες συγκεκριμένες απαιτήσεις. Τα αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται στα συστήματα τροφίμων πρέπει να έχουν χαμηλό κόστος, να μην είναι τοξικά, να είναι αποτελεσματικά σε χαμηλές συγκεντρώσεις, σταθερά στο τελικό προϊόν και ικανά να αντέξουν στις συνθήκες επεξεργασίας και αποθήκευσης των τροφίμων. Το χρώμα, η γεύση και η οσμή, επίσης, πρέπει να είναι ελάχιστα.

Τα διάφορα αντιοξειδωτικά δρουν με διαφορετικό τρόπο κατά τη διάρκεια της οξείδωσης των λιπαρών οξέων. Έτσι, μπορούν να συμβάλουν στη μείωση της συγκέντρωσης του οξυγόνου, να εμποδίζουν τις αντιδράσεις έναρξης της αυτοοξείδωσης με το να δεσμεύουν ρίζες, να δημιουργούν σύμπλοκες ενώσεις με τα μέταλλα, να διασπούν τα προϊόντα της οξείδωσης σε σταθερά ανενεργά προϊόντα ή τέλος να εμποδίζουν τις αντιδράσεις διάδοσης της αυτοοξείδωσης δρώντας ανταγωνιστικά στην απόσπαση υδρογόνου από τα ακόρεστα λιπαρά οξέα.

Ανάλογα με το μηχανισμό της δράσης τους τα αντιοξειδωτικά διακρίνονται σε πρωτογενή, δευτερογενή και συνεργιστικά (Laguette et al., 2007). Επίσης, υπάρχει και

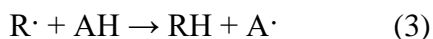
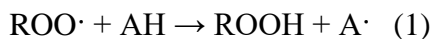
μία άλλη ταξινόμηση, η οποία κατηγοριοποιεί τα αντιοξειδωτικά σε φυσικά και συνθετικά (Gunstone, 1996).

2.2 Πρωτογενή αντιοξειδωτικά

Τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά ή αντιοξειδωτικά τύπου I ή αντιοξειδωτικά που διασπούν την αλυσιδωτή αντίδραση της αυτοξειδωσης, είναι δέκτες ελευθέρων ριζών ή δότες ηλεκτρονίων, τα οποία καθυστερούν ή παρεμποδίζουν το στάδιο έναρξης ή διακόπτουν το στάδιο διάδοσης της αυτοξειδωσης.

Τα υδροϋπεροξειδία που παράγονται κατά την αυτοξειδωση είναι ασταθή και μπορούν να αποικοδομηθούν για να παράγουν ρίζες που επιταχύνουν περαιτέρω το στάδιο της διάδοσης. Η αποικοδόμηση του υδροϋπεροξειδίου επίσης οδηγεί στις ανεπιθύμητες οσμές και τις γεύσεις που σχετίζονται με τον ταγγισμό σε μεταγενέστερα στάδια οξείδωσης.

Τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά λόγω μεγαλύτερης χημικής συγγένειας με τα υπεροξειδία, αντιδρούν κυρίως με αυτά παρά με τα λιπίδια, και γι' αυτό τείνουν να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες που παράγονται κατά τα στάδια έναρξης και διάδοσης της αυτοξειδωσης. Επιπλέον, δρουν ανταγωνιστικά με τα λιπαρά οξέα στην προσφορά ατόμων υδρογόνου κυρίως στις υπεροξειδικές αλλά και στις αλκοξυ-ρίζες. Έτσι, κατά τη διάρκεια του πρώτου σταδίου, την έναρξη, τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά (AH) προσφέρουν ένα άτομο υδρογόνου (H) στην υπεροξειδική ($\text{ROO}\cdot$), αλκοξυ- ($\text{RO}\cdot$) ή αλκυλο- ($\text{R}\cdot$) ρίζα του λιπαρού οξέος που σχηματίζεται, οπότε παράγονται σταθερές ενώσεις (ROOH , ROH , RH) και ελεύθερες ρίζες του αντιοξειδωτικού ($\text{A}\cdot$), οι οποίες είναι σχετικά σταθερές και δεν προάγουν περαιτέρω την οξείδωση (αντιδράσεις 1, 2, 3). Αυτό συμβαίνει, διότι η ρίζα του αντιοξειδωτικού έχει πολύ μικρή ικανότητα να αντιδράσει με το οξυγόνο ή τα ακόρεστα λιπαρά οξέα και να αποσπάσει ένα άτομο υδρογόνου από αυτά. Επομένως, παρεμποδίζεται το στάδιο της διάδοσης της αυτοξειδωσης. Η ρίζα του αντιοξειδωτικού σταθεροποιείται με μετατόπιση των ασύζευκτων ηλεκτρονίων σε ένα φαινολικό δακτύλιο συνήθως, ώστε να σχηματιστούν σταθερά συντονισμένα υβρίδια.



Οι ρίζες των αντιοξειδωτικών ($\text{A}\cdot$) είναι ικανές να τερματίσουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις της οξείδωσης, αντιδρώντας με υπεροξειδικές ($\text{ROO}\cdot$), αλκόξυ- ($\text{RO}\cdot$) ή άλλες αντιοξειδωτικές ρίζες ($\text{A}\cdot$), όπως απεικονίζεται στις αντιδράσεις 4, 5 και 6.



Τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά είναι περισσότερο αποτελεσματικά, όταν προστίθενται στην αρχή της οξείδωσης, στην περίοδο επώασης και στο στάδιο της έναρξης, παρά όταν έχει ήδη ξεκινήσει το στάδιο της διάδοσης. Αυτό συμβαίνει, διότι η δράση τους δεν ευνοείται σε λιπαρά τα οποία περιέχουν μεγάλο αριθμό υπεροξειδίων, οπότε και ο ρυθμός κατανάλωσής τους είναι ταχύς.

Τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά είναι μονο- ή πολυ-φαινόλες με ποικίλες υποκαταστάσεις στους δακτυλίους. Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα πρωτογενή αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα είναι συνθετικές ενώσεις. Παραδείγματα τέτοιων αντιοξειδωτικών περιλαμβάνουν τη βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA), το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT), τον γαλλικό προπυλεστέρα (PG) και την τριτοταγή βουτυλυδροκινόνη (TBHQ). Ωστόσο, μερικά φυσικά συστατικά των τροφίμων λειτουργούν επίσης ως πρωτογενή αντιοξειδωτικά και προστίθενται συνήθως στα τρόφιμα.

Οι φαινολικές ενώσεις είναι μια κύρια ομάδα δευτεροταγών μεταβολιτών στα φυτά τα οποία είναι παράγωγα της πεντόξης, του φωσφορικού άλατος και των φαινυλπροπανοειδών στα φυτά. Διακρίνονται στα φαινολικά οξέα, τα φαινολικά διτερπένια και τα φλαβονοειδή. Αυτές οι ενώσεις βρίσκονται συνδυασμένες με μονο- και πολυσακχαρίτες, συνδεδεμένες με μια ή περισσότερες φαινολικές ομάδες ή μπορούν να εμφανιστούν ως παράγωγα, όπως εστέρες ή μεθυλεστέρες. Πολλές έρευνες έχουν δείξει

ότι υπάρχει μια ισχυρή θετική συσχέτιση ανάμεσα στα περιεχόμενα των φαινολικών ενώσεων και της αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυτών. Αυτός ο αντιοξειδωτικός μηχανισμός, που εμφανίζεται στα φυτά, έχει σημαντικό ρόλο στη μείωση της λιπιδικής οξείδωσης στους ιστούς, γιατί όταν συμπεριληφθεί στην ανθρώπινη διατροφή, όχι μόνο μειώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης ασθενειών αλλά βελτιώνει και την ποιότητα των τροφίμων (Minatel et al., 2017). Επιπλέον, αυτές οι ενώσεις παρουσιάζουν ένα μεγάλο εύρος φυσικών ιδιοτήτων, όπως αντι-αλλεργιογόνα, αντιθρομβωτικά, αντι-φλεγμονώδη, αντιμικροβιακά και αντιοξειδωτικά (Balasundram et al., 2006).

2.3 Δευτερογενή αντιοξειδωτικά

Τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά ή αντιοξειδωτικά τύπου II ή τα παρεμποδιστικά αντιοξειδωτικά μπορεί να δράσουν με ποικίλους μηχανισμούς, καθυστερώντας το ρυθμό της αυτοοξείδωσης των λιπαρών οξέων. Ωστόσο, δεν μετατρέπουν τις ελεύθερες ρίζες σε σταθερά προϊόντα όπως τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά.

Τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά μπορεί να σχηματίσουν σύμπλοκες ενώσεις με μέταλλα (chelators), τα οποία έχουν προ-οξειδωτική δράση και να τα απενεργοποιήσουν, να διασπάσουν τα υδροϋπεροξειδία προς ανενεργά προϊόντα (hydroperoxide decomposers) ή να παρεμποδίσουν τη διάσπασή τους (hydroperoxide decomposition inhibitors), να αποδιεγείρουν το $^1\text{O}_2$ (single oxygen quenchers), ή να δράσουν ως δεσμευτές οξυγόνου (oxygen scavengers). Πολύ συχνά, τα δευτερογενή αντιοξειδωτικά ονομάζονται και συνεργιστικά αντιοξειδωτικά, αφού προάγουν τη δράση των πρωτογενών αντιοξειδωτικών, αναπληρώνοντας στα τελευταία το άτομο υδρογόνου που προσφέρουν κατά τη δράση τους και συντελώντας έτσι στον ανασχηματισμό τους.

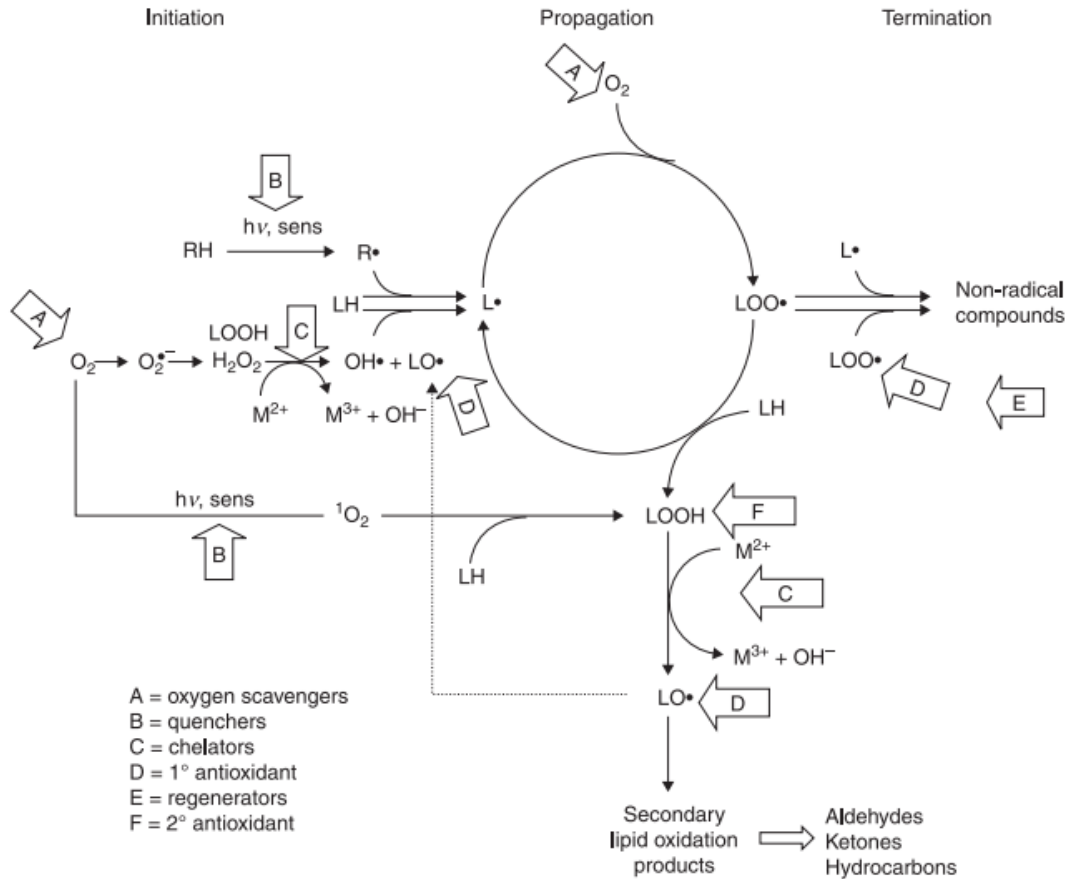
Οι πιο σημαντικές δράσεις των δευτερογενών αντιοξειδωτικών είναι η ικανότητά τους να δημιουργούν σύμπλοκες ενώσεις με τα ιόντα μετάλλων, να δεσμεύουν το οξυγόνο και να αποδιεγείρουν το $^1\text{O}_2$ και αυτές θα περιγραφούν παρακάτω.

Ο σχηματισμός σύμπλοκων ενώσεων με τα μέταλλα έχει ως συνέπεια τη μείωση του προ-οξειδωτικού τους χαρακτήρα, με το να μειώνεται το οξειδοαναγωγικό τους δυναμικό και να σταθεροποιείται η οξειδωτική μορφή του μετάλλου. Έτσι, το μέταλλο δεν μπορεί να συμμετάσχει σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής και η ενέργεια

ενεργοποίησης των αντιδράσεων έναρξης αυξάνεται. Το κιτρικό, το οξαλικό, το ηλεκτρικό, το μαλλικό, το τρυγικό και το φωσφορικό οξύ, καθώς και το EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) είναι ενώσεις που μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκες ενώσεις με μέταλλα. Οι παραπάνω ενώσεις προστίθενται στα τρόφιμα, όχι μόνο για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Έτσι, το κιτρικό, μαλλικό και τρυγικό οξύ προστίθενται στα τρόφιμα ως μέσα οξίνισης, ενώ τα φωσφορικά άλατα χρησιμοποιούνται επιπλέον για την παρασκευή ρυθμιστικών διαλυμάτων, ως γαλακτωματοποιητές και ως δεσμευτές υγρασίας. Επίσης, οι παραπάνω ουσίες μπορεί να παρουσιάζουν συνεργιστικές ιδιότητες με τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά.

Ενώσεις όπως το ασκορβικό οξύ, ο παλμιτεστέρας του ασκορβικού οξέος, το ερυθροβικό οξύ (ή D – ασκορβικό οξύ) και τα σουλφίδια παρεμποδίζουν την οξείδωση των λιπαρών οξέων με το να δεσμεύουν το οξυγόνο και να δρουν ως αναγωγικές ενώσεις, προσφέροντας άτομα υδρογόνου. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία σε τρόφιμα, τα οποία περιέχουν διαλυμένο οξυγόνο ή υπάρχει οξυγόνο στον υπερκείμενο χώρο της συσκευασίας τους.

Τέλος, ορισμένες ενώσεις αποδιεγείρουν το $^1\text{O}_2$, το οποίο είναι ιδιαίτερα ενεργό και είναι υπεύθυνο για τη φωτοοξείδωση τύπου II των ακόρεστων λιπαρών οξέων. Αυτό επιτυγχάνεται, διότι πραγματοποιείται μεταφορά ενέργειας στις ενώσεις αυτές από το $^1\text{O}_2$, το οποίο μετατρέπεται σε $^3\text{O}_2$. Η μεταφορά ενέργειας έχει ως αποτέλεσμα την αποσύζευξη των δύο ηλεκτρονίων του διπλού δεσμού και τον απεντοπισμό τους μέσω των αποκαθιστάμενων δομών συντονισμού. Περαιτέρω αποτέλεσμα αυτού είναι η δημιουργία της διηγερμένης μορφής των ενώσεων, οι οποίες επανέρχονται στην αρχική τους κατάσταση με αποβολή της ενέργειας υπό μορφή θερμότητας. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα καροτενοειδή: β-καροτένιο, λυκοπένιο και λουτεΐνη, τα οποία είναι ιδιαίτερα δραστικά σε συνθήκες χαμηλής μερικής πίεσης του οξυγόνου. Μία ολοκληρωμένη παρουσίαση των μηχανισμών της οξείδωσης και της δράσης των αντιοξειδωτικών δίνεται στο Σχήμα 2.1.



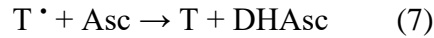
Σχήμα 2.1 Σφαιρική θεώρηση των σταδίων της οξείδωσης και της αλληλεπίδρασης των αντιοξειδωτικών σε καθένα από αυτά (Nahas, 2012).

2.4 Συνεργιστικά συστήματα αντιοξειδωτικών

Ένας γενικός κανόνας που περιγράφει τα συνεργιστικά συστήματα αντιοξειδωτικών αναφέρεται σε μίγματα αντιοξειδωτικών με διαφορετικό μηχανισμό δράσης (Schuler, 1990). Τα συστήματα αυτά έχουν ως αποτέλεσμα τη χρήση μικρότερης συγκέντρωσης από κάθε αντιοξειδωτικό, η οποία όμως οδηγεί σε αυξημένη δραστηριότητα σε σύγκριση με τη δράση καθενός αντιοξειδωτικού στην ίδια συγκέντρωση (Abdalla & Roozen, 1999; Kiokias & Gordon, 2004).

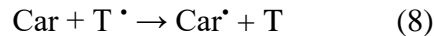
Πολλά από τα φυσικά αντιοξειδωτικά, όπως οι τοκοφερόλες, το ασκορβικό οξύ και τα καροτενοειδή παρουσιάζουν καλή συνεργιστική δράση, όταν βρεθούν σε μίγματα σε κατάλληλες συγκεντρώσεις (Kiokias, et al., 2008). Η συνεργιστική δράση των

τοκοφερολών (T) και του ασκορβικού οξέος (Asc) περιγράφεται παρακάτω (αντίδραση 7):

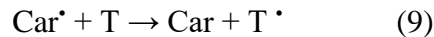


Κατά τη διάρκεια οξείδωσης των λιπαρών, οι τοκοφερόλες δρουν ως πρωτογενή αντιοξειδωτικά, προσφέροντας ένα άτομο υδρογόνου στη ρίζα του λιπαρού οξέος, οπότε μετατρέπονται σε μία τοκοφερλική ρίζα, η οποία ανάγεται σε τοκοφερόλη από το ασκορβικό οξύ και το οποίο οξειδώνεται σε δεϋδροασκορβικό οξύ (DHAsc). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αμοιβαία ενίσχυση της δράσης τόσο της τοκοφερόλης όσο και του ασκορβικού οξέος, αφού διατηρούνται στο σύστημα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα μέσω της αναγέννησης των οξειδωμένων μορφών τους (Kiokias et al., 2008).

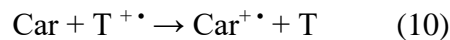
Τα καροτενοειδή (Car) μπορεί να συμβάλλουν στην αναγέννηση των τοκοφερολών μέσω ενός μηχανισμού μεταφοράς ηλεκτρονίων (αντίδραση 8), (Edge & Truscott, 1999; Böhm et al., 1997).



Ωστόσο, έρευνες (Krinsky & Yeum, 2003) οδήγησαν και στο αντίθετο συμπέρασμα, ότι δηλαδή η ρίζα του καροτενοειδούς μπορεί να ανάγεται από τις τοκοφερόλες (αντίδραση 9).



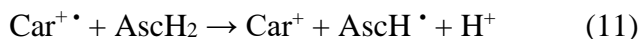
Οι Böhm et al., 1997 συμπέραναν ότι σε μη πολικούς διαλύτες τα καροτενοειδή αντιδρούν με την κατιοντική ρίζα της τοκοφερόλης ($T^{+\bullet}$), παρά με την ελεύθερη ρίζα (T^{\bullet}) όπως φαίνεται στην αντίδραση 10 και μετατρέπονται τα ίδια σε μία κατιοντική ρίζα ($\text{Car}^{+\bullet}$).



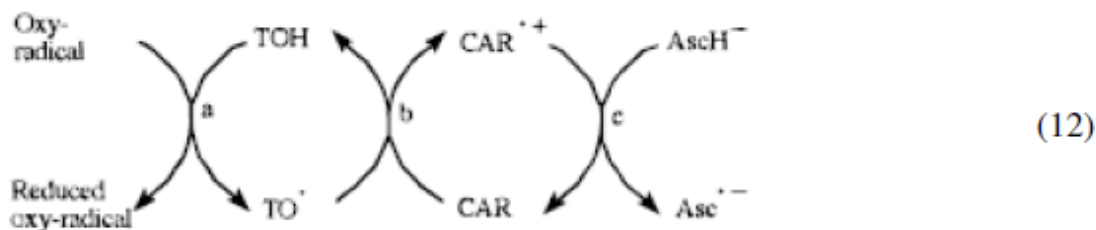
Αντίθετα, σε πολικούς διαλύτες η κατιοντική ρίζα της τοκοφερόλης ($T^{+\bullet}$), χάνοντας ένα άτομο H, μετατρέπεται στην ελεύθερη ρίζα (T^{\bullet}) και καμία αντίδραση δεν παρατηρείται μεταξύ της ελεύθερης ρίζας της τοκοφερόλης και των καροτενοειδών.

Άλλες έρευνες έχουν επίσης επικεντρωθεί στη συνεργιστική δράση των καροτενοειδών και του ασκορβικού οξέος (βιταμίνη C) (Böhm et al., 1997). Το

ασκορβικό οξύ ανάγει τη ρίζα του καροτενοειδούς, ενισχύοντας την αντιοξειδωτική του δράση (αντίδραση 11).



Τέλος, η συνεργιστική δράση των τοκοφερολών, των καροτενοειδών και του ασκορβικού οξέος σε ένα διφασικό σύστημα μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής: Η υδρόφοβη κατιονική ρίζα της τοκοφερόλης που δημιουργείται στο εσωτερικό της μεμβράνης, μετά από αντίδραση με οξυγονούχες ενώσεις (a), μπορεί να αναγεννηθεί από τα καροτενοειδή, τα οποία βρίσκονται προσανατολισμένα στη διεπιφάνεια της μεμβράνης (b), οπότε δημιουργείται η κατιονική ρίζα του καροτενοειδούς και η οποία αναγεται από το ασκορβικό οξύ της υδατικής φάσης (c), όπως φαίνεται στις παρακάτω αντιδράσεις (Edge & Truscott, 1999; Böhm et al., 1997; Mortensen et al., 2001).

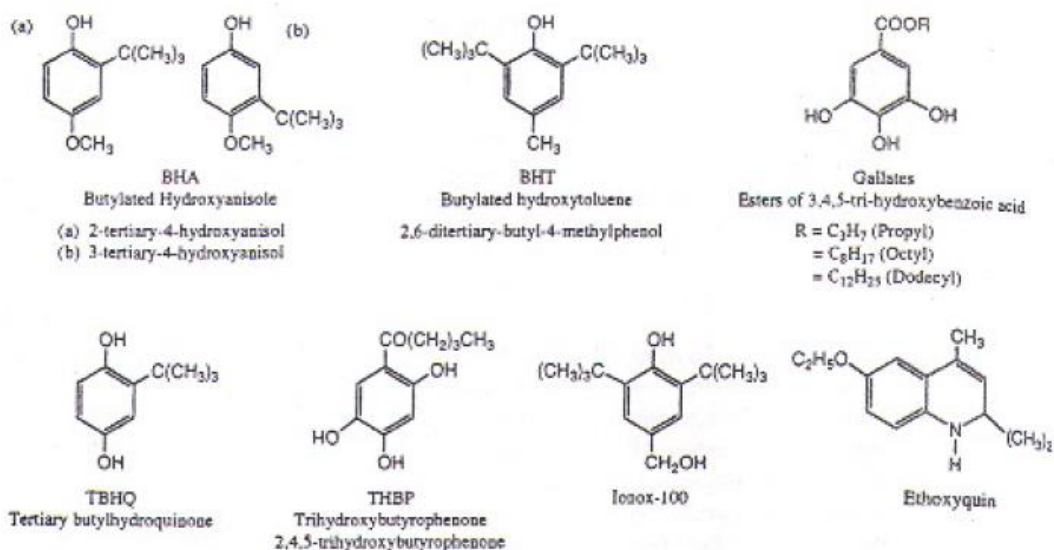


2.5 Συνθετικά και φυσικά αντιοξειδωτικά

Τα αντιοξειδωτικά ανάλογα με την προέλευσή τους μπορεί να κατηγοριοποιηθούν σε συνθετικά και φυσικά. Τα συνθετικά αντιοξειδωτικά παρασκευάζονται εμπορικά και προστίθενται στα τρόφιμα, προκειμένου να παρεμποδίσουν την οξείδωση των λιπαρών τους οξέων. Τα πιο γνωστά συνθετικά αντιοξειδωτικά που έχουν εγκριθεί για χρήση στα τρόφιμα είναι η τριτοταγής βουτυλο – 4 – υδροξυανισόλη (BHA-Butylated hydroxyanisole), το 2, 6 – διτριτοταγές – βουτυλο – p – υδροξυτολουόλιο (BHT-Butylated hydroxytoluene), οι εστέρες του γαλλικού οξέος (PG – gallic acid esters), ο εστέρας του ασκορβικού οξέος (ascorbyl palmitate), η αιθοξυκουΐνη (ethoxyquin) και η τριτοταγής βουτυλο – υδροξυκινόνη (TBHQ – tertialy butyl hydroquinone) (Antolovich et al., 2001; Pokorny et al., 2001). Η χημική δομή τους

φαίνεται στο Σχήμα 2.2, από όπου προκύπτει ότι πρόκειται για φαινολικές ενώσεις. Τα αντιοξειδωτικά που περιέχουν μία φαινολική ομάδα αντιπροσωπεύουν τα πιο παλιά και πιο συχνά χρησιμοποιούμενα αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα.

Η χρήση των συνθετικών αντιοξειδωτικών ρυθμίζεται από τις κυβερνήσεις των χωρών, μέσω νομοθεσιών για τη χρήση των πρόσθετων στα τρόφιμα (Κανονισμός 1129/2011/ΕΕ, οδηγία 94/35/ΕΚ). Οι κανονισμοί για τα επιτρεπόμενα όρια των αντιοξειδωτικών διαφέρουν από χώρα σε χώρα.



Σχήμα 2.2 Δομή των κυριότερων συνθετικών αντιοξειδωτικών.

Οι διαφορές στη δράση των παραπάνω αντιοξειδωτικών σχετίζεται με διαφορές στη δομή και τους υποκαταστάτες του φαινολικού δακτυλίου. Τα BHA και BHT είναι εξαιρετικά διαλυτά σε λίπη και αδιάλυτα στο νερό. Είναι αρκετά σταθερά στη θερμότητα και για αυτό συχνά χρησιμοποιούνται για τη σταθεροποίηση των λιπών σε ψημένα και τηγανισμένα προϊόντα (Pokorny et al., 2001; Gunstone, 1996). Επιπλέον, αποτελούν σημαντικά πρόσθετα σε υλικά που χρησιμοποιούνται για τη συσκευασία των τροφίμων, καθώς είναι ικανά να μεταναστεύουν στο τρόφιμο (Shahidi et al., 1992). Το BHT είναι καταλληλότερο για την προστασία ζωικών λιπιδίων παρά φυτικών. Επιπλέον, είναι ιδιαίτερα χρήσιμο και το πλέον κατάλληλο για την προστασία της οσμής και του χρώματος των αιθέριων ελαίων, ενώ είναι και αρκετά αποτελεσματικό στον έλεγχο της

οξειδωσης λιπαρών οξέων με μικρή ανθρακική αλυσίδα. Κάποια αντιοξειδωτικά, όπως τα BHA και BHT, χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό παρέχοντας συνεργιστικά αποτελέσματα. Το BHA είναι συνεργιστικό με το PG (Pokorny et al., 2001, Gunstone, 1996). Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αντιοξειδωτικών μπορεί να είναι συνεργιστικές, ανταγωνιστικές ή προσθετικές.

Οι εστέρες του γαλλικού οξέος αποσυντίθενται στους 148 °C, οπότε είναι ακατάλληλοι για τρόφιμα που υφίστανται επεξεργασία σε υψηλές θερμοκρασίες (Gunstone, 1996). Επιπλέον, είναι ελάχιστα διαλυτοί στο νερό. Είναι ικανοί να παρεμποδίσουν την οξείδωση φυτικών ελαίων, ζωϊκών λιπών, προϊόντων κρέατος συμπεριλαμβανομένων νωπών και κατεψυγμένων αλλαντικών και snacks. Επίσης, είναι αντιοξειδωτικά αρκετά αποτελεσματικά για την προστασία ξηρών φυτικών ελαίων (Shahidi et al, 1992).

Το πιο κατάλληλο αντιοξειδωτικό για τα φυτικά έλαια είναι το TBHQ. Το TBHQ έχει καλή διαλυτότητα και είναι σταθερό σε υψηλές θερμοκρασίες (Gunstone, 1996). Θεωρείται το ιδανικό αντιοξειδωτικό για την προστασία ελαίων τηγανίσματος. Είναι επαρκώς διαλυτό σε λίπη και δε συμπλοκοποιείται με σίδηρο ή χαλκό, όπως παρατηρείται με τους εστέρες του γαλλικού οξέος. Επίσης, δεν αποχρωματίζει τα επεξεργασμένα τρόφιμα. Χρησιμοποιείται μόνο του ή σε συνδυασμό με το BHA ή το BHT (Shahidi et al., 1992).

Τα συνθετικά αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων και αποτελούν μέρος της διατροφής του ανθρώπου. Ωστόσο, από το 1980 έχουν εμφανιστεί τα φυσικά αντιοξειδωτικά και η χρήση τους φαίνεται συνεχώς να αυξάνεται. Η τάση αυτή προήλθε από το ενδιαφέρον και την απαίτηση των καταναλωτών για κατανάλωση ασφαλών τροφίμων. Τα συνθετικά αντιοξειδωτικά, παρά τη σταθερότητά τους στα τρόφιμα, το χαμηλό τους κόστος και την αποτελεσματικότητά τους, δημιούργησαν υποψίες ότι μπορεί να ευθύνονται για την εμφάνιση καρκίνου και άλλων ασθενειών, γεγονός που οδήγησε αφενός στη μείωση της χρήσης τους και αφετέρου στην αναζήτηση αντιοξειδωτικών από φυσικές πηγές (Antolovich et al., 2001; Pokorny et al., 2001; Reische et al., 1997).

Τα φυσικά αντιοξειδωτικά παρέχουν παρόμοια ή ακόμα και υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση από τα συνθετικά (Antolovich et al., 2001). Έχουν το

πλεονέκτημα ότι είναι γενικά αποδεκτά από τους καταναλωτές, καθώς θεωρούνται ως “μη χημικά”. Επιπλέον έχει βρεθεί ότι ορισμένα εμφανίζουν αντικαρκινικές ιδιότητες και παρεμποδίζουν τις οξειδώσεις που συμβαίνουν στον οργανισμό. Ως μειονέκτημά τους θεωρείται το γεγονός ότι είναι ακριβότερα από τα συνθετικά (Fasseas et al., 2008; Gunstone, 1996), ότι είναι αποτελεσματικά σε υψηλές συγκεντρώσεις, η έλλειψη σταθερότητας στο τελικό προϊόν λόγω της οξείδωσης που τα ίδια υφίστανται, οι ανεπιθύμητες επιπτώσεις στο χρώμα, τη γεύση ή την οσμή των προϊόντων στα οποία προστίθενται, όπως ακόμη και η ασφάλεια τους στην υγεία των καταναλωτών, η οποία δεν πρέπει να θεωρείται δεδομένη.

Τα φυτά αποτελούν μία πλούσια πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών. Το ασκορβικό οξύ και οι τοκοφερόλες είναι τα πιο γνωστά εμπορικά φυσικά αντιοξειδωτικά. Άλλα φυσικά αντιοξειδωτικά είναι: καροτινοειδή, φλαβονοειδή, αμινοξέα, πρωτεΐνες, προϊόντα της αντίδρασης Maillard, φωσφολιπίδια και στερόλες. Επιπλέον πολλά φαινολικά αντιοξειδωτικά έχουν απομονωθεί από φυσικές πηγές, ενώ υπάρχουν και ένζυμα, τα οποία παρουσιάζουν σχετική αντιοξειδωτική δράση.

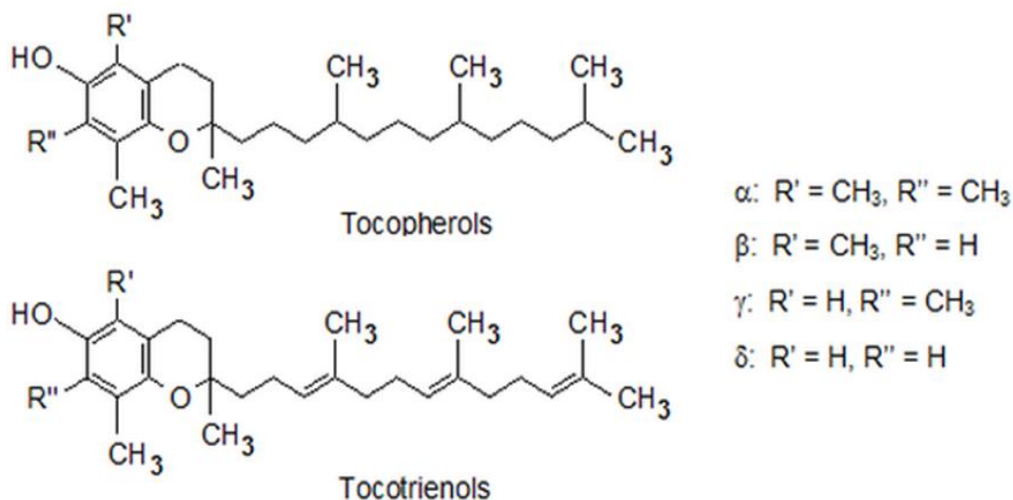
Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετήθηκε εκτενώς η δράση φυσικών αντιοξειδωτικών από δενδρολίβανο και θρούμπι σε γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό και σε ενεργό και βρώσιμη συσκευασία. Συνεπώς, στις επόμενες παραγράφους θα παρουσιαστούν οι μηχανισμοί δράσης τόσο των φυσικών αντιοξειδωτικών που απαντώνται σε αυτές τις δύο φυσικές πηγές αντιοξειδωτικών, τα φαινολικά οξέα και τα φλαβονοειδή, όσο και των τοκοφερολών που είναι τα φυσικά αντιοξειδωτικά των φυτικών ελαίων.

2.6 Τοκοφερόλες

Οι τοκοφερόλες, οι οποίες βρίσκονται σε πολλά τρόφιμα, είναι τα πιο γνωστά και ευρέως χρησιμοποιούμενα αντιοξειδωτικά. Είναι μονοφαινολικά συστατικά, με τη μορφή των οποίων απαντάται στη φύση και βιταμίνη E. Μπορούν να διακριθούν σε τοκόλες και τοκοτριενόλες, όπου και οι δύο ομάδες συναντώνται σε τέσσερα ισομερή (α, β, γ, δ), ανάλογα με τον αριθμό και τη θέση των μεθυλομάδων στον αρωματικό δακτύλιο. Στις τοκόλες, οι οποίες αναφέρονται ως τοκοφερόλες, η πλευρική ανθρακική αλυσίδα είναι

κορεσμένη, ενώ στις τοκοτριενόλες ακόρεστη. Η δομή των τεσσάρων ισομερών φαίνεται στο Σχήμα 2.3. Οι τοκοφερόλες λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά προσφέροντας ένα υδρογόνο από την υδροξυλική ομάδα τους στις ελεύθερες ρίζες των λιπιδίων (Pokorny et al., 2001).

Οι τοκοφερόλες αποτελούν τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά για τα εδάδιμα λίπη και έλαια, καθώς είναι πολύ διαλυτά στη λιπαρή ύλη. Συναντώνται πιο συχνά σε φυτικά έλαια (κυρίως σογιέλαιο, ηλιέλαιο, αραβοσιτέλαιο, φοινικέλαιο) παρά σε ζωικά. Τα περισσότερα φυτικά έλαια περιέχουν τοκοφερόλες σε συγκέντρωση υψηλότερη των 500 ppm. Το φοινικέλαιο περιέχει τοκοφερόλες σε επίπεδα 100-150 ppm και τοκοτριενόλες 620-650 ppm (Choe & Min, 2009). Περίπου το 60 – 70 % των τοκοφερολών στους ελαιούχους σπόρους διατηρείται κατά τη διάρκεια της εξαγωγής του ελαίου και της διαδικασίας εξευγενισμού.

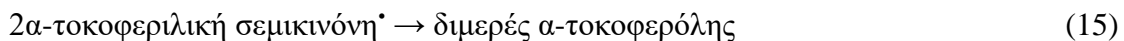
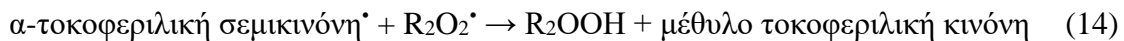


Σχήμα 2.3 Δομή των τεσσάρων δομών τοκοφερολών και τοκοτριενολών.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των τοκοφερολών εξαρτάται από τη συγκέντρωσή τους στη λιπαρή ύλη και αυξάνεται με την εξής σειρά: $\alpha < \beta < \gamma < \delta$ (Shahidi et al., 1992; Pokorny et al., 2001). Η α -τοκοφερόλη σε τριγλυκερίδια κραμβέλαιου ήταν πιο αποτελεσματική από την γ -τοκοφερόλη σε χαμηλές περιεκτικότητες ($\leq 50 \mu\text{g/g}$), ενώ σε υψηλές περιεκτικότητες ($> 100 \mu\text{g/g}$) αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική η γ -τοκοφερόλη έναντι της α -τοκοφερόλης (Pokorny et al., 2001). Αντίστοιχα αποτελέσματα

παρατηρήθηκαν και στο ηλιέλαιο. Η αντιοξειδωτική δράση των τοκοφερολών παρατηρείται κυρίως στα λιπίδια που περιέχουν μικρές ποσότητες αντιοξειδωτικών. Σε υψηλές συγκεντρώσεις, οι τοκοφερόλες εμφανίζουν προ-οξειδωτική δράση. Για παράδειγμα, η α-τοκοφερόλη έχει εμφανίσει προ-οξειδωτική δράση σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες του 0.01% κατά τα αρχικά στάδια αυτοοξείδωσης αραβοσιτελαίου και ελαιολάδου (Pokorny et al., 2001).

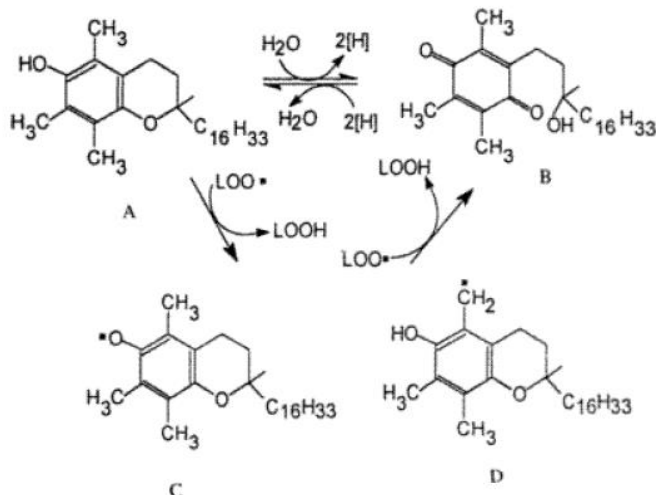
Οι τοκοφερόλες δρουν είτε ως πρωτογενή είτε ως δευτερογενή αντιοξειδωτικά. Αυτό συμβαίνει, διότι μπορεί να είναι δότες ηλεκτρονίων ή μπορεί να δεσμεύουν ή να αποδιεγείρουν το $^1\text{O}_2$. Ως δότες ηλεκτρονίων, ανταγωνίζονται με τα ακόρεστα λιπαρά οξέα για τη δέσμευση της υπεροξειδικής ρίζας (RO_2^\bullet), οπότε μειώνεται ο ρυθμός παραγωγής ελευθέρων ριζών (R^\bullet), οι οποίες προάγουν το στάδιο διάδοσης της οξείδωσης. Επομένως, προσφέρουν ένα άτομο H στην υπεροξυ-ρίζα (RO_2^\bullet) και σχηματίζεται μία σταθερή ένωση (ROOH). Κατά τη μεταφορά όμως του υδρογόνου, η α-τοκοφερόλη μετατρέπεται σε μία αλκυλική ρίζα, με διάνοιξη του χρωμανικού δακτυλίου (αντίδραση 13). Αυτή η α-τοκοφερλική σεμικινόνη μπορεί να προσφέρει ομοίως ένα άτομο H σε μία άλλη υπεροξειδική ρίζα (αντίδραση 14), είτε να αντιδράσει με μία άλλη όμοια ρίζα, παρέχοντας ένα διμερές α-τοκοφερόλης (αντίδραση 15).



Η α-τοκοφερλική σεμικινόνη είναι ασταθής ένωση, οπότε θα μετατραπεί σε μία α-τοκοφερλική κινόνη, η οποία είναι σταθερή ένωση. Η δομή των ενδιάμεσων σεμικινονών, όπως και η δράση τους παρουσιάζεται αναλυτικά στο Σχήμα 2.4.

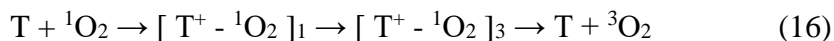
Η τοκοφερλική κινόνη και οι σεμικινόνες πιθανώς να ανταγωνίζονται με το $^3\text{O}_2$ για την αντίδραση με τις ελεύθερες ρίζες (R^\bullet). Δεδομένου ότι η αντίδραση του οξυγόνου με αυτές ευνοείται έναντι της αντίδρασης με τις κινόνες σε κανονική ατμοσφαιρική πίεση, πιστεύεται ότι αυτός ο μηχανισμός αντιοξειδωτικής δράσης λαμβάνει χώρα

κυρίως σε βιολογικά συστήματα, όπου η μερική πίεση του οξυγόνου είναι χαμηλή (Cuppett et al., 1997).



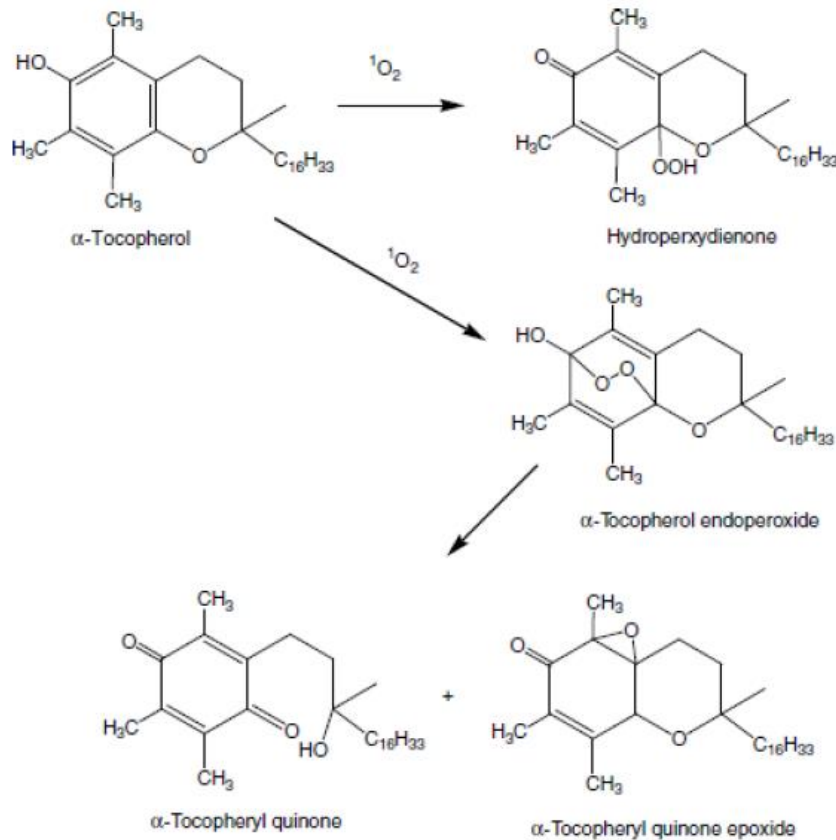
Σχήμα 2.4 Οξείδωση α-τοκοφερόλης (A) σε α-τοκοφερλική κινόνη (B) μέσω σχηματισμού των ενδιάμεσων (C, D) σεμικινονών (Cuppett et al., 1997).

Οι τοκοφερόλες μπορεί επίσης να αποδιεγείρουν (physical quenching) το $^1\text{O}_2$, είτε να αντιδράσουν αντιστρεπτά με αυτό, σχηματίζοντας πληθώρα προϊόντων (chemical quenching). Στην πρώτη περίπτωση ενώνονται με το $^1\text{O}_2$, σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο με μεταφορά ηλεκτρονίων σε αυτό. Το οξυγόνο από την απλή διηγεμένη κατάσταση που βρίσκεται στο σύμπλοκο μεταβαίνει στην τριπλή σταθερή του κατάσταση και η τοκοφερόλη επανέρχεται στην αρχική της κατάσταση (αντίδραση 16) (Choe & Min, 2006).



Κατά την αντίδραση των τοκοφερολών με το $^1\text{O}_2$ (chemical quenching) παράγονται διάφορα προϊόντα όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 2.5. Οι τοκοφερόλες, αναλόγως των συνθηκών, μπορεί να εμφανίσουν προ-οξειδωτική δράση. Συγκεκριμένα, όταν βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στα φυτικά έλαια μπορεί να προάγουν το μηχανισμό διάδοσης των ελευθέρων ριζών, σε συνδυασμό και με τη συγκέντρωση των υδροϋπεροξειδίων. Όταν η συγκέντρωση της υπεροξειδικής ρίζας ενός ακόρεστου

λιπαρού οξέος είναι πολύ χαμηλή, ενδέχεται η τοκοφερλική ρίζα να αποσπάσει ένα άτομο υδρογόνου από το λιπαρό οξύ και να παράγει την τοκοφερόλη και μία αλκυλική ρίζα. Ο ρυθμός της αντίδρασης είναι πολύ μικρός, αλλά η αλκυλική ρίζα που παράγεται μπορεί να επιταχύνει την οξείδωση των λιπαρών οξέων (Choe & Min, 2006).



Σχήμα 2.5 Οξείδωση της α -τοκοφερόλης σε α -τοκοφερλική κινόνη και εποξειδική κινόνη μέσω σχηματισμού του α -τοκοφερολικού ενδοϋπεροξειδίου (Choe & Min, 2006).

2.7 Φλαβονοειδή

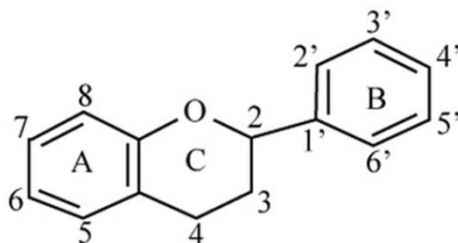
Τα φλαβονοειδή αποτελούν μια ομάδα φαινολικών ενώσεων, οι οποίες συναντώνται ευρέως στο φυτικό βασίλειο, σε σημαντικές ποσότητες (0.5-1.5%) (Jovanovic et al., 1994). Μέχρι σήμερα έχουν εντοπιστεί πάνω από 9000 διαφορετικά φλαβονοειδή. Βρίσκονται σε πολλά φρούτα, λαχανικά, ξηρούς καρπούς, σπόρους και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

φυτικά εκχυλίσματα (π.χ. μπύρα, τσάι, κρασί, χυμός φρούτων) αποτελούν την κύρια πηγή πρόσληψης φλαβονοειδών (Malešev & Kuntić, 2007).

Πολλά από τα φλαβονοειδή παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση χάρη στην ικανότητά τους να δεσμεύουν ενεργές ρίζες του οξυγόνου, να συμπλοκοποιούν μέταλλα, να παρεμποδίζουν τη δράση ενζύμων που συμβάλλουν στην οξείδωση ή να δρουν ως πρωτογενή αντιοξειδωτικά δεσμεύοντας ελεύθερες ρίζες (Cao et al., 1997). Τα φλαβονοειδή παρεμποδίζουν τη δράση των ενζύμων που συντελούν στην παραγωγή του O₂, όπως η οξειδάση της ξανθάνης ή η πρωτεϊνική κινάση. Επίσης, παρεμποδίζουν τη δράση της κυκλοοξυγενάσης, της λιποξυγενάσης, της γλουταθειονίνης S-τρανσφεράσης, της NADH οξειδάσης, τα οποία συμβάλλουν στο σχηματισμό ενεργών ριζών του οξυγόνου, επιταχύνοντας την οξείδωση.

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

Η ικανότητα των φλαβονοειδών να αδρανοποιούν οργανικές υπεροξειδικές ρίζες βρέθηκε να είναι τουλάχιστον συγκρίσιμη, αν όχι και μεγαλύτερη, σε σχέση με συνθετικά φαινολικά αντιοξειδωτικά, όπως τα BHT και BHA (Jovanović et al., 1994). Η χημική δομή τους χαρακτηρίζεται από έναν σκελετό C₆-C₃-C₆. Συγκεκριμένα, αποτελούνται από δύο αρωματικούς δακτυλίους (A και B), που συνδέονται με μια γέφυρα τριών ατόμων άνθρακα, η οποία συνήθως σχηματίζει ένα δακτύλιο πυρανίου (C), όπως φαίνεται στο Σχήμα 2.6. Τα φλαβονοειδή ανάλογα με τη δομή της ανθρακικής γέφυρας διακρίνονται στις εξής υποομάδες: φλαβόνες, φλαβονόλες, ισοφλαβόνες, φλαβονόνες και χαλκόνες. Οι φλαβονόλες και οι φλαβόνες βρίσκονται σχεδόν σε κάθε φυτό, και ιδιαίτερα στα φύλλα και τα πέταλα, με τις πρώτες να συναντώνται πιο συχνά. Η δομή των κυριότερων ομάδων απεικονίζεται στο Σχήμα 2.7.



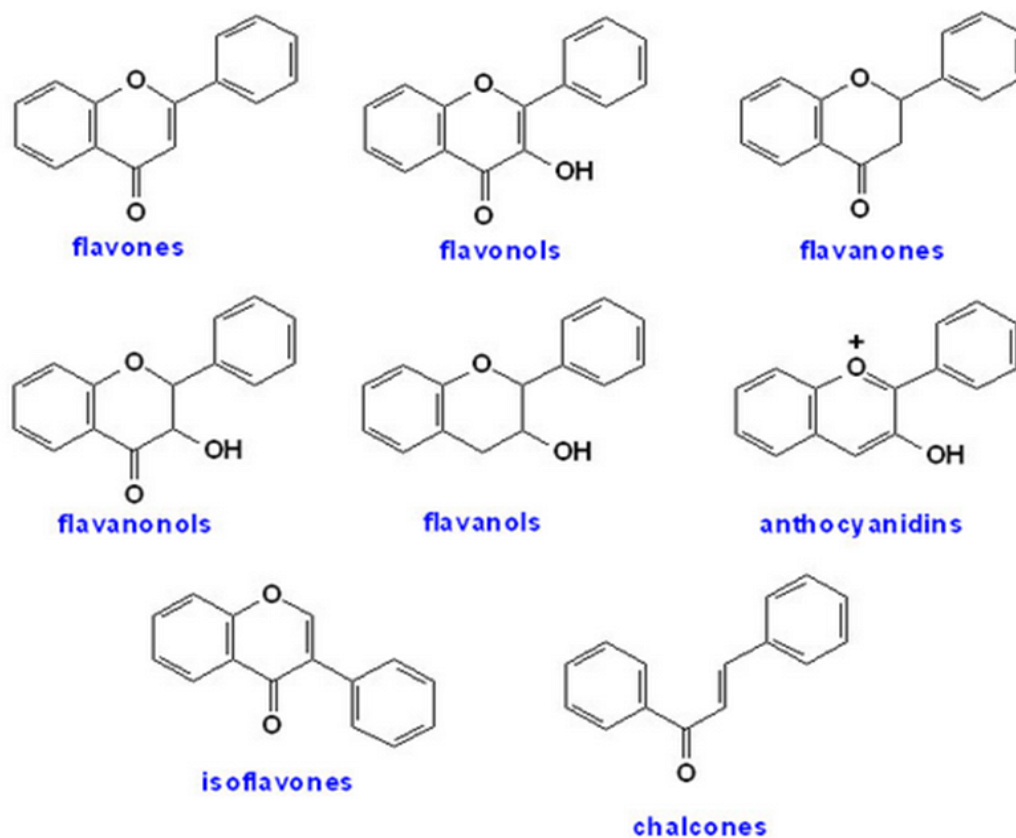
Σχήμα 2.6 Βασική δομή φλαβονοειδούς

Τα φλαβονοειδή δρουν ως αντιοξειδωτικά κυρίως παγιδεύοντας ρίζες οι οποίες περιλαμβάνουν ανιόντα υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$), υπεροξειδικές ρίζες των λιπιδίων (ROO^{\cdot}) και ρίζες υδροξυλίου (OH^{\cdot}) (Pokorny et al., 2001). Άλλοι μηχανισμοί επιλεγμένων φλαβονοειδών περιλαμβάνουν αποδιέγερση του οξυγόνου απλής διεγερμένης κατάστασης και συμπλοκοποίηση μετάλλων.

Γενικά, η αντιοξειδωτική δράση των φλαβονοειδών έναντι των ελευθέρων ριζών οφείλεται κατά κύριο λόγο στην προσφορά ατόμων H από τους υδροξυ-υποκαταστάτες στις ελεύθερες ρίζες, περιορίζοντας τη δραστηριότητα των τελευταίων. Ωστόσο, δεν έχουν όλα τα υδροξύλια την ίδια ικανότητα προσφοράς ατόμου H, ενώ τα πιθανά είδη OH-υποκατάστασης είναι πολλά. Στο γεγονός αυτό οφείλεται και η διαβάθμιση στη δραστηριότητα των φλαβονοειδών.

Έχει αποδειχθεί πως τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση παρέχουν τα φλαβονοειδή με την εξής δομή (Tsimogiannis, 2008; Tsimogiannis & Oreopoulou, 2004; Tsimogiannis & Oreopoulou, 2006; Tsimogiannis & Oreopoulou, 2007):

1. 3'-4'-διυδροξυδική δομή στο B-δακτύλιο
2. 2,3-διπλό δεσμό σε συνδυασμό με μια 4-οξο-ομάδα (ομάδα =O στη θέση 4) στο C-δακτύλιο
3. παρουσία μιας 3-υδροξυλικής ομάδας στο C-δακτύλιο και μιας 5-υδροξυλικής ομάδας στον A-δακτύλιο



Σχήμα 2.7 Κύριες κατηγορίες φλαβονοειδών

Σύμφωνα με τους Rice-Evans et al., (1997) ισχυρή αντιοξειδωτική δράση προσφέρει και η δομή μετα-5,7-διυδροξυλικής ομάδας στον A-δακτύλιο (π.χ. καιμπερόλη).

Η αντιοξειδωτική δράση των φλαβονοειδών *in vivo* αποδίδεται επιπλέον στην ικανότητά τους να σταθεροποιούν τις μεμβράνες των κυττάρων, με το να μειώνουν την κινητικότητά τους. Τα φλαβονοειδή εντοπίζονται στο υδρόφοβο εσωτερικό μέρος της μεμβράνης, μειώνοντας σε σημαντικό βαθμό την κινητικότητα των λιπαρών στην περιοχή αυτή της μεμβράνης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον περιορισμό της αντίδρασής τους με προ-οξειδωτικές ενώσεις ή ρίζες που εμφανίζονται στη διεπιφάνεια της μεμβράνης, αποτρέποντας κατ' αυτόν τον τρόπο την οξείδωση των λιπαρών οξέων (Harborne & Williams, 2000).

Η κερκετίνη από την ομάδα των φλαβονοειδών έχει κερδίσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, λόγω της καλής αντιοξειδωτικής της δράσης σε συστήματα λινελαϊκού οξέος και σε φυτικά έλαια (Tsimogiannis & Oreopoulou, 2004; Tsimogiannis & Oreopoulou, 2006; Tsimogiannis & Oreopoulou, 2007), και για αυτό επιλέχθηκε η μελέτη της στην παρούσα διδακτορική διατριβή.

Η δράση της κερκετίνης στην οξείδωση των λιπαρών υλών είναι πιθανό να διαφέρει και να επηρεάζεται από πολλά χαρακτηριστικά. Οι παράγοντες από τους οποίους εξαρτάται η συμπεριφορά της ουσίας είναι η μορφή του συστήματος, το είδος της λιπαρής ύλης, το pH, η συγκέντρωση της ουσίας, ενώ διαφορετικά αποτελέσματα μπορούν να προκύψουν και ανάλογα με τη μέτρηση που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της πορείας της οξείδωσης.

Από τις έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η κερκετίνη μπορεί να δράσει είτε αντιοξειδωτικά είτε προ-οξειδωτικά όταν προστεθεί σε κάποια λιπαρή φάση. Σε όσες περιπτώσεις μελετήθηκε η δράση της φλαβονόλης σε καθαρά έλαια αποδείχτηκε ότι εμφανίζει αντιοξειδωτική δράση (Chenet et al., 1996; Kahkonen & Heinonen, 2003; Zhu et al., 2013), ωστόσο σε ορισμένες περιπτώσεις γαλακτώματων εμφάνισε προ-οξειδωτική δράση.

Τα γαλακτώματα στα οποία εμφανίστηκε προ-οξειδωτική ή καμία δράση της μελετώμενης ένωσης διαφέρουν αρκετά μεταξύ τους. Για παράδειγμα η λιπαρή φάση, στην πλειονότητα των περιπτώσεων, είναι διαφορετική. Τα είδη λιπαρών που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτές τις περιπτώσεις ήταν ηλιέλαιο χωρίς τοκοφερόλες, κραμβέλαιο, λινελαϊκό οξύ, λινολενικό οξύ και ραφιναρισμένο έλαιο καμέλιας. Η επίδραση του συγκεκριμένου παράγοντα στη δράση της κερκετίνης έγινε φανερή από τους Nogala-Kalucka et al. (2013) με τη μελέτη που πραγματοποίησαν να δείχνει ότι η κερκετίνη κάτω από τις ίδιες συνθήκες λειτούργησε προστατευτικά για το λινολενικό οξύ σε αντίθεση με το λινελαϊκό οξύ όπου η προσθήκη της ένωσης δεν επηρέασε με κάποιο τρόπο.

Τα περισσότερα γαλακτώματα που μελετώνται είναι παρασκευασμένα με ρυθμιστικό διάλυμα ώστε το pH του συστήματος να είναι σταθερό και οι τιμές που λαμβάνει, συνήθως, είναι ανάμεσα στο 5.5 και 7.4. Παρόλα αυτά μελέτες που έχουν γίνει σε γαλακτώματα στα οποία όλα τα χαρακτηριστικά είναι κοινά, εξαιρουμένου του pH,

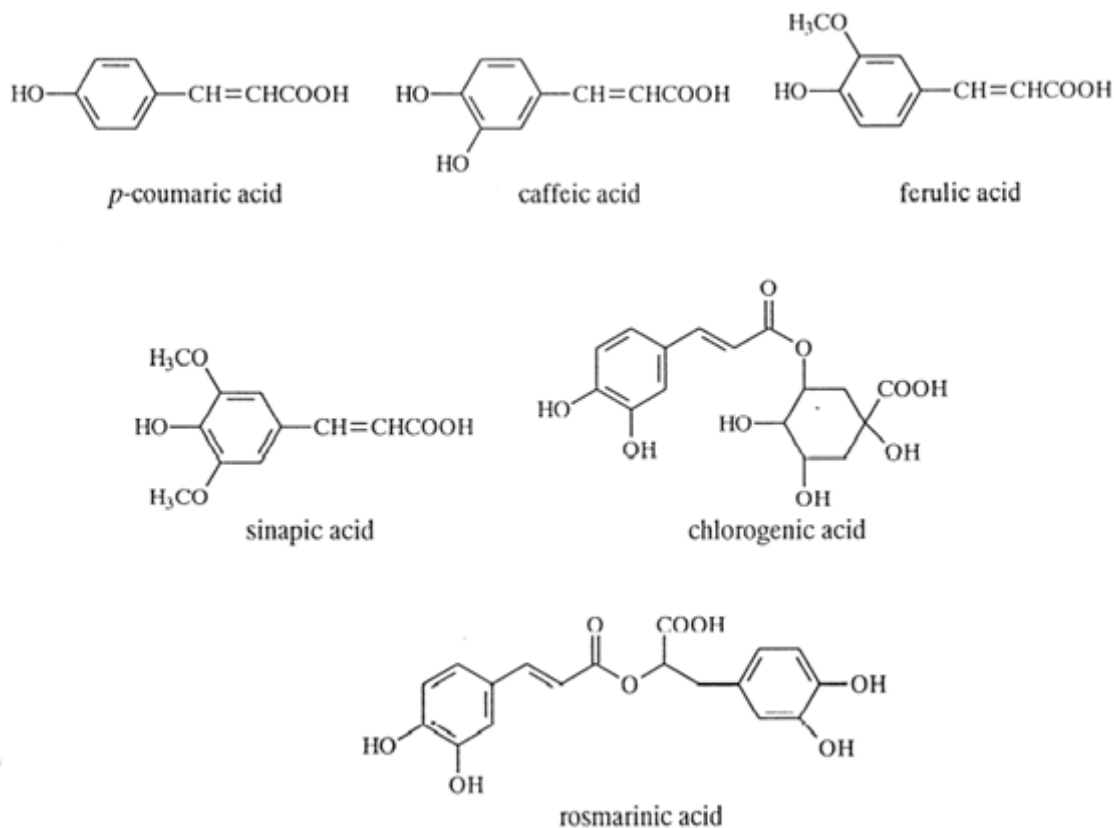
έχει προκύψει ότι το περιβάλλον επιδρά στη συμπεριφορά της κερκετίνης. Σύμφωνα με τους Osborn και Akoh (2003) η ένωση αυτή δρα προ-οξειδωτικά σε pH = 3. Επομένως είναι απαραίτητη η ρύθμιση του pH σε μεγαλύτερες τιμές όταν χρησιμοποιείται αυτή η ένωση ως αντιοξειδωτικό.

Σημαντικά φαίνεται να επιδρά και η συγκέντρωση της προστιθέμενης ένωσης στα συστήματα. Υπάρχουν έρευνες που έδειξαν ότι η προσθήκη κερκετίνης σε συγκέντρωση 1 μM οδήγησε σε προ-οξειδωτική δράση (Nogala-Kalucka et al., 2007; Beker et al., 2011), ενώ η προσθήκη μεγαλύτερης ποσότητας σε παρόμοια συστήματα έδειξε αντιοξειδωτική δράση.

Τέλος, διαφορετικά αποτελέσματα μπορούν να προκύψουν ανάλογα με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται για να προσδιοριστεί η πορεία της οξείδωσης. Σύμφωνα με τους Gulcin et al. (2002) η κερκετίνη εμφανίζει αντιοξειδωτική δράση, ενώ σύμφωνα με τους Beker et al. (2011) εμφανίζει προ-οξειδωτική δράση. Η διαφορά μεταξύ των δύο μελετών έγκειται στη διαφορετική μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της πορείας της οξείδωσης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι, επίσης, η έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Mattia et al. (2009) στην οποία φαίνονται ορισμένες ενώσεις να μην επηρεάζουν την παραγωγή πρωτογενών προϊόντων, ωστόσο περιορίζουν την παραγωγή δευτερογενών προϊόντων. Επομένως είναι σημαντικό να πραγματοποιούνται αναλύσεις διαφορετικών δεικτών που υποδεικνύουν την πορεία της οξειδωτικής διαδικασίας και τα συμπεράσματα που εξάγονται να μην προκύπτουν μόνο από έναν δείκτη οξείδωσης.

2.8 Φαινολικά οξέα

Τα φαινολικά οξέα απαντώνται ευρέως σε όλα τα φυτά και συνήθως υπάρχουν με τη μορφή εστέρων οργανικών οξέων ή γλυκοζιτών. Μερικά από τα πιο σημαντικά φαινολικά οξέα είναι τα: π-υδροξυβενζοϊκό, 3,4-διυδροξυβενζοϊκό, βανιλικό, συριγγικό, π-κουμαρικό, καφεϊκό, φερουλικό, σιναπικό, χλωρογενικό και ροσμαρινικό. Τα παράγωγα του υδροξυκινναμικού οξέος αποτελούν πιο ενεργά αντιοξειδωτικά από τα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος. Στο Σχήμα 2.8 παρατίθενται τα πιο γνωστά φαινολικά οξέα.



Σχήμα 2.8 Δομή των κυριότερων φαινολικών οξέων

Τα παράγωγα του υδροξυκιναμικού οξέος είναι πιο ενεργά αντιοξειδωτικά από τα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος (Marinova & Yanishlieva, 2003; Mathew et al., 2015;). Η θέση και ο βαθμός της υδροξυλίωσης είναι σημαντικοί παράγοντες της αντιοξειδωτικής ικανότητας των φαινολικών οξέων. Σύμφωνα με μελέτες, τα μονοφαινολικά φαίνεται να είναι λιγότερο αποτελεσματικά από τα πολυφαινολικά. Η εισαγωγή μιας δευτέρης υδροξυλομάδας στην ορθο- (π.χ. καφεϊκό) ή στην παρα- θέση (π.χ. πρωτοκατεχουϊκό οξύ) αυξάνει την αντιοξειδωτική δράση, κάνοντας τα φαινολικά αυτά οξέα πιο αποτελεσματικά από τα αντίστοιχα μονοφαινολικά π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ και π-κουμαρικό οξύ. Επιπροσθέτως, έχει αποδειχθεί πως η αντιοξειδωτική δράση των μονοφαινολών αυξάνεται σημαντικά με ένα ή δύο μεθοξυ- υποκαταστάτες στις ορθο-

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

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

Αναφέρεται πως η α-τοκοφερόλη με το ροσμαρινικό ή το καφεϊκό οξύ και η κατεχίνη με το καφεϊκό οξύ δρουν ως ανταγωνιστικά αντιοξειδωτικά (Choe & Min, 2009). Οι έρευνες που έχουν γίνει σχετικά με τη χρήση του ροσμαρινικού οξέος ως αντιοξειδωτικό σε συστήματα τροφίμων δεν έχουν οδηγήσει σε σαφή αποτελέσματα. Είναι πιθανό ανάλογα με το είδος της λιπαρής ύλης και τη μορφή με την οποία αυτή βρίσκεται στο σύστημα η ένωση αυτή να δράσει είτε ως ισχυρό είτε ως ασθενές αντιοξειδωτικό. Ένα ζωτικής σημασίας χαρακτηριστικό του ροσμαρινικού οξέος είναι ότι πάνω από ορισμένες συγκεντρώσεις μπορεί να εμφανίσει προ-οξειδωτική δράση, υποβαθμίζοντας με αυτό τον τρόπο την ποιότητα του προϊόντος. Παρόλα αυτά και η χρήση μικρής συγκέντρωσης σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως υποδεικνύουν οι Frankel et al. (1996), μπορεί να οδηγήσει σε χειρότερα αποτελέσματα από ότι σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Για αυτό το λόγο πριν τη χρησιμοποίηση αυτής της ένωσης σε βιομηχανική κλίμακα απαιτείται η μελέτη της δράσης της στο συγκεκριμένο σύστημα και η επιλογή της βέλτιστης συγκέντρωσης που θα προστεθεί.

2.9 Αρωματικά φυτά ως πηγές αντιοξειδωτικών

Τα μπαχαρικά έχουν χρησιμοποιηθεί ως καρυκεύματα και μερικές φορές και ως συντηρητικά σε όλο τον κόσμο για χιλιάδες χρόνια ειδικά στην Ινδία, την Κίνα και σε πολλές άλλες χώρες της νοτιοανατολικής Ασίας (Frankel, 2014). Τα αρωματικά φυτά που δίνουν τα μπαχαρικά ανήκουν σε αρκετές βασικές οικογένειες, όπως Lamiales (π.χ. δεντρολίβανο, ρίγανη και φασκόμηλο), Lauraceae (π.χ. κανέλα), Piperaceae (π.χ. μαύρο πιπέρι), Myrtaceae (π.χ. γαρίφαλο), Umbelliferae (π.χ. κύμινο), κλπ. Η καλλιέργεια των

φυτών αυτών ευνοείται σε τροπικές και εύκρατες περιοχές. Εκτός από το να δίνουν άρωμα και γεύση τα μπαχαρικά, έχουν χρησιμοποιηθεί ανά τους αιώνες και ως παραδοσιακά φάρμακα. Οι ευεργετικές ιδιότητες των αρωματικών φυτών αποδίδονται κυρίως στη σύστασή τους σε πολυφαινόλες και κατ' επέκταση στην αντιοξειδωτική τους δράση. Η αντιοξειδωτική αυτή ικανότητά τους, οδήγησε τους ερευνητές στην αναζήτηση αρωματικών φυτών ωφέλιμων για την υγεία του ανθρώπου, καθώς και σε μελέτες για τη δυνατότητα της χρήσης τους για την επέκταση της διάρκειας ζωής των λιπαρών τροφίμων (Dorman et al., 2003).

Τα αρωματικά φυτά έχουν μία μακρά ιστορία ως προς τη θεραπευτική τους χρήση. Οι ευεργετικές τους ιδιότητες ήταν γνωστές από τους αρχαίους χρόνους. Οι Έλληνες, οι Κινέζοι, οι Αιγύπτιοι αναγνώριζαν την αξία τους. Ο πατέρας της Ιατρικής, Ιπποκράτης, είχε ασχοληθεί με τις θεραπευτικές ιδιότητες των φυτών. Σήμερα, οι παραδοσιακές πρακτικές με χρήση φαρμακευτικών φυτών αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της συμπληρωματικής ή εναλλακτικής ιατρικής, ενώ έχει διαπιστωθεί πως μια διατροφή πλούσια σε αρωματικά φυτά και στα κλάσματά τους μειώνει τον κίνδυνο για την ανάπτυξη διαφόρων ασθενειών, όπως καρκίνο, στεφανιαία νόσο, και διαβήτη. Παρά τις εξαιρετικές προόδους στη συνθετική οργανική χημεία, πολλά αρωματικά φυτά εξακολουθούν να αποτελούν βασικό υλικό για την παρασκευή φαρμάκων (Tang & Halliwell, 2010; Surveswaran et al., 2007). Πολλές μελέτες έχουν υπάρξει σχετικά με τις αντιοξειδωτικές δράσεις διαφόρων αρωματικών φυτών.

Τα αντιοξειδωτικά συστατικά από τα αρωματικά φυτά μπορούν να ανακτηθούν και να συμπυκνωθούν ως αιθέρια έλαια, εκχυλίσματα ή ελαιορητίνες. Τα αιθέρια έλαια είναι εξαιρετικά πολύπλοκα μίγματα που αποτελούνται από πτητικές λιπόφιλες ουσίες, κυρίως υδρογονάνθρακες και τερπένια. Στα αιθέρια έλαια τα κυριότερα συστατικά τους ανήκουν στην κατηγορία των τερπενίων, που συντίθενται συνήθως κατά το βιοσυνθετικό μονοπάτι του μεβαλονικού οξέος ή στην κατηγορία των αρωματικών ενώσεων (του φαινυλοπροπενίου) που παράγονται συνήθως στο βιοσυνθετικό μονοπάτι του σικιμικού οξέος. Η ανάκτηση τους επιτυγχάνεται με ατμοαπόσταξη, με εκχύλιση (με οργανικό διαλύτη ή υπερκρίσιμο CO₂) ή μηχανική συμπίεση. Τα συστατικά των αιθέριων ελαίων καρβακρόλη και θυμόλη έχουν σχετιστεί τόσο με αντιμικροβιακή δράση (Tongnuanchan & Benjakul, 2014), όσο και με αντιοξειδωτική (Tsimogiannis et al., 2017). Όσον αφορά

τα εκχυλίσματα των εν λόγω φυτών έχει αποδειχθεί ότι έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά. Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενοι διαλύτες είναι το νερό, η ακετόνη ο οξικός αιθυλεστέρας, οι αλκοόλες (μεθανόλη, αιθανόλη, προπανόλη) και μίγματα αυτών (Oniszczyk et al, 2014). Ο οξικός αιθυλεστέρας και η ακετόνη ανακτούν τις μη πολικές ενώσεις όπως τα άγλυκα φλαβονοειδή (κερκετίνη, λουτεολίνη, απιγενίνη, εριοδικτυόλη) και τερπενοειδή (καρνοσόλη, καρβακρόλη, θυμόλη) ενώ οι αλκοόλες, το νερό και μείγματα τους ανακτούν φαινολικά οξέα (καφεϊκό, ροσμαρινικό, σαλβιανολικό) και γλυκοζίτες φλαβονοειδών (ρουτίνη, γλυκοζίτης απιγενίνης). Τέλος, οι ελαιορητίνες ανακτώνται με οργανικούς διαλύτες (οξικό αιθυλεστέρα, εξάνιο, αλκοόλες) και περιέχουν μη πτητικές, λιπόφιλες ενώσεις όπως ρητίνες, κηρούς και λιπαρά έλαια (Rajamma et al., 2012). Συνήθως χρησιμοποιούνται ως γευστικοί ή αντιμικροβιακοί παράγοντες (Singh et al, 2014; Upadhyay & Mishra, 2014).

Μια από τις κύριες οικογένειες αρωματικών φυτών της Ελλάδας αποτελεί η οικογένεια Lamiaceae (ή Lamiales ή χειλανθή). Ευδοκίμει σε όλη την ελληνική επικράτεια και ευδοκίμει σε θερμά και ξηρά κλίματα. Περιλαμβάνει 180 γένη και 3500 είδη, ενώ τα μέλη της είναι φυτά ποώδη, ετήσια ή πολυετή, φρύγανα, θάμνοι και σπανίως δένδρα και αναρριχώμενα. Πολλά φυτά της συγκεκριμένης οικογένειας έχουν μελετηθεί ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση. Η ρίγανη (*Origanum vulgare*) και το θρούμπι (*Satureja thymbra*) αποτελούν αρωματικά φυτά της οικογένειας Lamiaceae με μεγάλο ενδιαφέρον ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα και τη χρήση τους σε λιπαρά τρόφιμα. Σε έρευνα από τους Exarchou et al. (2002) και Tsimogiannis et al. (2017) αποδείχθηκε η υψηλή ικανότητα στη δέσμευση ελευθέρων ριζών των αιθανολικών εκχυλισμάτων από ρίγανη, φασκόμηλο και θρούμπι, η οποία συνάδει με την υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά στοιχεία και φλαβονοειδή που έδειξαν.

Το θρούμπι (*Satureja thymbra*) και το δενδρολίβανο (*Rosmarinus officinalis*) αποτελούν αρωματικά φυτά της οικογένειας Lamiaceae με μεγάλο ενδιαφέρον ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα και τη χρήση τους σε λιπαρά τρόφιμα, και για αυτό επιλέχθηκε η μελέτη τους στην παρούσα διδακτορική διατριβή.

2.10 *Satureja thymbra* - Θρούμπι

Τα είδη της *Satureja* απαντώνται, όπως και εκείνα των *Origanum* και *Thymus*, σε μεγάλες ποσότητες στις μεσογειακές χώρες. Έχουν βρεθεί περίπου 200 είδη (Tere, 2015). Μερικά από αυτά, όπως η *Satureja thymbra* (Σχήμα 2.9), έχουν εμπορική σημασία λόγω της χρήσης τους ως μπαχαρικά. Το θρούμπι χαρακτηρίζεται από μια μυρωδιά παρόμοια με εκείνη της ρίγανης. Πρόκειται για ξυλώδη θάμνο που συναντάται σε ξηρές και βραχώδεις τοποθεσίες (Skoula et al., 2005). Ανθίζει μέσα Απριλίου με αρχές Μαΐου. Στη μαγειρική χρησιμοποιείται λόγω των αντιτοξικών ιδιοτήτων σε διάφορα βαριά φαγητά. Τα είδη της *Satureja* έχουν ευρέως χρησιμοποιηθεί στην παραδοσιακή ιατρική. Βιβλιογραφική έρευνα δείχνει πως έχουν αντιβακτηριακές και αντιοξειδωτικές (Tsimogiannis et al., 2017), αντιμυκητιακές (Giweli et al., 2012), αντικές (Loizzo et al., 2008) και αναλγητικές ιδιότητες (Ulku-Karabay Yavasoglu et al., 2006). Τα αιθέρια έλαιά τους χρησιμοποιούνται επίσης σε φαρμακευτικές και καλλυντικές βιομηχανίες (Öztürk, 2012).

Ο Öztürk (2012) ανίχνευσε 25 συστατικά στο αιθέριο έλαιο της *Satureja thymbra* με τα κυριότερα να είναι: καρβακρόλη (34.6%), γ-τερπινένιο (22.9%), π-κυμένιο (13.0%), θυμόλη (12.8%), β-θυμόλη-μεθυλοαιθέρας (4.40%) και β-καριοφυλλένιο (3.96%). Επίσης, εντοπίστηκαν το α-τερπινένιο και η λιναλοόλη σε ποσοστά 2.33% και 1.67%, αντίστοιχα. Στη συγκεκριμένη έρευνα προσδιορίστηκε και η αντιοξειδωτική δράση τόσο του αιθέριου ελαίου όσο και του μεθανολικού εκχυλίσματος του φυτού. Με δοκιμές, όπως με τη δέσμευση της ρίζας DPPH και της ρίζας ABTS, το αιθέριο έλαιο και το μεθανολικό εκχύλισμα έδειξαν μια καλή ανασταλτική δράση έναντι της οξειδωσης. Τα αποτελέσματα της σύστασης του αιθέριου ελαίου έρχονται σε συμφωνία με άλλες μελέτες, όπως για παράδειγμα με την έρευνα των Chorianoopoulos et al. (2006), κατά την οποία φάνηκε πως ανεξάρτητα από την εποχή της συγκομιδής του φυτού, το άθροισμα των δύο ισομερών φαινολικών μονοτερπενίων καρβακρόλης και θυμόλης και των πρόδρομων ενώσεών τους π-κυμένιου και γ-τερπινένιου αντιπροσωπεύουν πάντα το μεγαλύτερο μέρος του αιθέριου ελαίου.



Σχήμα 2.9 *Satureja thymbra*

Πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί για το αιθέριο έλαιο του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra*. Σύμφωνα με τη μελέτη των Lagouri και Boskou (1996), επιβεβαιώθηκε η εξίσου καλή αντιοξειδωτική δράση του αιθέριου ελαίου του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra* και του *Origanum hirtum* που μελετήθηκε. Η ενσωμάτωσή των αιθέριων ελαίων των δύο αρωματικών φυτών (1000 mg/kg) σε ζωικό λίπος, το οποίο αποθηκεύτηκε στους 35 °C απουσία φωτός, έδειξε, με μέτρηση του αριθμού υπεροξειδίων, πως τα δύο αιθέρια έλαια εμφάνισαν αντίστοιχη αποτελεσματικότητα. Τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου της *Satureja thymbra* ήταν ίδια με εκείνα της ρίγανης (καρβακρόλη, γ-τερπινένιο, π-κυμένιο), μόνο που στο θρούμπι εντοπίστηκε και α-καρνοφυλλένιο. Επιπλέον, τα δύο αιθέρια έλαια εμφάνισαν σημαντική διαφορά ως προς τη σύστασή τους σε θυμόλη (13.7% για τη ρίγανη, 0.1% για το θρούμπι). Οι Economidou et al. (2011) αναφέρουν παρόμοια αποτελέσματα ως προς τη σύσταση του αιθέριου ελαίου.

Τα εκχυλίσματα από θρούμπι είναι πλούσια σε φαινολικά οξέα και флаβονοειδή. Το ροσμαρινικό οξύ είναι το κύριο φαινολικό οξύ, ακολουθούμενο από το σαλβιανολικό οξύ A και το λιθοσπερμικό οξύ, γνωστά παράγωγα του καφεϊκού οξέος (Skoula et al., 2005). Η λουτεολίνη, η απιγενίνη, η εριοδικτυόλη και η ναρινγκενίνη, μαζί με αιθέρες της λουτεολίνης και της απιγενίνης είναι τα κύρια флаβονοειδή που εντοπίστηκαν, ενώ έχουν αναφερθεί επίσης αρωμαδενδρίνη, ταξιφολίνη και λαδανεΐνη (Skendi et al., 2017; Skoula et al., 2005). Οι Skoula et al. (2005) αναφέρουν συγκέντρωση флаβονοειδών 3.26 mg/g ξηρού φυτού με флаβανόνες τις: ναριγγενίνη, αρωμαδενδρίνη, εριοδικτυόλη, ταξιφολίνη και κυριότερες флаβόνες: λαδανεΐνη και 6-υδροξυ-λουτεολινο-7,3',4'-τριμεθυλο-αιθέρα. Η απιγενίνη 7-O-γλυκοζίτης είναι ένας κοινός γλυκοζίτης των φυτών της οικογένειας Lamiales, ο οποίος έχει ταυτοποιηθεί από πολλούς ερευνητές (Koukoulitsa et al., 2006; López-Cobo et al., 2015; Yin et al., 2012).

Επιπροσθέτως, έχει επιβεβαιωθεί η ύπαρξη τοκοφερολών σε εκχύλισμα και σε ξηρά φύλλα της *Satureja thymbra*. Σύμφωνα με τους Lagouri και Boskou (1996), η περιεκτικότητα σε γ-τοκοφερόλη, που βρέθηκε να είναι η επικρατέστερη τοκοφερόλη και όπως έχει αναφερθεί αποτελεί τη δεύτερη σε σειρά δραστηριότητας σε σύγκριση με τις υπόλοιπες τοκοφερόλες, ανέρχεται σε ποσοστό 0.95% για το εκχύλισμα και 456 ppm για το ξηρό φυτό, σε σύγκριση με τις τιμές 0.71% και 500 ppm, αντίστοιχα, που βρέθηκαν

για τη ρίγανη. Οι Skendi et al. (2017) σε έρευνά τους βρήκαν με ανάλυση υγρής χρωματογραφίας τη σύσταση των βιοδραστικών συστατικών δύο εκχυλισμάτων του φυτού (υδατικό και 70% μεθαλόλης) και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.1.

Τόσο το αιθέριο έλαιο όσο και τα εκχυλίσματα του φυτού *Satureja thymbra* έχουν δείξει μια καλή ανασταλτική δράση έναντι της οξειδωσης. Η ισχυρή αντιοξειδωτική δράση του αιθέριου ελαίου έναντι της ρίζας DPPH έχει επιβεβαιωθεί και από τους Giweli et al. (2012). Ορισμένα είδη της *Satureja* έχουν μελετηθεί ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση κατά την ενσωμάτωσή τους σε τρόφιμα, όπως σε λουκάνικα (Oliveira et al., 2012; Bozkurt, 2007). Χαρακτηριστικά αναφέρεται η μελέτη των Ozkan et al. (2007), κατά την οποία το αιθέριο έλαιο του είδους *Satureja cilicica*, που είχε παρόμοια σύσταση με εκείνο της *Satureja thymbra* (θυμόλη-22.76%, καρβακρόλη-18.90%, π-κυμένιο-19.52% και γ-τερπινένιο-13.40%) ήταν αποτελεσματικό κατά την προσθήκη του σε περιεκτικότητα 0.5, 1.0 και 2.0% σε βούτυρο που αποθηκεύτηκε στους 4 και 20 °C. Με μέτρηση του αριθμού υπεροξειδίων διαπίστωσαν πως αυξανόμενης της περιεκτικότητας βελτιωνόταν και η δράση του αιθέριου ελαίου.

Πίνακας 2.1 Συγκέντρωση βιοδραστικών συστατικών (μg/g ξηρού βάρους) του φυτού *S. Thymbra* σε εκχύλισμα 70% μεθανόλης και σε υδατικό εκχύλισμα (Skendi et al., 2017).

Εκχυλίσματα	70% μεθανόλη	Υδατικό
Φαινολικά οξέα και παράγωγά τους		
4 – υδροξυβενζοϊκό οξύ	42.8	75.1
Γαλλικό οξύ	0.3	0.9
Πρωτοκατεχοϊκό οξύ	27.6	17.4
Συριγγικό οξύ	0.9	6.8
Βανιλικό οξύ	68.3	41.8
trans – κινναμικό οξύ	6.2	2.9
Καφεϊκό οξύ	131.0	116.2
Φερουλικό οξύ	66.9	7.0
p – κουμαρικό οξύ	7.2	14.5
Χλωρογενικό οξύ	5.5	1.9
Ροσμαρινικό οξύ	8181.9	116.2
Σύνολο	8538.6	400.7
Φλαβονοειδή		
Λουτεολίνη	364.9	31.0
Απιγενίνη	111.6	not detected
Κεμπφερόλη	49.1	23.6
Μυρισετίνη	27.4	30.0
Ρουτίνη	33.1	not detected
(±) – ναριγγκενίνη	7096.9	37.1
(+) – κατεχίνη	93.5	273.4
(-) – επικατεχίνη	25.2	331.4
Σύνολο	7801.7	726.4
Φαινολικά τερπένια		
Καρβακρόλη	23590.8	1406.0
Ολικά φαινολικά συστατικά	39931.1	2533.1

2.11 *Rosmarinus officinalis* – Δενδρολίβανο

Το δενδρολίβανο, γνωστό και ως αρισμαρί, είναι αρωματικός, αειθαλής θάμνος ο οποίος ανήκει στο γένος *Rosmarinus* και στην οικογένεια των Χειλανθών (Σχήμα 2.10). Η λατινική ονομασία του φυτού *Rosmarinus* σημαίνει δροσιά της θάλασσας και είναι σύνθετη από τις λέξεις *ros* (δροσιά) και *marinus* (θαλάσσιος), γιατί πιστευόταν ότι το φυτό μπορεί να αναπτυχθεί χωρίς πότισμα, αρκούμενο μόνο στην υγρασία που έρχεται από τη θάλασσα. Γνωστό φυτό στην αρχαιότητα όταν οι Αρχαίοι Έλληνες το χρησιμοποιούσαν σε διάφορες θρησκευτικές τελετές και γιορτές, σε στολισμούς κτηρίων, ναών και ως καύσιμο για θυμίαμα. Η καταγωγή του είναι από τις περιοχές της Μεσογείου αλλά σήμερα εκτός από τις περιοχές αυτές καλλιεργείται ως καλλωπιστικό για τα ωραία κυανά άνθη του σε όλη σχεδόν την Ευρώπη και τις εύκρατες περιοχές της Αμερικής. Περιέχει ταννίνες και αιθέριο έλαιο, το οποίο εξάγεται με απόσταξη κυρίως από τις κορυφές των ανθοφόρων βλαστών. Τα άνθη του προτιμώνται από τις μέλισσες και γίνονται πηγή για την παραγωγή μελιού. Το δενδρολίβανο καλλιεργείται διεθνώς και υπάρχουν παραπάνω από 24 ευρέως γνωστές ποικιλίες. Μερικές από αυτές είναι οι *Benenden Blue*, *Flora Rosa*, *Tuscan Blue*, *Majorca Pink*, *Arp*, *Albiflorus*, *Huntington Carpet*, *McConnells Blue*, *Irene*, *Holly Hyde Hill Hurdy*. Το δενδρολίβανο καλλιεργείται διεθνώς, αλλά οι κορυφαίες περιοχές καλλιέργειάς του είναι οι χώρες της Μεσογείου, της Βόρειας Αφρικής, η Αγγλία, το Μεξικό, η Βραζιλία και οι ΗΠΑ. Στη Μεσόγειο το δενδρολίβανο καλλιεργείται στην Ελλάδα, την Κύπρο, την Τουρκία, την Ισπανία, τη Σερβία και τη Γαλλία ενώ στη Βόρεια Αφρική το φυτό συναντάται στην Τυνησία και στο Μαρόκο.



Σχήμα 2.10 *Rosmarinus officinalis*

Το ευρύτερα γνωστό είδος δενδρολίβανου, είναι το κοινό *Rosmarinus officinalis*. Υπάρχουν επίσης άλλα δύο είδη δενδρολίβανου τα *Rosmarinus tomentosus* και

Rosmarinus eriocalyx, αλλά είναι λιγότερο γνωστά από το *Rosmarinus officinalis*. (Baydar et al., 2009).

Είναι πυκνόφυλλος και πολύκλαδος θάμνος με ύψος που δεν ξεπερνά τα 2 μέτρα. Τα φύλλα του είναι δερματώδη, μικρά, γραμμοειδή και μοιάζουν με πευκοβελόνες. Η πάνω επιφάνεια των φύλλων έχει χρώμα σκούρο πράσινο και η κάτω επιφάνεια είναι ελαφρώς χνουδωτή με χρώμα λευκό ή αχνά γκριζωπό. Τα άνθη βρίσκονται κατά ομάδες και βγαίνουν στις μασχάλες των φύλλων. Το χρώμα τους είναι μοβ, κυανόλευκο ή και λευκό. Δεν έχει ιδιαίτερη ανάγκη από πότισμα και μπορεί να φυτρώσει και σε βραχώδεις ορεινές περιοχές. Οι βλαστοί έχουν ένα ευχάριστο άρωμα που μοιάζει με αυτό του τσαγιού και η γεύση τους είναι ελαφρώς πικρή και λίγο καυτερή.

Παρά το γεγονός ότι ολόκληρο το φυτό του δενδρολίβανου, εκτός από τα κλαδιά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί, συνήθως μόνο τα φύλλα είναι αυτά που χρησιμοποιούνται ως μυρωδικό στη μαγειρική, ως βότανο και ως φυσικό αντιοξειδωτικό. Σήμερα, εκχυλίσματα από δενδρολίβανο χρησιμοποιούνται ολοένα και περισσότερο όχι μόνο για να προσδώσουν γεύση, αλλά και ως φυσικά εναλλακτικά των συνθετικών αντιοξειδωτικών, για τη σταθεροποίηση τροφίμων ευαίσθητων στο οξυγόνο. Το αιθέριο έλαιο του φυτού χρησιμοποιείται στην αρωματοποιία, στη σαπωνοποιία, καθώς και με κατάλληλη επεξεργασία στην παρασκευή εντομοκτόνων.

Όπως αναφέρθηκε, τα εκχυλίσματα του φυτού μπορούν να έχουν αρωματικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Σε πολλές περιπτώσεις και οι δύο αυτές λειτουργίες κρίνονται απαραίτητες σε ένα τρόφιμο, όμως εκχυλίσματα του φυτού αποτελούν εμπορικά προϊόντα κυρίως για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Έτσι, οι διεργασίες στις οποίες υπόκειται το δενδρολίβανο μπορούν να βελτιστοποιηθούν έτσι ώστε να ενισχύεται η αντιοξειδωτική του δράση και να μειώνονται οι αρωματικές του ιδιότητες. Κάτω από αυτές τις συνθήκες αυτά τα προϊόντα θα πρέπει να θεωρούνται πρόσθετα τροφίμων (Aguilar et al., 2008).

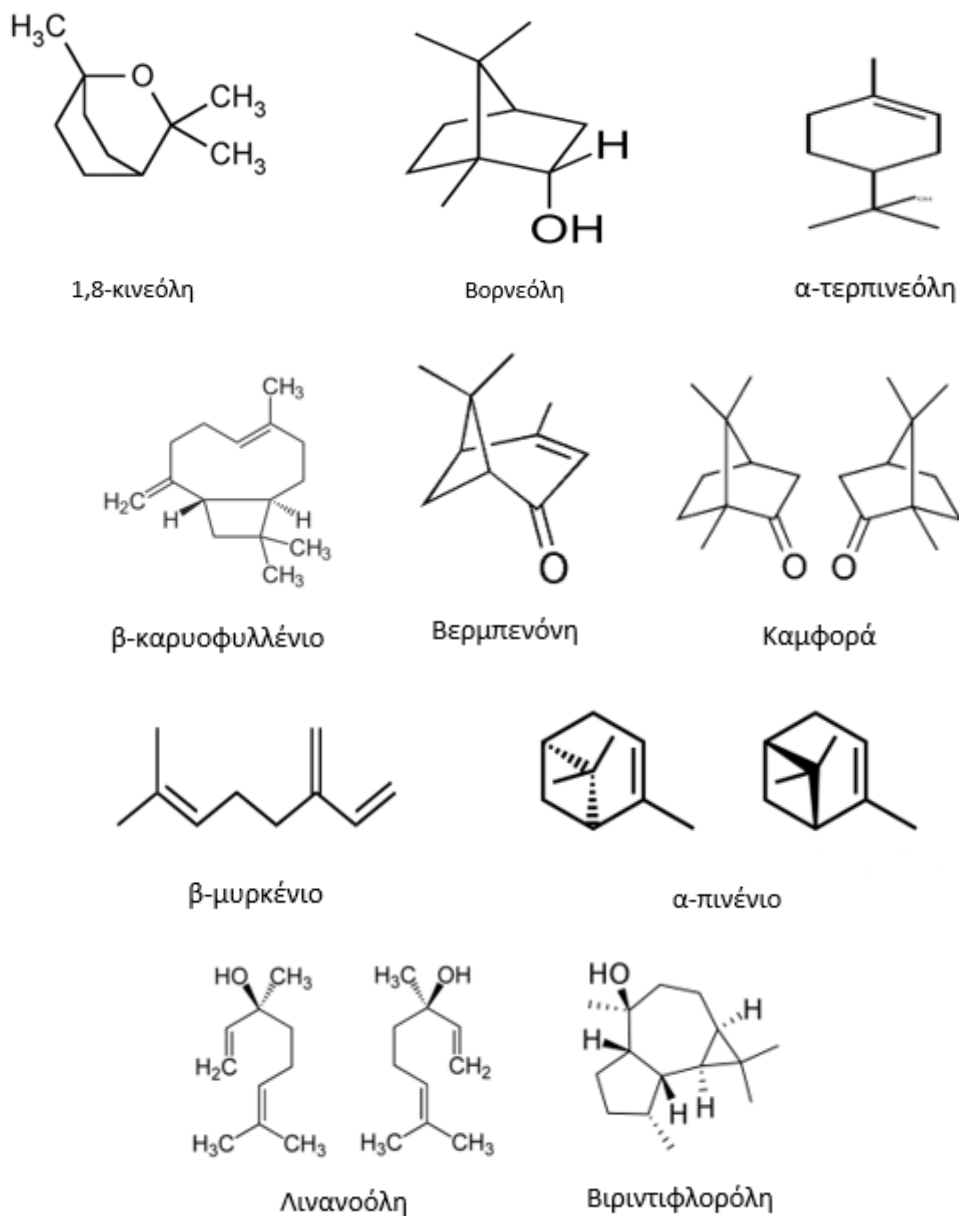
Η εκχύλιση αποξηραμένων φύλλων δενδρολίβανου δίνει ένα σχεδόν άχρωμο, έλαιο. Η χημική σύσταση του ελαίου εξαρτάται από την περιοχή ανάπτυξης του φυτού. Η κατανομή των διτερπενίων, των φλαβονών και του ροσμαρινικού οξέος μπορεί επίσης να ποικίλει κατά την ανάπτυξη φύλλων, ανθών, μίσχων και ριζών του *Rosmarinus officinalis* (Aguilar et al., 2008). Τα κύρια συστατικά του είναι μονοτερπένια,

μονοτερπενιο-υδραγονάνθρακες και σεσκουιτερπένια. Συγκεκριμένα, στο αιθέριο έλαιο του δενδρολίβανου εμφανίζονται ενώσεις όπως η 1,8-κινεόλη, η βιριντιφλορόλη, η καμφορά, το β-καρυφυλλένιο, η α-τερπινεόλη, το α-πινένιο, το β-πινένιο, το β-μυρκένιο, η βορνεόλη και η λιναλοόλη (Σχήμα 2.11).

Το δενδρολίβανο παρουσιάζει διαφορετικούς χημειότυπους ανάλογα την περιοχή, το κλίμα και το περιβάλλον στο οποίο καλλιεργείται. Αυτοί είναι: χημειότυπος α-πινενίου, χημειότυπος καμφοράς, χημειότυπος 1,8-κινεόλης και χημειότυπος που περιέχει περίπου ίσα ποσοστά α-πινενίου, 1,8-κινεόλης και καμφοράς. Οι τέσσερις αυτοί τύποι εμφανίζουν διαφορετική χημική και φυσική σύσταση. Συγκεκριμένα έρευνες έχουν δείξει ότι ο χημειότυπος 1,8-κινεόλης εμφανίζει ποσοστά 1,8-κινεόλη πάνω από 40 % και ο χημειότυπος καμφοράς περιέχει 41–53% καμφορά. Ο χημειότυπος α-πινενίου περιέχει 37–40% α-πινένιο (Sarkic et al., 2018).

Όσο αφορά την χώρα προέλευσης ο χημειότυπος 1,8 κινεόλης συναντάται σε χώρες όπως η Ελλάδα, η Τουρκία, η Τυνησία, το Μαρόκο, η Ιταλία και η Γαλλία και ο χημειότυπος ισόποσου α-πινενίου, καμφοράς και 1,8 κινεόλης συναντάται σε χώρες όπως η Γαλλία, η Ισπανία, η Ιταλία και η Ελλάδα (al-Sereiti et al., 1999).

Υπάρχουν ελάχιστες αναφορές στη βιβλιογραφία αιθέριου ελαίου πλούσιου σε βερμπενόνη και βορνεόλη που εμφανίζονται σε ποικιλίες στην Σαρδηνία ενώ στην Αργεντινή, τη Πορτογαλία και την Ισπανία εμφανίζεται αιθέριο έλαιο πλούσιο σε μυρκένιο (Yu et al., 2013).



Σχήμα 2.11 Δομή των κύριων συστατικών του αιθέριου ελαίου από δενδρολίβανο (*Rosmarinus officinalis*).

Οι Amin et al. (2017) μελέτησαν τη σύσταση του αιθέριου ελαίου διαφορετικών δενδρολίβανων που αναπτύσσονται στην ίδια περιοχή (πεδιάδα Kashmir). Παρά το γεγονός ότι καλλιεργήθηκαν στην ίδια περιοχή και ανήκαν στον ίδιο χημειότυπο, τα φυτά παρουσίασαν ιδιαίτερη ποικιλομορφία. Είναι φανερό ότι η σύσταση του αιθέριου ελαίου επηρεάζεται από μια πληθώρα παραγόντων πέρα από την περιοχή καλλιέργειας

και το χημειότυπο του αιθέριου ελαίου. Σύμφωνα με τους Parageorgiou et al. (2008), η περίοδος συγκομιδής του φυτού επηρεάζει έντονα τη σύσταση του φυτού σε καμφορά, ενώ επιφέρει μικρές αλλαγές στη σύστασή του σε α-πινένιο και σε 1,8-κινεόλη. Στον Πίνακα 2.2 παρουσιάζεται η διαφορά στην σύσταση του αιθέριου ελαίου με βάση την χώρα προέλευσης του φυτού. Το α-πινένιο εμφανίζει το μεγαλύτερο ποσοστό (37.9%) στο Νεπάλ και το χαμηλότερο (3.4%) στην Ελλάδα. Η 1,8-κινεόλη εμφανίζει τα μεγαλύτερα ποσοστά της στην Ελλάδα (58.9%) και τα χαμηλότερα στην Ινδία (11.6%), ενώ η καμφορά εμφανίζει μεγαλύτερο ποσοστό στην Ινδία (28.2%) και χαμηλότερο στην Αυστραλία και το Νεπάλ (1.7%). Φαίνεται ότι η σύσταση του αιθέριου ελαίου του δενδρολίβανου επηρεάζεται σημαντικά από την χώρα προέλευσης ειδικά αν βρίσκεται σε διαφορετική ήπειρο και με διαφορετικό κλίμα.

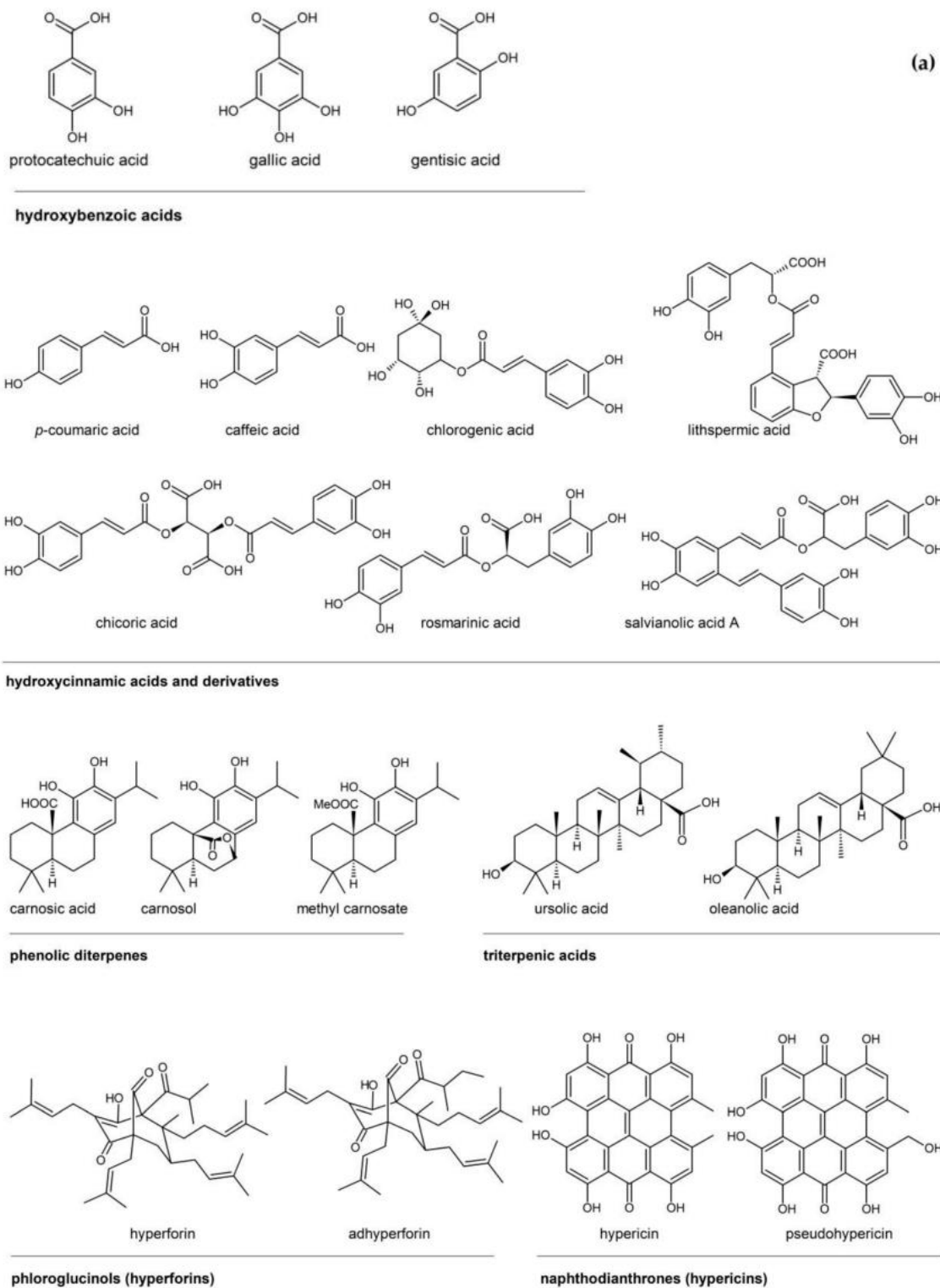
Οι Jiang et al. (2011) παρέλαβαν το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου με υδροαπόσταξη, το οποίο αναλύθηκε με αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματοσκοπία μάζας (GC - MS). Ταυτοποίησαν 22 συστατικά, που αντιπροσωπεύουν το 97.41% των συστατικών του αιθέριου ελαίου. Τα κυριότερα συστατικά ήταν η 1,8-κινεόλη (26.54%), το α-πινένιο (20.14%), η καμφορά (12.88%), το κεμπφένιο (11.38%) και το β-πινένιο (6.95%), αντίστοιχα. Οι Sienkiewicz et al. (2013) ανέφεραν ότι το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου περιέχει κυρίως 1,8-κινεόλη (46.4%), καμφορά (11.4%) και α-πινένιο (11.0%). Οι Bendeddouche et al. (2011), παρατήρησαν ότι τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου από δενδρολίβανο ήταν η καμφορά (37.6%), η 1,8-κινεόλη (10.0%), η π-κυμενό-7-όλη (7.8%) και η βορνεόλη (5.4%).

Είναι το πιο γνωστό φυτό με αντιοξειδωτική δράση και το εκχύλισμά του είναι το μόνο εγκεκριμένο φυσικό αντιοξειδωτικό στην ΕΕ (Οδηγία 95/2/ΕΚ), με τον αριθμό E-392 (Κανονισμός Ευρωπαϊκής Ένωσης αριθ. 231/2012). Η αντιοξειδωτική ισχύς αποδίδεται κυρίως στα φαινολικά διτερπένια, το καρνοσικό οξύ και την καρνοσόλη, και δευτερευόντως στο ροσμαρινικό οξύ (και πιθανώς και σε άλλα υδροξυκινναμικά οξέα, όπως το καφεϊκό οξύ) και σε παράγωγα φλαβονοειδών (Σχήμα 2.12). Για το λόγο αυτό, οι εμπορικά διαθέσιμοι τύποι του E-392 τυποποιούνται σύμφωνα με την περιεκτικότητά τους σε καρνοσικό οξύ και καρνοσόλη. Τα ίδια συστατικά έχουν συσχετιστεί με πολλές αντιμυκητιακές, αντιμικροβιακές, αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες των εκχυλισμάτων του δεντρολίβανου (Santana-Méridas et al., 2014; Moreno et al., 2006;

Andrade et al., 2018; De Oliveira et al., 2019; Moore et al., 2016; Ribeiro-Santos et al., 2015).

Πίνακας 2.2 Διαφοροποίηση συστατικών του αιθέριου ελαίου από δενδρολίβανο (*Rosmarinus officinalis*) με βάση την χώρα προέλευσής του (Satyal et al., 2017; Papageorgiyou et al., 2008; Salido et al., 2003)

Συστατικά αιθέριου ελαίου	Ποσοστό συστατικού %								
	Ινδία	Ελλάδα	Ισπανία	Η.Π.Α.	Νότια Αφρική	Κένουα	Αυστραλία	Νεπάλ	Υεμένη
Α-πινένιο	6.1	3.4	11.8	25.4	33.6	31.7	37.9	38.1	13.5
Καμφήνιο	0.2	0.8	6.2	2.5	7.6	2.6	4.6	4.6	1.5
β-πινένιο	4.2	2.5	4.6	1.4	2.3	2.1	3.0	2.8	1.0
1,8-κινεόλη	11.6	58.9	14.2	18.8	16.3	20.9	29.4	23.0	20.6
γ-τερπινένιο	-	0.2	0.7	1.0	0.4	1.0	0.8	1.2	0.1
π-κυμενιο	-	0.4	0.9	0.9	1.6	0.4	1.6	1.5	1.1
Λιναλοόλη	1.5	-	0.6	2.7	3.1	2.8	2.3	2.2	3.8
Καμφορά	28.2	1.8	27.2	2.4	0.7	2.1	1.7	1.7	7.0
β-καρυοφυλλένιο	1.0	3.3	5.1	0.6	2.5	0.7	1.3	1.4	1.2
Τερπινεόλη	1.5	2.8	2.5	2.9	1.0	2.6	0.9	1.5	3.2
Βορνεόλη	3.9	0.1	3.5	4.0	7.0	2.8	2.1	2.5	5.5



Σχήμα 2.12 Κύρια φαινολικά συστατικά του δενδρολίβανου (*Rosmarinus officinalis*).

Το δεντρολίβανο και μερικά κοινά είδη *salvia* είναι τα μόνα βότανα που περιέχουν καρνοσικό οξύ και καρνοσόλη ως κύρια συστατικά (Birtić et al., 2015). Άλλες ενώσεις που προέρχονται από την αποικοδόμηση του καρνοσικού οξέος και της καρνοσόλης, όπως η ροσμανόλη, η επιροσμανόλη, ο αιθυλαιθέρας της επιροσμανόλης και η ροσμαδιάλη μπορεί επίσης να ταυτοποιούνται στα εκχυλίσματα (Zhang et al., 2012; Mena et al., 2016). Έχει επίσης αναφερθεί η παρουσία τριτερπενοϊκών οξέων, όπως το ουρσολικό και ελεανολικό (Bernatoniene et al., 2016). Τα κύρια φλαβονοειδή του φυτού είναι η απιγενίνη, η λουτεολίνη και άλλες φλαβόνες, που απαντώνται κυρίως με τη μορφή γλυκοζιτών (Mena et al., 2016; Linares et al., 2011; Borrás-Linares et al., 2014; Psarrou et al., 2020).

Ο μηχανισμός δράσης των φαινολικών ενώσεων του δεντρολίβανου έχει καλυφθεί ευρέως σε διάφορες δημοσιεύσεις. Για παράδειγμα, οι Houlihan et al. (1985) και Wu et al. (1982) αναφέρουν ότι οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του δεντρολίβανου αποδίδονται στην υψηλή περιεκτικότητά του σε ισοπρενοειδείς κινόνες, οι οποίες έχουν την ικανότητα να τερματίζουν αλυσιδωτές αντιδράσεις ελευθέρων ριζών. Επιπλέον, ο Gordon (1990) παρατήρησε ότι οι φαινολικές ενώσεις που υπάρχουν στα εμπορικά εκχυλίσματα δεντρολίβανου λειτουργούν ως πρωτογενή αντιοξειδωτικά όταν αντιδρούν με τις ρίζες λιπιδίων και υδροξυλίου και τις μετατρέπουν σε σταθερά προϊόντα. Στη συνέχεια, οι Fang και Wada (1993) επεσήμαναν ότι αυτές οι ενώσεις θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως συμπλοκοποιητές ιόντων μετάλλων (Fe^{+2} βασικά), μειώνοντας έτσι παραγωγή ριζών υπεροξειδίου. Σύμφωνα με τον Löliger (1991), το καρνοσικό οξύ και η καρνοσόλη λειτουργούν ως ισχυροί δεσμευτές ριζών υπεροξειδίου. Αυτό το γεγονός εξηγεί τα συμπεράσματα που έλαβαν οι Chen et al. (1992), οι οποίοι επιβεβαίωσαν ότι η επίδραση και των δύο αυτών ενώσεων στην οξείδωση των λιπιδίων της μεμβράνης είναι υψηλότερη από την επίδραση που επιφέρουν τα τεχνητά αντιοξειδωτικά όπως BHA, BHT και γαλλικό προπύλιο (Aruoma, 1999). Η βιολογική δράση του *R. officinalis* L. αποδίδεται σε δύο κατηγορίες ενώσεων. Αυτές που ανήκουν στο πτητικό κλάσμα, δηλαδή το αιθέριο έλαιο, και στις φαινολικές ενώσεις (Andrade et al., 2018). Αυτή η τελευταία ομάδα, όπως έχει αναφερθεί, περιέχει κυρίως ένα κλάσμα φλαβονοειδών, ροσμαρινικού οξέος και μερικών διτερπενίων που προέρχονται δομικά από το καρνοσικό οξύ, την καρνοσόλη και τη ροσμανόλη (Sánchez-Camargo et al., 2017).

Αρκετές μελέτες χρησιμοποίησαν εκχυλίσματα από δενδρολίβανο και απέδωσαν την αντιοξειδωτική τους δράση κυρίως στο καρνοσικό οξύ και στην καρνοσόλη. Πολύ πρόσφατα, οι Lei et al. (2019) παρασκεύασαν ένα μικρογαλάκτωμα με α-τοκοφερόλη που στοχεύει στη βελτίωση της αντιοξειδωτικής σταθερότητας του καρνοσικού οξέος και, ως εκ τούτου, στη δημιουργία ενός συστήματος με πιθανές εφαρμογές για τη μεταφορά βιοδραστικών συστατικών. Η καρνοσόλη, καθώς και τα περισσότερα από τα φλαβονοειδή που βρίσκονται στα εκχυλίσματα δεντρολίβανου έχουν δείξει αντιριζική και αντιοξειδωτική δράση και είναι υπεύθυνα για τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του φυτού (Moreno et al., 2006; Wojdyło et al., 2007; Zheng & Wang, 2001).

Τα εκχυλίσματα δεντρολίβανου έχουν προταθεί και χρησιμοποιούνται ως βιοδραστικά, αντιοξειδωτικά πρόσθετα σε τρόφιμα, καλλυντικά και συσκευασίες (Fiume et al., 2018; Lee et al., 2011; Piñeros-Hernandez et al., 2017; Oreopoulou & Tsironi 2020). Η παγκόσμια αγορά τους αναμένεται να παρουσιάσει αύξηση 3.7% ανά έτος τα επόμενα πέντε χρόνια και θα φτάσει τα 260 εκατομμύρια US \$ το 2024 από 210 εκατομμύρια US \$ το 2019 (Global Rosemary Extract Market. Available online: <https://www.360researchreports.com/global-rosemary-extract-market-1407> 6077 (accessed on 10 April 2020)).

Βιβλιογραφία 2ου Κεφαλαίου

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

Aguilar, R., Quesada, M., Ashworth, L., Herrerias-Diego, Y. V. O. N. N. E., & Lobo, J. (2008). Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular ecology*, 17(24), 5177–5188.

Andrade, J. M., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C. P., & Rijo, P. (2018). *Rosmarinus officinalis L.*: an update review of its phytochemistry and biological activity. *Future science OA*, 4(4), FSO283.

Antolovich, M., Li, X., & Robards, K. (2001). Detection of adulteration in Australian orange juices by stable carbon isotope ratio analysis (SCIRA). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2623–2626.

Aruoma, O. I. (1999). Antioxidant actions of plant foods: use of oxidative DNA damage as a tool for studying antioxidant efficacy. *Free radical research*, 30(6), 419–427.

Bendeddouche, M. S., Benhassaini, H., Hazem, Z., & Romane, A. (2011). Essential oil analysis and antibacterial activity of *Rosmarinus tournefortii* from Algeria. *Natural product communications*, 6, 1511–1514.

Bernatoniene, J., Cizauskaite, U., Ivanauskas, L., Jakstas, V., Kalveniene, Z., & Kopustinskiene, D. M. (2016). Novel approaches to optimize extraction processes of ursolic, oleanolic and rosmarinic acids from *Rosmarinus officinalis* leaves. *Industrial Crops and Products*, 84, 72–79.

Birtić, S., Dussort, P., Pierre, F. X., Bily, A. C., & Roller, M. (2015). Carnosic acid. *Phytochemistry*, 115, 9–19.

Böhm, F., Edge, R., Land, E. J., McGarvey, D. J., & Truscott, T. G. (1997). Carotenoids enhance vitamin E antioxidant efficiency. *Journal of the american chemical society*, 119(3), 621–622.

Borrás-Linares, I., Stojanović, Z., Quirantes-Piné, R., Arráez-Román, D., Švarc-Gajić, J., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2014). *Rosmarinus officinalis* leaves as a natural source of bioactive compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 20585–20606.

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

Cao, G., Sofic, E., & Prior, R. L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free radical biology and medicine*, 22(5), 749–760.

Chen, C., Pearson, A. M., & Gray, J. I. (1992). Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. *Food chemistry*, 43(3), 177–183.

Choe, E., & Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 5(4), 169–186.

Choe, E., & Min, D. B. (2009). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 8(4), 345–358.

Chorianopoulos, N., Evergetis, E., Mallouchos, A., Kalpoutzakis, E., Nychas, G. J., & Haroutounian, S. A. (2006). Characterization of the essential oil volatiles of *Satureja*

thymbra and *Satureja parnassica*: Influence of harvesting time and antimicrobial activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(8), 3139–3145.

Cuppett, S. M. C. F., Schnepf, M., & Hall, C. (1997). Natural antioxidants—Are they a reality. *Natural antioxidants, chemistry, health effects and applications*, 12–24.

del Pilar Sánchez-Camargo, A., & Herrero, M. (2017). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as a functional ingredient: recent scientific evidence. *Current Opinion in Food Science*, 14, 13–19.

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

De Oliveira, J. R., Camargo, S. E. A., & De Oliveira, L. D. (2019). *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of biomedical science*, 26(1), 1–22.

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

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

Edge, R., & Truscott, T. G. (1999). Carotenoid radicals and the interaction of carotenoids with active oxygen species. *In The photochemistry of carotenoids* (pp. 223–234). Springer, Dordrecht.

Exarchou, V., Nenadis, N., Tsimidou, M., Gerothanassis, I. P., Troganis, A., & Boskou, D. (2002). Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage, and summer savory. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(19), 5294–5299.

Fang, X., & Wada, S. (1993). Enhancing the antioxidant effect of α -tocopherol with rosemary in inhibiting catalyzed oxidation caused by Fe^{2+} and hemoprotein. *Food Research International*, 26(6), 405–411.

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

Fiume, M. M., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., Liebler, D. C., & Heldreth, B. (2018). Safety assessment of *Rosmarinus officinalis* (rosemary)-derived ingredients as used in cosmetics. *International Journal of Toxicology*, 37(3_suppl), 12S–50S.

Frankel, E. N. (2014). *Lipid oxidation*. Elsevier.

Giweli, A., Džamić, A. M., Soković, M., Ristić, M. S., & Marin, P. D. (2012). Antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of *Satureja thymbra* growing wild in Libya. *Molecules*, 17(5), 4836–4850.

Gordon, M. H. (1990). The mechanism of antioxidant action in vitro. *In Food antioxidants* (pp. 1–18). Springer, Dordrecht.

Gunstone, F. D. (1996). Fatty acids - nomenclature, structure, isolation and structure determination, biosynthesis and chemical synthesis. *In Fatty acid and lipid chemistry* (pp. 1–34). Springer, Boston, MA.

Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481–504.

Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(10), 572–584.

Hernández, I., Alegre, L., Van Breusegem, F., & Munné-Bosch, S. (2009). How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? *Trends in plant science*, 14(3), 125–132.

Houlihan, C. M., Ho, C. T., & Chang, S. S. (1985). The structure of rosmariquinone - A new antioxidant isolated from *Rosmarinus officinalis L.* *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 62(1), 96–98.

Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y. J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C. J., Zu, Y. G., & Liu, X. L. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environmental toxicology and pharmacology*, 32(1), 63–68.

Jovanovic, S. V., Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B., & Simic, M. G. (1994). Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, 116(11), 4846–4851.

Kiokias, S., & Gordon, M. H. (2004). Antioxidant properties of carotenoids in vitro and in vivo. *Food Reviews International*, 20(2), 99–121.

Kiokias, S., Varzakas, T., & Oreopoulou, V. (2008). In vitro activity of vitamins, flavonoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems. *Critical reviews in food science and nutrition*, 48(1), 78–93.

Koukoulitsa, C., Karioti, A., Bergonzi, M. C., Pescitelli, G., Di Bari, L., & Skaltsa, H. (2006). Polar constituents from the aerial parts of *Origanum vulgare L. ssp. hirtum* growing wild in Greece. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(15), 5388–5392.

Lagouri, V., & Boskou, D. (1996). Nutrient antioxidants in oregano. *International journal of food sciences and nutrition*, 47(6), 493–497.

Laguerre, M., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in lipid research*, 46(5), 244–282.

Lee, C. J., Chen, L. G., Chang, T. L., Ke, W. M., Lo, Y. F., & Wang, C. C. (2011). The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in Lamiaceae plants. *Food chemistry*, 124(3), 833–841.

Lei, C., Tang, X., Chen, M., Chen, H., & Yu, S. (2019). Alpha-tocopherol-based microemulsion improving the stability of carnosic acid and its electrochemical analysis of antioxidant activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 580, 123708.

Linares, I. B., Arráez-Román, D., Herrero, M., Ibáñez, E., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2011). Comparison of different extraction procedures for the comprehensive characterization of bioactive phenolic compounds in *Rosmarinus officinalis* by reversed-phase high-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218(42), 7682–7690.

Loizzo, M. R., Saab, A. M., Tundis, R., Statti, G. A., Menichini, F., Lampronti, I., Gambari, R., Cinatl, J., & Doerr, H. W. (2008). Phytochemical analysis and in vitro antiviral activities of the essential oils of seven Lebanon species. *Chemistry & biodiversity*, 5(3), 461–470.

Löliger, J. (1991). The use of antioxidants in foods. *Free radicals and food additives*. OL Arouma and B. Halliwell.

López-Cobo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Švarc-Gajić, J., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2015). Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of a Mediterranean plant: The case of *Satureja montana subsp. kitaibelii*. *Journal of Functional Foods*, 18, 1167–1178.

Malešev, D., & Kuntić, V. (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society*, 72(10), 921–939.

Marinova, E. M., & Yanishlieva, N. V. (2003). Antioxidant activity and mechanism of action of some phenolic acids at ambient and high temperatures. *Food Chemistry*, 81(2), 189–197.

Mathew, S., Abraham, T. E., & Zakaria, Z. A. (2015). Reactivity of phenolic compounds towards free radicals under in vitro conditions. *Journal of food science and technology*, 52(9), 5790–5798.

Mena, P., Cirlini, M., Tassotti, M., Herrlinger, K. A., Dall'Asta, C., & Del Rio, D. (2016). Phytochemical profiling of flavonoids, phenolic acids, terpenoids, and volatile fraction of a rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) extract. *Molecules*, 21(11), 1576.

Moore, J., Yousef, M., & Tsiani, E. (2016). Anticancer effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) extract and rosemary extract polyphenols. *Nutrients*, 8(11), 731.

Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C. S., & Vojnov, A. A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free radical research*, 40(2), 223–231.

Nahas, R. I. (2012). Natural antioxidants as food and beverage ingredients. *Natural food additives, ingredients and flavourings*, 100–126.

Oniszczyk, A., Podgórski, R., Oniszczyk, T., Żukiewicz-Sobczak, W., Nowak, R., & Waksmundzka-Hajnos, M. (2014). Extraction methods for the determination of phenolic compounds from *Equisetum arvense* L. herb. *Industrial Crops and Products*, 61, 377–381.

Oreopoulou, V., & Tsironi, T. (2020). Plant antioxidants and antimicrobials in edible and non-edible active packaging films. *Plant Antioxidants and Health*, 1–24.

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

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

Piñeros-Hernandez, D., Medina-Jaramillo, C., López-Córdoba, A., & Goyanes, S. (2017). Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. *Food hydrocolloids*, 63, 488–495.

Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. H. (Eds.). (2001). Antioxidants in food: practical applications. CRC press.

Psarrou, I., Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2020). Extraction Kinetics of Phenolic Antioxidants from the Hydro Distillation Residues of Rosemary and Effect of Pretreatment and Extraction Parameters. *Molecules*, 25(19), 4520.

Rajamma, A. G., Bai, V., & Nambisan, B. (2012). Antioxidant and antibacterial activities of oleoresins isolated from nine *Curcuma* species. *Phytopharmacology*, 2(2), 312–317.

Reische, D. W., Lillard, D. A., & Eitenmiller, R. R. (1997). Phytosterol and other functional lipids in food beta sitostrol. *Antioxidants in Food Lipids*.

Ribeiro-Santos, R., Carvalho-Costa, D., Cavaleiro, C., Costa, H. S., Albuquerque, T. G., Castilho, M. C., & Sanches-Silva, A. (2015). A novel insight on an ancient aromatic plant: The rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 355–368.

Rice-Evans, C. A., & Miller, N. J. (1996). Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochemical Society Transactions*, 24(3), 790–795.

Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, 2(4), 152–159.

Santana-Méridas, O., Polissiou, M., Izquierdo-Melero, M. E., Astraka, K., Tarantilis, P. A., Herraiz-Peñalver, D., & Sánchez-Vioque, R. (2014). Polyphenol composition, antioxidant and bioplaguicide activities of the solid residue from hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 59, 125–134.

Singh, S., Das, S. S., Singh, G., Schuff, C., de Lampasona, M. P., & Catalan, C. A. (2014). Composition, *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and oleoresins obtained from black cumin seeds (*Nigella sativa* L.). *BioMed research international*, 2014.

Schuler, P. (1990). Natural antioxidants exploited commercially. *In Food antioxidants* (pp. 99–170). Springer, Dordrecht.

Shahidi, F., Janitha, P. K., & Wanasundara, P. D. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical reviews in food science & nutrition*, 32(1), 67–103.

Shahidi, F. (Ed.). (1997). Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications. *The American Oil Chemists Society*.

Sienkiewicz, M., Lysakowska, M., Pastuszka, M., Bienias, W., & Kowalczyk, E. (2013). The potential of use Basil and Rosemary essential oils as effective antibacterial agents. *Molecules*, 18, 9334–9351.

Skendi, A., Irakli, M., & Chatzopoulou, P. (2017). Analysis of phenolic compounds in Greek plants of Lamiaceae family by HPLC. *Journal of applied research on medicinal and aromatic plants*, 6, 62–69.

Skoula, M., Grayer, R. J., & Kite, G. C. (2005). Surface flavonoids in *Satureja thymbra* and *Satureja spinosa* (Lamiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(5), 541–544.

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

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

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

Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231–R1249.

Tsimogiannis, D. I., & Oreopoulou, V. (2004). Free radical scavenging and antioxidant activity of 5, 7, 3', 4'-hydroxy-substituted flavonoids. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(4), 523–528.

Tsimogiannis, D. I., & Oreopoulou, V. (2006). The contribution of flavonoid C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 7(1-2), 140–146.

Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2007). Defining the role of flavonoid structure on cottonseed oil stabilization: study of A-and C-ring substitution. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(2), 129–136.

Tsimogiannis, D. (2008). Antioxidant activity of flavonoid compounds and extracts from aromatic plants: free radical reduction and protection of vegetable oils. Doctoral Thesis, available from: National Archive of Doctoral Dissertations.

Tsimogiannis, D., Choulitoudi, E., Bimpilas, A., Mitropoulou, G., Kourkoutas, Y., & Oreopoulou, V. (2017). Exploitation of the biological potential of *Satureja thymbra* essential oil and distillation by-products. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 4, 12–20.

Ulku Karabay–Yavasoglu, N., Baykan, S., Ozturk, B., Apaydin, S., & Tuglular, I. (2006). Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Satureja thymbra*. *L. Essential oil. Pharmaceutical biology*, 44(8), 585–591.

Upadhyay, R., & Mishra, H. N. (2014). Antioxidant activity measurement of oleoresin from rosemary and sage. *Industrial Crops and Products*, 61, 453–459.

Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940–949.

Wu, J. W., Lee, M. H., Ho, C. T., & Chang, S. S. (1982). Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants isolated from rosemary. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 59(8), 339–345.

Yin, H., Fretté, X. C., Christensen, L. P., & Grevsen, K. (2012). Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek oregano (*Origanum vulgare ssp. hirtum*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(1), 136–143.

Zhang, Y., Smuts, J. P., Dodbiba, E., Rangarajan, R., Lang, J. C., & Armstrong, D. W. (2012). Degradation study of carnosic acid, carnosol, rosmarinic acid, and rosemary extract (*Rosmarinus officinalis L.*) assessed using HPLC. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(36), 9305–9314.

Zheng, W., & Wang, S. Y. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 49(11), 5165–5170.

Κεφάλαιο 3ο: Γαλακτώματα

3.1 Εισαγωγή στα γαλακτώματα

Πολλά τρόφιμα, φυσικά ή επεξεργασμένα, ανήκουν στην κατηγορία των γαλακτωματοποιημένων προϊόντων. Το γάλα είναι το πιο κοινό παράδειγμα ενός φυσικού γαλακτώματος. Οι μαγιονέζες, οι κρέμες, τα παγωτά, το βούτυρο, οι μαργαρίνες είναι αντίστοιχα παραδείγματα γαλακτωμάτων επεξεργασμένων προϊόντων. Επίσης, οι σάλτσες ή πολλά επιδόρπια σε μορφή σκόνης είναι παραδείγματα τροφίμων, που σε κάποιο από τα στάδια επεξεργασίας τους ήταν σε μορφή γαλακτώματος και κατόπιν μετατράπηκαν στην τελική τους μορφή.

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των γαλακτωμάτων, όπως η εμφάνιση, η υφή και η σταθερότητα, εξαρτώνται από το είδος των συστατικών που περιέχουν και τις τυχόν αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους. Τα γαλακτώματα τροφίμων περιέχουν μία ποικιλία συστατικών, όπως νερό, λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, μεταλλικά στοιχεία, σάκχαρα και μικρού μοριακού βάρους γαλακτωματοποιητές. Ο συνδυασμός αυτών των συστατικών ευθύνεται για τη δημιουργία των διαφορετικών φάσεων και των δομικών χαρακτηριστικών, ώστε το τελικό προϊόν να αποκτά τις χαρακτηριστικές φυσικοχημικές του ιδιότητες.

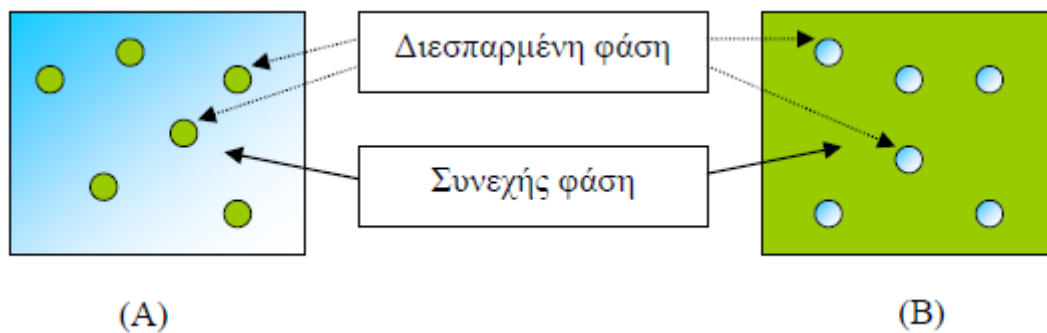
3.2 Δομή γαλακτωμάτων

Ένα γαλάκτωμα σχηματίζεται από τη διασπορά ενός υγρού με τη μορφή μικρών σφαιρικών σταγονιδίων μέσα σε ένα άλλο, με το οποίο φυσικά είναι μη αναμίξιμο. Στα τρόφιμα, τα δύο υγρά είναι συνήθως έλαιο και νερό. Η διάμετρος των σταγονιδίων στα γαλακτώματα τροφίμων κυμαίνεται σε εύρος 0.1 – 50 μm . Το γαλάκτωμα, το οποίο αποτελείται από σταγονίδια ελαίου (λιποσφαίρια) διεσπαρμένα στην υδατική φάση ονομάζεται γαλάκτωμα τύπου έλαιο σε νερό (o/w). Παραδείγματα τέτοιων γαλακτωμάτων αποτελούν οι μαγιονέζες, το γάλα, οι κρέμες, οι σούπες κ.α. Αντίθετα, αυτό που αποτελείται από σταγονίδια νερού διεσπαρμένα στη λιπαρή φάση, ονομάζεται

γαλακτώμα τύπου νερό σε έλαιο (w/o), όπως είναι η μαργαρίνη και το βούτυρο (Dalglish, 2004).

Το υγρό που είναι διεσπαρμένο με τη μορφή σταγονιδίων, ονομάζεται διεσπαρμένη φάση ή εσωτερική φάση του γαλακτώματος, ενώ αυτό που αποτελεί το μέσο που περιβάλλει τα σταγονίδια, ονομάζεται συνεχής ή εξωτερική φάση του γαλακτώματος (Σχήμα 3.1).

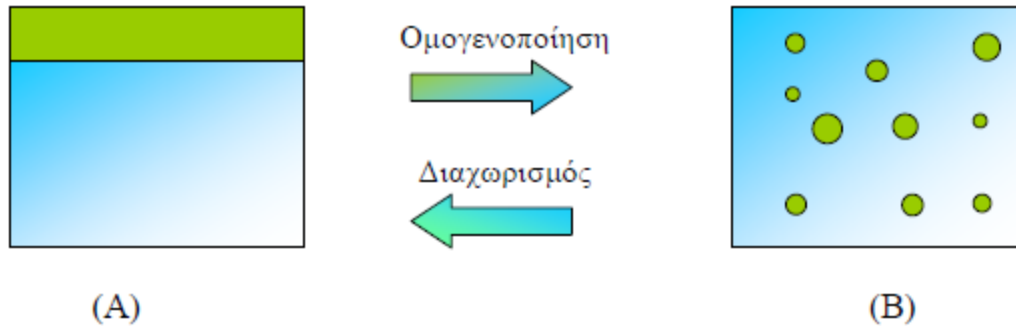
Ωστόσο, είναι δυνατή η παρασκευή σύνθετων γαλακτωμάτων, που αποτελούνται από σταγονίδια ελαίου, τα οποία με τη σειρά τους περιέχονται σε μεγαλύτερα σταγονίδια νερού και τα οποία βρίσκονται διεσπαρμένα στη λιπαρή φάση (o/w/o), ή και το αντίστροφο (w/o/w). Τέτοιου τύπου γαλακτώματα χρησιμοποιούνται για την προστασία ευαίσθητων συστατικών και την ελεγχόμενη απελευθέρωσή τους ή για την παρασκευή τροφίμων χαμηλών σε λιπαρά.



Σχήμα 3.1 Γαλακτώμα (A) τύπου έλαιο σε νερό και (B) τύπου νερό σε έλαιο. Με πράσινο χρώμα αποδίδεται η λιπαρή φάση και με θαλασσί η υδατική φάση.

Τα γαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα, εξαιτίας του θετικού ισοζυγίου ελεύθερης ενέργειας που απαιτείται, για να αυξηθεί η επιφάνεια επαφής μεταξύ της λιπαρής και της υδατικής φάσης. Η ενέργεια αυτή προέρχεται από τη μη συμβατή αλληλεπίδραση μεταξύ του ελαίου και του νερού, καθώς τα μόρια νερού σχηματίζουν ισχυρούς δεσμούς υδρογόνου με άλλα μόρια νερού και όχι με μόρια ελαίου. Τα γαλακτώματα τείνουν να μειώσουν την επιφάνεια επαφής μεταξύ των δύο φάσεων,

οπότε διαχωρίζονται σε μία στοιβάδα λιπαρής φάσης πάνω από μία στοιβάδα υδατικής φάσης, λόγω της χαμηλότερης πυκνότητας του ελαίου. Αρχικά, σχηματίζεται ένα γαλακτώμα, το οποίο πολύ γρήγορα διαχωρίζεται στις δύο φάσεις (Σχήμα 3.2).

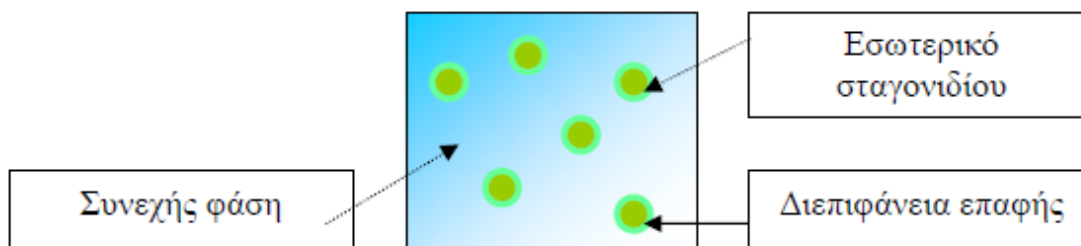


Σχήμα 3.2 Η λιπαρή φάση (πράσινο χρώμα) σχηματίζει μία στοιβάδα πάνω από την υδατική φάση (θαλασσί χρώμα), πριν την ομογενοποίηση και κατά το διαχωρισμό (A) του γαλακτώματος τύπου έλαιο σε νερό (B).

Η αποσταθεροποίηση του γαλακτώματος συμβαίνει μέσω διαφορετικών φυσικοχημικών μηχανισμών, όπως η αποκορύφωση, η θρόμβωση ή κροκίδωση, η συνένωση ή συσσωμάτωση και η αναστροφή φάσης (Saether et al., 2004; Van Aken, 2004).

Για την παραγωγή γαλακτωμάτων, χρησιμοποιούνται χημικές ενώσεις που είναι γνωστές ως γαλακτωματοποιητές. Οι γαλακτωματοποιητές είναι επιφανειοενεργά μόρια, τα οποία προσροφώνται στην επιφάνεια των σταγονιδίων που δημιουργούνται κατά τη διεργασία της ομογενοποίησης, σχηματίζοντας μία προστατευτική μεμβράνη, η οποία αποτρέπει το σχηματισμό συσσωματωμάτων μεταξύ των σταγονιδίων.

Ένα γαλάκτωμα θεωρητικά αποτελείται από τρεις διακριτές περιοχές, τη συνεχή φάση, το εσωτερικό του σταγονιδίου και τη διεπιφάνεια λιπαρής – υδατικής φάσης (Σχήμα 3.3). Η διεπιφάνεια είναι μία στενή περιοχή που περιβάλλει το σταγονίδιο, και αποτελείται από ένα μίγμα λιπαρής, υδατικής φάσης και γαλακτωματοποιητή. Συνήθως το πάχος της είναι μερικά νανόμετρα.



Σχήμα 3.3 Δομή ενός γαλακτώματος τύπου έλαιο σε νερό (o/w), όπου διακρίνονται η λιπαρή φάση (εσωτερικό σταγονιδίου – πράσινο χρώμα), η υδατική φάση (συνεχής φάση – θαλασσί χρώμα) και η διεπιφάνεια (ανοιχτό πράσινο χρώμα).

Τα περισσότερα γαλακτώματα τροφίμων είναι πολύπλοκα συστήματα, καθώς διάφορες ενώσεις μπορεί να κατανέμονται μεταξύ αυτών των περιοχών αναλόγως της πολικότητάς τους και της διαλυτότητάς τους. Η υδατική φάση μπορεί να περιέχει διαφορετικά πολικά, υδατοδιαλυτά συστατικά, όπως σάκχαρα, άλατα, οξέα, βάσεις, σταθεροποιητές, πρωτεΐνες ή πολυσακχαρίτες. Η λιπαρή φάση μπορεί να περιέχει ομοίως μη πολικά, λιποδιαλυτά συστατικά, όπως δι- και μονο- γλυκερίδια, λιπαρά οξέα, λιποδιαλυτές βιταμίνες, χοληστερόλη και η διεπιφάνεια λιπαρής – υδατικής φάσης αμφιφιλικές ενώσεις, όπως γαλακτωματοποιητές μικρού μοριακού βάρους, φωσφολιπίδια, πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες.

Πολλά από τα παραπάνω συστατικά, αναλόγως του συντελεστή κατανομής τους, μπορεί να κατανέμονται σε περισσότερες από μία φάσεις και όχι αποκλειστικά σε μία φάση. Οι ενώσεις αυτές ακόμα και σε μικρή συγκέντρωση μπορεί να επηρεάζουν σημαντικά τις φυσικοχημικές ιδιότητες του γαλακτώματος. Οι ιδιότητες των γαλακτωμάτων αλλάζουν συνεχώς με το χρόνο εξαιτίας της επίδρασης διαφόρων χημικών, φυσικών και βιολογικών παραγόντων. Επιπλέον, οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες επηρεάζονται κατά τη διάρκεια διεργασιών όπως επεξεργασία, αποθήκευση, μεταφορά, χειρισμός, διότι υφίστανται μεταβολές στη θερμοκρασία (όπως κατά την αποστείρωση, το μαγείρεμα, την ψύξη, την κατάψυξη) και μηχανικές πιέσεις (όπως ανάμιξη, φυγοκέντρωση, ομογενοποίηση).

3.3 Γαλακτωματοποιητές

3.3.1 Γαλακτωματοποιητές μικρού μοριακού βάρους

Οι πιο ευρέως διαδεδομένοι γαλακτωματοποιητές που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων είναι μικρού μοριακού βάρους ενώσεις, όπως μονο- και δι-γλυκερίδια, πολυσορβικοί εστέρες (Tweens), μονοσορβικοί εστέρες (Spans) και φωσφολιπίδια, π.χ. λεκιθίνη (Krog & Sparso 2004). Η χρήση τους στα τρόφιμα αποσκοπεί στην ενίσχυση της δομής και της σταθερότητάς τους. Επιπλέον, επηρεάζουν τις φυσικοχημικές ιδιότητες του τροφίμου, αλληλεπιδρώντας με πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες ή τροποποιώντας την κρυσταλλική δομή των λιπαρών. Οι κυριότεροι μικρομοριακοί γαλακτωματοποιητές κατηγοριοποιούνται, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.1.

Οι ενώσεις αυτής της κατηγορίας είναι αμφιφιλικά μόρια, τα οποία αποτελούνται από μία υδρόφιλη ομάδα, η οποία καλείται «κεφαλή» και έχει την τάση να προσανατολίζεται προς την υδατική φάση και μία υδρόφοβη ομάδα, η οποία καλείται «ουρά» και η οποία προσανατολίζεται προς τη λιπαρή φάση. Συνήθως αναπαριστώνται με τον τύπο “RX”, όπου R: η λιπόφιλη ουρά και X: η υδρόφιλη κεφαλή. Οι μικρομοριακοί γαλακτωματοποιητές διαφέρουν ως προς το είδος της υδρόφιλης και λιπόφιλης ομάδας. Η υδρόφιλη κεφαλή μπορεί να είναι ανιονική, κατιονική ή ουδέτερη, ενώ η λιπόφιλη ουρά να αποτελείται από μία ή περισσότερες μακριές ανθρακικές αλυσίδες, μεταξύ 10 έως 20 ατόμων άνθρακα, ευθείες ή διακλαδισμένες, κορεσμένες ή ακόρεστες. Οι γαλακτωματοποιητές που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων έχουν ουδέτερη κεφαλή (π.χ. Tweens, Spans, μονογλυκερίδια), ανιονική (π.χ. λιπαρά οξέα), ή με συνολικό φορτίο μηδέν (π.χ. λεκιθίνη) και ουρά που αποτελείται από μία ή δύο ευθείες ανθρακικές αλυσίδες, κορεσμένες ή ακόρεστες.

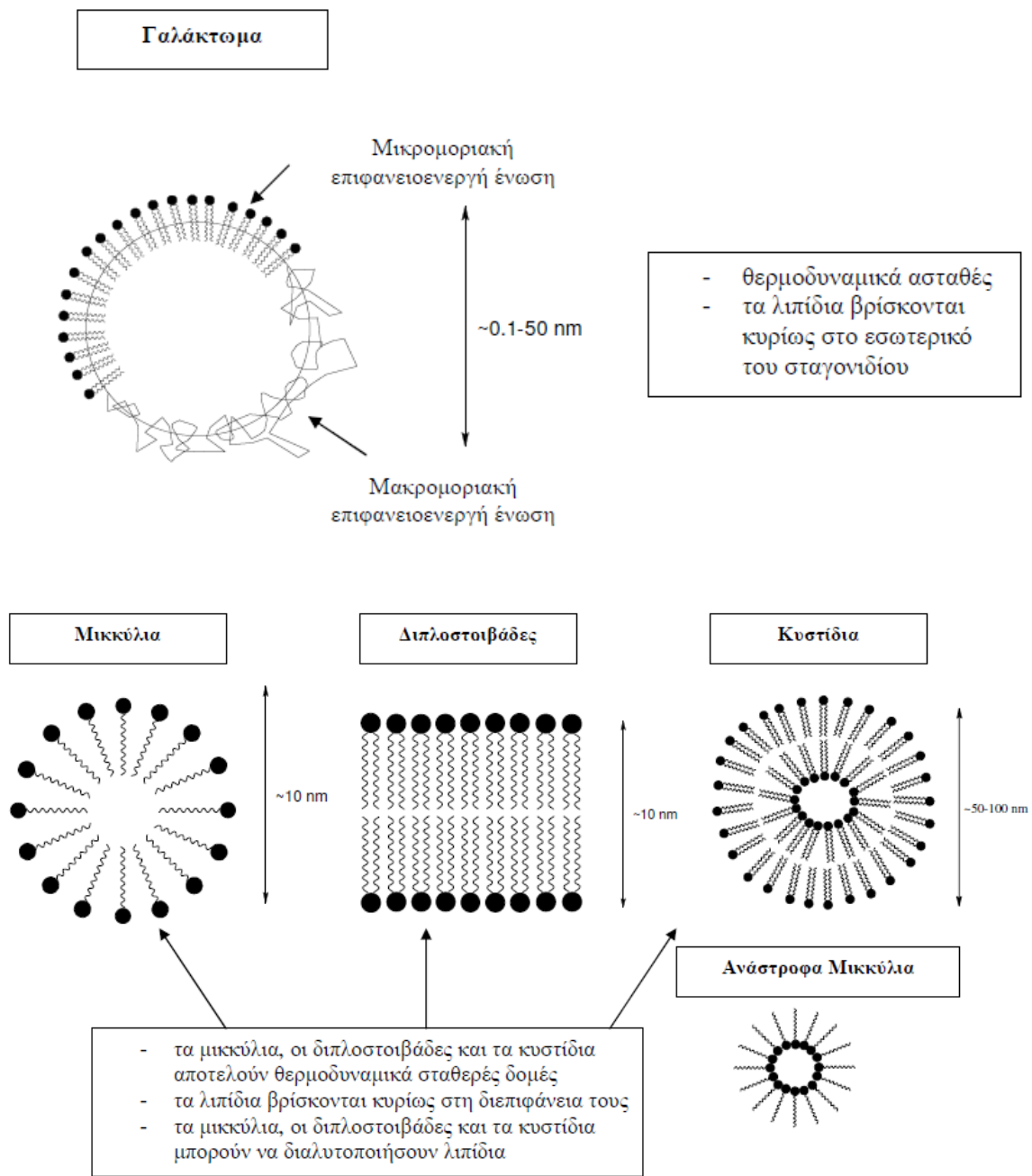
Πίνακας 3.1 Κατηγοριοποίηση των κυριότερων γαλακτωματοποιητών μικρού μοριακού βάρους (Bos & van Vliet, 2001).

Γαλακτωματοποιητές μικρού μοριακού βάρους			
Μη ιοντικοί		Ιοντικοί	
Υδατοδιαλυτοί	Λιποδιαλυτοί	Υδατοδιαλυτοί	Λιποδιαλυτοί
C ₁₂ E ₆ (δωδεκανοϊκός εστέρας του εξαιοξαιθυλενίου)	Δι -, τρι – εστέρες της σακχαρόζης	SDS (δωδεκυλοσουλφονικό νάτριο)	Span 60 (σορβικός μονοστεατικός εστέρας)
C ₁₂ E ₈ (δωδεκανοϊκός εστέρας του πολυοξαιθυλενίου)	Μονογλυκερίδια	DATEM (διακέτυλο – τρυγικοί εστέρες των μονογλυκεριδίων)	Span 80 (σορβικός μονοελαϊκός εστέρας)
Tween 20 (δωδεκανοϊκός εστέρας του πολυοξαιθυλενίου)		SSL (στεατικό – γαλακτικό νάτριο)	Μono- και διγλυκερίδια
Tween 60 (σορβικός μονοστεατικός εστέρας του πολυοξαιθυλενίου)	-	-	-
Tween 80 (σορβικός τριστεατικός εστέρας του πολυοξαιθυλενίου)	-	-	-
Μono - εστέρες της σακχαρόζης	-	-	-

Οι γαλακτωματοποιητές, όταν βρεθούν σε διάλυμα, συναθροίζονται δημιουργώντας μία ποικιλία θερμοδυναμικά σταθερών δομών που είναι γνωστές με τον γενικό όρο κολλοειδή. Στις δομές αυτές περιλαμβάνονται τα μικκύλια, οι

διπλοστοιβάδες, τα ανάστροφα μικκύλια και τα κυστίδια (Σχήμα 3.4). Ο σχηματισμός τους ευνοείται επειδή μειώνεται η επιφάνεια επαφής μεταξύ των πολικών και μη πολικών ομάδων των γαλακτωματοποιητών και καθορίζεται από τη γεωμετρία και την πολικότητα του γαλακτωματοποιητή. Στα μικκύλια, οι γαλακτωματοποιητές διατάσσονται κατά τέτοιο τρόπο, ώστε οι μη πολικές ουρές να βρίσκονται στο εσωτερικό τους απομακρυσμένες από την υδατική φάση, ενώ οι υδρόφιλες κεφαλές να βρίσκονται σε επαφή με το νερό.

Τα μικκύλια διαλυτοποιούν μη πολικά μόρια στο εσωτερικό τους, με τις ακόλουθες συνέπειες: 1. η συγκέντρωση των μη πολικών μορίων αυξάνεται στην υδατική φάση, 2. τα μη πολικά μόρια μπορεί να μετακινηθούν στην υδατική φάση, στην οποία κανονικά είναι αδιάλυτα και 3. ο ρυθμός ορισμένων χημικών αντιδράσεων είναι διαφορετικός στα μικκύλια και στα κυστίδια από ότι σε μονοφασικά συστήματα (Coupland & McClements, 1996). Μία σημαντική ιδιότητα των γαλακτωματοποιητών είναι ότι προκαλούν τη διαλυτοποίηση μη πολικών συστατικών. Μη πολικά συστατικά, τα οποία είναι αδιάλυτα ή μερικώς διαλυτά στο νερό, μπορεί να διαλυτοποιηθούν στο υδατικό διάλυμα του γαλακτωματοποιητή, μετά την ενσωμάτωσή τους στα μικκύλια ή στις άλλες δομές κολλοειδών. Το σύστημα που δημιουργείται είναι θερμοδυναμικά σταθερό, αν και η ισορροπία επέρχεται μετά από ορισμένο χρονικό διάστημα, εξαιτίας της ενέργειας ενεργοποίησης που απαιτείται για τη μεταφορά του μη πολικού συστατικού από τη συνεχή φάση στο μικκύλιο. Τα μικκύλια αυτά είναι γνωστά με τον όρο «swollen micelles» ή «microemulsions» και το συστατικό που έχει διαλυτοποιηθεί στο εσωτερικό τους «solubilizate». Η ιδιότητα αυτή βρίσκει ενδιαφέρουσα εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων, καθώς περιλαμβάνει την επιλεκτική εκχύλιση άπολων συστατικών από τα έλαια, την ελεγχόμενη απελευθέρωση συστατικών και την ενσωμάτωσή τους σε υδατικά διαλύματα.

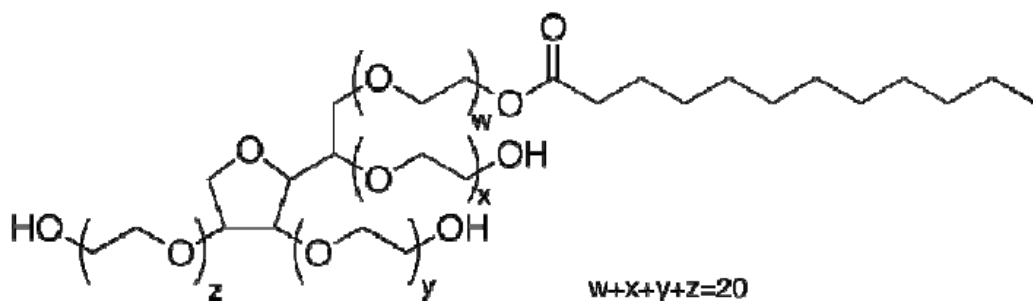


Σχήμα 3.4 Μορφές κolloειδών (Coupland & McClements, 1996).

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή χρησιμοποιήθηκε ως γαλακτωματοποιητής, μικρού μοριακού βάρους, το Tween 20. Το Tween 20 (C₅₈H₁₁₄O₂₆) είναι η εμπορική

ονομασία του πολυσορβίτη 20, ο οποίος είναι ο σορβικός μονολαυρικός εστέρας του πολυοξαιθυλενίου. Διαφέρει από τα υπόλοιπα μέλη της ομάδας των Tween (Tween 60, 65, 80), λόγω του μήκους της πολυοξαιθυλενικής αλυσίδας και του εστέρα του λιπαρού οξέος στο μόριό του (Σχήμα 3.5). Συνώνυμες ονομασίες είναι PEG (20) sorbitan και μονολαυρικός εστέρας. Είναι ένα υγρό διαφανές, κίτρινου χρώματος και υψηλού ιξώδους.

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του Tween 20 είναι: σημείο βρασμού: > 100 °C, pH υδατικού διαλύματος 1%: 6.5 – 7.0, ιξώδες: 370 – 430 cps (25 °C), δείκτης διάθλασης: 1.46851, πυκνότητα: 1.1 g/mL, HLBq 16.72, κρίσιμη συγκέντρωση (cmc): 60 mg/L και μοριακό βάρος: 1227.54 g/mol. Είναι διαλυτό στο νερό (100 mg/mL), στην αιθανόλη και στον οξικό αιθυλεστέρα, ενώ είναι πρακτικά αδιάλυτο σε ορυκτέλαια και ζωϊκά λίπη (Οδηγία 2008/84/EC).



Σχήμα 3.5 Δομή του μικρομοριακού γαλακτωματοποιητή Tween 20.

Τα υδατικά διαλύματα με Tween 20 υφίστανται αυτοξειδωση κατά τη διάρκεια αποθήκευσής τους, ειδικά υπό την επίδραση του φωτός, της θερμοκρασίας και της παρουσίας μετάλλων. Το Tween 20 είναι ευαίσθητο στη θέρμανση και αποκτά σκούρο χρώμα, όταν εκτίθεται σε υψηλές θερμοκρασίες. Είναι μη συμβατό με διαλύματα βάσεων και αλάτων βερέων μετάλλων.

Το Tween 20 προσδίδει στα σταγονίδια ουδέτερο φορτίο, ενώ η σταθερότητα και μη τοξικότητά του, το έχουν καταστήσει κατάλληλο γαλακτωματοποιητή σε μία σειρά από εφαρμογές στα τρόφιμα, στη φαρμακευτική, στη βιοχημεία και στη βιολογία. Ο

Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έχει προτείνει ως αποδεκτό όριο ημερήσιας πρόσληψης 0 – 25 mg/kg σωματικού βάρους. Είναι κατάλληλο για την παρασκευή γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό, ενώ μπορεί να προκαλέσει την αντικατάσταση πρωτεϊνών από τις μεμβράνες ή τη διαλυτοποίησή τους.

3.3.2 Γαλακτωματοποιητές μεγάλου μοριακού βάρους

Στους γαλακτωματοποιητές μεγάλου μοριακού βάρους ανήκουν τα βιοπολυμερή. Οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες είναι βιοπολυμερή που χρησιμοποιούνται ευρέως, ως λειτουργικά συστατικά των τροφίμων. Έχουν την ικανότητα να σταθεροποιούν το γαλάκτωμα, να ενισχύουν το ιξώδες του συστήματος και να σχηματίζουν πηκτές. Το μοριακό τους βάρος, η διάταξη και η ελαστικότητα του μορίου τους, καθώς και η πολικότητά τους καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό, τις ιδιότητες των διαλυμάτων τους. Τα χαρακτηριστικά τους αυτά προκύπτουν από τον τύπο, τον αριθμό και την αλληλουχία των μονομερών τους, που είναι τα αμινοξέα στις πρωτεΐνες και τα απλά σάκχαρα στους πολυσακχαρίτες.

Τα βιοπολυμερή είναι αποτελεσματικά ως γαλακτωματοποιητές, όταν προσροφώνται άμεσα στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης. Οι μεμβράνες που σχηματίζονται από τα βιοπολυμερή, σταθεροποιούν τα σταγονίδια των γαλακτωμάτων μέσω ποικίλων μηχανισμών. Όλα τα βιοπολυμερή παρέχουν μικρού εύρους στερικές, απωστικές δυνάμεις, οι οποίες είναι αρκετά ισχυρές, ώστε να αποτρέπουν τη συνένωση ή συσσωμάτωση των σταγονιδίων. Επίσης, εάν το πάχος της μεμβράνης είναι ικανοποιητικό, αποτρέπεται το φαινόμενο της κροκίδωσης των σταγονιδίων. Διαφορετικά, πρέπει το σταγονίδιο να είναι ηλεκτρικά φορτισμένο, ώστε η κροκίδωση να αποτρέπεται λόγω ηλεκτροστατικής άπωσης. Τα γαλακτώματα που σταθεροποιούνται από φορτισμένα βιοπολυμερή είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στις αλλαγές του pH και της ιοντικής ισχύος του υδατικού διαλύματος. Σε τιμές pH, υψηλότερες από το ισοηλεκτρικό σημείο της πρωτεΐνης, ή σε κατάσταση υψηλής τιμής ιοντικής ισχύος, η ηλεκτροστατική άπωση μεταξύ των σταγονιδίων μπορεί να μην είναι αρκετά μεγάλη, ώστε να αποτρέπει τη συσσωμάτωση των σταγονιδίων.

Οι πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται ευρέως στα τρόφιμα, ως γαλακτωματοποιητές, διότι πολλές από αυτές περιέχουν στο μόριό τους υψηλό ποσοστό μη πολικών ομάδων. Στη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων πολύ συχνά χρησιμοποιούνται οι πρωτεΐνες γάλακτος, άλατα καζεϊνών (Na-CAS - sodium caseinate) και πρωτεΐνες ορού (WPI – whey protein isolate, WPC – whey protein concentrate, SW – sweet whey, α-γαλακτοαλβουμίνη, β-γαλακτογλοβουλίνη), και οι πρωτεΐνες σόγιας (SPI – soy protein isolate). Αντίθετα, οι περισσότεροι πολυσακχαρίτες είναι υδρόφιλοι, οπότε δεν είναι επιφανειοενεργές ενώσεις. Ένας μικρός αριθμός πολυσακχαριτών μπορεί να παρουσιάζει φυσιολογικά υδρόφοβο χαρακτήρα (π.χ. αραβικό κόμμι), ή μπορεί να έχει τροποποιηθεί χημικά, ώστε να περιέχει μη πολικές ομάδες (π.χ. τροποποιημένο άμυλο), και να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως γαλακτωματοποιητής.

3.4 Σχηματισμός γαλακτώματος

Η διαδικασία σχηματισμού ενός γαλακτώματος μπορεί να περιλαμβάνει ένα ή περισσότερα διαδοχικά στάδια ανάλογα με τη φύση του αρχικού υλικού, τις επιθυμητές ιδιότητες του τελικού προϊόντος και τον εξοπλισμό που χρησιμοποιείται για το σχηματισμό του. Συνήθως πριν την ανάμιξη της λιπαρής και της υδατικής φάσης, προηγείται διάλυση των διάφορων συστατικών στην αντίστοιχη φάση, λιπαρή ή υδατική, στην οποία διαλύονται ευκολότερα. Έτσι, ορισμένες βιταμίνες, διάφορα αντιοξειδωτικά ή σταθεροποιητές διαλύονται στη λιπαρή φάση, ενώ πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες, υδατοδιαλυτές βιταμίνες, άλατα κ.α. στην υδατική φάση. Η ένταση και η διάρκεια της διαδικασίας ανάμιξης καθορίζεται από το χρόνο που απαιτείται, ώστε να διαλυθούν τα συστατικά και να κατανεμηθούν ομοιόμορφα.

Ομογενοποίηση είναι η διεργασία ανάμιξης δύο μη αναμιξίμων υγρών προς σχηματισμό γαλακτώματος και ο εξοπλισμός με τον οποίο αυτό επιτυγχάνεται ονομάζεται ομογενοποιητής. Η ομογενοποίηση μπορεί να διακριθεί σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη περιλαμβάνει τη δημιουργία ενός γαλακτώματος απευθείας από τα δύο υγρά και είναι γνωστή ως «πρωτογενής ομογενοποίηση», ενώ η μείωση του μεγέθους των λιποσφαιρίων σε ένα υπάρχον γαλάκτωμα είναι γνωστή ως «δευτερογενής ομογενοποίηση». Η παρασκευή ενός τροφίμου τύπου γαλακτώματος μπορεί να

περιλαμβάνει τον ένα ή τον άλλο τύπο ομογενοποίησης ή συνδυασμό και των δύο. Έτσι, οι σάλτσες που συνοδεύουν τις σαλάτες προέρχονται από απευθείας ομογενοποίηση της λιπαρής και της υδατικής φάσης (πρωτογενής ομογενοποίηση), ενώ η ομογενοποίηση στο γάλα προκαλεί τη μείωση του μεγέθους των λιποσφαιρίων που υπάρχουν φυσικά σε αυτό (δευτερογενής ομογενοποίηση).

Οι περισσότερες διεργασίες παραγωγής γαλακτωμάτων, τόσο σε βιομηχανική όσο και σε εργαστηριακή κλίμακα, περιλαμβάνουν την παραγωγή γαλακτώματος σε δύο στάδια. Αρχικά τα δύο μη αναμίξιμα υγρά, έλαιο και νερό, μετατρέπονται σε ένα «ακατέργαστο γαλάκτωμα – προ-γαλάκτωμα», το οποίο στη συνέχεια υφίσταται μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων του. Τα δύο στάδια ομογενοποίησης μπορεί να επιτευχθούν είτε με τη χρήση του ίδιου είτε διαφορετικού ομογενοποιητή.

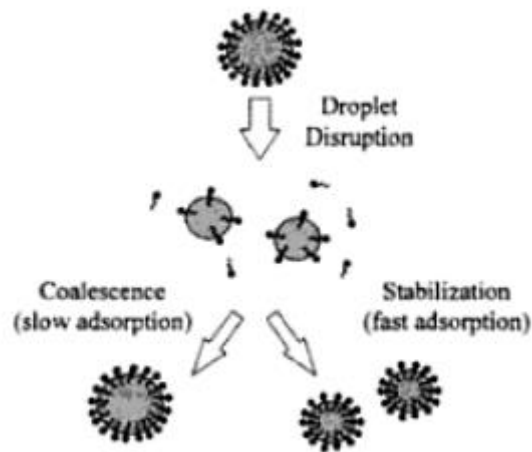
Προκειμένου να περιγραφούν οι μηχανισμοί που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης, αρκεί να μελετηθεί ο σχηματισμός ενός γαλακτώματος μόνο από έλαιο και νερό. Όταν τα δύο υγρά τοποθετούνται σε ένα περιέκτη, τείνουν να αποκτήσουν την πιο σταθερή θερμοδυναμικά δομή τους, σχηματίζοντας μία στοιβάδα λιπαρής φάσης πάνω από την υδατική φάση. Οι δύο φάσεις προκύπτουν λόγω μείωσης της επιφάνειας επαφής ανάμεσα στα δύο μη αναμίξιμα υγρά, καθώς επίσης και λόγω της χαμηλότερης πυκνότητας του ελαίου από το νερό.

Η ανάμιξη των δύο φάσεων επιτυγχάνεται με μηχανική ανάδευση, η οποία μπορεί να εφαρμοστεί με πολλούς τρόπους. Ο πιο συνήθης είναι έντονη ανάμιξη των δύο υγρών σε ένα κλειστό περιέκτη, οπότε σχηματίζεται ένα γαλάκτωμα οπτικά αδιαφανές, λόγω διάχυσης του φωτός από τα σταγονίδια. Με την πάροδο του χρόνου, το σύστημα διαχωρίζεται στα συστατικά του, διότι τα σταγονίδια που έχουν σχηματιστεί είναι σε συνεχή κίνηση και συχνά συγκρούονται το ένα με το άλλο, με αποτέλεσμα τη συνένωση ή συσσωμάτωσή τους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό μεγάλων σταγονιδίων, τα οποία στην περίπτωση του λιπαρού ανέρχονται στην κορυφή και συνενώνονται σχηματίζοντας μία χωριστή στοιβάδα.

Για να αποτραπεί το φαινόμενο της συνένωσης των σταγονιδίων, προστίθενται κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης κατάλληλη συγκέντρωση γαλακτωματοποιητή, ο οποίος ως επιφανειοενεργή ένωση, όπως αναφέρθηκε, προσροφάται στην επιφάνεια των σταγονιδίων, σχηματίζοντας μία προστατευτική στοιβάδα, η οποία αποτρέπει τη

συνένωση ή συσσωμάτωσή τους. Κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης, επιδιώκεται ο σχηματισμός σταγονιδίων μικρού μεγέθους, διότι με αυτό τον τρόπο αυξάνεται η διατηρησιμότητα του τελικού προϊόντος.

Το μέγεθος των σταγονιδίων που προκύπτει από την ομογενοποίηση καθορίζεται από την ισορροπία ανάμεσα σε δύο αντίθετους μηχανισμούς: τη διάρρηξη των σταγονιδίων και τη συνένωση ή συσσωμάτωσή τους (Σχήμα 3.6). Το φαινόμενο της διάρρηξης των σταγονιδίων αποτελεί βασικό σημείο της διεργασίας της ομογενοποίησης. Η τάση των σταγονιδίων να διασπώνται κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης εξαρτάται από τη διαφορά των επιφανειακών δυνάμεων, οι οποίες συγκρατούν τα σταγονίδια και των δυνάμεων διάρρηξης του ομογενοποιητή. Απουσία εξωτερικής δύναμης, τα σταγονίδια έχουν σφαιρικό σχήμα, επειδή αυτό το σχήμα μειώνει την επιφάνεια επαφής λιπαρής και υδατικής φάσης. Η επιφάνεια επαφής των δύο φάσεων αυξάνεται, όταν αλλάζει το σχήμα των σταγονιδίων ή όταν αυτά διασπώνται σε μικρότερα, οπότε και απαιτείται ενέργεια.



Σχήμα 3.6 Το μέγεθος των σταγονιδίων σε ένα γαλάκτωμα καθορίζεται από την ισορροπία μεταξύ διάρρηξης και συνένωσης ή συσσωμάτωσης των σταγονιδίων (McClements et al., 2002).

Η επιφανειακή δύναμη που συγκρατεί ένα σταγονίδιο εκφράζεται μέσω της «πίεσης Laplace – Laplace pressure (ΔP_i)», όπως προκύπτει από την εξίσωση 3.1:

$$\Delta P_i = 2\gamma / r \quad (\text{εξίσωση 3.1})$$

Όπου, γ : η επιφανειακή τάση μεταξύ λιπαρής και υδατικής φάσης και
 r : η ακτίνα του σταγονιδίου.

Η ΔP_i εκφράζει τη διαφορά πίεσης στο εσωτερικό και εξωτερικό μέρος ενός σταγονιδίου και είναι αποτέλεσμα της επιφανειακής τάσης, που προκύπτει στα γαλακτώματα από την ανάμιξη της λιπαρής φάσης με τη μορφή σταγονιδίων στην υδατική φάση. Η γενική εξίσωση 3.2 για σταγονίδια διαφορετικής ακτίνας r_1, r_2 είναι:

$$\Delta P_i = \gamma / (1/r_1 + 1/r_2) \quad (\text{εξίσωση 3.2})$$

για σταγονίδια όμως με σφαιρικό σχήμα, ισχύει, $r_1 = r_2$, οπότε προκύπτει η εξίσωση 3.1. Η δύναμη στο εσωτερικό τμήμα ενός σφαιρικού σταγονιδίου είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση με το εξωτερικό του, όσο μικρότερη είναι η ακτίνα του. Το ίδιο αποτέλεσμα προκύπτει όσο μεγαλύτερη είναι η επιφανειακή τάση.

Κατά τη διάρκεια σχηματισμού ενός γαλακτώματος, δεδομένου ότι η επιφανειακή τάση παραμένει σταθερή, ένα σταγονίδιο σφαιρικού σχήματος και με μικρό μέγεθος, εμφανίζει μεγαλύτερη εσωτερική δύναμη και τείνει να διαραγεί, συνενώνοντας το περιεχόμενό του με ένα γειτονικό σταγονίδιο με σφαιρικό σχήμα και μεγαλύτερο μέγεθος, με το οποίο βρίσκεται σε επαφή. Η αλλαγή στο σχήμα των σταγονιδίων, συνοδεύεται από μία ΔP_i , η οποία είναι συνάρτηση της νέας ακτίνας του σταγονιδίου. Έτσι, καθώς το σχήμα του σταγονιδίου επιμηκύνεται και αποκτά κυλινδρικό σχήμα, η ΔP_i μειώνεται στο μισό (Jiao & Burgess, 2008). Η μείωση της ΔP_i μπορεί να προκύψει και με μείωση της επιφανειακής τάσης, όπως προκύπτει από την εξίσωση 3.1, και επιτυγχάνεται με την προσθήκη γαλακτωματοποιητή, ο οποίος μειώνει την επιφανειακή τάση, οπότε διευκολύνεται η αλλαγή στο σχήμα του σταγονιδίου και τελικά η διάρρηξή

του (Walstra, 1983). Γενικά, η διάρρηξη των σταγονιδίων είναι πιο εύκολη όσο μεγαλύτερο μέγεθος έχουν αυτά και όσο μικρότερη είναι η επιφανειακή τάση.

Το είδος των δυνάμεων διάρρηξης που δρουν στα σταγονίδια κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον τύπο του ομογενοποιητή που χρησιμοποιείται. Η διάρρηξη ενός σταγονιδίου κατά την ομογενοποίηση απαιτεί την εφαρμογή δύναμης μεγαλύτερης της ΔP_i , και για αρκετό χρονικό διάστημα. Τα γαλακτώματα, όπως ήδη αναφέρθηκε, είναι δυναμικά συστήματα, στα οποία τα σταγονίδια βρίσκονται σε συνεχή κίνηση και συγκρούονται το ένα με το άλλο. Οι συγκρούσεις αυτές είναι ιδιαιτέρως γρήγορες κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης εξαιτίας της έντονης μηχανικής ανάδευσης. Επομένως, εάν τα σταγονίδια δεν περιβάλλονται από την ισχυρή μεμβράνη του γαλακτωματοποιητή, τείνουν να συσσωματώνονται κατά τη διάρκεια των συγκρούσεων.

Αμέσως μετά τη διάρρηξη ενός σταγονιδίου κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης, υπάρχει περιορισμένη ποσότητα γαλακτωματοποιητή για να καλύψει πλήρως τη νέα επιφάνεια, οπότε τα σταγονίδια που δημιουργούνται συσσωματώνονται με τα γειτονικά τους. Το φαινόμενο της συνένωσης ή συσσωμάτωσης είναι καθοριστικό στη διεργασία της ομογενοποίησης. Για να αποτραπεί αυτό το φαινόμενο, απαιτείται ο σχηματισμός μίας ικανοποιητικής μεμβράνης από γαλακτωματοποιητή γύρω από κάθε σταγονίδιο, πριν αρχίσουν να συγκρούονται με τα γειτονικά τους.

Το μέγεθος των σταγονιδίων που δημιουργείται κατά τη διάρκεια της ομογενοποίησης εξαρτάται από το χρόνο που απαιτείται από το γαλακτωματοποιητή να προσροφηθεί στην επιφάνεια του σταγονιδίου ($t_{\text{absorption}}$), σε σύγκριση με το χρόνο σύγκρουσης των σταγονιδίων μεταξύ τους ($t_{\text{collision}}$). Έτσι, εάν $t_{\text{absorption}} \ll t_{\text{collision}}$, τα σταγονίδια αμέσως περιβάλλονται από τη μεμβράνη του γαλακτωματοποιητή και παραμένουν σταθερά. Όταν όμως συμβαίνει το αντίθετο, τα σταγονίδια τείνουν να συσσωματώνονται πολύ γρήγορα, επειδή δεν περιβάλλονται επαρκώς από το γαλακτωματοποιητή.

Επομένως, ο ρόλος του γαλακτωματοποιητή είναι διττός και σημαντικός στη διεργασία της ομογενοποίησης, διότι αφενός μειώνει την επιφανειακή τάση μεταξύ λιπαρής και υδατικής φάσης και επομένως το ποσό της ενέργειας που απαιτείται για την αλλαγή του μεγέθους ή τη διάρρηξη των σταγονιδίων και αφετέρου δημιουργεί μία

προστατευτική μεμβράνη γύρω από κάθε σταγονίδιο, που εμποδίζει τη συσσωμάτωση των σταγονιδίων κατά τις μεταξύ τους συγκρούσεις.

Τέλος, η αποτελεσματικότητα των γαλακτωματοποιητών να δημιουργούν γαλακτώματα με σταγονίδια μικρού μεγέθους εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως: 1. τη συγκέντρωσή τους σε αντιστοιχία με τη διεσπαρμένη φάση, 2. το χρόνο που απαιτείται για τη μετακίνησή τους από τη συνεχή φάση στην επιφάνεια των σταγονιδίων, 3. την επάρκεια της προσρόφησής τους στο σταγονίδιο, 4. το ποσοστό κατά το οποίο μειώνουν την επιφανειακή τάση, και 5. την αποτελεσματικότητα της μεμβράνης που σχηματίζουν, να προστατεύει τα σταγονίδια από τη συσσωμάτωση.

Οι γαλακτωματοποιητές μικρού μοριακού βάρους προσροφώνται πιο γρήγορα στην επιφάνεια του σταγονιδίου από αυτούς με μεγάλο μοριακό βάρος. Οι γαλακτωματοποιητές μικρού μοριακού βάρους προσροφώνται στην επιφάνεια των σταγονιδίων πιο γρήγορα σε ήπιες συνθήκες παρασκευής γαλακτωμάτων, ενώ σε έντονες συνθήκες, συμβαίνει το αντίθετο.

3.5 Μέγεθος σταγονιδίων

Το μέγεθος που αποκτούν τα σταγονίδια κατά τη διάρκεια ομογενοποίησης καθορίζεται από πολλούς παράγοντες, όπως:

Τη συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή. Το μέγεθος των σταγονιδίων μειώνεται, ως ένα ορισμένο σημείο, όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή. Πάνω από αυτό το σημείο το μέγεθός τους παραμένει σταθερό. Όταν η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή υπερβεί το κρίσιμο όριο, το μέγεθος των σταγονιδίων καθορίζεται περαιτέρω από την ενέργεια που παρέχεται από τον ομογενοποιητή.

Τον τύπο του γαλακτωματοποιητή. Σε ίσες συγκεντρώσεις, διαφορετικοί γαλακτωματοποιητές, προκαλούν διαφορετικά μεγέθη σταγονιδίων, εξαιτίας της διαφορετικής ταχύτητας με την οποία φτάνουν στη διεπιφάνεια λιπαρής – υδατικής φάσης των σταγονιδίων, της διαφορετικής ικανότητας της μεμβράνης που σχηματίζουν να αποτρέπει το φαινόμενο της συσσωμάτωσης, και του φορτίου της επιφάνειας.

Τις συνθήκες ομογενοποίησης. Το μέγεθος των λιποσφαιρίων συνήθως μειώνεται, όσο αυξάνει η ενέργεια ή ο χρόνος ομογενοποίησης.

Τις φυσικοχημικές ιδιότητες των καθαρών φάσεων. Η αποτελεσματικότητα της ομογενοποίησης εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των λιπιδίων, από τα οποία αποτελείται το γαλακτώμα, όπως ιξώδες, επιφανειακή τάση, πυκνότητα, ή φυσική κατάσταση.

3.6 Παράγοντες που επηρεάζουν την οξείδωση των γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό

Η οξείδωση των λιπαρών οξέων περιγράφηκε αναλυτικά στο Κεφάλαιο 1. Στα γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό, η έναρξη της οξείδωσης, μπορεί να προκύψει από την αλληλεπίδραση των υδροϋπεροξειδίων των λιπαρών οξέων και των μετάλλων ή διάφορων προ-οξειδωτικών ενώσεων της συνεχούς φάσης. Τα υδροϋπεροξειδία, ως πολικές ενώσεις προσανατολίζονται στη διεπιφάνεια του λιποσφαιρίου, με τις υδρόφιλες ομάδες του προς την υδατική φάση και τις υδρόφοβες προς τη λιπαρή, ενώ τα μέταλλα ή οι προ-οξειδωτικές ενώσεις βρίσκονται στην υδατική φάση. Οι υπεροξειδικές ή αλκοξυλικές ρίζες, που σχηματίζονται, αρχίζουν να αντιδρούν με γειτονικά λιπαρά οξέα, είτε στη διεπιφάνεια είτε στο εσωτερικό του σταγονιδίου.

Ο ρυθμός της οξείδωσης μπορεί να επηρεάζεται από την ταχύτητα, με την οποία οι ελεύθερες ρίζες, τα υδροϋπεροξειδία και τα λιπαρά οξέα διαχέονται από τη μία περιοχή του σταγονιδίου στην άλλη. Για τα μεγέθη των σταγονιδίων που συνήθως σχηματίζονται στα γαλακτώματα των τροφίμων, ο χρόνος που απαιτείται, ώστε συστατικά, όπως ελεύθερες ρίζες, υδροϋπεροξειδία ή λιπαρά οξέα να διαχυθούν έξω από τα σταγονίδια είναι πάρα πολύ μικρός (Πίνακας 3.2), σε σύγκριση με το χρόνο στον οποίο ολοκληρώνεται η οξείδωση. Επομένως, η διάχυση των ανωτέρω ενώσεων από τη μία περιοχή στην άλλη του σταγονιδίου δεν είναι καθοριστική για το ρυθμό της οξείδωσης.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την οξείδωση των γαλακτωμάτων μπορεί να διακριθούν σε παράγοντες που αφορούν κυρίως στη λιπαρή και υδατική φάση, στο γαλακτωματοποιητή, στη χρήση πρόσθετων συστατικών, καθώς και στις συνθήκες παραγωγής (ομογενοποίηση) και αποθήκευσης του γαλακτώματος. Μελετώντας το μηχανισμό οξείδωσης των λιπαρών οξέων στα γαλακτώματα, προκύπτει ότι πέρα από τη σύστασή τους, είναι σημαντικός ο τρόπος παραγωγής και αποθήκευσής τους.

Πίνακας 3.2 Επίδραση του μεγέθους των σταγονιδίων στο χρόνο που απαιτείται για τη διάχυση μορίων μικρού μεγέθους έξω από τα σταγονίδια (McClements & Decker, 2000).

Ακτίνα (μm)	Χρόνος (s)
0.1	6.6×10^{-7}
0.5	1.6×10^{-5}
1	6.6×10^{-5}
5	1.6×10^{-3}
10	6.6×10^{-3}
20	1.6×10^{-1}

Γενικά, μπορεί να αναφερθεί ότι οι παράγοντες που σχετίζονται με τη σύσταση των γαλακτωμάτων και επηρεάζουν την οξείδωση των λιπαρών είναι το είδος και η συγκέντρωση της λιπαρής φάσης, το είδος και η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή, το pH της υδατικής ή συνεχούς φάσης και η παρουσία ουσιών με προ-οξειδωτικές ή αντιοξειδωτικές ιδιότητες (πρωτεΐνες, άλατα, αντιοξειδωτικά, αμινοξέα, ένζυμα, πολυσακχαρίτες κ.α.). Όσον αφορά στους εξωτερικούς παράγοντες, ο ρυθμός της οξείδωσης επηρεάζεται από τις συνθήκες ομογενοποίησης και τις συνθήκες αποθήκευσης, όπως τη θερμοκρασία και την παρουσία οξυγόνου.

Παρακάτω παρουσιάζονται αναλυτικά οι παράγοντες και ο τρόπος που επιδρούν στην οξείδωση των γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό, προκειμένου να εξαχθούν συμπεράσματα για την αποτελεσματική τους προστασία, έναντι της οξειδωτικής υποβάθμισης των λιπαρών τους οξέων.

3.6.1 Επίδραση του είδους και της συγκέντρωσης των λιπαρών

Επίδραση του είδους των λιπαρών: Η χημική δομή των λιπαρών, που αποτελούν το γαλάκτωμα και κυρίως ο αριθμός και η θέση των διπλών δεσμών των ακόρεστων λιπαρών οξέων, καθορίζουν την επιδεκτικότητά του στην οξείδωση. Τα κορεσμένα

λιπαρά οξέα είναι, όπως αναφέρθηκε στο Κεφάλαιο 1, πιο σταθερά στην οξειδωση σε σύγκριση με τα ακόρεστα. Ωστόσο, η χρήση τους στα γαλακτώματα δεν συνιστάται, εφόσον δεν μπορούν να αποδώσουν στο τελικό προϊόν τόσο καλές φυσικοχημικές και οργανοληπτικές ιδιότητες, όπως τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, π.χ. τα κορεσμένα λιπαρά οξέα μπορεί να κρυσταλλώνουν σε σύγκριση με τα ακόρεστα ίδιου μήκους ανθρακικής αλυσίδας. Επιπλέον, η κατανάλωση κορεσμένων λιπαρών οξέων έχει σχετιστεί με την πρόκληση πολλών προβλημάτων υγείας και για το λόγο αυτό συνίσταται να αποφεύγεται η κατανάλωσή τους.

Η θέση του διπλού δεσμού στα ακόρεστα λιπαρά οξέα αναφέρθηκε ομοίως στο Κεφάλαιο 1, ότι επηρεάζει το ρυθμό οξειδωσής τους στα γαλακτώματα. Η θέση του διπλού δεσμού πλησίον του μεθυλενικού άκρου του λιπαρού οξέος, το καθιστά πιο σταθερό στην οξειδωση. Τα λιπαρά οξέα διατάσσονται στη διεπιφάνεια του σταγονιδίου κατά τέτοιο τρόπο, ώστε το καρβοξυλικό τους άκρο να βρίσκεται προς τη συνεχή υδατική φάση, ενώ το μεθυλενικό τους άκρο προς το εσωτερικό του. Επομένως, ο ακόρεστος διπλός δεσμός, ο οποίος είναι απομακρυσμένος από την υδατική φάση, δεν επηρεάζεται από τη δράση των προ-οξειδωτικών ενώσεων που υπάρχουν φυσικά σε αυτή.

Έρευνες έδειξαν ότι γαλακτώματα δεκαεξανίου οξειδώθηκαν πιο αργά, σε συνθήκες καταλυόμενης οξειδωσης, σε σύγκριση με γαλακτώματα αραβοσιτέλαιου. Το αραβοσιτέλαιο περιέχει ακόρεστα λιπαρά οξέα, ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδια, στερόλες, μόνο- και δι- γλυκερίδια, οπότε είναι πιο επιρρεπές στην οξειδωση λόγω της σύστασής του (Cho et al., 2002). Παρόμοια συμπεράσματα, προέκυψαν από τη μελέτη της οξειδωτικής υποβάθμισης του κραμβέλαιου, σογιέλαιου και καρδαμέλαιου, τα οποία εκτέθηκαν σε ακτινοβολία μικροκυμάτων. Το κραμβέλαιο με το μικρότερο ποσοστό λινελαϊκού οξέος (22.9 % w/w) παρουσίασε μεγαλύτερη οξειδωτική σταθερότητα, έναντι του σογιέλαιου και του καρδαμέλαιου με ποσοστά σε λινελαϊκό οξύ 53.7 % και 76.0 %, αντίστοιχα (Yoshida, 1993). Οι Kiokias et al. (2006) μελέτησαν την επίδραση διαφορετικών λιπαρών υλών στην οξειδωση γαλακτωμάτων o/w και διαπίστωσαν ότι τα γαλακτώματα ηλιέλαιου (με 21,8% C18:1 και 60,6% C18:2) οξειδώθηκαν πολύ γρήγορα, ακολουθούμενα από εκείνα με βαμβακέλαιο (16,6% C18:1, 55,5% C18:2) και με αραβοσιτέλαιο (30,6% C18:1, 54,7% C18:2), ενώ τα γαλακτώματα πυρηνελαίου, που

περιέχει λιγότερα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα από τα υπόλοιπα (71,5% C18:1, 12,1% C18:2), ήταν πιο ανθεκτικά στην οξειδωση. Επιπλέον, η σταθερότητα των ελαίων φαίνεται ότι δεν επηρεάζεται σημαντικά από την περιεκτικότητά τους σε τοκοφερόλες, καθώς το πυρηνέλαιο είχε τη χαμηλότερη τιμή (184 mg/kg), ακολουθούμενο από το βαμβακέλαιο (395 mg/kg), το ηλιέλαιο (425 mg/kg) και το αραβοσιτέλαιο (933 mg/kg).

Επιπλέον, η πολικότητα των λιπαρών οξέων καθορίζει τη θέση τους στα σταγονίδια των γαλακτωμάτων, η οποία με τη σειρά της καθορίζει το ρυθμό οξειδωσής τους. Πειράματα σε γαλακτώματα, που περιείχαν τον επιφανειοενεργό αιθυλεστέρα του λινελαϊκού οξέος έδειξαν ότι το λιπίδιο αυτό είναι πιο επιδεκτικό στην οξειδωση όταν βρίσκεται στην επιφάνεια του σταγονιδίου, από ότι στο εσωτερικό του (Coupland & McClements, 1996a). Έρευνες σε γαλακτώματα με μίγμα από δεκατετράνιο και αιθυλεστέρα του λινελαϊκού οξέος, ως λιπαρή φάση, έδειξαν ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του εστέρα στο μίγμα, τόσο αυξάνεται ο ρυθμός της οξειδωσής τους (Coupland et al., 1996). Αυτό οφείλεται στην επιφανειακή ενεργότητα του εστέρα, καθώς λόγω των πολικών του ομάδων συγκεντρώνεται στη διεπιφάνεια λιπαρής – υδατικής φάσης, όπου είναι εύκολο να αντιδράσει με τις ελεύθερες ρίζες από το υδατικό περιβάλλον.

Επίδραση της συγκέντρωσης: Αύξηση της συγκέντρωσης των λιπαρών ως μία ορισμένη τιμή, προκαλεί αύξηση του ρυθμού της οξειδωσης. Πάνω από αυτή την τιμή, μεγαλύτερο ποσοστό ακόρεστων λιπαρών οξέων συγκεντρώνεται στο εσωτερικό του σταγονιδίου, οπότε το λιπαρό καθίσταται λιγότερο επιδεκτικό στην οξειδωση. Όταν μία ελεύθερη ρίζα αντιδρά στη διεπιφάνεια του σταγονιδίου, στη συνέχεια εισέρχεται στο εσωτερικό του σταγονιδίου, όπου αντιδρά με τα ακόρεστα λιπαρά οξέα. Γαλακτώματα (o/w) τροποποιημένου κραμβέλαιου (10 % w/w) οξειδώθηκαν ταχύτερα από γαλακτώματα με υψηλότερη συγκέντρωση λιπαρού (30 % w/w) (Osborn & Akoh, 2004). Οι ερευνητές αιτιολόγησαν τη διαφορά στο ρυθμό οξειδωσης των γαλακτωμάτων στο παραπάνω γεγονός, όπως και στο ότι ο αριθμός των ριζών που παράχθηκε ανά σταγονίδιο αυξήθηκε, καθώς η συγκέντρωση των σταγονιδίων μειώθηκε. Σύμφωνα με τη Δημάκου (2010), τα γαλακτώματα με υψηλή συγκέντρωση ηλιέλαιου, παρουσίασαν μεγαλύτερη σταθερότητα έναντι της οξειδωσης. Πιο συγκεκριμένα, παρασκευάστηκαν

γαλακτώματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις ηλιέλαιου (10, 20, 30, 40 και 60 %) και παρατηρήθηκε ότι αύξηση της συγκέντρωσης της λιπαρής φάσης έως την περιεκτικότητα 30 % οδηγεί σε μείωση της οξειδωτικής αλλοίωσης των γαλακτωμάτων.

Επιπλέον, σημαντικό ρόλο παίζει και ο προσανατολισμός των λιπαρών οξέων στη διεπιφάνεια του σταγονιδίου, δηλαδή εάν θα τοποθετηθούν παράλληλα ή κάθετα σε αυτήν. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις λιπαρού, τα λιπαρά οξέα προσανατολίζονται παράλληλα στη διεπιφάνεια, εκθέτοντας τους ακόρεστους δεσμούς τους (απλούς ή συζυγείς διπλούς δεσμούς) στις ελεύθερες ρίζες ή προ-οξειδωτικές ενώσεις της υδατικής φάσης. Αντιθέτως, σε μεγάλη συγκέντρωση, τα λιπαρά οξέα τοποθετούνται πολύ κοντά το ένα δίπλα στο άλλο στη διεπιφάνεια και προσανατολίζονται κάθετα, με τα υδρόφοβα τμήματά τους απομακρυσμένα από τις προ-οξειδωτικές ενώσεις της υδατικής φάσης. Επομένως, γαλακτώματα με μικρή συγκέντρωση λιπαρού είναι περισσότερο επιρρεπή στις αντιδράσεις έναρξης της οξείδωσης, αλλά λιγότερο στις αντιδράσεις διάδοσης. Οι ρίζες που σχηματίζονται στη διεπιφάνεια επαφής, όταν εισέρχονται στο εσωτερικό των σταγονιδίων, δεν θα συναντήσουν αρκετό ποσοστό λιπαρών οξέων, ώστε να συνεχιστεί το στάδιο διάδοσης της αντίδρασης (McClements & Decker, 2000).

Η συγκέντρωση των λιπαρών μπορεί να κυμαίνεται σε ποσοστό μικρότερο από 1 % έως 80 %, όπως στις μαγιονέζες. Η συγκέντρωση των σταγονιδίων μπορεί να επηρεάσει το ρυθμό οξείδωσης με ποικίλους τρόπους. Ήδη αναφέρθηκε ότι ο γαλακτωματοποιητής (μικρομοριακός ή πρωτεΐνη) σχηματίζει μικκύλια στην υδατική φάση του γαλακτώματος, τα οποία επηρεάζουν τη συνολική συγκέντρωση των σταγονιδίων και τελικά την οξείδωσή του. Κατόπιν, οι οργανοληπτικές ιδιότητες (άρωμα και γεύση) των γαλακτωμάτων τροφίμων επηρεάζονται από το είδος και τη συγκέντρωση των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης, τα οποία είναι κυρίως πτητικές ενώσεις, που είναι περισσότερο διαλυτές στη λιπαρή φάση από ότι στην υδατική. Έτσι για μία συγκεκριμένη περιεκτικότητα πτητικών ενώσεων, η συγκέντρωσή τους στη συνεχή φάση και στον υπερκείμενο χώρο του γαλακτώματος μειώνεται, όσο η συγκέντρωση των σταγονιδίων αυξάνεται. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, ένα τρόφιμο με χαμηλή περιεκτικότητα λιπαρών να φαίνεται περισσότερο οξειδωμένο από ένα πλούσιο σε λιπαρά, ακόμη και όταν περιέχει την ίδια συγκέντρωση πτητικών προϊόντων (McClements & Decker, 2000).

Επίδραση της φυσικής κατάστασης των σταγονιδίων: Η φυσική κατάσταση των σταγονιδίων στα γαλακτώματα επηρεάζει το ρυθμό της οξείδωσης. Στα περισσότερα γαλακτώματα τροφίμων, τα σταγονίδια είναι σε υγρή μορφή σε θερμοκρασία δωματίου. Ωστόσο, τα σταγονίδια μπορεί να στερεοποιηθούν υπό ψύξη μερικώς ή πλήρως. Η έρευνα σε καθαρά έλαια έχει δείξει ότι η οξείδωση εξελίσσεται πιο αργά, όταν το λίπος είναι κρυσταλλωμένο από ότι όταν είναι σε υγρή μορφή (McClements & Decker, 2000).

3.6.2 Επίδραση του είδους και της συγκέντρωσης του γαλακτωματοποιητή και του pH

Μία άλλη σειρά παραγόντων, αφορά στη διεπιφάνεια λιπαρής – υδατικής φάσης του σταγονιδίου, η οποία σταθεροποιείται από το γαλακτωματοποιητή. Το φορτίο της μεμβράνης που σχηματίζεται γύρω από τα σταγονίδια σε συνδυασμό με το pH της υδατικής φάσης, επηρεάζει το ρυθμό της οξείδωσης. Στην παρούσα παράγραφο περιγράφεται αναλυτικά πώς το pH της υδατικής φάσης, σε συνδυασμό με το φορτίο που δημιουργεί στη διεπιφάνεια ο γαλακτωματοποιητής και η παρουσία ιόντων μετάλλου, επηρεάζουν το ρυθμό της οξείδωσης των γαλακτωμάτων.

Πολλοί από τους γαλακτωματοποιητές είναι ηλεκτρικά φορτισμένοι, όπως οι πρωτεΐνες, τα φωσφολιπίδια κτλ. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η διεπιφάνεια, την οποία σχηματίζουν, να εμφανίζει ένα ηλεκτρικό φορτίο, το μέγεθος και η ένταση του οποίου εξαρτάται από τον τύπο και τη συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή. Οι ηλεκτρικές ιδιότητες της μεμβράνης της διεπιφάνειας καθορίζονται από την «πυκνότητα επιφανειακού φορτίου (σ)» και από το «επιφανειακό δυναμικό (ϕ_0)». Το (σ) ορίζεται ως ο αριθμός των φορτίων ανά μονάδα επιφάνειας και το (ϕ_0) ως η ενέργεια που απαιτείται για τη φόρτιση της επιφάνειας. Μία ηλεκτρικά φορτισμένη επιφάνεια ελκύει αντίθετα φορτισμένα ιόντα, από την υδατική φάση. Τα ιόντα αυτά μπορεί να είναι είτε απλά ιόντα που δεν έχουν επίδραση στην οξείδωση (Na^+ , Ca^{2+} , Cl^-) ή ορισμένα μεταλλικά ιόντα, τα οποία προωθούν την οξείδωση, όπως τα ιόντα Cu^+ , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} .

Η σπουδαιότητα του φορτίου των σταγονιδίων στο βαθμό της οξείδωσης απασχόλησε τους ερευνητές. Γαλακτώματα ιχθυέλαιου σταθεροποιήθηκαν με τον ανιονικό γαλακτωματοποιητή SDS (sodium dodecyl sulfate), τον κατιονικό DTAB

(dodecyltrimethylammonium bromide) και τον ουδέτερο Tween 20, αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε ότι στην αρχή της οξείδωσης σε τιμή pH 7 τα γαλακτώματα με SDS οξειδώθηκαν στον ίδιο ρυθμό με τα γαλακτώματα με Tween 20 και ταχύτερα από το γαλάκτωμα με DTAB. Αντίθετα σε τιμή pH 3 τα γαλακτώματα με SDS οξειδώθηκαν ταχύτερα από τα γαλάκτωμα με Tween 20 και DTAB, τα οποία οξειδώθηκαν στον ίδιο ρυθμό, μετρώντας τον αριθμό υπεροξειδίων και την προπανάλη, ως πρωτογενή και δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης, αντίστοιχα (Mancuso et al., 1999).

Το pH της υδατικής φάσης επηρεάζει τη δράση των μετάλλων. Έτσι, ο σίδηρος και τα ιόντα μετάλλων τα οποία υπάρχουν φυσικά στην υδατική, στη λιπαρή φάση ή στο γαλακτωματοποιητή και τα οποία έχουν θετικό φορτίο, σε χαμηλές τιμές pH διαλυτοποιούνται καλύτερα στη συνεχή φάση από τις υψηλές τιμές, όπου καθιζάνουν στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων. Αν η διεπιφάνεια είναι αρνητικά φορτισμένη έλκει και συγκρατεί τα ιόντα μετάλλων, επιταχύνοντας την οξείδωση των λιπαρών οξέων. Αντίθετα, οι θετικά ή ουδέτερα φορτισμένες επιφάνειες των σταγονιδίων, απωθούν ή δεν έλκουν τα ιόντα μετάλλων, αντίστοιχα, ώστε παρατηρείται μειωμένος ρυθμός οξείδωσης.

Οι Kiokias et al. (2006) παρασκεύασαν γαλακτώματα ο/w βαμβακέλαιου 10 % σταθεροποιημένα με τις πρωτεΐνες γάλακτος Na-CAS και WPC καθώς και με Tween 20, για συγκριτικούς σκοπούς. Με βάση τα αποτελέσματα, οι πρωτεΐνες, Na-CAS και WPC, προσέφερα αντιοξειδωτική προστασία στα γαλακτώματα, σε σύγκριση με το γαλάκτωμα που σταθεροποιήθηκε με Tween 20. Μεταξύ των δύο πρωτεϊνών, η πρωτεΐνη ορού WPC προσέφερε στο γαλάκτωμα μεγαλύτερη αντιοξειδωτική προστασία από το καζεϊνικό νάτριο και αυτό σχετίζεται με διαφορές στις ιδιότητες και στη δομή τους. Η αύξηση της συγκέντρωσης πρωτεΐνης (0.5–2.0% w/w) οδήγησε σε μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων αλλά σε αύξηση της οξειδωτικής σταθερότητας, όσον αφορά το σχηματισμό πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης. Στην ίδια ερευνητική εργασία, παρασκευάστηκαν γαλακτώματα ηλιέλαιου 20 % ο/w στα οποία χρησιμοποιήθηκαν γαλακτωματοποιητές σε διαφορετικές αναλογίες σε συγκέντρωση 2 % αθροιστικά, προκειμένου να προσεγγίσουν δομικά διάφορα προϊόντα διατροφής. Οι γαλακτωματοποιητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν Tween 20 και καζεϊνικό νάτριο. Σταδιακή αύξηση της αναλογίας της πρωτεΐνης στο μίγμα οδήγησε σε σταθερή μείωση της παραγωγής υδροϋπεροξειδίων, συζυγών διενίων και TBARs.

Οι Dimakou et al. (2007) παρασκεύασαν γαλακτώματα ηλιέλαιου ο/w σταθεροποιημένα με Tween 20 και καζεϊνικό νάτριο και μελέτησαν την επίδραση του pH στην οξειδωτική σταθερότητά τους. Τα σταθεροποιημένα με Tween 20 γαλακτώματα οξειδώθηκαν ταχύτερα καθώς το pH αυξήθηκε από 3 σε 7, ενώ η αντίθετη συμπεριφορά παρατηρήθηκε σε γαλακτώματα που σταθεροποιήθηκαν με καζεϊνικό νάτριο ή μείγμα των δύο γαλακτωματοποιητών.

Οι Narita και Inouye (2013) διαπίστωσαν ότι η συγκέντρωση του χλωρογενικού και του καφεϊκού οξέος μειώθηκε, λόγω αποικοδόμησης, με αύξηση του pH στο εύρος 5,0-9,0. Πέρα από την αποικοδόμηση των αντιοξειδωτικών, το pH επιδρά και στη δράση τους. Για παράδειγμα ο γαλλικός εστέρας της επιγαλλοκατεχίνης (EGCG) έδρασε προ-οξειδωτικά σε γαλακτώματα με έλαιο λιναρόσπορου και σε pH μεταξύ 2,0 και 4,0. Δεδομένου ότι τα αντιοξειδωτικά μπορούν να αποικοδομηθούν ή να οδηγήσουν σε προ-οξειδωτική δράση σε ορισμένες τιμές pH, πρέπει να γίνεται προσεκτικά η επιλογή των αντιοξειδωτικών στα διαφορετικά τρόφιμα (Zhou & Elias, 2013).

Οι Zhou & Elias (2013) ανέφεραν ότι η παρουσία μετάλλων μεταπτώσεως και φαινολικών ουσιών σε γαλακτώματα ο/w είναι ικανή να επηρεάσει το pH του συστήματος και η μεταβολή αυτή του pH είναι ένας παράγοντας που πρέπει να λαμβάνεται προσεκτικά υπόψη κατά την παρασκευή γαλακτωμάτων σχετικών με τρόφιμα. Τα αποτελέσματα των Sørensen et al. (2017) έδειξαν ότι η παρουσία σιδήρου σε γαλακτώματα επηρέασε το pH του συστήματος, και η αλλαγή αυτή είχε μεγαλύτερη επίδραση στην οξείδωση των λιπαρών από το μέγεθος των σταγονιδίων. Ο ρυθμός οξείδωσης των λιπιδίων αυξήθηκε όταν το pH μειώθηκε από pH 6 σε pH 3 και ενισχύθηκε περαιτέρω με την προσθήκη σιδήρου. Η προσθήκη καφεϊκού οξέος προήγαγε την οξείδωση σε pH 3 παρουσία σιδήρου, γεγονός που αποδίδεται στην ικανότητά του να ανάγει τα ιόντα Fe^{3+} σε Fe^{2+} , διαδίδοντας έτσι την οξείδωση των λιπιδίων και καταλύοντας την αποσύνθεση των υδροϋπεροξειδίων προς το σχηματισμό δευτερογενών προϊόντων. Σε pH 6, το καφεϊκό οξύ σχημάτισε σύμπλοκα με τον σίδηρο, καταστέλλοντας έτσι το σχηματισμό υπεροξειδίων στο γαλάκτωμα. Τα φαινολικά οξέα μπορεί να είναι ουδέτερα ή μερικώς ιονισμένα σε ένα γαλάκτωμα και μια αλλαγή στην οξύτητα του γαλακτώματος θα μπορούσε να τροποποιήσει τις κατανομές τους μεταξύ

λιπαρής και υδατικής φάσης, με αποτέλεσμα την αλλαγή της αντιοξειδωτικής τους απόδοσης (Costa et al., 2015).

Οι Losada-Barreiro et al. (2015) διερεύνησαν την επίδραση του pH στην κατανομή του γαλλικού και του καφεϊκού οξέος, μεταξύ της υδατικής φάσης και της διεπιφάνειας γαλακτωμάτων 10% καλαμποκέλαιου / όξινου νερού που σταθεροποιήθηκαν με Tween 20. Οι συγγραφείς ανέφεραν ότι μείωση του pH από 4 σε 3 οδηγεί σε αύξηση της κατανομής του γαλλικού οξέος στη διεπιφάνεια από 20% σε 60%, και του καφεϊκού οξέος από 50% σε 75%.

Το πάχος της μεμβράνης στη διεπιφάνεια του σταγονιδίου μπορεί να δράσει ως φυσικό εμπόδιο στη διείσδυση προ-οξειδωτικών ουσιών που βρίσκονται στην υδατική φάση. Η οξείδωση μελετήθηκε σε γαλακτώματα, τα οποία είχαν σταθεροποιηθεί με δύο ανιονικούς γαλακτωματοποιητές, Brij 76 (polyoxyethylene 10-stearyl ether) και Brij 700 (polyoxyethylene 100-stearyl ether), με ίδιας χημικής δομής και μήκους ουρά αλλά με κεφαλές, που διέφεραν ως προς τον αριθμό των πολικών ομάδων (10 και 100 οξοαιθυλενικές ομάδες, αντίστοιχα). Τα γαλακτώματα περιείχαν σταγονίδια ίδιας διαμέτρου, ώστε το μέγεθος της διεπιφάνειας, το οποίο βρισκόταν εκτεθειμένο για οξείδωση ήταν παρόμοιο. Η οξείδωση ήταν βραδύτερη στο γαλάκτωμα με το γαλακτωματοποιητή που περιείχε κεφαλή μεγαλύτερου μήκους, αποδεικνύοντας ότι το πάχος της διεπιφάνειας, που σχηματίζει, μπορεί να λειτουργήσει ως φυσικό εμπόδιο στη δράση προ-οξειδωτικών ενώσεων (Silvestre et al., 2000).

Ένας άλλος βασικός παράγοντας που επηρεάζει το ρυθμό οξείδωσης των γαλακτωμάτων είναι η συγκέντρωση στην οποία προστίθεται ο γαλακτωματοποιητής. Όταν η συγκέντρωση του γαλακτωματοποιητή υπερβεί μία κρίσιμη τιμή, δημιουργεί μικκύλια στη συνεχή φάση του γαλακτώματος, τα οποία έχει βρεθεί ότι μειώνουν το ρυθμό της οξείδωσης (Nuchi et al., 2002; Richards et al., 2002). Τα μικκύλια απομακρύνουν τα υδροϋπεροξειδία από τα λιποσφαίρια (Nuchi et al., 2009), ή επηρεάζουν τη θέση και την κατανομή των ιόντων μετάλλων σε αυτά (Cho et al., 2002), με αποτέλεσμα την απομάκρυνση των προ-οξειδωτικών ενώσεων από τη διεπιφάνεια του σταγονιδίου και τελικά τη μείωση του ρυθμού της οξείδωσης.

Στα μικκύλια των γαλακτωματοποιητών μπορεί να δεσμευτούν και αντιοξειδωτικές ενώσεις, οι οποίες στερούνται με αυτό τον τρόπο της αντιοξειδωτικής τους δράσης (Boon

et al., 2008). Ωστόσο, κάτι τέτοιο δεν παρατηρήθηκε σε γαλακτώματα με δεκαεξάνιο, ελαιόλαδο ή ιχθυέλαιο, τα οποία είχαν γαλακτωματοποιηθεί με Brij 700, σε περιεκτικότητα πάνω από το όριο κρίσιμης συγκέντρωσης, και στα οποία είχαν προστεθεί στη λιπαρή φάση φαινολικά αντιοξειδωτικά (εστέρας του γαλλικού οξέος, τριτοταγής βουτυλο – 4 – υδροξυανισόλη, τριτοταγής βουτυλο – υδροξυκινόνη). Η περίσσεια του γαλακτωματοποιητή προκάλεσε πράγματι τη διαλυτοποίηση των αντιοξειδωτικών μακριά από τα σταγονίδια, με τα πιο πολικά αντιοξειδωτικά (εστέρας του γαλλικού οξέος και τριτοταγής βουτυλο – υδροξυκινόνη) να διαλυτοποιούνται σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με τα λιγότερο πολικά (τριτοταγής βουτυλο – 4 – υδροξυανισόλη), χωρίς να αυξάνεται ο ρυθμός οξείδωσης των γαλακτωμάτων. Οι παραπάνω ερευνητές συμπέραναν ότι τα ίδια τα μικκύλια του γαλακτωματοποιητή παρεμπόδισαν το ρυθμό της οξείδωσης. Τα μικκύλια, εκτός από τα αντιοξειδωτικά, απομάκρυναν τα υδροϋπεροξειδία και πιθανώς διαλυτοποίησαν τα ιόντα σιδήρου στην υδατική φάση μακριά από τη διαπιφάνεια των σταγονιδίων, μειώνοντας τη δραστηριότητά τους. Με τους τρόπους αυτούς μειώθηκε η παραγωγή ελευθέρων ριζών και παρεμποδίστηκε ο ρυθμός της οξείδωσης. Επιπλέον, παρά τη διαλυτοποίηση των αντιοξειδωτικών στα μικκύλια, μία σημαντική ποσότητα ενδεχομένως να είχε παραμείνει διαθέσιμη στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων, ικανή να παρεμποδίσει το ρυθμό της οξείδωσης.

3.6.3 Παράγοντες που αφορούν στις συνθήκες αποθήκευσης

3.6.3.1 Επίδραση της συγκέντρωσης του οξυγόνου

Η οξείδωση περιλαμβάνει την αντίδραση των λιπαρών οξέων με το οξυγόνο. Το οξυγόνο έχει τριπλάσια διαλυτότητα στο έλαιο από ότι στο νερό (Ke & Ackman, 1973), οπότε πάντα υπάρχει σε ικανοποιητική συγκέντρωση στο τρόφιμο, ώστε να ξεκινήσει η οξείδωση. Σε χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου, η διάχυσή του από την υδατική προς τη λιπαρή φάση αποτελεί περιοριστικό παράγοντα στο ρυθμό οξείδωσης, κάτι που δεν συμβαίνει σε υψηλές συγκεντρώσεις, καθώς ο ρυθμός διάχυσης είναι πολύ ταχύτερος του ρυθμού της οξείδωσης. Επειδή η συγκέντρωση του οξυγόνου επηρεάζει το ρυθμό

οξειδωσης στα γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό, συνίσταται η απομάκρυνσή του, όπως με συσκευασία των τροφίμων υπό κενό ή άζωτο (McClements & Decker, 2000).

3.6.3.2 Επίδραση της θερμοκρασίας

Η θερμοκρασία επιταχύνει το ρυθμό οξειδωσης των λιπαρών οξέων. Γαλακτώματα ιχθυέλαιου, τα οποία αποθηκεύτηκαν σε διαφορετικές θερμοκρασίες (4, 20, 37 °C), παρουσίασαν αύξηση του ρυθμού οξειδωσής τους με αύξηση της θερμοκρασίας αποθήκευσης (Hu et al., 2003).

Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν σε γαλακτώματα ηλιέλαιου, όπου παρατηρήθηκε αύξηση του αριθμού υπεροξειδίων με αύξηση της θερμοκρασίας αποθήκευσής τους (-30, -18, -7, 5, 25 και 60 °C). Σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από τους 0 °C, ο ρυθμός οξειδωσης, εκτός της θερμοκρασίας, βρέθηκε ότι εξαρτάται από τη φυσική κατάσταση της λιπαρής και της υδατικής φάσης (Calligaris et al., 2004; Calligaris et al., 2007).

Η έρευνα επικεντρώθηκε και στη μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας κατά την παρασκευή των γαλακτωμάτων. Η θέρμανση σε διαφορετικές θερμοκρασίες (50, 70, 90 °C) γαλακτωμάτων ιχθυέλαιου με γαλακτωματοποιητή Brij 35, έδειξε ότι δεν επηρέασε το ρυθμό οξειδωσής τους κατά την αποθήκευσή τους σε σύγκριση με το γαλάκτωμα αναφοράς, το οποίο δεν είχε υποστεί θερμική επεξεργασία (Alamed et al., 2006). Αντίθετα, σε γαλακτώματα σταθεροποιημένα με πρωτεΐνες ορού, η αύξηση της θερμοκρασίας, οδήγησε σε δομικές αλλαγές της πρωτεΐνης, με έκθεση των σουλφιδριλικών της ομάδων, οι οποίες δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες και δρουν αντιοξειδωτικά (Djorjevic et al., 2004; Djorjevic et al., 2004). Τέλος, η αύξηση της θερμοκρασίας επηρέασε τη δράση της α-τοκοφερόλης και του φερουλικού οξέος σε τριγλυκερίδια με άμεσες επιπτώσεις στο ρυθμό οξειδωσής τους (Marinova & Yanisljeva, 1992).

3.7 Παρεμπόδιση της οξειδωσης στα γαλακτώματα τροφίμων τύπου έλαιο σε νερό

Μελετώντας τους μηχανισμούς της οξειδωσης, τους παράγοντες που την επηρεάζουν και τα χαρακτηριστικά του γαλακτώματος, είναι δυνατόν να προταθούν λύσεις για την καθυστέρηση του φαινομένου της οξειδωσης στα γαλακτώματα τροφίμων.

Η οξειδωτική σταθερότητα μπορεί να αυξηθεί σε σημαντικό βαθμό θεωρητικά, με την απομάκρυνση του οξυγόνου από τα γαλακτώματα, όπως για παράδειγμα με τη συσκευασία τους υπό κενό ή άζωτο. Η τεχνική αυτή έχει βρει πρακτική εφαρμογή σε πολλά προϊόντα, όπως μαγιονέζες και σάλτσες για σαλάτες, κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους. Ωστόσο, πρακτικά αποτελεσματικός τρόπος μείωσης του ρυθμού οξειδωσης αποτελεί η απομάκρυνση του οξυγόνου από τη λιπαρή φάση, στην οποία παρουσιάζει μεγάλη διαλυτότητα. Το οξυγόνο στη λιπαρή φάση προκαλεί την οξειδωση των λιπαρών του προϊόντος ακόμα και πριν το προϊόν ανοιχθεί, με αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου αποθήκευσής του πριν την κατανάλωσή του.

Η οξειδωση στα γαλακτώματα μπορεί επίσης να παρεμποδιστεί, όταν χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τους πρώτες ύλες, απαλλαγμένες από υδροϋπεροξειδία, μέταλλα ή γενικά προ-οξειδωτικές ενώσεις, οι οποίες προκαλούν έναρξη της οξειδωσης. Δεδομένου ότι στη βιομηχανική πρακτική αυτό δεν είναι εφικτό, το καλύτερο είναι να αποφεύγεται η επαφή των υδροϋπεροξειδίων με τις προ-οξειδωτικές ενώσεις ή να συντελείται η απενεργοποίησή τους, όπως περιγράφεται παρακάτω.

Τα υδροϋπεροξειδία μπορεί να προστατευτούν από αντιδράσεις με ιόντα μετάλλων, μέσω της προσθήκης στην υδατική φάση ενώσεων που συμπλοκοποιούν τα μέταλλα, όπως EDTA, πρωτεΐνες ή πολυσακχαρίτες. Η χρήση γαλακτωματοποιητών που περιβάλλουν τα σταγονίδια με μεμβράνες θετικού φορτίου προκαλούν την ανάπτυξη ηλεκτροστατικά απωστικών δυνάμεων μεταξύ των μεμβρανών και των κατιόντων μετάλλων. Τα μέταλλα απωθούνται από τη διεπιφάνεια, οπότε δεν είναι δυνατή η αλληλεπίδρασή τους με τα υδροϋπροξειδία, που βρίσκονται σε αυτή. Γενικά, πρέπει να αποφεύγεται η προσθήκη ενώσεων που συντελούν στην αναγωγή των μετάλλων. Τα υδροϋπεροξειδία μπορεί επίσης να προστατευτούν από προ-οξειδωτικές ενώσεις της υδατικής φάσης, με τη χρήση κατάλληλων γαλακτωματοποιητών, που δημιουργούν γύρω

από τα σταγονίδια μεμβράνες μεγάλου πάχους, οι οποίες δρουν ως φυσικά εμπόδια στη δράση προ-οξειδωτικών ενώσεων. Τέλος, η θερμοκρασία αποθήκευσης και οι συνθήκες ομογενοποίησης υπό κατάλληλες προϋποθέσεις μπορεί να παρεμποδίσουν το ρυθμό οξείδωσης των υδροϋπεροξειδίων.

Πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για την επίδραση της κερκετίνης σε γαλακτώματα με διαφορετική λιπαρή ύλη, παρακάτω (Πίνακας 3.3) παρουσιάζονται τα υλικά σύνθεσης των γαλακτωμάτων, οι συνθήκες φύλαξης, το είδος των μετρήσεων και η αντιοξειδωτική δράση της φλαβονόλης.

Πίνακας 3.3 Μελέτες σχετικές με την επίδραση της κερκετίνης σε γαλακτώματα.

Συγκέντρωση	Λιπαρή φάση	Γαλακτωματοποιητής	pH	Θερμοκρασία	Μετρούμενη μονάδα/ μέθοδος ανάλυσης	Σημειώσεις	Βιβλιογραφία
200 ppm	Κραμβέλαιο (Κανόλα)	SDS	-	54 °C	O ₂	300 ppm Cu ²⁺ / Αντιοξειδωτική δράση	Chen et al., (1996)
50 μM	Έλαιο λιναρόσπορου	Tween 20	7.4	37 °C (για τα γαλακτώματα που προστέθηκε Fe ²⁺)	TBARs	Ακτινοβόληση με UV ή προσθήκη Fe ²⁺ για την έναρξη της οξείδωσης/ Αντιοξειδωτική δράση	Chen & Ahn, (1998)
100 - 500 μM	Ηλιέλαιο χωρίς τοκοφερόλες	Tween 20	7.4	30 °C	PV, CD, hexanal	Απουσία αντιοξειδωτικής δράσης σε pH=7.4	Roedig-Penman & Gordon, (1998)
5 μM	Λινελαϊκό οξύ	-	7.0	37 °C	CD	Προσθήκη Fe ²⁺ EDTA / Αντιοξειδωτική δράση	Ju & Bramlage, (1999)
0.01 μM	Λινελαϊκό οξύ	Tween 20	5.8	25 °C	Κατανάλωση O ₂	Αντιοξειδωτική δράση	Madsen et al., (2000)
α	Λινελαϊκό οξύ	Tween 20	7.0	37 °C	thiocyanate method	Αντιοξειδωτική δράση	Gülçin et al., (2002)
α	Λινελαϊκό οξύ β-καροτίνη	Tween 20	Οξυγονωμένο	50 °C	β-Carotene Bleaching	Αντιοξειδωτική δράση	Burda & Oleszek,

			απεσταγμένο νερό		Method		(2001)
0.02% (ως προς τη λιπαρή φάση)	Κραμβέλαιο (Κανόλα)	WPI	3.0-7.0	50 °C	PV, AV, Totox	Προ-οξειδωτική δράση σε όξινο περιβάλλον	Osborn & Akoh, (2003)
50-250 μM	Μέθυλο-λινελαϊκό οξύ	Λεκιθίνη	5.1-6.0	40 °C	CD	Αντιοξειδωτική δράση	Kähkönen & Heinonen, (2003)
^a	Λινελαϊκό οξύ β-καροτίνη	Tween 20	-	50 °C	β-Carotene Bleaching Method	Αντιοξειδωτική δράση	Materska & Perucka, (2005)
1-2-3.9-7.9-15.8 μM	Μέθυλο-λινελαϊκό οξύ	Tween 20	6.8	25 °C	Κατανάλωση O ₂	Αντιοξειδωτική δράση	Becker et al., (2007)
1,5,10,20, 40 μM	Λινελαϊκό οξύ, Λινολενικό οξύ	SDS	-	60 °C	CD	Λινελαϊκό οξύ-απουσία αντιοξειδωτικής δράσης, Λινολενικό οξύ-αντιοξειδωτική δράση	Nogala-Kalucka et al., (2007)
10,50,100 μM	Μέθυλο-λινελαϊκό οξύ, παλμιτικό οξύ, ιχθυέλαιο	Tween 20	7.0	50 °C	TBARs	Αντιοξειδωτική δράση	Huber et al., (2009)
250,350, 500 μM	Ραφιναρισμένο ελαιόλαδο	Tween 20	5.5	40 °C	PV, TBARs	Αντιοξειδωτική δράση	Mattia et al., (2009)
100 μM	Ραφιναρισμένο ελαιόλαδο	Tween 20	7.0	40 °C	PV, TBARs	Αντιοξειδωτική δράση	Mattia et al., (2010)
^a	Λινελαϊκό οξύ β-καροτίνη	Tween 40	-	50 °C	β-Carotene Bleaching Method	Αντιοξειδωτική δράση	Ružić et al., (2010)
0.2-1 μM	Λινελαϊκό οξύ	Tween 20	7.0	37 °C	PV	Προ-οξειδωτική δράση όταν C=1μM, αντιοξειδωτική δράση σε μικρότερες συγκεντρώσεις	Beker et al., (2011)
2mM	Ραφιναρισμένο έλαιο καμέλιας	Tween 20	-	60 °C	PV, nonanal	Προ-οξειδωτική δράση	Zhu et al., (2013)

1-200 μM	Λινελαϊκό οξύ	TritonX100	7.4	37 °C	PV, CD	Έναρξη οξειδωσης λόγω προσθήκης AAPH ή Cu^{2+} /Αντιοξειδωτική δράση	Nogala-Kalucka et al., (2013)
500-1000 ppm	Λάδι από έχιο	Tween 20	7.0	25 °C	PV, TBARs	Αντιοξειδωτική δράση	Espinosa et al., (2015)

^a Δεν αναγράφεται η ποσότητα της κερκετίνης

Οι Chen, et al. (1996) πραγματοποίησαν μελέτες για την δράση διάφορων φαινολικών ενώσεων σε συστήματα με λιπαρή φάση κραμβέλαιο. Η δράση των ενώσεων αυτών μελετήθηκε τόσο στην περίπτωση του καθαρού ελαίου όσο και σε γαλακτώματα τα οποία το περιείχαν. Στην πρώτη περίπτωση βρέθηκε ότι η μυρισετίνη απέτρεψε αποτελεσματικότερα την απορρόφηση του οξυγόνου από το έλαιο ακολουθούμενη από την κερκετίνη και την καμπερόλη. Οι ενώσεις αυτές αποδείχτηκε ότι έχουν αντιοξειδωτική δράση και στα γαλακτώματα, η οποία όμως είναι πιο ασθενής, ενώ πιο αποτελεσματική σε αυτή την περίπτωση αποδείχτηκε ότι είναι η κερκετίνη.

Οι Chen και Ahn (1998) μελέτησαν το αποτέλεσμα που είχε η παρουσία έξι φαινολικών ενώσεων σε γαλακτώματα με λιπαρή φάση προερχόμενη από λιναρόσπορο. Τα γαλακτώματα αυτά είχαν σταθερό pH = 7.4, ενώ η έναρξη της οξειδωσης προήλθε από ακτινοβόληση αυτών ή την προσθήκη μετάλλων. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης, TBARs, ανιχνεύει δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης. Στην περίπτωση που η οξειδωση οφείλεται σε εφαρμογή ακτινοβολίας η αντιοξειδωτική ικανότητα των ενώσεων ακολουθεί τη σειρά: κερκετίνη > ρουτίνη = καφεϊκό οξύ = φερουλικό οξύ = σισαμόλη (ένωση που συναντάται κατά κύριο λόγο στο σησάμι) > κατεχίνη. Η ανασταλτική λειτουργία της κερκετίνης ήταν σημαντικότερη, μεταξύ των ενώσεων που μελετήθηκαν, και στην δεύτερη περίπτωση όπου η οξειδωση οφείλεται στην παρουσία ιόντων σιδήρου (Fe^{2+}).

Οι Roedig-Penman και Gordon, (1998) μελέτησαν τη δράση διάφορων συγκεντρώσεων κερκετίνης τόσο σε χύμα ηλιέλαιο όσο και σε γαλακτώματα με αυτό. Για τον σκοπό αυτής της έρευνας χρησιμοποιήθηκαν αναλύσεις που δείχνουν πρωτογενή

(υδροϋπεροξειδία, συζυγή διένια) και δευτερογενή (πεντανάλη, εξανάλη) προϊόντα οξειδωσης. Στην περίπτωση που τα γαλακτώματα παρασκευάστηκαν με ρυθμιστικό διάλυμα ώστε το pH τους να είναι σταθερό και ίσο με 7.4 και σε αυτά περιέχονταν άλατα σιδήρου ή δισθενούς μετάλλου δεν εμφανίστηκε αντιοξειδωτική δράση της φλαβονόλης. Παρόλα αυτά κατά την μελέτη σε συστήματα χωρίς ρυθμιστικό διάλυμα, η οξειδωση φαίνεται να εξαρτάται περισσότερο από το μεταβαλλόμενο pH παρά από τη συγκέντρωση της προστιθέμενης ουσίας. Επιπλέον οι ερευνητές μελέτησαν τη δράση της μυρισεΐνης. Σε σύγκριση με αυτή την ένωση η κερκεΐνη έχει ασθενέστερη δραστηριότητα δέσμωσης ριζών, αλλά βρέθηκε ότι δρα μέσω χηλικοποίησης μετάλλων. Επιπρόσθετα μελετήθηκε η δράση της κερκεΐνης όταν στα γαλακτώματα είναι παρούσες και άλλες ενώσεις. Τα συμπεράσματα που προέκυψαν ήταν ότι η κερκεΐνη ως αντιοξειδωτικό είναι αρκετά ισχυρό όταν στο γαλάκτωμα υπάρχουν τοκοφερόλες, ενώ όταν εκτός από τις τοκοφερόλες στο σύστημα περιέχεται και κιτρικό οξύ η δράση της κερκεΐνης μειώνεται.

Η μελέτη που έγινε από τους Ju και Bramlage (1999), σχετικά με την αποτελεσματική αντιμετώπιση της οξειδωσης σε γαλακτώματα με λινελαϊκό οξύ με την χρήση φαινολικών ενώσεων τελικής συγκέντρωσης 5 μM έδειξε ότι η κερκεΐνη (φλαβονοειδές) εμφανίζει καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με το γαλλικό οξύ (φαινολικό οξύ) και την α -τοκοφερόλη. Το pH στην περίπτωση αυτή ήταν σταθερό και ίσο με 7.

Λινελαϊκό οξύ ως λιπαρή φάση για την μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης φαινολών χρησιμοποίησαν και οι Madsen et al. (2000). Οι συνθήκες διαφέρουν κατά πολύ από την προηγούμενη έρευνα καθώς η συγκέντρωση της κερκεΐνης είναι 0.01 μM , το περιβάλλον είναι πιο όξινο με $\text{pH} = 5.8$ και η ανάλυση που πραγματοποιήθηκε ήταν η κατανάλωση του οξυγόνου. Σε αυτή τη περίπτωση έγινε σύγκριση της κερκεΐνης με αρκετές άλλες ουσίες και η αντιοξειδωτική δράση των ενώσεων ακολουθεί την εξής σειρά: (+)κατεχίνη > (\pm)ταξιφολίνη \geq λουτεολίνη > καμφερόλη > κερκεΐνη >> ναριγγενίνη. Σε αντίθεση με τις προηγούμενες έρευνες η κερκεΐνη, αν και εμφανίζει αντιοξειδωτική δράση, παρουσιάζεται ως πιο αδύναμο αντιοξειδωτικό σε σχέση με άλλες φαινόλες.

Οι Gulcin, et al. (2002) μελέτησαν την αντιοξειδωτική δράση διάφορων συνθετικών και φυσικών ενώσεων μετρώντας τις ανιοντικές ρίζες υπεροξειδίου που βρίσκονταν σε γαλακτώματα λινελαϊκού οξέος. Από αυτά τα πειράματα προέκυψε ότι στο σύστημα αυτό τα συνθετικά αντιοξειδωτικά BHA και BHT έχουν καλύτερη δράση, ενώ ακολουθεί η κερκετίνη.

Μια μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης διάφορων φλαβονοειδών έγινε από τους Burda και Oleszek (2001). Η ομάδα αυτή μελέτησε τη δράση 42 φλαβονοειδών σε γαλάκτωμα που περιείχε β-καροτένιο και λινελαϊκό οξύ. Σε αυτή τη μέθοδο το β-καροτένιο ως μόριο στόχος εκτίθεται σε ρίζες ROO[·], που προέρχονται από την οξείδωση του λινελαϊκού οξέος, και αποχρωματίζεται. Ο αποχρωματισμός της ουσίας μπορεί να επιβραδυνθεί εάν στο σύστημα εμφανιστεί κάποια ένωση που δίνει άτομα υδρογόνου και απενεργοποιεί τις δραστικές ρίζες. Την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση στο σύστημα που μελετάται παρουσιάζουν οι συνθετικές ενώσεις BHT και D,L-R-τοκοφερόλη. Ικανοποιητική συμπεριφορά έναντι της οξείδωσης εμφανίζουν και οι φλαβονόλες με ελεύθερη ομάδα υδροξυλίου στη θέση C-3 όπως είναι η κερκετίνη και η καμπφερόλη. Η μελέτη των γλυκοζιτικών και των μεθυλικών παραγώγων, της προηγούμενης ομάδας φαινολών, απέδειξε ότι ο φραγμός στη θέση C-3 οδηγεί σε πλήρη απώλεια της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας.

Η δράση των φυσικών αντιοξειδωτικών α-τοκοφερόλη, γαλλικό οξύ και κερκετίνη μελετήθηκε από τους Osborn και Akoh (2003) ώστε να διερευνηθούν οι διαφορές σε όξινο ή ουδέτερο περιβάλλον που περιέχει ιόντα σιδήρου. Στην περίπτωση που το περιβάλλον είναι όξινο και η συγκέντρωση του σιδήρου είναι 50 μM και οι τρεις ενώσεις παρουσιάζουν προ-οξειδωτική δράση με βάση τα πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης. Στην περίπτωση μεγαλύτερης συγκέντρωσης Fe (100 μM) τα αντιοξειδωτικά δεν εμφανίζουν ούτε αντιοξειδωτική ούτε προ-οξειδωτική δράση. Ένα άλλο ενδιαφέρον αποτέλεσμα είναι ότι για pH = 3 η καταλυόμενη από το σίδηρο οξείδωση είναι μεγαλύτερης κλίμακας σε σχέση με το pH = 7, επομένως οι ενώσεις που εξετάστηκαν δρουν καλύτερα σε ουδέτερο περιβάλλον. Από τη μελέτη αυτή επιβεβαιώνεται ότι τόσο η παρουσία μετάλλων όσο και το pH του συστήματος επηρεάζουν την ικανότητα διάφορων ενώσεων να διαδραματίζουν προστατευτικό ρόλο έναντι της οξείδωσης της λιπιδικής φάσης.

Οι Kahkonen και Heinonen (2003) μελέτησαν την αντιοξειδωτική δράση της κερκετίνης, του καφεϊκού οξέος και της α-τοκοφερόλης σε μεθυλο-λινελαϊκό οξύ και σε γαλακτώματα με την ίδια λιπαρή φάση. Τα γαλακτώματα δεν παρασκευάστηκαν με τη χρήση ρυθμιστικού διαλύματος και ως εκ τούτου κατά τη διάρκεια του πειράματος το pH παρουσίασε διακυμάνσεις μεταξύ των τιμών 5.1-6.0. Για τον προσδιορισμό των ενώσεων που δρουν ανασταλτικά ως προς την οξειδωση στο συγκεκριμένο σύστημα πραγματοποιήθηκε μέτρηση της συγκέντρωσης συζυγών διενίων. Οι αναλύσεις έδειξαν ότι η αύξηση της συγκέντρωσης της κερκετίνης στα 250 μM στο σύστημα του γαλακτώματος επέφερε καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τα 50 μM , ενώ αποτέλεσε ένα από τα αποτελεσματικότερα αντιοξειδωτικά, εφάμιλλο του καφεϊκού οξέος και της α-τοκοφερόλης. Το φλαβονοειδές αυτό ήταν αποτελεσματικό και κατά την προσθήκη στη λιπαρή φάση, με τα αποτελέσματα να υποδεικνύουν ότι μετά την προσθήκη ίδιας ποσότητα η ένωση, αυτή, είναι πιο αποτελεσματική όταν προστεθεί κατευθείαν στην λιπαρή ένωση.

Η μέθοδος μέτρησης της οξειδωσης με βάση τον αποχρωματισμό του β -καροτένιου το οποίο βρίσκεται σε γαλάκτωμα λινελαϊκού οξέος χρησιμοποιήθηκε και από τους Materska και Perucka (2005). Οι ερευνητές αυτοί βρήκαν, ότι ανάμεσα στις ενώσεις που μελετήθηκαν, καλύτερη αντιοξειδωτική δράση εμφάνισε το *trans*-*p*-σιναπικό οξύ, ενώ ακολουθεί με αρκετά καλή αντιοξειδωτική δράση η κερκετίνη. Ακολουθώντας την ίδια διαδικασία μια γλυκοζιτική δομή της κερκετίνης (*quercetin 3-O-R-L-rhamnopyranoside*) παρουσίασε πολύ ασθενή αντιοξειδωτική δράση. Το γεγονός αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των Burda και Oleszek (2001), δηλαδή η δράση της αγλυκόνης είναι πιθανό να διαφέρει αρκετά από τη γλυκοζιλιωμένη της μορφή.

Η αντιοξειδωτική δράση της κερκετίνης, όπως επίσης της ρουτίνης, της ασταξανθάνης και της α-τοκοφερόλης μελετήθηκε από τους Becker et al. (2007). Τα γαλακτώματα στα οποία προστέθηκαν αυτές οι ενώσεις ήταν με μεθυλο-λινελαϊκό οξύ ενώ το pH τους ήταν σταθερό και ίσο με 6.8. Ο δείκτης που χρησιμοποιήθηκε στο εν λόγω πείραμα ήταν η κατανάλωση του οξυγόνου. Πέρα από τη μελέτη των μεμονωμένων ενώσεων που απέδειξε την αντιοξειδωτική δράση αυτών των ενώσεων και την υπερίσχυση της κερκετίνης (σειρά αντιοξειδωτικής δράσης κερκετίνη > α-τοκοφερόλη >> ασταξανθίνη > ρουτίνη), πραγματοποιήθηκε έλεγχος της συνδυαστικής δράσης των

ενώσεων με την κερκετίνη. Ο συνδυασμός της κερκετίνης με την α-τοκοφερόλη έδειξε έντονη συνεργιστική δράση, ενώ με την ασταξανθίνη υπήρξε ελαφρώς αυξητική τάση της ικανότητας προστασίας των γαλακτωμάτων από την οξείδωση. Αυτά τα αποτελέσματα προέκυψαν τόσο στην περίπτωση υψηλών συγκεντρώσεων όσο και χαμηλών. Ο συνδυασμός της κερκετίνης με την ρουτίνη διαφοροποιείται ανάλογα με την συγκέντρωση, δρώντας συνεργιστικά για υψηλές και προσθετικά για χαμηλές.

Οι Nogala-Kalucka et al. (2007) μελέτησαν τη δράση φυσικών ενώσεων σε γαλακτώματα που περιείχαν είτε λινελαϊκό οξύ είτε λινολενικό οξύ. Στην περίπτωση του γαλακτώματος λινελαϊκού οξέος η ανίχνευση της ποσότητας και του είδους των υδροϋπεροξειδίων δεν φανερώνει αντιοξειδωτική δράση της κερκετίνης σε αυτό το σύστημα. Σε συγκέντρωση 40 μM παρουσιάζεται ελαφριά αντιοξειδωτική δράση, ενώ σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις οι υπεροξειδικές ρίζες έχουν ανοδική τάση, το γεγονός αυτό φανερώνει πιθανή προ-οξειδωτική δράση. Όσον αφορά το λινολενικό οξύ το σύνολο των μετρούμενων υδροϋπεροξειδίων που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της οξείδωσης δείχνει ότι η προσθήκη 40 mM κερκετίνης μπορεί να μειώσει την ποσότητα τους στο μισό. Αντίθετα, μικρότερη συγκέντρωση δεν επιδρά σημαντικά στην αναστολή της παραγωγής των υπεροξειδικών ριζών. Η ταυτόχρονη προσθήκη στα δύο διαφορετικά γαλακτώματα κερκετίνης και α-τοκοφερόλης έδειξε αποτελεσματικότερη δράση έναντι της οξείδωσης υποδεικνύοντας συνεργιστική δράση.

Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες φλαβονολών που συναντώνται στη φύση (κερκετίνη και γλυκοζίτες της) εξετάστηκαν από τους Huber et al. (2009) και συγκρίθηκαν με το BHT και την α-τοκοφερόλη, ενώσεις οι οποίες χρησιμοποιούνται κατά κόρον στα τρόφιμα. Τα αντιοξειδωτικά ενσωματώθηκαν σε επιλεγμένα πολυακόρεστα λιπαρά (μεθυλο-λινελαϊκό και παλμιτικό οξύ), σε ιχθυέλαιο και σε υδατικά γαλακτώματα αυτών. Οι παράμετροι επιτάχυνσης της οξείδωσης ήταν η θέρμανση, το φως, χημικές αντιδράσεις ή η προσθήκη ιόντων σιδήρου. Η πορεία της οξείδωσης προσδιορίστηκε με την ποσοτικοποίηση των TBARs. Για τα γαλακτώματα με τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση των φλαβονολών τόσο αποτελεσματικότερα ήταν, ενώ το BHT εμφάνισε καλύτερη αντιοξειδωτική δράση ακολουθούμενο από την κερκετίνη. Στην περίπτωση του ιχθυελαίου η δράση της συνθετικής ένωσης ήταν ακόμα

μεγαλύτερη ενώ η αποτελεσματικότητα των γλυκοζιτών ήταν παρόμοια με την α-τοκοφερόλη.

Στη συνέχεια ερεύνησαν και την επίδραση του τμήματος σακχάρου στο C-3 άκρο της κερκετίνης μελετώντας τη δράση των γλυκοζιτικών δομών (κερκετίνη-3-O-γλυκοσίτη, κερκετίνη-3-O-γαλακτοσίτη, κερκετίνη-3-O-ραμνοσίτη, κερκετίνη-3-O-ρουτινοσίτη) ως προς την οξείδωση των γαλακτωμάτων. Οι γλυκοζιτικές δομές είτε επέδειξαν χαμηλή αντιοξειδωτική δράση είτε δεν επηρέασαν καθόλου τα συστήματα.

Οι Mattia et al. (2009) προσδιόρισαν τη δράση διαφορετικών συγκεντρώσεων του γαλλικού οξέος, της κερκετίνης και της κατεχίνης σε συστήματα που περιείχαν ελαιόλαδο με την μέτρηση τόσο πρωτογενών (υδροϋπεροξειδία) όσο και δευτερογενών (TBARs) προϊόντων οξείδωσης. Η παραγόμενη ποσότητα των υδροϋπεροξειδίων στα γαλακτώματα έδειξε ότι το γαλλικό οξύ και η κατεχίνη δεν είναι ικανά να καθυστερήσουν ή να αναστείλουν τον σχηματισμό αυτών των ενώσεων. Η κερκετίνη αντίθετα επέδειξε αντιοξειδωτική δράση. Το γαλλικό οξύ σε συγκεντρώσεις 350 και 500 μM έδειξε την ίδια τάση με το control ως προς την παραγωγή των δευτερογενών προϊόντων σε αντίθεση με την μικρότερη συγκέντρωση (250 μM) όπου έδειξε προ-οξειδωτική δράση. Η κερκετίνη δεν επηρέασε στην χαμηλότερη συγκέντρωση που προστέθηκε, όμως στη μεγαλύτερη έδρασε κατασταλτικά.

Παρόμοια διαδικασία ανάλυσης πραγματοποιήθηκε από την ίδια ομάδα (Mattia et al., 2010) για γαλακτώματα ελαιολάδου με διαφορετικό pH. Τα, σχετικά με το γαλλικό οξύ και την κατεχίνη, αποτελέσματα σε αυτή την έρευνα έρχονται σε αντίθεση με αυτά της προηγούμενης έρευνας. Το γαλλικό οξύ, παρά την κατανομή του στην υδατική φάση λόγω της πολικότητας του, καθυστέρησε το σχηματισμό τόσο των υδροϋπεροξειδίων όσο και των TBARs και περιόρισε τη συσσώρευση τους. Η κατεχίνη δεν επηρέασε το σχηματισμό προϊόντων οξείδωσης, ενώ η κερκετίνη προκάλεσε το μικρότερο σχηματισμό και στα δύο είδη ενώσεων.

Οι Ruzic et al. (2010) μελέτησαν την αντιοξειδωτική δράση διάφορων φλαβονοειδών και την επίδραση που έχει η δομή αυτών στην ικανότητα αναστολής της οξείδωσης και στην μετατροπή των ελεύθερων ριζών σε λιγότερο δραστικά μόρια. Το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν γαλάκτωμα που περιείχε β -καροτένιο/λινελαϊκό οξύ, ενώ το ποσοστό της οξείδωσης προκύπτει από τον αποχρωματισμό του β -

καροτένιου. Την καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα, με φθίνουσα σειρά, έχουν η καμπερόλη, η κερκετίνη, η μυρισετίνη και η λουτεολίνη, μάλιστα οι δύο πρώτες ενώσεις εμφανίζουν καλύτερα αποτελέσματα από το συνθετικό και ευρέως χρησιμοποιούμενο BHT.

Οι Beker et al. (2011) ανέλυσαν την επίδραση τριών διαφορετικών φλαβονοειδών με παρόμοια δομή (κερκετίνη, μορίνη και κατεχίνη), που έχουν τον ίδιο αριθμό –OH ανά μόριο, στην οξείδωση γαλακτωμάτων με λιπαρή φάση λινελαϊκό οξύ. Η έναρξη της οξείδωσης προκλήθηκε με προσθήκη ασκορβικού οξέος και ιόντων μετάλλων. Η ανασταλτική κατάταξη των φλαβονοειδών στην προστασία της υπεροξειδωσίας λιπιδίων ήταν : μορίνη > κατεχίνη ≥ κερκετίνη, με την μορίνη να δείχνει αντιοξειδωτική δράση σε όλες τις συγκεντρώσεις ενώ η κατεχίνη και η κερκετίνη έδειξαν τόσο αντιοξειδωτικές όσο και προ-οξειδωτικές επιδράσεις ανάλογα με τη συγκέντρωσή τους.

Οι Zhu et al. (2013) χρησιμοποίησαν για την έρευνα τους σχετικά με την δράση διάφορων φαινολών έλαιο καμέλιας. Ένα άλλο μέγεθος που διαφέρει αρκετά σε σχέση με άλλες μελέτες είναι η ποσότητα του ελαίου στο γαλάκτωμα που είναι 40% w/w, ποσότητα που είναι μεγαλύτερη από ότι συνήθως. Η ανίχνευση της ποσότητας των υδροϋπεροξειδίων και της εννεανάλης ήταν οι δείκτες που έδειξαν την πορεία της οξειδωτικής διαδικασίας. Η οξειδωτική σταθερότητα κατατάχθηκε με την ακόλουθη σειρά: γαλλικός προπυλεστέρας > κατεχίνη > γαλάκτωμα μάρτυρας > γαλλικό οξύ > κερκετίνη. Πιο συγκεκριμένα η κερκετίνη φαίνεται να εμφανίζει τις πρώτες δέκα μέρες αντιοξειδωτική δράση, η οποία κατά την εξέλιξη του πειράματος μετατρέπεται σε προ-οξειδωτική. Ενδιαφέρον είναι ότι κατά την προσθήκη της κερκετίνης σε χύμα έλαιο καμέλιας εμφανίζεται μόνο αντιοξειδωτική δράση.

Ο στόχος των Nogala-Kalucka et al. (2013) ήταν ο προσδιορισμός της συνέργειας ή του ανταγωνισμού της κερκετίνης, της ρουτίνης και επιλεγμένων τοκοτριενολών ως προς την προστασία γαλακτωμάτων λινελαϊκού οξέος από την οξείδωση. Η τελική συγκέντρωση των προστιθέμενων αντιοξειδωτικών στα συστήματα ήταν 1-200 μM και οι ενώσεις που προσδιορίστηκαν ήταν τα υδροϋπεροξειδία και η εννεανάλη. Με την αύξηση της συγκέντρωσης της κερκετίνης παρατηρείται μείωση των παραγόμενων υδροϋπεροξειδίων, ενώ η ρουτίνη σε όλες τις συγκεντρώσεις έχει παρεμφερή αποτελέσματα εκτός από τη συγκέντρωση 1 μM όπου εμφανίζει προ-οξειδωτική δράση.

Η κερκετίνη βρέθηκε να είναι πιο αποτελεσματική από την ρουτίνη για συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 50 μM . Οι τοκοτριενόλες ήταν πιο αποτελεσματικές από τις φλαβόνες μόνο στην περίπτωση που η συγκέντρωση ήταν 1 μM . Η χρήση από κοινού κερκετίνης και γ -τοκοτριενόλης επέφεραν τα καλύτερα αποτελέσματα, σε αντίθεση με το συνδυασμό της κερκετίνης με τις άλλες δύο τοκοτριενόλες που δεν εντοπίστηκε συνεργιστική δράση.

Οι Espinosa et al. (2015) μελέτησαν τη δράση φαινολικών ενώσεων σε γαλακτώματα παρασκευασμένα με έλαιο από το φυτό έχιο. Ένδειξη της οξειδωσης στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν ήταν ο αριθμός υδροϋπεροξειδίων και τα TBARs. Οι δύο διαφορετικές αναλύσεις έδειξαν ότι η κερκετίνη δρα προστατευτικά έναντι της οξειδωσης και στην περίπτωση αυτού του γαλακτώματος.

Η δράση του ροσμαρινικού οξέος έναντι της οξειδωσης των γαλακτωμάτων έχει εξεταστεί από αρκετούς ερευνητές. Η ένωση αυτή ανάλογα με τη συγκέντρωση της και το περιβάλλον στο οποίο βρίσκεται μπορεί να δράσει είτε αντιοξειδωτικά είτε προ-οξειδωτικά. Παρακάτω (Πίνακας 3.4) ακολουθεί εκτενής παρουσίαση των ερευνών που έχουν πραγματοποιηθεί για να προσδιορίσουν τη δράση της ουσίας σε γαλακτώματα.

Η καλύτερη αντιοξειδωτική δράση του ροσμαρινικού οξέος σύμφωνα με τους Frankel et al. (1996) σε καλαμποκέλαιο ως προς το σχηματισμό των υδροϋπεροξειδίων εμφανίζεται για συγκέντρωση 50 ppm. Σε συγκέντρωση 30 ppm το ροσμαρινικό έχει μικρότερη δράση. Το ίδιο αποτέλεσμα προκύπτει και από την παραγωγή εξανάλης. Στην περίπτωση των γαλακτωμάτων τα αποτελέσματα φαίνεται να διαφοροποιούνται καθώς στη συγκέντρωση των 30 ppm εμφανίζεται μικρής κλίμακας αντιοξειδωτική δράση ενώ για την περίπτωση των 50 ppm παρατηρείται προ-οξειδωτική δράση. Το αποτέλεσμα αυτό παρατηρήθηκε και για τους δύο δείκτες που μελετήθηκαν. Το pH δεν επηρέασε τη δράση.

Από τους Chen και Ho (1997) πραγματοποιήθηκε η προσθήκη πολυφαινολών σε στερεό λίπος προερχόμενο από χοίρο και σε καλαμποκέλαιο. Οι ενώσεις που μελετήθηκαν ήταν το καφεϊκό οξύ, το ροσμαρινικό οξύ, το χλωρογενικό οξύ, το φερουλικό οξύ, η α -τοκοφερόλη και το συνθετικό BHT. Η αντιοξειδωτική δράση των ενώσεων αυτών διαφοροποιήθηκε ανάμεσα στις δύο λιπαρές φάσεις. Στην περίπτωση του στερεού λίπους η αντιοξειδωτική δράση των ενώσεων φαίνεται να είναι με φθίνουσα

σειρά καφεϊκό οξύ \approx α -τοκοφερόλη, ροσμαρινικό οξύ, χλωρογενικό οξύ και έπονται με πολύ χειρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα το BHT και το φερουλικό οξύ. Όσον αφορά το καλαμποκέλαιο την καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα εμφανίζει το ροσμαρινικό οξύ και ακολουθούν το καφεϊκό οξύ \approx χλωρογενικό οξύ, η α -τοκοφερόλη, το BHT και τέλος με την χειρότερη αντιοξειδωτική δράση παρουσιάζεται ξανά το φερουλικό οξύ. Τέλος στην περίπτωση των γαλακτωμάτων υπάρχουν αρκετές διαφοροποιήσεις με την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση να εμφανίζει το BHT και έπονται το καφεϊκό, το ροσμαρινικό, το φερουλικό, το χλωρογενικό οξύ και τέλος η α -τοκοφερόλη. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι υδρόφιλες ενώσεις έχουν καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα στο λάδι, ενώ δεν ισχύει το ίδιο για τα γαλακτώματα στα οποία φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικές οι υδρόφοβες ενώσεις.

Ο δείκτης οξείδωσης που αναλύθηκε από τους Cuvelier et al. (2000) ώστε να πραγματοποιηθεί η μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των πρόσθετων ενώσεων σε γαλακτώματα με λιπαρή φάση λινελαϊκό οξύ ήταν τα συζυγή διένια. Η έναρξη της οξείδωσης προκλήθηκε με προσθήκη σιδήρου και ασκορβικού οξέος (σε μικρή ποσότητα ώστε να μη δράσει ως αντιοξειδωτικό). Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι τα αντιοξειδωτικά που προστέθηκαν δεν μπορούν να αποτρέψουν τον αρχικό σχηματισμό διενίων, εντούτοις δεν συμβαίνει το ίδιο με τα διένια που σχηματίζονται κατά το στάδιο της διάδοσης. Ενώ η ανάλυση της δημιουργίας αυτών των προϊόντων έδειξε ότι εξαρτάται περισσότερο από την πολικότητα των αντιοξειδωτικών παρά από την δομή τους (αριθμός υδροξυλομάδων ή περιοχές χηλικοποίησης), έτσι καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα εμφάνισε η α -τοκοφερόλη, το BHT, το BHA και η ισοευγενόλη, ενώ το ροσμαρινικό και το καφεϊκό οξύ εμφάνισαν ασθενή αντιοξειδωτική δράση.

Οι Erkan et al., 2008 πραγματοποίησαν μελέτη τα αντιοξειδωτικής δράσης των πρότυπων ενώσεων σισαμόλης (sesamol), ροσμαρινικού οξέος και καρνοσικού οξέος σε γαλακτώμα με λιπαρή φάση το λινελαϊκό οξύ. Σε αυτή τη περίπτωση το ροσμαρινικό εμφανίζει καλύτερη αντιοξειδωτική δράση ενώ την χειρότερη παρουσιάζει η σισαμόλη.

Πίνακας 3.4 Μελέτες σχετικές με την επίδραση του ροσμαρινικού οξέος σε γαλακτώματα

Συγκέντρωση	Λιπαρή φάση	Γαλακτωματοποιητής	pH	Θερμοκρασία	Μετρούμενη μονάδα / μέθοδος ανάλυσης	Σημειώσεις	Βιβλιογραφία
30-50 ppm	Καλαμποκέλαιο (10%)	Tween 20 (1%)	4-7	60 °C	PV, Hexanal	Αντιοξειδωτική δράση	Frankel et al., 1996
150 μM	Καλαμποκέλαιο (3%)	Triton X-100 (0.3%)	-	60 °C	Rancimat method	Αντιοξειδωτική δράση	Chen & Ho, 1997
^a	Λινελαϊκό οξύ (170 μM)	Tween 20 (244 μM)	6.4	30 °C	CD	Επαγόμενη οξείδωση από δηρο / ασκορβικό οξύ Ασθενής αντιοξειδωτική δράση	Cuvelier et al., 2000
^a	Λινελαϊκό οξύ	-	7	40 °C	PV	Αντιοξειδωτική δράση	Erkan et al., 2008
50 μM	Καλαμποκέλαιο (5%)	Brij 35 (0.5%)	7	37 °C	PV, hexanal	Αντιοξειδωτική δράση	Alamed et al., 2009
^a	Λινελαϊκό οξύ / β-καροτίνη	Tween 20	Οξυγονωμένο απεσταγμένο νερό	50 °C	β-Carotene Bleaching Method	Αντιοξειδωτική δράση	Terpinc & Abramovic, 2010
30 μM	Ραφινάρισμένο σογιέλαιο (1%)	Tween 20 (0.1%)	7	25 °C	PV, hexanal	Αντιοξειδωτική δράση	Panya et al., 2012

^a Δεν αναγράφεται η ποσότητα του ροσμαρινικού οξέος

^β Όλες οι περιεκτικότητες είναι % w/w

Οι Alamed et al., 2009 πραγματοποίησαν ανάλυση της συμπεριφοράς διάφορων ενώσεων σε γαλακτώματα καλαμποκέλαιου. Για το σκοπό αυτό έγινε μέτρηση των αριθμών υπεροξειδίων και της παραγόμενης εξανάλης. Οι ενώσεις γαλλικός προπυλεστέρας, γαλλικό οξύ και φερουλικό οξύ στη συγκέντρωση 50 μM εμφανίζουν

προ-οξειδωτική δράση. Ενώ οι ενώσεις TBHQ και ροσμαρινικό οξύ, στην ίδια συγκέντρωση, εμφανίζουν αναστολή της ανάπτυξης τόσο των υδροϋπεροξειδίων όσο και της εξανάλης.

Οι Terpine και Abramovic (2010), χρησιμοποίησαν ένα υδατικό γαλάκτωμα λινελαϊκού οξέος και β-καροτένιου ώστε να εκτιμήσουν την αντιοξειδωτική δράση διάφορων ενώσεων. Από την ανάλυση που πραγματοποιήθηκε προέκυψε ότι το πιο αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό είναι το φερουλικό οξύ και ακολουθούν το ροσμαρινικό, το καφεϊκό και το χλωρογενικό οξύ.

Από τους Panya et al. (2012), πραγματοποιήθηκε μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης τόσο του ροσμαρινικού οξέος και εστέρων του όσο και της α-τοκοφερόλης. Η δημιουργία και των πρωτογενών και των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης έδειξε ότι αυτές οι ενώσεις σε συγκέντρωση 30 μM εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση. Η αποτελεσματικότητα των εστέρων του ροσμαρινικού οξέος ακολουθεί την παρακάτω σειρά $R4 > R12 > R0 > R20$. Επιπλέον, η ταυτόχρονη προσθήκη όλων των παραπάνω ενώσεων με την α-τοκοφερόλη έδειξε συνεργιστική δράση.

Πρακτικά, ο πιο αποτελεσματικός τρόπος καθυστέρησης της οξείδωσης βασίζεται στο συνδυασμό αρκετών από τα μέτρα που αναφέρθηκαν παραπάνω. Κάθε γαλάκτωμα τροφίμων έχει τα δικά του ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, τα οποία πρέπει να λαμβάνονται υπόψη για την επιλογή του κατάλληλου συνδυασμού μέτρων, με σκοπό την αποτελεσματική προστασία του.

Βιβλιογραφία 3^ο κεφαλαίου

Alamed, J., Chaiyasit, W., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2009). Relationships between free radical scavenging and antioxidant activity in foods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(7), 2969–2976.

Alamed, J., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2006). Influence of heat processing and calcium ions on the ability of EDTA to inhibit lipid oxidation in oil-in-water emulsions containing omega-3 fatty acids. *Food Chemistry*, 95(4), 585–590.

Becker, E. M., Ntouma, G., & Skibsted, L. H. (2007). Synergism and antagonism between quercetin and other chain-breaking antioxidants in lipid systems of increasing structural organisation. *Food Chemistry*, 103(4), 1288–1296.

Beker, B. Y., Sönmezoğlu, İ., İmer, F., & Apak, R. (2011). Protection of ascorbic acid from copper (II)-catalyzed oxidative degradation in the presence of flavonoids: Quercetin, catechin and morin. *International journal of food sciences and nutrition*, 62(5), 504–512.

Bos, M. A., & Van Vliet, T. (2001). Interfacial rheological properties of adsorbed protein layers and surfactants: a review. *Advances in colloid and interface science*, 91(3), 437–471.

Burda, S., & Oleszek, W. (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(6), 2774–2779.

Calligaris, S., Manzocco, L., Conte, L. S., & Nicoli, M. C. (2004). Application of a modified Arrhenius equation for the evaluation of oxidation rate of sunflower oil at subzero temperatures. *Journal of food science*, 69(8), E361–E366.

Calligaris, S., Manzocco, L., & Nicoli, M. C. (2007). Modelling the temperature dependence of oxidation rate in water-in-oil emulsions stored at sub-zero temperatures. *Food Chemistry*, 101(3), 1019–1024.

Chen, X., & Ahn, D. U. (1998). Antioxidant activities of six natural phenolics against lipid oxidation induced by Fe²⁺ or ultraviolet light. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(12), 1717–1721.

Chen, J. H., & Ho, C. T. (1997). Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(7), 2374–2378.

Chen, Z. Y., Chan, P. T., Ma, H. M., Fung, K. P., & Wang, J. (1996). Antioxidative effect of ethanol tea extracts on oxidation of canola oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(3), 375–380.

Cho, Y. J., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2002). Ability of surfactant micelles to alter the physical location and reactivity of iron in oil-in-water emulsion. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(20), 5704–5710.

Costa, M., Losada-Barreiro, S., Paiva-Martins, F., Bravo-Díaz, C., & Romsted, L. S. (2015). A direct correlation between the antioxidant efficiencies of caffeic acid and its alkyl esters and their concentrations in the interfacial region of olive oil emulsions. The pseudophase model interpretation of the “cut-off” effect. *Food chemistry*, 175, 233–242.

Coupland, J. N., & McClements, D. J. (1996). Lipid oxidation in food emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, 7(3), 83–91.

Coupland, J. N., & McClements, D. J. (1996a). Droplet composition affects the rate of oxidation of emulsified ethyl linoleate—Supporting evidence. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(9), 1207–1207.

Coupland, J. N., Zhu, Z., Wan, H., McClements, D. J., Nawar, W. W., & Chinachoti, P. (1996). Droplet composition affects the rate of oxidation of emulsified ethyl linoleate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(6), 795–901.

Cuvelier, M. E., Bondet, V., & Berset, C. (2000). Behavior of phenolic antioxidants in a partitioned medium: structure—Activity relationship. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(8), 819–824.

Dalgleish, D. G. (2004). Food emulsions: their structures and properties. *Food emulsions*, 4, 1–44.

Dimakou, C. P., Kiokias, S. N., Tsaprouni, I. V., & Oreopoulou, V. (2007). Effect of processing and storage parameters on the oxidative deterioration of oil-in-water emulsions. *Food Biophysics*, 2(1), 38–45.

Erkan, N., Ayranci, G., & Ayranci, E. (2008). Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis L.*) extract, blackseed (*Nigella sativa L.*) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food chemistry*, 110(1), 76–82.

Espinosa, R. R., Inchingolo, R., Alencar, S. M., Rodriguez-Estrada, M. T., & Castro, I. A. (2015). Antioxidant activity of phenolic compounds added to a functional emulsion containing omega-3 fatty acids and plant sterol esters. *Food chemistry*, 182, 95–104.

Frankel, E. N., Huang, S. W., Aeschbach, R., & Prior, E. (1996). Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. *Journal of agricultural and food chemistry*, 44(1), 131–135.

Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö. İ., & Aslan, A. (2002). Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of ethnopharmacology*, 79(3), 325–329.

Hu, M., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2003). Impact of whey protein emulsifiers on the oxidative stability of salmon oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1435–1439.

Huber, G. M., Rupasinghe, H. V., & Shahidi, F. (2009). Inhibition of oxidation of omega-3 polyunsaturated fatty acids and fish oil by quercetin glycosides. *Food Chemistry*, 117(2), 290–295.

Jiao, J., & Burgess, D. J. (2008). Multiple emulsion stability: pressure balance and interfacial film strength. *Multiple emulsions: Technology and applications*, 1–27.

Ju, Z., & Bramlage, W. J. (1999). Phenolics and lipid-soluble antioxidants in fruit cuticle of apples and their antioxidant activities in model systems. *Postharvest Biology and Technology*, 16(2), 107–118.

Kähkönen, M. P., & Heinonen, M. (2003). Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(3), 628–633.

Ke, P. J., & Ackman, R. G. (1973). Bunsen coefficient for oxygen in marine oils at various temperatures determined by an exponential dilution method with a polarographic oxygen electrode. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 50(11), 429–435.

Kiokias, S. N., Dimakou, C. P., Tsaprouni, I. V., & Oreopoulou, V. (2006). Effect of compositional factors against the thermal oxidative deterioration of novel food emulsions. *Food Biophysics*, 1(3), 115–123.

Krog, N. J., & Sparso, F. V. (2004). Food emulsifiers: their chemical and physical properties. *Food emulsions*, 12.

Lindberg Madsen, H., Møller Andersen, C., Viborg Jørgensen, L., & Skibsted, L. H. (2000). Radical scavenging by dietary flavonoids. A kinetic study of antioxidant efficiencies. *European Food Research and Technology*, 211(4), 240–246.

Losada-Barreiro, S., Sánchez-Paz, V., & Bravo-Díaz, C. (2015). Transfer of antioxidants at the interfaces of model food emulsions: Distributions and thermodynamic parameters. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 13(3), 876–885.

Mancuso, J. R., McClements, D. J., & Decker, E. A. (1999). The effects of surfactant type, pH, and chelators on the oxidation of salmon oil-in-water emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 4112–4116.

Marinova, E. M., & Yanishlieva, N. V. (1992). Effect of temperature on the antioxidative action of inhibitors in lipid autoxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 60(3), 313–318.

Materska, M., & Perucka, I. (2005). Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum L.*). *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 53(5), 1750–1756.

Di Mattia, C. D., Sacchetti, G., Mastrocola, D., & Pittia, P. (2009). Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions. *Food research international*, 42(8), 1163–1170.

Di Mattia, C. D., Sacchetti, G., Mastrocola, D., Sarker, D. K., & Pittia, P. (2010). Surface properties of phenolic compounds and their influence on the dispersion degree and oxidative stability of olive oil O/W emulsions. *Food Hydrocolloids*, 24(6-7), 652–658.

McClements, D. J., Akoh, C. C., & Min, D. B. (2002). Lipid-based emulsions and emulsifiers. *Food Science and Technology - New York - Marcel Dekker*, 63–102.

McClements, D. J., & Decker, E. A. (2000). Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *Journal of food science*, 65(8), 1270–1282.

Narita, Y., & Inouye, K. (2013). Degradation kinetics of chlorogenic acid at various pH values and effects of ascorbic acid and epigallocatechin gallate on its stability under alkaline conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(4), 966–972.

Nogala-Kałucka, M., Dwiecki, K., Siger, A., Górnaś, P., Polewski, K., & Ciosek, S. (2013). Antioxidant synergism and antagonism between tocotrienols, quercetin and rutin in model system. *Acta Alimentaria*, 42(3), 360–370.

Nogala-Kalucka, M., Kupczyk, B., Polewski, K., Siger, A., & Dwiecki, K. (2007). Influence of native antioxidants on the formation of fatty acid hydroperoxides in model systems. *European journal of lipid science and technology*, 109(10), 1028–1037.

Nuchi, C., Guardiola, F., Bou, R., Bondioli, P., Della Bella, L., & Codony, R. (2009). Assessment of the levels of degradation in fat co- and byproducts for feed uses and their relationships with some lipid composition parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1952–1959.

Nuchi, C. D., Hernandez, P., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2002). Ability of lipid hydroperoxides to partition into surfactant micelles and alter lipid oxidation rates in emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(19), 5445–5449.

Osborn, H. T., & Akoh, C. C. (2003). Effects of natural antioxidants on iron-catalyzed lipid oxidation of structured lipid-based emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(9), 847–852.

Panya, A., Laguerre, M., Bayrasy, C., Lecomte, J., Villeneuve, P., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2012). An investigation of the versatile antioxidant mechanisms of action of rosmarinate alkyl esters in oil-in-water emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(10), 2692–2700.

Osborn, H. T., & Akoh, C. C. (2004). Effect of emulsifier type, droplet size, and oil concentration on lipid oxidation in structured lipid-based oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 84(3), 451–456.

Richards, M. P., Chaiyasit, W., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2002). Ability of surfactant micelles to alter the partitioning of phenolic antioxidants in oil-in-water emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(5), 1254–1259.

Roedig-Penman, A., & Gordon, M. H. (1998). Antioxidant properties of myricetin and quercetin in oil and emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(2), 169–180.

Ružić, I., Škerget, M., & Knez, Ž. (2010). Potential of phenolic antioxidants. *Acta Chimica Slovenica*, 57(2).

Saether, O., Sjoblom, J., & Dukhin, S. S. (2004). Droplet flocculation and coalescence in dilute oil-in-water emulsions. *Food emulsions*, 4.

Silvestre, M. P. C., Chaiyasit, W., Brannan, R. G., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2000). Ability of surfactant headgroup size to alter lipid and antioxidant oxidation in oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2057–2061.

Sørensen, A. D. M., Villeneuve, P., & Jacobsen, C. (2017). Alkyl caffeates as antioxidants in O/W emulsions: Impact of emulsifier type and endogenous tocopherols. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(6), 1600276.

Terpinc, P., & Abramovič, H. (2010). A kinetic approach for evaluation of the antioxidant activity of selected phenolic acids. *Food Chemistry*, 121(2), 366–371.

van Aken, G. A. (2004). Coalescence mechanisms in protein-stabilized emulsions. *Food emulsions*, 299, 325.

Walstra, P. (1983). Formation of emulsions. *Encyclopedia of emulsion technology*, 58–127.

Yoshida, H. (1993). Influence of fatty acids of different unsaturation in the oxidation of purified vegetable oils during microwave irradiation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62(1), 41–47.

Zhou, L., & Elias, R. J. (2013). Antioxidant and pro-oxidant activity of (–)-epigallocatechin-3-gallate in food emulsions: Influence of pH and phenolic concentration. *Food chemistry*, 138(2-3), 1503–1509.

Zhu, M., Han, S., & Fink, A. L. (2013). Oxidized quercetin inhibits α -synuclein fibrillization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(4), 2872–2881.

Δημάκου Χ. Π. (2010), Διδακτορική διατριβή: Μελέτη της επίδρασης ενδογενών και εξωγενών παραμέτρων στην οξείδωση λιπαρών σε γαλακτώματα, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα.

Κεφάλαιο 4ο : Ενεργός συσκευασία

4.1 Ορισμός ενεργού συσκευασίας

Οι παραδοσιακές συσκευασίες τροφίμων προορίζονται για τη μηχανική υποστήριξη των προϊόντων, καθώς και για την προστασία των τροφίμων από εξωτερικούς παράγοντες, όπως τους μικροοργανισμούς, το οξυγόνο, το φως, τις οσμές, κ.ά. Με αυτόν τον τρόπο, εξασφαλίζουν την ευκολία στο χειρισμό του τροφίμου και τη διατήρησή του για ένα χρονικό διάστημα. Νέες τεχνολογίες συσκευασίας αναπτύσσονται λόγω της απαίτησης των καταναλωτών και των βιομηχανιών για παρατεταμένη διάρκεια ζωής και ελεγχόμενη ποιότητα των προϊόντων. Κατά τις τελευταίες δεκαετίες, μία από τις πιο καινοτόμες εξελίξεις αποτελεί η ενεργός συσκευασία. Η λειτουργία της βασίζεται στη σκόπιμη αλληλεπίδρασή της με το τρόφιμο ή το περιβάλλον του τροφίμου (Dainelli et al., 2008). Συγκεκριμένα, αφορά στην ενσωμάτωση ορισμένων συστατικών σε συστήματα συσκευασίας, τα οποία απελευθερώνουν ή απορροφούν ουσίες από ή μέσα στο συσκευασμένο τρόφιμο ή το περιβάλλον του, έτσι ώστε να επιμηκυνθεί η διάρκεια ζωής του τροφίμου και να διατηρηθεί η ποιότητα, η ασφάλεια και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του (Realini & Marcos, 2014) ((Κανονισμός CE) αριθμ. 450/2009 (29/05/2009)).

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

4.2 Κατηγορίες ενεργού συσκευασίας

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

4.2.1 Δέσμευση οξυγόνου (Oxygen scavengers)

Η παρουσία οξυγόνου εντός της συσκευασίας ενός τροφίμου είναι ένας βασικός παράγοντας που περιορίζει τη διάρκεια ζωής του, καθώς είναι υπεύθυνο για διάφορα φαινόμενα υποβάθμισης, όπως οξείδωση των συστατικών του, πολλαπλασιασμό αερόβιων βακτηρίων και μυκήτων. Παρόλο που έχουν αναπτυχθεί αρκετές τεχνολογίες για την κατάλληλη συσκευασία των ευαίσθητων στο οξυγόνο τροφίμων (συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, συσκευασία κενού), οι τεχνικές αυτές δεν αφαιρούν πάντα εντελώς το οξυγόνο. Επιπλέον, το οξυγόνο που διαπερνά τη μεμβράνη της συσκευασίας, δεν είναι δυνατό να αφαιρεθεί με αυτές τις μεθόδους. Με τη χρήση ενός δεσμευτή οξυγόνου, ο οποίος απορροφά την εναπομείνουσα ποσότητα οξυγόνου μετά τη συσκευασία, οι αλλαγές στην ποιότητα των τροφίμων μπορούν να ελαχιστοποιηθούν (Vermeiren et al., 1999). Οι δεσμευτές οξυγόνου αναφέρεται ότι είναι ικανοί να μειώσουν την ποσότητα του οξυγόνου που έχει παραμείνει στη συσκευασία σε λιγότερο από 0.01% (Realini & Marcos, 2014). Μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνοι τους ή συχνότερα σε συνδυασμό με τις τεχνικές απομάκρυνσης του οξυγόνου. Έτσι, συνηθίζεται η απομάκρυνση του μεγαλύτερου μέρους του ατμοσφαιρικού οξυγόνου με μία μέθοδο όπως η MAP (συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα) και στη συνέχεια

η χρήση ενός σχετικά μικρού και φθηνού δεσμευτή, ο οποίος θα απομακρύνει το εναπομείναν οξυγόνο στο εσωτερικό της συσκευασίας. Οι υπάρχουσες τεχνολογίες βασίζονται κυρίως στην οξείδωση σιδήρου, ασκορβικού οξέος, φωτοευαίσθητων χρωστικών, ενζυμικά καταλυόμενων οξειδώσεων (π.χ. γλυκόζης, αλκοόλης) και σε ακόρεστα λιπαρά οξέα (π.χ. ελαϊκό ή λινολενικό οξύ) ή ακινητοποιημένη ζύμη σε ένα στερεό υλικό (Realini & Marcos, 2014; Vermeiren et al., 1999).

Τα συστήματα παγίδευσης οξυγόνου εφαρμόζονται σε διάφορα τρόφιμα. Η χρήση τους σε προϊόντα κρέατος είναι ήδη εμπορικά διαθέσιμη (Realini & Marcos, 2014). Τα πρώτα συστήματα που αναπτύχθηκαν, αφορούσαν στον εγκλεισμό ενός δεσμευτή οξυγόνου σε σακουλάκι, το οποίο τοποθετούνταν εντός της συσκευασίας. Η τεχνολογία αυτή έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλά τρόφιμα, όπως σε φρέσκα και προ-μαγειρεμένα ζυμαρικά, προϊόντα κρέατος, προϊόντα αρτοποιίας (π.χ. ψωμί, γλυκά), τυριά, καφέ, ξηρούς καρπούς και chips πατάτας (Vermeiren et al., 1999). Η εξέλιξη των συστημάτων παγίδευσης οξυγόνου οδήγησε στη μορφή των ετικετών δέσμευσης οξυγόνου, οι οποίες είναι σε θέση να απορροφούν υψηλά επίπεδα οξυγόνου. Η τάση στις εμπορικές εφαρμογές έχει στραφεί στην ενσωμάτωση της ουσίας στο ίδιο το υλικό συσκευασίας, ώστε να αποφευχθεί η αρνητική αντίληψη του καταναλωτή που προκαλείται από την παρουσία ενός μη βρώσιμου συστατικού στο τρόφιμο, εξαλείφοντας τον κίνδυνο θραύσης της σακούλας και κατάποσης του περιεχόμενου της. Συστατικά χαμηλού μοριακού βάρους διαλύονται ή διασπείρονται στο υλικό της συσκευασίας ή το υλικό κατασκευάζεται από ένα δεσμευτικό πολυμερές (Vermeiren et al., 1999). Η παρασκευή ενός πολυμερούς, πολυστρωματικού, εύκαμπτου φιλμ, που ενεργοποιείται με ιοντίζουσα ακτινοβολία, σύμφωνα με τον κατασκευαστή, μειώνει τα επίπεδα του οξυγόνου στον υπερκείμενο χώρο από 0.4 έως 0.1%, περίπου σε μία εβδομάδα (Realini & Marcos, 2014). Σύστημα το οποίο περιλαμβάνει οξείδωση κοβαλτίου από ένα πολυμερές νάϊλον αναμειγμένο σε υλικό PET, βρίσκει εφαρμογή για τη συσκευασία διαφόρων ροφημάτων, όπως κρασιού ή μπύρας, και για σάλτσες (Vermeiren et al., 1999). Διάφορα υλικά μπορούν να αποτελέσουν βάση για την ενσωμάτωση παγιδευτών οξυγόνου, π.χ. πολυπροπυλένιο (PP), πολυαιθυλένιο (PE), τερεφθαλικό πολυαιθυλένιο (PET), συμπολυμερές αιθυλενίου και οξικού βινυλίου (EVA), ενώ, πιο πρόσφατα,

χρησιμοποιούνται υλικά που είναι κατάλληλα για εφαρμογές υψηλής θερμοκρασίας (Realini & Marcos, 2014).

Οι δεσμευτές οξυγόνου πρέπει να πληρούν ορισμένες προδιαγραφές (Ahvenainen, 2003):

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

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

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

Από την άλλη μεριά, σε ορισμένες περιπτώσεις, υψηλά επίπεδα διοξειδίου του άνθρακα (10-80%) είναι επιθυμητά για τρόφιμα, όπως προϊόντα κρέατος, ιχθύες και τυριά, καθώς αναστέλλουν την επιφανειακή ανάπτυξη μικροβίων και παρατείνουν έτσι τη διάρκεια ζωής τους (Vermeiren et al., 1999). Για αυτό το λόγο, υπάρχουν εφαρμογές ενεργού συσκευασίας που βασίζονται στην απελευθέρωση του διοξειδίου του άνθρακα.

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

4.2.3 Δέσμευση αιθυλενίου (Ethylene scavengers)

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

Πολλές εφαρμογές της απορρόφησης του αιθυλενίου στηρίζονται στο υπερμαγγανικό κάλιο, το οποίο οξειδώνει το αιθυλένιο σε οξικό άλας και αιθανόλη. Με αυτή τη διαδικασία, παρατηρείται αλλαγή χρώματος από μωβ σε καφέ, υποδεικνύοντας την εναπομείνασα χωρητικότητα του δεσμευτή. Λόγω του χρώματος του υπερμαγγανικού καλίου και της τοξικότητάς του, δεν επιτρέπεται η ενσωμάτωσή του στο

υλικό που έρχεται σε επαφή με το τρόφιμο, αλλά παρέχεται μόνο εγκλεισμένο σε φακελάκι. Τυπικά, αυτά τα προϊόντα περιέχουν 4-6% υπερμαγγανικό κάλιο σε ένα αδρανές υπόστρωμα, όπως περλίτη, αλουμίνα, silica gel ή ενεργοποιημένο άνθρακα. Το υπόστρωμα προσροφά το αιθυλένιο και το υπερμαγγανικό το οξειδώνει. Η τεχνολογία υποστρώματος-υπερμαγγανικού καλίου έχει μεταφερθεί σε ψυγεία των καταναλωτών. Ένας άλλος τύπος παγίδευσης αιθυλενίου βασίζεται στην προσρόφηση και επακόλουθη διάσπασή του επί ενεργού άνθρακα. Η μέθοδος αυτή αναφέρεται ότι μείωσε το ποσοστό μαλακώματος σε ελαφρώς επεξεργασμένα ακτινίδια και μπανάνες, καθώς και ελαχιστοποίησε την απώλεια χλωροφύλλης σε φύλλα από σπανάκι (Vermeiren et al., 1999). Η ενσωμάτωση λεπτών διεσπαρμένων ορυκτών, όπως ζεόλιθοι και άργιλοι, σε μεμβράνες συσκευασίας φαίνεται να έχει θετικά αποτελέσματα στην προσρόφηση αιθυλενίου. Οι περισσότερες από αυτές τις μεμβράνες, ωστόσο, είναι αδιαφανείς και δεν μπορούν να απορροφήσουν επαρκώς το αιθυλένιο. Τα συστατικά αυτά είναι επίσης πιθανό, να μεταβάλλουν τη διαπερατότητα των μεμβρανών, με αποτέλεσμα τη γρήγορη διάχυση αιθυλενίου και διοξειδίου του άνθρακα και την εύκολη εισαγωγή οξυγόνου. Επιπροσθέτως, η ικανότητα προσρόφησης των ανόργανων συστατικών συχνά χάνεται, κατά την ενσωμάτωσή τους σε μία μήτρα πολυμερούς (Vermeiren et al., 1999).

4.2.4 Απορρόφηση υγρασίας (Moisture absorbers)

Τα τρόφιμα που είναι ευαίσθητα στην υγρασία, πρέπει να συσκευάζονται σε ένα υψηλού φραγμού υγρασίας υλικό. Ωστόσο, μία ορισμένη ποσότητά της μπορεί να παγιδευτεί μέσα στη συσκευασία ή να αναπτυχθεί κατά τη διάρκεια της διανομής του προϊόντος. Μη απομάκρυνσή της σημαίνει απορρόφησή της από το τρόφιμο ή σχηματισμό συμπυκνωμάτων, με αποτέλεσμα τη μικροβιακή αλλοίωση και τη μη αποδοχή από τον καταναλωτή. Υψηλά επίπεδα υγρασίας προκαλούν σημαντικές αλλοιώσεις σε διάφορα τρόφιμα, όπως μαλάκωμα ξηρών, τραγανών προϊόντων (π.χ. μπισκότα, κράκερ), συσσωμάτωση σκόνης γάλακτος και στιγμιαίου καφέ ή ύγρανση υγροσκοπικών προϊόντων (γλυκά, καραμέλες). Από την άλλη πλευρά, η εκτεταμένη εξάτμιση του νερού μέσα στο υλικό συσκευασίας μπορεί να οδηγήσει σε ξήρανση του τροφίμου ή και να ευνοήσει την υδρόλυση των λιπιδίων. Για να αποφευχθούν τα

φαινόμενα αυτά και να καθοριστεί η επιθυμητή σχετική υγρασία, έχουν αναπτυχθεί εφαρμογές για ουσίες που απορροφούν την υγρασία. Συγκεκριμένα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια ταινία με την κατάλληλη διαπερατότητα υδρατμών, μία ξηραντική μεμβράνη ή ένα φακελάκι που ελέγχει την υγρασία. Η ενεργός συσκευασία για απορρόφηση της υγρασίας εφαρμόζεται σε ένα ευρύ φάσμα τροφίμων, για παράδειγμα σε τυριά, αλλαντικά, τσιπς, καρύδια, ποπ κορν, καραμέλες και μπαχαρικά. Αναφέρεται ότι η διάρκεια ζωής συσκευασμένων τοματών στους 20 °C, παρατάθηκε από 5 σε 15-17 ημέρες, με τη χρήση ενός θύλακα που περιείχε χλωριούχο νάτριο (Vermeiren et al., 1999). Τα απορροφητικά φύλλα που χρησιμοποιούνται συνίστανται κυρίως από ένα πολυμερές υπεραπορροφητικό ανάμεσα σε δύο στρώματα. Τα προτιμώμενα πολυμερή για την απορρόφηση της υγρασίας είναι πολυακρυλικά άλατα και συμπολυμερή αμύλου. Μία άλλη προσέγγιση για τον έλεγχο της υγρασίας είναι η απορρόφησή της στην αέρια φάση. Αυτό επιτυγχάνεται με την τοποθέτηση υγραντών (π.χ. προπυλενογλυκόλη) μεταξύ δύο στρωμάτων μίας πλαστικής μεμβράνης, που είναι εξαιρετικά διαπερατή από υδρατμούς ή με τη χρήση απορροφητικών θυλάκων. Μερικά από τα πιο συχνά ξηραντικά που περιέχονται στα σακουλάκια είναι το silica gel, το οξείδιο του ασβεστίου και φυσικοί άργιλοι (π.χ. μοντοριλλονίτης) (Vermeiren et al., 1999).

4.2.5 Αντιοξειδωτική συσκευασία (Antioxidant packaging)

Μία εναλλακτική λύση στην παγίδευση οξυγόνου, ώστε να αποτραπεί η οξείδωση των τροφίμων με χρήση ενεργού συσκευασίας, αποτελεί η ενσωμάτωση αντιοξειδωτικών ουσιών στο υλικό συσκευασίας. Η ενεργός συσκευασία προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα έναντι της άμεσης προσθήκης των αντιοξειδωτικών στα τρόφιμα (Realini & Marcos, 2014):

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

Αντιοξειδωτικοί παράγοντες μπορούν να εφαρμοστούν σε συστήματα συσκευασίας σε διάφορες μορφές (θύλακες, ετικέτες, επικαλύψεις στην επιφάνεια του υλικού

συσκευασίας, ενσωματωμένα σε μήτρα πολυμερούς, πολυστρωματικές μεμβράνες) (Realini & Marcos, 2014). Μπορούν, λοιπόν, να διακριθούν δύο μέθοδοι παραγωγής αντιοξειδωτικής συσκευασίας (Gómez-Estaca et al., 2014):

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

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

Η κατάλληλη επιλογή της αντιοξειδωτικής ένωσης, η οποία θα ενσωματωθεί στο υλικό συσκευασίας είναι ιδιαίτερης σημασίας. Η αντιοξειδωτική ουσία και το υλικό συσκευασίας πρέπει να είναι συμβατά, προκειμένου να επιτευχθεί μία ομοιόμορφη κατανομή του αντιοξειδωτικού και να ευνοείται η απελευθέρωση των συντελεστών του στο τρόφιμο ή στην υπερκείμενη φάση. Ως εκ τούτου, ο τύπος του αντιοξειδωτικού

πρέπει να επιλέγεται σε συνάρτηση με το είδος του τροφίμου. Για παράδειγμα, τα άπολα αντιοξειδωτικά φαίνεται να είναι πιο κατάλληλα για τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια. Ωστόσο, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το φαινόμενο που καλείται ‘πολικό παράδοξο’ (polar paradox). Σύμφωνα με αυτό, οι υδρόφιλοι δεσμευτές ελευθέρων ριζών (free radical scavengers, FRS) έχουν φανεί πιο αποτελεσματικοί σε σύγκριση με τους αντίστοιχους υδρόφοβους σε έλαια (bulk oils), ενώ οι τελευταίοι είχαν καλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε γαλακτώματα ελαίων σε νερό. Η εξήγηση του φαινομένου αυτού αποδόθηκε στην ικανότητα των πολικών FRS να συγκεντρώνονται στην διεπιφάνεια ελαίου-αέρα των ελαίων, όπου η οξείδωση είναι πιο διαδεδομένη, και στην ικανότητα των μη-πολικών FRS να συγκεντρώνονται στη λιπιδική φάση των γαλακτωμάτων, ενώ τα πολικά κατανέμονται τόσο στη λιπαρή όσο και στην υδατική φάση (Gómez-Estaca et al., 2014).

4.2.6 Αντιμικροβιακή συσκευασία (Antimicrobial packaging)

Η αντιμικροβιακή συσκευασία αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για τον έλεγχο της ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Για τον περιορισμό των ανεπιθύμητων μικροοργανισμών στα τρόφιμα, αντιμικροβιακές ουσίες μπορούν να ενσωματωθούν ή να επιστρωθούν σε υλικά συσκευασίας. Η αρχή των εφαρμογών αυτών βασίζεται στην απελευθέρωση αντιμικροβιακών ουσιών, μερικές από τις οποίες, ωστόσο, μπορούν να θέσουν σε κίνδυνο την ασφάλεια των καταναλωτών, αν η απελευθέρωσή τους δεν ελέγχεται αυστηρά από ορισμένους μηχανισμούς στο υλικό συσκευασίας. Οι αντιμικροβιακές συσκευασίες εφαρμόζονται σε φρούτα, λαχανικά, τυριά, ψωμί, ιχθύες και προϊόντα κρέατος (Vermeiren et al., 1999). Οι αντιμικροβιακές ουσίες πρέπει να είναι σε άμεση επαφή με την επιφάνεια του τροφίμου εάν είναι μη-πτητικές, και μπορούν είτε να ακινητοποιούνται στο υλικό είτε να μεταναστεύουν στο προϊόν (Realini & Marcos, 2014).

Παρά τη σημαντική έρευνα που έχει γίνει μέχρι σήμερα, η αντιμικροβιακή συσκευασία έχει περιορισμένη εμπορική επιτυχία, εκτός από εφαρμογές που βασίζονται στον άργυρο και είναι κοινές σε χώρες, όπως η Ιαπωνία και οι Η.Π.Α., ενώ αναμένεται να αυξηθεί η χρήση τους στην Ευρώπη (Realini & Marcos, 2014). Στην Ιαπωνία, η

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

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

Η απορρόφηση των οσμών των τροφίμων από πολυμερή υλικά συσκευασίας, μπορεί να οδηγήσει στην απώλεια της έντασης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των τροφίμων. Γενικά, η απορρόφηση οσμών/γεύσεων, ενώ φαίνεται να είναι επιζήμια για την ποιότητα των τροφίμων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί με θετικό τρόπο για την απορρόφηση επιλεκτικών ανεπιθύμητων οσμών. Ενεργός συσκευασία έχει περιγραφεί για τη μείωση της πικράδας σε χυμούς γκρέιπφρουτ (Vermeiren et al., 1999). Τα αίτια της πικρής γεύσης οφείλονται στην παρουσία των ουσιών ναρινγίνης και λιμονίνης. Μία ακόμη ενεργός συσκευασία που έχει αναπτυχθεί για την απορρόφηση των δύο αυτών ουσιών, βασίζεται στη χρήση ενός λεπτού στρώματος οξικής κυτταρίνης (cellulose acetate, CA) στο εσωτερικό της συσκευασίας. Δύο άλλοι τύποι ουσιών που θα μπορούσαν να απομακρυνθούν μέσω της ενεργού συσκευασίας είναι οι αμίνες και οι αλδεΐδες. Μembrάνη που περιέχει άλας δισθενούς σιδήρου και ένα οργανικό οξύ (π.χ. κιτρικό ή ασκορβικό οξύ) αναφέρεται πως οξειδώνει αμίνες και άλλες οσμηρές ουσίες (Vermeiren et al., 1999).

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

4.2.8 Μελλοντικές τάσεις και ζητήματα ασφαλείας για την ενεργό συσκευασία

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

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

Η κύρια ανησυχία των βιομηχανιών, σχετικά με την εισαγωγή ενεργών συστατικών στη συσκευασία τροφίμων, φαίνεται να εντοπίζεται στη μη αποδοχή αυτών από τους καταναλωτές, καθώς θεωρούν τις πρόσθετες ουσίες βλαβερές. Κατά γενικό κανόνα, η απάντηση στα ζητήματα ασφαλείας σε σχέση με την ενεργό συσκευασία θα πρέπει να βασίζεται σε τρεις κύριους άξονες (Dainelli et al., 2008):

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

4.3 Εδώδιμες μεμβράνες - Επικαλυπτικά

4.3.1 Εισαγωγή

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

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

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

εξακολουθεί να είναι ένας από τους πιο οικονομικά αποδοτικούς τρόπους για τη διατήρηση της ποιότητας και της ασφάλειας τους (Embuscado & Huber, 2009).

Οι εδώδιμες μεμβράνες έχουν τύχει ιδιαίτερης προσοχής τα τελευταία χρόνια, λόγω των πλεονεκτημάτων τους έναντι των συνθετικών. Κύριο χαρακτηριστικό τους αποτελεί το γεγονός ότι μπορούν να καταναλωθούν μαζί με το προϊόν που επικαλύπτουν. Ακόμα και αν δεν καταναλώνονται, εφόσον δε χρειάζεται επιπλέον συσκευασία για το τρόφιμο, συνεισφέρουν στη μείωση της ρύπανσης του περιβάλλοντος. Ωστόσο, αν και οι βασικές λειτουργίες τους είναι παρόμοιες με εκείνες των συμβατικών συσκευασιών, αναφέρεται πως η χρήση τους απαιτεί και μια εξωτερική συσκευασία για λόγους υγιεινής (Rodrigues & Fernandes, 2012). Τα επικαλυπτικά παράγονται αποκλειστικά από ανανεώσιμα εδώδιμα συστατικά και επιπλέον εκτιμάται ότι αποδομούνται πιο εύκολα από τα πολυμερή υλικά. Επιπροσθέτως, είναι ικανά να βελτιώνουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες των τροφίμων αλλά και να λειτουργήσουν ως φορείς αντιμικροβιακών και αντιοξειδωτικών ουσιών (Bourtoom, 2008).

4.3.2 Χρήση εδώδιμων μεμβρανών

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

Τα επικαλυπτικά εφαρμόζονται στα τρόφιμα με διάφορους τρόπους:

1. βυθίζοντας το προϊόν ή απλώνοντας σε αυτό ή ψεκάζοντάς το με διάλυμα που περιέχει τα συστατικά της επικάλυψης, έτσι ώστε να ενσωματωθεί η μεμβράνη απευθείας στην επιφάνεια του τροφίμου ή

2. δημιουργώντας μία ανεξάρτητη μεμβράνη από το διάλυμα ή μέσω θερμοκόλλησης για κάλυψη της επιφάνειας του τροφίμου.

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

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

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

- Μη παρουσία τοξικών, αλλεργικών και μη-εύπεπτων συστατικών.
- Παροχή δομικής σταθερότητας για αποφυγή της φθοράς της κατά τη μεταφορά, το χειρισμό και την έκθεση του τροφίμου.
- Καλή προσκόλληση στην επιφάνεια του προϊόντος παρέχοντας ομοιόμορφη κάλυψη.
- Έλεγχος της μετανάστευση του νερού τόσο εντός όσο και εκτός του προστατευμένου τροφίμου για διατήρηση της επιθυμητής περιεκτικότητας σε υγρασία.
- Παροχή ημι-διαπερατότητας με σκοπό να διατηρείται η εσωτερική ισορροπία των αερίων.
- Παρεμπόδιση της απώλειας συστατικών που σταθεροποιούν το άρωμα, τη γεύση, τα θρεπτικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, που είναι απαραίτητα για την αποδοχή του προϊόντος από τον καταναλωτή.
- Παροχή κατάλληλης επιφάνειας για προστασία του τροφίμου από ρύπανση, μόλυνση, πολλαπλασιασμό μικροβίων και άλλων ειδών φθοράς.

- Διατήρηση ή βελτίωση των αισθητικών και οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (π.χ. εμφάνιση, γεύση) του προϊόντος.
- Δυνατότητα ενσωμάτωσης αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών παραγόντων, ώστε να περιοριστεί η παρουσία τους μόνο στην επιφάνεια του τροφίμου και να ελαχιστοποιηθεί το κόστος και η παρέμβαση στη γεύση.
- Εύκολη και οικονομική παρασκευή.

4.3.3 Συστατικά εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων

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

Στις περισσότερες περιπτώσεις, εκτός από το κύριο υλικό της μεμβράνης, προστίθεται στο επικαλυπτικό διάλυμα και κάποιος πλαστικοποιητής, όπως γλυκερόλη, μαννιτόλη, σορβιτόλη και σακχαρόζη, για να αποφευχθεί η θραύση της μεμβράνης (Embuscado & Huber, 2009). Επιπλέον, για καλύτερη ομοιομορφία και καλύτερη προσκολλησιμότητα της επικάλυψης ενσωματώνεται στο διάλυμα κάποιο επιφανειοδραστικό συστατικό, όπως γαλακτωματοποιητής, το οποίο μειώνει την επιφανειακή τάση του διαλύματος, μειώνοντας έτσι τη διαφορά μεταξύ της επιφανειακής τάσης του προϊόντος και του επικαλυπτικού (Rodrigues & Fernandes, 2012). Με αυτόν τον τρόπο, μειώνονται επίσης και οι απώλειες της υγρασίας (Embuscado & Huber, 2009). Το Tween 20 είναι ένας γαλακτωματοποιητής που χρησιμοποιείται συχνά. Για παράδειγμα, έχει χρησιμοποιηθεί σε εδώδιμες μεμβράνες αμύλου (Rodríguez et al., 2006), καθώς και σε μεμβράνες χιτοζάνης (Ziani et al., 2008), με πλαστικοποιητή τη γλυκερόλη. Η καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη (CMC) αποτελεί ένα επίσης διαδεδομένο συστατικό της κατηγορίας των επιφανειοδραστικών ουσιών.

Στον Πίνακα 4.1 παρουσιάζονται οι κύριες ενώσεις που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων. Στη συνέχεια παρατίθενται πληροφορίες για τις τρεις κατηγορίες κύριων υλικών, στα οποία βασίζεται η παρασκευή των εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων, καθώς και μερικές από τις ευρέως χρησιμοποιούμενες ουσίες της κάθε κατηγορίας.

Πίνακας 4.1 Κύριες ενώσεις που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων.

Κατηγορία	Ένωση	Παραδείγματα	Παραπομπές
Υδροκολλοειδή	Πολυσακχαρίτες	Κυτταρίνη και παράγωγά της, γαλακτομαννάνες, χιτίνη-χιτοζάνη, πηκτίνες, αλγινικά, καραγεννάνη, άμυλο	Dashipour et al. (2014); Cerqueira et al. (2010); Martins et al. (2012); Pérez Espitia et al. (2014); Tavassoli-Kafrani et al. (2016); Reis Batista et al. (2015).
	Πρωτεΐνες	Ζελατίνη (φυτικής και ζωϊκής προέλευσης, ζεΐνη καλαμποκιού, γλουτένη σιταριού, καζεΐνη, πρωτεΐνη σόγιας	Matrucci et al. (2015); Oussalah et al. (2004); Arcan & Yemenicioğlu (2011).
Λιπίδια	Κηροί και παραφίνες	Παραφίνη, κεριά μέλισσας	Zamudio et al. (2017); Singh et al. (2016).
	Γλυκερίδια	Ακετυλιωμένα μονογλυκερίδια	Bourtoom, 2008.
	Ρητίνες		Bourtoom, 2008.
Σύνθετα	Συνδυασμός των παραπάνω ενώσεων	Αλγινικά και πηκτίνη, άμυλο και καζεϊνικό νάτριο, καζεϊνικό ασβέστιο και πρωτεΐνη σιταριού με CMC, ζελατίνη και χιτοζάνη	Altenhofen et al. (2009); Galus & Lenard (2013); Jiménez et al. (2013); Oussalah et al (2004); Gómez-Estaca et al. (2007).

4.3.3.1 Εδώδιμες μεμβράνες από πρωτεΐνες

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

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

Καζεΐνη

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

Η καζεΐνη αναφέρεται πως έχει καλύτερες ιδιότητες γαλακτωματοποίησης από τις πρωτεΐνες ορού γάλακτος, γεγονός που αποδίδεται στην υψηλότερη περιεκτικότητά της στο αμινοξύ προλίνη. Οι καζεΐνες είναι διαλυτές και ικανές να σχηματίζουν μεμβράνες

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

Ζελατίνη

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

Ζεΐνη καλαμποκιού

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

Γλουτένη σιταριού

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

Πρωτεΐνη σόγιας

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

4.3.3.2 Εδώδιμες μεμβράνες από πολυσακχαρίτες

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

Κυτταρίνη και παράγωγά της

Η κυτταρίνη και τα παράγωγά της (όπως αιθέρες και εστέρες) μαζί με το άμυλο είναι οι σημαντικότερες πρώτες ύλες για την παρασκευή των εδώδιμων μεμβρανών. Η κυτταρίνη αποτελεί το πιο άφθονο πολυμερές στη γη. Έχει μερικώς κρυσταλλική δομή και είναι αδιάλυτη στο νερό. Ωστόσο, οι αιθέρες και εστέρες της κυτταρίνης,

συμπεριλαμβανομένης της μεθυλοκυτταρίνης (MC), της υδροξυπροπυλοκυτταρίνης (HPC), της υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης (HPMC) και της καρβοξυμεθυλοκυτταρίνης (CMC), είναι υδατοδιαλυτοί και παρουσιάζουν καλές ιδιότητες για το σχηματισμό επικαλυπτικών (Rodrigues & Fernandes, 2012). Οι μεμβράνες από MC, HPC, HPMC και CMC είναι γενικά άοσμες, άγευστες, διαφανείς, εύκαμπτες, μέτριας αντοχής, διαθέτουν ανθεκτικότητα σε έλαια και λίπη και μειώνουν την υγρασία και τη διαπέραση οξυγόνου (Bourtoom, 2008).

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

Το CMC χρησιμοποιείται σε πολλές εφαρμογές τροφίμων κυρίως για το ιξώδες του, τις ιδιότητες δέσμευσης νερού και τη διαύγεια των διαλυμάτων που προσφέρει. Υπάρχουν διάφορες διαθέσιμες ποιότητες CMC ως προς το ιξώδες του, με τιμές που κυμαίνονται από 50 έως 13.000 cP σε νερό. Στις εφαρμογές των μεμβρανών προτιμάται CMC χαμηλού ιξώδους (Embuscado & Huber, 2009). Το CMC εμφανίζει θερμική ζελατινοποίηση και διαμορφώνει εξαιρετικές μεμβράνες, εξαιτίας της πολυμερικής δομής του και των υψηλού μοριακού βάρους αλυσίδων του (Ghanbarzadeh et al., 2010). Αποτελεί μέσο δέσμευσης του νερού και της υγρασίας και επιπλέον είναι μη τοξικό και μη αλλεργικό (Tongdeesoontorn et al., 2011). Τα αποτελέσματα της έρευνας των Garmakhany et al. (2014) έδειξαν πως η επικάλυψη chips πατάτας με CMC συγκέντρωσης 0.5% ή και μίγματος CMC-πηκτίνης (0.5 και 1%), μειώνει τις απώλειες

υγρασίας των προϊόντων, κατά το τηγάνισμα, και βοηθά στη χαμηλότερη απορρόφηση ελαίου. Σύμφωνα με τους Singthong και Thongkaew (2009), επικαλυπτόμενα τηγανητά chips μπανάνας με 1 g CMC/100 mL H₂O και ζεματισμένα σε 0.25 g CaCl₂/100 mL H₂O, απορρόφησαν πολύ λιγότερο έλαιο (23 g/100 g δείγματος), σε σύγκριση με μη επικαλυπτόμενα (40 g/100 g δείγματος), κατά το τηγάνισμά τους στους 150 °C σε φοινικέλαιο. Ίδια δράση παρατηρήθηκε και από chips επεξεργασμένα με 0.5 g CaCl₂/100 mL H₂O και 1 g πηκτίνης/100 mL, ενώ αλγινική μεμβράνη που παρασκευάστηκε υπό τις ίδιες συνθήκες με την πηκτίνη είχε υψηλότερα επίπεδα απορρόφησης (38 g/100 g δείγματος).

Χιτίνη-Χιτοζάνη

Η χιτίνη αποτελεί το δεύτερο, μετά την κυτταρίνη, πιο άφθονο βιοπολυμερές που συναντάται στη γη. Βρίσκεται κυρίως στον εξωτερικό σκελετό των μαλακοστράκων, στο κυτταρικό τοίχωμα των μυκήτων και σε άλλα βιολογικά υλικά. Η χιτοζάνη προέρχεται από την χιτίνη με αποακετυλίωση σε αλκαλικό περιβάλλον. Οι χιτοζάνες χαρακτηρίζονται από το βαθμό της αποακετυλίωσης και το μέσο μοριακό βάρος και η σημασία τους έγκειται στις αντιμικροβιακές ιδιότητές τους σε συνδυασμό με την κατιονικότητα και τις ιδιότητες σχηματισμού μεμβρανών. Η χιτοζάνη μπορεί να σχηματίσει ημιδιαπερατές μεμβράνες, οι οποίες έχουν την ικανότητα να τροποποιούν την εσωτερική ατμόσφαιρα, και με αυτόν τον τρόπο να καθυστερούν την ωρίμανση σε φρούτα και λαχανικά (Bourtoom, 2008). Επιπλέον, έχει αναφερθεί πως μειώνουν τη μικροβιακή ανάπτυξη σε επιφάνειες φρούτων (Rodrigues & Fernandes, 2012). Τα επικαλυπτικά από υδατικά διαλύματα χιτοζάνης είναι εύκαμπτα, σκληρά και είναι καλοί παρεμποδιστές του οξυγόνου. Υδατικό διάλυμα χιτοζάνης (1%) χρησιμοποιήθηκε για την επικάλυψη ελιών από τους Moutsatsou et al. (2011). Η επικάλυψη είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της απώλειας βάρους, της διατήρησης του χρώματος και της αύξηση της διάρκειας ζωής του προϊόντος. Υδατικό διάλυμα χιτοζάνης (2%), σύμφωνα με τους Fan et al. (2009), είχε θετική επίδραση στην ποιότητα και στη διάρκεια ζωής κατεψυγμένου ιχθύος (ασημοκυπρίνου), σύμφωνα με μικροβιολογικούς (TVC), χημικούς (pH, TBA, TVB-N, K-value) και οργανοληπτικούς προσδιορισμούς. Η διαπερατότητα του διοξειδίου του άνθρακα θα μπορούσε να βελτιωθεί με μεθυλίωση του πολυμερούς. Έχει

παρατηρηθεί ότι κατά την αποθήκευσή τους, οι μεμβράνες από χιτοζάνη ήταν σχετικά σταθερές, ενώ οι μηχανικές, καθώς και οι ιδιότητες φραγής τους μεταβλήθηκαν μόνο ελαφρώς. Συνήθως χρησιμοποιούνται ως αντιμικροβιακή επίστρωση σε φρούτα και λαχανικά, όπως φράουλες, αγγούρια, πιπεριές και ως φράγμα αερίων σε μήλα, αχλάδια, ροδάκινα και δαμάσκηνα (Bourtoom, 2008).

Καραγεννάνη

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

Άμυλο

Το άμυλο είναι ένα πολυμερές που αποτελείται από μονάδες ανυδρογλυκόζης. Δεν είναι ομοιόμορφο υλικό και τα περισσότερα άμυλα περιέχουν δύο τύπους πολυμερών γλυκόζης: ένα μόριο γραμμικής αλυσίδας που ονομάζεται αμυλάση και ένα διακλαδισμένο πολυμερές της γλυκόζης, την αμυλοπηκτίνη. Το άμυλο χρησιμοποιείται συχνά στις βιομηχανίες τροφίμων. Το χαμηλό του κόστος, η ικανότητά του να ανανεώνεται και οι καλές μηχανικές ιδιότητές του, του επιτρέπουν να χρησιμοποιείται συχνά για την παραγωγή βιοαποδομήσιμων μεμβρανών. Μία καλή πηγή αμύλου που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή επικαλυπτικών είναι το άμυλο αραβοσίτου, το οποίο περιέχει υψηλά ποσοστά αμυλόζης (Bourtoom, 2008). Σύμφωνα με τους Bravin et al. (2006), το άμυλο αραβοσίτου παρέτεινε τη διάρκεια ζωής κράκερ, σε συνθήκες σχετικής υγρασίας 65, 75 και 85%, ενώ αντίστοιχα αποτελέσματα αναφέρουν και για μεμβράνη MC. Η αμυλόζη έχει τη δυνατότητα να σχηματίζει συνεκτικές και

ισχυρές μεμβράνες (Rodrigues & Fernandes, 2012). Έρευνες έχουν δείξει πως μεμβράνες που παράγονται από άμυλο αραβοσίτου δεν είχαν ανιχνεύσιμη διαπερατότητα οξυγόνου σε επίπεδα σχετικής υγρασίας μικρότερα από 100%. Μάλιστα αυτό παρατηρήθηκε τόσο σε πλαστικοποιημένες μεμβράνες όσο και μη. Ανεξάρτητες μεμβράνες μπορούν να διαμορφωθούν από υδατικά διαλύματα ζελατοποιημένου αμύλου πλούσιου σε αμυλόζη με ξήρανσή τους (Bourtoom, 2008). Από την άλλη μεριά, μεμβράνες που βασίζονται στην αμυλοπηκτική εμφανίζουν εύθραυστη και μη συνεχή δομή (Rodrigues & Fernandes, 2012). Δύο μειονεκτήματα των εδώδιμων μεμβρανών από άμυλο, έχουν περιορίσει τη χρήση τους σε ελαφρώς επεξεργασμένα φρούτα. Πρώτον, χαρακτηρίζονται συνήθως από μικρή ελαστικότητα και επιπλέον, λόγω της υψηλής υδροφιλικότητάς του, οι ιδιότητες φραγμού μειώνονται με την αύξηση της σχετικής υγρασίας (Rodrigues & Fernandes, 2012).

4.3.3.3 Εδώδιμες μεμβράνες από λιπίδια

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

Κηροί

Οι κηροί είναι πιο ανθεκτικοί στη διάχυση του νερού από άλλα υλικά που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή εδώδιμων μεμβρανών, εξαιτίας της πολύ χαμηλής περιεκτικότητάς τους σε πολικές ομάδες και της υψηλής σύστασής τους σε μακράς αλυσίδας λιπαρές αλκοόλες και αλκάνια. Υπάρχει μια ποικιλία φυσικών κηρών που

προέρχονται από λαχανικά (π.χ. ζαχαροκάλαμο), ορυκτά (π.χ. παραφίνη) και ζώα (π.χ. κερύ μέλισσας), ενώ παράγονται και συνθετικοί κηροί (π.χ. από πολυαιθυλένιο) (Rodrigues & Fernandes, 2012). Οι κηροί χρησιμοποιούνται για να βελτιώσουν την εμφάνιση της επιφάνειας διαφόρων τροφίμων, όπως φρούτα, λαχανικά, τυριά, γλυκά, αλλά και ως παρεμποδιστές των αερίων και της υγρασίας. Αναφέρεται πως όταν εφαρμόζονται σε λεπτά στρώματα θεωρούνται βρώσιμα, ενώ αν ενσωματώνονται ως παχιά στρώματα, τότε πρέπει να αφαιρούνται πριν την κατανάλωση του τροφίμου (Bourtoom, 2008).

Γλυκερίδια

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

4.3.3.4 Σύνθετες επιστρώσεις

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

Πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί για τη χρήση των σύνθετων επιστρώσεων. Στις περισσότερες σύνθετες επιστρώσεις συνδυάζεται ένα υδρόφοβο συστατικό (συνήθως λιπίδιο) με μία υδρόφιλη μονάδα. Δεδομένου ότι οι πολυσακχαρίτες και οι πρωτεΐνες είναι λιγότερο διαπερατά στα αέρια σε σύγκριση με τα λιπίδια, η παρουσία τους σε μεμβράνες των τελευταίων είναι χρήσιμες, ώστε να επιβραδυνθεί η γήρανση των τροφίμων, ενώ τα λιπίδια μειώνουν τη ξήρανσή τους. Οι συνθετικές επιστρώσεις παράγονται είτε ως διπλές στιβάδες είτε ως σταθερά γαλακτώματα. Στην πρώτη περίπτωση, η μεμβράνη του λιπιδίου ενσωματώνεται πάνω από ένα άλλο στρώμα πολυσακχαρίτη ή πρωτεΐνης, ενώ στη περίπτωση του γαλακτώματος το λιπίδιο διασπείρεται και παγιδεύεται στην υποστηρικτική μονάδα του βιοπολυμερούς. Η προσθήκη λιπιδίου, μειώνει την αναλογία υδροφιλίας-υδροφοβίας των μεμβρανών, με αποτέλεσμα να περιορίζεται σε μεγαλύτερο βαθμό η διαπερατότητα των υδρατμών. Πολύ υψηλά επίπεδα συγκέντρωσης ορισμένων λιπιδίων μπορεί να σχηματίζουν μία εύθραυστη επικάλυψη και γι' αυτό πρέπει να εκτιμάται η βέλτιστη συγκέντρωσή τους (Rodrigues & Fernandes, 2012). Οι Bizymis et al. (2022) μελέτησαν την επίδραση της προσθήκης ναοκρυστάλλων κυτταρίνης και β-κυκλοδεξτρίνης σε μεμβράνες χιτοζάνης. Οι σύνθετες μεμβράνες παρουσίασαν βελτίωση στις περισσότερες ιδιότητές τους. Το ιξώδες των διαλυμάτων μειώθηκε έως και 50%, ενώ η επιφανειακή τάση μεταβλήθηκε ελάχιστα ακόμη και σε υψηλά επίπεδα προσθήκης ναοκρυστάλλων κυτταρίνης και β-κυκλοδεξτρίνης. Επιπλέον, μειώθηκε η διαπερατότητα του οξυγόνου και των υδρατμών και δημιουργήθηκαν πιο σταθερές δομές με βελτιωμένες μηχανικές ιδιότητες. Οι Tan et al. (2020) παρασκεύασαν βρώσιμες σύνθετες μεμβράνες με χιτοζάνη και μεθυλοκυτταρίνη χρησιμοποιώντας την τεχνική χύτευσης. Διερευνήθηκαν οι φυσικοχημικές ιδιότητές τους καθώς και η ικανότητα δέσμευσης ριζών με τη μέθοδο

DPPH. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες και η αντιοξειδωτική ικανότητα επηρεάστηκαν σημαντικά από την αναλογία χιτοζάνης/μεθυλοκυτταρίνης στη μήτρα. Παρατηρήθηκε αύξηση στην αντοχή εφελκυσμού και την επιμήκυνση και μείωση της διαπερατότητας υδρατμών με αύξηση της μεθυλοκυτταρίνης. Οι σύνθετες μεμβράνες που περιείχαν μεγαλύτερη αναλογία χιτοζάνης εμφάνισαν καλύτερες ιδιότητες φραγμού της υπεριώδους ακτινοβολίας και το υψηλότερη ικανότητα δέσμευσης της ρίζας DPPH. Η συνδυαστική χρήση του CMC με εδώδιμες μεμβράνες αμύλου έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει τις μηχανικές ιδιότητες του τελικού φιλμ και σχηματίζεται καλύτερο φράγμα προστατεύοντας αποτελεσματικά προϊόντα αρακά (Tongdeesoontorn et al., 2011). Συνδυασμός ζελατίνης, κόμμεου ακακίας και χλωριούχου ασβεστίου φάνηκε αποτελεσματικός κατά της αμαύρωσης chips μετά το τηγάνισμά τους, σύμφωνα με τη μελέτη των Mazza και Qi (1991).

4.4 Επίδραση της ενσωμάτωσης αντιοξειδωτικών στις ιδιότητες των εδώδιμων μεμβρανών και των επικαλύψεων

Η ενσωμάτωση συστατικών σε διαλύματα εδώδιμων επικαλύψεων και μεμβρανών μπορεί να επηρεάσει τόσο τα χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες της ίδιας της μεμβράνης ή/και της επικάλυψης όσο και του τροφίμου που συσκευάζεται. Επομένως, πριν από την προσθήκη αντιοξειδωτικών σε διαλύματα εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων, είναι απαραίτητο να αξιολογηθεί η αντιοξειδωτική τους ικανότητα, αλλά και πώς επηρεάζουν τις ιδιότητες της μεμβράνης/επικάλυψης και τα χαρακτηριστικά του τροφίμου που συσκευάζεται. Πολλοί ερευνητές έχουν επικεντρώσει τις μελέτες τους στις μηχανικές και φυσικές ιδιότητες των βρώσιμων μεμβρανών και των επικαλύψεων και στο πώς έχουν επηρεαστεί από την ενσωμάτωση αντιοξειδωτικών συστατικών. Στον Πίνακα 4.2 παρατίθενται τα κύρια αποτελέσματα των μελετών αυτών.

Οι ιδιότητες των μεμβρανών μπορούν να επηρεαστούν ακόμη και από μικρές αλλαγές στο χρησιμοποιούμενο εκχύλισμα, σύμφωνα με τους Bifani et al. (2007). Στο πείραμά τους, χρησιμοποιήθηκαν δύο χημειότυποι φύλλων murta με διαφορετικό προφίλ φλαβονολών, ο ένας με υψηλότερη συγκέντρωση μυρισετίνης από τον άλλο. Η προσθήκη αυτών των εκχυλισμάτων σε βρώσιμες μεμβράνες καρβοξυμεθυλοκυτταρίνης

(CMC) τροποποίησε τη διαπερατότητα υδρατμών και αερίων των μεμβρανών με διαφορετικούς τρόπους για κάθε χημειότυπο. Σε ορισμένες περιπτώσεις η ενσωμάτωση ενός αντιοξειδωτικού μπορεί να επηρεάσει θετικά τις ιδιότητες της εδώδιμης μεμβράνης. Για παράδειγμα, οι Siripatrawan και Harte (2010) παρατήρησαν ότι η ενσωμάτωση εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού σε μεμβράνες χιτοζάνης μείωσε τη διαπερατότητα υδρατμών και βελτίωσε τις μηχανικές ιδιότητες του φιλμ. Σύμφωνα με την ανάλυση FTIR τα παρατηρούμενα αποτελέσματα αποδίδονται σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ της χιτοζάνης και του προστιθέμενου εκχυλίσματος, δηλ. αλληλεπιδράσεις πολυφαινολικών ενώσεων του πράσινου τσαγιού με ομάδες υδροξυλίου και αμινοξέων στο διάλυμα της χιτοζάνης. Η κατεχίνη, η οποία αποτελεί μία από τις κύριες φαινολικές ενώσεις του πράσινου τσαγιού, έχει αναφερθεί ότι αλληλεπιδρά με τη χιτοζάνη (Zhang & Kosaraju, 2007). Οι Curcio et al. (2009) παρατήρησαν το σχηματισμό ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ κατεχίνης και χιτοζάνης, καθώς και γαλλικού οξέος και χιτοζάνης. Ο σχηματισμός ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ της χιτοζάνης και των πολυφαινολικών ενώσεων περιορίζει τη διαθεσιμότητα ομάδων υδρογόνου για σχηματισμό υδρόφιλων δεσμών με το νερό. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της συγγένειας της σχηματιζόμενης μεμβράνης από χιτοζάνη με το νερό. Οι ίδιες αλληλεπιδράσεις φαίνεται να ενισχύουν τις μηχανικές ιδιότητες του φιλμ. Σύμφωνα με έρευνες των Li et al. (2014), εκχύλισμα πράσινου τσαγιού σχημάτισε δεσμούς υδρογόνου με λειτουργικές ομάδες ζελατίνης και η σύνδεση αυτή βελτίωσε τις μηχανικές ιδιότητες του φιλμ. Παρόμοιες αλληλεπιδράσεις παρατηρήθηκαν μεταξύ πολυφαινολών και μεμβρανών με βάση πρωτεΐνες (Gómez-Estaca et al., 2009a; Orliac et al., 2002), και ανθοκυανινών και μεμβρανών ζελατίνης (Akhtar, 2012; Li et al., 2014). Εκχυλίσματα από φρούτα του φυτού *lycium barbarum* (Goji Berries), πλούσια σε πολυσακχαρίτες, καροτενοειδή και φλαβονοειδή, βελτίωσαν την διαπερατότητα υδρατμών μεμβρανών χιτοζάνης, αλλά μείωσαν την αντοχή τους σε εφελκυσμό (Wang et al., 2015). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν από τους Peng et al. (2013) με την προσθήκη εκχυλισμάτων από πράσινο ή μαύρο τσάι. Ο συνδυασμός εκχυλίσματος φλοιού ροδιού ή εκχυλίσματος δενδρολίβανου με μοντμοριλλονίτη βελτίωσε σημαντικά τις μηχανικές ιδιότητες και τη διαπερατότητα υδρατμών μεμβρανών χιτοζάνης, ενώ το ίδιο δεν παρατηρήθηκε σε μεμβράνες CMC εμπλουτισμένες με εκχύλισμα φύλλων *murta*.

Η προσθήκη ασκορβικού ή κιτρικού οξέος σε βρώσιμη μεμβράνη HPMC, βελτίωσε τις μηχανικές ιδιότητες του φιλμ και μείωσε τη διαπερατότητα υδρατμών και οξυγόνου (Atarés et al., 2011). Αρκετοί ερευνητές αναφέρουν αλλαγές στις ιδιότητες βρώσιμων μεμβρανών από πρωτεΐνες σόγιας (Ou et al., 2005), ζελατίνης (Cao et al., 2007) ή μιγμάτων αμύλου-χιτοζάνης (Mathew & Abraham, 2008) με τον εμπλουτισμό τους σε φερουλικό οξύ. Γενικά, η επίδραση της προσθήκης φαινολικών οξέων σε εδώδιμες μεμβράνες με βάση πρωτεΐνες ή υδατάνθρακες διέπεται από δύο διαφορετικά χαρακτηριστικά: α) την ικανότητα να σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου ή να προκαλούν άλλες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των καρβοξυλομάδων και των αμινομάδων των πρωτεϊνών ή των καρβοξυλικών ομάδων των υδατανθράκων (φαινόμενο διασταύρωσης) και β) τη συγγενεία τους για το νερό που έχει ως αποτέλεσμα υψηλή απορρόφηση υδρατμών. Το φαινόμενο διασταύρωσης αυξάνει την αντοχή στον εφελκυσμό και τη μηχανική σταθερότητα των φιλμ (Mathew & Abraham, 2008; Atarés et al., 2011; Cao et al. 2007; Fabra et al., 2011) και μειώνει τη διαπερατότητα του οξυγόνου (Atarés et al., 2011; Fabra et al., 2011). Ωστόσο, η διαπερατότητα των υδρατμών εξαρτάται από την πυκνή δομή του φιλμ αλλά και από την ικανότητά του να απορροφά μόρια νερού και συνεπώς μπορεί να παραμείνει ανεπηρέαστη, να μειωθεί ή να αυξηθεί, ανάλογα με τη συγκέντρωση του φαινολικού οξέος στη μεμβράνη (Cao et al. 2007; Fabra et al., 2011; Ou et al., 2005). Η προσθήκη πολικών ενώσεων ενισχύει τις υδρόφιλες ιδιότητες των μεμβρανών, οδηγώντας σε αύξηση της διαπερατότητάς τους σε νερό (Cerqueira et al., 2010).

Πίνακας 4.2 Σύνθεση βρώσιμων φιλμ και επίδραση των διαφορετικών προσθέτων στις μηχανικές τους ιδιότητες και σε ιδιότητες φραγμού.

Κύριο συστατικό	Σύνθεση του φιλμ		Μηχανικές ιδιότητες				Ιδιότητες φραγμού		Βιβλιογραφία
	Συγκέντρωση (%) στο αρχικό διάλυμα*	Πρόσθετα (%) στο αρχικό διάλυμα	Πάχος (mm)	Σχετική υγρασία (%)	Αντοχή στον εφελκυσμό (MPa)	Επιμήκυνση (%)	Διαπερατότητα υδρατμών*10 ¹¹ (g(m*s*Pa) ⁻¹)	Διαπερατότητα οξυγόνου*10 ¹⁰ (cm ³ (m*s*Pa) ⁻¹)	
	CMC: 2 Γλυκερόλη: 0.4 Ηλιέλαιο: 0.5 σε νερό	Κανένα Εκχύλισμα φύλλων murta (MLE) (Soloyo Chico): 100 MLE (Soloyo Grande): 100	0.016 – 0.046	n.d.**	n.d.	n.d.	7.14 7.19 5.66	8.10 5.94 4.38	Bifani et al. (2007)

Κυτταρίνη και παράγωγά της	CMC: 2 Γλυκερόλη: 0.4 σε νερό	Κανένα Μοντοριλονίτης (MMT): 0.1 MMT: 0.2	n.d.	23.20 19.65 20.52	25.50 36.50 40.00	23.50 12.50 13.50	10.50 6.50 5.00	1.40 0.25 0.25	Quilaqueo Gutiérrez et al. (2012)
		MLE: 80 MMT: 0.1, MLE: 80 MMT: 0.2, MLE: 80	n.d.	29.26 20.22 20.13	17.50 25.50 18.50	55.00 32.50 17.50	11.50 5.00 5.20	0.35 0.45 0.20	
	Μεθυλοκυτταρίνη: 1 Πολυαιθυλένο γλυκόλη: 0.65 σε 70% αιθανόλη/νερό	Κανένα Γλουταραλδεΐδη: 0.025 Γλουταραλδεΐδη: 0.075	0.075 – 0.090	n.d.	5.30 10.30 6.30	53.40 69.10 55.50	1.05 1.03 0.79	n.d.	
		Εκχύλισμα μούρων μαqui: 0.3 Γλουταραλδεΐδη: 0.025 + εκχύλισμα μούρων μαqui: 0.3	0.075 – 0.090	n.d.	6.50 6.20	89.00 69.50	0.59 0.55	n.d.	
	Μεθυλοκυτταρίνη: 2 σε νερό	Κανένα Ρεσβερατρόλη: 0.02 Ρεσβερατρόλη: 0.2	0.051 0.051 0.058	7.00 6.73 5.90	66.00 65.00 49.00	15.00 10.00 4.00	87.00 77.00 60.00	0.015 0.014 0.014	Pastor et al. (2013)
Χιτοζάνη	Χιτοζάνη: 2, γλυκερόλη: 0.6 σε 1% οξικό οξύ	Κανένα Εκχύλισμα πράσινου τσαγιού (GTE): 2 GTE: 10 GTE: 20	0.062	n.d.	23.66 25.00 28.35 27.55	54.62 54.76 60.39 60.73	0.30 0.26 0.21 0.10	n.d.	Siripatrawan και Harte (2010)
	Χιτοζάνη: 2, Tween 80: 0.2 σε 1% οξικό οξύ	Κανένα Λιθέριο έλαιο (EO) δεντρολίβανου: 0.5 EO δεντρολίβανου: 1.5	n.d.	14.50 19.50 18.50	60.80 68.51 65.46	3.56 4.97 4.61	7.00 8.00 6.80	n.d.	Abdollahi et al. (2012a, 2012b)
		MMT: 0.06 MMT: 0.06, EO δεντρολίβανου: 0.5 MMT: 0.06, EO δεντρολίβανου: 1.5	0.050 0.050 0.052	n.d.	72.54 73.48 71.33	3.44 4.11 4.83	3.90 4.70 3.10	n.d.	
	Χιτοζάνη: 2, γλυκερόλη: 0.6 σε 1% οξικό οξύ	Κανένα GTE: 0.5 GTE: 2.0 Εκχύλισμα μαύρου τσαγιού: 0.5 Εκχύλισμα μαύρου τσαγιού: 2.0	0.072 0.096 0.132 0.098 0.131	28.91 19.81 10.78 23.20 11.73	32.50 26.50 28.00 24.50 28.00	32.00 5.00 1.00 7.50 1.00	13.39 8.34 5.07 11.51 5.82	n.d.	
	Χιτοζάνη: 2 σε διάλυμα οξικού οξέος και νερό	Κανένα Εκχύλισμα <i>lycium barbarum</i> : 0.4 Εκχύλισμα <i>lycium barbarum</i> : 1.2	n.d.	22.17 20.82 20.69	23.00 19.50 15.00	22.00 13.00 9.50	6.48 4.86 4.74	n.d.	Wang et al. (2015)

		Εκχύλισμα <i>lycium barbarum</i> : 2.0		19.96	10.00	7.00	3.82		
	Χιτοζάνη: 1.5, γλυκερόλη: 0.1 σε 2% οξικό οξύ	Κανένα MMT: 0.015 MMT: 0.015 + εκχύλισμα ροδιού: 2 MMT: 0.075 MMT: 0.075 + εκχύλισμα ροδιού: 2	0.065 0.069 0.084 0.074 0.085	n.d.	20.80 26.30 35.00 32.30 40.90	12.70 15.90 14.90 16.70 16.60	218.00 193.00 171.00 173.00 174.00	n.d.	Qin et al. (2015)
	Χιτοζάνη: 2, γλυκερόλη: 1, Tween 80: 0.5 σε 1% οξικό οξύ	Κανένα Καρβακρόλη: 1 Εκχύλισμα ροδιού: 1 Καρβακρόλη: 1 + εκχύλισμα ροδιού: 1	0.105 0.091 0.111 0.126	n.d.	22.23 8.54 23.50 15.91	31.51 17.37 30.76 21.67	27.77 9.72 22.21 13.88	n.d.	Yuan et al. (2015)
	Χιτοζάνη: 1.5, Tween 80: 0.1 σε 1% γαλακτικό οξύ	Κανένα α-τοκοφερόλη: 0.1 α-τοκοφερόλη: 0.2	0.094 0.115 0.120	12.60 11.80 11.40	34.00 23.00 18.00	52.00 44.00 23.00	6.02 6.71 7.38	n.d.	Martins et al. (2012)
Αλγινικά	Αλγινικό νάτριο: 2, CaCl ₂ : 0.01, γλυκερόλη: 3 σε νερό	Κανένα 50% κόκκινο ginseng 50% λευκό ginseng	0.070 0.114 0.105	29.64 25.29 24.87	22.20 13.81 8.05	19.32 27.95 24.39	0.20 0.24 0.23	n.d.	Norajit et al. (2010)
Γαλακτομαννάρες	Γαλακτομαννάνη: 1.5, γλυκερόλη: 0.5 σε νερό	Κανένα Gleditschia: 1.0	0.052 0.105	n.d.	n.d.	n.d.	6.54 9.31	n.d.	Cerqueira et al. (2010)
	Ζελατίνη: 5, προπιλένο γλυκόλη: 8 σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών	Κανένα ΕΟ ρίγανης: 0.2 ΕΟ ρίγανης: 0.6 ΕΟ λεβάντας: 0.2 ΕΟ λεβάντας: 0.6	0.110 0.100 0.130 0.070 0.110	n.d.	17.70 14.00 11.30 8.80 12.80	10.80 8.30 10.00 4.30 7.30	14.60 12.10 8.40 12.70 6.80	n.d.	Matrucci et al. (2015)
Ζελατίνη	Ζελατίνη: 3, Γλυκερόλη: 0.9 σε νερό	Κανένα GTE: 0.1 Εκχύλισμα σπόρων σταφυλιού (προανθοκυανιδίνες): 0.1 Εκχύλισμα σπόρων σταφυλιού (πολυφαινόλες): 0.1	0.123 0.148 0.140 0.156	14.40 24.43 16.47 19.77	23.42 20.79 19.46 14.64	62.86 44.62 45.10 30.86	2.63*** 1.81 2.42 2.49	n.d.	Li et al. (2014)
Σύνθετα	Αμυλο καλαμποκιού: 2, καζεϊνικό νάτριο: 2, γλυκερόλη: 1 σε νερό	Κανένα α-τοκοφερόλη: 0.4	n.d.	n.d.	6.10 9.40	19.00 8.00	251.31 199.94	0.0013 0.0017	Jiménez et al. (2013)

* Η μέθοδος επεξεργασίας για την προετοιμασία του φιλμ ήταν η χύτευση σε όλες τις περιπτώσεις.

** Δεν προσδιορίστηκε.

*** Η διαπερατότητα των υδρατμών είναι μετρημένη σε g*m/(m²*d*kPa).

Ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τις ιδιότητες των εμπλουτισμένων βρώσιμων μεμβρανών είναι η σχετική υγρασία του περιβάλλοντός τους. Οι López de Dicastillo et al. (2012), μελέτησαν την επίδραση του ασκορβικού οξέος, του φερουλικού οξέος, της κερκετίνης και του εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού στη διαπερατότητα των μεμβρανών αιθυλενοβινυλικής αλκοόλης (EVOH) σε διαφορετικές συνθήκες σχετικής υγρασίας. Σε περιβάλλον με χαμηλή υγρασία (35%), η ενσωμάτωση φερουλικού οξέος, κερκετίνης ή εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού προκάλεσε αύξηση περίπου 20% της διαπερατότητας των μεμβρανών σε νερό, πιθανώς λόγω της παρουσίας ξένων ουσιών στη μήτρα του πολυμερούς. Αντιθέτως η προσθήκη ασκορβικού οξέος μείωσε σημαντικά την διαπερατότητα των μεμβρανών σε νερό, πιθανώς λόγω των αλληλεπιδράσεων μεταξύ του οξέος και των υδροξυλομάδων του πολυμερούς. Σε συνθήκες υψηλής υγρασίας (90%), η προσθήκη κερκετίνης και εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού οδήγησε σε μείωση της διαπερατότητας του νερού από τη μεμβράνη, η οποία αποδόθηκε στη χαμηλότερη συγγένεια αυτών των παραγόντων για το νερό, και επομένως η προσθήκη τους στη σύνθετη μήτρα μείωσε την υδρόφιλη ικανότητά της. Αντίθετα, η υψηλή συγγένεια του ασκορβικού οξέος με το νερό είχε ως αποτέλεσμα τη διαλυτοποίησή του και την αύξηση της διαπερατότητας υδρατμών και οξυγόνου. Οι ίδιοι ερευνητές ανέφεραν ότι τα προστιθέμενα αντιοξειδωτικά μείωσαν το σημείο τήξης του φιλμ EVOH, γεγονός που σχετίζεται με μια πιο ελλιπή κρυσταλλική δομή (López de Dicastillo et al., 2012).

Η καρβακρόλη, ως υδρόφοβη ένωση, μείωσε τη διαπερατότητα των υδρατμών μεμβρανών χιτοζάνης αλλά και τις μηχανικές ιδιότητές τους (αντοχή στον εφελκυσμό και επιμήκυνση της μεμβράνης πριν το σπάσιμο) (López-Mata et al., 2013; Rubilar et al., 2013; Yuan et al., 2015). Το ίδιο αποτέλεσμα παρατηρήθηκε κατά την προσθήκη αιθέριων ελαίων πλούσιων σε καρβακρόλη σε φιλμ ζελατίνης (Matrucci et al., 2015). Η ενσωμάτωση της καρβακρόλης στις μεμβράνες αυτές είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη μιας δομής με λιγότερη κινητικότητα και επομένως λιγότερη ευελιξία και αντοχή στη θραύση.

Η ενσωμάτωση της α -τοκοφερόλης σε βρώσιμα φιλμ έχει μελετηθεί αρκετά καθώς είναι γνωστή για τις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες. Το μόριο της α -τοκοφερόλης περιέχει λίγες ενεργές ομάδες και δεν φαίνεται να παρουσιάζει φαινόμενα διασταύρωσης με τα φιλμ στα οποία ενσωματώθηκε, ενώ η διαπερατότητα σε υδρατμούς των φιλμ μειώθηκε

αλλά όχι σημαντικά, γεγονός που αποδίδεται στην υδρόφοβη φύση της (Fabra et al., 2011; Jiménez et al., 2013; Mei & Zao, 2003). Επίσης, η διαπερατότητα του οξυγόνου δεν βελτιώθηκε σημαντικά κατά την ενσωμάτωση της σε φιλμ πρωτεΐνης ορού γάλακτος (Han & Krochta, 2007), ενώ επηρέασε αμφιλεγόμενα τις μηχανικές ιδιότητες των φιλμ χιτοζάνης (Martins et al., 2012) και σύνθετων φιλμ (Jiménez et al., 2013).

Η προσθήκη ρεσβερατρόλης (3,5,4'-τριυδροξυσιλβένιο) σε φιλμ χιτοζάνης και μεθυλοκυτταρίνης (MC) προκάλεσε δομικές αλλαγές και αλλαγές των φραγμών των παραγόμενων φιλμ. Η πιθανότητα σχηματισμού δεσμών υδρογόνου μεταξύ των αλυσίδων χιτοζάνης μειώθηκε, περιορίζοντας την ανάπτυξη κρυσταλλικών ζωνών, ενώ με αύξηση της συγκέντρωσής της σε φιλμ μεθυλοκυτταρίνης, σχηματίστηκαν κρύσταλλοι που διαχωρίστηκαν και κατανεμήθηκαν τυχαία. Αυτές οι αλλαγές οδήγησαν σε αύξηση του πάχους του φιλμ και μείωση της αντοχής σε εφελκυσμό και στις δύο περιπτώσεις, αλλά επηρέασαν αμφιλεγόμενα την ελαστικότητα των παραγόμενων φιλμ. Με αύξηση της συγκέντρωσής της, η διαπερατότητα των φιλμ σε οξυγόνο και υδρατμούς βελτιώθηκε ελαφρώς, πιθανώς λόγω της υδρόφοβης φύσης της (Pastor et al., 2013).

Ενώσεις όπως οι τριτερπενικές σαπωνίνες, άφθονες σε εκχυλίσματα ginseng, δεν επηρέασαν σημαντικά την διαπερατότητα σε υδρατμούς και την περιεκτικότητα σε υγρασία των μεμβρανών (αλγινικό). Ωστόσο, προκάλεσαν το σχηματισμό μικρών πόρων και σημαντική μείωση της αντοχής σε εφελκυσμό και των τιμών του συντελεστή ελαστικότητας (Norajit et al., 2010). Οι δραστικές φαινολικές ομάδες ή οι ομάδες OH των γλυκοζιτών ενός εκχυλίσματος μπορεί επίσης να αλληλεπιδράσουν με παράγοντες διασύνδεσης (π.χ. γλουταραλδεϋδη) και να διαταράξουν το φαινόμενο διασύνδεσης (López de Dicastillo et al., 2016).

Η προσθήκη εκχυλισμάτων βοτάνων ή φρούτων επηρεάζει το χρώμα και τη διαφάνεια των μεμβρανών. Εκχυλίσματα τσαγιού και φρούτων προσέδωσαν κάποιους κόκκινους και κίτρινους χρωματισμούς στις μεμβράνες χιτοζάνης, ενώ τα εκχυλίσματα πράσινου τσαγιού μείωσαν τη διαφάνεια των μεμβρανών με βάση τη χιτοζάνη και την πρωτεΐνη. (Siripatrawan & Harte, 2010; Gómez-Estaca et al., 2009; Wang et al., 2015; Yuan et al., 2015). Φιλμ συμπολυμερούς EVOH εμφάνισε πιο σκούρα χροιά μετά την ενσωμάτωση εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού (López-de-Dicastillo et al., 2012) και το ίδιο παρατηρήθηκε σε φιλμ γαλακτομαννάνης εμπλουτισμένα με εκχύλισμα G.

triacanthos (Cerqueira et al., 2010). Ωστόσο, ορισμένα εκχυλίσματα (π.χ. εκχυλίσματα πλούσια σε ανθοκυανίνες) μπορεί να λειτουργήσουν ως χρωστικές, παρέχοντας επίσης προστασία των μεμβρανών από τη φωτοαποικοδόμηση (Akhtar, 2012).

4.5 Αντιοξειδωτική δράση εμπλουτισμένων εδώδιμων μεμβρανών και επικαλύψεων

Πολλές έρευνες έχουν επικεντρωθεί στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των ίδιων των εμπλουτισμένων μεμβρανών, χωρίς να τις χρησιμοποιούν για την επικάλυψη τροφίμων. Αναφορές σχετικά με την αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων και τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες μεμβρανών εμπλουτισμένων με φυσικά αντιοξειδωτικά παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.3.

Σύμφωνα με τον Πίνακα 4.3, τα φιλμ χιτοζάνης έχουν μελετηθεί από πολλούς ερευνητές. Η χιτοζάνη αποτελεί τον δεύτερο σε αφθονία πολυσακχαρίτη στη φύση μετά την κυτταρίνη και είναι ένα αποακετυλιωμένο παράγωγο της χιτίνης. Η ικανότητά της για σχηματισμό μεμβρανών και οι εγγενείς αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητές της, την έχουν καταστήσει ελκυστική για τη συσκευασία τροφίμων (Abdollahi et al., 2012a). Αν και η χιτοζάνη διαθέτει ένα αντιοξειδωτικό δυναμικό, η ενσωμάτωση φυσικών αντιοξειδωτικών σε μεμβράνες της είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ολικού φαινολικού φορτίου και της δραστηριότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών. Οι Abdollahi et al. (2012a) παρασκεύασαν μεμβράνες χιτοζάνης εμπλουτισμένες με αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου (0.5, 1.0 και 1.5% v/v) και μέτρησαν την περιεκτικότητά τους σε φαινολικές ενώσεις. Αύξηση της συγκέντρωσης του αιθέριου ελαίου είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του φαινολικού περιεχομένου των μεμβρανών, το οποίο δεν επηρεάστηκε από την προσθήκη MMT (Abdollahi et al., 2012b). Ομοίως, αύξηση της συγκέντρωσης αιθανολικού εκχυλίσματος από φλοιούς ροδιού σε σύνθετο φιλμ χιτοζάνης και MMT, οδήγησε σε αύξηση του φαινολικού φορτίου της μεμβράνης και δεν επηρεάστηκε από την προσθήκη MMT στην μεμβράνη (Qin et al., 2015). Οι Genskowsky Puente et al. (2015) ανέφεραν σημαντική συσχέτιση ($R^2 > 0.959$) της περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις (TPC) και σε φλαβονοειδή (TFC) με την αντιοξειδωτική ικανότητα μεμβρανών χιτοζάνης εμπλουτισμένες με εκχυλίσματα μούρων *maqui*, όπως αυτή μετρήθηκε με

δέσμευση της ρίζας DPPH, με την ικανότητα συμπλοκοποίησης ιόντων σιδήρου (FIC) και με τη μέθοδο FRAP. Τα υδατικά και αιθανολικά εκχυλίσματα τσαγιού και φρούτων μπορούν εύκολα να ενσωματωθούν σε διαλύματα βρώσιμων μεμβρανών και να αυξήσουν έως και 10 φορές την ικανότητα δέσμευσης της ρίζας DPPH της παραγόμενης επικάλυψης (Peng et al., 2013; Qin et al., 2015; Siripatrawan & Harte, 2010; Wang et al., 2015) όταν η αναλογία βάρους του εκχυλίσματος προς τη χιτοζάνη είναι 1:1.

Η αντιοξειδωτική δράση των εμπλουτισμένων μεμβρανών σχετίζεται με την ικανότητά τους να απελευθερώνουν τις παγιδευμένες φαινολικές ενώσεις. Οι Peng et al. (2013) ανέφεραν ότι αύξηση της συγκέντρωσης εκχυλισμάτων τσαγιού σε μεμβράνες χιτοζάνης είχε ως αποτέλεσμα ταχύτερη απελευθέρωση των αντιοξειδωτικών ενώσεων και κατά συνέπεια σε υψηλότερη ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών. Το παραπάνω συμπέρασμα παρατηρήθηκε επίσης από τους Cerqueira et al. (2010) και López de Dicastillo et al. (2015), οι οποίοι χρησιμοποίησαν διαφορετικά υλικά σχηματισμού μεμβρανών και διαφορετικά πρόσθετα. Οι Mayachiew και Devahastin (2010) παρατήρησαν ότι το ποσοστό απελευθέρωσης φαινολικών ενώσεων από μεμβράνες χιτοζάνης μειώθηκε με αύξηση της συγκέντρωσης του χρησιμοποιούμενου εκχυλίσματος, πιθανώς λόγω ισχυρότερων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των λειτουργικών ομάδων. Οι μέθοδοι παρασκευής των μεμβρανών και οι συνθήκες ξήρανσής τους έχουν σημαντική επίδραση στην υπολειμματική περιεκτικότητα των ενσωματωμένων ενώσεων και στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των λειτουργικών ομάδων των αντιοξειδωτικών και της μήτρας του παραγόμενου φιλμ (Mayachiew & Devahastin, 2010).

Οι Gómez-Estaca et al. (2009) χρησιμοποίησαν ζελατίνη από δέρμα βοοειδών και τόνου, για την παρασκευή βιοαποικοδομήσιμων, βρώσιμων μεμβρανών εμπλουτισμένων με υδατικά εκχυλίσματα ρίγανης και δεντρολίβανου, πλούσια σε φαινολικές ενώσεις. Η αντιοξειδωτική δράση των παραγόμενων μεμβρανών δεν επηρεάστηκε σημαντικά από το είδος της χρησιμοποιούμενης ζελατίνης (όπως υποδείχτηκε από τις μεθόδους FRAP και ABTS), αλλά οι εμπλουτισμένες μεμβράνες απελευθέρωσαν διαφορετικές ποσότητες φαινολικών ενώσεων. Οι μεμβράνες ζελατίνης από δέρμα βοοειδών απελευθέρωσαν μεγαλύτερες ποσότητες φαινολικών ενώσεων, πιθανώς επειδή οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών του τόνου και των φαινολών είναι ισχυρότερες. Το γεγονός αυτό, θα μπορούσε να επηρεάσει τη διάχυση των φαινολικών ενώσεων από τη μεμβράνη στο

τρόφιμο. Η αντιοξειδωτική δράση επηρεάστηκε από το είδος του χρησιμοποιούμενου προσθέτου, με το εκχύλισμα ρίγανης να παρουσιάζει 5.5 και 7 φορές υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση από το εκχύλισμα δεντρολίβανου στις αναλύσεις FRAP και ABTS, αντίστοιχα. Αυτή η υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση της ρίγανης αποδόθηκε στην υψηλότερη περιεκτικότητά της σε φαινολικές ενώσεις.

Οι Matrucci et al. (2015), πρόσθεσαν αιθέριο έλαιο ρίγανης και λεβάντας (2000 - 6000 ppm) σε μεμβράνες ζελατίνης και προσδιόρισαν την αντιοξειδωτική δράση των παραγόμενων φιλμ με τη μέθοδο DPPH. Η προσθήκη του αιθέριου ελαίου της ρίγανης σε συγκέντρωση 6000 ppm στη μεμβράνη εμφάνισε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Αντίθετα, η ικανότητα δέσμευσης της ρίζας DPPH των φιλμ με το αιθέριο έλαιο λεβάντας ήταν αμελητέα. Οι παραπάνω διαφορές αποδίδονται στη διαφορετική δραστηριότητα των συστατικών των αιθέριων ελαίων κάθε φυτού ή/και σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ της μήτρας ζελατίνης και των συστατικών των αιθέριων ελαίων. Η προσθήκη του αιθέριου ελαίου από γαρύφαλλο σε βρώσιμες μεμβράνες CMC είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση τόσο της περιεκτικότητάς τους σε φαινολικές ενώσεις όσο και της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας DPPH (Dashipour et al., 2014).

Πίνακας 4.3 Αναφορές για τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες μεμβρανών εμπλουτισμένων με φυσικά αντιοξειδωτικά.

Σύνθεση της επικάλυψης	Πρόσθετο	Μέθοδος μέτρησης	Επίδραση του πρόσθετου στις ιδιότητες της μεμβράνης	Βιβλιογραφία
Χιτοζάνη με Tween	Αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου	TPC	Η προσθήκη του αιθέριου ελαίου αύξησε την περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά των μεμβρανών.	Abdollahi et al. (2012a)
Χιτοζάνη – MMT με Tween	Αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου	TPC	Η περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις ήταν η ίδια με αυτή που παρατήρησαν οι Abdollahi et al. (2012a), ενώ η χρήση του MMT μείωσε τη διαπερατότητα των μεμβρανών σε υδρατμούς.	Abdollahi et al. (2012b)
Χιτοζάνη με γλυκερόλη	Υδατικό εκχύλισμα πράσινου τσαγιού (GTE)	TPC, DPPH	Η προσθήκη εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού αύξησε σημαντικά την ικανότητα δέσμευσης της ρίζας DPPH και την περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις των μεμβρανών.	Siripatrawan και Harte (2010)
Χιτοζάνη με γλυκερόλη	GTE και εκχύλισμα μαύρου τσαγιού (BTE)	DPPH	Η προσθήκη εκχυλισμάτων τσαγιού αύξησε σημαντικά την ικανότητα δέσμευσης των ριζών DPPH. Όσο υψηλότερη ήταν η συγκέντρωση των GTE και BTE, τόσο πιο γρήγορη ήταν και η απελευθέρωση των αντιοξειδωτικών τους συστατικών από την μεμβράνη.	Peng et al. (2013)
Χιτοζάνη με γλυκερόλη	Αιθανολικό εκχύλισμα φραγκοστάφυλου	TPC	Η περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις που απελευθερώθηκε μειώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος, πιθανώς λόγω ισχυρότερων διαμοριακών αλληλεπιδράσεων.	Mayachiew και Devahastin (2010)
Χιτοζάνη	Σκόνη εκχυλίσματος <i>Lycium barbarum</i>	DPPH	Το εκχύλισμα του φρούτου <i>Lycium barbarum</i> ενίσχυσε την αντιοξειδωτική δράση των μεμβρανών χιτοζάνης.	Wang et al. (2015)
Χιτοζάνη με γλυκερόλη	Λυοφυλιωμένο εκχύλισμα μούρων maqui	TPC, DPPH, FIC, FRAP	Όλες οι μέθοδοι έδειξαν σημαντικές αντιοξειδωτικές ιδιότητες που συσχετίζονται με την αύξηση της περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις των μεμβρανών.	Genskowsky et al. (2015)
Χιτοζάνη – MMT με Tween	Αιθανολικό εκχύλισμα φλοιών ροδιού	TPC, DPPH	Τα εκχυλίσματα από φλοιούς ροδιού προσέδωσαν εξαιρετική αντιοξειδωτική δράση στις μεμβράνες.	Qin et al. (2015)
Χιτοζάνη με γλυκερόλη και Tween	Καρβακρόλη και μεθανολικό εκχύλισμα φλοιών ροδιού	TPC, FRAP	Παρατηρήθηκε αθροιστική αντιοξειδωτική δράση μεταξύ καρβακρόλης και του εκχυλίσματος από φλοιούς ροδιού.	Yuan et al. (2015)
Χιτοζάνη με Tween	α - τοκοφερόλη	DPPH	Οι δύο συγκεντρώσεις του αντιοξειδωτικού που ενσωματώθηκαν στις μεμβράνες, επηρέασαν τη ικανότητα δέσμευσης ριζών με τον ίδιο τρόπο.	Martins et al. (2012)
MC ή χιτοζάνη	Ρεσβερατρόλη	DPPH	Παρατηρήθηκε μερική απώλεια της αντιοξειδωτικής δράσης της ρεσβερατρόλης μετά την ενσωμάτωσή της σε μεμβράνες MC.	Pastor et al. (2013)
CMC με γλυκερόλη και Tween	Αιθέριο έλαιο γαρύφαλλο	TPC, DPPH	Η αντιοξειδωτική δράση των μεμβρανών αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης αιθέριου ελαίου.	Dashipour et al. (2014)
HPMC με γλυκερόλη	Εκχύλισμα μωβ καρότου	ABTS, TEAC	Η αντιοξειδωτική δράση του εκχυλίσματος μειώθηκε κατά την προετοιμασία των μεμβρανών. Οι μεμβράνες που	Akhtar (2012)

			αποθηκεύτηκαν υπό την παρουσία φωτός εμφάνισαν χαμηλότερη αντιοξειδωτική δράση.	
MC με γλουταραλδεϋδη και πολυαιθυλένο γλυκόλη	Υδατικό και αιθανολικό εκχύλισμα μούρων maqui	FTIR	Το εκχύλισμα διατάραξε τη δράση της γλουταραλδεϋδης, πιθανώς επειδή οι φαινολικές ενώσεις του εκχυλίσματος αντέδρασαν με αυτή.	López de Dicastillo et al. (2016)
Οξική κυτταρίνη με κιτρικό τριαιθυλεστερά	Υδατικό, αιθανολικό και ακετονικό εκχύλισμα κρεμμυδιού	TPC, DPPH, FRAP, ABTS	Η υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση βρέθηκε για το καθαρό αιθανολικό εκχύλισμα και για το εκχύλισμα αιθανόλης 85% σε νερό.	López de Dicastillo et al. (2015)
CMC – MMT με γλυκερόλη	Υδατικό εκχύλισμα φύλλων murta	ABTS	Η προσθήκη MMT σε μεμβράνες CMC με εκχύλισμα φύλλων murta είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική αύξηση της αντιοξειδωτικής τους δράσης.	Quilaqueo Gutiérrez et al. (2012)
Ζελατίνη με προπυλενογλυκόλη	Αιθέριο έλαια ρίγανης και λεβάντας	ABTS	Οι μεμβράνες με το αιθέριο έλαιο ρίγανης εμφάνισαν καλύτερη αντιοξειδωτική δράση από εκείνες με το αιθέριο έλαιο λεβάντας.	Matrucci et al. (2015)
Ζελατίνη από δέρμα τόνου ή βοδινού με σορβιτόλη και γλυκερόλη	Υδατικά εκχυλίσματα ρίγανης και δεντρολίβανου	TPC, DPPH, FRAP, ABTS	Η αντιοξειδωτική δράση των μεμβρανών δεν επηρεάστηκε από το είδος της χρησιμοποιούμενης ζελατίνης. Τα δύο εκχυλίσματα απελευθέρωσαν διαφορετικές ποσότητες φαινολικών ενώσεων μετά την ενσωμάτωση τους στις μεμβράνες.	Gómez-Estaca et al. (2009b)
Ζελατίνη από δέρμα χωματίδας (ψάρι) με γλυκερόλη και σορβιτόλη	Αιθανολικό εκχύλισμα μπουράντζας	TPC, FRAP, ABTS	Η αντιοξειδωτική δράση του εκχυλίσματος μπουράντζας ήταν καλύτερη από εκείνη του BHT και της α-τοκοφερόλης και υψηλότερη από εκείνη των εκχυλισμάτων ρίγανης και δεντρολίβανου σύμφωνα με τα αποτελέσματα άλλης ερευνητικής εργασίας των Gómez-Estaca et al. (2009a).	Gómez-Estaca et al. (2009b)
Αλγινικό άλας με γλυκερόλη	Αιθανολικά εκχυλίσματα λευκού και κόκκινου ginseng	DPPH, FRAP	Τα εκχυλίσματα ginseng μπορούν να ενσωματωθούν σε βιοαποδομήσιμες μεμβράνες αλγινικών αλάτων και να διατηρήσουν την αντιοξειδωτική τους δράση. Οι μεμβράνες με το κόκκινο ginseng εμφάνισαν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση από εκείνες με το εκχύλισμα λευκού ginseng.	Norajit et al. (2010)
Γαλακτομαννάνη με γλυκερόλη	Υδατικό και αιθανολικό εκχύλισμα γλεδίτιας	TPC, DPPH	Το υδατικό εκχύλισμα απελευθέρωσε μεγαλύτερη ποσότητα φαινολικών ενώσεων στις μεμβράνες, γεγονός που μαρτυρά την υδατοδιαλυτή φύση των φαινολικών ενώσεων της γλεδίτιας.	Cerqueira et al. (2010)
Πολυμερές EVOH	GTE	HPLC, DPPH, ABTS	Κατά τη διαδικασία παρασκευής των μεμβρανών (μέθοδος εξώθησης) παρατηρήθηκε αποικοδόμηση του εκχυλίσματος σε ποσοστό της τάξεως του 20%, λόγω πιθανού πολυμερισμού των φαινολών και λόγω της καταστροφής ορισμένων κατεχινών.	López de Dicastillo et al. (2011)
Άμυλο καλαμποκιού με καζεϊνικό νάτριο και	Ελαϊκό οξύ και α - τοκοφερόλη	ABTS, TEAC	Η αντιοξειδωτική δράση των μεμβρανών μειώθηκε με την προσθήκη ελαϊκού οξέος πιθανώς λόγω αντιδράσεων	Jiménez et al. (2013)

γλυκερόλη			οξειδωσης. Η προσθήκη της α-τοκοφερόλης βελτίωσε την αντιοξειδωτική δράση των μεμβρανών.	
Ecoflex1 και Ecoflex1 με πολυγαλακτικό οξύ	Εκχύλισμα φύλλων ελιάς και α - τοκοφερόλη	DPPH	Οι μεμβράνες με α-τοκοφερόλη εμφάνισαν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση από εκείνες με το εκχύλισμα φύλλων ελιάς.	Marcos et al. (2014)
LDPE	Εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα φλοιών κριθαριού	HPLC-UV, DPPH	Το εκχύλισμα εμφάνισε περισσότερο από διπλάσια αντιοξειδωτική δράση σε σύγκριση με εκείνη του BHT.	Pereira de Abreu et al. (2012)

Οι Gutiérrez et al. (2012) ενσωμάτωσαν υδατικό εκχύλισμα φύλλων *murta* σε νανοσύνθετες μεμβράνες CMC-MMT. Η αντιοξειδωτική ικανότητα, όπως αυτή εκτιμήθηκε με τη μέθοδο ABTS, αυξήθηκε περισσότερο από 18 φορές σε σύγκριση με τη μεμβράνη CMC χωρίς πρόσθετο. Τα υδατικά εκχυλίσματα των φύλλων *murta* είναι πλούσια σε παράγωγα γαλλικού οξέος, μυρισετίνης και κερκετίνης, ενώσεις που θα μπορούσαν να είναι υπεύθυνες για την αντιοξειδωτική δράση των μεμβρανών που μελετήθηκαν. Η προσθήκη MMT στο μίγμα του υδατικού εκχυλίσματος των φύλλων *murta* και CMC, είχε ως αποτέλεσμα σημαντική αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης, αποτέλεσμα που δεν παρατηρήθηκε απουσία του εκχυλίσματος. Οι Qin et al. (2015) ανέφεραν ότι η προσθήκη MMT σε μεμβράνες χιτοζάνης εμπλουτισμένες με αιθανολικό εκχύλισμα φλοιών από ρόδι δεν επηρέασε τη ικανότητα δέσμευσης της ρίζας DPPH.

Οι Marcos et al. (2014) παρήγαγαν βιοαποδομήσιμες μεμβράνες με βάση το Ecoflex1 και το Ecoflex1-πολυγαλακτικό οξύ (PLA) και ενσωμάτωσαν σε αυτές εκχύλισμα φύλλων ελιάς και α-τοκοφερόλη. Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο DPPH, παρατήρησαν ότι οι μεμβράνες με α-τοκοφερόλη είχαν καλύτερη αντιοξειδωτική δράση από εκείνες με το εκχύλισμα των φύλλων ελιάς. Βιοαποικοδομήσιμες αλγινικές μεμβράνες εμπλουτισμένες με εκχύλισμα *ginseng* διατήρησαν πλήρως την ικανότητά τους για δέσμευση ελευθέρων ριζών (Norajit et al., 2010). Οι Pereira de Abreu et al. (2012) χρησιμοποίησαν μία μεμβράνη χαμηλής πυκνότητας πολυαιθυλενίου (LDPE) ως φορέα για του εκχυλίσματος από φλοιούς κριθαριού. Το ξηρό εκχύλισμα διαλύθηκε σε μεθανόλη και διασκορπίστηκε στο υλικό συσκευασίας. Το εκχύλισμα των φλοιών κριθαριού έχασε μέρος της αντιοξειδωτικής του δράσης μετά την ενσωμάτωσή του στη μεμβράνη LDPE. Ωστόσο, η υπολειπόμενη αντιοξειδωτική του ικανότητα ήταν ακόμη

υψηλότερη από εκείνη του συνθετικού αντιοξειδωτικού BHT. Το εκχύλισμα παρέμεινε στην επιφάνεια της μεμβράνης LDPE μετά από δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν με διάφορους προσομοιωτές τροφίμων, κάτι που καθιστά αυτό το εμπλουτισμένο φιλμ ιδανικό για τη συσκευασία μεγάλης ποικιλίας τροφίμων.

Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω, στις περισσότερες περιπτώσεις, η αντιοξειδωτική ικανότητα των μεμβρανών είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της δραστικής ένωσης που είναι ενσωματωμένη σε αυτές. Η απώλεια της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων κατά τον σχηματισμό και την προετοιμασία των μεμβρανών δεν είναι αξιοσημείωτη στις περισσότερες περιπτώσεις (Akhtar, 2012; León & Rojas, 2007; Pastor et al., 2013; Pereira de Abreu et al., 2012), αν και σημαντικές απώλειες αναφέρθηκαν στην περίπτωση που οι μεμβράνες προετοιμάστηκαν και σχηματίστηκαν με τη διαδικασία της εξώθησης στους 170 °C (Soto-Valdez et al. 2011). Οι ερευνητικές εργασίες που αξιολογούν τη σταθερότητα της δραστικής ένωσης κατά την αποθήκευση της εμπλουτισμένης μεμβράνης είναι περιορισμένες. Μετά από 5 εβδομάδες αποθήκευσης, οι Jiménez et al. (2013) παρατήρησαν ότι σύνθετες μεμβράνες αμύλου και καζεϊνικού νατρίου, στις οποίες είχε ενσωματωθεί ελαϊκό οξύ, έχασαν μέρος της αντιοξειδωτικής δράσης, ενώ οι αντίστοιχες μεμβράνες εμπλουτισμένες με α-τοκοφερόλη παρουσίασαν αυξημένη αντιοξειδωτική δράση. Οι León και Rojas (2007) παρατήρησαν μείωση της συγκέντρωσης του ασκορβικού οξέος σε σύνθετες μεμβράνες ζελατίνης και κόμμεος με αύξηση της σχετικής υγρασίας. Παρόμοια αποτέλεσμα παρατηρήθηκαν από τους De Nobili et al. (2013) σε μεμβράνες πηκτίνης. Η αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνει σημαντικά την αποικοδόμηση του ασκορβικού οξέος, ενώ το φως δεν επηρεάζει αυτή την αντίδραση σημαντικά (Eça et al., 2014).

4.6 Εφαρμογές εμπλουτισμένων ενεργών μεμβρανών συσκευασίας για την αντιοξειδωτική προστασία των τροφίμων

Οι βιβλιογραφικές αναφορές σχετικές με τη χρήση βρώσιμων μεμβρανών συσκευασίας εμπλουτισμένων με αντιοξειδωτικά σε τρόφιμα παρατίθενται στους Πίνακες 4.4 και 4.5. Τα πιο αποτελεσματικά φυσικά αντιοξειδωτικά για τα ιχθυηρά και τα προϊόντα κρέατος αποτελούν τα εκχυλίσματα ρίγανης και δεντρολίβανου. Πιο

συγκεκριμένα, υδατικά εκχυλίσματα των δύο αρωματικών φυτών προστέθηκαν σε βρώσιμα μεμβράνες ζελατίνης και ζελατίνης - χιτοζάνης και αποδείχθηκαν αποτελεσματικά στην επιβράδυνση της οξείδωσης καπνιστής σαρδέλας (Gómez-Estaca et al., 2007). Οι Bolumar et al. (2011) και Bolumar et al. (2016) χρησιμοποίησαν αιθανολικό εκχύλισμα δεντρολίβανου για την παρασκευή μεμβρανών LDPE στις οποίες συσκέασαν κοτόπουλο και χοιρινό. Στη συνέχεια, οι μεμβράνες με τα τρόφιμα συσκευάστηκαν ξανά σε πλαστική συσκευασία υπό κενό και υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με υψηλή πίεση. Η ενεργός συσκευασία καθυστέρησε την οξείδωση που προκάλεσε η επεξεργασία των προϊόντων με υψηλή πίεση και συνεπώς αύξησε τη διάρκεια ζωής των υπό μελέτη προϊόντων. Επιπλέον, στις ίδιες ερευνητικές εργασίες, παρατηρήθηκε ότι η χρήση ενεργών μεμβρανών συσκευασίας εμπλουτισμένων με φυσικά εκχυλίσματα προσέφεραν καλύτερη αντιοξειδωτική προστασία από ενεργές συσκευασίες δέσμευσης οξυγόνου.

Οι Giménez et al. (2004, 2005) χρησιμοποίησαν ένα εμπορικό υγρό εκχύλισμα δεντρολίβανου για τη διατήρηση φιλέτων τσιπούρας (*Sparus aurata*) και σολομού (*Salmo salar*) και διαπίστωσαν ότι η οξείδωση των ιχθύων επιβραδύνθηκε. Οι Serdaroglu και Felekoğlu (2005) και οι Varelzis et al. (1997) επίσης ανέφεραν καθυστέρηση στην οξείδωση λιπιδίων όταν ένα εμπορικό εκχύλισμα δεντρολίβανου χρησιμοποιήθηκε ως συντηρητικό στην κατεψυγμένη σαρδέλα και σκουμπρί, αντίστοιχα.

Οι Gómez-Estaca et al. (2007) χρησιμοποίησαν εκχυλίσματα ρίγανης και δεντρολίβανου σε μεμβράνες ζελατίνης, με τις οποίες συσκέασαν καπνιστή σαρδέλα και μελέτησαν την μεταφορά των φαινολικών ενώσεων από τη συσκευασία στο τρόφιμο. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταφορά των φαινολικών συστατικών του εκχυλίσματος ρίγανης στο τρόφιμο, ενώ η διάχυση των φαινολών του εκχυλίσματος δεντρολίβανου από τη μεμβράνη στα υχθυηρά ήταν σημαντική από τις πρώτες ημέρες αποθήκευσης. Μετρώντας τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης με τη μέθοδο του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARs), παρατηρήθηκε ότι το εκχύλισμα του δεντρολίβανου μείωσε σε μεγαλύτερο βαθμό το ρυθμό οξείδωσης των ιχθυηρών από το εκχύλισμα της ρίγανης, παρότι είχε χαμηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις. Οι διαφορετικές συμπεριφορές των δύο εκχυλισμάτων οφείλονται στις ποσοτικές και ποιοτικές διαφορές των φαινολικών ενώσεων που τα απαρτίζουν.

Τα εκχυλίσματα δεντρολίβανου και ρίγανης όταν προστίθενται σε βρώσιμες ή/και σε μη βρώσιμες μεμβράνες είναι ικανά να παρέχουν σημαντική αντιοξειδωτική προστασία στα τρόφιμα, αν και οι διαφορετικές διαδικασίες εκχύλισής τους, η μήτρα της μεμβράνης που χρησιμοποιείται για την ενσωμάτωση των αντιοξειδωτικών ή ακόμα και το ίδιο το τρόφιμο μπορεί να οδηγήσουν σε διαφορετικά αποτελέσματα. Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα των Gómez-Estaca et al. (2007) που παρουσιάστηκαν παραπάνω, οι Camo et al. (2008) χρησιμοποίησαν μεμβράνες πολυπροπυλενίου με εκχύλισμα ρίγανης και δεντρολίβανου για την συσκευασία μπριζόλας αρνιού. Η ρίγανη αποδείχτηκε πιο αποτελεσματική από το δεντρολίβανο στην αντιοξειδωτική προστασία του τροφίμου. Σε μια ακόλουθη έρευνα, οι Camo et al. (2011) απέδειξαν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος ρίγανης και της αντιοξειδωτικής δράσης που μπορεί να προσφέρει. Αύξηση της συγκέντρωσης του χρησιμοποιούμενου εκχυλίσματος οδήγησε σε αύξηση της αντιοξειδωτικής προστασίας των λιπαρών του τροφίμου. Αυτό το εύρημα συμφωνεί με τα αποτελέσματα των Reis Batista et al. (2015), οι οποίοι ενσωμάτωσαν εκχύλισμα yerba mate σε διαφορετικές συγκεντρώσεις σε βρώσιμες μεμβράνες αμύλου. Αντίθετα, οι Nerín et al. (2006) δεν βρήκαν σημαντικές διαφορές στην αντιοξειδωτική δράση μεμβρανών πολυπροπυλενίου εμπλουτισμένων με διαφορετικές συγκεντρώσεις εκχυλίσματος δεντρολίβανου. Στην έρευνα των Camo et al. (2011) παρατηρήθηκε ότι με την αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος, το άρωμα της ρίγανης έγινε πιο εμφανές, κάτι που είναι πιθανό να έχει αρνητικό αντίκτυπο στους καταναλωτές. Επομένως, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ιδανική συγκέντρωση του εκχυλίσματος ρίγανης σε ενεργές συσκευασίες θα πρέπει να είναι 1-2%.

Πίνακας 4.4 Εφαρμογές βρώσιμων μεμβρανών και επικαλύψεων εμπλουτισμένων με αντιοξειδωτικά σε τρόφιμα.

Είδος μεμβράνης ή επικάλυψης	Πρόσθετο	Τρόφιμο	Μέθοδος μέτρησης	Επίδραση της βρώσιμης επικάλυψης στην αντιοξειδωτική προστασία των τροφίμων	Βιβλιογραφία
Μεμβράνες ζελατίνης, Μεμβράνες ζελατίνης – χιτοζάνης με σορβιτόλη και γλυκερόλη	Υδατικά εκχύλισματα ρίγανης και δεντρολίβανου	Καπνιστή σαρδέλα	TBARS, PV, Free fatty acids (FFA), FRAP	Φαινολικές ενώσεις από το εκχύλισμα δεντρολίβανου μεταφέρθηκαν από τη μεμβράνη στο τρόφιμο. Το δεντρολίβανο προσέφερε καλύτερη αντιοξειδωτική προστασία του τροφίμου από τη ρίγανη.	Gómez- Estaca et al. (2007)
Μεμβράνες ζελατίνης με γλυκερόλη	GTE, ginger, εκχύλισμα φύλλων ginkgo, σπόροι σταφυλλίου	Λαρδί	DPPH, PV	Με αύξηση της συγκέντρωσης του προσθέτου παρατηρήθηκε και υψηλότερη αντιοξειδωτική προστασία. Όλα τα πρόσθετα που χρησιμοποιήθηκαν προστάτευσαν αποτελεσματικά το τρόφιμο.	Li et al. (2014)
Σύνθετες μεμβράνες με CMC, πρωτεΐνη ορού γάλακτος, καζεϊνικό νάτριο και γλυκερόλη	Αιθέρια έλαια ρίγανης και pimento	Βοδινό κρέας	TBARS, TPC, (N,N-diethyl-p-phenylenediamine) χρωματομετρική μέθοδος	Οι μεμβράνες με το αιθέριο έλαιο pimento παρουσίασαν την υψηλότερη αντιοξειδωτική προστασία επιτρέποντας τη σταδιακή απελευθέρωση φαινολικών ενώσεων στο τρόφιμο.	Oussalah et al (2004)
Επικάλυψη αλγινικού νατρίου με χλωριούχο ασβέστιο	Αιθέρια έλαια ρίγανης και δεντρολίβανου	Μπιριζόλες βοδινού κρέατος	TBARS, DPPH, FRAP, ABTS	Η χρήση αιθέριων ελαίων στις βρώσιμες επικαλύψεις είχαν αρνητική επίδραση στην αποδοχή των καταναλωτών. Το αιθέριο έλαιο ρίγανης παρουσίασε την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση σε όλες τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν.	Vital et al. (2016)
Μεμβράνες καζεϊνικού νατρίου με γλυκερόλη	Αιθέρια έλαια κανέλας και ginger	Ηλιέλαιο	ABTS, TEAC, PV	Το έλαιο κανέλας είχε καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα από το έλαιο ginger, αν και η ενσωμάτωσή τους στις μεμβράνες δεν αύξησε την αντιοξειδωτική προστασία σε σύγκριση με τις μη εμπλουτισμένες μεμβράνες.	Atarés et al. (2010)
Μεμβράνες HPMC με Tween	Ασκορβικό οξύ, κιτρικό οξύ και αιθέριο έλαιο ginger	Καβουρδισμένα αμύγδαλα	PV	Η προσθήκη ασκορβικού κιτρικού οξέος στις εδωδιμες μεμβράνες ανέστειλε την οξειδωτική υποβάθμιση του αμυγδαλέλαιου, ενώ η προσθήκη του αιθέριου ελαίου από ginger δεν είχε καμία επίδραση.	Atarés et al. (2011)
Επικάλυψη CMC με	Αιθέρια έλαια από θυμάρι και	Ψημένοι	DPPH, PV, CD,	Η προσθήκη των αιθέριων ελαίων στην επικάλυψη βελτίωσε τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του	Riveros et al.

γλυκερόλη	βασιλικό	ηλιόσποροι	<i>p</i> -AV	τροφιμού, αλλά μόνο η προσθήκη του θυμαριού βελτίωσε την οξειδωτική του σταθερότητα.	(2016)
Μεμβράνες χιτοζάνης με γλυκερόλη	GTE	Χοιρινά λουκάνικα	TBARS	Η προσθήκη πράσινου τσαγιού στις μεμβράνες χιτοζάνης ενίσχυσε την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, παρατείνοντας τη διάρκεια ζωής του τροφιμού.	Siripatrawan & Noipha (2012)
Επικάλυψη χιτοζάνης με γλυκερόλη	GTE	Καρυδόνηχα	TBARS, TPC, PV	Η προσθήκη πράσινου τσαγιού στις μεμβράνες χιτοζάνης μείωσε το ρυθμό οξείδωσης του προϊόντος. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην αντιοξειδωτική δράση των μεμβρανών όταν αυτές εμπλουτίστηκαν με διαφορετικές συγκεντρώσεις του εκχυλίσματος.	Sabaghi et al. (2015)
Μεμβράνες αμύλου μανιόκας με μάνγκο και γλυκερίνη	Υδατικό εκχύλισμα του φυτού yerba mate	Φοινικέλαιο	PV, καροτενοειδή	Τα εκχυλίσματα του φυτού Yerba mate εμφάνισαν υψηλή αντιοξειδωτική δράση, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε φαινολικές ενώσεις. Η αύξηση της συγκέντρωσης του πρόσθετου στις μεμβράνες, μείωσε το ρυθμό οξείδωσης του προϊόντος.	Reis Batista et al. (2015)
Μεμβράνες χιτοζάνης με ζελατίνη από βοοειδή	Εκχύλισμα cranberry	Ελαιόλαδο	DPPH, PV, TBARS	Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η προσθήκη των ανθοκυανών από cranberry βελτίωσε τις μηχανικές ιδιότητες, τη θερμική σταθερότητα και την αντιοξειδωτική ικανότητα των μεμβρανών. Οι εμπλουτισμένες μεμβράνες δύναται να χρησιμοποιηθούν ως λειτουργική συσκευασία τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά καθώς καθυστέρησαν σημαντικά την οξειδωτική υποβάθμιση του ελαιόλαδου.	Wang et al. (2019)
Μεμβράνες ζελατίνης	Εκχύλισμα βατόμουρο	Ελαιόλαδο	Folin – Ciocalteu, PV	Η πηκτινή βατόμουρου που εξήχθη από τα απόβλητα μετά από επεξεργασία του χυμού και ζελατίνη χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή σύνθετων μεμβρανών συσκευασίας. Η αντοχή στον εφελκυσμό και η θερμική σταθερότητα των μεμβρανών βελτιώθηκαν με την προσθήκη του εκχυλίσματος βατόμουρου, ενώ μειώθηκε η διαπερατότητα σε υδρατμούς. Οι μεμβράνες καθυστέρησαν την οξείδωση του ελαιόλαδου και την φωτοαποικοδόμηση της λουτεΐνης.	Ye et al. (2022)
Μεμβράνες από άμυλο μπιζελιού	Εκχύλισμα μούρων maqui	Σολωμός	ABTS, migration test, PV, TBARS	Διαφορετικές ποσότητες (0%-20%) εκχυλίσματος μούρων maqui ενσωματώθηκαν σε μεμβράνες από άμυλο μπιζελιού. Με αύξηση της συγκέντρωσης	Baek et al. (2019)

				του εκχυλίσματος μειώθηκε η ακαμψία των μεμβρανών και αυξήθηκε η αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Οι μεμβράνες που περιείχαν το εκχύλισμα μούρων σε συγκέντρωση 20% καθυστέρησαν την οξείδωση δειγμάτων σολομού κατά την αποθήκευσή τους στους 4 °C.	
Μεμβράνες κ-καρραγενάνης και υδροξυ-προπυλο-μεθυλο-κυτταρίνης	Εκχύλισμα chokecherry	Λαρδί	DPPH, PV	Η προσθήκη του εκχυλίσματος chokecherry αύξησε την ευελιξία, τις ιδιότητες φραγμού και την αντιοξειδωτική ικανότητα των μεμβρανών. Οι εμπλουτισμένες μεμβράνες επιβράδυναν την οξείδωση λαρδιού.	Sun et al. (2020)

Τα αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών έχουν χρησιμοποιηθεί ως πρόσθετα σε μεμβράνες ενεργού συσκευασίας προσφέροντας αντιμικροβιακή ή/και αντιοξειδωτική δράση. Οι Oussalah et al. (2004) χρησιμοποίησαν αιθέρια έλαια ρίγανης και pimento σε βρώσιμες μεμβράνες πρωτεΐνης ορού γάλακτος και μελέτησαν την αντιοξειδωτική τους δράση σε συσκευασμένο βόειο κρέας. Η ενσωμάτωση των αιθέριων ελαίων στις μεμβράνες δεν βελτίωσε την οξειδωτική πορεία των δειγμάτων κρέατος μετά από μέτρηση των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης με τη μέθοδο TBARS. Το αιθέριο έλαιο pimento είναι πλούσιο σε φαινολικές ενώσεις όπως η ευγενόλη, οι οποίες είναι ασταθείς και θα μπορούσαν να διασπαστούν δημιουργώντας φαινολικές αλδεϋδες. Αυτές οι αλδεϋδες θα μπορούσαν να προκαλέσουν παρόμοια αντίδραση με τη μηλοναλδεϋδη που προσδιορίζεται με τη μέθοδο TBARS και πιθανότατα θα αύξαναν τις λαμβανόμενες τιμές δευτερογενών προϊόντων, δηλαδή θα κάλυπταν την αντιοξειδωτική δράση του αιθέριου ελαίου. Τα αιθέρια έλαια κανέλας και ginger ήταν ανενεργά όταν ενσωματώθηκαν σε μεμβράνες καζεϊνικού νατρίου για την αντιοξειδωτική προστασία ηλιέλαιου (Atarés et al. 2010).

Οι Riveros et al. (2016), ενσωμάτωσαν αιθέρια έλαια θυμαριού και βασιλικού σε διαλύματα βρώσιμων επικαλύψεων CMC, μέσα στα οποία εμβαπτίστηκαν καβουρδισμένοι ηλιόσποροι. Τόσο η ίδια η επικάλυψη, όσο και ο συνδυασμός της επικάλυψης με τα αιθέρια έλαια μείωσαν το ρυθμό οξείδωσης του προϊόντος, όπως φάνηκε μετά από μετρήσεις των πρωτογενών (τιμή υπεροξειδίου, PV, συζευγμένα διένια,

CD) και δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης (τιμή p-ανισιδίνης, p-AV) των δειγμάτων ηλιόσπορου. Την καλύτερη αντιοξειδωτική προστασία προσέφερε ο συνδυασμός επικάλυψης και αιθέριου ελαίου από θυμάρι. Η χρήση των αιθέριων ελαίων ως πρόσθετα σε βρώσιμες μεμβράνες και επικαλύψεις ενδέχεται να έχει αρνητικό αντίκτυπο στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος λόγω του αρώματός τους (Rojas-Graü et al., 2009; Vital et al., 2016).

Το πράσινο τσαϊ έχει επιδείξει αξιοσημείωτη αντιοξειδωτική δράση ως πρόσθετο σε βρώσιμα ή/και μη βρώσιμα υλικά συσκευασίας. Οι Siripatrawan και Noipha (2012) πρόσθεσαν υδατικό εκχύλισμα από πράσινο τσαϊ (20% w/v) σε διαλύματα βρώσιμων επικαλύψεων χιτοζάνης, μέσα στα οποία εμβάπτισαν χοιρινά λουκάνικα. Μετά από μετρήσεις των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης του προϊόντος με την μέθοδο TBARS, απέδειξαν την ισχυρή αντιοξειδωτική δράση του εκχυλίσματος αυτού.

Οι Wang et al. (2019) μελέτησαν την επίδραση των ανθοκυανινών από cranberry σε σύνθετες μεμβράνες χιτοζάνης και ζελατίνης βοοειδών. Οι εμπλουτισμένες μεμβράνες καθυστέρησαν σημαντικά την οξειδωτική υποβάθμιση του ελαιόλαδου. Οι Ye et al. (2022) χρησιμοποίησαν πηκτίνη βατόμουρου που εξήχθη από τα απόβλητα μετά από την επεξεργασία του χυμού και ζελατίνη για την παρασκευή σύνθετων βρώσιμων μεμβρανών συσκευασίας. Οι μεμβράνες καθυστέρησαν την οξείδωση του ελαιόλαδου και την φωτοαποικοδόμηση της λουτεΐνης. Οι Baek et al. (2019) χρησιμοποίησαν διαφορετικές ποσότητες (0%-20%) εκχυλίσματος μούρων maqui σε μεμβράνες από άμυλο μπιζελιού. Με αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος αυξήθηκε η αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Οι μεμβράνες που περιείχαν το εκχύλισμα μούρων σε συγκέντρωση 20% καθυστέρησαν την οξείδωση δειγμάτων σολομού κατά την αποθήκευσή τους στους 4 °C.

Οι López de Dicastillo et al. (2011) ανέπτυξαν μία ενεργή συσκευασία από EVOH και εκχύλισμα πράσινου τσαγιού, με την οποία συσκέυασαν σαρδέλα σε άλμη ώστε να μελετήσουν την πορεία της οξειδωτικής της υποβάθμισης. Η ενεργή συσκευασία από EVOH με το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού μείωσε τους ρυθμούς αύξησης πρωτογενών και δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης σε μεγαλύτερο βαθμό από το ασκορβικό οξύ, το φερουλικό οξύ και την κερκετίνη (López de Dicastillo et al., 2012). Η απελευθέρωση δραστικών συστατικών από την ενεργό συσκευασία στο τρόφιμο εξαρτάται από τη

συγγένεια των συστατικών αυτών για το τρόφιμο (López de Dicastillo et al., 2012). η απελευθέρωση ασκορβικού και φερουλικού οξέος ήταν υψηλότερη στους προσομοιωτές τροφίμων με υψηλή ενεργότητα νερού, ενώ η απελευθέρωση κερκετίνης και εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού υψηλότερη σε αιθανολικό προσομοιωτή. Οι Jung et al. (2009) μείωσαν τον ρυθμό οξείδωσης ιχθυηρών όταν αυτά αποθηκεύτηκαν σε ενεργό συσκευασία από συμπολυμερές αιθυλενίου και οξικού βινυλίου εμπλουτισμένου με εκχύλισμα της ρίζας του χρένου.

Πίνακας 4.5 Εφαρμογή μη βρώσιμων ενεργών μεμβρανών συσκευασίας, εμπλουτισμένων με αντιοξειδωτικά σε προϊόντα διατροφής.

Είδος μεμβράνης ή επικάλυψης	Πρόσθετο	Τρόφιμο	Μέθοδος μέτρησης	Επίδραση της μη βρώσιμης επικάλυψης στην αντιοξειδωτική προστασία των τροφίμων	Βιβλιογραφία
Μεμβράνες πολυπροπυλενίου	Εκχυλίσματα ρίγανης και δεντρολίβανου (Amexol)	Μπριζόλες αρνιού	TBARs, ανάλυση μετμυσοσφαιρίνης	Οι μεμβράνες με το εκχύλισμα ρίγανης ήταν πιο αποτελεσματικές στην καθυστέρηση της οξείδωσης σε σύγκριση με εκείνες με το εκχύλισμα δεντρολίβανου, αλλά το ίδιο αποτελεσματικές με την προσθήκη του εκχυλίσματος δεντρολίβανου απευθείας στην επιφάνεια του τροφίμου. Τα δείγματα συσκευάστηκαν σε συνθήκες υψηλής περιεκτικότητας σε οξυγόνο για την καθυστέρηση της μικροβιακής ανάπτυξης.	Camo et al. (2008)
	Εκχύλισμα δεντρολίβανου (Amexol)	Μπριζόλες βοδινού κρέατος	TBARs, ανάλυση μετμυσοσφαιρίνης	Οι ρυθμοί σχηματισμού μετμυσοσφαιρίνης και TBARs μειώθηκαν με χρήση ενεργού συσκευασίας, αλλά η αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος δεντρολίβανου στη μεμβράνη δεν προκάλεσε σημαντικές διαφορές.	Nerín et al. (2006)
	Εκχύλισμα ρίγανης	Μπριζόλες βοδινού κρέατος	TBARs, ανάλυση μετμυσοσφαιρίνης	Η προσθήκη του εκχυλίσματος ρίγανης σε ποσοστό 1% στις μεμβράνες ήταν απαραίτητη προκειμένου να επιτευχθεί αύξηση της διάρκειας ζωής του προϊόντος κατά 9 ημέρες. Το τρόφιμο ήταν μη αποδεκτό από τους καταναλωτές όταν το εκχύλισμα προστέθηκε σε ποσοστό 4% λόγω της έντονης οσμής που έδωσε η ρίγανη. Οι καταλληλότερες συγκεντρώσεις προσθήκης εκχυλίσματος ρίγανης ήταν εκείνες του 1-2%.	Camo et al. (2011)

LDPE	Αιθανολικό εκχύλισμα δεντρολίβανου	Κοτόπουλο	TBARs	Η ενεργός συσκευασία καθυστέρησε (έως 25 ημέρες) την οξείδωση που προκλήθηκε από την επεξεργασία υψηλής πίεσης και, επομένως, η διάρκεια ζωής του προϊόντος παρατάθηκε.	Bolumar et al. (2011)
	Αιθανολικό εκχύλισμα δεντρολίβανου	Χοιρινά μπιφτέκια	TBARs	Η ενεργός συσκευασία με το εκχύλισμα δεντρολίβανου προστάτευσε αποτελεσματικά από την οξειδωτική αλλοίωση το προϊόν, σε αντίθεση με τις συσκευασίες δέσμευσης οξυγόνου.	Bolumar et al. (2016)
	Εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από φλοιούς κριθαριού	Σολωμός ατλαντικού	TBARs, PV, CD, συζυγή τριένια, p-AV, ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA)	Η ενεργός συσκευασία επιβράδυνε την οξείδωση των λιπαρών του τροφίμου και οι ρυθμοί μείωσης των προϊόντων οξείδωσης είναι εξαρτώμενοι από τη χρησιμοποιούμενη συγκέντρωση.	Pereira de Abreu et al. (2010)
		Ιππόγλωσσα ατλαντικού		Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν την ικανότητα της ενεργού συσκευασίας να αυξάνει την οξειδωτική σταθερότητα των ιχθυηρών.	Pereira de Abreu et al. (2011a)
		Γλαυκοκαρχαρίας		Η ενεργή συσκευασία επιβράδυνε την υδρόλυση και την οξείδωση των λιπαρών του μπλε καρχαρία.	Pereira de Abreu et al. (2011b)
Έλαια από πολτό αβοκάντο, σπόρους γαϊδουράγκαθου, σταφυλιού, ροδιού και λιναρόσπορου, αιθέρια έλαια σπόρων τριαντάφυλλου και τζίντζερ	Φρέσκο κρέας	DPPH, θερμοσυγκολλητικές ιδιότητες, άρωμα των αναπτυγμένων μεμβρανών	Οι μεμβράνες με την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα ήταν εκείνες με το έλαιο λιναρόσπορου, σπόρων σταφυλιού και με τα αιθέρια έλαια τζίντζερ και τριαντάφυλλου. Οι μεμβράνες LDPE 50 μm με λάδι λιναρόσπορου, παρέτειναν κατά 22% τη διάρκεια ζωής του φρέσκου κρέατος. Η συγκέντρωση του λιναρόσπορου ήταν καθοριστική για τις αντιοξειδωτικές ικανότητες του φιλμ.	Wrona et al. (2021)	
Μεμβράνες συμπολυμερούς EVOH	Ασκορβικό οξύ, φερουλικό οξύ, κερκετίνη, GTE	Σαρδέλες σε άλμη	TBARs, PV	Οι μεμβράνες με GTE ήταν οι πιο αποτελεσματικές, μειώνοντας τους ρυθμούς αύξησης τόσο των πρωτογενών όσο και των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης. Το φερουλικό οξύ και η κερσετίνη είχαν επίσης καλή προστατευτική δράση, ενώ το ασκορβικό οξύ δεν είχε καμία επίδραση στην οξειδωτική υποβάθμιση του προϊόντος.	López de Dicastillo et al. (2012)
Μεμβράνες συμπολυμερούς αιθυλενίου και	Μεθανολικό εκχύλισμα χρένου	Χοιρινό κρέας και σκουμπρί	TBARs, DPPH, PV	Η ενεργός συσκευασία μείωσε σημαντικά τον ρυθμό αύξησης των υδροϋπεροξειδίων των ιχθυηρών αλλά όχι του χοιρινού κρέατος. Η αύξηση των	Jung et al. (2009)

οξικού βινυλίου				δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης μειώθηκε σημαντικά και για τα δύο υπό μελέτη προϊόντα.	
Μεμβράνες CMC-PVA	Αιθέριο έλαιο κανέλας	Ψωμί	DPPH, Folin - Ciocalteu	Η προσθήκη αιθέριου ελαίου κανέλας στις σύνθετες μεμβράνες βελτίωσε τις αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητές τους παρέχοντας μία εναλλακτική λύση για την αύξηση της διάρκειας ζωής του ψωμιού.	Fasihi et al. (2019)
Μεμβράνες πολυαιθυλενίου	Λυοφιλωμένο εκχύλισμα δεντρολίβανου	Ηλιέλαιο	Film microstructure, migration test, rancimat test, PV, p-anisidine, TBARs	Η προσθήκη του εκχυλίσματος δεντρολίβανου αύξησε την οξειδωτική σταθερότητα του εμπλουτισμένου ελαίου.	Baghdadi et al. (2019)
	Εκχύλισμα εσπεριδοειδών	Κρέας αρνιού	TBARs	Η επικάλυψη των προϊόντων με το εκχύλισμα εσπεριδοειδών μείωσε σημαντικά το ρυθμό αύξησης των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης σε σύγκριση με δείγματα με την επικάλυψη με α-τοκοφερόλη και με δείγματα χωρίς επικάλυψη, τα οποία δεν παρουσίασαν αντιοξειδωτικές ιδιότητες.	Contini et al. (2011)
	α-τοκοφερόλη				

Οι Pereira de Abreu et al. (2010, 2011a, 2011b) χρησιμοποίησαν μεμβράνη LDPE επικαλυμμένη με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από φλοιούς κριθαριού σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις για τη μελέτη της οξειδωτικής σταθερότητας ιχθυηρών. Οι κύριες φαινολικές ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν με υγρή χρωματογραφία ήταν το π-κουμαρικό και το φερουλικό οξύ. Η ενεργός συσκευασία προστάτευσε αποτελεσματικά δείγματα σολομού, ιππόγλωσσας και γλαυκοκαρχαρία από οξειδωτικά φαινόμενα κατά την αποθήκευσή τους σε κατάψυξη. Παρατηρήθηκε μείωση του ρυθμού αύξησης τόσο των πρωτογενών όσο και των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης. Αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος στη συσκευασία είχε ως αποτέλεσμα υψηλότερη προστασία του προϊόντος από οξειδωτικά φαινόμενα, αν και παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των τριών ειδών ιχθυηρών που μελετήθηκαν.

Το υλικό που θα χρησιμοποιηθεί για τη παρασκευή ενεργού συσκευασίας θα πρέπει να επιτρέπει τη μεταφορά αντιοξειδωτικών ενώσεων από τη συσκευασία στο τρόφιμο. Η μετανάστευση των πρόσθετων ουσιών στο τρόφιμο ή στην επιφάνειά του ενδέχεται να οδηγήσει σε αναστολή της οξειδωτικής του αλλοίωσης, παρατείνοντας τη διάρκεια ζωής

του προϊόντος. Το υλικό και η μορφολογία της μεμβράνης μπορεί να έχουν επίδραση στον ρυθμό απελευθέρωσης των φαινολικών ενώσεων και επομένως στην αντιοξειδωτική ικανότητα της ενεργού συσκευασίας. Επίδραση στην μετανάστευση των αντιοξειδωτικών ενώσεων από τη συσκευασία στο τρόφιμο έχει και η συγγένεια, χημική δομή και πολικότητα, των ενώσεων αυτών με το συσκευασμένο τρόφιμο. Επίσης, η μικροδομή της πολυμερικής συσκευασίας μπορεί να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό την κινητικότητα της δραστικής ουσίας μέσα στην μεμβράνη (LaCoste et al., 2005). Σύμφωνα με τους Baghdadadi et al. (2019), η χρήση ενεργού συσκευασίας πολυαιθυλενίου με εκχύλισμα δεντρολίβανου αύξησε την οξειδωτική σταθερότητα ηλιέλαιου και το εκχύλισμα δεντρολίβανου που χρησιμοποιήθηκε αποδείχτηκε εξίσου αποτελεσματικό με το συνθετικό αντιοξειδωτικό BHT. Οι Contini et al. (2011) παρατήρησαν ότι οι υδρόφιλες φαινολικές ομάδες βιοφλαβονοειδών από εκχυλίσματα εσπεριδοειδών προστάτευαν αποτελεσματικά από την οξειδωτική αλλοίωση προϊόντα κρέατος επειδή ήταν προσανατολισμένα προς την επιφάνεια της μεμβράνης και βρίσκονταν σε επαφή με το τρόφιμο. Αντίθετα, η α-τοκοφερόλη ήταν προσανατολισμένη με την υδρόφοβη πλευρική της αλυσίδα στην επιφάνεια της μεμβράνης, και κατά συνέπεια, το ενεργό μέρος της δεν βρισκόταν σε επαφή με το τρόφιμο και δεν προσέφερε ικανοποιητική προστασία. Οι Wessling et al. (1999) μελέτησαν τη μεταφορά της α-τοκοφερόλης από μεμβράνες πολυαιθυλενίου ή πολυπροπυλενίου χαμηλής πυκνότητας σε τρόφιμα και προσομοιωτές τροφίμων. Το αντιοξειδωτικό μεταφέρθηκε εύκολα από τις μεμβράνες πολυαιθυλενίου σε προϊόντα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά ή αλκοόλ. Σε αντίθεση με τα φιλμ πολυαιθυλενίου, τα φιλμ από πολυπροπυλένιο δεν έδειξαν καμία διαδραστική τάση μεταφοράς της α-τοκοφερόλης προς κανένα από τα τρόφιμα. Η περιεκτικότητα της α-τοκοφερόλης στο φιλμ πολυπροπυλενίου παρέμεινε ανεπηρέαστη και ήταν ικανή να δράσει ως δεσμευτής οξυγόνου στην επιφάνεια ενός συσκευασμένου τροφίμου. Οι Fasihí et al. (2019) χρησιμοποίησαν τη μέθοδο Pickering για την παρασκευή γαλακτώματος και διερεύνησαν τις αντιοξειδωτικές και αντιμυκητιακές ιδιότητες μεμβρανών καρβοξυμεθυλοκυτταρίνης (CMC) - πολυβινυλικής αλκοόλης (PVA) εμπλουτισμένες με το αιθέριο έλαιο κανέλας. Η αντιοξειδωτική δράση των μεμβρανών αξιολογήθηκε με τη μέθοδο DPPH και δοκιμάστηκε η αντιμυκητιακή του αποτελεσματικότητα στη διάρκεια

ζωής ψωμιού. Τα αποτελέσματα απέδειξαν τις καλές προοπτικές εφαρμογής των μεμβρανών αυτών στη συντήρηση του ψωμιού.

Βιβλιογραφία 4^ο κεφαλαίου

Abdollahi, M., Rezaei, M., & Farzi, G. (2012a). A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. *Journal of Food Engineering*, 111(2), 343–350.

Abdollahi, M., Rezaei, M., & Farzi, G. (2012b). Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *International journal of food science & technology*, 47(4), 847–853.

Ahvenainen, R. (Ed.). (2003). *Novel food packaging techniques*. Elsevier.

Akhtar, M. J. (2012). Functionalization and Characterization of Bioactive Films Based on HPMC: Influence of Antioxidants Inclusion on Films Properties and Food Preservation (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

Altenhofen, M., Krause, A. C., & Guenter, T. (2009). Alginate and pectin composite films crosslinked with Ca⁺² ions: effect of the plasticizer concentration. *Carbohydrate Polymers*, 77, 736–742.

Aminlari, M., Ramezani, R., & Khalili, M. H. (2005). Production of protein-coated low-fat potato chips. *Food science and technology international*, 11(3), 177–181.

Arcan, I., & Yemenicioğlu, A. (2011). Incorporating phenolic compounds opens a new perspective to use zein films as flexible bioactive packaging materials. *Food Research International*, 44(2), 550–556.

Atarés, L., Bonilla, J., & Chiralt, A. (2010). Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*, 100(4), 678–687.

Atarés, L., Pérez-Masiá, R. O. C. Í. O., & Chiralt, A. (2011). The role of some antioxidants in the HPMC film properties and lipid protection in coated toasted almonds. *Journal of food engineering*, 104(4), 649–656.

Baek, S. K., Kim, S., & Song, K. B. (2019). Cowpea starch films containing maqui berry extract and their application in salmon packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 22, 100394.

Baghdadi, M., Ahmadi, S., Farhoodi, M., Abedi, A. S., & Omid, N. (2019). The effect of high-density polyethylene active packages containing rosemary extract powder on oxidative stability of sunflower oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(4), 2910–2920.

Balasubramaniam, V. M., Chinnan, M. S., Mallikarjunan, P., & Phillips, R. D. (1997). The effect of edible film on oil uptake and moisture retention of a deep-fat fried poultry product. *Journal of Food Process Engineering*, 20(1), 17–29.

Bifani, V., Ramírez, C., Ihl, M., Rubilar, M., García, A., & Zaritzky, N. (2007). Effects of murta (*Ugni molinae* Turcz) extract on gas and water vapor permeability of carboxymethylcellulose-based edible films. *LWT-Food Science and Technology*, 40(8), 1473–1481.

Bizymis, A. P., Giannou, V., & Tzia, C. (2022). Improved Properties of Composite Edible Films Based on Chitosan by Using Cellulose Nanocrystals and Beta-Cyclodextrin. *Applied Sciences*, 12(17), 8729.

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

Bolumar, T., LaPeña, D., Skibsted, L. H., & Orlie, V. (2016). Rosemary and oxygen scavenger in active packaging for prevention of high-pressure induced lipid oxidation in pork patties. *Food Packaging and Shelf Life*, 7, 26–33.

Bourtoom, T. (2008). Edible films and coatings: characteristics and properties. *International food research journal*, 15(3), 237–248.

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

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

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

Cao, N., Fu, Y., & He, J. (2007). Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid. *Food Hydrocolloids*, 21(4), 575–584.

Cerqueira, M. A., Souza, B. W., Martins, J. T., Teixeira, J. A., & Vicente, A. A. (2010). Seed extracts of *Gleditsia triacanthos*: functional properties evaluation and incorporation into galactomannan films. *Food Research International*, 43(8), 2031–2038.

Cerqueira, M. A., Sousa-Gallagher, M. J., Macedo, I., Rodriguez-Aguilera, R., Souza, B. W., Teixeira, J. A., & Vicente, A. A. (2010). Use of galactomannan edible coating

application and storage temperature for prolonging shelf-life of “Regional” cheese. *Journal of Food Engineering*, 97(1), 87–94.

Contini, C., Katsikogianni, M. G., O’Neill, F. T., O’Sullivan, M., Dowling, D. P., & Monahan, F. J. (2011). Development of active packaging containing natural antioxidants. *Procedia Food Science*, 1, 224–228.

Curcio, M., Puoci, F., Iemma, F., Parisi, O. I., Cirillo, G., Spizzirri, U. G., & Picci, N. (2009). Covalent insertion of antioxidant molecules on chitosan by a free radical grafting procedure. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(13), 5933–5938.

Dainelli, D., Gontard, N., Spyropoulos, D., Zondervan-van den Beuken, E., & Tobback, P. (2008). Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. *Trends in Food Science & Technology*, 19, S103–S112.

Daraei Garmakhany, A., Mirzaei, H. O., Maghsudlo, Y., Kashaninejad, M., & Jafari, S. M. (2014). Production of low fat french-fries with single and multi-layer hydrocolloid coatings. *Journal of Food Science and Technology*, 51(7), 1334–1341.

Dashipour, A., Khaksar, R., Hosseini, H., Shojaee-Aliabadi, S., & Ghanati, K. (2014). Physical, antioxidant and antimicrobial characteristics of carboxymethyl cellulose edible film cooperated with clove essential oil. *Zahedan Journal of research in medical Sciences*, 16(8).

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

de Abreu, D. P., Losada, P. P., Maroto, J., & Cruz, J. M. (2011a). Lipid damage during frozen storage of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) in active packaging film containing antioxidants. *Food Chemistry*, 126(1), 315–320.

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

de Abreu, D. P., Rodriguez, K. V., & Cruz, J. M. (2012). Extraction, purification and characterization of an antioxidant extract from barley husks and development of an antioxidant active film for food package. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 13, 134–141.

De Dicastillo, C. L., Rodríguez, F., Guarda, A., & Galotto, M. J. (2016). Antioxidant films based on cross-linked methyl cellulose and native Chilean berry for food packaging applications. *Carbohydrate Polymers*, 136, 1052–1060.

De Nobili, M. D., Pérez, C. D., Navarro, D. A., Stortz, C. A., & Rojas, A. M. (2013). Hydrolytic stability of L-(+)-ascorbic acid in low methoxyl pectin films with potential antioxidant activity at food interfaces. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 186–197.

Eça, K. S., Sartori, T., & Menegalli, F. C. (2014). Films and edible coatings containing antioxidants—a review. *Brazilian Journal of Food Technology*, 17, 98–112.

Embuscado, M. E., & Huber, K. C. (2009). *Edible films and coatings for food applications* (Vol. 9). New York, NY, USA: Springer.

Espitia, P. J. P., Du, W. X., de Jesús Avena-Bustillos, R., Soares, N. D. F. F., & McHugh, T. H. (2014). Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties—A review. *Food hydrocolloids*, 35, 287–296.

Fabra, M. J., Hambleton, A., Talens, P., Debeaufort, F., & Chiralt, A. (2011). Effect of ferulic acid and α -tocopherol antioxidants on properties of sodium caseinate edible films. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1441–1447.

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

Fasihi, H., Noshirvani, N., Hashemi, M., Fazilati, M., Salavati, H., & Coma, V. (2019). Antioxidant and antimicrobial properties of carbohydrate-based films enriched with cinnamon essential oil by Pickering emulsion method. *Food Packaging and Shelf Life*, 19, 147–154.

Garcia, M. A., Ferrero, C., Bertola, N., Martino, M., & Zaritzky, N. (2002). Edible coatings from cellulose derivatives to reduce oil uptake in fried products. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(4), 391–397.

Galus, S., & Lenart, A. (2013). Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. *Journal of Food Engineering*, 115, 459–465.

Genskowsky, E., Puente, L. A., Pérez-Álvarez, J. A., Fernandez-Lopez, J., Muñoz, L. A., & Viuda-Martos, M. (2015). Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with maqui berry (*Aristotelia chilensis*). *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 1057–1062.

Ghanbarzadeh, B., Almasi, H., & Entezami, A. A. (2010). Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films. *Innovative food science & emerging technologies*, 11(4), 697–702.

Giménez, B., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2004). The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality characteristics of gilt-head sea bream fillets (*Sparus aurata*) packaged in a modified atmosphere. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(9), 1053–1060.

Giménez, B., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2005). The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality of salmon (*Salmo salar*) fillets packaged in modified atmosphere. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 1033–1040.

Gómez-Estaca, J., Montero, P., Giménez, B., & Gómez-Guillén, M. C. (2007). Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Food chemistry*, 105(2), 511–520.

Gómez-Estaca, J., Bravo, L., Gómez-Guillén, M. C., Alemán, A., & Montero, P. (2009a). Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. *Food Chemistry*, 112(1), 18–25.

Gómez-Estaca, J., Giménez, B., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2009b). Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *Journal of Food Engineering*, 92(1), 78–85.

Gómez-Estaca, J., López-de-Dicastillo, C., Hernández-Muñoz, P., Catalá, R., & Gavara, R. (2014). Advances in antioxidant active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 35(1), 42–51.

Gutiérrez, M. Q., Echeverría, I., Ihl, M., Bifani, V., & Mauri, A. N. (2012). Carboxymethylcellulose–montmorillonite nanocomposite films activated with murta (*Ugni molinae* Turcz) leaves extract. *Carbohydrate polymers*, 87(2), 1495–1502.

Han, J. H., & Krochta, J. M. (2007). Physical properties of whey protein coating solutions and films containing antioxidants. *Journal of food science*, 72(5), E308–E314.

Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., & Farahmandghavi, F. (2015). Fabrication of bio-nanocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles. *Food hydrocolloids*, 44, 172–182.

Jiménez, A., Fabra, M. J., Talens, P., & Chiralt, A. (2013). Physical properties and antioxidant capacity of starch–sodium caseinate films containing lipids. *Journal of Food Engineering*, 116(3), 695–702.

Jung, D. C., Lee, S. Y., Yoon, J. H., Hong, K. P., Kang, Y. S., Park, S. R., Park, S. K., Ha, S. D., Kim, G. H., & Bae, D. H. (2009). Inhibition of pork and fish oxidation by a novel plastic film coated with horseradish extract. *LWT-Food science and technology*, 42(4), 856–861.

Khwaldia, K., Perez, C., Banon, S., Desobry, S., & Hardy, J. (2004). Milk proteins for edible films and coatings. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 239–251.

LaCoste, A., Schaich, K. M., Zumbrennen, D., & Yam, K. L. (2005). Advancing controlled release packaging through smart blending. *Packaging Technology and Science: An International Journal*, 18(2), 77–87.

Leon, P. G., & Rojas, A. M. (2007). Gellan gum films as carriers of l-(+)-ascorbic acid. *Food research international*, 40(5), 565–575.

Li, J. H., Miao, J., Wu, J. L., Chen, S. F., & Zhang, Q. Q. (2014). Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. *Food Hydrocolloids*, 37, 166–173.

López de Dicastillo, C., Nerín, C., Alfaro, P., Catalá, R., Gavara, R., & Hernández-Muñoz, P. (2011). Development of new antioxidant active packaging films based on ethylene vinyl alcohol copolymer (EVOH) and green tea extract. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(14), 7832–7840.

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

López de Dicastillo, C., Navarro, R., Guarda, A., & Galotto, M. J. (2015). Development of biocomposites with antioxidant activity based on red onion extract and acetate cellulose. *Antioxidants*, 4(3), 533–547.

López-Mata, M. A., Ruiz-Cruz, S., Silva-Beltrán, N. P., Ornelas-Paz, J. D. J., Zamudio-Flores, P. B., & BurrueI-Ibarra, S. E. (2013). Physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with carvacrol. *Molecules*, 18(11), 13735–13753.

Marcos, B., Sárraga, C., Castellari, M., Kappen, F., Schennink, G., & Arnau, J. (2014). Development of biodegradable films with antioxidant properties based on polyesters containing α -tocopherol and olive leaf extract for food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 1(2), 140–150.

Martins, J. T., Cerqueira, M. A., & Vicente, A. A. (2012). Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. *Food hydrocolloids*, 27(1), 220–227.

Martins, M. R., Angers, D. A., & Corá, J. E. (2012). Co-accumulation of microbial residues and particulate organic matter in the surface layer of a no-till Oxisol under different crops. *Soil Biology and Biochemistry*, 50, 208–213.

Mei, Y., & Zhao, Y. (2003). Barrier and mechanical properties of milk protein edible films containing nutraceuticals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1914–1918.

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

Mathew, S., & Abraham, T. E. (2008). Characterisation of ferulic acid incorporated starch–chitosan blend films. *Food hydrocolloids*, 22(5), 826–835.

Mayachiew, P., & Devahastin, S. (2010). Effects of drying methods and conditions on release characteristics of edible chitosan films enriched with Indian gooseberry extract. *Food Chemistry*, 118(3), 594–601.

Mazza, G., & Qi, H. (1991). Control of after-cooking darkening in potatoes with edible film-forming products and calcium chloride. *Journal of agricultural and food chemistry*, 39(12), 2163–2166.

Moutsatsou, P., Tzia, C., Kerasiotis, T., & Skondras, D. (2011). Prolongation of table olive shelf-life by combining edible coating application and modified atmosphere packaging (MAP).

Nerín, C., Tovar, L., Djenane, D., Camo, J., Salafranca, J., Beltrán, J. A., & Roncalés, P. (2006). Stabilization of beef meat by a new active packaging containing natural antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7840–7846.

Norajit, K., Kim, K. M., & Ryu, G. H. (2010). Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. *Journal of Food Engineering*, 98(3), 377–384.

Oregel-Zamudio, E., Angoa-Pérez, M. V., Oyoque-Salcedo, G., Aguilar-González, C. N., & Mena-Violante, H. G. (2017). Effect of candelilla wax edible coatings combined with biocontrol bacteria on strawberry quality during the shelf-life. *Scientia Horticulturae*, 214, 273–279.

Orliac, O., Rouilly, A., Silvestre, F., & Rigal, L. (2002). Effects of additives on the mechanical properties, hydrophobicity and water uptake of thermo-moulded films produced from sunflower protein isolate. *Polymer*, 43(20), 5417–5425.

Ou, S., Wang, Y., Tang, S., Huang, C., & Jackson, M. G. (2005). Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. *Journal of food engineering*, 70(2), 205–210.

Oussalah, M., Caillet, S., Salmiéri, S., Saucier, L., & Lacroix, M. (2004). Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(18), 5598–5605.

Pastor, C., Sánchez-González, L., Chiralt, A., Cháfer, M., & González-Martínez, C. (2013). Physical and antioxidant properties of chitosan and methylcellulose based films containing resveratrol. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 272–280.

Peng, Y., Wu, Y., & Li, Y. (2013). Development of tea extracts and chitosan composite films for active packaging materials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 59, 282–289.

Qin, Y. Y., Zhang, Z. H., Li, L., Yuan, M. L., Fan, J., & Zhao, T. R. (2015). Physio-mechanical properties of an active chitosan film incorporated with montmorillonite and natural antioxidants extracted from pomegranate rind. *Journal of food science and technology*, 52(3), 1471–1479.

Rayner, M., Ciolfi, V., Maves, B., Stedman, P., & Mittal, G. S. (2000). Development and application of soy-protein films to reduce fat intake in deep-fried foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(6), 777–782.

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

Reis, L. C. B., de Souza, C. O., da Silva, J. B. A., Martins, A. C., Nunes, I. L., & Druzian, J. I. (2015). Active biocomposites of cassava starch: The effect of yerba mate extract and mango pulp as antioxidant additives on the properties and the stability of a packaged product. *Food and Bioproducts Processing*, 94, 382–391.

Riveros, C. G., Nepote, V., & Grosso, N. R. (2016). Thyme and basil essential oils included in edible coatings as a natural preserving method of oilseed kernels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(1), 183–191.

Rodrigues, S., & Fernandes, F. A. N. (Eds.). (2012). *Advances in fruit processing technologies*.

Rojas-Graü, M. A., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2009). Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. *Trends in food science & technology*, 20(10), 438–447.

Rubilar, J. F., Cruz, R. M., Silva, H. D., Vicente, A. A., Khmelinskii, I., & Vieira, M. C. (2013). Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. *Journal of Food Engineering*, 115(4), 466–474.

Sabaghi, M., Maghsoudlou, Y., Khomeiri, M., & Ziaifar, A. M. (2015). Active edible coating from chitosan incorporating green tea extract as an antioxidant and antifungal on fresh walnut kernel. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 224–228.

Serdaroğlu, M., & Felekoğlu, E. (2005). Effects of using rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. *Journal of Food Quality*, 28(2), 109–120.

Singh, S., Khemariya, P., Rai, A., Rai, A. C., Koley, T. K., & Singh, B. (2016). Carnauba wax-based edible coating enhances shelf-life and retain quality of eggplant (*Solanum melongena*) fruits. *LWT*, 74, 420–426.

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

Siripatrawan, U., & Harte, B. R. (2010). Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food hydrocolloids*, 24(8), 770–775.

Siripatrawan, U., & Noipha, S. (2012). Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. *Food hydrocolloids*, 27(1), 102–108.

Shojaee-Aliabadi, S., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mohammadi, A., Ghasemlou, M., Ojagh, S. M., Hosseini, S. M., & Khaksar, R. (2013). Characterization of antioxidant-antimicrobial κ -carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. *International journal of biological macromolecules*, 52, 116–124.

Soto-Valdez, H., Auras, R., & Peralta, E. (2011). Fabrication of poly (lactic acid) films with resveratrol and the diffusion of resveratrol into ethanol. *Journal of Applied Polymer Science*, 121(2), 970–978.

Stuchell, Y. M., & Krochta, J. M. (1995). Edible coatings on frozen king salmon: Effect of whey protein isolate and acetylated monoglycerides on moisture loss and lipid oxidation. *Journal of food science*, 60(1), 28–31.

Tan, W., Zhang, J., Zhao, X., Li, Q., Dong, F., & Guo, Z. (2020). Preparation and physicochemical properties of antioxidant chitosan ascorbate/methylcellulose composite films. *International journal of biological macromolecules*, 146, 53–61.

Tavassoli-Kafrani, E., Shekarchizadeh, H., & Masoudpour-Behabadi, M. (2016). Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydrate polymers*, 137, 360–374.

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

Tsimogiannis, D., Bimpilas, A., & Oreopoulou, V. (2017). DPPH radical scavenging and mixture effects of plant o-diphenols and essential oil constituents. *European journal of lipid science and technology*, 119(9), 16003473.

Vareltzis, K., Koufidis, D., Gavriilidou, E., Papavergou, E., & Vasiliadou, S. (1997). Effectiveness of a natural rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung. A*, 205, 93–96.

Vermeiren, L., Devlieghere, F., van Beest, M., de Kruijf, N., & Debevere, J. (1999). Developments in the active packaging of foods. *Trends in food science & technology*, 10(3), 77–86.

Vital, A. C. P., Guerrero, A., Monteschio, J. D. O., Valero, M. V., Carvalho, C. B., de Abreu Filho, B. A., Madrona, G. S., & Do Prado, I. N. (2016). Effect of edible and active coating (with rosemary and oregano essential oils) on beef characteristics and consumer acceptability. *PloS one*, 11(8), e0160535.

Wang, Q., Tian, F., Feng, Z., Fan, X., Pan, Z., & Zhou, J. (2015). Antioxidant activity and physicochemical properties of chitosan films incorporated with *Lycium barbarum* fruit extract for active food packaging. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(2), 458–464.

Wang, S., Xia, P., Wang, S., Liang, J., Sun, Y., Yue, P., & Gao, X. (2019). Packaging films formulated with gelatin and anthocyanins nanocomplexes: Physical properties, antioxidant activity and its application for olive oil protection. *Food Hydrocolloids*, 96, 617–624.

Wessling, C., Nielsen, T., Leufvén, A., & Jägerstad, M. (1999). Retention of α -tocopherol in low-density polyethylene (LDPE) and polypropylene (PP) in contact with foodstuffs and food-simulating liquids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(12), 1635–1641.

Wrona, M., Silva, F., Salafranca, J., Nerín, C., Alfonso, M. J., & Caballero, M. Á. (2021). Design of new natural antioxidant active packaging: Screening flowsheet from pure essential oils and vegetable oils to ex vivo testing in meat samples. *Food Control*, 120, 107536.

Ye, X., Liu, R., Qi, X., Wang, X., Wang, Y., Chen, Q., & Gao, X. (2022). Preparation of bioactive gelatin film using semi-refined pectin reclaimed from blueberry juice pomace: Creating an oxidation and light barrier for food packaging. *Food Hydrocolloids*, 129, 107673.

Yuan, G., Lv, H., Yang, B., Chen, X., & Sun, H. (2015). Physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of chitosan films containing carvacrol and pomegranate peel extract. *Molecules*, 20(6), 11034–11045.

Zhang, L., & Kosaraju, S. L. (2007). Biopolymeric delivery system for controlled release of polyphenolic antioxidants. *European polymer journal*, 43(7), 2956–2966.

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

Κεφάλαιο 5ο: Πειραματική διαδικασία

5.1 Σκοπός

Τα λίπη και τα έλαια αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της διατροφής του ανθρώπου. Η διατηρησιμότητα των λιπαρών υλών αποτελεί μεγάλο ζητούμενο ακόμη και στις μέρες μας, καθώς οι συνθήκες διακίνησης και διάθεσης των συγκεκριμένων προϊόντων είναι συχνά μη ενδεδειγμένες, με αποτέλεσμα την ποιοτική τους υποβάθμιση. Οι ανάγκες των καταναλωτών έχουν εξελιχθεί σε τέτοιο βαθμό ώστε να αναζητούνται εκτός από θρεπτικά και ευχάριστα οργανοληπτικά τρόφιμα, επιπλέον και λειτουργικά. Η ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών, όπως τα αντιοξειδωτικά, σε τρόφιμα ή/και συστήματα τροφίμων, αποτελεί έναν απλό τρόπο να παρασκευαστούν νέα λειτουργικά τρόφιμα με οφέλη για την υγεία του ανθρώπου καθώς μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισης ασθενειών. Ο εμπλουτισμός ελαίων με φυσικά αντιοξειδωτικά είναι αρκετά μελετημένος βιβλιογραφικά. Ενώ υπάρχουν αρκετές αναφορές σχετικά με την αντιοξειδωτική δράση φυσικών αντιοξειδωτικών σε γαλακτώματα, τόσο πρότυπων ουσιών, όσο και εκχυλισμάτων, τα αποτελέσματα των ερευνών είναι σε αρκετές περιπτώσεις αντικρουόμενα.

Μεταξύ των μεθόδων προστασίας των λιπαρών υλών από οξειδωτικά φαινόμενα, εξέχουσα θέση κατέχει η χρήση αντιοξειδωτικών. Μπορεί να υπάρχουν φυσικά στα τρόφιμα ή να προστίθενται σε αυτά κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας τους. Η έρευνα στη τεχνολογία τροφίμων έχει στραφεί στην αναζήτηση φυσικών αντιοξειδωτικών έναντι συνθετικών, καθώς παρέχουν παρόμοια ή ακόμα και υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση από τα συνθετικά, είναι γενικά αποδεκτά από τους καταναλωτές και επιπλέον μπορούν να δώσουν στα τρόφιμα βιοενεργές ιδιότητες προάγοντας την υγεία του ανθρώπου. Το ασκορβικό οξύ, τα καροτενοειδή, τα φλαβονοειδή, τα φαινολικά οξέα και οι τοκοφερόλες είναι από τα πιο γνωστά φυσικά αντιοξειδωτικά.

Τα αρωματικά φυτά αποτελούν πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών καθώς είναι πλούσια σε φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή. Μια από τις οικογένειες αρωματικών φυτών αποτελεί η οικογένεια Lamiaceae. Φύεται σε όλη την ελληνική επικράτεια και

ευδοκιμεί σε θερμά και ξηρά κλίματα. Η ρίγανη, το δεντρολίβανο, το θρούμπι και το θυμάρι αποτελούν ορισμένα από τα φυτά της συγκεκριμένης οικογένειας. Το δεντρολίβανο αποτελεί αναγνωρισμένο φυσικό αντιοξειδωτικό από την ευρωπαϊκή ένωση και είναι αρκετά μελετημένο βιβλιογραφικά. Παρ'ολ'αυτά η χρήση των εκχυλισμάτων του από την αποσμημένη φυτόμαζα, η οποία αποτελεί παραπροϊόν της βιομηχανίας παραλαβής αιθέριων ελαίων και είναι πλούσια σε φαινολικά συστατικά, και η ενσωμάτωση τους σε βρώσιμες επικαλύψεις είναι περιορισμένη. Το θυμάρι και το θρούμπι δεν είναι αρκετά μελετημένα βιβλιογραφικά. Συγκεκριμένα για το θρούμπι, οι αναφορές που υπάρχουν περιορίζονται στην μελέτη του φαινολικού του προφίλ. Η ρίγανη δεν έχει κατοχυρωθεί ως φυσικό αντιοξειδωτικό αλλά η βιβλιογραφία για τις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες είναι εκτεταμένη. Υπάρχουν αρκετές ποικιλίες ρίγανης και σε αρκετές αναφορές δεν είναι σαφής η ποικιλία που έχει χρησιμοποιηθεί για την διεξαγωγή των πειραμάτων. Επιπλέον ενώ έχει διερευνηθεί αρκετά η χρήση της σε έλαια και γαλακτώματα, η προσθήκη των εκχυλισμάτων της σε ενεργό συσκευασία χρίζει περαιτέρω διερεύνησης.

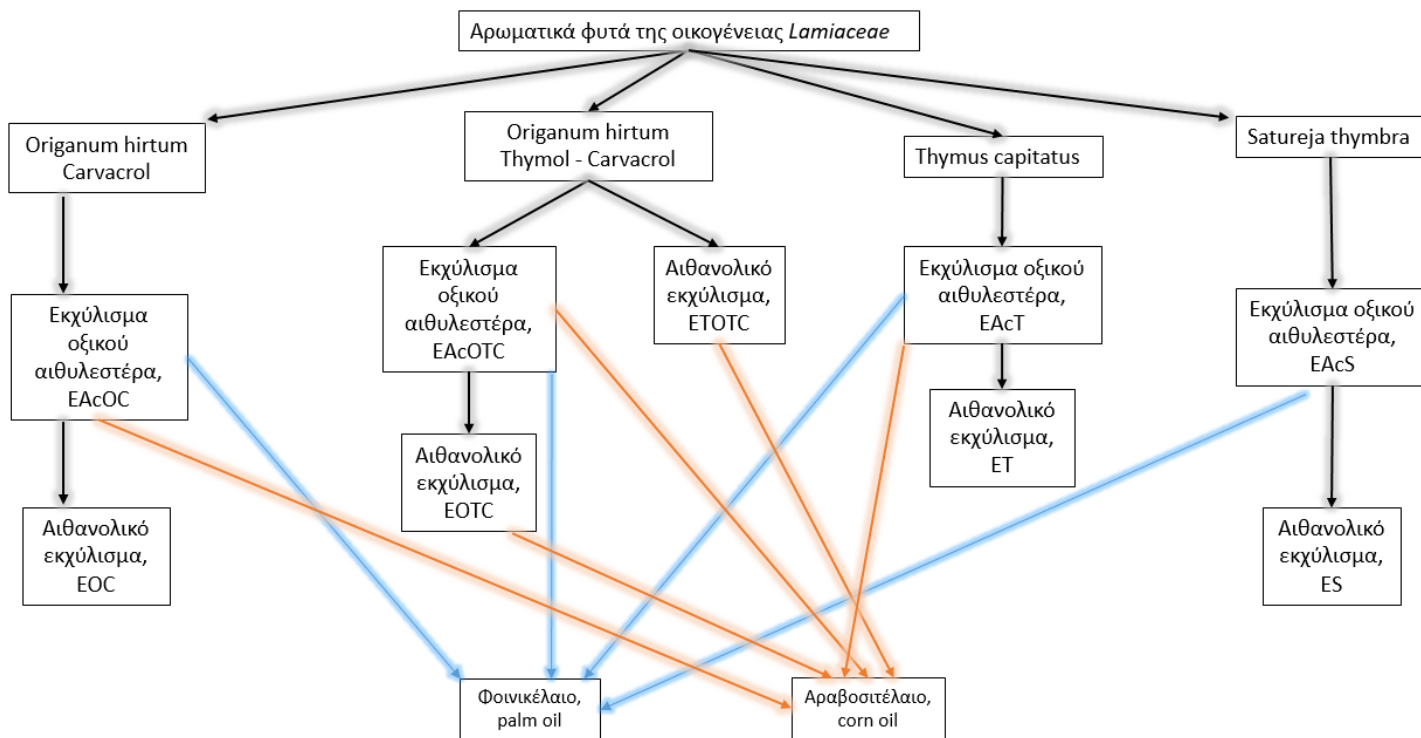
Οι παραδοσιακές συσκευασίες τροφίμων προορίζονται για τη μηχανική υποστήριξη των προϊόντων, καθώς και για την προστασία τους από εξωτερικούς παράγοντες. Νέες τεχνολογίες συσκευασίας αναπτύσσονται λόγω της απαίτησης των καταναλωτών και των βιομηχανιών για παρατεταμένη διάρκεια ζωής και ελεγχόμενη ποιότητα των προϊόντων. Η λειτουργία της ενεργού συσκευασίας βασίζεται στη σκόπιμη αλληλεπίδρασή της με το τρόφιμο ή το περιβάλλον του τροφίμου. Συγκεκριμένα, αφορά στην ενσωμάτωση ορισμένων συστατικών σε συστήματα συσκευασίας, τα οποία απελευθερώνουν ή απορροφούν ουσίες από ή μέσα στο συσκευασμένο τρόφιμο ή το περιβάλλον του, έτσι ώστε να επιμηκυνθεί η διάρκεια ζωής του τροφίμου και να διατηρηθεί η ποιότητα, η ασφάλεια και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Η ενσωμάτωση αντιοξειδωτικών σε εδώδιμες μεμβράνες και επικαλυπτικά, εξασφαλίζει την παρουσία τους στην επιφάνεια του τροφίμου, μειώνοντας έτσι το κόστος αλλά και περιορίζοντας την παρέμβαση στη γεύση του επικαλυμμένου τροφίμου.

Πρωταρχικός στόχος ήταν η προστασία των λιπαρών των τροφίμων από οξειδωτικά φαινόμενα, χρησιμοποιώντας φυσικά αντιοξειδωτικά από την αποσμημένη

φυτόμαζα αρωματικών φυτών. Η εκμετάλλευση της απειλαιωμένης φυτόμαζας, η οποία αποτελεί παραπροϊόν της βιομηχανίας παραλαβής αιθέριων ελαίων και είναι πλούσια σε φαινολικές ενώσεις, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την βελτίωση του διατροφικού προφίλ των τροφίμων ή/και την αύξηση της διάρκειας ζωής τους. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων από θυμάρι, ρίγανη, θρούμπι και δεντρολίβανο σε φυτικά έλαια, σε σύγκριση με το δεντρολίβανο που αποτελεί αναγνωρισμένο φυσικό αντιοξειδωτικό, με σκοπό την επιλογή του φυτού για τη συνέχεια των πειραμάτων. Στη συνέχεια μελετήθηκε η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων από θρούμπι σε γαλακτώματα φυτικών ελαίων. Εξετάστηκε η επίδραση της βρώσιμης επικάλυψης με εκχυλίσματα και αιθέρια έλαια από θρούμπι και δεντρολίβανο στην οξειδωτική σταθερότητα ιχθυηρών. Τα αιθέρια έλαια χρησιμοποιήθηκαν καθώς σε παράλληλη μελέτη εξετάστηκε η παρεμπόδιση της μικροβιακής ανάπτυξης των ιχθυηρών και ήταν ενδιαφέρον να διερευνηθεί και η πιθανή παρεμπόδιση της οξείδωσης με την χρήση τους. Επίσης, μελετήθηκε η επίδραση της ενεργού, μη βρώσιμης συσκευασίας με εκχυλίσματα από θρούμπι στην οξειδωτική σταθερότητα chips πατάτας.

5.2 Σχεδιασμός πειραματικής διαδικασίας

Αρχικός στόχος ήταν να εξετασθεί η αντιοξειδωτική ικανότητα των κλασμάτων ορισμένων αρωματικών φυτών. Παρασκευάστηκαν εκχυλίσματα διαφόρων αρωματικών φυτών της οικογένειας *Lamiaceae* και ενσωματώθηκαν σε έλαια, ώστε να ερευνηθεί η ικανότητά τους ως προς την παρεμπόδιση της οξείδωσης. Τα αρωματικά φυτά της οικογένειας *Lamiaceae* είναι πολύ διαδεδομένα στην Ελλάδα. Στην παρούσα διδακτορική διατριβή χρησιμοποιήθηκε το θυμάρι, η ρίγανη, το θρούμπι και το δεντρολίβανο. Ιδιαίτερα για τη ρίγανη, χρησιμοποιήθηκαν δύο χημειότυποι, ένας πλούσιος σε καρβακρόλη και ένας μεικτός με καρβακρόλη και θυμόλη, ώστε να εντοπιστούν τυχόν διαφορές.



Εικόνα 5.1 Ενσωμάτωση εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών σε έλαια.

Πριν την παραλαβή των αντιοξειδωτικών κλασμάτων τα φυτά υποβλήθηκαν σε υδροατμοαπόσταξη, ώστε να απομακρυνθεί το αιθέριο έλαιό τους. Για να παραληφθούν και να εξετασθούν χωριστά κλάσματα των αντιοξειδωτικών συστατικών πλούσια σε άπολα φαινολικά συστατικά (φλαβονόλες, φλαβόνες) και πλούσια σε πολικότερα συστατικά (φαινολικά οξέα, γλυκοζίτες των φλαβονοειδών) έγιναν δύο διαδοχικές εκχυλίσεις με οξικό αιθυλεστέρα και αιθανόλη. Επίσης, εξετάστηκε εναλλακτικά και η παραλαβή όλων των συστατικών μαζί, με μία εκχύλιση με αιθανόλη στη ρίγανη μικτού χημειότυπου και στο δεντρολίβανο.

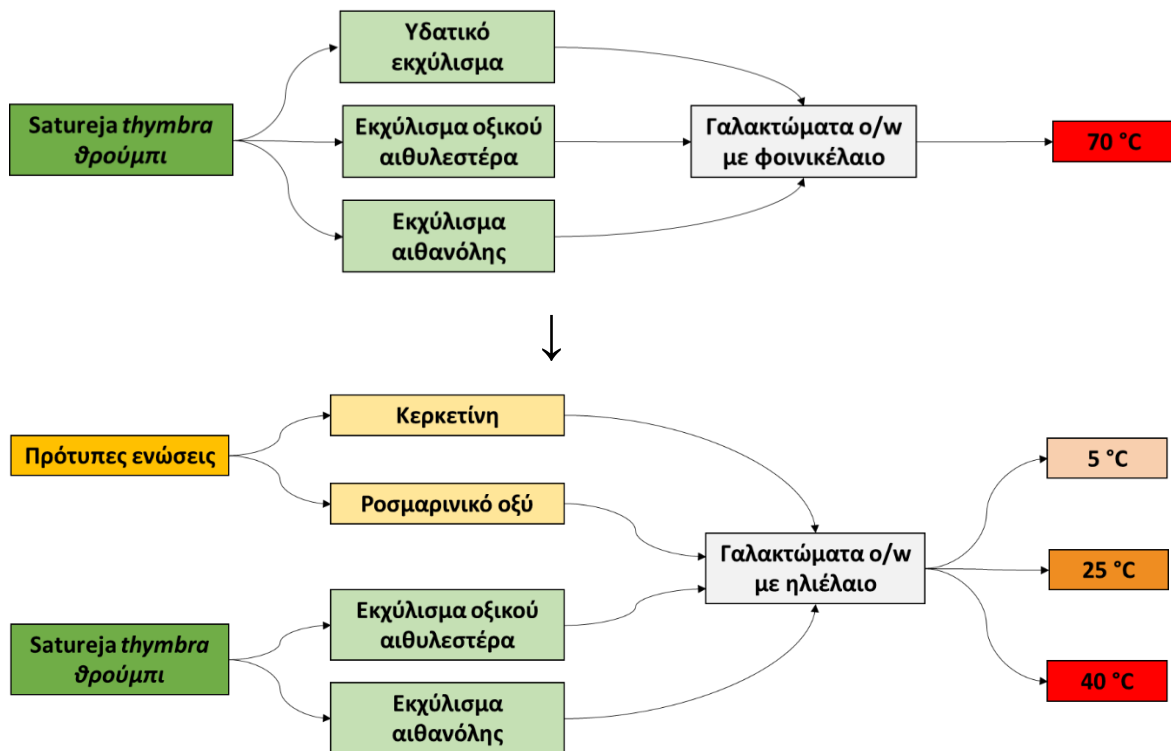
Τα έλαια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αραβοσιτέλαιο και φοινικέλαιο. Πιο συγκεκριμένα, για το αραβοσιτέλαιο εξετάστηκαν όλα τα εκχυλίσματα του μικτού χημειότυπου της ρίγανης (οξικού αιθυλεστέρα, αιθανολικό και ολικό αιθανολικό εκχύλισμα) ώστε να συγκριθούν μεταξύ τους. Επιπλέον, μελετήθηκαν τα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα από θυμάρι και από ρίγανη πλούσια σε καρβακρόλη, με σκοπό να κριθεί η αποτελεσματικότητα διαφόρων φυτών έναντι της οξείδωσης του ελαίου. Όσον

αφορά στο φοινικέλαιο, εξετάστηκε η δράση των εκχυλισμάτων οξικού αιθυλεστέρα των ίδιων φυτών (θυμαριού και των δύο χημειότυπων της ρίγανης) για να παρατηρηθούν τυχόν διαφορές ή ομοιότητες στην αντιοξειδωτική τους δράση σε μία άλλη λιπαρή ύλη, αλλά και της *Satureja thymbra* (θρούμπι). Στην Εικόνα 5.1 παρουσιάζεται σε διάγραμμα ο πειραματικός σχεδιασμός της ενσωμάτωσης των παρασκευασθέντων εκχυλισμάτων σε έλαια. Τα εμπλουτισμένα έλαια (αραβοσιτέλαιο και φοινικέλαιο), καθώς και δείγματα των δύο ελαίων χωρίς αντιοξειδωτικό υπέστησαν δοκιμές οξείδωσης στους 70 °C. Ως αναλυτικός προσδιορισμός των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης χρησιμοποιήθηκε ο αριθμός υπεροξειδίων και συζυγών διενίων και τριενίων.

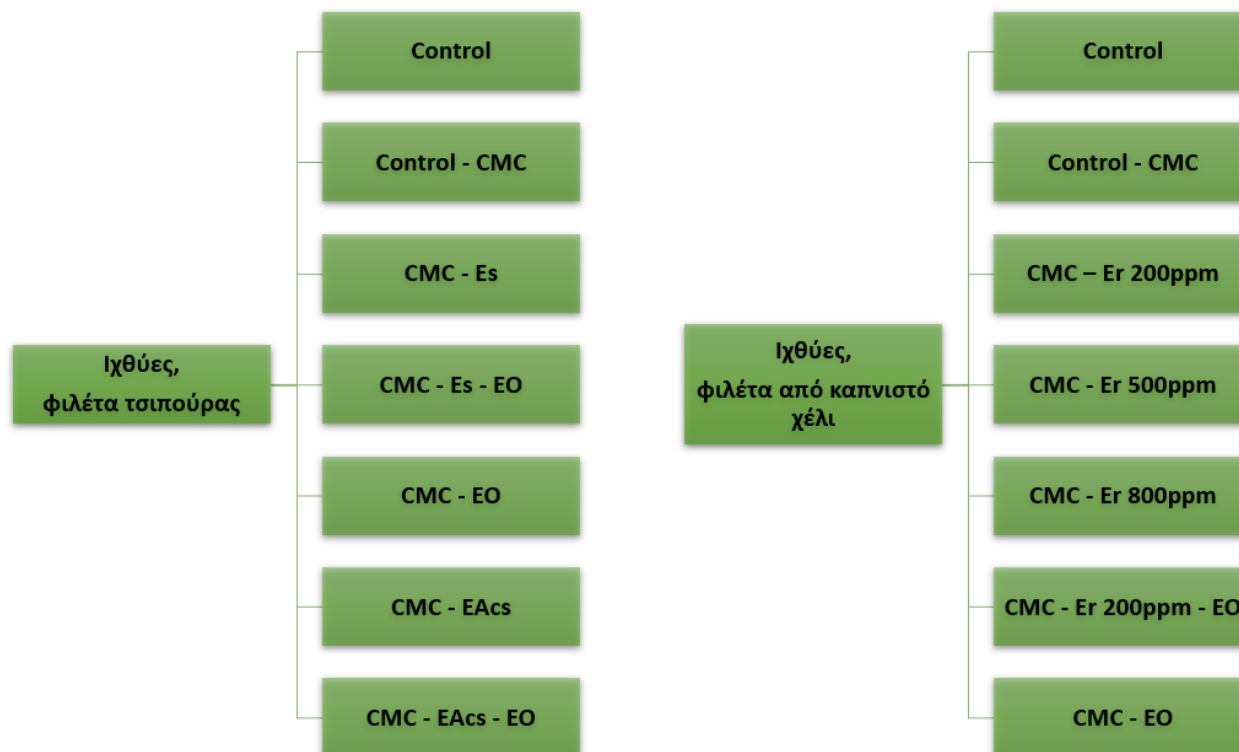
Στη συνέχεια, επιλέγοντας το φοινικέλαιο, στο οποίο εμφανίστηκε η καλύτερη αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων και διακρίνοντας το θρούμπι (*S. Thymbra*) που είναι αυτοφυές και ευρύτατα διαδεδομένο στην Ελληνική ύπαιθρο και προσέφερε θετικά αποτελέσματα στις προηγούμενες δοκιμές οξείδωσης, μελετήθηκε η επίδραση των εκχυλισμάτων του στην οξείδωση γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό. Αυτό αποτέλεσε αντικείμενο της δεύτερης σειράς πειραμάτων. Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν το υδατικό εκχύλισμα που προέκυψε μετά την υδροατμοαπόσταξη του φυτού (Ws), το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα και το αιθανολικό εκχύλισμα του αρωματικού φυτού. Ακολούθως, παρασκευάστηκαν γαλακτώματα για τα οποία χρησιμοποιήθηκε ηλιέλαιο, που είναι από τα συνηθέστερα έλαια που χρησιμοποιούνται σε ευρέως καταναλισκόμενα γαλακτώματα, όπως μαγιονέζα και σάλτσες για σαλάτα. Στα γαλακτώματα προστέθηκαν εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης από το αρωματικό φυτό *S. Thymbra*, ενώ το Ws δεν χρησιμοποιήθηκε καθώς δεν έδειξε καλή δράση στα γαλακτώματα φοινικελαίου. Επίσης προστέθηκαν αντιπροσωπευτικές πρότυπες φαινολικές ενώσεις, οι οποίες απαντώνται συχνά στα αρωματικά φυτά, συγκεκριμένα κερκετίνη και ροσμαρινικό οξύ, ώστε να συσχετισθεί η δράση των εκχυλισμάτων με τα συστατικά τους. Τα φαινολικά συστατικά, σύμφωνα με τις ενδείξεις πολλών ερευνών, συμβάλλουν στον περιορισμό ασθενειών που έχουν σχέση με τις οξειδώσεις στον ανθρώπινο οργανισμό. Επομένως, στόχος της παρούσας έρευνας ήταν, επιπλέον της αντιοξειδωτικής προστασίας των γαλακτωμάτων, να προσδιορισθεί τόσο για τις πρότυπες ενώσεις όσο και για τις δραστικές ενώσεις που εντοπίζονται στα εκχυλίσματα η διάρκεια ζωής μετά

τον εγκλεισμό στα γαλακτώματα ώστε να εξακριβωθεί αν ο εμπλουτισμός οδηγεί δυναμικά σε διατηρήσιμα λειτουργικά τρόφιμα. Τα γαλακτώματα μελετήθηκαν σε τρεις θερμοκρασίες, 5, 25 και 40 °C, ώστε μέσω της εξίσωσης του Arrhenius να μελετηθεί η εξάρτηση του ρυθμού οξείδωσής τους από τη θερμοκρασία. Στην Εικόνα 5.2 παρουσιάζεται σε διάγραμμα ο πειραματικός σχεδιασμός της ενσωμάτωσης των πρότυπων ενώσεων και των εκχυλισμάτων από θρούμπι σε γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό.

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



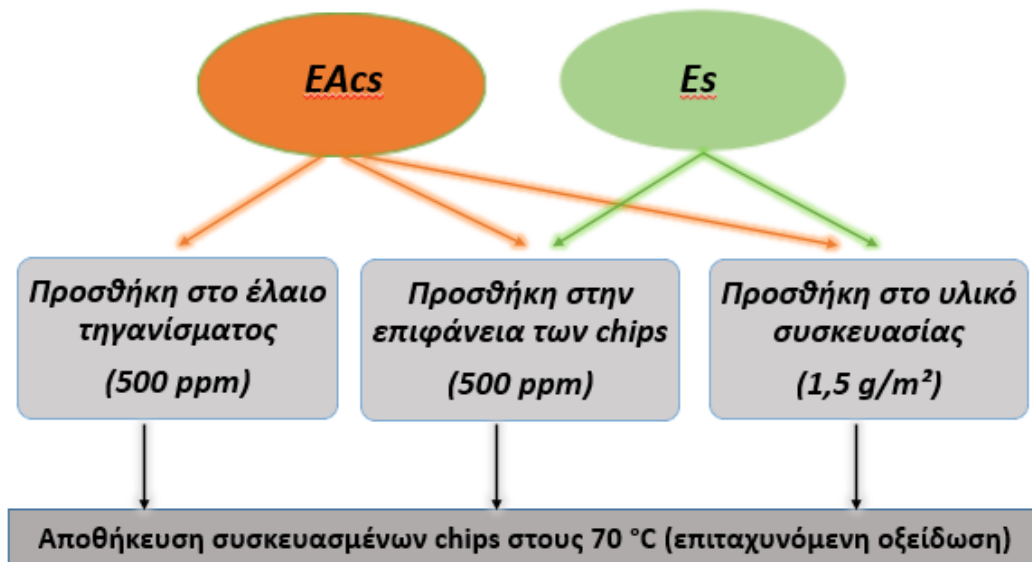
Εικόνα 5.2 Γαλακτώματα ο/w εμπλουτισμένα με εκχυλίσματα από θρούμπι, ροσμαρινικό οξύ και κερκετίνη.



Εικόνα 5.3 Εδώδιμη επικάλυψη ιχθύων, εμπλουτισμένη με κλάσματα των αρωματικών φυτών *S. thymbra* και *R. officinalis*.

Μία άλλη πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών που μελετήθηκε στην παρούσα διατριβή αποτέλεσε το φυτό *Rosmarinus officinalis* (δενδρολίβανο), το οποίο ενσωματώθηκε σε εδώδιμη επικαλυπτική μεμβράνη (CMC) για την αντιοξειδωτική προστασία φιλέτων από καπνιστό χέλι, ώστε να κριθεί η αποτελεσματικότητά του τόσο στην τεχνολογία των εδώδιμων επικαλυπτικών, όσο και στην αλληλεπίδρασή του με τα τρόφιμα. Επίσης, διερευνήθηκε η καταλληλότητα του αιθέριου ελαίου του *R. officinalis* στην πιθανή παρεμπόδιση της οξείδωσης σε δείγματα στα οποία είχε ενσωματωθεί αιθέριο έλαιο στο επικαλυπτικό. Συγκεκριμένα παρασκευάστηκαν τρεις σειρές δειγμάτων στις οποίες η επικαλυπτική μεμβράνη περιείχε αιθανολικό εκχύλισμα δενδρολίβανου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Επιπρόσθετα, παρασκευάστηκαν άλλες δύο σειρές δειγμάτων εκ των οποίων η μία περιείχε συνδυασμό του αιθέριου ελαίου με το αιθανολικό εκχύλισμα και η

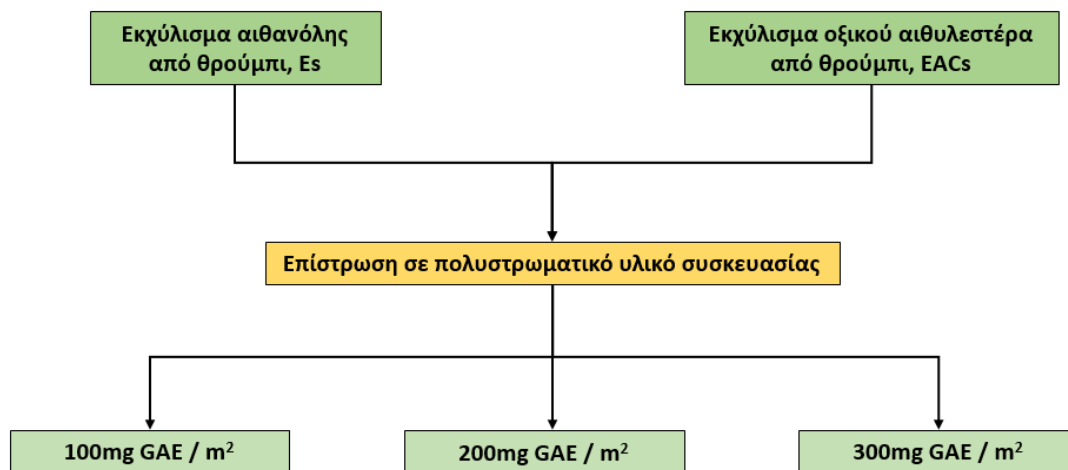
άλλη περιείχε μόνο αιθέριο έλαιο. Τέλος, άλλες δύο σειρές δειγμάτων που παρασκευάστηκαν ήταν τα δείγματα Control - CMC, στα οποία έγινε επικάλυψη με επικαλυπτικό στο οποίο δεν είχε ενσωματωθεί αντιοξειδωτικό ή αιθέριο έλαιο, και τα δείγματα αναφοράς στα οποία δεν έγινε καμία επικάλυψη. Δείγματα αποθηκεύτηκαν σε δύο θερμοκρασίες, στους 4 °C και στους 10 °C και από τις επτά σειρές δειγμάτων. Δείγματα λαμβάνονταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα και έπειτα από παραλαβή του ιχθυέλαιου γινόταν μέτρηση του αριθμού υπεροξειδίων, των συζυγών διενίων και του αριθμού p-ανισιδίνης. Στην Εικόνα 5.3 παρουσιάζεται η πειραματική πορεία που ακολουθήθηκε.



Εικόνα 5.4 Μελέτη της πορείας οξείδωσης τηγανισμένων chips, εμπλουτισμένων με εκχυλίσματα αιθανόλης (Es) και οξικού αιθυλεστέρα (EAcS) από θρούμπι.

Στη συνέχεια, επιλέγοντας το έλαιο στο οποίο εμφανίστηκε η καλύτερη αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων και διακρίνοντας ένα αρωματικό φυτό που προσέφερε θετικά αποτελέσματα στις προηγούμενες δοκιμές οξείδωσης, μελετήθηκε η επίδραση των εκχυλισμάτων του στην οξείδωση chips πατάτας. Για το σκοπό αυτό, τηγανίστηκαν πατάτες σε φοινικέλαιο στους 180 °C και παρασκευάστηκαν 5 σειρές

δειγμάτων chips. Η πρώτη σειρά αφορούσε πατάτες, οι οποίες τηγανίστηκαν σε εμπλουτισμένο φοινικέλαιο με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από το φυτό θρούμπι. Χρησιμοποιήθηκε μόνο εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα επειδή περιέχει άπολα συστατικά και επομένως είναι λιποδιαλυτό. Το ίδιο εκχύλισμα, καθώς και το αιθανολικό εκχύλισμα (που περιέχει πιο πολικά συστατικά) ενσωματώθηκαν στην επιφάνεια των chips που τηγανίστηκαν σε καθαρό φοινικέλαιο (2η, 3η σειρά δειγμάτων), ενώ στην 4η και 5η σειρά δειγμάτων προστεθήκανε στο υλικό συσκευασίας των chips. Όλα τα δείγματα, όπως και δείγματα chips χωρίς καμία επεξεργασία με αντιοξειδωτικό, συσκευάστηκαν σε ατμοσφαιρικό αέρα και υπέστησαν αντίστοιχα πειράματα επιταχυνόμενης οξείδωσης σε κλίβανο στους 70 °C για 40 ημέρες. Στην Εικόνα 5.4 παρουσιάζεται η πειραματική πορεία που ακολουθήθηκε. Λήφθηκαν δείγματα ανά τακτά χρονικά διαστήματα και για τον προσδιορισμό των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης των chips μετρήθηκε ο αριθμός υπεροξειδίων και συζυγών διενίων, ενώ για τον προσδιορισμό των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης μετρήθηκε ο αριθμός p-ανισιδίνης. Επίσης, σε κάθε δειγματοληψία μετριόταν η περιεκτικότητα του O₂ εντός της κάθε συσκευασίας, για να αξιολογηθεί η συσχέτισή της με το στάδιο της οξείδωσης.



Εικόνα 5.5 Μελέτη της πορείας οξείδωσης τηγανισμένων chips, σε υλικό συσκευασίας με επίστρωση εκχυλισμάτων από θρούμπι.

Εφόσον η προσθήκη στο υλικό συσκευασίας προσέφερε την καλύτερη αντιοξειδωτική προστασία, μελετήθηκε περαιτέρω η ενεργός συσκευασία σε chips πατάτας χρησιμοποιώντας ως αντιοξειδωτικά τα φυσικά εκχυλίσματα του αποξηραμένου φυτού *S. thymbra*.

Ακολούθησε η ενσωμάτωση των εκχυλισμάτων στο υλικό της συσκευασίας σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις και για τα δύο εκχυλίσματα, 100, 200, 300 mg GAE/m². Τα chips συσκευάστηκαν και αποθηκεύτηκαν στους 70 °C όπου παρέμειναν για 54 ημέρες. Οι παράμετροι που μελετήθηκαν για την εκτίμηση της αλλοίωσης των chips ήταν ο αριθμός υπεροξειδίων του ελαίου που εκχυλίστηκε από τα chips για να καταγραφεί η πορεία των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης, ενώ για την εκτίμηση της συσσώρευσης των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης χρησιμοποιήθηκε η τεχνική HS – SPME (headspace solid phase microextraction) με χρήση αέριας χρωματογραφίας καθώς και οι τιμές p-ανισιδίνης. Επιπλέον, παρακολουθήθηκε η περιεκτικότητα σε οξυγόνο και διοξείδιο του άνθρακα στον υπερκείμενο χώρο της κάθε συσκευασίας. Επιπλέον για την μελέτη της διάχυσης των φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων στα chips και την γενικότερη κατανάλωση τους γινόταν μέτρηση των ολικών φαινολικών συστατικών με την μέθοδο Folin-Ciocalteu στο ανακτημένο έλαιο των chips και στην συσκευασία. Στην Εικόνα 5.5 παρουσιάζεται η πειραματική πορεία που ακολουθήθηκε.

5.3 Πρώτες Ύλες – Αντιδραστήρια

Τα φυτικά έλαια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αραβοσιτέλαιο, φοινικέλαιο και ηλιέλαιο. Η προμηθευτική εταιρεία για το αραβοσιτέλαιο ήταν η «ΜΙΝΕΡΒΑ Α.Ε.», για το φοινικέλαιο η «ΑΓΡΟΤΙΚΗ Α.Ε.» και για το ηλιέλαιο η «ΕΛΑΪΣ-UNILEVER HELLAS Α.Ε.». Η σύσταση καθενός ελαίου σε λιπαρά οξέα δίνεται στους Πίνακες 1, 2 και 3 του Παραρτήματος II. Επιπλέον, πληροφορίες για τις τοκοφερόλες, τα φυσικά αντιοξειδωτικά του ηλιέλαιου και του αραβοσιτέλαιου δίνονται στον Πίνακα 4 του ίδιου παραρτήματος (Παράρτημα II).

Πατάτες παραλήφθηκαν από την εταιρεία «Τσακίρης Α.Β.Ε.Ε.» για τη μελέτη της δράσης εκχυλισμάτων στην οξείδωση chips πατάτας. Για την έρευνα των εδωδιμων μεμβρανών χρησιμοποιήθηκαν ιχθύες από τις εταιρείες «Νηρέυς ιχθυοκαλλιέργειες Α.Ε.» και τις ιχθυοκαλλιέργειες «Β. Γείτονα & ΣΙΑ Ε.Ε.».

Τα αρωματικά φυτά που μελετήθηκαν ήταν το θυμάρι (*Thymus capitatus*), η ρίγανη μεικτού χημειότυπου καρβακρόλης και θυμόλης (*Origanum vulgare hirtum* – Thymol - Carvacrol), καθώς και η ρίγανη του απλού χημειότυπου καρβακρόλης (*Origanum vulgare hirtum* – Carvacrol), το δεντρολίβανο (*Rosmarinus officinalis*) και το θρούμπι (*Satureja thymbra*). Παραλήφθηκαν από το Κέντρο Γεωργικής Έρευνας Βόρειας Ελλάδας (μέλος του οργανισμού ελληνικών αγροτών-Δήμητρα).

Οι πρότυπες ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν για ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων των αρωματικών φυτών και των αιθέριων ελαίων τους, ήταν η διένυδρη κερκετίνη (Quercetin dihydrate 95%, Acros Organics, New Jersey, USA), το ροσμαρινικό οξύ (98%, Sigma Aldrich, St. Louis, USA), το καφεϊκό οξύ (98% w/w, Acros Organics, Fair Lawn, New Jersey), το γ-τερπινένιο ($\geq 97\%$, Fluka, St. Louis, USA), η λουτεολίνη, η απιγενίνη, η εριοδουκτιόλη, η ναρινγκενίνη και η καρβακρόλη (Extrasynthèse, Genay, France).

Ένα μείγμα αλκανίων C7 - C30 (Sigma – Aldrich, Steinheim, Γερμανία) χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των δεικτών κατακράτησης σε αναλύσεις GC – MS, ενώ ήλιο (Air Liquide, Houston, USA), ήταν το φέρον αέριο. Νερό, ακετονιτρίλιο (ACN), μεθανόλη (MeOH) και βουτανόλη (καθαρότητας HPLC και MS) (Fisher Scientific, Loughborough, UK) ήταν οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για τις χρωματογραφικές αναλύσεις, ενώ το τριφθοροξικό οξύ (Fisher Scientific, Loughborough, UK) και το οξικό οξύ (PanReac, Barcelona, Spain) χρησιμοποιήθηκαν για την οξίνιση των κινητών φάσεων.

Οι εκχυλίσεις των αρωματικών φυτών πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση των διαλυτών οξικού αιθυλεστέρα (analytical reagent grade, Fisher Chemical, Loughborough, United Kingdom) και αιθανόλης (95°). Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τις αναλύσεις των δειγμάτων ήταν τα εξής: οξικό οξύ (for analysis, Carlo Erba Reagents, Val de Reuil Cedex, France), χλωροφόρμιο (analytical reagent grade, Fisher Chemical,

Loughborough, United Kingdom), ιωδιούχο κάλιο (Carlo Erba Reagents, Val de Reuil Cedex, France), διαλυτό άμυλο (Panreac, Barcelona, Spain), θειοθειϊκό νάτριο (0.1 N, for analysis, Carlo Erba Reagents, Val de Reuil Cedex, France), ισοοκτάνιο (for analysis, Carlo Erba Reagents, Val de Reuil Cedex, France), p-ανισιδίνη (Panreac, Barcelona, Spain), εξάνιο (Fisher Chemical, Leicestershire, UK), αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (Merck, Darmstadt, Germany), ανθρακικό νάτριο (Mallinckrodt, St. Louis, Missouri), Tween 20 (Fisher Scientific, Loughborough, UK), φωσφορικά άλατα Na_2HPO_4 (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany) και NaH_2PO_4 (Merck, Darmstadt, Germany), αζίδιο του νατρίου (99%, Acros Organics, New Jersey, USA), γαλλικό οξύ (98% w/w, Acros Organics, Fair Lawn, New Jersey), αντιδραστήριο DPPH και trolox (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) και ακετόνη (Fisher Scientific, Loughborough, United Kingdom).

Ως εδώδιμο επικαλυπτικό χρησιμοποιήθηκε διάλυμα καρβοξυ-μεθυλο-κυτταρίνης (CMC, Cekol 4000P, Noviant, Sweden), ενώ πολυστρωματικό υλικό συσκευασίας, OPP 20 μm /ink/adhesive/PET MET 12 μm /adhesive//PE 75 μm STC, (ΑΦΟΙ ΒΛΑΧΟΥ ΑΒΕ, Αθήνα, Ελλάδα) χρησιμοποιήθηκε και την αποθήκευση γαλακτωμάτων και σνακς.

5.4 Παραλαβή αιθέριων ελαίων και εκχυλισμάτων

Αποξηραμένα φύλλα και άνθη των αρωματικών φυτών, αμέσως μετά τη συγκομιδή και την ξήρανσή τους παρασχέθηκαν στο εργαστήριό μας. Τα αρωματικά φυτά υποβλήθηκαν σε μία σειρά διαδικασιών για την ανάκτηση των βιοδραστικών τους ενώσεων. Το διάγραμμα ροής της Εικόνας 5.7 απεικονίζει την αλληλουχία των διαδικασιών, τα ληφθέντα προϊόντα και τα κωδικοποιημένα ονόματά τους. Ξηρά φύλλα (500 g) των φυτών υποβλήθηκαν αρχικά σε απόσταξη με υδρατμούς για την ανάκτηση των αιθέριων ελαίων (EO) και των εκχυλισμάτων νερού (Aq) με διάταξη υδροατμοαπόσταξης ανοιχτού κυκλώματος, κατασκευασμένη από χαλκό (Εικόνα 5.6). Η συσκευή έφερε εσωτερικό διάτρητο πλέγμα για τη συγκράτηση του φυτικού υλικού (καθαρό όγκο για τη μονάδα 10 L) πάνω από το νερό που βράζει (3.5 L). Ο κενός χώρος μεταξύ του επιπέδου του νερού και του φυτικού υλικού ήταν 3.5 L στην αρχή της απόσταξης, ενώ η διαδικασία απόσταξης είχε διάρκεια 3 h. Το ανθόνερο δεν

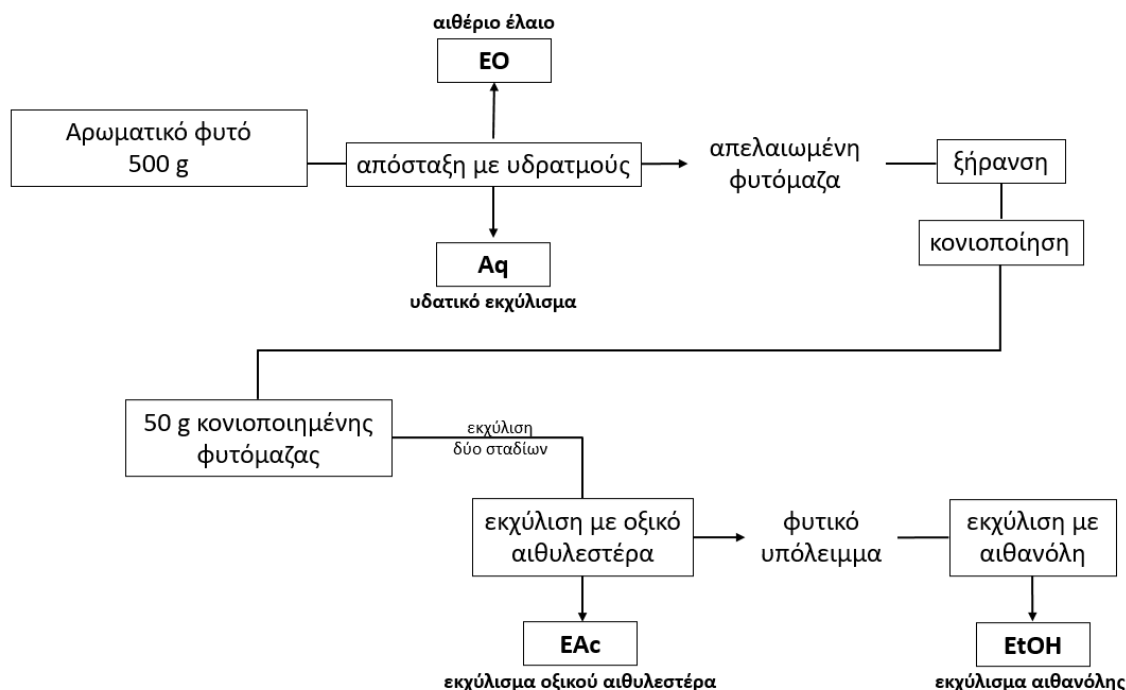
ανακυκλώθηκε και συνεπώς συλλέχθηκε μαζί με το ΕΟ και δεν μελετήθηκε περαιτέρω. Τα ΕΟ κρατήθηκαν σε σφραγισμένα γυάλινα φιαλίδια στο ψυγείο μέχρι να χρησιμοποιηθούν. Οι υδατοδιαλυτές ενώσεις των βοτάνων εκχυλίσθηκαν μερικώς από τον συμπυκνωμένο ατμό και συσσωρεύθηκαν στο βραστό νερό του αποστακτήρα. Η υδατική φάση στο τέλος της απόσταξης ανήλθε σε περίπου 1,9 L. Συλλέχθηκε, διηθήθηκε και περιείχε τα Αq. Τα Αq αποθηκεύτηκαν σε πλαστικά δοχεία στο ψυγείο, μέχρι να χρησιμοποιηθούν.



Εικόνα 5.6 Διάταξη υδροατμοαπόσταξης ανοιχτού κυκλώματος, κατασκευασμένη από χαλκό για την ανάκτηση των αιθέριων ελαίων των αρωματικών φυτών.

Το υγρό υπόλειμμα βοτάνων (~ 1.6 kg) ξηράνθηκε περαιτέρω σε φούρνο (Function Line UT20, Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Germany) στους 35 °C για 24 h, αλέσθηκε σε εργαστηριακό μύλο (Retch ZM 1; Haan, Germany), εφοδιασμένο με κόσκινο 0.5 mm, διαιρούμενο σε παρτίδες των 50 g, και ακολούθως υποβλήθηκε σε εξαντλητικές εκχυλίσεις σε συσκευή Soxhlet αρχικά με οξικό αιθυλεστέρα και στη συνέχεια με αιθανόλη για να ληφθούν τα ΕAc και EtOH, αντίστοιχα. Οι εκχυλίσεις διεξήχθησαν για 6 – 8 h, μέχρις ότου τα εκχυλίσματα ήταν άχρωμα, υποδεικνύοντας την απουσία των φαινολικών ενώσεων που προσδίδουν κίτρινο χρώμα. Τα εκχυλίσματα

διηθήθηκαν, μεταφέρθηκαν σε ογκομετρικές φιάλες των 500 mL και φυλάχθηκαν σε ψυγείο (< 4 °C) μέχρι να χρησιμοποιηθούν περαιτέρω.



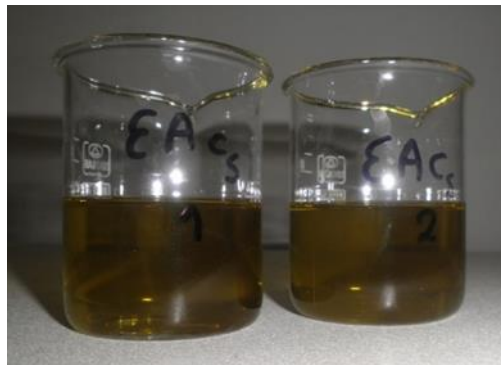
Εικόνα 5.7 Το διάγραμμα ροής της διαδικασίας εκχύλισης και οι κωδικοποιημένες ονομασίες των εκχυλισμάτων αιθέριου ελαίου (EO), νερού (Aq), οξικού αιθυλεστέρα (EAc) και αιθανόλης (EtOH) που λήφθηκαν από τα αρωματικά φυτά.

Σε όλα τα εκχυλίσματα που παρασκευάστηκαν με τον παραπάνω τρόπο έγινε μέτρηση του στερεού υπολείμματός τους σε φούρνο με κυκλοφορία αέρα (Function Line UT20, Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Germany), μετρήθηκε η περιεκτικότητά τους σε φαινολικά συστατικά με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu καθώς και η αντιοξειδωτική τους δράση με την μέθοδο DPPH. Η ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των συστατικών των αιθέριων ελαίων των αρωματικών φυτών πραγματοποιήθηκε σε αέριο χρωματογράφο Agilent HP 6890 με συζευγμένο φασματογράφο μάζας (GC/MS) (Agilent HP 5973 (Hewlett Packard, Palo Alto, California). Η ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των συστατικών των παρασκευασθέντων εκχυλισμάτων έγινε με τη χρήση υγρής

χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης HPLC-ESI-MS/MS Varian 212-LC (Varian Inc., Palo Alto, California) με λογισμικό καταγραφής Varian Workstation και HPLC-DAD (Hewlett Packard, Waldbronn, Germany).

5.5 Ενσωμάτωση φυσικών αντιοξειδωτικών σε έλαια και δοκιμή επιταχυνόμενης οξείδωσης

Ως λιπαρή ύλη χρησιμοποιήθηκαν το αραβοσιτέλαιο και το φοινικέλαιο. Το κάθε εκχύλισμα ενσωματώθηκε στη λιπαρή ύλη σε επίπεδο προσθήκης 500 mg/kg ξηρού βάρους του. Έτσι, για την κάθε σειρά πειραμάτων, ζυγίστηκε συγκεκριμένη ποσότητα ελαίου σε σφαιρική φιάλη των 250 mL και έπειτα προστέθηκε υπό ανάδευση η απαιτούμενη ποσότητα εκχυλίσματος. Ακολούθησε απόσταξη σε περιστροφικό εξατμιστή κενού Büchi RE 111 με ενσωματωμένο υδρόλουτρο Büchi 461 (Büchi Laboratoriums Technik AG, Flawil, Switzerland), ώστε να απομακρυνθεί ο εκάστοτε διαλύτης. Για την απομάκρυνση πιθανών ιχνών διαλύτη που παρέμειναν στο έλαιο, χρησιμοποιήθηκε φούρνος κενού Heraeus vacutherm VT6025 (Hanau, Germany), όπου τα δείγματα παρέμειναν για 3 h. Τέλος, ζυγίστηκαν 50 g κάθε ελαίου (εμπλουτισμένου ή μη) σε ποτήρι ζέσεως των 100 mL, και ακολούθησε πείραμα επιταχυνόμενης οξείδωσης (Εικόνα 5.8). Συγκεκριμένα, όλα τα έλαια τοποθετήθηκαν σε φούρνο κυκλοφορίας αέρα (Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Germany) στους 70 °C και λαμβάνοντας δείγματα σε τακτά χρονικά διαστήματα μετρήθηκε ο αριθμός υπεροξειδίων και συζυγών διενίων - τριενίων.



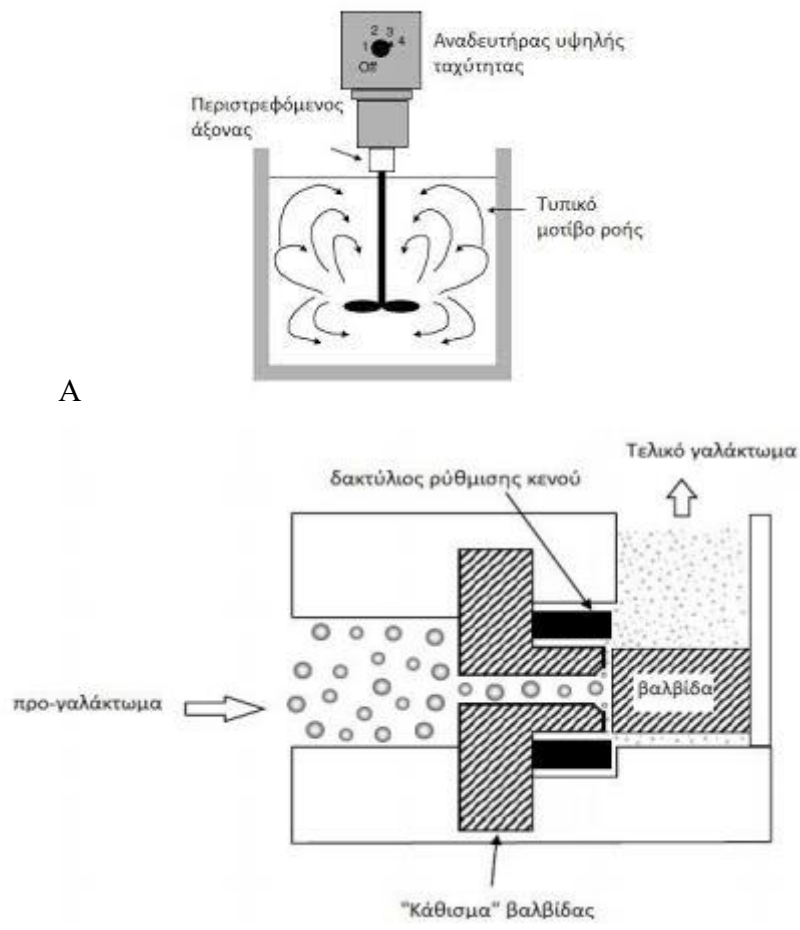
Εικόνα 5.8 Φοινικέλαιο εμπλουτισμένο με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από το αρωματικό φυτό *S. thymbra* (EAc).

5.6 Ενσωμάτωση φυσικών αντιοξειδωτικών σε γαλακτώματα τύπου ο/w

Η ενσωμάτωση φυσικών αντιοξειδωτικών από θρούμπι σε γαλακτώματα τύπου ο/w έγινε σε δύο έλαια, το φοινικέλαιο και το ηλιέλαιο. Τόσο το φοινικέλαιο όσο και το ηλιέλαιο προστέθηκαν σε συγκέντρωση 30% (w/w). Ως γαλακτωματοποιητής χρησιμοποιήθηκε το Tween 20 σε συγκέντρωση 2% v/v. Το pH των γαλακτωμάτων ρυθμίστηκε στην τιμή 6.8 χρησιμοποιώντας ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 0.2 M και ως αντιμικροβιακό προστέθηκε το αζίδιο νατρίου σε συγκέντρωση 0.01% w/w. Κατάλληλη ποσότητα από τα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης από θρούμπι προστέθηκαν στο φοινικέλαιο έτσι ώστε η τελική συγκέντρωσή τους να είναι 500 mg ξηρού εκχυλίσματος/kg ελαίου. Ανάγοντας την συγκέντρωση αυτή σε mg GAE/kg ελαίου παίρνουμε τις παρακάτω τιμές για κάθε προσθήκη: το αιθανολικό εκχύλισμα προστέθηκε σε συγκέντρωση 144.4 mg GAE/kg ελαίου, το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα σε συγκέντρωση 77.0 mg GAE/kg ελαίου, ενώ το υδατικό εκχύλισμα σε συγκέντρωση 125.0 mg GAE/kg ελαίου. Τα τελικά γαλακτώματα μεταφέρθηκαν σε γυάλινα φιαλίδια των 10 mL και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας στους 70 °C, σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Για τα γαλακτώματα ηλιέλαιου χρησιμοποιήθηκε κατάλληλη ποσότητα από κάθε εκχύλισμα, ώστε να ληφθεί τελική συγκέντρωση 150 mg GAE/ L_{emulsion} . Οι πρότυπες ενώσεις ροσμαρινικό οξύ (RA) και κερκετίνη (Que), διαλύθηκαν σε αιθανόλη και τα διαλύματά τους προστέθηκαν σε κατάλληλη ποσότητα ηλιέλαιου για να ληφθεί τελική συγκέντρωση 150 mg/ L_{emulsion} , ως εξής: τα εκχυλίσματα EAcs και Es, καθώς και τα αιθανολικά διαλύματα των πρότυπων ενώσεων ροσμαρινικού οξέος και κερκετίνης, αναμίχθηκαν υπό ανάδευση με το έλαιο πριν από τη γαλακτωματοποίηση και οι οργανικοί διαλύτες απομακρύνθηκαν σε εξατμιστή κενού εξοπλισμένο με αντλία κενού (Hei-Vap Value Digital, Rotovac Valve Tec, Heidolph, Schwabach, Germany). Ακολούθησε η απομάκρυνση των τελευταίων υπολειμμάτων των οργανικών διαλυτών με τη βοήθεια ροής αζώτου. Το υδατικό εκχύλισμα προστέθηκε στην υδατική φάση του γαλακτώματος.

Τα προγαλακτώματα παρασκευάστηκαν σε ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας (CAT Unidrive 1000d, Paso Robles, California, Εικόνα 5.9A) σε 5000 rpm για 15 min. Στη

συνέχεια τα προγαλακτώματα πέρασαν δύο φορές από ομοιογενοποιητή υψηλής πίεσης (APV SYSTEMS Albertslund, Δανία, Εικόνα 5.9B) δύο σταδίων (1^ο στάδιο: 20 bar, 2^ο στάδιο: 400 bar). Δείγματα των 10 mL από όλα τα παρασκευασμένα γαλακτώματα φοινικέλαιου μεταφέρθηκαν σε γυάλινα φιαλίδια και τοποθετήθηκαν σε φούρνο με κυκλοφορία αέρα (Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Germany) στους 70 °C, σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Δείγματα των 20 mL από κάθε γαλάκτωμα ηλιέλαιου συσκευάστηκαν σε συσκευασίες ίδιων διαστάσεων από πολυστρωματικό υλικό συσκευασίας (OPP 20 μm/ink/adhesive/PET MET 12 μm/adhesive//PE 75 μm STC). Όλα τα συσκευασμένα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε θαλάμους με ελεγχόμενες θερμοκρασιακές συνθήκες των 5 °C, 25 °C και 40 °C υψηλής ακρίβειας (± 0.2 °C) (Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Germany και Sanyo MIR 154; Ora-Gun, Gunma, Japan). Ηλεκτρονικοί, προγραμματιζόμενοι μικροσκοπικοί καταγραφείς (COX TRACER®, Belmont, Βόρεια Καρολίνα) παρακολουθούσαν συνεχώς τη θερμοκρασία στους θαλάμους, ενώ μετά από κάθε δειγματοληψία τα δείγματα οδηγούνταν σε βαθιά κατάψυξη. Προκειμένου να γίνουν μελέτες για την οξειδωτική σταθερότητα των γαλακτωμάτων έγινε αρχικά η διάσπασή τους για την παραλαβή της λιπαρής και της υδατικής τους φάσης. Στα γαλακτώματα φοινικέλαιου μετρήθηκαν τα πρωτογενή (αριθμός υπεροξειδίων και συζυγών διενίων) και δευτερογενή (αριθμός p-ανισιδίνης) προϊόντα οξείδωσης. Στα γαλακτώματα ηλιέλαιου προσδιορίστηκαν τα πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης (αριθμός υπεροξειδίων) και το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των εμπλουτισμένων γαλακτωμάτων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους. Ο ποιοτικός και ο ποσοτικός προσδιορισμός των κύριων φαινολικών συστατικών της υδατικής φάσης των γαλακτωμάτων ηλιέλαιου κατά την αποθήκευσή τους πραγματοποιήθηκε με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας.



Εικόνα 5.9 Ομογενοποιητής Α. υψηλής ταχύτητας και Β. υψηλής πίεσης για την παρασκευή γαλακτωμάτων.

5.7 Βρώσιμη επικάλυψη εμπλουτισμένη με εκχυλίσματα του αρωματικού φυτού *S. thymbra* για την αντιοξειδωτική προστασία φιλέτων τσιπούρας.

Η παρασκευή του διαλύματος της εδώδιμης επικάλυψης πραγματοποιήθηκε με ζύγιση κατάλληλης ποσότητας καρβοξυ-μεθυλο-κυτταρίνης (CMC) σε ποτήρι ζέσεως και προσθήκη σε αυτό ορισμένης ποσότητας απιονισμένου νερού. Ακολούθησε ανάδευση υπό θέρμανση στους 80 °C για 1 h. Εν συνεχεία, προστέθηκε ο γαλακτωματοποιητής Tween 20, καθώς και η υπόλοιπη ποσότητα απιονισμένου νερού ώστε να παραχθεί διάλυμα περιεκτικότητας 2% v/v ως προς το Tween 20 και 1.5% w/v

ως προς το CMC. Ακολούθησε ανάδευση στις ίδιες συνθήκες για μερικά λεπτά. Το τελικό διάλυμα χωρίστηκε σε 6 ίσα μέρη. Τα 5 διαλύματα από αυτά εμπλουτίστηκαν με αντιοξειδωτικό, ενώ ένα χρησίμευσε ως διάλυμα αναφοράς.

Ως φυσικά αντιοξειδωτικά χρησιμοποιήθηκαν κλάσματα από το αρωματικό φυτό θρούμπι. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν το εκχύλισμα αιθανόλης (Es), το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs), καθώς και το αιθέριο έλαιο του (EO) του φυτού. Ορισμένη ποσότητα από κάθε εκχύλισμα προστέθηκε στο διάλυμα του εδώδιμου επικαλυπτικού σε συγκέντρωση τέτοια ώστε η συγκέντρωση σε φαινολικά συστατικά να ανέρχεται σε 500 ppm στο διάλυμα. Ακολούθησε απόσταξη σε περιστροφικό εξατμιστή κενού Büchi RE 111 με ενσωματωμένο υδρόλουτρο Büchi 461 (Büchi Laboratories Technik AG, Flawil, Switzerland) για να απομακρυνθεί ο διαλύτης. Το αιθέριου έλαιο προστέθηκε στο διάλυμα του εδώδιμου επικαλυπτικού, ώστε η περιεκτικότητά του να είναι 2% v/v. Επιπλέον παρασκευάστηκαν διαλύματα εμπλουτισμένα με συνδυασμό του κάθε εκχυλίσματος (500 ppm ολικών φαινολικών συστατικών) και του αιθέριου ελαίου (2% v/v).

Όλα τα εμπλουτισμένα διαλύματα αλλά και ένα διάλυμα εδώδιμου επικαλυπτικού χωρίς κάποιο αντιοξειδωτικό (δείγματα αναφοράς), οδηγήθηκαν σε ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας CAT Unidrive 1000 (Paso Robles, California) σε 8000 rpm για 5 min σε θερμοκρασία δωματίου. Τα γαλακτώματα παρέμειναν για λίγο σε θερμοκρασία δωματίου ώστε οι φυσαλίδες αέρα που σχηματίστηκαν κατά την ομογενοποίηση να απομακρυνθούν από τα διαλύματα. Τα σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν ήταν: CMC (Control-CMC), CMC με EO (EO), CMC με αιθανολικό εκχύλισμα (Es), CMC με συνδυασμό αιθανολικού εκχυλίσματος και αιθέριου ελαίου (Es-EO), CMC με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs) και CMC με τον συνδυασμό εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα και αιθέριου ελαίου (EAcs-EO).

Φιλέτα τσιπούρας (*Sparus aurata*), βάρους 90 ± 10 g, (ζώνη αλίευσης: Αιγαίο, Ελλάδα) προήλθαν από την ίδια παρτίδα μίας ελληνικής μονάδας υδατοκαλλιέργειας (Νηρεύς Ιχθυοκαλλιέργειες Α.Ε.). Αμέσως μετά την αλίευση, τα ψάρια τοποθετήθηκαν στον πάγο (0 °C). Ακολούθησε φιλετάρισμα αυτών, εντός 10 h μετά την αλίευση, και τα φιλέτα μεταφέρθηκαν, εντός 2–4 h, στο εργαστήριο σε κουτιά από πολυστυρένιο με

κατάλληλη ποσότητα πάγου (0 °C). Το κάθε τεμάχιο είχε μάζα 90-120 g. Τα φιλέτα μετά την παραλαβή τους φυλάχθηκαν σε κατάψυξη στους -5 °C για χρονικό διάστημα που ξεπέρασε τις 14 h μέχρι την επεξεργασία τους.



Εικόνα 5.10 Φιλέτα τσιπούρας μετά την εμφύσησή τους σε διάλυμα εδάδιμου επικαλυπτικού καρβοξυ-μεθυλο-κυτταρίνης.

Τα φιλέτα τσιπούρας κόπηκαν σε ορθογώνιες φέτες, βάρους (50 ± 5) g. 12 φέτες ψαριών τοποθετήθηκαν σε κάθε διάλυμα CMC για 5 min και στη συνέχεια αφέθηκαν να στραγγίσουν για 1 min (Εικόνα 5.10). Τόσο τα δείγματα που δεν υπέστησαν επεξεργασία (δείγματα αναφοράς) όσο και εκείνα που εμφύσηστηκαν μέσα σε διαλύματα με το εδάδιμο επικαλυπτικό, τοποθετήθηκαν σε τρυβλία Petri και αποθηκεύτηκαν σε θαλάμους με ελεγχόμενες θερμοκρασιακές συνθήκες στους 0 °C με υψηλή ακρίβεια (± 0.2 °C)

(Sanyo MIR 154; Ora-Gun, Gunma, Ιαπωνία). Ηλεκτρονικοί, προγραμματιζόμενοι μικροσκοπικοί καταγραφείς (COX TRACER®, Bel-mont, Βόρεια Καρολίνα) παρακολουθούσαν συνεχώς τη θερμοκρασία στους θαλάμους. Διεξήχθησαν δειγματοληψίες σε κατάλληλα χρονικά διαστήματα κατά τη διάρκεια μίας περιόδου 20 ημερών για να καταστεί δυνατή η μελέτη της οξειδωσης των φιλέτων.

Το κάθε δείγμα, αφού αφηνόταν να αποκτήσει θερμοκρασία δωματίου, τοποθετούταν σε μίξερ (Moulinex, Multi Moulinette, τύπος T71, EEC) για μερικά δευτερόλεπτα, ώστε να τεμαχιστεί σε μικρά κομμάτια. Ακολουθούσαν 3 διαδοχικές εκχύλισεις, με 50 mL εξανίου και για 1 min η κάθε μία. Το εκχύλισμα ελαίου που προέκυπτε μετά από κάθε εκχύλιση αποχυνόταν υπό διήθηση σε ποτήρι ζέσεως. Έπειτα, τα διηθήματα συνδυάστηκαν και φυγοκεντρήθηκαν (Thermo Scientific, Heraeus Megafuge 16R Centrifuge) σε 10.000 rpm για 10 min, ώστε να μην παραμείνει καθόλου ποσότητα ιχθύος στο ελαιδιάλυμα. Μετά τη φυγοκέντριση το διάλυμα ελαίου αποχυνόταν υπό διήθηση σε σφαιρική φιάλη των 250 mL και οδηγούταν προς απόσταξη σε περιστροφικό εξατμιστή κενού (Heidolph G1, Schwabach, Γερμανία) για 20 min με θερμοκρασία του υδατόλουτρου στους 40 °C. Αφού απομακρυνόταν το εξάνιο με αυτή τη διαδικασία, παραλαμβάνονταν το έλαιο στο οποίο πραγματοποιούταν οι αναλυτικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό της οξειδωσης των ιχθύων. Προσδιορίστηκαν τα πρωτογενή (αριθμός υπεροξειδίων, εκφραζόμενη ως meq O₂ / kg λίπους) και τα δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης (αριθμός p-ανισιδίνης).

5.8 Βρώσιμη επικάλυψη εμπλουτισμένη με εκχυλίσματα του αρωματικού φυτού *R. officinalis* για την αντιοξειδωτική προστασία φιλέτων από καπνιστό χέλι.

Ως φυσικά αντιοξειδωτικά χρησιμοποιήθηκαν το αποχρωματισμένο αιθανολικό εκχύλισμα δενδρολίβανου, καθώς και το αιθέριο έλαιό του που είχε παραληφθεί από υδροατμοαπόσταξη. Η ποσότητα του αιθανολικού εκχυλίσματος το οποίο θα χρησιμοποιούταν ως φυσικό αντιοξειδωτικό στα επικαλυπτικά, ήταν απαραίτητο να αποχρωματιστεί. Το αρχικό χρώμα του εκχυλίσματος ήταν σκούρο πράσινο, επομένως υπήρχε η περίπτωση, κατά την παρασκευή των επικαλυπτικών, η απόχρωσή τους να

γινόταν πράσινη με αποτέλεσμα να είναι εμφανής κατά την επικάλυψη του τροφίμου. Ο αποχρωματισμός έγινε με σύριγγες (Bond Elut Carbon 250 mg, Agilent Technologies, US).

Η διαδικασία παρασκευής του διαλύματος εδώδιμου επικαλυπτικού καρβοξυ-μεθυλο-κυτταρίνης (CMC) ήταν ίδια με εκείνη που περιγράφηκε στην παράγραφο 5.7. Τελικά παρασκευάστηκαν συνολικά 5 kg διαλύματος CMC περιεκτικότητας 1.5% w/w ως προς το CMC. Το τελικό διάλυμα χωρίστηκε σε 6 ίσα μέρη. Στα δύο μέρη προστέθηκε Tween 20 σε συγκέντρωση 2% v/v ως γαλακτωματοποιητής. Τα πέντε από αυτά τα διαλύματα εμπλουτίστηκαν με αντιοξειδωτικό, ενώ το ένα χρησιμοποιήθηκε όπως ήταν ως επικαλυπτικό CMC χωρίς αντιοξειδωτικό.

Για την ενσωμάτωση του αιθανολικού εκχυλίσματος, παραλήφθηκε η απαραίτητη κάθε φορά ποσότητά του σε σφαιρική φιάλη και προστέθηκε ποσότητα του διαλύματος επικάλυψης. Ακολούθησε απόσταξη σε περιστροφικό εξατμιστή κενού Büchi RE 111 με ενσωματωμένο υδρόλουτρο Büchi 461 (Büchi Laboratories Technik AG, Flawil, Switzerland) για να απομακρυνθεί ο διαλύτης. Μετά από την απόσταξη, στο διάλυμα CMC με το ενσωματωμένο εκχύλισμα προστίθεται η κατάλληλη ποσότητα διαλύματος CMC έτσι ώστε να δημιουργηθούν τα διαλύματα με τις επιθυμητές συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικού.



Εικόνα 5.11 Επικαλυπτικά διαλύματα CMC εμπλουτισμένα με διαφορετικές συγκεντρώσεις εκχυλίσματος δενδρολίβανου.

Τα επίπεδα προσθήκης του αποχρωματισμένου αιθανολικού εκχυλίσματος δεντρολίβανου ήταν 200, 500 και 800 mg/L ως προς τα συνολικά φαινολικά του συστατικά. Στην τέταρτη σειρά προστέθηκε αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου σε ποσοστό 0.2% v/v και εκχύλισμα 200 mg/L ως προς τα φαινολικά του συστατικά, στην πέμπτη σειρά προστέθηκε μόνο αιθέριο έλαιο σε ποσοστό 0.2% v/v ενώ στην έκτη σειρά δεν προστέθηκε κάποιο φυσικό αντιοξειδωτικό. Τα διαλύματα με αιθέριο έλαιο και αυτά με το αντιοξειδωτικό εκχύλισμα και το αιθέριο έλαιο οδηγήθηκαν σε ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας (CAT Unidrive 1000, California). Τα τελικά διαλύματα τοποθετήθηκαν σε φούρνο κενού έτσι ώστε να απομακρυνθούν πιθανά ίχνη του διαλύτη και παρέμειναν στο φούρνο κενού για λιγότερο από 24h οπότε και χρησιμοποιήθηκαν. Επομένως, οι σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν ήταν: CMC (CMC), CMC με εκχύλισμα αιθανόλης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (CMC + 200, CMC + 500, CMC + 800), CMC με ΕΟ (CMC + ΕΟ), CMC με το συνδυασμό εκχύλισμα αιθανόλης στα 200 mg / L και ΕΟ (CMC + 200 + ΕΟ). Στην Εικόνα 5.11 φαίνονται τα διαλύματα του εδώδιμου επικαλυπτικού CMC με δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις του αιθανολικού εκχυλίσματος από δεντρολίβανο.

Μία ελληνική μονάδα υδατοκαλλιέργειας (B. Γείτονα & ΣΙΑ Ε.Ε.) μας παρείχε τα φιλέτα καπνιστού χελιού. Το κάπνισμα αυτών πραγματοποιήθηκε στους 90 - 95 °C για 35 min. Η μέση περιεκτικότητα σε λιπαρά του προϊόντος ήταν 23.9%, εκ των οποίων το 73.2% ήταν ακόρεστα λιπαρά οξέα. Από τα τελευταία, το 17.2% ήταν ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (Baklogi et al., 2012). Τα φιλέτα μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο σε κουτιά από πολυστυρένιο καλυμμένα με νιφάδες πάγου (0 °C) για τη διατήρηση των ιχθυρών. Τα φιλέτα μετά την παραλαβή τους φυλάχθηκαν σε ψυγείο στους 4 °C για μικρό χρονικό διάστημα μέχρι την επεξεργασία τους. Για την παρασκευή των σειρών δειγμάτων, τα φιλέτα τεμαχίζονταν έτσι ώστε το κάθε δείγμα να έχει μάζα 50 ± 5 g. 12 φέτες ψαριών εμβαπτίζονταν στο κατάλληλο επικαλυπτικό διάλυμα στο οποίο και παρέμειναν για 5 min. Στη συνέχεια τοποθετούνταν σε σχάρες μέχρι να στεγνώσουν (Εικόνα 5.12).

Οι 6 σειρές δειγμάτων με επικαλυπτικό και η μία σειρά Control η οποία δεν είχε επικαλυπτικό, τοποθετήθηκαν σε τρυβλία Petri και αποθηκεύτηκαν σε ελεγχόμενες θερμοκρασιακές συνθήκες στους 4 °C και στους 10 °C σε θαλάμους χαμηλής

θερμοκρασίας, υψηλής ακρίβειας (± 0.2 °C) (MIR – 254 – PE, Panasonic). Ηλεκτρονικοί, προγραμματιζόμενοι μικροσκοπικοί καταγραφείς (COX TRACER®, Belmont, Βόρεια Καρολίνα) παρακολουθούσαν συνεχώς τη θερμοκρασία στους θαλάμους. Πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε κατάλληλα χρονικά διαστήματα για 30 ημέρες ώστε να καταστεί δυνατή η μελέτη της οξειδωσης των λιπαρών των φιλέτων από καπνιστό χέλι.

Η μελέτη της οξειδωσης πραγματοποιήθηκε στο έλαιο που εκχυλίστηκε από τα δείγματα ψαριών, σύμφωνα με τους Bligh και Dyer (1959), με κάποιες τροποποιήσεις. Κάθε δείγμα (50 g) αναμίχθηκε (Moulinex, Multi Moulinette, τύπος T71, EEC) και ομογενοποιήθηκε με 150 mL μίγματος χλωροφορμίου: μεθανόλης (50:100), σε λουτρό υπερήχων για 10 min (Elma, Singen / Htw, Τύπος: S 30H, Γερμανία) σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε προσθήκη επιπλέον 50 mL χλωροφορμίου και ομογενοποίηση για επιπλέον 2 min. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 50 mL απιονισμένου νερού και το μίγμα ομογενοποιήθηκε ξανά για 2 min. Αυτό το ομογενοποίημα διηθήθηκε και το στερεό υπόλειμμα υποβλήθηκε για άλλη μία φορά στην ίδια διαδικασία εκχύλισης. Τα διηθήματα φυγοκεντρήθηκαν (Thermofisher science, Heraeus Megafuge 16R, φυγόκεντρος εργαστηρίου) σε 10000 rpm, για 5 min, σε θερμοκρασία δωματίου και το υπερκείμενο μεταφέρθηκε σε διαχωριστική χοάνη. Η φάση του χλωροφορμίου μεταφέρθηκε σε σφαιρική φιάλη μέσω διηθητικού χαρτιού. Ο διαλύτης εξατμίστηκε στους 40 °C χρησιμοποιώντας έναν περιστροφικό εξατμιστή κενού (Heidolph G1, Schwabach, Γερμανία) και το έλαιο υποβλήθηκε σε επεξεργασία για τον προσδιορισμό του αριθμού των συζυγών διενίων (CD), των υπεροξειδίων (PV) και της p-ανισιδίνης (p-AV).



Εικόνα 5.12 Φιλέτα από καπνιστό χέλι τεμαχισμένα πριν την εμβάπτιση στα επικαλυπτικά διαλύματα.

5.9 Ενεργός συσκευασία με εκχυλίσματα του αρωματικού φυτού *S. thymbra* για την οξειδωτική σταθερότητα τηγανισμένων chips πατάτας

Το έλαιο του τηγανίσματος ήταν το φοινικέλαιο. Οι πατάτες πλύθηκαν με νερό, ξεφλουδίστηκαν, κόπηκαν όσο το δυνατόν ομοιόμορφα με πάχος 1.1-1.3 mm, με ψηφιακό παχύμετρο από ανοξείδωτο χάλυβα D-74167 και οθόνη LCD (Neckarsulm, Germany), διατηρήθηκαν βυθισμένες σε νερό σε θερμοκρασία δωματίου για 1 h περίπου και σκουπίστηκαν πριν από το τηγάνισμα. Στη διαδικασία του τηγανίσματος χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρική φριτέζα οικιακού τύπου (Kenwood, μοντέλο DF SSO, PK OOS / WGR, Havant, UK), χωρητικότητας 5.6 L. Η φριτέζα ήταν εξοπλισμένη με έναν θερμοστάτη (± 1 °C) και ένα αδρανές χαλύβδινο σύρμα που διατηρούσε τις πατάτες βουτηγμένες στο έλαιο, αλλά όχι σε επαφή με την εσωτερική επιφάνεια της φριτέζας. Η φριτέζα γέμιζε με 4.0 kg εξευγενισμένου φοινικέλαιου και οι διαδοχικές παρτίδες πατάτας (160 ± 10 g) τηγανίστηκαν στους 180 °C, για 2 min, με ένα διάστημα 1 min μεταξύ των τηγανιών, χωρίς να συμπληρωθεί το έλαιο. Μετά το τηγάνισμα, όλα τα chips τοποθετήθηκαν σε διηθητικό χαρτί. Ακολούθως, τοποθετήθηκαν σε μια συσκευασία, αναμείχθηκαν ώστε να ομογενοποιηθούν και παρέμειναν σε αυτή μέχρι να ολοκληρωθεί

η περαιτέρω επεξεργασία τους. Κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος λήφθηκαν 3 δείγματα ελαίου: στην έναρξη, στη μέση του αριθμού των τηγανιών και στη λήξη. Στην Εικόνα 5.13 φαίνεται το χρώμα του ελαίου στις τρεις αυτές χρονικές στιγμές.



Εικόνα 5.13 Χρώμα φοινικέλαιου πριν από το τηγάνισμα, στη μέση του αριθμού των τηγανιών και το τέλος του τηγανίσματος των chips πατάτας.

Πραγματοποιήθηκαν δύο σειρές πειραμάτων:

Στην πρώτη σειρά, δοκιμάστηκαν διάφοροι τρόποι προσθήκης των εκχυλισμάτων από θρούμπι ως εξής:

α) Ζυγίστηκαν 200 g φοινικέλαιου σε σφαιρική φιάλη και προστέθηκε ο κατάλληλος όγκος εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι (EAcS) έτσι ώστε να επιτευχθεί συγκέντρωση 10.0 g GAE / kg ελαίου. Ο οργανικός διαλύτης απομακρύνθηκε σε περιστροφικό εξατμιστή κενού (Heidolph G1, Schwabach, Γερμανία) και στη συνέχεια με ροή N_2 απομακρύνθηκαν και τα τελευταία ίχνη διαλύτη. Ακολούθως, το εμπλουτισμένο ελαιοδιάλυμα ενσωματώθηκε σε 3.8 kg φοινικέλαιο, στη φριτέζα, και αναμίχθηκε καλά για να ληφθούν 4 kg έλαιο τηγανίσματος που περιείχε 500 mg GAE / kg έλαιο πριν από την έναρξη του πειράματος τηγανίσματος (EAcS oil). Το αιθανολικό εκχύλισμα του φυτού (Es) δεν δοκιμάστηκε ως αντιοξειδωτικό πρόσθετο στο τηγάνισμα επειδή δεν ήταν διαλυτό στο έλαιο για να δώσει ένα διαυγές ελαιοδιάλυμα.

Β) Τόσο το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα (Eacs), όσο και το αιθανολικό εκχύλισμα (Es) του φυτού ψεκάστηκαν ομοιόμορφα στην επιφάνεια των τηγανισμένων chips

πατάτας, εντός 1h από την αφαίρεσή τους από τη φριτέζα, χρησιμοποιώντας ένα νεφελοποιητή (EAcS sprayed και Es sprayed, αντίστοιχα). Πιο αναλυτικά, απλώθηκε η απαιτούμενη ποσότητα των chips πάνω σε διηθητικό χαρτί (Εικόνα 5.14) και ψεκάστηκε από τη μία πλευρά με το κατάλληλο εκχύλισμα. Έπειτα, όλα τα chips γυρίστηκαν ώστε να πραγματοποιηθεί ομοιόμορφος ψεκασμός και από την άλλη πλευρά. Στη συνέχεια, τα chips τοποθετήθηκαν σε ροή N₂ για να απομακρυνθούν οι διαλύτες. Οι ποσότητες ψεκασμού ρυθμίστηκαν έτσι ώστε να ληφθεί συγκέντρωση περίπου 100 mg GAE / kg ελαίου που απορροφήθηκε από τα chips πατάτας.

γ) Τόσο το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα (EAcS), όσο και το αιθανολικό εκχύλισμα (Es) του φυτού επικάλυψαν ομοιόμορφα το υλικό συσκευασίας των chips, (OPP 20 μm / μελάνι / κόλλα / PET MET 12 μm / συγκολλητικό // PE 75 μm STC), χρησιμοποιώντας ένα roll on. Επικαλύφθηκε συνολική επιφάνεια 2.8 m² και η ποσότητα του εκχυλίσματος ρυθμίστηκε έτσι ώστε να ληφθεί συγκέντρωση 200 mg GAE / m² EAcS (EAcS coated) και 400 mg GAE / m² Es (Es coated). Η συσκευασία αφέθηκε ανοιχτή για 5 min για να εξατμιστούν οι διαλύτες πριν από τη χρήση.

δ) Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε επεξεργασία ελέγχου (Control) χωρίς την προσθήκη οποιουδήποτε εκχυλίσματος.



Εικόνα 5.14 Chips πατάτας αμέσως μετά το τηγάνισμα πάνω σε διηθητικό χαρτί για την απορρόφηση του ελαίου.

Το υλικό συσκευασίας κόπηκε σε $0.42\text{m} \times 0.21\text{ m}$, έτσι ώστε να ληφθεί εσωτερική επιφάνεια 0.076 m^2 μετά τη σφράγιση με θερμοκόλληση. Σχηματίστηκε μία σακούλα με θερμοκόλληση των τριών πλευρών, προστέθηκαν 25 g τηγανισμένων chips μέσα σε αυτή και, στη συνέχεια, η τέταρτη πλευρά θερμοκολλήθηκε.

Στη δεύτερη σειρά πειραμάτων μελετήθηκε περαιτέρω η χρήση των αντιοξειδωτικών εκχυλισμάτων από θρούμπι ως επικαλύψεις του υλικού συσκευασίας σε διάφορες συγκεντρώσεις. Τα δείγματα που δοκιμάστηκαν ήταν: Δείγματα αναφοράς (Control), δείγματα με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs) επικαλυμμένο στο υλικό συσκευασίας σε συγκεντρώσεις 100, 200 και 300 mg GAE / m^2 (EAcs-100, EAcs-200, EAcs 300, αντίστοιχα) και δείγματα με αιθανολικό εκχύλισμα (Es) επικαλυμμένο στο υλικό συσκευασίας σε συγκεντρώσεις 100, 200 και 300 mg GAE / m^2 (Es-100, Es-200, Es-300, αντίστοιχα).

Όλα τα συσκευασμένα δείγματα, τόσο της πρώτης σειράς πειραμάτων όσο και της δεύτερης, τοποθετήθηκαν σε φούρνο με κυκλοφορία (Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Germany) αέρα στους $70\text{ }^\circ\text{C}$, σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε καθορισμένα χρονικά διαστήματα και τα τηγανισμένα chips υποβλήθηκαν σε αναλύσεις για τον προσδιορισμό των πρωτογενών και δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης του ελαίου που απορροφάται στα chips.

Τα πτητικά – δευτερογενή προϊόντα της οξείδωσης, που σχηματίστηκαν μέσα στη συσκευασία μέσω της αποικοδόμησης των πρωτογενών προϊόντων απομονώθηκαν με την τεχνική της μικροεκχύλισης σε στερεή φάση από τον υπερκείμενο χώρο του δείγματος (HS – SPME – headspace solid phase microextraction) και αναλύθηκαν με αέρια χρωματογραφία (GC – MS).

Μετά τον προσδιορισμό των δευτερογενών πτητικών προϊόντων της οξείδωσης και πριν από το άνοιγμα των συσκευασιών πραγματοποιήθηκε μέτρηση του οξυγόνου που είχε απομείνει μέσα στις συσκευασίες ως % O_2 , με τη χρήση ενός αναλυτή αερίου CheckMate 9900 O_2 / CO_2 PBI Dansensor (Ringsted, Δανία).

Ακολούθως, ανοίχθηκε η συσκευασία και τα τηγανισμένα chips πατάτας αλέστηκαν σε εργαστηριακό μύλο (Retch ZM1; Haan, Γερμανία) και αναμίχθηκαν με 250 mL εξανίου για 15 min υπό ανάδευση, για να εξαχθεί η λιπαρή φάση αυτών. Το

ελαιοδιάλυμα του εξανίου φιλτραρίστηκε σε σφαιρική φιάλη των 250 mL με τη βοήθεια ηθμού (Εικόνα 5.15) και ακολούθησε απομάκρυνση του εξανίου με εξάτμιση υπό κενό (Heidolph G1, Schwabach, Γερμανία) στους 40 °C. Το εναπομένον έλαιο ζυγίστηκε και χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση πρωτογενών (αριθμός υπεροξειδίων) και δευτερογενών (αριθμός p-ανισιδίνης) προϊόντων οξείδωσης.

Η μέθοδος Folin - Ciocalteu (Waterhouse, 2005) χρησιμοποιήθηκε για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ολικών φαινολικών συστατικών (εκφρασμένα σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος, GAE) τόσο του υλικού συσκευασίας, όσο και του ελαίου που εκχυλίστηκε από τα chips πατάτας καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.



Εικόνα 5.15 Διαδικασία διήθησης του εκχυλίσματος εξανίου από το έλαιο των chips πατάτας από δείγμα με επίστρωση εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα συγκέντρωσης 300 mg GAE / m².

5.10 Μέθοδοι ανάλυσης

5.9.1 Προσδιορισμός στερεού υπολείμματος

Προσδιορισμός στερεού υπολείμματος πραγματοποιήθηκε στα εκχυλίσματα των αρωματικών φυτών που παρασκευάστηκαν μετά την εκχύλιση της απειαιωμένης φυτόμαζας. Πιο συγκεκριμένα, μεταφέρθηκαν 5 mL εκχυλίσματος σε προζυγισμένο φιαλίδιο ζύγισης. Για το κάθε εκχύλισμα η διαδικασία πραγματοποιήθηκε εις διπλούν. Τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε κλίβανο (Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Germany) στους 70 °C, μέχρι να εξατμιστεί ο εκάστοτε διαλύτης. Στη συνέχεια, εισήχθησαν σε ξηραντήρα ώστε να ψυχθούν και ακολούθησε η ζύγισή τους. Από τη διαφορά των ζυγίσεων του κάθε φιαλιδίου υπολογίστηκε η περιεκτικότητα κάθε εκχυλίσματος σε στερεά συστατικά (g/L), καθώς και η % κατά βάρος σύσταση κάθε φυτού σε εκχυλισθέντα συστατικά.

5.9.2. Ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών με τη μέθοδο DPPH

Η ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών των εκχυλισμάτων που παρασκευάστηκαν με την απειαιωμένη φυτόμαζα των αρωματικών φυτών, προσδιορίστηκε έναντι της ρίζας του DPPH, σύμφωνα με τη μέθοδο που προτείνεται από τους Brand-Williams et al. (1995). Το διάλυμα του DPPH παρασκευαζόταν αυθημερόν σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL. 0.0025 g DPPH ζυγίζονταν και τοποθετούνταν στην ογκομετρική φιάλη η οποία στη συνέχεια συμπληρωνόταν με μεθανόλη HPLC μέχρι τη χαραγή. Ακολουθούσε έντονη ανάδευση μέχρι να διαλυθεί το DPPH στη μεθανόλη.

Υπό σταθερή θερμοκρασία 25 °C, 3.9 mL του μεθανολικού διαλύματος DPPH τοποθετούνταν σε δοκιμαστικούς σωλήνες και σε αυτούς προστίθεντο 0.1 mL εκχυλίσματος το οποίο είχε αραιωθεί κατάλληλα (ώστε η απορρόφηση του τελικού διαλύματος να κυμαίνεται μεταξύ των τιμών 0.1 και 1.0 AU). Ταυτόχρονα παρασκευάζονταν και δύο τυφλά δείγματα με 3.9 mL DPPH και 0.1 mL MeOH. Τα τυφλά διαλύματα παρασκευάζονται ώστε να προσδιοριστεί ο ρυθμός του αυθόρμητου αποχρωματισμού της ρίζας, ο οποίος χρησιμοποιείται στη συνέχεια για την κατάλληλη διόρθωση της μείωσης της απορρόφησης του δείγματος, λόγω αντίδρασης της ρίζας με

τα φλαβονοειδή. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες έπειτα από ανάδευση παρέμεναν σε σκιερό μέρος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για μία ώρα ούτως ώστε να γίνει η αντίδραση. Στη συνέχεια πραγματοποιούνταν φωτομέτρηση στα 515 nm σε φασματοφωτόμετρο (Hitachi U29000). Το πρώτο τυφλό δείγμα μετριόταν στην αρχή των φωτομετρήσεων και το δεύτερο μετά το πέρας όλων των φωτομετρήσεων.

5.9.3. Μέθοδος Folin-Ciocalteu

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu (Waterhouse, 2005) χρησιμοποιήθηκε για ποσοτικοποίηση των ολικών φαινολικών συστατικών (TP) των αρχικών εκχυλισμάτων που παρασκευάστηκαν μετά την εκχύλιση της απελαιωμένης φυτόμαζας, των γαλακτωμάτων ηλιέλαιου καθώς και του υλικού συσκευασίας και του ελαίου που εκχυλίστηκε από τα τηγανισμένα chips πατάτας.

Για τον προσδιορισμό των συνολικών φαινολών των εκχυλισμάτων των αρωματικών φυτών προστέθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες 7.9 mL απιονισμένο νερό, 0.1 mL από το κάθε εκχύλισμα το οποίο είχε αραιωθεί κατάλληλα (ώστε η απορρόφηση του τελικού διαλύματος να κυμαίνεται μεταξύ των τιμών 0.1 και 1.0 AU) και 0.5 mL αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Ακολουθούσε ανάδευση και στη συνέχεια σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα προστίθεντο 1.5 mL Na_2CO_3 . Έπειτα από ανάδευση οι σωλήνες αφήνονταν σε ηρεμία σε υδατόλουτρο (Memmert WB 22, Germany) στους 40 °C για 30 min και ακολουθούσε φωτομέτρηση στα 765 nm σε φασματοφωτόμετρο (Hitachi U29000, Τόκιο, Ιαπωνία). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE), μέσω κατασκευής καμπύλης αναφοράς.

Για τον προσδιορισμό του συνολικού φαινολικού περιεχομένου (TPC) των εμπλουτισμένων γαλακτωμάτων ο/w ηλιέλαιου κατά την αποθήκευση τους χρησιμοποιήθηκε ποσότητα γαλακτώματος ίση με 100 μL η οποία αναμίχθηκε με 7.9 mL H_2O , 500 μL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu και 1.5mL κορεσμένου διαλύματος Na_2CO_3 . Η απορρόφηση του μίγματος μετρήθηκε μετά από 2h στα 765nm (Hitachi, U29000, Τόκιο, Ιαπωνία). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (mg GAE/ L_{emulsion}) μέσω καμπύλης αναφοράς.

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ολικών φαινολικών συστατικών του επιστρωμένου υλικού συσκευασίας των τηγανισμένων chips πατάτας, χρησιμοποιήθηκε επιφάνεια 100 cm² του πολυστρωματικού υλικού, η οποία πλύθηκε με περίπου 12 mL είτε αιθανόλης είτε οξικού αιθυλεστέρα, ανάλογα με την επικάλυψη, προκειμένου να ανακτηθεί το υπόλοιπο εκχύλισμα. Τα υγρά πλύσης τοποθετήθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL, αραιώθηκαν μέχρι τη χαραγή με τον εκάστοτε διαλύτη και χρησιμοποιήθηκε από αυτά ποσότητα ίση με 0.1 mL για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών συστατικών όπως ακριβώς περιγράφηκε και παραπάνω για τα εκχυλίσματα των αρωματικών φυτών και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg GAE / m². Το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο του ελαίου που εκχυλίστηκε από τηγανητά chips προσδιορίστηκε όπως περιγράφεται από τον Gutfinger (1981). Συγκεκριμένα, (1 ± 0.05) g ελαίου αναμίχθηκαν με 10 mL εξανίου και το ελαιδιάλυμα εκχυλίστηκε τρεις φορές με 20 mL διαλύματος 80% μεθανόλης. Τα εκχυλίσματα συνδυάστηκαν και το τελικό διάλυμα ήταν εκείνο που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών συστατικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, όπως αυτή πραγματοποιήθηκε και για τα εκχυλίσματα που παρασκευάστηκαν. Η συνολική περιεκτικότητα σε φαινόλες εκφράζεται ως mg GAE / g ελαίου.

5.9.4. Ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των συστατικών των αιθέριων ελαίων των αρωματικών φυτών της οικογένειας Lamiaceae με αέρια χρωματογραφία, GC-MS.

Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ένα σύστημα HP 6890 GC (plus +) συζευγμένο με έναν HP 5973 ανιχνευτή μάζας (Hewlett Packard, Palo Alto, California). Χρησιμοποιήθηκε στήλη HP-5 MS (30 m × 320 μm × 0.25 μm, Hewlett Packard, Palo Alto, California). Η θερμοκρασία του φούρνου αυξανόταν από 50 °C σε 100 °C με ρυθμό 10 °C / min και μετά στους 220 °C με ρυθμό 15 °C / min και παρέμενε στους 220 °C για 7 min. Ήλιο χρησιμοποιήθηκε ως φέρον αέριο με ροή 1 mL / min, θερμοκρασία εισόδου 220 °C και split 20:1. Το εύρος μάζας ήταν 40–400 και οι ενώσεις ταυτοποιήθηκαν με σύγκριση των φασμάτων μάζας τους με τα δεδομένα των βιβλιοθηκών φασμάτων μάζας NIST και Wiley. Οι δείκτες κατακράτησης (RI) των ενώσεων συγκρίθηκαν με αυτούς

που αναφέρονται στη βιβλιογραφία προκειμένου να επαληθευτεί η ταυτοποίηση των ενώσεων.

5.9.5. Ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων των αρωματικών φυτών της οικογένειας Lamiaceae με HPLC-DAD και HPLC-ESI-MS/MS.

Για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των φαινολικών ενώσεων των εκχυλισμάτων που παρασκευάστηκαν, χρησιμοποιήθηκαν δύο συστήματα υγρής χρωματογραφίας, το ένα συζευγμένο με φασματόμετρο συστοιχίας φωτοдиодων (HPLC-DAD) και το δεύτερο με φασματόμετρο μάζας (HPLC-ESI-MS/MS). Τα δείγματα εγχύθηκαν μετά από διήθηση (0.45μm, φίλτρα σύριγγας PVDF, Teknokroma, Barcelona, Ισπανία) σε στήλη Hypersil C18 αντίστροφης φάσης (ODS 5μm, 250 × 4,6 mm, MZ Analysentechnik, Mainz, Γερμανία).

Οι κινητές φάσεις που χρησιμοποιήθηκαν για το σύστημα HPLC-DAD ήταν νερό (διαλύτης A), μεθανόλη (διαλύτης B) και ακετονιτρίλιο (διαλύτης Γ), έκαστος των οποίων περιείχε τριφθοροξικό οξύ (TFA) 0.2 % v/v. Η παραπάνω τροποποίηση του TFA αποτελεί ουσιαστικά και τη μόνη τροποποίηση της μεθόδου των Merken και Beecher (2000), οι οποίοι είχαν προτείνει περιεκτικότητα 0.05 % v/v. Ο ρόλος του τριφθοροξικού οξέος είναι αφενός η δημιουργία όξινου περιβάλλοντος, ώστε οι φαινολικές ενώσεις (ασθενή οξέα) να βρίσκονται εξολοκλήρου στη μη ιοντισμένη τους μορφή και αφετέρου η παραλαβή οξείων κορυφών με περιορισμένες «ουρές» στα χρωματογραφήματα. Η αρχική σύσταση της κινητής φάσης ήταν 90% A, 6% B και 4% Γ ενώ μεταβαλλόταν γραμμικά σε 85% A, 9% B και 6% Γ στα πρώτα 5 min της ανάλυσης, 71% A, 17.4% B και 11.6% Γ στα 30 min και τέλος 0% A, 85% B και 15% Γ στα 60 min. Εν συνεχεία επανερχόταν γραμμικά στην αρχική σύσταση στα 61 min και ολοκληρωνόταν η ανάλυση. Η ροή του διαλυτικού συστήματος παρέμενε σε όλα τα στάδια στο 1 mL/min ενώ ο όγκος του εισαγόμενου δείγματος ήταν 20μL. Ως βασικά μήκη κύματος για την ανίχνευση των συστατικών επιλέχθηκαν τα 280 nm, τα 320 nm (για την ανίχνευση φλαβονολών και φλαβονών) και 360 nm (για την ανίχνευση υδροξυκιναμικών οξέων).

Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν για το LC-MS ήταν: λειτουργία αρνητικού ιονισμού, αέριο ξήρανσης N₂, θερμοκρασία ξήρανσης 350 °C, νεφελοποιητής 65 psi, τριχοειδές 3.5 kV, σταθερότητα ενώσεων 100%, εύρος σάρωσης 100–1200 m/z. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των μεμονωμένων ενώσεων βασίστηκε σε αντίστοιχες καμπύλες αναφοράς που κατασκευάστηκαν για την εριοδικτυόλη, το καφεϊκό οξύ, το ροσμαρινικό οξύ, τη ναριγγενίνη, την απιγενίνη και την καρβακρόλη. Τα δείγματα εγχύθηκαν μετά από διήθηση (0.45 μm, φίλτρα σύριγγας PVDF, Teknokroma, Barcelona, Spain) σε στήλη Hypersil C18 αντίστροφης φάσης (ODS 5 μm, 250 × 4,6 mm, MZ Analysentechnik, Mainz, Γερμανία). Ο όγκος της ένεσης ήταν 20 μL. Η κινητή φάση αποτελούνταν από νερό (διαλύτης A) και μεθανόλη/ακετονιτρίλιο, 60/40, v/v (διαλύτης B) και τα δύο οξινοσμένα με οξικό οξύ 1 % v/v. Η ροή της ανάλυσης διατηρήθηκε στα 0.4 mL/min. Ο διαλύτης B αυξήθηκε γραμμικά από 10% στα 0 min, σε 29% στα 35 min και 100% στα 70 min. Η ταυτοποίηση των υδροξυκιναμικών οξέων πραγματοποιήθηκε στα 360 nm και των φλαβονολών / φλαβονών στα 320 nm. Ο έλεγχος του συστήματος και η απόκτηση δεδομένων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό Varian Workstation (Varian Inc., Palo Alto, California) και συνδυάστηκε με λογισμικό επεξεργασίας δεδομένων Varian Workstation.

Η ταυτοποίηση και ο ποσοτικός προσδιορισμός των κύριων φαινολικών συστατικών των γαλακτωμάτων ηλιέλαιου ο/w κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους, πραγματοποιήθηκαν με HPLC-DAD. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν η ίδια με εκείνη που χρησιμοποιήθηκε και για τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων των αρωματικών φυτών. Ποσότητα γαλακτώματος ίση με 1 mL αναμίχθηκε με 1 mL ακετονιτρίλιου. Τα δείγματα εγχύθηκαν μετά από διήθηση (0.45 μm, φίλτρα σύριγγας PVDF, Teknokroma, Barcelona, Spain) σε στήλη Hypersil C18 αντίστροφης φάσης (ODS 5 μm, 250 × 4,6 mm, MZ Analysentechnik, Mainz, Γερμανία). Ο ποσοτικός προσδιορισμός των ενώσεων, βασίστηκε στις αντίστοιχες καμπύλες αναφοράς που κατασκευάστηκαν με ροσμαρινικό οξύ, καφεϊκό οξύ, καρβακρόλη, εριοδικτυόλη, ναριγγενίνη, απιγενίνη και κερκετίνη στα προαναφερθέντα μήκη κύματος.

5.9.6. Προσδιορισμός αριθμού υπεροξειδίων (Peroxide Value, PV)

Προκειμένου να γίνουν μελέτες για την οξειδωτική σταθερότητα των γαλακτωμάτων ο/w έγινε αρχικά η διάσπασή τους προκειμένου να ληφθούν η υδατική και η λιπαρή φάση αυτών. Για την ανάκτηση του ελαίου των γαλακτωμάτων φοινικέλαιου, τα δείγματα καταψύχθηκαν στους $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 24 h, αποψύχθηκαν σε υδατόλουτρο στους $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 20 min και ακολούθησε φυγοκέντρωση σε ψυχόμενη φυγόκεντρο (ThermoFisher scientific, Osterode, Germany) για 10 min, σε 10000 rpm στους $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Με αυτή τη διαδικασία λαμβανόταν το έλαιο των γαλακτωμάτων φοινικέλαιου για περαιτέρω αναλύσεις.

Για την ανάκτηση του ελαίου από τα γαλακτώματα ηλιέλαιου ακολούθηθηκε η παρακάτω διαδικασία: αρχικά τα δείγματα καταψύχονταν στους $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 24 h και αποψύχονταν σε υδατόλουτρο στους $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 20min. Η διαδικασία αυτή δεν οδήγησε σε πλήρη διαχωρισμό της λιπαρής και της υδατικής φάσης των γαλακτωμάτων όπως παρατηρήθηκε στα γαλακτώματα φοινικέλαιου. Ακολούθησε ανάμιξη των δειγμάτων με ακετονιτρίλιο σε αναλογία 1:1 και το προκύπτον μείγμα ομογενοποιήθηκε με την χρήση vortex (Εικόνα 5.16A) και φυγοκεντρήθηκε (Thermo Scientific, Heraeus Megafuge 16R Centrifuge, Osterode, Germany) για 10 min, σε 10000 rpm και στους $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Μετά από αυτή τη διαδικασία είχε πραγματοποιηθεί πλήρης διαχωρισμός της λιπαρής και της υδατικής φάσης του γαλακτώματος (Εικόνα 5.16B). Η ελαιώδης φάση χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του αριθμού των υπεροξειδίων, εκφραζόμενο ως meq O_2 / kg έλαιο.

Για την ποσοτικοποίηση των υδροϋπεροξειδίων των λιπαρών οξέων των γαλακτωμάτων ο/w, των ιχθυρών και των chips πατάτας χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του αριθμού υπεροξειδίων, η οποία είναι η επίσημη μέθοδος κατά AOCS (AOCS, Official Method Cd 8-53, 1998). Σε κωνική φιάλη των 100 mL ζυγίζονταν $1 \pm 0.001\text{ g}$ ελαίου (ή $4 \pm 0.001\text{ g}$ για μη οξειδωμένο, φρέσκο έλαιο με χαμηλό PV) και ακολουθούσε προσθήκη 20 mL μείγματος διαλυτών οξικού οξέος / χλωροφορμίου (3:2 v/v) και 0.5 mL κορεσμένου διαλύματος ιωδιούχου καλίου. Το αντιδρόν σύστημα αναδεύονταν για 1 min και κατόπιν αφηνόταν σε ηρεμία για 5 min απουσία φωτός. Στη συνέχεια προστίθενται

20 mL απιονισμένου H₂O και 0.5 mL διαλύματος αμύλου (1% w/v). Το ιώδιο που απελευθερώνεται τιτλοδοτείται με πρότυπο διάλυμα 0.01 N, θειοθειικού νατρίου (Na₂S₂O₃). Για το τυφλό δείγμα ακολουθείται η ίδια διαδικασία χωρίς την προσθήκη δείγματος. Ο αριθμός υπεροξειδίων (PV) προσδιορίζεται με βάση την εξίσωση:

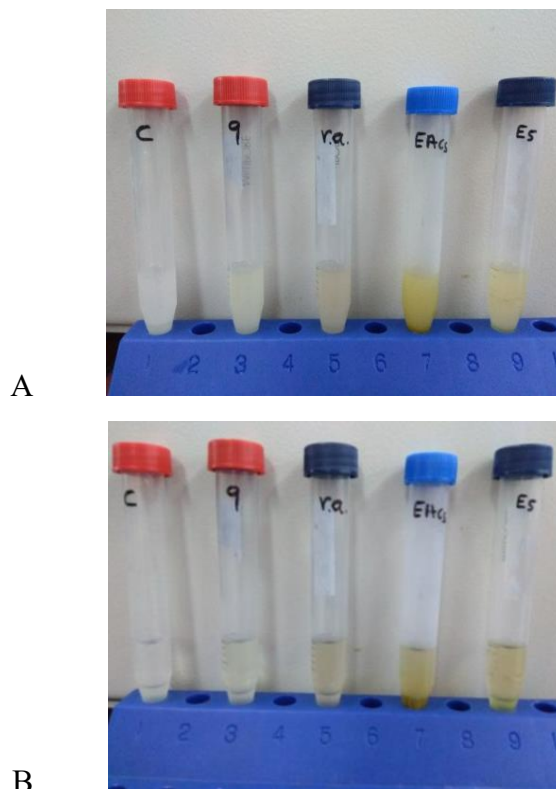
$$PV = \frac{(S - B) \cdot N \cdot 1000}{m}$$

όπου, S: κατανάλωση Na₂S₂O₃ σε mL στο δείγμα,

B: κατανάλωση Na₂S₂O₃ σε mL στο τυφλό δείγμα

N: κανονικότητα του διαλύματος Na₂S₂O₃

m: μάζα του δείγματος



Εικόνα 5.16 Στάδια διαχωρισμού της υδατικής και της λιπαρής φάσης γαλακτωμάτων ηλιέλαιου ο/w: Α. μετά από κατάψυξη και απόψυξη τους και Β. μετά από ανάμιξη με ακετονιτρίλιο και φυγοκέντρωση.

5.9.7. Προσδιορισμός συζυγών διενίων και τριενίων (Conjugated Dienes, CD)

Για τον προσδιορισμό των συζυγών διενίων, που αποτελούν πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος IUPAC 2.205-2.206 (IUPAC, 1987). Ποσότητα 0.05 g ελαίου ζυγίζοταν σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL και καταγραφόταν η ακριβής της μάζα. Η ογκομετρική φιάλη συμπληρωνόταν μέχρι τη χαραγή με ισοοκτάνιο. Ακολουθούσε ανάδευση των δειγμάτων για την ομογενοποίηση τους σε vortex για 1 min και μέτρηση της απορρόφησής τους σε φασματοφωτόμετρο (HITACHI U29000, Τόκιο, Ιαπωνία) σε δύο μήκη κύματος, στα 232 nm και στα 268 nm, ώστε να προκύψει ο αριθμός συζυγών διενίων (K_{232}) και τριενίων (K_{268}), αντίστοιχα. Ως τυφλό δείγμα χρησιμοποιούταν καθαρό ισοοκτάνιο. Σε περίπτωση που οι τιμές των απορροφήσεων προέκυπταν μεγαλύτερες της μονάδας πραγματοποιούταν κατάλληλη αραίωση των δειγμάτων και έπειτα εκ νέου φωτομέτρηση. Για το τυφλό δείγμα ακολουθείτο η ίδια διαδικασία χωρίς την προσθήκη δείγματος. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιούνταν κυψελίδες χαλαζία, οι οποίες τόσο για το δείγμα αναφοράς όσο και για τα δείγματα, διατηρούνταν κλειστές για να μην εξατμίζεται το ισοοκτάνιο. Ο αριθμός συζυγών διενίων και τριενίων εκφράζεται μέσω των παρακάτω δεικτών K, σύμφωνα με τις σχέσεις:

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

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

όπου, A_{232} : η απορρόφηση του δείγματος στα 232 nm

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

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

d : το μήκος της κυψελίδας (d = 1 cm)

5.9.8. Μέθοδος μέτρησης αριθμού p-ανισιδίνης (p – Anisidine Value, p – AV)

Με τον αριθμό ανισιδίνης ποσοτικοποιούνται κυρίως οι α-αλκενάλες, που παράγονται από μια ειδική σχάση της ανθρακικής αλυσίδας των υδροϋπεροξειδίων των λιπαρών οξέων, δηλαδή τη διάσπαση του δεσμού C13-C14 του υδροϋπεροξειδίου του λινελαϊκού οξέος. Ωστόσο, η αποσύνθεση των υδροϋπεροξειδίων του λινελαϊκού οξέος ακολουθεί τη σχάση του δεσμού C12-C13, η οποία οδηγεί στην παραγωγή εξανάλης και β-αλκενάλης. Η αντίδραση της β-αλκενάλης με το αντιδραστήριο της p-ανισιδίνης παρουσιάζει έως και πέντε φορές χαμηλότερη απορρόφηση από εκείνη της α-αλκενάλης με το ίδιο αντιδραστήριο και επομένως η συνολική ευαισθησία της μεθόδου για τον προσδιορισμό των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης είναι χαμηλή.

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης και η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδος της AOCS, Cd 18-90 του American Oil Chemists Society (1998). Σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL ζυγίζοταν ποσότητα δείγματος ίση με (0.5 ± 0.1) g, σημειώνοντας κάθε φορά την ακριβή μάζα. Το κάθε δείγμα αραιωνόταν μέχρι χαραγής με ισοοκτανίο, αναδεύοταν για πλήρη ομογενοποίηση και προσδιοριζόταν η απορρόφηση του στα 350 nm (A_b) (HITACHI U29000, Τόκιο, Ιαπωνία). Ως τυφλό δείγμα χρησιμοποιούνταν διαλύτης ισοοκτανίου. Στη συνέχεια, παραλαμβάνονταν 5 mL από το κάθε αραιωμένο ελαιοδιάλυμα και εισάγονταν σε δοκιμαστικούς σωλήνες, όπου και ακολουθούσε προσθήκη 1 mL αντιδραστήριου p-ανισιδίνης. Όμοια παρασκευαζόταν το τυφλό δείγμα, προσθέτοντας 1 mL διαλύματος p-ανισιδίνης σε 5 mL καθαρού ισοοκτανίου. Ακολουθούσε ανακίνηση όλων των δειγμάτων και αφού παρέμεναν στην ηρεμία για 10 min, μετριόταν η απορρόφηση τους στα 350 nm (A_s). Ο υπολογισμός του αριθμού της p-ανισιδίνης (p-anisidine value, p-AV) γίνεται σύμφωνα με τον τύπο:

$$p - AV = \frac{25 \cdot (1.2A_s - A_b)}{m}$$

όπου, A_s : η απορρόφηση του αραιωμένου ελαιοδιαλύματος μετά την αντίδρασή του με την p-ανισιδίνη

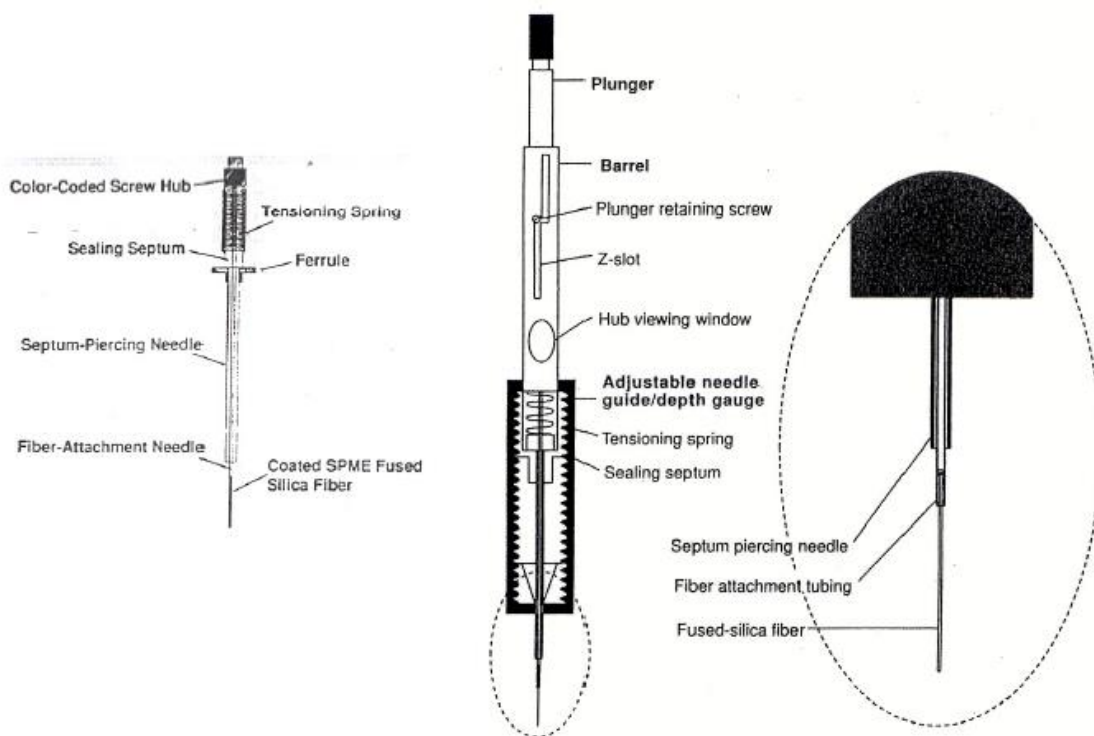
A_b : η αρχική απορρόφηση του αραιωμένου ελαιοδιαλύματος

m : η μάζα του ελαίου (g)

5.9.9. Προσδιορισμός πτητικών προϊόντων οξείδωσης με μικροεκχύλιση σε στερεή φάση και αέρια χρωματογραφία με φασματογράφο μάζας.

Τα δευτερογενή πτητικά προϊόντα της οξείδωσης των λιπαρών των τηγανισμένων chips πατάτας απομονώθηκαν με την τεχνική της μικροεκχύλισης σε στερεή φάση από τον υπερκείμενο χώρο του δείγματος (HS – SPME – headspace solid phase microextraction). Ο προσδιορισμός τους έγινε σε αέριο χρωματογράφο με φασματογράφο μάζας (GC – MS), όπως περιγράφηκε από τους Beltran et al. (2005).

Η συσκευή SPME αποτελείται από μία τριχοειδή ίνα τύπου πυριτίου (fused silica fiber). Η ίνα επικαλύπτεται στην εξωτερική της επιφάνεια από μία στατική φάση, η οποία συνδέεται σε ένα ασάλινο έμβολο και συγκρατείται από μία συσκευή (holder), που μοιάζει με μικροσύριγγα. Στην Εικόνα 5.17 απεικονίζεται το εσωτερικό τμήμα της συσκευής.



Εικόνα 5.17 Συσκευή SPME.

Η ίνα που χρησιμοποιήθηκε ήταν η StableFlex Divinylbenzene / Carboxen / PDMS 50/30 μm (DVB / CAR / PDMS, Supelco, Sigma-Aldrich Ltd, Dorset, UK), η οποία είναι κατάλληλη να δεσμεύει πολικές, πτητικές ενώσεις από τον υπερκείμενο χώρο του δείγματος.

Η ίνα προετοιμάστηκε με θέρμανση στους 230 °C, για 15 min, στην είσοδο της ένεσης του GC-MS πριν από τη χρήση. Τα προς ανάλυση δείγματα διατηρήθηκαν σε ισοθερμοκρασιακούς θαλάμους, στους 40 °C, για 30 min πριν από την εισαγωγή της ίνας στον υπερκείμενο χώρο κάθε δείγματος και η ίνα εκτίθεται για 30 min στον υπερκείμενο χώρο κάθε δείγματος μέχρι να αποκατασταθεί ισορροπία κατανομής της ουσίας μεταξύ της στατικής φάσης της ίνας και του δείγματος. Το μήκος της ίνας στον υπερκείμενο χώρο διατηρείτο σταθερό.

Στη συνέχεια, η ίνα εισαγόταν στον εισαγωγέα του αέριου χρωματογράφου, όπου και εκροφώνται οι ουσίες από τη στατική φάση. Η ανάλυση διεξήχθη σε Agilent Technologies (Palo Alto, California, USA) 7890A GC αέριο χρωματογράφο σε συνδυασμό με έναν ανιχνευτή εκλεκτικής μάζας Agilent Technologies 5975 C MSD, εξοπλισμένο με μία τριχοειδή στήλη Agilent HP-5 (19091J 413, 30m \times 0.25 mm εσωτερική διάμετρος, πάχος επίστρωσης 0.25 μm). Ήλιο χρησιμοποιήθηκε ως αέριο φορέας, με ρυθμό ροής 1 mL / min, γραμμική ταχύτητα 36 cm / s και λειτουργία χωρίς διαχωρισμό. Η θερμοκρασία της στήλης αυξήθηκε από 50 °C έως 100 °C με ρυθμό 10 °C / min και από 100 °C έως 220 °C με ρυθμό 15 °C / min και διατηρήθηκε στους 220 °C για 7 min. Η % μείωση κάθε ένωσης υπολογίστηκε ως:

$$\frac{\text{εμβαδόν της ένωσης στο δείγμα control} - \text{εμβαδόν της ένωσης στο επεξεργασμένο δείγμα}}{\text{εμβαδόν της ένωσης στο δείγμα control}} \times 100$$

5.11 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Όλα τα πειράματα έγιναν με διπλά δείγματα και κατά τη διάρκεια της ανάλυσης κάθε μέτρηση επαναλαμβανόταν δύο φορές. Τα αποτελέσματα παρουσιάζουν τους μέσους όρους δύο δειγμάτων. Η στατιστική ανάλυση των μετρήσεων έγινε με one way ANOVA test ($p < 0.05$), μέσω της χρήσης του στατιστικού προγράμματος statistica 10. Οι διαφορές ανάμεσα στους οξειδωτικούς δείκτες υπολογίστηκαν με post hoc σύγκριση των μέσων όρων με βάση το Duncan's test.

Βιβλιογραφία 5^ο κεφαλαίου

American Oil Chemists Societ (1998). Official methods and recommended practices of the AOCS (5th ed.). Champaign, Illinois: AOCS.

Baklari, C., Tsironi, T., & Taoukis, P. (2012). Predictive modelling of the shelf life of smoked fish. In Proceedings of 6th Central European Congress on Food-CEFood Congress. Institute of Food Technology, Novi Sad (Serbia).

Beltran, G., Aguilera, M. P., & Gordon, M. H. (2005). Solid phase microextraction of volatile oxidation compounds in oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 92(3), 401–406.

Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911–917.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25–30.

Gutfinger, T. (1981). Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 58(11), 966–968.

Merken, H. M., & Beecher, G. R. (2000). Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(3), 577–599.

Waterhouse, A. L. (2002). Determination of total phenolics. *Current protocols in food analytical chemistry*, 6(1), 11–1.

Κεφάλαιο 6ο: Αποτελέσματα – Σχολιασμός αποτελεσμάτων

6.1 Απόδοση των εκχυλίσεων των αρωματικών φυτών και εκλεκτικότητα στην παραλαβή φαινολικών συστατικών

Τα εκχυλίσματα των αρωματικών φυτών υποβλήθηκαν σε ξήρανση για προσδιορισμό του στερεού τους υπολείμματος, ώστε να υπολογισθεί η απόδοση της εκχύλισης με κάθε διαλύτη από κάθε αρωματικό φυτό. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.1 για τα εκχυλίσματα από τις διαδοχικές εκχυλίσεις οξικού αιθυλεστέρα (EAc) και αιθανόλης (E) από τα αρωματικά φυτά: ρίγανη με υψηλή περιεκτικότητα σε καρβακρόλη (*O. hirtum* - Carvacrol) αλλά και με χημειότυπο πλούσιο σε θυμόλη και καρβακρόλη (*O. hirtum* - Thymol-Carvacrol), θυμάρι (*Thymus capitatus*), θρούμπι (*Satureja thymbra*) και δεντρολίβανο (*Rosmarinus officinalis*).

Πίνακας 6.1 Αποδόσεις (g εκχυλισμένων συστατικών / 100 g ξηρού φυτού) των αρωματικών φυτών σε εκχυλισθέντα συστατικά με οξικό αιθυλεστέρα (EAc) και αιθανόλη (E) (μέσος όρος ± τυπική απόκλιση).

	<i>O. hirtum</i> Carvacrol		<i>O. hirtum</i> Thymol-Carvacrol		<i>Thymus</i> <i>capitatus</i>		<i>Satureja</i> <i>Thymbra</i>		<i>Rosmarinus</i> <i>officinalis</i>	
	% w/w απόδοση	sd	% w/w απόδοση	sd	% w/w απόδοση	sd	% w/w απόδοση	sd	% w/w απόδοση	sd
EAc	8.88 ^{a*}	0.01	8.31 ^a	0.04	4.00 ^a	0.30	4.65 ^a	0.07	13.42 ^a	0.25
E	13.40 ^b	0.20	8.90 ^b	0.20	6.00 ^b	0.10	11.60 ^b	0.10	10.93 ^b	0.03

*a < b

Διαπιστώνεται ότι το αιθανολικό εκχύλισμα του κάθε αρωματικού φυτού, με εξαίρεση το δεντρολίβανο, εμφανίζει υψηλότερες αποδόσεις σε σχέση με το εκχύλισμά του από οξικό αιθυλεστέρα. Είναι γεγονός πως τα κλάσματα που λαμβάνονται με διαλύτη πολύ μεγαλύτερης πολικότητας τείνουν να έχουν καλύτερες αποδόσεις επί ξηρής βάσης (Τσιμογιάννης, 2008). Από τα αιθανολικά εκχυλίσματα, τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε εκχυλισθέντα συστατικά κατέχει εκείνο του φυτού *Origanum hirtum* - Carvacrol (13.40 ± 0.20 % w/w), ακολουθούμενο από το αντίστοιχο εκχύλισμα της *Satureja thymbra* (11.60 ± 0.10 % w/w). Το αιθανολικό εκχύλισμα του *Rosmarinus officinalis* εμφάνισε επίσης σημαντική απόδοση (10.93 ± 0.03 % w/w), όπως και εκείνο της *Origanum hirtum* - Thymol-Carvacrol (8.90 ± 0.20 % w/w). Στα εκχυλίσματα από οξικό αιθυλεστέρα το δεντρολίβανο κατέχει την υψηλότερη τιμή απόδοσης, ενώ στη δεύτερη θέση εμφανίζεται η ρίγανη με το χημειότυπο πλούσιο σε καρβακρόλη. Ακολουθεί η ρίγανη μικτού χημειότυπου και το θρούμπι, με απόδοση σε εκχυλίσσιμες ενώσεις ίση με 4.65 ± 0.07 % w/w. Το θυμάρι φαίνεται να παρουσιάζει τις χαμηλότερες τιμές απόδοσης, τόσο συγκρίνοντας το εκχύλισμα αιθανόλης (6.00 ± 0.10 % w/w) όσο και οξικού αιθυλεστέρα του (4.00 ± 0.30 % w/w) με τα αντίστοιχα των υπολοίπων φυτών.

Η απόδοση σε ολικό αιθανολικό εκχύλισμα (χωρίς προηγούμενη εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα) του αρωματικού φυτού *Origanum hirtum* Thymol-Carvacrol βρέθηκε ίση με 16.20 ± 0.60 % w/w. Ενώ η τιμή αυτή αναμένεται να είναι ίση με το άθροισμα των αποδόσεων των εκχυλισμάτων οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης του φυτού, δηλαδή περίπου 17.21 ± 0.24 % w/w, φαίνεται να είναι ελαφρώς μειωμένη. Αντίστοιχα στο δεντρολίβανο, η απόδοση σε ολικό αιθανολικό εκχύλισμα βρέθηκε ίση με 25.30 ± 1.42 % w/w, ενώ αναμενόταν να είναι περίπου ίση με 24.35 ± 0.28 % w/w. Η διαφορά αυτή από την αναμενόμενη τιμή απόδοσης είναι πολύ μικρή, στα όρια της τυπικής απόκλισης μεταξύ των εκχυλίσεων, και πιθανώς οφείλεται στο γεγονός ότι η εκχύλιση είναι μία καθαρά εμπειρική διαδικασία, καθώς διακόπτεται κατά την παρατήρηση του αποχρωματισμού του παραληφθέντος διαλύματος. Για παράδειγμα, η πιθανή πολύωρη εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα που προηγήθηκε εκείνης με αιθανόλη αιτιολογεί την

υψηλότερη τιμή του αθροίσματος των αποδόσεων τους, συγκριτικά με την απόδοση της απευθείας εκχύλισης με αιθανόλη.

Η σύσταση των εκχυλισμάτων σε φαινολικά συστατικά, στα οποία οφείλεται κυρίως η αντιοξειδωτική τους δράση, προσδιορίστηκε μέσω της μεθόδου Folin-Ciocalteu. Οι μετρήσεις για όλα τα εκχυλίσματα που παραλήφθησαν, καταγράφονται στον Πίνακα 6.2. Η ρίγανη χημειότυπου καρβακρόλης και το θρούμπι φαίνεται να αποτελούν πολλά υποσχόμενα φυσικά αντιοξειδωτικά, καθώς τα κλάσματά τους έχουν υψηλές περιεκτικότητες σε φαινολικές ενώσεις, με τα αιθανολικά εκχυλίσματά τους να διαφέρουν από τα υπόλοιπα εκχυλίσματα φθάνοντας στις τιμές 36.70 ± 0.65 mg GAE/g ξηρού φυτού και 33.50 ± 0.71 mg GAE/g ξηρού φυτού αντίστοιχα. Πλούσια σε φαινολικά συστατικά φαίνονται να είναι και τα υπόλοιπα αιθανολικά εκχυλίσματα, με πρώτα του δεντρολίβανου και μετά της ρίγανης χημειότυπου θυμόλης-καρβακρόλης και του θυμαριού. Τα εκχυλίσματα από οξικό αιθυλεστέρα εμφανίζουν ελαφρώς χαμηλότερη αποδοτικότητα σε φαινολικά συστατικά. Συγκριτικά, φαίνεται ότι το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Rosmarinus officinalis* έχει την υψηλότερη σύσταση (14.87 ± 0.52 mg GAE/g ξηρού φυτού), ενώ το αντίστοιχο εκχύλισμα του *Satureja thymbra* τη χαμηλότερη (7.16 ± 0.55 mg GAE/g ξηρού φυτού).

Στον Πίνακα 6.2 παρουσιάζεται η εκλεκτικότητα των εκχυλίσεων ή διαφορετικά η ικανότητα του εκάστοτε διαλύτη να εκχυλίσει τα φαινολικά συστατικά των φυτών που μελετήθηκαν. Τα εκχυλίσματα του οξικού αιθυλεστέρα εμφανίζουν χαμηλότερη εκλεκτικότητα στην εκχύλιση των φαινολικών συστατικών σε σύγκριση με εκείνη των εκχυλισμάτων της αιθανόλης για όλα τα αρωματικά φυτά. Το αιθανολικό εκχύλισμα από θρούμπι εμφάνισε την μεγαλύτερη εκλεκτικότητα (28.88 ± 0.62 g GAE/100g εκχυλισμένων συστατικών), ενώ το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα από δεντρολίβανο τη χαμηλότερη (11.08 ± 0.39 g GAE/100g εκχυλισμένων συστατικών).

Πίνακας 6.2 Περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά, εκφρασμένα σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE), των αιθανολικών (E), ολικών αιθανολικών (ET) και οξικού αιθυλεστέρα (EAc) εκχυλισμάτων και εκλεκτικότητα των εκχυλίσεων.

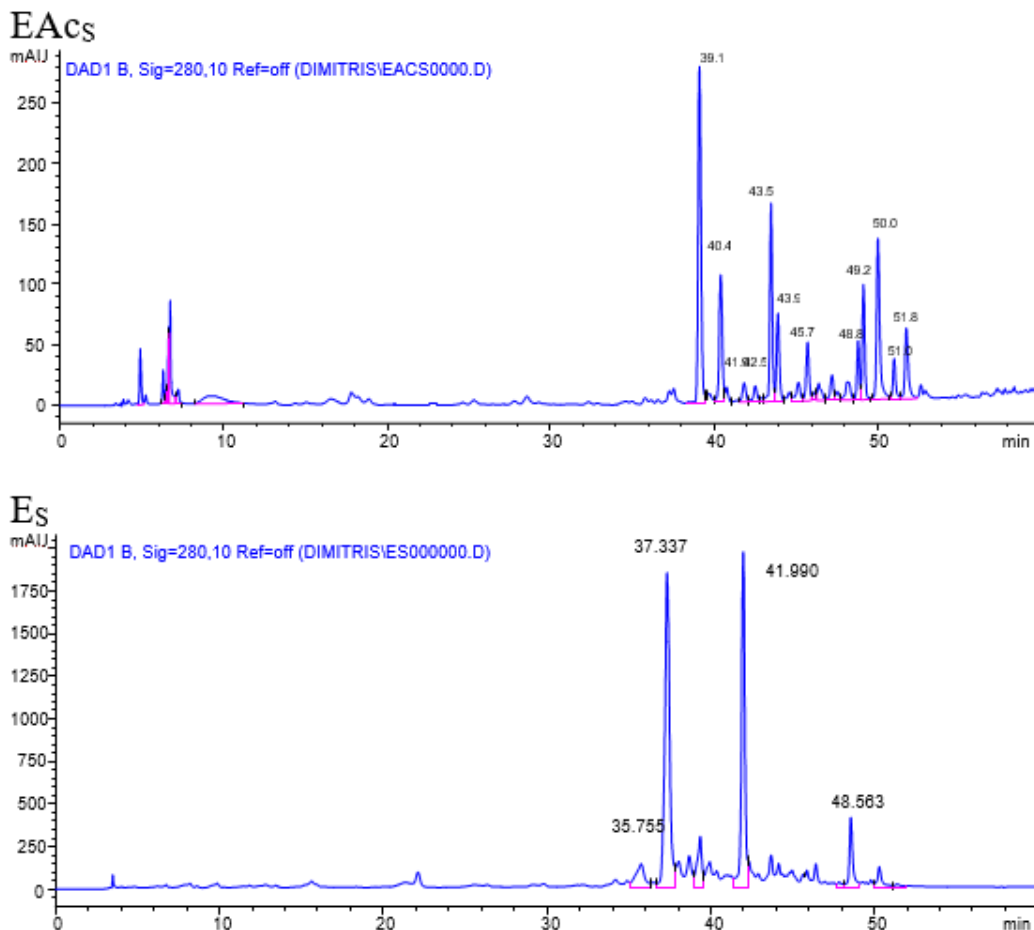
Εκχύλισμα	Ολικά φαινολικά συστατικά (mg GAE/g ξηρού φυτού)	Εκλεκτικότητα εκχυλίσεων (g GAE/100g εκχυλισμένων συστατικών)
EAc		
<i>O. hirtum</i> - Carvacrol	14.38 ± 0.07	16.19 ± 0.08
<i>O. hirtum</i> - Thymol-Carvacrol	10.72 ± 0.30	12.90 ± 0.36
<i>Thymus capitatus</i>	7.97 ± 0.04	19.93 ± 0.11
<i>Satureja thymbra</i>	7.16 ± 0.55	13.07 ± 0.53
<i>Rosmarinus officinalis</i>	14.87 ± 0.52	11.08 ± 0.39
E		
<i>O. hirtum</i> - Carvacrol	36.70 ± 0.65	27.39 ± 0.48
<i>O. hirtum</i> - Thymol-Carvacrol	20.72 ± 0.13	23.28 ± 0.16
<i>Thymus capitatus</i>	16.82 ± 0.13	28.03 ± 0.22
<i>Satureja thymbra</i>	33.50 ± 0.71	28.88 ± 0.62
<i>Rosmarinus officinalis</i>	21.95 ± 0.65	20.08 ± 0.59
ET		
<i>O. hirtum</i> Thymol-Carvacrol	34.16 ± 0.97	21.08 ± 0.60
<i>Rosmarinus officinalis</i>	41.49 ± 0.38	16.40 ± 0.15

6.2 Χρωματογραφική ανάλυση των συστατικών των εκχυλισμάτων

Για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των φαινολικών ενώσεων των εκχυλισμάτων που παρασκευάστηκαν, χρησιμοποιήθηκαν δύο συστήματα υγρής χρωματογραφίας, το ένα συζευγμένο με φασματόμετρο συστοιχίας φωτοδίοδων (HPLC-DAD) και το δεύτερο με φασματόμετρο μάζας (HPLC-ESI-MS/MS). Η αναγνώριση των συστατικών βασίστηκε στα φάσματα UV-Vis, τους χρόνους κατακράτησης και τα

κλάσματα μάζας, ενώ τα δεδομένα βιβλιογραφίας χρησιμοποιήθηκαν για σύγκριση όταν δεν υπήρχαν διαθέσιμα πρότυπα.

Στην Εικόνα 6.1 παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα που λήφθηκαν μετά από διαδοχικές εκχυλίσεις με οξικό αιθυλεστέρα και στη συνέχεια με αιθανόλη του αρωματικού φυτού *S. thymbra*. Ο οξικός αιθυλεστέρας εκχυλίζει τα λιγότερο πολικά συστατικά των φυτών και η αιθανόλη τα πιο πολικά φαινολικά συστατικά. Κύρια κορυφή και στα δύο εκχυλίσματα είναι το ροσμαρινικό οξύ, ακολουθούμενο από το σαλβιανολικό οξύ. Τα χρωματογραφήματα για όλα τα άλλα εκχυλίσματα που παρασκευάστηκαν και αναλύθηκαν με υγρή χρωματογραφία παρατίθενται στο Παράρτημα I.



Εικόνα 6.1 Χρωματογραφήματα που λήφθηκαν από την ανάλυση των εκχυλισμάτων οξικού αιθυλεστέρα (EAcS) και αιθανόλης (ES) από θρούμπι με υγρή χρωματογραφία.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός μεμονωμένων ενώσεων βασίστηκε στις αντίστοιχες καμπύλες αναφοράς που κατασκευάστηκαν για την εριοδικτυόλη, την κερκετίνη, το ροσμαρινικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το καρνοσικό οξύ και την καρβακρόλη στα μέγιστα απορρόφησης για κάθε ουσία. Οι εξισώσεις που χρησιμοποιήθηκαν, με βάση τις καμπύλες αναφοράς, παρουσιάζονται παρακάτω:

Ροσμαρινικό οξύ:	$\lambda_{360\text{nm}}$	\rightarrow	$A = 19.148 * C + 3.973$	$R^2 = 0.998$
Καφεϊκό οξύ:	$\lambda_{360\text{nm}}$	\rightarrow	$A = 12.367 * C + 6.688$	$R^2 = 0.999$
Κερκετίνη:	$\lambda_{320\text{nm}}$	\rightarrow	$A = 22.391 * C - 56.847$	$R^2 = 0.999$
Εριοδικτυόλη:	$\lambda_{320\text{nm}}$	\rightarrow	$A = 16.488 * C + 11.572$	$R^2 = 0.999$
Καρβακρόλη:	$\lambda_{280\text{nm}}$	\rightarrow	$A = 14.458 * C + 51.794$	$R^2 = 0.998$
Καρνοσικό οξύ:	$\lambda_{230\text{nm}}$	\rightarrow	$A = 34.567 * C + 32.475$	$R^2 = 0.999$

Στον Πίνακα 6.3 παρουσιάζονται οι ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν, οι χρόνοι έκλυσης, τα μέγιστα απορρόφησης και τα θραύσματα μάζας αυτών. Οι ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν ως φλαβονόλες και φλαβανόνες εκφράστηκαν ως ισοδύναμα εριοδικτυόλης, ενώ εκείνες που ταυτοποιήθηκαν ως φλαβονόλες και φλαβόνες εκφράστηκαν ως ισοδύναμα κερκετίνης. Αντίστοιχα τα φαινολικά οξέα που ταυτοποιήθηκαν στα εκχυλίσματα εκφράστηκαν ως ισοδύναμα ροσμαρινικού οξέος και τα φαινολικά διτερπένια ως ισοδύναμα καρνοσικού οξέος.

Πίνακας 6.3 Χρόνοι έκλουσης, μέγιστα απορρόφησης και θραύσματα μάζας των φαινολικών ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στα αρωματικά φυτά που μελετήθηκαν.

Ένωση	Χρόνος έκλουσης (min)	Μέγιστα απορρόφησης (nm)	[M – H] ⁺	Θραύσματα (m/z)
Καφεϊκό οξύ	16.1	324	179	135
Διγλυκοζίτης της απιγενίνης	22.8	272, 332	593	473
ταξιφολίνη	24.7	290, 336	303	-
διύδροκαμπερόλη	32.2	290	287	-
7,4'-δι-Ο-γλουκορονίδιο της λουτεολίνης	33.1	257, 264, 346	637	285
7-ρουτινοζίτης της λουτεολίνης	36.8	254, 268, 348	593	285
Ροσμαρινικό οξύ	38.0	294, 329	359	161
3-Ο-εξοζίτης της ισοραμνετίνης	38.3	237, 336	477	315, 300
Γλυκοζίτης της απιγενίνης	38.6	266, 337	431	269
Ομοπλανταγινίνη	39.0	333, 270	461	285
Εριοδουκτιόλη	39.3	287, 334	287	151
Λιθοσπερμικό οξύ	39.8	254, 286, 308, 330	537	493
Σαλβιανολικό οξύ	42.5	254, 287, 309	534	339
Ναρινγκενίνη	43.9	284, 330	271	-
Κεκρετίνη	44.9	287, 345	301	-
Λουτεολίνη	45.9	265, 347	285	-
Απιγενίνη	46.9	238, 267, 338	269	-
Καρβακρόλη	47.7	273	149	-
Θυμόλη	48.0	274	149	-
7,3'-διμεθυλαιθέρας της 6-OH λουτεολίνης	48.9	286, 346	329	314
Χισπιδουλίνη	49.3	247	299	-
7-μεθυλαιθέρας της απιγενίνης	49.8	335, 268	284	268
7,3',4'-τριμεθυλαιθέρας της 6-OH λουτεολίνης	50.6	251, 280, 343	327	298
Καρνοσόλη	50.8	284	330	285
Καρνοσικό οξύ	54.5	285	331	287
Καρνοσικός μεθυλεστέρας	57.2	282	345	301

Στους Πίνακες 6.4, 6.5 και 6.6 παρουσιάζονται τα κύρια φαινολικά συστατικά των εκχυλισμάτων (οξικού αιθυλεστέρα, αιθανόλης και ακετόνης) όλων των αρωματικών φυτών που μελετήθηκαν. Το ροσμαρινικό οξύ ανιχνεύθηκε σε όλα τα εκχυλίσματα που εξετάστηκαν. Πρόκειται για ένα από τα πιο σημαντικά φαινολικά οξέα που είναι κοινό σε πολλά αρωματικά φυτά καθώς αποτελεί ισχυρό δεσμευτή των ελευθέρων ριζών που αναπτύσσονται κατά την οξειδωση των λιπαρών των τροφίμων (Lu & Foo, 2001). Η περιεκτικότητά του, ωστόσο, διαφοροποιείται σημαντικά, με το θρούμπι να εμφανίζει τη μέγιστη σύσταση στο αιθανολικό του εκχύλισμα (129.11 mg/g ξηρού εκχυλίσματος), ακολουθούμενο από το αιθανολικό και πάλι εκχύλισμα της ρίγανης πλούσιας σε καρβακρόλη (116.17 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Τα υπόλοιπα εκχυλίσματα βρέθηκε να έχουν χαμηλότερες τιμές ροσμαρινικού οξέος, με τη μικρότερη να εντοπίζεται στο εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από το θυμάρι (12.98 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Γενικά, παρατηρείται για το κάθε αρωματικό φυτό πως τα αιθανολικά του εκχυλίσματα είναι πιο πλούσια σε ροσμαρινικό οξύ από τα αντίστοιχα του οξικού αιθυλεστέρα. Η αιθανόλη, ως πιο πολικός διαλύτης από τον οξικό αιθυλεστέρα, εκχυλίζει τα πιο πολικά φαινολικά συστατικά, όπως το ροσμαρινικό οξύ και τους γλυκοζίτες των φλαβονοειδών. Αντίστοιχα τα εκχυλίσματα του οξικού αιθυλεστέρα είναι πλούσια σε λιγότερο πολικά φαινολικά συστατικά όπως οι αγλυκόνες των φλαβονοειδών. Η σύσταση σε ροσμαρινικό οξύ του ολικού αιθανολικού εκχυλίσματος της ρίγανης του μικτού χημειότυπου θυμόλης-καρβακρόλης ανήλθε στην τιμή 45.8 mg/g ξηρού εκχυλίσματος, ενώ του ολικού αιθανολικού εκχυλίσματος του δεντρολίβανου βρέθηκε ίσο με 48.3 mg/g ξηρού εκχυλίσματος.

Πίνακας 6.4 Ποσοτικοποίηση των κύριων φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων (οξικού αιθυλεστέρα: EAc και αιθανόλης: E) των δύο χημειότυπων ρίγανης που εξετάστηκαν (*O. hirtum* Carvacrol και *O. hirtum* Thymol-Carvacrol).

Ένωση	<i>O. hirtum</i> Carvacrol		<i>O. hirtum</i> Thymol-Carvacrol	
	mg/g ξηρού εκχυλίσματος			
	EAc	E	EAc	E
Ροσμαρινικό οξύ	35.30 ± 0.59	116.17 ± 1.13	13.60 ± 0.15	58.62 ± 0.44
Λιθοσπερμικό οξύ B ^a	-	-	-	10.50 ± 0.43
Καρβακρόλη	94.62 ± 1.18	-	25.45 ± 1.20	-
Θυμόλη ^b	-	-	26.27 ± 1.66	-
Ταξιφολίνη ^c	0.57 ± 0.02	-	0.59 ± 0.01	-
Δυδροκαμπερόλη ^c	1.03 ± 0.07	-	0.78 ± 0.04	-
Εριοδικτυόλη	3.30 ± 0.10	-	3.42 ± 0.02	-
Ναρινγκενίνη ^d	4.22 ± 0.13	-	3.13 ± 0.06	-

^a εκφρασμένο ως ισοδύναμα ροσμαρινικού οξέος

^b εκφρασμένο ως ισοδύναμα καρβακρόλης

^c εκφρασμένο ως ισοδύναμα κερκετίνης

^d εκφρασμένο ως ισοδύναμα εριοδικτυόλης

Πίνακας 6.5 Ποσοτικοποίηση των κύριων φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων ακετόνης (Ac) και αιθανόλης (E) του δενδρολίβανου (*Rosmarinus officinalis*) και οξικού αιθυλεστέρα (EAc) και αιθανόλης (E) του θυμαριού (*Thymus capitatus*).

Ένωση	<i>Rosmarinus officinalis</i>		<i>Thymus capitatus</i>	
	mg/g ξηρού εκχυλίσματος			
	Ac	E	EAc	E
Ροσμαρινικό οξύ	0.66 ± 0.02	36.30 ± 0.13	12.98 ± 0.12	28.59 ± 0.98
Λιθοσπερμικό οξύ B ^a	-	-	-	16.08 ± 0.52
Χισπιδουλίνη ^b	1.24 ± 0.06	2.57 ± 0.15	-	-
Καφεϊκό οξύ	-	1.95 ± 0.05	-	-
Καρβακρόλη	-	-	176.34 ± 1.85	-
Ταξιφολίνη ^b	-	-	4.28 ± 0.08	-
Εριοδικτυόλη	-	-	2.36 ± 0.09	-
3-Ο-εξοζίτης της ισοραμεντίνης ^b	-	1.10 ± 0.04	-	-
Γλυκοζίτης της απιγενίνης ^b	-	3.78 ± 0.05	-	-
Ομοπλανταγινίνη ^b	-	8.33 ± 0.10	-	-
7-μεθυλαιθέρας της απιγενίνης ^b	1.30 ± 0.21	1.19 ± 0.25	-	-
Καρνοσικός μεθυλεστέρας ^c	-	0.79 ± 0.01	-	-
Καρνοσόλη ^c	7.55 ± 0.12	4.36 ± 0.02	-	-
Καρνοσικό οξύ	26.54 ± 1.21	22.28 ± 0.87	-	-

^a εκφρασμένο ως ισοδύναμα ροσμαρινικού οξέος

^b εκφρασμένο ως ισοδύναμα κερκετίνης

^c εκφρασμένο ως ισοδύναμα καρνοσικού οξέος

Ένα άλλο συστατικό που απαντάται ευρέως σε ορισμένα αρωματικά φυτά είναι η καρβακρόλη, καθώς και το ισομερές της, η θυμόλη. Οι ενώσεις αυτές αποτελούν συστατικά των αιθέριων ελαίων των αρωματικών φυτών, αλλά η φυτόμαζα που παραμένει ως απόβλητο μετά την απομόνωση των αιθέριων ελαίων, και

χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των εκχυλισμάτων της παρούσας διδακτορικής διατριβής, φαίνεται πως περιέχει αρκετά σημαντικές ποσότητες των δύο αυτών ουσιών. Συνεπώς, ο οξικός αιθυλεστέρας και η αιθανόλη εκχυλίζουν τις εναπομένουσες ποσότητες των δύο αυτών ουσιών από την απελαιωμένη φυτόμαζα. Συγκεκριμένα, η καρβακρόλη ανιχνεύθηκε στα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα, με το θυμάρι να διαθέτει τη μεγαλύτερη σύσταση (176.34 mg/g ξηρού εκχυλίσματος) και το θρούμπι τη μικρότερη (16.99 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Το ολικό αιθανολικό εκχύλισμα τη ρίγανης του μικτού χημειότυπου παρουσίασε επίσης χαμηλή τιμή (25.45 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Από την άλλη μεριά, η *Origanum hirtum* Thymol-Carvacrol, όπως αποδεικνύει και το όνομά της, περιείχε και θυμόλη. Στο ολικό αιθανολικό της εκχύλισμα και σε εκείνο του οξικού αιθυλεστέρα εντοπίστηκαν παρόμοιες περιεκτικότητες θυμόλης ίσες με 21.94 και 26.27 mg/g ξηρού εκχυλίσματος, αντίστοιχα. Θυμόλη επίσης ανιχνεύθηκε στο θρούμπι και συγκεκριμένα στο εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα του (7.72 mg/g ξηρού εκχυλίσματος).

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

Το θρούμπι είναι το λιγότερο μελετημένο βιβλιογραφικά από τα αρωματικά φυτά που εξετάστηκαν και για το λόγο αυτό έχει γίνει ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των περισσότερων φαινολικών του συστατικών. Επιπλέον, μαζί με το δενδρολίβανο, αποτελούν τα αρωματικά φυτά με τα οποία ασχολήθηκε η παρούσα διδακτορική διατριβή και συνεπώς η πλήρης καταγραφή του φαινολικού προφίλ των εκχυλισμάτων του κρίθηκε ουσιαστική.

Το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι παρουσίασε τέσσερις κύριες κορυφές που ταυτοποιήθηκαν ως οι φλαβόνες λουτεολίνη και απιγενίνη και οι φλαβανόνες εριοδικτυόλη και ναριγγενίνη, με σύγκριση των UV-VIS φασμάτων τους με τις αντίστοιχες πρότυπες ενώσεις. Οι τέσσερις αυτές ενώσεις ανιχνεύθηκαν επίσης από τους

Skoula et al. (2005), οι οποίοι ανέφεραν επίσης την παρουσία αρωμαδενδρίνης και κερκετίνης που βρέθηκαν σε ίχνη στο εκχύλισμά μας. Η 6-OH-λουτεολίνη ταυτοποιήθηκε με τη μορφή των 7,3'-διμεθυλ και 7,3',4'-τριμεθυλαιθέρων, όπως προσδιορίστηκαν από τα φάσματα UV-VIS και τα φάσματα μάζας τους. Αυτές οι ενώσεις έχουν επίσης ταυτοποιηθεί από τους Skoula et al. (2005) στο θρούμπι.

Τα κύρια φλαβονοειδή που ταυτοποιήθηκαν στο αιθανολικό εκχύλισμα από θρούμπι ήταν ο 7-O-ρουτινοζίτης της λουτεολίνης, ο 6,8-δι-C-γλυκοζίτης της απιγενίνης, η απιγενίνη και ο 7,3'-διμεθυλαιθέρας της 6-OH-λουτεολίνης. Ο 7-O-ρουτινοζίτης της λουτεολίνης παρουσίασε ένα μοριακό ιόν $[M-H]^-$ σε m/z 593 που έδωσε θραύσμα με m/z 285 που αντιστοιχεί στην αγλυκόνη της λουτεολίνης. Η απώλεια 308 amu αντανάκλα τη μονάδα του ρουτινοζίτη. Επιπλέον, το φάσμα UV-Vis της ένωσης ταιριάζει με το πρότυπο που αναφέρεται από τους Mabry et al. (1970). Η ένωση αυτή έχει ταυτοποιηθεί στη *Satureja hortensis* από τους Kemertelidze et al. (2004) και στη *Satureja montana* των López-Cobo et al. (2015). Ο 6,8-διγλυκοζίτης της απιγενίνης παρουσίασε ένα φάσμα UV-Vis τύπου φλαβόνης και ένα μοριακό ιόν $[M-H]^-$ σε m/z 593 που παρήγαγε δύο κύρια θραύσματα με m/z 473 και 383. Οι Martins et al. (2014), αναλύοντας εκχυλίσματα ρίγανης (*O. vulgare*) με LC-MS/MS, ανέφεραν ένα πανομοιότυπο πρωτότυπο τρόπο θρυμματισμού του μοριακού ιόντος με m/z 593 και αναγνώρισαν την ένωση αυτή ως 6,8-διγλυκοζίτης της απιγενίνης. Η ένωση αυτή ($[M-H]^- = 593$) με παρόμοια θραύσματα και φάσμα UV-Vis έχει επίσης ταυτοποιηθεί στο αρωματικό *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* από τους Grevsen et al. (2009) και Koukoulitsa et al. (2006).

Πίνακας 6.6 Ποσοτικοποίηση των κύριων φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων (οξικού αιθυλεστέρα: EAc, αιθανόλης: E και υδατικό: Aq) του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra*.

Ένωση	<i>Satureja Thymbra</i>		
	mg/g ξηρού εκχυλίσματος		
	EAc	E	Aq
Ροσμαρινικό οξύ	30.61 ± 0.48	129.11 ± 2.44	62.05 ± 0.60
Λιθοσπερμικό οξύ B ^a	-	9.02 ± 0.68	13.62 ± 0.30
Σαλβιανολικό οξύ A ^a	20.78 ± 0.87	66.90 ± 1.04	21.11 ± 1.00
Καφεϊκό οξύ ^a	-	2.71 ± 0.11	1.75 ± 0.01
Καρβακρόλη	16.99 ± 1.58	-	0.21 ± 0.12
Θυμόλη ^b	7.72 ± 0.33	-	-
Εριοδικτυόλη	6.72 ± 0.24	0.72 ± 0.07	3.28 ± 0.12
Ναρινγκενίνη ^c	4.54 ± 0.31	-	-
Κερκετίνη	2.22 ± 0.30	-	-
Λουτεολίνη ^d	10.48 ± 1.63	-	-
Απιγενίνη ^d	5.44 ± 1.18	28.38 ± 0.47	2.81 ± 0.27
Γλυκοζίτης της απιγενίνης ^d	1.24 ± 0.25	10.21 ± 2.42	3.10 ± 0.58
Διγλυκοζίτης της απιγενίνης ^d	-	23.73 ± 0.17	11.00 ± 0.12
7,3'-διμεθυλαιθέρας της 6-OH λουτεολίνης ^d	30.81 ± 3.27	23.80 ± 1.80	-
7,3',4'-τριμεθυλαιθέρας της 6-OH λουτεολίνης ^d	15.19 ± 2.62	7.99 ± 1.91	-
7-ρουτινοζίτης της λουτεολίνης ^d	-	57.01 ± 0.74	20.92 ± 0.70
7,4'-δι-O-γλουκορονίδιο της λουτεολίνης ^d	-	2.44 ± 0.39	3.43 ± 0.02

^a εκφρασμένο ως ισοδύναμα ροσμαρινικού οξέος

^b εκφρασμένο ως ισοδύναμα καρβακρόλης

^c εκφρασμένο ως ισοδύναμα εριοδικτυόλης

^d εκφρασμένο ως ισοδύναμα κερκετίνης

Επιπλέον, ταυτοποιήθηκαν 3 δευτερεύουσες κορυφές ως 7,4'-διγλυκουρονίδιο της λουτεολίνης, 7-γλυκοζίτης της απιγενίνης και ο 7,3',4'-τριμεθυλαιθέρας της λουτεολίνης, ενώ η εριοδικτυόλη ανιχνεύθηκε σε ίχνη. Το 7,4'-διγλυκουρονίδιο της λουτεολίνης παρουσίασε μοριακό ιόν $[M-H]^-$ σε $m/z = 637$ amu, το οποίο θραυσματώθηκε σε $m/z = 285$ amu (λουτεολίνη) και η απώλεια 352 amu αντιστοιχεί σε δύο μονάδες γλυκουρονιίου. Η ένωση ταυτοποιήθηκε ως λουτεολίνη 7,4'-γλυκουρονίδιο της λουτεολίνης, αφού τα φάσματα UV-Vis και MS ήταν παρόμοια με αυτά που ταυτοποιήθηκαν από τους Yin et al. (2012) και Grevsen et al. (2009) για την αντίστοιχη ένωση στη ρίγανη (*Origanum vulgare L. ssp. hirtum*). Η ένωση με μοριακό ιόν ίσο με $m/z = 431$ amu ταυτοποιήθηκε ως γλυκοζίτης της απιγενίνης αφού η θραυσμάτωση της παρήγαγε ένα ιόν με $m/z = 269$ (απιγενίνη) και η απώλεια 162 amu αντιστοιχεί σε ένα τμήμα εξοσυλίου. Ο 7-γλυκοζίτης της απιγενίνης είναι ένας κοινός γλυκοζίτης των αρωματικών φυτών της οικογένειας Lamiaceae, ο οποίος έχει εντοπιστεί από πολλούς ερευνητές (López-Cobo et al., 2015; Yin et al., 2012; Grevsen et al., 2009; Koukoulitsa et al., 2006; Koşar et al., 2005).

Στο υδατικό εκχύλισμα ταυτοποιήθηκαν ο 7-ρουτινοζίτης της λουτεολίνης και ο 6,8-διγλυκοζίτης της απιγενίνης ως κύρια φλαβονοειδή, ενώ το 7,4'-διγλυκουρονίδιο της λουτεολίνης, ο 7-γλυκοζίτης της απιγενίνης, η εριοδικτυόλη και η απιγενίνη ταυτοποιήθηκαν επίσης ως δευτερεύοντα φλαβονοειδή. Τα φασματικά δεδομένα των παραπάνω ενώσεων ταίριαζαν με τις ταυτοποιήσεις που έχουν ήδη πραγματοποιηθεί για τα προηγούμενα εκχυλίσματα.

Το ροσμαρινικό οξύ ήταν το κύριο φαινολικό οξύ σε όλα τα εκχυλίσματα του αρωματικού φυτού *S. thymbra*, ακολουθούμενο από το σαλβιανολικό οξύ Α και το λιθοσπερμικό οξύ. Το ροσμαρινικό οξύ ταυτοποιήθηκε με τη χρήση εσωτερικών προτύπων, φασμάτων UV-Vis και MS, ενώ η δομή των δύο άλλων φαινολικών οξέων επιβεβαιώθηκε με σύγκριση των χρωματογραφικών και φασματικών δεδομένων με εκείνα από άλλους ερευνητές. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως το σαλβιανολικό οξύ Α αποτελεί συστατικό μόνο του αρωματικού φυτού *S. thymbra*. Ανήκει στην κατηγορία των φαινολικών οξέων και συνεπώς πρόκειται για ισχυρό αντιοξειδωτικό. Αναφέρεται ότι είναι ικανό να παρεμποδίζει το σχηματισμό ριζών, όπως $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 και OH^{\cdot} (Sun et

al., 2009). Το λιθοσπερμικό οξύ παρουσίασε μοριακό ιόν με $m/z = 537$ amu, το οποίο θραυσματώθηκε σε 493 και 359 amu, σύμφωνα τόσο με τα φασματικά δεδομένα μάζας της παρούσας διδακτορικής διατριβής όσο και με εκείνα που αναφέρθηκαν από τους Martins et al. (2014), Miron et al. (2013) και Liu et al. (2007). Η κορυφή που αποδόθηκε στο σαλβιανολικό οξύ A παρουσίασε μοριακό ιόν με $m/z = 493$ amu, το οποίο θραυσματώθηκε σε 295 amu. Οι Liu et al. (2007) ανέφεραν τα ίδια αποτελέσματα για το σαλβιανολικό οξύ A. Επιπλέον, οι Xu et al. (2008) και Zhang et al. (2013) παρουσίασαν το φάσμα UV-Vis του σαλβιανολικού οξέος A, το οποίο φαίνεται πανομοιότυπο με αυτό που βρέθηκε στην παρούσα εργασία. Επιπλέον η σειρά έκλυσης που παρατηρήθηκε στην παρούσα διδακτορική διατριβή, δηλαδή το ροσμαρινικό, ακολουθούμενο από το λιθοσπερμικό και το σαλβιανολικό οξύ A, επαληθεύτηκε από τα αποτελέσματα των Liu et al. (2007). Τέλος, το καφεϊκό οξύ ανιχνεύθηκε σε μικρές ποσότητες στο υδατικό και το αιθανολικό εκχύλισμα.

Η αιθανόλη ανέκτησε τις υψηλότερες ποσότητες φαινολικών οξέων, ενώ αξιόλογες ποσότητες ανιχνεύθηκαν και στο υδατικό εκχύλισμα του φυτού. Αντιθέτως, το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα, λόγω χαμηλότερης πολικότητας από την αιθανόλη και το νερό, ανέκτησε μεγαλύτερη ποσότητα φλαβονοειδών.

6.3 Χρωματογραφική ανάλυση των συστατικών των αιθέριων ελαίων

Η απόδοση σε αιθέριο έλαιο του αρωματικού φυτού *Origanum hirtum* χημειότυπου καρβακρόλης βρέθηκε ίση με 3.6 mL/100 g φυτού, ενώ η αντίστοιχη του μικτού χημειότυπου ρίγανης ίση με 3.2 mL/100 g φυτού. Η απόδοση σε αιθέριο έλαιο του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra* που μελετήθηκε ήταν 3.9 mL/100 g φυτού, του θυμαριού βρέθηκε ίση με 3.7 mL/100 g φυτού και του δεντρολίβανου ίση με 0.4 mL/100 g φυτού. Στους Πίνακες 6.7 και 6.8 παρατίθενται η σύσταση των αιθέριων ελαίων από θρούμπι και δεντρολίβανο καθώς αυτά τα δύο έλαια χρησιμοποιήθηκαν για τη συνέχεια των πειραμάτων της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Η μελέτη της δράσης του αιθέριου ελαίου και των εκχυλισμάτων από δεντρολίβανο σε τρόφιμα έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς αποτελεί ένα αποδεκτό από την ευρωπαϊκή ένωση φυσικό

αντιοξειδωτικό. Παράλληλα, το θρούμπι είναι ένα αρωματικό φυτό με υψηλό φαινολικό φορτίο, του οποίου τα εκχυλίσματα δεν έχουν μελετηθεί αρκετά στην ενσωμάτωση τους σε τρόφιμα και συστήματα τροφίμων.

Πίνακας 6.7 Σύσταση αιθέριου ελαίου του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra*, όπως προέκυψε από ανάλυση με αέρια χρωματογραφία (GC-MS).

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

Το αιθέριο έλαιο της *Satureja thymbra* παρουσιάζει αντίστοιχη σύσταση με εκείνη που αναφέρεται στη βιβλιογραφία (Lagouri et al., 1993; Economou et al., 2011). Παρατηρείται εξαιρετικά υψηλή σύσταση σε γ-τερπινένιο και καρβακρόλη, και αυξημένη σύσταση σε π-κυμένιο, trans-καρυοφυλλένιο και α-τερπινένιο. Η θυμόλη δεν φαίνεται να κατέχει σημαντικά ποσοστά στο συγκεκριμένο κλάσμα του φυτού. Το αιθέριο έλαιο από δεντρολίβανο έχει μελετηθεί από πολλούς ερευνητές (Yang et al., 2010; Ojeda-Sana et al., 2013). Παρουσιάζει υψηλή σύσταση σε 1,8-κινεόλη, καμφορά και α-πινένιο. Σε μικρότερα ποσοστά περιέχει 1-βορνεόλη, cis-βερμπενόνη, λιμονένιο και λιναλοόλη.

Πίνακας 6.8 Σύσταση αιθέριου ελαίου του αρωματικού φυτού *Rosmarinus officinalis*, όπως προέκυψε από ανάλυση με αέρια χρωματογραφία (GC-MS).

no	compound	R.I.	± s.d.	% total area ± s.d.	no	compound	R.I.	± s.d.	% total area ± s.d.
1	α-πινένιο	936	0.0	12.64 ± 0.19	19	β-φενχυλική αλκοόλη	1197	0.2	1.97 ± 0.08
2	Καμψένιο	952	0.0	3.19 ± 0.08	20	Μυρτενόλη	1203	0.1	0.32 ± 0.02
3	Βερμπενένιο	957	0.0	0.54 ± 0.77	21	Νοπόλη	1208	0.1	0.51 ± 0.01
4	β-μυρσένιο	990	0.0	0.69 ± 0.02	22	cis-βερμπενόνη	1219	0.0	7.48 ± 0.03
5	Ι-φελανδρένιο	1007	0.3	0.13 ± 0.00	23	Πιπεριτόνη	1265	0.5	0.02 ± 0.01
6	δ-3-καρένιο	1014	0.1	1.64 ± 0.06	24	Οξικός βορνυλεστέρας	1292	0.0	1.11 ± 0.06
7	α-τερπινένιο	1020	0.2	0.12 ± 0.01	25	Θυμόλη	1296	0.8	0.02 ± 0.01
8	ρ-κυμένιο	1028	0.0	3.68 ± 0.00	26	Καρβακρόλη	1306	0.4	2.49 ± 0.30
9	Λιμονένιο	1032	0.2	5.12 ± 0.04	27	Πιπεριτενόνη	1355	0.5	0.12 ± 0.02
10	1,8-κινεόλη	1036	0.1	19.00 ± 0.01	28	Υλαγένιο	1383	0.1	0.13 ± 0.00
11	Λιναλοόλη L	1100	0.2	4.14 ± 0.02	29	α-κοπαένιο	1388	0.3	0.60 ± 0.03
12	Φιλιφολένιο	1108	0.3	0.65 ± 0.01	30	Μεθυλ-ευγενόλη	1409	0.2	0.03 ± 0.00
13	d-φενχυλική αλκοόλη	1121	1.3	0.08 ± 0.10	31	trans-καριοφυλλένιο	1436	0.0	1.16 ± 0.00
14	(+)-σαμπινόλη	1148	0.2	0.35 ± 0.04	32	α-χουμουλένιο	1471	0.0	0.23 ± 0.01
15	L-καμφορά	1153	0.0	15.61 ± 0.11	33	Ναφθελένιο	1490	0.2	0.48 ± 0.03
16	3-πινανόνη	1169	0.1	1.42 ± 0.01	34	β-μιτζαμπολένιο	1516	0.4	0.13 ± 0.01
17	1-βορνεόλη	1174	0.0	10.83 ± 0.14	35	γ-καδινένιο	1530	0.2	0.37 ± 0.01
18	trans-3-πινανόνη	1184	0.1	1.90 ± 0.02	36	δ-καδινένιο	1537	0.2	0.61 0.22

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

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

6.4.1. Επίδραση εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών στην οξείδωση αραβοσιτέλαιου

Το αραβοσιτέλαιο επιλέχθηκε ως λιπαρή ύλη, καθώς είναι ευρέως χρησιμοποιούμενο. Η σύστασή του ως προς τα κύρια λιπαρά οξέα, όπως αποδόθηκε από την προμηθευτική εταιρεία, ήταν: μυριστικό (0.04 %), παλμιτικό (11.70 %), παλμιτελαϊκό (0.15 %), στεατικό (2.00 %), ελαϊκό (30.54 %), λινελαϊκό (53.68 %), λινολενικό (0.86 %) και αραχιδονικό (0.42 %).

Στην πρώτη δοκιμή οξείδωσής του, στους 70 °C, εξετάστηκαν εκχυλίσματα του μικτού χημειότυπου της ρίγανης, δηλαδή υψηλής σύστασης τόσο σε καρβακρόλη όσο και θυμόλη, και συγκεκριμένα το αιθανολικό (EOTC), το ολικό αιθανολικό (ETOTC), καθώς και το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα (EACOTC). Ακετονικό εκχύλισμα δεντρολίβανου (ACR), χρησιμοποιήθηκε επίσης ως αντιοξειδωτικό για συγκριτικούς λόγους, καθώς το δεντρολίβανο είναι αποδεκτό από την Ευρωπαϊκή Ένωση φυσικό αντιοξειδωτικό. Το κάθε εκχύλισμα ενσωματώθηκε στη λιπαρή ύλη σε επίπεδο προσθήκης 500 ppm επί ξηρού βάρους. Η πορεία της οξείδωσης του καθαρού αραβοσιτέλαιου και των εμπλουτισμένων ελαίων παρακολουθήθηκε με τον προσδιορισμό του αριθμού υπεροξειδίων και των συζυγών διενίων και τριενίων.

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

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

$$C = k \cdot t + C_0 \quad (\text{εξίσωση 6.1})$$

Όπου C: η τιμή του δείκτη οξείδωσης μετά από χρόνο t επιταχυνόμενης οξείδωσης (meq O₂/kg ελαίου),

C₀: η αρχική τιμή του δείκτη οξείδωσης στην περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης,

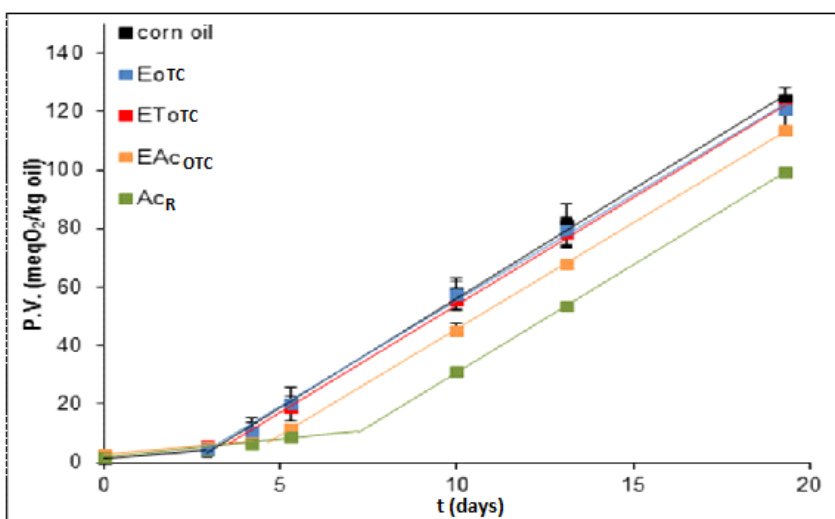
k: η σταθερά του ρυθμού επιταχυνόμενης οξείδωσης (days⁻¹),

t: ο χρόνος της επιταχυνόμενης οξείδωσης (days).

Για το λόγο αυτό, βρέθηκε η εξίσωση ευθείας που προσεγγίζει πιο ικανοποιητικά τη συμπεριφορά του κάθε ελαιοδιαλύματος. Η σταθερά του ρυθμού επιταχυνόμενης

οξειδωσης (k) και ο συντελεστής συσχέτισης (R^2) της ευθείας για το καθαρό και τα εμπλουτισμένα έλαια παρουσιάζεται στον Πίνακα 6.9.

Φαίνεται πως οι τιμές k των εμπλουτισμένων ελαιοδιαλυμάτων δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές από την αντίστοιχη τιμή του καθαρού ελαίου, γεγονός που αποδεικνύει ότι τα εκχυλίσματα δεν ήταν ικανά να εμποδίσουν σε μεγάλο βαθμό την παραγωγή πρωτογενών προϊόντων οξειδωσης. Συγκεκριμένα, το μη εμπλουτισμένο αραβοσιτέλαιο εμφανίζει ρυθμό οξειδωσης ίσο με $(7.50 \pm 0.16) \text{ days}^{-1}$, ενώ το έλαιο που περιέχει το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα, το οποίο έδειξε έναν από τους μικρότερους ρυθμούς οξειδωσης, παρουσιάζει αντίστοιχη τιμή ίση με $(7.27 \pm 0.04) \text{ days}^{-1}$.



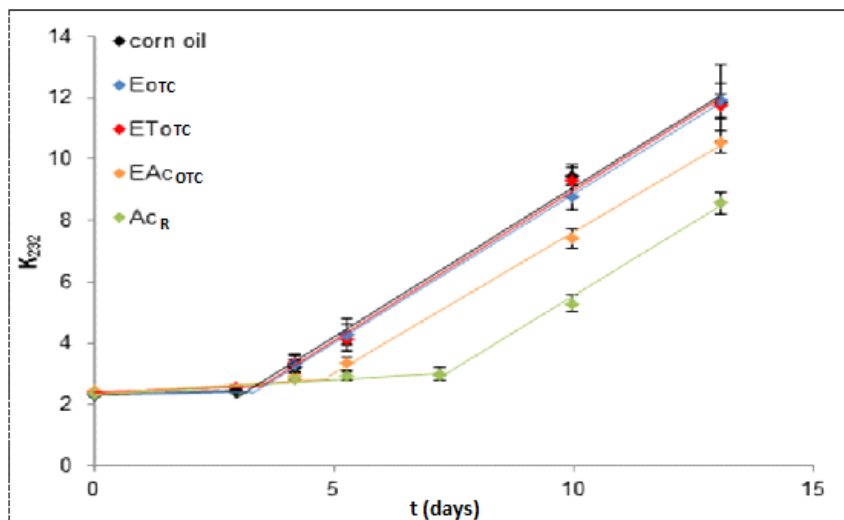
Διάγραμμα 6.1 Επίδραση των εκχυλισμάτων του φυτού *Origanum hirtum* Thymol-Carvacrol (αιθανολικό: EoTC, ολικό αιθανολικό: EToTC, οξικού αιθυλεστέρα: EAcoTC) και του ακετονικού εκχυλίσματος *Rosmarinus officinalis* (AcR) στην αύξηση του αριθμού υπεροξειδίων (P.V.) αραβοσιτέλαιου, σε σύγκριση με το τυφλό δείγμα (corn oil) κατά την επιταχυνόμενη οξείδωση στους 70 °C.

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

εμπλουτισμένα έλαια. Η αύξηση της απορρόφησης των δειγμάτων σε μήκος κύματος 232 nm σε φασματοφωτόμετρο, μαρτυρά την αύξηση της συγκέντρωσης των συζυγών διενίων, τα οποία αποτελούν πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης. Αντίστοιχα, η αύξηση της απορρόφησης στα 268 nm, σημαίνει αύξηση της συγκέντρωσης των συζυγών τριενίων στα υπό μελέτη δείγματα.

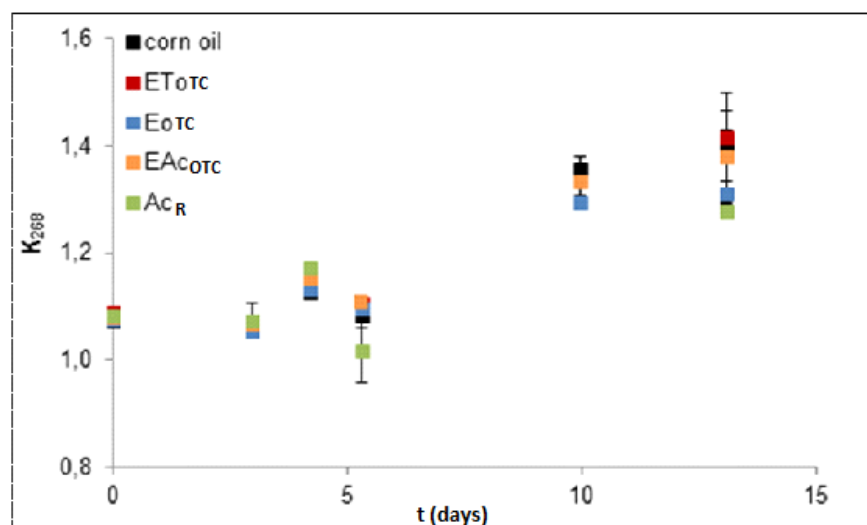
Πίνακας 6.9 Σταθερές του ρυθμού επιταχυνόμενης οξείδωσης και συντελεστής προσαρμογής του αριθμού υπεροξειδίων και του αριθμού συζυγών διενίων του καθαρού αραβοσιτέλαιου (corn oil), των εμπλουτισμένων ελαίων με εκχυλίσματα του φυτού *Origanum hirtum* Thymol-Carvacrol (αιθανολικό: EOTC, ολικό αιθανολικό: ETOTC, οξικού αιθυλεστέρα: EAcOTC) και του *Rosmarinus officinalis* (ACR).

Εκχύλισμα	Αριθμός υπεροξειδίων		Αριθμός συζυγών διενίων	
	k (days ⁻¹)	R ²	k (days ⁻¹)	R ²
Corn oil	7.50 ± 0.16 ^a	0.9982	0.97 ± 0.04 ^a	0.9949
EAcOTC	7.27 ± 0.04 ^a	0.9999	0.92 ± 0.04 ^a	0.9984
EOTC	7.26 ± 0.16 ^a	0.9981	0.97 ± 0.01 ^a	0.9998
ETOTC	7.36 ± 0.13 ^a	0.9991	0.98 ± 0.05 ^a	0.9945
ACR	7.35 ± 0.05 ^a	0.9999	0.95 ± 0.06 ^a	0.9958



Διάγραμμα 6.2 Επίδραση των εκχυλισμάτων του φυτού *Origanum hirtum* Thymol-Carvacrol (αιθανολικό: EOTC, ολικό αιθανολικό: ETOTC, οξικού αιθυλεστέρα: EAcOTC) και του *Rosmarinus officinalis* (AcR) στην αύξηση της απορρόφησης στα 232 nm σε αραβοσιτέλαιο, στους 70 °C.

Η αύξηση του ρυθμού παραγωγής των συζυγών διενίων φαίνεται να είναι παρόμοια με εκείνη του αριθμού υπεροξειδίων, επιβεβαιώνοντας τα συμπεράσματα που προαναφέρθηκαν. Αρχικά παρατηρείται αύξηση των συζυγών διενίων με αργό ρυθμό και στη συνέχεια παρατηρείται η επιταχυνόμενη συσσώρευσή τους, η οποία ακολουθεί το γραμμικό κινητικό μοντέλο. Φαίνεται και πάλι η μη αποτελεσματικότητα των αιθανολικών εκχυλισμάτων της ρίγανης, αφού και κατά τον προσδιορισμό των συζυγών διενίων, τα έλαια που περιέχουν τα συγκεκριμένα αντιοξειδωτικά ακολουθούν τη συμπεριφορά του μη εμπλουτισμένου ελαίου, σε όλο το χρονικό διάστημα της οξείδωσης. Επιπλέον, τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν για τη δράση του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα της ρίγανης του μικτού χημειότυπου και του κλάσματος του δεντρολίβανου, σύμφωνα με την ανάπτυξη του αριθμού υπεροξειδίου, ενισχύονται και από τη μέτρηση των συζυγών διενίων, αποδεικνύοντας την ικανότητά τους να παρέχουν αντιοξειδωτική δράση μόνο κατά την περίοδο επώασης. Οι σταθερές του ρυθμού επιταχυνόμενης οξείδωσης και οι συντελεστές προσαρμογής των συζυγών διενίων φαίνονται στον Πίνακα 6.9.

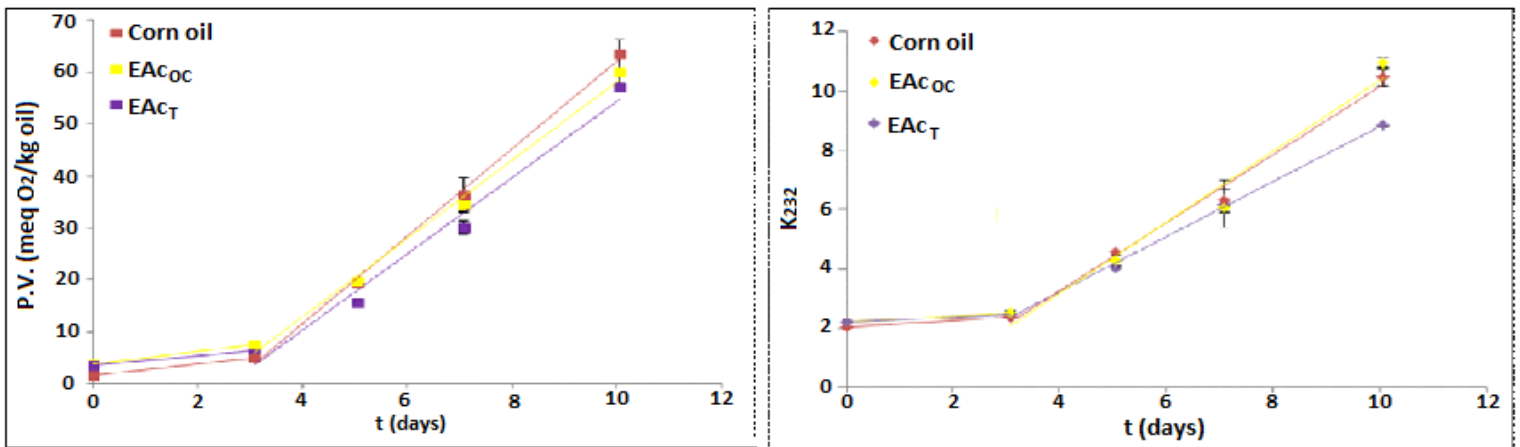


Διάγραμμα 6.3 Αύξηση του αριθμού συζυγών τριενίων καθαρού αραβοσιτέλαιου και εμπλουτισμένου με εκχυλίσματα του φυτού *Origanum hirtum* Thymol-Carvacrol (αιθανολικό: EOTC, ολικό αιθανολικό: ETOTC, οξικού αιθυλεστέρα: EAOTC) και του Rosemary (ACr), στους 70 °C.

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

Στο δεύτερο πείραμα οξείδωσης του αραβοσιτέλαιου, ακολουθήθηκαν οι ίδιες συνθήκες και μελετήθηκε η δράση του χημειότυπου της ρίγανης πλούσιου σε καρβακρόλη, ώστε να παρατηρηθούν τυχόν διαφορές και ομοιότητες στην αποτελεσματικότητά του σε σχέση με του μικτού χημειότυπου του φυτού, που προαναφέρθηκε. Επιπλέον, εξετάστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα ενός άλλου διαδεδομένου στην Ελλάδα φυτού, του θυμαριού. Επιλέχθηκαν τα εκχυλίσματα από

οξικό αιθυλεστέρα, καθώς παρατηρήθηκε ότι τα αιθανολικά εκχυλίσματα παρουσίασαν δυσκολίες αναμειξιμότητας με τη λιπαρή ύλη και συνεπώς απορρίφθηκαν. Από τη μελέτη της οξείδωσης των εμπλουτισμένων ελαίων και μη, προέκυψε το Διάγραμμα 6.4, το οποίο αναπαριστά τη συσσώρευση του αριθμού υπεροξειδίων και συζυγών διενίων των δειγμάτων ελαίου, σε συνάρτηση με το χρόνο οξείδωσης (10 ημέρες). Συγκρίνοντας το χρόνο επώασης των ελαιοδιαλυμάτων, σύμφωνα και με τους δύο δείκτες οξείδωσης, παρατηρείται πως τα εκχυλίσματα δεν είχαν κάποια αντιοξειδωτική δράση σε αυτό το χρονικό διάστημα. Πιο αναλυτικά, η περίοδος χαμηλής αύξησης των πρωτογενών προϊόντων και για τις δύο περιπτώσεις εμπλουτισμένων ελαίων διήρκεσε περίπου μέχρι 3 ημέρες, όσο δηλαδή και του καθαρού αραβοσιτέλαιου. Υπενθυμίζεται ότι στο πρώτο πείραμα οξείδωσης του ελαίου ο χημειότυπος της ρίγανης πλούσιος σε καρβακρόλη και θυμόλη είχε παρατείνει το χρόνο επώασής του, παρέχοντας καλύτερη αποτελεσματικότητα από το χημειότυπο της με υψηλή περιεκτικότητα μόνο σε καρβακρόλη. Φαίνεται ότι η διαφορετική περιεκτικότητα των εκχυλισμάτων σε φαινολικές ενώσεις παίζει σημαντικό ρόλο στην αντιοξειδωτική ικανότητά τους.



Διάγραμμα 6.4 Αύξηση του αριθμού υπεροξειδίων και συζυγών διενίων καθαρού αραβοσιτέλαιου (corn oil) και εμπλουτισμένων ελαίων με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Origanum hirtum* Carvacrol (EAcoc) και του *Thymus capitatus* (EAcT), συναρτήσεως του χρόνου αποθήκευσής τους στους 70 °C.

Όσον αφορά στην περίοδο επιταχυνόμενης οξειδωσης, οι ρυθμοί και οι συντελεστές προσαρμογής των βέλτιστων ευθειών του καθαρού αραβοσιτέλαιου και των εμπλουτισμένων ελαίων, τόσο για τον αριθμό υπεροξειδίων όσο και για τον αριθμό συζυγών διενίων φαίνονται στον Πίνακα 6.10.

Όπως παρατηρείται από το Διάγραμμα 6.4, αλλά και από τις σταθερές ρυθμού επιταχυνόμενης οξειδωσης του Πίνακα 6.10, τα δύο εκχυλίσματα δεν προστάτευσαν σε μεγάλο βαθμό το έλαιο. Συγκρίνοντας, για παράδειγμα, τη σταθερά αύξησης των υπεροξειδίων του εμπλουτισμένου ελαίου με εκχύλισμα της ρίγανης (7.56 days^{-1}) και της αντίστοιχης τιμής του θυμαριού (7.35 days^{-1}) με εκείνη του καθαρού ελαίου (8.42 days^{-1}) δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές.

Συμπερασματικά, από τις δύο δοκιμές οξειδωσης του αραβοσιτέλαιου διαπιστώθηκε χαμηλή αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών που χρησιμοποιήθηκαν. Αυτό οφείλεται στη φύση του συγκεκριμένου ελαίου. Το αραβοσιτέλαιο έχει αναφερθεί πως διαθέτει αρκετά υψηλή σύσταση σε φυσικά αντιοξειδωτικά, όπως για παράδειγμα τοκοφερόλες, οι οποίες ανέρχονται στην τιμή 295-1167 ppm. Πιο αναλυτικά, έχει ανιχνευθεί ποσότητα 47-236 ppm σε α-τοκοφερόλη και 158 ± 1100 ppm σε γ- και δ-τοκοφερόλη (Βαγενά, 2014). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην μπορεί να αναδειχθεί η αντιοξειδωτική δράση των αρωματικών φυτών. Επιπροσθέτως, η α-τοκοφερόλη και το ροσμαρινικό οξύ, που αποτελεί το ισχυρό αντιοξειδωτικό των εκχυλισμάτων, δρουν ανταγωνιστικά (Panya et al., 2012). Έτσι, κατά την προσθήκη των εκχυλισμάτων των αρωματικών φυτών στο αραβοσιτέλαιο, η οξειδωτική προστασία των συστατικών του, όπως του ροσμαρινικού οξέος, εμφανίζεται να είναι μικρότερη παρουσία α-τοκοφερόλης, και ιδιαίτερα σε υψηλά ποσοστά της. Πιο αναλυτικά, η α-τοκοφερόλη προσπαθεί να αναγεννηθεί από ένα ισχυρότερο αντιοξειδωτικό, με αποτέλεσμα να χάνεται η δράση του ισχυρού και να παραμένει μόνο εκείνη του ασθενέστερου για την παρεμπόδιση της οξειδωσης του ελαίου (Panya et al., 2012).

Πίνακας 6.10 Σταθερές των ρυθμών αύξησης του αριθμού υπεροξειδίων και συζυγών διενίων (days^{-1}) καθαρού αραβοσιτέλαιου (corn oil) και εμπλουτισμένου με εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *Origanum hirtum* Carvacrol (EAcoc) και του *Thymus capitatus* (EAct), καθώς και οι συντελεστές προσαρμογής που χαρακτηρίζουν την περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης.

Εκχύλισμα	Αριθμός υπεροξειδίων		Αριθμός συζυγών διενίων	
	k (days^{-1})	R ²	k (days^{-1})	R ²
Corn oil	8.42 ± 0.58 ^a	0.9977	1.15 ± 0.11 ^a	0.9895
EAcoc	7.56 ± 0.39 ^a	0.9946	1.20 ± 0.18 ^a	0.9716
EAct	7.35 ± 0.73 ^a	0.9809	0.93 ± 0.13 ^a	0.9984

6.4.2. Επίδραση εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών στην οξείδωση φοινικέλαιου

Παρατηρώντας την απουσία αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων των αρωματικών φυτών με οξικό αιθυλεστέρα κατά την προσθήκη τους στο αραβοσιτέλαιο, επιλέχθηκε μία άλλη λιπαρή ύλη, το φοινικέλαιο. Αποτελεί ένα εξίσου διαδεδομένο και σταθερό ως προς την οξείδωση έλαιο. Χρησιμοποιείται στο τηγάνισμα, που καταπονεί ιδιαίτερα το έλαιο από άποψη οξείδωσης. Το περιεχόμενό του στα κύρια λιπαρά οξέα ήταν με βάση την εταιρεία από την οποία παραλήφθηκε το εξής: μυριστικό (1.03%), παλμιτικό (41.09%), παλμιτελαϊκό (0.20%), στεατικό (4.10%), ελαϊκό (42.68%), λινελαϊκό (10.38%), λινολενικό (0.18%) και αραχιδονικό (0.34%). Επιπλέον, δεν διαθέτει υψηλή περιεκτικότητα σε φυσικά αντιοξειδωτικά και, συνεπώς, αναμένεται η πιο εμφανής αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων. Αναφέρεται χαρακτηριστικά ότι η σύστασή του σε τοκοφερόλες κυμαίνεται μεταξύ των τιμών 100 με 150 ppm (Choe & Min, 2009). Η δοκιμή οξείδωσης του φοινικέλαιου έλαβε χώρα υπό τις ίδιες συνθήκες με του αραβοσιτέλαιου, μελετώντας και πάλι τα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα από τα αρωματικά φυτά *Origanum hirtum* Carvacrol, *Origanum hirtum* Thymol-Carvacrol, *Thymus capitatus*, καθώς και τη *Satureja thymbra*, ένα είδος της ίδιας οικογένειας, που

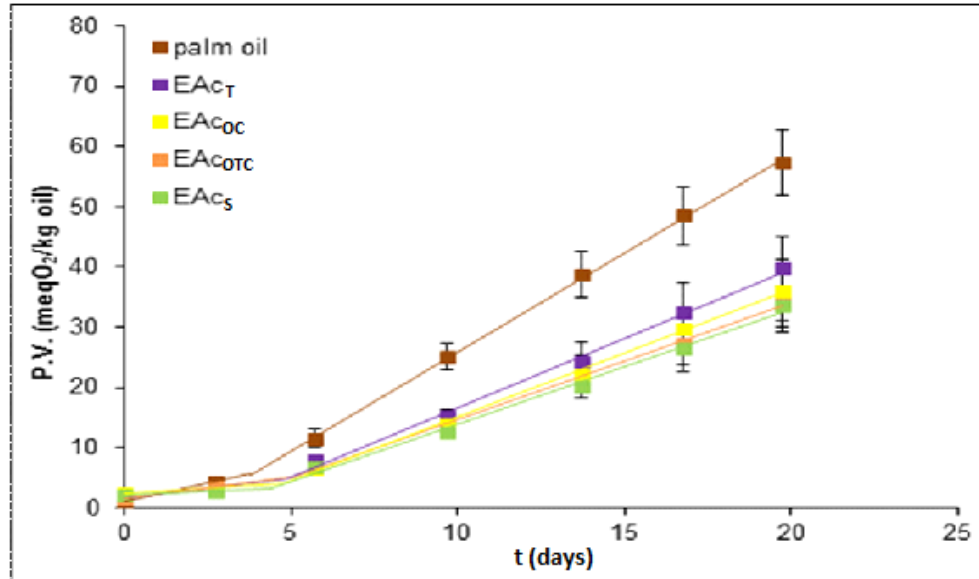
έχει αρχίσει να προσελκύει το ενδιαφέρον των ερευνητών για την αντιοξειδωτική του δράση. Τα τελικά ελαιοδιαλύματα, μετά την απομάκρυνση του διαλύτη, ήταν απολύτως διαυγή. Οι ρυθμοί αύξησης του αριθμού υπεροξειδίου για τα εμπλουτισμένα έλαια και για το καθαρό φοινικέλαιο, κατά την αποθήκευσή τους στους 70 °C, σε χρονικό διάστημα 20 ημερών, παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 6.5. Δεν προσδιορίστηκαν τα συζυγή διένια, αφού αποδείχθηκε ότι παρουσιάζουν αντίστοιχα αποτελέσματα με εκείνα του αριθμού υπεροξειδίων για τις οξειδώσεις ελαίων, ενώ και ο προσδιορισμός των συζυγών τριενίων κρίθηκε μη απαραίτητος λόγω της ακόμη χαμηλότερης σύστασης του φοινικέλαιου συγκριτικά με το αραβοσιτέλαιο σε λινολενικό οξύ (0.18%).

Από το Διάγραμμα 6.5 διαπιστώνεται πως όλα τα εκχυλίσματα παρεμπόδισαν την οξείδωση του φοινικέλαιου, πολύ πιο ικανοποιητικά από ότι του αραβοσιτέλαιου, τόσο παρατείνοντας το χρόνο επώασής του όσο και μειώνοντας το ρυθμό αύξησης των υπεροξειδίων, κατά την περίοδο της επιταχυνόμενης οξείδωσής του. Συγκεκριμένα, δεν μπορεί να προσδιορισθεί η ακριβής επιμήκυνση του χρόνου επώασης επειδή δεν πραγματοποιήθηκαν πολλές μετρήσεις κατά τις πρώτες ημέρες, αλλά εκτιμάται περίπου σε 1.2 ημέρες. Για τη σύγκριση της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων κατά την περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης προσδιορίστηκε η παράμετρος Προστασίας (P), η οποία εκφράζει την % μείωση της σταθεράς σχηματισμού υδροϋπεροξειδίων, ως προς τη σταθερά του καθαρού ελαίου, και δίνεται από τη σχέση:

$$P = \left(1 - \frac{k_i}{k_c}\right) \cdot 100\% \quad (\text{εξίσωση 6.2})$$

Όπου k_i : η σταθερά ρυθμού οξείδωση του εμπλουτισμένου ελαίου,

k_c : η σταθερά ρυθμού οξείδωσης του καθαρού ελαίου



Διάγραμμα 6.5 Αριθμός υπεροξειδίων καθαρού φοινικέλαιου (palm oil) και εμπλουτισμένων δειγμάτων φοινικέλαιου με εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα των φυτών *Origanum hirtum* Carvacrol (EA_{coC}), *Origanum hirtum* Thymol-Carvacrol (EA_{coTC}), *Thymus capitatus* (EA_T) και *Satureja thymbra* (EA_{cs}), σε συνάρτηση με το χρόνο οξείδωσής τους στους 70 °C.

Στον Πίνακα 6.11 καταγράφεται η σταθερά του ρυθμού οξείδωσης και ο συντελεστής προσαρμογής που χαρακτηρίζει την επιταχυνόμενη οξείδωση του κάθε δείγματος ελαίου, καθώς και οι τιμές Προστασίας (P) των εμπλουτισμένων ελαίων. Συγκρίνοντας τις τιμές Προστασίας συμπεραίνεται πως τα εκχυλίσματα του φυτού *Satureja thymbra* και της ρίγανης μικτού χημειότυπου παρουσίασαν την καλύτερη προστασία έναντι της οξείδωσης, ενώ και τα άλλα εκχυλίσματα έδειξαν ικανοποιητική προστασία, μειώνοντας το ρυθμό οξείδωσης κατά $\geq 30\%$. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν και μέσω στατιστικής επεξεργασίας όσον αφορά στους ρυθμούς οξείδωσης (one-way Anova και test πολλαπλής κατεύθυνσης Duncan, με επίπεδο σημαντικότητας 0.95). Συγκεκριμένα προέκυψε η σημαντική μείωση της επιταχυνόμενης οξείδωσης του φοινικέλαιου με τη χρήση των εκχυλισμάτων όλων των φυτών. Διαπιστώθηκε μάλιστα η στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση των εκχυλισμάτων των

φυτών *Satureja thymbra* και *Origanum hirtum* Thymol-Carvacrol από το εκχύλισμα του θυμαριού. Το εκχύλισμα της *Origanum hirtum* Carvacrol φαίνεται να παρέχει μία δράση, η οποία κυμαίνεται μεταξύ των ισχυρότερων εκχυλισμάτων και του ασθενέστερου.

Το εκχύλισμα από θρούμπι, που εμφάνισε μία από τις καλύτερες αντιοξειδωτικές δράσεις, βρέθηκε ότι είναι πλούσιο σε φαινολικά συστατικά, αλλά όχι το υψηλότερο από το σύνολο των εκχυλισμάτων που εξετάστηκαν (Πίνακας 6.2). Η υπεροχή της αποτελεσματικότητάς του φαίνεται να οφείλεται στην σύστασή του, καθώς είναι το πλουσιότερο σε φλαβονοειδή αντιοξειδωτικά σε σύγκριση με τα υπόλοιπα εκχυλίσματα που μελετήθηκαν, σύμφωνα με τους Πίνακες 6.4, 6.5 και 6.6. Το ροσμαρινικό οξύ είναι πιθανό να αναγεννά τα φλαβονοειδή αντιοξειδωτικά, τα οποία στη συνέχεια δίνουν την αντιοξειδωτική τους δράση στο έλαιο. Επιπλέον, το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι ήταν το μόνο από τα εκχυλίσματα του διαλύτη αυτού που περιείχε σαλβιανολικό οξύ A. Οι Tsimogiannis et al. (2006) επισημαίνουν τις σημαντικές αντιοξειδωτικές ικανότητες του ροσμαρινικού οξέος, καθώς, λόγω της δομής των δύο κατεχολικών ομάδων του, η αφαίρεση των υδρογόνων του υδροξυλίου από τις ελεύθερες ρίζες είναι ευνοϊκή, ενώ, όπως αναφέρθηκε, το σαλβιανολικό οξύ A μπορεί να δεσμεύει ρίζες, όπως $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 και OH^{\cdot} .

Από την άλλη μεριά, το εκχύλισμα από θυμάρι φάνηκε να παρέχει μικρότερη προστασία έναντι της οξείδωσης του ελαίου, παρόλο που σημείωσε τη μεγαλύτερη τιμή ολικών φαινολικών συστατικών (Πίνακας 6.2). Κατά την ανάλυσή του, όπως έχει ήδη αναφερθεί, εμφάνισε τη χαμηλότερη σύσταση τόσο σε φαινολικά οξέα όσο και σε φλαβονοειδή. Ωστόσο, συγκρίνοντας τα ποσοστά των ισομερών φαινολών, θυμόλης και καρβακρόλης, μεταξύ των εκχυλισμάτων, φάνηκε να περιείχε τα υψηλότερα και μάλιστα με μεγάλη διαφορά. Η συγκέντρωση της καρβακρόλης ανήλθε στην τιμή 176.34 mg/g ξηρού εκχυλίσματος, ενώ οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις για τα υπόλοιπα εκχυλίσματα ήταν 94.62 και 25.45 mg/g ξηρού εκχυλίσματος για τον απλό και μικτό χημειότυπο της ρίγανης, αντίστοιχα, και 16.99 mg/g ξηρού εκχυλίσματος για το θρούμπι. Η καρβακρόλη όπως και η θυμόλη βέβαια είναι ουσίες με χαμηλή αντιοξειδωτική δράση. Επιπλέον, μία πιθανή εξήγηση η οποία χρήζει περαιτέρω διερεύνησης, για τη χαμηλότερη αποτελεσματικότητα του εκχυλίσματος από θυμάρι αποτελεί η ανταγωνιστική δράση

κάποιων φαινολικών συστατικών, όπως της καρβακρόλης, η οποία αποτέλεσε το κύριο συστατικό του συγκεκριμένου κλάσματος, με άλλες φαινολικές ενώσεις, όπως για παράδειγμα το ισχυρό αντιοξειδωτικό ροσμαρινικό οξύ, με αποτέλεσμα να μειώνεται η αντιοξειδωτική ικανότητα του εκχυλίσματος (Tsimogiannis et al., 2017).

Πίνακας 6.11 Σταθερές ρυθμού αύξησης του αριθμού υπεροξειδίων των εμπλουτισμένων ελαίων με εκχυλίσματα των *Thymus capitatus* (EAcT), *Origanum hirtum* Carvacrol (EAcoC), *Origanum hirtum* Thymol-Carvacrol (EAcoTC), και *Satureja thymbra* (EAcs), καθώς και οι τιμές Προστασίας (P), κατά την περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης φοινικέλαιου (palm oil) στους 70 °C.

Εκχύλισμα	k (days ⁻¹)	R ²	P (%)
palm oil	3.30 ± 0.05 ^{c*}	0.9994	
EAcT	2.31 ± 0.09 ^b	0.9958	30
EAcoC	2.13 ± 0.06 ^{ab}	0.9975	35
EAcoTC	1.93 ± 0.13 ^a	0.9871	41
EAcs	1.92 ± 0.10 ^a	0.9922	42

*a < b < c

Τα εκχυλίσματα με οξικό αιθυλεστέρα των δύο χημειότυπων της ρίγανης παρουσίασαν ενδιάμεσες τιμές μεταξύ των αντίστοιχων εκχυλισμάτων από θρούμπι και από θυμάρι όσον αφορά στα φαινολικά οξέα και στα φλαβονοειδή, με τον απλό χημειότυπο να περιέχει μεγαλύτερα ποσοστά (Πίνακας 6.4). Βέβαια, στο εκχύλισμα του απλού χημειότυπου της ρίγανης ανιχνεύθηκε και υψηλότερη σύσταση καρβακρόλης, γεγονός που επιβεβαιώνει την παραπάνω θεωρία, καθώς το συγκεκριμένο εκχύλισμα

επέδρασε σε ελαφρώς μειωμένο βαθμό έναντι της οξειδωσης σε σχέση με το εκχύλισμα της ρίγανης του μικτού χημειότυπου. Αναφέρεται ότι η σύσταση σε καρβακρόλη ήταν 94.62 και 25.45 mg/g ξηρού εκχυλίσματος, για το κλάσμα του απλού και του μικτού χημειότυπου αντίστοιχα, ενώ στο τελευταίο ανιχνεύθηκε και θυμόλη (26.27 mg/g ξηρού εκχυλίσματος). Αξίζει να τονιστεί πως ορισμένες έρευνες καταγράφουν τη μικρή υπεροχή της θυμόλης ως προς την αντιοξειδωτική της δράση, συγκριτικά με την καρβακρόλη. Οι Yanishlieva et al. (1999) διαπίστωσαν, μέσω της ενσωμάτωσης θυμόλης και καρβακρόλης σε ίδιες περιεκτικότητες σε ηλιέλαιο, την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση της πρώτης.

6.5 Επίδραση των εκχυλισμάτων σε γαλακτώματα τύπου έλαιο σε νερό (o/w)

6.5.1 Γαλακτώματα φοινικέλαιου

Με βάση τα προηγούμενα πειράματα εμπλουτισμού των ελαίων με αρωματικά φυτά, επιλέχθηκε το φοινικέλαιο, στο οποίο εμφανίστηκε η καλύτερη αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων και διακρίνοντας το θρούμπι που προσέφερε θετικά αποτελέσματα στις προηγούμενες δοκιμές οξειδωσης, μελετήθηκε η επίδραση των εκχυλισμάτων του στην οξειδωση γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό. Αυτό αποτέλεσε αντικείμενο της δεύτερης σειράς πειραμάτων. Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν το υδατικό εκχύλισμα που προέκυψε μετά την υδροατμοαπόσταξη του φυτού θρούμπι (Aqs) καθώς και τα δύο εκχυλίσματα που προέκυψαν μετά από διαδοχικές εκχυλίσεις σε συσκευή Soxhlet με οξικό αιθυλεστέρα (EAcS) και αιθανόλη (Es).

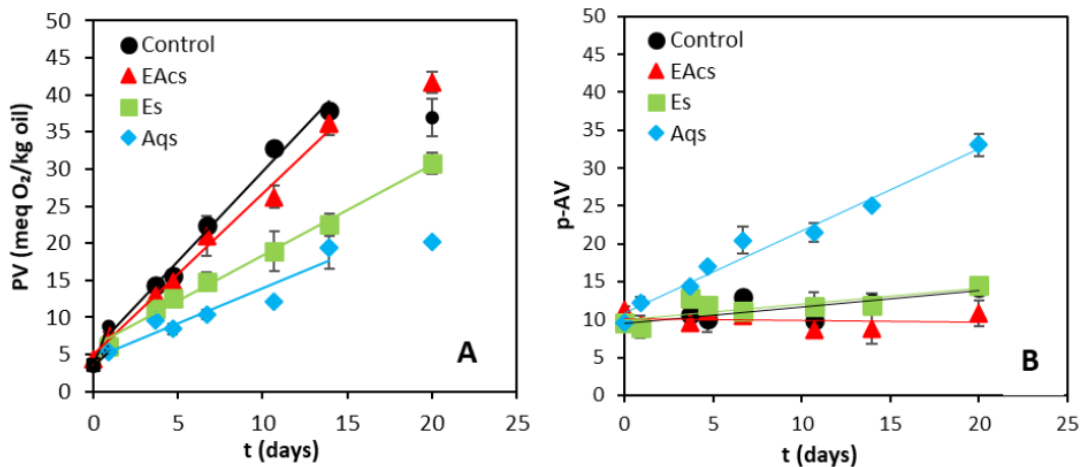
Σύμφωνα με πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε προηγούμενη διδακτορική διατριβή του Εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του ΕΜΠ, (Δημάκου, 2010), η συγκέντρωση της λιπαρής φάσης και το είδος του ελαίου επηρέασε το ρυθμό οξειδωσης των γαλακτωμάτων. Γαλακτώματα με υψηλή συγκέντρωση ελαίου, παρουσίασαν μεγαλύτερη σταθερότητα έναντι της παραγωγής πρωτογενών προϊόντων οξειδωσης. Τα δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης, έδωσαν παρόμοια αποτελέσματα, με τη διαφορά ότι το γαλάκτωμα με συγκέντρωση ελαίου 30% (w/w), δεν παρουσίασε σημαντική στατιστική διαφορά με τα γαλακτώματα που περιείχαν το έλαιο σε

συγκέντρωση 40 και 60% (w/w). Με βάση τα παραπάνω, για τα γαλακτώματα που παρασκευάστηκαν στην παρούσα διδακτορική διατριβή χρησιμοποιήθηκε ως λιπαρή ύλη το φοινικέλαιο σε συγκέντρωσή 30% (w/w). Ως γαλακτωματοποιητής χρησιμοποιήθηκε ο μικρομοριακός γαλακτωματοποιητής Tween 20 σε ποσοστό 2% w/w. Παρόλο που οι πρωτεΐνες γάλακτος χρησιμοποιούνται ευρέως για τη σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων στη βιομηχανία τροφίμων, καθώς οδηγούν στο σχηματισμό προϊόντων τροφίμων σταθερής δομής (Kim et al., 2005), δεν επιλέχθηκαν ως γαλακτωματοποιητές στην παρούσα διδακτορική διατριβή καθώς βιβλιογραφικά έχει αναφερθεί η αντιοξειδωτική τους δράση (Fomuso et al., 2002) και επομένως δεν θα υπήρχε καθαρό υπόστρωμα ώστε να μελετηθεί η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων του αρωματικού φυτού. Προκειμένου να αποφευχθούν μικροβιακές αλλοιώσεις, ως αντιμικροβιακό χρησιμοποιήθηκε το αζίδιο του νατρίου σε ποσοστό 0.01% w/w. Το pH των γαλακτωμάτων ρυθμίστηκε στην τιμή 6.8 χρησιμοποιώντας ρυθμιστικό διάλυμα. Το ρυθμιστικό διάλυμα χρησιμοποιήθηκε για να διατηρηθεί σχεδόν σταθερή η τιμή του pH κατά τη διάρκεια των πειραμάτων, καθώς η μεταβολή του pH επηρεάζει την σταθερότητα του γαλακτώματος (Δημάκου, 2010). Τα τελικά γαλακτώματα τοποθετήθηκαν σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας στους 70 °C, σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης.

Τα πρωτογενή και δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης, όπως αυτά προσδιορίστηκαν με την μέθοδο του αριθμού υπεροξειδίων και p-ανισιδίνης αντίστοιχα παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 6.6 Α και Β. Τόσο το υδατικό (Aqs), όσο και το αιθανολικό εκχύλισμα (Es) του αρωματικού φυτού μείωσαν τον ρυθμό αύξησης των υδροϋπεροξειδίων στα γαλακτώματα σε σύγκριση με το γαλάκτωμα χωρίς κάποιο πρόσθετο. Το γαλάκτωμα με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα του φυτού (EAcs) παρουσίασε παρόμοιο ρυθμό αύξησης των υδροϋπεροξειδίων με το γαλάκτωμα χωρίς πρόσθετο. Το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα είναι πλούσιο σε μη πολικές ενώσεις, οι οποίες είναι ευδιάλυτες στο έλαιο του γαλακτώματος. Επομένως, είναι πιθανό οι ενώσεις αυτές να εντοπίζονται στο εσωτερικό των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης των γαλακτωμάτων και όχι στη διεπιφάνεια αυτών. Οι ελεύθερες ρίζες δημιουργούνται στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων του γαλακτώματος και συνεπώς τα φαινολικά συστατικά του εκχυλίσματος του οξικού

αιθυλεστέρα δεν είναι ικανά να προστατέψουν το έλαιο του γαλακτώματος από την οξείδωση. Αντιθέτως, το αιθανολικό εκχύλισμα του φυτού, το οποίο είναι πλούσιο σε πιο πολικά φαινολικά συστατικά που εντοπίζονται στην διεπιφάνεια του γαλακτώματος, ήταν αποτελεσματικό στην μείωση του ρυθμού αύξησης των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης. Όπως παρατηρείται από το Διάγραμμα 6.6 Α ο σχηματισμός των υδροϋπεροξειδίων αυξήθηκε γραμμικά με τον χρόνο αποθήκευσης, χωρίς να παρατηρηθεί περίοδος επώασης, ακολουθώντας την εξίσωση 6.1.

Στον Πίνακα 6.12 παρουσιάζονται οι ρυθμοί αύξησης των υδροϋπεροξειδίων στα γαλακτώματα φοινικέλαιου. Δεν παρατηρείται σημαντική διαφορά στον ρυθμό αύξησης των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης μεταξύ των control (δειγμάτων αναφοράς) γαλακτωμάτων και εκείνων με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα. Αντιθέτως, ο ρυθμός αύξησης των υδροϋπεροξειδίων στα γαλακτώματα με το υδατικό και το αιθανολικό εκχύλισμα φαίνεται να διαφέρει σημαντικά από τους αντίστοιχους ρυθμούς των γαλακτωμάτων με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα και εκείνων χωρίς κάποιο πρόσθετο.



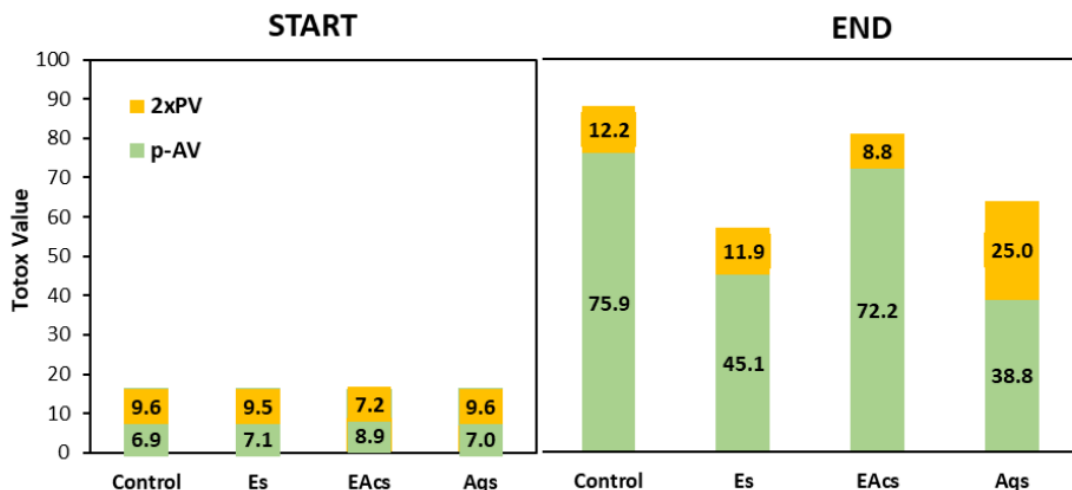
Διάγραμμα 6.6 Επίδραση του υδατικού εκχυλίσματος (Aqs) και των εκχυλισμάτων οξικού αιθυλεστέρα (EAcS) και αιθανόλης (Es) του αρωματικού φυτού *S. thymbra* στη μείωση (A) του ρυθμού αύξησης των υδροϋπεροξειδίων (PV), (B) του ρυθμού αύξησης του αριθμού της p-ανισιδίνης (p-AV) κατά τη διάρκεια οξείδωσης γαλακτωμάτων φοινικέλαιου 30% (w/w), στους 70 °C.

Παρατηρείται (Διάγραμμα 6.6 A) μείωση του αριθμού των υδροϋπεροξειδίων προς το τέλος της οξείδωσης (μετά από 20 μέρες οξείδωσης), πιθανόν διότι αυτά διασπώνται παράγοντας δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης, όπως φαίνεται και από το Διάγραμμα 6.6 B. Τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης των εμπλουτισμένων γαλακτώματων με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα και το αιθανολικό εκχύλισμα από θρούμπι, όπως και του γαλακτώματος χωρίς πρόσθετο, παρέμειναν χαμηλά σε όλη τη διάρκεια της οξείδωσης και εμφάνισαν μία τάση αύξησης προς το τέλος του πειράματος. Εξαίρεση αποτέλεσε το γαλάκτωμα με το υδατικό εκχύλισμα του αρωματικού φυτού, για το οποίο παρατηρείται αύξηση του ρυθμού παραγωγής δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης. Επομένως, τα πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης που παράγονται στο γαλάκτωμα με το υδατικό εκχύλισμα διασπώνται σχεδόν αμέσως σε δευτερογενή προϊόντα. Το υδατικό εκχύλισμα περιέχει ιόντα χαλκού (6 ppm), τα οποία είναι ικανά να επιταχύνουν την οξείδωση (Roedig-Penman & Gordon, 1998) και συνεπώς το συγκεκριμένο εκχύλισμα δεν ήταν ικανό να επιμηκύνει τη διάρκεια ζωής του γαλακτώματος.

Πίνακας 6.12 Σταθερά σχηματισμού υδροϋπεροξειδίων (k) σε γαλακτώματα χωρίς πρόσθετο, σε γαλακτώματα εμπλουτισμένα με αιθανολικό εκχύλισμα, με υδατικό εκχύλισμα και με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από το αρωματικό φυτό *S. thymbra* και ο συντελεστής συσχέτισης.

Εκχύλισμα	k (days ⁻¹)	R ²
Control	2.36 ± 0.12 ^{B*}	0.99
EAcS	2.16 ± 0.10 ^B	0.99
Es	1.23 ± 0.04 ^A	0.99
Aqs	0.93 ± 0.16 ^A	0.89

* A < B



Διάγραμμα 6.7 Επίδραση του υδατικού εκχυλίσματος (Aqs) και των εκχυλισμάτων οξικού αιθυλεστέρα (EAcs) και αιθανόλης (Es) του αρωματικού φυτού *S. thymbra* στον δείκτη Totox (Totox Value) στην αρχή και στο τέλος του πειράματος οξείδωσης γαλακτωμάτων φοινικέλαιου στους 70 °C.

Η συνολική εικόνα της αντιοξειδωτικής προστασίας των τριών υπό μελέτη εκχυλισμάτων μπορεί να προσδιοριστεί με τη βοήθεια του δείκτη Totox (Totox Value = $2 \cdot PV + p-AV$), όπως παρουσιάζεται και στο Διάγραμμα 6.7. Είναι εμφανές ότι το αιθανολικό εκχύλισμα, πλούσιο με μετρίως πολικά φαινολικά συστατικά, προσέφερε την καλύτερη αντιοξειδωτική προστασία στα γαλακτώματα που μελετήθηκαν.

6.5.2 Γαλακτώματα ηλιέλαιου o/w

Σε συνέχεια της μελέτης του εμπλουτισμού γαλακτωμάτων τύπου έλαιο σε νερό με φυσικά αντιοξειδωτικά για την προστασία τους από την οξείδωση παρασκευάστηκαν γαλακτώματα για τα οποία χρησιμοποιήθηκε ηλιέλαιο, που είναι από τα συνηθέστερα έλαια που χρησιμοποιούνται ευρέως σε βρώσιμα γαλακτώματα, όπως μαγιονέζα και σάλτσες για σαλάτα. Εκτός από τα εκχυλίσματα από το αρωματικό φυτό *S. thymbra*, στα γαλακτώματα προστέθηκαν ενώσεις που ήταν αντιπροσωπευτικές πρότυπες φαινολικές

ενώσεις, οι οποίες απαντώνται συχνά στο θρούμπι και στα αρωματικά φυτά που εξετάστηκαν, συγκεκριμένα κερκετίνη (ως αντιπρόσωπος των φαλβονοειδών συστατικών) και ροσμαρινικό οξύ (ως αντιπρόσωπος των φαινολικών οξέων). Τα φαινολικά συστατικά, σύμφωνα με τις ενδείξεις πολλών ερευνών, συμβάλλουν στον περιορισμό ασθενειών που έχουν σχέση με τις οξειδώσεις στον ανθρώπινο οργανισμό (Boudet, 2007). Εκχυλίσματα ροσμαρινικού οξέος από φύλλα βοτάνων και μπαχαρικών έχει αναφερθεί ότι διαθέτουν αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες (Makino et al., 2000; Kelm et al., 2000). Επομένως, στόχος της παρούσας έρευνας ήταν, επιπλέον της αντιοξειδωτικής προστασίας των γαλακτωμάτων, να προσδιορισθεί τόσο για τις πρότυπες ενώσεις όσο και για τις δραστικές ενώσεις που εντοπίζονται στα εκχυλίσματα η διάρκεια ζωής μετά τον εγκλεισμό στα γαλακτώματα ώστε να εξακριβωθεί αν ο εμπλουτισμός οδηγεί δυνητικά σε διατηρήσιμα λειτουργικά τρόφιμα.

Οι συνθήκες παρασκευής και ομογενοποίησης των γαλακτωμάτων που παρασκευάστηκαν στην δεύτερη σειρά πειραμάτων ήταν ίδιες με την πρώτη σειρά, όπως περιγράφηκαν παραπάνω. Παρασκευάστηκαν γαλακτώματα 30% (w/w) σε ηλιέλαιο και οι πρότυπες ενώσεις κερκετίνη και ροσμαρινικό οξύ προστέθηκαν έτσι ώστε η τελική συγκέντρωση των πρότυπων ουσιών να είναι 150 mg/L γαλακτώματος. Επίσης έγινε προσθήκη αιθανολικού εκχυλίσματος και εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *S. Thymbra* έτσι ώστε η τελική συγκέντρωση των ολικών φαινολών στα γαλακτώματα να είναι ίση με 150 mg GAE/L γαλακτώματος. Τα παρασκευασμένα γαλακτώματα αποθηκεύτηκαν σε θαλάμους σταθερών θερμοκρασιών στους 5, 25 και 40 °C, ώστε να μελετηθεί η οξειδωτική σταθερότητα των γαλακτωμάτων σε συνθήκες ψύξης, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος καθώς και σε μία υψηλότερη θερμοκρασία καταπόνησης αυτών.

6.5.2.1 Επίδραση της θερμοκρασίας και των διαφορετικών φαινολικών προσθέτων στην οξείδωση των γαλακτωμάτων ο/w ηλιέλαιου

Παρατηρήθηκε αύξηση των υδροϋπεροξειδίων για όλα τα δείγματα γαλακτωμάτων ηλιέλαιου (ο/w) που μελετήθηκαν κατά τη διάρκεια αποθήκευσής τους, ενώ δεν

παρατηρήθηκε περίοδος επώασης. Στα Διαγράμματα 6.8 Α – Ε παρουσιάζεται η αύξηση του αριθμού σχηματισμού υδροϋπεροξειδίων των γαλακτωμάτων ηλιέλαιου κατά την αποθήκευσή τους στις τρεις υπό μελέτη θερμοκρασίες. Παρατηρείται ότι ο σχηματισμός των υδροϋπεροξειδίων αυξήθηκε γραμμικά με τον χρόνο αποθήκευσης, χωρίς περίοδο επώασης, ακολουθώντας την εξίσωση 6.3. Ο ρυθμός σχηματισμού των υδροϋπεροξειδίων αυξήθηκε με αύξηση της θερμοκρασίας αποθήκευσης για όλες τις σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν.

Στα Διαγράμματα 6.9 Α – C, γίνεται σύγκριση της προστατευτικής δράσης των διαφορετικών προσθέτων σε κάθε θερμοκρασία, όσον αφορά τον σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων κατά την αποθήκευση των γαλακτωμάτων ηλιέλαιου. Όλα τα αντιοξειδωτικά πρόσθετα μείωσαν το ρυθμό σχηματισμού υδροϋπεροξειδίων, με το αιθανολικό εκχύλισμα να παρέχει την υψηλότερη προστασία, ακολουθούμενο από την καθαρή κερκετίνη, το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα και το ροσμαρινικό οξύ.

Η επίδραση της θερμοκρασίας στον ρυθμό οξείδωσης των γαλακτωμάτων είναι διαφορετική για τα διαφορετικά πρόσθετα και μπορεί να εκτιμηθεί μέσω της ενέργειας ενεργοποίησης, που υπολογίζεται με την εξίσωση Arrhenius (Tan et al., 2001), και παρουσιάζεται στον Πίνακα 6.13.

$$k = k_0 \cdot e^{-\frac{E_a}{R \cdot T}} \quad (\text{εξίσωση 6.4})$$

Όπου: k_0 : συντελεστής Arrhenius

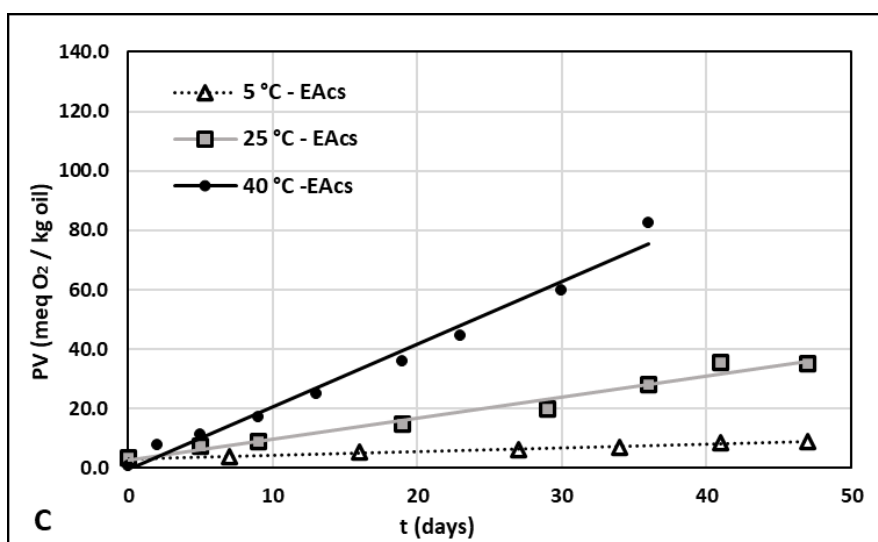
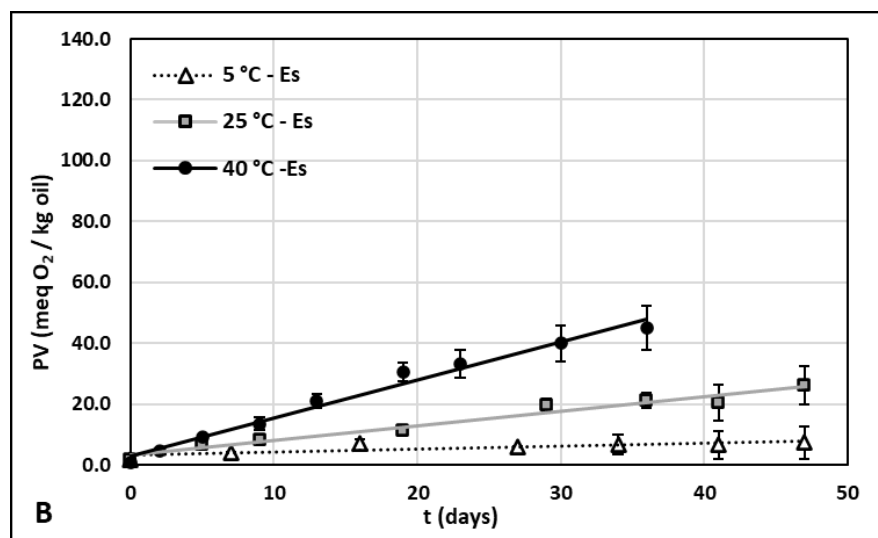
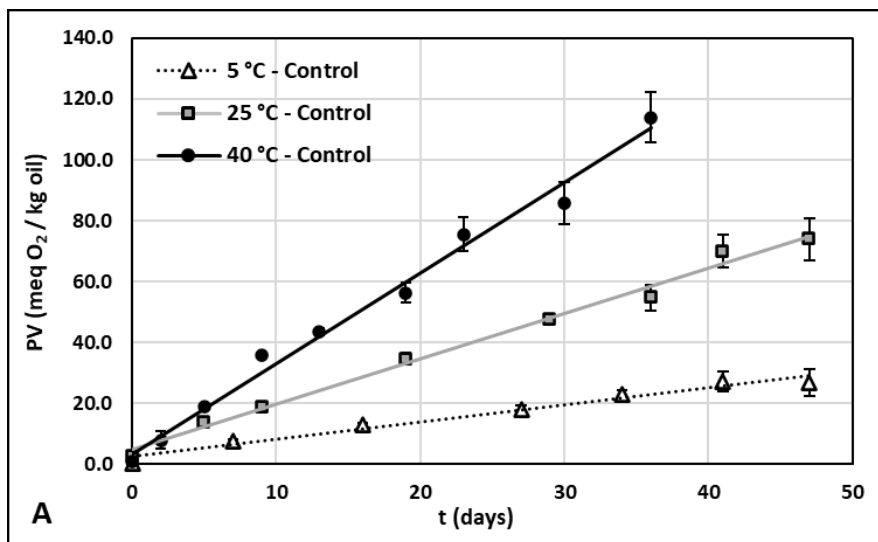
E_a : η ενέργεια ενεργοποίησης σε J/mol

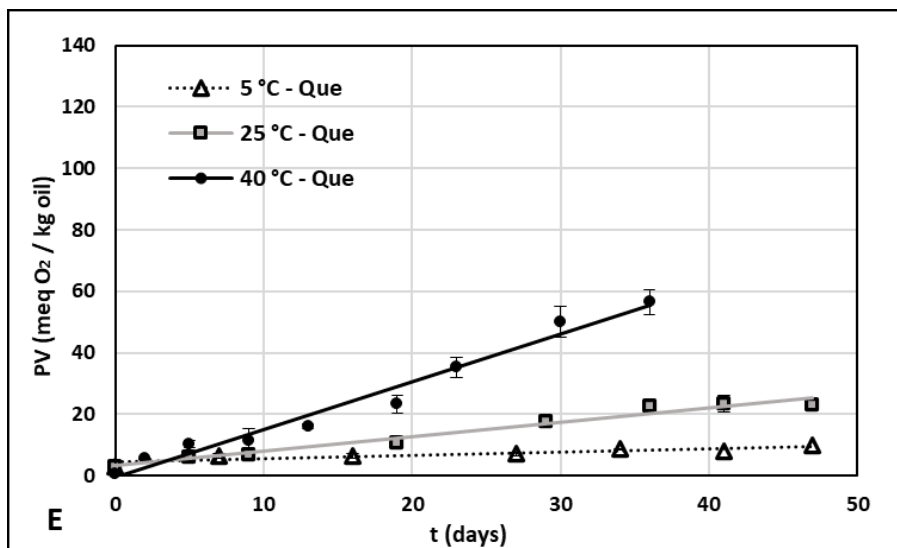
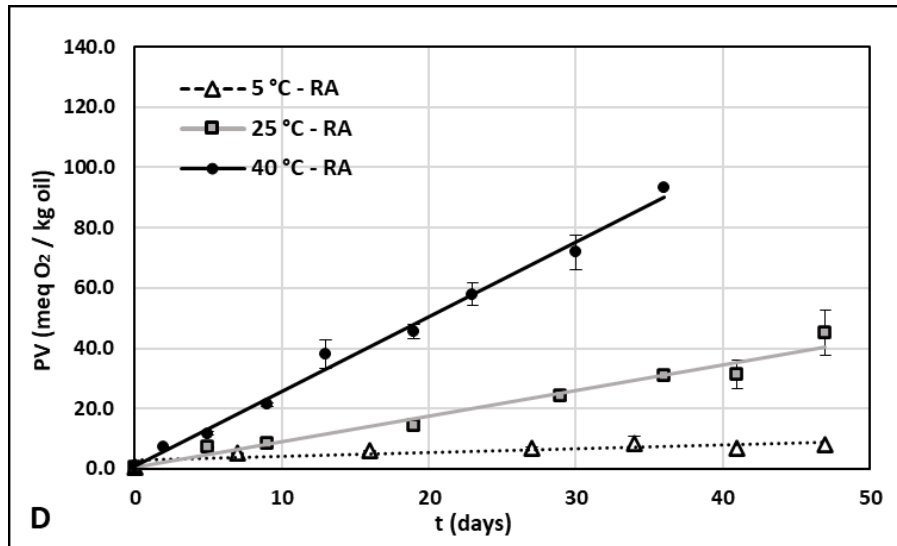
R : παγκόσμια σταθερά των ιδανικών αερίων = 8,314 J/(K • mol)

T : απόλυτη θερμοκρασία (K)

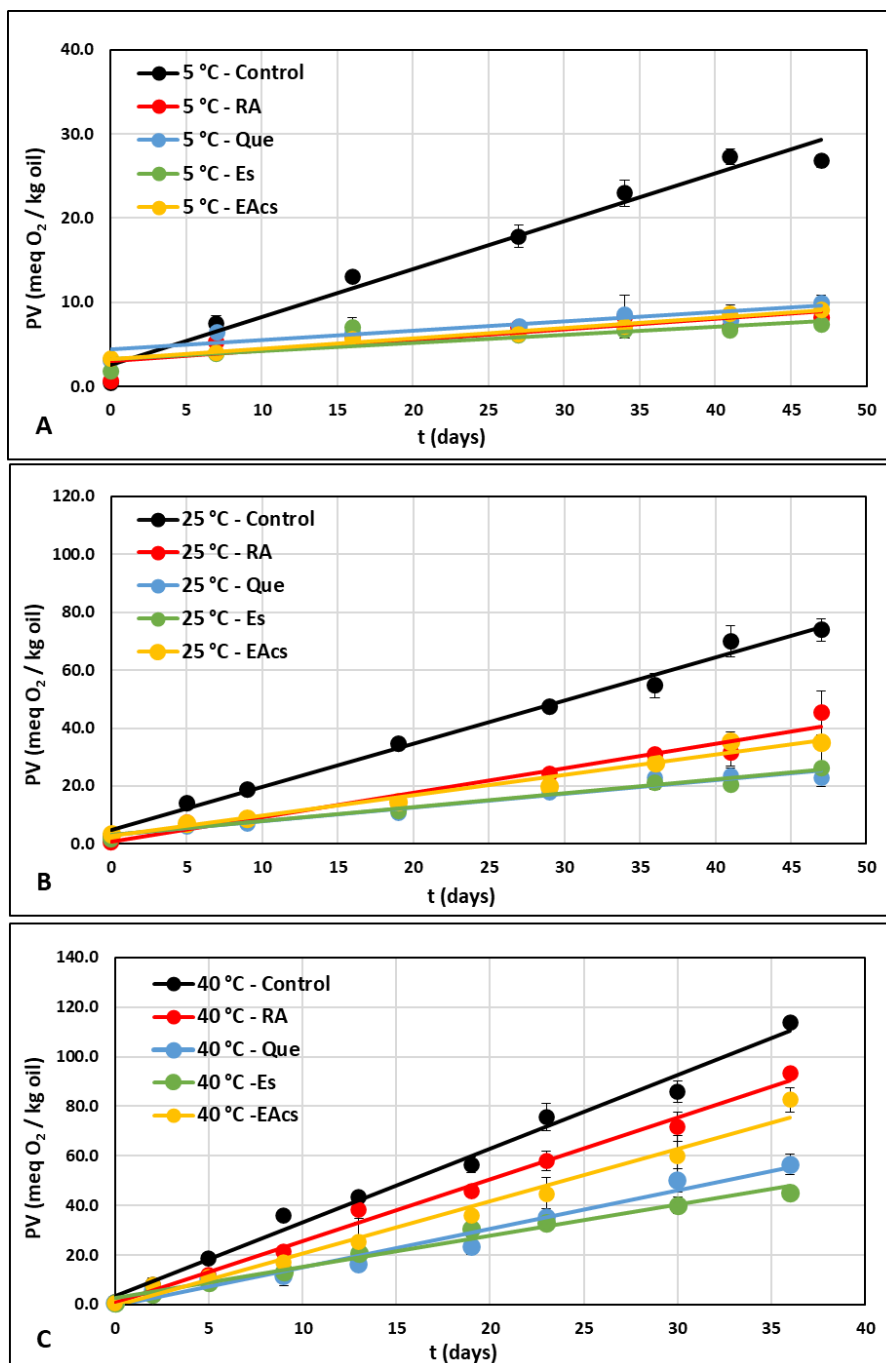
Λογαριθμίζοντας την εξίσωση 6.4 προκύπτει η εξίσωση 6.5.

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad (\text{εξίσωση 6.5})$$





Διάγραμμα 6.8 Αύξηση του ρυθμού σχηματισμού υδροϋπεροξειδίων σε γαλακτώματα ο/w ηλιέλαιου χωρίς πρόσθετο (A), σε γαλακτώματα εμπλουτισμένα με αιθανολικό εκχύλισμα, Es (B), και με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα, EAcs (C) από το φυτό *S. thymbra*, και σε γαλακτώματα εμπλουτισμένα με τις πρότυπες ενώσεις ροσμαρινικό οξύ, RA (D) και κερκετίνη, Que (E), κατά την αποθήκευσή τους στους 5, 25 και 40 °C.



Διάγραμμα 6.9 Αύξηση του ρυθμού σχηματισμού υδροϋπεροξειδίων σε γαλακτώματα ο/w ηλιέλαιου χωρίς πρόσθετο (Control), εμπλουτισμένα με αιθανολικό εκχύλισμα (Es), με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs) από το φυτό *S. thymbra*, και με τις πρότυπες ενώσεις ροσμαρινικό οξύ (RA) και κερκετίνη (Que), κατά την αποθήκευσή τους στους 5 °C (A), στους 25 °C (B) και στους 40 °C (C).

Οι λαμβανόμενες τιμές για τις σταθερές του ρυθμού αύξησης των υδροϋπεροξειδίων μέσω της εξίσωσης 6.3 για όλα τα δείγματα και τις θερμοκρασίες που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.13. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε ότι τα δείγματα γαλακτωμάτων με οποιοδήποτε από τα πρόσθετα παρουσίασαν χαμηλότερους ρυθμούς σχηματισμού υδροϋπεροξειδίων από τα δείγματα γαλακτωμάτων χωρίς κάποιο πρόσθετο για όλες τις υπό μελέτη θερμοκρασίες. Καμία σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων με διαφορετικά φαινολικά πρόσθετα δεν παρατηρήθηκε στους 5 °C, ενώ σε υψηλότερες θερμοκρασίες τα εμπλουτισμένα δείγματα με το αιθανολικό εκχύλισμα ή την κερκετίνη παρουσίασαν χαμηλότερους ρυθμούς οξείδωσης από εκείνα με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα ή το ροσμαρινικό οξύ.

Πίνακας 6.13 Επίδραση της θερμοκρασίας στη σταθερά σχηματισμού υδροϋπεροξειδίων (k) σε γαλακτώματα (o/w) ηλιέλαιου χωρίς πρόσθετο (Control), σε γαλακτώματα εμπλουτισμένα με αιθανολικό εκχύλισμα (Es) και με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs) από το φυτό *S. thymbra*, και σε γαλακτώματα εμπλουτισμένα με τις πρότυπες ενώσεις ροσμαρινικό οξύ (RA) και κερκετίνη (Que), και η ενέργεια ενεργοποίησης (E_a).

Storage temperature (°C)	Control		RA		Que		Es		EAcs	
	k (days ⁻¹)	R ²	k (days ⁻¹)	R ²	k (days ⁻¹)	R ²	k (days ⁻¹)	R ²	k (days ⁻¹)	R ²
5	0.59±0.04 ^{A,a}	0.98	0.12±0.02 ^{B,a}	0.97	0.16±0.02 ^{B,a}	0.97	0.15±0.03 ^{B,a}	0.97	0.11±0.01 ^{B,a}	0.97
25	1.53±0.06 ^{A,b}	0.98	0.70±0.07 ^{B,b}	0.98	0.51±0.04 ^{C,b}	0.98	0.57±0.04 ^{C,b}	0.97	0.64±0.05 ^{BC,b}	0.98
40	2.91±0.14 ^{A,c}	0.98	2.27±0.18 ^{B,c}	0.97	1.41±0.10 ^{C,c}	0.97	1.30±0.06 ^{C,c}	0.98	1.95±0.12 ^{B,c}	0.97
E _a (kJ/mol)	33.01		59.85		44.00		44.42		59.31	

^{A, a} Κεφαλαία και πεζά γράμματα υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές στην ίδια γραμμή και στήλη, αντίστοιχα, (p < 0.05).

Με βάση τις ενέργειες ενεργοποίησης που υπολογίστηκαν, φαίνεται ότι η αύξηση της θερμοκρασίας είχε μεγαλύτερη επίδραση στο ρυθμό οξείδωσης των γαλακτωμάτων

ηλιέλαιου με το καθαρό ροσμαρινικό οξύ και με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα. Η χαμηλότερη επίδραση από τη θερμοκρασία παρατηρήθηκε για τα δείγματα με την κερκετίνη και με το αιθανολικό εκχύλισμα.

Οι σταθερές ρυθμού παραγωγής των υδροϋπεροξειδίων που παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.13 χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό του παράγοντα Προστασίας (P), ο οποίος εκφράζει την % μείωση της σταθεράς σχηματισμού υδροϋπεροξειδίων, ως προς τη σταθερά του καθαρού ελαίου, και δίνεται από την εξίσωση 6.2. Οι τιμές που υπολογίστηκαν για τον παράγοντα Προστασίας (P) για όλες τις σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν και για τις τρεις υπό μελέτη θερμοκρασίες παρατίθενται στον Πίνακα 6.14. Όλα τα αντιοξειδωτικά πρόσθετα που εξετάστηκαν προστάτευσαν αποτελεσματικά τα γαλακτώματα στους 5 °C, ενώ φαίνεται πως οι παράγοντες προστασίας μειώθηκαν σημαντικά με αύξηση της θερμοκρασίας, ειδικά στην περίπτωση της προσθήκης του ροσμαρινικού οξέος. Προστασία της τάξης του 50% επιτεύχθηκε με την προσθήκη του αιθανολικού εκχυλίσματος και της κερκετίνης ακόμα και στους 40 °C.

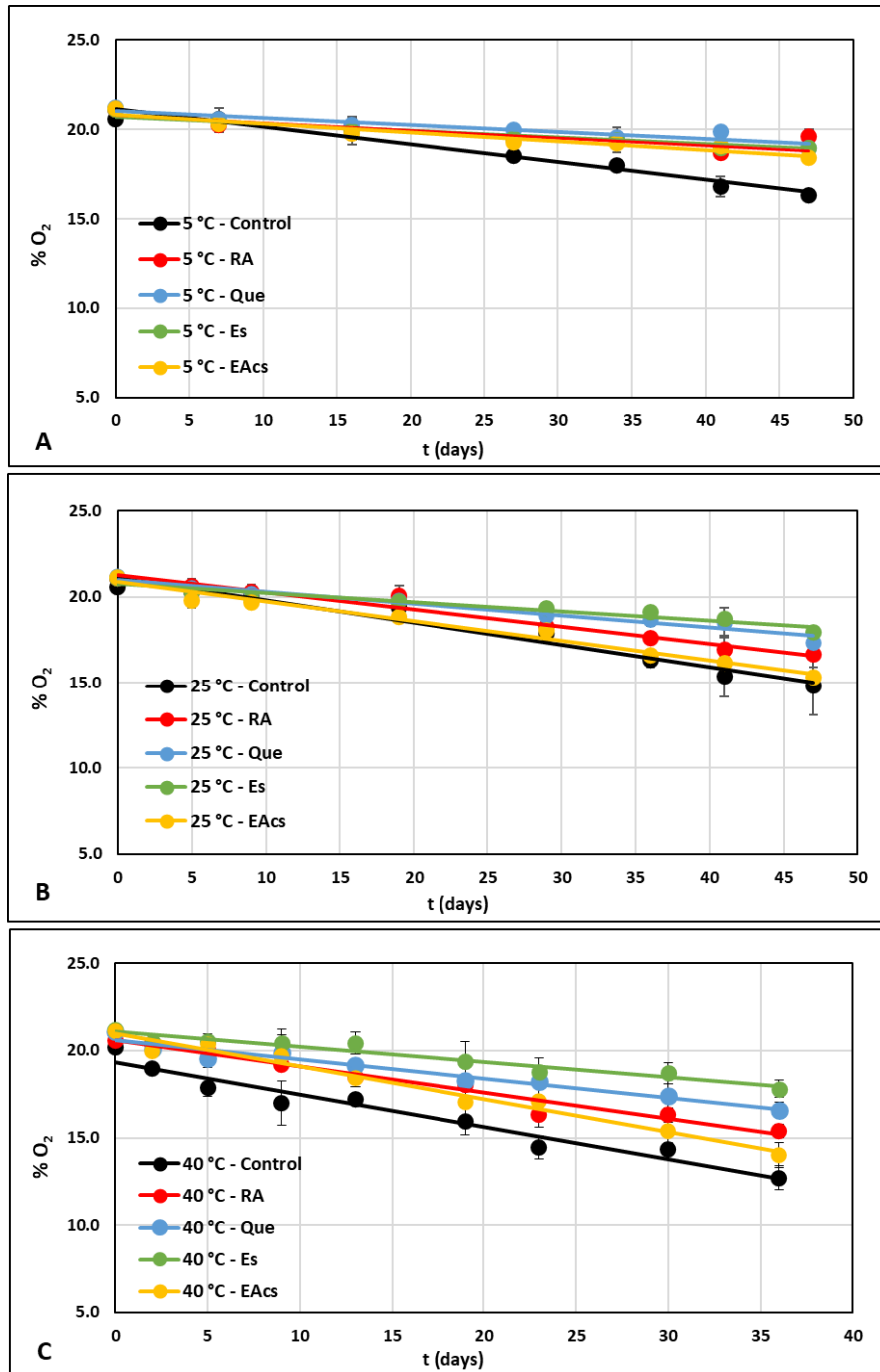
Πίνακας 6.14 Παράγοντες Προστασίας (P), υπολογισμένοι σύμφωνα με την εξίσωση 6.2, για γαλακτώματα εμπλουτισμένα με τις πρότυπες ενώσεις κερκετίνη (Que) και ροσμαρινικό οξύ (RA), και με το αιθανολικό εκχύλισμα (Es) και το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs) από θρούμπι, σε διαφορετικές θερμοκρασίες.

Θερμοκρασία αποθήκευσης (°C)	Παράγοντας Προστασίας (%)			
	P _{RA}	P _{Que}	P _{Es}	P _{EAcs}
5	80	73	75	81
25	54	67	63	58
40	22	52	55	33

Πριν από το άνοιγμα των συσκευασιών πραγματοποιήθηκε μέτρηση του % O₂ μέσα στη συσκευασία με τη χρήση αναλυτή αερίων CheckMate 9900 O₂ / CO₂ PBI Dansensor

(Ringsted, Δανία). Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν από μετρήσεις του O₂ της συσκευασίας (Διαγράμματα 6.10 A – C), αν και οι διαφορές μεταξύ των δειγμάτων με διαφορετικά πρόσθετα ήταν πολύ μικρότερες, σε σύγκριση με το σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων. Αν και ο ρυθμός μείωσης του O₂ είναι ένας καλός δείκτης της οξειδωσης, καθώς συμμετέχει στις αντιδράσεις οξειδωσης, ο αριθμός υδροϋπεροξειδίων είναι πολύ ευαίσθητος δείκτης που μπορεί να αυξηθεί σημαντικά στα αρχικά στάδια της οξειδωσης, και χρησιμοποιείται από τους περισσότερους ερευνητές ως αξιόπιστος δείκτης για την οξείδωση των λιπαρών ουσιών. Σημειώθηκε γραμμική μείωση του O₂ στη συσκευασία για όλες τις σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν, ακολουθώντας μια εξίσωση παρόμοια με την 6.1, με τις τιμές της σταθεράς μείωσης του O₂ της συσκευασίας να παρατίθενται στον Πίνακα 6.15. Αύξηση της θερμοκρασίας οδήγησε σε ταχύτερη μείωση του οξυγόνου της συσκευασίας για όλες τις σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν. Η προσθήκη των πρότυπων ενώσεων κερκετίνης και ροσμαρινικού οξέος στα γαλακτώματα ηλιέλαιου μείωσαν την κατανάλωση του οξυγόνου της συσκευασίας σε σύγκριση με το γαλάκτωμα χωρίς κάποιο πρόσθετο για όλες τις θερμοκρασίες που μελετήθηκαν. Η προσθήκη του αιθανολικού εκχυλίσματος από θρούμπι παρουσίασε τη χαμηλότερη μείωση οξυγόνου, ενώ η προσθήκη του εκχυλίσματος του οξικού αιθυλεστέρα δεν έδειξε να διαφέρει σημαντικά από το γαλάκτωμα χωρίς πρόσθετο για καμία από τις υπό μελέτη θερμοκρασίες.

Με βάση τις ενέργειες ενεργοποίησης που υπολογίστηκαν, φαίνεται ότι η αύξηση της θερμοκρασίας είχε μεγαλύτερη επίδραση στο ρυθμό οξειδωσης των γαλακτωμάτων με το καθαρό ροσμαρινικό οξύ και με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα, αποτελέσματα που συμφωνούν με τις ενέργειες ενεργοποίησης όπως αυτές υπολογίστηκαν από τους ρυθμούς αύξησης των υδροϋπεροξειδίων. Η χαμηλότερη επίδραση από τη θερμοκρασία παρατηρήθηκε για τα δείγματα χωρίς κάποιο πρόσθετο. Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω φαίνεται ότι τα γαλακτώματα με το ροσμαρινικό οξύ και με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα μπορούν να προστατεύσουν τα γαλακτώματα από την οξείδωση σε χαμηλές θερμοκρασίες, αλλά παρουσιάζουν μέτρια προστατευτική δράση όσο η θερμοκρασία αυξάνεται.



Διάγραμμα 6.10 Μείωση του O₂ της συσκευασίας γαλακτωμάτων ο/w ηλιέλαιου χωρίς πρόσθετο (Control), εμπλουτισμένα με αιθανολικό εκχύλισμα (Es), με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs) από το φυτό *S. thymbra*, και με τις πρότυπες ενώσεις ροσμαρινικό οξύ (RA) και κερκετίνη (Que), κατά την αποθήκευσή στους 5 °C (A), 25 °C (B) και 40 °C (C).

Πίνακας 6.15 Επίδραση της θερμοκρασίας στη σταθερά μείωσης του O₂ της συσκευασίας (k) σε γαλακτώματα χωρίς πρόσθετο (Control), σε γαλακτώματα εμπλουτισμένα με αιθανολικό εκχύλισμα (Es) και με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs) από το φυτό *S. thymbra*, και σε γαλακτώματα εμπλουτισμένα με τις πρότυπες ενώσεις ροσμαρινικό οξύ (RA) και κερκετίνη (Que), και η ενέργεια ενεργοποίησης (E_a).

Storage temperature (°C)	Control		RA		Que		Es		EAcs	
	k (days ⁻¹)	R ²	k (days ⁻¹)	R ²	k (days ⁻¹)	R ²	k (days ⁻¹)	R ²	k (days ⁻¹)	R ²
5	-0.08±0.01 ^{B,a}	0.91	-0.05±0.01 ^{AB,a}	0.90	-0.04±0.01 ^{A,a}	0.95	-0.05±0.01 ^{AB,a}	0.93	-0.05±0.01 ^{AB,a}	0.90
25	-0.11±0.02 ^{C,ab}	0.93	-0.10±0.01 ^{AB,b}	0.95	-0.07±0.01 ^{AB,ab}	0.97	-0.06±0.01 ^{A,a}	0.92	-0.11±0.01 ^{C,b}	0.95
40	-0.18±0.02 ^{C,b}	0.95	-0.15±0.01 ^{BC,c}	0.97	-0.11±0.01 ^{AB,b}	0.95	-0.09±0.01 ^{A,a}	0.94	-0.19±0.01 ^{C,c}	0.98
E _a (kJ/mol)	15.26		24.23		18.73		11.24		25.64	

^{A, a} Κεφαλαία και πεζά γράμματα υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές στην ίδια γραμμή και στήλη, αντίστοιχα, (p < 0.05).

Συγκρίνοντας τις δύο καθαρές ενώσεις, φαίνεται ότι η κερκετίνη, μια φλαβονόλη, προσέφερε σημαντικά υψηλότερη προστασία από το ροσμαρινικό οξύ, ένα φαινολικό οξύ. Οι Cuvelier et al. (2000) παρατήρησαν επίσης χαμηλή αντιοξειδωτική δράση του ροσμαρινικού οξέος σε σύγκριση με την κερκετίνη και την απέδωσαν στην υψηλότερη πολικότητα του οξέος, σύμφωνα με το πολικό παράδοξο. Το ροσμαρινικό οξύ, ως πολική ένωση, κατανέμεται κατά προτίμηση στην υδατική φάση και δεν μπορεί να προστατεύσει το έλαιο από αντιδράσεις οξειδωσης, που λαμβάνουν χώρα κυρίως στη διεπιφάνεια του γαλακτώματος. Όσον αφορά την κερκετίνη, οι Di Mattia et al. (2009) ανέφεραν ότι η κατανομή της στην υδατική φάση ενός γαλακτώματος o/w, σταθεροποιημένο με Tween 20 σε pH 5.5, κυμαινόταν από 26.4% έως 40.0% (ανάλογα με τη συγκέντρωση) και η ένωση έδειξε δράση κατά της οξειδωσης, αν και χαμηλότερη από τα παρατηρούμενα στα πειράματα της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Οι Becker et al. (2007) ισχυρίστηκαν ότι η κερκετίνη βρίσκεται κυρίως στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων του γαλακτώματος o/w και εξήγησαν την υψηλή δραστηριότητά της με αυτή την τοποθέτηση που επιτρέπει

τη μείωση των ριζών που δημιουργούνται στην υδατική φάση πριν επιτεθούν στη λιπαρή φάση. Οι Zhu et al. (2013) συσχέτισαν την προοξειδωτική ή αντιοξειδωτική δράση της κερκετίνης με τη συγκέντρωσή της στη διεπιφάνεια των γαλακτωμάτων αναφέροντας ότι αν η συγκέντρωση της κερκετίνης στη διεπιφάνεια του γαλακτώματος είναι αρκετά υψηλή, τότε η συσσώρευση ριζών υπεροξειδίων και κερκετίνης μπορεί να προωθήσει περαιτέρω την οξείδωση.

6.5.2.2 Συσχέτιση της αντιοξειδωτικής δράσης με το φαινολικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων

Για να συγκριθούν και να εξηγηθούν οι διαφορές που παρατηρούνται στην προστατευτική δράση που προσφέρουν τα εκχυλίσματα του φυτού *S. thymbra*, είναι απαραίτητο να συσχετισθούν με το φαινολικό τους περιεχόμενο. Μια πλήρης ανάλυση και των δύο εκχυλισμάτων, αιθανόλης και οξικού αιθυλεστέρα, παρουσιάζεται στον Πίνακα 6.6.

Ο οξικός αιθυλεστέρας ανέκτησε τα λιγότερο πολικά φαινολικά συστατικά όπως οι φλαβόνες λουτεολίνη και απιγενίνη και οι φλαβανόνες εριοδικτυόλη και ναριγγενίνη. Επίσης ταυτοποιήθηκε η 6-OH-λουτεολίνη με τη μορφή των 7,3'-διμεθυλ και 7,3',4'-τριμεθυλαιθέρων, ουσίες που δεν βρίσκονται στο εκχύλισμα αιθανόλης ή βρίσκονται σε μικρότερες ποσότητες. Το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα περιέχει και τα ασθενή φαινολικά μονοτερπένια καρβακρόλη και θυμόλη, τα οποία δεν ταυτοποιήθηκαν στο αιθανολικό εκχύλισμα του φυτού. Είναι ενδιαφέρον ότι ανιχνεύθηκε επίσης αξιόλογη περιεκτικότητα σε φαινολικά οξέα, κυρίως ροσμαρινικού οξέος, ενώ η περιεκτικότητά του σε ολικές φαινόλες βρέθηκε ίση με (13.07 ± 0.53) g GAE/100g ξηρού εκχυλίσματος. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως το σαλβιανολικό οξύ Α αποτελεί συστατικό τόσο του αιθανολικού εκχυλίσματος όσο και του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα του φυτού *S. thymbra*. Αντίθετα, το εκχύλισμα αιθανόλης ήταν πλούσιο σε πολικές φαινολικές ενώσεις, όπως φαινολικά οξέα και γλυκοζίτες φλαβονοειδών, ενώ η κυρίαρχη ένωση ήταν το ροσμαρινικό οξύ, όπως φαίνεται από τον Πίνακα 6.6. Τα κύρια φλαβονοειδή που ταυτοποιήθηκαν στο αιθανολικό εκχύλισμα από θρούμπι ήταν ο 7-O-ρουτινοζίτης της

λουτεολίνης, ο 6,8-δι-C-γλυκοζίτης της απιγενίνης, η απιγενίνη και ο 7,3'-διμεθυλαιθέρας της 6-OH-λουτεολίνης. Η περιεκτικότητα του αιθανολικού εκχυλίσματος σε ολικά φαινολικά συστατικά βρέθηκε ίση με (28.88 ± 0.62) g GAE/100g ξηρού εκχυλίσματος, σημαντικά υψηλότερο από το ολικό φαινολικό περιεχόμενο του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα. Το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα είναι πλούσιο σε μη πολικές ενώσεις, οι οποίες είναι ευδιάλυτες στο έλαιο του γαλακτώματος. Επομένως, είναι πιθανό οι ενώσεις αυτές να εντοπίζονται στο εσωτερικό των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης των γαλακτωμάτων και όχι στη διεπιφάνεια αυτών. Οι ελεύθερες ρίζες δημιουργούνται στη διεπιφάνεια των σταγονιδίων του γαλακτώματος και συνεπώς τα φαινολικά συστατικά του εκχυλίσματος του οξικού αιθυλεστέρα δεν είναι ικανά να προστατέψουν το έλαιο του γαλακτώματος από την οξείδωση στον ίδιο βαθμό με το εκχύλισμα της αιθανόλης. Αντιθέτως, το αιθανολικό εκχύλισμα του φυτού, το οποίο είναι πλούσιο σε πιο πολικά φαινολικά συστατικά που εντοπίζονται στην διεπιφάνεια του γαλακτώματος, ήταν αποτελεσματικό στην μείωση του ρυθμού αύξησης των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης.

Καθώς και τα δύο εκχυλίσματα, και ιδιαίτερα το εκχύλισμα της αιθανόλης, είναι πλούσια σε φαινολικά οξέα, θα αναμενόταν τα εκχυλίσματα να παρουσιάσουν παρόμοια προστατευτική αντιοξειδωτική δράση με το καθαρό ροσμαρινικό οξύ. Ωστόσο, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η συγκέντρωση του ροσμαρινικού οξέος σε κάθε περίπτωση. Λαμβάνοντας υπόψη ότι και τα δύο εκχυλίσματα προστέθηκαν σε συγκέντρωση ολικών φαινολών ίση με 150 mg GAE/kg γαλακτώματος, υπολογίστηκε η περιεκτικότητα σε καθαρό ροσμαρινικό οξύ των εκχυλισμάτων και βρέθηκε ότι το γαλάκτωμα στο οποίο προστέθηκε καθαρό ροσμαρινικό οξύ (150 mg ροσμαρινικού οξέος/kg γαλακτώματος) είχε 30% υψηλότερη συγκέντρωση σε ροσμαρινικό οξύ σε σύγκριση με το γαλάκτωμα που είχε εμπλουτισθεί με το αιθανολικό εκχύλισμα του φυτού. Αντίστοιχα, το γαλάκτωμα με το καθαρό ροσμαρινικό οξύ είχε περίπου 70% υψηλότερη συγκέντρωση σε ροσμαρινικό οξύ σε σύγκριση με το γαλάκτωμα το οποίο περιείχε το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα. Η αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών ενώσεων είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τη συγκέντρωσή τους. Οι Frankel et al. (1996) παρατήρησαν την προοξειδωτική συμπεριφορά του ροσμαρινικού οξέος σε γαλακτώματα καθώς η

συγκέντρωσή του αυξανόταν. Επομένως, η καλύτερη προστασία των γαλακτωμάτων με τα εκχυλίσματα αιθανόλης και οξικού αιθυλεστέρα μπορεί να αποδοθεί στη χαμηλότερη περιεκτικότητά τους σε ροσμαρινικό οξύ σε σύγκριση με το γαλάκτωμα που περιέχει μόνο ροσμαρινικό οξύ ως πρόσθετο. Επιπλέον, τα δύο εκχυλίσματα του φυτού περιέχουν γλυκοζίτες και αγλυκόνες των φλαβονοειδών που μπορούν να δράσουν ως αντιοξειδωτικά σε γαλακτώματα (Espinosa et al., 2015; Huber et al., 2009). Τα προϊόντα οξείδωσης κατανέμονται κυρίως στη διεπιφάνεια του γαλακτώματος ή στην υδατική φάση αυτού, ως πολικές ενώσεις. Το ροσμαρινικό οξύ, ως ισχυρό αντιοξειδωτικό, μπορεί είτε να αναγεννηθεί είτε να αλληλεπιδράσει με τα φλαβονοειδή αντιοξειδωτικά της υδατικής φάσης και της διεπιφάνειας του γαλακτώματος, συμβάλλοντας έτσι, μέσω συνεργιστικών αντιδράσεων με τα φλαβονοειδή, στην υψηλή αντιοξειδωτική δράση των δύο εκχυλισμάτων του φυτού. Ομοίως, οι Panya et al. (2012) παρατήρησαν μια υψηλή συνεργιστική δράση του ροσμαρινικού οξέος με την α -τοκοφερόλη σε γαλακτώματα ο/w, η οποία αποδόθηκε στον καταμερισμό του στην υδατική φάση και στην αλληλεπίδρασή του με την α -τοκοφερόλη στην επιφάνεια των σταγονιδίων του γαλακτώματος. Αυτή η αλληλεπίδραση δεν ήταν η αναγέννηση της α -τοκοφερόλης, αλλά η μετατροπή του ροσμαρινικού οξέος σε καφεϊκό οξύ, το οποίο έδρασε ως νέο αντιοξειδωτικό.

6.5.2.3 Μεταβολές των φαινολικών ενώσεων κατά τη διάρκεια αποθήκευσης των γαλακτωμάτων

Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος γινόταν μέτρηση των ολικών φαινολικών συστατικών των γαλακτωμάτων και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 6.11 Α και Β. Παρατηρήθηκε μείωση των ολικών φαινολικών συστατικών των γαλακτωμάτων κατά την αποθήκευσή τους και οι πειραματικές τιμές ακολουθούν κινητική πρώτης τάξης σύμφωνα με την εξίσωση:

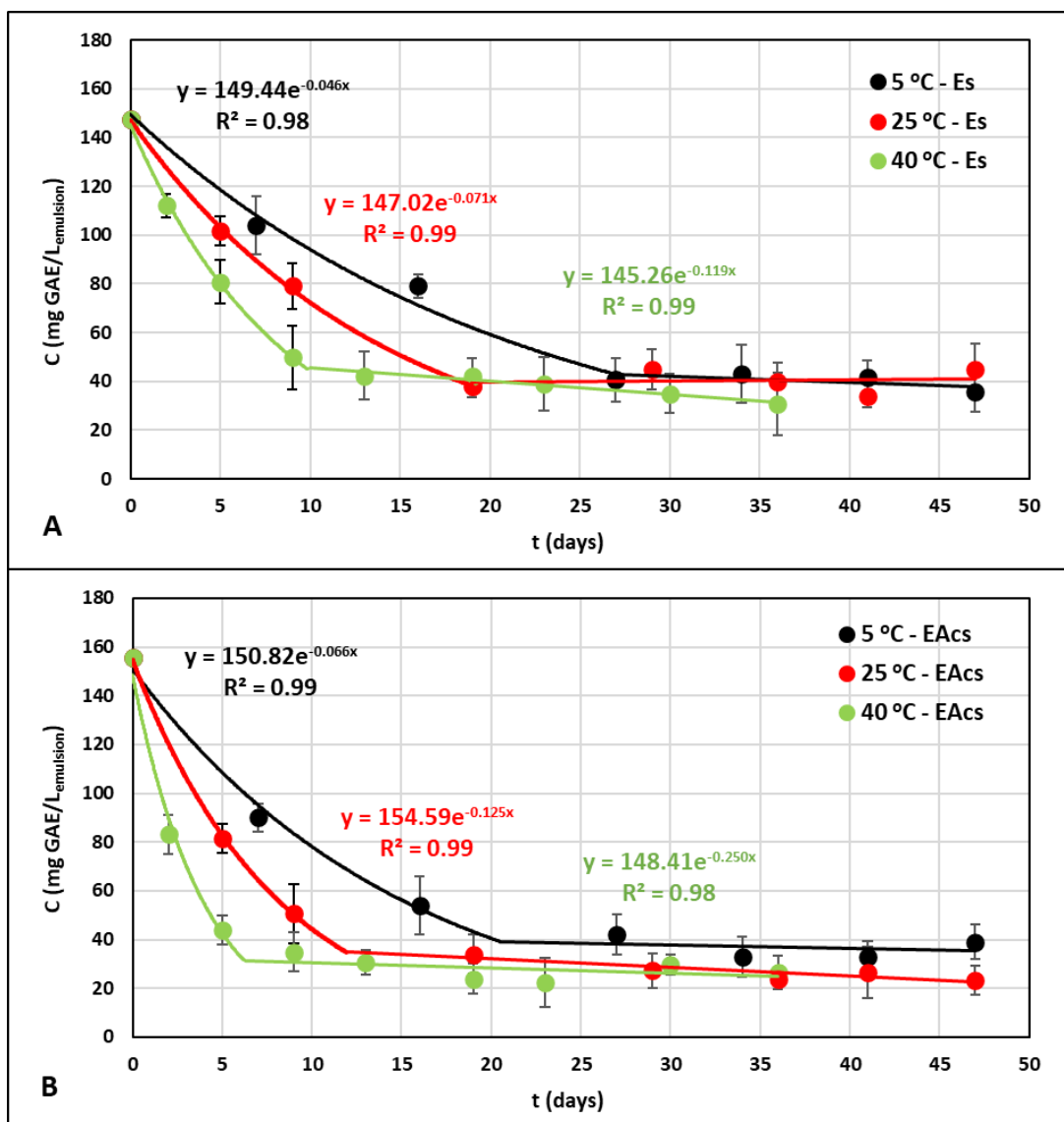
$$TPC = TPC_0 \cdot \exp(-kt) \quad (\text{εξίσωση 6.6})$$

Όπου: TPC και TPC_0 : το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο του γαλακτώματος τη χρονική στιγμή t και 0, αντίστοιχα (mg GAE/ L_{emulsion}),

k : η σταθερά ρυθμού μείωσης των ολικών φαινολικών συστατικών (days^{-1}) και
t : ο χρόνος αποθήκευσης (days)

Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 6.11, οι απόλυτες τιμές των σταθερών του ρυθμού μείωσης των ολικών φαινολικών συστατικών αυξάνονται καθώς η θερμοκρασία αυξάνει. Πιο συγκεκριμένα, καθώς η θερμοκρασία αυξήθηκε από τους 5 στους 40 °C, παρατηρήθηκε αύξηση από 0.046 σε 0.119 days^{-1} στο γαλάκτωμα που εμπλουτίστηκε με το αιθανολικό εκχύλισμα του φυτού, και από 0.066 σε 0.250 days^{-1} στο γαλάκτωμα που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν την ταχύτερη απώλεια φαινολικών ενώσεων στο γαλάκτωμα που έχει υποστεί επεξεργασία με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα, η οποία συμπίπτει με τους υψηλότερους ρυθμούς οξειδωσης του γαλακτώματος αυτού (Πίνακας 6.13). Επιπλέον, η επίδραση της θερμοκρασίας στη μείωση του ολικού φαινολικού περιεχομένου ήταν πιο έντονη στα γαλακτώματα που είχαν εμπλουτισθεί με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα σε σύγκριση με εκείνα με το αιθανολικό εκχύλισμα, και οι υπολογισμένες τιμές ενέργειας ενεργοποίησης, σύμφωνα με την εξίσωση Arrhenius, ήταν 27.20 kJ/mol και 19.30 kJ/mol, αντίστοιχα.

Περαιτέρω ανάλυση των φαινολικών συστατικών με υγρή χρωματογραφία αποκάλυψε ότι το ροσμαρινικό οξύ ήταν το κύριο συστατικό που μειώθηκε στα γαλακτώματα που περιείχαν και τα δύο εκχυλίσματα, και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 6.12 A. Η μείωση του ροσμαρινικού οξέος στα γαλακτώματα με τα δύο εκχυλίσματα ακολούθησε κινητική πρώτης τάξης και επομένως ο ρυθμός κατανάλωσής του εξαρτάται κυρίως από τη συγκέντρωση. Έτσι ο ρυθμός μείωσης του ροσμαρινικού οξέος είναι πολύ μεγαλύτερος στο γαλάκτωμα που περιέχει αιθανολικό εκχύλισμα σε σύγκριση με το γαλάκτωμα που περιέχει εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα. Ομοίως, η μείωση του ροσμαρινικού οξέος στο γαλάκτωμα που υποβλήθηκε σε επεξεργασία με καθαρό ροσμαρινικό οξύ ακολούθησε την κινητική πρώτης τάξης, και οι πειραματικές τιμές παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 6.12 B.



Διάγραμμα 6.11 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο γαλακτωμάτων εμπλουτισμένων (A) με το εκχύλισμα αιθανόλης (Es) και (B) με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs) από θρούμπι στους 5, 25 and 40 °C (μέσος όρος δύο μετρήσεων ± τυπική απόκλιση).

Οι σταθερές ρυθμού μείωσης του ροσμαρινικού οξέος σε όλα τα υπό μελέτη γαλακτώματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.16. Όπως φαίνεται, αύξηση της θερμοκρασίας οδήγησε σε αύξηση των σταθερών μείωσης του ροσμαρινικού οξέος για όλες τις σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά

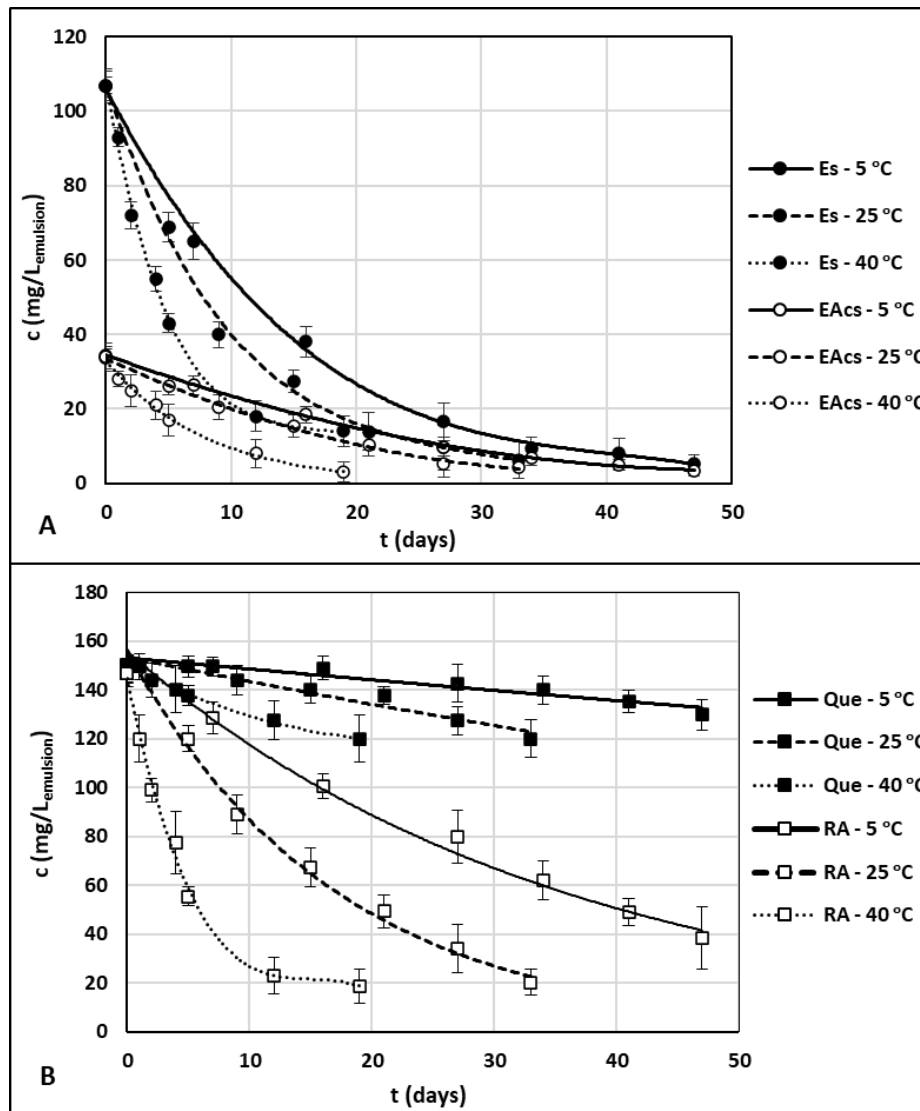
στους ρυθμούς μείωσης του ροσμαρινικού οξέος μεταξύ των δειγμάτων που εμπλουτίστηκαν με το αιθανολικό εκχύλισμα και με ροσμαρινικό οξύ. Η σταθερά ρυθμού μείωσης του ροσμαρινικού οξέος ήταν σημαντικά διαφορετική μόνο στα γαλακτώματα που είχαν υποστεί επεξεργασία με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα για όλες τις θερμοκρασίες που μελετήθηκαν.

Τα φλαβονοειδή και οι γλυκοζίτες των φλαβονοειδών παρουσίασαν μικρή μείωση (λιγότερο από 10% της αρχικής περιεκτικότητας στο τέλος του πειράματος) στα γαλακτώματα που εμπλουτίστηκαν είτε με το αιθανολικό εκχύλισμα είτε με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα. Αυτό το γεγονός μπορεί εν μέρει να αποδοθεί σε αλληλεπιδράσεις με το ροσμαρινικό οξύ (Panya et al., 2012), αλλά και στην περιορισμένη συμμετοχή τους σε αντιδράσεις οξειδωσης, καθώς τα φλαβονοειδή που υπάρχουν στα εκχυλίσματα αυτά, σύμφωνα με τον Πίνακα 6.6, διαθέτουν λίγες υδροξυλομάδες και επομένως η ικανότητα τους να δωρίσουν το υδρογόνο τους είναι περιορισμένη. Μεταξύ αυτών, η εριοδικτυόλη και τα δύο παράγωγα της 6-OH λουτεολίνης είναι οι πιο δραστικές αγλυκόνες γιατί σε κάθε περίπτωση υπάρχει μια ο-διξυδροξύ φαινολική δομή (Tsimogiannis & Oreopoulou, 2019). Οι υπόλοιπες αγλυκόνες, π.χ. η απιγενίνη, η ναρινγενίνη και οι γλυκοζίτες, παρουσιάζουν λιγότερο ενεργές δομές.

Πίνακας 6.16 Σταθερές ρυθμού μείωσης του ροσμαρινικού οξέος, σύμφωνα με κινητική πρώτης τάξης, σε γαλακτώματα (o/w) ηλιέλαιου εμπλουτισμένα με ροσμαρινικό οξύ (RA), αιθανολικό εκχύλισμα (Es) και εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs) από θρούμπι κατά την αποθήκευσή τους στους 5, 25 και 40 °C.

Θερμοκρασία αποθήκευσης (°C)	Es		EAcs		RA	
	k (days ⁻¹)	R ²	k (days ⁻¹)	R ²	k (days ⁻¹)	R ²
5	0.065±0.003 ^{A,b}	0.9915	0.049±0.001 ^{A,a}	0.9966	0.066±0.005 ^{A,b}	0.9757
25	0.087±0.004 ^{B,b}	0.9908	0.066±0.004 ^{B,a}	0.9841	0.084±0.002 ^{B,b}	0.9967
40	0.111±0.013 ^{C,b}	0.9400	0.093±0.008 ^{C,a}	0.9637	0.108±0.009 ^{C,b}	0.9682

^{A, a} Κεφαλαία και πεζά γράμματα υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές στην ίδια στήλη και γραμμή, αντίστοιχα (p<0.05).



Διάγραμμα 6.12 (A) Μείωση του ροσμαρινικού οξέος σε γαλακτώματα (o/w) ηλιέλαιου εμπλουτισμένα με αιθανολικό εκχύλισμα (Es) και με εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs) από θρούμπι και (B) μείωση των πρότυπων ενώσεων κερκετίνης (Que) και ροσμαρινικού οξέος (RA) σε γαλακτώματα (o/w) ηλιέλαιου κατά την αποθήκευσή τους στους 5, 25 and 40 °C (μέσος όρος δύο μετρήσεων \pm τυπική απόκλιση).

Η μεταβολή της συγκέντρωσης της κερκετίνης στα γαλακτώματα που εμπλουτίστηκαν με αυτή την πρότυπη ουσία, εξετάστηκε επίσης με υγρή χρωματογραφία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κερκετίνη μειώθηκε σε σημαντικό ποσοστό σε σύγκριση με τα φλαβονοειδή του αρωματικού φυτού *S. thymbra*. Η προσαρμογή των δεδομένων της υπολειπόμενης κερκετίνης ακολούθησε κινητική πρώτης τάξης και οι ρυθμοί μείωσης ανήλθαν σε 0.006, 0.010 και 0.014 days⁻¹, στους 5, 25 και 40 °C, αντίστοιχα. Αξιοσημείωτο είναι ότι οι ρυθμοί μείωσης της κερκετίνης είναι μία τάξη μεγέθους χαμηλότεροι από εκείνους του ροσμαρινικού οξέος. Στην πραγματικότητα η κερκετίνη είναι ένα από τα πιο ενεργά φλαβονοειδή αντιοξειδωτικά, λόγω της δομής της, και κατά συνέπεια μέρος της οξειδώνεται κατά την αποθήκευση των γαλακτωμάτων, προσφέροντας υψηλή αντιοξειδωτική προστασία, όπως φαίνεται στον Πίνακα 6.14.

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

Στο παρόν υποκεφάλαιο, θα παρουσιαστούν και θα σχολιαστούν τα αποτελέσματα της χρήσης εδώδιμων μεμβρανών, εμπλουτισμένων ή όχι με αντιοξειδωτικά, έναντι της οξείδωσης ωμών ιχθύων. Διαλύματα εδώδιμης επικάλυψης παρασκευάστηκαν με χρήση καρβοξυ-μεθυλο-κυτταρίνης (CMC) σε συγκέντρωση 1.5% (w/v). Στο διάλυμα CMC προστέθηκε Tween 20, 2% (v/v). Εκτός από το αιθανολικό και οξικού αιθυλεστέρα εκχύλισμα του αρωματικού φυτού *S. thymbra*, εξετάστηκε και το αιθέριο έλαιο του φυτού, καθώς και συνδυασμοί αυτών, για μία ευρύτερη εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των κλασμάτων από θρούμπι. Στις σειρές δειγμάτων που προστέθηκε το αιθέριο έλαιο του φυτού *S. thymbra*, το επίπεδο προσθήκης αυτού ήταν, 2% (v/v) στο διάλυμα CMC. Εκχυλίσματα αιθανόλης και οξικού αιθυλεστέρα του ίδιου φυτού προστέθηκαν σε διαλύματα CMC ώστε η τελική συγκέντρωσή τους σε αυτά να είναι 500 mg GAE/L διαλύματος επικαλυπτικού. Οι σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν ήταν: ιχθυηρά χωρίς επικάλυψη (Control) και με επικάλυψη αλλά χωρίς κάποιο πρόσθετο (Control-CMC), με επικάλυψη με το αιθέριο έλαιο (EO), με το αιθανολικό εκχύλισμα

(Es), με το αιθανολικό εκχύλισμα και το αιθέριο έλαιο (Es-EO), με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs) και με συνδυασμό του αιθέριου ελαίου και του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα (EAcs-EO).

Φιλέτα τσιπούρας (*Sparus aurata*) εμβαπτίστηκαν στα παραπάνω διαλύματα εδώδιμων επικαλυπτικών και αφού τοποθετήθηκαν σε τρυβλία petri, αποθηκεύτηκαν σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας στους 0 °C. Σε κατάλληλα χρονικά διαστήματα γίνονταν δειγματοληψίες προκειμένου να καταστεί δυνατή η μελέτη της οξειδωτικής υποβάθμισης του προϊόντος. Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης με τη μέθοδο των υδροϋπεροξειδίων και των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης με τη μέθοδο του αριθμού της p-ανισιδίνης.

Η πορεία αύξησης του αριθμού των υπεροξειδίων των λιπαρών των ιχθύων παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 6.13 A και B και είναι αντίστοιχη με εκείνη που περιγράφεται στη βιβλιογραφία (Jouki et al., 2014; Ojagh et al., 2010; Gómez-Estaca et al., 2007). Οι αντιδράσεις οξείδωσης στους 0 °C προχωρούν με αργούς ρυθμούς αλλά ο αριθμός υδροϋπεροξειδίων αυξήθηκε σημαντικά για όλες τις σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν. Οι τιμές του αριθμού υδροϋπεροξειδίων των δειγμάτων που είχαν επικαλυφθεί με CMC χωρίς κάποιο αντιοξειδωτικό πρόσθετο (Control-CMC) ήταν χαμηλότερες από εκείνες των δειγμάτων χωρίς επικάλυψη (Control), υποδεικνύοντας ότι η ίδια η βρώσιμη επικάλυψη προσέφερε κάποια προστασία από την οξείδωση, όπως επίσης παρατηρήθηκε από τους Dashipour et al. (2015) και Hussain et al. (2015). Στη μελέτη των Ponce et al. (2008), κολοκύθια που επικαλύφθηκαν με μεμβράνη CMC εμφάνισαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις προϊόντων οξείδωσης από τα μη επικαλυμμένα. Οι Le Tien et al. (2001) αναφέρουν πως η επικάλυψη με CMC είναι ικανή να παγιδεύει αποτελεσματικά ρίζες υδροϋπεροξειδίων και να καθυστερεί τη συσσώρευσή τους.

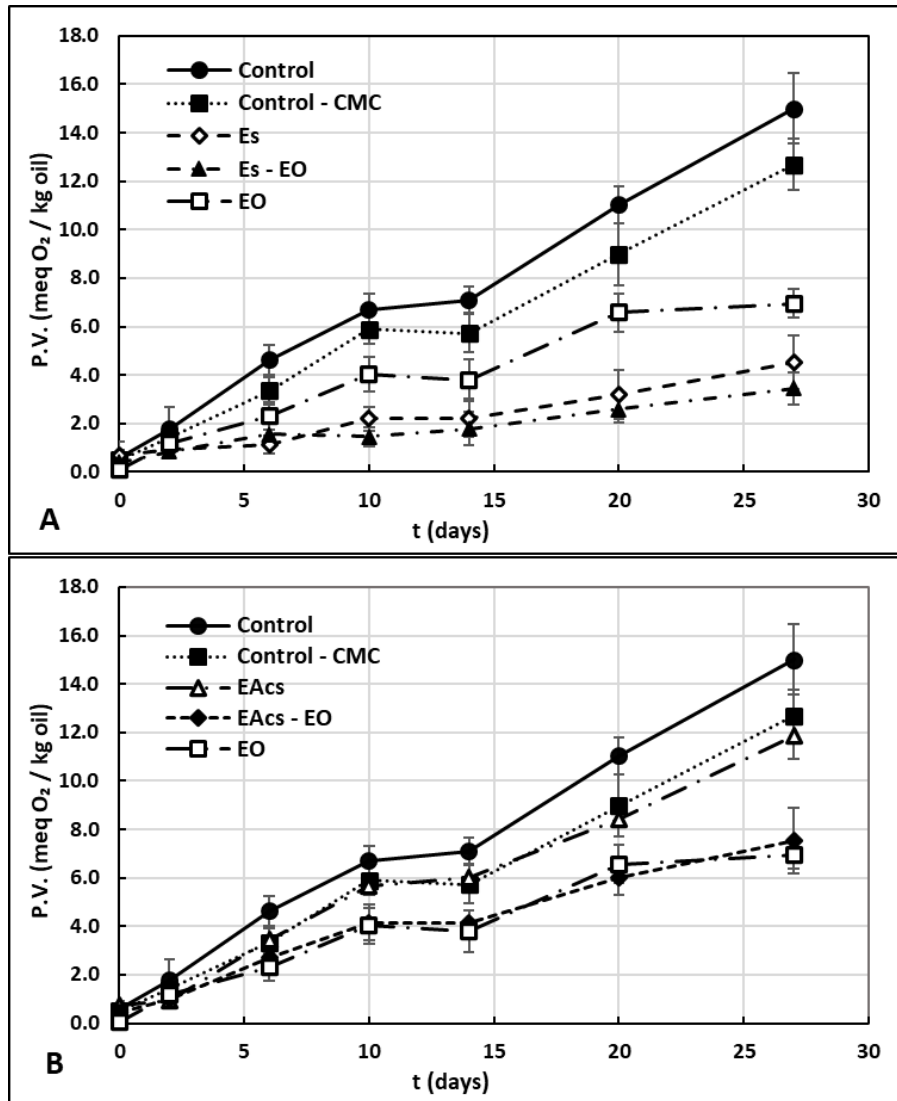
Η ενσωμάτωση του αιθέριου ελαίου στην βρώσιμη επικάλυψη επιβράδυνε σημαντικά την αύξηση των υδροϋπεροξειδίων. Η αντιοξειδωτική δράση του αιθέριου ελαίου μπορεί να αποδοθεί στην παρουσία της καρβακρόλης, η οποία εμφανίζει χαμηλή αντιριζική, αλλά ικανοποιητική αντιοξειδωτική δράση (Ozturk, 2012). Επιπλέον, ο Ozturk (2012) ανέφερε ότι το γ-τερπινένιο μπορεί να αναστείλει την οξείδωση των λιπαρών ή και να δεσμεύσει τις σχηματιζόμενες υπεροξειδικές ρίζες. Αυτή η ικανότητα του γ-τερπινένιου

αποδίδεται στους δύο δι-αλλυλικούς άνθρακες που περιέχει, οι οποίοι μπορεί να δωρίσουν άτομα υδρογόνου σε ρίζες υπεροξειδίου, αλκοξυλίου ή αλκυλίου, ενώ η σχηματιζόμενη ρίζα γ-τερπινενυλίου μπορεί περαιτέρω να αντιδράσει με άλλη ρίζα. Κατά συνέπεια, μέρος της αντιοξειδωτικής δράσης του αιθέριου ελαίου μπορεί να αποδοθεί στο γ-τερπινένιο που είναι το κυρίαρχο συστατικό.

Το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα της *S. thymbra* δεν εμφάνισε σημαντική αντιοξειδωτική δράση (Διάγραμμα 6.13 Β), σε αντίθεση με το αιθανολικό εκχύλισμα που ήταν πολύ αποτελεσματικό στην επιβράδυνση της παραγωγής πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης (Διάγραμμα 6.13 Α). Η υψηλή αντιοξειδωτική δράση του αιθανολικού εκχυλίσματος πιθανότατα σχετίζεται με την υψηλή περιεκτικότητά του σε φαινολικά οξέα. Οι Miron et al. (2013) ανέφεραν ότι εκχυλίσματα πλούσια σε ροσμαρινικό, σαλβιανολικό και λιθοσπερμικό οξύ έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν ελεύθερες ρίζες. Σύμφωνα με τους Drusch et al. (2008), η αποτελεσματική σταθεροποίηση ελαίων πλούσιων σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας μπορεί να επιτευχθεί με συνδυασμό ροσμαρινικού οξέος και τοκοφερολών. Οι De Leonardis και Macciola (2003) ανέφεραν ότι η αντιοξειδωτική δράση του καφεϊκού οξέος, το οποίο αποτελεί πρόδρομη ένωση του ροσμαρινικού οξέος, ήταν καλύτερη από εκείνη του ΒΗΑ σε τρόφιμα χαμηλής πολικότητας όπως το μωρουνέλαιο. Επιπλέον, ο Ozturk (2012) πραγματοποίησε δοκιμές ενός μεθανολικού εκχυλίσματος της *S. thymbra* έναντι της ρίζας DPPH και επιβεβαίωσε την ισχυρή αντιριζική του δράση.

Η προσθήκη του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα στο διάλυμα εδάδιμης επικάλυψης CMC δεν μείωσε την αύξηση των υδροϋπεροξειδίων και όπως παρατηρείται και από το Διάγραμμα 6.13 Β φάνηκε να έχει την ίδια προστατευτική δράση με την ίδια την επικάλυψη. Η μη αποτελεσματική αντιοξειδωτική προστασία που παρατηρείται με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα μπορεί να εξηγηθεί από τη χαμηλή περιεκτικότητά του σε φαινολικά οξέα σε συνδυασμό με την παρουσία καρβακρόλης σε αυτό. Τόσο η καρβακρόλη όσο και το ισομερές της, η θυμόλη, έχουν επιδείξει ανταγωνιστικές δράσεις με το ροσμαρινικό οξύ και τα φλαβονοειδή, όταν εξετάστηκαν ως πιθανοί δεσμευτές ελεύθερων ριζών, σύμφωνα με τους Tsimogiannis et al. (2017). Το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα περιέχει επίσης αρκετά φλαβονοειδή (Πίνακας 6.6) που είναι ισχυρά

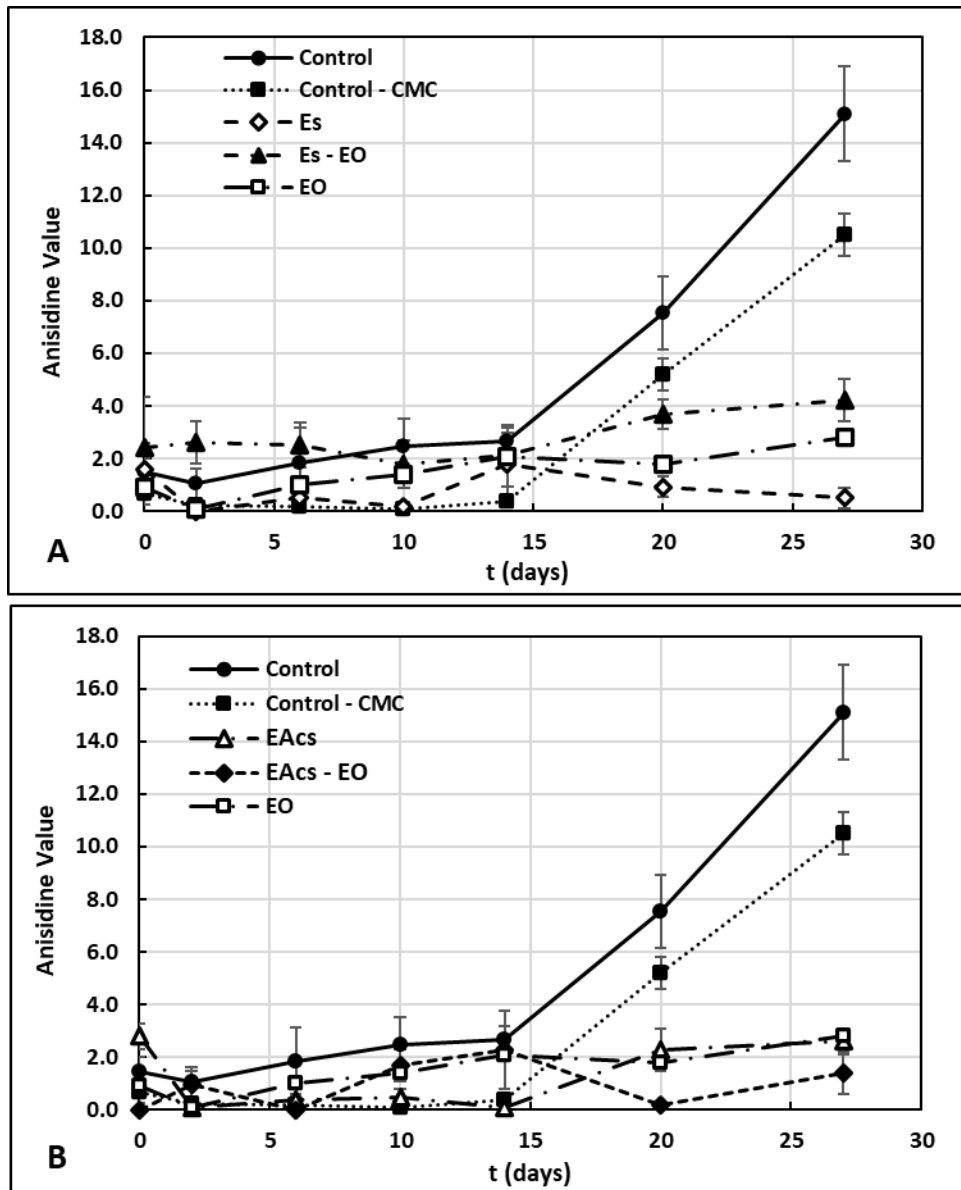
αντιοξειδωτικά. Ωστόσο, τα φλαβονοειδή είναι μη πολικές ενώσεις και ως εκ τούτου, έχουν περιορισμένη πρόσβαση στις ρίζες υπεροξειδίου που σχηματίζονται στον ιστό των ψαριών.



Διάγραμμα 6.13 Επίδραση της βρώσιμης επικάλυψης με CMC και (A): αιθανολικό εκχύλισμα (Es), αιθέριο έλαιο (EO) και συνδυασμό αιθέριου ελαίου και αιθανολικού εκχυλίσματος (Es – EO) και (B): εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs), αιθέριο έλαιο (EO) και συνδυασμό αιθέριου ελαίου και εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα (EAcs – EO) στο ρυθμό παραγωγής πρωτογενών προϊόντων οξειδωσης των λιπαρών των ιχθύων στους 0 °C (μέσος όρος διπλών μετρήσεων ± τυπική απόκλιση).

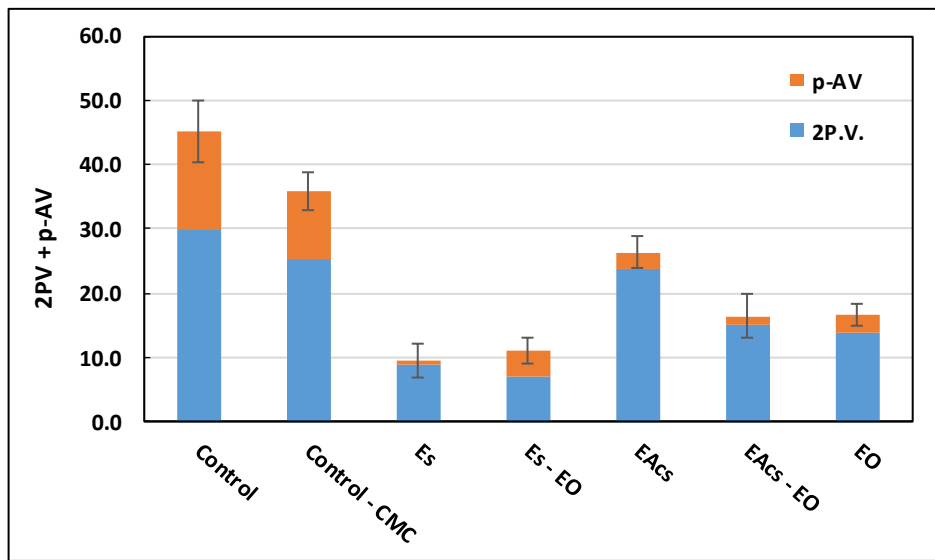
Η προσθήκη του συνδυασμού αιθανολικού εκχυλίσματος και αιθέριου ελαίου (Es-EO) στο διάλυμα της βρώσιμης επικάλυψης CMC, προστάτευσε τα ιχθυηρά έναντι της παραγωγής υδροϋπεροξειδίων αλλά δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά αυτού του συνδυασμού από την αντίστοιχη προστασία που προσέφερε η προσθήκη μόνο του αιθανολικού εκχυλίσματος του φυτού. Θα αναμενόταν χαμηλότερη προστασία του αιθανολικού εκχυλίσματος σε σύγκριση με τον συνδυασμό αιθέριου ελαίου και αιθανολικού εκχυλίσματος. Το γεγονός ότι δεν παρατηρήθηκε αυτό, υποστηρίζει περαιτέρω τις ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις της καρβακρόλης και των φαινολικών οξέων όταν συνδυάζονται σε μείγματα. Τα δείγματα που εμβαπτίστηκαν στο διάλυμα εδώδιμου επικαλυπτικού με το αιθέριο έλαιο (EO), αλλά και με το συνδυασμό αιθέριου ελαίου και εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα (EAcs-EO) έδωσαν παρόμοιες τιμές συσσώρευσης υπεροξειδίων, γεγονός που επιβεβαιώνει ότι το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα δεν εμφάνισε αντιοξειδωτική δράση.

Στο Διάγραμμα 6.14 A και B παρουσιάζεται η αύξηση των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης του ελαίου από τα φιλέτα των ιχθύων με μέτρηση του αριθμού της p-ανισιδίνης (p-An). Παρατηρήθηκε αύξηση των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης, τόσο για τα δείγματα χωρίς επικάλυψη όσο και για εκείνα με επικάλυψη χωρίς πρόσθετο και οι τιμές που ελήφθησαν ήταν στατιστικά διαφορετικές σε σύγκριση με τις αντίστοιχες από όλες τις υπόλοιπες σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν μετά από 27 ημέρες αποθήκευσης στους 0 °C. Η υψηλότερη τιμή p-ανισιδίνης προσδιορίστηκε για τα δείγματα χωρίς επικάλυψη (15.1 ± 2.3), ενώ όλα τα εκχυλίσματα από θρούμπι φαίνεται ότι καταστέλλουν το σχηματισμό δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης. Αυτό αποδίδεται στην ικανότητα των φαινολικών ενώσεων των εκχυλισμάτων και του αιθέριου ελαίου να δρουν αναστέλλοντας ή διακόπτοντας τον μηχανισμό της αυτοοξείδωσης των λιπιδίων. Πιο συγκεκριμένα, οι φαινολικές ενώσεις δρουν ως δέκτες ελεύθερων ριζών, τερματίζοντας την οξείδωση στο αρχικό στάδιο και επίσης αποτρέπουν τον σχηματισμό νέων ριζών κατά την οξείδωση (De Abreu et al., 2011).



Διάγραμμα 6.14 Επίδραση της βρώσιμης επικάλυψης με CMC και (A): του αιθανολικού εκχυλίσματος (Es), του αιθέριου ελαίου (EO) και του συνδυασμού αιθέριου ελαίου και αιθανολικού εκχυλίσματος (Es – EO) και (B): του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα (EAcs), του αιθέριου ελαίου (EO) και του συνδυασμού αιθέριου ελαίου και εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα (EAcs – EO) στην παραγωγή δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης των ιχθύων, στους 0 °C (μέσος όρος διπλών μετρήσεων ± τυπική απόκλιση).

Διαπιστώθηκε πως τα φιλέτα ιχθυηρών που επικαλύφθηκαν με μεμβράνες CMC εμπλουτισμένες με το αιθέριο έλαιο, το αιθανολικό εκχύλισμα και το συνδυασμό των δύο κλασμάτων είχαν την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση και διέφεραν σημαντικά από τις υπόλοιπες, χωρίς όμως στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Αποτελεσματική, με μικρότερη βέβαια δράση, φάνηκε και η απλή μεμβράνη CMC, ενώ η χρήση του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα και του συνδυασμού του με το αιθέριο έλαιο δεν ήταν ικανή να αυξήσει την αντιοξειδωτική ικανότητα του επικαλυπτικού διαλύματος.



Διάγραμμα 6.15 Δείκτης TOTOX του ελαίου από φιλέτα τσιπούρας μετά από 27 ημέρες αποθήκευσής τους στους 0 °C για δείγματα χωρίς επικάλυψη (Control), με επικάλυψη (Control-CMC), με επικάλυψη CMC και αιθανολικό εκχύλισμα (Es), εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα (EAcs), αιθέριο έλαιο (EO) καθώς και συνδυασμό αιθέριου ελαίου και αιθανολικού εκχυλίσματος (Es – EO) και αιθέριου ελαίου και εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα (EAcs – EO) από θρούμπι (μέσος όρος διπλών μετρήσεων σε διαφορετικά δείγματα ± τυπική απόκλιση).

Το Διάγραμμα 6.15 απεικονίζει την επίδραση διαφορετικών διαλυμάτων εδώδιμου επικαλυπτικού στην τιμή του δείκτη TOTOX του ελαίου από τα φιλέτα τσιπούρας μετά από 27 ημέρες αποθήκευσής του στους 0 °C. Η επίδραση των εκχυλισμάτων από θρούμπι στην επικάλυψη είναι εμφανής και τα δείγματα τσιπούρας επικαλυμμένα με το αιθανολικό εκχύλισμα του φυτού παρουσίασαν την καλύτερη προστασία έναντι της οξειδωσης. Η εφαρμογή ενός διαλύματος εδώδιμου επικαλυπτικού, εμπλουτισμένο με βιοενεργά συστατικά σε ένα τρόφιμο μπορεί να οδηγήσει σε μετανάστευση των συστατικών αυτών από την επικάλυψη στο τρόφιμο (Chi et al., 2006).

6.7 Αντιοξειδωτική δράση κλασμάτων του αρωματικού φυτού *Rosmarinus officinalis* κατά την ενσωμάτωσή τους σε εδώδιμες μεμβράνες για την επικάλυψη ιχθύων

Στόχος της επόμενης σειράς πειραμάτων της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν να εξετάσει τη ικανότητα των βρώσιμων επικαλύψεων εμπλουτισμένων με εκχυλίσματα δεντρολίβανου να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής φιλέτων καπνιστού χελιού κατά την αποθήκευσή τους υπό ψύξη. Η καρβοξυ-μεθυλο-κυτταρίνη (CMC) χρησιμοποιήθηκε για τη δημιουργία της βρώσιμης επικάλυψης, όπως και στην προηγούμενη σειρά πειραμάτων με τα εκχυλίσματα από θρούμπι. Καθώς η ενσωμάτωση του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι στο διάλυμα βρώσιμης επικάλυψης CMC δεν εμφάνισε αντιοξειδωτική δράση, για τις επόμενες δοκιμές οξειδωσης σε ιχθυρά επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί μόνο το αιθανολικό εκχύλισμα δεντρολίβανου. Το αιθανολικό εκχυλίσματα δεντρολίβανου που χρησιμοποιήθηκε, παρασκευάστηκε από τη φυτόμαζα που απομένει μετά τη διαδικασία παραλαβής του αιθέριου ελαίου με υδροατμοαπόσταξη και δοκιμάστηκε μόνο του σε διαφορετικές συγκεντρώσεις ή σε συνδυασμό με το αιθέριο έλαιο του φυτού. Το επίπεδο προσθήκης του αιθέριου ελαίου ήταν 0.2% (v/v) και των εκχυλισμάτων ήταν 200, 500 και 800 mg GAE / L διαλύματος επικαλυπτικού. Οι σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν ήταν: δείγματα χωρίς επικάλυψη (Control) και με επικάλυψη (CMC), δείγματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις του αιθανολικού εκχυλίσματος στο διάλυμα του εδώδιμου επικαλυπτικού (CMC + 200, CMC + 500, CMC

+ 800) και αιθέριου ελαίου (CMC + EO), αλλά και δείγματα με συνδυασμό αιθανολικού εκχυλίσματος σε συγκέντρωση 200 mg GAE/L και αιθέριου ελαίου (CMC + 200 + EO). Φιλέτα από καπνιστό χέλι εμβαπτίστηκαν στα διαλύματα εδώδιμου επικαλυπτικού, τοποθετήθηκαν σε τρυβλία petri και αποθηκεύτηκαν σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας 4 °C. Στο έλαιο των ιχθύων μετρήθηκαν τα πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης με τη μέθοδο του αριθμού υδροϋπεροξειδίων και των συζυγών διενίων και τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης με την μέθοδο του αριθμού της p-ανισιδίνης.

Η αύξηση των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης, υδροϋπεροξειδία και συζυγή διένια, παρουσιάζεται στα Διαγράμματα 6.16 A και B αντίστοιχα. Ο σχηματισμός πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης στα δείγματα ιχθύων χωρίς επικάλυψη ξεκίνησε από τις πρώτες ημέρες αποθήκευσής τους. Η επικάλυψη CMC χωρίς κάποιο αντιοξειδωτικό πρόσθετο δεν μείωσε το ρυθμό παραγωγής υδροϋπεροξειδίων και συζυγών διενίων και στα δείγματα αυτά παρατηρήθηκε παρόμοια τάση αύξησης των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης με εκείνα χωρίς την επικάλυψη CMC.

Αντίθετα, η αύξηση των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης των δειγμάτων που εμβαπτίστηκαν σε διαλύματα με οποιαδήποτε από τις τρεις συγκεντρώσεις του αιθανολικού εκχυλίσματος δεντρολίβανου ή με το αιθέριο έλαιό του παρέμεινε σχεδόν σταθερή κατά τις 20 πρώτες ημέρες αποθήκευσης και στη συνέχεια αυξήθηκε μέχρι το τέλος του πειράματος. Παρατηρήθηκε ότι αύξηση της συγκέντρωσης του αιθανολικού εκχυλίσματος είχε ως αποτέλεσμα μείωση της συσσώρευσης υδροϋπεροξειδίων και συζυγών διενίων, με την καλύτερη αντιοξειδωτική προστασία να προσφέρει η επικάλυψη με την υψηλότερη συγκέντρωση, 800 mg GAE / L διαλύματος επικαλυπτικού. Το ροσμαρινικό οξύ ήταν η ένωση με την μεγαλύτερη συγκέντρωση στο αιθανολικό εκχύλισμα του δεντρολίβανου που χρησιμοποιήθηκε για την επικάλυψη των ιχθύων (Πίνακας 6.5) και πιθανώς σχετίζεται με την υψηλή αντιοξειδωτική του δράση. Σύμφωνα με τους Drusch et al. (2008), η αποτελεσματική σταθεροποίηση ελαίων πλούσιων σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας μπορεί να επιτευχθεί με συνδυασμό ροσμαρινικού οξέος και τοκοφερολών. Καφεϊκό οξύ και άλλα μη αναγνωρισμένα φαινολικά οξέα ανιχνεύθηκαν επίσης στο αιθανολικό εκχύλισμα δεντρολίβανου. Αν και σε πολύ χαμηλότερη συγκέντρωση αναμένεται να συμβάλλουν στην αντιοξειδωτική

δράση του εκχυλίσματος (Leonardis & Macciola, 2003). Η καρνοσόλη και όλα τα υπόλοιπα φαινολικά διτερπρένια, καθώς και τα περισσότερα από τα φλαβονοειδή που ταυτοποιήθηκαν στο εκχύλισμα (Πίνακας 6.5) παρουσιάζουν αντιριζική και αντιοξειδωτική δράση και μπορεί επίσης να είναι υπεύθυνα για τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα που προσδιορίζεται στο εκχύλισμα αυτό (Moreno et al., 2006; Wojdyło et al., 2007; Zheng and Wang, 2001).

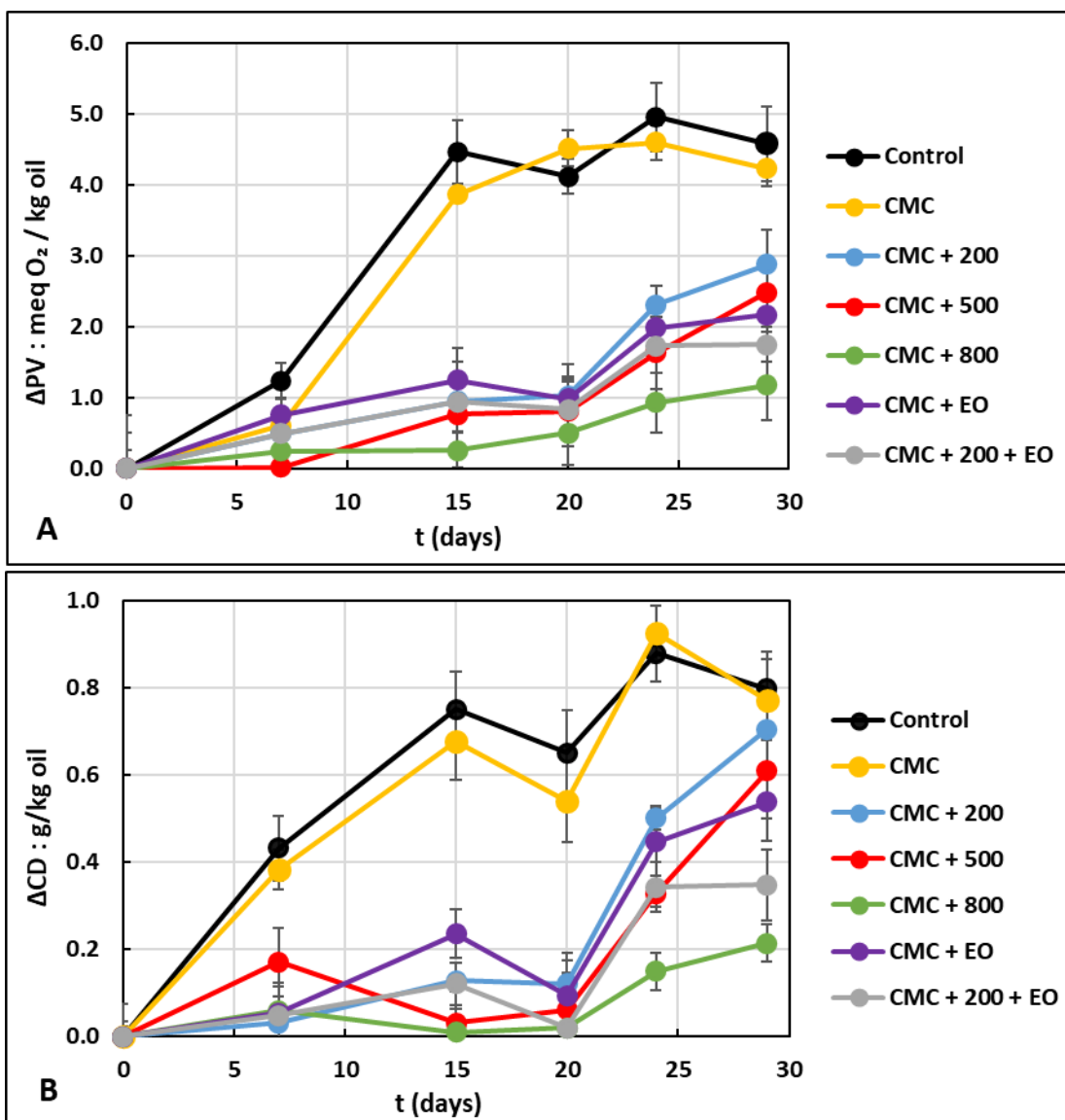
Η προσθήκη αιθέριου ελαίου από δεντρολίβανο σε διάλυμα εδώδιμου επικαλυπτικού CMC (CMC + EO), και ακόμη περισσότερο ο συνδυασμός του με το αιθανολικό εκχύλισμα (CMC + 200 + EO) ανέστειλε αποτελεσματικά το σχηματισμό πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης. Είναι επίσης ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι ο συνδυασμός του αιθέριου ελαίου από δεντρολίβανο και του αιθανολικού του εκχυλίσματος είχε ως αποτέλεσμα προσθετική ή/και συνεργιστική δράση, σε αντίθεση με ό,τι παρατηρείται με άλλα αρωματικά φυτά της οικογένειας Lamiaceae (Choulitoudi et al., 2016). Πρέπει να επισημανθεί ότι το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου έχει εντελώς διαφορετικό φαινολικό προφίλ σε σύγκριση με τα άλλα αρωματικά φυτά της οικογένειας Lamiaceae, όπως η ρίγανη (*Origanum vulgare*) και το θρούμπι (*Satureja thymbra*) που είναι πλούσια σε καρβακρόλη και θυμόλη, και τα οποία ενδέχεται να παρουσιάζουν ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις με άλλα φαινολικά συστατικά (Choulitoudi et al., 2016).

Τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης, όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της p-ανισιδίνης παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 6.17. Παρατηρείται αύξηση της συσσώρευσης δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης από τις πρώτες ημέρες αποθήκευσης για τα δείγματα ιχθύων χωρίς επικάλυψη και για τα δείγματα με επικάλυψη CMC χωρίς πρόσθετο. Ο εμπλουτισμός των διαλυμάτων εδώδιμου επικαλυπτικού CMC με οποιαδήποτε συγκέντρωση αιθανολικού εκχυλίσματος από δεντρολίβανο κράτησε σε σταθερά χαμηλές τιμές τον αριθμό της p-ανισιδίνης και μόνο η χαμηλότερη συγκέντρωση αυτού, CMC + 200 mg GAE / L παρουσίασε σταδιακή αύξηση. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι τόσο η προσθήκη του αιθέριου ελαίου όσο και ο συνδυασμός της προσθήκης του αιθέριου ελαίου με το αιθανολικό εκχύλισμα προστάτευσε τα καπνιστά ιχθυηρά έναντι της δημιουργίας δευτερογενών προϊόντων

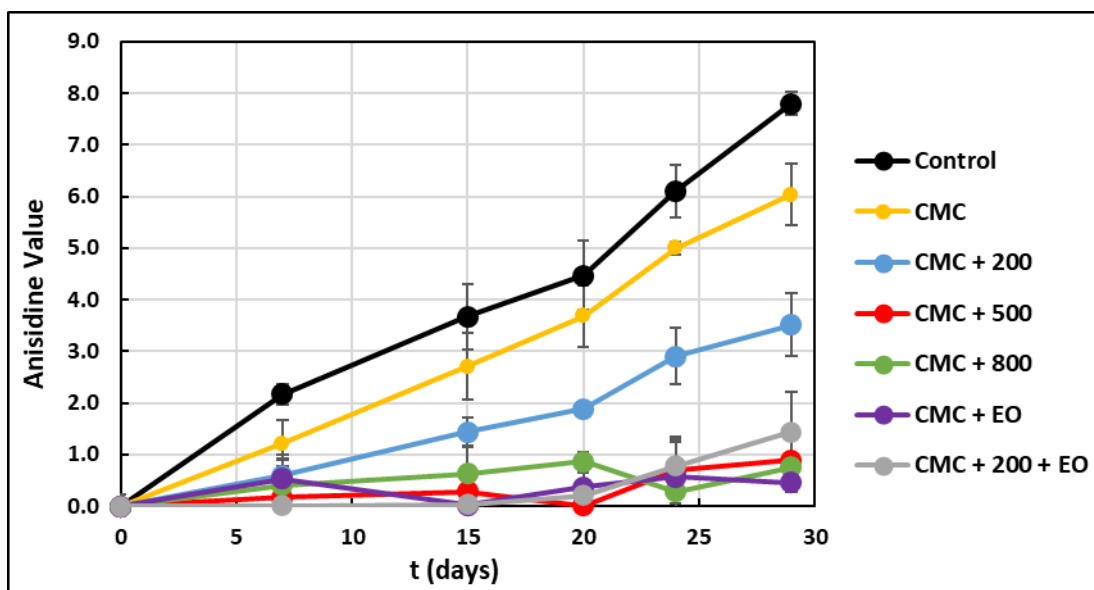
οξειδωσης σε μεγαλύτερο βαθμό από την προσθήκη μόνο του αιθανολικού εκχυλίσματος στην χαμηλότερη συγκέντρωση.

Τα αποτελέσματα τόσο των πρωτογενών (εκφρασμένα ως ΔΡV, ΔCD) όσο και των δευτερογενών προϊόντων οξειδωσης (εκφρασμένα ως Δp-AV) μετά από 24 ημέρες αποθήκευσης παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.17. Τα δείγματα ιχθύων χωρίς επικάλυψη αλλά και τα δείγματα με επικάλυψη αλλά χωρίς πρόσθετο παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους όσον αφορά τις τιμές των δευτερογενών προϊόντων οξειδωσης (Δp-AV), αλλά όχι μεταξύ των πρωτογενών προϊόντων (ΔCD και ΔΡV), όπως επίσης παρατηρείται στο Διάγραμμα 6.16 Α και Β. Όλα τα επικαλυμμένα δείγματα με διαφορετική συγκέντρωση αιθανολικού εκχυλίσματος από δεντρολίβανο παρουσίασαν σημαντική μείωση των δεικτών οξειδωσης του ιχθυέλαιου. Όσο υψηλότερη ήταν η συγκέντρωση του αιθανολικού εκχυλίσματος, τόσο βραδύτερος και ο σχηματισμός πρωτογενών και δευτερογενών προϊόντων οξειδωσης, με στατιστικά σημαντικές διαφορές να παρατηρούνται και για τους τρεις δείκτες οξειδωσης των δειγμάτων CMC + 800, σε σύγκριση με τα δείγματα CMC + 200. Είναι επίσης ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι τα δείγματα επικαλυμμένα με CMC + ΕΟ μείωσαν σημαντικά τον σχηματισμό δευτερογενών προϊόντων οξειδωσης και ότι τα δείγματα CMC + 200 + ΕΟ παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές από τα δείγματα CMC + 200, αν και αυτή η μείωση δεν ήταν για όλους τους δείκτες οξειδωσης στατιστικά σημαντική (ΔΡV).

Στην περίπτωση των καπνιστών ιχθυηρών, τα φυτικά εκχυλίσματα που προστίθενται σε βρώσιμη επικάλυψη μπορεί επίσης να προσδώσουν ευχάριστη γεύση στα καπνιστά ιχθυηρά, και συνεπώς να επηρεάσουν θετικά τον καταναλωτή (Li et al., 2012). Η εφαρμογή βρώσιμων επικαλύψεων εμπλουτισμένων με φυτικά εκχυλίσματα σε καπνιστά ιχθυηρά περιορίζεται στη μελέτη των Gómez-Estaca et al. (2007), οι οποίοι χρησιμοποίησαν υδατικά εκχυλίσματα ρίγανης και δεντρολίβανου και τα ενσωμάτωσαν σε βρώσιμα φιλμ. Διαπίστωσαν ότι τα φιλμ επιβράδυναν την οξειδωση των λιπαρών καπνιστής σαρδέλας, αλλά απέτυχαν να επιβραδύνουν τη μικροβιακή υποβάθμιση του προϊόντος.



Διάγραμμα 6.16 Επίδραση της επικάλυψης CMC χωρίς πρόσθετο (CMC), CMC με εκχύλισμα αιθανόλης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις 200, 500 και 800 mg GAE/L διαλύματος επικαλυπτικού (CMC + 200, CMC + 500, CMC + 800), CMC με αιθέριο έλαιο (CMC + EO) και CMC με συνδυασμό του εκχυλίσματος αιθανόλης σε συγκέντρωση 200 mg GAE/L διαλύματος επικαλυπτικού και αιθέριου ελαίου (CMC + 200 + EO) στην αύξηση (A) του αριθμού υδροϋπεροξειδίων και (B) συζυγών διενίων του ελαίου των ιχθύων στους 4 °C (μέσος όρος διπλών μετρήσεων σε διαφορετικά δείγματα ± τυπική απόκλιση).



Διάγραμμα 6.17 Επίδραση της επικάλυψης CMC χωρίς πρόσθετο (CMC), CMC με εκχύλισμα αιθανόλης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις 200, 500 και 800 mg GAE/L διαλύματος επικαλυπτικού (CMC + 200, CMC + 500, CMC + 800), CMC με αιθέριο έλαιο (CMC + EO) και CMC με συνδυασμό του εκχυλίσματος αιθανόλης σε συγκέντρωση 200 mg GAE/L διαλύματος επικαλυπτικού και αιθέριου ελαίου (CMC + 200 + EO) στην αύξηση του αριθμού p-ανισιδίνης του ελαίου των ιχθύων στους 4 °C (μέσος όρος διπλών μετρήσεων σε διαφορετικά δείγματα ± τυπική απόκλιση).

Το δεντρολίβανο (*Rosmarinus officinalis*) είναι ένα από τα πιο κοινά αρωματικά βότανα που είναι αυτοφυές αλλά επίσης καλλιεργείται, ενώ οι αντιοξειδωτικές του ιδιότητες είναι αναγνωρισμένες από την ΕΕ, καθώς αποτελεί ένα εγκεκριμένο φυσικό αντιοξειδωτικό τροφίμων (Moreno et al., 2006; Dorman et al., 2003). Εκχυλίσματα δεντρολίβανου έχουν εφαρμοστεί απευθείας στη σάρκα ιχθυηρών, κατά την αποθήκευσή τους υπό ψύξη ή κατάψυξη, και στις περισσότερες περιπτώσεις εμφάνισαν αντιοξειδωτική δράση. Οι Giménez et al. (2004, 2005) χρησιμοποίησαν ένα εμπορικά διαθέσιμο υγρό εκχύλισμα δεντρολίβανου για να συντηρήσουν κατεψυγμένα φιλέτα τσιπούρας (*Sparus aurata*) και σολομού (*Salmo salar*) και διαπίστωσαν ότι η οξείδωση

των λιπαρών τους επιβραδύνθηκε. Οι Serdaroglu and Felekoglu (2005) και οι Vareltsis et al. (1997) ανέφεραν επίσης καθυστέρηση της οξείδωσης των λιπαρών κατεψυγμένης σαρδέλας και σκουμπριού, όταν εκχύλισμα δεντρολίβανου του εμπορίου χρησιμοποιήθηκε ως συντηρητικό.

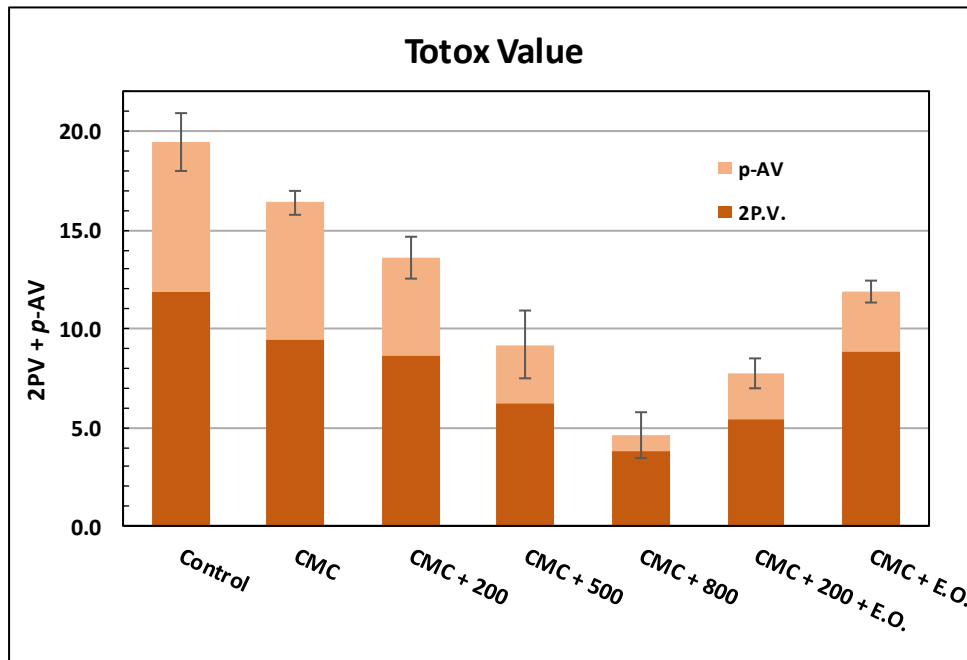
Πίνακας 6.17 Αύξηση των πρωτογενών και δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης του ελαίου από φιλέτα καπνιστού χελιού, μετά από αποθήκευσή τους για 24 ημέρες στους 4 °C. CMC: Επικάλυψη καρβοξυ-μεθυλο-κυτταρίνης, CMC + 200, CMC + 500, CMC + 800: εκχύλισμα αιθανόλης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις 200, 500 και 800 mg/L διαλύματος CMC, CMC + EO: αιθέριο έλαιο 0.2% (v/v) σε διάλυμα CMC, CMC + 200 + EO: συνδυασμός αιθανολικού εκχυλίσματος 200 mg/L και αιθέριου ελαίου σε διάλυμα CMC.

Επικάλυψη	ΔPV	ΔCD	Δp-AV
Control	4.955 ± 0.397 ^a	0.878 ± 0.064 ^a	6.102 ± 0.512 ^a
CMC	4.694 ± 0.146 ^a	0.924 ± 0.063 ^a	4.999 ± 0.147 ^b
CMC + 200	2.307 ± 0.244 ^{bc}	0.501 ± 0.027 ^b	2.907 ± 0.535 ^c
CMC + 500	1.618 ± 0.554 ^{cd}	0.327 ± 0.031 ^c	0.839 ± 0.329 ^d
CMC + 800	0.927 ± 0.473 ^d	0.149 ± 0.042 ^d	0.290 ± 0.197 ^d
CMC + EO	1.979 ± 0.061 ^c	0.447 ± 0.077 ^{bc}	0.568 ± 0.220 ^d
CMC + 200 + EO	1.732 ± 0.373 ^{cd}	0.342 ± 0.057 ^c	0.730 ± 0.284 ^d

a > b > c > d

Το Διάγραμμα 6.18 απεικονίζει την επίδραση διαφορετικών διαλυμάτων εδάδιμου επικαλυπτικού στην τιμή του δείκτη TOTOX του ελαίου από καπνιστό φιλέτο χελιού μετά από 24 ημέρες αποθήκευσής του στους 4 °C. Η επίδραση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος δεντρολίβανου στην επικάλυψη είναι εμφανής και τα δείγματα καπνιστού χελιού επικαλυμμένα με CMC + 800 παρουσίασαν την καλύτερη προστασία έναντι της οξείδωσης. Η εφαρμογή ενός διαλύματος εδάδιμου επικαλυπτικού, εμπλουτισμένο με

βιοενεργά συστατικά σε ένα τρόφιμο μπορεί να οδηγήσει σε μετανάστευση των συστατικών αυτών από την επικάλυψη στο τρόφιμο (Chi et al., 2006) και κατά συνέπεια οι επικαλύψεις με υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά έχουν ως αποτέλεσμα υψηλότερα επίπεδα αυτών των ουσιών να μεταναστεύουν στην σάρκα του τροφίμου παρέχοντας του υψηλότερη αντιοξειδωτική προστασία.



Διάγραμμα 6.18 Δείκτης TOTOX του ελαίου από καπνιστό χέλι μετά από 24 ημέρες αποθήκευσής του στους 4 °C με επικάλυψη με διάλυμα CMC (CMC), επικάλυψη με εκχύλισμα αιθανόλης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις 200, 500 και 800 mg/L διαλύματος CMC (CMC + 200, CMC + 500, CMC + 800), αιθέριο έλαιο συγκέντρωσης 0.2% (v/v) σε διάλυμα CMC (CMC + EO) και συνδυασμός εκχυλίσματος αιθανόλης και αιθέριου ελαίου σε διάλυμα CMC (CMC + 200 + EO) (μέσος όρος διπλών μετρήσεων σε διαφορετικά δείγματα ± τυπική απόκλιση).

6.8 Επίδραση της ενεργού συσκευασίας με εκχυλίσματα του αρωματικού φυτού *Satureja thymbra* στην οξειδωτική σταθερότητα chips πατάτας

Σε συνέχεια των πειραμάτων της παρούσας διδακτορικής διατριβής, μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα της ενεργού συσκευασίας με φυσικά αντιοξειδωτικά από θρούμπι στην οξειδωτική υποβάθμιση τηγανισμένων chips πατάτας. Τα chips πατάτας είναι ένα δημοφιλές σνακ που καταναλώνεται σε πολλές χώρες. Η διάρκεια ζωής του προϊόντος ανέρχεται σε λίγες εβδομάδες ή μήνες, ενώ κύρια αιτία της αλλοίωσής του αποτελεί η οξείδωση των λιπαρών του που απορροφώνται κατά το τηγάνισμα. Επιπλέον έγινε σύγκριση της ενεργού συσκευασίας με άλλους τρόπους προσθήκης των φυσικών αντιοξειδωτικών. Το έλαιο του τηγανίσματος ήταν το φοινικέλαιο. Χρησιμοποιήθηκε τόσο το εκχύλισμα αιθανόλης όσο και του οξικού αιθυλεστέρα του βοτάνου, καθώς τα εκχυλίσματα αυτά αποδείχθηκαν αποτελεσματικά ως αντιοξειδωτικά πρόσθετα στα προηγούμενα πειράματα. Επίσης, μελετήθηκε η μετανάστευση των φυσικών αντιοξειδωτικών από το υλικό συσκευασίας στο προϊόν.

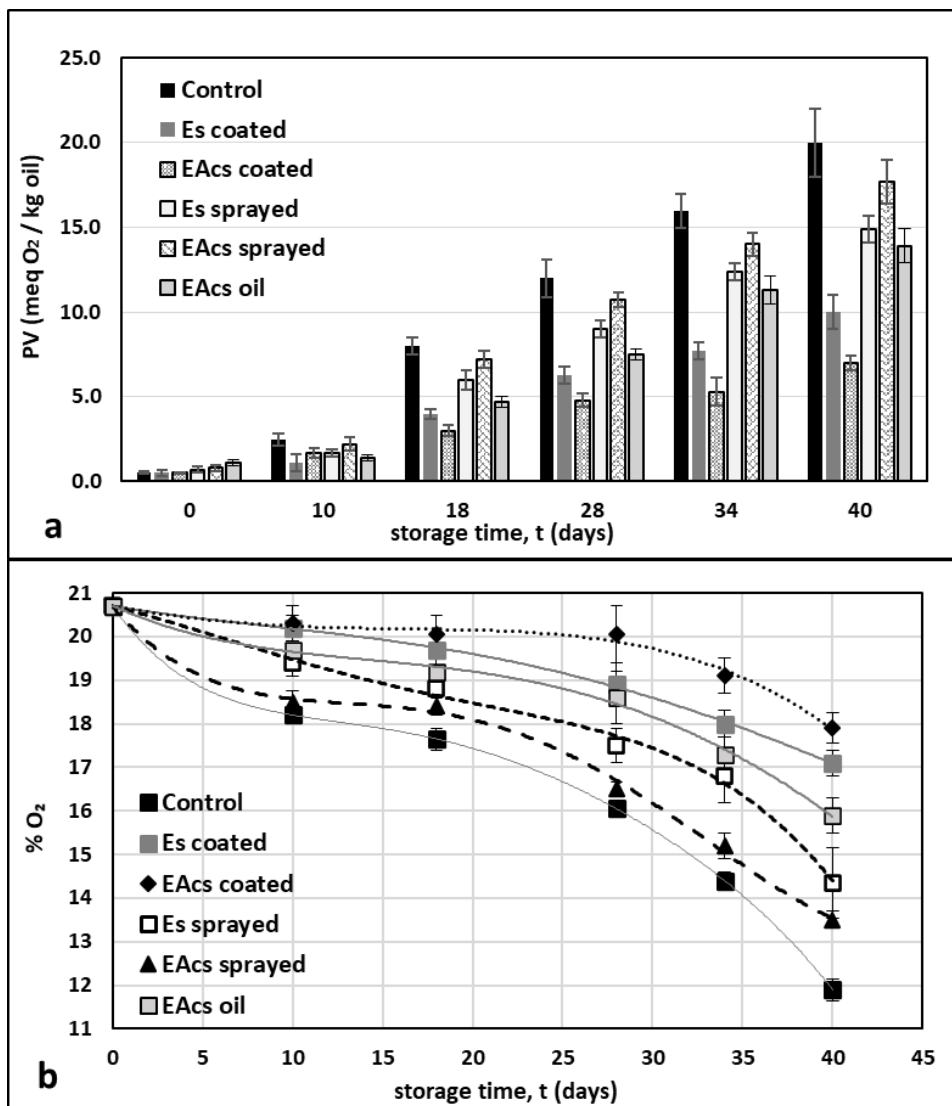
Πραγματοποιήθηκαν δύο σειρές πειραμάτων: στην πρώτη σειρά, δοκιμάστηκαν διάφοροι τρόποι προσθήκης των εκχυλισμάτων ως εξής: α) Προσθήκη του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα στο έλαιο του τηγανίσματος σε συγκέντρωση 500 mg GAE/kg ελαίου πριν από την έναρξη του τηγανίσματος (EAcS oil). Το αιθανολικό εκχύλισμα δεν δοκιμάστηκε ως πρόσθετο στο έλαιο του τηγανίσματος καθώς κατά την ενσωμάτωσή του στο έλαιο δεν προέκυψε διαυγές διάλυμα λόγω των πολικών συστατικών που περιέχει τα οποία δεν είναι πλήρως αναμίξιμα με το λάδι. β) Τα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης ψεκάστηκαν στην επιφάνεια των chips πατάτας (EAcS sprayed και Es sprayed, αντίστοιχα) σε συγκέντρωση 100 mg GAE/kg ελαίου που απορροφήθηκε από τα σνακ κατά το τηγάνισμα. γ) Τα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα και αιθανόλης επικαλύφθηκαν ομοιόμορφα στο πολυστρωματικό υλικό συσκευασίας. Η ποσότητα του εκχυλίσματος που επιστρώθηκε ρυθμίστηκε έτσι ώστε να ληφθεί συγκέντρωση 200 mg GAE/m² για το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα (EAcS coated) και 400 mg GAE/m² για το αιθανολικό εκχύλισμα (Es coated). δ) Μία επιπλέον σειρά δειγμάτων προς μελέτη ήταν chips χωρίς καμία από τις παραπάνω κατεργασίες, ως σειρά ελέγχου (Control) χωρίς την προσθήκη οποιουδήποτε εκχυλίσματος.

Στη δεύτερη σειρά πειραμάτων τα εκχυλίσματα δοκιμάστηκαν περαιτέρω ως επικαλύψεις του υλικού συσκευασίας σε διάφορες συγκεντρώσεις. Πραγματοποιήθηκαν 7 σειρές δειγμάτων: Δείγματα χωρίς επικάλυψη (Control), δείγματα με επικάλυψη του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα στο υλικό συσκευασίας σε συγκέντρωση 100, 200 και 300 mg GAE/m² (EAcs-100, EAcs-200, EAcs-300, αντίστοιχα) και δείγματα με επικάλυψη του αιθανολικού εκχυλίσματος στο υλικό συσκευασίας σε συγκέντρωση 100, 200 και 300 mg GAE/m² (Es-100, Es-200, Es-300, αντίστοιχα).

Τα συσκευασμένα δείγματα τόσο της πρώτης σειράς πειραμάτων, όσο και της δεύτερης, αποθηκεύτηκαν σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης στους 70 °C. Από κάθε δειγματοληψία λαμβανόταν το έλαιο των τηγανισμένων chips πατάτας προκειμένου να προσδιοριστούν τα πρωτογενή και δευτερογενή προϊόντα οξείδωσής του.

6.8.1. Σύγκριση της αποτελεσματικότητας των εκχυλισμάτων κατά την χρήση τους με διαφορετικούς τρόπους για την αντιοξειδωτική προστασία chips πατάτας

Η πορεία της οξείδωσης των chips παρακολούθηθηκε με ποσοτικοποίηση των υδροϋπεροξειδίων στο έλαιο που απορροφήθηκε κατά τη διεργασία του τηγανίσματος, ενώ μετρήθηκε και η μείωση του O₂ στις συσκευασίες κατά την αποθήκευση. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 6.19 a και b.



Διάγραμμα 6.19 Επίδραση της εφαρμογής των εκχυλισμάτων αιθανόλης (Es) και οξικού αιθυλεστέρα (EACs) από θρούμπι στο έλαιο του τηγανίσματος (EACs oil), σε chips πατάτας με τη διεργασία του ψεκασμού (EACs sprayed, Es sprayed) και ως επιστρώσεις στο υλικό συσκευασίας (EACs coated, Es coated) (α): στην επιβράδυνση του ρυθμού παραγωγής υδροϋπεροξειδίων και (β): μείωση του O₂ στη συσκευασία κατά την αποθήκευση του προϊόντος στους 70 °C (μέσος όρος διπλών δειγμάτων με δύο ± τυπική απόκλιση).

Η ποσότητα του ελαίου που απορρόφησαν τα chips ήταν 0.35 ± 0.02 g/g. Όλες οι διεργασίες προσθήκης των εκχυλισμάτων προστατεύσαν το προϊόν από την οξείδωση, με σημαντικές διαφορές μεταξύ τους να παρατηρούνται μετά από 18 ημέρες αποθήκευσης. Η επικάλυψη των αντιοξειδωτικών στο υλικό συσκευασίας είχε ως αποτέλεσμα την βραδύτερη αύξηση των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης και επομένως την υψηλότερη προστασία του προϊόντος. Η προσθήκη των εκχυλισμάτων απευθείας στην επιφάνεια των τηγανισμένων chips και στο έλαιο του τηγανίσματος μείωσαν τον ρυθμό αύξησης των υδροϋπεροξειδίων σε σύγκριση με τα δείγματα χωρίς κάποιο πρόσθετο. Το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα που προστέθηκε στο έλαιο του τηγανίσματος, παρουσίασε αντιοξειδωτική δράση καλύτερη από το ίδιο εκχύλισμα όταν αυτό ψεκάστηκε στην επιφάνεια του τροφίμου, αλλά παραπλήσια με το εκχύλισμα αιθανόλης που ενσωματώθηκε στο προϊόν με τη διεργασία του ψεκασμού.

Η παρακολούθηση της πορείας οξείδωσης των λιπαρών από chips πατάτας ή άλλων τηγανισμένων σνακ, κατά το τηγάνισμα και την αποθήκευση αυτών των προϊόντων μέσω της προσθήκης φυσικών αντιοξειδωτικών έχει μελετηθεί αρκετά από αρκετούς ερευνητές. Οι Lalas και Dourtoglou (2003) και Houhoula et al. (2003) παρατήρησαν ότι η προσθήκη δεντρολίβανου και ρίγανης αντίστοιχα στο τηγανισμένο έλαιο είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της περιόδου επώασης και τη μείωση του ρυθμού οξείδωσης του ελαίου που απορροφήθηκε από τηγανισμένα σνακ. Οι Lolos et al. (1999) πρόσθεσαν εκχυλίσματα ρίγανης σε τηγανητά chips πατάτας αντί για το έλαιο του τηγανίσματος και παρατήρησαν ότι κατά την αποθήκευσή τους σε συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης (63 °C), η προστασία που παρέχεται από το φυσικό αντιοξειδωτικό είναι συγκρίσιμη με εκείνη της τριτοταγούς βουτυλικής υδροκινόνης (TBHQ) μέχρι την 7η ημέρα αποθήκευσης, αλλά κατώτερη αυτής στο τέλος του πειράματος. Αξιοσημείωτο είναι ότι οι Jaswir et al. (2000) παρατήρησαν ότι τα φυσικά αντιοξειδωτικά από δεντρολίβανο, φασκόμηλο και κιτρικό οξύ βελτίωσαν τη γεύση, το άρωμα και τη συνολική αρέσκεια των chips πατάτας, εκτός από την αντιοξειδωτική προστασία που προσέφεραν στο έλαιο του τηγανίσματος.

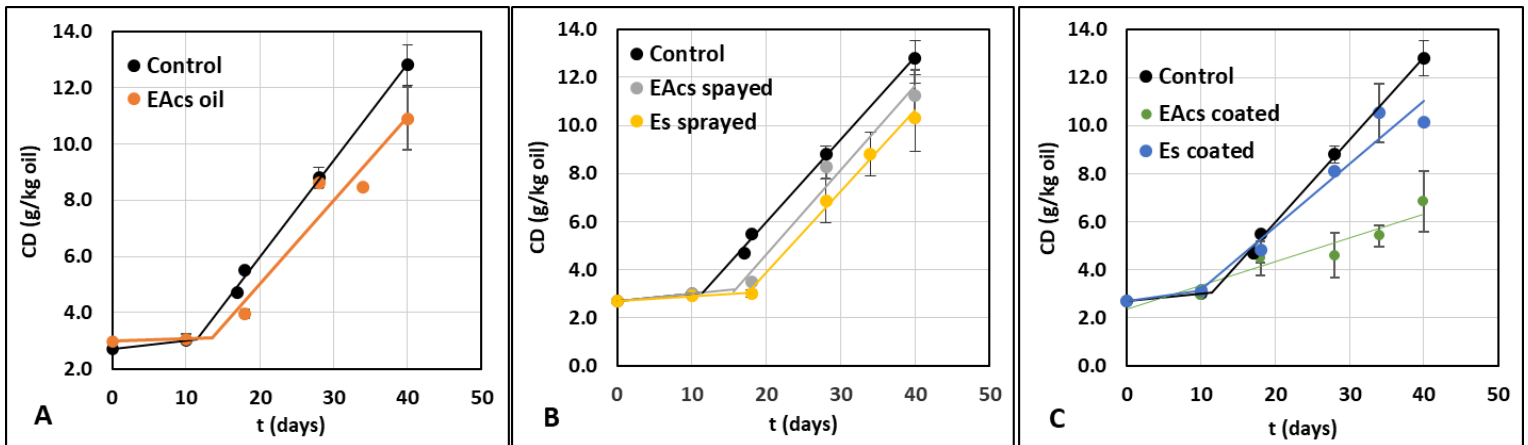
Συγκρίνοντας την αποτελεσματικότητα των δύο εκχυλισμάτων αιθανόλης και οξικού αιθυλεστέρα που ενσωματώθηκαν στο προϊόν με τη διεργασία του ψεκασμού στην ίδια

συγκέντρωση (100 mg GAE/kg ελαίου των chips), το αιθανολικό εκχύλισμα παρουσίασε καλύτερη προστασία έναντι της οξείδωσης του προϊόντος. Ωστόσο, το αιθανολικό εκχύλισμα που ενσωματώθηκε ως επίστρωση στο υλικό συσκευασίας σε συγκέντρωση 400 mg GAE/m² παρουσίασε χαμηλότερη αντιοξειδωτική προστασία από το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα σε συγκέντρωση με 200 mg GAE/m². Το αιθανολικό εκχύλισμα εφαρμόστηκε ως επίστρωση σε υψηλότερη συγκέντρωση από το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα επειδή περιέχει φαινόλες υψηλότερης πολικότητας και μοριακού βάρους, όπως φαινολικά οξέα και γλυκοζίτες φλαβονοειδών (Πίνακας 6.6), που αναμενόταν να διαχέονται πιο δύσκολα στην επιφάνεια των chips, ώστε να προστατεύσουν το λάδι. Ωστόσο, τα αποτελέσματα υποδηλώνουν προοξειδωτική δράση του αιθανολικού εκχυλίσματος σε συγκέντρωση των 400 mg GAE/m². Έχει παρατηρηθεί ότι τα φυσικά αντιοξειδωτικά μπορεί να δράσουν προοξειδωτικά σε υψηλές συγκεντρώσεις (Rietjens et al., 2002). Οι Yordi et al. (2012) δημοσίευσαν μια λίστα με δεκατέσσερα φαινολικά οξέα, που θεωρούνται αντιοξειδωτικά αλλά υπό ορισμένες συνθήκες συμπεριφέρονται ως προοξειδωτικά.

Η συγκέντρωση του O₂ της συσκευασίας, λόγω συμμετοχής του σε φαινόμενα οξείδωσης, είχε παρόμοια εικόνα με την αύξηση των υδροϋπεροξειδίων, όπως παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 6.19 b, επαληθεύοντας τα παραπάνω παρατηρούμενα αποτελέσματα. Στο Διάγραμμα 6.20 A, B και C παρουσιάζονται οι ρυθμοί αύξησης των συζυγών διενίων για όλες τις σειρές δειγμάτων που εξετάστηκαν. Παρατηρείται παρόμοια εικόνα με την αύξηση των υδροϋπεροξειδίων.

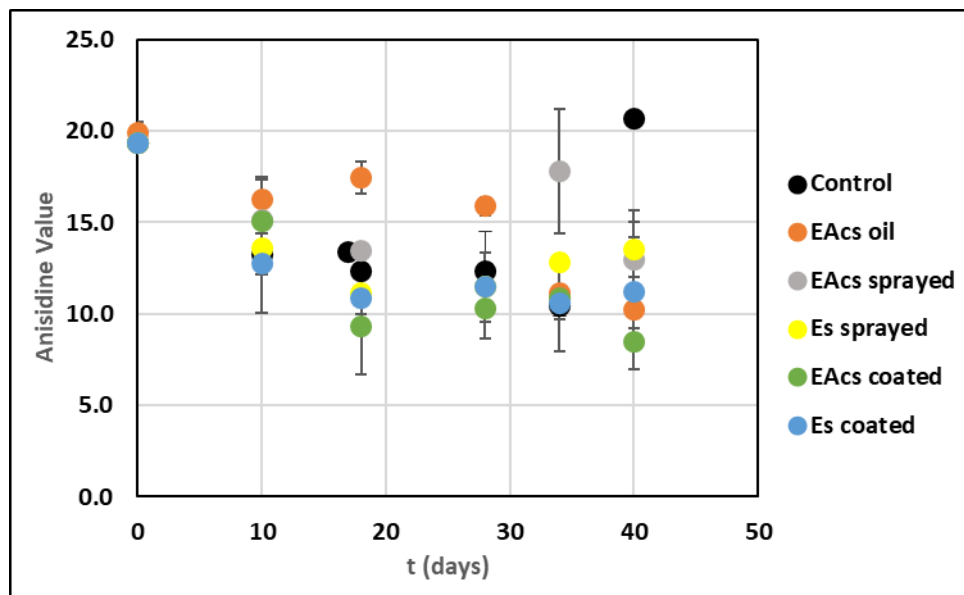
Στο Διάγραμμα 6.21 παρουσιάζεται η αύξηση των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης, όπως προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της p-ανισιδίνης, για όλες τις σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν, κατά την αποθήκευσή τους στους 70 °C. Σε όλες τις περιπτώσεις διαπιστώθηκε αρχικά μείωση των δευτερογενών προϊόντων και μετά το πέρας των πρώτων 10 ημερών παρατηρήθηκε σταθεροποίηση του δείκτη της p-ανισιδίνης. Για τις διεργασίες κατά τις οποίες προστέθηκαν εκχυλίσματα στην επιφάνεια και στο υλικό συσκευασίας των chips φαίνεται ότι η περιεκτικότητα σε δευτερογενή προϊόντα είναι αντίστοιχη με εκείνη των δειγμάτων αναφοράς. Μάλιστα, ο αριθμός της p-ανισιδίνης των εμπλουτισμένων αυτών σειρών, ξεκινώντας από την τιμή 19.3

σταθεροποιείται, μετά τη 10η ημέρα αποθήκευσής τους, σε ένα εύρος τιμών 9.3-18.3. Έχει αναφερθεί πως παρόλο που οι αλδεϋδες είναι δευτερογενή πτητικά προϊόντα οξείδωσης του ελαίου, ένα μέρος αυτών παραμένει στο έλαιο τηγανίσματος (Houhoula et al., 2003). Επίσης, ο αριθμός δευτερογενών προϊόντων του φοινικέλαιου έχει παρατηρηθεί πως αυξάνεται σημαντικά κατά το τηγάνισμα και εμφανίζει μεγάλη άνοδο κατά τις πρώτες τηγανιές. Οι Che Man et al. (1999) χρησιμοποιώντας παλμολεΐνη για τηγάνισμα πατατών στους 180 °C, παρατήρησαν αύξηση της p-ανισιδίνης από την αρχική τιμή 0.68 σε 12.04 έπειτα από 10 τηγανιές και σε 17.06 μετά το πέρας 20 τηγανιών.



Διάγραμμα 6.20 Επίδραση της εφαρμογής (A): του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι στο έλαιο του τηγανίσματος (EAcs oil), (B): των εκχυλισμάτων αιθανόλης και οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι με τη διεργασία του ψεκασμού στην επιφάνεια τηγανισμένων chips πατάτας (Es sprayed και EAcs sprayed) και (C): των εκχυλισμάτων αιθανόλης και οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι ως επίστρωση στο υλικό συσκευασίας για την αποθήκευση του προϊόντος (Es coated και EAcs coated), στην επιβράδυνση του ρυθμού παραγωγής συζυγών διενίων κατά την αποθήκευση του προϊόντος στους 70 °C (μέσος όρος διπλών δειγμάτων με δύο ± τυπική απόκλιση).

Η καθοδική πορεία της τιμής της p-ανισιδίνης στις αρχικές δειγματοληψίες των chips οφείλεται στη διάσπαση των δευτερογενών προϊόντων που παρήχθησαν στο έλαιο εντός της φριτέζας, κατά τη διαδικασία του τηγανίσματος και διαχύθηκαν στα chips. Οι Che Man et al. (1999) βέβαια αναφέρουν πως η μέθοδος της p-ανισιδίνης πιθανόν να μην είναι κατάλληλη μέθοδος για την αξιολόγηση της ποιότητας του ελαίου τηγανίσματος, καθώς οι αλλαγές των τιμών της δεν φαίνεται να είναι ανάλογες της υποβάθμισης της ποιότητας του ελαίου.



Διάγραμμα 6.21 Επίδραση της εφαρμογής του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι στο έλαιο του τηγανίσματος (EAcs oil), των εκχυλισμάτων αιθανόλης και οξικού αιθυλεστέρα με τη διεργασία του ψεκασμού στην επιφάνεια τηγανισμένων chips πατάτας (Es sprayed και EAcs sprayed) και των ίδιων εκχυλισμάτων ως επίστρωση στο υλικό συσκευασίας του προϊόντος (Es coated και EAcs coated), στην παραγωγή δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης κατά την αποθήκευση του προϊόντος στους 70 °C (μέσος όρος διπλών δειγμάτων με δύο ± τυπική απόκλιση).

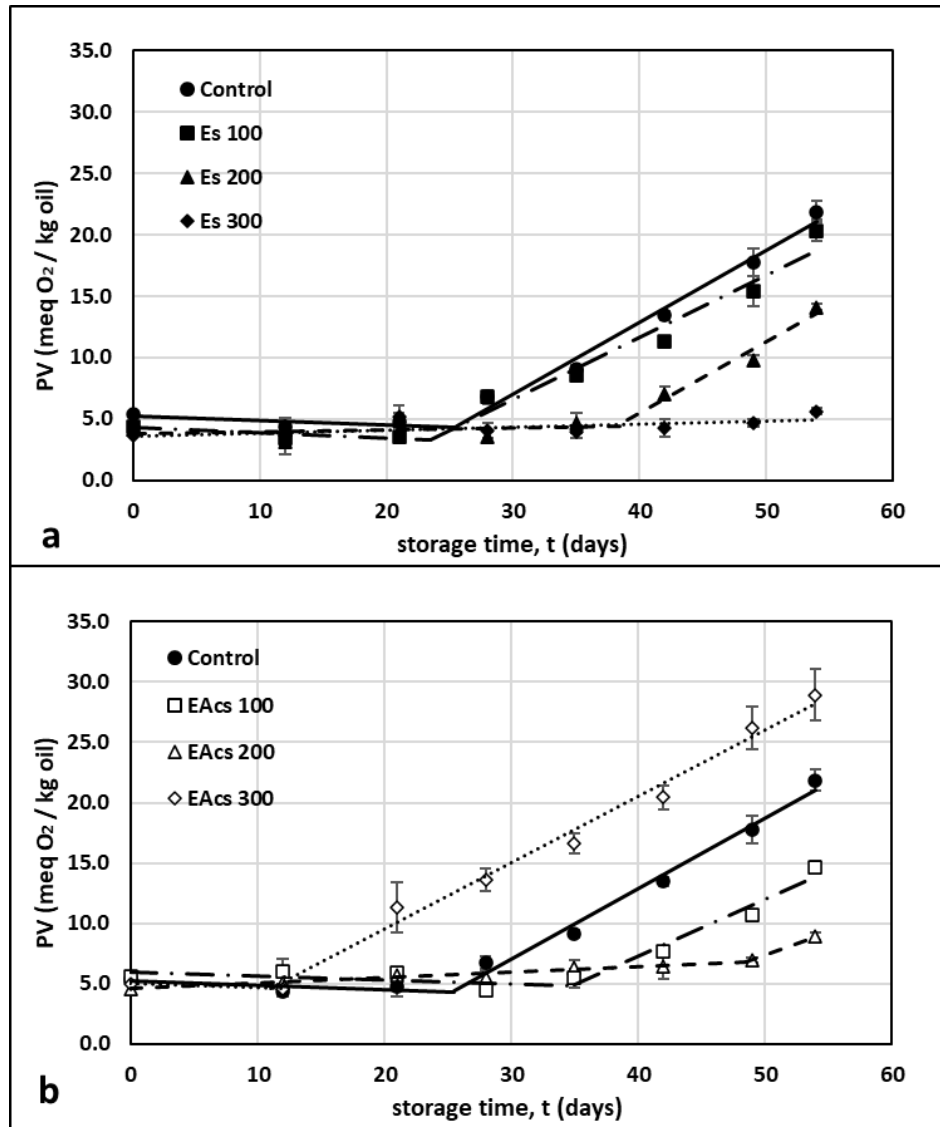
Παρόμοια αύξηση δευτερογενών προϊόντων εμφανίζουν τα chips, τα οποία τηγανίστηκαν σε φοινικέλαιο εμπλουτισμένο με το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα του φυτού. Ωστόσο, όπως φαίνεται και στο Διάγραμμα 6.21, οι τιμές της p-ανισιδίνης τους είναι ελαφρώς αυξημένες σε σχέση με όλες τις σειρές δειγμάτων που εξετάστηκαν, με αρχική τιμή 19.9 και έπειτα μείωσή τους μεταξύ των τιμών 17.4 και 11.1. Το αποτέλεσμα αυτό οφείλεται στην καταπόνηση του ελαίου κατά το τηγάνισμα των chips, που προηγήθηκε της διαδικασίας τηγανίσματος με το εμπλουτισμένο φοινικέλαιο. Υπενθυμίζεται από την πειραματική διαδικασία ότι για την παρασκευή της σειράς δειγμάτων που τηγανίστηκαν σε έλαιο που περιείχε αντιοξειδωτικό πραγματοποιήθηκε ανάμειξη του εμπλουτισμένου ελαίου με τη μισή ποσότητα του καθαρού φοινικέλαιου, που είχε ήδη χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή των υπολοίπων σειρών δειγμάτων. Έτσι, το έλαιο τηγανίσματος της σειράς αυτής εμφάνισε υψηλότερες τιμές p-ανισιδίνης, γεγονός που εξηγεί και τις μεγαλύτερες τιμές δευτερογενών προϊόντων στα chips που τηγανίστηκαν σε αυτό το έλαιο.

Τα αποτελέσματα της προσθήκης φυσικών εκχυλισμάτων από το αρωματικό φυτό *S. thymbra* με διαφορετικούς τρόπους για την αντιοξειδωτική προστασία τηγανισμένων chips πατάτας έδειξαν ότι η επικάλυψη του υλικού συσκευασίας ή διαφορετικά η χρήση τους σε ενεργή συσκευασία, ήταν η πιο υποσχόμενη διεργασία. Ως εκ τούτου, στη δεύτερη σειρά πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε η ενεργός συσκευασία με στόχο να βρούμε τις πιο αποτελεσματικές συγκεντρώσεις του κάθε εκχυλίσματος για την παράταση της διάρκειας ζωής του προϊόντος.

6.8.2. Επίδραση της ενεργούς συσκευασίας με διαφορετικές συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων στη οξειδωτική σταθερότητα chips πατάτας

Στη δεύτερη σειρά πειραμάτων, πραγματοποιήθηκε μελέτη της οξείδωσης των chips πατάτας με ποσοτικοποίηση τόσο των πρωτογενών όσο και των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης του ελαίου που απορρόφησε το προϊόν κατά το τηγάνισμα, ενώ μετρήθηκε και η μείωση του O₂ στις συσκευασίες κατά την αποθήκευσή του. Η παραγωγή υδροϋπεροξειδίων των δειγμάτων παρουσιάζεται στα Διαγράμματα 6.22 a και b. Οι

πειραματικές μετρήσεις επεκτάθηκαν έως και 55 ημέρες, έτσι ώστε να εκτιμηθούν καλύτερα οι διαφορές μεταξύ των διαφορετικών συγκεντρώσεων των εκχυλισμάτων.



Διάγραμμα 6.22 Επίδραση της επικάλυψης του υλικού συσκευασίας με εκχυλίσματα από θρούμπι στο ρυθμό παραγωγής υδροϋπεροξειδίων (PV) κατά την αποθήκευση στους 70 °C, (α): εκχύλισμα αιθανόλης σε συγκέντρωση 100, 200 και 300 mg GAE/m² (Es 100, Es 200, Es 300) και (β): εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα σε συγκέντρωση 100, 200 και 300 mg GAE/m² (EAcs 100, EAcs 200, EAcs 300), (μέσος όρος διπλών δειγμάτων ± τυπική απόκλιση).

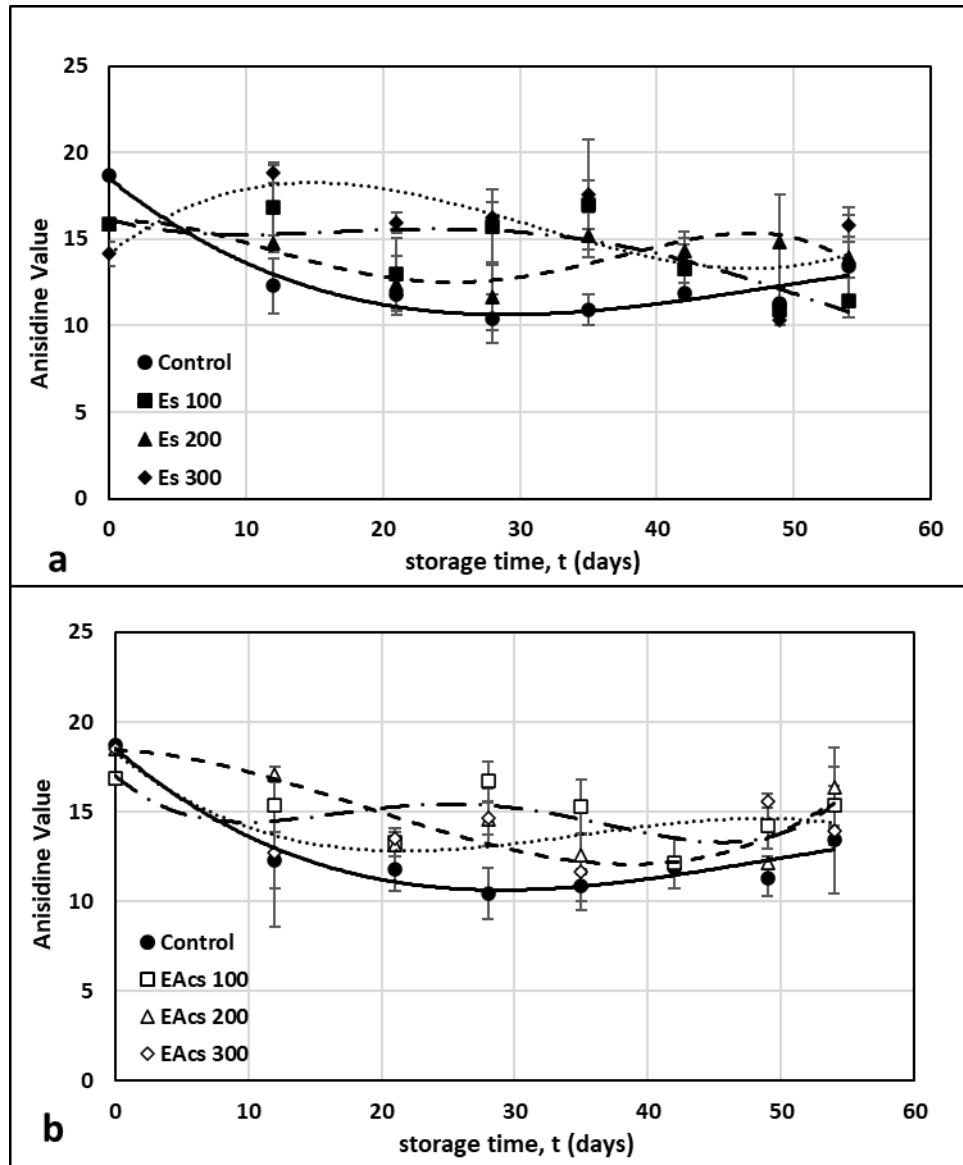
Γενικά, μετά από μια περίοδο επώασης, ο ρυθμός παραγωγής υδροϋπεροξειδίων αυξήθηκε σημαντικά μέχρι το τέλος του πειράματος για όλες τις σειρές δειγμάτων που εξετάστηκαν. Με αύξηση της συγκέντρωσης του αιθανολικού εκχυλίσματος έως τα 300 mg GAE/m² (Διάγραμμα 6.22 a) αυξήθηκε η αντιοξειδωτική προστασία του ελαίου των chips. Ομοίως, η αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα από 100 σε 200 mg GAE/m² ενίσχυσε την αντιοξειδωτική προστασία (Διάγραμμα 6.22 b). Η υψηλότερη συγκέντρωση του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα (300 mg GAE/m²) εμφάνισε προοξειδωτική δράση. Συγκρίνοντας τα δύο εκχυλίσματα στην ίδια συγκέντρωση (100 ή 200 mg GAE/m²), παρατηρήθηκε χαμηλότερη προστατευτική δράση του αιθανολικού εκχυλίσματος σε σύγκριση με το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα, η οποία ήταν πολύ αποτελεσματική στην επιβράδυνση της παραγωγής πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης.

Όπως αναφέρθηκε στην Ενότητα 6.2, το αιθανολικό εκχύλισμα είναι πλούσιο σε φαινολικά οξέα (ροσμαρινικό, σαλβιανολικό και λιθοσπερμικό οξύ), τα οποία παρουσιάζουν υψηλή δραστηριότητα στην δέσμευση ελεύθερων ριζών (Miron et al. 2013). Ωστόσο, οι πολικές φαινολικές ενώσεις του αιθανολικού εκχυλίσματος πιθανόν να παρουσιάζουν χαμηλή συγγένεια για το λάδι, και κατά συνέπεια χαμηλότερη προστασία από το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα. Επομένως μια υψηλή συγκέντρωση (300 mg GAE/m²) αποδείχθηκε απαραίτητη για τη δέσμευση των ελευθέρων ριζών υπεροξειδίου και την προστασία του ελαίου των chips.

Η αποτελεσματική προστασία που προσέφερε το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα μπορεί να εξηγηθεί από την υψηλή περιεκτικότητά του σε φλαβονοειδή (Πίνακας 6.6), ενώσεις που έχουν χαρακτηριστεί ως ισχυρά αντιοξειδωτικά. Επιπλέον, πρόκειται για ενώσεις χαμηλής πολικότητας και ως εκ τούτου, έχουν εύκολη πρόσβαση στο έλαιο που έχουν απορροφήσει τα chips πατάτας. Η προοξειδωτική δράση που παρατηρήθηκε για τη συγκέντρωση των 300 mg GAE/m² για το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα μπορεί να αποδοθεί σε προοξειδωτικές ιδιότητες των φλαβονοειδών που φαίνεται να εξαρτώνται από τη συγκέντρωση (Rietjens et al., 2002; Wilms Kleinjans et al., 2008).

Τα δευτερογενή προϊόντα οξείδωσης προσδιορίστηκαν με μέτρηση του αριθμού της p-ανισιδίνης (p-AV) στο έλαιο που απορρόφησαν τα chips πατάτας. Το εύρος των τιμών για τον αριθμό ανισιδίνης όλων των σειρών δειγμάτων που μελετήθηκαν κυμάνθηκε μεταξύ 10.4 και 18.8, χωρίς σημαντική διαφορά μεταξύ τους καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος (Διάγραμμα 6.23 a και b). Επιπλέον, ο χρόνος αποθήκευσης δεν φαίνεται να επηρέασε σημαντικά την παραγωγή δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι δεν σχηματίστηκε αξιόλογη ποσότητα αλδευδών, οι οποίες είναι ανιχνεύσιμες με τη συγκεκριμένη μέθοδο, κατά την αποθήκευση των τηγανητών chips πατάτας και κατά συνέπεια η μέθοδος αυτή δεν αποτελεί κατάλληλο δείκτη οξείδωσης για την εκτίμηση της οξειδωτικής υποβάθμισης του υπό μελέτη προϊόντος.

Οι πτητικές αλδεΐδες που σχηματίζονται μέσω δευτερογενών αντιδράσεων οξείδωσης μετρήθηκαν με SPME-GC/MS. Οι κύριες ενώσεις που ανιχνεύθηκαν ήταν η εξανάλη και η εννεανάλη, ενώ υπήρχαν επίσης επτανάλη και οκτανάλη (Πίνακας 6.18). Οι Damanik και Murkovic (2018) μελέτησαν τη σταθερότητα του φοινικέλαιου κατά τη θέρμανσή του σε συσκευή rancimat στους 120 °C και τα αποτελέσματα έδειξαν συγκέντρωση 56.8 ppm εξανάλης, 81.65 ppm επτανάλης, 88.75 ppm οκτανάλης και 113.6 ppm εννεανάλης, μετά από 6 h. Επίσης, οι Melton et al. (1994) ανέφεραν ότι οι τηγανητές πατάτες σε φοινικέλαιο ήταν πλούσιες σε ελαϊκό οξύ και επομένως παρατήρησαν υψηλή συγκέντρωση οκτανάλης, εννεανάλης και δεκανάλης. Το φοινικέλαιο που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη είχε υψηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό (42.68%), και παλμιτικό οξύ (41.09%) και χαμηλότερη περιεκτικότητα σε λινελαϊκό οξύ (10.38%). Οι Choe και Min (2006) ανέφεραν ότι η οξείδωση του ελαϊκού οξέος οδήγησε στην παραγωγή οκτανάλης και εννεανάλης, ενώ του λινελαϊκού οξέος σε παραγωγή εξανάλης και επτανάλης μεταξύ άλλων δευτερογενών προϊόντων.



Διάγραμμα 6.23 Επίδραση της επικάλυψης του υλικού συσκευασίας με εκχυλίσματα από θρούμπι στην παραγωγή δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης με τη μέθοδο του αριθμού της p-ανισιδίνης κατά την αποθήκευση τηγανισμένων chips πατάτας στους 70 °C, (α): εκχύλισμα αιθανόλης σε συγκέντρωση 100, 200 και 300 mg GAE/m² (Es 100, Es 200, Es 300) και (β): εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα σε συγκέντρωση 100, 200 και 300 mg GAE/m² (EAcs 100, EAcs 200, EAcs 300).

Η εννεανάλη παράγεται από τη διάσπαση του ελαϊκού 9-OOH, ενώ η εξανάλη από το λινελαϊκό 13-OOH, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Επιπλέον, η οκτανάλη είναι πιθανό να προήλθε από την αποσύνθεση του ελαϊκού 11-OOH και η επτανάλη από το λινελαϊκό 11-OOH (Morales et al., 1997). Επομένως, η υψηλή περιεκτικότητα σε εννεανάλη δικαιολογείται από την υψηλή περιεκτικότητα σε ελαϊκό οξύ στο φοινικέλαιο που χρησιμοποιήθηκε. Η υψηλή συγκέντρωση εξανάλης συμφωνεί με το γεγονός ότι το λινελαϊκό οξύ είναι 20-40 φορές πιο ευαίσθητο στην οξείδωση από το ελαϊκό οξύ. Γενικά, η περιεκτικότητα σε δευτερογενή πτητικά συστατικά παρέμεινε χαμηλή τις πρώτες 12 ημέρες αποθήκευσης και ακολούθησε αύξηση αυτών μέχρι το τέλος του πειράματος.

Πίνακας 6.18 Επίδραση της επικάλυψης του υλικού συσκευασίας με τα εκχυλίσματα αιθανόλης (Es) και οξικού αιθυλεστέρα (EAcs) του αρωματικού φυτού *S. thymbra* στην μείωση (%) των πτητικών αλδευδών της συσκευασίας μετά από 55 ημέρες αποθήκευσης τηγανισμένων chips πατάτας στους 70 °C.

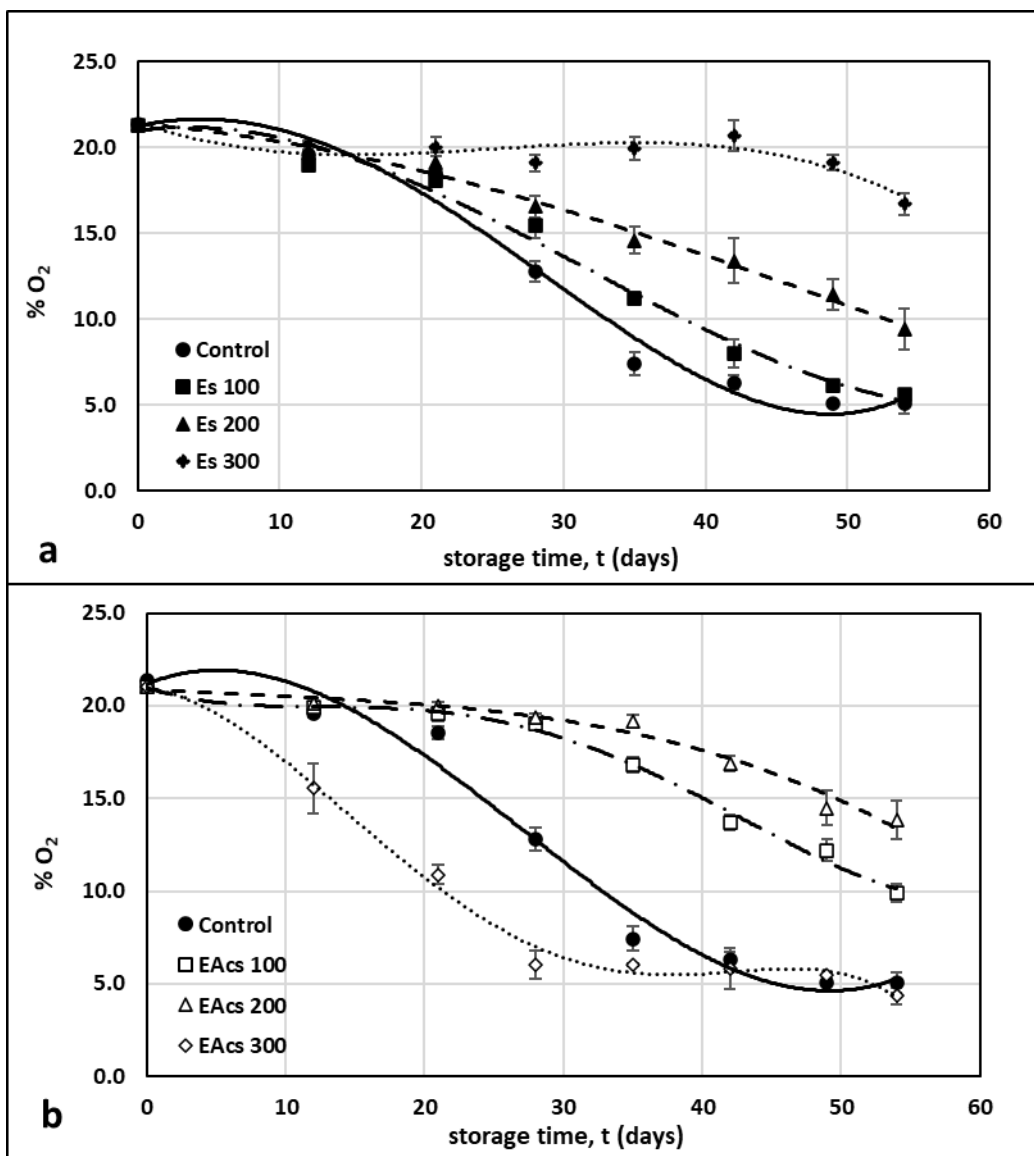
Εκχύλισμα	Εξανάλη	Επτανάλη	Οκτανάλη	Εννεανάλη
Es 100	10.8 ± 4.6 ^c	34.5 ± 4.9 ^{bc}	44.7 ± 4.3 ^b	24.8 ± 6.4 ^{bc}
Es 200	26.0 ± 6.2 ^{bc}	54.9 ± 5.1 ^a	56.5 ± 6.3 ^b	36.8 ± 5.6 ^b
Es 300	29.8 ± 5.7 ^{bc}	46.8 ± 6.6 ^{ab}	82.6 ± 8.4 ^a	56.9 ± 5.7 ^a
EAcs 100	42.5 ± 5.5 ^b	13.3 ± 4.4 ^d	48.2 ± 5.2 ^b	27.7 ± 5.6 ^b
EAcs 200	68.6 ± 4.8 ^a	18.2 ± 4.9 ^{cd}	53.7 ± 6.1 ^b	7.6 ± 2.5 ^{cd}
EAcs 300	-13.9 ± 6.7 ^d	-44.3 ± 7.1 ^e	51.0 ± 5.7 ^b	-7.0 ± 2.7 ^d

^{a-d} Διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια στήλη υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές (p < 0.05).

Ο Πίνακας 6.18 παρουσιάζει την % μείωση των πτητικών αλδευδών της συσκευασίας δειγμάτων με διαφορετικές συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών εκχυλισμάτων από θρούμπι σε σύγκριση με δείγματα χωρίς αντιοξειδωτικό πρόσθετο, μετά από 55 ημέρες αποθήκευσης στους 70 °C. Παρατηρείται ότι η % μείωση των αλδευδών

αυξήθηκε με αύξηση της συγκέντρωσης του αιθανολικού εκχυλίσματος έως και 300 mg GAE/m². Ομοίως, αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα από 100 σε 200 mg GAE/m² ενίσχυσε την προστασία έναντι της παραγωγής επτανάλης και οκτανάλης. Η % μείωση των εννεανάλης και εξανάλης μειώθηκε, αλλά η περιεκτικότητά τους δεν ξεπέρασε αυτή των δειγμάτων αναφοράς. Η συγκέντρωση των 300 mg GAE/m² του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα εμφάνισε προοξειδωτική δράση, γεγονός που συμφωνεί με τα αποτελέσματα που λήφθηκαν για τα πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης.

Η μείωση της περιεκτικότητας του O₂ στη συσκευασία, λόγω συμμετοχής του σε αντιδράσεις οξείδωσης, βρίσκεται σε συμφωνία με τα προαναφερθέντα αποτελέσματα (Διάγραμμα 6.24 a και b). Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση του αιθανολικού εκχυλίσματος, τόσο μικρότερη είναι η μείωση του O₂ στη συσκευασία. Ομοίως, η αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα από 100 σε 200 mg GAE/m² καθυστέρησε τη μείωση του O₂. Αντίθετα, η συγκέντρωση των 300 mg GAE/m² για το εκχύλισμα αυτό παρουσίασε τη μεγαλύτερη μείωση O₂ σε σύγκριση με όλες τις υπόλοιπες σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν.



Διάγραμμα 6.24 Επίδραση της επικάλυψης του υλικού συσκευασίας με εκχυλίσματα από θρούμπι στην μείωση του O₂ (%) της συσκευασίας κατά την αποθήκευση τηγανισμένων chips πατάτας στους 70 °C, (α): εκχύλισμα αιθανόλης σε συγκέντρωση 100, 200 και 300 mg GAE/m² (Es 100, Es 200, Es 300) και (β): εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα σε συγκέντρωση 100, 200 και 300 mg GAE/m² (EAcs 100, EAcs 200, EAcs 300), (μέσος όρος διπλών δειγμάτων ± τυπική απόκλιση).

6.8.3. Μεταβολές της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων της συσκευασίας κατά την αποθήκευση τηγανισμένων chips πατάτας.

Στο Διάγραμμα 6.25 a και b παρουσιάζεται η μείωση των φαινολικών συστατικών του επικστρωμένου υλικού συσκευασίας των chips πατάτας. Με αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος παρατηρήθηκε αύξηση του ρυθμού μείωσης των φαινολικών συστατικών και για τα δύο εκχυλίσματα αλλά και για όλες τις διαφορετικές συγκεντρώσεις αυτών που μελετήθηκαν. Η απώλεια των φαινολικών συστατικών αποδίδεται κυρίως στη συμμετοχή τους σε αντιδράσεις οξειδωσης· αντιδράσεις επιθυμητές στην περίπτωση αυτή καθώς οι φαινολικές ενώσεις προσφέρουν την αντιοξειδωτική τους δράση και προστατεύουν τα chips πατάτας από οξειδωτικά φαινόμενα. Μέρος των συστατικών των εκχυλισμάτων μεταναστεύει στο προϊόν μέσω της επαφής του με το υλικό συσκευασίας. Απαραίτητη προϋπόθεση για τη δημιουργία και χρήση της ενεργού συσκευασίας αποτελεί η ικανότητα να υπάρχει μεταφορά του επιθυμητού συστατικού από τη συσκευασία στο τρόφιμο. Οι φαινολικές ενώσεις των εκχυλισμάτων μεταναστεύουν από τη συσκευασία στην επιφάνεια του τροφίμου ή στο εσωτερικό του, όπου αναστέλλουν την οξειδωση των λιπαρών του προϊόντος, παρατείνοντας έτσι τη διάρκεια ζωής του (Ganiari et al., 2017).

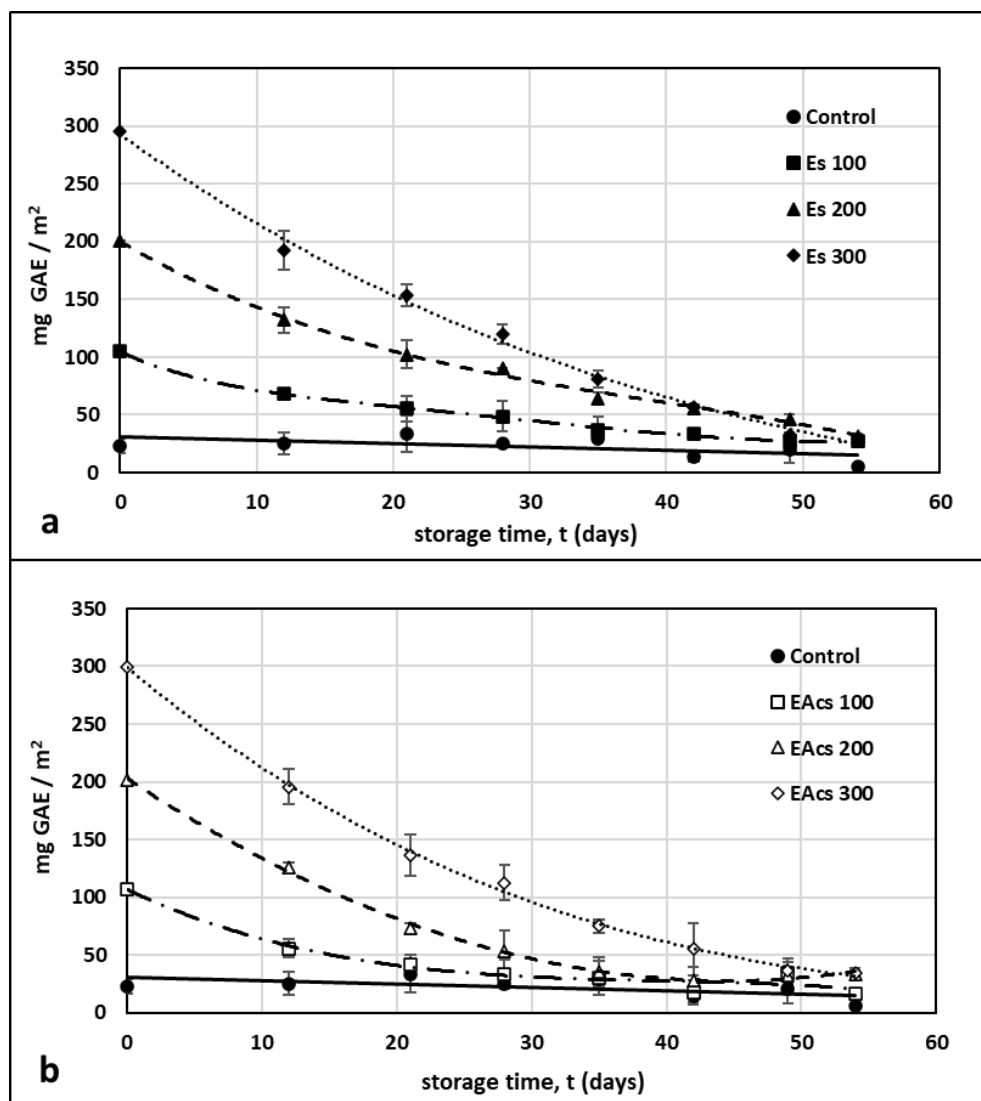
Η περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις του ελαίου των chips πατάτας παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 6.26 a και b. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών προσδιορίστηκε κατά τις πρώτες ημέρες αποθήκευσης του προϊόντος για όλες τις σειρές δειγμάτων που μελετήθηκαν. Στην Εικόνα 6.2 είναι εμφανής η μεταφορά φαινολικών ενώσεων από το υλικό συσκευασίας στο προϊόν αφού το έλαιο των δειγμάτων chips που είχαν αποθηκευτεί σε συσκευασία με επίστρωση του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα έχει πράσινο χρώμα, χαρακτηριστικό των χλωροφυλλών του εκχυλίσματος. Μετά το μέγιστο που παρατηρείται τις πρώτες ημέρες (Διάγραμμα 6.26), η περιεκτικότητα του ελαίου σε φαινολικές ενώσεις μειώθηκε σταδιακά μέχρι το τέλος του πειράματος, λόγω συμμετοχής τους σε αντιδράσεις οξειδωσης, προστατεύοντας το προϊόν. Αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος που επικάλυψε το υλικό συσκευασίας οδήγησε σε υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών στο προϊόν και κατά συνέπεια, σε υψηλότερη αντιοξειδωτική προστασία. Συγκρίνοντας την

συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των δύο εκχυλισμάτων στο έλαιο των chips στην ίδια συγκέντρωση, φαίνεται πως το αιθανολικό εκχύλισμα εμφάνισε χαμηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις από το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα. Πιθανώς οι μη πολικές ενώσεις του εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα μπορούν να διαχυθούν ευκολότερα στο έλαιο των τηγανητών chips από τις πολικές ενώσεις του εκχυλίσματος αιθανόλης. Η απελευθέρωση δραστικών ουσιών από το υλικό συσκευασίας και η μετανάστευσή τους στα τρόφιμα εξαρτάται από τη συγγένεια των αντιοξειδωτικών ουσιών για το υπόστρωμα των τροφίμων (Lopez de Dicastillo et al., 2012). Συνεπώς, σε χαμηλή συγκέντρωση, το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα ήταν πιο αποτελεσματικό στην επιβράδυνση της οξείδωσης των chips πατάτας από το αιθανολικό εκχύλισμα.

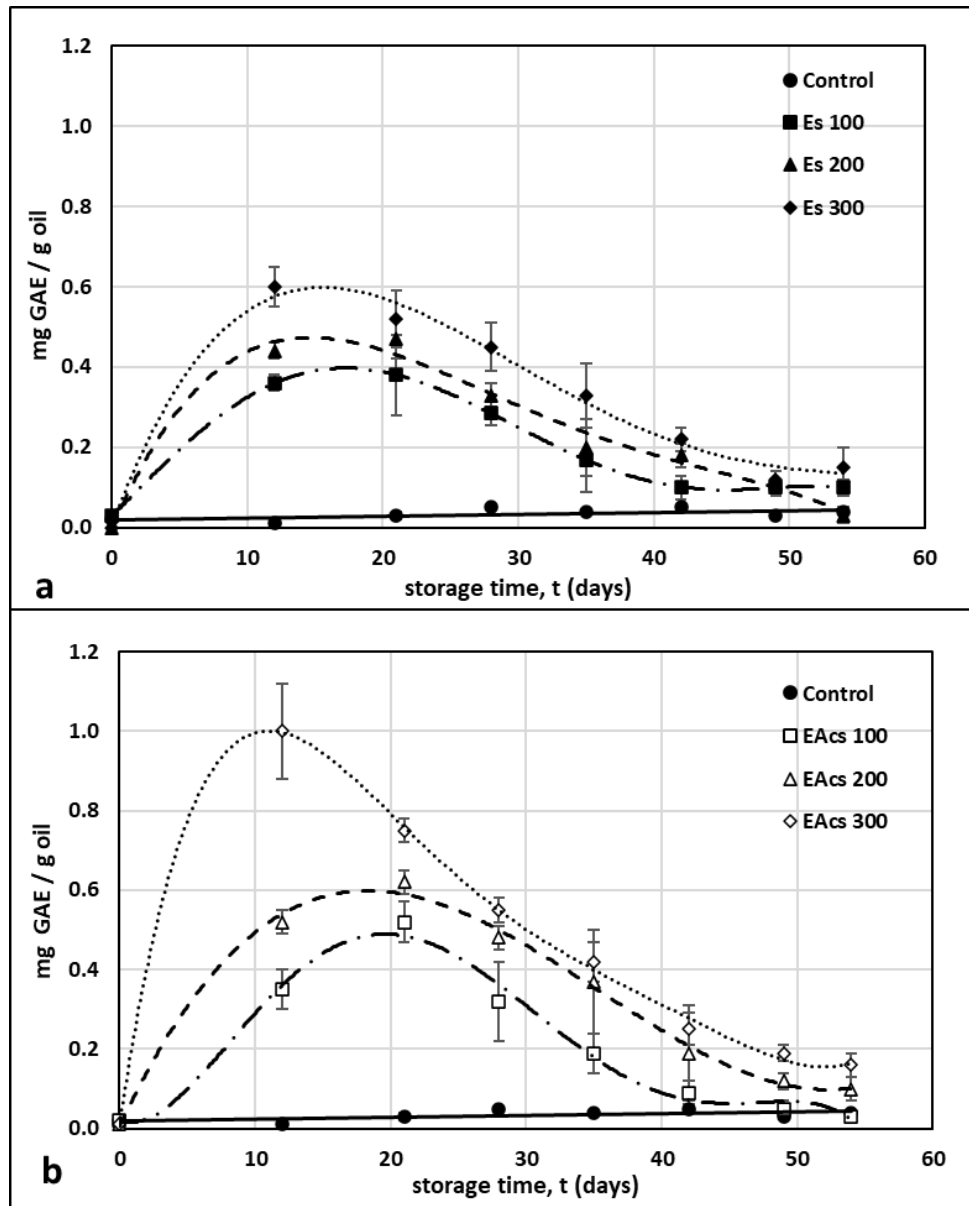
Η μετανάστευση των φυσικών φαινολικών αντιοξειδωτικών από το υλικό συσκευασίας στο προϊόν μπορεί να έχει ευεργετική επίδραση στην υγεία των καταναλωτών, καθώς οι φαινολικές ενώσεις έχουν αρκετές επιδράσεις προαγωγής της υγείας (Boudet, 2007).



Εικόνα 6.2 Δείγματα ελαίου από chips πατάτας. Το σκούρο πράσινο αποτελεί δείγμα από συσκευασία με επίστρωση εκχυλίσματος οξικού αιθυλεστέρα ενώ το πιο ανοιχτό δείγματος αναφοράς.



Διάγραμμα 6.25 Μείωση της περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις, εκφρασμένη ως ισοδύναμο γαλλικού οξέος (GAE)/m² του υλικού συσκευασίας που έχει επικαλυφθεί με (α): εκχύλισμα αιθανόλης σε συγκέντρωση 100, 200 και 300 mg GAE/m² (Es 100, Es 200, Es 300) και (β): εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα σε συγκέντρωση 100, 200 και 300 mg GAE/m² (EAcs 100, EAcs 200, EAcs 300) κατά την αποθήκευση των δειγμάτων στους 70 °C (μέση τιμή διπλών δειγμάτων ± τυπική απόκλιση).



Διάγραμμα 6.26 Μεταβολή της συνολικής περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις (mg GAE/g) του ελαίου που απορρόφησαν τα chips πατάτας κατά τη διεργασία του τηγανίσματος σε σχέση με το χρόνο αποθήκευσης (t), (α): εκχύλιση αιθανόλης σε συγκέντρωση 100, 200 και 300 mg GAE/m² (Es 100, Es 200, Es 300) και (β): εκχύλιση οξικού αιθυλεστέρα σε συγκέντρωση 100, 200 και 300 mg GAE/m² (EAc 100, EAc 200, EAc 300) (μέσος όρος διπλών δειγμάτων ± τυπική απόκλιση).

6.9 Συμπεράσματα – Προτάσεις

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

Εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι, θυμάρι και δύο χημειότυπους της ρίγανης, ένας πλούσιος σε καρβακρόλη και ένας που περιείχε θυμόλη και καρβακρόλη, αποδείχθηκαν ικανά στην προστασία φοινικέλαιου. Μάλιστα τα κλάσματα από θρούμπι και από ρίγανη του μικτού χημειότυπου φάνηκαν πιο δραστικά έναντι της οξείδωσης, καθυστερώντας την υποβάθμιση του ελαίου κατά την περίοδο επιταχυνόμενης οξείδωσης, ενώ το αντιοξειδωτικό από θυμάρι έδειξε τη μικρότερη αποτελεσματικότητα. Όλα τα εκχυλίσματα επίσης επιμήκυναν το χρόνο επώασης. Παρατηρήθηκε ότι η σειρά δραστικότητάς τους δεν ήταν ανάλογη του ολικού φαινολικού περιεχομένου τους, αλλά εξαρτήθηκε από τη σύστασή τους στις επιμέρους κατηγορίες φαινολικών συστατικών. Αυξανόμενης της περιεκτικότητας σε φαινολικά οξέα (ροσμαρινικό οξύ, σαλβιανολικό οξύ A) και λοιπά φλαβονοειδή βελτιωνόταν η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων, ενώ υψηλές τιμές μονοφαινολών, και κυρίως καρβακρόλης, είχαν αντίθετα αποτελέσματα. Κρίνεται σκόπιμο να διερευνηθεί η αλληλεπίδραση των φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων, για παράδειγμα να εξεταστεί το ενδεχόμενο ανταγωνισμού μεταξύ καρβακρόλης και ροσμαρινικού οξέος.

Από την άλλη μεριά, η ενσωμάτωση εκχυλισμάτων των αρωματικών φυτών με οξικό αιθυλεστέρα σε αραβοσιτέλαιο δεν είχε εντυπωσιακά αποτελέσματα, αποδεικνύοντας πως το είδος της λιπαρής ύλης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ικανότητα δράσης των αντιοξειδωτικών. Το συγκεκριμένο φυτικό έλαιο είναι πλούσιο σε φυσικά αντιοξειδωτικά, όπως τοκοφερόλες, έχοντας ως συνέπεια τη μη ανάδειξη της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων. Επιπλέον, μελέτες αναφέρουν την ανταγωνιστική δράση μεταξύ της α-τοκοφερόλης και του ροσμαρινικού οξέος. Η προσθήκη αιθανολικών εκχυλισμάτων στο αραβοσιτέλαιο έδειξε ακόμα χειρότερη

συμπεριφορά, καθώς επιβεβαιώθηκε η δυσκολία της διάλυσης των πολικών συστατικών τους σε υψηλής λιπαρότητας προϊόντα, που αναφέρεται και στη βιβλιογραφία.

Τα φυσικά εκχυλίσματα του αρωματικού φυτού *S. thymbra* μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον εμπλουτισμό γαλακτωμάτων ο/ω με πολυφαινόλες, κυρίως ροσμαρινικό οξύ και φλαβονοειδή, και ως εκ τούτου να αναβαθμιστεί το διατροφικό τους προφίλ. Η περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά των γαλακτωμάτων μειώνεται κατά την αποθήκευσή τους, κυρίως λόγω της μείωσης της συγκέντρωσης του ροσμαρινικού οξέος. Εκτός από τον εμπλουτισμό των γαλακτωμάτων σε φαινολικές ενώσεις, τα εκχυλίσματα προσφέρουν προστασία έναντι της οξειδωσης, με παράγοντες προστασίας κοντά στην κερκετίνη και υψηλότερους από το καθαρό ροσμαρινικό οξύ. Σε θερμοκρασίες ψύξης (5 °C) τα εκχυλίσματα μείωσαν τον ρυθμό οξειδωσης κατά 75-80%. Οι υψηλότερες θερμοκρασίες αποθήκευσης επιτάχυναν την οξείδωση των γαλακτωμάτων και είχαν ως αποτέλεσμα χαμηλότερους παράγοντες προστασίας και μεγαλύτερη απώλεια φαινολικών ενώσεων.

Με βάση τα αποτελέσματα της επικάλυψης ιχθύων με εμπλουτισμένες εδώδιμες μεμβράνες αποδείχθηκε η αποδοτικότητα αυτής της μεθόδου στην προστασία των συγκεκριμένων τροφίμων ως προς την οξείδωση. Αν και η απλή μεμβράνη CMC παρείχε χαμηλότερες τιμές πρωτογενών προϊόντων οξειδωσης στους ιχθύες, η προσθήκη σε αυτή αιθανολικού εκχυλίσματος από θρούμπι παρεμπόδισε την αλλοίωση του τροφίμου σε μεγαλύτερο βαθμό. Το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα από θρούμπι δεν ήταν ικανό να προσδώσει αντίστοιχη δράση σε ιχθυηρά. Το αποτέλεσμα αυτό δείχνει πως τα άπολα φλαβονοειδή συστατικά ενώ είναι κατάλληλα για τρόφιμα με υψηλό περιεχόμενο σε λιπαρά, δεν πρέπει πιθανώς να προτιμώνται σε προϊόντα που περιέχουν σε μεγάλο βαθμό υδατικά συστατικά.

Το αιθέριο έλαιο του φυτού ωστόσο αποδείχθηκε ισχυρό αντιοξειδωτικό, παρέχοντας παρόμοια δράση με εκείνη του αιθανολικού εκχυλίσματος. Βέβαια, η προσθήκη του στη μεμβράνη που περιείχε εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα ή αιθανόλης δεν συνετέλεσε στη βελτίωση της αποτελεσματικότητας του επικαλυπτικού. Το αποτέλεσμα αυτό ενισχύει την πρόταση που αναφέρθηκε για τις οξειδώσεις ελαίων, πως συστατικά, και κυρίως η καρβακρόλη (που ανιχνεύθηκε στο αιθέριο έλαιο) φαίνεται να

δρα ανταγωνιστικά με άλλες φαινολικές ενώσεις όπως το ροσμαρινικό οξύ (που περιέχονταν στα εκχυλίσματα) μη επιτρέποντας τη συνεργιστική δράση των δύο κλασμάτων για μεγαλύτερη παρεμπόδιση της οξειδωσης.

Τέλος, όσον αφορά στην ανάπτυξη των δευτερογενών προϊόντων οξειδωσης των ιχθύων, λόγω των χαμηλών θερμοκρασιών αποθήκευσης, δεν παρατηρήθηκε σημαντική αύξησή τους κατά το αρχικό χρονικό διάστημα. Μετά το πέρας των 10 ημερών που άρχισαν να συσσωρεύονται, οι επικαλυπτικές μεμβράνες έδειξαν μειωμένες τιμές δευτερογενών προϊόντων στις περισσότερες περιπτώσεις, χωρίς να υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους.

Σε ότι αφορά την επικάλυψη των ιχθυηρών και την αποθήκευσή τους στους 4 °C, τα διαγράμματα υπεροξειδίων, συζυγών διενίων και αριθμού p-ανισιδίνης συναρτήσει του χρόνου, αλλά και η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξαν ότι το αιθανολικό εκχύλισμα δενδρολίβανου, με το οποίο εμπλουτίστηκε το εδώδιμο επικαλυπτικό CMC, πρόσφερε προστασία στα δείγματα από την οξειδωση. Πιο συγκεκριμένα, τη μεγαλύτερη οξειδωση παρουσίασαν τα δείγματα που δεν είχαν καμία επικάλυψη. Μικρή σχετικά προστασία στην οξειδωση προσέφεραν οι μη εμπλουτισμένες μεμβράνες CMC, οι μεμβράνες με τη μικρότερη συγκέντρωση αιθανολικού εκχυλίσματος (200 ppm) και αυτές που είχαν εμπλουτιστεί με αιθέριο έλαιο. Τα ιχθυηρά που επικαλύφθηκαν με CMC εμπλουτισμένο με αιθανολικό εκχύλισμα σε συγκέντρωση 500 ppm και τα ιχθυηρά που επικαλύφθηκαν με CMC εμπλουτισμένο με συνδυασμό αιθανολικού εκχυλίσματος και αιθέριου ελαίου, έδειξαν αρκετά κοντινές τιμές καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος (29 ημέρες). Τα δείγματα που επικαλύφθηκαν με εδώδιμη μεμβράνη CMC εμπλουτισμένη με αιθανολικό εκχύλισμα σε συγκέντρωση 800 ppm είχαν τα πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Τα εκχυλίσματα από το αρωματικό φυτό *S. thymbra* μπορούν να χρησιμοποιηθούν αποτελεσματικά ως επίστρωση στο υλικό συσκευασίας για την οξειδωτική προστασία τηγανητών chips πατάτας. Η προσθήκη αυτών των φυσικών αντιοξειδωτικών στο υλικό συσκευασίας, έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενεργού συσκευασίας, η οποία είναι ικανή να καθυστερήσει την οξειδωτική υποβάθμιση του τηγανισμένου προϊόντος, σε σύγκριση με την προσθήκη των ίδιων εκχυλισμάτων στο έλαιο του τηγανίσματος ή

απευθείας πάνω στο τηγανισμένο προϊόν. Τα εκχυλίσματα από θρούμπι είναι πλούσια σε φαινολικές ενώσεις (φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή) και οι αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες εξαρτώνται από τη συγκέντρωσή τους στο υλικό συσκευασίας. Σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να παρατηρηθούν προοξειδωτικά φαινόμενα όταν η συγκέντρωση των φλαβονοειδών υπερβαίνει ορισμένα επίπεδα. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης θα μπορούσαν ενδεχομένως να επεκταθούν και σε άλλα τηγανητά σνακ, για τη βελτίωση της ποιότητάς τους.

Προτάσεις για μελλοντική έρευνα:

- ✓ Εγκλεισμός ιχθυέλαιων και ξηρών εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών της οικογένειας *Lamiaceae* σε μικροκάψουλες και μελέτη της οξειδωτικής τους σταθερότητας και των κινητικών απελευθέρωσής τους σε παιδικές τροφές.
- ✓ Μελέτη επίδρασης της εμπλουτισμένης βρώσιμης επικάλυψης με δραστικά εκχυλίσματα από *S. thymbra* στην οξειδωτική σταθερότητα τυριού σόγιας.
- ✓ Ενσωμάτωση των αντιοξειδωτικών εκχυλισμάτων από θρούμπι ως επίστρωση στο υλικό συσκευασίας για την μελέτη της οξειδωτικής σταθερότητας προτηγανισμένων ιχθυηρών προϊόντων.

Βιβλιογραφία 6^{οο} κεφαλαίου

Al-Bandak, G., Tsironi, T., Taoukis, P., & Oreopoulou, V. (2009). Antimicrobial and antioxidant activity of *Majorana syriaca* in Yellowfin tuna. *International journal of food science & technology*, 44(2), 373–379.

American Oil Chemists Societ (1993). Official methods and recommended practices of the AOCS (4th ed.). Champaign, Illinois: AOCS.

American Oil Chemists Societ (1998). Official methods and recommended practices of the AOCS (5th ed.). Champaign, Illinois: AOCS.

Becker, E. M., Ntouma, G., & Skibsted, L. H. (2007). Synergism and antagonism between quercetin and other chain-breaking antioxidants in lipid systems of increasing structural organisation. *Food Chemistry*, 103(4), 1288–1296.

Boudet, A. M. (2007). Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, 68, 2722–2735.

Chi, S., Zivanovic, S., & Penfield, M. P. (2006). Application of chitosan films enriched with oregano essential oil on bologna–active compounds and sensory attributes. *Food Science and Technology International*, 12(2), 111–117.

Choe, E., & Min, D. B. (2006). Mechanisms and Factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5, 169–186.

Choe, E., & Min, D. B. (2009). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 8(4), 345–358.

Choulitoudi, E., Bravou, K., Bimpilas, A., Tsironi, T., Tsimogiannis, D., Taoukis, P., & Oreopoulou, V. (2016). Antimicrobial and antioxidant activity of *Satureja thymbra* in gilthead seabream fillets edible coating. *Food and bioproducts processing*, 100, 570–577.

Choulitoudi, E., Ganiari, S., Tsironi, T., Ntzimani, A., Tsimogiannis, D., Taoukis, P., & Oreopoulou, V. (2017). Edible coating enriched with rosemary extracts to enhance oxidative and microbial stability of smoked eel fillets. *Food packaging and shelf life*, 12, 107–113.

Cuvelier, M. E., Bondet, V., & Berset, C. (2000). Behavior of phenolic antioxidants in a partitioned medium: structure - Activity relationship. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(8), 819–824.

Damanik, M., & Murkovic, M. (2018). The stability of palm oils during heating in a rancimat. *European Food Research and Technology*, 244, 1293–1299.

Dashipour, A., Razavilar, V., Hosseini, H., Shojaee-Aliabadi, S., German, J. B., Ghanati, K., Khakpour M. & Khaksar, R. (2015). Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing *Zataria multiflora* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 606–613.

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

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

de Abreu, D. P., Losada, P. P., Maroto, J., & Cruz, J. M. (2011). Lipid damage during frozen storage of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) in active packaging film containing antioxidants. *Food Chemistry*, 126(1), 315–320.

Di Mattia, C. D., Sacchetti, G., Mastrocola, D., & Pittia, P. (2009). Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions. *Food research international*, 42(8), 1163–1170.

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

Drusch, S., Groß, N., & Schwarz, K. (2008). Efficient stabilization of bulk fish oil rich in long-chain polyunsaturated fatty acids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(4), 351–359.

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

Espinosa-Diez, C., Miguel, V., Mennerich, D., Kietzmann, T., Sánchez-Pérez, P., Cadenas, S., & Lamas, S. (2015). Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox biology*, 6, 183–197.

Fomuso, L. B., Corredig, M., & Akoh, C. C. (2002). Effect of emulsifier on oxidation properties of fish oil-based structured lipid emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 2957–2961.

Frankel, A. D., Mueller, C., Barnhard, T., Perkins, D., Leyendecker, E., Dickman, N., Hanson, S., & Hopper, M. (1996). National seismic-hazard maps: documentation June 1996 (pp. 96–532). Reston, VA: US Geological Survey.

Ganiari, S., Choulitoudi, E., & Oreopoulou, V. (2017). Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 70–82.

Giménez, B., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2004). The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality characteristics of gilt-head sea bream fillets (*Sparus aurata*) packaged in a modified atmosphere. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(9), 1053–1060.

Giménez, B., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2005). The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality of salmon (*Salmo salar*) fillets packaged in modified atmosphere. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 1033–1040.

Gómez-Estaca, J., López-de-Dicastillo, C., Hernández-Muñoz, P., Catalá, R., & Gavara, R. (2014). Advances in antioxidant active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 35(1), 42–51.

Gómez-Estaca, J., Montero, P., Giménez, B., & Gómez-Guillén, M. C. (2007). Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Food chemistry*, 105(2), 511–520.

Grevsen, K., Fretté, X., & Christensen, L. P. (2009). Content and composition of volatile terpenes, flavonoids and phenolic acids in Greek oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*) at different development stages during cultivation in cool temperate climate. *European Journal of Horticultural Science*, 74(5), 193–203.

Houhoula, D. P., Oreopoulou, V., & Tzia, C. (2003). The effect of process time and temperature on the accumulation of polar compounds in cottonseed oil during deep-fat frying. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(4), 314–319.

Huber, G. M., Rupasinghe, H. V., & Shahidi, F. (2009). Inhibition of oxidation of omega-3 polyunsaturated fatty acids and fish oil by quercetin glycosides. *Food Chemistry*, 117(2), 290–295.

Hussain, P. R., Suradkar, P. P., Wani, A. M., & Dar, M. A. (2015). Retention of storage quality and post-refrigeration shelf-life extension of plum (*Prunus domestica* L.) cv. Santa Rosa using combination of carboxymethyl cellulose (CMC) coating and gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 107, 136–148.

Jaswir, I., Man, Y. B. C., & Kitts, D. D. (2000). Use of natural antioxidants in refined palm olein during repeated deep-fat frying. *Food research international*, 33(6), 501–508.

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

Kelm, M. A., Nair, M. G., Strasburg, G. M., & DeWitt, D. L. (2000). Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory phenolic compounds from *Ocimum sanctum* Linn. *Phytomedicine*, 7, 7–13.

Kemertelidze, É. P., Sagareishvili, T. G., Syrov, V. N., & Khushbaktova, Z. A. (2004). Chemical composition and pharmacological activity of garden savory (*Satureja hortensis* L.) occurring in Georgia. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 38(6), 319–322.

Kim, H. J., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2005). Influence of protein concentration and order of addition on thermal stability of β -lactoglobulin stabilized n-hexadecane oil-in-water emulsions at neutral pH. *Langmuir*, 21(1), 134–139.

Koşar, M., Dorman, H. J. D., & Hiltunen, R. (2005). Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. *Food chemistry*, 91(3), 525–533.

Koukoulitsa, C., Karioti, A., Bergonzi, M. C., Pescitelli, G., Di Bari, L., & Skaltsa, H. (2006). Polar constituents from the aerial parts of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* growing wild in Greece. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(15), 5388–5392.

Lagouri, V., Blekas, G., Tsimidou, M., Kokkini, S., & Boskou, D. (1993). Composition and antioxidant activity of essential oils from oregano plants grown wild in Greece. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 197(1), 20–23.

Lalas, S., & Dourtoglou, V. (2003). Use of rosemary extract in preventing oxidation during deep-fat frying of potato chips. *Journal of the American oil chemists' society*, 80(6), 579–583.

Leonardis, A. D., & Macciola, V. (2003). Effectiveness of caffeic acid as an anti-oxidant for cod liver oil. *International journal of food science & technology*, 38(4), 475–480.

Le Tien, C., Vachon, C., Mateescu, M. A., & Lacroix, M. (2001). Milk protein coatings prevent oxidative browning of apples and potatoes. *Journal of food science*, 66(4), 512–516.

Li, T., Hu, W., Li, J., Zhang, X., Zhu, J., & Li, X. (2012). Coating effects of tea polyphenol and rosemary extract combined with chitosan on the storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Food Control*, 25(1), 101–106.

Liu, M., Li, Y. G., Zhang, F., Yang, L., Chou, G. X., Wang, Z. T., & Hu, Z. B. (2007). Chromatographic fingerprinting analysis of Danshen root (*Salvia miltiorrhiza Radix et Rhizoma*) and its preparations using high performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray mass spectrometry (HPLC-DAD-ESI/MS). *Journal of separation science*, 30(14), 2256–2267.

Lolos, M., Oreopoulou, V., & Tzia, C. (1999). Oxidative stability of potato chips: effect of frying oil type, temperature and antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(11), 1524–1528.

López-Cobo, A., Gómez-Caravaca, A. M., Švarc-Gajić, J., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2015). Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of a Mediterranean plant: The case of *Satureja montana* subsp. *kitaibelii*. *Journal of Functional Foods*, 18, 1167–1178.

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

Lu, Y., & Foo, L. Y. (2001). Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food chemistry*, 75(2), 197–202.

Mabry, T. J., Markham, K. R., & Thomas, M. B. (1970). The ultraviolet spectra of flavones and flavonols. In *The systematic identification of flavonoids* (pp. 41–164). Springer, Berlin, Heidelberg.

Makino, T., Ono, T., Muso, E., Yoshida, H., Honda, G., & Sasayama, S. (2000). Inhibitory effects of rosmarinic acid on the proliferation of cultured murine mesangial cells. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 15, 1140–1145.

Manach, C., Mazur, A., & Scalbert, A. (2005). Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*, 16, 77–84.

Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S., & Ferreira, I. C. (2014). Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: Different performances regarding bioactivity and phenolic compounds. *Food chemistry*, 158, 73–80.

Melton, S. L., Jafar, S., Sykes, D., & Trigiano, M. K. (1994). Review of stability measurements for frying oils and fried food flavor. *Journal of the American oil Chemists' Society*, 71, 1301–1308.

Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52, 673–751.

Miron, T. L., Herrero, M., & Ibáñez, E. (2013). Enrichment of antioxidant compounds from lemon balm (*Melissa officinalis*) by pressurized liquid extraction and enzyme-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 1288, 1–9.

Morales, M. T., Rios, J. J., & Aparicio, R. (1997). Changes in the volatile composition of virgin olive oil during oxidation: flavors and off-flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2666–2673.

Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C. S., & Vojnov, A. A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free radical research*, 40(2), 223–231.

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

Ojeda-Sana, A. M., van Baren, C. M., Elechosa, M. A., Juárez, M. A., & Moreno, S. (2013). New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. *Food control*, 31(1), 189–195.

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

Panya, A., Kittipongpittaya, K., Laguerre, M., Bayrasy, C., Lecomte, J., Villeneuve, P., McClements, D. J. & Decker, E. A. (2012). Interactions between α -tocopherol and rosmarinic acid and its alkyl esters in emulsions: synergistic, additive, or antagonistic effect?. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(41), 10320–10330.

Ponce, A. G., Roura, S. I., del Valle, C. E., & Moreira, M. R. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. *Postharvest biology and technology*, 49(2), 294–300.

Rietjens, I. M., Boersma, M. G., de Haan, L., Spenkelink, B., Awad, H. M., Cnubben, N. H., van Zanden, J. J., van der Woude, H., Alink, G. M. & Koeman, J. H. (2002). The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environmental toxicology and pharmacology*, 11, 321–333.

Roedig-Penman, A. & Gordon, M. H. (1998). Antioxidant properties of myricetin and quercetin in oil and emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(2), 169–180.

Serdaroğlu, M., & Felekoğlu, E. (2005). Effects of using rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. *Journal of Food Quality*, 28(2), 109–120.

Shahidi, F., & Wanasundara, U. N. (2002). Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils. *Food lipids: Chemistry, nutrition and biotechnology*, 3, 387–403.

Skoula, M., Grayer, R. J., & Kite, G. C. (2005). Surface flavonoids in *Satureja thymbra* and *Satureja spinosa* (Lamiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(5), 541–544.

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

Tan, C. P., Che Man, Y. B., Selamat, J., & Yusoff, M. S. A. (2001). Application of Arrhenius kinetics to evaluate oxidative stability in vegetable oils by isothermal differential scanning calorimetry. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(11), 1133–1138.

Tsimogiannis, D., Bimpilas, A., & Oreopoulou, V. (2017). DPPH radical scavenging and mixture effects of plant o-diphenols and essential oil constituents. *European journal of lipid science and technology*, 119(9), 16003473.

Tsimogiannis, D., Choulitoudi, E., Bimpilas, A., Mitropoulou, G., Kourkoutas, Y., & Oreopoulou, V. (2017). Exploitation of the biological potential of *Satureja thymbra* essential oil and distillation by-products. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 4, 12–20.

Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). Classification of phenolic compounds in plants. In *Polyphenols in plants* (pp. 263–284). Academic Press.

Tsimogiannis, D., Stavrakaki, M., & Oreopoulou, V. (2006). Isolation and characterisation of antioxidant components from oregano (*Origanum heracleoticum*). *International journal of food science & technology*, 41, 39–48.

Vareltzis, K., Koufidis, D., Gavriilidou, E., Papavergou, E., & Vasiliadou, S. (1997). Effectiveness of a natural rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 205(2), 93–96.

Wilms, L. C., Kleinjans, J. C., Moonen, E. J., & Briedé, J. J. (2008). Discriminative protection against hydroxyl and superoxide anion radicals by quercetin in human leucocytes in vitro. *Toxicology in vitro*, 22, 301–307.

Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940–949.

Xu, J. Z., Shen, J., Cheng, Y. Y., & Qu, H. B. (2008). Simultaneous detection of seven phenolic acids in Danshen injection using HPLC with ultraviolet detector. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 9(9), 728–733.

Yang, S. A., Jeon, S. K., Lee, E. J., Shim, C. H., & Lee, I. S. (2010). Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. *Natural Product Research*, 24(2), 140–151.

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

Yin, H., Fretté, X. C., Christensen, L. P., & Grevsen, K. (2012). Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(1), 136–143.

Yordi, E. G., Pérez, E. M., Matos, M. J., & Villares, E. U. (2012). Antioxidant and pro-oxidant effects of polyphenolic compounds and structure-activity relationship evidence. *Nutrition, well-being and health*, 2, 23–48.

Zhang, Y., Xiao, S., Sun, L., Ge, Z., Fang, F., Zhang, W., Wang, Y., & Cheng, Y. (2013). Rapid screening of bioactive compounds from natural products by integrating 5-channel parallel chromatography coupled with on-line mass spectrometry and microplate based assays. *Analytica chimica acta*, 777, 49–56.

Zheng, W., & Wang, S. Y. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 49(11), 5165–5170.

Zhu, M., Han, S., & Fink, A. L. (2013). Oxidized quercetin inhibits α -synuclein fibrillization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(4), 2872–2881.

Βαγενά Ε. (2014), Διπλωματική εργασία: Μελέτη της δράσης φαινολικών αντιοξειδωτικών σε εδάδιμα έλαια, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα.

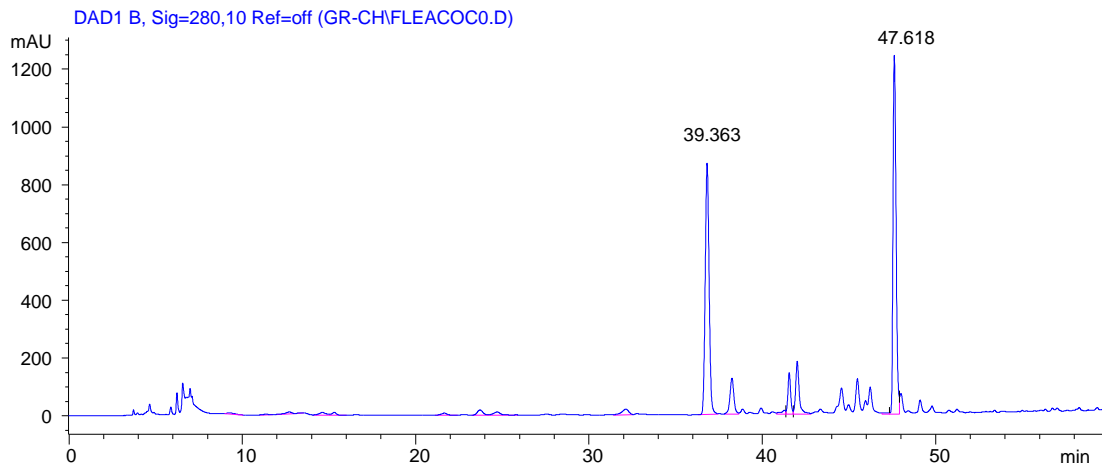
Δημάκου Χ. Π. (2010), Διδακτορική διατριβή: Μελέτη της επίδρασης ενδογενών και εξωγενών παραμέτρων στην οξείδωση λιπαρών σε γαλακτώματα, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα.

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

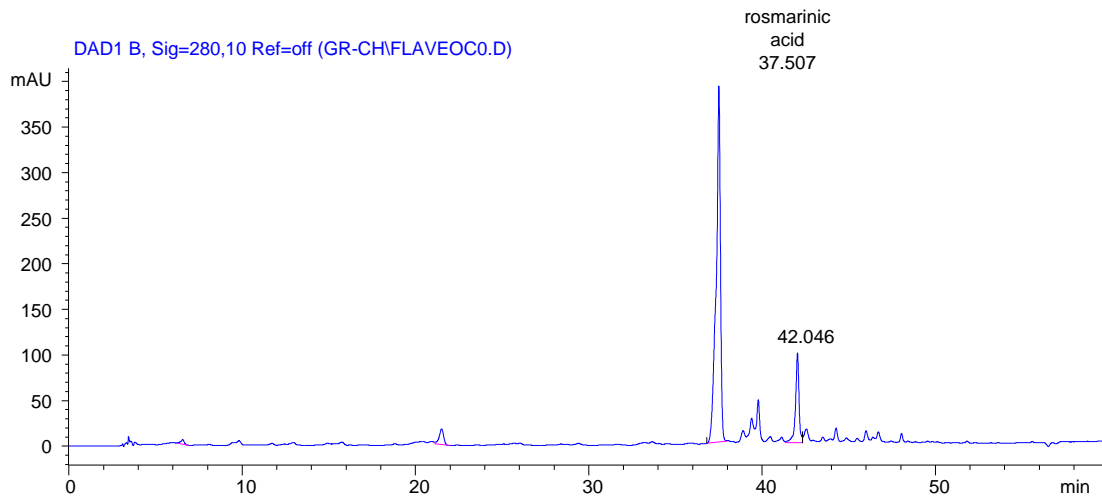
Παράρτημα

Παράρτημα Ι: Χρωματογραφήματα

ΕΑς ος

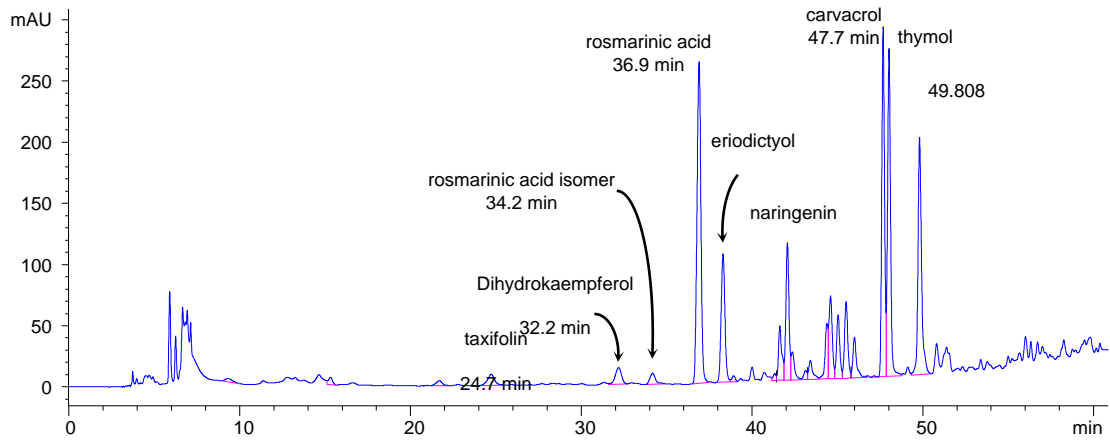


Εος



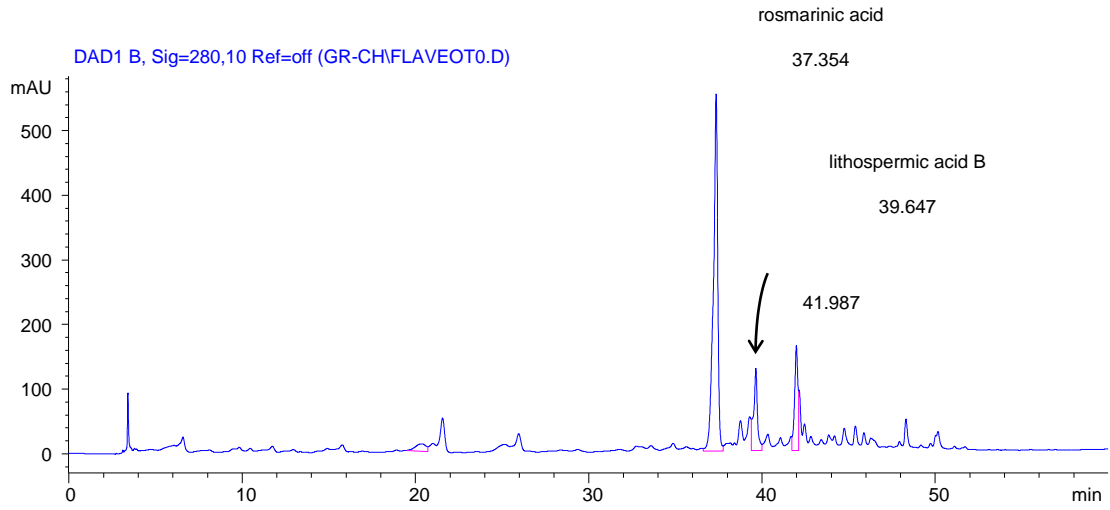
EAc OTC

DAD1 B, Sig=280,10 Ref=off (GR-CHFLEACOT0.D)

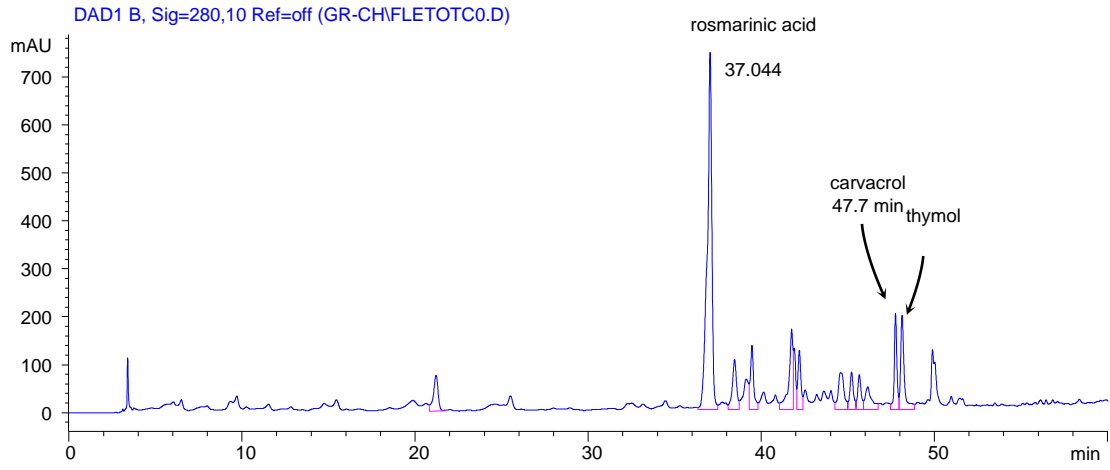


EOTC

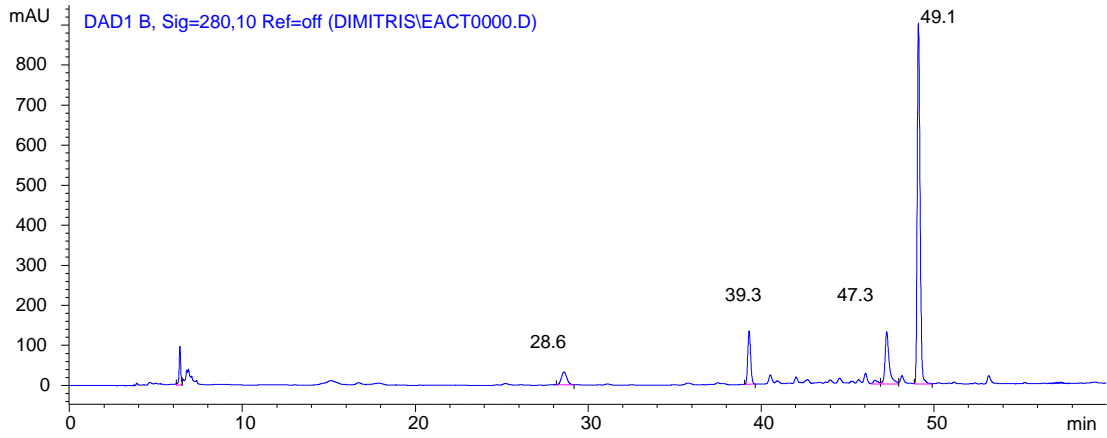
DAD1 B, Sig=280,10 Ref=off (GR-CHFLAVEOT0.D)



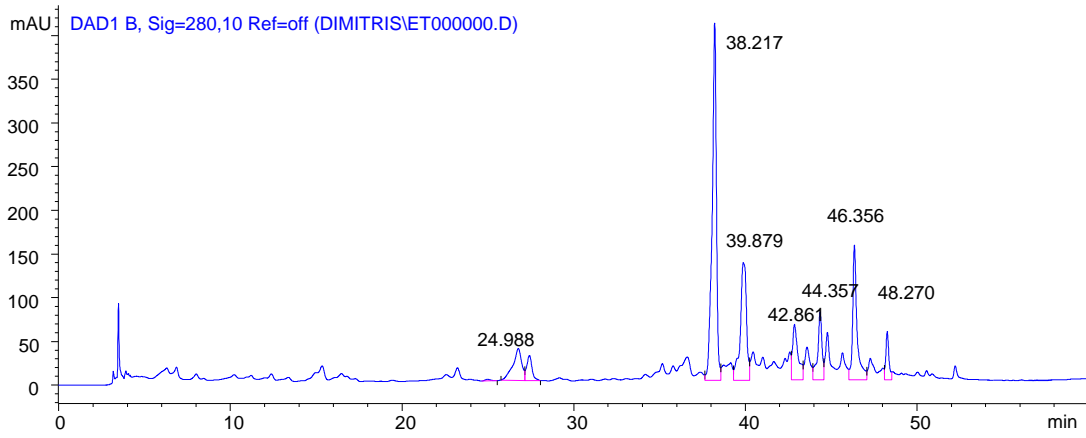
ETOTC



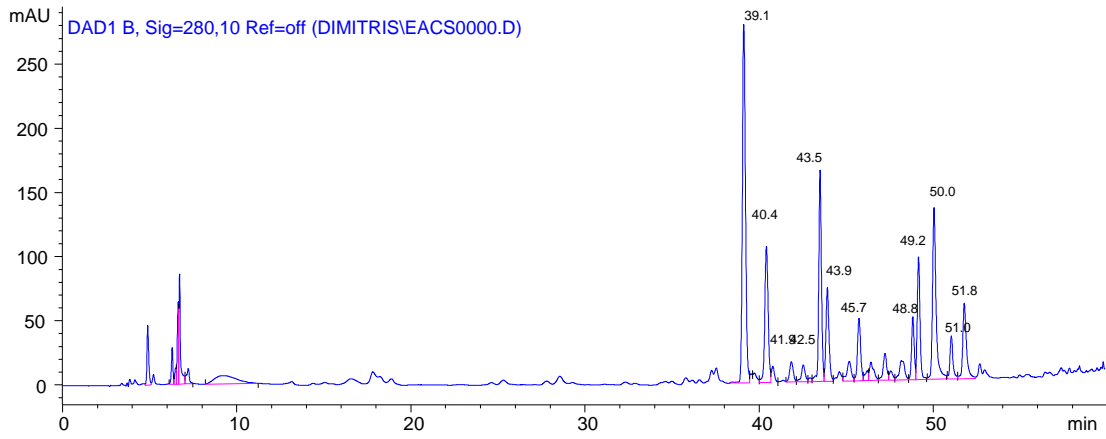
EACT



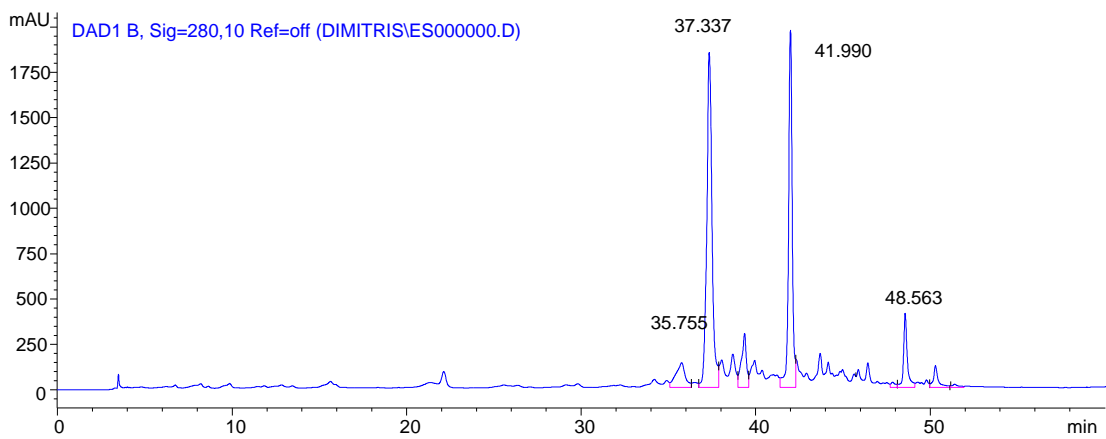
E_T

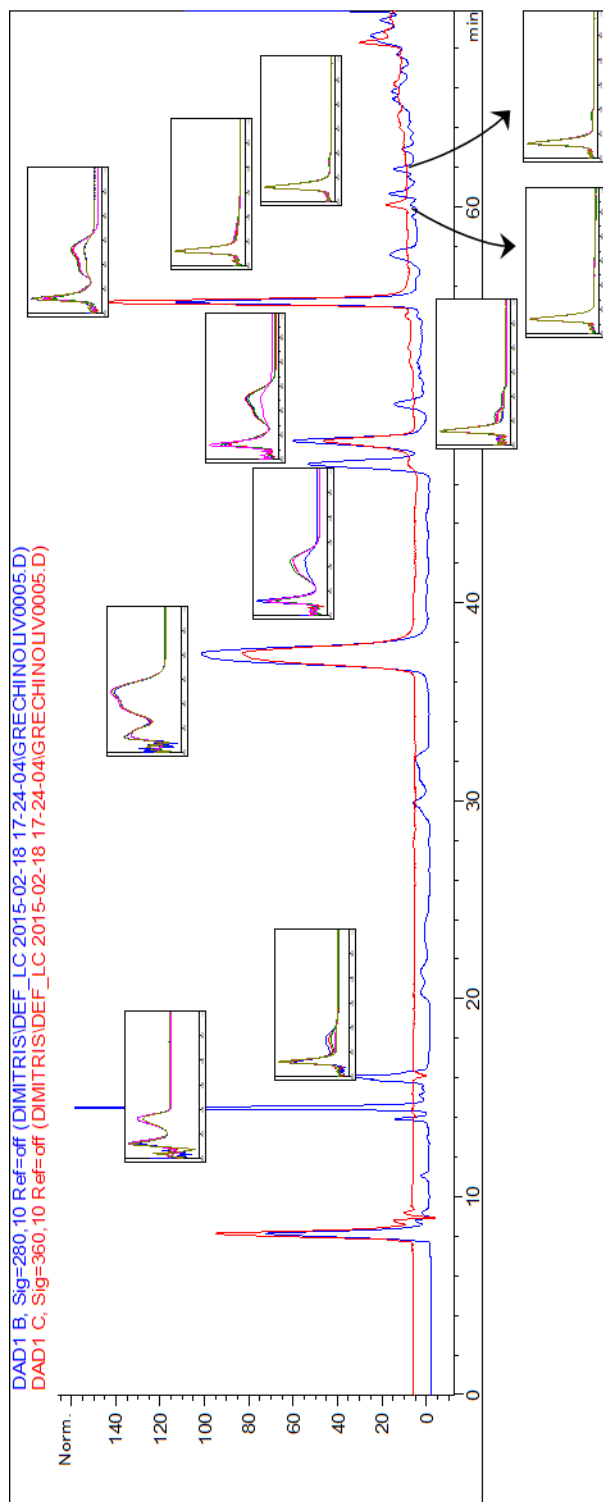


E_{AcS}

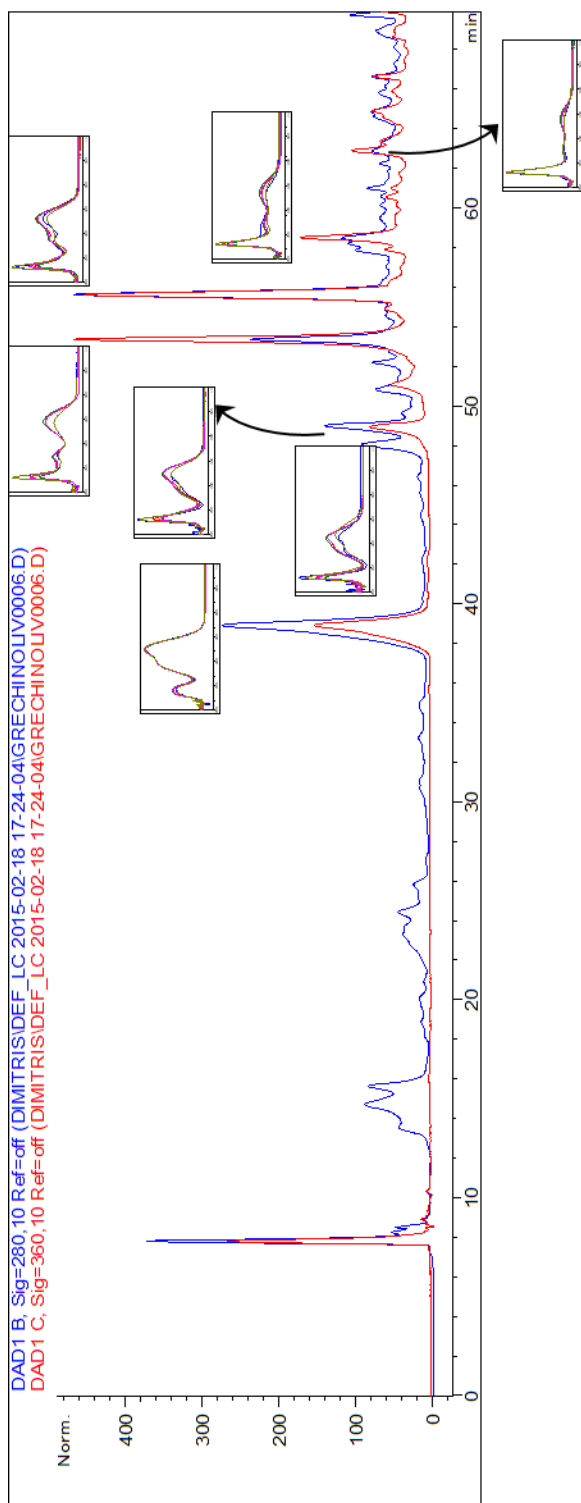


E_S





E_R



Παράρτημα II: Πρόσθετοι πίνακες

Πίνακας 1. Σύσταση φοινικέλαιου σε λιπαρά οξέα.

Οξύτητα (f.f.a), % (ελαϊκό οξύ)		< 0.3
Αριθμός Υπεροξειδίων (meq O ₂ / kg)		8.0 max.
<i>Λ</i>	Μυριστικό οξύ	1.03
<i>Ι</i>	Παλμιτικό οξύ	41.09
<i>Π</i>	Παλμιτελαϊκό οξύ	0.20
<i>Α</i>	Στεατικό οξύ	4.10
<i>Ρ</i>	Ελαϊκό οξύ	42.68
<i>Α</i>	Λινελαϊκό οξύ	10.38
	Λινολενικό οξύ	0.18
<i>Ο</i>	Αραχιδικό οξύ	0.34
<i>Ξ</i>	Εικοσαενικό οξύ	-
<i>Ε</i>	Βεχενικό οξύ	-
<i>Α</i>	Ερουκικό οξύ	-
	Υδρογονάνθρακες ορυκτελαίου	< 50ppm

Πίνακας 2. Σύσταση αραβοσιτέλαιου σε λιπαρά οξέα.

Λιπαρά οξέα (%)	Αραβοσιτέλαιο
C 14:0	0.04
C 16:0	11.70
C 16:1 (9)	0.15
C 18:0	2.00
C 18:1 (tr9)	0.05
C 18:1 (9)	30.54
C 18:2 (tr9, tr12)	0.16
C 18:2 (9,12)	53.68
C 18:3 (tr9, tr12, tr15)	0.08
C 18:3 (9,12,15)	0.86
C 20:0	0.42
C 20:1	0.21
C 22:0	0.11

Πίνακας 3. Σύσταση ηλιέλαιου σε λιπαρά οξέα.

Λιπαρά οξέα (%)	Ηλιέλαιο
C12:0	0.02
C14:0	0.06
C16:0	6.52
C16:1 (9)	0.11
C18:0	3.34
C18:1 (9)	27.67
C18:2	60.10
C20:0	0.25
C18:3 (9,12,15)	0.04
C20:1	0.16
C22:0	0.58

Πίνακας 4. Σύσταση σε τοκοφερόλες ηλιέλαιου και αραβοσιτέλαιου.

Τοκοφερόλες (μg/g ελαίου)	Ηλιέλαιο	Αραβοσιτέλαιο
α- τοκοφερόλη	354	156
β-, γ- τοκοφερόλες	59	749
δ- τοκοφερόλη	12	28
ολικές τοκοφερόλες	425	933

Δημοσιεύσεις σε επιστημονικά περιοδικά

1. Tsimogiannis, D., Choulitoudi, E., Bimpilas, A., Mitropoulou, G., Kourkoutas, Y. & Oreopoulou, V. (2016). Antioxidant and antimicrobial activity of *Satureja thymbra* essential oil and extracts. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 4, 12–20.
2. Choulitoudi, E., Bravou, K., Bimpilas, A., Tsironi, T., Tsimogiannis, D., Taoukis, P. & Oreopoulou, V. (2016). Antimicrobial and antioxidant activity of *Satureja thymbra* in gilthead seabream fillets edible coating. *Food and Bioproducts Processing*, 100, 570–577.
3. Ganiari, S., Choulitoudi, E., & Oreopoulou, V. (2017). Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 70–82.
4. Choulitoudi, E., Ganiari, S., Tsironi, T., Ntzimani, A., Tsimogiannis, D., Taoukis, P., & Oreopoulou, V. (2017). Edible coating enriched with rosemary extracts to enhance oxidative and microbial stability of smoked eel fillets. *Food Packaging and Shelf Life*, 12, 107–113.
5. Choulitoudi, E., Veliopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2020). Effect of active packaging with *Satureja thymbra* extracts on the oxidative stability of fried potato chips. *Food Packaging and shelf life*, 23, 100455.
6. Oreopoulou, A., Choulitoudi, E., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2021). Six common herbs with distinctive bioactive, antioxidant components. A review of their separation techniques. *Molecules*, 26(10), 2920.
7. Choulitoudi, E., Xristou, M., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2021). The effect of temperature on the phenolic content and oxidative stability of o/w emulsions enriched with natural extracts from *Satureja thymbra*. *Food Chemistry*, 349, 129206.