

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ-ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ-ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Ταυρίδου Ελένη

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ



**ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΕΝΘΥΛΑΚΩΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ
ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΩΝ**

Επιβλέπων καθηγητής :

Καραθάνος Βάιος

Τριμελής επιτροπή :

Καραθάνος Βάιος, Καθηγητής Χ.Π

Καλογερόπουλος Νίκος, Επίκουρος Καθηγητής Χ.Π

Χίου Αντωνία, Επίκουρη Καθηγήτρια Χ.Π

Αθήνα, Ιούνιος 2012

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
Ευχαριστίες	4
Περίληψη	5
Abstract	8
A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	10
A.1 Γενικά για τα διατροφικά συμπληρώματα	11
A.2 Μικροενθυλάκωση	12
A.2.1 Γενικά	12
A.2.2 Πλεονεκτήματα ενθυλάκωσης	12
A.2.3 Μέθοδοι ενθυλάκωσης	13
A.3 Μέσα εγκλεισμού	14
A.3.1 Άμυλο & τροποποιημένο άμυλο	14
A.3.2 Κυκλοδεξτρίνες	15
A.3.2.1 Β- κυκλοδεξτρίνη	18
A.3.2.2 Χρήσεις	18
A.4 Συντηρητικά	19
A.4.1 Σορβικό κάλιο	20
A.4.2 Βενζοϊκό νάτριο	20
A.5 Εκχυλίσματα με διατροφοδραστικά συστατικά	21
A.5.1 Λυκοπένιο	21
A.5.1.1 Γενικά και δομή	21
A.5.1.2 Βιοσύνθεση και μεταβολισμός	22
A.5.1.3 Πηγές και βιοδιαθεσιμότητα	23
A.5.1.4 Δράσεις	24
A.5.2 Συνένζυμο Q10	25
A.5.2.1 Γενικά και δομή	26
A.5.2.2 Πηγές και βιοδιαθεσιμότητα	26
A.5.2.3 Βιοσύνθεση και μεταβολισμός	28
A.5.2.4 Δράσεις	29
A.5.3 Κανέλα	31
A.5.3.1 Γενικά	31
A.5.3.2 Χημική σύσταση	32
i) Συναμαλδεΰδη	32
ii) Ευγενόλη	33
A.5.3.3 Χρήσεις	34
A.5.3.4 Δράσεις	34
A.5.4 Φασκόμηλο	36
A.5.4.1 Γενικά	36
A.5.4.2 Χημική σύσταση	37
i) Ροσμαρινικό οξύ	37
ii) Ουρσολικό οξύ	38
A.5.4.3 Χρήσεις	38
A.5.4.4 Δράσεις	39
A.5.5 Μελισσόχορτο	40
A.5.5.1 Γενικά	40
A.5.5.2 Χημική σύσταση	41
A.5.5.3 Χρήσεις	41

A.5.5.4	Δράσεις	42
A.5.6	Σπόροι σταφυλιών	44
A.5.6.1	Γενικά	44
A.5.6.2	Χημική σύσταση	44
A.5.6.3	Χρήσεις	45
A.5.6.4	Δράσεις	45
A.5.7	Μήλο πλούσιο σε πολυφαινόλες	46
A.5.7.1	Γενικά	46
A.5.7.2	Χημική σύσταση	46
A.5.7.3	Χρήσεις	47
A.5.7.4	Δράσεις	47
B.	ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΙΚΟΣ ΣΚΟΠΟΣ	49
Γ.	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	51
Γ.1	Συστατικά αντιοξειδωτικού ροφήματος	52
Γ.2.1	Παρασκευή αντιοξειδωτικού ροφήματος χωρίς β-κυκλοδεξτρίνη	53
Γ.2.2	Παρασκευή αντιοξειδωτικού ροφήματος με β-κυκλοδεξτρίνη	54
Γ.2.3	Προετοιμασία δειγμάτων	56
Γ.2.4	Παστερίωση δειγμάτων	56
Γ.2.5	Διατήρηση δειγμάτων	57
Γ.3	Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων	58
Γ.4	Προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu	60
Γ.5	Διαθλασιμετρία	62
Γ.6	Πεχαμετρία	64
Δ.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	66
Δ.1	Μελέτη αντιοξειδωτικής ικανότητας	67
Δ.2	Μελέτη φαινολικού περιεχομένου	73
Δ.3	Μέτρηση pH	76
Δ.4	Μέτρηση δείκτη διάθλασης	77
Ε.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ	80
	ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ	
ΣΤ.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	83

Στον αγαπημένο μου μπαμπά που με στηρίζει όλα αυτά τα χρόνια...

Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε από τη φοιτήτρια Ταυρίδου Ελένη του τμήματος Διαιτολογίας και Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Το Ερευνητικό κομμάτι της μελέτης διεκπεραιώθηκε στο εργαστήριο Χημείας, Φυσικοχημεία και Βιοχημείας Τροφίμων κατά το ακαδημαϊκό έτος 2011-2012, υπό την επίβλεψη του καθηγητή του τμήματος, Βάιου Τ. Καραθάνου.

Στον κύριο Καραθάνο οφείλω τις θερμές ευχαριστίες μου για το αμείωτο ενδιαφέρον τόσο κατά την εκτέλεση των πειραμάτων όσο και για τη διόρθωση της εργασίας, την άριστη επικοινωνία και την αμέριστη υποστήριξή του καθ' όλη τη διάρκεια της πραγματοποίησης της παρούσας πτυχιακής μελέτης.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερω το Γιάννη Μουρτζίνο, εμπνευστή της ιδέας της μελέτης, όχι μόνο για την αδιάκοπη καθοδήγηση και βοήθεια κατά την πραγματοποίηση του πειραματικού μέρους αλλά και για τη ψυχολογική υποστήριξη και κυρίως για την εμπιστοσύνη που έδειξε το πρόσωπό μου σε όλη την πορεία της συνεργασίας μας.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Πάνο Ηγουμενίδη, την Αγγελική Κατσαρού, τη Μερόπη Παπουτσή, τη Λέκκα Ελένη, τη κυρία Μαργαρίτα Χρηστέα καθώς και τη λέκτορα του τμήματος, κυρία Καλιώρα Ανδριάννα για τη συνδρομή τους στις πειραματικές διαδικασίες, τια συμβουλές αλλά και την ηθική υποστήριξη που προσέφεραν.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στους καθηγητές της τριμελούς επιτροπής που μου έδωσαν την ευκαιρία να αποτελέσω μέρος του εργαστηριακού δυναμικού τη χρονιά αυτή και να συνεργαστώ με τον πιο εποικοδομητικό τρόπο με τα μέλη του. Τέλος, οφείλω να ευχαριστήσω το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο για τη διάθεση του εργαστηριακού χώρου και την παραχώρηση των απαραίτητων οργάνων για την πραγματοποίηση των πειραμάτων καθώς και τους συμφοιτητές που κατά τη διάρκεια της χρονιά εργαζόντουσαν επίσης στο εργαστήριο.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα διατροφικά συμπληρώματα είναι μια ειδική κατηγορία τροφίμων που περιέχουν τουλάχιστον ένα διατροφοδραστικό συστατικό (βιταμίνες, λιπαρά οξέα, αντιοξειδωτικά κα). Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον και η χρήση τους έχουν αυξηθεί κατακόρυφα σε παγκόσμια κλίμακα αλλά και στη χώρα μας. Πολλοί λόγοι συντέλεσαν με κυριότερους : την πρόοδο που σημειώθηκε στην τεχνολογία τροφίμων και την ανάπτυξη νέων τεχνικών χειρισμού και εμπλουτισμού των τροφίμων καθώς και η αναγνώριση και η καθιέρωση της διαφήμισης και του μάρκετινγκ ως ξεχωριστό και βαρυσήμαντο τομέα των βιομηχανιών.

Η τεχνική της ενθυλάκωσης χρησιμοποιείται εδώ και αρκετές δεκαετίες στη βιομηχανία φαρμάκων, ενώ τα τελευταία χρόνια μπήκε δυναμικά και στο χώρο των τροφίμων όπου πέρα από την κάλυψη αρωμάτων και οσμών, άρχισε να χρησιμοποιείται στον εμπλουτισμό τροφίμων για την ανάπτυξη των λεγόμενων “λειτουργικών τροφίμων”. Η μέθοδος αυτή παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα, όπως την αύξηση του χρόνου ημίσειας ζωής των ενθυλακωμένων, δραστικών συστατικών, την αύξηση της διαλυτότητας τους, την προστασία έναντι μικροβιακών μολύνσεων αλλά και από το φαινόμενο της οξείδωσης.

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία διερευνήθηκε η επίδραση της ενθυλάκωσης με τη χρήση της β-CD στην ανάπτυξη διατροφικών συμπληρωμάτων. Ειδικότερα, παρασκευάστηκε διατροφικό συμπλήρωμα σε μορφή ροφήματος με αντιοξειδωτικό χαρακτήρα. Για την παρασκευή του χρησιμοποιήθηκαν 2 συστατικά με βιταμινική δράση (λυκοπένιο και Q10) και 5 φυτικά εκχυλίσματα (εκχύλισμα κανέλας, εκχύλισμα φασκόμηλου, εκχύλισμα μελισσόχορτου, εκχύλισμα σπόρων σταφυλιών και εκχύλισμα μήλου πλούσιο σε πολυφαινόλες). Όσον αφορά τα 2 πρώτα, η αντιοξειδωτική δράση τους αποδίδεται σε δομικά χαρακτηριστικά ενώ στα φυτικά εκχυλίσματα έγκειται στα φυσικά αντιοξειδωτικά συστατικά που περιέχουν : φαινολικά, φλαβονοειδή, μονοτερπένια, διτερπένια, κα. Το ρόφημα παρασκευάστηκε σε δύο εκδοχές. Σε μία που περιείχε μόνο τα προαναφερθέντα εκχυλίσματα και σε μία όπου εμπλουτίστηκε με β-CD.

Ακολούθως πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της αντιοξειδωτικής ικανότητας, του φαινολικού περιεχομένου, του pH και του δείκτη διάθλασης των δειγμάτων τόσο του

σκέτου όσο και του εμπλουτισμένου με β-CD ροφήματος σε 4 διαφορετικές συνθήκες κατά τη διάρκεια 8 εβδομάδων.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν οδήγησαν στα εξής συμπεράσματα :

- ❖ Ανεξαρτήτων συνθηκών, τα εμπλουτισμένα με β-CD δείγματα του ροφήματος παρουσίασαν ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση και φαινολικό περιεχόμενο σε όλες σχεδόν τις μετρήσεις από την 1^η έως και την 8^η εβδομάδα.
- ❖ Τα δείγματα του ψυγείου- τόσο του σκέτου ροφήματος όσο και το εμπλουτισμένου με β-CD- φάνηκε να υπερτερούν όσον αφορά την αντιοξειδωτική δράση και το φαινολικό περιεχόμενο, έναντι αυτών που αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, σε θερμοθάλαμο και σε μέρος που ήταν εκτεθειμένα στην υπεριώδη ακτινοβολία.
- ❖ Φάνηκε ότι τα δείγματα στα οποία διατηρήθηκαν καλύτερα τα φυσικά αντιοξειδωτικά ήταν εκείνα του εμπλουτισμένου ροφήματος που διατηρήθηκαν στο ψυγείο, γεγονός που υποδεικνύει ότι σε περίπτωση βιομηχανικής παρασκευής του συστήνεται να διατηρείται στο ψυγείο.
- ❖ Δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές ανάμεσα στα δείγματα που διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και σε εκείνα που ήταν εκτεθειμένα στην ηλιακή ακτινοβολία τόσο του σκέτου όσο και του εμπλουτισμένου ροφήματος. Αυτό σημαίνει ότι ένα τέτοιο προϊόν μπορεί να παρασκευαστεί και να διατηρηθεί είτε σε διαφανή είτε σε αδιαφανή συσκευασία.
- ❖ Σε κάθε περίπτωση, είτε πρόκειται για το σκέτο είτε για το εμπλουτισμένο ρόφημα, στα δείγματα που διατηρήθηκαν στο θερμοθάλαμο σημειώθηκε η μεγαλύτερη μείωση στη συγκέντρωση των φυσικών αντιοξειδωτικών.
- ❖ Οι φυσικοχημικές παράμετροι – pH και δείκτης διάθλασης-δεν επηρεάζονται από τη χρήση β-CD ενώ δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες μεταβολές αναφορικά με τις διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης. Παρουσιάστηκε μια σταδιακή και μικρής τάξης μείωση των τιμών του pH και του δείκτη διάθλασης από τη 2^η έως την 8^η εβδομάδα.

Abstract

Food supplements constitute a special group of food products which contain at least one nutraceutical ingredient that intends to supplement the diet (vitamins, fatty acids, antioxidants etc). During the last decades, their use as well as the consumers' interest have increased dramatically not only worldwide but also in our country. Several factors have contributed to this: the progress marked in the field of food technology and the development of new techniques of processing and enriching food, as well as the identification and official establishment of advertising and marketing as a special and momentous sector of industry.

The encapsulation technique has been used for decades in the pharmaceutical industry, but in recent years it has entered dynamically in the food industry where it is being used for several purposes such as to cover undesired scents and odors or to enrich foods for the development of the so-called "functional foods". This method has many advantages, such as the extension of biological half-life (disambiguation) of encapsulated, active compounds as well as their protection against oxidation – by increasing their solubility-, the protection against microbial infections, etc.

In the present study , we looked into the effect of encapsulation using the β -CD in the development of dietary supplements. More specifically, a liquid food supplement with a strong antioxidant character was manufactured. For the preparation we used 7 extracts: 2 extracts with vitaminic action (lycopene and Q10) and 5 herbal extracts (cinnamon, sage, *Melissa officinalis*, grape seed and polyphenol-rich apple). As far as the lycopene and CoQ10 are concerned, their antioxidant activity is attributed to their structural feature, while in herbal extracts to their natural antioxidant ingredients: phenolics, flavonoids, monoterpenes, diterpenes among others. The liquid food supplement was prepared in two versions. The first one contained only the aforementioned extracts, while the second one was enriched with β -CD.

Afterwards, measurements of the antioxidant activity, the phenolic content, the pH and the refractive index in samples of both the pure supplement and the one enriched with β -CD were conducted, under 4 different conditions during 8 weeks.

The results led to the following conclusions:

- ❖ Regardless of the conditions, samples fortified with β -CD exhibited stronger antioxidant capacity and phenolic content in almost all measurements from the first to the eighth week.
- ❖ Both pure and enriched with β -CD refrigerator samples seem to have had better results regarding their antioxidant activity and phenolic content, than those stored at room temperature, those placed in a warming drawer and those exposed to ultraviolet radiation.
- ❖ It appeared that the samples where natural antioxidants were better preserved were those of the enriched drink kept in the refrigerator, something that indicates that, in case of industrial production, it is recommended that the drink be kept refrigerated.
- ❖ There were no significant differences between the samples kept at room temperature and those exposed to solar radiation, of both pure and fortified with β -CD supplement. This means that such a product can be manufactured and maintained in either transparent or opaque packaging.
- ❖ In any event, be it of either pure or enriched supplement, the samples kept in the drawer showed the greatest reduction in the concentration of natural antioxidants.
- ❖ The physicochemical parameters –the pH and the refractive index– are not affected by the use of β -CD, as there were no significant changes on the different storage conditions. Only a gradual and of small scale reduction in the price range of the pH and refractive index was detected, from the second to the eighth week.

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A.1 Γενικά για τα διατροφικά συμπληρώματα :

Σύμφωνα με τη Dietary Supplement Health and Education Act (DSHEA) του 1994, ο όρος διατροφικό συμπλήρωμα αναφέρεται σε ένα προϊόν που λαμβάνεται από το στόμα και περιέχει τουλάχιστον ένα διατροφικό συστατικό που σκοπό έχει να ενισχύσει τη διαίτα. Τα συστατικά αυτά μπορεί να είναι βιταμίνες, ιχνοστοιχεία, βότανα, αμινοξέα ή άλλες ουσίες όπως ένζυμα, ιστοί, μεταβολίτες αλλά και εκχυλίσματα. Η μορφή τους ποικίλει από ταμπλέτες, κάψουλες, ζελέδες, υγρά ή σκόνη. Οποιαδήποτε και αν είναι η μορφή τους, η DSHEA, τα οριοθετεί ως μια ειδική κατηγορία τροφίμων, και όχι φαρμάκων, που οφείλουν να αναγράφουν στην ετικέτα τους τον όρο διαιτητικό συμπλήρωμα (FDA).

Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί η χρήση των συμπληρωμάτων παγκοσμίως επομένως και ο τζίρος. Ενδεικτικά, αναφέρεται ότι ο τζίρος από τα διατροφικά συμπληρώματα από 33 δισ. δολάρια το 2000, ξεπέρασε τα 80 το 2010, με τις αγορές των ΗΠΑ, της Ευρώπης και της Ιαπωνίας να κυριαρχούν και να αντιπροσωπεύουν πάνω από το 90%. Στην Ευρώπη, η μεγαλύτερη κίνηση παρατηρείται στη Γερμανία, τη Γαλλία, την Ολλανδία και το Ην. Βασίλειο με τη Ρωσία, την Πολωνία, την Ουκρανία και την Ισπανία να αποτελούν ανερχόμενες δυνάμεις. Γενικά, υπάρχει ετερογένεια στις ευρωπαϊκές χώρες όσον αφορά την αποδοχή και χρήση, με το μεγαλύτερο ενδιαφέρον να παρατηρείται στη Β. Ευρώπη και το μικρότερο στη Μεσόγειο, όπου κυριαρχεί το πρότυπο των φρέσκων και φυσικών προϊόντων. (Siro et al, 2008)

Πολλοί λόγοι έχουν συντελέσει στην αυξημένη χρήση διατροφικών συμπληρωμάτων, οι επικρατέστεροι των οποίων είναι : η πληθυσμιακή αύξηση του ηλικιακού φάσματος της τρίτης ηλικίας και οι απαιτήσεις της ηλικιακής αυτής ομάδας για καλύτερη ποιότητα ζωής, το αυξημένο κόστος ιατρικής φροντίδας και η μειωμένη εμπιστοσύνη στη συμβατική ιατρική. Δημογραφικοί παράγοντες αλλά και άλλοι που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής φαίνεται να επηρεάζουν την κατανάλωση των συμπληρωμάτων (Siro et al, 2008). Γενικά, έχει βρεθεί ότι οι λευκές γυναίκες, της τρίτης ηλικίας και μέσης εκπαίδευσης είναι η ομάδα που τα χρησιμοποιεί περισσότερο αν και οι παραπάνω παράμετροι διαφοροποιούνται ανάλογα με το εκάστοτε προϊόν. Κάθε συστάδα του πληθυσμού ανάλογα με το φύλο, την ηλικία και

τα κίνητρα εμφανίζει διαφοροποιήσεις όσον αφορά την προθυμία να δοκιμάσει κάποιο διατροφικό συμπλήρωμα(Jong et al, 2003). Μεγάλη έρευνα που έλαβε χώρα στις ΗΠΑ και την Ουρουγουάη, φανέρωσε ότι καθοριστικό ρόλο στην απήχηση των διατροφικών συμπληρωμάτων παίζει το αρχικό τρόφιμο, το συστατικό που εμπλουτίζεται καθώς και ο συνδυασμός αυτών. Επίσης, επηρεάζει το υποσχόμενο αποτέλεσμα που χαρίζει το συμπλήρωμα, η εικόνα του προϊόντος στο ράφι, η τιμή και η γεύση του-και μάλιστα σε μεγαλύτερο βαθμό- αλλά και η διαφήμιση γύρω από το προϊόν (Ares et al, 2007)

A.2 Μικροενθυλάκωση :

A.2.1 Γενικά :

Μικροενθυλάκωση ή μικροεγκλεισμός καλείται η τεχνική κατά την οποία μια ουσία ή ένα μίγμα ουσιών σε στερεή, υγρή ή αέρια φάση περιβάλλεται από ένα υπόστρωμα που χαρακτηρίζεται ως μέσο εγκλεισμού, οδηγώντας στη δημιουργία μικροσκοπικών καψουλών. Οι κάψουλες αυτές μπορούν να απελευθερώσουν το περιεχόμενό τους σε ελεγχόμενο βαθμό κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες (Fang et al, 2010).

Η πρώτη αναφορά σχετικά με την τεχνική της ενθυλάκωσης βρίσκεται πίσω στο 1800 οπότε ο φαρμακοποιός Urjohm χρησιμοποίησε υδατικό διάλυμα ζάχαρης για να ψεκάσει στερεά σωματίδια υπό ανάδευση μέσα σε κυλινδρικό σωλήνα. Ακολούθως, χρησιμοποιήθηκε στη φαρμακοποιία για την κάλυψη της δυσάρεστης γεύσης φαρμακευτικών ουσιών/ σκευασμάτων (Versic, 1988).

Άλλοι όροι που χρησιμοποιούνται για το μέσο εγκλεισμού είναι μεμβράνη, μεταφορέας (carrier) , βάση εγκλεισμού ή κάλυμμα (crust),και μπορεί να ανήκει στα σάκχαρα, τις πρωτεΐνες, τους φυσικούς ή τροποποιημένους πολυσακχαρίτες, τα λιπίδια ή τα συνθετικά πολυμερή. Από την άλλη, το συστατικό προς ενθυλάκωση καλείται αλλιώς εσωτερική ή ενεργή φάση, πυρηνικό υλικό (core material) ή φορτίο (payload) (Fang et al, 2010).

Ο βασικός στόχος της τεχνικής είναι η προστασία του πυρηνικού υλικού από δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες/επιδράσεις όπως η επίδραση της ακτινοβολίας του φωτός, η οξείδωση, η υγρασία συνεισφέροντας έτσι στην αύξηση του χρόνου ημίσειας ζωής του προϊόντος και ευοδώνοντας την ελεγχόμενη απελευθέρωση του περιεχομένου της κάψουλας (Szente and Szejtli, 2004, Schrooyen *et al.*, 2001).

A.2.2 Πλεονεκτήματα ενθυλάκωσης διατροφοδραστικών συστατικών:

- Αύξηση της διαλυτότητας των ουσιών στο εκάστοτε μέσο εγκλεισμού
- Προστασία από επιμολύνσεις προερχόμενες από παθογόνους και μη μικροοργανισμούς
- Αύξηση του χρόνου ημίσειας ζωής των ενθυλακωμένων συστατικών και κατ' επέκταση του χρόνου αποθήκευσης
- Μείωση ή/και εξάλειψη δυσάρεστης γεύσης και οσμής
- Ο διαχωρισμός των συστατικών καθώς και η μείωση των αλληλεπιδράσεων των συστατικών
- Διατήρηση του αρώματος κατά το χρονικό διάστημα αποθήκευσης
- Η μετατροπή ουσιών που βρίσκονται σε υγρή μορφή σε σκόνη, γεγονός που καθιστά ευκολότερο το χειρισμό τους και συνάμα μειώνει το κόστος αποθήκευσης και επεξεργασίας.
- Προστασία των ενθυλακωμένων συστατικών από αντιδράσεις επαγόμενες από τη θερμότητα και την ηλιακή ακτινοβολία.
- Καθυστέρηση της οξείδωσης και κατ' επέκταση μείωση των παραγόμενων τοξικών προϊόντων
- Η ελεγχόμενη απελευθέρωση των δραστικών συστατικών που εξαρτάται από το εκάστοτε μέσο εγκλεισμού και τις επικρατούσες συνθήκες.
- Η προστασία υδροσκοπικών ουσιών από την υγρασία (Baranauskiene *et al*, 2007; Mourtzinis *et al*, 2007; Madene *et al*, 2006; Szente and Szejtli, 2004, Fang *et al*, 2010).

A.2.3 Μέθοδοι ενθυλάκωσης:

Κάνοντας μία ανασκόπηση στη βιβλιογραφία διαπιστώνεται ότι οι πιο γνωστές μέθοδοι ενθυλάκωσης είναι οι εξής :

- Σχηματισμός συμπλόκων εγκλεισμού (inclusion complex)
- Συγκρυστάλλωση (co-crystallization)
- Περιστρεφόμενος δίσκος (spinning disk)
- Λυοφιλίωση ή ξήρανση με κατάψυξη (lyophilization/freeze-drying)
- Προσρόφηση (adsorption)
- Διαχωρισμός φάσεων (coacervation)
- Ξήρανση με ψεκασμό (spray drying)
- Ψύξη με ψεκασμό (spray cooling/spray chilling)
- Ρευστοποιημένη κλίνη (fluidized bed)
- Εξώθηση ή εκβολή (extrusion) (Mourtzinou et al, 2007, Fang et al, 2010, Shahidi F. et al,1993)

A.3. Μέσα εγκλεισμού :

Πολλές ουσίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέσα εγκλεισμού ανάλογα με την εκάστοτε περίπτωση, τις ανάγκες και τα επιθυμητά αποτελέσματα. Παραδείγματα τέτοιων ενώσεων είναι τα λίπη, οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες, κάποια κόμματα, η κυτταρίνη αλλά και συνδυασμός των παραπάνω. Για την επιλογή της κατάλληλης ουσίας λαμβάνεται υπόψη, καταρχήν, η φύση του προς ενθυλάκωση συστατικού αλλά και άλλοι παράγοντες. Απαιτείται, το μέσο εγκλεισμού να μην αντιδρά με το συστατικό, να έχει χαμηλό ιξώδες και να το προστατεύει σε όσο το δυνατό μεγαλύτερο βαθμό από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Επίσης, πρέπει το μέσο να γαλακτωματοποιείται εύκολα και να καθιστά εφικτή την ελεγχόμενη απελευθέρωση των δραστικών συστατικών σε καθορισμένο χρονικό διάστημα. Επιπρόσθετα, σε περίπτωση χρήσης του μέσου εγκλεισμού για τη δημιουργία συμπλόκου που προορίζεται να προστεθεί σε τρόφιμο και άλλες παράμετροι πρέπει να ληφθούν υπόψη. Πρέπει το μέσο να έχει λάβει έγκριση για σχετική χρήση από την ευρωπαϊκή αρχή για την ασφάλεια των τροφίμων (EFSA) ή τον αμερικάνικο οργανισμό τροφίμων και φαρμάκων (FDA) καθώς και να εξασφαλιστεί ότι θα πληρούνται οι

προαπαιτήσεις του τροφίμου και θα έχουμε το επιθυμητό προϊόν (Madene *et al*, 2006).

A.3.1 Άμυλο & τροποποιημένο άμυλο :

Το άμυλο είναι ένας από τους πιο κοινούς πολυσακχαρίτες και αποτελεί τη μορφή με την οποία τα φυτά αποθηκεύουν τη γλυκόζη που συνθέτουν. Η δομική του μονάδα είναι η μαλτόζη και απαντάται σε δύο μορφές : την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη. Δομική μονάδα και της αμυλόζης είναι η μαλτόζη. Τα μόρια της γλυκόζης σε αυτή τη μορφή αμύλου συνδέονται μεταξύ τους με α(1-4) γλυκοζιτικούς δεσμούς, ενώ σημειώνεται ότι η μορφή αυτή δεν έχει διακλαδώσεις. Αντίθετα, η αμυλοπηκτίνη έχει διακλαδώσεις. Και εδώ τα μόρια γλυκόζης συνδέονται με α(1-4)γλυκοζιτικό δεσμό αλλά κάθε 30 μόρια γλυκόζης υπάρχει διακλάδωση με α(1-6)γλυκοζιτικό δεσμό. Και οι δύο αυτές μορφές αμύλου απαντώνται σε πολλά τρόφιμα, φυτικής προέλευσης, όπως το ρύζι, τα δημητριακά, οι πατάτες, τα όσπρια, το καλαμπόκι κα όπου αμυλοπηκτίνη αποτελεί το 80-85% του συνολικού αμύλου και η αμυλόζη το 15-20%. (Δημόπουλος & Αντωνοπούλου, 2000)

Το τροποποιημένο άμυλο είναι εδώδιμο άμυλο που έχει υποστεί χημική ή ενζυμική επεξεργασία που ακολουθεί τους κανόνες της καλής βιομηχανικής πρακτικής (G.M.P) και έχουν μεταβληθεί ορισμένα χαρακτηριστικά του, γεγονός που το καθιστά κατάλληλο για περισσότερες χρήσεις στη βιομηχανία τροφίμων. Είναι άγευστες, λευκές ή υπόλευκες σκόνες και απαντώνται σε διάφορες μορφές όπως νιφάδες και συσσωματώματα. Χρησιμοποιούνται συχνά ως παχυντικοί και ως σταθεροποιητές. Παραδείγματα τροποποιημένου αμύλου είναι :

- ➔ Δεξτρίνες
- ➔ Οξειδωμένο άμυλο
- ➔ Λευκασμένο άμυλο
- ➔ Υποκατεστημένο άμυλο (π.χ. εστεροποίηση με οκτενυλοηλεκτρικό ανυδρίτη)
- ➔ Μερικώς φωσφορυλιωμένο άμυλο
- ➔ Άμυλο με σταυροειδείς δεσμούς (Nilsson *et al.*, 2007; Μπόσκου, 2004)

Οι τροποποιήσεις που υφίσταται του προσδίδουν γαλακτωματοποιητικές ικανότητες και δυνατότητα σύζευξης με υδρόφοβα μόρια. Έτσι, το τροποποιημένο άμυλο χρησιμοποιείται ως μέσο εγκλεισμού για την ενθυλάκωση πτητικών ουσιών, σχηματίζοντας σταθερά γαλακτώματα ενώ έχει και την ικανότητα να προστατεύει τις ουσίες αυτές κατά την ξήρανση και την αποθήκευση (Mourtzinou *et al.*, 2008; Charve *et al.*, 2009).

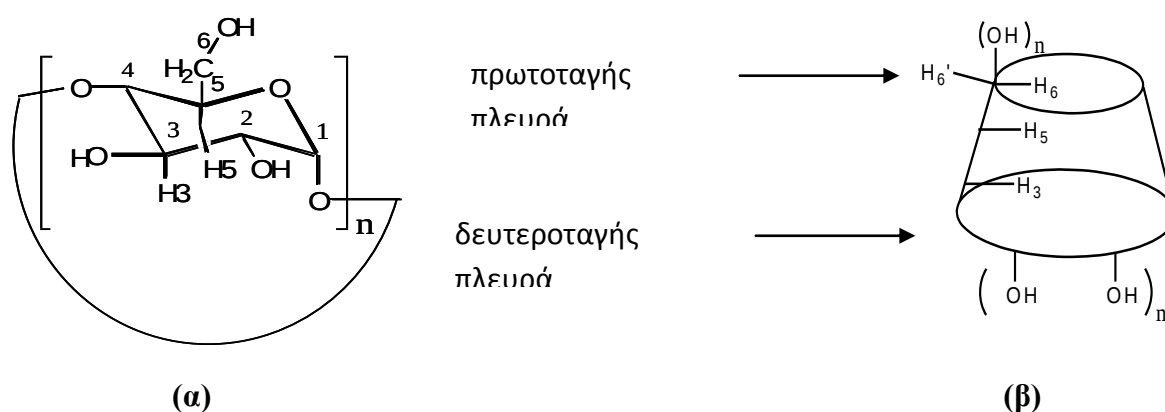
Πολυάριθμες είναι οι αναφορές σχετικά με τη χρήση του τροποποιημένου αμύλου ως μέσο ενθυλάκωσης σε τρόφιμα. Ενδεικτικά, αναφέρεται η χρήση του στην ενθυλάκωση του κάρδαμου καθώς και άλλων καρυκευμάτων όπως το κύμινο και το κόκκινο πιπέρι (Krishnan *et al.*, 2005; Kanakdande *et al.*, 2007). Έχει χρησιμοποιηθεί, επίσης, στην ενθυλάκωση των δραστικών τερπενίων της γερανιόλης και της θυμόλης, αλλά και της αρωματικής βανιλίνης (Chattopadhyaya *et al.*, 1998; Mourtzinou *et al.*, 2008).

A.3.2 Κυκλοδεξτρίνες :

Οι κυκλοδεξτρίνες ή κυκλοαμυλόζες-όπως αλλιώς ονομάζονται- είναι κυκλικοί ολιγοσακχαρίτες με δομική μονάδα τη α -D-γλυκοκυρανόζη και προέρχονται από την ενζυμική υδρόλυση του αμύλου. Η γλυκοζυλοτρανσφεράση, το ένζυμο που καταλύει το ενδομοριακό σπάσιμο της αλυσίδας του αμύλου απαντάται τόσο σε φυτά όσο και σε μικροοργανισμούς όπως *Bacillus macerans*, *Klebsiella oxytoca*, *Bacillus circulans*. Αξίζει να σημειωθεί ότι η γενετική μηχανική έχει καταστήσει δυνατή τη χρήση περισσότερων ενεργών ενζύμων διευκολύνοντας τη βιομηχανική παραγωγή κυκλοδεξτρινών. Ο όρος που χρησιμοποιήθηκε αρχικά για την περιγραφή των κυκλοδεξτρινών ήταν αμυλοσίνες, όταν 1891, ο A.Villers απομόνωσε μικρή ποσότητα μιας κρυσταλλικής ουσίας ως παραπροϊόν της καλλιέργειας ενός αμυλοβακτηρίου. Λίγο αργότερα, ο Schardinger, αναγνώρισε τις 3 βασικές κυκλοδεξτρίνες, α , β και γ στις οποίες προς τιμήν του αποδόθηκε ο όρος σάκχαρα του Schardinger. Μέχρι το 1950 είχαν καταφέρει να επιβεβαιώσουν ότι οι ενώσεις αυτές μπορούν να σχηματίσουν σταθερά υδατικά σύμπλοκα με άλλες χημικές ουσίες. Στα μέσα της δεκαετίας του '70 όλα τα φυσικά ανάλογα κυκλοδεξτρινών είχαν αναγνωρισθεί και χαρακτηριστεί χημικά και δομικά. Από τότε το επιστημονικό και

ερευνητικό ενδιαφέρον αναζωπυρώθηκε με πρωτοστάτη το Szejtli και τους συνεργάτες του πάνω στη χρήση της κυκλοδεξτρίνης στην τεχνική της ενθυλάκωσης για βιομηχανικές και φαρμακευτικές εφαρμογές (Szejtli, 1998).

Οι κυκλοδεξτρίνες συντίθενται από 5 ή περισσότερες μονάδες α-D-γλυκοπυρανόζης, που συνδέονται μεταξύ τους με α(1-4) γλυκοζυτικό δεσμό, και ο αριθμός των οποίων τις διακρίνει στις 3 βασικές ομάδες : α,β και γ-κυκλοδεξτρίνες με 6,7 ή 8 γλυκοζιτικές μονάδες αντίστοιχα. Η συστηματική ονομασία των παραπάνω κυκλοδεξτρινών είναι κυκλομαλτοεξαόζη, κυκλομαλτοεπταόζη και κυκλομαλτοοκταόζη. Έχουν γίνει πολυάριθμες μελέτες μέχρι σήμερα και χάρις στη χρήση της κρυσταλλογραφίας έχουμε πλέον μια σαφή εικόνα της δομής τους. Η δομή των α, β και γ-κυκλοδεξτρινών προσομοιάζει το σχήμα κώλου με δύο υδρόφιλες βάσεις, μία ευρύτερη και μία στενότερη, σχηματισμένες από τις δευτεροταγείς υδροξυλομάδες των C2, C3 και τις πρωτοταγείς υδροξυλομάδες των C6 αντίστοιχως (Σχήμα Α.1β). Η ιδιότητα των κυκλοδεξτρινών να σχηματίζουν σύμπλοκα εγκλεισμού με υδρόφοβα οργανικά μόρια εκρέει από το σχηματισμό της υδρόφοβης κοιλότητας στο εσωτερικό του μορίου, η οποία οριοθετείται από α άτομα H3, H5, H6 (Dodziuk, 2006; Szente and Szejtli 2004).



Σχήμα Α.1. (α) Δομική μονάδα α-D-γλυκοπυρανόζης των κυκλοδεξτρινών (α-CD n=6, βCD: n=7 γCD: n=8). (β) Σχηματική αναπαράσταση κυκλοδεξτρίνης υπό μορφή κώλου (κατά Dodziuk H, 2006)

Ο σχηματισμός των συμπλόκων διαφοροποιεί ορισμένες από τις φυσικές και χημικές ιδιότητες του ξενιζομένου μορίου, κυριότερες από τις οποίες είναι η αύξηση της

χημικής σταθερότητας έναντι του φωτός και της οξείδωσης, η ελάττωση της πτητικότητας, η αύξηση της διαλυτότητας στο νερό, η αλλαγή στις φωτοχημικές ιδιότητες κ.α. Σημειώνεται, επίσης, ότι το μέγεθος της κοιλότητας των κυκλοδεξτρινών επιτρέπει την εκλεκτική δέσμευση ορισμένων μορίων (Szejtli, 1998; Szente and Szejtli, 2004).

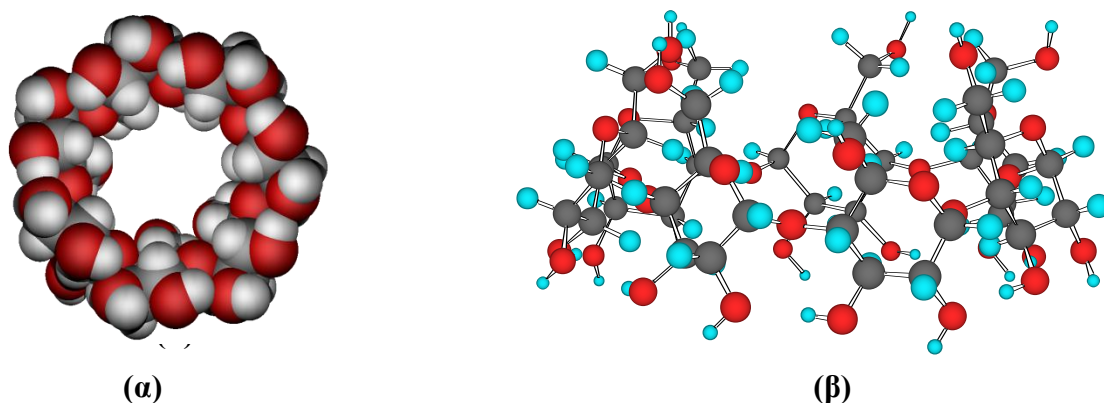
Τα τελευταία 20 χρόνια μια σειρά μεγαλύτερων κυκλοδεξτρινών απομονώθηκαν και μελετήθηκαν, οι δ-, ε-, ζ-, και η- και θ-κυκλοδεξτρίνες, με 9, 10, 11 12 και 13 γλυκοζιτικές μονάδες, αντίστοιχα. Από αυτές, η δ-κυκλοδεξτρίνη παρουσιάζει μεγαλύτερη διαλυτότητα στο νερό σε σχέση με τη β αλλά μικρότερη συγκριτικά με τις α και γ και είναι η λιγότερο σταθερή, με τη σειρά του βαθμού υδρόλυσης να έχει ως εξής : α-CD< β-CD<γ-CD<δ-CD. Αυτές οι μεγαλύτερου μεγέθους κυκλοδεξτρίνες δεν έχουν κανονική κυλινδρική δομή και η κοιλότητά τους είναι μικρότερη από αυτήν της γ-κυκλοδεξτρίνης. Έως σήμερα έχουν αναγνωριστεί πάνω από 1500 παράγωγα κυκλοδεξτρινών, η ταξινόμηση των οποίων γίνεται με βάση το μέγεθος και το είδος του υποκαταστάτη. Στον πίνακα Α.1 παρατίθενται τα πιο διαδεδομένα παράγωγα κυκλοδεξτρινών (Szejtli, 1998).

Πίνακας Α.1. Παράγωγα κυκλοδεξτρινών

Παράγωγα Κυκλοδεξτρινών		
α	β	γ
Μέθυλο-	Μεθυλο-	Μέθυλο-
	Αίθυλο-	
Βούτυλο-	Βούτυλο-	Βούτυλο-
	Υδροξυαιθυλο-	Υδροξυαιθυλο-
2-υδροξυπροπυλο-	2- υδροξυπροπυλο-	2- υδροξυπροπυλο-
Ακέτυλο-	Ακέτυλο-	Ακέτυλο-

Ηλεκτρύλο-	Προπιονύλο-	Ηλεκτρύλο-
	Βουτυρύλο-	
	Ηλεκτρύλο-	
	Βενζοΐλο-	
	Παλμιτύλο-	

A.3.2.1 Β-κυκλοδεξτρίνη :



Σχήμα Α.2. Τρισδιάστατη απεικόνιση της β-κυκλοδεξτρίνης, όπου φαίνεται **(α)** το μέγεθος της κοιλότητας σε αναπαράσταση και **(β)** η σχετική θέση των ατόμων σε αναπαράσταση.

Η β-κυκλοδεξτρίνη αποτελεί το πιο συνηθισμένο μέσω εγκλεισμού εξαιτίας της υψηλής ικανότητας που έχει να σχηματίζει σύμπλοκα και λόγω χαμηλού κόστους, σε σχέση με την α- και γ-κυκλοδεξτρίνη (Yuliani *et al*, 2006). Η β-κυκλοδεξτρίνη βρίσκεται στη λίστα των GRAS από το 1998, σε επίπεδα από 0,2-2% σε πολυάριθμα τρόφιμα, ροφήματα κα (FDA).

A.3.2.2 Χρήσεις :

Η ευρεία χρήση των κυκλοδεξτρινών έγκειται στην ικανότητά τους να σχηματίζουν σύμπλοκα με υδρόφοβα μόρια, όπως προαναφέρθηκε. Έτσι, βρίσκουν εφαρμογές σε πολλούς τομείς. Χάρη την ικανότητα τους να απενεργοποιούν τοξικές ουσίες όπως το

τριγλωροαιθάνιο ή βαρέα μέταλλα, έχουν χρησιμοποιηθεί σε σκευάσματα με οικολογικό χαρακτήρα. Επίσης, συχνή είναι η χρήση τους σε φαρμακευτικά σκευάσματα λόγω της ελεγχόμενης απελευθέρωσης των συστατικών που προσφέρουν. Διαδεδομένη είναι η χρήση τους στη βιομηχανία τροφίμων και καλλυντικών. Στην τελευταία βρίσκουν εφαρμογή μέσα από την κάλυψη ανεπιθύμητων οσμών και σταθεροποιώντας ασταθείς ενώσεις έτσι ώστε να επιμηκυνθεί το διάστημα κατά το οποίο είναι δραστικές στο σκεύασμα. Στη βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιούνται για την επικάλυψη δυσάρεστων γεύσεων και οσμών αλλά και ως γαλακτοματοποιητές (α-κυκλοδεξτρίνη). Την ικανότητά τους να σχηματίζουν σύμπλοκα εκμεταλλεύεται η βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιώντας τις στην παραγωγή προϊόντων χαμηλών σε χοληστερόλη. Παράδειγμα τέτοιου τροφίμου αποτελεί το βελγικό βούτυρο Balade. Η κυκλοδεξτρίνη σχηματίζει ένα σταθερό σύμπλοκο με το υδρόφοβο μόριο της χοληστερόλης το οποίο απομακρύνεται εύκολα από το λιωμένο βούτυρο, ενώ δεν αντιδρά με τα τριγλυκερίδια. Τέλος, έχει χρησιμοποιηθεί σε διατροφικά συμπληρώματα για απώλεια βάρους στα οποία η χρήση της έγκειται στη δέσμευση του λίπους (Artiss et al, 2006).

Παρακάτω συνοψίζονται οι κυριότερες χρήσεις των κυκλοδεξτρινών όσον αφορά τη μικροενθυλάκωση ουσιών στα τρόφιμα :

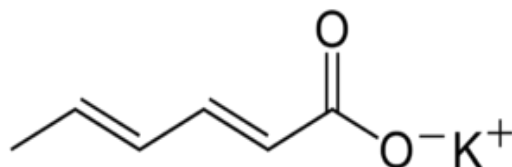
- ✓ υδατοδιαλυτών βιταμινών π.χ. ασκορβικού οξέος
- ✓ πρόσθετων τροφίμων π.χ. βανιλίνης
- ✓ λιποδιαλυτών βιταμινών π.χ. βιταμινών A, D, E, K και β-καροτενίου
- ✓ ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων
- ✓ ενισχυτικών γεύσης π.χ. λιμονενίου
- ✓ αντιοξειδωτικών (Kalogeropoulos et al, 2006)

A.4 Συντηρητικά :

Με τον όρο συντηρητικά εννοούμε ουσίες που μπορούν να επιμηκύνουν τη διάρκεια ζωής ενός τροφίμου, παρεμποδίζοντας την αποσύνθεση και οποιαδήποτε άλλη αλλοίωση. Στον όρο συμπεριλαμβάνονται ουσίες που δρουν καθαρά χημικώς αλλά και ενώσεις με αντιμικροβιακή δράση. Παρουσιάζονται διαφορές από χώρα σε χώρα τόσο σχετικά με το ποιες ενώσεις περιλαμβάνει ο όρος όσο και με τη χρήση ορισμένων κατηγοριών συντηρητικών. Παρόλα αυτά υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός συντηρητικών ευρέως διαδεδομένων και αποδεκτών σε όλες τις χώρες. (Μπόσκου, 2004)

Κατά το πειραματικό μέρος, στην παρασκευή του αντιοξειδωτικού ροφήματος χρησιμοποιήθηκαν δύο ευρύτατα χρησιμοποιούμενα συντηρητικά στη βιομηχανία τροφίμων – και κυρίως στη βιομηχανία αναψυκτικών-, το σορβικό κάλιο και το βενζοϊκό νάτριο.

A.4.1 Σορβικό κάλιο :

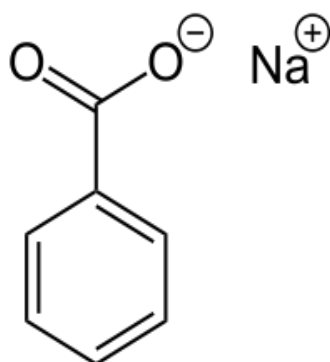


Σχήμα A.3 Σχηματική απεικόνιση της δομής του σορβικού καλίου

Το σορβικό κάλιο (E202) – δομή του οποίου φαίνεται στο σχήμα A.3- χρησιμοποιείται ευρύτατα σαν συντηρητικό σε πολλά τρόφιμα όπως κρασιά, χυμοί, τυριά, γιουρτσια και είναι δραστικό σε τιμές pH μικρότερες από 6,5 (Mutasa et al, 1990). Διαλύεται εύκολα στο νερό(ενδεικτικά αναφέρεται ότι διαλύεται σε ποσοστό 58,2% σε θερμοκρασία 20ο C) καθώς και σε αιθανόλη και προπυλενογλυκόλη. Η ενεργότητά του έγκειται στην προστασία που προσδίδει ενάντια στην ανάπτυξη και τη δράση των ευρωτομυκήτων, καθώς παρεμποδίζει τη δράση της δεϋδρογονάσης που είναι απαραίτητη στη β-οξείδωση των λιπιδίων αυτών. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ικανότητα αυτή του σορβικού παρατηρείται μόνο στους μύκητες καθώς σε πειράματα

in vivo φάνηκε ότι τα ζώα και οι άνθρωποι μπορούν να το μεταβολίσουν κανονικά. Συχνά χρησιμοποιείται σαν υποκατάστατο των χημικών parabens(εστέρες του π-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος). Τέλος, θεωρείται ασφαλές και συμπεριλαμβάνεται στα συντηρητικά GRAS(Generally Recognized As Safe,σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία των ΗΠΑ) (FAO Nutrition Meetings).

A.4.2 Βενζοϊκό νάτριο



Σχήμα Α.4. Σχηματική απεικόνιση της δομής του βενζοϊκού νατρίου

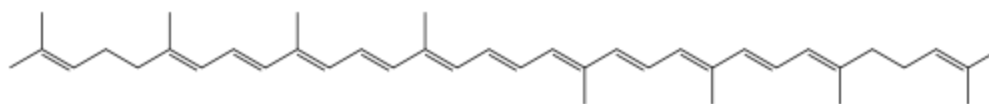
Το βενζοϊκό νάτριο (E211)είναι το νιτρικό άλας του βενζοϊκού οξέος και σχηματίζεται όταν το τελευταίο αντιδράσει με το υπεροξείδιο του νατρίου. Η δομή του φαίνεται στο σχήμα Α.4. Διαλύεται σε νερό και σε αιθανόλη (Nair, 2001). Το βενζοϊκό οξύ που περιέχεται στα μήλα, στην κανέλα, στα κράνα, στα αχλάδια και στο σκόρδο είναι δραστικότερο συντηρητικό από το άλας αυτού. Ωστόσο το τελευταίο προτιμάται εξαιτίας της καλύτερης διαλυτοποίησής του στο νερό. Ο μηχανισμός με τον οποίο δρα έχει να κάνει με την ικανότητά του να εισέρχεται και να μειώνει το pH στα τρόφιμα στα οποία προστίθεται κάτω από το 5. Με αυτόν τον τρόπο αναστέλλεται η δράση της φωσφοφρουκτοκινάσης και μειώνεται η αναερόβια γλυκόλυση στο 5% οδηγώντας στη δημιουργία ενός περιβάλλοντος που δεν ευνοεί την ανάπτυξη και τη δράση των ζυμών και των βακτηρίων(Hans,1983). Λόγω της ικανότητάς του να δρα σε τιμές pH 2,5-4,5 χρησιμοποιείται ευρέως σαν συντηρητικό σε όξινα τρόφιμα κυρίως, όπως σάλτσες για σαλάτα, χυμοί φρούτων, μαρμελάδες, υδατανθρακούχα ποτά ενώ συχνή είναι η χρήση του και σε φάρμακα και καλλυντικά. Όπως και το σορβικό κάλιο θεωρείται ασφαλές και υπάγεται στα GRAS (Nair, 2001; FDA).

A.5 Εκχυλίσματα με διατροφοδραστικά συστατικά :

Στα πλαίσια της μελέτης της επίδρασης της χρήσης β-CD στην ανάπτυξη διατροφικού συμπληρώματος παρασκευάστηκε διατροφικό συμπλήρωμα με τα ακόλουθα εκχυλίσματα : λυκοπένιο, συνένζυμο Q10, κανέλα, φασκόμηλο, μελισσόχορτο, σπόρους σταφυλιών, μήλο πλούσιο σε πολυφαινόλες . Όλα τα παραπάνω είναι γνωστό ότι διαθέτουν έντονο αντιοξειδωτικό χαρακτήρα αλλά και επιπρόσθετες ιδιότητες που καθιστούν τα εκχυλίσματά τους δραστικά. Ακολουθεί μια περιγραφή των εκχυλισμάτων και των συστατικών αυτών.

A.5.1 Λυκοπένιο :

A.5.1.1 Γενικά & Δομή :



Σχήμα Α.5 Σχηματική απεικόνιση της δομής του λυκοπένιου

Το λυκοπένιο είναι ένα κόκκινο καροτενοειδές και το όνομά του προέρχεται από το λατινογενές *Lycopersicum*, το όνομα της ποικιλίας ντομάτας από το οποίο απομονώθηκε. Αν και ανήκει στη οικογένεια των καροτενοειδών δεν έχει βιταμινική δράση της βιταμίνης Α (Omoni et al, 2005). Εξαιτίας του έντονου κόκκινου χρώματός του, χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων ως ενισχυτικό χρώματος φέροντας τον κωδικό E160d και η χρήση του έχει πιστοποιηθεί και εγκριθεί στις ΗΠΑ, την Αυστραλία, τη Νέα Ζηλανδία και την Ευρώπη. Όπως φαίνεται στο σχήμα Α.5, πρόκειται για ένα συμμετρικό τετρατερπένιο αποτελούμενο από 40 άτομα άνθρακα, που συνθέτουν 8 ισοπρενοειδείς μονάδες. Οι πρώτες αναφορές σχετικά με την απομόνωσή του βρίσκονται πίσω στο 1910, ενώ η δομή του αποσαφηνίστηκε το 1931 (Rao et al, 2007).

Είναι ένωση υψηλής ακορεστότητας και στα φυτά και τα φωτοσυνθετικά βακτήρια όλοι οι δεσμοί έχουν trans διαμόρφωση, και στη μορφή αυτή είναι σταθερότερο θερμοκρασιακά αν και έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερα από 70 γεωμετρικά ισομερή. Στην μορφή αυτή, η ανθρακική αλυσίδα είναι ευθεία και μακριά και περιέχει 11 εναλλασσόμενους διπλούς δεσμούς και δύο μη-εναλλασσόμενους διπλούς δεσμούς. Πιθανολογείται ότι η αντιοξειδωτική δράση του αποδίδεται στους εναλλασσόμενους διπλούς δεσμούς. Κατά την αποθήκευση και την επεξεργασία τροφίμων που περιέχουν λυκοπένιο, κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες-έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες ή φως- αυτοί οι εναλλασσόμενοι διπλοί δεσμοί μπορούν να υποστούν ισομερίωση και να προκύψουν διάφορα cis ισομερή (πχ 5-cis, 9 cis, 11-cis κα) (Rao et al,2007).

A.5.1.2 Βιοσύνθεση και μεταβολισμός:

Η βιοσύνθεσή του λαμβάνει χώρα σε φυτά και προκαρυωτικά κυανοβακτήρια ενώ οι οδοί βιοσύνθεσης είναι παρόμοιες όπως και τα εμπλεκόμενα ένζυμα. Η βιοσύνθεση ξεκινά με τη μετατροπή του μεβαλονικού οξέος σε διμέθυλο-αλλύλο-πυροφωσφορικό. Αυτό στη συνέχεια, με τη βοήθεια της γεράνυλο-γεράνυλο-φωσφορικής συνθάσης (GGPP) συντίθεται με τρία μόρια 3-ισοπεντένυλο-πυροφωσφορικού και δίνει με τη σειρά το γεράνυλο-πυροφωσφορικό, φαρνέζυλο-πυροφωσφορικό και τελικά γεράνυλο-γεράνυλο-πυροφωσφορικό, μια ένωση αποτελούμενη από είκοσι άτομα άνθρακα. Δύο τέτοια μόρια συντίθενται για να δώσουν το φυτένιο που αποτελεί πρόδρομη ένωση των καροτενοειδών. Από το τελευταίο προκύπτει το all-trans λυκοπένιο μέσα από το σχηματισμό διπλών δεσμών με τη βοήθεια δεσατουρασών.

Μετά την πρόσληψη του, εισέρχεται στα επιθηλιακά κύτταρα του λεπτού εντέρου με τη βοήθεια των λιποειδικών μικκυλίων. Τα μικκύλια αυτά συντίθενται από διαιτητικό λίπος και χολικά οξέα και υποβοηθούν την είσοδο του λυκοπενίου στη μικροχλωρίδα του εντέρου μέσω παθητικής διάχυσης. (Το γεγονός αυτό της εμπλοκής του διαιτητικού λίπους στο μεταβολισμό του λυκοπενίου πιθανότατα εξηγεί γιατί η σύγχρονη λήψη λίπους αυξάνει την απορρόφηση και τη βιοδιαθεσιμότητα του). Έπειτα, το λυκοπένιο εξέρχεται από τα επιθηλιακά κύτταρα μέσω των χυλομικρών και μεταφέρεται στο πλάσμα του αίματος και τους διάφορους ιστούς μέσω της

λέμφου. Στο πλάσμα, τελικά, ενσωματώνεται στα λιποπρωτεϊνικά κλάσματα χαμηλής και πολύ χαμηλής πυκνότητας. (Cunningham et al,2006)

A.5.1.3 Πηγές και βιοδιαθεσιμότητα :

Το λυκοπένιο απαντάται σε πολλά φρούτα και λαχανικά. Όπως φαίνεται και στον πίνακα Α.2, οι σημαντικότερες πηγές λυκοπένιου είναι το gac(*Momordica cochinchinensis* Spreng), οι ντομάτες, το καρπούζι, τα βερίκοκα, το ροζ γκρέιπφρουτ, η ροζ παπάγια και το γκουάβα. Το gac αν και έχει τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λυκοπένιο, ξεπερνώντας αυτήν της ντομάτας έως και 70 φορές δε θεωρείται αξιοσημείωτη πηγή λόγω της περιορισμένης διαθεσιμότητάς στην περιοχή καλλιέργειάς του(Νοτιοανατολική Ασία). Έτσι, οι ντομάτες και τα προϊόντα αυτών θεωρούνται οι κυρίαρχες πηγές διαιτητικού λυκοπένιου αντιπροσωπεύοντας πάνω από το 80% της συνολικής πρόσληψης λυκοπένιου και σχεδόν το 30% της πρόσληψης καροτενοειδών. Επίσης, το λυκοπένιο ανευρίσκεται σε μικρές ποσότητες στα σπαράγγια (30μg/100g) καθώς και στο βασιλικό (3,5-7 μg/g). Συχνά, σχηματίζεται λανθασμένα η εντύπωση ότι λυκοπένιο περιέχεται και σε άλλα κόκκινα φρούτα και λαχανικά όπως τα κόκκινα πορτοκάλια των οποίων το χρώμα οφείλεται στις ανθοκυανίνες.

Όσον αφορά την ανεύρεσή του στο ανθρώπινο σώμα, απαντάται στο ήπαρ, στους νεφρούς, στους θυρεοειδείς αδένες, στις ωθήκες και στον αδένα του προστάτη αποτελώντας συνολικά το 20-43% των συνολικών καροτενοειδών του ανθρώπινου σώματος. Αν και στα τρόφιμα κυριαρχεί η all-trans δομή, στον ανθρώπινο οργανισμό οι δύο μορφές βρίσκονται σε αναλογία 50-50.(Stahl et al,1996)

Αξίζει να σημειωθεί ότι το περιεχόμενο της ντομάτας σε λυκοπένιο εξαρτάται από την ποικιλία, την ωριμότητα αλλά και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Σε αντίθεση με ό,τι ισχύει για άλλες θρεπτικές ουσίες, στην περίπτωση του λυκοπένιου η επεξεργασία και το μαγείρεμα της ντομάτας αυξάνει τη συγκέντρωση και τη βιοδιαθεσιμότητα του. Ο πιθανός μηχανισμός αύξησης της βιοδιαθεσιμότητας είναι μέσω του σπασίματος του κυτταρικού τοιχώματος που αποδυναμώνει τις δυνάμεις των δεσμών και το καθιστά πιο εύκολα προσβάσιμο για τη cis ισομερίωση. Αναφέρεται ότι το λυκοπένιο από πάστα ντομάτας είναι 2,5-4 φορές περισσότερο

βιοδιαθέσιμο σε σχέση με τις ωμές ντομάτες. Επίσης, σημαντικό ρόλο στη βιοδιαθεσιμότητα και την απορρόφηση παίζουν οι διαφορετικές cis μορφές ενώ εν γένει οι τελευταίες είναι περισσότερο βιοδιαθέσιμες από την trans μορφή. Έχει βρεθεί ότι η σύσταση και η δομή των φαγητών έχει φανεί ότι έχει μεγάλη σημασία όσον αφορά τη βιοδιαθεσιμότητα και την απελευθέρωση του λυκοπένιου από τους ιστούς της ντομάτας (Rao et al, 2007; Omoni et al, 2005).

Πίνακας Α.2. Διαιτητικές πηγές λυκοπένιου (Rao et al, 2007)

Διαιτητικές πηγές λυκοπένιου	
Πηγή	μg/g υγρό βάρος
Gac	2,000–2,300
Ωμή ντομάτα	8.8–42
Ντοματοχυμός	86–100
Σάλτσα ντομάτας	63–131
Κέτσαπ	124
Καρπούζι	23–72
Ροζ γκρέιπφρουτ	3.6–34
Γκουάβα	54
Παπάγια	20–53

A.5.1.4 Δράσεις :

Γενικά, θεωρείται ότι έχει ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα, από όπου εκρέουν η αντικαρκινική και η αντιαθηρογόνος.

Αντιοξειδωτική δράση :

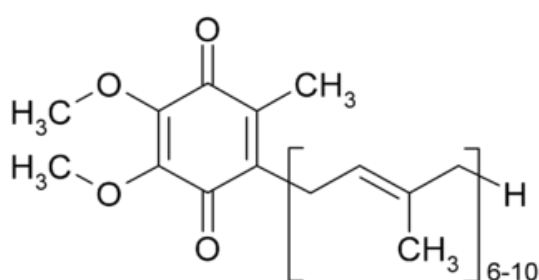
Μεγάλο είναι το πλήθος των ερευνών σχετικά με την αντιοξειδωτική δράση του λυκοπένιου. Εν γένει, η αντιοξειδωτική δράση αποδίδεται στους εναλλασσόμενους διπλούς δεσμούς. Σε σχετική έρευνα βρέθηκε ότι ο μηχανισμός δράσης έγκειται στην αναστολή της δράσης των βιοδραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), καθιστώντας το έτσι, έναν από τους σημαντικότερους προστατευτικούς αγωγούς που εμποδίζει την οξειδωτική καταστροφή. Τα ROS αντιδρούν ενδογενώς με τα κυτταρικά σωματίδια επάγοντας οξειδωτική καταστροφή σε λιπίδια, πρωτεΐνες και εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία των καρδιαγγειακών νοσημάτων και πολλών μορφών καρκίνου. Εναλλακτικός μηχανισμός δράσης, όσον αφορά τα καρδιαγγειακά, είναι μέσω αναστολής της αναγωγής του 3-υδρόξυ-3-μέθυλο-γλουταρύλο-CoA(HMG-CoA), του ενζύμου που ρυθμίζει τη σύνθεση της χοληστερόλης. Άλλη μελέτη επιβεβαίωσε την αντιοξειδωτική δράση του λυκοπένιου αλλά εκτός από την ικανότητα του να φυλακίζει ραδιενεργές μορφές την απέδωσε και σε έναν άλλο μηχανισμό, την καταστολή των μορίων μονοατομικού οξυγόνου που προκύπτουν από τη χλωροφύλλη με τη φωτοσύνθεση. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι το λυκοπένιο είναι πιο αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό από το β-καροτένιο και την α-τοκοφερόλη κατά 18 και 10 φορές αντίστοιχα, κάτι που αποδόθηκε στους εναλλασσόμενους διπλούς δεσμούς.(Omoni et al,2005; Rao et al, 2007)

Αντικαρκινική δράση :

Αξίζει να σημειωθεί ότι από τα καροτενοειδή, μόνο το λυκοπένιο φαίνεται να συσχετίζεται με την εμφάνιση και την αναχαίτιση του καρκίνου. Επιδημιολογικές μελέτες στην Ιταλία, κατέδειξαν ότι η πρόσληψη ντομάτας και προϊόντων αυτής σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του πεπτικού. Επίσης, πολλές έρευνες σε πειραματόζωα έχουν πιστοποιήσει τις ογκολατασταλτικές ιδιότητές του σε περιπτώσεις καρκίνου του πνεύμονα, του ενδομητρίου, του στήθους και. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε ασθενείς με καρκίνο στον προστάτη, οι οποίοι έλαβαν 15mg λυκοπένιου, 2 φορές τη μέρα για 3 βδομάδες πριν την προστατεκτομή, τα αποτελέσματα ήταν θεαματικά. Στο 80% των ασθενών παρατηρήθηκε μείωση του όγκου αλλά και μείωση των ειδικών για τον προστάτη αντιγόνων στο πλάσμα σε μεγαλύτερο βαθμό (5%) σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Ένας πιθανός μηχανισμός

δράσης είναι η καταστολή του μιτογόνου για τα καρκινικά κύτταρα του προστάτη, του ενδομητρίου και του μαστού, ινσουλινο-μιμητικού παράγοντα I (IGF-1).Επίσης, πιθανολογείται ότι το λυκοπένιο ενισχύει τη διακυτταρική επικοινωνία των καρκινικών κυττάρων επιδρώντας και αυξάνοντας τα επίπεδα της διαμεμβρανικής πρωτεΐνης, κονεξίνης-43, γεγονός που έχει φανεί ότι καταστέλλει την ανάπτυξη των όγκων. (Omoni et al, 2005; Rao et al, 2007)

A.5.2 Q10



Σχήμα Α.6 Σχηματική απεικόνιση της δομής του CoQ10

A.5.2.1 Γενικά και Δομή :

Το συνένζυμο Q10 είναι στην πραγματικότητα η 2,3-διμεθοξυ-5-μέθυλο-6-πολυπρενυλο-1,4 βενζοκινόνη που συχνά συναντάται ως ουβικινόνη ή συνένζυμο Q ή με τη συντομογραφία CoQ/ Q10. Το Q αναφέρεται στην ομάδα κίνησης που διαθέτει ενώ το 10 στον αριθμό των ισοπρενοειδών μονάδων του. Είναι ένα λιπόφυλο μόριο που προκύπτει από τη σύντηξη ενός δακτυλίου βενζοκινόνης με μια ισοπρενοειδή αλυσίδα όπως φαίνεται και στη σχηματική απεικόνιση στο σχήμα Α.6 . Το μήκος της αλυσίδας διαφέρει από είδος σε είδος. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι στον *S. cerevisiae* η αλυσίδα διαθέτει 6 ισοπρενοειδείς μονάδες, στην *E. coli* 8 ενώ στον άνθρωπο 10. Είναι λιποδιαλυτό, έχει βιταμινική δράση και βρίσκεται κυρίως στη μεμβράνη των μιτοχονδρίων των περισσότερων ευκαρυωτικών κυττάρων αλλά και σε άλλα οργανίδια όπως το ενδοπλασματικό δίκτυο, τα υπεροξυσώματα και τα λυσοσώματα.. Η κύρια συμβολή του στο μεταβολισμό είναι η συμμετοχή του στο σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων και στην αναπνευστική αλυσίδα. Υπάρχουν τρεις

μορφές που διαφέρουν οξειδωτικά : η πλήρως οξειδωμένη ή ουβικινόνη, η ημικινόνη και η πλήρως ανηγμένη ή ουβικινόλη. Η δράση του ως αντιοξειδωτικό και η συμμετοχή του στο σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων αποδίδεται στην ικανότητά του να εναλλάσσεται από την πλήρως οξειδωμένη στην πλήρως ανηγμένη μορφή.

Το συνένζυμο Q10 ανακαλύφθηκε το 1957 από την επιστημονική ομάδα του Fredrick L. Crane, στο πανεπιστήμιο Wisconsin-Madison των ΗΠΑ. Ένα χρόνο αργότερα ταυτοποιήθηκε η χημική του δομή από τον Karl Folkers και τους συνεργάτες του. Τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότεροι επιστήμονες ερευνούν το συνένζυμο αναφορικά με την αντιοξειδωτική του ικανότητα και τη συσχέτισή του με διάφορες ασθένειες (Pravst et al, 2010; Kawamukai, 2002).

A.5.2.2.Πηγές και βιοδιαθεσιμότητα :

Πέρα από τον ενδογενή σχηματισμό, μέρος των αναγκών του ανθρώπινου οργανισμού καλύπτεται από διαιτητικές πηγές. Λίγες μελέτες έχουν γίνει ως σήμερα με αντικείμενο το περιεχόμενο των τροφίμων σε συνένζυμο Q. Γενικά, μεγαλύτερη περιεκτικότητα έχουν τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης: μοσχάρι, χοιρινό και κοτόπουλο(κυρίως η καρδιά αυτών) αλλά και το ψάρι. Σημαντική πηγή είναι επίσης τα έλαια, και κυρίως το ελαιόλαδο και το σογιέλαιο ενώ μικρότερες ποσότητες συνενζύμου απαντώνται σε φρούτα, λαχανικά και ξηρούς καρπούς. Έχει βρεθεί ότι το μαγείρεμα και συγκεκριμένα το τηγάνισμα μειώνει το περιεχόμενο των τροφίμων σε συνένζυμο από 14 έως 32%(Weber et al, 1997). Στον πίνακα A.3 παρατίθενται οι σημαντικότερες διαιτητικές πηγές και η περιεκτικότητά τους σε συνένζυμο εκφρασμένη σε mg/kg τροφίμου όπως μετρήθηκαν με τη βοήθεια της υγρής χρωματογραφίας και της χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας σε διαφορετικές έρευνες. (Ochiai et al, 2007)

Πίνακας Α.3. Περιεχόμενο συνενζύμου Q10 σε επιλεγμένα τρόφιμα, εκφρασμένο σε mg/kg τροφίμου (Pravst et al, 2010).

Τρόφιμο	Συγκέντρωση συνενζύμου Q10 σε mg/kg
Μοσχάρι	
Καρδιά	113
Συκώτι	39-50
Μύες	26-40
Χοιρινό	
Καρδιά	01/12/28
Συκώτι	23-54
Μύες	14-45
Κοτόπουλο	
Καρδιά	16-132
Ψάρι	
Σαρδέλα	5-64
Κόκκινα ψάρια	43-67
Λευκά ψάρια	11-16
Έλαια	
Σογιέλαιο	54-280
Ελαιόλαδο	4-160
Έλαιο σταφυλιών	64-73
Καρποί	
Φυστίκια	27
Καρύδια	19

Φουντούκια	17
Λαχανικά	
Μπρόκολο	6–9
Σπανάκι	6–7
Μαϊντανός	8–26
Φρούτα	
Σταφύλι	6–7
Αβοκάντο	10
Πορτοκάλι, γκρέιπφρουτ, φράουλα	1

Μετά την κατανάλωση τροφίμων πλούσιων σε συνένζυμο Q η συγκέντρωσή του στο πλάσμα αυξάνεται και έχει φανεί ότι φτάνει στα υψηλότερα επίπεδα 2-6 ώρες μεταγευματικά. Μία δεύτερη κορύφωση παρατηρείται 24 ώρες μετά την πρόσληψη, γεγονός που αποδίδεται στην ανακύκλωση λόγω της εντεροηπατικής κυκλοφορίας. (Bhagavan et al, 2006)

A.5.2.3 Βιοσύνθεση και μεταβολισμός :

Ξεκινώντας από το ακέτυλο-CoA και με τη βοήθεια της λυάσης του β-υδρόξυ-β-μέθυλο-γλουταρύλο-CoA παίρνουμε το β-υδρόξυ-β-μέθυλο-γλουταρύλο-CoA. Αυτό, με μια σειρά διαδοχικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα στο ενδοπλασματικό δίκτυο και τα υπεροξυσώματα μετατρέπεται στο μεβαλονικό οξύ. Το τελευταίο μέσα από τρεις φωσφορυλιώσεις, μια αποκαρβοξυλίωση και μια αποφωσφορυλίωση μετατρέπεται στο 3-ισοπεντένυλο-πυροφωσφορικό οξύ. Με τη δράση της ομόνυμης ισομεράσης μετατρέπεται στο 3,3-διμέθυλο-άλλυλο-πυροφωσφορικό οξύ. Από τη σύντηξη του προηγούμενου με ένα μόριο 3-ισοπεντένυλο-πυροφωσφορικού οξέος προκύπτει το γεράνυλο-πυροφωσφορικό οξύ. Έπεται η συμπύκνωση δύο μορίων γεράνυλο-πυροφωσφορικού οξέος και ο σχηματισμός του φαρνέζυλο-πυροφωσφορικού οξέος. Αυτό με τη σειρά του, με τη δράση της δεκαπρένυλο-4 υδρόξυ-βενζοϊκής τρανσφεράσης αντιδρά με το 4-υδρόξυ-βενζοϊκό- προϊόν

αντιδράσεων της τυροσίνης ή της φαινυλαλανίνης- και προκύπτει το δεκαπρένυλο-4-υδρόξυ-βενζοϊκό. Αυτό, τελικά, μετατρέπεται στην ουβικινόνη (Bentinger et al, 2010; Δημόπουλος & Αντωνοπούλου, 2000).

Το συνένζυμο Q, ως λιποδιαλυτό μόριο απορροφάται κατά τρόπο παρόμοιο με αυτόν των λιποειδών, δηλαδή μέσω μικκυλίων. Συγκεκριμένα, με την έκκριση παγκρεατικών ενζύμων και χολής στα επιθηλιακά κύτταρα του λεπτού εντέρου σχηματίζονται τα μικκύλια με τη βοήθεια των οποίων απορροφώνται οι λιποδιαλυτές ουσίες. Το διαιτητικό λίπος διευκολύνει την απορρόφηση του συνενζύμου για αυτό και το προσλαμβανόμενο από την τροφή συνένζυμο Q απορροφάται πιο εύκολα όταν καταναλώνεται ως μέρος ενός γεύματος. Έρευνες έχουν δείξει ότι η συγκέντρωση του ενζύμου στο πλάσμα είναι υψηλότερη μεταγευματικά από ό,τι σε κατάσταση νηστείας. Πολύ λίγα δεδομένα υπάρχουν αναφορικά με το μεταβολισμό του συνενζύμου. Οι περισσότερες έρευνες συμφωνούν στο ότι μεταβολίζεται σε όλους τους ιστούς. (Ochiai et al, 2007)

A.5.2.4 Δράσεις :

Οι περισσότερες δράσεις του συνενζύμου πηγάζουν από την αντιοξειδωτική ικανότητα του. Ο κυριότερος τομέας έρευνας σχετίζεται με την επίδραση του στα καρδιαγγειακά νοσήματα ενώ με βάση πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα έχει συσχετιστεί επίσης με βελτίωση της κινητικότητας του σπέρματος, μείωση της επίπτωσης της προεκλαμψίας σε έγκυες και με την ανακούφιση των συμπτωμάτων της ημικρανίας (Littarru et al, 2010). Αναφορικά με το τελευταίο, έχουν γίνει μόνο τρεις μελέτες, εκ των οποίων μόνο η μία ήταν οργανωμένη σωστά (τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή με ομάδα ελέγχου που λάμβανε placebo)άρα και αξιόπιστη και με αποτελέσματα στατιστικά σημαντικά. Στη μελέτη αυτή 42 ασθενείς έλαβαν δόσεις 150mg/ημέρα και 300 mg/ημέρα από το συνένζυμο(Sándor et al, 2005). Επιπρόσθετα, έρευνες έχουν δείξει ότι το συνένζυμο επιφέρει βελτίωση του υποκειμενικού αισθήματος κόπωσης, μετά την άσκηση και μειώνει τους επαγόμενους από την άσκηση τραυματισμούς. Αμφιλεγόμενα είναι τα ερευνητικά δεδομένα αναφορικά με τη συσχέτιση της έλλειψης του ενζύμου και της εμφάνισης των παρενεργειών των στατινών και ειδικότερα στο αν το συμπλήρωμα Q10 βοηθάει στην αντιμετώπιση των προκαλούμενων από τις στατίνες, μυαλγιών (Littarru et al, 2010).

Καρδιοπροστατευτική δράση :

Η καρδιοπροστατευτική δράση του έγκειται στην αντιοξειδωτική ικανότητα που έχει. Ο πιθανότερος μηχανισμός έχει να κάνει με την οξείδωση των LDL λιποπρωτεϊνών που αποτελούν το ακρογωνιαίο λίθο της αθηροσκλήρωσης. Πιθανολογείται ότι το περιεχόμενο των LDL σε ουβικινόνη παρέχει προστασία και αναστέλλει την αθηρογένεση. Οι πιο πρόσφατες μελέτες πιστοποιούν ότι το συνένζυμο επιφέρει βελτίωση της λειτουργίας του ενδοθηλίου. Επίσης, σε επιδημιολογική έρευνα βρέθηκε ότι η χαμηλή συγκέντρωση στο πλάσμα αποτελεί ανεξάρτητο προδιαθετικό παράγοντα θνητότητας σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια (Littarru et al, 2010; Molyneux et al, 2008).

Αντιϋπερτασική δράση :

Μέχρι σήμερα έχουν γίνει πολλές μελέτες με αντικείμενο την επίδραση του συνενζύμου στην υπέρταση. Μια μετα-ανάλυση 12 μελετών και συνολικά 362 ασθενών κατέδειξε ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα του ενζύμου και της υπέρτασης. Συγκεκριμένα, το συμπέρασμα της μετα-ανάλυσης είναι ότι το συνένζυμο έχει την ικανότητα να μειώνει τη συστολική πίεση έως και κατά 17mm Hg και έως 10mm Hg τη διαστολική σε υπερτασικούς ασθενείς, χωρίς σημαντικές παρενέργειες (Rosenfeldt et al, 2007)

Q10 και μιτοχονδριακές παθήσεις:

Με τον όρο μιτοχονδριακές παθήσεις εννοούμε γενετικές ασθένειες που επηρεάζουν τον ενεργειακό μεταβολισμό των κυττάρων. Τα μιτοχόνδρια αποτελούν τα βασικά ενεργειακά εργοστάσια του κυττάρου και είναι υπεύθυνα για την παροχή ενέργειας από τα θρεπτικά συστατικά της τροφής. Διαταράσσουν πολλές κυτταρικές λειτουργίες, ειδικότερα σε όργανα με υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις όπως ο εγκέφαλος, οι μύες, η καρδιά, το ήπαρ, οι νεφροί κ.α. Οι μιτοχονδριακές παθήσεις διακρίνονται σε δύο κατηγορίες : σε αυτές που εκδηλώνονται κατά τη γέννηση και σε αυτές που τα συμπτώματά τους εμφανίζονται αργότερα, σε μεγαλύτερη ηλικία.

(Noorda et al, 2007). Είναι γνωστό ότι το συνένζυμο Q10 ανευρίσκεται σε όλους τους ιστούς και τα κύτταρα και ειδικότερα στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων. Η έλλειψη συνενζύμου Q10 έχει αναγνωριστεί ως ετερογενές σύνδρομο που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο και συσχετίζεται με 5 παθολογικούς φαινότυπους : εγκεφαλομυοπάθεια, απομονωμένη μυοπάθεια, εγκεφαλική αταξία, σοβαρή πολυσυστηματική νόσο νεογνικής έναρξης και νεφρωσικό σύνδρομο. Έχουν ταυτοποιηθεί μεταλλάξεις σε γονίδια που εμπλέκονται άμεσα στη βιοσύνθεση του συνενζύμου (πρωτοπαθείς ελλείψεις) αλλά και σε άλλα που εμπλέκονται έμμεσα(δευτεροπαθείς ελλείψεις). Ελαττώματα στη λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας όπου συμμετέχει ενεργά το συνένζυμο καθώς και η παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) και μηχανισμοί σχετικοί με την απόπτωση φαίνεται ότι συντελούν στην παθογένεια των πρωτοπαθών ελλείψεων του συνενζύμου. Οι περισσότερες περιπτώσεις φαίνεται ότι ανταποκρίνονται καλά στην από του στόματος χορήγηση Q10 (Quinzii et al, 2010).

A.5.3 Κανέλα (Cinnamon) :

A.5.3.1 Γενικά :

Είναι ένα φυτό που ανήκει στην οικογένεια Lauraceae, στο γένος *Cinnamomum*. Το όνομα προέρχεται από το ελληνικό (σιμιτικό) "κινάμωμον". Άλλες ονομασίες, ανάλογα με τη χώρα προέλευσης είναι : kayu manis (γλυκό φαγητό) ή vera cassia στη Σουμάτρα της Ινδονησίας, kurundu, στη Σρι Λάνκα, ενώ στις Ευρωπαϊκές γλώσσες το cinnamon θεωρείται ότι προέρχεται από το λατινικό cannella, υποκοριστικό του cane, δηλαδή του ραβδιού εξαιτίας του σχήματός της. (John Wiley & Sons, 2011)

Μέχρι σήμερα έχουν βρεθεί πάνω από 200 αρωματικά δέντρα και θάμνοι σε Ασία και Αυστραλία. Οι δύο κυριότερες ποικιλίες είναι η *Cinnamomum cassia* και η *Cinnamomum zeylanicum*. Η τελευταία είναι γνωστή ως Ceylon Cinnamon ή true Cinnamon και έχει ανοιχτό καφε-κίτρινο χρώμα με πιο λεπτή και γλυκιά γεύση σε σχέση με την cassia. Η cassia έχει πιο βαθύ χρώμα, πιο δυνατή γεύση ενώ τα κλωνάρια της είναι μεγαλύτερα σε πάχος και πιο σκληρά (Barceloux, 2009).

Πέρα από τη Σρι Λάνκα όπου πρωτοσυλλέχθηκε, η κανέλα καλλιεργείται και σε άλλες χώρες στην Ινδία, το Μπαγκλαντές, τη Ζανζιβάρη, την Αίγυπτο, τη Βραζιλία, τη Μαδαγασκάρη, το Βιετνάμ κα. Η Σρι Λάνκα, σύμφωνα με πρόσφατα δεδομένα, βρέθηκε ότι κατέχει το 90% της παγκόσμιας παραγωγής με την Κίνα και την Ιδία να ακολουθούν. Τα γνωστότερα είδη κανέλας είναι :

- Cinnamomum verum ("True cinnamon" ή Ceylon κανέλα)
- Cinnamomum burmannii (Ινδονησιακή κανέλα)
- Cinnamomum loureirii (Βιετναμέζικη κανέλα)
- Cinnamomum aromaticum (cassia ή κινέζικη κανέλα)

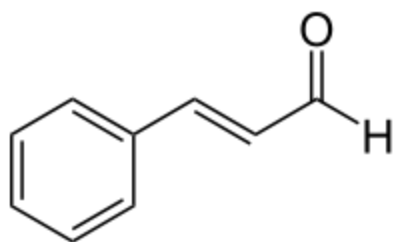
(Jayaprakasha et al, 2011)

A.5.3.2 Χημική σύσταση :

Δύο είναι τα κυρίαρχα συστατικά του αιθέριου ελαίου των ράβδων κανέλας : η κινναμολδεΐδη (3-φαινόλο-ακρολεΐνη), που αποτελεί το 60-75% του ελαίου και στην οποία αποδίδεται το καφε-κίτρινο χρώμα, και η ευγενόλη (4-(1-προπένυλο)-2-μεθοξύ-φαινόλη) που αποτελεί το 5-10% του ελαίου. Σε αυτές τις δύο ενώσεις αποδίδεται το χρυσοκίτρινο χρώμα των ράβδων. Άλλα δραστικά συστατικά του αιθέριου ελαίου είναι η κουμαρίνη, εστέρες του κινναμινικού οξέος, καμφορά, λιμονένιο, α-πινένιο και άλλα μονο- και διτερπένια που αν και βρίσκονται σε πολύ μικρή ποσότητα παίζουν σημαντικό ρόλο στη γεύση και το άρωμα της κανέλας.

Όσον αφορά το αιθέριο έλαιο των φύλλων κανέλας, αυτό περιέχει κυρίως ευγενόλη, σε ποσοστό 70-90% και σε μικρές ποσότητες κινναμολδεΐδη, β-καρυοφυλλένιο, λιναλοόλη. Διαφορετική είναι η σύσταση των καρπών των δέντρων κανέλας, όπου φαίνεται ότι κυριαρχεί το β-καρυοφυλλένιο και το *trans*-cinnamyl acetate (Wijesekera, 1978; Jayaprakasha et al, 2011).

A.5.3.2. i Σιναμαλδεΰδη :

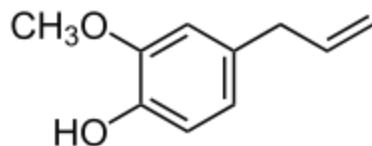


Σχήμα Α.7. Σχηματική απεικόνιση της δομής της σιναμαλδεΰδης

Η κινναμαλδεΰδη ή trans-κινναμαλδεΰδη ή (2E)-3-φαινυλο-προπεν-2-αλ είναι η οργανική ουσία που δίνει στην κανέλα το χαρακτηριστικό άρωμα και τη γεύση και η δομή της απεικονίζεται στο σχήμα Α7. Απαντάται στο φλοιό των δέντρων κανέλας όπου αποτελεί το 70% περίπου του αιθέριου ελαίου του αλλά και σε άλλα είδη του γένους *Cinnamomum*. Η βιοσύνθεσή της ξεκινά από τη φαινυλαλανίνη η οποία μέσα από μια σειρά αντιδράσεων μετατρέπεται στον κινναμινικό εστέρα του συνενζύμου Α. Απομονώθηκε από το αιθέριο έλαιο της κανέλας το 1834 από τους Dumas και Peligot και συντέθηκε in vitro το 1854.

Βρίσκει πολλές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων ως ενισχυτικό αρώματος σε τσίχλες, καραμέλες και ροφήματα αλλά και ως γλυκαντικό τροφίμων (Fahlbusch et al, 2003). Επίσης, στην ένωση αυτή αποδίδονται αντιμικροβιακές ιδιότητες ενώ χρησιμοποιείται και ως μυκητοκτόνο και εντομοκτόνο. Λόγω της χαμηλής τοξικότητάς του καθίσταται κατάλληλο για τις καλλιέργειες (Cheng et al, 2006). Τέλος, σύμφωνα με έρευνα του καρκινικού κέντρου της Αριζόνα, η κινναμαλδεΰδη έχει την ικανότητα να αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και να αναχαιτίζει την ανάπτυξη του όγκου σε ανθρώπινα δείγματα με μελάνωμα (Cabello et al, 2009).

A.5.3.2. ii Ευγενόλη :



Σχήμα Α.8. Σχηματική απεικόνιση της δομής της ευγενόλης

Η ευγενόλη είναι στην πραγματικότητα η 4-αλλυλο-2-μεθοξυ-φαινόλη, ένα ανάλογο των φαινυλοπροπανοειδών και η δομή της παρατίθεται στο σχήμα Α.8. Συχνά συναντάται με την ονομασία καυτοφυλικό ή ευγενικό οξύ, είναι σχεδόν αδιάλυτη στο νερό αλλά διαλύεται σε οργανικούς διαλύτες και λαμβάνεται σε καθαρή μορφή με εκχύλιση, ως συστατικό των αιθέριων ελαίων του μοσχοκάρυδου, του βασιλικού, της κανέλας αλλά κυρίως του σκόρδου. Έχει πάρει το όνομά της από την επίσημη επιστημονικά ονομασία του σκόρδου, *Eugenia aromaticum* ή *Eugenia caryophyllata*. Αποτελεί το κύριο συστατικό του εκχυλίσματος του ελαίου του (70-90%) και σε αυτήν οφείλεται το χαρακτηριστικό άρωμα του σκόρδου. Εξαιτίας των πολυάριθμων δράσεών της χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών, φαρμάκων, εντομοκτόνων κα (Bhuiyan et al, 2010). Ειδικότερα, σε σχετική έρευνα βρέθηκε ότι μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη *Listeria monocytogenes* και *Lactobacillus sakei* στα τρόφιμα ενώ τα παράγωγά της χρησιμοποιούνται ως ενισχυτικά γεύσης και αρώματος (Gill et al, 2004). Επίσης, εξαιτίας του αρώματός της, βρίσκει εφαρμογή στην σύνθεση αναισθητικών, βιοκτόνων, αναλγητικών αλλά και παρασκευασμάτων που στόχο έχουν να προσελκύσουν έντομα. Τέλος, έχει φανεί ότι επάγει την απόπτωση καρκινικών κυττάρων στο κόλον σε ανθρώπινους ιστούς *in vitro* (Jaganathan et al, 2011).

A.5.3.3 Χρήσεις :

Η κανέλα, με τη μορφή του βοτάνου, χρησιμοποιείται από αρχαιοτάτων χρόνων ως μικροβιοκτόνο, αντισηπτικό, σπασμολυτικό καθώς και σαν φάρμακο για τη θεραπεία της χρόνιας βρογχίτιδας. Επίσης, συχνά λαμβάνεται για την ανακούφιση του

πονόδοντου ή σε περιπτώσεις δύσπνοιας, νευραλγίας, ρευματισμών καθώς και για την αντιμετώπιση της κολίτιδας στις γυναίκες.

Σήμερα, το αιθέριο έλαιο της κανέλας χρησιμοποιείται ευρέως ως αρωματική ύλη(μπαχαρικό) σε γλυκά και αρτοσκευάσματα, σε φαρμακευτικά σκευάσματα, σε ποτά αλλά και σε προϊόντα καπνού. Επιπρόσθετα, προωθεί την επούλωση τραυμάτων- έχει αντιφλεγμονώδη και αντιμικροβιακή δράση, η οποία αποδίδεται στα δραστικά φαινολικά συστατικά της, τη σιναμαλδεΰδη και την ευγενόλη. Επίσης, ανακουφίζει από συμπτώματα δυσπεψίας, διάρροιας, ζαλάδας, πυρετού και κολικών (Barceloux, 2009).

A.5.3.4 Δράσεις :

Αντιοξειδωτική δράση :

Η αντιοξειδωτική δράση συνίσταται στην παρεμπόδιση της δράσης των ελευθέρων ριζών οξυγόνου και των δυσάρεστων, για τον οργανισμό, δράσεων αυτών. Αναλυτικότερα, οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν φυσιολογικά προϊόντα του μεταβολισμού για τα οποία υπάρχει μηχανισμός εξουδετέρωσης, αν και με το πέρασμα των χρόνων εξασθενεί. Ενδομεταβολικοί και περιβαλλοντολογικοί παράγοντες είναι δυνατόν να αυξήσουν τις ελεύθερες ρίζες πέρα από τα επίπεδα που μπορούν να καταπολεμηθούν από το σύστημα αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού, μια κατάσταση που καλείται οξειδωτικό στρες (Dastmalchi et al, 2008). Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει σοβαρότατες συνέπειες για την υγεία και αποτελεί τη βάση πολλών βαρυσήμαντων νοσημάτων. Εμπλέκεται στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, των πρωτεϊνών και των λιπιδίων και μπορεί να προκαλέσει καταστροφή στο DNA όπως και μεταλλάξεις, ενώ συνδέεται με ασθένειες όπως ο διαβήτης, διάφορες μορφές καρκίνου και καρδιαγγειακά νοσήματα (Zeraatpishe et al, 2011; Chong-Zhi et al, 2007).

Οι αντιοξειδωτική ικανότητα των φαινολικών συστατικών(κινναμολδεΰδη, ευγενόλη κ) και των τερπενίων της κανέλας την καθιστούν σημαντικό όπλο ενάντια σε ασθένειες που συνδέονται με το οξειδωτικό στρες. Έχει φανεί ότι το υδατικό και το αιθανολικό εκχύλισμα κανέλας έχει ηπατοπροστατευτική δράση που έγκειται στη μείωση του οξειδωτικού στρες σύμφωνα με τη μειωμένη οξείδωση των λιπιδίων όπως

μετρήθηκε με βάση την άρση της αύξησης των ηπατικών τρανσαμινασών (ALT & AST), η πτώση των οποίων σηματοδοτεί την επανόρθωση του κατεστραμένου ηπατικού ιστού από το CCl₄. Ο πιθανός μηχανισμός δράσης φαίνεται να συνίσταται στην ικανότητα των φαινολικών συστατικών να παγιδεύουν τις ελεύθερες ρίζες. Επομένως, τα εκχυλίσματα κανέλας μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη θεραπεία ηπατικών διαταραχών χωρίς παρενέργειες (Kirkham et al, 2009).

Έρευνες δείχνουν ότι υπάρχει ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στην πρόσληψη εκχυλισμάτων κανέλας και της ρύθμισης των επιπέδων του σακχάρου στο αίμα, επομένως με το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ II) και κατ' επέκταση με τα καρδιαγγειακά νοσήματα η αιτιολογική βάση των οποίων έχει να κάνει με το οξειδωτικό στρες. Συγκεκριμένα, έχει φανεί ότι μειώνει την ινσουλινόαντίσταση και τα επίπεδα σακχάρου στο αίμα μέσω ενεργοποίησης της συνθάσης του γλυκογόνου και μετάπτωσης του βιοχημικού μονοπατιού από τη γλυκογονόλυση στη γλυκογονογένεση σε μελέτη σε πειραματόζωα. Σε άλλη μελέτη, σε ασθενείς με ΣΔ II, φάνηκε να μειώνεται η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη κατά 0,83%, η συστολική πίεση κατά 3,8% και η γλυκόζη νηστείας κατά 8,4% όταν στη φαρμακευτική αγωγή προστέθηκαν 500mg κανέλας με τη μορφή υδατικού εκχυλίσματος, 2 φορές τη μέρα για 90 μέρες. Παρατηρήθηκε, επίσης, μια μικρή αύξηση στην άλλιπη μάζα σώματος της τάξης του 1,1%. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι επιδράσεις έχουν να κάνουν με τη δοσολογία, το είδος του εκχυλίσματος καθώς και με το χρονικό διάστημα λήψης αυτού. Επιπρόσθετα, απομονώθηκε ένα βιοενεργό πολυμερές προκυανιδίνης από το υδατικό εκχύλισμα της κανέλας που παρουσιάζει αντιμικροβιακή, αντιοξειδωτική και ισνουλινομιμητική δράση. Ο πιθανός μηχανισμός δράσης του φαίνεται να σχετίζεται με την αυτο-φωσφορυλίωση του πολυμερούς, ενεργοποιώντας με αυτόν τον τρόπο τον υποδοχέα ινσουλίνης και μειώνοντας την ενεργότητα της τυροσινικής φωσφατάσης που αναστέλει τη δράση της ινσουλίνης (Power et al, 2011). Σε άλλη μελέτη, φάνηκε ότι η επίδραση του εκχυλίσματος της κανέλας στα επίπεδα του σακχάρου οφείλονται σε γαστροεντερικούς μηχανισμούς και όχι στην αυξημένη έκκριση ινσουλίνης. Ορισμένοι από τους μηχανισμούς είναι : η μείωση της φλεγμονής χάρις στην αντιοξειδωτική δράση των συστατικών της που διευκολύνουν την πρόσληψη και χρήση της γλυκόζης από τα κύτταρα, η επαγόμενη από την κανέλα καθυστέρηση της γαστρικής κένωσης, η αναστολή της εντερικής ATP-άσης με αποτέλεσμα τη μείωση της παραγόμενης γλυκόζης, η μείωση της ενεργότητας της γλυκοζιδάσης που οδηγεί σε μειωμένα επίπεδα γλυκόζης μεταγευματικά, και τέλος,

διάφορες επιδράσεις της αντιοξειδωτικής ικανότητας των κατεχινών της (Kirkham et al, 2009).

Δράση σχετική με τη νόσο Alzheimer:

Μία από τις προταθέντες αιτίες της νόσου Alzheimer είναι η 'χολινεργική', δηλαδή θεωρείται ότι η νόσος είναι αποτέλεσμα της μειωμένης σύνθεσης του νευροδιαβιβαστή ακετυλοχολίνη. Για αυτό πολλές θεραπευτικές επεμβάσεις στοχεύουν στη παλινόρθωση της προσυναπτικής χολινεργικής λειτουργίας. Με τον όρο χολινεστεράση αναφερόμαστε σε μια οικογένεια ενζύμων που έχουν την ικανότητα να καταλύουν την υδρόλυση του νευροδιαβιβαστή ακετυλοχολίνη σε ακετοξικό οξύ και χολίνη, μια αντίδραση απαραίτητη στον οργανισμό καθώς επαναφέρει σε ηρεμία τους χολινεργικούς νευρώνες. Υπάρχουν δύο είδη χολινεστεράσης : η ακετυλοχολινεστεράση που απαντάται στο πλάσμα και τις νευρομυϊκές συνάψεις και η βουτυρυλο-χολινεστεράση που απαντάται κυρίως στο ήπαρ (Francis et al, 1999). Στα πλαίσια αυτά, σύμφωνα με σχετική έρευνα, φάνηκε ότι το αιθανολικό και το υδατικό εκχύλισμα της κανέλας μπορεί να αναστείλει *in vitro* την ακετυλοχολινεστεράση και τη βουτυρυλο-χολινεστεράση έως 63% και 85% αντίστοιχα σε συγκέντρωση 200 µg/mL, καθιστώντας πιθανή τη χρήση του για τη θεραπεία της νόσου αλλά και άλλων νευρολογικών νοσημάτων όπου παρατηρείται έλλειψη ακετυλοχολίνης (Kirkham et al, 2009).

Μια άλλη πιθανή υπόθεση αναφορικά με την αιτία της νόσου Alzheimer είναι ο σχηματισμός στον εγκέφαλο πλακών της πρωτεΐνης β-αμυλοειδής. Οι πλάκες αυτές καταστρέφουν τα υγιή εγκεφαλικά κύτταρα προκαλώντας προβλήματα λειτουργικότητας και μνήμης. Σε έρευνα που έγινε σε πειραματόζωα με τη νόσο, στα οποία δόθηκε από του στόματος εκχύλισμα κανέλας, σημειώθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της συσσώρευσης πλακών β-αμυλοειδούς στον εγκέφαλο κι βελτίωση της γνωσιακής τους λειτουργίας (Frydman-Marom et al, 2011).

A.5.4 Φασκόμηλο :

A.5.4.1 Γενικά:

Το φασκόμηλο ή sage ή salvia ή salvia officinalis είναι ένα φυτό της οικογένειας Lamiaceae και το όνομά του προέρχεται από το λατινικό 'salvare' που σημαίνει θεραπεύω ή παραμένω ασφαλής. Στα γαλλικά μεταφράστηκε ως sauge ενώ στα αρχαία αγγλικά sawge. Αν και αρχικά βρέθηκε στη Μεσόγειο, έως σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερα από 900 είδη σε όλο τον κόσμο και βρίσκει εφαρμογές στην μαγειρική, την ιατρική, τη διακοσμητική και αλλού. Στο Μεξικό απαντάται η πλειοψηφία των ειδών ωστόσο το κέντρο καλλιέργειας είναι το Αφγανιστάν και η κεντρική Ασία. Η καλλιέργειά του απαιτεί φως και στραγγισμένο χώμα. Βασικά χαρακτηριστικά της μορφολογίας του που βοηθούν την αναγνώριση του γένους είναι τα φύλλα και οι στήμονες. Το χαρακτηριστικό που ξεχωρίζει το γένος Salvia είναι ο ασυνήθιστος μηχανισμός γονιμοποίησης, που περιλαμβάνει δύο στήμονες σε αντιδιαστολή με τους τέσσερις που συναντώνται συνήθως. Ο G.Bentham ήταν ο πρώτος που προσπάθησε να διαχωρίσει τα είδη με βάση τη μορφολογία των στημόνων. Τελικά, κατέληξε να τα διαχωρίσει σε 12 ομάδες με βάση τις διαφορές τους στη στεφάνη του άνθους, τους στήμονες και τον κάλυκα. Οι 12 αυτές ομάδες αντικαταστάθηκαν από 4 υπο-γένη, εκ των οποίων τα δύο χαρακτηρίζονται 'Παλιού κόσμου' και τα άλλα δύο 'Νέου κόσμου' όπως φαίνεται παρακάτω :

♣ Υπογένος **Salvia**: Παλιού κόσμου (Ομάδες: Hymenosphace, Eusphace, Drymosphace)

♣ Υπογένος **Sclarea**: Παλιού κόσμου (Ομάδες: Horminum, Aethiposis, Plethiosphace)

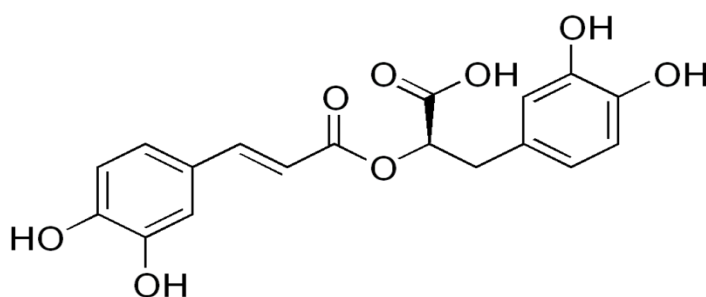
♣ Υπογένος **Calosphace**: Νέου κόσμου (Ομάδα: Calosphace)

♣ Υπογένος **Leonia**: Παλιού & Νέου κόσμου (Ομάδες : Echinosphace, Pycnosphace, Heterosphace, Notiosphace, Hemisphace) (Kamatou et al, 2008)

A.5.4.2 Χημική σύσταση :

Δεν έχουν γίνει πολλές μελέτες με αντικείμενο την πιστοποίηση των δραστικών συστατικών του sage. Σε σχετική έρευνα που απομονώθηκε και μελετήθηκε το αιθέριο έλαιο 11 ειδών βρέθηκαν πάνω από 90 δραστικά συστατικά. Παρατηρήθηκαν διαφορές όσον αφορά τη συγκέντρωση των συστατικών ποσοτικά και ποιοτικά ανάλογα με το εξεταζόμενο είδος. Εν γένει, φάνηκε να κυριαρχούν μονοτερπένια, διτερπένια και φλαβονοειδή. Τα τελευταία, μάλιστα, αποτελούν και την πλειοψηφία των δραστικών συστατικών και με εξαίρεση το ροσμαρινικό και το λιθοσπερμικό, απαντώνται μόνο στα είδη του sage. Ειδικότερα, τα μονοτερπένια που βρέθηκαν σε σχετικά μεγάλο ποσοστό ήταν η μυρσίνη, η α-βιζαμπολόλη, το α και β πινένιο, η 1,8-σινεόλη, το λιμονένιο, η λανολοόλη κα. Τα διτερπένια που ξεχώρισαν ήταν η σαλβινορίνη(α,β,γ), η μιλτιρόνη, η κανροσόλη, το καρνοσικό οξύ και το ουρσολικό οξύ. Αναγνωρίστηκαν, επίσης, τα φλαβονοειδή απιγενίνη και λουτεολίνη. Εν γένει, αναφορικά με τα φαινολικά συστατικά, αυτά είναι κυρίως τα παράγωγα του καφεϊκού οξέος, δηλαδή το ροσμαρινικό, το φερρουλικό και ισο-φερρουλικό αλλά και άλλα που ταυτοποιήθηκαν με τη βοήθεια της χρωματογραφίας και της φασματοσκοπίας, όπως το ολεανολικό, το ουρσολικό (Mohsen et al, 2006; Kamatou et al, 2008).

A.5.4.2. i Ροσμαρινικό οξύ :

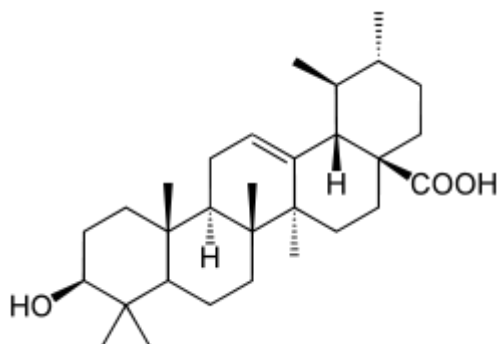


Σχήμα Α.9. Σχηματική απεικόνιση του ροσμαρινικού οξέος.

Το ροσμαρινικό οξύ είναι εστέρας του καφεϊκού οξέος με 3,4-διυδροξύ-φαινυλογαλακτικό οξύ και η βιοσύνθεσή του ξεκινά από τη φαινυλαλανίνη ή την τυροσίνη. Απομονώθηκε πρώτη φορά, το 1958 από τους Ιταλούς χημικούς Scarpati και Oriente, οι οποίοι του έδωσαν το όνομα αυτό λόγω του φυτού (*rosmarinus officinalis*) από το οποίο το απομόνωσαν. Απαντάται στα φυτά της οικογένειας Lamiaceae αλλά και σε άλλα και αποτελεί το 36% του ξηρού βάρους του *Salvia officinalis*. Του έχουν

αποδοθεί πολλές βιολογικές δράσεις έως σήμερα. Παραδείγματα αυτών είναι η χορήγησή του στην καταπολέμηση του απλού έρπητα (Herpes simplex), καθώς και η αντιφλεγμονώδης δράση που έγκειται στην αναστολή της δράσης της λιποξυγενάσης και της κυκλοξυγενάσης. Η χαμηλή τοξικότητα που παρουσιάζει, συνάμα με την ικανότητα του να αποβάλλεται από τον οργανισμό γρήγορα ($t_{1/2} = 9\text{min}$) μετά από ενδοφλέβια χορήγηση το καθιστούν κατάλληλο για ανθρώπινη χρήση (Petersen et al, 2003).

A.5.4.2. ii Ουρσολικό οξύ :



Σχήμα A.10. Σχηματική απεικόνιση της δομής του ουρσολικού οξέος

Το ουρσολικό οξύ είναι ένα πεντακυκλικό τριτερπένιο που απαντάται σε πολλά φυτά συμπεριλαμβανομένων των μήλων, των κρίνων, των μύρτιλων, της ρίγανης, του θυμαριού, του δεντρολίβανου, της λεβάντας κα. Άλλες ονομασίες του είναι 3-β-3-υδρόξυ-ουρσ-12-ενικό οξύ καθώς και μαλόλη, ουρσόνη και προυνόλη. Από σχετικές μελέτες, έχει φανεί ότι έχει αντικαρκινικές και ογκοκατασταλτικές και καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες. Έχει χρησιμοποιηθεί επίσης σε καταστάσεις μυϊκής ατροφίας και για την μυϊκή ενδυνάμωση σε ποντίκια (Mohsen et al, 2006).

A.5.4.3 Χρήσεις :

Τα οφέλη του είναι γνωστά από την αρχαιότητα. Ειδικότερα, οι Κινέζοι πίστευαν ότι χαρίζει μακροζωία ενώ αποτελούσε ιερό βότανο για τις τελετές των Ρωμαίων. Η σημασία που του απέδιδαν φαίνεται από το ρητό : *Cur moricetur homo cui Salvia crescit in horto* (γιατί να πεθάνει κανείς ενώ στον κήπο του φυτρώνει salvia). Οι Ευρωπαίοι άποικοι της Αφρικής το χρησιμοποίησαν για να θεραπεύσουν το

κρυολόγημα, το βήχα αλλά και τα βρογχικά. Σε άλλες περιοχές, ειδικά πριν την ανακάλυψη των αντιβιοτικών, χρησιμοποιήθηκαν πολλά είδη του ως συστατικά μίγματος τσαγιού για τη θεραπεία φυματίωσης και άλλων πνευμονικών λοιμώξεων. Έχει χρησιμοποιηθεί, επίσης, για την ανακούφιση συμπτωμάτων όπως ο πυρετός, ο πονοκέφαλος, ο κνησμός, η διάρροια, οι πόνοι της έμμηνου ρήσεως, γαστρεντερικές διαταραχές, αλλά και ως καθαρτικό. Επίσης, χρησιμοποιείται ως εντομοαπωθητικό, εξαιτίας της μυρωδιάς που αναδύεται όταν καίγεται.

Σήμερα, βρίσκει εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων και καλλυντικών χάρις τις ιδιότητες των συστατικών του, στη μαγειρική, στην αρωματοθεραπεία ενώ χρησιμοποιείται και ως συστατικό ορισμένων εντομοκτόνων. Όσον, αφορά τη μαγειρική, χρησιμοποιείται ως προσθετικό κατά την επεξεργασία ζωικών προϊόντων, σαλτσών και αποτελεί ένα από τα πιο συνηθισμένα βότανα που χρησιμοποιούνται στις συνταγές της γαλοπούλας, τη μέρα των Ευχαριστιών στις ΗΠΑ. Τέλος, ενδείξεις από σχετικές μελέτες δείχνουν ότι άλλες πιθανές χρήσεις του είναι ως σπασμολυτικό, μυκητοκτόνο, τονωτικό, αντιμικροβιακός και υπογλυκαιμικός αγωγός, ενώ του αποδίδονται και οιστρογονικές ιδιότητες (Kamatou et al, 2008).

A.5.4.4 Δράσεις :

Το sage φαίνεται να είναι δραστικό σε πολλά επίπεδα. Του έχουν αποδοθεί αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές, αντιμικροβιακές, αντιχολινεργικές, αντιφλεγμονώδεις δράσεις. Επίσης, έχει χρησιμοποιηθεί ως σπασμολυτικό, μυοχαλαρωτικό αλλά και σε περιπτώσεις δυσμηνόρροιας, ηπατίτιδας, νεφρικής ανεπάρκειας, κα. Έρευνα που έγινε *in vitro*, σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα φανέρωσε δοσο-εξαρτώμενη, κυτοτοξική δράση του βοτάνου απέναντι στα κύτταρα αυτά. Επίσης, έχουν αποδοθεί αναλγητικές και αντιπυρετικές δράσεις στα υδατικά εκχυλίσματα του βοτάνου *in vitro* και σε ποντίκια. Τέλος, έχει βρεθεί ότι τα εκχυλίσματα έχουν αντι-ελονοσιακές ιδιότητες που αποδίδονται στη σαλβιγενίνη και στη βετουλαφολιεντριόλη (Petersen et al, 2003; Mohsen et al, 2006).

Αντιχολινεργική δράση :

Έρευνες σε πειραματόζωα και σε υγιείς εθελοντές έδειξαν ότι η πρόσληψη εκχυλισμάτων βελτιώνει τις νοητικές λειτουργίες όπως τη δευτερογενή μνήμη, τη συγκέντρωση, μειώνουν το χρόνο αντίδρασης, το χρόνο ανάκλησης μνήμης κα. Οι δράσεις αυτές φαίνεται να είναι δοσοεξαρτώμενες και ο μηχανισμός δράσης έχει να κάνει με την αναστολή της χολινεστεράσης γεγονός που το καθιστά κατάλληλο για τη βελτίωση των συμπτωμάτων του Alzheimer. Έρευνα σε Ιρανούς με ήπιο Alzheimer, για τον έλεγχο της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας του, έδειξε βελτίωση των συμπτωμάτων χωρίς παρενέργειες. Επιπρόσθετα, πιθανολογείται η συνεργιστική δράση του sage και του lemon balm και συγκεκριμένα των : καμφορά, 1,8-σινεόλη, α και β πινένη, στη δράση αυτή (Kamatou et al, 2008; Scholey et al, 2008).

Αντιφλεγμονώδης δράση :

Σε έρευνα σχετική με την αντιφλεγμονώδη δράση του, φάνηκε ότι το εκχύλισμα έχει την ικανότητα να αναστέλλει τις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες. Συγκεκριμένα, αναστέλλει την έκφραση mRNA του TNF-α και της IL-6. Άλλες έρευνες με το ίδιο αντικείμενο, επιβεβαίωσαν την αντιφλεγμονώδη δράση του βοτάνου αλλά την απέδωσαν στην αναστολή της λιποξυγενάσης και της κυκλοξυγενάσης από το ροσμαρινικό οξύ. Φάνηκε, μάλιστα, ότι τα εκχυλίσματα είναι πιο ισχυρά σε σχέση με το αιθέριο έλαιο (Mohsen et al, 2006).

Αντιοξειδωτική δράση :

Τα συστατικά του όπως το ροσμαρινικό, καρνοσικό, καφεϊκό και καρνοσόλη του προσδίδουν έντονα αντιοξειδωτικό χαρακτήρα. Σε έρευνα που μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητά του εκχυλίσματος συγκριτικά με αυτή της βιταμίνης C, με βάση την ικανότητα δέσμευσης της ρίζας DPPH, φάνηκε ότι το εκχύλισμα sage είναι τρεις φορές πιο αντιοξειδωτικό από τη βιταμίνη. Τα ευρήματα αυτά πιστοποιούνται από άλλη μελέτη, όπου μετρήθηκε το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο εκφρασμένο ως gallic acid equivalents (GAE) και βρέθηκαν 45-211mg/g ξηρού δείγματος (Kamatou et al, 2008).

A.5.5 Μελισσόχορτο (*Melissa officinalis*) :

A.5.5.1 Γενικά :

Το *Melissa officinalis* αποτελεί ένα αειθαλές φυτό, της οικογένειας Lamiaceae, που πρωτοβρέθηκε στην ανατολική Ευρώπη και τη Μεσόγειο. Τα φύλλα του έχουν μια απαλή μυρωδιά λεμονιού, ενώ η γεύση του αποδίδεται κυρίως σε 3 ουσίες : σιτρονέλα(24%), γερανιάλη(16%), και καρυφυλλένιο (12%). Το καλοκαίρι, σχηματίζει υπόλευκα άνθη, που φέρουν νέκταρ και με αυτό τον τρόπο προσεγγίζουν τις μέλισσες. Από εκεί πήρε και το όνομά του το φυτό (bee ==> μέλισσα στα ελληνικά). Η καλλιέργειά του είναι εύκολη, καθώς απαιτεί φως, θερμοκρασία τουλάχιστον 20o C και καλά στραγγισμένο χώμα. Υπάρχουν πολλές ποικιλίες όπως :

- ✓ *M. officinalis* 'Lemonella'
- ✓ *M. officinalis* 'Citronella'
- ✓ *M. officinalis* 'Quedlinburger'
- ✓ *M. officinalis* 'Lime'
- ✓ *M. officinalis* 'Variegata'
- ✓ *M. officinalis* 'Aurea' (Dastmalchi et al, 2008; Awad et al, 2009)

A.5.5.2 Χημική σύσταση:

Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί αναφορικά με τη χημική σύσταση του βοτάνου έδειξαν ότι περιέχει ταννίνες, τερπένια και άλλα φαινολικά συστατικά. Δεδομένα από ποιοτικο-ποσοτική έρευνα, που έγινε με τη χρήση HPLC σε εκχύλισμα του βοτάνου, πιστοποίησε την ύπαρξη ροσμαρινικού, m-κουμαρικού καθώς και των φλαβονοειδών ναρινγενίνη, εσπερετίνη και ισπεριδίνη. Από αυτά κυριαρχεί το ροσμαρινικό οξύ (96.4570.13 mg/g) ενώ το m-κουμαρικό φαίνεται να είναι αυτό που ανευρίσκεται στο μικρότερο ποσοστό (0.2370.01 mg/g). Κάνοντας μια ανασκόπηση στη βιβλιογραφία σχετικά με το περιεχόμενο του *Melissa officinalis*, αναφέρεται ότι περιέχει ευγενόλη, σιτράλη A & B, κοπαΐνη, καφεϊκό οξύ, θυμόλη, ουρσολικό οξύ,

λιναλοόλη, λουτεολίνη, ροσμαρινικό, γερανιόλη, γερανιάλη, καρνοφυλλένιο και σιτρονέλα. Στα τελευταία τρία αποδίδεται και το άρωμά του (Dastmalchi et al, 2008).

A.5.5.3 Χρήσεις:

Παραδοσιακά έχει χρησιμοποιηθεί για ιατρικούς σκοπούς, στη θεραπεία του κρυολογήματος, του πυρετού, της επιληψίας, της κατάθλιψης, της αμνησίας, του πονοκεφάλου, του πονόδοντου, του άσθματος, της ζαλάδας, της νευρικότητας, της βρογχίτιδας, των αρρυθμιών καθώς και για την επούλωση πληγών και σε ψυχωσικές καταστάσεις. Για χρόνια, θεωρούνταν ότι έχει αντιγηραντικές δράσεις, κάτι που δεν έχει αποδειχθεί έως σήμερα. Επίσης, χρησιμοποιείται στην αρωματοθεραπεία με τη μορφή του αιθέριου ελαίου αλλά και ως εντομοκτόνο χάρις την μυρωδιά που αναδύουν τα φύλλα του. Συχνά βρίσκει εφαρμογή σε συνταγές καλλυντικών ενώ προστίθεται και σε οδοντόπαστες ως βελτιωτικό της γεύσης και του αρώματος. Τέλος, χρησιμοποιείται ευρύτατα στη μαγειρική και τη βιομηχανία τροφίμων ως ενισχυτικό γεύσης σε μίγματα τσαγιού, καραμέλες, σαν συστατικό σε διάφορες σάλτσες αλλά και στην επεξεργασία κρεατοσκευασμάτων ως πιο υγιεινό συντηρητικό (Martins et al, 2011).

A.5.5.4 Δράσεις:

Το lemon balm έχει μεγάλη γκάμα δράσεων. Έχει φανεί ότι δρα ως υπνωτικό, αντιφλεγμονώδες, αντιδιαβητικό, ηπατοπροστατευτικό, αντιοξειδωτικό ογκοκατασταλτικό, αντιϊκό και αντιμικροβιακό. Οι δράσεις του αυτές αποδίδονται κυρίως στο ροσμαρινικό και πιθανά στη συνεργιστική δράση αυτού με τα υπόλοιπα δραστικά συστατικά του βοτάνου. Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι βελτιώνει τα συμπτώματα της νόσου Alzheimer, μια δράση που αποδίδεται στην αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης από το ουρσολικό οξύ του βοτάνου (Geuenich et al, 2008).

Αντιϊκή δράση :

Έρευνα σχετικά με την αντιϊκή δράση των εκχυλισμάτων του lemon balm και του sage έδειξε ότι τα παραπάνω εμποδίζουν την είσοδο των ιϊκών σωματιδίων στο κύτταρο στόχο, και μάλιστα σε συγκεντρώσεις κατά δύο τάξεις μεγέθους μικρότερες από αυτές που προκαλούν κυτοτοξικότητα. Η δράση αυτή παρατηρήθηκε για διάφορους τύπους ιϊκών σωματιδίων αλλά όχι για τον αδενοϊό τύπου S, γεγονός που υποδηλώνει ότι ενδεχομένως το περιεχόμενο της μεμβράνης του ιού αποτελεί τον πρωταρχικό στόχο των εκχυλισμάτων της οικογένειας Lamiaceae. Ο πιθανός μηχανισμός δράσης έχει να κάνει με την τροποποίηση στη δομή του ιού από την αλληλεπίδραση με τα συστατικά του εκχυλίσματος. Ενδεχομένως, το υδατικό εκχύλισμα να αναστέλλει τη γλυκοπρωτεΐνη του ιού της στοματίτιδας των χοίρων (vesicular stomatitis) και της Moloney λευχαιμίας των ποντικών (Geuenich et al, 2008).

Δράση σχετική με το νευρικό σύστημα :

Μέσα από μελέτη διαφόρων τύπων εκχυλισμάτων lemon balm, βρέθηκε ότι ίσως αποτελεί τον αποτελεσματικότερο αναστολέα της τρανσαμινάσης του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA). Το ένζυμο αυτό μειώνει τα επίπεδα του GABA που προκαλεί ανησυχία, ταραχή και νευρολογικές διαταραχές. Ειδικότερα, με τη χρήση της χρωματογραφίας στήλης ταυτοποιήθηκαν τρία συστατικά του βοτάνου που ευθύνονται για αυτήν την αναστολή. Μετά από διαδοχικές εκχυλίσεις με διαφορετικούς διαλύτες -όσον αφορά την πολικότητα- βρέθηκε ότι το μεθανολικό παρουσιάζει τη πιο έντονη δοσο-εξαρτώμενη αναστολή του ενζύμου. Φάνηκε ότι τα πιο πολικά εκχυλίσματα είναι και πιο δραστικά (μεθανολικό > υδατικό > αιθανολικό > εξανολικό). Η δράση αυτή των εκχυλισμάτων αποδόθηκε πρωτίστως στο ροσμαρινικό οξύ (Awad et al, 2009).

Αντιοξειδωτική δράση :

Σύμφωνα με μελέτη που πραγματοποιήθηκε *in vitro*, χρησιμοποιώντας υδατικά και αλκοολικά εκχυλίσματα του βοτάνου βρέθηκε ότι παρουσιάζουν αντιοξειδωτικές ικανότητες που έγκεινται στην αναστολή της οξείδωσης των λιπιδίων και αποδίδεται στο φαινολικό περιεχόμενό τους (ροσμαρινικό, καφεϊκό και μεθυλεστέρες). Η ικανότητά τους να αναστέλλουν την οξείδωση των λιπιδίων μετρήθηκε με βάση την κατανάλωση των λιπαρών οξέων και το σχηματισμό οξειδωμένων παραγώγων (HPODEs), μέσα από την αυτοοξείδωση και την επαγόμενη από το Fe και το EDTA οξείδωση του λινολενικού οξέος. Επιπρόσθετα, μελέτη που έγινε σε ποντίκια χρησιμοποιώντας υδατικά εκχυλίσματα του βοτάνου φανέρωσε προστατευτική δράση όσον αφορά το επαγόμενο από το Mn οξειδωτικό στρες. Συγκεκριμένα, στην ομάδα που έλαβε Mn και εκχύλισμα παρατηρήθηκε αναστολή των δράσεων των αντιοξειδωτικών ενζύμων δισμουτάσης και καταλάσης, καθώς και μείωση της οξειδωτικής καταστροφής (όπως μετρήθηκε με τα μειωμένα επίπεδα θειοβαρβιτουτικού οξέος και θειόλης, δείκτες οξειδωτικού στρες.) Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν την αντιοξειδωτική δράση των υδατικών εκχυλισμάτων του βοτάνου. Ωστόσο απαιτούνται περισσότερες έρευνες για τη εξακρίβωση του μηχανισμού δράσης (Marongiu et al 2004; Martins et al, 2011).

Αντιδιαβητική δράση :

Με βάση σχετική έρευνα που έγινε σε ποντίκια φάνηκε ότι το αιθέριο έλαιο του Lemon balm δρα πιθανά ως υπογλυκαιμικός αγωγός αυξάνοντας τη χρήση της γλυκόζης στο ήπαρ και στους άλλους ιστούς αλλά και μέσα από την αναστολή της γλυκονεογένεσης στο ήπαρ. Συγκεκριμένα, δόθηκε το αιθέριο έλαιο σε δόση 0,015mg/dL, για 6 βδομάδες σε ποντίκια και με το πέρας αυτών φάνηκε ότι τα επίπεδα σακχάρων στο αίμα μειώθηκαν στο 65%, σημειώθηκε και βελτίωση της ανοχής στη γλυκόζη και σημαντική αύξηση της ινσουλίνης σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (Chung et al, 2010).

A.5.6 Σπόροι σταφυλιών (Grape seed):

A.5.6.1 Γενικά:

Το σταφύλι είναι ένα μη-κλιμακτηριακό φρούτο που ανήκει στο γένος *Vitis*. Απαντάται σε διάφορα χρώματα, βυσσινί, άσπρα, μωβ, ροζ, κίτρινα, πορτοκαλί κα. Τα άσπρα είναι ουσιαστικά πράσινα, και προέρχονται από τα μωβ, μέσα από μεταλλάξεις που έγιναν σε αυτά και οφείλουν το χρώμα τους στη αποσιώπηση της έκφρασης των ανθοκυανινών. Διατροφικά, αποτελούν καλές πηγές πολλών θρεπτικών συστατικών όπως βιταμίνης C, K και αρκετών του συμπλέγματος B, ενώ περιέχουν σε μικρότερες ποσότητες ιχνοστοιχεία όπως Mn, Mg, P, K κα. Ενδεικτικά, αναφέρεται ότι τα 100g παρέχουν 70 kcal. Από τα 100g τα 18 είναι υδατάνθρακες ενώ περιέχει επίσης 1g φυτικών ινών και 0,7g πρωτεΐνης. Υπάρχουν πολλές ποικιλίες σταφυλιών. Οι περισσότερες ανήκουν στο γένος *Vitis* και στο είδος *Vinifera*, που έχει τις ρίζες του στη Μεσόγειο και την Κ. Ασία. Άλλες, λιγότερο άφθονες ποικιλίες της Αμερικής και της Ασίας είναι :

- ⤴ *Vitis labrusca*, ένα είδος που πρωτοεμφανίστηκε στις ΗΠΑ και τον Καναδά
- ⤴ *Vitis riparia*, των ΗΠΑ και του Β. Κεμπέκ
- ⤴ *Vitis rotundifolia*, των ΗΠΑ και της κοιλάδας του Μεξικό
- ⤴ *Vitis amurensi* (Yilmaza et al, 2006; Sant'Ana et al, 2012).

A.5.6.2 Χημική σύσταση:

Το κυρίαρχο συστατικό των σπόρων του σταφυλιού είναι οι προανθοκυανιδίνες, στις οποίες αποδίδεται το χρώμα των μωβ σταφυλιών αλλά και ο ισχυρός αντιοξειδωτικός χαρακτήρας τους. Περιέχει, επίσης, σημαντικά ποσά άλλων φλαβονοειδών όπως κατεχίνης, επικατεχίνης, φαινολικών οξέων όπως γαλλικό και εγγαλλικό και στυλβένια με σημαντικότερη τη ρεσβερατρόλη. Επιπρόσθετα, είναι πλούσιο σε πουακόρεστα λιπαρά οξέα. Στο αιθέριο έλαιο αυτών, περιέχονται υψηλά ποσά τοκοφερολών (βιταμίνης E), στεροειδών (καμπεστερόλη, β-σιτοστερόλη, στιγμαστερόλη) και

πολυακόρεστων λιπαρών οξέων όπως λινελαϊκό(72%), α-λινολενικό(1-2%) και ολειακό οξύ(16%) αλλά και παλμιτικό(7%) (Yilmaza et al, 2006, Basil et al, 2005).

A.5.6.3 Χρήσεις:

Αποτελεί παραπροϊόν των σταφυλιών στη βιομηχανία παραγωγής κρασιού γεγονός που το καθιστά ιδανική πρώτη ύλη για την εκχύλιση φαινολικών και φλαβονοειδών. Το εκχύλισμα χρησιμοποιείται ευρύτατα στην Ιαπωνία ως φυσικό προσθετικό τροφίμων και ως αντιοξειδωτικό ιδιαίτερα στη ζαχαροπλαστική και σε επεξεργασμένα προϊόντα ψαριού σε συγκέντρωση 0,01-1%.Εκτός αυτού, το έλαιο του βρίσκει εφαρμογές στη βιομηχανία καλλυντικών καθώς και στη μαγειρική. Στην πρώτη χρησιμοποιείται ως συστατικό σε σκευάσματα για την ενυδάτωση του δέρματος αλλά και ως λιπαντικό σε κρέμες ξυρίσματος. Επίσης, το αιθέριο έλαιο χρησιμοποιείται ευρέως στην αρωματοθεραπεία. Αναφορικά με τη χρήση του στη μαγειρική, το υψηλό σημείο ζέσεως (216οC) το καθιστά ένα από τα καταλληλότερα λάδια για μαγείρεμα σε υψηλές και μέτριες θερμοκρασίες κατά το σοτάρισμα ή το τηγάνισμα. Επιπρόσθετα, χρησιμοποιείται ως συστατικό σε μαρινάδες σαλάτας, στη μαγιονέζα και σε μίγματα/γαλακτώματα με μπαχαρικά χάρις στη λεπτή του γεύση και το υψηλό ποσοστό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Yilmaza et al, 2006).

A.5.6.4 Δράσεις:

Το βασικό δραστικό συστατικό του εκχυλίσματος των σπόρων των σταφυλιών είναι οι προανθοκυανιδίνες. Οι προανθοκυανιδίνες παρουσιάζουν αντιβακτηριακή, αντιαλλεργική, αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδη, ανοσορυθμιστική, καρδιοπροστατευτική, οιστρογονική και αντιοξειδωτική δράση. Επίσης, έχει φανεί ότι ανακουφίζει από τα συμπτώματα της χρόνιας παγκρεατίτιδας. Πιθανολογείται ότι δρα ευεργετικά στα επίπεδα της συστολικής πίεσης και της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, γεγονός που αποδίδεται στη συνεργιστική δράση με συμπληρώματα Cr και Zn.Τέλος, ως συστατικό σε κρέμες φάνηκε να προστατεύει από τις συνέπειες της ηλιακής ακτινοβολίας (Bagchi et al, 2000).

Αντιοξειδωτική-Κυτοτοξική δράση :

Σε έρευνα που εξετάστηκε το στέλεχος GSPE των προανθοκυανιδινών ως προς αντιοξειδωτική του ικανότητα συγκριτικά με τη βιταμίνη E και C, τα αποτελέσματα ήταν θεαματικά. Φάνηκε ότι η GSPE σε δόση 100mg/L είναι έως και 500% πιο αποτελεσματική στο να παγιδεύει ραδιενεργά ανάλογα σε σχέση με τη βιταμίνη C και έως 90% σε σχέση με τη βιταμίνη E. Το στέλεχος αυτό παρέχει προστασία έναντι της οξειδωτικής καταστροφής του DNA και της υπεροξείδωσης των λιπιδίων. Επίσης, φάνηκε ότι είναι κυτοτοξική ενάντια καρκινικών κυττάρων του πνεύμονα, του μαστού, των νεφρών, του εγκεφάλου ενώ προωθεί την ομαλή ανάπτυξη των φυσιολογικών κυττάρων. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαίωσαν πολλές επιδημιολογικές μελέτες τόσο in vivo όσο και in vitro. Η αντιοξειδωτική δράση τους αποδίδεται στα ελεύθερα κατιόντα H που λειτουργούν σαν μαγνήτες για το μονοατομικό οξυγόνο. Τρεις είναι οι πιθανοί μηχανισμοί μέσω των οποίων καταστέλλουν το οξειδωτικό στρες και την επαγόμενη καρκινογένεση:

- ενισχύοντας μονοπάτια που σχετίζονται με τη μη-τοξίκωση (detoxification)
- παρεμβαίνοντας σε μεταβολικές λειτουργίες έτσι ώστε να αναστέλλεται η σύνθεση τοξινών και καρκινικών παραγόντων
- εμποδίζοντας την αλληλεπίδραση καρκινικών παραγόντων και βιολογικών μακρομορίων (Bagchi et al, 2000).

A.5.7 Μήλο πλούσιο σε πολυφαινόλες:

A.5.7.1 Γενικά:

Είναι ένα φυτό και συγκεκριμένα φρούτο της οικογένειας Rosaceae και ανήκει στο γένος *Malus domestica*. Αποτελεί ένα από τα πιο ευρέως καλλιεργούμενα φρούτα που καταναλώνει ο άνθρωπος. Οι ρίζες του βρίσκονται στη Δ. Ασία και ο πρόγονος του

Malus cieversii, φυτρώνει εκεί μέχρι σήμερα. Έχουν αναγνωριστεί πάνω από 7500 ποικιλίες μήλων. Διαφορετικές ποικιλίες προορίζονται για διαφορετική χρήση (απευθείας κατανάλωση, μαγειρική, παρασκευή μηλίτη κα). Σύμφωνα με στατιστικά στοιχεία του FAO, περισσότεροι από 55.000 τόνους παράχθηκαν παγκοσμίως το 2005 με τον τζίρο να ξεπερνάει τα 10 δισ. δολάρια. Τα ηνία όσον αφορά την παγκόσμια παραγωγή κατέχει η Κίνα, με το 35%, ενώ έπονται οι ΗΠΑ, το Ιράν, η Τουρκία, η Ρωσία και η Ιταλία (FAO).

A.5.7.2 Χημική σύσταση:

Τα μήλα και ιδιαίτερα το εκχύλισμα αυτών είναι πλούσιο σε πολυφαινόλες. Η συγκέντρωση των παραπάνω εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως την ποικιλία των μήλων, τις συνθήκες καλλιέργειας, αποθήκευσης και επεξεργασίας καθώς και από το τμήμα τους (φλούδα/σάρκα). Έχει φανεί ότι η φλούδα είναι πολύ πιο πλούσια στα παραπάνω συστατικά σε σχέση με τη σάρκα των μήλων καθώς επίσης και ότι η συγκέντρωση των πολυφαινόλων μειώνεται όσο ωριμάζουν. Η αποθήκευση δε φαίνεται να επιδρά στο φαινολικό περιεχόμενο ενώ η επεξεργασία μειώνει σημαντικά τα δραστικά αυτά συστατικά. Σχετικές μελέτες αποκάλυψαν την παρουσία σε υψηλά επίπεδα των εξής : κατεχίνη, επικατεχίνη, φλοριζίνη, προκυανιδίνη, κουμαρικό οξύ, χλωρογενικό οξύ, γαλλικό οξύ, κερκετίνη-3-γαλακτοσιδάση, κερκετίνη-3-γλυκοσιδάση, κυανιδίνη-3-γαλακτοσιδάση κα. Σε έρευνα που μελετήθηκε η συγκέντρωση των κυριότερων φαινολικών αναλόγων σε έξι ποικιλίες μήλων βρέθηκε ότι τα 100g φρούτου περιέχουν κατά μέσο όρο 13,2g κερκετίνης, 12,8g βιταμίνης C, 9,35g προκυανιδίνη B, 9,02g χλωρογενικού και 8,65g επικατεχίνης (Boyer et al, 2004)

A.5.7.3 Χρήσεις:

Οι κυριότερη χρήση του αφορά τη βιομηχανία τροφίμων και τη μαγειρική. Είναι κατάλληλα για κατανάλωση ωμά, με τη μορφή χυμού, ενώ προστίθενται σε διάφορες συνταγές επιδορπίων. Σημειώνεται ότι ο χυμός τους μπορεί να υποστεί ζύμωση και να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή αλκοολούχων ποτών ή ξυδιού. Παλαιότερα, ο

χυμός του χρησιμοποιούταν ως χωνευτικό. Το εκχύλισμα έχει χρησιμοποιηθεί ως αντιοξειδωτικό, σε περιπτώσεις αναφυλαξίας αλλά και για την προστασία των δοντιών από μικρόβια. Επίσης, εξαιτίας του λεπτού αρώματος του χρησιμοποιείται στην αρωματοθεραπεία και στη βιομηχανία αρωμάτων (Boyer et al, 2004; Mayer et al, 2001).

A.5.7.4 Δράσεις:

Αντιοξειδωτική δράση :

Πολλές είναι οι μελέτες που φανερώνουν τον αντιοξειδωτικό χαρακτήρα των συστατικών του εκχυλίσματος του μήλου. Τα φαινολικά φαίνεται ότι παρεμβαίνουν μειώνουν την οξείδωση της δυφαινυλο-εξατριενικής φωσφατιδιλοχολίνης που είναι ενσωματωμένη σε κλάσματα λιποπρωτεϊνών χαμηλής και πολύ χαμηλής πυκνότητας και αποτελεί δείκτη της οξείδωσης των λιπιδίων. Η δράση είναι δοσοεξαρτώμενη και η κορύφωση της δράσης των φαινολικών ενάντια στην οξείδωση της LDL σημειώνεται 3 ώρες μετά την πρόσληψη του εκχυλίσματος ενώ επιστρέφει στα φυσιολογικά επίπεδα περίπου 24 ώρες μετά (Mayer et al, 2001).

Ογκοκατασταλτική δράση :

Πλήθος μελετών αναφορικά με την επίδραση των εκχυλισμάτων του μήλου σε καρκινικούς όγκους έχει υποδείξει την αποτελεσματικότητά τους όσον αφορά την καταστολή τους. Ειδικότερα, έρευνα σε καρκινικά κύτταρα του ήπατος ποντικών έδειξε ότι το εκχύλισμα του μήλου αναστέλλει την ανάπτυξη του όγκου και εμποδίζει τη μετάσταση. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με παρόμοιες μελέτες όπου επέδρασαν με το εκχύλισμα σε καρκινικά κύτταρα του εντέρου, του ήπατος και του πνεύμονα. Φάνηκε να είναι το τρίτο σε σειρά πιο ισχυρό ογκοκατασταλτικό ανάμεσα σε 11 φρούτα (Miura et al, 2007; Lapidot et al, 2002) .

Άλλες δράσεις :

Σε πρόσφατη έρευνα, φάνηκε ότι το εκχύλισμα μήλου έχει την ικανότητα να καταστέλλει την ενζυμική δράση της τοξίνης της χολέρας με δόσοεξαρτώμενο τρόπο. Συγκεκριμένα, δύο κλάσματα αυτού, με υψηλή συγκέντρωση κατεχινών κατάφεραν να αναστείλουν την επαγόμενη από την τοξίνη καρβοξυλίωση του ADP έως και 95%. Η δράση των άλλων φαινολικών κλασμάτων ήταν σημαντικά μικρότερη (3,5%-39%) (Saito et al, 2002). Τέλος, έχει φανεί ότι τα φαινολικά του εκχυλίσματος του μήλου έχουν καρδιοπροστατευτική δράση που έγκειται στην ικανότητά τους να μειώνουν τη χοληστερόλη. Συγκεκριμένα, πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι ο συνδυασμός πηκτινών και πολυφαινολών του μήλου μειώνει τα επίπεδα χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων στο πλάσμα, περισσότερο από ό,τι οι πηκτίνες ή τα φαινολικά από μόνα τους, γεγονός που υποδεικνύει πιθανή συνεργιστική δράση των παραπάνω (Aprikian et al, 2003).

Β. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΙΚΟΣ ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Τα διατροφικά συμπληρώματα περιλαμβάνουν μια μεγάλη ποικιλία προϊόντων με ευεργετικές δράσεις για τον οργανισμό. Τα τελευταία χρόνια η ραγδαία άνθιση της τεχνολογίας τροφίμων με την ανάπτυξη καινοτόμων τεχνικών αλλά και η καθιέρωση της διαφήμισης και των στρατηγικών μάρκετινγκ σε όλες σχεδόν τις βιομηχανίες τροφίμων, ροφημάτων, καλλυντικών κτλ αύξησε κατακόρυφα τη δημοτικότητά τους και τη χρήση τους σε διεθνές αλλά και σε εθνικό επίπεδο.

Μία από τις πιο καινοτόμες μεθόδους που χρησιμοποιείται στη φαρμακοβιομηχανία και στη βιομηχανία τροφίμων είναι η ενθυλάκωση. Αν και πρωτοχρησιμοποιήθηκε σχετικά πρόσφατα στη φαρμακοβιομηχανία, η μεγάλη γκάμα των πλεονεκτημάτων που προσφέρει είχε σαν αποτέλεσμα τη μελέτη της μεθόδου σε βάθος και την ταχεία υιοθέτηση της και από τη βιομηχανία τροφίμων, όπου χρησιμοποιείται κυρίως για τη μεταφορά αρωματικών ενώσεων. Τα τελευταία χρόνια το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στον εμπλουτισμό τροφίμων και ροφημάτων με διατροφοδραστικά συστατικά (Schrooyen et al, 2001).

Με την ενθυλάκωση επιτυγχάνεται αύξηση του χρόνου αποθήκευσης των εμπλουτισμένων προϊόντων, διατήρηση των ευπαθών ευεργετικών συστατικών όπως βιταμίνες, φυσικά αντιοξειδωτικά, λιπαρά οξέα, προστασία από την οξείδωση, αύξηση της διαλυτότητάς τους, διατήρηση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων κα (Baranauskiene et al., 2007; Μουρτζίνος, 2007; Madene et al., 2006; Szente and Szejtli, 2004, Fang et al, 2010).

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής μελέτης είναι η διερεύνηση της επίδρασης της εφαρμογής της ενθυλάκωσης με τη χρήση της β-CD στην ανάπτυξη διατροφικού συμπληρώματος σε υγρή μορφή με βάση την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής του ικανότητας και κάποιες φυσικοχημικές παραμέτρους. Για την εκτίμηση της επίδρασης της ενθυλάκωσης με τη χρήσης β-CD σε διατροφικό συμπλήρωμα, παρασκευάστηκε ρόφημα με έντονα αντιοξειδωτικό χαρακτήρα που περιείχε εκχύλισμα 5 βοτάνων και 2 ουσιών με βιταμινική δράση. Συγκεκριμένα : λυκοπένιο, συνένζυμο Q10, εκχύλισμα κανέλας, εκχύλισμα φασκόμηλου, εκχύλισμα μελισσόχορτου, εκχύλισμα σπόρων σταφυλιών και εκχύλισμα μήλου πλούσιο σε πολυφαινόλες.

Γ.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Γ.1 Συστατικά αντιοξειδωτικού ροφήματος

Για την Παρασκευή του ροφήματος χρησιμοποιήθηκαν 5 φυτικά εκχυλίσματα του εμπορίου με ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα, 2 ουσίες με βιταμινική δράση από τις οποίες η 1 ήταν σε μορφή σκόνης και η άλλη σε υγρή μορφή, καθώς και 2 κοινά συντηρητικά σε ασφαλείς ποσότητες, κιτρικό οξύ για τη ρύθμιση του pH του ροφήματος και κατάλληλη ποσότητα σιροπιού. Παρακάτω παρατίθενται αναλυτικά τα συστατικά που χρησιμοποιήθηκαν :

- Εκχύλισμα κανέλας
- Εκχύλισμα πολυφαινόλων μήλου
- Εκχύλισμα φασκόμηλου
- Εκχύλισμα μελισσόχορτου
- Εκχύλισμα σπόρων σταφυλιών

- Λυκοπένιο σε μορφή σκόνης
- Συνένζυμο Q10 σε υγρή μορφή

- Σορβικό Κάλιο σε μορφή σκόνης
- Βενζοϊκό Νάτριο σε μορφή σκόνης
- Κιτρικό οξύ σε άνυδρη μορφή
- Σιρόπι φρούτων

Αρχικά υπολογίσθηκε η ποσότητα του ροφήματος που απαιτούνταν για την εκπόνηση των πειραμάτων και τις προγραμματισμένες ανά τακτά χρονικά διαστήματα μετρήσεις και καταλήξαμε στην παρασκευή 3000 mL. Για την παρασκευή ζυγίστηκαν με ακρίβεια εκατομμυριοστού οι απαιτούμενες ποσότητες από κάθε συστατικό. Η συνταγή έχει ως εξής :

Για 1500 mL αντιοξειδωτικού ροφήματος :

Συστατικό	Ποσότητα
Απεσταγμένο νερό	1447,5 mL
Σιρόπι φρούτων	45 mL

Εκχύλισμα κανέλας	1,5g
Εκχύλισμα πολυφαινόλων μήλου	0,75g
Εκχύλισμα μελισσόχορτου	0,75g
Εκχύλισμα φασκόμηλου	0,75g
Εκχύλισμα σπόρων σταφυλιών	0,75g
Συνέζυμο Q10	0,795g
Λυκοπένιο	0,6g
Σορβικό Κάλιο	0,5g
Βενζοϊκό Νάτριο	0,288g
Κιτρικό οξύ	1,5g

Γ.2.1 Παρασκευή αντιοξειδωτικού ροφήματος χωρίς β-κυκλοδεξτρίνη

Σκοπός

Η παρασκευή αντιοξειδωτικού ροφήματος χωρίς β-κυκλοδεξτρίνη προκειμένου να συγκριθεί με το αντίστοιχο ενθυλακωμένο προϊόν.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Εκχύλισμα κανέλας
- Εκχύλισμα πολυφαινόλων μήλου
- Εκχύλισμα φασκόμηλου
- Εκχύλισμα μελισσόχορτου
- Εκχύλισμα σπόρων σταφυλιών
- Λυκοπένιο
- Συνένζυμο Q10
- Σορβικό Κάλιο
- Βενζοϊκό Νάτριο
- Κιτρικό οξύ
- Σιρόπι φρούτων

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας OHAUS

- Αλουμινόχαρτο
- Ποτήρι ζέσης των 2000 mL
- Ποτήρι ζέσης των 50 mL
- Σιφώνι
- Πουάρ
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 100 mL
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 1000 mL
- Μικρή λαβίδα για τη ζύγιση
- Μαγνητικός αναδευτήρας
- Μαγνητάκι
- Εκχυλίσματα και λοιπά συστατικά ροφήματος

Αναλυτική πορεία

Για την παρασκευή ζυγίστηκαν τα παραπάνω εκχυλίσματα και το λυκοπένιο σε ζυγό ακριβείας με ακρίβεια εκατομμυριοστού και τοποθετήθηκαν σε μεγάλο ποτήρι ζέσης των 2000 mL. Στη συνέχεια, ζυγίστηκαν με τον ίδιο τρόπο και προστέθηκαν τα συντηρητικά: σορβικό κάλιο & βενζοϊκό νάτριο καθώς και το κιτρικό οξύ. Έπειτα, με τη βοήθεια ογκομετρικού κυλίνδρου ζυγίστηκαν 45 mL σιροπιού και προστέθηκαν στο ποτήρι ζέσης. Μετά, ζυγίστηκαν 0,795g συνενζύμου Q10 σε μικρό ποτήρι ζέσης των 50 mL και προστέθηκαν στο ποτήρι ζέσης με τα υπόλοιπα συστατικά. Για αποφυγή απωλειών ξεπλύνουμε τα υπολείμματα συνενζύμου με 40mL απεσταγμένου νερού-όπως μετρήθηκαν σε ογκομετρικό κύλινδρο. Εν συνεχεία, μετρήθηκαν με τη βοήθεια μεγάλου ογκομετρικού κυλίνδρου των 1000 mL, 1000 mL απεσταγμένο νερό και άλλα 400 mL τη δεύτερη φορά και προστέθηκαν στο ποτήρι ζέσης με τα συστατικά. Τέλος, με σιφώνι των 10 mL και πουάρ μετρήθηκαν 7,5 mL απεσταγμένου νερού και προστέθηκαν επίσης έτσι ώστε να συμπληρωθεί η απαιτούμενη ποσότητα σε νερό. Ακολούθως, το μίγμα αναδεύτηκε με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες περίπου, μέχρι την εξάλειψη των στερεών σωματιδίων και των ιζημάτων.

Γ.2.2 Παρασκευή αντιοξειδωτικού ροφήματος με β-κυκλοδεξτρίνη

Σκοπός

Παρασκευή αντιοξειδωτικού ροφήματος με προσθήκη β-κυκλοδεξτρίνη προκειμένου να ενθυλακωθούν τα συστατικά του.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Εκχύλισμα κανέλας
- Εκχύλισμα πολυφαινόλων μήλου
- Εκχύλισμα φασκόμηλου
- Εκχύλισμα μελισσόχορτου
- Εκχύλισμα σπόρων σταφυλίων
- Λυκοπένιο
- Συνένζυμο Q10
- Σορβικό Κάλιο
- Βενζοϊκό Νάτριο
- Κιτρικό οξύ
- Σιρόπι φρούτων
- β – κυκλοδεξτρίνη (Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας OHAUS
- Αλουμινόχαρτο
- Ποτήρι ζέσης των 2000 mL
- Ποτήρι ζέσης των 50 mL
- Σιφώνι
- Πουάρ
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 100 mL
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 1000 mL

- Μικρή λαβίδα για τη ζύγιση
- Μεγάλη λαβίδα για τη ζύγιση β-CD
- Μαγνητικός αναδευτήρας Thermolyne Cimarec 2
- Μαγνητάκι

Αναλυτική πορεία

Ακολουθώντας την ίδια ακριβώς διαδικασία παρασκευάστηκε το ρόφημα και δεύτερη φορά και προστέθηκαν 27,225g β-κυκλοδεξτρίνης όπως ζυγίστηκαν με ακρίβεια. Έπειτα, το μίγμα αναδεύτηκε με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες περίπου, μέχρι την εξάλειψη των στερεών σωματιδίων και των ιζημάτων.

Γ.2.3 Προετοιμασία δειγμάτων

Σκοπός :

Συσκευασία και τιτλοδότηση των δειγμάτων για την ορθή αποθήκευση και τη διεκπεραίωση των μετρήσεων.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Μίγμα με κυκλοδεξτρίνη & μίγμα χωρίς κυκλοδεξτρίνη

Όργανα

- Φιαλίδια
- Πώματα
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 100 mL
- Ετικέτες

- Μαρκαδοράκι

Αναλυτική πορεία

Παίρνουμε 50 φιαλίδια και με τη βοήθεια ογκομετρικού κυλίνδρου των 100 mL γεμίζουμε τα 25 φιαλίδια με 50 mL από το μίγμα χωρίς β-κυκλοδεξτρίνη και τα υπόλοιπα 25 με μίγμα με β-κυκλοδεξτρίνη. Τα σφραγίζουμε με πώμα και τα τιτλοδοτούμε αναγράφοντας πάνω σε ετικέτες που τους κολλάμε την ημερομηνία, την εβδομάδα που προβλέπεται να μετρηθούν, τις συνθήκες αποθήκευσης του καθενός καθώς και αν πρόκειται για δείγμα με ή χωρίς β-κυκλοδεξτρίνη.

Γ.2.4 Παστερίωση δειγμάτων

Σκοπός

Τα υγρά τρόφιμα (χυμοί, γάλατα) παστεριώνονται πριν την προώθησή τους στο εμπόριο. Η παστερίωση έχει ως στόχο την προστασία του προϊόντος από τυχόν ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών, καθώς και την εξουδετέρωση - απενεργοποίηση ενζύμων που μπορούν να επιταχύνουν την αλλοίωση του προϊόντος.

Υλικά - Αντιδραστήρια

- Φιαλίδια με το περιεχόμενό τους

Όργανα

- Υδατόλουτρο memmert
- Λαβίδα

Αναλυτική πορεία

Το υδατόλουτρο ρυθμίζεται στους 95°C. Όταν επιτευχθεί αυτή η θερμοκρασία τα δείγματα τοποθετούνται εντός αυτού όπου και παραμένουν για 3 λεπτά.

Γ.2.5 Διατήρηση δειγμάτων

Σκοπός

Τα δείγματα χωρίζονται σε 4 διαφορετικά είδη συνθηκών αποθήκευσης :

- 4°C (στο ψυγείο)
- 25°C (περιβάλλον)
- 37°C (φούρνο)
- UV

και οι διάφορες παράμετροι τους μετρώνται ανά τακτά χρονικά διαστήματα.

Υλικά - Αντιδραστήρια

- Φιαλίδια με τα περιεχόμενα προς μέτρηση δείγματα

Όργανα

- Θάλαμος θέρμανσης 37°C (Mettmert)
- Ψυγείο (4°C)

Αναλυτική πορεία

Τα 48 από τα 50 δείγματα χωρίστηκαν σε 4 ομάδες των 12, ανάλογα με τις συνθήκες διατήρησης. Η πρώτη ομάδα τοποθετήθηκε σε θάλαμο θέρμανσης ρυθμισμένο σε θερμοκρασία 37°C, η δεύτερη σε ντουλάπι όπου επικρατούσε μέση θερμοκρασία περιβάλλοντος 25°C, η τρίτη στο ψυγείο (4°C) και η τέταρτη σε συνθήκες έκθεσης στον ήλιο. Σε κάθε ομάδα, από τα 12 φιαλίδια, τα 6 περιείχαν σκέτο το αντιοξειδωτικό ρόφημα, ενώ τα υπόλοιπα 6 περιείχαν ρόφημα εμπλουτισμένο στο οποίο είχε προστεθεί β-κυκλοδεξτρίνη, δηλαδή που είχαν υποστεί ενθυλάκωση. Τα 6 δείγματα ιδίου περιεχομένου προορίζονταν το καθένα για χρόνους διατήρησης 1 εβδομάδας, 2, 3, 4, 6 και 8 εβδομάδων. Όταν ολοκληρωνόταν ο χρόνος αποθήκευσης για κάθε ομάδα δειγμάτων ξεκινούσε η διαδικασία της αξιολόγησης.

Από τα 2 εναπομείναντα δείγματα το 1 περιείχε σκέτο ρόφημα και το άλλο ρόφημα με β-CD. Τα συγκεκριμένα δείγματα, αφού παρασκευάστηκαν, παστεριώθηκαν και

ψύχθηκαν, αποσφραγίστηκαν και μετρήθηκαν οι παράμετροί τους επιτόπου. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν θεωρήθηκαν ότι αντιστοιχούν στη μηδενική (control) εβδομάδα.

Γ.3 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας δειγμάτων

Σκοπός

Για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας όλων των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος DPPH. Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στη δέσμευση της ελεύθερης ρίζας DPPH (2,2-δυφαίνυλο-2-πικρύλουδραζύλο ελεύθερη ρίζα) από τις αντιοξειδωτικές ουσίες. Όσο περισσότερες ελεύθερες ρίζες δεσμεύονται, τόσο μεγαλύτερη είναι η μείωση της απορρόφησης λόγω αποχρωματισμού του διαλύματος, με το τελευταίο να γίνεται από μωβ κίτρινο. Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ροφήματος χρησιμοποιούμε καμπύλη αναφοράς, για την κατασκευή της οποίας χρησιμοποιούνται πρότυπα διαλύματα Trolox (ανάλογο της Βιταμίνης Ε με ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox.

Υλικά - Αντιδραστήρια

- Trolox (Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)
- DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)
- Απιονισμένο νερό
- MeOH εργαστηρίου αναλυτικής καθαρότητας (Merck, Darmstadt, Germany)

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας OHAUS
- Φωτόμετρο Analyticjena Specord 200
- Πιπέτες και tips Hamilton SoftGrip των 100 και 1000 μ L
- Eppendorfs των 1,5 και 50 ml
- Ογκομετρική φιάλη με καπάκι 250 ml
- Κυψελίδες

Αναλυτική πορεία

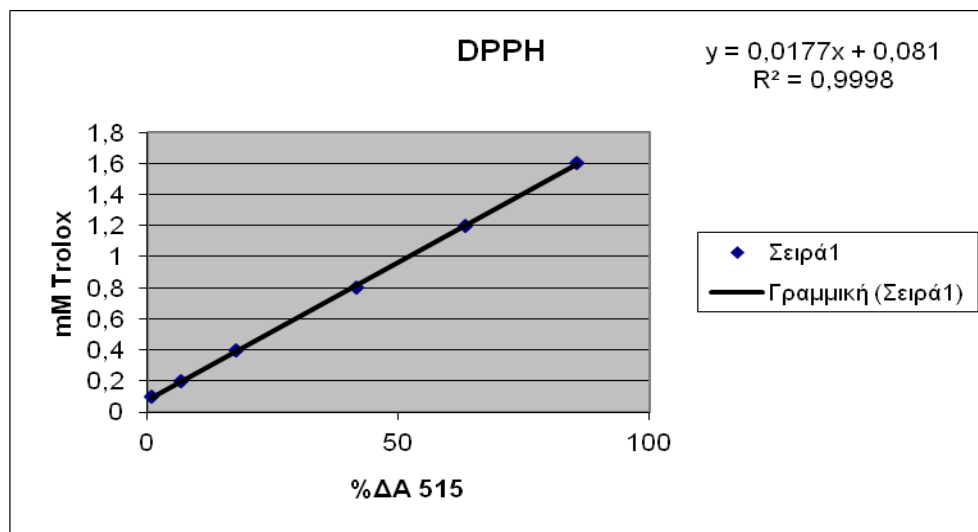
Πριν τη μελέτη των δειγμάτων του χυμού κατασκευάζεται η καμπύλη αναφοράς. Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς ακολουθείται η εξής διαδικασία: Αρχικά, παρασκευάζεται διάλυμα DPPH σε MeOH (100 μ M), ζυγίζοντας 0,0099 g σκόνης DPPH και διαλύοντάς τη σε 250 ml MeOH. Το διάλυμα χωρίζεται σε erpendorfs των 50 ml και αποθηκεύεται στην κατάψυξη. Έπειτα παρασκευάζονται τα πρότυπα διαλύματα Trolox σε MeOH (μεθανόλη), ξεκινώντας από συγκέντρωση 1.6 mM και πηγαίνοντας διαδοχικά με κατάλληλες αραιώσεις στις υπόλοιπες συγκεντρώσεις (1.2 mM, 0.8 mM, 0.4 mM, 0.2 mM, και 0.1 mM).

Στη συνέχεια προχωράμε σε αραιώση των δειγμάτων 1/10, ακολουθώντας την εξής πορεία. Αρχικά παραλαμβάνουμε με πιπέτα 100 μ L δείγματος και 900 μ L απιονισμένο νερό και τα τοποθετούμε σε erpendorfs των 1,5 ml. Ακολουθεί καλή ανάδευση. Έπειτα, με πιπέτα παραλαμβάνονται 25 μ L αραιωμένου δείγματος και προστίθενται μαζί με 980 μ L διαλύματος DPPH σε erpendorfs των 1,5 ml. Κάθε τέτοιο μίγμα παρασκευάζεται 3 φορές για επανάληψη της φωτομέτρησης και εξαγωγή του μέσου όρου των μετρήσεων για πιο αξιόπιστα αποτελέσματα. Η διαδικασία αυτή γίνεται σε ξεχωριστές τριάδες erpendorfs για κάθε διαφορετικό δείγμα. Στη συνέχεια τα erpendorfs με τα μίγματα που έχουν τοποθετηθεί σε ειδική βάση, αναδεύονται καλά και τοποθετούνται στο σκοτάδι για μισή ώρα, ώστε να γίνει η αντίδραση δέσμευσης της ρίζας DPPH. Μετά το πέρας της μισής ώρας, τα erpendorfs επανέρχονται στο φως για τη φωτομέτρηση. Το φασματοφωτόμετρο ρυθμίζεται στα 515 nm. Για το μηδενισμό του μηχανήματος χρησιμοποιείται MeOH, και το πρώτο δείγμα που φωτομετρείται είναι το DPPH, του οποίου η απορρόφηση χρησιμεύει ως τυφλό δείγμα στην ανάλυση αποτελεσμάτων. Στη συνέχεια, όλα τα δείγματα μεταφέρονται σε κυψελίδες και φωτομετρούνται από το πιο σκούρο δείγμα στο πιο ανοιχτόχρωμο.

Οι τιμές της απορρόφησης των δειγμάτων προσαρμόζονται στον παρακάτω τύπο και προκύπτει η % μείωση των ριζών DPPH, δηλαδή το ποσοστό των ριζών που δεσμεύτηκαν από το Trolox (ανάλογο της Βιταμίνης E):

$$\% \text{ DPPH}_{\text{ΜΕΙΩΣΗ}} = \% \Delta A_{515} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ}}) / A_{\text{DPPH}}] * 100$$

Οι τιμές % ΔA_{515} και οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις των προτύπων διαλυμάτων Trolox χρησιμοποιούνται για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς.



Σχήμα Γ.1. Καμπύλη αναφοράς της απορρόφησης σε συνάρτηση με τα ισοδύναμα Trolox (mM).

Κάθε εβδομάδα τα προς μελέτη δείγματα του ροφήματος φωτομετρούνται με τον τρόπο που αναλύθηκε παραπάνω.. Από τις τιμές απορρόφησης στα 515 nm προκύπτουν οι τιμές % ΔA_{515} , οι οποίες προσαρμόζονται στην εξίσωση που έχει προκύψει από την καμπύλη αναφοράς. Τα ισοδύναμα Trolox που προκύπτουν από την εξίσωση (σε mM) χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση και τη σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων.

Γ.4 Προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

Υλικά και Αντιδραστήρια

- ❖ Φιαλίδια με το περιεχόμενό τους
- ❖ Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu's Phenol reagent (φυλάσσεται στο ψυγείο)

- ❖ Κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 , 20%w/v)
- ❖ Απεσταγμένο νερό
- ❖ MeOH αναλυτικής καθαρότητας
- ❖ Γαλλικό οξύ (gallic acid) (φυλάσσεται στο ψυγείο)

Όργανα

- ❖ Φωτόμετρο Analyticjena Specord 200
- ❖ Πιπέτες και tips Hamilton SoftGrip των 100 και 1000 μL
- ❖ Eppendorfs των 1,5 και 50 ml
- ❖ Ογκομετρική φιάλη με καπάκι 250 ml
- ❖ Κυψελίδες
- ❖ Ποτήρι ζέσης των 50 ml

Αναλυτική πορεία

Αρχικά πραγματοποιούμε αραιώση των δειγμάτων 1/10, ακολουθώντας την εξής πορεία. Αρχικά παραλαμβάνουμε με πιπέτα 100 μL δείγματος και 900 μL απιονισμένο νερό και τα τοποθετούμε σε eppendorfs των 1,5 ml. Ακολουθεί καλή ανάδευση. Έπειτα, σε ένα eppendorf τοποθετούνται 790 μL απεσταγμένο νερό και 10 μL αραιωμένου δείγματος με πιπέτα. Στη συνέχεια προστίθενται 50 αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu. Ακολουθεί ανάδευση και μετά από 1 λεπτό προστίθενται με πιπέτα 150 μL κορεσμένου διαλύματος ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 , 20% w/v). Τα μείγματα αυτά ανακινούνται καλά και φυλάσσονται σε σκοτεινό μέρος σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες ώστε να γίνει η αντίδραση. Παράλληλα παρασκευάζονται δύο τυφλά δείγματα στα οποία αντί για 10 μL δείγματος προστίθενται 10 μL απεσταγμένου νερού. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρείται στα 750nm. Η συγκέντρωση των πολυφαινολών στα δείγματα υπολογίζεται με τη χρήση καμπύλης αναφοράς γαλλικού οξέος και εκφράζεται ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Το γαλλικό οξύ διαλύεται σε EtOH).

Παρασκευή πρότυπων Gallic acid για κατασκευή καμπύλης αναφοράς :

0,08g σε 50 ml EtOH □ (1600mg/L)

750 μL (1600 mg/L) + 250 μL EtOH $\square$ (1200 mg/L)

500 μL (1600 mg/L) + 500 μL EtOH $\square$ (800 mg/L)

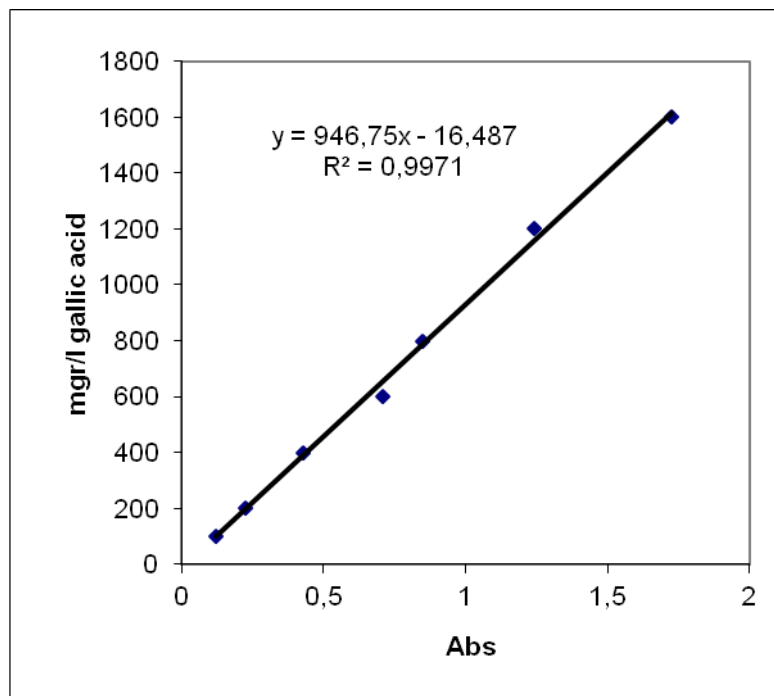
500 μL (1600 mg/L) + 500 μL EtOH $\square$ (600 mg/L)

5000 μL (1600 mg/L) + 500 μL EtOH $\square$ (400 mg/L)

500 μL (1600 mg/L) + 500 μL EtOH $\square$ (200 mg/L)

500 μL (1600 mg/L) + 500 μL EtOH $\square$ (100 mg/L)

Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς προστίθενται 10 μL του κάθε διαλύματος γαλλικού οξέος αντί για 10 μL εκχυλίσματος.



Σχήμα Γ.2. Καμπύλη αναφοράς της απορρόφησης σε συνάρτηση με τα ισοδύναμα gallic acid

Γ.5 Διαθλασιμετρία

Σκοπός

Η διαθλασιμετρία είναι η μέθοδος με την οποία προσδιορίζεται ο δείκτης διάθλασης ενός υγρού ή του μίγματος δύο πλήρως μιγνυόμενων υγρών, από την τιμή του οποίου μπορεί να υπολογισθεί η αναλογία του πρώτου υγρού στο δεύτερο.

Ο δείκτης διάθλασης είναι χαρακτηριστικό φυσικό μέγεθος των σωμάτων και εξαρτάται από τη θερμοκρασία για αυτό όλες οι μετρήσεις αναφέρονται σε καθορισμένη θερμοκρασία.

Το διαθλασίμετρο Abbe

Το διαθλασίμετρο του Abbe είναι το ειδικό όργανο με το οποίο μετρείται ο δείκτης διάθλασης. Ως οπτικώς πυκνότερο μέσο διάθλασης χρησιμοποιείται ειδική βαριά πιριτύαλος υπό τη μορφή δύο ορθογώνιων πρισμάτων Π και Ή, ενώ ως οπτικώς αραιότερο μέσο χρησιμοποιείται το προς εξέταση υγρό, το οποίο τοποθετείται μεταξύ δύο πρισμάτων σχηματίζοντας ένα λεπτό υμένα με παράλληλες έδρες.

Από φωτεινή πηγή λευκού φωτός φωτίζεται το κάτω πρίσμα Ή και με κατάλληλη περιστροφή του επιτρέπεται η δίοδος μέσω του υγρού δείγματος μόνο των ακτινών 1 & 2 υπό γωνία ίση ή μικρότερη της οριακής, ενώ η ακτίνα 3 με γωνία μεγαλύτερη της οριακής υφίσταται ολική ανάκλαση και απομακρύνεται. Οι ακτίνες 1 & 2 υφίστανται διάθλαση στο υγρό δείγμα και μετά την έξοδό τους από το πρίσμα συγκεντρώνονται μέσω φακού στο οπτικό πεδίο του οργάνου. Εφ' όσον η γωνία πρόσπτωσης ρυθμιστεί μέσω της περιστροφής των Π'Π ίση με την οριακή γωνία, τότε το οπτικό πεδίο θα εμφανίζεται μισό φωτεινό και μισό σκοτεινό. Η τιμή του δείκτη διάθλασης προκύπτει με απ' ευθείας ανάγνωση της τιμής πάνω σε κατάλληλα βαθμολογημένη κλίμακα του οργάνου.

Υλικά και αντιδραστήρια

- Φιαλίδια με το περιεχόμενο δείγμα
- Απιονισμένο νερό

Όργανα

- Διαθλασίμετρο Abbe AKRUSS OPTRONIC AR4
- Ποτήρι ζέσης των 50mL
- Γυάλινες ράβδοι με λεία άκρα
- Μικρά πουάρ
- Υφάσματα καθαρισμού των πρισμάτων

Αναλυτική πορεία

Αρχικά, αφότου συνδέσουμε το διαθλασίμετρο με μια γυάλινη ράβδο τοποθετούμε 2-3 σταγόνες απεσταγμένο νερό στο πρίσμα του διαθλασίμετρου και ρυθμίζουμε /καλυμπάρουμε το όργανο. Στη συνέχεια, σκουπίζουμε με τα ειδικά υφασμάτινα μαντηλάκια το πρίσμα, παίρνουμε με μια γυάλινη ράβδο 2-3 σταγόνες από ένα μπουκαλάκι δείγματος και τις τοποθετούμε στο κάτω πρίσμα. Το επάνω πρίσμα έρχεται σε επαφή με το κάτω και σταθεροποιείται με ειδική ασφάλεια-κουμπί. Παρατηρείται η οπτική εικόνα από τη διόπτρα και με τον κοχλία περιστρέφονται τα πρίσματα η οριακή επιφάνεια εμφανιστεί στο οπτικό πεδίο. Με τον κοχλία περιστρέφονται τα διορθωτικά πρίσματα μέχρι να εξαφανιστούν οι έγχρωμες γραμμές και η οπτική εικόνα να είναι μόνο φωτεινή και σκοτεινή. Περιστρέφουμε τον κοχλία μέχρι η σκοτεινή γραμμή της οριακής επιφάνειας διατέμνει ακριβώς το κέντρο του οπτικού πεδίου, το οποίο καθορίζεται από το σταυρόνημα του οπτικού πεδίου. Η ακριβής θέση στο κέντρο του σταυρονήματος αντιστοιχεί στο δείκτη διάθλασης του δείγματος, η τιμή του οποίου διαβάζεται επί της κλίμακας που υπάρχει στο κάτω μέρος πεδίου. Η τιμή σημειώνεται σε κατάλληλο πίνακα αποτελεσμάτων. Στη συνέχεια, τα πρίσματα απασφαλίζονται, απομεκρύνονται και καθαρίζονται με τα ειδικά μαντηλάκια. Η ίδια διαδικασία ακολουθείται για τη μέτρηση του δείκτη διάθλασης των υπόλοιπων δειγμάτων.

Γ.6 Πεχαμετρία

Με τον όρο πεχαμετρία εννοούμε τη μέτρηση του pH ενός διαλύματος ή μιας ουσίας ή γενικά ενός υλικού. Η κατά προσέγγιση μέτρηση του pH γίνεται με πεχαμετρικό

χαρτί ή με τη βοήθεια ειδικών ουσιών που καλούνται δείκτες ενώ η ακριβής πεχαμέτρηση γίνεται με ειδικά ηλεκτρονικά όργανα, τα πεχάμετρα.

Σκοπός

Η ακριβής μέτρηση του pH του αντιοξειδωτικού ροφήματος στις διάφορες συνθήκες με β-κυκλοδεξτρίνη και χωρίς προκειμένου να τα συγκρίνουμε και να εξακριβώσουμε την επίδραση της β-κυκλοδεξτρίνης στο pH και τη διατήρηση αυτού.

Υλικά και αντιδραστήρια :

- Φιαλίδια με το περιεχόμενο δείγμα
- Απιονισμένο νερό

Όργανα

- Πεχάμετρο 744 pHMeter Metrohm
- Ρυθμιστικά buffers :
 - technical buffer 4.01 Model STP4
 - technical buffer 7.01 Modell STP4
- Απορροφητικό χαρτί
- Απιονισμένο νερό

Αναλυτική πορεία

Αρχικά πραγματοποιείται καλυμπάρισμα του πεχάμετρου με τη βοήθεια των ρυθμιστικών διαλυμάτων. Αφότου ανοίξουμε το όργανο, ξεπλένουμε το ηλεκτρόδιο με απιονισμένο νερό, το σκουπίζουμε με χαρτί και το εμβαπτίζουμε στο ρυθμιστικό buffer 4.01 και πιέζουμε την ένδειξη CAL. Ξεπλένουμε το ηλεκτρόδιο πάλι, το σκουπίζουμε και το εμβαπτίζουμε στο buffer 7.01, πιέζοντας πάλι το CAL. Όταν στην οθόνη του οργάνου εμφανιστεί μια γραφική παράσταση, τότε είναι έτοιμο για χρήση. Ξεπλένουμε και σκουπίζουμε το ηλεκτρόδιο. Στη συνέχεια εμβαπτίζουμε το ηλεκτρόδιο σε ένα από τα φιαλίδια που περιέχουν δείγμα. Αναμένουμε μέχρι να σταθεροποιηθεί η ένδειξη και την καταμετρούμε σε κατάλληλο πίνακα αποτελεσμάτων. Η ίδια διαδικασία ακολουθείται με όλα τα φιαλίδια. Στο τέλος, ξεπλένουμε το ηλεκτρόδιο με απιονισμένο νερό, το σκουπίζουμε, το εμβαπτίζουμε στο KCl, στη βάση του και το κλείνουμε.

Δ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

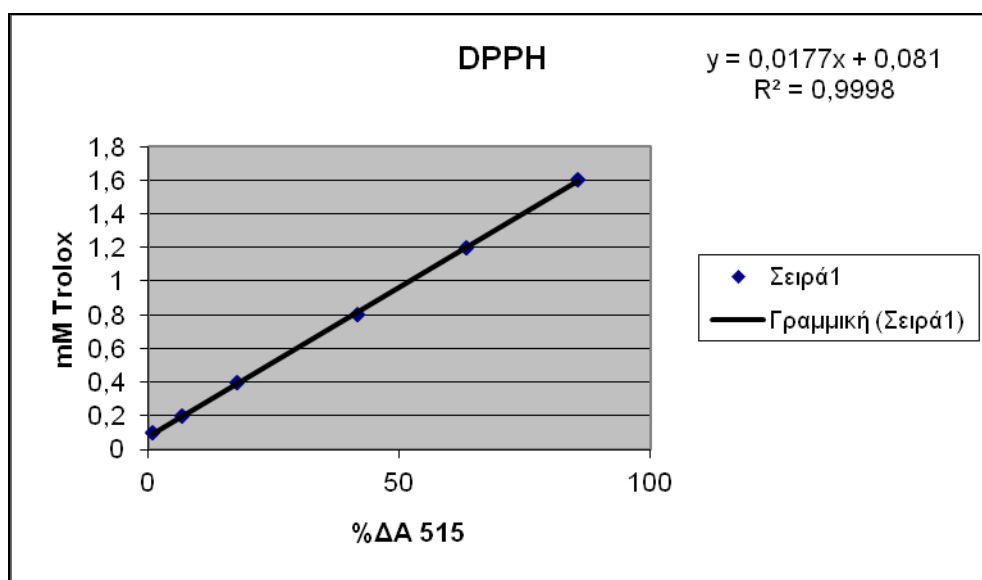
Δ.1 ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ

Για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων και τη σύγκριση του σκέτου ροφήματος με αυτό στο οποίο προστέθηκε β-κυκλοδεξτρίνη χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος DPPH. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ευρέως για την εκτίμηση ουσιών με αντιοξειδωτικό χαρακτήρα όπως τα φαινολικά. Ειδικότερα, οι ουσίες αυτές έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH (2,2-δυφαίνυλο-2-πικρύλουδραζύλο ελεύθερη ρίζα) και η δέσμευση αυτή οδηγεί σε μείωση της απορρόφησης, γεγονός που αποδίδεται στον αποχρωματισμό του διαλύματος από ιώδες σε κίτρινο. Επομένως η παραγωγή ανοιχτόχρωμου προϊόντος συνεπάγεται μείωση της απορρόφησης, και αυτή με τη σειρά της συνδέεται με αυξημένη δέσμευση της ελεύθερης ρίζας, άρα ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα.

Το ρόφημα που παρασκευάστηκε αναμένεται να έχει έντονο αντιοξειδωτικό χαρακτήρα όπως μαρτυρούν τα συστατικά του : Εκχύλισμα κανέλας, εκχύλισμα μήλου πλούσιο σε πολυφαινόλες, εκχύλισμα φασκόμηλου, εκχύλισμα μελισσόχορτου, εκχύλισμα σπόρων σταφυλιών, λυκοπένιο και συνένζυμο Q10.

Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στις δύο διαφορετικές εκδοχές του ροφήματος, σε αυτό που περιείχε μόνο τα βιοδραστικά, αντιοξειδωτικού χαρακτήρα εκχυλίσματα και σε αυτό που περιείχε τα προαναφερθέντα αλλά επιπλέον ήταν εμπλουτισμένο με β-κυκλοδεξτρίνη(β-CD). Ειδικότερα, η μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ροφήματος έγινε έπειτα από διαχωρισμό των δειγμάτων και αποθήκευση αυτών σε 4 διαφορετικά είδη συνθηκών. Αυτές ήταν : α)Εντός ψυγείου, περίπου στους 4°C σταθερά, β) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, περίπου 25°C, γ) εντός θερμαινόμενου θαλάμου (φούρνου) στους 37°C και δ) σε μέρος όπου ήταν εκτεθειμένο στην ηλιακή/υπεριώδη ακτινοβολία (UV). Οι μετρήσεις έλαβαν χώρα τη μηδενική εβδομάδα, αμέσως μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής του ροφήματος και επαναλήφθηκαν σε τακτά χρονικά διαστήματα στη διάρκεια 2 μηνών : 1^η εβδομάδα, 2^η, 3^η, 4^η, 6^η & 8^η.

Τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων εκφράζονται ισοδύναμα Trolox (mM). Στο σχήμα Δ.1 παριστάνεται η πρότυπη καμπύλη αναφοράς με βάση την οποία υπολογίστηκαν τα αποτελέσματα του DPPH.



Σχήμα Δ.1. Πρότυπη καμπύλη αναφοράς Trolox (mM) – DPPH

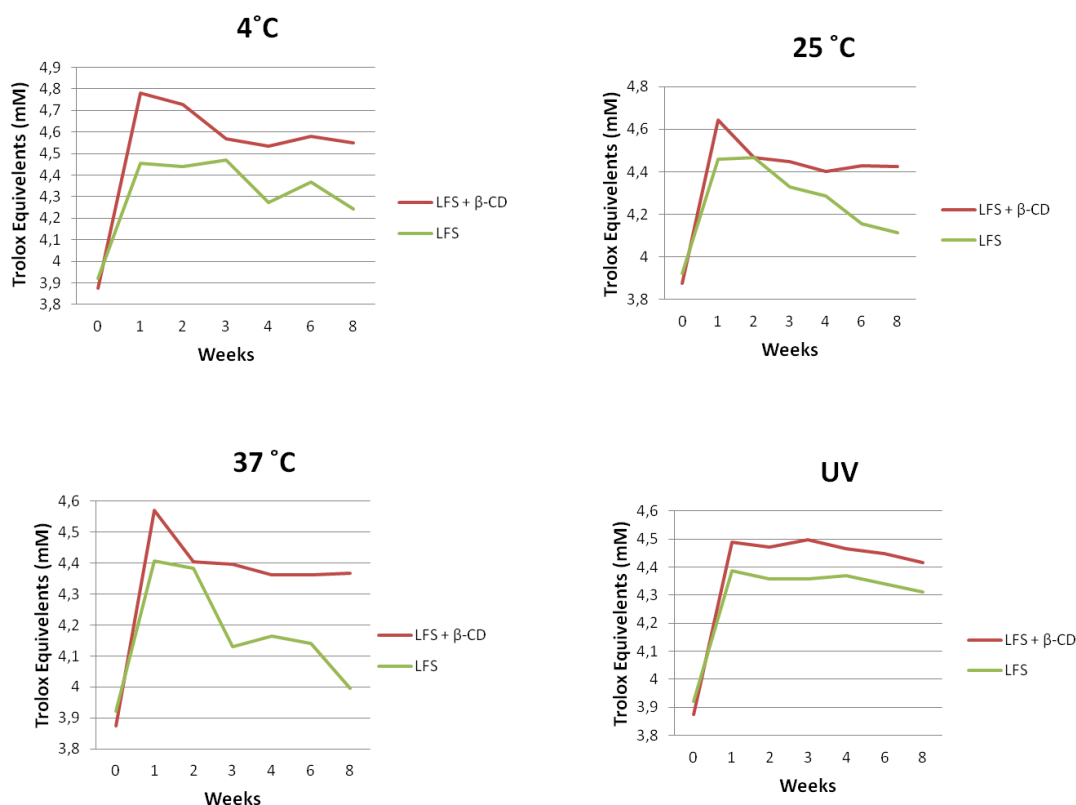
Στον πίνακα Δ.1 φαίνονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων με τη μέθοδο DPPH, όπως εκφράστηκαν σε ισοδύναμα Trolox (mM), στις διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης από τη μηδενική εβδομάδα (control group) έως και την όγδοη.

Πίνακας 4.1. Αντιοξειδωτική ικανότητα (σε mM ισοδυνάμων Trolox) στα δείγματα του εμπλουτισμένου και μη ροφήματος στις διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης (4°C, 25°C, 37°C, UV) και χρονικό διάστημα διατήρησης 1 – 8 εβδομάδων.

ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΣΕ ΙΣΟΔΥΝΑΜΑ TROLOX (mM)						
	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ 0	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ I	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ II	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ III	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ IV	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ VI	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ VIII
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD	3,875172	-	-	-	-	-	-
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD	3,922124	-	-	-	-	-	-
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD 4°C	-	4,781675	4,725604	4,568058	4,535268	4,579552	4,550767
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD 25°C	-	4,642409	4,468195	4,446876	4,402898	4,427116	4,425236
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD 37°C	-	4,570651	4,403843	4,397905	4,362785	4,362624	4,366655
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD UV	-	4,488212	4,472095	4,472095	4,465072	4,446659	4,446659
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD 4°C	-	4,456188	4,440894	4,470269	4,272532	4,366532	4,243216
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD 25°C	-	4,457508	4,466245	4,329886	4,288015	4,157422	4,115594
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD 37°C	-	4,407768	4,38342	4,129963	4,164229	4,139833	3,99634
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD UV	-	4,386801	4,358991	4,356833	4,370808	4,341127	4,312258

Η γενική εικόνα είναι ότι η προσθήκη β-CD διατήρησε σαφώς καλύτερα την αντιοξειδωτική δράση των συστατικών του ροφήματος και στα 4 είδη συνθηκών γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στην αύξηση της διαλυτότητας των συστατικών των εκχυλισμάτων λόγω της δημιουργίας συμπλόκου εγκλεισμού μεταξύ αυτών και της β-CD. Τα περισσότερα εκχυλίσματα περιλαμβάνουν φαινολικές αντιοξειδωτικές ουσίες για τις οποίες έχει αναφερθεί ότι σχηματίζουν σύμπλοκα εγκλεισμού (Mourtzinou *et al.*, 2011).

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα κατασκευάστηκαν διαγράμματα όπου απεικονίζεται συγκριτικά για τα δύο ειδών ροφήματα και για τις 4 διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης, η αντιοξειδωτική ικανότητα στο διάστημα 8 εβδομάδων (0 εβδομάδα-control, 1^η-8^η εβδομάδα) :



Σχήμα 1.2. Συγκριτική μεταβολή της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας DPPH του σκέτον και του εμπλουτισμένου με β-CD ροφήματος (σε mM ισοδυνάμων Trolox) στις 4 διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης (4°C, 25°C, 37°C, UV) από τη μηδενική έως την όγδοη εβδομάδα.

Γενικά, το ρόφημα που παρασκευάστηκε φάνηκε να έχει έντονα αντιοξειδωτικό χαρακτήρα –όπως αναμενόταν- γεγονός που οφείλεται στα φυσικά αντιοξειδωτικά συστατικά των εκχυλισμάτων από τα οποία παρασκευάστηκε. Συγκεκριμένα, το εκχύλισμα της κανέλας περιέχει σημαντικά ποσά σιναμαλδεύδης και ευγενόλης αλλά και β-καρυοφυλλένιο, λιναλοόλη και άλλα μονο- και δι-τερπένια τα οποία

προσδίδουν στο εκχύλισμα την αντιοξειδωτική του δράση (Wijesekera , 1978; Jayaprakasha et al, 2011).

Όσον αφορά το εκχύλισμα του φασκόμηλου, περιέχει και αυτό φυσικά αντιοξειδωτικά και συγκεκριμένα αυτά που κυριαρχούν είναι το ροσμαρινικό ,το ουρσολικό οξύ, αμφότερα παράγωγα του καφεϊκού οξέος ενώ το καρνοσικό και την καρνοσόλη συνεισφέρουν επίσης(Mohsen et al, 2006; Kamatou et al, 2008). Μεγάλο είναι το πλήθος των ερευνών που πιστοποιούν την αντιοξειδωτική δράση του φασκόμηλου. Σημειώνεται ενδεικτικά ότι σε σχετική μελέτη όπου συγκρίθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα του φασκόμηλου με αυτή της βιταμίνης C, βρέθηκε ότι το εκχύλισμα του φασκόμηλου είναι 3 φορές πιο αντιοξειδωτικό. (Kamatou et al, 2008). Φυσικά αντιοξειδωτικά σε σημαντικό ποσοστό περιέχει και το μελισσόχορτο. Ειδικότερα, με τη χρήση της HPLC, πιστοποιήθηκε η παρουσία ροσμαρινικού, m-κουμαρικού καθώς και των φλαβονοειδών ναρινγενίνη, εσπερετίνη και ισπεριδίνη, ενώ υπάρχουν πολυάριθμες αναφορές που πιστοποιούν την παρουσία των : αναφέρεται ευγενόλη, σιτράλη A & B, κοπαΐνη, καφεϊκό οξύ, θυμόλη, ουρσολικό οξύ, λιναλοόλη,λουτεολίνη, γερανιόλη, γερανιάλη, καρυοφυλλένιο και σιτρονέλα (Dastmalchi et al, 2008). Όσον αφορά τους σπόρους σταφυλιών, το κυρίαρχο φυσικό αντιοξειδωτικό φαίνεται να είναι οι προανθοκυανιδί-

νες ενώ συνεισφέρουν σημαντικά και άλλα φλαβονοειδή όπως η κατεχίνη, η επικατεχίνη, το γαλλικό και το εγγαλλικό οξύ, και κάποια στυλβένια με κυριότερη τη ρεσβερατρόλη (Yusuf Yilmaza et al, 2006, Basil S. et al, 2005). Τα μήλα είναι γνωστό ότι περιέχουν μεγάλα ποσά αντιοξειδωτικών πολυφαινόλων. Συγκεκριμένα, η αντιοξειδωτική δράση του φρούτου αλλά και του πλούσιου σε πολυφαινόλες εκχυλίσματος αποδίδεται στα εξής : κατεχίνη,επικατεχίνη,φλοριζίνη,προκυανιδίνη, κουμαρικό οξύ, χλορογενικό οξύ,γαλλικό οξύ, κερκετίνη-3-γαλακτοσιδάση, κερκετίνη-3-γλυκοσιδάση, κυανιδίνη-3-γαλακτοσιδάση (Boyer et al, 2004).

Τέλος, στην αντιοξειδωτική ικανότητα του ροφήματος συνεισφέρουν τα εκχυλίσματα με βιταμινική δράση : το λυκοπένιο και το συνένζυμο Q10. Η αντιοξειδωτική δράση του λυκοπένιου πιθανότατα αποδίδεται στους εναλλασσόμενους διπλούς δεσμούς που κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες υφίστανται ισομερίωση και προκύπτουν διάφορα cis ισομερή που είναι περισσότερο βιοδιαθέσιμα (Rao et al, 2007; Omoni et al, 2005). Τέλος, η αντιοξειδωτική δράση του συνενζύμου Q10 έγκειται στην

ικανότητά του να εναλλάσσεται από την οξειδωμένη στην ανηγμένη μορφή (Pravst et al, 2010; Kawamukai, 2002).

Όπως αναφέρεται και παραπάνω, είναι εμφανές από τα αποτελέσματα των μετρήσεων και την αντίστοιχη διαγραμματική απεικόνιση ότι ανάμεσα στα δύο είδη ροφήματος, το σκέτο και το εμπλουτισμένο με β -CD, διατηρήθηκαν καλύτερα τα αντιοξειδωτικά συστατικά στο εμπλουτισμένο ρόφημα. Επίσης, από τη μελέτη των διαγραμμάτων φαίνεται ότι τα δείγματα που διατηρήθηκαν στο ψυγείο υπερτερούν όσον αφορά τη διατήρηση των φυσικών αντιοξειδωτικών συστατικών των εκχυλισμάτων σε όλες τις εβδομάδες. Αυτό υποδηλώνει ότι σε θερμοκρασίες ψύξης προστατεύονται καλύτερα τα συστατικά με ισχυρό αντιοξειδωτικό χαρακτήρα εν συγκρίσει με τη θερμοκρασία περιβάλλοντος, τη θερμοκρασία θερμοθαλάμου και την έκθεση στον ήλιο. Επομένως, ένα τέτοιο προϊόν σε υγρή μορφή (ρόφημα/αναψυκτικό/διατροφικό συμπλήρωμα) συστήνεται να διατηρείται στο ψυγείο.

Εξετάζοντας τις τιμές των μετρήσεων των δειγμάτων που αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και αυτών που διατηρήθηκαν στον ήλιο δεν παρατηρούνται αξιοσημείωτες διαφορές στον ίδιο τύπο ροφήματος. Είναι εμφανές ότι και στις δύο συνθήκες, στο εμπλουτισμένο με β -CD ρόφημα διατηρήθηκαν τα φυσικά αντιοξειδωτικά σε πιο ικανοποιητικό βαθμό. Το γεγονός ότι δεν παρατηρείται διαφοροποίηση ανάμεσα στη θερμοκρασία περιβάλλοντος και στην έκθεση στον ήλιο, έχει πρακτική σημασία για το χώρο της βιομηχανίας και ειδικότερα τον τομέα της συσκευασίας και υποδηλώνει ότι ένα τέτοιο προϊόν μπορεί να παρασκευαστεί τόσο σε διαφανή όσο και σε αδιαφανή συσκευασία χωρίς να παρατηρηθεί υποβάθμιση του περιεχομένου.

Αναφορικά με τη διατήρηση των δειγμάτων στο θερμοθάλαμο, στους 37°C, παρατηρείται η μεγαλύτερη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων τόσο στο σκέτο ρόφημα όσο και στο εμπλουτισμένο με β -CD που πιθανότατα έγκειται στη θερμική υποβάθμιση των συστατικών με αντιοξειδωτικό χαρακτήρα. Το μόνο συστατικό που θα μπορούσε να επηρεάζεται θετικά από την αυξημένη

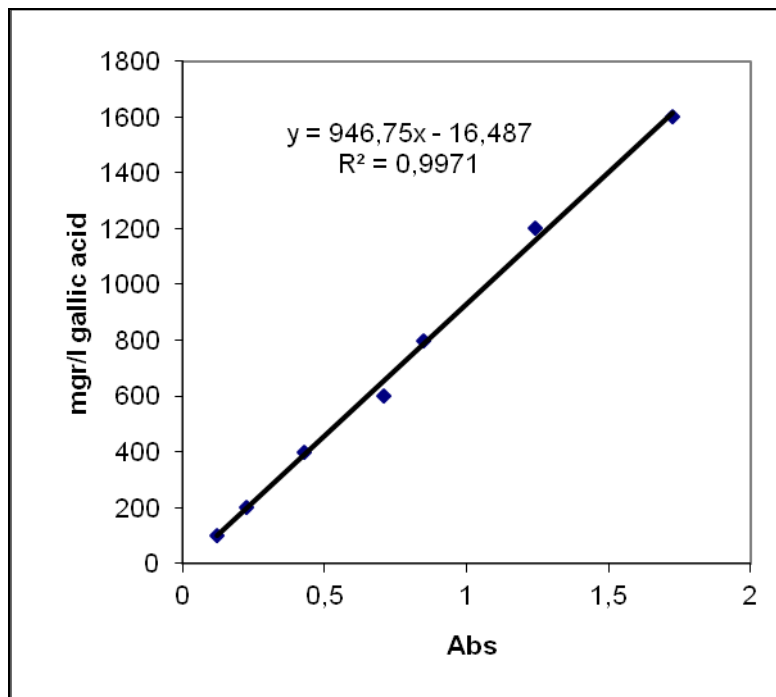
θερμοκρασία και την αποθήκευση σε αυτές τις συνθήκες είναι το λυκοπένιο. Είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία ότι η αποθήκευση και επεξεργασία τροφίμων και εν γένει προϊόντων που περιέχουν λυκοπένιο, κάτω από κατάλληλες συνθήκες (θέρμανση-μαγείρεμα, έκθεση σε φως) οδηγούν στην ισομερίωση των εναλλασσόμενων διπλών δεσμών, έτσι ώστε προκύπτουν διάφορα cis ισομερή. Είναι γνωστό επίσης ότι τα cis ισομερή είναι περισσότερο βιοδιαθέσιμα από την trans μορφή (Rao et al, 2007;. Omoni et al, 2005).

Το γεγονός ότι παρά τα παραπάνω, παρατηρήθηκε μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας στα δείγματα του θερμοθαλάμου και της υπεριώδους ακτινοβολίας όλων των εβδομάδων, ανεξαρτήτως εμπλουτισμού με β-CD, υποδηλώνει ότι η είτε η θερμοκρασία αποθήκευσης στο θερμοθάλαμο και η θερμοκρασία έκθεσης στην ηλιακή ακτινοβολία δεν ήταν αρκετά υψηλές ώστε να γίνει η επικείμενη ισομερίωση, είτε η πιθανή αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας δεν ήταν της απαιτούμενης τάξης μεγέθους ώστε να γίνει εμφανής και να υπερκαλύψει τη βελτιωμένη εικόνα διατήρησης των αντιοξειδωτικών συστατικών των λοιπών εκχυλισμάτων που παρατηρήθηκε στις συνθήκες αποθήκευσης στο ψυγείο. Αναφορικά με τον εμπλουτισμό σε σχέση με την αντιοξειδωτική ικανότητα, στα δείγματα του εμπλουτισμένου ροφήματος διακρίνεται σαφής υπεροχή. Το γεγονός αυτό πιθανότατα οφείλεται στον εγκλεισμό, που αυξάνει τη διαλυτότητα των συστατικών των εκχυλισμάτων.

Δ.2 ΜΕΛΕΤΗ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ :

Ο προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων του αντιοξειδωτικού ροφήματος πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Πρόκειται για μια οξειδοαναγωγική αντίδραση κατά την οποία λαμβάνει χώρα οξείδωση των φαινολικών ιόντων και αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων. Το κύριο αντιδραστήριο, Folin-Ciocalteu αποτελεί ένα μίγμα φωσφορικού οξέος (H_3PO_4), βολφραμικού νατρίου(Na_2WO_4) και μολυβδαινικού νατρίου(Na_2MoO_4). Το προϊόν της αντίδρασης είναι ένα μίγμα μολυβδαινίου και βολφραμίου με χαρακτηριστικό μπλε χρώμα που απορροφά στα 750nm.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg/L ισοδύναμα γαλλικού οξέος(gallic acid equivalents, GAE). Παρακάτω φαίνεται η πρότυπη καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος με βάση την οποία υπολογίστηκαν τα αποτελέσματα.(Σχήμα Δ.3)



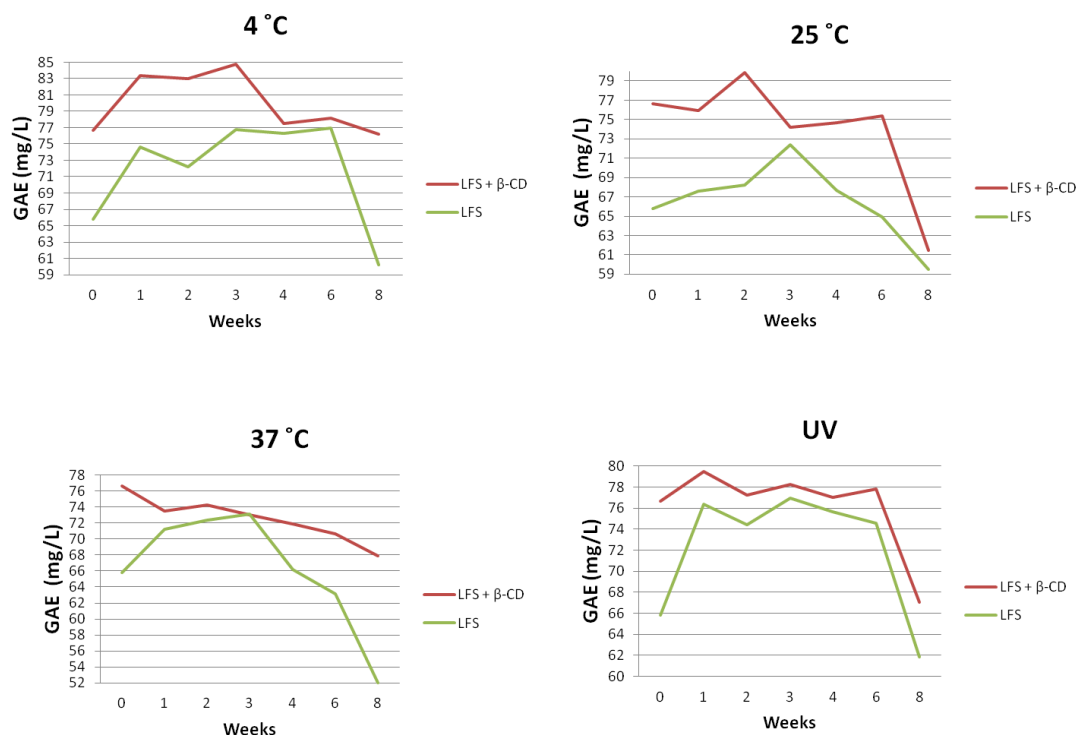
Σχήμα Δ.3. Πρότυπη καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος.

Στον πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται τα αποτελέσματα των μετρήσεων του συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων του αντιοξειδωτικού ροφήματος στις διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης από τη μηδενική εβδομάδα (control group) έως και την όγδοη.

***Πίνακας 4.2.** Προσδιορισμός φαινολικού περιεχομένου (εκφρασμένος σε Gallic acid equivalents) στα δείγματα του σκέτου και του εμπλουτισμένου ροφήματος στις διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης (4°C, 25°C, 37°C, UV) κατά τη μηδενική εβδομάδα και το χρονικό διάστημα διατήρησης 1 – 8 εβδομάδων.*

ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟ	ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΦΟΡΤΙΟ ΣΕ GALLIC ACID EQUIVELENTS (mg/L)						
	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ 0	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ I	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ II	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ III	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ IV	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ VI	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ VIII
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD	76,6732						
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD	65,78558						
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD 4°C		83,39513	83,01643	84,72058	77,52528	78,188	76,19983
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD 25°C		75,9158	79,89215	74,21165	74,68503	75,34775	61,43053
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD 37°C		73,54893	74,30633	73,07555	71,93945	70,614	67,86843
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD UV		79,51345	77,24125	78,28268	77,0519	77,8093	67,01635
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD 4°C		74,59035	72,22348	76,76788	76,2945	76,95723	60,19975
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD 25°C		67,5844	68,24713	72,41283	67,67908	64,9335	59,53703
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD 37°C		71,18205	72,41283	73,17023	66,16428	63,13468	52,0577
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD UV		76,38918	74,401	76,95723	75,63178	74,59035	61,80923

Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα του παραπάνω πίνακα, κατασκευάστηκαν διαγράμματα όπου φαίνεται συγκριτικά για το εμπλουτισμένο με β-CD και το σκέτο ρόφημα, η μεταβολή του φαινολικού περιεχομένου, για κάθε μια από τις 4 διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης (4°C, 25°C, 37°C, UV) κατά το διάστημα αποθήκευσής από τη μηδενική έως την 8^η εβδομάδα :



Σχήμα 4.4. Συγκριτική μεταβολή του φαινολικού περιεχομένου του σκέτου και του εμπλουτισμένου με β -CD ροφήματος (σε Gallic Acid Equivalents) στις 4 διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης (4°C, 25°C, 37°C, UV) από τη μηδενική έως την όγδοη εβδομάδα.

Εξετάζοντας τα αποτελέσματα των μετρήσεων της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του συνολικού φαινολικού περιεχομένου του σκέτου ροφήματος και του εμπλουτισμένου με β -CD παρατηρούμε ότι τα δείγματα με ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση βρέθηκε να έχουν και το υψηλότερο περιεχόμενο σε φαινολικά, γεγονός αναμενόμενο καθώς η αντιοξειδωτική δράση έγκειται στο φαινολικό περιεχόμενο. Το παραπάνω συμπέρασμα επιβεβαιώνεται από πολλές μελέτες (Jie et al, 2012)

Δ.3 ΜΕΤΡΗΣΗ pH

Στα πλαίσια της μελέτης των φυσικο-χημικών παραμέτρων του ροφήματος μετρήθηκε το pH των δειγμάτων. Το pH είναι μια φυσικοχημική παράμετρος και αποτελεί δείκτη ποιοτικού ελέγχου σε βιομηχανίες παραγωγής συναφών προϊόντων.

Στον πίνακα Δ.3 παρατίθενται τα αποτελέσματα των μετρήσεων του pH στις διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης από τη μηδενική εβδομάδα (control group) έως και την όγδοη.

***Πίνακας Δ.3.** Μέτρηση pH στα δείγματα του εμπλουτισμένου και μη ροφήματος στις διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης (4°C, 25°C, 37°C, UV) και χρονικό διάστημα διατήρησης 1 – 8 εβδομάδων*

ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟ	ΜΕΤΡΗΣΗ pH						
	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ 0	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ I	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ II	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ III	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ IV	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ VI	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ VIII
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD	3,61	-	-	-	-	-	-
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD	3,60	-	-	-	-	-	-
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD 4°C	-	3,41	3,57	3,57	3,57	3,50	3,44
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD 25°C	-	3,42	3,57	3,56	3,56	3,50	3,44
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD 37°C	-	3,41	3,56	3,55	3,53	3,48	3,39
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD UV	-	3,42	3,56	3,56	3,56	3,50	3,44
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD 4°C	-	3,35	3,49	3,48	3,47	3,41	3,34
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD 25°C	-	3,31	3,48	3,48	3,46	3,41	3,35
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD 37°C	-	3,31	3,48	3,46	3,45	3,39	3,37
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD UV	-	3,32	3,48	3,47	3,47	3,41	3,36

Με βάση τα αποτελέσματα των μετρήσεων δε φαίνεται να υπάρχει διαφορά όσον αφορά τη χρήση β-CD. Επομένως, η ενθυλάκωση με τη χρήση β-CD δεν επηρεάζει το pH του ροφήματος. Επίσης, δεν παρατηρείται διαφοροποίηση στο pH αναφορικά με τις διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης του ροφήματος.

Ωστόσο, εξετάζοντας τις τιμές, -αν εξαιρέσουμε μια αυξομείωση μεταξύ μηδενικής και δεύτερης εβδομάδας- παρατηρείται μια σταδιακή μείωση του pH μέχρι την όγδοη εβδομάδα όπου συναντώνται και οι χαμηλότερες τιμές. Η μεταβολή αυτή μπορεί να σημαίνει υποβάθμιση του προϊόντος, η οποία με τη σειρά της αποδίδεται στην αλλοίωση των συστατικών του και στην ανάπτυξη μικροβιακού φορτίου.

Δ.4 ΜΕΤΡΗΣΗ ΔΕΙΚΤΗ ΔΙΑΘΛΑΣΗΣ

Ο δείκτης διάθλασης (RI), αποτελεί μια ακόμη φυσικο-χημική παράμετρο υψίστης σημασίας όσον αφορά τον έλεγχο της ποιότητας που εξετάζουν βιομηχανίες παραγωγής παρόμοιων προϊόντων και ιδανικά θέλουν να παραμένει σταθερή ή να μεταβάλλεται μέσα σε επιθυμητά όρια.

Στον πίνακα Δ.4 φαίνονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων του δείκτη διάθλασης των δειγμάτων του σκέτου και του εμπλουτισμένου με β-CD ροφήματος, στις τέσσερις διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης, από τη μηδενική εβδομάδα (control group) έως και την όγδοη.

Πίνακας 4.4. Μέτρηση δείκτη διάθλασης (RI) στα δείγματα του εμπλουτισμένου και μη ροφήματος στις διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης (4°C, 25°C, 37°C, UV) και χρονικό διάστημα διατήρησης 1 – 8 εβδομάδων

ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟ	ΜΕΤΡΗΣΗ ΔΕΙΚΤΗ ΔΙΑΘΛΑΣΗΣ (RI)						
	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ 0	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ I	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ II	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ III	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ IV	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ VI	ΕΒΔΟΜΑ ΔΑ VIII
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD	1,3355	-	-	-	-	-	-
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD	1,3355	-	-	-	-	-	-
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD 4°C	-	1,3355	1,3360	1,3370	1,3370	1,3365	1,3370
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD 25°C	-	1,3355	1,3365	1,3370	1,3370	1,3365	1,3365
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD 37°C	-	1,3355	1,3365	1,3370	1,3370	1,3370	1,3370
ΡΟΦΗΜΑ ΜΕ β-CD UV	-	1,3355	1,3360	1,3370	1,3370	1,3370	1,3370
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD 4°C	-	1,3345	1,3345	1,3350	1,3350	1,3350	1,3350
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD 25°C	-	1,3340	1,3345	1,3350	1,3350	1,3350	1,3350
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD 37°C	-	1,3335	1,3340	1,3350	1,3350	1,3350	1,3350
ΡΟΦΗΜΑ ΧΩΡΙΣ β-CD UV	-	1,3335	1,3340	1,3340	1,3335	1,3335	1,3335

Ομοίως με τα συμπεράσματα που βγήκαν από τις μετρήσεις του pH, φαίνεται ότι ούτε ο εμπλουτισμός με β-CD αλλά ούτε και οι διαφορετικές συνθήκες αποθήκευσης είχαν επίδραση στο δείκτη διάθλασης του ροφήματος. Αυτό σημαίνει ότι η χρήση της β-CD και ο σχηματισμός συμπλόκων δεν επηρεάζει την φυσικο-χημική αυτή παράμετρο.

Συγκεκριμένα, αναφορικά με τη χρήση β-CD, διακρίνουμε μια διαφοροποίηση σε όλες τις συνθήκες αποθήκευσης, με ελαφρώς αυξημένες τιμές αλλά σταθερές από

εβδομάδα σε εβδομάδα. Ωστόσο, οι διαφορές στα αποτελέσματα είναι μικρές και δε θεωρούνται σημαντικές ώστε να αποτελέσουν αφορμή για περαιτέρω σχολιασμό και έρευνα.

Το γεγονός ότι ο δείκτης διάθλασης των διαφόρων δειγμάτων παραμένει σταθερός στη διάρκεια των εβδομάδων σημαίνει ότι το προϊόν παραμένει σχετικά αναλλοίωτο όσον αφορά τη δραστητικότητα των συστατικών του αλλά και την επιμόλυνση από μικροοργανισμούς.

Ε.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Η μελέτη της ενθυλάκωσης με τη χρήση της β-CD διατροφολογικών συστατικών όπως είναι τα φυσικά αντιοξειδωτικά συστατικά των εκχυλισμάτων που χρησιμοποιήθηκαν κρίνεται απαραίτητη προκειμένου να διερευνηθεί κατά πόσο είναι επιτυχής, να βελτιωθεί και να μπορέσει να χρησιμοποιηθεί σε μεγάλη κλίμακα μελλοντικά, στην ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων, συμπληρωμάτων, καλλυντικών αλλά και φαρμακευτικών σκευασμάτων.

Στην παρούσα μελέτη φάνηκε –έμμεσα από τα αποτελέσματα των μετρήσεων- ότι η ενθυλάκωση των φυσικών αντιοξειδωτικών συστατικών των εκχυλισμάτων του ροφήματος πέτυχε. Πιο συγκεκριμένα η σειρά των πειραμάτων που διεξήχθησαν οδήγησε στα εξής συμπεράσματα :

- Η προσθήκη β-CD στο ρόφημα κατάφερε να προστατέψει σε μεγάλο βαθμό τον αντιοξειδωτικό χαρακτήρα του ακόμα και μετά το πέρας οκτώ εβδομάδων από την παρασκευή του ανεξαρτήτων συνθηκών.
- Επίσης, το φαινολικό περιεχόμενο των εμπλουτισμένων δειγμάτων διατηρήθηκε ικανοποιητικότερα στα εμπλουτισμένα με β-CD δείγματα όπως φάνηκε σε όλες σχεδόν τις μετρήσεις από την πρώτη έως και την όγδοη εβδομάδα, ανεξαρτήτων συνθηκών.
- Τα δείγματα που διατηρήθηκαν στο ψυγείο, τόσο του εμπλουτισμένου όσο και του σκέτου ροφήματος, φάνηκε να υπερτερούν αναφορικά με την ικανότητα δέσμευσης της ρίζας DPPH και το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με τα δείγματα που διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, στο θερμοθάλαμο αλλά και σε εκείνα που ήτα εκτεθειμένα στην υπεριώδη ακτινοβολία.
- Στα δείγματα που διατηρήθηκαν στο θερμοθάλαμο σημειώθηκε η μεγαλύτερη αλλοίωση των φυσικών αντιοξειδωτικών είτε επρόκειτο για το εμπλουτισμένο με β-CD ρόφημα είτε για το σκέτο, γεγονός που φάνηκε από τα αποτελέσματα της εκτίμησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του φαινολικού περιεχομένου.
- Εξετάζοντας συνολικά όλα τα δείγματα, του σκέτου και του εμπλουτισμένου ροφήματος, διαπιστώθηκε ότι εκείνα στα οποία διατηρήθηκαν καλύτερα τα φυσικά αντιοξειδωτικά ήταν τα δείγματα του εμπλουτισμένου ροφήματος που διατηρήθηκαν στο ψυγείο. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει τον ενδεδειγμένο

τρόπο διατήρησης ενός τέτοιου προϊόντος σε περίπτωση βιομηχανικής παραγωγής του.

- Δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές ανάμεσα στα δείγματα που διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και σε εκείνα που παρέμειναν εκτεθειμένα στην υπεριώδη ακτινοβολία, ανεξαρτήτως εμπλουτισμού. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι ένα τέτοιο προϊόν μπορεί να παραχθεί και να διατηρηθεί είτε σε διαφανή είτε σε αδιαφανή συσκευασία.
- Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι οι φυσικό-χημικές παράμετροι : pH και δείκτης διάθλασης, που αποτελούν και ποιοτικούς δείκτες σε τέτοιου είδους προϊόντα δε φάνηκε να επηρεάζονται από την παρουσία της β-CD. Με εξαίρεση μια μικρή διακύμανση στις τιμές των δύο παραμέτρων μεταξύ μηδενικής, πρώτης και δεύτερης εβδομάδας, μπορούμε να πούμε ότι το προϊόν παρέμεινε σχετικά σταθερό κατά τη διάρκεια των οχτώ εβδομάδων και σε όλες τις συνθήκες αποθήκευσης.

- ❖ Μετά την επιτυχημένη επίδραση της τεχνικής της ενθυλάκωσης με τη χρήση β-CD στο διατροφικό συμπλήρωμα, προτείνεται για το μέλλον να επαναληφθεί η σειρά πειραμάτων και σε άλλα διατροφικά συμπληρώματα σε υγρή μορφή, ώστε να επιβεβαιωθούν τα ευρήματα περί αποτελεσματικότερης διατήρησης των φυσικών αντιοξειδωτικών συστατικών. Επίσης, μπορούν να εφαρμοστούν και άλλες πιο συγκεκριμένες μέθοδοι προσδιορισμού των βιοδραστικών συστατικών, όπως HPLC και GC-MS, ώστε να εξακριβώσουμε ποια συστατικά κυριαρχούν στο ρόφημα, ποια διατηρούνται καλύτερα με τη πάροδο του χρόνου και σε ποια επιδρά καλύτερα η β-CD προστατεύοντάς τα με το σχηματισμό συμπλόκων. Τέλος, ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη της επίδρασης της ενθυλάκωσης και σε άλλου τύπου προϊόντα όπως πολυβιταμινούχα ροφήματα, τσάι με φυσικά αντιοξειδωτικά, ενεργητικά ποτά και άλλα καινοτόμα σκευάσματα με εμπλουτισμένα συστατικά που μπορεί να προστατευθούν δυνητικά με την ενθυλάκωση. Το θέμα παρουσιάζει τεράστιο βιομηχανικό ενδιαφέρον με πολλά υποσχόμενες ιδέες όσον αφορά την ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων αποσκοπώντας πάντα στην επίτευξη καλύτερης ποιότητας ζωής αλλά και στην κάλυψη των αναγκών ακόμα και του πιο απαιτητικού καταναλωτή.

ΣΤ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aiman T, Laghi F, Mikrut K, Carey RB, Budinger GR. 2005. Potassium sorbate reduces gastric colonization in patients receiving mechanical ventilation. *Journal of Critical Care* 297:144-53.
- Aprikian O, Duclos V, Guyot S, Besson C, Manach C, Bernalier A et al. 2003. Apple pectin and a polyphenol rich apple concentrate are more effective together than separately on cecal fermentations and plasma lipids in rats. *Journal of Nutrition* 133:1860-5.
- Ares G, Gambaro A. 2007. Influence of gender, age and motives underlying food choice on perceived healthiness and willingness to try functional foods. *Appetite* 49:148–58.
- Artiss JD, Brogan K, Brucal M, Moghaddam M, Jen KL. 2006. The effects of a new soluble dietary fiber on weight gain and selected blood parameters in rats. *Metabolism* 55:195-202.
- Awad R, Muhammad A, Durst T, Trudeau VL, Arnason JT. 2009. Bioassay-guided Fractionation of Lemon Balm(*Melissa officinalis* L.) using an *In Vitro* Measure of GABA Transaminase Activity. *Phytotherapy Research* 23:1075-81.
- Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, SS,Harry, Pruess G. 2000. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 148:187–97.
- Baranauskiene R, Bylaite E, Ukauskaite J, Venskutonis R. 2007. Flavor retention of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil spray-dried in modified starches during encapsulation and storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:3027-36.
- Barceloux DG. 2009. Cinnamon (*Cinnamomum* species). *Disease-a-Month* 55:327-35.
- Bentinger M, Tekle M, Dallner G. 2010. Coenzyme Q – Biosynthesis and functions. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 396:74–9.
- Bhagavan HN, Chopra1 RK. 2006. Coenzyme Q10: Absorption, tissue uptake. *Metabolism and Pharmacokinetics* 40:445-53.

Bhuiyan NI, Begum J, Nandi NC, Akter F. 2010. Constituents of the essential oil from leaves and buds of clove (*Syzigium caryophyllatum* (L.) *African Journal of Plant Science* 4:451-54.

Boğa M, Hacıbekiroğlu I, Kolak U. 2011. Antioxidant and anticholinesterase activities of eleven edible plants. *Pharmaceutical Biology* 43:290-5.

Boyer J, Liu RH. 2004. Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutritional Journal* 3:5

Cabello CM, Bair WB, Lamore SD, Ley S, Bause AS, Azimian S et al. 2009. The cinnamon-derived Michael acceptor cinnamic aldehyde impairs melanoma cell proliferation, invasiveness, and tumor growth. *Free Radical Biology & Medicine* 46:220–31.

Charve J & Reineccius G. 2009. Encapsulation performance of proteins and traditional materials for spray dried flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57:2486–92.

Chattopadhyaya S, Singhal RS, Kulkarni PR. 1998. Oxidised starch as gum arabic substitute for encapsulation of flavors. *Carbohydrate Polymers* 37:143-4.

Cheng SS, Liu JY, Chang ST. 2006. Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). *Bioresource Technology* 97:306–12.

Cheng SS, Liu JY, Huang CG, Hsui YR, Chen WJ, Chang ST. 2009. Insecticidal activities of leaf essential oils from *Cinnamomum osmophloeum* against three mosquito species. *Bioresource Technology* 100:457–64.

Chong-Zhi W, Sangeeta M, Chun-Su Y. 2007. Commonly used antioxidant botanicals: active constituents and their potential role in cardiovascular illness. *The American Journal of Chinese Medicine* 35:543–58.

Chung MJ, Cho SY, Haque Bhuiyan MJ, Kim KH, Lee SJ. 2010. Anti-diabetic effects of lemon balm (*Melissa officinalis*) essential oil on glucose- and lipid-regulating enzymes in type 2 diabetic mice. *British Journal of Nutrition* 110:180-8.

CONCISE INTERNATIONAL CHEMICAL ASSESSMENT DOCUMENT NO.
26

Cunningham FX, Lee H, Gantt E. 2007. Carotenoid Biosynthesis in the Primitive Red Alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Eukaryotic Cell* 6:533–45.

Dastmalchi K, Dorman D, Oinonen DH, Darwis PP, Laakso YI, Hiltunen R. 2008. Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *Food Science and Technology* 41:391–400.

Dodziuk H. 2006. Cyclodextrins and their complexes. *Chemistry, Analytical Methods and Application*. Wiley-VCH, Weinheim.

Fahlbusch KG, Hammerschmidt FJ, Panten J, Pickenhagen W, Schatkowski D, Bauer K et al. 2003. Flavors and Fragrances. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*.

Fang Z, Bhandari B. 2010. Encapsulation of polyphenols a review. *Trends in Food Science & Technology* 21:510-23.

FAO Nutrition Meetings, Report Series No. 40A,B,C, WHO/Food Add./67.29

FDA(DietarySupplements/ConsumerInformation/ucm110417.htm,U.S). FOOD & DRUG ADMINISTRATION

FDA(www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodContaminantsAdulteration/ChemicalContaminants/Benzene/ucm055815.htm)

Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock KG. 1999. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 66:137–47.

Frydman-Marom A, Levin A, Farfara D, Benromano T, Scherzer-Attali R, Vassar R et al. 2011. Orally Administered Cinnamon Extract Reduces β -Amyloid Oligomerization and Corrects Cognitive Impairment in Alzheimer's Disease Animal Models. *PLoS ONE* 6, e16564

Geuenich S, Goffinet C, Venzke S, Nolkemper S, Baumann I, Plinkert P et al. 2008. Aqueous extracts from peppermint, sage and lemon balm leaves display potent anti-HIV-1 activity by increasing the virion density. *Retrovirology* 5:27-43.

Gill AO and Holley RA. 2004. Mechanisms of Bactericidal Action of Cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of Eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. *Applied and Environmental Microbiology* 70:5750–55.

- Imanshahidi M and Hosseinzadeh H. 2006. The Pharmacological Effects of *Salvia* species on the Central Nervous System: review. *Phytotherapy Research* 20:427–37.
- Jaganathan SK, Mazumdar A, Mondhe D, Mandal M. 2011. Apoptotic effect of eugenol in human colon cancer cell lines. *Cell Biology International* 35:607-15.
- Janick, Jules. John Wiley J & Sons. 2011. Horticultural Reviews 39
- Jayaprakasha GK, Rao LJ. 2011. Chemistry, Biogenesis, and Biological Activities of *Cinnamomum zeylanicum*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 5:547-62.
- Jong N, Ocké MC, Branderhorst HC, Friele R. 2003. Demographic and lifestyle characteristics of functional food consumers and dietary supplement users. *British Journal of Nutrition* 89:273-81.
- Kalogeropoulos N, Yannakopoulou K, Gioxari A, Chiou A, Makris DP. 2006. Polyphenol characterization and encapsulation in b-cyclodextrin of a flavonoid-rich *Hypericum perforatum* (St John's wort) extract. *Food Science and Technology* 43:882–89.
- Kamatou GPP, Makunga NP, Ramogola WPN, Viljoen AM. 2008. South African *Salvia* species: A review of biological activities and phytochemistry. *Journal of Ethnopharmacology* 119:664–72.
- Kamel BS, Dawson H, Kakuda Y. 2005. Characteristics and composition of melon and grape seed oils and cakes. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 62:881-83.
- Kanakdande D, Bhosale R, Singhal RS. 2007. Stability of cumin oleoresin microencapsulated in different combination of gum arabic, maltodextrin and modified starch. *Carbohydrate Polymers* 67:536-41.
- Kawamukai M. 2002. Biosynthesis, Bioproduction and Novel Roles of Ubiquinone. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 94:511-17.
- Krebs HA, Wiggins D, Stubbs M, Sols A, Bedoya F. 1983. Studies on the mechanism of the antifungal action of benzoate. *Biochemistry Journal* 214:657-63.
- Krishnan S, Bhosale R, Singhal RS. 2005. Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydrate Polymers* 61:95-102.

- Lapidot T, Walker M, Kanner J. 2002. Can apple antioxidants inhibit tumor cell proliferation? generation of H₂O₂ during interaction of phenolic compounds with cell culture media. *Journal Agricultural Food Chemistry* 50:3156-60 .
- Littarru GP and Tiano L. 2010. Clinical aspects of coenzyme Q10: An update, *Nutrition* 26:250-54.
- Madene A, Jacquot M, Scher J, Desobry S. 2006. Flavor encapsulation and controlled release – a review. *International Journal of Food Science and Technology* 41:1–21.
- Marongiu B, Porcedda S, Piras A, Rosa A, Deiana M, Dess MA. 2004. Antioxidant Activity of Supercritical Extract of *Melissa officinalis* Subsp. *officinalis* and *Melissa officinalis* Subsp. *Inodora*. *Phytotherapy Research* 18:789-92.
- Martins EN, Pessano TC, Leal L, Roos DH, Folmer V, Puntel GO et al. 2011. Protective effect of *Melissa officinalis* aqueous extract against Mn-induced oxidative stress in chronically exposed mice. *Brain Research Bulletin* 87:74-9.
- Mayer B, Schumacher M, Branstatter H, Wagner F, Hermetter A. 2001. High-throughput fluorescence screening of antioxidative capacity in human serum. *Analytical Biochemistry* 297:144-53.
- Miura D, Miura Y, Yagasaki K. 2007. Effect of Apple Polyphenol Extract on Hepatoma Proliferation and Invasion in Culture and on Tumor Growth, Metastasis, and Abnormal Lipoprotein Profiles in Hepatoma-Bearing Rats. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry* 71:2743-50.
- Molyneux SL, Florkowski CM, George PM, Pilbrow AP, Frampton CM, Lever M, Richards AM. 2008. Coenzyme Q10: an independent predictor of mortality in chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology* 52:1435-41.
- Mourtzinis I, Kalogeropoulos N, Papadakis SE, Konstantinou K, Karathanos VT. 2008. Encapsulation of nutraceutical monoterpenes in β -cyclodextrin and modified starch. *Journal of Food Science* 73:89–94.
- Mourtzinis I, Salta F, Yannakopoulou K, Chiou A, Karathanos VT. 2007. Encapsulation of olive leaf extract in β -cyclodextrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:8088–94.

- Mutasa ES, Magant N, Seal KJ. 1990. Effects of potassium sorbate and environmental factors on growth of tobacco spoilage fungi. *Mycological Research* 94:971-8.
- Nair B. 2001. Final Report on the Safety Assessment of Benzyl Alcohol, Benzoic Acid, and Sodium Benzoate. *International Journal of Toxicology* 20:23-50.
- Nilsson L and Bergenstahl B. 2007. Adsorption of hydrophobically modified anionic starch at oppositely charged oil/water interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science* 308:508–13.
- Noorda G, Hermans-Peters M, Smeitink J, van Achterberg T, Kemps H, Goverde W, Schoonhoven L. 2007. Mitochondrial disease: Needs and problems of children, their parents and family. A systematic review and pilotstudy into the need for information of parents during the diagnostic phase. *Journal Inherited Metabolic Diseases* 30:333–40.
- Ochiai A, Itagaki S, Kurokawa T, Kobayashi M, Hirano T, Iseki K. 2007. Improvement of Intestinal Coenzyme Q10 Absorption by Food Intake, *Yagukaku Zasshi* , vol 127, pp 1251-54.
- Omoni AO and Aluko RE. 2005. The anticarcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. *Trends in Food Science & Technology* 16:344–50.
- Petersen M, Simmonds SJM. 2003. Rosmarinic acid. *Phytochemistry* 62:121–25.
- Power M and Pratley R. 2011. Alternative and complementary treatments for metabolic syndrome. *Current Diabetes Reports* 11:173-78.
- Pravst I, Žmitek K, Žmitek J. 2010. Coenzyme Q10 Contents in Foods and Fortification Strategies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 50:269-80.
- Quinzii CM and Hirano M. 2010. Coenzyme Q and Mitochondrial Disease. *Developmental Disabilities Research Reviews* 16:183–88.
- Rao AV and Rao LG. 2007. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research* 55:207–16.
- Rosenfeldt FL, Haas SJ, Krum H, Hadj A, Ng K, Leong JY, Watts GF. 2007. Coenzyme Q10 in the treatment of hypertension: a meta-analysis of the clinical trials. *Journal of Human Hypertension* 21:297-306.
- Saito T, Miyake M, Toba M, Okamatsu H, Shimizu S, Noda M. 2002. Inhibition by apple polyphenols of ADP-ribotransferase activity of cholera toxin and toxin-

induced fluid accumulation in mice. *Microbiology Immunology Journal* 46:249-55.

Sándor PS, Di Clemente L, Coppola G, Saenger U, Fumal A, Magis D, Seidel L, Agosti RM et al. 2005. Efficacy of coenzyme Q10 in migraine prophylaxis: a randomized controlled trial. *Neurology* 64:713-5.

Sant'Ana GC, Ferreira JL, Rocha HS, Borem A, Pasqual M, Cancado GM. 2012. Comparison of a retrotransposon-based marker with microsatellite markers for discriminatin accessions of *Vitis vinifera*. *Genetic Molecular Research* 11:1507-25.

Scholey AB, Tildesley NT, Ballard CG, Wesnes KA, Tasker A, Perry EK, Kennedy DO. 2008. An extract of *Salvia* (sage) with anticholinesterase properties improves memory and attention in healthy older volunteers. *Psychopharmacology* 198:127-39.

Schrooyen PM, van der Meer R, De Kruif CG. 2001. Microencapsulation:its application in nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society* 60:475-79.

Siro I, Kapolna E , Kapolna B, Lugasi A. 2008. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite* 51:456-67.

Stahl W and Sies H. 1996. Lycopene: A Biologically Important Carotenoid for Humans? *Archives of Biochemistry and Biophysics* 336:1-9.

Sun J, Liu S, Zhang C, Yu L, Bi J, Zhu F, Yang Q. 2012. Chemical Composition and Antioxidant Activities of *Broussonetia papyrifera* Fruits. *Plos ONE* 7, e32021.

Szejtli J. 1998. Introductionand General Overview of Cyclodextrin Chemistry. *Chemical Reviews* 98:1743-53.

Versic RJ. 1988. Flavor Encapsulation, An Overview. *ACS Symposium Flavor Encapsulation, Series 370*, Chap. 1: 5.

Weber C, Bysted A, Hlmer G. 1997. The coenzyme Q10 content of the average Danish diet. *International Journal Vitamin Nutrition Research* 67:123-29.

Wijesekera RO. 1978. Historical overview of the cinnamon industry. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 10:1-30

Yilmaza Y, Romeo T. 2006. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis* 19:41-8.

- Yuliani S, Torley P, D'Arcy B, Nicholson T, Bhandari B. 2006. Extrusion of mixtures of starch and d-limonene encapsulated with β -cyclodextrin: Flavour retention and physical properties. *Food Research International* 39:318-31.
- Yumiko N, Tsuji S, Tonogai Y. 2003. Analysis of Proanthocyanidins in Grape Seed Extracts, Health Foods and Grape Seed Oils. *Journal of health science* 49:45-54.
- Zeraatpishe A, Oryan S, Bagheri MH, Pilevarian AA, Malekirad AA, Baeeri M, Abdollahi M. 2011. Effects of *Melissa officinalis* L. on oxidative status and DNA damage in subjects exposed to long-term low-dose ionizing radiation. *Toxicology and Industrial Health* 27:205-12.
- Δ. Μπόσκου, (2004), Χημεία Τροφίμων. Εκδόσεις Γαρταγάνης
- Κ.Α Δημόπουλος, Σ. Αντωνοπούλου, (2000), Βασική Βιοχημεία. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.

