



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΜΑΖΑΣ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ

ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΣΕ ΒΙΟΠΟΛΥΜΕΡΗ

Διδακτορική Διατριβή

Παναγιώτης Ηγουμενίδης

Αθήνα, 2016



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Η Διδακτορική Διατριβή εξετάστηκε από την κάτωθι Επταμελή Επιτροπή:

Βάιος Καραθάνος (Επιβλέπων)
Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Σταυριανός Γιαννιώτης
Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου,
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ζαχαρίας Μαρούλης
Καθηγητής, Σχολή Χημικών Μηχανικών,
Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Κωνσταντίνος Μπιλιαδέρης
Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας,
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Κωνσταντίνα Τζιά
Καθηγήτρια, Σχολή Χημικών Μηχανικών,
Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Νικόλαος Καλογερόπουλος
Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Αντωνία Χίου
Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το τμήμα Επιστήμης
Διαιτολογίας-Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου δεν
υποδηλώνει και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα.

Ο Παναγιώτης Ηγουμενίδης δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.
- 2) Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από την ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο, καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή ήταν αποτέλεσμα μιας πολυετούς προσπάθειας στην οποία συνέβαλαν αρκετοί καθηγητές, συνεργάτες και φίλοι. Η πειραματική διαδικασία εκπονήθηκε κατά το μεγαλύτερο μέρος της στο Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας και Φυσικοχημείας Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κο Βάιο Καραθάνο για την ανάθεση του θέματος της διατριβής, τον αρχικό σχεδιασμό των πειραμάτων και την υποστήριξη που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής. Επίσης, του οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη με την οποία με περιέβαλλε, το ενδιαφέρον του για την πρόοδό μου, καθώς και για το γεγονός ότι φρόντιζε πάντα για την ταχύτερη δυνατή επίλυση των προβλημάτων που εμφανίζονταν κατά την εκτέλεση των πειραμάτων.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές κ.κ. Σταύρο Γιαννιώτη και Ζαχαρία Μαρούλη, μέλη της τριμελούς επιτροπής, για τις χρήσιμες υποδείξεις τους ιδιαίτερα κατά τον αρχικό σχεδιασμό των πειραμάτων. Επιπλέον, θέλω να ευχαριστήσω και τους υπόλοιπους καθηγητές της επταμελούς επιτροπής, την κα Κωνσταντίνα Τζιά, τον κο Κωνσταντίνο Μπυλιαδέρη, τον κο Νικόλαο Καλογερόπουλο και την κα Αντωνία Χίου, για την τιμή που μου έκαναν να κρίνουν το αποτέλεσμα της παρούσας διατριβής.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον κο Παναγιώτη Ζουμπουλάκη, ερευνητή Γ' του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών, για την εκτέλεση πειραμάτων με εφαρμογή τεχνικής NMR, καθώς και τον κο Σεραφείμ Μπακάλη, καθηγητή της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου του Μπέρμιγχαμ, για τον σχεδιασμό μέρους των πειραμάτων εμπλουτισμού του ρυζιού και μοντελοποίησης της διάχυσης. Τους ευχαριστώ πάνω από όλα για τον χρόνο τους και την πολύτιμη συνεισφορά τους στην αποτίμηση των αποτελεσμάτων.

Για την εκτέλεση των προκαταρκτικών πειραμάτων Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης και την αξιολόγησή τους οφείλω να ευχαριστήσω τον

καθηγητή κο Κ. Μπιλιαδέρη, την επίκουρη καθηγήτρια κα Α. Λαζαρίδου και τον λέκτορα κο Γ. Μουρτζίνο του τμήματος Γεωπονίας του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης για τη φιλοξενία στο Εργαστήριό τους και για όλη τη βοήθεια που μου παρείχαν.

Από το Εργαστήριο Χημείας-Βιοχημείας-Φυσικοχημείας Τροφίμων οφείλω να ευχαριστήσω τον αναπληρωτή καθηγητή κο Ν. Καλογερόπουλο, την επίκουρη καθηγήτρια κα Α. Χίου, καθώς και τις κ.κ. Μ. Χρηστέα και Α. Γιάννη για τις χρήσιμες συμβουλές-υποδείξεις τους, τις ενδιαφέρουσες συζητήσεις που είχαμε, καθώς και την εκμάθηση μέρους των εργαστηριακών τεχνικών που εφαρμόστηκαν στα πειράματα. Επίσης, όσον αφορά στην εκτέλεση μέρους των πειραμάτων, καθοριστική υπήρξε η συμβολή των αποφοίτων του Τμήματος Διαιτολογίας-Διατροφής Ε. Λέκκα, Α. Παπαδημητρίου, Σ. Ιωσηφίδη και Π. Βενετόπουλου που εκπόνησαν την πτυχιακή τους μελέτη σε θέμα σχετικό με αυτό της παρούσας διατριβής. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους διδάκτορες ή υποψήφιους διδάκτορες του Εργαστηρίου μας κ.κ. Ι. Γιογιό, Α. Γκιοζάρη, Π. Κανέλλο, Α. Κατσαρού, Δ. Κογιάννου, Ε. Νικολιδάκη και Ε. Παναγοπούλου για το ευχάριστο κλίμα που υπήρχε στον χώρο του εργαστηρίου, τη συμπαράσταση και την παρέα τους.

Η εργασία αυτή είναι αφιερωμένη στην οικογένειά μου, τους φίλους μου, καθώς και σε όσους αγαπούν την έρευνα.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Περίληψη στα Ελληνικά	vii
Abstract	ix
A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	1
1. Ρύζι και ζυμαρικά.....	1
1.1 Ρύζι - Γενικά.....	1
1.2 Σύσταση ρυζιού - Θρεπτική αξία	2
1.2.1 Υδατάνθρακες - Σάκχαρα - Φυτικές Ίνες.....	2
1.2.2 Πρωτεΐνες	4
1.2.3 Λιπαρά	5
1.2.4 Βιταμίνες - Ανόργανα άλατα - Τέφρα	6
1.2.5 Φαινολικά συστατικά - Αντιοξειδωτικά.....	6
1.3 Ζυμαρικά	9
2. Βότανα της Μεσογειακής Διατροφής	12
2.1 Γενικά χαρακτηριστικά - Εφαρμογές	12
2.2 Αντιοξειδωτική δράση.....	13
2.3 Χημική σύσταση - Φαινολικό περιεχόμενο - Θεραπευτικές ιδιότητες	14
2.3.1 Φαινολικά οξέα.....	15
2.4 Βιοδιαθεσιμότητα πολυφαινολών	17
3. Εμπλουτισμός αμυλούχων τροφίμων.....	21
3.1 Εμπλουτισμός τροφίμων - Γενικά	21
3.2 Εμπλουτισμός ρυζιού	22
3.2.1 Προβρασμένο ρύζι	23
3.2.2 Εμπλουτισμός ρυζιού με βιταμίνες	24
3.2.3 Εμπλουτισμός ρυζιού με ιχνοστοιχεία και αρωματικές ουσίες.....	25
3.3 Εμπλουτισμός ζυμαρικών – Βιβλιογραφική ανασκόπηση	27
3.3.1 Εμπλουτισμός ζυμαρικών με αντιοξειδωτικά	29

4. Διάχυση συστατικών στο ρύζι και άλλα τρόφιμα	31
4.1 Μοντελοποίηση διάχυσης νερού κατά την ενυδάτωση κόκκων ρυζιού – Βιβλιογραφική ανασκόπηση	36
4.1.1 Μοντέλα στηριζόμενα στο νόμο του Fick για τη διάχυση της υγρασίας	36
4.1.2 Μοντέλα μη στηριζόμενα στο νόμο του Fick για τη διάχυση της υγρασίας	39
4.2 Διάχυση συστατικών σε άλλα τρόφιμα	43
5. Αλληλεπίδραση μακροσυστατικών με άλλα μόρια	47
5.1 Αλληλεπιδράσεις αμύλου – λιπιδίων	47
5.2 Αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνικών μορίων με άμυλο και πολυφαινόλες.....	51
5.3 Μελέτη πιθανών αλληλεπιδράσεων αμύλου με πολυφαινόλες	54
5.4 Σύζευξη αμύλου με ουσίες που προσδίδουν γεύση και άρωμα.....	67
B. ΣΚΟΠΟΣ	75
Γ. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	78
1. Θερμική σταθερότητα υδατικών εκχυλισμάτων δυόσμου (<i>Mentha spicata</i>) και βασιλικού (<i>Ocimum basilicum</i>) κατά τον βρασμό.....	78
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	78
1.1 Παραλαβή υδατικού εκχυλίσματος βοτάνου.....	78
1.2 Παραλαβή δειγμάτων ξηρού εκχυλίσματος βοτάνου που έχει υποστεί βρασμό	79
1.3 Προετοιμασία αποξηρασμένων δειγμάτων εκχυλίσματος δυόσμου και βασιλικού για χημικές αναλύσεις	80
1.4 Αξιολόγηση θερμικά καταπονημένων εκχυλισμάτων βοτάνων ως προς το φαινολικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική τους δράση.....	81
1.4.1 Εκτίμηση του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου με τη δοκιμή Folin–Ciocalteu	81
1.4.2 Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας δειγμάτων μέσω μετρήσεων της ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH	82
1.4.3 Αντίδραση σιλυλίωσης.....	85
1.4.4 Προσδιορισμός απλών πολυφαινολών με αέρια χρωματογραφία/ φασματοσκοπία μάζας (GC/MS).....	86
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	89

1.5 Χημική ανάλυση και θερμική σταθερότητα υδατικών εκχυλισμάτων δυόσμου και βασιλικού κατά τον βρασμό	89
2. Ρόφηση μικροσυστατικών εκχυλίσματος δυόσμου σε λευκό ρύζι κατά τον βρασμό	95
<i>ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</i>	95
2.1 Εμπλουτισμός ρυζιού με υδροθερμική επεξεργασία εντός περίσσειας υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου	95
2.2 Ξήρανση υδροθερμικά επεξεργασμένων κόκκων ρυζιού.....	96
2.3 Χημικές αναλύσεις σε αποξηραμένο λευκό και εμπλουτισμένο ρύζι	96
2.3.1 Κονιορτοποίηση και ζύγιση δειγμάτων ρυζιού	96
2.3.2 Εκχύλιση αντιοξειδωτικών συστατικών από δείγματα ρυζιού.....	97
2.3.3 Εκτίμηση ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου στα μεθανολικά εκχυλίσματα λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu	98
2.3.4 Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας μεθανολικών εκχυλισμάτων λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού με μέτρηση της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH	98
2.3.5 Προσδιορισμός απλών πολυφαινολών σε εκχυλίσματα ρυζιού με αέρια χρωματογραφία/φασματοσκοπία μάζας (GC/MS).....	99
2.3.6 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων	99
<i>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ</i>	99
2.4 Χημική ανάλυση και μελέτη θερμικής συμπεριφοράς δειγμάτων λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού κατά την υδροθερμική επεξεργασία	99
2.5 Κινητική εμπλουτισμού ρυζιού με πολυφαινόλες	105
3. Εμπλουτισμός ρυζιού με εκχυλίσματα δυόσμου διαφόρων συγκεντρώσεων – Μοντελοποίηση διάχυσης επιμέρους φαινολικών οξέων στο ρύζι.....	107
<i>ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</i>	107
3.1 Παρασκευή υδατικών εκχυλισμάτων δυόσμου και χημικές αναλύσεις	107
3.2 Παρασκευή εμπλουτισμένων δειγμάτων ρυζιού και ρυζάλευρου έπειτα από υδροθερμική επεξεργασία σε εκχύλισμα δυόσμου διαφορετικών συγκεντρώσεων	108
3.3 Εκχύλιση δειγμάτων ρυζιού - ρυζάλευρου και προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών και επιμέρους φαινολικών οξέων έπειτα από τον εμπλουτισμό	109
3.4 Μελέτη διάχυσης φαινολικών οξέων στο ρύζι κατά τον βρασμό του σε υδατικό εκχύλισμα δυόσμου	110

3.4.1 Εκτίμηση του συντελεστή διάχυσης με εφαρμογή της αναλυτικής λύσης της εξίσωσης του Fick για κύλινδρο	110
3.4.2 Εύρεση του συντελεστή διάχυσης με εφαρμογή της εξίσωσης του Fick σε σφαίρα και αριθμητική-υπολογιστική μοντελοποίηση	112
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	115
3.5 Χημικές αναλύσεις υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου, δειγμάτων εμπλουτισμένου ρυζιού και ρυζάλευρου	115
3.6 Εκτίμηση του συντελεστή διάχυσης D για τα επιμέρους φαινολικά οξέα	125
3.6.1 Αναλυτική λύση της εξίσωσης του 2ου νόμου του Fick για κύλινδρο απείρου μήκους	125
3.6.2 Αριθμητική-υπολογιστική επίλυση της εξίσωσης του 2ου νόμου του Fick για σφαίρα με τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων	133
4. Εκρόφηση αντιοξειδωτικών από ξηρό εμπλουτισμένο ρύζι κατά την ενυδάτωσή του	138
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	138
4.1 Παρασκευή εμπλουτισμένου ρυζιού με εκχύλισμα δυόσμου και ξήρανσή του	138
4.2 Ενυδάτωση εμπλουτισμένου ρυζιού σε περίσσεια νερού και σε ακριβή ποσότητα νερού.....	138
4.3 Μεθανολική εκχύλιση και χημική αξιολόγηση ενυδατωμένων δειγμάτων εμπλουτισμένου ρυζιού – Κινητική απελευθέρωσης συστατικών στην περίσσεια νερού κατά την υγροθερμική επεξεργασία	139
4.4 Διάχυση μικροσυστατικών στο εμπλουτισμένο ρύζι κατά την εκρόφηση – Εκτίμηση συντελεστή διάχυσης D.....	140
4.4.1 Προσδιορισμός των φαινολικών συγκεντρώσεων ισορροπίας στο εμπλουτισμένο ρύζι έπειτα από ενυδάτωση σε περίσσεια νερού.....	142
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	143
4.5 Ενυδάτωση εμπλουτισμένων κόκκων ρυζιού με περίσσεια νερού.....	143
4.6 Ενυδάτωση ξηρού εμπλουτισμένου ρυζιού με χρήση προσαρμοσμένης αναλογίας όγκου ρυζιού-νερού.....	150
4.7 Υπολογισμός συντελεστών διάχυσης D_{app} και κινητικών σταθερών k_c για την εκρόφηση επιμέρους φαινολικών συστατικών από το εμπλουτισμένο ρύζι	151
5. Εμπλουτισμός ζυμαρικού με μίγμα πολτού τομάτας – φύλλων βασιλικού. Μελέτη εκρόφησης - απώλειας μικροσυστατικών κατά τον βρασμό σε καθαρό νερό	155

<i>ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</i>	155
5.1 Παρασκευή λευκού και εμπλουτισμένου ζυμαρικού	155
5.1.1 Λευκό μακαρόνι	155
5.1.2 Εμπλουτισμένο μακαρόνι	156
5.2 Προετοιμασία ζυμαρικών – Υγροθερμική επεξεργασία	157
5.3 Υπολογισμός παραμέτρων για αξιολόγηση της ποιότητας των ζυμαρικών κατά τη διάρκεια της υγροθερμικής επεξεργασίας	158
5.4 Εκχύλιση αντιοξειδωτικών συστατικών από τα ξηρά δείγματα ζυμαρικών	158
5.5 Αξιολόγηση ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής δραστηριότητας σε μεθανολικά εκχυλίσματα υγροθερμικά επεξεργασμένου λευκού και εμπλουτισμένου ζυμαρικού	159
5.6 Προσδιορισμός απλών πολυφαινολών με αέρια χρωματογραφία/ φασματοσκοπία μάζας (GC/MS) σε μεθανολικά εκχυλίσματα ζυμαρικών	160
<i>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ</i>	160
5.7 Αξιολόγηση ποιότητας ζυμαρικών κατά τη διάρκεια του βρασμού.....	160
5.8 Αξιολόγηση ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής δράσης λευκού και εμπλουτισμένου μακαρονιού	163
5.9 Προσδιορισμός επιμέρους φαινολικών συστατικών σε λευκό και εμπλουτισμένο μακαρόνι (GC/MS).....	166
6. Διερεύνηση δυνατότητας σύζευξης επιμέρους φαινολικών συστατικών με το άμυλο ρυζιού κατά τον εμπλουτισμό	169
<i>ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</i>	169
6.1 Ανάλυση διαφορών στη μικροδομή λευκών και εμπλουτισμένων κόκκων ρυζιού με χρήση Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου Σάρωσης (SEM)	169
6.2 Μελέτη πιθανών αλληλεπιδράσεων αμύλου-καφεϊκού οξέος με Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC).....	169
6.2.1 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων DSC.....	171
6.3 Μελέτη πιθανών αλληλεπιδράσεων αμύλου-φαινολικών συστατικών με Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)	172
6.3.1 Προετοιμασία διαλυμάτων αμύλου ρυζιού με πρότυπα φαινολικών ουσιών σε νερό	172
6.3.2 Φασματοσκοπία $^1\text{H-NMR}$	173

<i>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ</i>	174
6.4 Ανάλυση εικόνων λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού με SEM.....	174
6.5 Μελέτη αλληλεπιδράσεων με Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)	179
6.5.1 Γενικά	179
6.5.2 Ζελατινοποίηση αμύλου.....	179
6.5.3 Ψύξη και αναθέρμανση δειγμάτων	182
6.5.4 Ανακρυστάλλωση αμύλου	189
6.5.5 Πιθανές αλληλεπιδράσεις αμύλου-καφεϊκού οξέος.....	191
6.6 Μελέτη αλληλεπιδράσεων με Φασματοσκοπία NMR	191
Δ. ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ	201
1. Συμπεράσματα διατριβής	201
2. Προοπτικές διατριβής.....	204
Ε. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	206
Ξένη Βιβλιογραφία.....	206
Ελληνική Βιβλιογραφία.....	225
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	226

Περίληψη στα Ελληνικά

Στην παρούσα διατριβή έγινε προσπάθεια εμπλουτισμού αμυλούχων τροφίμων με βιοδραστικά μικροσυστατικά βοτάνων της Μεσογειακής χλωρίδας. Κύριοι στόχοι ήταν η διερεύνηση των φαινομένων μεταφοράς μάζας αντιοξειδωτικών συστατικών κατά τον εμπλουτισμό τροφίμων με υγροθερμικές διεργασίες και η πληρέστερη δυνατή κατανόηση των πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ μικροσυστατικών και βιοπολυμερών των τροφίμων, προκειμένου να μπορούν να υπάρξουν μελλοντικά ακόμα πιο στοχευμένες εφαρμογές της προτεινόμενης μεθοδολογίας, με αντίστοιχες ομάδες μικροσυστατικών και παρόμοια τροφίμα.

Αρχικά, παρασκευάστηκαν υδατικά εκχυλίσματα βοτάνων προκειμένου να αξιολογηθεί το περιεχόμενό τους σε φαινολικά-αντιοξειδωτικά συστατικά, καθώς και η θερμική τους σταθερότητα κατά τη διάρκεια του βρασμού. Τα εκχυλίσματα ήταν αρκετά πλούσια στα μελετώμενα συστατικά, τα οποία βρέθηκαν να παρουσιάζουν πρακτικά αμελητέα υποβάθμιση έπειτα από παρατεταμένη θέρμανση των εκχυλισμάτων στους 100°C. Το εύρημα αυτό αξιοποιήθηκε για παρασκευή εμπλουτισμένου ρυζιού με υγροθερμική επεξεργασία εντός υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου. Ο εμπλουτισμός κρίθηκε επιτυχής, καθώς η συγκριτική αξιολόγηση μεταξύ των συστατικών του τελικού εμπλουτισμένου προϊόντος και του λευκού ρυζιού έδειξε ότι το εμπλουτισμένο ρύζι υπερτερούσε κατά 8-10 φορές σε όλες τις κατηγορίες συστατικών που μελετήθηκαν, τα οποία φάνηκε να είχαν προσροφηθεί μέσω του εκχυλίσματος δυόσμου με την αύξηση του χρόνου υγροθερμικής επεξεργασίας.

Έπειτα από εφαρμογή ίδιας μεθοδολογίας και χρήση πυκνότερων διαλυμάτων (έως 2% w/v διαλυτά στερεά), φάνηκε ότι η συγκέντρωση του εκχυλίσματος είχε καθοριστικό ρόλο στην προσροφησιμότητα κάθε συστατικού εντός των κόκκων, αλλά επηρέασε και την τιμή της εκτιμώμενης συγκέντρωσης ισορροπίας των ουσιών εντός του εμπλουτισμένου ρυζιού. Με δεδομένη την προσέγγιση συγκέντρωσης ισορροπίας των συστατικών στο ρύζι, έγινε μελέτη της διαχυτότητάς τους και προσδιορίστηκαν οι συντελεστές διάχυσης (D) στους κόκκους

για 8 φαινολικά οξέα, οι οποίοι κυμάνθηκαν μεταξύ $3,80 \cdot 10^{-12}$ – $5,95 \cdot 10^{-11}$ m²/s. Η σύγκριση μεταξύ των D που προέκυψαν για κάθε συστατικό στα πειράματα εμπλουτισμού έδειξε ότι ο συντελεστής διάχυσης επηρεάζεται κατά κύριο λόγο από τη χημική συγγένεια των φαινολικών οξέων με τα κύρια μακροσυστατικά του ρυζιού (αμυλοπηκτίνη και νερό).

Στη συνέχεια μελετήθηκε η εκρόφηση των βιοδραστικών ουσιών σε περίσσεια καθαρού νερού, που χρησιμοποιήθηκε για ενυδάτωση ξηρού εμπλουτισμένου ρυζιού, και η διάχυσή τους εντός του κόκκου ρυζιού, που βρέθηκε να ακολουθεί τον 2^ο νόμο του Fick. Η εκρόφηση των συστατικών κατά την ενυδάτωση του ρυζιού έφθασε σε ισορροπία, ενώ παράλληλα η κατακράτηση ουσιών εντός των κόκκων παρέμεινε σε ικανοποιητικά επίπεδα (>24% της αρχικής ποσότητας). Το γεγονός αυτό φανέρωσε ότι πιθανότατα υπήρξε ανάπτυξη ισχυρών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των φαινολικών συστατικών και των μακρομορίων του ρυζιού.

Σε άλλο κεφάλαιο της διατριβής διερευνήθηκαν οι πιθανές αλληλεπιδράσεις του αμύλου ρυζιού με φαινολικά συστατικά εκχυλίσματος δυόσμου κατά την υγροθερμική επεξεργασία. Έπειτα από εφαρμογή μεθόδου Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (DSC) φάνηκε να επηρεάζονται τα χαρακτηριστικά των κυριότερων θερμικών φαινομένων που λαμβάνουν χώρα κατά τη θέρμανση συστήματος αμύλου-νερού, όταν σε αυτό έγινε προσθήκη ποσοτήτων καφεϊκού οξέος. Το αποτέλεσμα αυτό φανέρωσε μια τάση ένταξης του φαινολικού οξέος στο πλέγμα αμύλου-νερού που προκάλεσε μεταβολή στη θερμική σταθερότητα του αμύλου. Επίσης, η μελέτη υγροθερμικά επεξεργασμένων μιγμάτων αμύλου ρυζιού-φαινολικών συστατικών, με φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR), έδειξε ότι υπήρξαν αρκετές διαφορετικές περιοχές (υδροξυλομάδες) στο μόριο του αμύλου ρυζιού που εμφάνισαν σαφείς ενδείξεις δημιουργίας δεσμών H με αντίστοιχα τμήματα των φαινολικών μορίων.

Λέξεις κλειδιά: άμυλο ρυζιού, εκχυλίσματα βοτάνων, φαινολικά συστατικά, μοριακή διάχυση, χημικές αλληλεπιδράσεις

Abstract

In this study, an attempt was made to enrich rice with antioxidants, using herbs that are typical of the Mediterranean region, in order to investigate mass transport phenomena of natural compounds during hydrothermal treatments applied for fortification purposes. Another aim of this thesis was to gain more knowledge on mechanisms concerning potential interactions between food macromolecules and herbal microconstituents. This could help future fortifying applications of the proposed methodology become broader and also include other categories of similar foods and microconstituents.

In the first part of this research, white rice was fortified with antioxidant compounds, coming from spearmint aqueous extract, using a conventional rice cooking process. The results showed that total polyphenol content and most of individual phenolic compounds' concentration detected in white rice samples significantly increased after 20 min of cooking in spearmint aqueous extract. Furthermore, spearmint leaves' aqueous extract exhibited great thermal stability concerning its polyphenol content during 40 min of boiling. Gas Chromatography/Mass Spectroscopy analysis showed that caffeic acid was the predominant phenolic compound among those detected in fortified rice and its concentration inside the grains significantly increased during cooking, apparently due to spearmint aqueous extract contribution.

The next step was to make an attempt to fortify white rice using higher concentrations of extracts which could probably offer a better understanding of diffusion mechanisms that take place inside rice grains during fortification. This was done by using the same hydrothermal process as above, together with some spearmint aqueous extracts of higher concentrations (up to 2% w/v in diluted solids) and the results provided sufficient data for the calculation of theoretical equilibrium concentrations of specific phenolics in rice grains, after their being boiled for infinite time. The results also showed that the concentration of aqueous extracts in diluted solids had a strong effect on the total adsorption of antioxidants inside rice grains, as their concentration in rice at the end of fortifying process, together with the

calculated equilibrium concentrations, seemed to be higher, in cases of cooking in extracts of higher densities. Moreover, the calculation of effective diffusion coefficients D of 8 different phenolic acids in rice was done by applying modeling techniques, based on Fick's 2nd law for diffusion. All calculated diffusivities were found to be among $3,80 \cdot 10^{-12}$ – $5,95 \cdot 10^{-11}$ m²/s, which means that they were much lower than the respective D of moisture in rice grains during boiling. Comparison between diffusivities of different phenolic acids in rice grains during boiling indicated that D was mainly influenced by the chemical affinity ($\log P$) between rice macroconstituents (amylopectin & water) and phenolic compounds.

In addition, the diffusivity of phenolics in rice was studied during fortified rice rehydration. Phenolic concentrations in fortified rice grains during cooking were modeled using a Fickian diffusion model and seemed to be in good agreement with calculated data. The apparent diffusivity of 4 specific phenolic compounds was estimated to be in the range of $4,90$ – $16,97 \cdot 10^{-10}$ m²/s and the retention of these compounds in rehydrated rice was found to be at least 24% of their amount in dry fortified rice. This indicated that a significant amount of antioxidants was not released even after intense thermal processing in excess water and this may be a result of strong interactions between rice macromolecules and phenolic compounds.

The potential interactions, that are formed during boiling, between rice starch and specific phenolic compounds found in spearmint extracts, were examined in another chapter. DSC studies of samples containing rice starch or caffeic acid and their mixtures at specific % w/w ratios and excess water conditions showed that the addition of caffeic acid in starch-water mixture caused notable changes in starch main thermal characteristics. These changes could be attributed to the phenolic acid being probably embedded into starch-water matrix during heating. Moreover, NMR studies of hydrothermally treated samples containing rice starch and specific phenolic compounds showed that there were several different hydroxyl-groups in rice starch molecule which presented evidence of H-bond formation with hydroxyl-groups contained in phenolic molecules.

Keywords: Rice starch, herbal extracts, phenolics, diffusion, chemical interactions

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ρύζι και ζυμαρικά

1.1 Ρύζι - Γενικά

Το ρύζι (*Oryza sativa*) αποτελεί ένα από τα ευρύτερα καταναλισκόμενα τρόφιμα παγκοσμίως και συμβάλλει στην κάλυψη των διατροφικών αναγκών για περισσότερο από το 50% του πληθυσμού της γης. Η ετήσια παραγωγή του, με βάση πρόσφατες καταγραφές σε παγκόσμια κλίμακα (FAOSTAT, 2014), υπερβαίνει αυτή του σίτου, με τον οποίο συναποτελούν τα πλέον αξιοποιήσιμα δημητριακά τρόφιμα στη γη, της πατάτας, της σόγιας και των οσπρίων, ενώ μεταξύ των κυριότερων αμυλούχων τροφίμων, υπολείπεται μόνο του καλαμποκιού. Η καλλιέργεια του κατά ένα πολύ μεγάλο ποσοστό (>90%) λαμβάνει χώρα σε περιοχές της Ασιατικής ηπείρου και ειδικότερα στη Νότια Ασία, καθώς και την Άπω Ανατολή. Γενικά, η καλλιέργεια του ρυζιού γίνεται σε όλες τις ηπείρους πλην της Ανταρκτικής. Όσον αφορά στην Ευρωπαϊκή ήπειρο η Ελλάδα φαίνεται να κατέχει την 4^η θέση μεταξύ όλων των Ευρωπαϊκών χωρών, ως προς την εκτιμώμενη ετήσια παραγωγή ρυζιού, με βάση τα στοιχεία που παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Σε ποσοστό άνω του 80% οι καλλιεργούμενες εκτάσεις ρυζιού στη χώρα μας βρίσκονται σε περιοχές της Μακεδονίας (κυρίως στους νομούς Θεσσαλονίκης και Σερρών), της Στερεάς Ελλάδας, στους νομούς Φθιώτιδας και Αιτωλοακαρνανίας, καθώς και της Πελοποννήσου, στους νομούς Λακωνίας και Μεσσηνίας (Ntanos, 2001).

Έως σήμερα έχει αναφερθεί η ύπαρξη περισσότερων των 5.000 ποικιλιών ρυζιού (Hamilton, 2006), οι οποίες μπορούν να ενταχθούν σε κατηγορίες με βάση ορισμένα κριτήρια που αφορούν τα χαρακτηριστικά τους. Για παράδειγμα με βάση το μέγεθος των κόκκων οι διάφοροι τύποι ρυζιού μπορούν να χαρακτηριστούν κοντόσπερμοι, μεσόσπερμοι ή μακρύσπερμοι. Επίσης, με βάση την επεξεργασία που υφίστανται οι κόκκοι πριν την παραγωγή του τελικού προϊόντος το ρύζι μπορεί να χαρακτηριστεί έμφλοιο ή αναποφλοιώτο, λευκό ή μυλευμένο, καστανό ή ημικατεργασμένο, parboiled ή κίτρινο, κόκκινο, μαύρο, προμαγειρεμένο, αρωματικό, κ.α. Τέλος, ανάλογα με το περιεχόμενο ποσοστό του αμύλου των κόκκων σε αμυλόζη το ρύζι μπορεί να κατανεμηθεί σε κολλώδες (καθόλου αμυλόζη), κηρώδες, πολύ

χαμηλής, χαμηλής, μεσαίας και υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη (Κυρίτση, 2009; Juliano, 1985).

Πίνακας 1: Ετήσιες ποσότητες (έτος 2014) παραγωγής ρυζιού σε Ευρωπαϊκές χώρες. (Πηγή: FAOSTAT, 2014)

Ευρωπαϊκή Χώρα	Παραγόμενες Ποσότητες (τόνοι)
Ιταλία	1.386.100
Ρωσία	1.048.566
Ισπανία	863.800
Ελλάδα	269.400
Πορτογαλία	162.100
Γαλλία	83.400
Βουλγαρία	54.155
Ουκρανία	50.880
Ρουμανία	45.159
Σκόπια	30.500
Ουγγαρία	7.910

1.2 Σύσταση ρυζιού - Θρεπτική αξία

Το ρύζι αποτελεί ένα από τα πλέον θρεπτικά δημητριακά, καθότι είναι πλούσιο σε υδατάνθρακες και πρωτεΐνες, ενώ παράλληλα διαθέτει φυτικές ίνες, μικρό ποσοστό λιπαρών, καθόλου χοληστερόλη και ελάχιστο νάτριο. Όσον αφορά στο περιεχόμενό του σε ιχνοστοιχεία, περιέχει βιταμίνες του συμπλέγματος Β (π.χ. θειαμίνη, ριβοφλαβίνη, νιασίνη), κάλιο, φωσφόρο, σίδηρο, μαγνήσιο, ψευδάργυρο και πολυφαινόλες, τα περισσότερα από τα οποία βρίσκονται συγκεντρωμένα στα εξωτερικά στρώματα των κόκκων (Schueneman, 1993; Tuley, 1991). Λόγω της ικανοποιητικής περιεκτικότητας, που παρουσιάζουν σχεδόν όλα τα είδη ρυζιού, σε διάφορες ομάδες συστατικών γίνεται αντιληπτό ότι το ρύζι έχει υψηλή διατροφική αξία και μπορεί να καλύπτει απόλυτα τις ανάγκες του ανθρώπου σε ενέργεια (θερμίδες), αλλά και επιμέρους ομάδες διατροφικών συστατικών. Επιπλέον, η έλλειψη γλουτένης (gluten-free) καθιστά το ρύζι υποαλλεργικό και εξαιρετικό προϊόν για τους πάσχοντες από κοιλιοκάκη. Στον Πίνακα 2 παρουσιάζεται η πλήρης σύσταση των κυριότερων τύπων ρυζιού (λευκό, καστανό, λευκό-parboiled) πριν και έπειτα από τον βρασμό τους.

1.2.1 Υδατάνθρακες - Σάκχαρα - Φυτικές Ίνες

Το μεγαλύτερο ποσοστό των υδατανθράκων του ρυζιού αποτελεί το άμυλο, το οποίο βρίσκεται συγκεντρωμένο κατά κύριο λόγο στον πυρήνα του ενδοσπέρμιου

(Lamberts et al., 2007). Το άμυλο γενικά συνίσταται από αμυλόζη και αμυλοπηκτίνη, των οποίων η % w/w αναλογία στην πλειονότητα των ρυζιών είναι της τάξης του 25:75 και ζελατινοποιείται στους 50-70°C (Honesey, 1986). Ωστόσο, υπάρχουν και ποικιλίες ρυζιών, των οποίων το ενδοσπέρμιο είναι κηρώδες και το άμυλό τους αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από αμυλοπηκτίνη.

Πίνακας 2: Πλήρης σύσταση νωπού και μαγειρεμένου ρυζιού διαφόρων τύπων.
(Πηγή: USDA Nutrient Data Laboratory, 2016)

	Λευκό Ρυζάλευρο	Ρύζι καστανό μακρύκοκκο ωμό	Ρύζι λευκό μακρύκοκκο ωμό	Ρύζι λευκό, parboiled μακρύκοκκο ωμό	Ρύζι καστανό μακρύκοκκο βρασμένο	Ρύζι λευκό μακρύκοκκο βρασμένο	Ρύζι λευκό, parboiled μακρύκοκκο βρασμένο
NEPO (% w/w)	11,89	11,8	11,62	9,86	70,27	68,44	70,36
ΕΝΕΡΓΕΙΑ (kcal/100 g)	366	367	365	374	123	130	123
ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ (g/100 g)	5,95	7,54	7,13	7,51	2,74	2,69	2,91
ΛΙΠΟΕΙΔΗ g/100 g	1,42	3,2	0,66	1,03	0,97	0,28	0,37
ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ (g/100 g)	80,13	76,25	79,95	80,89	25,58	28,17	26,05
ΣΑΚΧΑΡΑ (g/100 g)	0,12	0,66	0,12	0,33	0,24	0,05	0,11
ΦΥΤΙΚΕΣ ΙΝΕΣ (g/100 g)	2,4	3,6	1,3	1,8	1,6	0,4	0,9
ΤΕΦΡΑ (g/100 g)	0,61	1,21	0,64	0,71	0,44	0,41	0,3
ΑΣΒΕΣΤΙΟ (mg/100 g)	10	9	28	71	3	10	19
ΣΙΔΗΡΟΣ (mg/100 g)	0,35	1,29	0,8	0,74	0,56	0,2	0,24
ΜΑΓΝΗΣΙΟ (mg/100 g)	35	116	25	27	39	12	9
ΦΩΣΦΟΡΟΣ (mg/100 g)	98	311	115	153	103	43	55
ΚΑΛΙΟ (mg/100 g)	76	250	115	174	86	35	56
ΝΑΤΡΙΟ (mg/100 g)	-	5	5	2	4	1	2
ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ (mg/100 g)	0,8	2,13	1,09	1,02	0,71	0,49	0,37
ΧΑΛΚΟΣ (mg/100 g)	0,13	0,302	0,22	0,284	0,106	0,069	0,07
ΜΑΓΓΑΝΙΟ (mg/100 g)	1,2	2,853	1,088	1,035	0,974	0,472	0,354
ΣΕΛΗΝΙΟ (μg/100 g)	15,1	17,1	15,1	19,9	5,8	7,5	9,3
ΘΕΙΑΜΙΝΗ (mg/100 g)	0,138	0,541	0,07	0,224	0,178	0,02	0,074
ΡΙΦΟΦΛΑΒΙΝΗ (mg/100 g)	0,021	0,095	0,049	0,05	0,069	0,013	0,019
ΝΙΑΣΙΝΗ (mg/100 g)	2,59	6,494	1,6	5,048	2,561	0,4	2,309
ΠΑΝΤΟΘΕΝΙΚΟ ΟΞΥ (mg/100 g)	0,819	1,065	1,014	0,672	0,38	0,39	0,323
ΒΙΤΑΜΙΝΗ B6 (mg/100 g)	0,436	0,477	0,164	0,452	0,123	0,093	0,156
ΦΥΛΛΙΚΟ ΟΞΥ (μg/100 g)	4	23	8	8	9	3	3
ΧΟΛΙΝΗ (mg/100 g)	5,8	21,5	5,8	-	9,2	2,1	-
ΒΙΤΑΜΙΝΗ E (mg/100 g)	0,11	0,6	0,11	0,03	0,17	0,04	0,01
ΒΙΤΑΜΙΝΗ K (μg/100 g)	-	0,6	0,1	0,1	0,2	0	0

Τα συστατικά του ρυζιού αφομοιώνονται και απορροφώνται γρήγορα και πλήρως από τον ανθρώπινο οργανισμό, παράγοντας υψηλή γλυκαιμική απόκριση (αύξηση της γλυκόζης του αίματος) και χαμηλή ζύμωση στο παχύ έντερο. Ο

γλυκαιμικός δείκτης του λευκού μυλευμένου ρυζιού είναι κατά μέσο όρο 64 (SD 7), ανήκει δηλαδή στα τρόφιμα μετρίου γλυκαιμικού δείκτη, ενώ αντίθετα το ρύζι υγροθερμικής επεξεργασίας και το ημιαποφλοιωμένο ρύζι εμφανίζουν χαμηλότερο γλυκαιμικό δείκτη από το λευκό μυλευμένο (Hu et al., 2012). Η ταχεία πέψη του αμύλου δεν είναι επιθυμητή, καθώς μπορεί μακροπρόθεσμα να οδηγήσει σε διαβήτη τύπου II, ωστόσο η ποικιλία και ο τρόπος μαγειρέματος μπορεί να μειώσει τη γλυκαιμική απόκριση του μυλευμένου ρυζιού. Αντίθετα, τεχνολογίες όπως η εκβολή και η διόγκωση μπορούν να αυξήσουν την ευπεπτότητα του αμύλου, παρέχοντας προϊόντα με υψηλότερο γλυκαιμικό δείκτη (Casiraghi et al., 1993; Frei & Becker, 2005).

Όσον αφορά στα απλά σάκχαρα που περιέχονται στο ρύζι, η σακχαρόζη είναι το κύριο σάκχαρο που εντοπίζεται στο έμβρυο και το ενδοσπέρμιο, με μικρές ποσότητες ραφινόζης, γλυκόζης και φρουκτόζης. Το είδος και η συγκέντρωση των σακχάρων επηρεάζεται από την ποικιλία του ρυζιού, το βαθμό μύλευσής του και τον τρόπο επεξεργασίας του. Το μυλευμένο ρύζι περιέχει περισσότερη γλυκόζη και σε μικρότερες ποσότητες φρουκτόζη. Το υγροθερικά κατεργασμένο ρύζι περιέχει διπλάσιες ποσότητες ολικών σακχάρων σε σχέση με το λευκό μυλευμένο ρύζι, διότι στο πίτουρο περιέχονται σάκχαρα σε δεκαπλάσια ποσότητα, τα οποία κατά την υγροθερμική επεξεργασία διαχέονται (περίπου κατά 50%) στο ενδοσπέρμιο (Κυρίτση, 2009; Luh, 1991).

Τέλος, οι φυτικές ίνες απαντώνται στο φλοιό του κόκκου, αποτελούν το 20-25% του βάρους και αποτελούνται κυρίως από κυτταρίνες και ημικυτταρίνες. Στο φλοιό περιέχονται, επίσης, υψηλά ποσοστά πεντοζανών. Τα 100 g λευκού ρυζιού παρέχουν μόλις περίπου 0,6 g διαιτητικών ινών. Οι ειδικοί συστήνουν την κατανάλωση τουλάχιστον 25 g φυτικών ινών ημερησίως για μείωση του κινδύνου χρόνιων παθήσεων (Juliano, 1985), επομένως το ρύζι είναι σχετικά φτωχό προϊόν από απόψεως φυτικών ινών.

1.2.2 Πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες είναι το δεύτερο σε ποσότητα συστατικό του ρυζιού και συνίστανται κυρίως από γλουτελίνες. Η συγκέντρωσή τους στον κόκκο μετά τη συγκομιδή εξαρτάται κυρίως από το γονότυπο του ρυζιού, τη χρήση λιπασμάτων (αυξάνει τις % πρωτεΐνες), την περίοδο ανάπτυξης, την τοποθεσία της καλλιέργειας,

την ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας (μειώνει τις % πρωτεΐνες) και τη θερμοκρασία κατά την περίοδο της ανάπτυξης (Prathepha et al., 2005; Tantawi & Sa, 2004).

Οι πρωτεΐνες του ρυζιού, αν και σε μικρή περιεκτικότητα, θεωρούνται καλύτερες ποιοτικά από τις αντίστοιχες των υπολοίπων δημητριακών επειδή εμπεριέχουν και τα οκτώ απαραίτητα αμινοξέα για τον άνθρωπο, τα οποία υπάρχουν σε κατάλληλες αναλογίες (Mahadevamma & Tharanathan, 2007). Επίσης, εμπεριέχουν το πιο σημαντικό αμινοξύ, τη λυσίνη (περίπου 4%), διαθέτουν υψηλή περιεκτικότητα σε γλουτελίνη (τουλάχιστον 80%) και έχουν υψηλή βιολογική αξία. Γενικά, οι περιεχόμενες πρωτεΐνες σχετίζονται αντιστρόφως ανάλογα με την κολλητικότητα των κόκκων ρυζιού. Τα μακρύσπερμα ρύζια και τα υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη έχουν ελαφρώς υψηλότερα ποσοστά πρωτεΐνης από ό,τι τα μεσόσπερμα και τα ρύζια χαμηλής αμυλόζης, οι οποίες μάλιστα κατανέμονται κατά το μεγαλύτερο ποσοστό (της τάξεως του 85%) στο ενδοσπέρμιο και ειδικότερα στην εξωτερική του στοιβάδα, παρά στα εξωτερικά στρώματα του αναποφλοιώτου κόκκου ρυζιού (Lamberts et al., 2007; Κυρίτση, 2009).

Το ρύζι και τα δημητριακά καλό είναι γενικά να καταναλώνονται μαζί με άλλες πρωτεϊνικές πηγές τροφίμων, προκειμένου να λαμβάνονται τα απαραίτητα αμινοξέα σε κατάλληλες για τον ανθρώπινο οργανισμό αναλογίες. Το ρύζι και τα όσπρια είναι συμπληρωματικά από άποψη θρεπτικότητας. Ο βέλτιστος συνδυασμός είναι: 80% ρύζι με 20% όσπρια και η βελτίωση της ποιότητας των πρωτεϊνών οφείλεται στη συνεισφορά λυσίνης και θρεονίνης από τα όσπρια και μεθειονίνης από το ρύζι. Το ρύζι, περιέχει επίσης, χαμηλές συγκεντρώσεις καρβονυλικών ενώσεων, κυρίως κορεσμένες αλδεΐδες και κετόνες. Τα καρβονύλια (φορμαλδεΐδη, ακεταλδεΐδη, ακετόνη, βουτανάλη, 2,4-δεκαδιενάλη, εξανάλη) σχηματίζονται, ως επί το πλείστον, από οξείδωση αμινοξέων και λιπαρών οξέων κατά το μαγείρεμα και την ξήρανση κι επηρεάζουν σημαντικά το άρωμα του ρυζιού (Semwal et al., 1995; Karmas & Harris, 1988).

1.2.3 Λιπαρά

Τα λιπαρά στο ρύζι βρίσκονται σε χαμηλές αναλογίες (περίπου 3% w/w), όπως άλλωστε και σε όλα τα δημητριακά. Η συγκέντρωσή τους μειώνεται από το εξωτερικό προς το εσωτερικό μέρος του κόκκου και χρησιμοποιείται συχνά ως μέτρο σύγκρισης του βαθμού μύλευσης. Το μυλευμένο ρύζι μπορεί να περιέχει 0,3-0,5% w/w σε λιποειδή. Το καστανό ρύζι περιέχει περισσότερα μη πολικά λιποειδή και

λιγότερα γλυκολιπίδια και φωσφολιπίδια σε σχέση με άλλα δημητριακά. Τα λιποειδή του ρυζιού κατηγοριοποιούνται σε μη αμυλούχα, τα οποία απαντώνται στη στοιβάδα της αλευρόνης, το έμβρυο και τα πρωτεϊνικά σώματα του ενδοσπερμίου και σε αμυλούχα, τα οποία συνδέονται με τους αμυλούχους κόκκους. Τα μεσόσπερμα ρύζια και τα ρύζια χαμηλής αμυλόζης έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε λιπαρά σε σχέση με τα μακρόσπερμα και τα υψηλής αμυλόζης. (Honesey, 1986; Zhou et al., 2004; Luh, 1991)

1.2.4 Βιταμίνες - Ανόργανα άλατα - Τέφρα

Όσον αφορά την περιεκτικότητά του σε βιταμίνες, το ρύζι πλεονεκτεί έναντι των άλλων δημητριακών σε νιασίνη και πυριδοξίνη, ωστόσο υστερεί σε θειαμίνη, ριβοφλαβίνη και βιοτίνη. Επιπλέον, δεν περιέχει καθόλου προβιταμίνη Α και βιταμίνες C και D. Οι βιταμίνες του συμπλέγματος Β συναντώνται στο πίτουρο (44%), την αλευρόνη (35%) και το έμβρυο (12%). Έτσι, η διαδικασία της μύλευσης συνεπάγεται απώλεια των βιταμινών Β σε ποσοστό 60-80%. Από μελέτες έχει βρεθεί πως σε ορισμένες έγχρωμες ποικιλίες ρυζιού περιέχονται συγκεντρώσεις β-καροτενίου, οι οποίες είναι υψηλότερες στο μαύρο ρύζι σε σχέση με το κόκκινο (Henry & Chapman, 2002; Zhu et al., 2007).

Η περιεκτικότητα του ρυζιού σε σίδηρο και ψευδάργυρο είναι χαμηλή, όπως επίσης χαμηλή είναι και η βιοδιαθεσιμότητά τους. Η περιεκτικότητα σε ανόργανα άλατα εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών ουσιών στο έδαφος κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και της συγκομιδής. Τα ανόργανα άλατα και ειδικότερα το κάλιο, μαγνήσιο και πυρίτιο, περιέχονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στο καστανό από ότι στο λευκό μυλευμένο ρύζι, ενώ ο φωσφόρος απαντάται στην καρύωση (Juliano, 1985). Επίσης, το καστανό ρύζι περιέχει ελαφρώς περισσότερες φυτικές ίνες, βιταμίνη Ε, φωσφόρο και ασβέστιο. Τέλος, η τέφρα του ρυζιού βρίσκεται κυρίως στα εξωτερικά στρώματα του κόκκου και το έμβρυο, ενώ αποτελείται σε μεγαλύτερο βαθμό από κάλιο (0,38%), φωσφόρο (0,36%), μαγνήσιο (0,16%), χλώριο (0,10%) και ασβέστιο (0,09%) (Καραμάνος, 1999).

1.2.5 Φαινολικά συστατικά - Αντιοξειδωτικά

Το φαινολικό και αντιοξειδωτικό περιεχόμενο του λευκού μυλευμένου ρυζιού θεωρείται να είναι σχετικά χαμηλό σε σύγκριση με αυτό που ανιχνεύεται σε έγχρωμες ποικιλίες ρυζιού όπως είναι το μαύρο, το κόκκινο, το καστανό ή και το κίτρινο ρύζι που έχει υποστεί υδροθερμική επεξεργασία (Walter et al., 2013). Η μεγαλύτερη

ποσότητα των πολυφαινολών του ρυζιού βρίσκεται σε αδιάλυτες (εντός διαλυτών όπως νερό, αιθανόλη, μεθανόλη, κ.α.), ομοιοπολικώς συζευγμένες μορφές με υδατάνθρακες που αποτελούν τμήμα του κυτταρικού τοιχώματος του τροφίμου, ενώ η μερική απομόνωση και παραλαβή των ελεύθερων διαλυτών μορφών τους θα μπορούσε να γίνει π.χ. με χρήση όξινης, αλκαλικής ή ενζυμικής υδρόλυσης (Zhou et al., 2004). Για τον λόγο αυτόν είναι αρκετά δύσκολη η αύξηση της βιοπροσβασιμότητας σε αυτές τις ουσίες από τον ανθρώπινο οργανισμό, ακόμα και αν το ρύζι υφίσταται βρασμό σε υψηλές θερμοκρασίες, καθότι έχει φανεί σε παλαιότερες εργασίες ότι οι θερμικές διεργασίες όπως π.χ. η θέρμανση, το μαγείρεμα και το ψήσιμο δεν μπορούν να οδηγήσουν παρά μόνο σε μερική απελευθέρωση των συζευγμένων φυτοχημικών συστατικών από τους γλυκοζίτες τους (Harukaze et al., 1999; Xu et al., 2007; Yu et al., 2005). Επίσης, το ενδιαφέρον της βιομηχανίας τροφίμων προς τα αδιάλυτα συζευγμένα φαινολικά συστατικά που περιέχονται στα έτοιμα προς βρώση τρόφιμα (ready-to-eat) είναι χαμηλό, καθότι η παρουσία των συστατικών στη συγκεκριμένη μορφή δεν συνεισφέρει ούτε θετικά, ούτε αρνητικά στη διαμόρφωση της γεύσης του τελικού προϊόντος (Harukaze et al., 1999). Γενικά, οι ελεύθερες διαλυτές μορφές φαινολικών συστατικών αντιστοιχούν σε ένα σχετικά μικρό ποσοστό επί του συνόλου των αντιοξειδωτικών συστατικών που περιέχονται στον κόκκο ρυζιού, οι οποίες όμως παρουσιάζουν τη δυνατότητα να απορροφώνται πρακτικώς άμεσα και να μεταβολίζονται όταν καταναλώνονται από τους ζώντες οργανισμούς, ξεκινώντας από το ανώτερο τμήμα του γαστρεντερικού συστήματος. Για τον λόγο αυτόν οι ελεύθερες διαλυτές μορφές πολυφαινολών θα μπορούσαν να θεωρηθούν πιο σημαντικές από τις αντίστοιχες αδιάλυτες συζευγμένες όσον αφορά την παρουσία τους σε εμπλουτισμένα, έτοιμα προς βρώση τρόφιμα, καθώς η τύχη τους εντός του πεπτικού συστήματος μπορεί να προσδιοριστεί με μεγαλύτερη ακρίβεια και παρουσιάζουν μια σαφώς μεγαλύτερη βιοδιαθεσιμότητα σε σχέση με τις αδιάλυτες συζευγμένες πολυφαινόλες.

Τα κυριότερα φαινολικά οξέα που περιέχονται στο καστανό (μερικώς αποφλοιωμένο) και το λευκό μυλευμένο ρύζι είναι το φερουλικό και δευτερευόντως το π-κουμαρικό οξύ, τα οποία εντοπίζονται κατά κύριο λόγο σε αδιάλυτες μορφές, συζευγμένες με μόρια υδατανθράκων (π.χ. αραβινοξυλάνες, πηκτίνες, γλυκάνες, λινγίνη ή και κυτταρίνη) εντός των κυτταρικών τοιχωμάτων. Εκτός αυτών έχουν ανιχνευτεί στα 2 αυτά είδη ρυζιού και άλλα φαινολικά οξέα όπως το διφερουλικό, το

σιναπικό, το δισιναπικό, το γαλλικό, το πρωτοκατεχικό, το συριγγικό, το ισοφερουλικό, το π-υδροξυ-βενζοϊκό, το βανιλλικό και το καφεϊκό οξύ, τα οποία βρίσκονται σε μικρότερες συγκεντρώσεις τόσο σε ελεύθερη, όσο και σε εστεροποιημένη μορφή συνδεδεμένα στο κυτταρικό τοίχωμα των κόκκων (Shao et al., 2014; Shibuya, 1984; Bunzel et al., 2002; Zhou et al., 2004; Igoumenidis et al., 2016). Άλλα φαινολικά αντιοξειδωτικά που έχουν βρεθεί σε καστανό και λευκό ρύζι είναι η π-κρεσόλη, η ο-κρεσόλη, η 3,5-ξυλενόλη, αλλά και κάποια φλαβονοειδή. Ωστόσο, έχουν εντοπιστεί και κάποια φαινολικά οξέα, όπως το φερουλικό και το σιναπικό, εστεροποιημένα με σακχαρόζη, τα οποία ανιχνεύονται μόνο υπό τη διαλυτή συζευγμένη μορφή τους στο λευκό και το καστανό ρύζι (Vichapong et al., 2010; Tian et al., 2004).

Όσον αφορά το πίτουρο του ρυζιού, το οποίο αποτελεί σημαντικό τμήμα του μερικώς αποφλοιωμένου ρυζιού, είναι πλούσιο σε αντιοξειδωτικά συστατικά, ενώ από αυτό παράγεται και το ρυζέλαιο. Ειδικότερα, περιέχει το φαινολικό αντιοξειδωτικό γ-ορυζανόλη (εστέρα του φερουλικού οξέος), που έχει την ιδιότητα να προστατεύει το ρυζέλαιο από την οξείδωση, να παρεμποδίζει την υπεροξείδωση των λιπιδίων, καθώς και να ελαττώνει τη χοληστερόλη του αίματος, ενώ περιέχει επίσης τριτερπενικές αλκοόλες, τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες. Εκτός των άλλων φαινολικών αντιοξειδωτικών έχει βρεθεί ότι το πίτουρο του ρυζιού περιέχει και ανθοκυανίνες, οι οποίες εντοπίζονται σε μεγαλύτερες ποσότητες στο μαύρο ρύζι, παρά στο κόκκινο ή το λευκό ρύζι. Μάλιστα, από έρευνα των Shao et al. (2014) φάνηκε ότι το πίτουρο περιείχε το 97% της ολικής ποσότητας ανθοκυανινών που περιέχονταν σε μαύρο ρύζι, σε σχέση με το ενδοσπέρμιο που συγκέντρωνε μόνο το 3%. Οι κυριότερες ανθοκυανίνες που έχουν ανιχνευτεί σε διάφορα είδη ρυζιού είναι ο 3-O-γλυκοζίτης της κυανιδίνης, ο 3-O-γλυκοζίτης της πεονιδίνης, ο 3-O-ρουτινοζίτης της κυανιδίνης, καθώς και άλλα παράγωγα της κυανιδίνης. Ανάλογα με την καλλιέργεια, η περιεκτικότητα του πίτουρου του ρυζιού σε φαινολικά οξέα κυμαίνεται από 70-90%. Γενικά, η παρουσία των χρωστικών ουσιών του αναποφλοϊώτου κόκκου ρυζιού, οι οποίες διαθέτουν κάποια αντιοξειδωτική δραστηριότητα, μειώνεται από τον εξωτερικό φλοιό προς τον πυρήνα του ενδοσπερμίου και φυσικά η περιεκτικότητά τους στο τελικό προϊόν εξαρτάται σε μεγάλο ποσοστό από τον βαθμό μύλωσης (Juliano, 1985; Lamberts et al., 2007;

Rohrer & Siebenmorgen, 2004; Goufo & Trindade, 2014; Maisuthisakul & Changchub, 2014).

1.3 Ζυμαρικά

Τα ζυμαρικά ή μακαρόνια αποτελούν βασικό είδος διατροφής για πολλές χώρες παγκοσμίως, μεταξύ των οποίων και η Ελλάδα, ενώ προέρχονται από την παραδοσιακή Ιταλική κουζίνα. Η παραγωγή στη χώρα μας (2015) εκτιμάται στους 170.000 τόνους ετησίως και βρίσκεται στη 16^η θέση όσον αφορά την παγκόσμια κατάταξη (UN.A.F.P.A., 2015), ενώ στις εξαγωγές μακαρονιών η Ελλάδα κατέχει τη 10^η θέση παγκοσμίως και τη 2^η θέση σε πανευρωπαϊκό επίπεδο (κάτω από την Ιταλία), όπως διαπιστώνεται από πρόσφατα δεδομένα του Πίνακα 3 (FAOSTAT, 2013).

Πίνακας 3: Εξαγωγίμες ποσότητες μακαρονιών ανά χώρα σε ετήσια βάση. (Πηγή: FAOSTAT, 2013)

Κράτος	Εξαγωγές (τόνοι/έτος)
ΙΤΑΛΙΑ	1.789.154
ΤΟΥΡΚΙΑ	642.921
Η.Π.Α.	115.749
ΤΥΝΗΣΙΑ	89.004
OMAN	74.979
ΤΑΪΛΑΝΔΗ	66.012
ΣΑΟΥΔΙΚΗ ΑΡΑΒΙΑ	64.762
ΜΕΞΙΚΟ	64.739
ΑΙΓΥΠΤΟΣ	55.765
ΕΛΛΑΔΑ	54.341

Η παρασκευή των ζυμαρικών γίνεται κατά βάση με χρήση σιμιγδαλιού και αλεύρου που προέρχονται από το σκληρό σιτάρι, ενώ η διαμόρφωση του τελικού προϊόντος γίνεται συνήθως με τη διεργασία της ψυχρής εξώθησης με αέρα. Με τον τρόπο αυτόν παρουσιάζουν αυξημένη διατηρησιμότητα και ταυτόχρονα γίνεται εύκολη η μεταφορά και η προετοιμασία τους προς βρώση (Sadeghi & Bhagya, 2008). Επίσης, τα ζυμαρικά διαθέτουν καλή διατροφική αξία, καθώς έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε σύνθετους υδατάνθρακες (~75%), που τα καθιστά πολύ καλή πηγή ενέργειας για τον άνθρωπο, έχουν μέτρια περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και βιταμίνες και παρουσιάζουν χαμηλά ποσοστά σε νάτριο και λιπαρά (Borneo & Aguirre, 2008).

Το μεγαλύτερο ποσοστό των υδατανθράκων βρίσκεται με τη μορφή αμύλου, ενώ το υπόλοιπο είναι διαιτητικές ίνες. Όσον αφορά στην περιεκτικότητα των ξηρών ζυμαρικών σε πρωτεΐνη αυτή είναι κατά κανόνα άνω του 10% w/w, όπου το μεγαλύτερο ποσοστό είναι η γλουτένη, ενώ παρουσιάζουν ανεπάρκεια σε απαραίτητα αμινοξέα όπως π.χ. η λυσίνη και μεθειονίνη (Sadeghi & Bhagya, 2008). Γενικά, οι πρωτεΐνες του σκληρού σταριού προσδίδουν ιξωδοελαστικές ιδιότητες στη ζύμη των μακαρονιών και επιτρέπουν την καλή σύνδεση των τμημάτων της για τη δημιουργία του επιθυμητού πλέγματος κατά τη διάρκεια των φάσεων ανάμιξης των υλικών και της εξώθησης. Σε πρόσφατη μελέτη παρατηρήθηκε η συμπεριφορά των ζυμαρικών κατόπιν βρασμού και βρέθηκε ότι τα ζυμαρικά με μεγαλύτερο ποσοστό σιμιγδαλιού παρουσίασαν μικρότερη απώλεια στερεών, μεγαλύτερη απορρόφηση υγρασίας και καλύτερη συνεκτικότητα, προφανώς λόγω της υψηλής σχετικά περιεκτικότητας του σιμιγδαλιού σε γλουτένη (Islas-Rubio et al., 2014).

Το διατροφικό ενδιαφέρον των μακαρονιών αυξάνεται καθότι σε σχέση με άλλα τρόφιμα της ομάδας των δημητριακών θεωρούνται ως τρόφιμο που έχει χαμηλότερο γλυκαιμικό δείκτη. Ειδικότερα, η απελευθέρωση των προϊόντων αποικοδόμησης του αμύλου ζυμαρικών κατά τη διάρκεια της *in-vitro* ενζυμικής κατεργασίας τους με α -αμυλάση έχει βρεθεί να καθυστερεί σε σχέση με την απελευθέρωση αντίστοιχων προϊόντων από άλλα είδη δημητριακών και αυτό αποδίδεται στη συμπαγή δομή των ζυμαρικών που παράγονται με διεργασία εξώθησης και την ανάπτυξη του πρωτεϊνικού πλέγματος που παγιδεύει τους κόκκους αμύλου και καθυστερεί τη δράση του ενζύμου. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε χαμηλή μεταγευματική απόκριση της γλυκόζης του αίματος και της έκκρισης ινσουλίνης (Tudorica et al., 2002; Biney & Beta).

Στον Πίνακα 4 παρουσιάζεται ενδεικτικά η πλήρης διατροφική σύσταση ενός λευκού μακαρονιού, καθώς και των κυριότερων ειδών αλεύρων που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή του (USDA Nutrient Data Laboratory, 2016). Με βάση τα δεδομένα του Πίνακα 4 γίνεται αντιληπτό ότι το λευκό μακαρόνι μπορεί να περιέχει πολύ υψηλά ποσοστά υδατανθράκων, ωστόσο θεωρείται φτωχό σε περιεκτικότητα και ποιότητα πρωτεϊνών, βιταμινών και ιχνοστοιχείων, ενώ οι Borneo & Aguirre (2008) αναφέρουν σε εργασία τους πως αποτελεί ιδανικό τρόφιμο για εμπλουτισμό με πρωτεΐνες, ιχνοστοιχεία και άλλα υψηλής διατροφικής αξίας συστατικά.

Πίνακας 4: Πλήρης διατροφική σύσταση λευκού ζυμαρικού και κυριότερων αλεύρων που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή του. (USDA Nutrient Data Laboratory, 2016)

	Ξηρό ζυμαρικό	Βρασμένο ζυμαρικό	Λευκό σκληρό αλεύρι	Σμιγδάλι
ΝΕΡΟ (g/100 g)	9,90	62,13	9,57	12,67
ΕΝΕΡΓΕΙΑ (kcal/100 g)	371	158	342	360
ΠΡΩΤΕΙΝΗ (g/100 g)	13,04	5,8	11,31	12,68
ΛΙΠΙΔΙΑ (g/100 g)	1,51	0,93	1,71	1,05
ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ (g/100 g)	74,67	30,86	75,9	72,83
ΦΥΤΙΚΕΣ ΙΝΕΣ (g/100 g)	3,2	1,8	12,2	3,89
ΣΑΚΧΑΡΑ (g/100 g)	2,67	0,56	0,41	-
ΤΕΦΡΑ (g/100 g)	0,88	0,27	1,52	0,77
ΑΣΒΕΣΤΙΟ (mg/100 g)	21	7	32	17
ΣΙΔΗΡΟΣ (mg/100 g)	1,3	0,5	4,56	1,23
ΜΑΓΝΗΣΙΟ (mg/100 g)	53	18	93	47
ΦΩΣΦΟΡΟΣ (mg/100 g)	189	58	355	136
ΚΑΛΙΟ (mg/100 g)	223	44	432	186
ΝΑΤΡΙΟ (mg/100 g)	6	1	2	1
ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ (mg/100 g)	1,41	0,51	3,33	1,05
ΧΑΛΚΟΣ (mg/100 g)	0,289	0,1	0,363	0,189
ΜΑΓΓΑΝΙΟ (mg/100 g)	0,917	0,322	3,821	0,619
ΘΕΙΑΜΙΝΗ (mg/100 g)	0,09	0,02	0,387	0,28
ΡΙΒΟΦΛΑΒΙΝΗ (mg/100 g)	0,06	0,02	0,108	0,08
ΝΙΑΣΙΝΗ (mg/100 g)	1,7	0,4	4,381	3,31
ΠΑΝΤΟΘΕΝΙΚΟ ΟΞΥ (mg/100 g)	0,431	0,112	0,954	0,58
ΒΙΤΑΜΙΝΗ Β6 (mg/100 g)	0,142	0,049	0,368	0,103
ΦΥΛΛΙΚΟ ΟΞΥ (μg/100 g)	18	7	38	72
ΒΙΤΑΜΙΝΗ Ε (mg/100 g)	0,11	0,06	1,01	-
ΒΙΤΑΜΙΝΗ Κ (μg/100 g)	0,1	-	1,9	-
ΚΟΡΕΣΜΕΝΑ ΛΙΠΗ (g/100 g)	0,277	0,176	0,277	0,15
ΜΟΝΟΑΚΟΡΕΣΤΑ (g/100 g)	0,171	0,131	0,203	0,124
ΠΟΛΥΑΚΟΡΕΣΤΑ (g/100 g)	0,564	0,326	0,75	0,43

2. Βότανα της Μεσογειακής Διατροφής

2.1 Γενικά χαρακτηριστικά - Εφαρμογές

Οι κυριότεροι εκπρόσωποι των βοτάνων που συνθέτουν την αποκαλούμενη και ως «Μεσογειακή Διατροφή» ανήκουν στην οικογένεια των Χειλανθών (*Labiatae*). Παραδείγματα τέτοιων βοτάνων είναι η ρίγανη, το δεντρολίβανο, ο δυόσμος, ο βασιλικός, το μελισσόχορτο, το θυμάρι, ο δίκταμος, η ματζουράνα, το φασκόμηλο, κ.α. Τα περισσότερα από αυτά είναι φυτά ποώδη, μονοετή ή και πολυετή, που έχουν χρησιμοποιηθεί από την αρχαιότητα στην παραδοσιακή ιατρική, ενώ κατά τη σύγχρονη εποχή χρησιμοποιούνται τόσο στη μαγειρική, όσο και τη φαρμακευτική, καθώς και τη βιομηχανία τροφίμων. Μάλιστα, τόσο τα φύλλα των βοτάνων, όσο και τα αιθέρια έλαιά τους παρουσιάζουν ποικίλες εφαρμογές. (Mabey et al., 1999)

Για παράδειγμα, ο δυόσμος (*Mentha spicata*) πέραν της συνηθισμένης χρήσης των φύλλων του στη μαγειρική, όπου χρησιμοποιείται για να προσδώσει γεύση και άρωμα, το αιθέριο έλαιό του χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων, ποτών και τη ζαχαροπλαστική. Επίσης, στη βιομηχανία κρεατοσκευασμάτων έχει φανεί ότι το μαρινάρισμα αρνίσιου κρέατος με δυόσμο πριν από την ακτινοβόλησή του μειώνει σημαντικά την οξείδωση των λιποειδών του κρέατος, λόγω της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας του δυόσμου. Επιπλέον, το αιθέριο έλαιο του δυόσμου είναι συνηθισμένο συστατικό τόσο σε φαρμακευτικά προϊόντα, όσο και σε προϊόντα υγιεινής και κοσμετολογίας, καθώς επίσης χρησιμοποιείται ως πρόσθετο ενισχυτικό γεύσης και αρώματος σε προϊόντα όπως τσίγλες και οδοντόκρεμες. Για τον λόγο αυτόν σε πολλές χώρες καλλιεργείται σε ευρεία κλίμακα προκειμένου να καλύπτονται και οι ανάγκες της βιομηχανίας. (Kanatt et al., 2007; Akdogan et al., 2007; Telci et al., 2010)

Ένα άλλο χαρακτηριστικό, για το ιδιαίτερα έντονο άρωμά του, βότανο της Μεσογειακής Διατροφής είναι ο βασιλικός (*Ocimum basilicum*), ο οποίος έχει χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα για πολλά χρόνια ως αρωματική ύλη σε προϊόντα ζαχαροπλαστικής και αρτοποιίας, σε καρκεύματα (π.χ. κέτσαπ, πάστες τομάτας, σάλτσες τσίλι, τουρσιά, ξύδι), σε λουκάνικα, κρέατα, μη αλκοολούχα ποτά και παγωτά. Τη σημερινή εποχή αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της Ιταλικής κουζίνας, καθώς είναι βασικό συστατικό της διάσημης σάλτσας πέστο και της σάλτσας πιστού

(pistou). Επίσης, χρήση βασιλικού γίνεται και στην ποτοποιία, για παράδειγμα κατά την παρασκευή του ποτού Chartreuse, στο οποίο χρησιμοποιείται παραδοσιακά από τον 11^ο αιώνα, ενώ χρησιμοποιείται και στην κονσερβοποιία, ιδιαίτερα σε κονσέρβες τομάτας. Τέλος, το αιθέριο έλαιο του βασιλικού αποτελεί συστατικό της φαρμακοβιομηχανίας, της αρωματοποιίας, ενώ η χρήση του συναντάται και σε προϊόντα στοματικής υγιεινής. (Karwowska, 1997)

2.2 Αντιοξειδωτική δράση

Γενικά, ως αντιοξειδωτική δράση ορίζεται η παρεμπόδιση των επιβλαβών για τον οργανισμό δράσεων των ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Οι ελεύθερες ρίζες είναι προϊόντα του φυσιολογικού μεταβολισμού, που μπορεί να αυξηθούν από περιβαλλοντικούς (ακτινοβολία, μόλυνση) ή ενδομεταβολικούς παράγοντες. Ο οργανισμός, φυσιολογικά, διαθέτει μηχανισμό εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών, ο οποίος εξασθενεί με το πέρασ των χρόνων. Το οξειδωτικό στρες χαρακτηρίζεται από ανισορροπία μεταξύ της δημιουργίας ελευθέρων ριζών και της δραστηριότητας της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού με την οποία εξουδετερώνονται οι ελεύθερες ρίζες (Dastmalchi et al., 2008). Υψηλά επίπεδα ελευθέρων ριζών στο ανθρώπινο σώμα είναι επικίνδυνα και μπορούν να προκαλέσουν βλάβες στα κύτταρα και κατ' επέκταση σοβαρές ασθένειες. Ειδικότερα, το οξειδωτικό στρες μπορεί να επηρεάσει το μεταβολισμό των λιπών, των πρωτεϊνών, των υδατανθράκων, ενώ η μη εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών μπορεί να προκαλέσει μετάλλαξη ή καταστροφή του DNA και στη συνέχεια πρόωρη γήρανση, σύνδρομο χρόνιας κόπωσης αλλά και χρόνιες ασθένειες, όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης και τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Τέλος, το οξειδωτικό στρες αποτελεί βασικό παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση νευρολογικών ασθενειών, όπως η νόσος Alzheimer και η νόσος του Parkinson (Chong-Zhi et al., 2007).

Τα φυτικά αντιοξειδωτικά θα μπορούσαν να προστατέψουν τον οργανισμό από τις παραπάνω ασθένειες. Γενικότερα έχουν τη δυνατότητα να περιορίζουν την οξείδωση των λιπιδίων αφού μειώνουν τοπικά τη συγκέντρωση του οξυγόνου, απομακρύνουν τις ελεύθερες ρίζες, παρεμποδίζουν την έναρξη του μηχανισμού δημιουργίας ριζών, αποικοδομούν τα υπεροξειδία και δεν επιτρέπουν τη συνεχή δέσμευση υδρογονοκατιόντων από τις ενεργές ρίζες. Προσφάτως, τα φυσικά και συνθετικά αντιοξειδωτικά έχουν αποδειχθεί πολύ χρήσιμα για την πρόληψη χρόνιων

παθήσεων όπως ο διαβήτης, η οστεοπόρωση, οι φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου, η παγκρεατίτιδα κ.α. (Zeraatpishe et al., 2011).

Το διάφορα βότανα που προέρχονται από την Ελληνική επικράτεια, όπως π.χ. η ρίγανη, το θυμάρι, ο δυόσμος, το μελισσόχορτο, ο βασιλικός, κ.α., και τα συστατικά τους διαθέτουν υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα, ενισχύοντας την άμυνα του οργανισμού έναντι του οξειδωτικού στρες. Αυτή αποδίδεται κυρίως στην περιεκτικότητά τους σε φαινολικές ενώσεις, που δρουν ως αντιοξειδωτικές ουσίες, και ειδικότερα στα φαινολικά οξέα (ροσμαρινικό, καφεϊκό, 3-4 υδροξύ-φαινυλοξικό, κ.α.), καθώς και τα φλαβονοειδή (Zeraatpishe et al., 2011). Για παράδειγμα το ροσμαρινικό οξύ που βρίσκεται σε αφθονία σε πολλά βότανα εκδηλώνει σημαντική αντιοξειδωτική ικανότητα λόγω και των 4 υδροξυλομάδων που περιέχει στο μόριό του (Capecka et al., 2005). Ωστόσο, έχει φανεί ότι αν και οι φαινολικές ενώσεις εξουδετερώνουν την ελεύθερη ρίζα 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλνυδράζυλο (DPPH) και αυξάνουν τον αντιοξειδωτικό χαρακτήρα των βοτάνων, η περιεκτικότητά τους σε αυτές δε σχετίζεται απολύτως ανάλογα με την αντιοξειδωτική δράση που παρουσιάζουν, γεγονός που φανερώνει ότι μάλλον υφίστανται και άλλα συστατικά του πέραν των φαινολικών που δρουν ως αντιοξειδωτικά (Dastmalchi et al., 2008). Τέλος, τα τερπενικά συστατικά που εντοπίζονται σε μεγάλο βαθμό στα Ελληνικά βότανα έχουν επίσης αντιοξειδωτικές ιδιότητες, όπως έχουν δείξει και οι Kaliora et al. (2007) σε εκχυλίσματα μαστίχας Χίου.

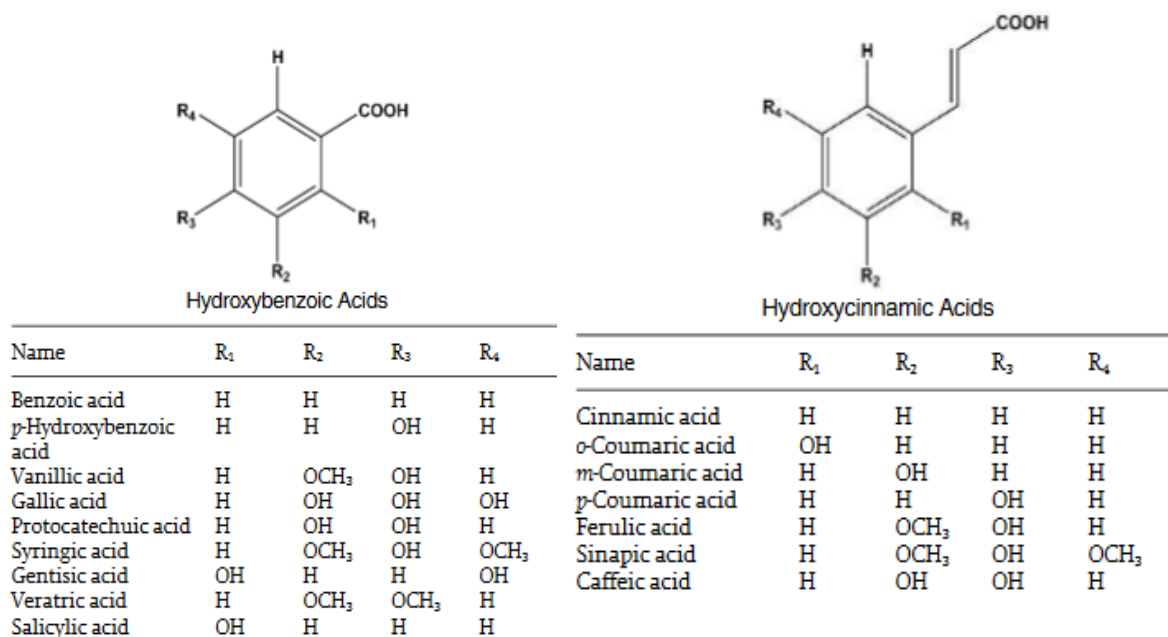
2.3 Χημική σύσταση - Φαινολικό περιεχόμενο - Θεραπευτικές ιδιότητες

Τα περισσότερα από τα βότανα που περιλαμβάνονται στη Μεσογειακή Διατροφή, μεταξύ των οποίων και το δεντρολίβανο, ο δυόσμος, ο βασιλικός, ο δίκταμος, η ρίγανη, το φασκόμηλο, κ.α. διαθέτουν φύλλα με περιεχόμενο πλούσιο σε πτητικά έλαια (π.χ. μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες, κινεόλη, θυμόλη, καρβακρόλη, καμφορά, λιναλοόλη) και αρωματικά συστατικά. Παράλληλα, περιέχουν και πολλά άλλα συστατικά όπως φυτικές χρωστικές (φλαβονοειδή), φαινολικά οξέα (π.χ. ροσμαρινικό, καφεϊκό, φερουλικό, χλωρογενικό οξύ), τριτερπενικά οξέα, τανίνες, φαινυλοπροπένια (π.χ. εστραγκόλη) κ.α. Όλα τα παραπάνω συστατικά προσδίδουν στα βότανα ποικίλες δράσεις και ιδιότητες, ειδικά όσον αφορά στη θεραπεία συγκεκριμένων παθήσεων. Οι κυριότερες θεραπευτικές δράσεις που παρουσιάζουν τα βότανα είναι οι τονωτικές, αντισηπτικές,

αντισπασμωδικές, αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις, αποχρεμπτικές, ηρεμιστικές, αντικαρκινικές, αντιρρευματικές, διεγερτικές, διουρητικές, κ.α. (Mabey et al., 1999). Στη συνέχεια παρατίθενται ενδεικτικά στοιχεία για μια χαρακτηριστική ομάδα φαινολικών συστατικών, τα φαινολικά οξέα, που απαντώνται σε πληθώρα βοτάνων, τα οποία σχετίζονται με τη Μεσογειακή Διατροφή.

2.3.1 Φαινολικά οξέα

Τα φαινολικά συστατικά αποτελούν ομάδα οργανικών μορίων, τα οποία συντίθενται κατά την ανάπτυξη των φυτών και την απόκριση τους σε διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες όπως είναι η μόλυνση, το τραύμα και η έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία. Τα φυσικά φαινολικά οξέα περιέχουν μια καρβοξυλομάδα στον ανθρακικό τους σκελετό και χωρίζονται σε διάφορες υποκατηγορίες, μεταξύ των οποίων είναι τα υδροξυκινναμωμικά και τα υδροξυβενζοϊκά (Σχήμα 1). Παρόλο που ο κύριος σκελετός παραμένει ίδιος, ο αριθμός και οι θέσεις των υδροξυλομάδων στον αρωματικό δακτύλιο δημιουργούν διαφορετικά μόρια. Το καφεϊκό, το π-κουμαρικό, το βανιλικό, το φερουλικό και το πρωτοκατεχικό οξύ είναι φαινολικά οξέα που απαντώνται σχεδόν σε όλα τα φυτά. (Stalikas, 2007; Manach et al., 2004)



Σχήμα 1: Δομή κυριότερων φυσικών φαινολικών οξέων που απαντώνται σε φυτικά τρόφιμα. (Stalikas, 2007)

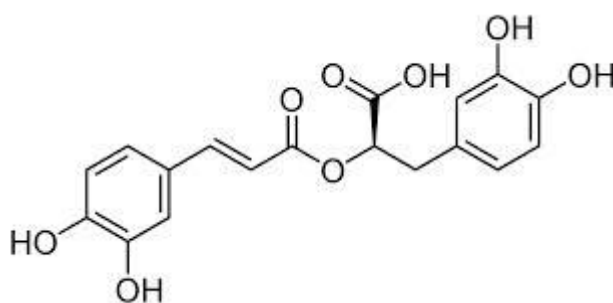
Το περιεχόμενο των υδροξυβενζοϊκών οξέων σε εδώδιμα φυτά είναι γενικά πολύ χαμηλό, με εξαίρεση ορισμένα κόκκινα φρούτα, ραπανάκια και κρεμμύδια,

όπου η συγκέντρωσή τους μπορεί να φτάνει μερικές δεκάδες mg/kg φρέσκου προϊόντος (Lafay & Gil-Izquierdo, 2008; Manach et al., 2004). Επίσης, οι Kahkonen et al. (1999) εξέτασαν διάφορα βότανα ως προς το φαινολικό τους περιεχόμενο και έδειξαν ότι ορισμένα από αυτά π.χ. το δεντρολίβανο, το φασκόμηλο, η ρίγανη, ο δυόσμος και το θυμάρι, αλλά και τα εκχυλίσματά τους είναι πλούσια σε φαινολικά οξέα, ενώ και το τσάι αποτελεί σημαντική πηγή γαλλικού οξέος, καθώς έχει βρεθεί να περιέχει περίπου 4,5 g/kg φρέσκων φύλλων τσαγιού. Ωστόσο, τα υδροξυβενζοϊκά οξέα, είτε σε ελεύθερη, είτε σε εστεροποιημένη μορφή, εντοπίζονται σε πολύ λίγα φυτά που καταναλώνονται απευθείας από τον άνθρωπο (Manach et al., 2004).

Όσον αφορά τα υδροξυκινναμωμικά οξέα αντιπροσωπεύονται κυρίως από το καφεϊκό, το π-κουμαρικό, το φερουλικό και το σιναπικό οξύ και εντοπίζονται είτε στην κυτταρική μεμβράνη των εξωτερικών στρωμάτων των φυτών, είτε στο κυτταρόπλασμα ως υδατοδιαλυτές μορφές (Faulds & Williamson, 1999). Το καφεϊκό οξύ, για παράδειγμα, είναι ίσως το πιο διαδεδομένο υδροξυκινναμωμικό οξύ και συμμετέχει σε ποσοστό έως και 70% του συνολικού περιεχομένου των υδροξυκινναμωμικών οξέων στα περισσότερα φρούτα (π.χ. αχλάδια, σταφύλια), ενώ βρίσκεται επίσης στον καφέ αλλά και σε βότανα (π.χ. ρίγανη, θυμάρι, βασιλικός, δυόσμος). Επίσης, το φερουλικό οξύ είναι το κυρίαρχο φαινολικό οξύ των δημητριακών (έως και 90% w/w των ολικών πολυφαινολών) και εντοπίζεται συνήθως στα εξωτερικά στρώματα των κόκκων. Το ρύζι όπως και τα άλευρα βρώμης περιέχουν την ίδια περίπου ποσότητα φαινολικών οξέων με το σιτάλευρο (63 mg/kg). Τα παραπάνω οξέα σπάνια βρίσκονται σε ελεύθερες μορφές και γενικότερα είναι εστεροποιημένα με το κινικό, το ταρταρικό οξύ ή τα παράγωγα υδατανθράκων. Ο συνδυασμός του καφεϊκού και κινικού οξέος οδηγεί στο σχηματισμό του χλωρογενικού οξέος, που αποτελεί κυρίαρχο φαινολικό συστατικό του καφέ και της πατάτας. (Lafay & Gil-Izquierdo, 2008; Manach et al., 2004)

Εκτός των απλούστερων μορφών φαινολικών οξέων υπάρχουν και πιο σύνθετες μορφές τους που απαντώνται σε φυτικά τρόφιμα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το ροσμαρινικό οξύ, που είναι ένα πολυφαινολικό καρβοξυλικό οξύ-εστέρα του καφεϊκού οξέος, που απαντάται σε πολλά βότανα, όπως το δεντρολίβανο, η ρίγανη, ο δυόσμος και η μέντα. Για το ροσμαρινικό οξύ έχουν αναφερθεί πολυάριθμες βιολογικές δράσεις σε θηλαστικά και κύτταρα θηλαστικών, όπως π.χ. αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδης, αντικαρκινική, αντιμεταλλαξιογόνος,

αντιαλλεργική, ανοσορυθμιστική, αντιβακτηριακή και αντιική. Όσον αφορά τη δράση ενάντια σε ιούς, το ροσμαρινικό οξύ έχει τη δυνατότητα να αντιδρά ταχύτατα με τις πρωτεΐνες που βρίσκονται στο εξωτερικό περίβλημα των ιών και να τους αδρανοποιεί. (Pearson et al., 2010). Από μελέτες σε ποντίκια, φάνηκε ότι η από του στόματος κατανάλωση ροσμαρινικού οξέος μπορεί να αποτελέσει μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική για την πρόληψη της νόσου Alzheimer (Hamaguchi et al., 2009). Ο δυόσμος είναι συνήθης φυσική πηγή ροσμαρινικού οξέος. Όπως και το καθαρό ροσμαρινικό οξύ, έτσι και το έλαιο του δυόσμου έχει βρεθεί ότι αναστέλλει τις φλεγμονώδεις συνέπειες του λιποπολυσακχαριδίου (LPS) (Pearson et al., 2010). Στο Σχήμα 2 φαίνεται η δομή του ροσμαρινικού οξέος.



Σχήμα 2: Απεικόνιση μορίου ροσμαρινικού οξέος.

2.4 Βιοδιαθεσιμότητα πολυφαινολών

Γενικά, ως βιοδιαθεσιμότητα ορίζεται το κλάσμα της χημικής ένωσης που απελευθερώνεται από το υπόστρωμα ενός τροφίμου στο γαστρεντερικό σύστημα και διατίθεται στον οργανισμό προς απορρόφηση. Η βιοδιαθεσιμότητα περιλαμβάνει διαδικασίες όπως η απελευθέρωση από το υπόστρωμα, η απορρόφηση, η διασπορά, ο μεταβολισμός και η αποβολή (Rein et al., 2012). Σχεδόν όλα τα βότανα και τα διάφορα εκχυλίσματά τους που έχουν εξεταστεί κατά καιρούς, ως προς το φαινολικό τους περιεχόμενο, παρουσιάζουν από μέτρια έως υψηλή περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες, ωστόσο αυτές είναι μόνο μερικώς και σε διαφορετικό βαθμό βιοδιαθέσιμες για τον ανθρώπινο οργανισμό έπειτα από την κατανάλωσή τους μέσω των τροφίμων. Για το λόγο αυτό, ένας από τους βασικούς στόχους των μελετών που σχετίζονται με τη βιοδιαθεσιμότητα είναι να προσδιορίσουν ανάμεσα στις εκατοντάδες πολυφαινόλες της δίαιτας του ανθρώπου ποιες απορροφώνται καλύτερα και ποιες οδηγούν στη δημιουργία δραστικών μεταβολιτών. Η βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών σε ανθρώπινους ιστούς ή ζωτικά όργανα (π.χ. έντερο, νεφρά, συκώτι),

στο αίμα (πλάσμα), τα ούρα, κ.α. μπορεί να μετρηθεί έπειτα από χορήγηση πολυφαινολών είτε ως καθαρή ένωση, είτε ως εκχύλισμα από ένα φυτό, ή ως τρόφιμο ή ποτό (Manach et al., 2005).

Γενικά, οι πολυφαινόλες, από τη στιγμή που εισαχθούν στο πεπτικό σύστημα και περάσουν από το στομάχι, μεταβολίζονται μερικώς και φτάνουν στο λεπτό έντερο από όπου εισέρχονται στον βλεννογόνο μέσω παθητικής διάχυσης. Μάλιστα, τα μόρια και οι μεταβολίτες τους που λόγω μεγέθους και δομής δεν μπορούν να απορροφηθούν στο λεπτό έντερο συνεχίζουν την πορεία τους προς το παχύ έντερο, όπου υφίστανται περαιτέρω διάσπαση προς απλούστερες φαινολικές δομές από τα εντερικά ένζυμα, καθώς και την εντερική χλωρίδα, οπότε είτε τελικά απορροφώνται από το παχύ έντερο, είτε αποβάλλονται από τον οργανισμό μέσω των κοπράνων. Όσες από τις πολυφαινόλες και τους μεταβολίτες τους καταφέρουν να απορροφηθούν από το έντερο οδηγούνται τελικά προς άλλα ζωτικά όργανα, όπως π.χ. το συκώτι, όπου μπορεί να υποστούν μεταβολισμό από ηπατικά ένζυμα, τη χολή και τα νεφρά, από όπου μπορούν να συνεχίσουν την πορεία τους μέσω του αίματος ή των ούρων. (Manach et al., 2004; Bravo, 1998; Scalbert & Williamson, 2000)

Η μειωμένη δραστηριότητα των πολυφαινολών στους ζωντανούς οργανισμούς μπορεί να οφείλεται σε πολλούς διαφορετικούς παράγοντες που σχετίζονται κυρίως με τη φύση των επιμέρους πολυφαινολών, καθώς και των τροφίμων μέσω των οποίων λαμβάνονται. Καταρχάς υπάρχει το ενδεχόμενο να εμφανίζουν μικρή διεισδυτική ικανότητα και χαμηλή εντερική απορρόφηση λόγω της δέσμευσής τους σε άλλα μεγαλομόρια όπως π.χ. πρωτεΐνες και υδατάνθρακες, αλλά και λόγω ιδιοτεροτήτων που παρουσιάζει η φυσιολογία του εντέρου (π.χ. εντερική χλωρίδα, pH, έκκριση δια της χολής, κ.α.). Επίσης, ο μεταβολισμός αρκετών πολυφαινολών έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία προϊόντων (μεταβολιτών), τα οποία όμως διατηρούν μόνο ένα μέρος της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας της πολυφαινόλης από την οποία προέρχονται. Επιπλέον, η ταχεία αποβολή τους από τον οργανισμό είτε π.χ. λόγω ακατάλληλου μεγέθους, είτε λόγω αδυναμίας διάσπασης εξαιτίας ακινητοποίησης των ενζύμων λόγω της παρουσίας ιχνοστοιχείων ή ξενοβιοτικών ουσιών που αναστέλλουν τη δράση τους, είναι ένα αίτιο που οδηγεί σε μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολικών συστατικών. (Manach et al., 2004)

Άλλες παράμετροι που μπορεί να επηρεάζουν την διαθεσιμότητα των πολυφαινολών από τα διάφορα τρόφιμα στο γαστρεντερικό σύστημα είναι η

διατροφική δόση, οι διαιτητικές συνήθειες, ο βαθμός ζύμωσης από τα βακτήρια του εντέρου, η σύσταση της εντερικής χλωρίδας, ο χρόνος διάβασης από το έντερο και η ηλικία του ατόμου. Όσον αφορά τη φύση του μορίου των πολυφαινολών, η χημική δομή, το MB, η διαλυτότητα και ο βαθμός γλυκοζυλίωσης εντός του φυτού ή του τροφίμου παίζουν σημαντικό ρόλο στη βιοδιαθεσιμότητά τους στον ανθρώπινο οργανισμό. Ειδικότερα, η απορρόφηση των γλυκοζυλιωμένων μορφών των πολυφαινολών λαμβάνει χώρα κατά κύριο λόγο στο κατώτερο μέρος του εντέρου, όπου απαντώνται τα ένζυμα που διασπούν του γλυκοζιτικούς δεσμούς, ενώ αντίθετα οι ελεύθερες μορφές φαίνεται να απορροφώνται στο άνω πεπτικό σύστημα. Τέλος, οι πολυφαινόλες, εκτός από τις γλυκοζυλιωμένες μορφές τους, μπορούν να εμφανίζονται σε τρόφιμα με τη μορφή εστέρων (π.χ. υδροξυ-κιναμμωμικά οξέα εστεροποιημένα με πολυσακχαρίτες), οι οποίοι επηρεάζουν την απορρόφηση των μορίων ή ως πολυμερή, τα οποία δεν μπορούν να απορροφηθούν ως έχουν. (Zubik & Meydani, 2003; Wollgast & Anglam, 2000; Bugianesi et al., 2002; Chesson et al., 1999; Bokkenheuser et al., 1987).

Παραδείγματα πολυφαινολικών συστατικών που παρουσιάζουν διαφορετικούς βαθμούς απορρόφησης στο γαστρεντερικό σύστημα, ανάλογα με τη μορφή στην οποία απαντώνται στα τρόφιμα, μεταβάλλοντας έτσι τη βιοδιαθεσιμότητά τους στον ανθρώπινο οργανισμό, είναι το φερουλικό οξύ (φαινολικό οξύ), τα φλαβονοειδή κερκετίνη, ναριγκενίνη και οι ανθοκυανίνες (π.χ. κυανιδίνη) (Talavera et al., 2003). Το φερουλικό οξύ που αποτελεί ένα από τα επικρατέστερα φαινολικά οξέα στο ρύζι (Vicharong et al., 2010), όταν καταναλώνεται υπό την ελεύθερη μορφή του απορροφάται εύκολα από τους ζώντες οργανισμούς, ενώ όταν βρίσκεται στην εστεροποιημένη μορφή του η βιοδιαθεσιμότητά του στο αίμα μειώνεται δραματικά, καθότι η υδρόλυση των εστερικών δεσμών λαμβάνει χώρα σε περιορισμένη κλίμακα στο άνω τμήμα του πεπτικού συστήματος (Adam et al., 2002). Επιπλέον, οι Zhao et al., (2003) έδειξαν ότι έπειτα από κατανάλωση φερουλικού οξέος στην ελεύθερη μορφή του από ποντικούς, αυτό απορροφήθηκε σχεδόν εξ ολοκλήρου, ενώ παράλληλα χαμηλότερη βιοδιαθεσιμότητά του παρατηρήθηκε όταν το φαινολικό οξύ χορηγήθηκε σε συζευγμένη μορφή του με αραβινόζη. Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται πληροφορίες που σχετίζονται με την απορρόφηση μιας κατηγορίας φαινολικών οξέων (υδροξυ-

κιναμωμικά π.χ. καφεϊκό, φερουλικό, κουμαρικό οξύ κ.α.) από τους ζώντες οργανισμούς ανάλογα με τη μορφή στην οποία βρίσκονται κατά την πρόσληψή τους.

Πίνακας 5: Σύνοψη απορρόφησης, μεταβολισμού και απέκκρισης υδροξυκιναμωμικών οξέων. (Πηγή: Zhao & Moghadasian, 2010)

Υδροξυκιναμωμικά οξέα της διατροφής	Θέση απορρόφησης	Θέση μεταβολισμού	Μονοπάτι απέκκρισης
Μονομερή	στομάχι, λεπτό έντερο, παχύ έντερο	εντερικός βλεννογόνος, ήπαρ, μικροχλωρίδα παχέος εντέρου	ούρα, χολή
Διμερή	λεπτό έντερο, παχύ έντερο (απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση)	εντερικός βλεννογόνος, ήπαρ (απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση)	δεν υπάρχουν αναφορές
Απλές συζευγμένες μορφές	λεπτό και παχύ έντερο	εντερικός βλεννογόνος, ήπαρ, μικροχλωρίδα παχέος εντέρου	ούρα, χολή, κόπρανα (απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση)
Συζευγμένα πολυμερή	παχύ έντερο (απορροφώνται ως μονομερή)	ήπαρ, μικροχλωρίδα παχέος εντέρου	ούρα, χολή, κόπρανα

Όσον αφορά στα φλαβονοειδή πολυφαινολικά συστατικά, η κερκετίνη σε υγρά τρόφιμα όπως το κρασί και το τσάι βρίσκεται κυρίως σε μορφή δεσμευμένη ως ρουτινοζίτης, ενώ σε στερεά τρόφιμα, όπως τα κρεμμύδια, ως γλυκοζίτης (Goldberg et al., 1996). Από σχετική έρευνα (Hollman et al., 1999) παρατηρήθηκε ότι η βιοδιαθεσιμότητα της κερκετίνης από τους ρουτινοζίτες (κατανάλωση κρασιού, τσαγιού) άγγιζε μόλις το 20% της αντίστοιχης βιοδιαθεσιμότητας της ίδιας ουσίας από τους γλυκοζίτες (πρόσληψη ισοδύναμης ποσότητας από κρεμμύδια). Η διαφορά αυτή αποδόθηκε στην απορρόφηση των ρουτινοζιτών μόνο από το παχύ έντερο (παθητική διάχυση), σε σχέση με την ενεργητική απορρόφηση των αντίστοιχων γλυκοζιτών που λαμβάνει χώρα κατά κύριο λόγο στο λεπτό έντερο (de Vries et al., 2001). Επίσης, όσον αφορά στη ναριγκενίνη, που αποτελεί ένα ακόμη ευρέως εμφανιζόμενο φλαβονοειδές στα φυτικά τρόφιμα, έχει φανεί ότι παρουσιάζεται διαφορά στη βιοδιαθεσιμότητά της όταν λαμβάνεται από ισοδύναμες ποσότητες φρούτων, όπως η τομάτα και το κίτρο, με το γεγονός αυτό να αποδίδεται στη διαφορετική μορφή με την οποία περιέχεται εντός των 2 τροφίμων. Ειδικότερα, η συγκεκριμένη πολυφαινόλη εντοπίζεται κυρίως στο φλοιό της τομάτας σε μορφή ελεύθερου μορίου, ενώ στα κίτρα βρίσκεται κατά κύριο λόγο με τη γλυκοζιλιωμένη της μορφή (εσπεριδοζίτης ή και ρουτινοζίτης της ναριγκενίνης) (Bugianesi et al., 2002).

3. Εμπλουτισμός αμυλούχων τροφίμων

3.1 Εμπλουτισμός τροφίμων - Γενικά

Ο εμπλουτισμός των τροφίμων κατέχει βασικό ρόλο στον τομέα της διατροφής και αποτελεί μια δυναμική περιοχή ανάπτυξης, που στοχεύει στην κάλυψη των διατροφικών αναγκών ορισμένων ομάδων πληθυσμού, καθώς και την αντιμετώπιση των ελλείψεων σε μικροθρεπτικά συστατικά (FAO, 1996). Την τελευταία δεκαετία τα εμπλουτισμένα τρόφιμα έχουν κατακλύσει την αγορά, καθώς οι περισσότερες βιομηχανίες πλέον εμπλουτίζουν τα προϊόντα τους, ώστε να καλύψουν τις ολοένα αυξανόμενες ανάγκες των καταναλωτών. Σύμφωνα με τη Διεθνή Οργάνωση Τροφίμων και Γεωργίας (FAO), αλλά και τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), ως εμπλουτισμός τροφίμων (fortification) ορίζεται η προσθήκη ενός ή περισσότερων ωφέλιμων συστατικών σε ένα τρόφιμο, είτε αυτά προϋπάρχουν, είτε όχι στην κανονική κατάσταση του τροφίμου, με σκοπό να προληφθούν ή να διορθωθούν αποδεδειγμένες ανεπάρκειες ενός ή περισσότερων θρεπτικών συστατικών σε ολόκληρο τον πληθυσμό ή σε μεμονωμένες ομάδες αυτού (FAO/WHO 1994). Εναλλακτικά του όρου fortification χρησιμοποιείται και ο όρος enrichment που από ορισμένους ερευνητές αναφέρεται ως η αποκατάσταση βιταμινών και ιχνοστοιχείων που χάνονται κατά την επεξεργασία των τροφίμων (Hoffbauer, 1994).

Τα τελευταία πενήντα χρόνια έχουν γίνει πολλές προσπάθειες εμπλουτισμού με μικροθρεπτικά συστατικά. Οι περισσότεροι ερευνητές έχουν στραφεί σε κατηγορίες τροφίμων όπως είναι τα δημητριακά και τα προϊόντα αυτών, τα γαλακτοκομικά, τα λίπη, τα έλαια κ.α. Χαρακτηριστικά μπορούν να αναφερθούν ο εμπλουτισμός και η αποκατάσταση των δημητριακών, των αλεύρων, του ψωμιού και του ρυζιού σε βιταμίνες (π.χ ρετινόλη, θειαμίνη, ριβοφλαβίνη) και ιχνοστοιχεία (π.χ σίδηρος, ιώδιο, μαγνήσιο). Τα παραπάνω τρόφιμα καλύπτουν ένα σημαντικό μέρος της ημερήσιας ενεργειακής πρόσληψης του παγκόσμιου πληθυσμού και έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον των βιομηχανιών στον τομέα παραγωγής λειτουργικών προϊόντων. Όσον αφορά στα γαλακτοκομικά, στη βιβλιογραφία αναφέρονται προσπάθειες εμπλουτισμού τους με βιταμίνες Α και D καθώς και με μέταλλα, όπως είναι το ασβέστιο, ο σίδηρος και το ιώδιο (τυρί). Επιπλέον, η προσθήκη βιταμινών Α, D και Ε συναντάται και στον εμπλουτισμό ελαίων και μαργαρινών (FAO, 1996).

3.2 Εμπλουτισμός ρυζιού

Το λευκό ρύζι αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα τρόφιμα για ένα μεγάλο μέρος του πληθυσμού της γης, ωστόσο παρουσιάζει έλλειψη σε ορισμένα πολύ χρήσιμα θρεπτικά συστατικά (Solon, 2000). Κατά τη διαδικασία της μύλευσης ή άλεσης του ρυζιού, παρατηρείται σημαντική απώλεια θρεπτικών ουσιών στο τελικό αποφλοιωμένο προϊόν και κατά συνέπεια ο εμπλουτισμός του ρυζιού κρίνεται αναγκαίος για πολλούς λόγους. Ένας κύριος λόγος είναι η αποκατάσταση των θρεπτικών συστατικών που χάνονται κατά τη διάρκεια της μύλευσης και η αντιστάθμιση των πιθανών απωλειών κατά την αποθήκευσή του. Ένας άλλος βασικός λόγος είναι η βελτίωση του ποσοστού λαμβανόμενης ημερήσιας ποσότητας των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών από τον άνθρωπο, ιδιαίτερα για τους πληθυσμούς που πάσχουν από διατροφική ανεπάρκεια. Ένας τρίτος λόγος είναι η βελτίωση της θρεπτικής κατάστασης του κόκκου ρυζιού, λαμβάνοντας υπόψη τόσο την επεξεργασία, όσο και τις απώλειες κατά την προετοιμασία του προς βρώση (FAO, 1996; Johnson, 1995).

Το ρύζι μπορεί να θεωρηθεί κατάλληλος φορέας εμπλουτισμού για πολλούς λόγους. Καταρχάς, καλλιεργείται σε πάρα πολλές χώρες (άνω των εκατό), καταναλώνεται από όλες τις ομάδες πληθυσμού και αποτελεί βασικό είδος διατροφής στις αναπτυσσόμενες χώρες. Επιπλέον, επιτρέπεται να καταναλωθεί και από άτομα με ιατρικά προβλήματα, καθώς είναι μη αλλεργιογόνο και ελεύθερο γλουτένης (Gallagher et al., 2004). Το ρύζι είναι πολύ σταθερό τρόφιμο με ομοιόμορφα και αναγνωρίσιμα χαρακτηριστικά κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, συσκευασίας, αποθήκευσης και γενικά σε όλο το χειρισμό του. Είναι εύκολο να υποστεί βρασμό και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (οσμή, γεύση, χρώμα, υφή και γενική εμφάνιση) προσδιορίζονται με απλό, γνωστό και συγκρίσιμο τρόπο, ενώ η γεύση του είναι ουδέτερη, γεγονός που το καθιστά αποδεκτό από την πλειοψηφία των καταναλωτών. Η βιομηχανική διαδικασία παραγωγής του ρυζιού δεν είναι ιδιαίτερα δαπανηρή και είναι δυνατό να επεκταθεί και τελικά να υποστηρίξει τη διαδικασία εμπλουτισμού κατά αποδοτικό και επικερδή τρόπο, χωρίς την απαίτηση πολλών επενδύσεων για περαιτέρω εγκαταστάσεις. Τέλος, σχετικά με το ρύζι, υπάρχουν διαθέσιμες στη βιβλιογραφία όλες οι διαιτητικές συνήθειες του πληθυσμού – στόχου για πολλές δεκαετίες (Henry, 1996; Kapanidis & Lee, 1996; Nutriview, 2003).

Ο εμπλουτισμός του ρυζιού λαμβάνει χώρα σε εγκαταστάσεις ορυζόμυλων και συνήθως η μέθοδος εφαρμογής αναπτύσσεται και κατοχυρώνεται επιστημονικά από τις εταιρίες επεξεργασίας με διπλώματα ευρεσιτεχνίας (πατέντες). Έτσι, καθίσταται δύσκολη η μεταφορά τεχνολογίας του εμπλουτισμού ρυζιού, και συνεπώς η ανάπτυξη και εφαρμογή ποιοτικού ελέγχου στο εμπλουτισμένο προϊόν. Όσον αφορά στις τεχνικές εμπλουτισμού του ρυζιού, οι κυριότερες που έχουν αναφερθεί είναι η μέθοδος ψεκασμού ή επικάλυψης, η υγροθερμική επεξεργασία, η εκβολή και η ανάμιξη. Οι τεχνικές αυτές ταξινομούνται σε δύο κύριες ομάδες, οι οποίες είναι η «τύπου πούδρας» και η «ολόκληρου κόκκου», που σημαίνει προσθήκη των επιθυμητών θρεπτικών συστατικών στην πούδρα ρυζιού (ρυζάλευρο) ή στην επιφάνεια των κόκκων (Κυρίτση, 2009). Γενικά, σε περιοχές όπου καταναλώνονται μεγάλες κατά κεφαλήν ποσότητες ρυζιού εμφανίζονται ασθένειες, όπως π.χ. το μπέρι-μπέρι, λόγω έλλειψης βιταμινών του συμπλέγματος Β, ανεπάρκειες ασβεστίου, βιταμίνης C, σεληνίου, μαγνησίου, σιδήρου και ψευδαργύρου. Λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας αυτών και άλλων συστατικών στο ρύζι έχουν γίνει κατά το πρόσφατο παρελθόν αρκετές προσπάθειες για τον εμπλουτισμό του ρυζιού με άλλα συστατικά. Ειδικότερα, έχουν δοκιμαστεί τεχνικές που εστιάζουν στον εμπλουτισμό κατά τη διάρκεια ανάπτυξης της ορυζοκαλλιέργειας, τεχνικές που παρεμβαίνουν στη διαδικασία της υγροθερμικής επεξεργασίας του ανεπεξέργαστου ρυζιού και άλλες που περιλαμβάνουν ψεκασμό του λευκού μυλευμένου ρυζιού με τα επιθυμητά μικροσυστατικά.

3.2.1 Προβρασμένο ρύζι

Η διαδικασία υγροθερμικής επεξεργασίας είναι μια παραδοσιακή μέθοδος που περιλαμβάνει αρχικά την ενυδάτωση του έμφλοιου ρυζιού σε ορισμένη θερμοκρασία, η οποία ακολουθείται από βρασμό του ρυζιού στους 100°C, ώστε να πραγματοποιηθεί μερική ζελατινοποίηση του αμύλου καθώς και σκλήρυνση του ενδοσπέρμιου. Ταυτόχρονα, ο κόκκος ρυζιού αρχίζει να διογκώνεται με αποτέλεσμα τον διαχωρισμό του εξωτερικού φλοιού από τον εσωτερικό. Στη συνέχεια, το ρύζι υφίσταται ξήρανση και έπειτα ακολουθεί η διαδικασία της μύλευσης και αποθήκευσής του (Juliano, 1993; Juliano, 1985; FAO, 1996).

Η παραπάνω επεξεργασία συμβάλλει στη διάχυση του νερού και των υδατοδιαλυτών συστατικών, από τον φλοιό και το έμβρυο προς το ενδοσπέρμιο. Έρευνες έχουν δείξει ότι με αυτόν τον τρόπο το 50-90% της θειαμίνης του

αναποφλοιώτου ρυζιού κατακρατείται στον κόκκο του μυλευμένου ρυζιού (Juliano, 1985), ενώ παράλληλα φαίνεται ότι το περιεχόμενο των βιταμινών του συμπλέγματος B (Kyritsi et al., 2011), της νιασίνης και της ριβοφλαβίνης αυξάνεται σημαντικά σε σχέση με το λευκό μυλευμένο ρύζι (Padua & Juliano, 1974). Το προβρασμένο ρύζι αποκτά κιτρινωπό χρώμα λόγω μεταφοράς χρωστικών, κυρίως β-καροτενίου και λουτεΐνης, από τον φλοιό στο εσωτερικό του κόκκου (Juliano, 1993). Επίσης, η διαδικασία της υγροθερμικής επεξεργασίας συμβάλλει και στην αύξηση του περιεχομένου των ολικών πολυφαινολικών συστατικών, καθώς φαίνεται ότι όσο αυξάνεται ο βαθμός μύλευσης κατά την επεξεργασία, το λευκό μυλευμένο ρύζι παρουσιάζει 20–40% λιγότερες πολυφαινόλες σε σχέση με το προβρασμένο. Ενδεικτικά, οι Shobana et al. (2011) υπολόγισαν ότι οι ολικές πολυφαινόλες σε 100 g λευκού μυλευμένου ρυζιού ήταν $18 \pm 1,1$ mg, ενώ στην ίδια ποσότητα προβρασμένου ρυζιού (ίδιου βαθμού μύλευσης) ήταν $25,3 \pm 1,7$ mg. Γενικά, η μέθοδος της υγροθερμικής επεξεργασίας αποτελεί έναν ευρέως χρησιμοποιούμενο τρόπο εμπλουτισμού του ρυζιού και διαμόρφωσης των οργανοληπτικών του ιδιοτήτων που συνεισφέρει στη βελτίωση της διατροφικής αξίας του τροφίμου, ενισχύοντας το περιεχόμενό του σε συστατικά όπως υδατοδιαλυτές βιταμίνες, ιχνοστοιχεία και αντιοξειδωτικά.

3.2.2 Εμπλουτισμός ρυζιού με βιταμίνες

Το ενδιαφέρον για τον εμπλουτισμό του ρυζιού με βιταμίνες εκδηλώθηκε από τις αρχές της δεκαετίας του 1950. Από τότε και μέχρι σήμερα έχουν πραγματοποιηθεί πολλές προσπάθειες με στόχο την αύξηση της περιεκτικότητας των βιταμινών σε διάφορους τύπους ρυζιού. Το 1950 οι Kondo et al. παρήγαγαν ένα εμπλουτισμένο προϊόν, του οποίου το περιεχόμενο σε θειαμίνη ήταν 100 φορές υψηλότερο σε σχέση με το καστανό ρύζι, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της όξινης υγροθερμικής επεξεργασίας. Έκτοτε, έχουν πραγματοποιηθεί πολλές έρευνες εμπλουτισμού των κόκκων με θειαμίνη, νιασίνη, πυριδοξίνη, βιταμίνη A και ριβοφλαβίνη, κυρίως σε Ασιατικές χώρες (Κίνα, Ιαπωνία, Φιλιππίνες), στις οποίες παρατηρούνταν ανεπάρκειες των βιταμινών αυτών (Juliano, 1985; FAO, 1996).

Σε πιο πρόσφατη έρευνα, οι Kyritsi et al. (2011) εμπλούτισαν τρεις διαφορετικούς τύπους ρυζιού (καστανό, λευκό μυλευμένο και προβρασμένο) με βιταμίνες του συμπλέγματος B (B_1 , B_2 , B_3 , B_5 , B_6 , B_{12}) χρησιμοποιώντας δυο διαφορετικές μεθόδους επεξεργασίας (εμβάπτιση σε υδατικά διαλύματα υψηλού

περιεχομένου σε βιταμίνες ή ψεκάσμος με τα αντίστοιχα διαλύματα). Τα αποτελέσματά έδειξαν ότι η μέση κατακράτηση όλων των βιταμινών στα δείγματα και των δυο μεθόδων ήταν πάνω από 53% μετά τον βρασμό, γεγονός που φανερώνει την πιθανή διάχυση των βιταμινών στο εσωτερικό των κόκκων κατά τον εμπλουτισμό και την ενδεχόμενως ισχυρή δέσμευσή τους. Όσον αφορά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά για όλους τους εμπλουτισμένους τύπους ρυζιού με βιταμίνες κρίθηκαν ικανοποιητικά για τον καταναλωτή. Η παραπάνω προσπάθεια θα μπορούσε να συμβάλει στην αντιμετώπιση ασθενειών που σχετίζονται με την έλλειψη των βιταμινών του συμπλέγματος Β, όπως το μπέρι-μπέρι (B₁), η αριθβοφλαβίνωση (B₂), η πελλάγρα (B₃), η μεγαλοβλαστική αναιμία (B₁₂) κ.α. (Groppe et al., 2004).

3.2.3 Εμπλουτισμός ρυζιού με ιχνοστοιχεία και αρωματικές ουσίες

Γενικά, σε περιοχές όπου καταναλώνονται μεγάλες κατά κεφαλήν ποσότητες μυλευμένων σιτηρών, συχνά αντιμετωπίζονται προβλήματα όπως η χαμηλή πρόσληψη σιδήρου και τα χαμηλά επίπεδα αιμικού σιδήρου στο αίμα. Για την αντιμετώπιση του παραπάνω φαινομένου πολλοί ερευνητές έχουν στρέψει το ενδιαφέρον τους στον εμπλουτισμό του ρυζιού με σίδηρο και άλλα μέταλλα, κυρίως στις χώρες που το ρύζι αποτελεί βασικό είδος διατροφής. Πιο συγκεκριμένα, αρκετές πρόσφατες έρευνες (Prom-u-thai et al., 2008 & 2009; Wei et al., 2012 & 2013; Sperotto et al., 2012; Pooniya & Shivay, 2013; Tulyathan et al., 2007) έχουν εστιάσει στην εύρεση του βέλτιστου τρόπου εμπλουτισμού του ρυζιού με σίδηρο, ψευδάργυρο, ασβέστιο, ιώδιο, κ.α.. Με βάση αυτές ο εμπλουτισμός επιχειρήθηκε να γίνει είτε με προσθήκη κατάλληλης ποσότητας μεταλλικού άλατος (π.χ. FeSO₄, ZnSO₄, KI) μέσω λιπάσματος κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του φυτού, είτε μέσω εκτέλεσης της υδροθερμικής επεξεργασίας (parboiling) για ολόκληρους κόκκους καφέ ρυζιού, που έλαβε χώρα σε υδατικό διάλυμα πλούσιο σε ιόντα σιδήρου.

Σε όλες τις περιπτώσεις βρέθηκαν οι βέλτιστες συγκεντρώσεις για την προσθήκη του μετάλλου, ώστε το τελικό εμπλουτισμένο προϊόν να είναι αποδεκτό οργανοληπτικά από τον καταναλωτή, ενώ παράλληλα η βιοδιαθεσιμότητα του Fe ή Zn να είναι η μέγιστη δυνατή. Σημειωτέον η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο εμπλουτισμένο ρύζι επηρεάζεται από την παρουσία φυτικού οξέος και πολυφαινολών στο καφέ ρύζι, καθώς οι συγκεκριμένες ουσίες έχει παρατηρηθεί ότι τείνουν να δεσμεύουν μέταλλα, όπως π.χ. ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος, ο φώσφορος κ.α., με αποτέλεσμα ο ανθρώπινος οργανισμός να έχει δυσκολότερη πρόσβαση σε αυτά και

να είναι λιγότερο βιοδιαθέσιμα λόγω περιορισμένης διάσπασης των συμπλόκων (έλλειψη κατάλληλου ενζύμου) και απορρόφησης των μετάλλων (Wei et al., 2013). Με την προσθήκη περίσσειας ιόντων μετάλλου πάντως γίνεται δυνατή η εξουδετέρωση όλων των θέσεων δέσμευσης που προέρχονται από τα μόρια φυτικού οξέος και πολυφαινολών, με αποτέλεσμα ο επιπλέον περιεχόμενος στο ρύζι Fe ή Zn να είναι άμεσα βιοδιαθέσιμος για τον άνθρωπο.

Όσον αφορά τις μεθόδους εμπλουτισμού του ρυζιού μέσω κατάλληλης λίπανσης του φυτού κατά τη φάση της ανάπτυξης του έχει αποδειχθεί ότι δεν είναι πάντοτε αποτελεσματικές, κυρίως λόγω της πολύ μικρής διαλυτότητας που παρουσιάζει ο σίδηρος στα εδάφη (Sperotto et al., 2012). Αντίθετα, πιο αποτελεσματική φαίνεται να είναι η μέθοδος της υγροθερμικής επεξεργασίας σε πυκνό διάλυμα Fe, με την οποία μπορεί να υπάρξει διάχυση των ιόντων του σιδήρου από τις εξωτερικές στοιβάδες του καστανού ρυζιού έως και τις εσωτερικές στοιβάδες του ενδοσπερμίου (Prom-u-thai et al., 2008). Αντίστοιχη τεχνική εμπλουτισμού έχει εφαρμοστεί και από τους Tulyathan et al. (2007) για το ιώδιο, που αποτελεί και αυτό ένα από τα βασικά μικροσυστατικά του ανθρώπινου σώματος. Η ανεπαρκής πρόσληψή του μπορεί να οδηγήσει στη διόγκωση του θυρεοειδούς αδένα (βρογχοκήλη), ενώ η χρόνια ανεπάρκεια μπορεί να οδηγήσει σε υποπαραθυρεοειδισμό. Έτσι, κατανοώντας τα παραπάνω προβλήματα οι Tulyathan et al. (2007) προσπάθησαν να εμπλουτίσουν ρύζι υγροθερμικής επεξεργασίας μέσω εμφάνισης των κόκκων σε υδατικά διαλύματα ιωδιούχου και ιωδικού καλίου και να μελετήσουν ύστερα την απορρόφηση του ιωδίου από τους κόκκους του ρυζιού.

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται και μια προσπάθεια εμπλουτισμού του ρυζιού με αρωματικές ενώσεις. Ειδικότερα, αναφέρεται η απορρόφηση της 2-ακετυλο-1-πυρολίνης (2-AP), χημικής ένωση που συμβάλλει κυρίως στη διαμόρφωση αρωμάτων σε ορισμένους τύπους αρωματικών ρυζιών, κατά τον βρασμό των κόκκων λευκού ρυζιού με φύλλα Πανδάνου (*Pandanus amaryllifolius Roxb*) (Yahya et al., 2011). Από την εργασία αυτή, προέκυψε ότι το φαινόμενο της απορρόφησης του 2-AP είναι μια σύνθετη διαδικασία που απαιτεί περαιτέρω μελέτη με στόχο την επιτυχή βελτίωση της γεύσης και αρώματος των μη αρωματικών ρυζιών.

3.3 Εμπλουτισμός ζυμαρικών – Βιβλιογραφική ανασκόπηση

Τα ζυμαρικά μπορούν να αποτελέσουν ιδανικά τρόφιμα-υποστρώματα για εμπλουτισμό. Για τη βελτίωση της διατροφικής αξίας των ζυμαρικών έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες χρησιμοποιώντας πηγές πρωτεϊνών, διαιτητικών ινών, ισοφλαβόνες, ω-3 λιπαρά οξέα, β-γλυκάνες, πηγές καροτενοειδών, αντιοξειδωτικά κ.α. Ενδεικτικά συνοψίζονται στη συνέχεια τα κυριότερα ευρήματα από κάποιες σχετικές εργασίες που έχουν εκπονηθεί κατά τα τελευταία χρόνια.

Οι Sadeghi & Bhagya (2008) δοκίμασαν να εμπλουτίσουν μακαρόνια με πρωτεΐνη από εκχύλισμα μουστάρδας. Στόχος της μελέτης αυτής ήταν ο εμπλουτισμός μακαρονιών με πρωτεΐνη μουστάρδας σε διαφορετικά επίπεδα και η καταγραφή των επιδράσεων του εμπλουτισμού στη χημική και διατροφική σύσταση των ζυμαρικών, τις ρεολογικές ιδιότητες και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά πριν και μετά το μαγείρεμα. Γενικά, παρατηρήθηκε αύξηση στην περιεκτικότητα πρωτεΐνης των ζυμαρικών ανάλογη με την προσθήκη εκχυλίσματος μουστάρδας, καθώς και συγκριτικά αυξημένες συγκεντρώσεις των αμινοξέων λυσίνη, κυστεΐνη, αργινίνη και ιστιδίνη, ενώ η προσθήκη του εκχυλίσματος βελτίωσε αισθητά τις εξεταζόμενες οργανοληπτικές ιδιότητες του τελικού προϊόντος όπως ήταν η απώλεια στερεών κατά τον βρασμό και η κολλητικότητα των βρασμένων ζυμαρικών.

Οι Mercier et al. (2011) μελέτησαν την επίδραση του εμπλουτισμού ζυμαρικών με πρωτεΐνη από αρακά στην ανάπτυξη πορώδους δομής, την πυκνότητα και τη συρρίκνωση των ζυμαρικών κατά τη διάρκεια της ξήρανσης. Η επιλογή της θερμοκρασίας ξήρανσης έδειξε να έχει μεγαλύτερη επίδραση στις μελετούμενες ιδιότητες του εμπλουτισμένου τροφίμου σε σχέση με την επιλογή του ποσοστού εμπλουτισμού του ζυμαρικού με πρωτεΐνη. Ειδικότερα, η εφαρμογή υψηλής θερμοκρασίας ξήρανσης (80°C) ευνοούσε το σχηματισμό μακαρονιών πυκνότερης δομής που παρουσίαζαν ταυτόχρονα υψηλότερο βαθμό συρρίκνωσης, ενώ αντίθετα η ξήρανση σε χαμηλότερη θερμοκρασία (40°C) οδηγούσε σε παραγωγή εμπλουτισμένων και μη εμπλουτισμένων προϊόντων μεγαλύτερου πορώδους. Επιπλέον, η διαχυτότητα της υγρασίας κατά την ξήρανση των ζυμαρικών στους 80°C παρουσιάστηκε αυξημένη όταν πραγματοποιήθηκε προσθήκη πρωτεΐνης αρακά σε χαμηλά κατά βάρος ποσοστά.

Οι Islas-Rubio et al. (2014) αντικατέστησαν κατά ένα ποσοστό το σιμιγδάλι με άλευρο προερχόμενο από αμάραντο (*Amaranthus hypochondriacus* L.) με στόχο

την αύξηση της διατροφικής ποιότητας, λόγω της περιεκτικότητας του αμάραντου σε υψηλής ποιότητας πρωτεΐνη, μέταλλα και διατητικές ίνες, με ταυτόχρονη διατήρηση ή και βελτίωση των οργανοπληπτικών χαρακτηριστικών των μακαρονιών. Στα προϊόντα ζυμαρικών που παρασκευάστηκαν με χρήση διαφόρων αναλογιών σιμιγδαλιού-αλεύρου αμάραντου παρατηρήθηκε γενικά αύξηση της περιεκτικότητας σε φυτικές ίνες, υψηλής ποιότητας πρωτεΐνες, λυσίνη, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, καθώς και μείωση της γλουτένης, ενώ τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων κρίθηκαν αποδεκτά για τον μέσο καταναλωτή. Σε παλαιότερη εργασία (Borneo & Aguirre, 2008) χρησιμοποιήθηκε και πάλι αλεύρο από φύλλα αμάραντου για τον εμπλουτισμό ζυμαρικών και τη σύγκριση των τελικών προϊόντων με μακαρόνια εμπλουτισμένα με χρήση φύλλων από σπανάκι. Από τα αποτελέσματα της έρευνας φάνηκε ότι τα φύλλα αμάραντου, τα οποία διαθέτουν παραπλήσια διατροφική αξία με το σπανάκι, μπορούν να αξιοποιηθούν ως μέρος ενός εμπλουτισμένου τροφίμου, καθότι η παρουσία τους δεν επηρεάζει αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του εμπλουτισμένου προϊόντος και τον βαθμό αποδοχής του από τον καταναλωτή.

Ένας άλλος τρόπος για τη βελτίωση της θρεπτικής αξίας των ζυμαρικών είναι ο εμπλουτισμός τους με φυτικές ίνες που μπορεί να πραγματοποιηθεί με απευθείας προσθήκη φυτικών ινών στο μίγμα αλεύρων προ της παρασκευής, αλλά και μέσω χρήσης αλεύρου ολικής άλεσης. Σε διάφορες μελέτες που έχουν εκπονηθεί παρατηρήθηκε ότι η προσθήκη φυτικών ινών σε τρόφιμα οδηγεί σε βελτίωση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα, μείωση της χοληστερόλης, πρόληψη των καρδιαγγειακών παθήσεων και καλύτερη λειτουργία του παχέως εντέρου κατόπιν συστηματικής κατανάλωσης (Buttriss & Stokes, 2008; Lunn & Buttriss, 2007). Σε μελέτη των Frost et al. (2003) επιχειρήθηκε η αύξηση της συγκέντρωσης διαιτητικών ινών σε ζυμαρικά έπειτα από προσθήκη ψυλλίου (psyllium). Στόχος ήταν να διερευνηθεί εάν ο εμπλουτισμός μακαρονιών με διαιτητικές ίνες βελτιώνει τη μεταγευματική απόκριση γλυκόζης και ινσουλίνης, κυρίως μέσω της μείωσης της απορρόφησης των υδατανθράκων στο λεπτό έντερο. Ωστόσο, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο εμπλουτισμός δεν επέφερε κάποια αξιοσημείωτη βελτίωση στις μετρούμενες παραμέτρους σε σχέση με το μη εμπλουτισμένο τρόφιμο.

Σε άλλη σχετική εργασία οι Krishnan et al. (2012) παρασκεύασαν μακαρόνια με προσθήκη αλεύρου γλυκοπατάτας, που αποτελεί τρόφιμο χαμηλού γλυκαιμικού

δείκτη με υψηλή περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες, και τα εμπλούτισαν με επιπλέον φυτικές ίνες προερχόμενες από διαφορετικές πηγές. Τα εμπλουτισμένα τρόφιμα που προέκυψαν είχαν ως αποτέλεσμα την αργή και σταδιακή πέψη του περιεχόμενου σε αυτά αμύλου, καθώς επίσης ένα πολύ σημαντικό ποσοστό του αμύλου παρέμεινε πρακτικά άπεπτο έπειτα από 2-ωρη προσομοίωση πέψης του τροφίμου σε in-vitro συνθήκες. Παράλληλα, η αύξηση του περιεχομένου του εμπλουτισμένου μακαρονιού από 10% σε 20% w/w φυτικών ινών οδήγησε σε μείωση του δείκτη διόγκωσης και της απώλειας στερεών του τροφίμου κατά το μαγείρεμα. Το φαινόμενο αυτό αποδόθηκε στην πιθανή δημιουργία ενός ισχυρότερου πλέγματος αμύλου-πρωτεϊνών εντός του τροφίμου στην περίπτωση του εμπλουτισμού με 20% w/w φυτικών ινών.

3.3.1 Εμπλουτισμός ζυμαρικών με αντιοξειδωτικά

Μια άλλη κατηγορία εμπλουτισμένων ζυμαρικών που έχει διερευνηθεί στη βιβλιογραφία είναι αυτά στα οποία έχει γίνει προσθήκη αντιοξειδωτικών συστατικών. Για παράδειγμα, οι Boroski et al. (2011) πρόσθεσαν αποξηραμένα φύλλα ρίγανης και καρότου στη ζύμη κατά την παρασκευή ζυμαρικών με στόχο την αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του τροφίμου. Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική αύξηση του πολυφαινολικού και αντιοξειδωτικού περιεχομένου στο εμπλουτισμένο τρόφιμο, χωρίς να διαταραχθεί η οργανοληπτική του ποιότητα και ο βαθμός αποδοχής του από τον καταναλωτή. Παράλληλα, παρατηρήθηκε σαφής βελτίωση στο λιπιδιακό περιεχόμενο του εμπλουτισμένου τροφίμου, καθώς αυξήθηκε κατά πολύ η περιεκτικότητά του σε ω-3 λιπαρά, εξαιτίας της παρουσίας των φύλλων καρότου και ρίγανης, σε σχέση με το μη εμπλουτισμένο δείγμα (70% σταρένιο αλεύρι, 30% σιμιγδάλι).

Σε άλλη εργασία οι Verardo et al. (2011) εμπλούτισαν μακαρόνια με βιοδραστικές ενώσεις χρησιμοποιώντας κλάσματα κόκκων κριθαριού, καθώς το κριθάρι αποτελεί πλούσια πηγή διαιτητικών ινών και άλλων βιοδραστικών συστατικών όπως βιταμίνη E, τοκοτριενόλες, βιταμίνες του συμπλέγματος B και φαινολικές ενώσεις. Σκοπός του εμπλουτισμού και σε αυτή την περίπτωση ήταν η αύξηση της διατροφικής αξίας των μακαρονιών με τα αποτελέσματα να δείχνουν αυξημένες συγκεντρώσεις αδιάλυτων-διαλυτών φυτικών ινών και β-γλυκανών στα εμπλουτισμένα προϊόντα. Επιπλέον, φάνηκε ότι τα εμπλουτισμένα ζυμαρικά με κριθάρι έφταναν τα επίπεδα που απαιτεί ο οργανισμός FDA για να χαρακτηριστούν καλή πηγή διαιτητικών ινών και η κατανάλωσή τους να θεωρείται ότι μπορεί να

μειώσει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων, ενώ παράλληλα παρουσίασαν αυξημένες συγκεντρώσεις φλαβονολών και αντιοξειδωτικών ουσιών.

Σε άλλη απόπειρα εμπλουτισμού ζυμαρικών που πραγματοποιήθηκε από τους Biney & Beta (2014) παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του φαινολικού και αντιοξειδωτικού περιεχομένου των εμπλουτισμένων προϊόντων έπειτα από αντικατάσταση μέρους του σιμιγδαλιού με αλεύρι από φαγόπυρο (μαύρο σιτάρι) κατά την παρασκευή της αρχικής ζύμης. Οι μετρούμενες τιμές για το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο (δοκιμή Folin-Ciocalteu) του εμπλουτισμένου προϊόντος έφτασαν να είναι έως και κατά 6 φορές υψηλότερες σε σχέση με τις αντίστοιχες για το μη εμπλουτισμένο, ενώ οι τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας (DPPH[•]) παρουσιάστηκαν έως και κατά 3 φορές μεγαλύτερες στο εμπλουτισμένο τρόφιμο. Τέλος, σε πρόσφατη έρευνα οι Seczyk et al. (2015) προσπάθησαν να αυξήσουν την αντιοξειδωτική ικανότητα σε ζυμαρικά με αντικατάσταση μέρους του σταρένιου αλεύρου στην αρχική ζύμη με σκόνη από αποξηραμένα φύλλα μαϊντανού σε ποσοστό έως 4% w/w. Για τη μέτρηση του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου χρησιμοποιήθηκε η δοκιμή Folin-Ciocalteu και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρξε αύξηση της περιεκτικότητας των πολυφαινολών στα εμπλουτισμένα ζυμαρικά έως και κατά ~70%.

4. Διάχυση συστατικών στο ρύζι και άλλα τρόφιμα

Η μελέτη φαινομένων διάχυσης, καθώς και η εκτίμηση της διαχυτότητας συστατικών σε αμυλούχα τρόφιμα και ειδικά στο ρύζι έχει επικεντρωθεί κατά τις τελευταίες δεκαετίες κυρίως στη διάχυση μορίων νερού στα τρόφιμα αυτά κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσης ή της ξήρανσής τους. Οι αναφορές που σχετίζονται με την εύρεση συντελεστών διάχυσης για άλλα μόρια εκτός του νερού είναι συγκριτικά πάρα πολύ λίγες, ενώ αντίθετα υπάρχουν αρκετές αναφορές που εστιάζουν απλά στη μελέτη φαινομένων προσρόφησης ή εκρόφησης μικροσυστατικών σε τρόφιμα και την εύρεση των αντίστοιχων κινητικών παραμέτρων π.χ. κατά τη διάρκεια υγροθερμικής επεξεργασίας τροφίμων φυτικής προέλευσης.

Η διαχυτότητα της υγρασίας στο ρύζι κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσής του με χρήση υγροθερμικής διεργασίας (εμβάπτιση ή βρασμός σε θερμό νερό) έχει φανεί ότι επηρεάζεται από τη θερμοκρασία του προσροφούμενου υγρού, καθώς και από το βαθμό στον οποίο λαμβάνει χώρα η αντίδραση ζελατινοποίησης μεταξύ των μορίων νερού και του περιεχόμενου στο ρύζι αμύλου κατά τη διάρκεια της θέρμανσης. Ειδικότερα, με αύξηση της θερμοκρασίας του νερού έως και τους 60°C έχει παρατηρηθεί γραμμική τάση αύξησης της διαχυτότητας της υγρασίας στο άμυλο των κόκκων ρυζιού, γεγονός που έχει αποδοθεί στον πολύ χαμηλό βαθμό ζελατινοποίησης σε αυτό το εύρος θερμοκρασίας (Gomi et al., 1998; Takeuchi et al., 1997). Αντίθετα, η επιτάχυνση της αντίδρασης ζελατινοποίησης με αύξηση της θερμοκρασίας πέραν των 60°C έχει φανεί ότι επιδρά αρνητικά στη διαχυτότητα του νερού στο άμυλο ρυζιού. Αυτό συμβαίνει καθότι ένα αυξανόμενο μέρος του προσροφούμενου νερού παρουσιάζει την τάση να δεσμεύεται-ακίνητοποιείται όσο αυξάνει ο βαθμός ζελατινοποίησης, με αύξηση της θερμοκρασίας, καθώς συμμετέχει στην αντίδραση νερού-αμύλου και έτσι εμφανίζει μικρότερη διαχυτότητα (Bakshi & Singh, 1980). Ωστόσο, η τελική προσροφόμενη υγρασία (ισορροπία) στο άμυλο ρυζιού έχει φανεί να παρουσιάζει συνεχή αύξηση σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία του νερού κατά την εμβάπτιση (Gomi et al., 1998).

Η αντιμετώπιση προβλημάτων που σχετίζονται με φαινόμενα διάχυσης και η εκτίμηση συντελεστών διάχυσης συστατικών για την πρόβλεψη της συμπεριφοράς τους όταν κινούνται διαμέσου άλλων υλικών γίνεται συνήθως με επιλογή ή κατάστρωση κατάλληλων μοντέλων και επίλυσή τους, προκειμένου να φανεί ο

βαθμός προσέγγισης των λαμβανόμενων αποτελεσμάτων σε σχέση με τα πειραματικά αποτελέσματα. Τα μοντέλα που έχουν κατά καιρούς εφαρμοστεί για τη μελέτη προβλημάτων διάχυσης μπορούν να καταταγούν σε διάφορες κατηγορίες οι κυριότερες εκ των οποίων είναι τα θεωρητικά, τα ημι-θεωρητικά και τα εμπειρικά μοντέλα που παρέχουν δυνατότητα εξαγωγής αποτελεσμάτων μόνο σε αριθμητική μορφή, ενώ υπάρχουν και τα αριθμητικά-υπολογιστικά μοντέλα που δίνουν παράλληλα και τη δυνατότητα προσομοίωσης του συστήματος στο οποίο λαμβάνει χώρα η διάχυση.

Τα 3 πρώτα είδη μοντέλων χρησιμοποιούνται για να προβλέψουν τα πιθανά αποτελέσματα οποιασδήποτε διαδικασίας, μελετώντας ένα σύστημα το οποίο προσεγγίζει ένα πραγματικό φαινόμενο, κάνοντας χρήση μαθηματικών εξισώσεων. Η μοντελοποίηση περιλαμβάνει διάφορα βήματα όπως την ανάπτυξη του μοντέλου, την επίλυσή του, την ερμηνεία των αποτελεσμάτων για πραγματικές καταστάσεις και τέλος τον έλεγχο των αποτελεσμάτων σε σύγκριση με την πειραματικά (εγκυρότητα). Εάν τα αποτελέσματα της μοντελοποίησης δεν συμφωνούν με την πραγματικότητα τότε χρησιμοποιούνται εναλλακτικές υποθέσεις και επαναλαμβάνονται τα βήματα.

Όσον αφορά τα θεωρητικά μοντέλα, αυτά αποσκοπούν κατά κανόνα στο να συσχετίζουν τα πειραματικά αποτελέσματα με νόμους της φυσικής. Το απλούστερο θεωρητικό μοντέλο που έχει χρησιμοποιηθεί στην πλειονότητα των προβλημάτων διάχυσης, είναι αυτό που βασίζεται στην εφαρμογή του 1^{ου} και 2^{ου} νόμου του Fick για τη μοριακή διάχυση, καθώς και τις αναλυτικές λύσεις των διαφορικών εξισώσεων που αντιστοιχούν στους νόμους του Fick για διαφορετικά γεωμετρικά σχήματα και οριακές συνθήκες με την προϋπόθεση ότι έχουν γίνει κατάλληλες παραδοχές. Ειδικότερα, με βάση τον πρώτο νόμο του Fick για τη μοριακή διάχυση (μόνιμη κατάσταση) η ροή υγρασίας π.χ. εντός των κόκκων ρυζιού κατά τη διάρκεια της εμβάπτισης σε θερμό νερό είναι ανάλογη της ενεργότητας υγρασίας, δηλαδή της διαφοράς στη συγκέντρωση του νερού σε κάθε σημείο εντός και εκτός των κόκκων, ενώ η εξίσωση που αποδίδει τον πρώτο νόμο του Fick είναι η εξής:

$$J = -D \left(\frac{\partial M}{\partial x} + \frac{\partial M}{\partial y} + \frac{\partial M}{\partial z} \right) \quad (\text{Εξίσωση 1})$$

όπου J η ροή του ρευστού που αντικατοπτρίζει την ποσότητα της ουσίας (π.χ. νερού) που διέρχεται διαμέσου μιας μικρής επιφάνειας για ένα μικρό χρονικό διάστημα, D ο

συντελεστής διάχυσης, M το περιεχόμενο-συγκέντρωση της υγρασίας και xyz οι συντεταγμένες στον χώρο.

Αντίστοιχα, κάνοντας χρήση της εξίσωσης που αντιστοιχεί στον 2^ο νόμο του Fick για τη διάχυση:

$$\frac{\partial M}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 M}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 M}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 M}{\partial z^2} \right) \quad (\text{Εξίσωση 2})$$

παρέχεται η δυνατότητα να προβλέπεται η συνεισφορά του φαινομένου της διάχυσης στη μεταβολή της υγρασίας σε συγκεκριμένα σημεία του χώρου ως συνάρτηση του χρόνου t .

Γενικά τα μοντέλα που βασίζονται στις εξισώσεις του Fick για τη διάχυση και προσπαθούν να προβλέψουν την κίνηση της υγρασίας στους κόκκους ρυζιού προϋποθέτουν ότι ο συντελεστής διάχυσης μπορεί να θεωρηθεί σταθερός, ενώ ταυτόχρονα υφίσταται και διαφορά στη συγκέντρωση της υγρασίας σε κάθε σημείο εντός και εκτός των κόκκων κατά μήκος όλων των αξόνων (xyz). Στις συνήθεις παραδοχές που γίνονται σε περιπτώσεις ανάπτυξης μοντέλων που στηρίζονται στους νόμους του Fick περιλαμβάνεται και η θεώρηση ότι το ενδοσπέρμιο του ρυζιού είναι ομογενές και ισότροπο μέσον, καθώς επίσης και το ότι η διάχυση λαμβάνει χώρα σε ισόθερμες συνθήκες. Παράλληλα, είθισται να θεωρείται ότι ο συντελεστής μεταφοράς μάζας είναι αρκετά υψηλός ώστε να εξασφαλίζεται μια σταθερή περιεκτικότητα υγρασίας στην εξωτερική επιφάνεια των κόκκων από την έναρξη έως και το πέρας της ενυδάτωσης. Επιπλέον, σε περιπτώσεις που η διάχυση μπορεί να θεωρηθεί ότι συμβαίνει κατά κύριο λόγο σε μια διεύθυνση π.χ. κατά μήκος του άξονα x (μονοδιάστατη ροή) τότε οι εξισώσεις του Fick χρησιμοποιούνται στην πιο απλοποιημένη τους μορφή απαλορίζοντας τον 2^ο και 3^ο όρο που αφορούν τη διάχυση επί των αξόνων y και z . (Perez et al., 2011; Engels et al., 1986)

Όσον αφορά την αντίδραση ζελατινοποίησης του αμύλου στο ρύζι, που η επίδρασή της σε υψηλές θερμοκρασίες δεν μπορεί να θεωρηθεί αμελητέα, υπάρχει ένας επιπλέον όρος ($-k \cdot C$), όπου k η κινητική σταθερά της αντίδρασης και C η συγκέντρωση της υγρασίας, που μπορεί να προστεθεί στο δεύτερο μέλος της εξίσωσης του 2^{ου} νόμου του Fick για να συμπεριληφθεί και η συνεισφορά της ζελατινοποίησης στο μοντέλο μεταφοράς υγρασίας στο ρύζι, ωστόσο η εξαγωγή των αναλυτικών λύσεων καθίσταται εξαιρετικά πολύπλοκη στην περίπτωση αυτή (Crank, 1975). Τέλος, όσον αφορά τη γεωμετρία των κόκκων ρυζιού που έχει επιλεγεί κατά

το παρελθόν από τους ερευνητές για την επίλυση των διαφορικών εξισώσεων του Fick και την εξαγωγή της αναλυτικής λύσης, ανάλογα με την εκάστοτε ποικιλία ρυζιού επιλεγόταν συνήθως κάθε φορά είτε η γεωμετρία της συμπαγούς σφαίρας (π.χ. για μικρόκοκκα μη αποφλοιωμένα ρύζια), είτε η γεωμετρία του κυλίνδρου πεπερασμένου (για μεσαίου μήκους) ή και απείρου μήκους (για μακρύκοκκα ρύζια). Έτσι με βάση τις αναλυτικές εξισώσεις των νόμων του Fick προέκυπταν κάθε φορά οι αναλυτικές λύσεις και οι συντελεστές διάχυσης D για διαφορετικές γεωμετρίες κόκκου. (Bello et al., 2007; Ahromit et al., 2006; Engels et al., 1986; Crank, 1975)

Για την αντιμετώπιση προβλημάτων που σχετίζονται με φαινόμενα διάχυσης έχουν καταστρωθεί κατά καιρούς και ορισμένα ημι-θεωρητικά μοντέλα, τα οποία παρέχουν τη δυνατότητα συνδυασμού της θεωρίας μαζί με την ευκολία στη χρήση του μοντέλου (Cheevitsopon & Noomhorm, 2011). Τα κυριότερα ημι-θεωρητικά μοντέλα που έχουν δοκιμαστεί για τη μελέτη της διάχυσης υγρασίας σε αμυλούχα τρόφιμα όπως αναποφλοιώτο ρύζι, μυλευμένο ρύζι, σιμιγδάλι καλαμποκιού, φασόλι, ρεβύθι και σιτάρι είναι τα μοντέλα του Lewis (εκθετικό), του Page, των Henderson και Pabis, το τροποποιημένο μοντέλο του Page και το μοντέλο των 2 εκθετικών όρων (Kashaninejad et al., 2007; Cheevitsopon & Noomhorm, 2011; Bhattacharya, 1995; Maskan, 2001). Οι εξισώσεις που αντιστοιχούν σε αυτά τα μοντέλα συνοψίζονται στον Πίνακα 6 όπου με MR συμβολίζεται η αναλογία $MR=(M-M_e)/(M_0-M_e)$, με M συμβολίζεται η υγρασία του τροφίμου για χρόνο εμβάπτισης t , M_0 είναι η αρχική υγρασία του τροφίμου, M_e η υγρασία του στην ισορροπία και k , k_1 , k_2 , a , b , n είναι σταθερές.

Πίνακας 6: Ημι-θεωρητικά μοντέλα και αντίστοιχες εξισώσεις για μελέτη φαινομένων διάχυσης.

Μοντέλο	Εξίσωση
Lewis (εκθετικό)	$MR=\exp(-k*t)$
Page	$MR=\exp(-k*t^n)$
τροποποιημένο Page	$MR=\exp(-k*t)^n$
Henderson & Pabis	$MR=a*\exp(-k*t)$
εκθετικό 2 όρων	$MR=a*\exp(-k_1*t)+b*\exp(-k_2*t)$

Εκτός των θεωρητικών ή ημι-θεωρητικών μοντέλων, έχουν χρησιμοποιηθεί κατά το παρελθόν για την προσέγγιση προβλημάτων διάχυσης και κάποια εμπειρικά μοντέλα. Το πλέον γνωστό εμπειρικό μοντέλο που έχει χρησιμοποιηθεί στη

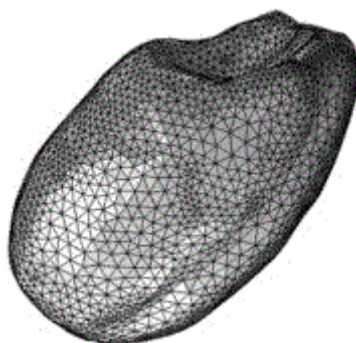
βιβλιογραφία για να περιγράψει φαινόμενα προσρόφησης υγρασίας σε φυτικά τρόφιμα είναι αυτό του Peleg (Peleg, 1988) που εκφράζεται από την εξίσωση:

$$M_t = M_0 \pm \frac{t}{(K_1 + K_2 \cdot t)} \quad (\text{Εξίσωση 3})$$

όπου M_t είναι η περιεκτικότητα υγρασίας (% σε ξηρή βάση) του τροφίμου για κάθε χρόνο εμβάπτισης t (min), M_0 το αρχικό περιεχόμενο υγρασίας του τροφίμου (% σε ξηρή βάση), K_1 είναι μια σταθερά που εξαρτάται από τη θερμοκρασία και K_2 άλλη σταθερά που καθορίζεται από τη συγκέντρωση υγρασίας στην ισορροπία. Το πρόσημο ($\pm$) μπορεί να λαμβάνεται είτε ως (+) σε περιπτώσεις διεργασιών προσρόφησης, είτε ως (-) σε περιπτώσεις εκρόφησης ή ξήρανσης. Με κατάλληλο μετασχηματισμό της παραπάνω εξίσωσης, καθώς και τη χρήση των πειραματικών αποτελεσμάτων (t , M_t) μπορούν να προκύψουν οι σταθερές K_1 , K_2 ως αποτέλεσμα και κλίση, αντιστοίχως, της βέλτιστης ευθείας της μορφής $y=b+a \cdot x$ που προκύπτει από τη μετασχηματισμένη εξίσωση με $y = t/(M_t - M_0)$, $x = t$ και $b = K_1$, $a = K_2$.

Ένας τελευταίος τρόπος προσέγγισης των προβλημάτων διάχυσης είναι η αριθμητική-υπολογιστική μοντελοποίηση που περιλαμβάνει τη χρήση ηλεκτρονικών υπολογιστών σε συνδυασμό με τα εφαρμοσμένα μαθηματικά. Ο τρόπος αυτός συμβάλλει στην καλύτερη κατανόηση και βελτιστοποίηση της διαδικασίας, γεγονός που σίγουρα εξοικονομεί χρόνο. Υπάρχουν τρεις μέθοδοι αριθμητικής-υπολογιστικής μοντελοποίησης που χρησιμοποιούνται ευρέως και είναι: οι πεπερασμένες διαφορές, τα πεπερασμένα στοιχεία και οι πεπερασμένοι όγκοι. Ωστόσο, μόνο οι δυο πρώτες χρησιμοποιούνται εκτεταμένα στο κομμάτι της μελέτης της μεταφοράς μάζας σε συστήματα. Η μέθοδος των πεπερασμένων διαφορών (finite differences) χρησιμοποιείται για επίλυση διαφορικών εξισώσεων με οριακές συνθήκες, απ' ευθείας στο σύστημα. Αντίστοιχα, η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων (finite elements) ξεκινά με διαμελισμό του φυσικού συστήματος σε τριγωνικά (2D) ή τετραεδρικά (3D) στοιχεία, τα οποία συνδέονται με κόμβους (Σχήμα 3). Οι διαφορικές εξισώσεις που καθορίζουν το σύστημα εφαρμόζονται και επιλύονται για κάθε ένα από τα παραπάνω στοιχεία, ενώ τελικά, μέσω μιας ολοκλήρωσης του πεδίου που μελετήθηκε, προκύπτει η λύση, η οποία είναι αριθμητική αλλά και απεικονιστική. Σε πολλές περιπτώσεις οι διαφορικές εξισώσεις που επιλέγονται να εισαχθούν στον ηλεκτρονικό υπολογιστή για την κατάστρωση του προβλήματος της

διάχυσης είναι αυτές που αντιστοιχούν στους νόμους του Fick για τη μοριακή διάχυση.



Σχήμα 3: Χαρακτηριστική γεωμετρία κόκκου ρυζιού (3D) για προσομοίωση διάχυσης υγρασίας κατά την ενυδάτωση με εμβάπτιση σε θερμό νερό. (Perez et al., 2011)

4.1 Μοντελοποίηση διάχυσης νερού κατά την ενυδάτωση κόκκων ρυζιού – Βιβλιογραφική ανασκόπηση

Η βιβλιογραφία που σχετίζεται με τη μοντελοποίηση διάχυσης της υγρασίας στο ρύζι μπορεί να διαχωριστεί σε δυο μεγάλες κατευθύνσεις. Η πρώτη περιλαμβάνει τους ερευνητές οι οποίοι στηρίζουν τα μοντέλα τους στον 2^ο νόμο του Fick για τη διάχυση, ενώ η δεύτερη εκείνους που χρησιμοποιούν διαφορετικές προσεγγίσεις για την ερμηνεία του φαινομένου.

4.1.1 Μοντέλα στηριζόμενα στο νόμο του Fick για τη διάχυση της υγρασίας

Οι Engels et al. (1986) προσπάθησαν να μοντελοποιήσουν τη διάχυση του νερού, κατά την ενυδάτωση κόκκων λευκού ρυζιού (σε θερμοκρασίες 30°C, 40°C και 50°C), χρησιμοποιώντας 2 διαφορετικές βασικές προσεγγίσεις και κατάλληλες οριακές συνθήκες, με βάση τις οποίες προέκυψαν 2 διαφορετικές αναλυτικές λύσεις της εξίσωσης του 2^{ου} νόμου του Fick για τη διάχυση σε έναν κύλινδρο απείρου μήκους (μονοδιάστατη ροή). Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το μοντέλο που βασίστηκε στην οριακή συνθήκη του άμεσου κορεσμού της επιφάνειας των κόκκων με νερό φάνηκε να περιγράφει ικανοποιητικά την ενυδάτωση σε όλες τις θερμοκρασίες που εξετάστηκαν, ενώ οι υπολογιζόμενες τιμές βάσει του μοντέλου αυτού παρουσίασαν υψηλή πιστότητα σε σχέση με τις πειραματικές τιμές σε αντίστοιχους χρόνους εμβάπτισης. Στη συγκεκριμένη έρευνα, ωστόσο, δε λήφθηκε υπόψη η μεταβολή των διαστάσεων των κόκκων κατά τη μεταφορά υγρασίας, ενώ

φάνηκε πως ο φαινόμενος συντελεστής διάχυσης ήταν εξαρτώμενος από την θερμοκρασία.

Το 2004 οι Bello et al. προσομοίασαν τον κόκκο του ρυζιού με μια σφαίρα και εφήρμοσαν την αναλυτική λύση του 2^{ου} νόμου του Fick για να υπολογίσουν τη μεταβολή της υγρασίας σε θερμοκρασίες μεταξύ 25°C και 65°C. Οι υποθέσεις που χρησιμοποίησαν για το μαθηματικό μοντέλο τους ήταν περίπου ίδιες με αυτές των Engels et al. (1986), δηλαδή ότι η μεταβολή του όγκου των κόκκων παραμένει αμελητέα και ότι ο κορεσμός της επιφάνειας σε νερό συμβαίνει ακαριαία όταν οι κόκκοι έρθουν σε επαφή με το μέσο ενυδάτωσης, ενώ αντίθετα με τους Engels et al. (1986) θεώρησαν ότι ο συντελεστής διάχυσης της υγρασίας είναι ίδιος τόσο για το λευκό μυλευμένο ρύζι όσο και για το καστανό. Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν, η αντίσταση στην πρόσληψη του νερού ήταν μικρότερη στους κόκκους του ρυζιού από τους οποίους είχε αφαιρεθεί ο φλοιός. Επομένως, φάνηκε ότι η διαδικασία μύλευσης αυξάνει το ρυθμό απορρόφησης της υγρασίας στο ρύζι.

Η παραπάνω μοντελοποίηση ήταν μόνο η αρχή καθώς το 2010 οι Bello et al. παρουσίασαν μια νέα εργασία στην οποία ο κόκκος του ρυζιού αναπαριστανόταν ξανά ως μια σφαίρα, η οποία όμως διογκωνόταν εξαιτίας της απορρόφησης υγρασίας σε τέσσερις διαφορετικές θερμοκρασίες, χωρίς να λαμβάνεται υπόψη η συνεισφορά της αντίδρασης ζελατινοποίησης στη διόγκωση. Στο μοντέλο αυτό εφαρμόστηκε και επιλύθηκε η εξίσωση του Fick μέσω μερικών διαφορικών εξισώσεων με τη μέθοδο των πεπερασμένων διαφορών, λαμβάνοντας παράλληλα υπόψη την εξάρτηση του συντελεστή διάχυσης από το περιεχόμενο της υγρασίας στο ρύζι. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο συντελεστής διάχυσης αυξανόταν με την αύξηση της μέσης υγρασίας στο ρύζι με το πέρασμα του χρόνου. Γενικότερα, το μοντέλο παρουσίασε καλή συμπεριφορά ως προς τα πειραματικά δεδομένα, με εξαίρεση τη θερμοκρασία των 65°C όπου η έναρξη της ζελατινοποίησης φάνηκε να αύξησε την κατακράτηση του νερού εντός του ρυζιού.

Ένα ακόμη μοντέλο στηριζόμενο στο 2^ο νόμο του Fick για τη διάχυση του νερού προσπάθησαν να δημιουργήσουν οι Ahromrit et al. (2006), οι οποίοι προσομοίασαν τον κόκκο του ρυζιού με ένα κύλινδρο πεπερασμένου μήκους και σταθερών διαστάσεων σε αντίθεση με τους Engels et al. (1986) οι οποίοι εφάρμοσαν τις εξισώσεις σε κύλινδρο απείρου μήκους. Οι ερευνητές εστίασαν στον ρόλο που έχει η υψηλή πίεση κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσης των κόκκων του ρυζιού σε

διαφορετικές θερμοκρασίες και χρονικά διαστήματα. Τα αποτελέσματα οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι ο συντελεστής διάχυσης επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, όπως είχαν υποστηρίξει και οι Engels et al. (1986), αλλά και από την ασκούμενη πίεση. Τέλος, διαπιστώθηκε ότι η συγκέντρωση ισορροπίας της υγρασίας στο ρύζι αυξάνεται και αυτή με την αύξηση της θερμοκρασίας και της πίεσης.

Τα μοντέλα που αναφέρθηκαν παραπάνω (πέραν από αυτό των Bello et al. (2010)) επιλύθηκαν μέσω αναλυτικών λύσεων της εξίσωσης του Fick. Ωστόσο, το 2009 οι Bakalis et al. ανέπτυξαν ένα μοντέλο με τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων στηριζόμενοι βέβαια, όπως και οι προηγούμενοι, στον 2^ο νόμο του Fick για τη διάχυση. Στην εργασία αυτή, τη γεωμετρία του ρυζιού αποτελούσε μια έλλειψη της οποίας οι διαστάσεις μεταβάλλονταν με το πέρασμα του χρόνου και μάλιστα αυξάνονταν γραμμικά καθώς αυξανόταν το περιεχόμενο της υγρασίας στον κόκκο. Έτσι, οι ερευνητές επεσήμαναν πως η διαδικασία μαγειρέματος είναι δύσκολο να περιγραφεί, καθώς τόσο οι φυσικές ιδιότητες όσο και η γεωμετρία των δειγμάτων είναι χρονικά εξαρτώμενες. Στη συνέχεια παρατηρήθηκε ότι η ενσωμάτωση του παράγοντα διόγκωσης των κόκκων στο μοντέλο δεν προσέφερε κάποια σημαντικά καλύτερη προσαρμογή των υπολογιζόμενων τιμών επί των πειραματικών μετρήσεων, ενώ τελικά το συμπέρασμα που προέκυψε ήταν πως το μοντέλο ήταν πιο αποτελεσματικό όταν εφαρμόστηκε μια μη γραμμική εξάρτηση μεταξύ της διαχυτότητας και της συγκέντρωσης της υγρασίας.

Μια ακόμα πιο ολοκληρωμένη προσπάθεια έγινε από τους Perez et al. (2011) όπου η διάχυση της υγρασίας προσομοιάστηκε σε ένα τρισδιάστατο μοντέλο χρησιμοποιώντας την εξίσωση του Fick και τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων. Η καινοτομία της μοντελοποίησης αυτής ήταν ότι οι ερευνητές εξέτασαν τη διαδικασία της διάχυσης σε συνδυασμό με τη διόγκωση των κόκκων σε ένα μοντέλο τριών διαστάσεων σε διαφορετικές θερμοκρασίες ενυδάτωσης. Τα αποτελέσματα, συγκρίθηκαν με εκείνα που είχαν προκύψει από την εμπειρική εξίσωση του Peleg, η οποία εφαρμόστηκε σε διδιάστατο σύστημα. Τα συμπεράσματα που διατυπώθηκαν από αυτή την προσπάθεια ήταν ότι η θερμοκρασία παίζει σημαντικό ρόλο στη μεταφορά της υγρασίας στους κόκκους, καθώς επηρεάζει το ρυθμό απορρόφησης του νερού. Ακόμη, φάνηκε πως οι υψηλές θερμοκρασίες ενυδάτωσης επηρεάζουν τη διόγκωση και την επιμήκυνση των κόκκων, χωρίς ωστόσο τα δυο τελευταία να είναι ομοιόμορφα.

4.1.2 Μοντέλα μη στηριζόμενα στο νόμο του Fick για τη διάχυση της υγρασίας

Το 1986 οι Hendrickx *et al.* εφάρμοσαν την τεχνική TLM (Transmission Line Modeling) για να μελετήσουν την ενυδάτωση των κόκκων λευκού ρυζιού σε 3 διαφορετικές θερμοκρασίες (30, 40 και 50°C). Οι ερευνητές δημιούργησαν δυο μοντέλα TLM (δύο και τριών διαστάσεων) τα οποία έδειξαν καλή συμπεριφορά ως προς τα πειραματικά τους δεδομένα. Επιπλέον, μέσα από μία ανάλυση παλινδρόμησης φάνηκε ότι οι συντελεστές διάχυσης που προσδιορίστηκαν από τα δυο μοντέλα ήταν πολύ κοντά σε σχέση με εκείνους που είχαν υπολογίσει οι Zhang *et al.* (1984), αλλά μεγαλύτεροι από αυτούς των Engels *et al.* (1986), γεγονός που αποδόθηκε στον ισχυρισμό ότι η προσέγγιση των κόκκων του ρυζιού με έναν κύλινδρο απείρου μήκους δεν μπορεί να θεωρηθεί απόλυτα ακριβής.

Οι Takeuchi *et al.* (1997) ήταν από τους πρώτους που παρατήρησαν την προσρόφηση και διάχυση του νερού προς το εσωτερικό των κόκκων του ρυζιού κατά τη διάρκεια εμβάπτισής τους σε θερμό νερό χρησιμοποιώντας μια τεχνική απεικόνισης με χρήση Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR imaging). Ειδικότερα, θεωρώντας ότι ο κόκκος του ρυζιού έχει κυλινδρικό σχήμα, ανέπτυξαν ένα απλό μαθηματικό μοντέλο για τον υπολογισμό του συντελεστή διάχυσης της υγρασίας, τον οποίο μάλιστα συσχέτισαν με το βαθμό ζελατινοποίησης του αμύλου του ρυζιού. Χρησιμοποιώντας την εμπειρική εξίσωση που είχε προκύψει από την έρευνα των Gomi *et al.* (1996), στην οποία ο συντελεστής διάχυσης D της υγρασίας στο ρύζι φαίνεται να εξαρτάται από τη θερμοκρασία και την περιεκτικότητα υγρασίας σε υγρή βάση, υπολόγισαν το συντελεστή D για διάφορες θερμοκρασίες $25^{\circ}\text{C} < T < 50^{\circ}\text{C}$, καθώς και $60^{\circ}\text{C} < T < 80^{\circ}\text{C}$. Αυτό που παρατηρήθηκε ήταν ότι κατά την εμβάπτιση του ρυζιού σε νερό θερμοκρασίας $< 50^{\circ}\text{C}$ για χρονικό διάστημα 5 ωρών το ποσοστό υγρασίας στους κόκκους δεν μπόρεσε να ξεπεράσει το 30% w/w. Αντίθετα η εμβάπτιση των κόκκων σε νερό θερμοκρασίας $> 60^{\circ}\text{C}$ επέφερε αύξηση της περιεχόμενης υγρασίας σε επίπεδα άνω του 80% w/w. Επιπλέον, φάνηκε ότι κατά τα πρώτα 50 λεπτά της εμβάπτισης, για όλες τις θερμοκρασίες που εξετάστηκαν, η αύξηση του ποσοστού υγρασίας στους κόκκους ήταν απότομη και το γεγονός αυτό αποδόθηκε στην ταχεία διάχυση, ο μηχανισμός της οποίας θεωρήθηκε ότι επικρατεί κατά τα πρώτα στάδια της ενυδάτωσης των κόκκων. Στη συνέχεια, κατά τη διάρκεια του ενδιάμεσου σταδίου της ενυδάτωσης (50-150 λεπτά) ο ρυθμός αύξησης της υγρασίας έγινε σαφώς μικρότερος και θεωρήθηκε ότι ελέγχεται από το βαθμό της

ζελατινοποίησης, η οποία λαμβάνει χώρα στις θερμοκρασίες εμβάπτισης άνω των 60°C. Οπότε στο συγκεκριμένο στάδιο η κλίση αύξησης της υγρασίας ως προς το χρόνο αποτέλεσε και μια καλή ένδειξη του ρυθμού ζελατινοποίησης του αμύλου του ρυζιού σε θερμοκρασίες >60°C. Τέλος, κατά το τελικό στάδιο της εμβάπτισης το ποσοστό ενυδάτωσης των κόκκων προσέγγισε μια ανώτατη τιμή και δεν παρουσίασε σημαντική αύξηση με το χρόνο.

Μια ακόμη ενδιαφέρουσα προσπάθεια έγινε το 2001 από τους Watanabe et al., οι οποίοι πρότειναν ένα νέο μαθηματικό μοντέλο που στηριζόταν στην έννοια της «ζήτησης» νερού WD (water demand). Το μοντέλο αυτό υποστήριζε ότι η μετανάστευση του νερού ελέγχεται από τη διαφορά που υπάρχει μεταξύ της μέγιστης ικανότητας κατακράτησης νερού στο άμυλο m_{clg} (g νερού/g στερεού) και της περιεκτικότητας υγρασίας στους κόκκους ρυζιού (m) για κάθε στιγμή του βρασμού, σύμφωνα με τις παρακάτω μαθηματικές εξισώσεις:

$$WD = m_{clg}(x) - m(x) \quad (\text{Εξίσωση 4})$$

$$\frac{\partial m}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial x} \left(D_{av} \cdot \frac{\partial WD}{\partial x} \right) \quad (\text{Εξίσωση 5})$$

Η προσέγγιση αυτή μπορεί να παραβιάζει το νόμο του Fick για τη διάχυση, ωστόσο όμως περιγράφει αποτελεσματικά τη μεταβολή στο προφίλ της υγρασίας κατά το βρασμό αμυλούχων τροφίμων, η οποία σύμφωνα με τους Watanabe et al. (2001), δεν μπορούσε να καλυφθεί από την εφαρμογή των προϋπαρχόντων μαθηματικών μοντέλων που θεωρούσαν ότι ο μηχανισμός της διάχυσης ελεγχόταν από τη μεταβολή της περιεκτικότητας υγρασίας στον κόκκο ρυζιού. Την αποτελεσματικότητα του παραπάνω μοντέλου εξακρίβωσαν και οι van der Doel et al. (2009), καθώς η προσομοίωση που έκαναν έδειξε καλή συμπεριφορά ως προς τις πειραματικές μετρήσεις που προέκυψαν από την τεχνική Απεικόνισης Μαγνητικού Συντονισμού (MRI), κατά τη διάρκεια του βρασμού.

Μια ακόμα παράμετρος που φάνηκε να επηρεάζει τη διάχυση της υγρασίας τόσο κατά τη διαδικασία της ενυδάτωσης όσο και της αφυδάτωσης ήταν η ενεργότητα του νερού (a_w). Έτσι, το 2011 οι Bhagwati et al. δημιούργησαν ένα μαθηματικό μοντέλο για να εξετάσουν το κατά πόσο η ενεργότητα νερού μπορεί να επηρεάζει τη διάχυση της υγρασίας σε ακατέργαστους κόκκους ρυζιού. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν μαθηματικά μοντέλα τα οποία επιλύθηκαν με τη μέθοδο των

πεπερασμένων στοιχείων, χρησιμοποιώντας υπολογιστικό πρόγραμμα προσομοίωσης, όπως και οι Bakalis et al. (2009) (Comsol Multiphysics). Το μοντέλο τους περιελάμβανε μια τρισδιάστατη γεωμετρία ελλειψοειδούς με διαφορετικό αλλά σταθερό μήκος αξόνων, ώστε να πετύχουν την καλύτερη γεωμετρική ομοιότητα ως προς το πραγματικό σχήμα των κόκκων ρυζιού. Τα αποτελέσματα της μοντελοποίησης έδειξαν ότι η διαχυτότητα στο ενδοσπέρμιο αυξανόταν όταν η ενεργότητα νερού κυμαινόταν στο εύρος από 0,2 έως 0,8. Ωστόσο, η διαχυτότητα στο πίτουρο φάνηκε να μην επηρεάζεται από την αύξηση της a_w σε αντίθεση με τον φλοιό όπου παρατηρήθηκε μείωση.

Δυο νέες δημοσιεύσεις από τους Perez et al. το 2012 και 2014 κατάφεραν να περιγράψουν την ομογενή και ετερογενή διάχυση της υγρασίας παράλληλα με την υγροσκοπική διόγκωση των μυλευμένων κόκκων ρυζιού. Οι ερευνητές, βελτιώνοντας το μοντέλο που είχε προταθεί σε προηγούμενη εργασία των Perez et al. (2011) επεδίωξαν να μοντελοποιήσουν τη διαδικασία προσρόφησης του νερού και πάλι με τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων με τη βοήθεια του ίδιου υπολογιστικού προγράμματος προσομοίωσης (Comsol Multiphysics). Το 2012, λοιπόν, προτάθηκε ένα μοντέλο στο οποίο ο συντελεστής διάχυσης δεν εξαρτιόταν μόνο από τη μεταβολή της θερμοκρασίας (Perez et al. 2011), αλλά και από τη μεταβολή της υγρασίας στον κόκκο του ρυζιού. Ως συνέχεια της παραπάνω προσπάθειας οι Perez et al. (2014) ανέπτυξαν ένα υπολογιστικό μοντέλο στο οποίο ο συντελεστής διάχυσης ήταν συνάρτηση όχι μόνο της θερμοκρασίας και της υγρασίας αλλά και του χρόνου ενυδάτωσης. Οι διαφορές που προέκυψαν μεταξύ των υπολογισθέντων συντελεστών διάχυσης οφείλονταν στην αρχική υπόθεση των μελετητών, καθώς αρχικά η διάχυση της υγρασίας θεωρήθηκε ομογενής, ενώ στη συνέχεια ετερογενής. Τα αποτελέσματα, ωστόσο, και των δυο δημοσιεύσεων είχαν καλή συσχέτιση με τα πειραματικά δεδομένα, όμως η τελευταία μοντελοποίηση (Perez et al., 2014) θεωρήθηκε ότι μπορούσε να περιγράψει με μεγαλύτερη ακρίβεια το φαινόμενο της διάχυσης.

Από όλα τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι η ενυδάτωση των κόκκων ρυζιού εξαρτάται από πολλές παραμέτρους, ενώ η κατανόηση του ρόλου των παραμέτρων αυτών μπορεί να βοηθήσει στην αποτελεσματική μοντελοποίηση της διαδικασίας βρασμού και της ενυδάτωσης του ρυζιού με αναλυτικά και υπολογιστικά μοντέλα. Ο νόμος του Fick για τη διάχυση υπήρξε μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την περιγραφή της διαδικασίας της διάχυσης, καθώς και την ερμηνεία της αντίστασης που

προβάλλει ο φλοιός και το πίτουρο στη μετανάστευση του νερού. Ωστόσο, οι περισσότεροι μελετητές που χρησιμοποίησαν το παραπάνω μοντέλο έκαναν την υπόθεση ότι η μεταβολή του όγκου του στερεού ήταν αμελητέα.

Πίνακας 7: Συντελεστές διάχυσης που αναφέρονται στη βιβλιογραφία από τη μοντελοποίηση της ενυδάτωσης του ρυζιού.

Συγγραφείς	Δείγμα ρυζιού	Θερμοκρασία (°C)	Συντελεστής διάχυσης (m^2s^{-1})
Engels et al. (1986)	Λευκό	30	$0,52 * 10^{-10}$
		40	$0,67 * 10^{-10}$
		50	$0,90 * 10^{-10}$
	Καστανό	30	$0,20 * 10^{-10}$
		40	$0,38 * 10^{-10}$
		50	$0,76 * 10^{-10}$
Bello et al. (2004)	Ακατέργαστο	25	$1,56 \pm 0,03 * 10^{-11}$
		45	$2,08 \pm 0,04 * 10^{-11}$
		65	$7,20 \pm 0,11 * 10^{-11}$
	Αποφλοιωμένο	25	$2,22 \pm 0,02 * 10^{-11}$
		45	$6,82 \pm 0,04 * 10^{-11}$
		65	$8,82 \pm 0,15 * 10^{-11}$
	Μυλεμένο	25	$20,5 \pm 0,18 * 10^{-11}$
		45	$23,3 \pm 0,27 * 10^{-11}$
		65	$47 \pm 0,99 * 10^{-11}$
Bakalis et al. (2009)	Προβρασμένο	100	$7,5 * 10^{-10}$
Bello et al. (2010)	Καστανό	25	$7,80 * 10^{-11}$
		45	$1,79 * 10^{-10}$
		65	$3,38 * 10^{-10}$
Perez et al. (2011)	Μυλεμένο Japonica	25	$1,85 * 10^{-10}$
		45	$2,31 * 10^{-10}$

Το μοντέλο της «ζήτησης» νερού (WD) χρησιμοποιήθηκε από ορισμένους ερευνητές για να εξηγήσει την ενυδάτωση του ρυζιού, καθώς φάνηκε να έχει καλή συσχέτιση με τα πειραματικά αποτελέσματα. Τέλος, τόσο η εξίσωση του Peleg, όσο και η εξίσωση που αντιστοιχεί στο ημι-θεωρητικό εκθετικό μοντέλο του Page φάνηκαν να περιγράφουν επαρκώς τις διαδικασίες ενυδάτωσης με εμβάπτιση και βρασμό του ρυζιού σε κάποιες περιπτώσεις (Kashaninejad et al., 2007; Cheevitsopon & Noomhorm, 2011). Στον Πίνακα 7 παρουσιάζονται συνοπτικά οι συντελεστές διάχυσης του νερού όπως προέκυψαν από την βιβλιογραφία που εξετάστηκε.

4.2 Διάχυση συστατικών σε άλλα τρόφιμα

Εκτός από τις μελέτες που αφορούν την επιφανειακή προσρόφηση και διάχυση συστατικών σε ρύζι, έχουν εκπονηθεί πολλές μελέτες που σχετίζονται με τη διάχυση ουσιών σε αμυλούχα και μη αμυλούχα τρόφιμα, καθώς και διαμέσου υλικών συσκευασίας. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η διάχυση νερού και ελαίου, από και προς την πατάτα αντίστοιχα, κατά τη διάρκεια που λαμβάνει χώρα το βαθύ τηγάνισμα. Με βάση την έρευνα των Kozempel et al., (1991) η τηγανιζόμενη πατάτα από γεωμετρική άποψη θεωρήθηκε ως λουρίδα ελάχιστου πάχους 1 cm και το μοντέλο διάχυσης της υγρασίας από το εσωτερικό της για την εύρεση του συντελεστή διάχυσης D βασίστηκε στο 2^ο νόμο του Fick για τη διάχυση. Αντίστοιχα η απορρόφηση του ελαίου τηγανίσματος από την πατάτα βρέθηκε να ακολουθεί μια κινητική μηδενικής τάξης.

Το 1996 οι Lombardi & Zaritzky προσπάθησαν να μελετήσουν το φαινόμενο της διάχυσης σε αποφλοιωμένες πατάτες με σκοπό να υπολογίσουν τον συντελεστή διάχυσης του κιτρικού και ασκορβικού οξέος, καθώς τα οξέα αυτά θα μπορούσαν να χρησιμοποιούνται ως συντηρητικά τροφίμων. Οι Lombardi & Zaritzky (1996) εμβάπτισαν τα δείγματά πατάτας σε διαλύματα που περιείχαν κιτρικό ή ασκορβικό οξύ ή μίγματα αυτών σε συγκεντρώσεις από 0,5 έως 2% w/v για διαφορετικούς χρόνους. Για καλύτερη κατανόηση της διαδικασίας διάχυσης υπέθεσαν ότι η πατάτα αποτελούνταν από ένα αδιάλυτο πλέγμα που περιείχε άμυλο, κυτταρίνη και πηκτινικές ουσίες, καθώς και μια υδατική φάση μέσω της οποίας μπορούσαν να διαχυθούν το ασκορβικό ή/και το κιτρικό οξύ. Η μεταφορά των συστατικών από την επιφάνεια στο κέντρο του τροφίμου θεωρήθηκε ότι πραγματοποιούνταν είτε μέσω ανταλλαγής ουσιών διαμέσου των κυτταρικών μεμβρανών και τοιχωμάτων, είτε από τους εξωκυττάριους χώρους. Ως προς τη μοντελοποίηση του φαινομένου οι μελετητές αντιμετώπισαν τις αποφλοιωμένες πατάτες ως σφαίρες και εφήρμοσαν τις αναλυτικές λύσεις του 2^{ου} νόμου του Fick για τη διάχυση. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το μοντέλο μπορούσε να περιγράψει ικανοποιητικά την πρόσληψη του ασκορβικού ή/και κιτρικού οξέος στα αμυλούχα δείγματα. Έτσι, λοιπόν, από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων υπολογίστηκαν οι τιμές των συντελεστών διάχυσης ($D = 4,3 \pm 0,2 * 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ για το κιτρικό οξύ και $D = 5,45 \pm 0,4 * 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ για το ασκορβικό οξύ).

Μια διαφορετική προσέγγιση ως προς την αύξηση του χρόνου συντήρησης αλλά και τη βελτίωση των θρεπτικών και λειτουργικών ιδιοτήτων των φρούτων και λαχανικών επεδίωξαν οι Rastogi & Raghavarao το 1997, οι οποίοι μελέτησαν τη μεταφορά μάζας κατά τη διάρκεια οσμωτικής αφυδάτωσης φρέσκων καρότων σε οσμωτικά διαλύματα διαφόρων συγκεντρώσεων (40–70°B) και θερμοκρασιών (30–50°C). Στην εργασία τους θεώρησαν πως όταν ένα πορώδες υλικό βυθιστεί σε συμπυκνωμένο διάλυμα υδατοδιαλυτών ουσιών πραγματοποιείται αποβολή νερού, εξαιτίας της διαφοράς στην οσμωτική πίεση μεταξύ τροφίμου και διαλύματος. Στη συνέχεια, στηρίχθηκαν στο γεγονός ότι το τρόφιμο συμπεριφέρεται ως μια ημιπερατή μεμβράνη, ενώ ταυτόχρονα θεώρησαν πως κατά τη διάρκεια του φαινομένου πραγματοποιείται διάχυση νερού από το τρόφιμο στο διάλυμα και παράλληλα διάχυση ουσιών (σουκρόζης) από το διάλυμα στο τρόφιμο. Ως προς το κομμάτι της μοντελοποίησης εφαρμόστηκαν οι εξισώσεις του 2^{ου} νόμου του Fick για τη διάχυση, οι οποίες εφαρμόστηκαν σε πλάκα απείρου μήκους. Από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από το παραπάνω μοντέλο υπολογίστηκαν οι συντελεστές διάχυσης του νερού και της σουκρόζης και φάνηκε πως οι τιμές αυτές εξαρτώνται από τη θερμοκρασία και τη συγκέντρωση του οσμωτικού διαλύματος, καθώς σε υψηλότερες θερμοκρασίες και συγκεντρώσεις η αποβολή μορίων νερού και η πρόσληψη μορίων σουκρόζης από το τρόφιμο ήταν μεγαλύτερες.

Η αποβολή νερού και η πρόσληψη υδατοδιαλυτών ουσιών κατά την οσμωτική αφυδάτωση είναι ένα πρόβλημα που απασχόλησε πολλούς ερευνητές και μελετήθηκε σε μεγάλο εύρος τροφίμων, μεταξύ των οποίων ήταν και η μπανάνα (Rastogi et al., 1997; Mercali et al., 2011), το ροδάκινο (Askar et al., 1996), ο ανανάς (Rastogi & Raghavarao, 2004), το μήλο (Lazarides et al., 1997) και το μύρτιλο (Nsonzi & Ramaswamy, 1998).

Ενδεικτικά, σε έρευνά τους οι Telis et al. (2004) προσπάθησαν να υπολογίσουν τους φαινόμενους συντελεστές διάχυσης της σακχαρόζης, του χλωριούχου νατρίου και του νερού κατά τη διάρκεια της οσμωτικής αφυδάτωσης τομάτας εντός πυκνών διαλυμάτων σακχάρου και άλατος. Αρχικά, προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις ισορροπίας των εξεταζόμενων συστατικών μετά από παραμονή των δειγμάτων στα οσμωτικά διαλύματα για χρονικό διάστημα 60 ωρών και στη συνέχεια έλαβαν χώρα πειράματα μικρότερης χρονικής διάρκειας σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, τα οποία παρείχαν πληροφορίες σχετικές με την κινητική της

απώλειας νερού και της πρόσληψης στερεών (σακχαρόζη, χλωριούχο νάτριο). Για τη μοντελοποίηση του παραπάνω πειράματος χρησιμοποιήθηκαν οι αναλυτικές λύσεις του 2^{ου} νόμου του Fick για τη διάχυση σε πλάκες απείρου μήκους. Από τα αποτελέσματα της μελέτης παρατηρήθηκε πως η μεγαλύτερη απώλεια υγρασίας είχε συμβεί κατά την επεξεργασία των δειγμάτων σε διαλύματα μεγαλύτερης πυκνότητας, ανεξάρτητα από το είδος των υδατοδιαλυτών ουσιών. Οι συντελεστές διάχυσης που υπολογίστηκαν για το νερό, το άλας και τη σακχαρόζη βρίσκονταν όλοι εντός του εύρους $3,35 \cdot 10^{-10}$ - $8,58 \cdot 10^{-10}$ m²/s. Επίσης, φάνηκε πως η διαχυτότητα του νερού ήταν μεγαλύτερη σε υψηλότερες συγκεντρώσεις χλωριούχου νατρίου, ενώ μειωνόταν με την αύξηση της συγκέντρωσης της σακχαρόζης. Όσον αφορά στην πρόσληψη άλατος παρατηρήθηκε αύξηση της διαχυτότητάς του σε διαλύματα χαμηλότερης συγκέντρωσης σε σακχαρόζη και ταυτόχρονα φάνηκε πως οι συντελεστές διάχυσης της σακχαρόζης αυξάνονται όταν μειώνεται η συγκέντρωση του άλατος σε ωσμωτικά διαλύματα. Από τα παραπάνω έγινε αντιληπτό ότι η ωσμωτική αφυδάτωση παρουσίασε χαρακτηριστικά αλληλεπίδρασης μεταξύ του άλατος και σακχαρόζης που περιέχονταν στα ωσμωτικά διαλύματα.

Σε 2 εργασίες τους το 2009 και 2010 οι Rozek et al. δοκίμασαν το κινητικό μοντέλο του Peleg, καθώς και τις εξισώσεις του Fick για τη διάχυση προκειμένου να περιγράψουν τη διαδικασία προσρόφησης σακχάρων, αλάτων, αλλά και φαινολικών ουσιών, που προέρχονταν από εκχυλίσματα σταφυλιού, σε πρότυπα τροφίμων (τζελ από αγάρ-αγάρ) κατά τη διάρκεια της ωσμωτικής τους επεξεργασίας. Αρχικά, διαπίστωσαν ότι η μεταφορά μάζας για τις μικρού μοριακού βάρους φαινολικές ουσίες από το ωσμωτικό διάλυμα προς το τρόφιμο μπορούσε να περιγραφεί ικανοποιητικά τόσο από το μοντέλο του Peleg όσο και από την εξίσωση του Fick. Επίσης, προέκυψε ότι η παρουσία σακχαρόζης στο ωσμωτικό διάλυμα δεν φάνηκε να ευνοεί τα φαινόμενα της προσρόφησης και της διάχυσης των εξεταζόμενων φαινολικών συστατικών στα πρότυπα τρόφιμα, σε αντίθεση με το άλας NaCl, του οποίου η παρουσία οδήγησε σε σημαντική αύξηση της διαχυτότητας των φαινολικών ουσιών.

Όλες οι παραπάνω μελέτες και μοντελοποιήσεις πραγματοποιήθηκαν σε φυτικά τρόφιμα, μερικά εκ των οποίων ήταν και αμυλούχα. Ωστόσο, έχουν υπάρξει και ορισμένες μελέτες διάχυσης συστατικών που σχετίζονται με ζωικής προέλευσης τρόφιμα. Για παράδειγμα, οι Wang et al. (2000) μελέτησαν τη διάχυση άλατος σε

μυϊκό ιστό σολομού ατλαντικής προέλευσης κατά το αλάτισμα. Οι συντελεστές διάχυσης του άλατος υπολογίστηκαν για τη φάση της προ-νεκρικής ακαμψίας, της νεκρικής ακαμψίας και μετά τη νεκρική ακαμψία. Η μοντελοποίηση του φαινομένου πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια των εξισώσεων του 2^{ου} νόμου του Fick για τη διάχυση και τη μέθοδο των πεπερασμένων διαφορών. Ως οριακές συνθήκες χρησιμοποιήθηκαν η αρχική συγκέντρωση άλατος στους μύες του σολομού (0,012g άλατος/g μη αλατισμένου ψαριού) και η συγκέντρωση ισορροπίας που υπολογίστηκε από την παραμονή των δειγμάτων σολομού σε διαλύματα άλατος 20% w/v για χρονικό διάστημα 48 ωρών. Τα αποτελέσματα της προσομοίωσης έδειξαν ότι η συγκέντρωση άλατος στους μύες του σολομού ήταν χαμηλότερη στη φάση πριν τη νεκρική ακαμψία σε σχέση με τις άλλες, ενώ μεγαλύτερη αύξηση στη διαχυτότητα παρατηρήθηκε στη φάση της νεκρικής ακαμψίας. Επομένως, η συγκέντρωση ισορροπίας του άλατος φάνηκε να επηρεάζει σημαντικά τη μεταφορά του άλατος στο εσωτερικό των μυών κατά τη φάση της νεκρικής ακαμψίας.

Το φαινόμενο της διάχυσης σε ένα γαλακτοκομικό τρόφιμο όπως το τυρί επεδίωξαν να μοντελοποιήσουν οι Bona et al. (2010) με τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων. Στόχος των ερευνητών ήταν η μερική αντικατάσταση του χλωριούχου νατρίου από χλωριούχο κάλιο κατά των ωρίμανση του τυριού, ώστε να προκύψει ένα τρόφιμο χαμηλότερης περιεκτικότητας σε αλάτι. Έτσι, λοιπόν, θέλησαν να δημιουργήσουν ένα μοντέλο που να μπορεί να προσεγγίσει τους συντελεστές διάχυσης των αλάτων στο τυρί. Για την κατασκευή του μοντέλου χρησιμοποιήθηκαν διαφορικές εξισώσεις, στηριζόμενες στον 2^ο νόμο του Fick, οι οποίες επιλύθηκαν με τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων. Ως προς το πειραματικό κομμάτι τα δείγματα τυριού τοποθετούνταν εντός διαλυμάτων άλμης 20% w/v (70% w/v NaCl και 30% w/v KCl) σε θερμοκρασία $10 \pm 1^\circ\text{C}$ για χρονικό διάστημα 40 ημερών. Από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων οι ερευνητές κατάφεραν να υπολογίσουν τους φαινόμενους συντελεστές διάχυσης για τα NaCl και KCl, που βρέθηκαν να είναι $2,2 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ (0,19 cm²/ημέρα) και $1,85 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ (0,16 cm²/ημέρα), αντίστοιχα. Έτσι, φάνηκε πως το παραπάνω μοντέλο μπορούσε να προσομοιάσει ικανοποιητικά την πολυσύνθετη διάχυση κατά την ωρίμανση του τυριού σε ένα σύστημα νερού – χλωριούχου νατρίου – χλωριούχου καλίου.

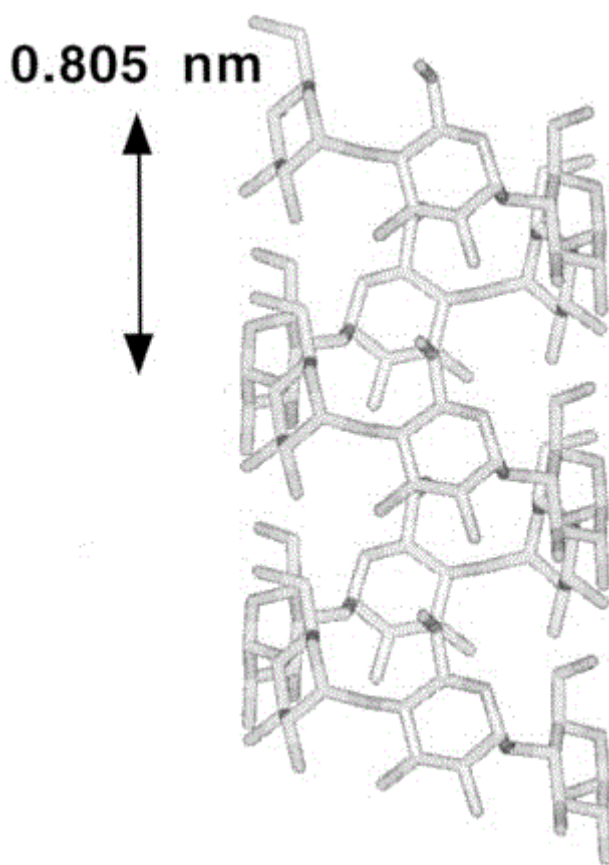
5. Αλληλεπίδραση μακροσυστατικών με άλλα μόρια

Κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού ενός τροφίμου, όπως π.χ. το λευκό ρύζι που είναι πλούσιο σε βιοπολυμερείς ουσίες (άμυλο, πρωτεΐνη), με μικροσυστατικά προερχόμενα από άλλα τρόφιμα φυτικής προέλευσης, υπάρχει πιθανότητα η προσρόφηση και η διάχυση των συστατικών στους κόκκους ρυζιού να συνοδεύεται και από χημική δέσμευσή τους ή γενικότερα την εμφάνιση διαφόρων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μακρομορίων ή και με συμμετοχή των προσροφόμενων μικροσυστατικών. Στη συνέχεια, ακολουθεί εκτενής βιβλιογραφική ανασκόπηση με σκοπό την ανάλυση των πιθανών χημικών αλληλεπιδράσεων που λαμβάνουν χώρα σε αμυλούχα τρόφιμα.

5.1 Αλληλεπιδράσεις αμύλου – λιπιδίων

Οι αλληλεπιδράσεις του αμύλου με λιπαρά μόρια έχουν μελετηθεί εκτενώς από τις αρχές της δεκαετίας του 1980 και παρουσιάζουν υψηλό ενδιαφέρον για τη βιομηχανία των τροφίμων επειδή επηρεάζουν αισθητά την υφή των τροφίμων, τις ρεολογικές τους ιδιότητες, την ευπεπτότητα, καθώς και τη σταθερότητά τους κατά την αποθήκευση. Ως γνωστόν οι κόκκοι αμύλου συνίστανται από 2 διαφορετικά μακρομόρια, που συνήθως συναντώνται σε διαφορετικές ποσοτικές αναλογίες σε κάθε είδος τροφίμου, εκ των οποίων το ένα βρίσκεται σε ευθύγραμμη μορφή (αμυλόζη) και το άλλο σε διακλαδισμένη (αμυλοπηκτίνη). Γενικά η αμυλόζη, μέσω της ελικοειδούς διαμόρφωσης που μπορεί να λάβει, έχει τη δυνατότητα να δημιουργεί σύμπλοκα εγκλεισμού με μια πληθώρα οργανικών και ανόργανων ουσιών, ενώ αντίστοιχα η αμυλοπηκτίνη είτε δημιουργεί σύμπλοκα ασθενώς συγκρατούμενα στο μόριό της, είτε δεν αλληλεπιδρά καθόλου με κάποιες ουσίες. Η αμυλόζη εκτός από την ικανότητα συμπλοκοποίησης με ουσίες όπως το ιώδιο, το υδροξείδιο του καλίου και το βρωμιούχο κάλιο, έχει δώσει και συμπλέγματα τύπου V_h αμυλόζης, τα οποία δημιουργούνται από μια αριστερόστροφη μονή έλικα που αποτελείται από 6 μόρια γλυκόζης ανά βήμα περιστροφής με την απόσταση μεταξύ 2 περιστροφών να έχει βρεθεί ότι είναι της τάξης των 0,805 nm (Σχήμα 4). Έτσι, η κοιλότητα που υφίσταται εντός του μορίου της V_h αμυλόζης (ωφέλιμη διάμετρος 4,5-5,4 Angstrom) μπορεί να υποδεχτεί κατά κύριο λόγο ουσίες που διαθέτουν ευθύγραμμη αλυσίδα όπως π.χ.

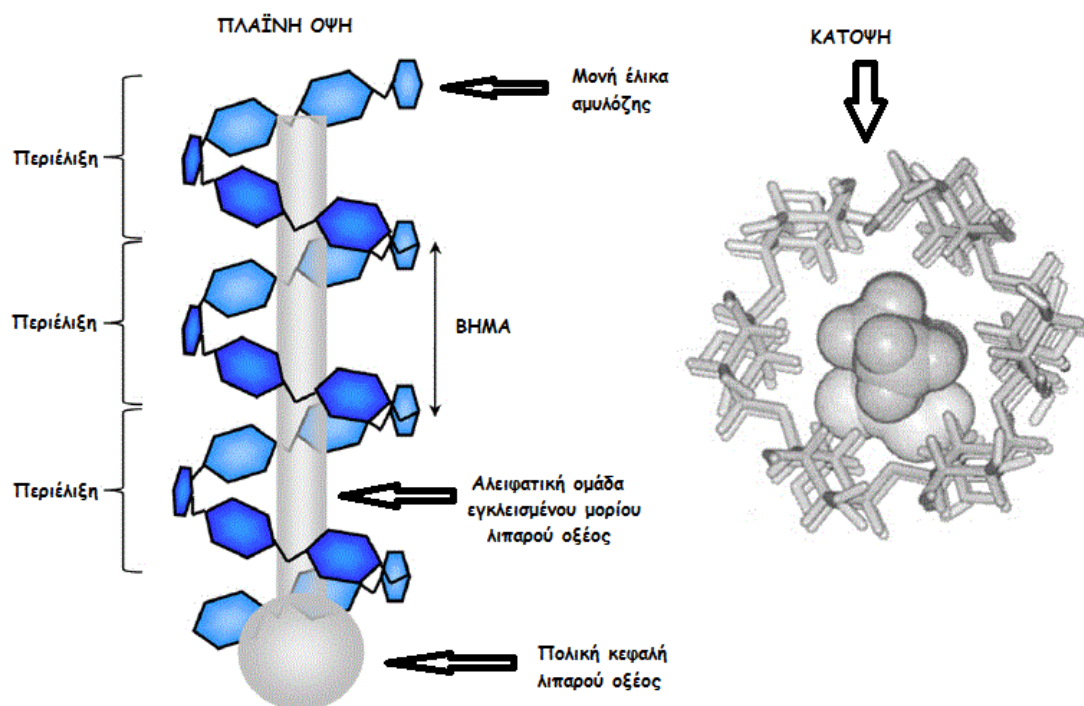
λιπαρά οξέα, μονογλυκερίδια, κ.α. (Buleon et al., 1998; Morrison et al., 1993; Nuessli et al., 2003; Putseys et al., 2010)



Σχήμα 4: Ελικοειδής διαμόρφωση αμυλόζης (μονή έλικά). Το βήμα της έλικας έχει υπολογιστεί κατά προσέγγιση στα 0,805 nm. (Buleon et al., 1998)

Με βάση έρευνες που έχουν γίνει κατά το παρελθόν από τους Godet et al. (1993 & 1995), οι οποίοι χρησιμοποίησαν φασματοσκοπία ^{13}C NMR, φάνηκε ότι οι πολικές καρβοξυλομάδες και οι ομάδες γλυκερόλης των λιπαρών οξέων και των μονο-ακυλο-γλυκερολών αντίστοιχα παρέμεναν σε κίνηση παρουσία νερού και αμυλόζης και δεν εισέρχονταν στην υδρόφοβη κοιλότητά της (Σχήμα 5). Αυτό θεωρήθηκε ότι συμβαίνει είτε λόγω του μεγάλου μεγέθους των συγκεκριμένων ομάδων, είτε λόγω ηλεκτροστατικής άπωσης. Έτσι, η είσοδος μορίων λιπαρών οξέων στην έλικά της αμυλόζης περιορίζεται σε έως 2 μόρια, των οποίων οι καρβοξυλομάδες αναγκαστικά προεξέχουν στην αρχή και το τέλος της κάθε μονής έλικας. Αντίθετα, οι επιμήκεις αλειφατικές ομάδες, που έχουν μικρότερη διάμετρο από τις πολικές κεφαλές των μορίων, μπορούν να ταιριάξουν απόλυτα και να

εγκλειστούν εντός του μορίου της V-αμυλόζης. Τέλος, η δομή του συμπλόκου που προκύπτει σταθεροποιείται ακόμα περισσότερο με την ανάπτυξη δεσμών H και ασθενών δυνάμεων Van der Waals μεταξύ των περιελίξεων της έλικας της αμυλόζης. (Nimz et al., 2004)



Σχήμα 5: Σχηματική απεικόνιση εγκλεισμένου μορίου λιπαρού οξέος στην υδρόφοβη κοιλότητα της V_h αμυλόζης. (Buleon et al., 1998; Putseys et al., 2010)

Κατά κανόνα τα σύμπλοκα αμυλόζης – λιπιδίων δεν υφίστανται εξαρχής στο άμυλο που περιέχουν τα φυτικά τρόφιμα, αλλά μπορούν να εμφανιστούν έπειτα από κατεργασία του αμύλου παρουσία επαρκούς υγρασίας και θερμότητας. Συνήθως δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της ζελατινοποίησης αμύλου σε τρόφιμο που είτε περιέχει φυσικώς ποσότητα λιπιδίων, είτε γίνεται προσθήκη λιπαρών μορίων σε άμυλο, που έχει προηγουμένως απαλλαγεί από πιθανές προσμίξεις λιπαρών ουσιών. Η δημιουργία συμπλόκων αμυλόζης με λιπαρά μόρια επηρεάζει κάποιες από τις ιδιότητες του αμύλου. Ειδικότερα, η διαλυτότητα και η διόγκωση του μορίου της αμυλόζης ελαττώνονται, ενώ παράλληλα παρατηρείται αύξηση της θερμοκρασίας που λαμβάνει χώρα η ζελατινοποίηση και παρεμπόδιση της διαφυγής της αμυλόζης από το εσωτερικό των αμυλοκόκκων. Αντίθετα η απολίπανση του αμύλου έχει βρεθεί ότι αυξάνει τη διαλυτότητα και τη διόγκωση των μορίων του κατά τη διάρκεια της

ζελατινοποίησης, καθώς δεν υπάρχει η δυνατότητα δημιουργίας συμπλόκων αμυλόζης – λιπιδίων. (Morrison et al., 1993; Biliaderis et al., 1985; Eliasson et al., 1981)

Μια από τις σημαντικότερες εφαρμογές των συμπλόκων αμυλόζης - λιπιδίων στην τεχνολογία τροφίμων είναι η χρήση λιπαρών οξέων και μονογλυκεριδίων κατά το ψήσιμο του ψωμιού και των μπισκότων. Γενικά, οι παραπάνω λιπαρές ουσίες είναι πολικές και η προσθήκη τους σε αμυλούχα συστήματα μπορεί να επιφέρει βελτίωση των ρεολογικών ιδιοτήτων, μεγαλύτερη σταθερότητα της δομής του τροφίμου κατά τις διαδικασίες ψύξης – απόψυξης και καθυστέρηση ή αναστολή του φαινομένου ανακρυστάλλωσης του αμύλου. Η ενσωμάτωση τέτοιων λιπαρών ουσιών στη ζύμη του ψωμιού έχει παρατηρηθεί ότι καθυστερεί την ανακρυστάλλωση της αμυλοπηκτικής και κατ' επέκταση το μαγιαγιάτεμα (staling) του προϊόντος. (Godet et al., 1995)

Οι θερμικές ιδιότητες των συμπλόκων αμυλόζης – λιπιδίων, καθώς και η κρυσταλλικότητα της δομής τους, έχουν μελετηθεί κατά το παρελθόν με τεχνικές διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC) και περίθλασης ακτίνων X (XRD), ενώ έχει βρεθεί ότι σχετίζονται με το μήκος της αλυσίδας της αμυλόζης και του λιπαρού μορίου, αλλά και με το βαθμό ακορεστότητας της λιπαρής ουσίας. Ειδικότερα, από μετρήσεις που έχουν γίνει με διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης έχει φανεί ότι δεν είναι δυνατό να προσδιοριστεί η αρχική κατανομή των κρυστάλλων του συμπλόκου και η μορφολογία τους. Επιπλέον, για να προκύψουν διακριτά σημεία τήξης και ανακρυστάλλωσης των συμπλόκων αμυλόζης - λιπιδίων στο όργανο DSC είναι απαραίτητη η παρουσία μιας ελάχιστης ποσότητας υγρασίας στο δείγμα, καθώς και ενός ελάχιστου ρυθμού θέρμανσης του δείγματος. Από συσχετίσεις των αποτελεσμάτων που έχουν προκύψει από χρήση των οργάνων XRD και DSC σε σύμπλοκα αμυλόζης - λιπιδίων έχουν βρεθεί 2 διαφορετικοί τύποι κρυστάλλωσης που συναντώνται. Ο τύπος I που εμφανίζει χαμηλό σημείο τήξεως και ο τύπος II που εμφανίζει υψηλό σημείο τήξης. Πιο συγκεκριμένα ο τύπος I δείχνει να είναι σε άμορφη κατάσταση και το υλικό υφίσταται ανακρυστάλλωση όταν θερμαίνεται, ενώ ο τύπος II φαίνεται να αντιστοιχεί σε κρυσταλλικό υλικό. Οι Biliaderis & Galloway (1989) εντόπισαν τους 2 παραπάνω τύπους δομών σε σύμπλοκα αμυλόζης με μονοστεατική γλυκερόλη κάνοντας χρήση τεχνικών XRD και DSC, ενώ θεώρησαν ότι πρόκειται για 2 θερμοδυναμικά διακριτές, μετασταθείς φάσεις που ξεχωρίζουν

λόγω της διαφορετικής εσωτερικής τους ενέργειας, της διαφορετικής εντροπίας και της δημιουργίας τους σε διαφορετικά εύρη θερμοκρασιών. (Biliaderis et al., 1986a&b; Eliasson & Krog, 1985; Raphaelides & Karkalas, 1988; Biliaderis & Galloway, 1989)

5.2 Αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνικών μορίων με άμυλο και πολυφαινόλες

Κατά το παρελθόν έχουν γίνει πολλές μελέτες που σχετίζονται με την επιβεβαίωση της ύπαρξης αλληλεπιδράσεων μεταξύ πρωτεϊνών και αμύλου. Για παράδειγμα οι Barlow et al. (1973) ήταν από τους πρώτους που ασχολήθηκαν με το συγκεκριμένο θέμα, αφού παρατήρησαν τη προσκόλληση πρωτεϊνικών μορίων σε κόκκους αμύλου, που περιέχονται σε άλευρο σίτου, χρησιμοποιώντας διαφορετικού τύπου μικροσκοπία. Επίσης, οι Thorne et al. (1983) θεώρησαν ότι είναι δυνατή η ύπαρξη συμπλόκου μεταξύ πρωτεΐνης (γλουτένης) – αμύλου σε ψωμί, το οποίο προκαλεί καθυστέρηση στην πέψη του ψωμιού, καθώς και μείωση του γλυκαιμικού του δείκτη σε σχέση με το αντίστοιχο που δεν περιέχει γλουτένη. Οι λεπτές ίνες της γλουτένης προσκολλώνται στους κόκκους αμύλου, οι οποίοι είναι κατανεμημένοι εντός του πρωτεϊνικού πλέγματος του ψωμιού και οι αλληλεπιδράσεις που δημιουργούνται μπορούν να επηρεάσουν τις ρεολογικές ιδιότητες του ζυμαριού. Ειδικότερα, υπάρχουν ενδείξεις ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αμύλου – πρωτεϊνών στη ζύμη του ψωμιού μεγιστοποιούνται όταν η διάρκεια ανάμιξης των συστατικών είναι η βέλτιστη, ενώ μόλις ξεπεραστεί η συγκεκριμένη διάρκεια αρχίζουν να εξασθενούν. (Hamer & Hosene, 1998; Bruun, 2006)

Όσον αφορά στο ρύζι, υπάρχει και σε αυτό δυνατότητα συμπλοκοποίησης μεταξύ των περιεχόμενων πρωτεϊνών και του αμύλου του. Για παράδειγμα, σε έρευνα του Chrastil (1990) φάνηκε ότι η κύρια πρωτεΐνη του ρυζιού (γλουτελίνη ρυζιού ή ορυζενίνη) προσροφάται στο άμυλο και κατά κύριο λόγο στην αμυλόζη του ρυζιού. Κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος οι επιφανειακές στοιβάδες του ρυζιού, καθώς και οι αμυλόκοκκοι διαρρηγνύονται με αποτέλεσμα τα συστατικά να διαρρέουν από το εσωτερικό των κόκκων προς το υγρό του βρασμού. Με αυτόν τον τρόπο δίνεται η δυνατότητα αλληλεπίδρασης μεταξύ αμυλοκόκκων και πρωτεϊνικών μορίων τόσο κατά τη διάρκεια του βρασμού όσο και της ψύξης του ρυζιού. Μάλιστα έχει φανεί ότι η συμπλοκοποίηση της ορυζενίνης με το άμυλο του ρυζιού σχετίζεται άμεσα και με την κολλητικότητα που εμφανίζουν οι μαγειρεμένοι κόκκοι μεταξύ τους. Όσο

περισσότερα μόρια πρωτεΐνης δεσμεύονται στο άμυλο, τόσο αυξάνεται η συγκολλητικότητα των κόκκων του ρυζιού. (Chrastil, 1990)

Ένα άλλο είδος αλληλεπιδράσεων που έχει μελετηθεί κατά τις τελευταίες δεκαετίες είναι αυτές που αναπτύσσονται μεταξύ πρωτεϊνικών μορίων και πολυφαινολικών συστατικών. Γενικά, οι πολυφαινόλες διαθέτουν συνήθως έναν μεγάλο αριθμό διακλαδώσεων ή και υδροξυλομάδων στα μόρια τους και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να ευνοείται η επισύναψη δεσμών σε περισσότερα από ένα σημεία τους με τις πρωτεϊνικές επιφάνειες. Μάλιστα η ικανότητα δέσμευσης μεγαλώνει όσο περισσότερη ευκαμψία παρουσιάζουν τα αντίστοιχα μόρια πολυφαινολών και πρωτεϊνών που εμπλέκονται, ενώ έχει παρατηρηθεί ότι όταν οι πρωτεΐνες είναι πλούσιες στο αμινοξύ προλίνη, υπάρχει ισχυρή έλξη του μορίου τους με τις πολυφαινόλες. Επιπλέον, οι υδατοδιαλυτές πολυφαινόλες (π.χ. κατεχίνες) εμφανίζουν μια σαφώς μειωμένη έλξη προς τις πρωτεΐνες σε σχέση με εκείνες που είναι λιγότερο υδατοδιαλυτές, όπως π.χ. η κερκετίνη. (Rice-Evans et al., 1996; Ivanov et al., 2001; Kroll & Rawel, 2001)

Συνοψίζοντας την υπάρχουσα βιβλιογραφία, έχει βρεθεί ότι οι πολυφαινόλες μπορούν να αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες μέσω δεσμών υδρογόνου, καθώς και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Αρκετά φαινολικά αντιοξειδωτικά έχει αποδειχθεί ότι δεσμεύονται σε πρωτεΐνες βοδινού κρέατος, ενώ και τα φαινολικά συστατικά του πράσινου τσαγιού, που χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα σε τρόφιμα πλούσια σε πρωτεΐνες, εμφανίζουν αλληλεπίδραση με αυτές. Όσον αφορά τις πρωτεΐνες του ορού γάλακτος έχει φανεί ότι συμμετέχουν σε αντιδράσεις με φαινόλες σε περιβάλλον με pH 9 (Wang & Goodman, 1999; Arts et al., 2002; Kroll & Rawel, 2001). Επίσης, από *in vivo* μελέτη των Ivanov et al. (2001) έγινε γνωστό ότι τα φαινολικά αντιοξειδωτικά του κόκκινου κρασιού δεσμεύονται στις λιποπρωτεΐνες του ανθρώπινου σώματος και τις προστατεύουν από την οξείδωση. Τέλος, όσον αφορά τις πρωτεΐνες που περιέχονται στο ρύζι, έχει θεωρηθεί σε μελέτη των Han et al. (2012) ότι έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν ταννίνες, οι οποίες αποτελούν συστατικά χυμού λωτού, με αποτέλεσμα να μεταβάλλονται οι ρεολογικές ιδιότητες ρυζάλευρου, το οποίο εμπλουτίστηκε με χυμό λωτού.

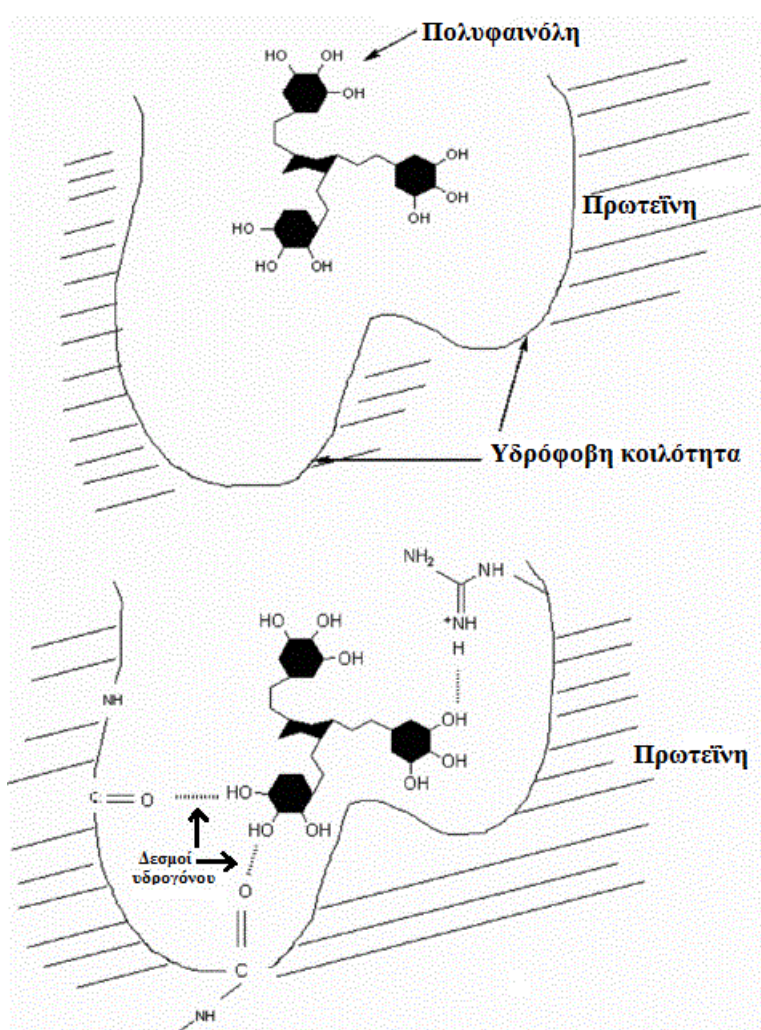
Σε άλλες έρευνες που έγιναν σχετικά με τον γαλλικό εστέρα επιγαλλοκατεχίνης φάνηκε ότι μπορεί να δεσμευτεί τόσο σε πρωτεΐνες που προέρχονται από το γάλα, όσο και στην α -αμυλάση μέσω δεσμών H και υδρόφοβων

αλληλεπιδράσεων, οι οποίες μάλιστα προκαλούν και σοβαρή μείωση της δραστηριότητας του ενζύμου (Almajano et al., 2007; Lee et al., 2011). Ειδικότερα, η μείωση της δραστηριότητάς της α-αμυλάσης παρουσία φαινολικών συστατικών εξαρτάται από τη συγκέντρωση των πολυφαινολών, την τάξη και τη δομή τους, δηλαδή για παράδειγμα τον αριθμό και τη θέση των υδροξυλομάδων που περιέχουν. Ειδικά τα φαινολικά οξέα έχουν τη δυνατότητα να προσκολλώνται στις ενεργές θέσεις των ενζύμων ή ακόμα και σε δευτερεύουσες ελεύθερες θέσεις που περιέχονται στα σύμπλοκα των ενζύμων με υποστρώματά τους. Οι Kandil et al. (2012) διεπίστωσαν μάλιστα ότι η διεργασία του βρασμού ευνοεί την αλληλεπίδραση μεταξύ φαινολικών οξέων και α-αμυλάσης.

Οι Sivam et al. σε 3 εργασίες τους (2010, 2012, 2013a) ασχολήθηκαν επισταμένα με την ερμηνεία των αλληλεπιδράσεων που εμφανίζονται μεταξύ πολυφαινολικών αντιοξειδωτικών και πρωτεϊνικών μορίων που περιέχονται στο ψωμί. Αρχικά σημείωσαν ότι η συμπλοκοποίηση των φαινολικών με τις πρωτεΐνες στο άλευρο σίτου μπορεί να συμβεί αντιστρεπτά μέσω δεσμών H μεταξύ των υδροξυλομάδων των φαινολών και των καρβονυλομάδων που περιλαμβάνονται στα πεπτίδια των πρωτεϊνών. Στη συνέχεια τα σύμπλοκα που προκύπτουν σταθεροποιούνται και με τη βοήθεια άλλων δεσμών, όπως π.χ. ετεροπολικών που μπορούν να εμφανιστούν μεταξύ του φαινολικού μορίου και του κατιοντικού ή ανιοντικού τμήματος του πρωτεϊνικού μορίου. Όσον αφορά στις υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις, με τις οποίες η πολυφαινόλη μπορεί να προσκολλάται στην επιφάνεια της πρωτεΐνης ή να δημιουργεί σταυροδεσμούς με διάφορες πρωτεΐνες, μπορούν και αυτές να οδηγήσουν σε δημιουργία συμπλόκου. Για παράδειγμα, στο Σχήμα 6 απεικονίζεται ένα είδος υδρόφοβης αλληλεπίδρασης μεταξύ του αρωματικού δακτυλίου ταννινών και της υδρόφοβης περιοχής (κοιλότητας) πρωτεΐνης. Η έλξη που αναπτύσσεται μεταξύ των ενώσεων ουσιαστικά εξαρτάται από το MB, την ευκαμψία της δομής και τη διαλυτότητα των πολυφαινολών στο νερό. (Renard et al., 2001; Sivam et al., 2010)

Στην μελέτη τους το 2012 οι Sivam et al. παρατήρησαν ότι η προσθήκη πολυφαινολών στο ψωμί και η αλληλεπίδρασή τους με τις πρωτεΐνες διαμέσου δεσμών H προκάλεσε την αύξηση της εκχυλισιμότητας των πρωτεϊνών. Θεώρησαν λοιπόν ότι οι πολυφαινόλες, σε συνδυασμό με την προσθήκη πηκτίνης, επηρέασαν τη διαμόρφωση και τη σταθερότητα των δισουλφιδικών δεσμών στις πρωτεΐνες κατά το

ψήσιμο του ψωμιού. Ειδικότερα, οι σταυροδεσμοί εντός του πρωτεϊνικού πλέγματος του ψωμιού θεωρήθηκε ότι είτε αποδυναμώθηκαν με αποτέλεσμα να διαλυτοποιηθούν οι πρωτεΐνες, είτε οι πολυφαινόλες συμπλοκοποιήθηκαν απευθείας με τις πρωτεΐνες προκαλώντας έτσι μια μείωση στη δημιουργία σταυροδεσμών μέσω δισουλφιδικών δεσμών κατά τη διάρκεια του ψησίματος του ψωμιού.



Σχήμα 6: Απεικόνιση συμπλόκου πολυφαινόλης – πρωτεΐνης. Τοποθέτηση πολυφαινόλης εντός της υδρόφοβης κοιλότητας και δέσμευσή της από το πρωτεϊνικό μόριο με δεσμούς H. (Sivam et al., 2010)

5.3 Μελέτη πιθανών αλληλεπιδράσεων αμύλου με πολυφαινόλες

Με βάση την έως σήμερα βιβλιογραφία έχει φανεί ότι μεταξύ πολυφαινολών και πολυσακχαριτών υπάρχει η δυνατότητα σχηματισμού συμπλόκων με μηχανισμούς που μοιάζουν να είναι όμοιοι με αυτούς που δημιουργούνται τα

σύμπλοκα πολυφαινολών-πρωτεϊνών. Ειδικότερα, στην προσρόφηση των πολυφαινολών από σάκχαρα, όπως το άμυλο, φαίνεται να παίζει ρόλο η δημιουργία δεσμών υδρογόνου, καθώς και η ύπαρξη υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές ευνοούνται από την ύπαρξη υδρόφοβων κοιλοτήτων, όπως συμβαίνει για παράδειγμα με το μόριο της β-κυκλοδεξτρίνης, στην κοιλότητα της οποίας μπορούν να ενθυλακώνονται συστατικά με κατάλληλη γεωμετρική δομή που περιέχουν υδρόφοβες ομάδες. Η έλξη που υπάρχει για κάθε πολυφαινόλη από το μόριο του πολυσακχαρίτη εξαρτάται κυρίως από το μοριακό της βάρος και την ευκαμψία της δομής της. Επιπλέον, σημαντικό ρόλο παίζει η μορφή και η φάση στην οποία βρίσκεται ο πολυσακχαρίτης. Για παράδειγμα έχει βρεθεί ότι πολυφαινόλες μπορούν να δεσμευτούν σε πηκτή δεξτράνης, ωστόσο καμία χημική αλληλεπίδραση δεν παρατηρείται όταν έρθουν σε επαφή με ολιγομερή δεξτράνης και γενικά μικρού μήκους πολυμερή. (Renard et al., 2001)

Οι Deshpande and Salunkhe (1982) ήταν από τους πρώτους που μελέτησαν την πιθανή αλληλεπίδραση μεταξύ πολυφαινολών (ταννινών) με διαφορετικές μορφές αμύλου, που προέρχονταν από όσπρια και πατάτες, καθώς και με τα κύρια συστατικά του αμύλου στην καθαρή τους μορφή (αμυλόζη και αμυλοπηκτίνη), χρησιμοποιώντας μια φωτομετρική μέθοδο. Τα αποτελέσματα έδειξαν μεγαλύτερη απόδοση στη σύζευξη των ταννινών (τονικού οξέος και κατεχίνης) με την άμορφη αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη σε σχέση με τις αντίστοιχες συμπαγείς, κρυσταλλικές μορφές του αμύλου στα όσπρια και τις πατάτες. Επιπλέον, η θέρμανση των διαλυμάτων αμύλου – ταννινών κοντά στο σημείο βρασμού του νερού (95°C) έδειξε στις περισσότερες περιπτώσεις χαμηλότερους βαθμούς σύζευξης μεταξύ τους σε σχέση με την παρασκευή των συμπλόκων σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Αντίστοιχα αποτελέσματα έδειξε και η μελέτη της ευπεπτότητας των παραπάνω τύπων αμύλου ύστερα από την ανάμιξή τους με ταννίνες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και έπειτα από θέρμανση στους 95°C. Ειδικότερα, η ευπεπτότητα του αμύλου στην πρώτη περίπτωση (ανάμιξη στους 21°C) παρουσίασε μείωση κατά μέσον όρο της τάξης του 12% σε σχέση με τις καθαρές μορφές αμύλου, ενώ στην περίπτωση της θέρμανσης, παρουσία των ταννινών, υπήρξε μείωση της ευπεπτότητας μόνο κατά 7-8%. Το γεγονός αυτό προδίδει ότι ίσως η θέρμανση οδήγησε σε ελάττωση του βαθμού σύζευξης των πολυφαινολών με τους διάφορους τύπους αμύλου, με αποτέλεσμα να

ασκούν μικρότερη επίδραση στο βαθμό πέψης του αμύλου, παρουσία της α-αμυλάσης.

Σε άλλη έρευνα οι Renard et al. (2001) μελέτησαν τη σύζευξη που υπάρχει μεταξύ του κυτταρικού τοιχώματος μήλου, του οποίου το υλικό είναι πορώδες και περιέχει πολυσακχαρίτες, και των προκυανιδινών που περιέχονται στο φρούτο. Η συγκεκριμένη έρευνα έδειξε ότι οι προκυανιδίνες συνδέονται χημικά σε μεγάλο βαθμό με το κυτταρικό τοίχωμα του μήλου, ο οποίος είναι ανάλογος με το μοριακό τους βάρος. Όσο μεγαλύτερο είναι το MB τους, τόσο ισχυρότερη είναι η έλξη και οι δεσμοί τους που αναπτύσσονται με το κυτταρικό τοίχωμα, ενώ παράλληλα είναι πιο δύσκολη η εκρόφιση τους από το κυτταρικό τοίχωμα ύστερα από έκπλυση με νερό. Επιπλέον, η σύζευξη φάνηκε να γίνεται μέσω ασθενών δεσμών H και πιθανών υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων.

Οι Zhu et al. (2008 & 2009) σε 2 εργασίες τους παρατήρησαν την επίδραση φαινολικών συστατικών στις ιδιότητες του αμύλου σίτου. Γενικά, το άμυλο του σιταριού αποτελεί συστατικό που συναντάται σε μια πληθώρα τροφίμων. Υπό την επίδραση θέρμανσης και παρουσία νερού το άμυλο αρχίζει να ζελατινοποιείται, οπότε η αμυλόζη από το εσωτερικό των κόκκων αρχίζει να διαχέεται προς το εξωτερικό και οι κόκκοι του αμύλου διογκώνονται. Καθώς το φαινόμενο εξελίσσεται κάποια χρονική στιγμή επέρχεται διάρρηξη του κόκκου με αποτέλεσμα να συμβαίνει απότομη μείωση του ιξώδους στο διάλυμα του αμύλου. Αντίστροφα, όταν η πάστα του ζελατινοποιημένου αμύλου ψυχθεί, τότε ξεκινά το φαινόμενο της ανακρυστάλλωσης των κόκκων. Τα μόρια της αμυλόζης, που είχαν διαχυθεί εκτός των κόκκων κατά τη θέρμανση, αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και επαναδιατάσσονται σχηματίζοντας έτσι ένα τρισδιάστατο πλέγμα, ενώ η αμυλοπηκτίνη αρχίζει να επανακρυσταλλώνεται. Τόσο η ζελατινοποίηση όσο και η διαδικασία ανακρυστάλλωσης του αμύλου σίτου επηρεάζονται από τη σύσταση, τη δομή του αμύλου και το περιβάλλον στο οποίο λαμβάνουν χώρα οι διεργασίες, δηλαδή την ενεργότητα νερού (A_w), το pH, τη θερμοκρασία άλλα και την παρουσία πρόσθετων ουσιών.

Αρχικά οι Zhu et al. (2008) διερεύνησαν την επίδραση στις ρεολογικές ιδιότητες αμύλου σίτου που εμπλουτίστηκε με 25 διαφορετικές πολυφαινόλες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι περισσότερο από το 80% των πολυφαινολών που χρησιμοποιήθηκαν επέφερε αύξηση στο ιξώδες της πάστας και παράλληλα η

συντριπτική πλειοψηφία αυτών επέφερε μείωση στο pH του αρχικού δείγματος αμύλου (control). Οι μεταβολές που παρατηρήθηκαν στη ρεολογική συμπεριφορά της πάστας αποδόθηκαν τόσο στη μεταβολή του pH, όσο και στις επιδράσεις που οφείλονται στη δομή της κάθε πολυφαινόλης και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της, όπως π.χ. το είδος της κύριας μονάδας της (π.χ. βενζοϊκό οξύ, κινναμωμικό οξύ, διφαινυλοπροπάνιο), την ποσότητα, το είδος και τη θέση των λειτουργικών της ομάδων, όπως των μεθόξυ- και υδρόξυ-ομάδων, το μήκος της αλυσίδας της, το μοριακό βάρος της κ.λ.π. Οι παραπάνω λειτουργικές ομάδες θεωρήθηκαν ότι μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τις υδρόφοβες περιοχές της αμυλόζης και τις πλευρικές ομάδες της αμυλοπηκτίνης μέσω δημιουργίας δεσμών υδρογόνου ή ανάπτυξης δυνάμεων van der Waals. Με τον τρόπο αυτό μεταβάλλονται οι ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των κρυσταλλιτών και του άμορφου υποστρώματος του αμύλου συμβάλλοντας έτσι στην αύξηση του ιξώδους της πάστας του αμύλου (Cardoso et al., 2007; Funami et al., 2005).

Όσον αφορά στο φαινόμενο της ζελατινοποίησης, είναι γνωστό από παλαιότερες μελέτες ότι επηρεάζεται από την περιεκτικότητα της υγρασίας που υπάρχει στο δείγμα αμύλου (Zeleznek and Hoseneey, 1986). Στη συγκεκριμένη εργασία των Zhu et al. (2008) θεωρήθηκε ότι κατά τη διάρκεια της ζελατινοποίησης υπάρχει ανταγωνισμός μεταξύ των μορίων της πολυφαινόλης και του αμύλου ως προς τη δέσμευση μορίων νερού, καθώς οι πολυφαινόλες παρουσιάζουν τάση δημιουργίας της ένυδρης μορφής τους (Gunaratne et al., 2007). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μειώνονται τα διαθέσιμα μόρια νερού για τη ζελατινοποίηση του αμύλου, να αλλάζει η ιοντική ισχύς του υδατικού διαλύματος και κατ' επέκταση να αλλάζουν οι λειτουργικές ιδιότητες του αμύλου κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσης των κόκκων του (Zhu et al., 2009). Επίσης, έχει αναφερθεί σε παλαιότερη μελέτη ότι η μεταβολή του pH, η οποία λαμβάνει χώρα και έπειτα από την προσθήκη των πολυφαινολών, επηρεάζει σημαντικά τη διαδικασία και τις παραμέτρους που σχετίζονται με τη ζελατινοποίηση του αμύλου (Bao and Corke, 2002).

Οι Zhu et al. (2008 & 2009) διερεύνησαν και το φαινόμενο της ανακρυστάλλωσης των κόκκων του αμύλου που είχαν εμπλουτιστεί με πολυφαινολικά συστατικά, το οποίο εμφανίστηκε κατά την ψύξη των δειγμάτων έπειτα από τη ζελατινοποίηση. Από μετρήσεις που έγιναν ως προς την υφή των δειγμάτων κατά τη διάρκεια της ανακρυστάλλωσης, φάνηκε ότι ο βαθμός στον οποίο

λαμβάνει χώρα η ανακρυστάλλωση εξαρτάται από παράγοντες όπως το pH, η A_w , το περιεχόμενο του αμύλου σε αμυλόζη και η θερμοκρασία. Όπως φάνηκε από το φαινόμενο της ζελατινοποίησης η προσθήκη των πολυφαινολών επέδρασε τόσο στη μεταβολή του pH, μειώνοντάς το στις περισσότερες περιπτώσεις, όσο και τη διαθεσιμότητα των μορίων νερού, δεσμεύοντάς τα προκειμένου να προκύψουν οι ενυδατωμένες μορφές των πολυφαινολών. Τέλος, όπως προαναφέρθηκε, οι πολυφαινόλες παρουσιάζουν την τάση να επισυνάπτουν δεσμούς H με τα μόρια της αμυλόζης και με αυτό τον τρόπο δεν τα αφήνουν ελεύθερα να συνεισφέρουν στην ανακρυστάλλωση των κόκκων του αμύλου, την καθυστερούν, ενώ ταυτόχρονα επιδρούν στη μεταβολή της υφής του αμυλούχου τζελ.

Οι Wu et al. (2009 & 2011a) ασχολήθηκαν και αυτοί με τα φαινόμενα ζελατινοποίησης και ανακρυστάλλωσης αμύλου που προέρχεται από το ρύζι και εμπλουτίστηκε με διάφορες συγκεντρώσεις πολυφαινολών τσαγιού. Εφαρμόζοντας την τεχνική DSC έδειξαν αρχικά ότι η προσθήκη πολυφαινολών μετατοπίζει τη θερμοκρασία ζελατινοποίησης σε χαμηλότερα επίπεδα, ενώ ταυτόχρονα μειώνεται σε κάποιο βαθμό και η απορρόφηση θερμότητας (ΔH) που απαιτείται για να ολοκληρωθεί η ζελατινοποίηση του αμύλου. Το γεγονός αυτό αποδόθηκε στον υδροφιλικό χαρακτήρα των πολυφαινολών που διαθέτουν OH- ομάδες, οι οποίες πιθανότατα αλληλεπιδρούν με τις πλευρικές ομάδες της αμυλοπηκτίνης και παράλληλα συνδέονται με την άμορφη περιοχή των κόκκων αμύλου, συμβάλλοντας έτσι στη μεταβολή των δυνάμεων έλξης μεταξύ κρυσταλλιτών και αμόρφου πλέγματος. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται ταχύτερη ενυδάτωση των κόκκων αμύλου με τη θέρμανση (σε χαμηλότερη θερμοκρασία) και απαιτείται μικρότερη θερμική ενέργεια (ΔH) για τη ζελατινοποίηση.

Η αλληλεπίδραση των πολυφαινολών τσαγιού με το άμυλο σε μοριακό επίπεδο μέσω δεσμών H κατά τη διάρκεια της ζελατινοποίησης φάνηκε και έπειτα από αναλύσεις σε συστήματα H-NMR και FT-IR, οι οποίες επιβεβαίωσαν τη δημιουργία των δεσμών H (Wu et al., 2011b). Μάλιστα, διαπιστώθηκε ότι κατά τη διάρκεια της ζελατινοποίησης το μίγμα αμύλου ρυζιού και πολυφαινολών παρουσιάζει πολύ πιο έντονα το ενδεχόμενο δημιουργίας δεσμών H μεταξύ των μορίων, σε σχέση με την περίπτωση που απλά αναμιγνύεται και αναδεύεται το ζελατινοποιημένο άμυλο με τις πολυφαινόλες.

Όσον αφορά στην ανακρυστάλλωση του ζελατινοποιημένου αμύλου, έπειτα από ψύξη και αποθήκευση για χρονικά διαστήματα 5-20 ημερών παρατήρησαν ότι η απορρόφηση θερμότητας που αντιστοιχούσε στην τήξη των ανακρυσταλλωμένων μορίων αμυλοπηκτικής ήταν μικρότερη έπειτα από την προσθήκη των πολυφαινολών σε σχέση με αυτή του αποθηκευμένου αμύλου. Το αποτέλεσμα αυτό έδειξε ότι η προσθήκη των πολυφαινολών περιόρισε αισθητά το φαινόμενο της ανακρυστάλλωσης του αμύλου και βρέθηκε να είναι σε συμφωνία με τα ευρήματα των Zhu et al. (2009), οι οποίοι έδειξαν ότι με τον ίδιο τρόπο μειώθηκε η σκληρότητα και η ακαμψία των μορίων του ανακρυσταλλωμένου αμύλου. Οι Wu et al. (2011) εξήγησαν τον περιορισμό του φαινομένου της ανακρυστάλλωσης με την υψηλή δραστηριότητα των υδροξυλομάδων των πολυφαινολών, οι οποίες επισυνάπτουν δεσμούς H με τις OH-ομάδες του αμύλου, παρεμβάλλονται στο άμορφο πλέγμα και δεν επιτρέπουν τη δημιουργία άκαμπτης δομής από τη συνένωση των μορίων του αμύλου. Ωστόσο, άλλοι ερευνητές εκτός από τον ανταγωνισμό μεταξύ των υδροξυλομάδων στις πολυφαινόλες και το άμυλο για την επισύναψη δεσμών H με τα μόρια του αμύλου, έχουν επισημάνει ότι η ανακρυστάλλωση του θερμοπλαστικού αμύλου εξαρτάται και από τη δημιουργία δεσμών H μεταξύ αμύλου και πλαστικοποιητή (Ma et al., 2004; Yu et al., 2005). Έτσι, η δημιουργία ισχυρών δεσμών H μεταξύ μορίων αμύλου και νερού ενδέχεται να παίζει κυρίαρχο ρόλο στη δυνατότητα ανακρυστάλλωσης του αμύλου κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής του.

Οι Zhu & Wang (2012) διερεύνησαν εκ νέου την επίδραση της προσθήκης πολυφαινόλης (ρουτίνης) στα φαινόμενα της ζελατινοποίησης και ανακρυστάλλωσης αμύλου (ρυζιού). Αρχικά έδειξαν ότι ο εμπλουτισμός του αμύλου με ρουτίνη αύξησε τη συνεκτικότητα των μορίων του και την αντοχή του στη διάτμηση, ενώ είχε μικρή επίδραση στη θερμοκρασία και την ενθαλπία ζελατινοποίησής του. Μεγαλύτερη επιρροή φάνηκε να υπάρχει στη μετατόπιση προς χαμηλότερα της θερμοκρασίας εμφάνισης τήξης για τα σύμπλοκα αμυλόξης – λιπιδίων με βάση τα αποτελέσματα που λήφθηκαν με τη μέθοδο της DSC, χωρίς ωστόσο να επηρεαστούν σημαντικά οι αντίστοιχες ενθαλπίες τήξης σε σχέση με αυτές του αμύλου. Τέλος, σε πολύ μεγάλο βαθμό φάνηκε να περιορίζεται το φαινόμενο της ανακρυστάλλωσης των κόκκων αμύλου. Ειδικότερα, στην περίπτωση που χρησιμοποιήθηκε άμυλο από κανονικό ρύζι (22% w/w περιεκτικότητα σε αμυλόξη) και εμπλουτίστηκε με ρουτίνη το φαινόμενο της ανακρυστάλλωσης εξαλείφθηκε πλήρως, ενώ αντίστοιχα όταν χρησιμοποιήθηκε

άμυλο από ρύζι υψηλής περιεκτικότητας (32% w/w) σε αμυλόζη η ανακρυστάλλωση του αμύλου έλαβε χώρα στην αναμενόμενη θερμοκρασία αλλά με πολύ ελαττωμένη ενθαλπία τήξης σε σχέση με αυτή του σκέτου ανακρυσταλλωμένου αμύλου. Τα παραπάνω αποτελέσματα αποδόθηκαν στην πιθανή δημιουργία συμπλόκων μεταξύ ρουτίνης και αμυλόζης.

Σε άλλη έρευνα που έγινε από τους Takahama & Hirota (2010) εξετάστηκε άμυλο προερχόμενο από σίκαλη, καθώς και η αλληλεπίδραση των μορίων του με φαινολικές ουσίες, όπως η ρουτίνη και το σύμπλεγμα επικατεχίνης-διμεθυλογαλλικού οξέος, οι οποίες περιέχονταν στο αλεύρι της σίκαλης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αναπτύχθηκαν δεσμοί μεταξύ των πολυφαινολών και των συστατικών του αμύλου, της αμυλόζης και της αμυλοπηκτίνης. Ειδικότερα, θεωρήθηκε ότι τα πολυφαινολικά συστατικά εγκλείστηκαν επιτυχώς εντός της υδρόφοβης ελικοειδούς δομής της αμυλόζης αλλά και της συγκριτικά μικρότερης σε μήκος υδρόφοβης ελικοειδούς αλυσίδας της αμυλοπηκτίνης. Σε αυτό συνετέλεσε, σύμφωνα με τους Takahama & Hirota η ύπαρξη μικρών υδρόφοβων περιοχών στα μόρια των πολυφαινολών. Επιπλέον, η δέσμευση των πολυφαινολών από την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη είχε ως αποτέλεσμα την αναστολή των καταλυτικών αντιδράσεων διάσπασής τους από ένζυμα α-αμυλάσης. Λόγω του γεγονότος αυτού φάνηκε ότι ο γλυκαιμικός δείκτης του εμπλουτισμένου με πολυφαινόλες αμύλου σίκαλης είναι χαμηλότερος από τον αντίστοιχο του σκέτου αμύλου ιδίου τύπου, το οποίο διασπάται επιτυχώς από την α-αμυλάση.

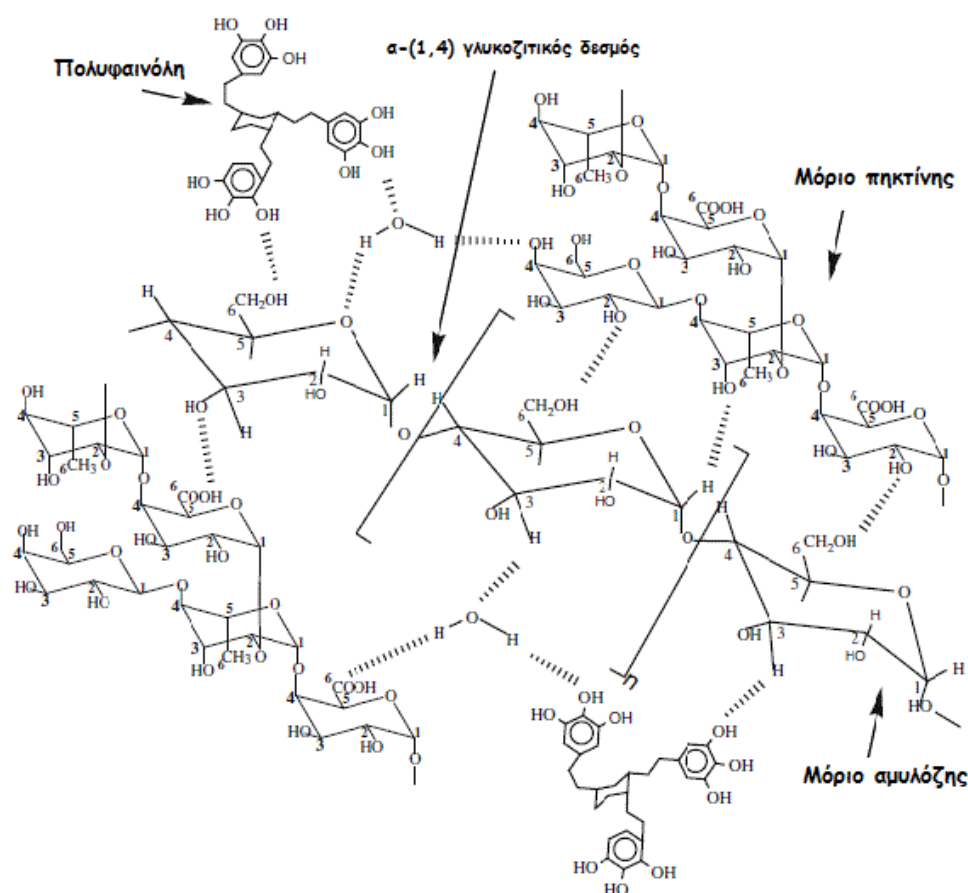
Οι Zhang et al. (2011) μελέτησαν τη δυνατότητα δημιουργίας συμπλόκου μεταξύ αμύλου αραβοσίτου και της κερκετίνης. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποίησαν τεχνικές διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC), θερμοβαρυμετρίας (TGA), περίθλασης ακτίνων X (XRD), φασματομετρίας υπερύθρου (FT-IR) και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Τα αποτελέσματα από την εφαρμογή όλων των τεχνικών επιβεβαίωσαν την πιθανότητα ύπαρξης αλληλεπιδράσεων μεταξύ της κερκετίνης και των μορίων του αμύλου. Πιο συγκεκριμένα, φάνηκε ότι η παρουσία της κερκετίνης άλλαξε τη μορφολογία των κόκκων αμύλου, καθώς και τις θερμικές ιδιότητες του αμύλου. Τα γραφήματα XRD του συμπλόκου κερκετίνης-αμύλου έδειξαν ότι η αρχική κρυσταλλική δομή του αμύλου αραβοσίτου εξαφανίστηκε και στη θέση της δημιουργήθηκαν νέες κρυσταλλικές περιοχές. Επιπλέον, από τις τεχνικές της θερμικής ανάλυσης προέκυψε ότι η θερμική σταθερότητα του συμπλόκου είναι κατά

πολύ υψηλότερη σε σχέση με αυτή του προζελατινοποιημένου αμύλου στις υψηλές θερμοκρασίες (310°C). Τέλος, σε αντιστοιχία με τις διαπιστώσεις των Takahama and Hirota, φάνηκε σε αυτή την εργασία ότι η προσθήκη της κερκετίνης και η ισχυρή αλληλεπίδρασή της με το άμυλο το κατέστησε σαφώς λιγότερο εύπεπτο και διασπάσιμο από τα κύρια ένζυμα της πέψης.

Οι Sivam et al. σε 4 εργασίες τους (2010, 2012, 2013a, 2013b) μελέτησαν τον εμπλουτισμό ψωμιού με διάφορα συστατικά, μεταξύ των οποίων και πολυφαινόλες, και εξέτασαν τη δυνατότητα δημιουργίας συμπλόκων μεταξύ των πολυφαινολών και του αμύλου σίτου που περιεχόταν στο ψωμί. Προκειμένου να παρατηρήσουν την κρυσταλλικότητα της δομής του αμύλου έπειτα από την προσθήκη των πολυφαινολών, χρησιμοποίησαν διαφορετικές αναλυτικές τεχνικές οι κυριότερες από τις οποίες ήταν η φασματομετρία FT-IR, η υγρή χρωματογραφία HPLC και η φασματοσκοπία NMR. Τα αποτελέσματα έδειξαν αρχικά ότι ακόμα και όταν γίνεται εμπλουτισμός του ψωμιού με υψηλές συγκεντρώσεις πολυφαινολών και πηκτίνης, η υφή του ψωμιού δεν αλλοιώνεται σε επίπεδα που το προϊόν να παύει να είναι αποδεκτό. Γενικά, θεώρησαν ότι κατά τη διάρκεια της ανάμιξης των συστατικών του ψωμιού, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών, των κόκκων αμύλου, των μη αμυλούχων πολυσακχαριτών και των πολυφαινολών, όλα τα συστατικά προσροφούν μόρια νερού, σε διαφορετικό βαθμό το καθένα, σχηματίζοντας, έτσι, ένα ενυδατωμένο ελαστικό πλέγμα γλουτένης που περιέχει το άμυλο και τη μαγιά σε κοκκώδη μορφή. Στη συνέχεια, μόλις η θερμοκρασία του προϊόντος φτάσει στους 60-70°C ξεκινά το φαινόμενο της μετανάστευσης μορίων νερού από τη γλουτένη προς τους κόκκους αμύλου και ταυτόχρονα η ζελατινοποίηση. Επιπλέον, όπως οι Zhu et al. (2008 & 2009) έτσι και οι Sivam et al. (2010, 2012, 2013a, 2013b) στις εργασίες τους ισχυρίστηκαν ότι οι πολυφαινόλες δρουν ανταγωνιστικά ως προς τους κόκκους αμύλου σε σχέση με τη δέσμευση μορίων νερού, επισυνάπτοντας υδρόφιλους δεσμούς. Η μαζί του προκειμένου να μετατραπούν στην ενυδατωμένη τους μορφή, ενώ παράλληλα παραλλάσσουν τη δομή των κρυστάλλων του αμύλου και παρεμποδίζουν τα φαινόμενα της ζελατινοποίησης και ανακρυστάλλωσής του.

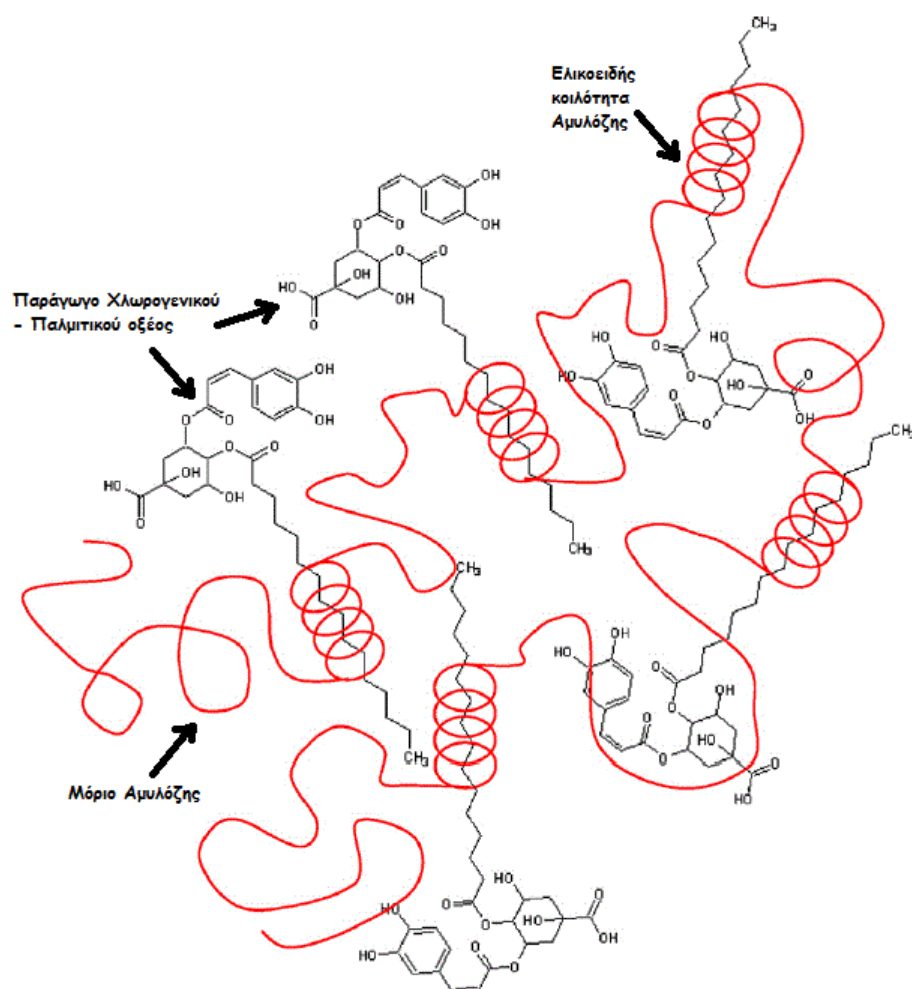
Συνοψίζοντας, με βάση πειράματα που εκτέλεσαν στις εργασίες τους οι Sivam et al. είδαν ότι οι αμυλούχες ομάδες του ψωμιού μετά από την προσθήκη πολυφαινολών και πηκτίνης έγιναν πιο εύκαμπτες, ενώ η προσθήκη επιπλέον ποσότητας νερού (20%), κατά την αρχική φάση ανάμιξης, μετρίασε αυτή την αύξηση

στην ευκαμψία του προϊόντος. Επίσης, όλες οι αποκρίσεις των οργάνων που σχετίζονταν με τους αμυλούχους πολυσακχαρίτες βρέθηκαν να έχουν επηρεαστεί έπειτα από τον εμπλουτισμό με πολυφαινόλες. Όλα τα φάσματα που αφορούσαν το εμπλουτισμένο ψωμί έδειξαν την ύπαρξη χαρακτηριστικής δομής τύπου V για το άμυλο, το οποίο φάνηκε να υιοθετεί διαμόρφωση μονής έλικας που περιελάμβανε μια σχετικά μεγάλη κοιλότητα στο κέντρο της έλικας, επιτρέποντας την ύπαρξη κινητικότητας στο εσωτερικό της και δίνοντας τη δυνατότητα για συμπλοκοποίηση με μικρά οργανικά μόρια, όπως είναι οι πολυφαινόλες. Η τελική δομή που προκύπτει στο ψωμί εξαρτάται, όσον αφορά τις πολυφαινόλες, από το μέγεθος του μορίου τους, την πολικότητα και τη συγκέντρωσή τους στο αρχικό μίγμα. Τέλος, με βάση τις αλληλεπιδράσεις που εντόπισαν μεταξύ πολυφαινολών, πηκτίνης και των μορίων αμυλόζης στο ψωμί, παρέθεσαν την ακόλουθη σχηματική αναπαράσταση με τους πιθανούς σταυροδεσμούς που δημιουργούνται μεταξύ αυτών των μορίων στο άμυλο σίτου (Σχήμα 7).



Σχήμα 7: Πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ μορίων αμυλόζης και μορίων πηκτίνης και πολυφαινολών στο ψωμί. (Sivam et al., 2013a)

Σε έρευνα των Lorentz et al. (2012) εξετάστηκε η δυνατότητα σύζευξης του μορίου της αμυλόζης με χλωρογενικό οξύ, καθώς και με το λιπόφιλο παράγωγό του με παλμιτικό οξύ (Σχήμα 8). Για την ταυτοποίηση της πιθανής δημιουργίας συμπλόκων χρησιμοποιήθηκαν διάφορες τεχνικές όπως DSC, XRD και NMR. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ενθυλάκωση των μορίων του χλωρογενικού οξέος στην αμυλόζη δεν ήταν επιτυχής, ενώ αντίθετα ήταν επιτυχής για το λιπόφιλο παράγωγο του χλωρογενικού οξέος. Οι Lorentz et al. θεώρησαν ότι η ευθεία αλυσίδα του παλμιτικού οξέος, το οποίο ουσιαστικά εμβολιάστηκε στο χλωρογενικό οξύ ήταν το τμήμα που ουσιαστικά ενθυλακώθηκε εντός της ελικοειδούς κοιλότητας της αμυλόζης. Το άμορφο σύμπλοκο που προέκυψε μεταξύ αμυλόζης και του παραγώγου του χλωρογενικού παραστήθηκε σε σκίτσο από τους Lorentz et al. όπως φαίνεται και στο ακόλουθο Σχήμα 8.



Σχήμα 8: Σχηματική απεικόνιση συμπλόκου εγκλεισμού αμυλόζης-παλμιτοχλωρογενικού οξέος. (Lorentz et al., 2012)

Σε άλλη εργασία οι Guzar et al. (2012) μελέτησαν κατά κύριο λόγο την επίδραση των πολυφαινολικών εκχυλισμάτων τσαγιού (μαύρου και πράσινου) στην ικανότητα υδρόλυσης του αμύλου με τη βοήθεια ενζύμων. Αρχικά, διεπίστωσαν ότι η προσθήκη μαύρου τσαγιού, προφανώς λόγω της μορφής των περιεχόμενων πολυφαινολών του (πολυμερισμένες κατεχίνες), είχε μεγαλύτερη επίδραση στις ρεοπηκτικές ιδιότητες του αμύλου, σε σχέση με την προσθήκη εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού, το οποίο περιέχει κυρίως χαμηλού μοριακού βάρους κατεχίνες. Επίσης, είναι γνωστό ότι το ένζυμο παγκρεατίνη καταλύει υπό κατάλληλες συνθήκες την αντίδραση υδρόλυσης του αμύλου. Η προσθήκη εκχυλίσματος μαύρου τσαγιού φάνηκε να παρεμποδίζει ισχυρότερα τη συγκεκριμένη αντίδραση σε σχέση με την περίπτωση που προστέθηκε εκχύλισμα πράσινου τσαγιού. Οι Guzar et al. συμπέραναν όσον αφορά την παρεμπόδιση της δράσης του ενζύμου ότι πιθανώς οι πολυφαινόλες του μαύρου τσαγιού αλληλεπιδρούν με το άμυλο και επισυνάπτουν δεσμούς, περιορίζοντας έτσι τις ελεύθερες θέσεις που μπορούν να καταλάβουν οι μονάδες του ενζύμου.

Οι Barros et al. (2012) σε έρευνά τους συνόψισαν όλες τις πιθανές αλληλεπιδράσεις που μπορούν να υπάρξουν μεταξύ των ταννινών και άλλων φαινολικών μορίων, που περιέχονται στο σόργο, με τα συστατικά του αμύλου, της αμυλόζης και της αμυλοπηκτίνης. Αρχικά διερεύνησαν την επίδραση των φαινολικών εκχυλισμάτων του σόργου στις ρεολογικές ιδιότητες του αμύλου και διεπίστωσαν ότι η συγκέντρωση του εκχυλίσματος που χρησιμοποιείται για την κατεργασία του αμύλου είναι ανάλογη της αύξησης του τελικού ιξώδους του μετά το πέρας της ανάμιξης. Τη συγκεκριμένη αύξηση του ιξώδους την απέδωσαν είτε στην παρουσία των φαινολών που ανταγωνίζονται με το άμυλο ως προς την κατακράτηση νερού με σκοπό την ενυδάτωσή τους, είτε στην πιθανή απευθείας αλληλεπίδρασή τους με τα μόρια του αμύλου και τη δημιουργία συμπλόκων.

Γενικά, το άμυλο του καλαμποκιού, καθώς και άλλων σιτηρών, περιέχει πόρους σχετικά μεγάλης διαμέτρου (έως 1 μm), οι οποίοι παρέχουν πιθανές θέσεις για προσρόφηση των πολυφαινολών στο εσωτερικό του αμυλοκόκκου. Τα μεγαλύτερα μόρια ταννινών έδειξαν να παρουσιάζουν μεγαλύτερη τάση φυσικής προσρόφησης και πρόσδεσής τους εντός των πόρων σε σχέση με τα μικρότερα μόρια πολυφαινολών. Επίσης, λόγω της παρουσίας των αλυσίδων αμυλόζης εντός των πόρων του φυσικού

αμύλου, οι συμπτυκνωμένες ταννίνες, εκτός της φυσικής τους προσρόφησης, έχουν βρεθεί να αλληλεπιδρούν και χημικά με τα μόρια της αμυλόζης σχηματίζοντας σύμπλοκα (Bourvellec et al., 2005). Στη μελέτη των Barros et al. οι προανθοκυανιδίνες με τα μεγαλύτερα μοριακά βάρη φάνηκαν να αλληλεπιδρούν χημικώς ισχυρότερα με τα μόρια του αμύλου, σε σχέση με τις αντίστοιχες που είχαν μικρότερο MB. Αυτό αποδόθηκε στο συγκριτικά μεγαλύτερο αριθμό υδροξυλομάδων που διαθέτουν για επισύναψη δεσμών H, αλλά και τις περισσότερες υδρόφοβες ομάδες που έχουν με αποτέλεσμα να συνδέονται ισχυρότερα με το ζελατινοποιημένο άμυλο. Όσον αφορά στα μόρια της αμυλοπηκτίνης, περιέχουν πλευρικές ομάδες, οι οποίες παρέχουν και αυτές περιορισμένο αριθμό υδρόφοβων θέσεων για δημιουργία αλληλεπιδράσεων με τις ταννίνες. Οι συγκεκριμένες πλευρικές ομάδες δεν περιλαμβάνονται εντός της δομής τύπου διπλής έλικας της αμυλόζης και έχουν τη δυνατότητα να προσροφήσουν με φυσικό τρόπο μια ποσότητα πολυμερισμένων προανθοκυανιδινών χωρίς απαραίτητα να δημιουργούνται χημικοί δεσμοί. Επιπλέον, οι Barros et al. (2012) παρατήρησαν ότι οι αλληλεπιδράσεις των ταννινών με την αμυλόζη που έχει εξέλθει των αμυλοκόκκων κατά τη ζελατινοποίηση έχει ως αποτέλεσμα τον περιορισμό του φαινομένου της ανακρυστάλλωσης του αμύλου κατά την ψύξη. Ειδικότερα, η προσθήκη συμπτυκνωμένων ταννινών είχε υψηλότερη συμβολή στη δημιουργία αμύλου «ανθεκτικού» στην ανακρυστάλλωση, σε σχέση με την προσθήκη των 3-δεοξυ-ανθοκυανινών και των άλλων απλών φαινολών που περιέχονται στο σόργο. Μάλιστα, έπειτα από επαναλαμβανόμενους κύκλους ψύξης-θέρμανσης του επλουτισμένου αμύλου που δοκίμασαν, διεπίστωσαν αύξηση της σταθερότητας των συμπλόκων αμυλόζης-πολυφαινολών και κατ' επέκταση αύξηση της ανθεκτικότητας του αμύλου στην ανακρυστάλλωση.

Στον παρακάτω Πίνακα 8 παρατίθενται συνοπτικά οι κυριότερες βιβλιογραφικές αναφορές της ανασκόπησης που πραγματοποιήθηκε, οι μεθοδολογίες που εφαρμόστηκαν και τα αποτελέσματα που προέκυψαν σχετικά με τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ αμύλου και πολυφαινολών που έχουν μελετηθεί έως σήμερα.

Πίνακας 8: Συγκεντρωτικός πίνακας ενδεικτικών αναφορών που σχετίζονται με τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ αμύλου-πολυφαινολών.

Βιβλιογραφικές πηγές	Αλληλεπιδράσεις	Μέθοδος	Αποτέλεσμα
Deshpande & Salunkhe (1982)	Άμυλο οσπρίων-Ταννίνες	Πέψη αμύλου με α-αμυλάση	Μείωση βαθμού διάσπασης αμύλου κατά 12%, παρουσία ταννινών
Zhu et al. (2008 & 2009)	Άμυλο σίτου-Πολυφαινόλες	Μελέτη ρεολογικών ιδιοτήτων αμύλου, DSC	Αύξηση ιξώδους πάστας αμύλου και μείωση pH, παρουσία πολυφαινολών, επίδραση σε θερμικές ιδιότητες αμύλου (ζελατινοποίηση, ανακρυστάλλωση)
Wu et al. (2009, 2011a & 2011b)	Άμυλο ρυζιού-Πολυφαινόλες τσαγιού	DSC, H-NMR, FT-IR	Μεταβολή χαρακτηριστικών ζελατινοποίησης και ανακρυστάλλωσης αμύλου με προσθήκη πολυφαινολών, πιθανή δημιουργία δεσμών H μεταξύ των μορίων
Takahama & Hirota (2010)	Άμυλο σίκαλης-Ρουτίνη, επικατεχίνη	<i>In-vitro</i> διάσπαση αμύλου με α-αμυλάση	Η προσθήκη φαινολικών συστατικών οδήγησε σε αναστολή της καταλυτικής αντίδρασης διάσπασης του αμύλου από α-αμυλάση
Sivam et al. (2010, 2012, 2013a & 2013b)	Άμυλο σίτου-Πολυφαινόλες	Μελέτη ρεολογικών ιδιοτήτων αμύλου, FT-IR, HPLC, NMR	Πιθανή ένταξη πολυφαινολών στο πλέγμα αμύλου-γλουτένης-νερού και συγκράτηση με δεσμούς H, αύξηση στην ευκαμψία του ψωμιού, παρουσία πολυφαινολών
Zhang et al. (2011)	Άμυλο αραβοσίτου-Κερκετίνη	DSC, TGA, XRD, FT-IR	Μεταβολή των θερμικών ιδιοτήτων του αμύλου, παρουσία κερκετίνης, και εξαφάνιση αρχικής κρυσταλλικής περιοχής αμύλου με ταυτόχρονη δημιουργία νέων κρυσταλλικών περιοχών
Zhu & Wang (2012)	Άμυλο ρυζιού-Ρουτίνη	DSC	Η προσθήκη ρουτίνης επέδρασε στη θερμοκρασία τήξης του συμπλόκου αμυλόξης-λιπιδίων και περιόρισε σημαντικά την ανακρυστάλλωση του αμύλου
Lorentz et al. (2012)	Αμυλόξη-Χλωρογενικό οξύ, λιπόφιλο παράγωγο χλωρογενικού οξέος	DSC, XRD, NMR	Εγκλεισμός του λιπόφιλου παραγώγου χλωρογενικού οξέος στην υδρόφοβη ελικοειδή κοιλότητα αμυλόξης
Guzar et al. (2012)	Άμυλο-Πολυφαινόλες τσαγιού	Μελέτη ρεολογικών ιδιοτήτων αμύλου, ενζυμική υδρόλυση με παγκρεατίνη	Επίδραση προσθήκης πολυφαινολών στις ρεοηκτικές ιδιότητες του αμύλου και περιορισμός της δράσης του ενζύμου της παγκρεατίνης κατά την υδρόλυση
Barros et al. (2012)	Άμυλο καλαμποκιού-Ταννίνες, ανθοκυανίνες	Μελέτη ρεολογικών ιδιοτήτων αμύλου	Περιορισμός ανακρυστάλλωσης του αμύλου, παρουσία πολυφαινολών, και ισχυρότερη αλληλεπίδραση αμύλου με φαινολικά μόρια μεγαλύτερου MB

5.4 Σύζευξη αμύλου με ουσίες που προσδίδουν γεύση και άρωμα

Από έρευνες που έχουν γίνει κατά τις τελευταίες δεκαετίες είναι γνωστό ότι ορισμένα συστατικά που προσδίδουν γεύση και άρωμα σε τρόφιμα, όπως π.χ. τα πτητικά αρωματικά, παρουσιάζουν δυνατότητες σύζευξης με το άμυλο με διάφορους τρόπους και σε διαφορετικούς βαθμούς. Ειδικότερα, σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να υφίσταται φυσική αλληλεπίδραση, όπως είναι η προσρόφηση ή η παγίδευση των συστατικών εντός του μορίου του αμύλου, ενώ σε άλλες περιπτώσεις έχει διαπιστωθεί δημιουργία συμπλόκου εγκλεισμού ελικοειδούς μορφής του αρωματικού συστατικού εντός του μορίου της αμυλόζης, που αποτελεί τμήμα του μορίου του αμύλου.

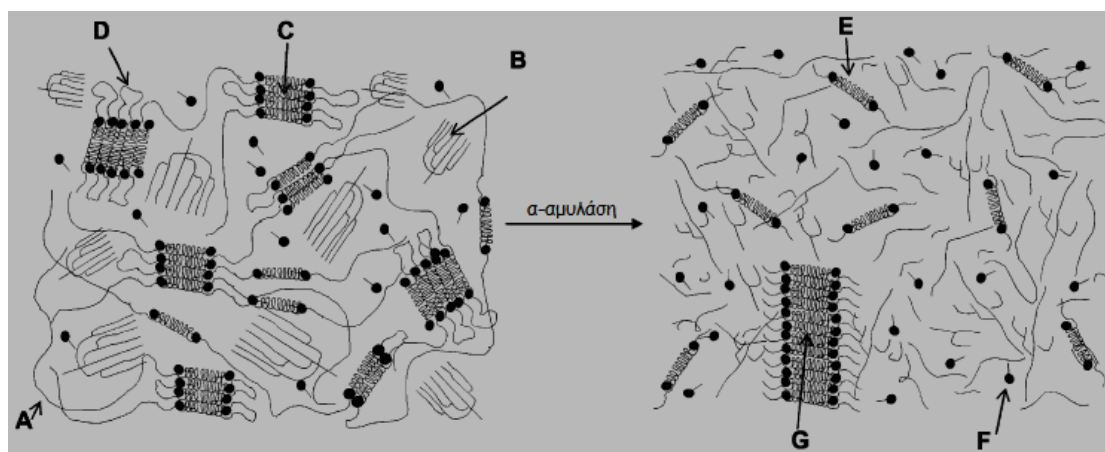
Γενικά, μια ευρεία γκάμα διαφορετικών ουσιών έχουν εμφανίσει τάση συμπλοκοποίησης εντός της υδρόφοβης κοιλότητας του μορίου της V-αμυλόζης. Μελέτες που έχουν βασιστεί κατά κύριο λόγο στην τεχνική της περίθλασης με ακτίνες X (XRD) έδειξαν ότι, ανάλογα με τα συστατικά που εγκλείονται, τα μόρια της V-αμυλόζης μπορεί να λάβουν μορφές απλής έλικας που να περιλαμβάνουν 6 (V_6) ή και 8 μονάδες (V_8) γλυκόζης ανά περιέλιξη. Παράδειγμα συμπλόκου με 6 μονάδες γλυκόζης ανά περιέλιξη είναι ο εγκλεισμός της δεκανάλης και της μενθόνης σε αμυλόζη όπου οι μοριακές αναλογίες αρωματικού/γλυκόζης στο σύμπλοκο είναι αντίστοιχα 13,78 και 43,94 mmol αρωματικού συστατικού ανά mol γλυκόζης. Αντίθετα, στην περίπτωση του εγκλεισμού της 1-ναφθόλης σε αμυλόζη η έλικα βρέθηκε ότι διαθέτει 8 μονάδες γλυκόζης ανά περιέλιξη και η αναλογία αρωματικού/γλυκόζης υπολογίστηκε ότι ήταν 62,35 mmol συστατικού ανά mol γλυκόζης. Επίσης, έχει φανεί για ένα μεγάλο αριθμό αρωματικών ουσιών ότι απαιτούνται τουλάχιστον 5-10 mmol αρωματικού συστατικού ανά mol γλυκόζης στο άμυλο προκειμένου να μειωθεί αισθητά η ικανότητα δέσμευσης ιωδίου από την αμυλόζη. Αντίστοιχα, έχει βρεθεί ότι χρειάζονται τουλάχιστον 50-100 mmol αρωματικού συστατικού ανά mol γλυκόζης στο άμυλο για να υπάρξει κορεσμός της έλικας της αμυλόζης ως προς τη δέσμευση. Με τη δημιουργία συμπλόκων εγκλεισμού καθίσταται δυνατόν να ελέγχεται ως ένα βαθμό τόσο η κατακράτηση των αρωματικών συστατικών, όσο και η απελευθέρωσή τους, ενώ παράλληλα προστατεύονται από παράγοντες, όπως το ατμοσφαιρικό οξυγόνο και το φως, που επηρεάζουν τη σταθερότητά τους κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των τροφίμων. (Wulff et al., 2005; Guichard, 2002; da Silva et al., 2002; Arvisenet et al., 2002a&b)

Οι Heinemann et al. σε 3 σχετικές εργασίες τους (2001, 2003, 2005) εξέτασαν τη δυνατότητα δημιουργίας συμπλόκων εγκλεισμού μορίων γ- και δ-λακτόνης σε άμυλο πατάτας χρησιμοποιώντας διαφορετικές μεθόδους για την επαλήθευση και ειδικότερα την ικανότητα δέσμευσης ιωδίου από την αμυλόζη, τη διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC), την περίθλαση με ακτίνες X (XRD), το οπτικό μικροσκόπιο, καθώς και τη μέτρηση ρεολογικών παραμέτρων. Με βάση τα αποτελέσματα ο εγκλεισμός των περισσότερων από τα είδη λακτόνης που δοκιμάστηκαν (γ-εννεαλακτόνη, γ-δωδεκαλακτόνη, δ-δεκαλακτόνη και δ-δωδεκαλακτόνη) στην αμυλόζη κρίθηκε επιτυχής. Πιο συγκεκριμένα, από μετρήσεις πρόσληψης ιωδίου φάνηκε ότι ο βαθμός δέσμευσης και η σταθερότητα του προκύπτοντος συμπλόκου εξαρτάται από το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας της προστιθέμενης λακτόνης. Μάλιστα όσο μικρότερος είναι ο αριθμός των ατόμων C, τόσο μεγαλύτερη ποσότητα της λακτόνης απαιτείται, ώστε να κορεσθεί η έλικα της αμυλόζης και να γίνει το σύμπλοκο σταθερότερο. Από τις μετρήσεις στο όργανο DSC επιβεβαιώθηκε ο συγκεκριμένος ισχυρισμός, καθώς προέκυψε ότι όσο μεγαλύτερη είναι η ανθρακική αλυσίδα της συμπλεκόμενης λακτόνης, τόσο πιο αυξημένη είναι η θερμική σταθερότητα του συμπλόκου εγκλεισμού με την αμυλόζη που δημιουργείται. Ομοίως, από τα διαγράμματα XRD προέκυψε το συμπέρασμα ότι η παρουσία των μορίων λακτόνης που διαθέτουν περισσότερα των 5 άτομα C στην αλυσίδα τους ευνοεί τη συμπλοκοποίηση εντός της έλικας της αμυλόζης.

Γενικά, από την έρευνα των Heinemann et al. (2001) φάνηκε ότι δεν είναι μόνο το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας της λακτόνης που επηρεάζει την ικανότητα δέσμευσης. Σημαντικό ρόλο έδειξαν να παίζουν και άλλες παράμετροι, όπως είναι η δομή του δακτυλίου της λακτόνης, που επηρεάζει τη θερμική σταθερότητα του συμπλόκου, καθώς και η διαλυτότητα της λακτόνης. Επιπλέον, όσον αφορά την αλληλεπίδραση της αμυλοπηκτίνης με τις λακτόνες, φάνηκε να υφίσταται, ωστόσο βρέθηκε να είναι κατά πολύ πιο αργή σε σχέση με τις αλληλεπιδράσεις της αμυλόζης, τα αποτελέσματα των οποίων ήταν ταχέως παρατηρήσιμα (Heinemann et al., 2003). Οι Heinemann et al. (2005) εστίασαν περισσότερο στη συμπλοκοποίηση του αμύλου με δ-δωδεκαλακτόνη και παρατήρησαν ότι η προσθήκη της στο άμυλο ευνοούσε τη δημιουργία συμπλόκου, ενώ παράλληλα αύξησε τη βισκοελαστικότητα του τελικού τροφίμου σε σχέση με αυτή που είχε το σκέτο άμυλο πατάτας. Ειδικότερα, όλα τα συστήματα τροφίμων που είτε δεν είχαν εμπλουτιστεί, είτε περιείχαν την αρωματική

ουσία σε συγκεντρώσεις κάτω από τα επίπεδα κορεσμού της έλικας της αμυλόζης παρουσίαζαν όψη υγρού τροφίμου, ενώ αντίθετα η προσθήκη της δ-δωδεκαλακτόνης σε συγκέντρωση κορεσμού της έλικας οδήγησε σε πήξη του τροφίμου. Επίσης, το πολωτικό μικροσκόπιο έδειξε ότι τα σύμπλοκα αμυλόζης με τη δ-δωδεκαλακτόνη είχαν μορφή μερικώς κρυσταλλομένων σφαιρουλιτών, η οποία αποτελεί μια νέα υπερμοριακή δομή, που είναι σαφώς διαφορετική από αυτή του σκέτου κοκκώδους αμύλου πατάτας στο ίδιο μικροσκόπιο. Στην τελευταία εργασία τους οι Heinemann et al. (2005) εξέτασαν και τη δυνατότητα αποικοδόμησης των συμπλόκων αμυλόζης – αρωματικών με χρήση του ενζύμου α-αμυλάσης και φάνηκε ότι η δημιουργία τέτοιων συμπλόκων δύναται να μειώσει σε μεγάλο βαθμό την αποτελεσματικότητα της υδρόλυσης με α-αμυλάση.

Στο παρακάτω Σχήμα 9 παρουσιάζονται οι πιθανές επιδράσεις του ενζύμου της α-αμυλάσης στη μορφή των συμπλόκων αμυλόζης – αρωματικών ουσιών.



Σχήμα 9: Απεικόνιση επίδρασης ενζύμου α-αμυλάσης στη δομή αμυλούχου τροφίμου που περιέχει σύμπλοκα αμυλόζης με αρωματικές ουσίες, όπου: (A) άμορφη αμυλόζη, (B) άμορφη αμυλοπηκτίνη, (C) συστοιχίες κρυστάλλων, (D) αναδιπλώσεις πεταλοειδούς μορφής στην αμυλόζη, (E) σύμπλοκο αμυλόζης-αρωματικού συστατικού, (F) αρωματικό συστατικό, (G) συσσωμάτωση κρυσταλλικών συμπλόκων (επαναδιάταξη-τελειοποίηση κρυσταλλικών δομών λόγω ενζυμικής δράσης). (Heinemann et al., 2005)

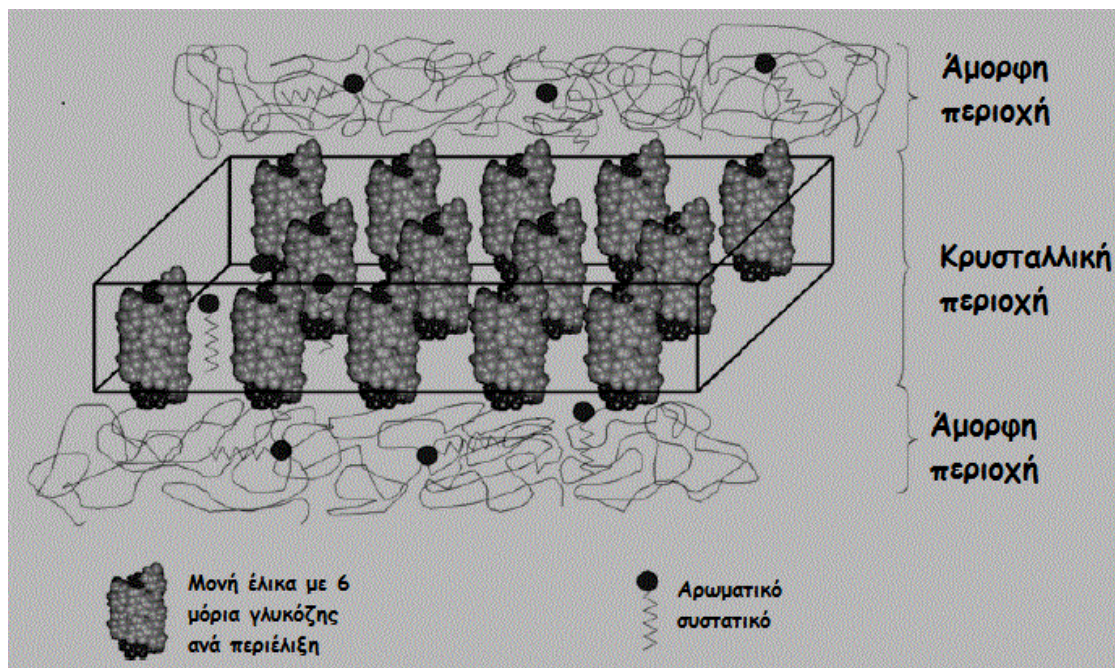
Οι Wulff et al. (2005) θέλησαν να προσδιορίσουν τη μέγιστη ποσότητα μερικών συνηθισμένων αρωματικών που μπορεί να εγκλειστεί στην έλικα της V-αμυλόζης, καθώς επίσης δοκίμασαν να εγκλείσουν και μίγματα 2 ή περισσότερων

αρωματικών ουσιών στην αμυλόζη προκειμένου να διαπιστώσουν αν υπάρχει συνεργιστική ή ανταγωνιστική σχέση μεταξύ τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα υψηλότερα επίπεδα συγκράτησης επέδειξε η αμυλόζη του αραβοσίτου και αυτά αντιστοιχούσαν σε ποσότητα αρωματικού συστατικού που ήταν μεταξύ 4,1 και 10,4% της μάζας του συμπλόκου. Επιπλέον, διέκριναν μια ανταγωνιστική συμπεριφορά μεταξύ των συστατικών για την κατάληψη των θέσεων εντός της έλικας της αμυλόζης, λόγω της οποίας υπήρξε και η μείωση του συνολικού ποσοστού εγκλεισμού σε σχέση με το αντίστοιχο όταν τα συστατικά βρίσκονταν σε καθαρή μορφή.

Οι Jouquand et al. (2006) ασχολήθηκαν με την ικανότητα σχηματισμού συμπλόκων μεταξύ της αμυλόζης που προέρχεται από άμυλο πατάτας ή καλαμποκιού και αρωματικών ουσιών που διαθέτουν στο μόριό τους 6 άτομα άνθρακα όπως είναι η εξανάλη, η εξανόλη και η εξανόνη. Οι τεχνικές που χρησιμοποίησαν για να διαπιστώσουν τυχόν φαινόμενα συμπλοκοποίησης ήταν οι DSC (2 διαδοχικές μετρήσεις) και XRD, ενώ στη συνέχεια εκτέλεσαν και πειράματα για να εκτιμήσουν τη δυνατότητα απελευθέρωσης των ουσιών από το σύμπλοκο όταν βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις εντός αυτού. Με βάση τα αποτελέσματα των οργάνων DSC και XRD επιβεβαιώθηκε η πιθανότητα σχηματισμού κρυσταλλικών συμπλόκων αμυλόζης με εξανόλη και εξανάλη, ενώ δεν υπήρξαν ενδείξεις συμπλοκοποίησης όταν χρησιμοποιήθηκε ως αρωματική ουσία η εξανόνη. Όσον αφορά την απελευθέρωση των αρωμάτων οι Jouquand et al. (2006) παρατήρησαν ότι ήταν ελαφρά χαμηλότερη στην περίπτωση που χρησιμοποιήθηκε το άμυλο καλαμποκιού σε σχέση με αυτό της πατάτας και το γεγονός αυτό αποδόθηκε στην ύπαρξη ανταγωνισμού μεταξύ των αρωματικών συστατικών και των λιπιδίων που περιέχονται στην αμυλόζη του καλαμποκιού, των οποίων η ποσότητα στην αμυλόζη πατάτας μπορεί να θεωρηθεί αμελητέα. Όπως αναμενόταν λόγω συμπλοκοποίησης η απελευθέρωση των αρωματικών ήταν καλύτερη στις περιπτώσεις των μιγμάτων που περιείχαν εξανόλη και εξανάλη, ενώ βρέθηκε σαφώς χαμηλότερη στην περίπτωση της εξανόνης μάλλον λόγω αδυναμίας συμπλοκοποίησης.

Σε άλλη εργασία οι Le Bail et al. (2005) ασχολήθηκαν με τη μελέτη της κρυσταλλικής δομής, της μοριακής διαμόρφωσης και της θερμικής σταθερότητας συμπλόκων που δημιουργήθηκαν από τη σύζευξη της αμυλόζης με αρωματικά συστατικά όπως η μενθόνη, η δεκανάλη, η 1-βουτανόλη και η 1-ναφθόλη. Οι τεχνικές

που εφαρμόστηκαν ήταν οι NMR, XRD και DSC. Η τεχνική XRD έδειξε ότι η μορφή του συμπλόκου εγκλεισμού της δεκανάλης στην αμυλόζη μοιάζει να είναι ίδια με αυτή του τύπου V_{6I} , δηλαδή ότι το αρωματικό μόριο είναι εγκλεισμένο μόνο στο εσωτερικό της κάθε μονής έλικας, χωρίς να είναι πρακτικά εφικτός ο εγκλεισμός του μεταξύ 2 ελικοειδών σχηματισμών, λόγω μικρών αποστάσεων (Biais et al., 2006). Αντίστοιχα για τα σύμπλοκα των άλλων 3 ουσιών (1-βουτανόλης, μενθόνης, 1-ναφθόλης) με την αμυλόζη βρέθηκαν οι τύποι V_{6II} , V_{6III} και V_8 , όπου στους 2 πρώτους (V_{6II} , V_{6III}) επιτρέπεται ο εγκλεισμός του συστατικού τόσο εντός της μονής έλικας, όσο και στον χώρο μεταξύ των ελικοειδών σχηματισμών. Επιπλέον, το ίδιο βρέθηκε να ισχύει και για την περίπτωση της 1-ναφθόλης, που αποτελεί ένα ογκώδες μόριο και ευνοεί τη συμπλοκοποίηση σε διαμόρφωση V_8 (8 μόρια γλυκόζης ανά περιέλιξη έλικας αμυλόζης), που φάνηκε να μπορεί να συνυπάρχει τόσο στο εσωτερικό της έλικας, όσο και στον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ των σχηματισμών. Στο παρακάτω Σχήμα 10 παρουσιάζονται οι πιθανές διαφορετικές θέσεις των αρωματικών μορίων κατά τον εγκλεισμό τους στις κρυσταλλικές περιοχές (εντός της έλικας και ανάμεσα στις έλικες) και τις άμορφες περιοχές της αμυλόζης.



Σχήμα 10: Σχηματική αναπαράσταση δομής συμπλόκου αμυλόζης – αρωματικού συστατικού και πιθανές θέσεις εγκλεισμένων μορίων στο χώρο. (Biais et al., 2006)

Στην ίδια έρευνά τους οι Le Bail et al. (2005), χρησιμοποιώντας την τεχνική DSC, εκτέλεσαν 2 διαδοχικές μετρήσεις για κάθε είδος συμπλόκου (θέρμανση – ψύξη – αναθέρμανση) και διεπίστωσαν ότι υπήρξαν διακριτές ενδόθερμες καμπύλες σε όλα τα δείγματα, οι οποίες αποδόθηκαν σε σημεία τήξεως των κρυσταλλικών περιοχών των συμπλόκων. Σε όλες τις περιπτώσεις η παρουσία ενδόθερμης καμπύλης κατά τη δεύτερη διαδοχική μέτρηση στο όργανο DSC υποδήλωσε ότι η τήξη του κρυσταλλικού συμπλόκου κατά την πρώτη μέτρηση σε παρόμοιες θερμοκρασίες ήταν αντιστρεπτό φαινόμενο, το οποίο οδήγησε εν τέλει σε μεγαλύτερη θερμική σταθερότητα του συμπλόκου κατά τη δεύτερη μέτρηση.

Οι Itthisoponkul et al. (2007) διερεύνησαν τη δυνατότητα συμπλοκοποίησης αμύλου ταπιόκας με αρωματικά συστατικά όπως αλειφατικές αλκοόλες (πρωτοταγείς και δευτεροταγείς) και κετόνες που διαθέτουν 6–10 άτομα άνθρακα. Ειδικότερα μελέτησαν την επίδραση του μήκους της ανθρακικής αλυσίδας και της παρουσίας διαφορετικών χαρακτηριστικών ομάδων (υδροξυλομάδων, κετονομάδων) στην ικανότητα δημιουργίας συμπλόκων με την αμυλόζη. Οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν για αυτό το σκοπό ήταν οι DSC και XRD, ενώ προέκυψε το συμπέρασμα ότι η αύξηση του μήκους της αλυσίδας των αλκοολών έχει σαν συνέπεια τη δημιουργία πιο σταθερών θερμικά συμπλόκων με την αμυλόζη. Ειδικότερα, η παρουσία ενός επιπλέον ατόμου C στην αρωματική αλκοόλη φάνηκε να επιφέρει αύξηση της θερμοκρασίας τήξης των δημιουργούμενων συμπλόκων κατά τουλάχιστον 2°C. Όσον αφορά το σύμπλοκο της αμυλόζης με τη 2-οκτανόνη βρέθηκε να παρουσιάζει τη μικρότερη θερμική σταθερότητα σε σχέση με όλα τα υπόλοιπα σύμπλοκα. Επιπλέον, στις δευτεροταγείς αλκοόλες φάνηκε ότι όσο πιο μακριά από το πρώτο άτομο C βρίσκεται η υδροξυλομάδα, τόσο χαμηλότερες οι θερμοκρασίες τήξης των συμπλόκων που δημιουργούνται με την αμυλόζη, γεγονός που προδίδει ότι η θέση της –OH ομάδας παίζει καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωση και τη σταθερότητα των δημιουργούμενων συμπλόκων της αλκοόλης με την αμυλόζη. Τέλος, οι μετρήσεις στο όργανο XRD έδειξαν ότι όλα τα γραμμικά μόρια (αλκοόλες και 2-οκτανόνη) παρουσίασαν σύμπλοκα με κρυσταλλική διαμόρφωση τύπου V_{6I} ή αλλιώς V_h , ενώ αντίθετα το σύμπλοκο του κυκλικού μορίου της κετόνης 2,6-DMCH (2,6-διμεθυλ-κυκλοεξανόνης) με την αμυλόζη παρουσίασε κρυσταλλική διαμόρφωση που περιείχε 7 μονάδες γλυκόζης ανά περιέλιξη στην έλικα της αμυλόζης (τύπου V_7).

Οι Pozo-Bayon et al. (2008) μελέτησαν την πιθανότητα αλληλεπίδρασης μεταξύ της αμυλόξης και μίγματος 20 διαφορετικών αρωματικών συστατικών, καθώς και την απελευθέρωση των αρωματικών από πρότυπο εμπορικό τρόφιμο (κέικ σπογγοειδούς μορφής). Για τις ανάγκες της μελέτης τους χρησιμοποίησαν τεχνικές όπως η XRD, η DSC, η FT-IR και η αέρια χρωματογραφία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μόνο τα 9 από τα 20 αρωματικά συστατικά δημιούργησαν σύμπλοκα εγκλεισμού με την αμυλόξη, ενώ η ικανότητα συμπλοκοποίησης δε φάνηκε να καθορίζεται αυστηρά ούτε από τη χημική τάξη της εγκλεισμένης ουσίας, ούτε από την υδροφοβικότητά της. Επιπλέον, στην ίδια εργασία επισημάνθηκε το φαινόμενο του ανταγωνισμού για την κατάληψη των ενεργών θέσεων τόσο στο εσωτερικό της έλικας της αμυλόξης, όσο και ανάμεσα στις έλικες. Για παράδειγμα, το δεκανοϊκό οξύ το οποίο παρουσίασε ισχυρή έλξη προς την αμυλόξη φάνηκε αρχικά να καταλαμβάνει θέσεις εντός της έλικας, ωστόσο, έπειτα από αύξηση της ποσότητας δ-δεκαλακτόνης στο μίγμα των αρωματικών, έδειξε να εκτοπίζεται ένα τμήμα του από το εσωτερικό της έλικας και να εγκλείεται πιθανώς στο χώρο που βρίσκεται ανάμεσα στις έλικες, προκαλώντας έτσι μια διόγκωση της κρυσταλλικής δομής και οδηγώντας σε νέες διαμορφώσεις τύπου V_{6II} και V_{6III} . Έτσι, φάνηκε ότι η παρουσία περισσότερων της μίας εγκλεισμένων ουσιών όχι μόνο δεν παρεμποδίζει το φαινόμενο της συμπλοκοποίησης, αλλά υπάρχει δυνατότητα συνύπαρξης τους εντός της ίδιας ελικοειδούς κοιλότητας, καθώς επίσης, λόγω φαινομένων ανταγωνισμού, η διαφοροποίηση των συγκεντρώσεων των συστατικών στο εγκλεισμένο μίγμα μπορεί να οδηγήσει σε εμφάνιση ενδιάμεσων κρυσταλλικών μορφών.

Οι τεχνικές DSC και XRD εφαρμόστηκαν και σε αρκετές ακόμη πιο πρόσφατες μελέτες (Duta et al., 2009; Ades et al., 2012; Zhu & Wang, 2013), προκειμένου να αναλυθούν πιθανά φαινόμενα συμπλοκοποίησης μεταξύ αμυλόξης που περιέχεται σε διαφορετικούς τύπους αμύλου (π.χ. αρακά, αραβοσίτου, πατάτας, καλαμποκιού, κηρώδες) και επιλεγμένων αρωματικών ουσιών όπως η εξανάλη, η trans-2-νονενάλη, trans-trans-2,4-δεκαδιενάλη, η μενθόλη, η μενθόνη, το λεμονένιο και η α-ναφθόλη. Τα συνδυασμένα αποτελέσματα των μετρήσεων από τις τεχνικές DCS και XRD έδειξαν ότι επήλθε συμπλοκοποίηση της αμυλόξης με την πλειοψηφία των αρωματικών ουσιών που δοκιμάστηκαν σε πολλές διαφορετικές τελικές διαμορφώσεις (V_{6I} , V_{6II} , V_{6III} , V_7 και V_8), ανάλογα με τη φύση και το μέγεθος του εγκλεισμένου συστατικού, με εξαίρεση το λεμονένιο που παρουσίασε πολύ χαμηλή

ικανότητα εγκλεισμού στην αμυλόζη και ταχεία απελευθέρωση κατά την επαναδιάλυση του συμπλόκου. Το φαινόμενο αυτό αποδόθηκε στην απουσία πολικών ομάδων στο μόριο του λεμονενίου, οι οποίες θα μπορούσαν να προσδώσουν μεγαλύτερη σταθερότητα στη δομή του συμπλόκου (Ades et al., 2012). Επιπλέον, ένα ακόμη συμπέρασμα ήταν ότι το κηρώδες άμυλο δεν παρουσίασε συμπλοκοποίηση με καμία από τις αρωματικές ουσίες με τις οποίες αναμίχθηκε, προφανώς λόγω του ότι συνίσταται από σχεδόν 100% αμυλοπηκτίνη, η οποία δεν παρουσιάζει υψηλή τάση δημιουργίας συμπλόκων.

B. ΣΚΟΠΟΣ

Το ρύζι και τα ζυμαρικά αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της διατροφής για περισσότερο από το 50% του παγκόσμιου πληθυσμού, καθώς διαθέτουν πλούσιο περιεχόμενο σε υδατάνθρακες και μπορούν με αυτόν τον τρόπο να καλύπτουν καθημερινά ένα μεγάλο μέρος των ενεργειακών – θερμιδικών αναγκών του ανθρώπου. Όσον αφορά στο ρύζι, παρέχει μια σημαντική ποσότητα πρωτεϊνών φυτικής προέλευσης, είναι ελεύθερο γλουτένης, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να καταναλωθεί ακόμα και από άτομα που πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη (καφέ, μαύρο ρύζι). Παράλληλα, συγκεκριμένες ποικιλίες ρυζιού (parboiled, κόκκινο) διαθέτουν μια αξιοσημείωτη ποσότητα ωφέλιμων συστατικών όπως ιχνοστοιχεία, βιταμίνες, χρωστικές (ανθοκυανίνες), αντιοξειδωτικά, που καθιστούν το τρόφιμο πιο ελκυστικό με βάση τα σύγχρονα πρότυπα διατροφής. Ωστόσο, το λευκό ρύζι, το οποίο είναι και το πλέον εμπορεύσιμο προϊόν, στερείται σε μεγάλο βαθμό τα ωφέλιμα μικροσυστατικά που προϋπήρχαν στο έμφλοιο, καθώς και σε άλλους τύπους ρυζιού, λόγω της διαδικασίας αποφλοιώσης και της μύλωσης που υφίσταται. Για τον λόγο αυτόν έχουν γίνει κατά το παρελθόν αρκετές απόπειρες εμπλουτισμού του κατά κύριο λόγο με βιταμίνες και ιχνοστοιχεία (π.χ. σίδηρος, ψευδάργυρος) τόσο κατά τη φάση της καλλιέργειας, όσο και με βιομηχανικές διεργασίες, έπειτα από την παραλαβή των κόκκων ρυζιού.

Στη Μεσογειακή Διατροφή, εκτός των υπολοίπων τροφίμων, έχουν ενταχθεί και μια σειρά από βότανα, πολλά από τα οποία καλλιεργούνται από την αρχαιότητα στον Ελλαδικό χώρο. Τα βότανα αυτά έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς τόσο στην παρασκευή αφεψημάτων, καθώς παρουσιάζουν ποικίλες θεραπευτικές δράσεις, όσο και τη μαγειρική, προκειμένου να προσδίδουν στα τρόφιμα γεύσεις, αρώματα, αλλά και χρήσιμα συστατικά για τον οργανισμό, όπως είναι οι φαινολικές ουσίες που εντοπίζονται στα φύλλα και τα αιθέρια έλαιά τους.

Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η δημιουργία νέων εμπλουτισμένων τύπων ρυζιού και ζυμαρικών με γεύσεις, χρώματα, αρώματα και αντιοξειδωτικά συστατικά που να προέρχονται από βότανα και προϊόντα, τα οποία έχουν ενταχθεί στη Μεσογειακή Διατροφή. Ειδικότερα, στόχος είναι η παρασκευή 2 τύπων εμπλουτισμένου ρυζιού με υδατικά εκχυλίσματα βοτάνων (δυόσμου ή βασιλικού), ενός προϊόντος γρήγορου βρασμού (<10 min) και ενός τύπου ρυζιού έτοιμου προς

βρώση (ready-to-eat), καθώς και ενός τύπου εμπλουτισμένου ζυμαρικού με τομάτα και βασιλικό, προκειμένου να γίνει συγκριτική αξιολόγηση με τις αντίστοιχες μη εμπλουτισμένες μορφές των ίδιων τροφίμων. Για να συμβεί αυτό, χρειάζεται πρώτα να παρασκευαστούν τα μη εμπλουτισμένα προϊόντα εφαρμόζοντας υγροθερμικές επεξεργασίες κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες (ποσότητες, θερμοκρασία, διάρκεια θέρμανσης) και, στη συνέχεια, να ακολουθηθούν οι ίδιες συνθήκες για την παρασκευή και την υγροθερμική επεξεργασία των εμπλουτισμένων προϊόντων. Ταυτόχρονα, είναι απαραίτητο να ελεγχθεί η χημική σταθερότητα και η θερμική συμπεριφορά στις εφαρμοζόμενες υγροθερμικές συνθήκες για τα βότανα, τα εκχυλίσματά τους και τα συστατικά που χρησιμοποιούνται για να πραγματοποιηθεί ο εμπλουτισμός των τροφίμων.

Όσον αφορά στο ρύζι, εκτός της αξιολόγησης των ενδιάμεσων και τελικών εμπλουτισμένων προϊόντων από τεχνολογική άποψη, σκοπός είναι να μελετηθεί η προσρόφηση και ο μηχανισμός της πιθανής μεταφοράς-διάχυσης αντιοξειδωτικών ουσιών εντός των κόκκων λευκού μυλευμένου ρυζιού κατά τη διάρκεια βρασμού του σε υδατικό εκχύλισμα δυόσμου. Προκειμένου να γίνει εκτίμηση του συντελεστή διάχυσης D για μεμονωμένα μικροσυστατικά κρίνεται απαραίτητο να πραγματοποιηθούν δοκιμές βρασμού του λευκού ρυζιού σε διαφορετικές αραιώσεις υδατικού εκχυλίσματος βοτάνου, ώστε να διαπιστωθεί και η επίδραση της συγκέντρωσης του διαλύματος στη μεταφορά μάζας των επιμέρους συστατικών εντός του στερεού τροφίμου. Παράλληλα, χρειάζεται να εξεταστεί και το ενδεχόμενο επίτευξης ισορροπίας μεταξύ λευκού ρυζιού και των μελετούμενων συστατικών του εκχυλίσματος ύστερα από θεωρητικά άπειρο χρόνο υγροθερμικής επεξεργασίας, καθώς είναι και αυτό απαραίτητο για τη μελέτη του προβλήματος διάχυσης.

Σε άλλο κεφάλαιο της παρούσας διατριβής θα διερευνηθούν η κινητική εκρόφησης και το φαινόμενο της διάχυσης των αντιοξειδωτικών μικροσυστατικών στους κόκκους εμπλουτισμένου ρυζιού κατά τη διάρκεια βρασμού του σε περίσσεια υδατικού μέσου. Στη συνέχεια, ίδιου τύπου δείγματα εμπλουτισμένου ρυζιού θα υποστούν βρασμό περιορισμένης διάρκειας με χρήση προσαρμοσμένης ποσότητας υδατικού μέσου, ώστε να διαπιστωθεί η θερμική σταθερότητα των προσροφημένων συστατικών του εκχυλίσματος στο ρύζι, έπειτα από εφαρμογή μιας κλασικής μεθόδου ενυδάτωσης ρυζιού με γρήγορο βρασμό. Σκοπός αυτών των πειραμάτων είναι να διαπιστωθεί κατά πόσο είναι εφικτή η παρασκευή ενός προϊόντος εμπλουτισμένου

ρυζιού γρήγορου βρασμού (<10 min), να γίνει χημική αξιολόγηση της ποιότητας και της ποσότητας για συγκεκριμένες ομάδες βιοδραστικών συστατικών του, ενώ παράλληλα να εξεταστεί ο τρόπος σύζευξης και οι πιθανές αλληλεπιδράσεις των συστατικών του ρυζιού, και ειδικότερα του αμύλου, με συγκεκριμένες ομάδες ουσιών που το εμπλουτίζουν (π.χ. φαινολικά συστατικά). Η δημιουργία πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ μακροσυστατικών του ρυζιού (π.χ. βιοπολυμερών) και επιμέρους φαινολικών μικροσυστατικών, μακροσκοπικά και σε μοριακό επίπεδο, θα διερευνηθεί με εφαρμογή συγκεκριμένων εργαστηριακών μεθόδων όπως είναι η Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC) η τεχνική Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) και το Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (SEM).

Τέλος, όσον αφορά στα προϊόντα ζυμαρικών που θα εξεταστούν (λευκό, εμπλουτισμένο) σκοπός είναι να διαπιστωθεί η δυνατότητα παρασκευής ενός εμπλουτισμένου ζυμαρικού με φύλλα βασιλικού και τομάτα, να μελετηθεί η θερμική σταθερότητα και η κινητική εκρόφησης συγκεκριμένων ομάδων φυτοχημικών συστατικών του κατά την προετοιμασία του τροφίμου προς βρώση με βρασμό και να αναδειχθεί η ενδεχόμενη υπεροχή του, τόσο από διατροφική, όσο και οργανοληπτική άποψη, σε σχέση με το αντίστοιχο προϊόν λευκού ζυμαρικού.

Γ. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Θερμική σταθερότητα υδατικών εκχυλισμάτων δυόσμου (*Mentha spicata*) και βασιλικού (*Ocimum basilicum*) κατά τον βρασμό

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1.1 Παραλαβή υδατικού εκχυλίσματος βοτάνου

Σκοπός

Η εκχύλιση των συστατικών του βοτάνου σε θερμό νερό και η παραλαβή του εκχυλίσματος. Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε ήταν απιονισμένο νερό.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Αποξηραμένα φύλλα βοτάνου (δυόσμου, βασιλικού)
- Απιονισμένο νερό

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας 3 δεκαδικών ψηφίων (Ohaus)
- Ογκομετρικός κύλινδρος 1 L
- Ηλεκτρική κουζίνα (PITSOS, Uniflam POP, 7680 PK)
- Μαγειρικά σκεύη
- Διηθητικό χαρτί
- Γυάλινο χωνί

Αναλυτική διαδικασία

Ογκομετρήθηκαν 3,5 L απιονισμένου νερού και προστέθηκαν σε χύτρα που τοποθετήθηκε σε εστία ηλεκτρικής κουζίνας έως ότου βράσει το νερό και στη συνέχεια αποσύρθηκε από την εστία. Αμέσως μετά εμβαπτίστηκαν στο θερμό νερό 50 g φύλλων βοτάνου (δυόσμου ή βασιλικού) και παρέμειναν για 10 min, προκειμένου να εκχυλιστούν τα συστατικά του βοτάνου. Το μίγμα αναδεύονταν περιοδικά και μετά το πέρας των 10 min το εκχύλισμα διηθήθηκε ώστε να απομακρυνθούν τα φύλλα του βοτάνου και να κατακρατηθούν τα λεπτόκοκκα σωματίδιά του. Η υδατική εκχύλιση τόσο των φύλλων δυόσμου, όσο και των φύλλων βασιλικού πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν.

1.2 Παραλαβή δειγμάτων ξηρού εκχυλίσματος βοτάνου που έχει υποστεί βρασμό

Σκοπός

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος βοτάνου σε διαλυτά στερεά και ο παρατεταμένος βρασμός του (40 min) προκειμένου να διαπιστωθεί πιθανή θερμική υποβάθμιση των αντιοξειδωτικών συστατικών του με τη διεξαγωγή χημικών αναλύσεων.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Υδατικό εκχύλισμα βοτάνου (δύσμου ή βασιλικού)

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας 3 δεκαδικών ψηφίων (OHAUS)
- Ηλεκτρική κουζίνα (PITSOS, Uniflam POP, 7680 PK)
- Μαγειρικά σκεύη
- Σιφώνιο 10 mL
- Δοκιμαστικοί σωλήνες των 10 mL
- Συσκευή λυοφιλίωσης (Telstar Cryodos, Terrassa, Spain)

Αναλυτική διαδικασία

Από τα παρασκευασθέντα υδατικά εκχυλίσματα δύσμου και βασιλικού (παράγραφος Γ 1.1) παραλήφθηκαν με γυάλινο σιφώνιο 10 mL και τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες (10 mL) με πώμα, από τους οποίους είχε ληφθεί απόβαρο. Το υπόλοιπο του κάθε εκχυλίσματος ($3 \pm 0,1$ L) εισήχθει σε χύτρα, τοποθετήθηκε σε εστία ηλεκτρικής κουζίνας και αφέθηκε να βράσει. Λήφθηκαν δείγματα (10 mL) σε γυάλινα σωληνάκια με πώμα με χρήση σιφωνίου 10 mL μόλις ξεκίνησε ο βρασμός του εκχυλίσματος, καθώς και σε χρόνους βρασμού από t_0 έως και t_{40} min, αρχικά ανά 2 min έως τα πρώτα 20 min ($t_0 - t_{20}$) και στη συνέχεια ανά 5 min ($t_{20} - t_{40}$). Στόχος ήταν να μελετηθεί η αντοχή των συστατικών του εκχυλίσματος στη θερμική καταπόνηση σε χρόνο έως και διπλάσιο από έναν μέσο χρόνο υγροθερμικής επεξεργασίας του λευκού ρυζιού (20 min).

Μετά το πέρας της διαδικασίας, οι προζυγισμένοι δοκιμαστικοί σωλήνες (απόβαρο) ζυγίσθηκαν σε ζυγό ακριβείας (μικτό βάρος) και πωματίστηκαν. Στη συνέχεια, τα δείγματα οδηγήθηκαν προς ξήρανση με κατάψυξη ώσπου παραλήφθηκαν τα αποξηραμένα εκχυλίσματα δύσμου και βασιλικού σε σκόνη. Μετά το πέρας της λυοφιλίωσης, τα σωληνάκια ζυγίσθηκαν εκ νέου για καταγραφή της ολικής ποσότητας του εκχυλίσματος που παραλήφθηκε, καθώς και της ποσότητας

υγρασίας που εξαχνώθηκε, προκειμένου να εξαχθεί συμπέρασμα για τη συγκέντρωση του υδατικού εκχυλίσματος.

1.3 Προετοιμασία αποξηρασμένων δειγμάτων εκχυλίσματος δυόσμου και βασιλικού για χημικές αναλύσεις

Σκοπός

Ο προσδιορισμός της ισοδύναμης ποσότητας πολυφαινόλων και αντιοξειδωτικών που υπάρχουν στο υδατικό εκχύλισμα του βοτάνου έπεται από παρατεταμένο βρασμό του (40 min).

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Υδατικά εκχυλίσματα βοτάνου (δυόσμου ή βασιλικού) σε μορφή σκόνης
- Απιονισμένο νερό
- Μεθανόλη (MeOH) εργαστηρίου αναλυτικής καθαρότητας (Merck, Darmstadt, Germany)

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων (OHAUS)
- Δοκιμαστικοί σωλήνες των 10 mL
- Συσκευή Vortex (VELP Scientifica)
- Αυτόματη πιπέτα 100-1000 μ L (Eppendorf Reference)
- Συσκευή υπερήχων (S₆₀ Elmasonic, ELMA)

Αναλυτική διαδικασία

Από κάθε δείγμα που παραλήφθηκε όπως περιγραφηκε στην παράγραφο Γ 1.2 ζυγίστηκαν $10 \pm 0,1$ mg θερμικά καταπονημένου ξηρού εκχυλίσματος δυόσμου και βασιλικού σε καθαρούς δοκιμαστικούς σωλήνες και προστέθηκαν σε καθένα 1 mL μεθανόλης (MeOH) για αναδιάλυση της ποσότητας των εκχυλισμάτων. Τα σωληνάκια πωματίστηκαν, αναδεύτηκαν με συσκευή vortex και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν για 5 min σε συσκευή υπερήχων για αύξηση της διαλυτότητας των συστατικών του εκχυλίσματος. Η ίδια ακριβώς διαδικασία επί των ιδίων ξηρών δειγμάτων επαναλήφθηκε χρησιμοποιώντας ως διαλύτη το απιονισμένο νερό (1 mL/δείγμα).

1.4 Αξιολόγηση θερμικά καταπονημένων εκχυλισμάτων βοτάνων ως προς το φαινολικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική τους δράση

1.4.1 Εκτίμηση του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου με τη δοκιμή Folin–Ciocalteu

Σκοπός

Ως Folin–Ciocalteu ορίζεται το μίγμα των μεταλλικών αλάτων που αντιδρούν με έναν ενεργοποιημένο βενζοϊκό δακτύλιο (πυρήνα). Η ενεργοποίηση του δακτυλίου ορίζεται από την ύπαρξη ομάδων υδροξυλίου. Ενεργοποιημένους δακτυλίους αποτελούν οι πολυφαινόλες, ενώ τους συναντάμε και στα αμινοξέα που συνθέτουν τις πρωτεΐνες.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Αντιδραστήριο Folin–Ciocalteu (Merck, Darmstadt, Germany)
- Κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 , 20% w/v)
- Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας (Merck, Darmstadt, Germany)
- Απιονισμένο νερό
- Γαλλικό οξύ ως πρότυπη ουσία (Gallic acid, GA) (Sigma Aldrich)
- Υδατικά εκχυλίσματα δειγμάτων βοτάνου (10 mg ξηρού εκχυλίσματος/mL)

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων (Ohaus)
- Συσκευή Vortex (VELD Scientifica)
- Φωτόμετρο (Analyticjena Specord 200)
- Αυτόματη πιπέτα 100-1000 μL (Eppendorf Reference)
- Αυτόματη πιπέτα 10-100 μL (Hirschmann Laborgerate)
- Eppendorfs των 1,5 mL
- Ογκομετρική φιάλη 100 mL

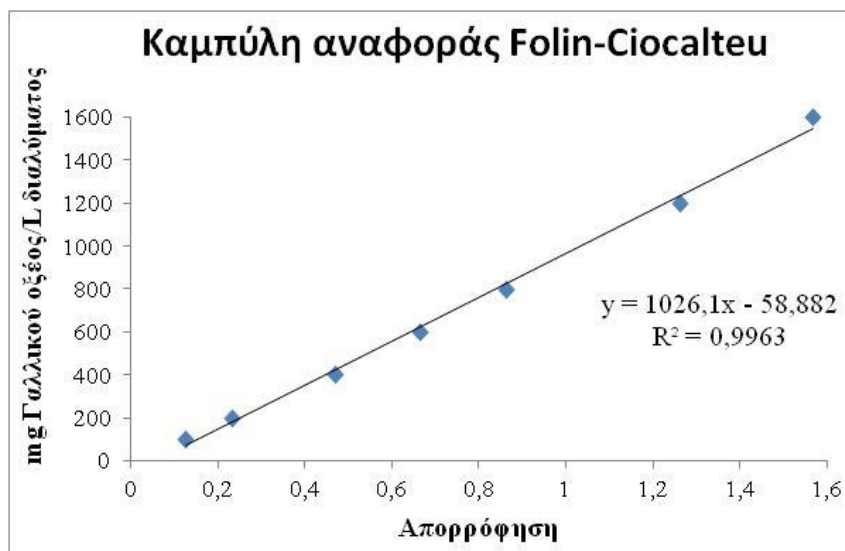
Αναλυτική διαδικασία

Γενικά, ακολουθήθηκε η τεχνική που αναπτύχθηκε σε εργασία των Arnous et al. (2002) με μικρές προσαρμογές. Αναλυτικότερα, σε σωλήνες eppendorf προστέθηκε απιονισμένο νερό όγκου 790 μL κι έπειτα 10 μL δείγματος (στα δύο δείγματα ελέγχου που παρασκευάστηκαν (blank), προστέθηκαν μόνο 800 μL νερού). Στη συνέχεια ακολούθησε προσθήκη 50 μL αντιδραστηρίου Folin–Ciocalteu. Το μίγμα αναδεύτηκε σε συσκευή vortex και παρέμεινε για 1 min σε ηρεμία. Κατόπιν,

προστέθηκαν 150 μL κορεσμένου διαλύματος Na_2CO_3 και το μίγμα ανακινήθηκε ξανά. Ακολούθησε παραμονή στο σκοτάδι για 2 ώρες. Όλα τα δείγματα επεξεργάστηκαν και φωτομετρήθηκαν εις τριπλούν. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρήθηκε στα 750 nm ως προς το δείγμα ελέγχου (blank). Για την αξιολόγηση των μετρήσεων της απορρόφησης κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς με γαλλικό οξύ και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος (GAE)/g ξηρού εκχυλίσματος βοτάνου.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς για τον προσδιορισμό ολικών πολυφαινολών

Από μητρικό μεθανολικό διάλυμα γαλλικού οξέος παρασκευάστηκε με αραιώση διάλυμα εργασίας συγκέντρωσης 1000 $\mu\text{g/mL}$ (1 mg/mL). Έπειτα, από το διάλυμα εργασίας παρασκευάστηκαν διαλύματα συγκέντρωσης 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 και 900 $\mu\text{g/mL}$. Ακολουθήθηκε η αναλυτική πορεία που περιγράφηκε παραπάνω για τον προσδιορισμό του πολυφαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων. Οι μετρήσεις της απορρόφησης στα 750 nm χρησιμοποιήθηκαν για τον σχεδιασμό πρότυπης καμπύλης αναφοράς (Σχήμα 11).



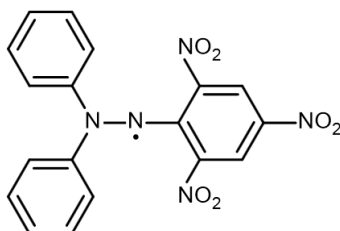
Σχήμα 11: Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος (mg/L διαλύματος).

1.4.2 Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας δειγμάτων μέσω μετρήσεων της ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH

Σκοπός

Για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας όλων των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος DPPH $^{\cdot}$ όπως έχει περιγραφεί από τους Arnous et al.

(2002) με μικρές αναπροσαρμογές της μεθόδου. Στη μέθοδο αυτή οι αντιοξειδωτικές ουσίες των δειγμάτων δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH[•] (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Σχήμα 12). Όσο περισσότερες ελεύθερες ρίζες δεσμεύονται, δηλαδή αντιδρά μεγαλύτερο ποσοστό του αντιδραστήριου με το δείγμα, το χρώμα του διαλύματος αλλάζει από μωβ σε κίτρινο. Σκοπός είναι ο υπολογισμός της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας των εκχυλισμάτων δυόσμου και βασιλικού που έχουν υποστεί παρατεταμένο βρασμό και τα αποτελέσματα προκύπτουν βάσει καμπύλης αναφοράς, για την κατασκευή της οποίας χρησιμοποιούνται πρότυπα διαλύματα Trolox (ανάλογο της Βιταμίνης E με ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH[•]), ενώ εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox.



Σχήμα 12: Η ρίζα του DPPH[•].

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Trolox (Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)
- DPPH[•] (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)
- MeOH εργαστηρίου αναλυτικής καθαρότητας (Merck, Darmstadt, Germany)
- Υδατικά εκχυλίσματα δειγμάτων βοτάνου (10 mg ξηρού εκχυλίσματος/mL)

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων (Ohaus)
- Συσκευή Vortex (VELD Scientifica)
- Φωτόμετρο (Analyticjena Specord 200)
- Αυτόματη πιπέτα 100-1000 μ L (Eppendorf Reference)
- Αυτόματη πιπέτα 10-100 μ L (Hirschmann Laborgerate)
- Eppendorfs των 1,5 mL
- Falcons των 50 mL
- Ογκομετρική φιάλη 250 mL

Αναλυτική διαδικασία

Πριν την έναρξη της διαδικασίας, παρασκευάστηκε διάλυμα DPPH[•] σε MeOH (100 μM) ζυγίζοντας 0,0099 g αντιδραστηρίου DPPH[•] και διαλύοντάς το σε 250 ml MeOH. Το διάλυμα χωρίστηκε σε falcons των 50 mL και αποθηκεύθηκε σε κατάψυξη.

Για την παρασκευή των προς μέτρηση διαλυμάτων παραλήφθηκαν 25 μL από κάθε δείγμα υδατικού εκχυλίσματος βοτάνου και προστέθηκαν μαζί με 975 μl διαλύματος DPPH[•] σε erpendorfs των 1,5 mL. Κάθε τέτοιο μίγμα παρασκευάστηκε 3 φορές για επανάληψη της φωτομέτρησης και εξαγωγή του μέσου όρου των μετρήσεων. Στη συνέχεια, τα erpendorfs με τα μίγματα αναδεύθηκαν με Vortex και τοποθετήθηκαν στο σκοτάδι για τουλάχιστον μισή ώρα, ώστε να γίνει η αντίδραση δέσμευσης της ρίζας DPPH[•]. Μετά το πέρας της μισής ώρας πραγματοποιήθηκαν οι φωτομετρήσεις. Το φασματοφωτόμετρο ρυθμίστηκε στα 515 nm και όλα τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε κυψελίδες όπου φωτομετρήθηκαν από το πιο σκούρο δείγμα στο πιο ανοιχτόχρωμο.

Οι τιμές της απορρόφησης των δειγμάτων προσαρμόστηκαν στον παρακάτω τύπο και προέκυψε η % μείωση των ριζών DPPH, δηλαδή το ποσοστό των ριζών που δεσμεύτηκαν (ανάλογο της Βιταμίνης E) από το κάθε δείγμα ως εξής:

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

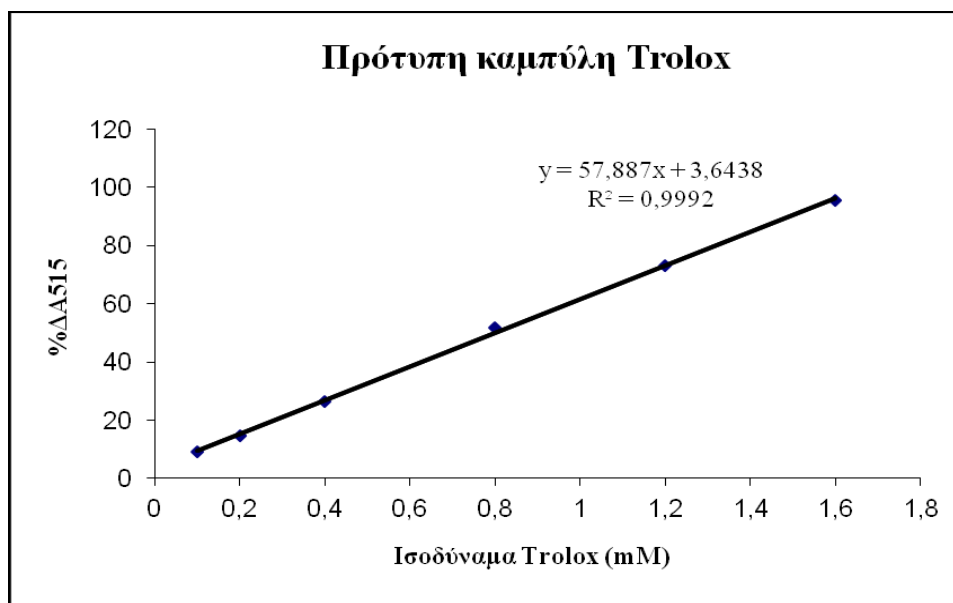
Για την αξιολόγηση των μετρήσεων της απορρόφησης κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς με Trolox και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg ισοδυνάμων Trolox/g ξηρού εκχυλίσματος βοτάνου.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς για προσδιορισμό ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας

Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς παρασκευάστηκαν τα πρότυπα διαλύματα Trolox σε MeOH 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).

Ακολουθήθηκε η αναλυτική πορεία που περιγράφηκε παραπάνω για τον προσδιορισμό της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων. Για τις μετρήσεις της απορρόφησης στα 515 nm υπολογίστηκε η % ΔA_{515} σύμφωνα με τον παραπάνω τύπο. Οι τιμές % ΔA_{515} και οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις των προτύπων

διαλυμάτων Trolox χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς όπως φαίνεται στο Σχήμα 13.

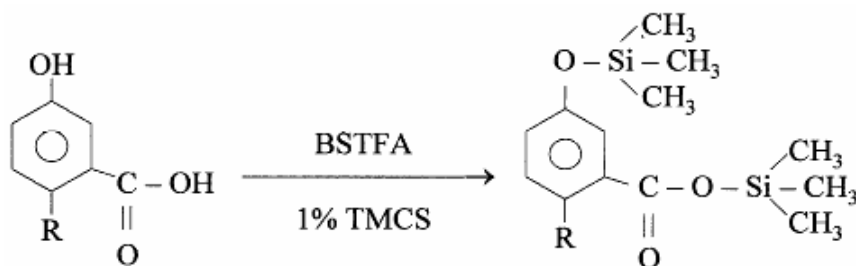


Σχήμα 13: Καμπύλη αναφοράς της απορρόφησης σε συνάρτηση με τα ισοδύναμα Trolox (mM).

1.4.3 Αντίδραση σιλυλίωσης

Σκοπός

Η σιλυλίωση αποτελεί αντίδραση μετατροπής ουσιών στα πτητικά τους παράγωγα, καθώς οι πολυφαινόλες είναι πολικές και χαμηλής πτητικότητας ενώσεις, που κατακρατούνται από τα υλικά της αέριας χρωματογραφίας και δεν ανιχνεύονται απευθείας όταν βρίσκονται στην ελεύθερη μορφή τους από τον χρωματογράφο. Η αντίδραση σιλυλίωσης περιλαμβάνει τη μετατροπή των $-OH$ σε αιθερομάδες και τη μετατροπή των $-COOH$ σε εστερομάδες σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση (Σχήμα 14):



Σχήμα 14: Αντίδραση σιλυλίωσης.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Εσωτερικό πρότυπο πολυφαινολών (3-(4-υδροξύ-φαινύλο)-1-προπανόλη) συγκέντρωσης 2 µg/mL
- Δι (τριμεθυλοσιλυλο)-τριφθοροακεταμίδιο (BSTFA)
- Αναδιαλυμένα ξηρά εκχυλίσματα βοτάνου σε μεθανόλη

Όργανα

- Αυτόματη πιπέτα 100-1000 µL (Eppendorf Reference)
- Vials
- Συσκευή ξήρανσης κενού Speedvac (CentriVac Concentrator, LABCONCO)
- Απαγωγός
- Υδατόλουτρο (Mettmert)

Αναλυτική διαδικασία

Με αυτόματη πιπέτα παραλήφθηκαν 500 µL από τα μεθανολικά εκχυλίσματα των δυόσμου και βασιλικού που παρασκευάστηκαν όπως περιγράφηκε στην παράγραφο Γ 1.3 και τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια vials όπου προστέθηκαν επιπλέον 50 µL εσωτερικού προτύπου πολυφαινολών. Τα vials τοποθετήθηκαν σε συσκευή SpeedVac για εξάτμιση του διαλύτη και μετά την ξήρανση τοποθετήθηκαν σε απαγωγό και προστέθηκαν σε καθένα από αυτά 250 µL αντιδραστηρίου BSTFA. Ακολούθησε ερμητικό σφράγισμα των vials και επώαση του περιεχομένου τους σε υδατόλουτρο στους 70°C για 20 min. Μετά από αυτή τη διαδικασία τα δείγματα ήταν έτοιμα προς μέτρηση του περιεχομένου τους σε επιμέρους φαινολικά συστατικά με χρήση συσκευής αέριας χρωματογραφίας (GC/MS).

1.4.4 Προσδιορισμός απλών πολυφαινολών με αέρια χρωματογραφία/φασματοσκοπία μάζας (GC/MS)

Σκοπός

Η ποιοτική και ποσοτική ανάλυση επιμέρους πολυφαινολών σε θερμικά καταπονημένα δείγματα εκχυλίσματος βοτάνου.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Vials με σιλυλιωμένα δείγματα

Όργανα

- Συσκευή αέριας χρωματογραφίας (GC) (6890N Agilent Technologies εφοδιασμένος με 5973 Mass Selective Detector & 7683 Series Injector)

Αναλυτική διαδικασία

Ο διαχωρισμός των πολυφαινολικών συστατικών έγινε με αέρια χρωματογραφία, ενώ η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός τους έγινε με φασματογράφο μάζας με τεχνική εκλεκτικής παρακολούθησης ιόντων (Selective Ion Monitoring - SIM) ακολουθώντας τη μέθοδο που αναπτύχθηκε από τους Kalogeropoulos et al. (2009). Οι συνθήκες αέριας χρωματογραφίας ήταν:

- Θερμοκρασία εισαγωγέα: 250°C
- Θερμοκρασία γραμμής μεταφοράς του δείγματος από την αεριοχρωματογραφική στήλη στον ανιχνευτή MSD (MSD transfer line): 300°C
- Όγκος δείγματος: 1 μ L
- Φέρον αέριο: υψηλής καθαρότητας He με ροή 0,6 mL/min
- Αναλογία αραίωσης δείγματος με φέρον αέριο (split ratio): 1/20
- Στήλη: τριχοειδής στήλη HS-5 MS με επικάλυψη 5% phenyl - 95% methyl siloxane, μήκους 30 m, με εσωτερική διάμετρο 0,25 mm και πάχος εσωτερικής επίστρωσης 0,25 μ m.
- Θερμοκρασιακό πρόγραμμα φούρνου του αεριοχρωματογράφου: (α) 70°C για 5 min, (β) 70–130°C με ρυθμό ανόδου 15°C/min, (γ) 130–160°C με ρυθμό ανόδου 4°C/min και παραμονή για 15 min, (δ) άνοδος από 160–300°C με ρυθμό 10°C/min και (ε) παραμονή στην τελική θερμοκρασία για 15 min.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο του εσωτερικού προτύπου. Ως τέτοιο, επιλέχθηκε η 3-(4-υδρόξυ-φαίνυλο)-1-προπανόλη. Η ανίχνευση των πολυφαινολών και των τερπενικών οξέων βασίστηκε στην παρουσία των επιλεγμένων προς σάρωση ιόντων με ανοχή $\pm 0,05$ RT, όπου RT = χρόνος κατακράτησης. Οι ποσοτικοί υπολογισμοί για τα 24 φαινολικά συστατικά που εξετάστηκαν βασίστηκαν στα ιόντα στόχους (target ions), ενώ χρησιμοποιήθηκαν και 1-2 ιόντα επιβεβαίωσης (qualifier ions), των οποίων η αναλογία σημάτων επιβεβαιώνει ή απορρίπτει την υπόθεση ταυτοποίησης του κάθε συστατικού (Πίνακας 9). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε μ g συστατικών/g ξηρού εκχυλίσματος δυόσμου.

Πίνακας 9: Επιμέρους φαινολικά συστατικά που ποσοτικοποιήθηκαν με βάση μέθοδο SIM που αναπτύχθηκε σε GC/MS. (Kalogeropoulos et al., 2009)

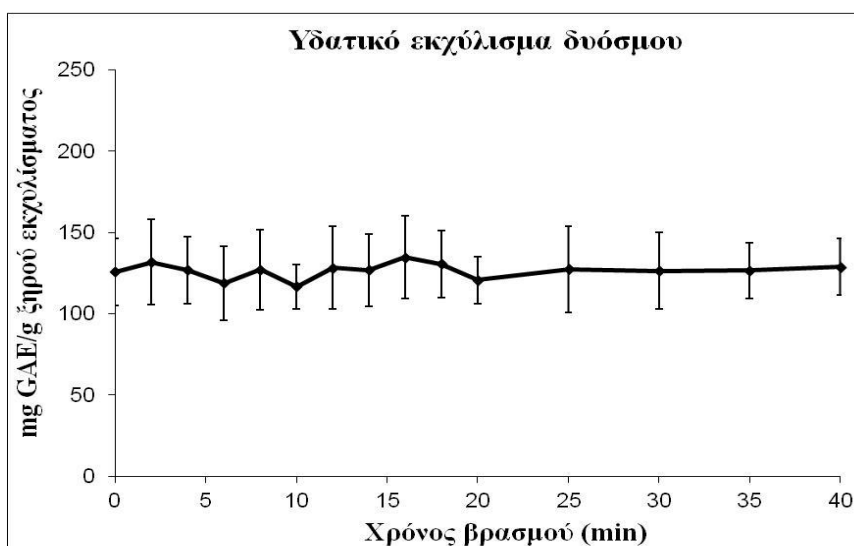
Φαινολικά συστατικά	Ιόν-Στόχος (m/z) ¹	Δευτερεύοντα ιόντα (m/z) ¹
3-(4-Υδροξυφαινυλο)-1-προπανόλη ²	206	191, 179, 209
Κιναμμωμικό οξύ	205	220
Τυροσόλη	179	282, 267
π-Υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	267	223, 193
π-Υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	252	281, 296
Ομοβανιλλική αλκοόλη	209	179
Φλωρετικό οξύ	192	310
Βανιλλικό οξύ	297	312, 267
Πρωτοκατεχικό οξύ	193	370, 355
3,4-Διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	384	267, 179
Συριγγικό οξύ	327	342, 312
π-Κουμαρικό οξύ	308	293, 219
Γαλλικό οξύ	281	458, 443
Φερουλικό οξύ	338	323, 308
Καφεϊκό οξύ	396	381, 219
Σιναπικό οξύ	368	353, 338
Ρεσβερατρόλη	444	445, 443
Επικατεχίνη	368	355, 383
Ναριγκενίνη	473	296, 487
Κατεχίνη	368	355, 650
Καμφερόλη	559	560
Χλωρογενικό οξύ	345	307, 324
Κερκετίνη	647	559, 575
Ολεανολικό οξύ	203	320, 482
Ουρσολικό οξύ	203	320

¹Συλλυωμένα παράγωγα πολυφαινολών

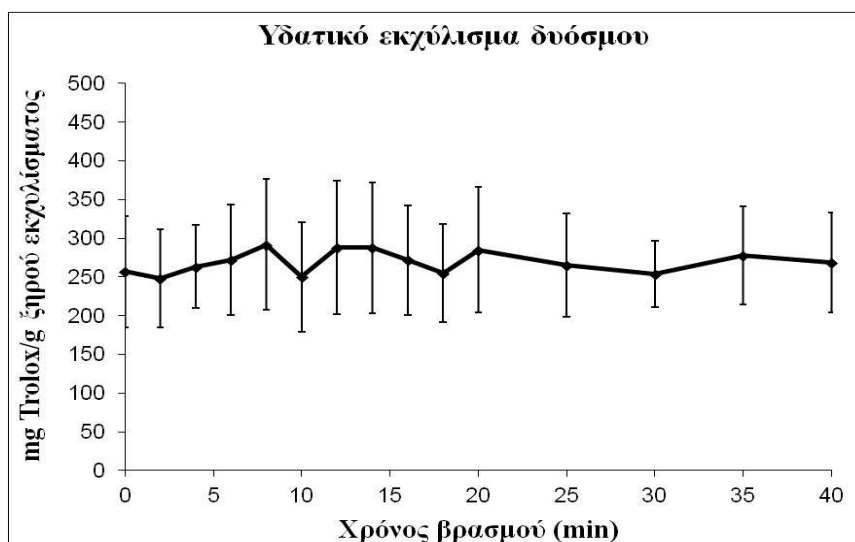
²Εσωτερικό πρότυπο

1.5 Χημική ανάλυση και θερμική σταθερότητα υδατικών εκχυλισμάτων δυόσμου και βασιλικού κατά τον βρασμό

Αρχικά, μόλις παρασκευάστηκε και παραλήφθηκε υδατικό εκχύλισμα από ξηρά φύλλα δυόσμου (50 g), μελετήθηκε το πολυφαινολικό και το αντιοξειδωτικό του προφίλ, ενώ στη συνέχεια εκτιμήθηκε και η θερμική συμπεριφορά των συστατικών του κατά τη διάρκεια παρατεταμένου βρασμού του (40 min). Τα αποτελέσματα των μετρήσεων που αφορούν το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική ικανότητα των θερμικά καταπονημένων εκχυλισμάτων δυόσμου απεικονίζονται στα Σχήματα 15 και 16, ενώ η σύστασή τους σε επιμέρους φαινολικά συστατικά φαίνεται στον Πίνακα 10, όπου για λόγους απλότητας παρουσιάζονται μόνο οι μετρήσεις για τις δειγματοληψίες σε χρόνους βρασμού $t=0$, $t=20$ και $t=40$ min. Οι ίδιες αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν και σε υδατικό εκχύλισμα βασιλικού, το οποίο παρασκευάστηκε με τον ίδιο τρόπο όπως και το εκχύλισμα δυόσμου. Τα κυριότερα αποτελέσματα παρατίθενται στο Παράρτημα της παρούσας διατριβής (Σχήματα 54, 55 και 56).



Σχημα 15: Ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο αποξηραμένου υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου ως συνάρτηση του χρόνου βρασμού (40 min). Όλες οι τιμές του πολυφαινολικού περιεχομένου έχουν εκφραστεί ως μέσες τιμές mg GAE (ισοδυνάμων γαλλικού οξέος)/g ξηρού εκχυλίσματος βοτάνου. Οι γραμμές σφάλματος αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση των δειγμάτων ($n=3$).



Σχήμα 16: Αντιοξειδωτική ικανότητα αποξηραμένου υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου ως συνάρτηση του χρόνου βρασμού έως 40 min. Όλες οι τιμές έχουν εκφραστεί ως μέσες τιμές mg ισοδυνάμων Trolox/g ξηρού εκχυλίσματος βοτάνου. Οι γραμμές σφάλματος αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση των δειγμάτων (n=3).

Το υδατικό εκχύλισμα δυόσμου, μόλις παρασκευάστηκε, βρέθηκε να έχει συγκέντρωση διαλυτών στερεών $0,43 \pm 0,01\%$ w/v σε διαλυτά στερεά, ενώ, έπειτα από ανάλυση με GC/MS, φάνηκε να περιέχει τις περισσότερες από τις φαινολικές ουσίες που εξετάστηκαν στη μέθοδο. Τα κυρίαρχα φαινολικά συστατικά, όπως απεικονίζονται στον Πίνακα 10, ήταν το καφεϊκό, το χλωρογενικό και το 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ. Η επιλογή του δυόσμου για παρασκευή εκχυλίσματος έγινε κατά κύριο λόγο εξαιτίας της Μεσογειακής του προέλευσης, αλλά στηρίχθηκε επίσης και στο γεγονός ότι υδατικά εκχυλίσματά του έχουν παρουσιάσει τις υψηλότερες τιμές ολικών πολυφαινολών, καθώς και μεταξύ των υψηλότερων τιμών σε αντιοξειδωτικό περιεχόμενο έπειτα από διερεύνηση και σύγκριση 23 διαφορετικών εκχυλισμάτων βοτάνων (Kiselova et al., 2006). Επίσης, οι Kourimska et al., (2014) χρησιμοποίησαν φύλλα δυόσμου, προερχόμενα είτε από συμβατικές, είτε οργανικές καλλιέργειες, προκειμένου να παρασκευάσουν εκχυλίσματα εφαρμόζοντας εκχύλιση (10 min) με εμβάπτιση των φύλλων σε θερμό νερό 70°C . Οι τιμές των ολικών πολυφαινολών που προσδιόρισαν κυμάνθηκαν στα επίπεδα των 35,6-71,9 mg GAE (ισοδυνάμων γαλλικού οξέος)/g ξηρού εκχυλίσματος. Οι αντίστοιχες μέσες τιμές στην παρούσα έρευνα ήταν της τάξης των 125,7 mg GAE/g ξηρού εκχυλίσματος, δηλαδή ανήκαν στην ίδια τάξη μεγέθους. Η αύξηση που παρατηρήθηκε ενδεχομένως

να οφείλεται στην αυξημένη εκχυλισιμότητα λόγω υψηλότερης θερμοκρασίας θερμού νερού που χρησιμοποιήθηκε στην έρευνά μας κατά την εκχύλιση (86-100°C).

Πίνακας 10: Συγκέντρωση επιμέρους φαινολικών συστατικών (GC/MS), ολικές πολυφαινόλες και αντιοξειδωτική ικανότητα ξηρού εκχυλίσματος δυόσμου σε 3 χαρακτηριστικούς χρόνους βρασμού.

Φαινολικά συστατικά (μg/g ξηρού εκχυλίσματος)	Υδατικό εκχύλισμα δυόσμου σε βρασμό		
	t=0	t=20 min	t=40 min
Κιναμμοϊικό οξύ	N.D.	N.D.	N.D.
Τυροσόλη	17,4 ± 1,6 ^a	17,6 ± 0,9 ^a	17,6 ± 0,6 ^a
π-Υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	35,3 ± 4,1 ^a	37,7 ± 5,7 ^a	39,4 ± 5,3 ^a
π-Υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	17,3 ± 0,9 ^a	17,4 ± 0,8 ^a	17,5 ± 0,5 ^a
Ομοβανιλλική αλκοόλη	28,9 ± 6,6 ^a	29,8 ± 7,3 ^a	29,7 ± 7,3 ^a
Φλωρετικό οξύ	N.D.	N.D.	N.D.
Βανιλλικό οξύ	40,1 ± 8,3 ^a	41,7 ± 7,7 ^a	41,1 ± 8,8 ^a
Πρωτοκατεχικό οξύ	117,8 ± 9,3 ^a	125,3 ± 6,1 ^a	124,6 ± 5,3 ^a
3,4-Δυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	293,5 ± 4,7 ^a	339,3 ± 57,8 ^a	346,7 ± 67,8 ^a
Συριγγικό οξύ	68,9 ± 2,7 ^a	74,0 ± 4,4 ^a	73,1 ± 6,5 ^a
π-Κουμαρικό οξύ	169,3 ± 15,2 ^a	190,9 ± 26,8 ^a	181,0 ± 17,0 ^a
Γαλλικό οξύ	238,7 ± 44,2 ^a	197,6 ± 54,5 ^a	191,2 ± 78,3 ^a
Φερουλικό οξύ	65,5 ± 9,1 ^a	62,7 ± 1,9 ^a	64,7 ± 7,1 ^a
Καφεϊκό οξύ	965,2 ± 90,6 ^a	1101,3 ± 248,8 ^a	992,5 ± 149,3 ^a
Σιναπικό οξύ	5,2 ± 0,8 ^a	5,9 ± 0,7 ^a	5,3 ± 0,4 ^a
Ρεσβερατρόλη	N.D.	N.D.	N.D.
Επικατεχίνη	65,2 ± 25,4 ^a	34,4 ± 15,8 ^a	33,7 ± 18,1 ^a
Ναριγκενίνη	138,4 ± 5,9 ^a	134,8 ± 11,9 ^a	123,2 ± 23,9 ^a
Κατεχίνη	40,5 ± 11,0 ^a	22,8 ± 11,2 ^a	19,8 ± 13,2 ^a
Καμφερόλη	7,0 ± 2,4 ^a	7,0 ± 1,9 ^a	7,2 ± 2,1 ^a
Χλωρογενικό οξύ	302,2 ± 25,1 ^a	309,8 ± 41,3 ^a	344,8 ± 56,1 ^a
Κερκετίνη	44,0 ± 7,8 ^a	42,7 ± 11,7 ^a	41,2 ± 4,2 ^a
Ολεανολικό οξύ	37,1 ± 9,7 ^a	25,7 ± 8,4 ^a	23,4 ± 8,5 ^a
Ουρσολικό οξύ	N.D.	N.D.	N.D.
Ολικές πολυφαινόλες (mg GAE/g ξηρού εκχυλίσματος)	125,7 ± 20,7 ^a	120,8 ± 14,5 ^a	128,7 ± 17,4 ^a
Αντιοξειδωτική δράση (mg Trolox/g ξηρού εκχυλίσματος)	256,9 ± 71,7 ^b	285,0 ± 80,9 ^b	269,0 ± 64,5 ^b

Όλες οι μετρήσεις παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (n=3). Οι τιμές που βρίσκονται σε ίδιες γραμμές και ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα π.χ. a, b παρουσιάζουν στατιστικές σημαντικές διαφορές (p<0,05).

Οι Kivilompolo and Hyotylainen (2007) εξέτασαν το περιεχόμενο εκχυλίσματος φύλλων δυόσμου σε επιμέρους φαινολικά συστατικά εφαρμόζοντας μια μέθοδο σε υγρή χρωματογραφία και παρατήρησαν επίσης ότι το καφεϊκό και το

χλωρογενικό οξύ ήταν ποσοτικά οι επικρατέστερες μεταξύ των εξετασθέντων φαινολικών ουσιών, ενώ σε μικρότερες ποσότητες ανίχνευσαν γαλλικό, φερουλικό, βανιλικό, συριγγικό και π-κουμαρικό οξύ. Τα συγκεκριμένα αποτελέσματα βρίσκονται σε ποιοτική συμφωνία με τα αποτελέσματα που παρατίθενται στον Πίνακα 10, ωστόσο από ποσοτική άποψη η σύγκριση δεν είναι εφικτή, καθώς γίνεται χρήση οργανικού διαλύτη (αιθανόλης) στη διαδικασία εκχύλισης και επιπλέον εφαρμόζεται τελείως διαφορετική αναλυτική τεχνική για την ποσοτικοποίηση των ουσιών (Kivilompolo and Hyotylainen, 2007).

Όσον αφορά τη θερμική σταθερότητα του υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου ο Πίνακας 10 δείχνει ότι οι ολικές πολυφαινόλες και η αντιοξειδωτική δράση του εκχυλίσματος παρουσιάζουν υψηλή σταθερότητα κατά τη διάρκεια του βρασμού και για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 40 min. Μη στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p>0,05$) εμφανίζονται μεταξύ των τιμών που προκύπτουν από κάθε δειγματοληψία, ενώ ταυτόχρονα δεν φαίνεται κάποια σαφής τάση μείωσης ή αύξησης των συστατικών στο εκχύλισμα κατά τη διάρκεια του βρασμού σύμφωνα με τα Σχήματα 15 και 16. Επιπλέον, τα περισσότερα επιμέρους φαινολικά συστατικά καθ' όλη τη διάρκεια του βρασμού (17 από τα 20 που ανιχνεύθηκαν) παρουσίασαν αύξηση ή μείωση της συγκέντρωσής τους σε ποσοστά έως και 20% σε σχέση με τις αρχικές τιμές τους στο εκχύλισμα προ βρασμού. Αντίθετα, η κατεχίνη και η επικατεχίνη, που είναι φλαβανόλες σχετικά υψηλού μοριακού βάρους, καθώς και το ολεανολικό οξύ (τριτερπένιο σχετικά υψηλού μοριακού βάρους) ανιχνεύθηκαν στο υδατικό εκχύλισμα δυόσμου και φάνηκαν να υφίστανται θερμική υποβάθμιση σε υψηλότερο βαθμό, καθότι κατά τη διάρκεια του βρασμού παρατηρήθηκε ποσοτική τους μείωση της τάξης του 35% και άνω σε σχέση με τις μέσες τιμές συγκεντρώσεων που είχαν βρεθεί προ βρασμού. Ωστόσο, καμία αύξηση ή μείωση των συγκεντρώσεων στα ανιχνευθέντα επιμέρους συστατικά κατά τη διάρκεια των 40 min βρασμού δεν φάνηκε να είναι στατιστικά σημαντική ($p<0,05$).

Γενικά, οι υδατοδιαλυτές φαινόλες μπορούν να βρίσκονται στα βότανα, καθώς και σε άλλους φυτικούς ιστούς είτε σε ελεύθερη είτε σε συζευγμένη υδατοδιαλυτή μορφή (Nicoletti et al., 2013). Η πραγματοποιηθείσα υδατική εκχύλιση των φύλλων δυόσμου πιθανότατα να προκάλεσε είσοδο φαινολικών συστατικών και υπό τις 2 αυτές μορφές εντός του εκχυλίσματος. Μια πιθανή εξήγηση για τη θερμική σταθερότητα που επιδεικνύουν οι εξεταζόμενες ελεύθερες μορφές φαινολικών

συστατικών (GC/MS) του εκχυλίσματος είναι ότι η ενδεχόμενη θερμική καταπόνηση που υφίστανται λόγω του παρατεταμένου βρασμού ίσως να αντισταθμίζεται από μετατροπή μέρους των συζευγμένων υδατοδιαλυτών φαινολών στις αντίστοιχες ελεύθερες μορφές υπό την επίδραση της θερμότητας. Με βάση τη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν σχετικά λίγες μελέτες που εστιάζουν στη θερμική σταθερότητα υδατικών εκχυλισμάτων από τη στιγμή της παρασκευής τους και κατά τη διάρκεια κάποιας θερμικής τους επεξεργασίας και αυτό έχει συμβεί μόνο σε περιπτώσεις παρασκευής εκχυλισμάτων τσαγιού, όπου έχει μελετηθεί το περιεχόμενό τους σε φλαβονόλες και η θερμική συμπεριφορά π.χ. των κατεχινών.

Πιο συγκεκριμένα, οι Wang et al., (2000) παρασκεύασαν ρόφημα πράσινου τσαγιού μέσω έγχυσης φύλλων τσαγιού σε θερμό νερό (80°C) για χρόνο 4 min και το καθαρό εκχύλισμα θερμάνθηκε για 1 min σε θερμοκρασία 120°C, ενώ στη συνέχεια αποθηκεύθηκε σε χώρο θερμοκρασίας 50°C για 12 ημέρες. Τα αποτελέσματα της έρευνάς τους έδειξαν ότι οι ολικές φλαβονόλες του εκχυλίσματος ακολούθησαν μια συνεχή τάση μείωσης από τη στιγμή της παρασκευής έως και το πέρας του χρόνου αποθήκευσης, γεγονός που αποδόθηκε στις θερμικές διεργασίες που ακολούθηθηκαν. Μολαταύτα, η πρώτη θερμική επεξεργασία (1 min, 120°C) δεν είχε μόνον αρνητικό αντίκτυπο στις συγκεντρώσεις των επιμέρους φλαβονολών που εξετάστηκαν, καθώς σε κάποιες από αυτές, μεταξύ των οποίων και η κατεχίνη, έφερε ως αποτέλεσμα μια αύξηση συγκέντρωσης, ενώ παράλληλα οι αντίστοιχες επιμερείς ουσίες (π.χ. επικατεχίνη) εμφάνισαν ανάλογο μέγεθος μείωση συγκέντρωσης. Το φαινόμενο αυτό αποδόθηκε σε πιθανές τάσεις επιμερισμού, οι οποίες έχει βρεθεί να ευνοούνται σε θερμοκρασίες άνω των 100°C (Chen et al., 2001). Σε άλλη σχετική μελέτη, οι Stach & Schmitz (2001) υπέβαλαν σε θέρμανση (70°C) υδατικό εκχύλισμα πράσινου τσαγιού για χρόνο 1 h αμέσως μετά την παρασκευή του και παρατηρήθηκε μια αύξηση της τάξης του 53% στη συγκέντρωση της κατεχίνης, ενώ ταυτόχρονα η επιγαλλοκατεχίνη και ο γαλλικός εστέρας επιγαλλοκατεχίνης παρουσίασαν αντίστοιχα μειώσεις 21% και 14%. Όσον αφορά στην επικατεχίνη και τον γαλλικό εστέρα επικατεχίνης δεν φάνηκε να παρουσιάζουν κάποια αξιοσημείωτη μεταβολή στη συγκέντρωσή τους έπειτα από θέρμανση διάρκειας 1 h στους 70°C. Επίσης, οι Li et al. (2012) έδειξαν ότι η θέρμανση σε θερμοκρασία 80°C είχε ισχυρά αρνητικό αντίκτυπο, σε σχέση με τον χρόνο θέρμανσης, στην ποσότητα γαλλικού εστέρα επιγαλλοκατεχίνης όταν αυτή βρισκόταν σε χαμηλές συγκεντρώσεις (1-10 mg/L)

εντός υδατικών εκχυλισμάτων πράσινου τσαγιού. Αντίθετα, όμως, ήταν τα αποτελέσματα όσον αφορά στην ίδια φλαβανόλη, η οποία επέδειξε κατά πολύ υψηλότερη θερμική σταθερότητα για τουλάχιστον 500 min θέρμανσης (80°C) όταν η συγκέντρωσή της στο τσάι ξεπερνούσε τα 10 mg/L εκχυλίσματος. Η ίδια έρευνα κατέδειξε συνολικά μια ελάττωση της ποσότητας ορισμένων φλαβονολών (επικατεχίνη, γαλλικός εστέρας επικατεχίνης, επιγαλλοκατεχίνη και γαλλικός εστέρας επιγαλλοκατεχίνης) έπειτα από θέρμανση συμπυκνωμένων εκχυλισμάτων πράσινου τσαγιού στους 120°C για χρόνο 90 min, ενώ παράλληλα ουσίες όπως γαλλικός εστέρας της κατεχίνης και της γαλλοκατεχίνης παρουσίασαν συνεχή αύξηση της ποσότητάς τους που ερμηνεύτηκε από πιθανή ύπαρξη φαινομένων επιμερισμού.

Εκτός των παραπάνω, υπάρχει και μια επιπρόσθετη μελέτη που αφορά σε υδατικά εκχυλίσματα και εστιάζει στην επίδραση θερμικών διεργασιών στο αντιοξειδωτικό περιεχόμενο κόκκινου τσαγιού (rooibos). Ειδικότερα, οι von Gadown et al. (1997) έδειξαν ότι τα θερμικώς επεξεργασμένα εκχυλίσματα κόκκινου τσαγιού παρουσίασαν αύξηση στην αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Το γεγονός αυτό ερμηνεύτηκε από την πιθανή ενεργοποίηση αντιδράσεων τύπου Maillard κατά τη θέρμανση του εκχυλίσματος που μπορούν να οδηγήσουν σε σχηματισμό νέων προϊόντων, τα οποία ενδέχεται να διαθέτουν ακόμα και υψηλότερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα σε σχέση με τα συστατικά από τα οποία προήλθαν (Manzocco et al., 2001).

2. Ρόφηση μικροσυστατικών εκχυλίσματος δυόσμου σε λευκό ρύζι κατά τον βρασμό

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Εμπλουτισμός ρυζιού με υδροθερμική επεξεργασία εντός περίσσειας υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου

Σκοπός

Το τρόφιμο που επιλέχθηκε για εμπλουτισμό είναι ρύζι τύπου «νυχάκι» και είναι μυλεμένο, λευκού χρώματος, έτσι ώστε να μπορούν να είναι διακριτές πιθανές χρωματικές αλλαγές που να οφείλονται στον εμπλουτισμό του με το εκχύλισμα βοτάνου. Επιπλέον, το συγκεκριμένο ρύζι διατηρεί σπυρωτή υφή μετά το βρασμό του (δεν «λασπώνει»).

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Απιονισμένο νερό
- Υδατικό εκχύλισμα δυόσμου
- Ρύζι τύπου «νυχάκι»
- Διηθητικό χαρτί

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας 3 δεκαδικών ψηφίων (Ohaus)
- Ηλεκτρική κουζίνα (PITSOS, Uniflam POP, 7680 PK)
- Μαγειρικά σκεύη

Αναλυτική διαδικασία

Ζυγίσθηκαν 200 g ρυζιού, εκπλύθηκαν με άφθονη ποσότητα νερού βρύσης και αφέθηκαν να στραγγίσουν. Υδατικό εκχύλισμα δυόσμου παρασκευάστηκε και διηθήθηκε όπως περιγράφηκε στην αναλυτική διαδικασία της παραγράφου Γ 1.1 (περίπου 3 L). Έπειτα, εισήχθει σε χύτρα και τοποθετήθηκε σε εστία ηλεκτρικής κουζίνας, έως ότου το εκχύλισμα έρθει σε κατάσταση βρασμού. Στη συνέχεια, προστέθηκε το ρύζι προκειμένου να υποστεί υδροθερμική επεξεργασία εντός του εκχυλίσματος για 20 min συνολικά, υπό περιοδική ανάδευση, και παραλήφθηκαν δείγματά του ανά 2 min βρασμού που τοποθετήθηκαν σε διηθητικό χαρτί προς αποστράγγιση του υγρού. Συνολικά, λήφθηκαν 11 διαφορετικά δείγματα

συμπεριλαμβανομένου και του αρχικού μη βρασμένου ρυζιού. Το ίδιο ακριβώς πείραμα επαναλήφθηκε με τις ίδιες συνθήκες αντικαθιστώντας το υδατικό εκχύλισμα δυόσμου με ίδια ποσότητα σκέτου απιονισμένου νερού (3 L) για την παραγωγή βρασμένου λευκού μυλευμένου ρυζιού και την παραλαβή δειγμάτων του σε ίδιους χρόνους με αυτούς του εμπλουτισμένου ρυζιού προς σύγκριση. Τα 2 είδη υγροθερμικής επεξεργασίας ρυζιού (σε καθαρό νερό και σε εκχύλισμα), καθώς και η παραλαβή των δειγμάτων έλαβαν χώρα εις τριπλούν.

2.2 Ξήρανση υγροθερμικά επεξεργασμένων κόκκων ρυζιού

Σκοπός

Τα δείγματα του λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού, αφού παραλήφθηκαν, υπέστησαν ξήρανση με κατάψυξη, ώστε να διευκολυνθεί η συντήρησή τους, καθώς και η κονιορτοποίησή τους προκειμένου να εκχυλιστούν τα πολυφαινολικά τους συστατικά.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Υγροθερμικά επεξεργασμένο λευκό και εμπλουτισμένο ρύζι (Παράγραφος Γ 2.1)

Όργανα

- Συσκευή λυοφιλίωσης (Telstar Cryodos, Terrassa, Spain)
- Ηλεκτρική κουζίνα (PITSOS, Uniflam POP, 7680 PK)
- Δοχεία αποθήκευσης δειγμάτων

Αναλυτική διαδικασία

Τα δείγματα λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού που συλλέχθηκαν σε 11 διαφορετικούς χρόνους βρασμού, t_0 έως και $t_{20 \text{ min}}$ (Παράγραφος Γ 2.1), οδηγήθηκαν προς ξήρανση με κατάψυξη (λυοφιλίωση). Τα αποξηραμένα πλέον δείγματα συλλέχθηκαν σε αποστειρωμένα δοχεία αποθήκευσης και σφραγίστηκαν με ταινία ParaFilm.

2.3 Χημικές αναλύσεις σε αποξηραμένο λευκό και εμπλουτισμένο ρύζι

2.3.1 Κονιορτοποίηση και ζύγιση δειγμάτων ρυζιού

Σκοπός

Η μετατροπή των κόκκων του ρυζιού σε μορφή σκόνης (ρυζάλευρο). Με τον τρόπο αυτό, επιτυγχάνεται ικανοποιητικότερη εκχυλισσιμότητα των πολυφαινολών,

λόγω αύξησης της διαθέσιμης επιφάνειας του ρυζιού που έρχεται σε επαφή με διαλυτή μεθανόλη (MeOH) κατά τη διάρκεια της εκχύλισης.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Δείγματα λευκών και εμπλουτισμένων κόκκων ρυζιού σε ξηρή μορφή

Όργανα

- Πορσελάνινο γουδί και γουδοχέρι
- Ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων (Ohaus)
- Δοκιμαστικοί σωλήνες των 10 mL
- Μεταλλική σπάτουλα

Αναλυτική διαδικασία

Ποσότητα από κάθε δείγμα ρυζιού ξεχωριστά εισήχθη σε πορσελάνινο γουδί όπου οι κόκκοι τεμαχίστηκαν και συνεχίστηκε η κατάτμησή τους έως ότου ήρθαν σε μορφή σκόνης. Στη συνέχεια, ζυγίστηκαν και αποθηκεύτηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες $1 \pm 0,0001$ g σκόνης από κάθε εξεταζόμενο δείγμα.

2.3.2 Εκχύλιση αντιοξειδωτικών συστατικών από δείγματα ρυζιού

Σκοπός

Σκοπός της παρούσας ήταν η εκχύλιση των απλών πολυφαινολών και άλλων αντιοξειδωτικών ουσιών από κονιορτοποιημένα δείγματα ρυζιού. Ο διαλύτης που επιλέχθηκε ήταν μεθανόλη (MeOH), λόγω μεγαλύτερης εκχυλιστικής ικανότητας σε σχέση με άλλους διαλύτες που δοκιμάστηκαν.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Μεθανόλη (MeOH) εργαστηρίου αναλυτικής καθαρότητας (Merck, Darmstadt, Germany)
- Κονιορτοποιημένα δείγματα ρυζιού σε δοκιμαστικούς σωλήνες

Όργανα

- Σιφόνιο 5 mL
- Συσκευή vortex (VELD Scientifica)
- Φυγόκεντρος (Hermle Z320)
- Συσκευή Speedvac (CentriVap Concentrator LABCONCO)
- Αυτόματη πιπέτα 100-1000 μ L (Eppendorf Reference)

Αναλυτική διαδικασία

Στους δοκιμαστικούς σωλήνες που περιέχουν τα δείγματα κονιορτοποιημένου ρυζιού (παράγραφος Γ 2.3.1) προστέθηκαν με γυάλινο σιφώνιο 5 mL μεθανόλης. Οι σωλήνες πωματίστηκαν και αναδεύτηκαν έντονα σε συσκευή vortex για τουλάχιστον 1 min. Στη συνέχεια, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φυγόκεντρο για 5 min στις 3000 rpm. Τα υπερκείμενα μεθανολικά εκχυλίσματα μετά τη φυγοκέντρωση συλλέχθηκαν σε καθαρούς δοκιμαστικούς σωλήνες, οι οποίοι τοποθετήθηκαν σε συσκευή κενού Speedvac σε θερμοκρασία 40°C για εξάτμιση του διαλύτη. Η διαδικασία επαναλήφθηκε άλλες τρεις φορές και συνολικά κάθε δείγμα ρυζιού εκχυλίστηκε 4 φορές με μεθανόλη (4x5=20 mL MeOH/δείγμα). Κάθε φορά το υπερκείμενο υγρό κάθε δείγματος τοποθετούνταν στον ίδιο δοκιμαστικό σωλήνα. Μετά το πέρας και της τέταρτης φυγοκέντρωσης τα υπερκείμενα υγρά αφέθηκαν στη συσκευή Speedvac μέχρι πλήρους εξάτμισης, οπότε παραλήφθηκαν τα καθαρά μεθανολικά εκχυλίσματα των δειγμάτων ρυζιού σε ξηρή μορφή. Τα εκχυλίσματα αυτά τελικά αναδιαλύθηκαν σε 1 mL μεθανόλης ανά δείγμα.

2.3.3 Εκτίμηση ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου στα μεθανολικά εκχυλίσματα λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu

Στη συνέχεια εξετάστηκαν όλα τα μεθανολικά εκχυλίσματα ρυζιού που προέκυψαν (υγροθερμικά επεξεργασμένο λευκό ρύζι t_0 - t_{20} , εμπλουτισμένο με εκχύλισμα δυόσμου ρύζι t_0 - t_{20}) ως προς το πολυφαινολικό τους περιεχόμενο χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Folin–Ciocalteu. Η εφαρμογή της μεθόδου πραγματοποιήθηκε όπως ακριβώς περιγράφηκε στην παράγραφο Γ 1.4.1 με τη μόνη διαφορά ότι ως δείγμα χρησιμοποιήθηκε ίση ποσότητα μεθανολικού εκχυλίσματος ρυζιού στη θέση του ενυδατωμένου ξηρού εκχυλίσματος φύλλων δυόσμου. Επίσης, τα τελικά αποτελέσματα για τις ολικές πολυφαινόλες στο ρύζι εκφράστηκαν σε μg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος (GAE)/g ξηρού ρυζιού.

2.3.4 Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας μεθανολικών εκχυλισμάτων λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού με μέτρηση της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερης ρίζας DPPH

Εφαρμόστηκε η μέθοδος που περιγράφηκε στην παράγραφο Γ 1.4.2 για όλα τα μεθανολικά εκχυλίσματα λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού προκειμένου να εκτιμηθεί η αντιοξειδωτική τους δράση και να γίνει συγκριτική αξιολόγηση. Τα τελικά αποτελέσματα, που αντικατόπτριζαν την ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας

DPPH[•] από τα δείγματα υγροθερμικά επεξεργασμένου ρυζιού, εκφράστηκαν σε μg ισοδυνάμων Trolox/g ξηρού ρυζιού.

2.3.5 Προσδιορισμός απλών πολυφαινολών σε εκχυλίσματα ρυζιού με αέρια χρωματογραφία/φασματοσκοπία μάζας (GC/MS)

Ακολουθήθηκαν οι μέθοδοι που περιγράφηκαν στις παραγράφους Γ 1.4.3 και Γ 1.4.4 προκειμένου αρχικά να σιλυλιωθούν τα μεθανολικά εκχυλίσματα δειγμάτων ρυζιού και, στη συνέχεια, να εξεταστούν ως προς το περιεχόμενό τους σε επιμέρους φαινολικά συστατικά. Τα τελικά αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ng επιμέρους συστατικού/g ξηρού ρυζιού.

2.3.6 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα όλων των χημικών αναλύσεων που αφορούσαν τα εκχυλίσματα δυόσμου και ρυζιού (Folin-Ciocalteu, DPPH[•], GC/MS) εκφράστηκαν ως μέσοι όροι (M.O.) $\pm$ τυπική απόκλιση (SD) που προέκυψαν έπειτα από εκτέλεση του κάθε πειράματος βρασμού εις τριπλούν. Επίσης, για τη στατιστική ανάλυση, η οποία βασίστηκε σε ανάλυση διακύμανσης ενός παράγοντα (one-way ANOVA), χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα IBM SPSS 22, ενώ παράλληλα η στατιστική σημαντικότητα εκτιμήθηκε για επίπεδα εμπιστοσύνης 95%. Τέλος, εφαρμόστηκε και ανάλυση Post hoc για όλα τα εξετασθέντα δείγματα με χρήση δοκιμής Tukey και πιθανότητα σφάλματος $<5\%$.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

2.4 Χημική ανάλυση και μελέτη θερμικής συμπεριφοράς δειγμάτων λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού κατά την υγροθερμική επεξεργασία

Τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στον Πίνακα 10 δείχνουν το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο, την αντιοξειδωτική δράση, καθώς και τη συγκέντρωση επιμέρους φαινολικών συστατικών που εξετάστηκαν χρωματογραφικά σε δείγματα υγροθερμικά επεξεργασμένου λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού (3^η και 4^η στήλη) μετά το πέρας της διεργασίας ($t=20 \text{ min}$). Επίσης, μέσω του Πίνακα 10 δίδεται η δυνατότητα να γίνει σύγκριση των δειγμάτων αυτών με μη επεξεργασμένα δείγματα λευκού ρυζιού (2^η στήλη) ως προς την περιεκτικότητά τους σε βιοδραστικές ουσίες που είτε προσροφήθηκαν είτε χάθηκαν από το ρύζι κατά τη διάρκεια της διεργασίας. Τα Σχήματα 17 και 18 αναπαριστούν αντιστοίχως τη μεταβολή του ολικού

πολυφαινολικού περιεχομένου και της αντιοξειδωτικής ικανότητας σε συνάρτηση με τον χρόνο βρασμού για δείγματα λευκού ρυζιού που υπέστησαν θερμική επεξεργασία τόσο σε καθαρό νερό, όσο και σε υδατικό εκχύλισμα δυόσμου.

Οι τιμές ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου για το λευκό, μη επεξεργασμένο ρύζι ($68,5 \pm 12,1$ $\mu\text{g GAE/g}$ ξηρού ρυζιού) όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 11 (2^η στήλη) βρίσκονται γενικά σε συμφωνία με τις τιμές που εμφανίζονται σε άλλες μελέτες που αφορούν το λευκό ρύζι και το πολυφαινολικό περιεχόμενο έχει εκτιμηθεί, έπειτα από χρήση ίδιων ή παραπλήσιων εκχυλιστικών μέσων, να κυμαίνεται μεταξύ 46-264 $\mu\text{g GAE/g}$ ξηρού ρυζιού (Vichapong et al., 2010; Shao et al., 2014; Harukaze et al., 1999). Όσον αφορά στις μετρήσεις αντιοξειδωτικής ικανότητας στα ίδια δείγματα που απεικονίζονται στη 2^η στήλη του Πίνακα 11 ($122,4 \pm 22,9$ μg ισοδυνάμων Trolox/g ξηρού ρυζιού), άλλες μελέτες συνήθως υπολογίζουν τη συγκεκριμένη παράμετρο σε διαφορετικές μονάδες μέτρησης οπότε η σύγκριση είναι δύσκολη (Vichapong et al., 2010). Ωστόσο, σε έρευνα των Shao et al. (2014), στην οποία τα ελεύθερα αντιοξειδωτικά εκχυλίστηκαν από λευκό ρύζι με διάφορους διαλύτες, μεταξύ των οποίων και μεθανόλη, χωρίς προσθήκη HCl ή NaOH, η ικανότητα δέσμευσης της ρίζας DPPH[•] υπολογίστηκε σε 751 ng ισοδυνάμων Trolox/g ξηρού ρυζιού, δηλαδή βρέθηκε κατά πολύ χαμηλότερη από την αντίστοιχη της παρούσας μελέτης. Παράλληλα, σε άλλη μελέτη που εκπονήθηκε από τους Goufo & Trindade (2014) τα επίπεδα δέσμευσης της ρίζας DPPH[•] από εκχυλίσματα λευκού ρυζιού βρέθηκαν να είναι κατά πολύ υψηλότερα ($2,7 \pm 1,8$ mg ισοδυνάμων Trolox/g ρυζιού).

Πίνακας 11: Συγκέντρωση επιμέρους φαινολικών συστατικών (GC/MS), ολικές πολυφαινόλες και αντιοξειδωτική ικανότητα δειγμάτων λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού κατά την έναρξη και το τέλος της υγροθερμικής επεξεργασίας.

Φαινολικά συστατικά (ng/g ξηρού ρυζιού)	Λευκό ρύζι μη επεξεργασμένο t=0	Λευκό ρύζι υγροθερμικώς επεξεργασμένο t=20 min	Εμπλουτισμένο ρύζι υγροθερμικώς επεξεργασμένο t=20 min
Κιναμωμικό οξύ	25,5 ± 9,2 ^a	14,2 ± 4,0 ^a	21,2 ± 3,2 ^a
Τυροσόλη	2,6 ± 0,4 ^a	1,6 ± 0,4 ^b	18,8 ± 4,1 ^c
π-Υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	75,5 ± 19,6 ^a	61,3 ± 5,3 ^a	157,3 ± 10,1 ^b
π-Υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	12,7 ± 1,9 ^a	5,9 ± 2,3 ^b	40,3 ± 3,1 ^c
Ομοβανιλική αλκοόλη	N.D.	N.D.	113,4 ± 8,3
Φλωρετικό οξύ	14,5 ± 2,8 ^a	8,7 ± 0,8 ^b	9,2 ± 0,9 ^b
Βανιλικό οξύ	65,7 ± 23,3 ^a	53,7 ± 12,4 ^a	199,0 ± 30,3 ^b
Πρωτοκατεχικό οξύ	18,2 ± 5,2 ^a	7,9 ± 1,4 ^b	925,3 ± 44,7 ^c
3,4-Διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	4,9 ± 1,7 ^a	1,8 ± 0,1 ^b	2435,8 ± 228,7 ^c
Συριγγικό οξύ	23,5 ± 7,9 ^a	15,8 ± 4,4 ^a	78,0 ± 22,0 ^b
π-Κουμαρικό οξύ	137,2 ± 64,3 ^a	119,3 ± 78,4 ^a	461,7 ± 85,8 ^b
Γαλλικό οξύ	N.D.	N.D.	112,1 ± 5,3
Φερουλικό οξύ	532,8 ± 187,7 ^a	527,2 ± 235,4 ^a	516,0 ± 118,9 ^a
Καφεϊκό οξύ	152,0 ± 105,7 ^a	72,5 ± 28,2 ^a	8292,7 ± 465,5 ^b
Σιναπικό οξύ	46,6 ± 6,5 ^a	41,4 ± 18,6 ^a	44,1 ± 4,6 ^a
Ρεσβερατρόλη	N.D.	N.D.	N.D.
Επικατεχίνη	N.D.	N.D.	N.D.
Ναριγκενίνη	N.D.	N.D.	59,2 ± 7,9
Κατεχίνη	N.D.	N.D.	N.D.
Καμφερόλη	2,5 ± 1,8 ^a	2,3 ± 1,5 ^a	26,5 ± 4,7 ^b
Χλωρογενικό οξύ	10,3 ± 1,9 ^a	2,7 ± 0,5 ^b	74,4 ± 7,6 ^c
Κερκετίνη	N.D.	N.D.	37,3 ± 9,9
Ολεανολικό οξύ	65,0 ± 30,8 ^a	37,8 ± 18,6 ^a	52,8 ± 16,8 ^a
Ουρσολικό οξύ	N.D.	N.D.	N.D.
Ολικές πολυφαινόλες (μg GAE/g ξηρού ρυζιού)	68,5 ± 12,1 ^a	68,8 ± 12,9 ^a	739,6 ± 35,5 ^b
Αντιοξειδωτική ικανότητα (μg Trolox/g ξηρού ρυζιού)	122,4 ± 22,9 ^a	141,4 ± 20,7 ^a	1211,7 ± 159,9 ^b

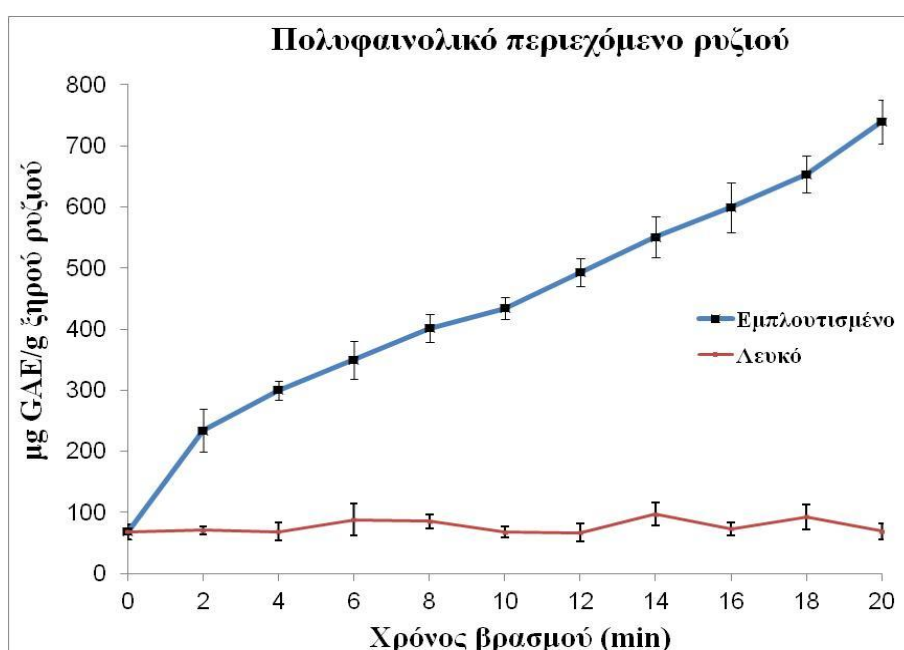
Όλες οι μετρήσεις παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (n=3). Οι τιμές που βρίσκονται σε ίδιες γραμμές και ακολουθούνται από διαφορετικά γράμματα π.χ. a, b, c εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (p<0,05).

Το περιεχόμενο του λευκού ρυζιού σε επιμέρους ελεύθερα φαινολικά συστατικά παρουσιάζει αρκετές ποσοτικές διακυμάνσεις με βάση τη διεθνή

βιβλιογραφία και στις περισσότερες περιπτώσεις παρουσιάζεται να είναι από λίγο έως και αρκετά υψηλότερο σε σχέση με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας. Όσον αφορά στην ποιοτική ανάλυση τα περισσότερα συστατικά που ανιχνεύθηκαν στο λευκό ρύζι, κυρίως τα φαινολικά οξέα, έχουν επίσης ανιχνευθεί και σε άλλες παρόμοιες μελέτες είτε με υγρή, είτε με αέρια χρωματογραφία, ενώ και πάλι τα φερουλικό, π-κουμαρικό και π-υδροξυ-βενζοϊκό οξέα βρέθηκαν να είναι μεταξύ των κυρίαρχων φαινολικών ουσιών από ποσοτική άποψη (Vichapong et al., 2010; Tian et al., 2004; Harukaze et al., 1999). Οι πιο σημαντικοί παράγοντες που μπορούν να προκαλέσουν αποκλίσεις μεταξύ των αποτελεσμάτων σε διαφορετικές μελέτες είναι οι διαφορετικές ποικιλίες λευκού ρυζιού που χρησιμοποιούνται, η μέθοδος καλλιέργειάς τους, οι παραλλαγές στις μεθόδους εκχύλισης (διαλύτες, χρόνος, θερμοκρασία, κ.α.), καθώς και οι τυχόν διαφορές μεταξύ των αναλυτικών τεχνικών που εφαρμόζονται για την ανίχνευση των ουσιών (Goufo & Trindade, 2014).

Ο Πίνακας 11 (2^η και 3^η στήλη), καθώς και τα Σχήματα 17 και 18 αποτυπώνουν εκτός των άλλων και τη θερμική συμπεριφορά των συστατικών του λευκού ρυζιού κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας του σε περίσσεια καθαρού νερού (20 min). Από αυτά γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι το επεξεργασμένο ρύζι δεν παρουσιάζει καμιά στατιστικά σημαντική διαφορά στο περιεχόμενο των ολικών πολυφαινολών και την αντιοξειδωτική του ικανότητα σε σχέση με το μη επεξεργασμένο. Ωστόσο, ορισμένα μεμονωμένα φαινολικά συστατικά (τυροσόλη, π-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ, φλωρετικό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ, 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ και χλωρογενικό οξύ) που ανιχνεύθηκαν στο λευκό ρύζι με GC/MS επέδειξαν μια στατιστικά σημαντική μείωση ($p < 0,05$) στο τέλος του βρασμού. Τα συγκεκριμένα συστατικά όμως θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως δευτερεύοντα από ποσοτική άποψη με βάση τα δεδομένα του Πίνακα 11, οπότε ενδεχομένως και η συνεισφορά τους στο ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων να είναι συγκριτικά χαμηλή. Όσον αφορά στα 3 ποσοτικώς επικρατέστερα συστατικά του λευκού ρυζιού (φερουλικό, καφεϊκό και π-κουμαρικό οξύ) φαίνεται να μην επηρεάζονται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό από την έναρξη έως και το πέρας της διεργασίας. Μια πιθανή εξήγηση της θερμικής σταθερότητας που παρουσιάζουν τα κυριότερα φαινολικά συστατικά στο βρασμένο ρύζι είναι ότι οι θερμικές διεργασίες, όπως π.χ. ο βρασμός, μπορούν ενδεχομένως να προκαλέσουν την απελευθέρωση φαινολικών ουσιών από τις δεσμευμένες μορφές τους, οι οποίες

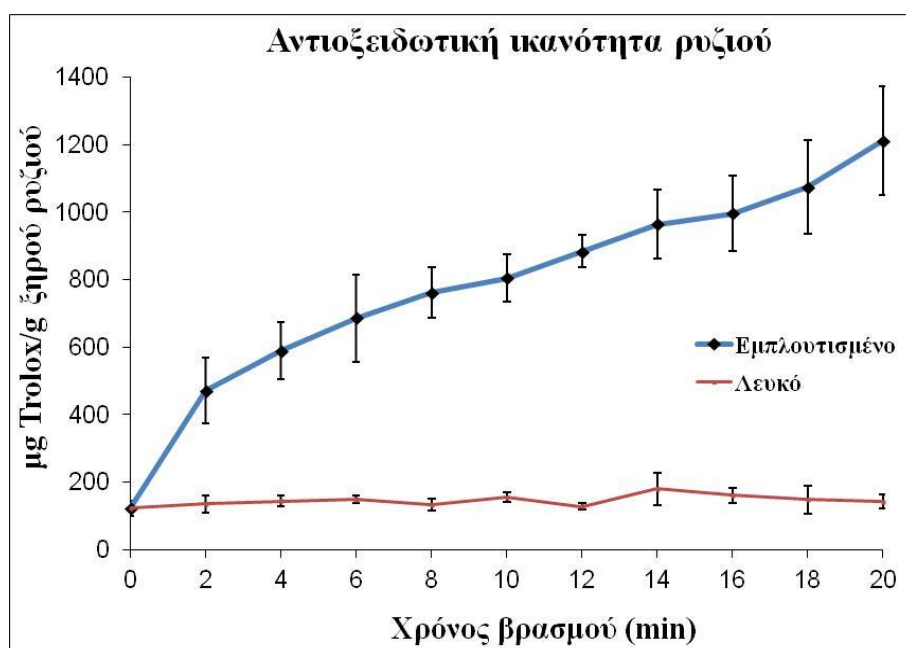
συνυπάρχουν με τις ελεύθερες μορφές εντός του φυτικού ιστού του ρυζιού. Στη συνέχεια, οι ελεύθερες φαινολικές ουσίες μπορούν είτε να παραμείνουν εντός των κόκκων ρυζιού, είτε να μεταφερθούν με εκρόφηση στο υδατικό μέσο κατά τη διάρκεια της θερμικής διεργασίας, είτε να υποστούν θερμική υποβάθμιση λόγω της υψηλής θερμοκρασίας (100°C). Τα συγκεκριμένα φαινόμενα πιθανότατα λαμβάνουν χώρα κατά την υγροθερμική επεξεργασία του λευκού ρυζιού, όπου μέρος των φαινολικών συστατικών μπορεί να βρίσκεται δεσμευμένο με μακροσυστατικά του ρυζιού όπως π.χ. υδατάνθρακες ή πρωτεΐνες (Goufo & Trindade, 2014; Harukaze et al., 1999; Xu et al., 2007).



Σχήμα 17: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο λευκού ρυζιού που έχει υποστεί θερμική επεξεργασία εντός καθαρού νερού και εντός υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου (εμπλουτισμένο ρύζι) σε συνάρτηση με τον χρόνο βρασμού. Όλες οι τιμές εκφράστηκαν ως μέση τιμή μg ισοδυνάμων GAE/g ξηρού ρυζιού, ενώ οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση των δειγμάτων (n=3).

Όσον αφορά στα αποτελέσματα που σχετίζονται με το εμπλουτισμένο ρύζι, το οποίο προέκυψε από θερμική επεξεργασία λευκού ρυζιού εντός εκχυλίσματος δυόσμου για 20 min, παρουσιάζονται στον Πίνακα 11 (4^η στήλη) και δείχνουν ότι στο τέλος της διεργασίας υπήρξε ισχυρά σημαντική στατιστική αύξηση ($p < 0,001$) στις συγκεντρώσεις όλων των προσροφημένων από το ρύζι συστατικών σε σχέση με τις

τιμές που είχαν στο αρχικό λευκό ρύζι. Αντίστοιχη αύξηση παρατηρήθηκε τόσο στο ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο (Σχήμα 17) όσο και στην αντιοξειδωτική δράση (Σχήμα 18) των εμπλουτισμένων δειγμάτων ρυζιού μετά από 20 min (σχεδόν 10-πλασιασμός των παραμέτρων) σε σύγκριση με τα δείγματα λευκού ρυζιού και αυτό ίσως φανερώνει μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του φαινολικού και του αντιοξειδωτικού περιεχομένου του ρυζιού. Επιπλέον, φαίνεται να υπάρχει μια σαφής μεταφορά πολυφαινολών και αντιοξειδωτικών ουσιών από το υδατικό εκχύλισμα του βοτάνου, στο οποίο οφείλεται αποκλειστικά η σημαντική αύξηση των μετρούμενων συστατικών που παρατηρείται στο λευκό ρύζι κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού.



Σχήμα 18: Αντιοξειδωτική ικανότητα λευκού ρυζιού που έχει υποστεί θερμική επεξεργασία εντός καθαρού νερού και εντός υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου (εμπλουτισμένο ρύζι) σε συνάρτηση με τον χρόνο βρασμού. Όλες οι τιμές εκφράστηκαν ως μέση τιμή μg ισοδυνάμων Trolox/g ξηρού ρυζιού, ενώ οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση των δειγμάτων (n=3).

Γενικά, από τις 20 φαινολικές ουσίες που ανιχνεύθηκαν στο εκχύλισμα δυόσμου (Πίνακας 10), μεταξύ των 24 που εξετάστηκαν, 5 συστατικά (χλωρογενικό, καφεϊκό, 3-4-διυδροξυ-φαινυλοξικό, π-υδροξυ-φαινυλοξικό και πρωτοκατεχικό οξύ), που ήδη προϋπήρχαν σε μικρές ποσότητες και στο λευκό ρύζι, παρουσίασαν μια ισχυρά σημαντική άύξηση ($p < 0,001$) στο εμπλουτισμένο ρύζι (Πίνακας 11) μετά το

πέρασ της διαδικασίας εμπλουτισμού του ($t=20$ min) και αυτό προφανώς οφείλεται όπως προαναφέρθηκε στην παρουσία του εκχυλίσματος δυόσμου στο υδατικό μέσο βρασμού. Επιπλέον, άλλα 6 συστατικά που προϋπήρχαν τόσο στο λευκό ρύζι, όσο και στο εκχύλισμα δυόσμου (τυροσόλη, καμφερόλη, π-υδροξυ-βενζοϊκό, βανιλλικό, συριγγικό και π-κουμαρικό οξύ) φαίνεται να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική αύξηση στο τελικό εμπλουτισμένο ρύζι ($p<0,05$), γεγονός που επίσης αποδίδεται στην προσρόφηση των συγκεκριμένων συστατικών από το ζέον υδατικό εκχύλισμα δυόσμου και την κατακράτησή τους από τους κόκκους ρυζιού. Υπάρχουν ακόμα 3 ουσίες, σύμφωνα με τον Πίνακα 11, που είχαν ανιχνευτεί στο λευκό ρύζι και το εκχύλισμα (φερουλικό, σιναπικό και ολεανολικό οξύ) που δεν παρουσίασαν κάποια σημαντική μεταβολή κατά τον εμπλουτισμό του ρυζιού. Όσον αφορά κάποιες ουσίες που είχαν εντοπιστεί στο εκχύλισμα δυόσμου (κερκετίνη, ναριγκενίνη, ομοβανιλλική αλκοόλη και γαλλικό οξύ), αλλά όχι στο λευκό ρύζι, αυτές φαίνεται ότι προσροφήθηκαν στο ρύζι έως έναν ανιχνεύσιμο βαθμό κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού, φυσικά ως αποτέλεσμα της συνεισφοράς του εκχυλίσματος δυόσμου. Τέλος, αναφορικά με τις ουσίες κινναμωμικό και φλωρετικό οξύ, που είχαν ανιχνευθεί στο λευκό μη βρασμένο ρύζι, αλλά όχι στο αρχικό εκχύλισμα δυόσμου, επέδειξαν μια μείωση στις συγκεντρώσεις τους στο τελικό εμπλουτισμένο προϊόν και μάλιστα το φλωρετικό οξύ ελαττώθηκε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, όπως άλλωστε είχε συμβεί και κατά τη θερμική επεξεργασία του λευκού ρυζιού σε περίσσεια καθαρού νερού, πιθανότατα ως αποτέλεσμα εκρόφησης συστατικών προς το υδατικό εκχύλισμα ή/και θερμικής υποβάθμισής τους.

2.5 Κινητική εμπλουτισμού ρυζιού με πολυφαινόλες

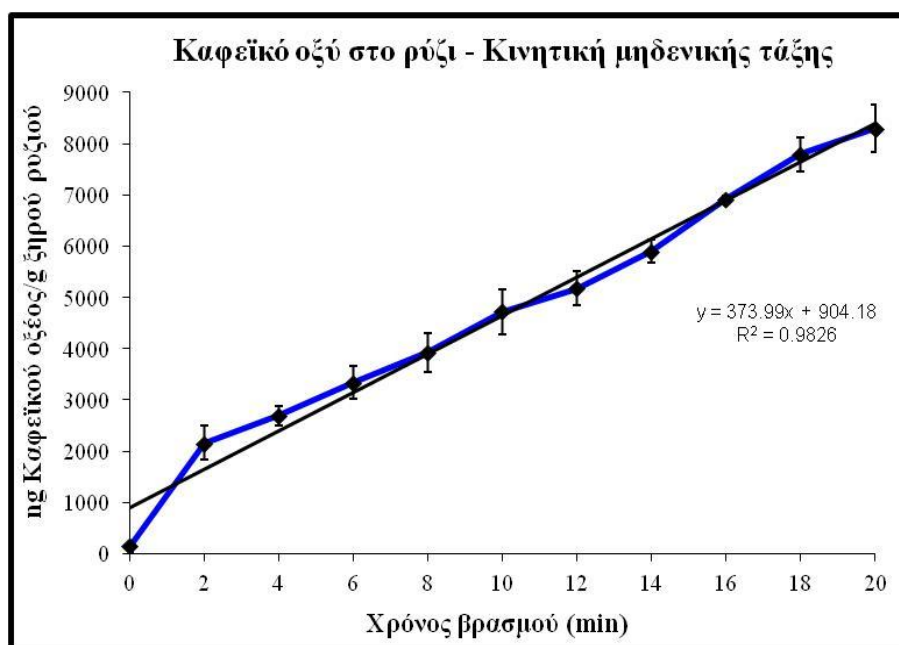
Στη συνέχεια, αφού μελετήθηκε η προοπτική εμπλουτισμού του λευκού ρυζιού με φαινολικές ουσίες προερχόμενες από υδατικό εκχύλισμα δυόσμου, εφαρμόστηκαν κινητικές μηδενικής και πρώτης τάξης σε μια χαρακτηριστική καμπύλη που απεικονίζει τη μεταβολή της μέσης συγκέντρωσης καφεϊκού οξέος εντός του ρυζιού κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού, σε συνάρτηση με τη διάρκεια θερμικής επεξεργασίας εντός εκχυλίσματος δυόσμου. Στο Σχήμα 19 απεικονίζεται το περιεχόμενο του ρυζιού σε καφεϊκό οξύ έπειτα από προσαρμογή σε αυτό ενός μοντέλου κινητικής μηδενικής τάξης, το οποίο φαίνεται να περιγράφει τη διεργασία εμπλουτισμού με έναν πιστότερο τρόπο σε σχέση με το μοντέλο κινητικής πρώτης

τάξης. Το προτεινόμενο μοντέλο κινητικής μηδενικής τάξης εκφράζεται από τον τύπο:

$$C(t) = k \cdot t + C_0 \quad (\text{Εξίσωση 6})$$

όπου C_0 αναπαριστά την αρχική συγκέντρωση του συστατικού στο ρύζι, $C(t)$ είναι η συγκέντρωση του ίδιου συστατικού ως συνάρτηση του χρόνου βρασμού και k είναι η σταθερά κινητικής μηδενικής τάξης που αφορά την προσρόφηση του συστατικού στο ρύζι. Η επιλογή του καφεϊκού οξέος έγινε λόγω του ότι βρέθηκε να είναι το κυρίαρχο μεταξύ των εξετασθέντων συστατικών τόσο στο εκχύλισμα δυόσμου, όσο και στο εμπλουτισμένο ρύζι (Πίνακες 9 και 10) μετά το τέλος των θερμικών διεργασιών. Αφού έγινε προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων συγκέντρωσης καφεϊκού οξέος – χρόνου βρασμού του Σχήματος 19 σε γραμμική εξίσωση, προέκυψε τελικά η ακόλουθη εξίσωση:

$$Y = 373,99 \cdot X + 904,18 \quad (\text{Εξίσωση 7})$$



Σχήμα 19: Εφαρμογή κινητικής μηδενικής τάξης σε καμπύλη που παρουσιάζει τη συγκέντρωση του καφεϊκού οξέος στο εμπλουτιζόμενο ρύζι σε συνάρτηση με το χρόνο βρασμού του εντός υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου.

3. Εμπλουτισμός ρυζιού με εκχυλίσματα δυόσμου διαφόρων συγκεντρώσεων – Μοντελοποίηση διάχυσης επιμέρους φαινολικών οξέων στο ρύζι

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Παρασκευή υδατικών εκχυλισμάτων δυόσμου και χημικές αναλύσεις

Σκοπός

Σκοπός ήταν η εκχύλιση των συστατικών που περιέχονται σε αποξηραμένα φύλλα δυόσμου με χρήση θερμού νερού και η παραλαβή ενός πολύ πυκνού εκχυλίσματος που στη συνέχεια αραιώθηκε σε 4 διαφορετικές συγκεντρώσεις. Έπειτα, σκοπός ήταν η ανίχνευση επιμέρους φαινολικών οξέων στο ξηρό εκχύλισμα με αέρια χρωματογραφία – φασματοσκοπία μάζας (GC/MS).

Υλικά – Αντιδραστήρια

Όμοια με Παραγράφους Γ 1.1 – Γ 1.4

Όργανα

Όμοια με Παραγράφους Γ 1.1 – Γ 1.4

Αναλυτική διαδικασία

Ογκομετρήθηκαν 15 L απιονισμένου νερού και αφού θερμάνθηκαν σε χύτρα, όπως περιγράφηκε και στην Παράγραφο Γ 1.1, εμβαπτίσθηκαν σε αυτά 2 kg φύλλων δυόσμου (υπό μορφή τρίμματος) και παρέμειναν εκεί για 10 min, υπό περιοδική ανάδευση, προκειμένου να εκχυλιστούν τα συστατικά του δυόσμου. Ακολούθησε διήθηση του εκχυλίσματος (Παράγραφος Γ 1.1) και η ποσότητα του υγρού που προέκυψε αραιώθηκε με απιονισμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 15 L που αποτέλεσε και το πυκνό διάλυμα εργασίας. Από το διάλυμα αυτό προέκυψαν οι 4 αραιώσεις εντός των οποίων έγινε ο βρασμός των ποσοτήτων ρυζιού και ρυζάλευρου. Πιο συγκεκριμένα, με κατάλληλη προσθήκη απιονισμένου νερού παράχθηκαν τα 4 αραιωμένα διαλύματα εκχυλίσματος δυόσμου που είχαν συγκέντρωση ολικών στερεών 0,33% w/v, 0,66% w/v, 1% w/v και 2% w/v. Κάθε ένα από τα διαλύματα αυτά βρισκόταν σε ποσότητα αρκετή ώστε να πραγματοποιηθεί υγροθερμική επεξεργασία ποσότητας λευκού ρυζιού (εις τριπλούν) και ρυζάλευρου. Από το παρασκευασθέν πυκνό εκχύλισμα δυόσμου λήφθηκε δείγμα (10 ml) εις τριπλούν, το

οποίο οδηγήθηκε κατά σειρά προς ξήρανση με κατάψυξη, αναδιάλυση σε μεθανόλη και εξέταση του τελικού διαλύματος με GC/MS προς ανίχνευση επιμέρους φαινολικών οξέων (καφεϊκό, π-κουμαρικό, ο-κουμαρικό, πρωτοκατεχικό, 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικό, π-υδροξυ-βενζοϊκό, συριγγικό και βανιλλικό) ακολουθώντας τη μεθοδολογία που περιγράφηκε στις παραγράφους Γ 1.2 – Γ 1.4.

3.2 Παρασκευή εμπλουτισμένων δειγμάτων ρυζιού και ρυζάλευρου έπειτα από υγροθερμική επεξεργασία σε εκχύλισμα δυόσμου διαφορετικών συγκεντρώσεων

Σκοπός

Πραγματοποιήθηκε υγροθερμική επεξεργασία ποσοτήτων λευκού μυλευμένου ρυζιού και λευκού ρυζάλευρου, ίδιας χημικής σύστασης, εντός των 4 υδατικών διαλυμάτων εκχυλίσματος προκειμένου να διαπιστωθεί η επίδραση της συγκέντρωσης διαλυτών στερεών εντός του εκχυλίσματος δυόσμου στην προσρόφηση επιμέρους φαινολικών συστατικών στο ρύζι, καθώς επίσης να βρεθούν τυχόν συγκεντρώσεις ισορροπίας των εν λόγω συστατικών εντός του ρυζιού έπειτα από μεγάλης διάρκειας υγροθερμική επεξεργασία 90 min.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Υδατικά διαλύματα εκχυλίσματος δυόσμου συγκέντρωσης 0,33% w/v, 0,66% w/v, 1% w/v και 2% w/v (Παράγραφος Γ 3.1)
- Ρύζι τύπου «νυχάκι» και ρυζάλευρο ίδιας χημικής σύστασης

Όργανα

Όμοια με Παραγράφους Γ 2.1, Γ 2.2

Αναλυτική διαδικασία

Ζυγίσθηκαν 50 g ρυζιού και αφού εκπλύθηκαν με άφθονη ποσότητα νερού βρύσης προστέθηκαν σε χύτρα που περιείχε σε θερμοκρασία βρασμού 2 L υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου συγκέντρωσης διαλυτών στερεών 0,33% w/v, το οποίο παρασκευάστηκε και διηθήθηκε όπως περιγράφηκε στην αναλυτική διαδικασία της Παραγράφου Γ 3.1. Έπειτα, το ρύζι υπέστη υγροθερμική επεξεργασία εντός του εκχυλίσματος για 20 min συνολικά υπό περιοδική ανάδευση. Στη συνέχεια, παραλήφθηκαν δείγματα ρυζιού ανά 4 min βρασμού και τοποθετήθηκαν σε διηθητικό χαρτί προς αποστράγγιση του μη προσροφημένου εκχυλίσματος. Το ίδιο ακριβώς πείραμα επαναλήφθηκε με τις ίδιες συνθήκες σε 3 άλλα εκχυλίσματα με 2-πλάσια, 3-πλάσια και 6-πλάσια συγκέντρωση συστατικών σε σχέση με το πρώτο (0,66% w/v,

1% w/v και 2% w/v) και σε κάθε περίπτωση συλλέχθηκαν δείγματα εμπλουτισμένου ρυζιού σε ίδιους χρόνους βρασμού (t_4 , t_8 , t_{12} , t_{16} και t_{20}). Όλα τα πειράματα βρασμού του ρυζιού έλαβαν χώρα εις τριπλούν.

Ακολούθως, χρησιμοποιώντας ίδιας συγκέντρωσης υδατικά εκχυλίσματα δυόσμου (0,33% w/v, 0,66% w/v, 1% w/v και 2% w/v), πραγματοποιήθηκε υγροθερμική επεξεργασία ρυζάλευρου εντός αυτών. Η παραγωγή του ρυζάλευρου έγινε από ρύζι τύπου «νυχάκι» με τη βοήθεια συσκευής μίξερ, ενώ συλλέχθηκε για τις ανάγκες του πειράματος ένα κλάσμα συγκεκριμένου εύρους κοκκομετρίας (0,8-1 mm). Αντίστοιχα με τα πειράματα εμπλουτισμού του ρυζιού, το ρυζάλευρο ζυγίστηκε (50 g) και τοποθετήθηκε σε χύτρα, εντός της οποίας μόλις είχε ξεκινήσει ο βρασμός υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου (3 L). Το ρυζάλευρο υποβλήθηκε σε θερμική επεξεργασία εντός των υδατικών εκχυλισμάτων υπό περιοδική ανάδευση για συνολικά 90 min, ενώ παραλήφθηκαν δείγματά του κατά τη διάρκεια της διεργασίας σε χρόνους t_{30} , t_{60} , t_{70} , t_{80} και t_{90} . Τα δείγματα εμπλουτισμένου ρυζάλευρου από τη στιγμή που παραλήφθηκαν, απλώθηκαν και στραγγίστηκαν σε διηθητικό χαρτί.

Όλα τα συλλεχθέντα υγροθερμικά επεξεργασμένα δείγματα ρυζιού και ρυζάλευρου τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες και οδηγήθηκαν προς ξήρανση με κατάψυξη.

3.3 Εκχύλιση δειγμάτων ρυζιού - ρυζάλευρου και προσδιορισμός ολικών πολυφαινολών και επιμέρους φαινολικών οξέων έπειτα από τον εμπλουτισμό

Στην παρούσα ενότητα σκοπός ήταν η μετατροπή των εμπλουτισμένων δειγμάτων ρυζιού και ρυζάλευρου σε σκόνη, η ζύγιση και η εκχύλισή τους με μεθανόλη που πραγματοποιήθηκαν όπως ακριβώς περιγράφηκε στις παραγράφους Γ 2.3.1 και Γ 2.3.2. Στη συνέχεια, και με βάση τις μεθόδους που αναφέρθηκαν στις παραγράφους Γ 2.3.3 και Γ 2.3.5, έγινε ανάλυση στα μεθανολικά εκχυλίσματα με σκοπό τον προσδιορισμό του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου τους (Folin-Ciocalteu), καθώς και την ανίχνευση επιμέρους φαινολικών οξέων με GC/MS (καφεϊκό, 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικό, πρωτοκατεχικό, π-κουμαρικό, ο-κουμαρικό, π-υδροξυ-βενζοϊκό, συριγγικό και βανιλλικό οξύ), στα οποία εστιάστηκε το ερευνητικό ενδιαφέρον.

3.4 Μελέτη διάχυσης φαινολικών οξέων στο ρύζι κατά τον βρασμό του σε υδατικό εκχύλισμα δυόσμου

3.4.1 Εκτίμηση του συντελεστή διάχυσης με εφαρμογή της αναλυτικής λύσης της εξίσωσης του Fick για κύλινδρο

Πραγματοποιήθηκε μελέτη της διάχυσης των φαινολικών οξέων, που ανιχνεύθηκαν στο εμπλουτισμένο ρύζι με GC/MS, κατά την προσρόφηση του εκχυλίσματος εντός των κόκκων στη διάρκεια του βρασμού. Η μεταφορά μάζας των φαινολικών συστατικών λαμβάνει χώρα με δυο τρόπους: υπάρχει η μεταφορά που γίνεται στο εσωτερικό των κόκκων, η οποία θεωρήθηκε ότι οφείλεται σε μοριακή διάχυση, καθώς και αυτή που λαμβάνει χώρα στη διεπιφάνεια ρυζιού-εκχυλίσματος, η οποία γίνεται δια μεταφοράς, μέσω του εισερχόμενου διαλύματος στο ρύζι. Θεωρώντας, λοιπόν, ακαριαίο τον κορεσμό της εξωτερικής επιφάνειας των κόκκων σε εκχύλισμα και λόγω της συνεχούς ανάδευσης του υδατικού μέσου κατά τον βρασμό, η συνεισφορά της προσρόφησης του νερού στη μεταφορά μάζας των φαινολικών συστατικών του ρυζιού μέσω της διεπιφάνειας θεωρήθηκε αμελητέα. Επομένως, ο μοναδικός, ελέγχων μηχανισμός, στον οποίον πρακτικά αποδόθηκε η μεταφορά μάζας των συστατικών, θεωρήθηκε ότι ήταν η μοριακή διάχυσή τους στο εσωτερικό των κόκκων ρυζιού κατά τη διάρκεια του βρασμού. Έτσι, εφαρμόστηκε ο $2^{\text{ος}}$ νόμος του Fick για τη διάχυση που δίδεται από την ακόλουθη εξίσωση:

$$\frac{\partial C(x,t)}{\partial t} = D_{\text{app}} \frac{\partial^2 C(x,t)}{\partial x^2} \quad (\text{Εξίσωση 8})$$

όπου t ο χρόνος βρασμού του ρυζιού μετρούμενος σε s , $C(x,t)$ η συγκέντρωση του φαινολικού συστατικού σε κάθε σημείο εντός του κόκκου ρυζιού σε χρόνο t μετρούμενη σε $\mu\text{g/g}$ ξηρού ρυζιού, x η οποιαδήποτε θέση εντός του κόκκου ρυζιού (με μονάδα μέτρησης το m) στην οποία η συγκέντρωση του φαινολικού συστατικού είναι ίση με C , και D_{app} ο φαινόμενος συντελεστής διάχυσης του εκάστοτε συστατικού μετρούμενος σε $m^2 s^{-1}$.

Οι παραδοχές που έγιναν για να εφαρμοστεί ο νόμος του Fick ήταν οι εξής:

- Το σχήμα του λευκού μυλευμένου ρυζιού θεωρήθηκε ως ένας κύλινδρος απείρου μήκους (σχέση μήκους-ακτίνας $>4:1$) στο εσωτερικό του οποίου κατανέμονται ομοιόμορφα τα προϋπάρχοντα φαινολικά οξέα του ρυζιού.

- Οι διαστάσεις των κόκκων του ρυζιού θεωρήθηκαν σταθερές κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού και δεν λήφθηκαν υπόψη οι παράγοντες της απώλειας μάζας του ρυζιού, της ζελατινοποίησης, καθώς και η διόγκωση των κόκκων εξαιτίας της προσρόφησης του νερού.
- Η μεταφορά των φαινολικών ουσιών από την επιφάνεια προς το εσωτερικό των κόκκων μελετήθηκε με την εφαρμογή του 2^{ου} νόμου του Fick για τη διάχυση. Η διαφορά στη συγκέντρωση των φαινολικών μεταξύ της εξωτερικής επιφάνειας και του εσωτερικού των κόκκων θεωρήθηκε ως η δρώσα δύναμη που οδηγεί σε εμπλουτισμό του ρυζιού σε μικροσυστατικά.

Ο υπολογισμός του φαινομένου συντελεστή διάχυσης (D_{app}) των επιμέρους φαινολικών οξέων στο ρύζι, μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη βοήθεια της αναλυτικής λύσης της εξίσωσης του 2^{ου} νόμου του Fick για τη διάχυση (κύλινδρος απείρου μήκους), σε ένα δυναμικό σύστημα:

$$\frac{C_{ph}-C_{\infty}}{C_0-C_{\infty}} = 4 \sum_{n=0}^{\infty} \left[\frac{1}{a_n^2} e^{-\frac{D_{app} t a_n^2}{r^2}} \right] \quad (\text{Εξίσωση 9})$$

όπου C_0 είναι η αρχική συγκέντρωση επιμέρους φαινολικών οξέων ($\mu\text{g/g}$ ξηρού ρυζιού), C_{∞} η εκτιμώμενη συγκέντρωση ισορροπίας επιμέρους φαινολικών οξέων στο ρύζι σε θεωρητικά άπειρο χρόνο βρασμού ($\mu\text{g/g}$ ξηρού ρυζάλευρου), C_{ph} η συγκέντρωση των φαινολικών οξέων για κάθε χρόνο βρασμού ($\mu\text{g/g}$ ξηρού ρυζιού), D_{app} είναι ο φαινόμενος συντελεστής διάχυσης (m^2s^{-1}), t είναι ο χρόνος βρασμού (s), r είναι η μέση ακτίνα (λήφθηκε ίση με 10^{-3} m) του κυλινδρικού κόκκου ρυζιού (m) και a_n (με $a_n = r \cdot \Delta n$) είναι η νιοστή ρίζα της συνάρτησης Bessel μηδενικής τάξης:

$$J_0(x) = 1 + \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^n \frac{x^{2n}}{(2n)^2!} = 0 \quad (\text{Εξίσωση 10})$$

Οι πρώτες 10 τιμές του a_n λήφθηκαν από την εργασία των Selman et al. (1983) και παρουσιάζονται στον Πίνακα 12:

Πίνακας 12: Πρώτες 10 τιμές των ριζών (a_n) της συνάρτησης Bessel μηδενικής τάξης $J_0(x) = 0$ (Εξίσωση 10) (Selman et al., 1983).

n	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a_n	2,4048	5,5201	8,654	11,792	14,931	18,071	21,212	24,352	27,493	30,635

Οι εκτιμώμενες τιμές συγκεντρώσεων ισορροπίας C_∞ των φαινολικών οξέων στο εμπλουτισμένο ρύζι προέκυψαν ως οι μέσοι όροι των συγκεντρώσεων των εξετασθέντων συστατικών στα δείγματα εμπλουτισμένου ρυζάλευρου που απομονώθηκαν τις χρονικές στιγμές t_{70} , t_{80} και t_{90} .

Η εκτίμηση του συντελεστή διάχυσης D_{app} για κάθε φαινολικό οξύ έγινε έπειτα από κατάστρωση ενός προβλήματος βελτιστοποίησης και εφαρμογή του εργαλείου SOLVER του MS ExcelTM προκειμένου να επιλυθεί. Ειδικότερα, υιοθετήθηκε μια μη γραμμική μέθοδος βελτιστοποίησης και οι τιμές των D_{app} υπολογίστηκαν με ελαχιστοποίηση των τετραγώνων των διαφορών μεταξύ των πειραματικών τιμών των συγκεντρώσεων για τα φαινολικά οξέα και των συγκεντρώσεων που υπολογίστηκαν βάσει της εφαρμογής του προτεινόμενου μοντέλου.

3.4.2 Εύρεση του συντελεστή διάχυσης με εφαρμογή της εξίσωσης του Fick σε σφαίρα και αριθμητική-υπολογιστική μοντελοποίηση

Για την κατάσταση του μοντέλου που προσομοιώνει τη διάχυση των φαινολικών οξέων στο εμπλουτισμένο ρύζι κατά τη διάρκεια του βρασμού επιλέχθηκε μια απλή γεωμετρία για τους κόκκους ρυζιού (σφαίρα) με ισοδύναμη ακτίνα $R_{eq}=2 \cdot 10^{-3}$ m. Το φαινόμενο της διάχυσης των συστατικών στους κόκκους μπορεί να περιγραφεί με τη χρήση της εξίσωσης του 2^{ου} νόμου του Fick για σφαιρικές συντεταγμένες:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left[D r^2 \frac{\partial C}{\partial r} \right], \forall r \in (0, R) \quad (\text{Εξίσωση 11})$$

όπου C (μg/g ξηρού ρυζιού) η συγκέντρωση κάθε φαινολικού οξέος, D η διαχυτότητα (m^2/s), r (m) η ακτινική συντεταγμένη και t ο χρόνος βρασμού (s).

Ως αρχική συνθήκη για το λευκό ρύζι κατά την έναρξη του εμπλουτισμού ($t=0$) θεωρήθηκε ότι για κάθε σημείο εντός του κόκκου η συγκέντρωση των συστατικών είναι ίση με C_0 , η οποία λήφθηκε από τις πειραματικές τιμές

συγκεντρώσεων των συστατικών στο λευκό ρύζι, οπότε ήταν $C(r,0)=C_0$. Επίσης, έγινε η παραδοχή ότι στους σφαιρικούς κόκκους ρυζιού η κατανομή των φαινολικών συστατικών κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού είναι ισότροπη και έτσι προέκυψαν οι ακόλουθες οριακές συνθήκες του προβλήματος:

$$\text{για } r=0 \text{ (κέντρο κόκκου)} \quad \frac{\partial C}{\partial r}(0,t) = 0 \quad (\text{Εξίσωση 12})$$

για την εξωτερική επιφάνεια κόκκου (διεπιφάνεια εκχυλίσματος-στερεού) όπου $r=R=R_{eq}$ θα είναι:

$$C(R,t) = C_{\infty} \quad (\text{Εξίσωση 13})$$

όπου C_{∞} είναι η εκτιμώμενη συγκέντρωση ισορροπίας-κορεσμού του κάθε φαινολικού συστατικού στο εμπλουτισμένο ρύζι.

Για την απλοποίηση και την καλύτερη εξαγωγή συμπερασμάτων από την επίλυση του μοντέλου έγινε μετασχηματισμός των εξισώσεων στην αδιαστατοποιημένη τους μορφή, οπότε η συγκέντρωση του κάθε μελετούμενου συστατικού εντός του κόκκου ρυζιού ορίστηκε με βάση την παρακάτω εξίσωση:

$$\tilde{C} = \frac{C - C_0}{C_{\infty} - C_0} \quad (\text{Εξίσωση 14})$$

Παράλληλα έγινε χρήση του αριθμού Fourier (εξίσωση 15) προκειμένου να οριστεί η κλίμακα χρόνου των φαινομένων της διάχυσης:

$$\tau = \frac{tD}{R^2} \quad (\text{Εξίσωση 15})$$

Επιπλέον, για να γίνει αδιαστατοποίηση της ανεξάρτητης μεταβλητής r (ακτινικής συντεταγμένης) πραγματοποιήθηκε η ακόλουθη μετατροπή και προέκυψε η εξίσωση 16:

$$\tilde{r} = \frac{r}{R} \quad (\text{Εξίσωση 16})$$

Κατόπιν αυτών η αδιαστατοποιημένη εξίσωση της διάχυσης που αντιστοιχεί στον 2^ο νόμο του Fick έλαβε τη μορφή:

$$\frac{\partial \tilde{c}}{\partial \tau} = \frac{1}{\tilde{r}^2} \frac{\partial}{\partial \tilde{r}} \left(\tilde{r}^2 \frac{\partial \tilde{c}}{\partial \tilde{r}} \right), \forall \tilde{r} \in (0,1) \quad (\text{Εξίσωση 17})$$

ενώ οι οριακές συνθήκες συνοψίστηκαν τελικά από τις εξισώσεις:

$$\frac{\partial \tilde{c}}{\partial \tilde{r}}(0, \tau) = 0 \quad (\text{Εξίσωση 18})$$

$$\text{και} \quad \tilde{c}(1, \tau) = 1 \quad (\text{Εξίσωση 19})$$

Το μοντέλο που σχηματίστηκε από τις εξισώσεις 17-19 επιλύθηκε με εφαρμογή της μεθόδου πεπερασμένων στοιχείων (Finite Elements), κάνοντας χρήση λογισμικού COMSOL (έκδοση 4.3b). Πιο συγκεκριμένα, για την προσομοίωση της γεωμετρίας του κόκκου ρυζιού σε όλους τους αριθμητικούς υπολογισμούς δημιουργήθηκε ένα ομοιόμορφο πλέγμα που αποτελούνταν από 121 γραμμικά P1 στοιχεία. Όσον αφορά τον συντελεστή διάχυσης, για κάθε εξεταζόμενο φαινολικό οξύ στο ρύζι και για κάθε διαφορετική συγκέντρωση εκχυλίσματος που εφαρμόστηκε, αυτός εκτιμήθηκε και έγινε βελτιστοποίηση της τιμής του με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων. Ειδικότερα, υπολογίστηκε η διαφορά των τετραγώνων μεταξύ των πειραματικών και των αντίστοιχων υπολογιστικών (βάσει του μοντέλου) συγκεντρώσεων κάθε συστατικού στο εμπλουτισμένο ρύζι κατά τη διάρκεια του βρασμού και στη συνέχεια οι διαφορές αυτές ελαχιστοποιήθηκαν, με χρήση κατάλληλου αλγόριθμου σε MATLAB (συνάρτηση $f_{\min}$), προκειμένου να προκύψει ο βέλτιστος συντελεστής διάχυσης για κάθε πειραματική διαδικασία και συστατικό. Η καλή προσαρμογή των πειραματικών στις υπολογισμένες τιμές από το μοντέλο εκτιμήθηκε με χρήση του συντελεστή συσχέτισης R^2 .

3.5 Χημικές αναλύσεις υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου, δειγμάτων εμπλουτισμένου ρυζιού και ρυζάλευρου

Αρχικά, αφού παρασκευάστηκε και παραλήφθηκε το υδατικό εκχύλισμα από τα ξηρά φύλλα δυόσμου (2 kg), μελετήθηκε η περιεκτικότητά του σε 8 επιμέρους φαινολικά οξέα με GC/MS, τα οποία παρουσιάζονται στον Πίνακα 13. Τα επικρατέστερα από αυτά εντός του εκχυλίσματος φαίνεται πως είναι το καφεϊκό και το 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ, καθώς η συγκέντρωσή τους ξεπερνά τα 1800 µg/g ξηρού εκχυλίσματος δυόσμου, ενώ η συγκέντρωση των υπόλοιπων εξετασθέντων συστατικών φαίνεται πως είναι πολύ μικρότερη. Όσον αφορά τις διαφορές που παρατηρήθηκαν στη συγκέντρωση των συστατικών στο εκχύλισμα δυόσμου σε σχέση με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις του εκχυλίσματος δυόσμου που είχε χρησιμοποιηθεί σε προηγούμενη ενότητα (Γ 1.5) οι αποκλίσεις πιθανώς οφείλονται στη διαφορετική προέλευση των φύλλων δυόσμου στις 2 μελέτες, αλλά και το διαφορετικό μέγεθος-κοκκομετρία τους που ενδεχομένως να επηρέασε την εκχυλισσιμότητα.

Πίνακας 13: Συγκέντρωση εξετασθέντων φαινολικών οξέων στο υδατικό εκχύλισμα δυόσμου (µg/g αποξηραμένου εκχυλίσματος). Όλες οι μετρήσεις παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (n=3).

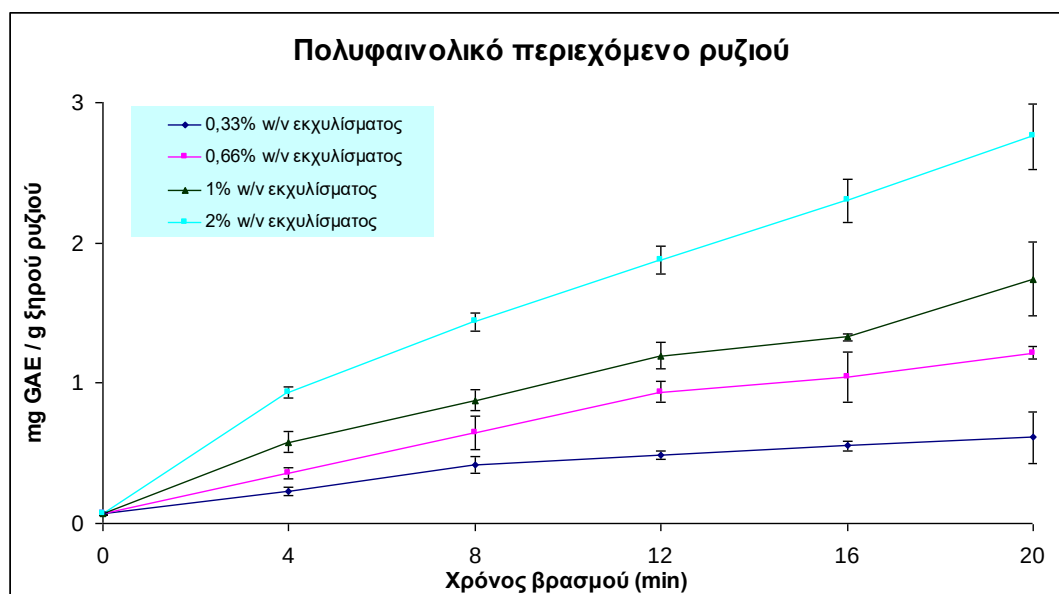
Φαινολικά οξέα στο αποξηραμένο εκχύλισμα δυόσμου (µg/g εκχυλίσματος)	
Καφεϊκό οξύ	3373,1±159,3
3,4-Διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	1983,3±166,2
ο-Κουμαρικό οξύ	812,9±44,4
Πρωτοκατεχικό οξύ	180,8±14,1
π-Κουμαρικό οξύ	171,3±3,9
Βανιλλικό οξύ	132,6±5,6
Συριγγικό οξύ	114,8±1,4
π-Υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	87,7±1,8

Από τη διερεύνηση της θερμικής σταθερότητας υδατικών εκχυλισμάτων δυόσμου και βασιλικού που έλαβε χώρα σε προηγούμενη ενότητα (Γ 1.5) προέκυψε ότι η συγκέντρωση των εξετασθέντων συστατικών, κατά τη διάρκεια παρατεταμένου βρασμού (τουλάχιστον 40 min), δεν παρουσίασε αξιοσημείωτες μεταβολές, οπότε οι

τιμές των συγκεντρώσεων που απεικονίζονται στον Πίνακα 13 θα μπορούσαν να θεωρηθούν πρακτικά σταθερές καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας εμπλουτισμού του ρυζιού με εκχύλισμα δυόσμου.

Έπειτα λοιπόν από μια επιτυχημένη απόπειρα εμπλουτισμού του λευκού μυλευμένου ρυζιού με εκχύλισμα δυόσμου, που παρασκευάστηκε από εκχύλιση σχετικά μικρής ποσότητας φύλλων δυόσμου (50 g) και παρουσίασε μια μέση συγκέντρωση διαλυτών στερεών της τάξεως του 0,43% w/v, δοκιμάστηκε ο εμπλουτισμός ρυζιού με πυκνότερα εκχυλίσματα δυόσμου. Αυτό έγινε με σκοπό να φανεί η πιθανή επίδραση της συγκέντρωσης των διαλυτών μικροσυστατικών (εξωτερικά των κόκκων) στην προσρόφηση τους εντός των κόκκων ρυζιού κατά τη διάρκεια της υγροθερμικής επεξεργασίας (20 min) και να διερευνηθεί ο μηχανισμός προσρόφησης των συστατικών.

Το Σχήμα 20 αναπαριστά τη μεταβολή του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου σε συνάρτηση με τον χρόνο βρασμού για δείγματα λευκού μυλευμένου ρυζιού που υπέστησαν βρασμό σε υδατικά εκχυλίσματα δυόσμου διαφόρων συγκεντρώσεων. Από το Σχήμα αυτό γίνεται αντιληπτό ότι η συγκέντρωση των πολυφαινολών στα δείγματα του ρυζιού αυξήθηκε κατά τη διάρκεια της διαδικασίας εμπλουτισμού σε όλες τις διαφορετικές συγκεντρώσεις εκχυλίσματος. Ειδικότερα, φαίνεται ότι μετά το πέρας των 20 min η συγκέντρωση των ολικών πολυφαινολών στο λευκό μυλευμένο ρύζι αυξήθηκε κατά 8,7 φορές έπειτα από βρασμό σε εκχύλισμα δυόσμου συγκέντρωσης 0,33% w/v. Ο διπλασιασμός της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος (0,66% w/v) οδήγησε σε αύξηση του πολυφαινολικού περιεχομένου στο ρύζι κατά 17,4 φορές, ο τριπλασιασμός σε αύξηση κατά 24,8 φορές, ενώ ο εξαπλασιασμός της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος επέφερε αύξηση των πολυφαινολικών συστατικών κατά 39,4 φορές στο τέλος της υγροθερμικής επεξεργασίας σε σύγκριση κάθε φορά με το πολυφαινολικό περιεχόμενο του λευκού μυλευμένου ρυζιού. Επιπλέον, από το Σχήμα 20, μπορεί να παρατηρηθεί ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του υδατικού εκχυλίσματος βοτάνου οδηγεί σε γραμμική αύξηση της ποσότητας των πολυφαινολικών ουσιών, χωρίς ωστόσο τα παραπάνω μεγέθη να είναι απόλυτα ανάλογα μεταξύ τους.



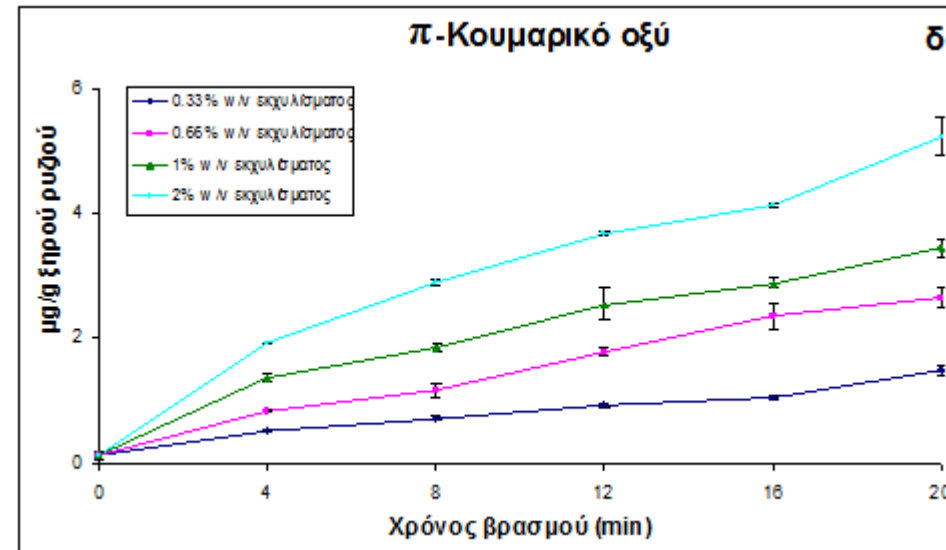
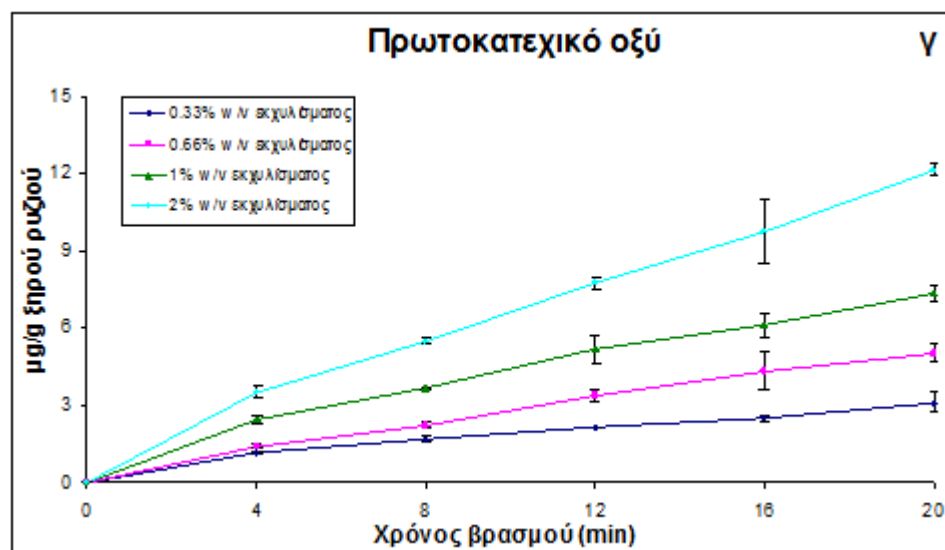
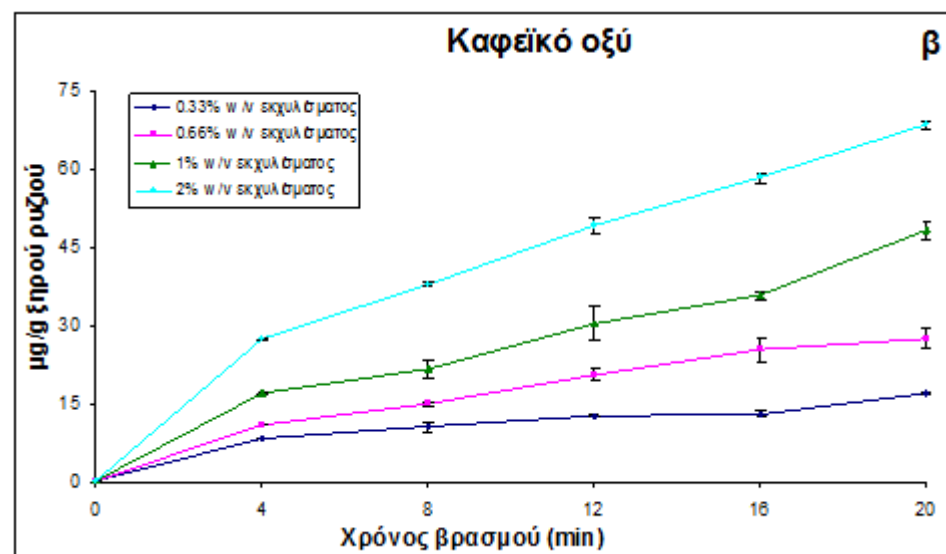
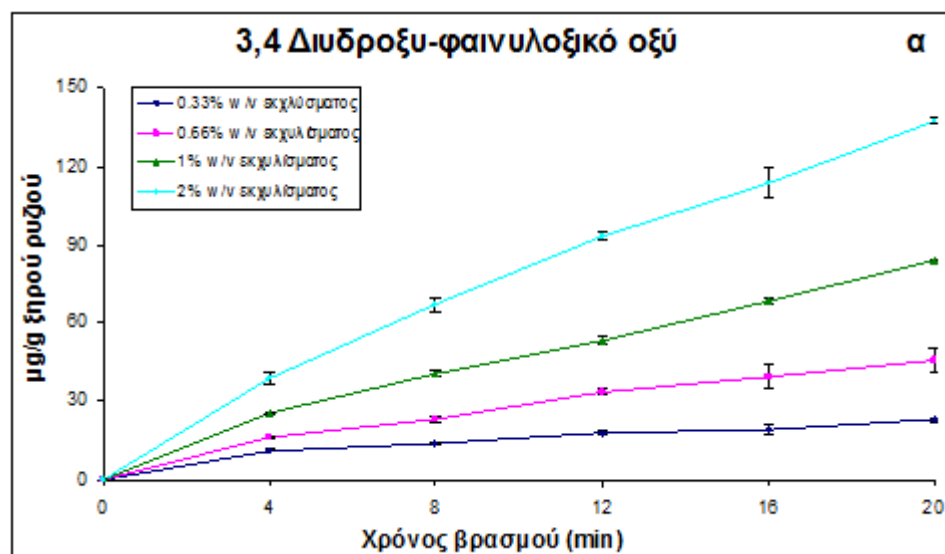
Σχήμα 20: Ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο λευκού ρυζιού που έχει υποστεί βρασμό εντός υδατικών εκχυλισμάτων δύοσμου διαφόρων συγκεντρώσεων σε συνάρτηση με τον χρόνο βρασμού. Όλες οι τιμές εκφράστηκαν ως μέση τιμή mg ισοδυνάμων GAE/g ξηρού ρυζιού, ενώ οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση των δειγμάτων (n=3).

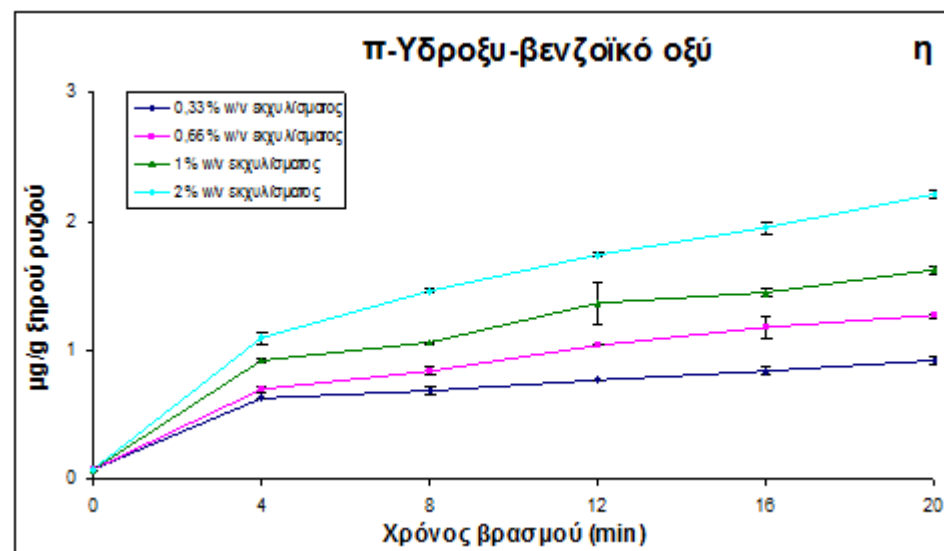
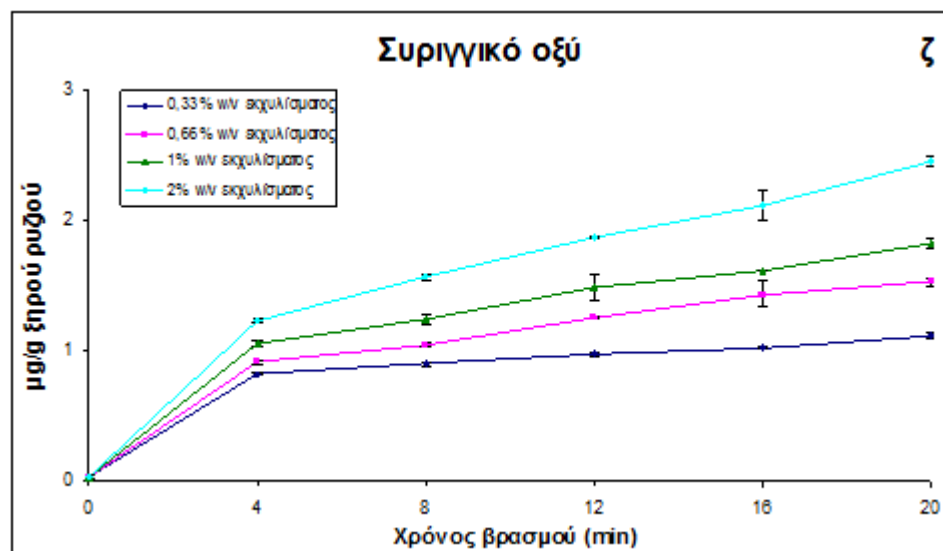
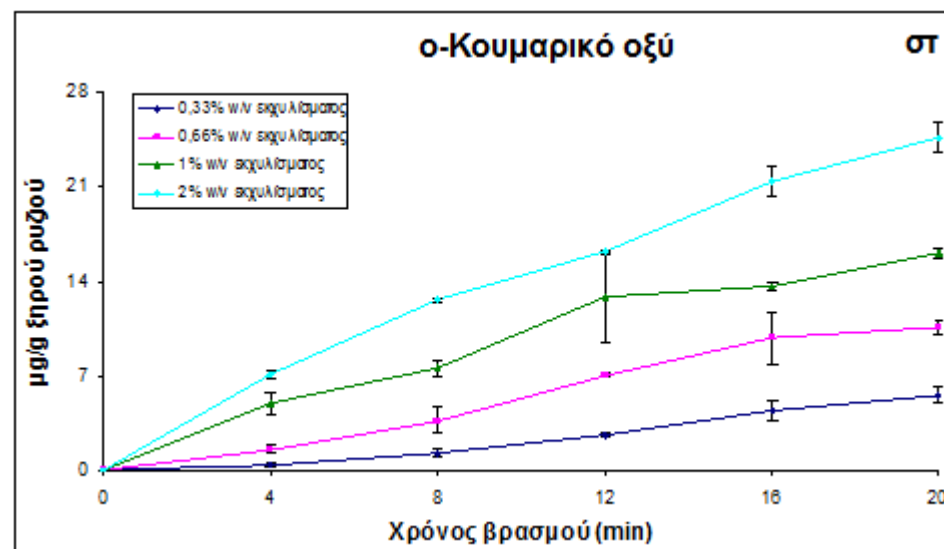
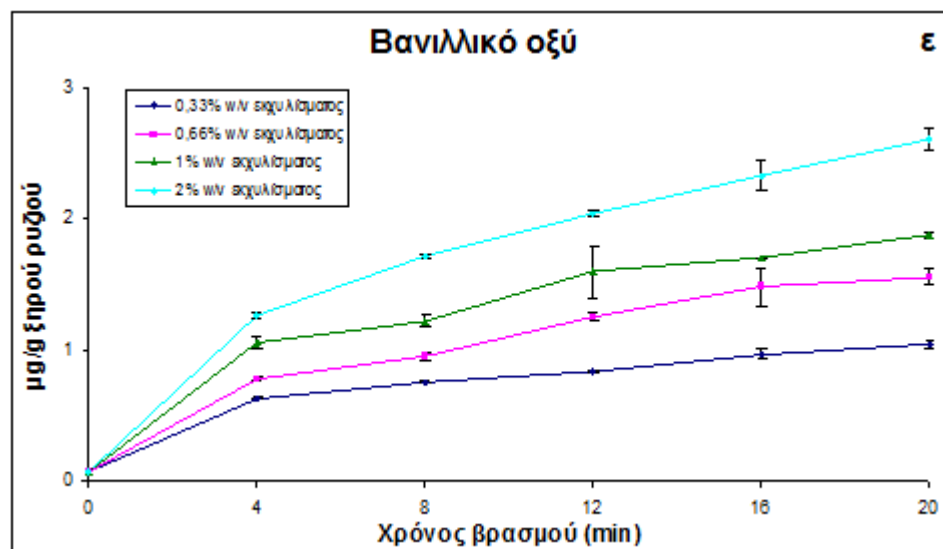
Τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στον Πίνακα 14 δείχνουν το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο, καθώς και τη συγκέντρωση επιμέρους φαινολικών συστατικών που εξετάστηκαν χρωματογραφικά σε δείγματα εμπλουτισμένου ρυζιού μετά το πέρας του βρασμού τους (t=20 min) εντός εκχυλισμάτων διαφορετικών συγκεντρώσεων. Επιπλέον, μέσω του Πίνακα 14 δίδεται η δυνατότητα να γίνει σύγκριση των δειγμάτων αυτών με μη βρασμένα δείγματα λευκού ρυζιού (2^η στήλη) ως προς την περιεκτικότητά τους σε αντιοξειδωτικές ουσίες που προσροφήθηκαν στο ρύζι κατά τη διάρκεια του βρασμού. Ταυτόχρονα, από τη διαδικασία εμπλουτισμού του ρυζιού εντός των 4 υδατικών εκχυλισμάτων παρατίθενται τα Σχήματα 21 και 57 (Παράρτημα) για τα 8 φαινολικά οξέα που εξετάστηκαν στην παρούσα εργασία. Συγκεκριμένα, το Σχήμα 21 δείχνει πως υπάρχει μια γραμμική αύξηση στη συγκέντρωση των επιμέρους συστατικών στους κόκκους του ρυζιού σε συνάρτηση με τον χρόνο βρασμού, όπως άλλωστε φάνηκε να συμβαίνει και για τις ολικές πολυφαινόλες (Σχήμα 20). Επιπρόσθετα, το Σχήμα 57 (Παράρτημα) δείχνει πως η % w/v συγκέντρωση των εκχυλισμάτων δύοσμου, που χρησιμοποιήθηκαν στη διαδικασία εμπλουτισμού, επίσης σχετίζεται γραμμικά με το περιεχόμενο των

φαινολικών οξέων στο εμπλουτισμένο ρύζι. Ωστόσο, η παραπάνω παρατηρούμενη αύξηση φαίνεται να μην είναι αναλογική, καθώς ο διπλασιασμός της % w/v συγκέντρωσης του εκχυλίσματος οδηγεί σε μια μέση αύξηση όλων των εξετασθέντων συστατικών στο ρύζι κατά 1,27-2,89 φορές. Αντίστοιχα, ο τριπλασιασμός της % w/v συγκέντρωσης του εκχυλίσματος είχε ως αποτέλεσμα η μέση συγκέντρωση των φαινολικών ουσιών στο ρύζι να αυξηθεί κατά 1,49-6,47 φορές, ενώ ο εξαπλασιασμός της % w/v συγκέντρωσης του εκχυλίσματος επέφερε μέση αύξηση του περιεχομένου των εξετασθέντων συστατικών στο ρύζι κατά 1,89-9,55 φορές.

Πίνακας 14: Συγκέντρωση φαινολικών οξέων (μg/g ξηρού ρυζιού) και ολικές πολυφαινόλες (mg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος GAE/g ξηρού ρυζιού) σε λευκό ρύζι που εμπλουτίστηκε έπειτα από βρασμό εντός εκχυλισμάτων δυόσμου διαφόρων συγκεντρώσεων για 20 min. Όλες οι μετρήσεις παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (n=3).

Φαινολικά οξέα (μg/g ξηρού ρυζιού)	Λευκό μυλεμένο ρύζι (t=0)	Εμπλουτισμένο ρύζι (t=20 min)			
		Συγκέντρωση υδατικών εκχυλισμάτων δυόσμου			
		0,33% w/v	0,66% w/v	1% w/v	2% w/v
3,4-Διυδροξυ-φαινολοξικό	0,005±0,002	22,94±0,82	45,76±4,86	83,99±0,12	137,41±0,85
Καφεϊκό	0,150±0,106	17,07±0,31	27,63±1,87	48,31±1,66	68,57±0,68
ο-Κουμαρικό	0,032±0,001	5,56±0,62	10,54±0,56	16,03±0,44	24,65±1,11
Πρωτοκατεχικό	0,018±0,005	3,12±0,37	5,03±0,39	7,35±0,32	12,14±0,24
π-Κουμαρικό	0,137±0,064	1,49±0,08	2,66±0,14	3,45±0,13	5,24±0,31
Βαννιλικό	0,066±0,023	1,05±0,03	1,55±0,06	1,88±0,02	2,61±0,08
Συριγγικό	0,024±0,008	1,11±0,03	1,53±0,03	1,82±0,03	2,46±0,04
π-Υδροξυ-βενζοϊκό	0,076±0,020	0,91±0,02	1,27±0,02	1,62±0,03	2,21±0,03
Ολικές πολυφαινόλες (mg GAE/g ξηρού ρυζιού)	0,07±0,01	0,61±0,12	1,22±0,05	1,74±0,26	2,76±0,23

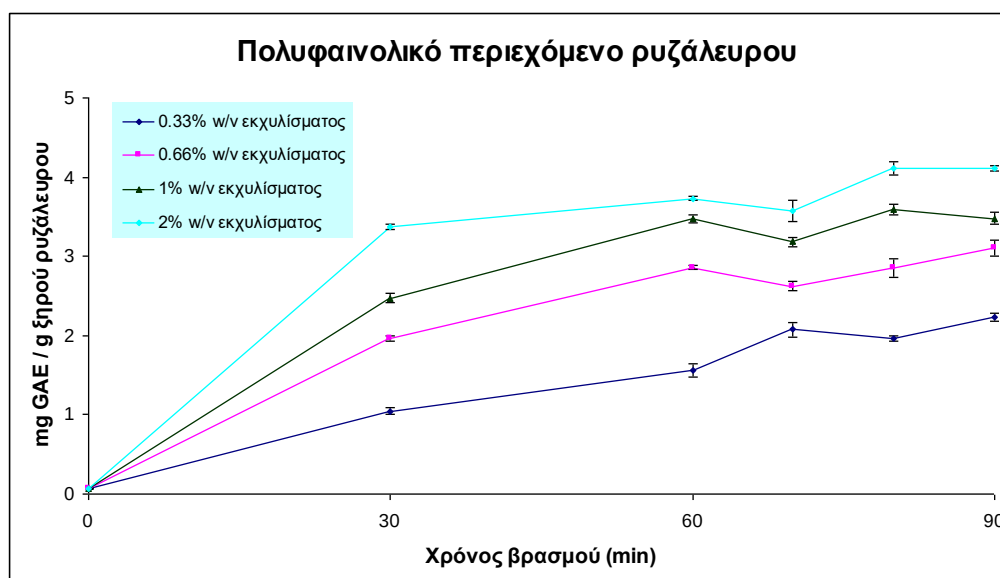




Σχήμα 21: Συγκέντρωση (μg/g ξηρού ρυζιού) εξετασθέντων φαινολικών οξέων (3,4-Διυδροξυ-φαινυλοξικό (α), καφεϊκό (β), πρωτοκατεχικό (γ), π-κουμαρικό (δ), βανιλλικό (ε), ο-κουμαρικό (στ), συριγγικό (ζ), π-Υδροξυ-βενζοϊκό (η)) στο ρύζι σε συνάρτηση με το χρόνο βρασμού του σε υδατικά εκχυλίσματα δύοσμου διαφορετικών συγκεντρώσεων. Όλες οι τιμές έχουν εκφραστεί ως μέσες τιμές (n=3), ενώ οι γραμμές σφάλματος αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση των δειγμάτων.

Από το Σχήμα 21 γίνεται αντιληπτό ότι με την αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος, άρα και της ποσότητας των διαθέσιμων συστατικών εξωτερικά των κόκκων ρυζιού, κατά τη διάρκεια του βρασμού, η συγκέντρωση των επιμέρους φαινολικών συστατικών στο εσωτερικό των κόκκων διατηρεί μια ανοδική πορεία από την έναρξη έως και το τέλος της εκάστοτε διαδικασίας εμπλουτισμού (20 min), χωρίς να υπάρχει καμία ένδειξη κορεσμού των κόκκων του ρυζιού σε πολυφαινόλες. Πιθανώς, η ισορροπία των μικροσυστατικών μεταξύ του εκχυλίσματος και του ρυζιού θα μπορούσε να επιτευχθεί υπό διαφορετικές συνθήκες εμπλουτισμού (χρόνος βρασμού, θερμοκρασία, συγκέντρωση εκχυλίσματος). Επομένως, απαιτούνται επιπλέον δοκιμές και πειράματα ώστε να εκτιμηθεί η συγκέντρωση ενδεχόμενης ισορροπίας του εκάστοτε φαινολικού οξέος, γεγονός που θα βοηθήσει στην εφαρμογή του 2^{ου} νόμου του Fick για το μελετούμενο πρόβλημα διάχυσης. Με την προϋπόθεση, λοιπόν, ότι οι θεωρητικές τιμές του μοντέλου βρίσκονται σε συμφωνία με τις πειραματικές, θα μπορεί να εκτιμηθεί εάν η προσρόφηση του κάθε συστατικού στο ρύζι υπακούει στον 2^ο νόμο του Fick για τη διάχυση, όπως πιστεύεται ότι συμβαίνει για την προσρόφηση του νερού στο ρύζι κατά τον βρασμό (Bakalis et al., 2009; Bello et al., 2004).

Έχοντας ως στόχο, λοιπόν, τη μελέτη μιας πιθανής ισορροπίας-κορεσμού για κάθε εξεταζόμενο συστατικό στο ρύζι, πραγματοποιήθηκε κατάτμηση των κόκκων λευκού ρυζιού σε πολύ μικρότερη κοκκομετρία (ρυζάλευρο) προκειμένου να αυξηθεί η επιφάνεια επαφής μεταξύ ρυζιού-εκχυλίσματος. Στη συνέχεια, το ρυζάλευρο οδηγήθηκε σε βρασμό εντός των εκχυλισμάτων διαφορετικής συγκέντρωσης για θεωρητικά άπειρο χρόνο βρασμού (90 min). Από την παραπάνω διαδικασία προέκυψαν εμπλουτισμένα δείγματα ρυζάλευρου τα οποία εξετάστηκαν, αρχικά, ως προς τις ολικές τους πολυφαινόλες με τη μέθοδο του Folin – Ciocalteu.

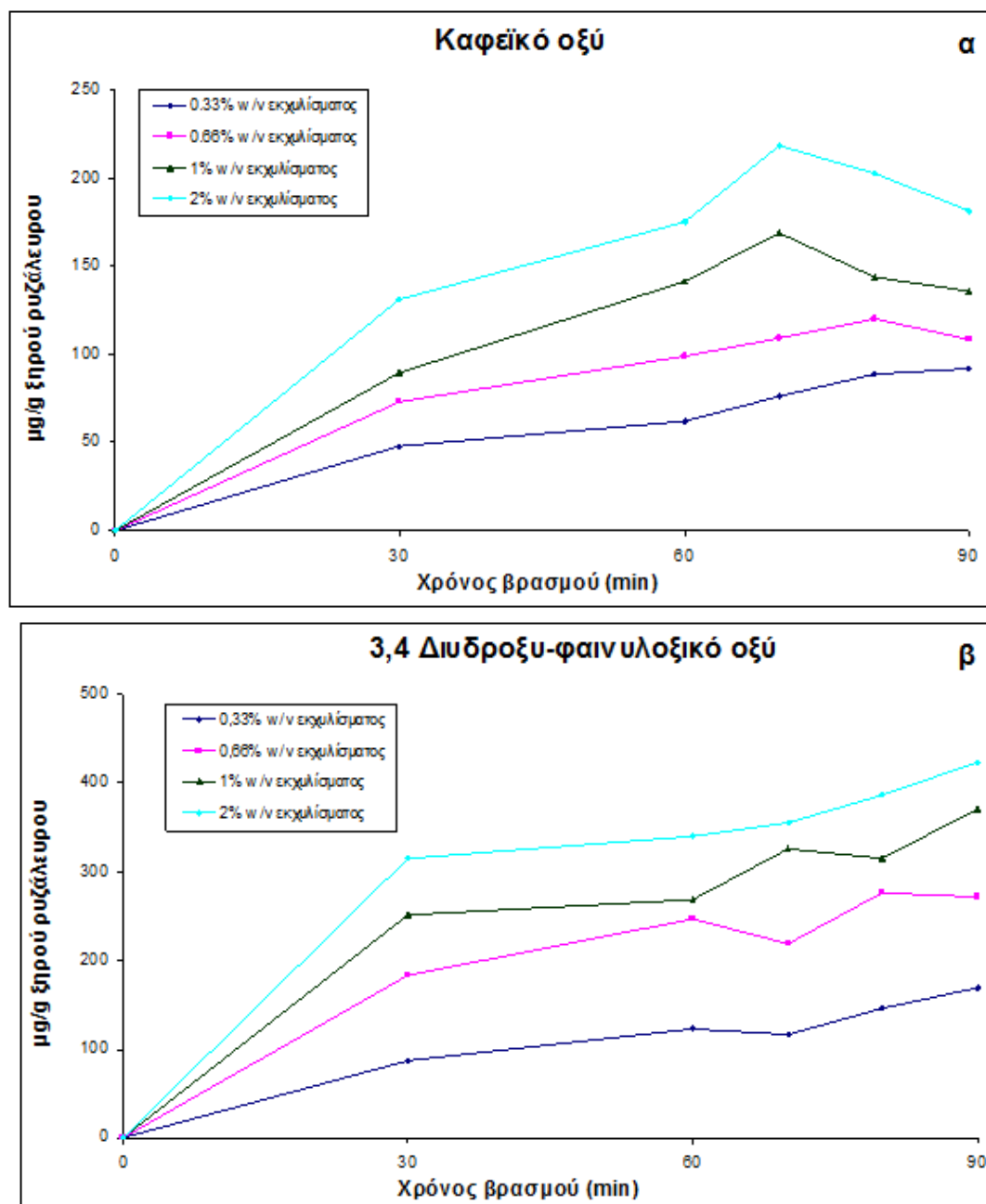


Σχήμα 22: Ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο λευκού ρυζάλευρου που έχει υποστεί βρασμό εντός υδατικών εκχυλισμάτων δύοσμου διαφόρων συγκεντρώσεων σε συνάρτηση με τον χρόνο βρασμού. Όλες οι τιμές εκφράστηκαν ως μέση τιμή mg ισοδυνάμων GAE/g ξηρού ρυζάλευρου, ενώ οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση των δειγμάτων (n=3).

Στο Σχήμα 22 απεικονίζονται οι τιμές του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου του εμπλουτισμένου ρυζάλευρου (mg GAE/g ξηρού ρυζάλευρου) που παρασκευάστηκε εντός των υδατικών εκχυλισμάτων βοτάνου διαφορετικών συγκεντρώσεων. Από το παραπάνω Σχήμα γίνεται αντιληπτό ότι η συγκέντρωση των πολυφαινολών στο ρυζάλευρο αυξάνεται σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση των εκχυλισμάτων δύοσμου, περίπου μέχρι τα πρώτα 60 min της διαδικασίας εμπλουτισμού, καθώς από τη χρονική στιγμή t_{70} και έπειτα, φαίνεται πως ορισμένα δείγματα τείνουν να προσεγγίσουν την ισορροπία ενώ άλλα την έχουν ήδη προσεγγίσει. Επιπλέον, παρατηρείται ότι τα επίπεδα ισορροπίας των ολικών πολυφαινολών τείνουν να είναι διαφορετικά για κάθε % w/v συγκέντρωση εκχυλίσματος δύοσμου, εντός των οποίων πραγματοποιήθηκε ο βρασμός των δειγμάτων ρυζάλευρου.

Στη συνέχεια, παρουσιάζονται ενδεικτικά οι μεταβολές συγκεντρώσεων των δυο κυρίαρχων φαινολικών οξέων (καφεϊκού και 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικού) στο εμπλουτισμένο ρυζάλευρο, όπως προέκυψαν από τη χρωματογραφική ανάλυση που υπέστησαν όλα τα δείγματα ρυζάλευρου, μετά τον βρασμό τους σε υδατικά εκχυλίσματα διαφόρων συγκεντρώσεων (Σχήμα 23). Αυτό που παρατηρείται είναι ότι

τα συγκεκριμένα φαινολικά οξέα παρουσιάζουν μια τάση να ακολουθήσουν το ίδιο πρότυπο ρόφησης με αυτό των ολικών πολυφαινολών στο ρυζάλευρο. Τα διαγράμματα συγκέντρωσης – χρόνου βρασμού που αφορούν τον εμπλουτισμό του ρυζάλευρου με τα υπόλοιπα εξεταζόμενα φαινολικά οξέα παρατίθενται στο Παράρτημα (Σχήμα 58).



Σχήμα 23: Συγκέντρωση (μg/g ξηρού ρυζάλευρου) κυριότερων φαινολικών οξέων (καφεϊκό (α), 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικό (β)) στο ρυζάλευρο κατά τη διάρκεια παρατεταμένου βρασμού του σε υδατικά εκχυλίσματα δύοσμου διαφορετικών συγκεντρώσεων.

Τέλος, προκειμένου να γίνει η εκτίμηση του συντελεστή διάχυσης D για τα επιμέρους φαινολικά οξέα στον κόκκο ρυζιού, υπολογίστηκαν οι θεωρητικές τιμές ισορροπίας-κορεσμού των φαινολικών ουσιών, οι οποίες προέκυψαν ως μέσοι όροι των συγκεντρώσεων των εξετασθέντων συστατικών στα δείγματα εμπλουτισμένου ρυζάλευρου που απομονώθηκαν τις χρονικές στιγμές t_{70} , t_{80} και t_{90} . Τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται στον Πίνακα 15, στην τελευταία γραμμή του οποίου φαίνονται και οι ολικές πολυφαινόλες που έχει προσροφήσει το ρυζάλευρο, έπειτα από βρασμό (90 min) εντός των υδατικών εκχυλισμάτων διαφορετικών συγκεντρώσεων.

Πίνακας 15: Υπολογισμένες συγκεντρώσεις ισορροπίας ($\mu\text{g/g}$ ξηρού ρυζάλευρου) για τα εξετασθέντα φαινολικά οξέα και τις ολικές πολυφαινόλες που προσροφήθηκαν σε ρυζάλευρο έπειτα από βρασμό του εντός εκχυλισμάτων δυόσμου διαφόρων συγκεντρώσεων για θεωρητικά άπειρο χρόνο βρασμού (90 min). Οι τιμές των συγκεντρώσεων ισορροπίας των εξετασθέντων φαινολικών οξέων παρουσιάζονται ως μέσοι όροι των επιμέρους συστατικών των δειγμάτων που απομονώθηκαν σε χρόνους t_{70} , t_{80} , t_{90} . Οι μετρήσεις των ολικών πολυφαινολών παρουσιάζονται ως μέση τιμή $\pm$ τυπική απόκλιση ($n=3$).

Εκτιμώμενες συγκεντρώσεις ισορροπίας στο εμπλουτισμένο ρυζάλευρο ($\mu\text{g/g}$ ξηρού ρυζάλευρου)	Συγκέντρωση υδατικών εκχυλισμάτων δυόσμου			
	0,33% w/v	0,66% w/v	1% w/v	2% w/v
3,4-Διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	144,07	255,68	337,30	388,31
Καφεϊκό οξύ	85,68	112,91	149,79	200,75
ο-Κουμαρικό οξύ	21,06	42,72	51,09	56,67
Πρωτοκατεχικό οξύ	19,13	25,44	27,46	33,80
π-Κουμαρικό οξύ	5,85	9,12	11,18	14,62
Βανιλικό οξύ	5,45	5,97	6,21	6,34
Συριγγικό οξύ	7,32	7,97	8,28	8,58
π-Υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	5,31	6,09	6,03	6,30
Ολικές πολυφαινόλες (mg GAE/g ξηρού ρυζάλευρου)	2,23 $\pm$ 0,05	3,10 $\pm$ 0,10	3,48 $\pm$ 0,08	4,11 $\pm$ 0,04

Από τους Πίνακες 13, 14 και 15 μπορεί να παρατηρηθεί πως ενώ η συγκέντρωση του καφεϊκού οξέος στο αρχικό εκχύλισμα δυόσμου είναι 1,7 φορές μεγαλύτερη από αυτή του 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικού, η προσρόφηση του δεύτερου

φαίνεται να είναι μεγαλύτερη τόσο στο εμπλουτισμένο ρύζι όσο και στο εμπλουτισμένο ρυζάλευρο, για όλες τις διαφορετικές συγκεντρώσεις εκχυλίσματος βοτάνου. Επιπλέον, φαίνεται ότι η ποσοτική σειρά εμφάνισης των φαινολικών οξέων στο υδατικό εκχύλισμα βοτάνου διατηρείται στο εμπλουτισμένο ρύζι και ρυζάλευρο, με εξαίρεση το καφεϊκό και το συριγγικό οξύ.

Από τα πειράματα παρασκευής εμπλουτισμένου ρυζιού με υγροθερμική επεξεργασία εντός εκχυλισμάτων δυόσμου διαφορετικών συγκεντρώσεων μπορεί να προβλεφθεί, σε γενικές γραμμές, η συγκέντρωση που θα αποκτήσει π.χ. μια ποσότητα ρυζιού που θα υποστεί επεξεργασία, ανάλογα με τις συνθήκες περιεκτικότητας εκχυλίσματος και χρόνου δειγματοληψίας που επιλέγονται. Λαμβάνοντας υπόψη το είδος του εμπλουτισμένου τροφίμου που επιθυμεί να παρασκευάσει μια βιομηχανία τροφίμων (π.χ. εμπλουτισμένο ρύζι ready-to-eat ή γρήγορου βρασμού), την επιθυμητή ποσότητα μικροσυστατικών που να περιέχονται, το επιθυμητό χρώμα του τελικού προϊόντος, τους επιθυμητούς βαθμούς διόγκωσης, ζελατινοποίησης, ενυδάτωσης και ενδεχόμενης συρρίκνωσης-καταπόνησης (ξήρανση) των κόκκων ρυζιού, μπορούν να επιλεγούν θεωρητικά οι βέλτιστες παράμετροι συγκέντρωσης εκχυλίσματος και χρόνου υγροθερμικής διεργασίας για την παραγωγή του τελικού προϊόντος.

3.6 Εκτίμηση του συντελεστή διάχυσης D για τα επιμέρους φαινολικά οξέα

3.6.1 Αναλυτική λύση της εξίσωσης του 2ου νόμου του Fick για κύλινδρο απείρου μήκους

Στον Πίνακα 16 παρουσιάζονται οι συντελεστές διάχυσης των εξετασθέντων φαινολικών οξέων για τις επιμέρους συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων δυόσμου, όπως προέκυψαν από τη βελτιστοποίηση μεταξύ των πειραματικών και υπολογιστικών τιμών (αναλυτική λύση εξίσωσης του 2^{ου} νόμου του Fick για κύλινδρο) των συγκεντρώσεων των μικροσυστατικών στο εμπλουτισμένο ρύζι. Από τα αποτελέσματα του Πίνακα 16 φαίνεται ότι η διαχυτότητα όλων των φαινολικών συστατικών στους κόκκους ρυζιού είναι σαφώς μικρότερη (1-2 τάξεις μεγέθους) σε σχέση με τη διαχυτότητα του νερού στο ρύζι κατά τη διάρκεια του βρασμού του (Bakalis et al., 2009), ενώ παράλληλα επηρεάζεται από την περιεκτικότητα των υδατικών εκχυλισμάτων σε φυτοχημικές ουσίες.

Η αύξηση αυτή της διαχυτότητας των συστατικών στο ρύζι δεν έχει κάποια προφανή εξήγηση και επιπλέον η διερεύνηση της βιβλιογραφίας δεν έδειξε να υπάρχει αντίστοιχο φαινόμενο σε περιπτώσεις εμπλουτισμού ενός τροφίμου συγκεκριμένης σύστασης και υπό δεδομένη θερμοκρασία. Παράλληλα, οι αναφορές για τη διαχυτότητα συστατικών, πλην υγρασίας, σε τρόφιμα κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού τους φαίνεται να είναι πολύ περιορισμένες, ενώ οι περισσότερες από αυτές εστιάζουν στη μελέτη της διαχυτότητας (π.χ. σακχάρων, αλάτων, πολυφαινολών) κατά τη διάρκεια ωσμωτικών διεργασιών (π.χ. αφυδάτωσης) (Rozek et al., 2009; Mercali et al., 2011; Rastogi et al., 1997). Σε αυτές τις περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί μεταβολή της διαχυτότητας των προσροφούμενων συστατικών στα τρόφιμα όταν αυξάνεται η συγκέντρωσή τους εντός του ωσμωτικού διαλύματος, του οποίου η θερμοκρασία παραμένει σταθερή. Ο κυριότερος λόγος για τον οποίο αυξάνεται ο συντελεστής διάχυσης των συστατικών κατά την ωσμωτική αφυδάτωση είναι το ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του ωσμωτικού διαλύματος προκαλεί αντίστοιχη αύξηση στη βαθμίδα ωσμωτικής πίεσης μεταξύ της εξωτερικής επιφάνειας και του γεωμετρικού κέντρου του τροφίμου. Μόλις η ωσμωτική πίεση εξωτερικά του τροφίμου υπερβεί μια συγκεκριμένη κρίσιμη τιμή τότε η εξωτερική μεμβράνη του υφίσταται διάρρηξη και η δομή του συρρικνώνεται οπότε είναι εύλογο να αυξάνεται το πορώδες του τροφίμου που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της διαχυτότητας των συστατικών (Rastogi et al., 1997; Rastogi & Raghavarao, 2004). Ωστόσο, κατά τον εμπλουτισμό του ρυζιού δεν θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι λαμβάνει χώρα κάποιο αντίστοιχο φαινόμενο που να μπορούσε να αιτιολογήσει την αύξηση της διαχυτότητας των συστατικών στο ρύζι με την αύξηση της συγκέντρωσης των υδατικών εκχυλισμάτων σε συστατικά όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 16.

Πίνακας 16: Συντελεστές διάχυσης D (βάσει επίλυσης αναλυτικής εξίσωσης Fick για κύλινδρο) των εξετασθέντων φαινολικών οξέων στο ρύζι κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού για τις επιμέρους συγκεντρώσεις των υδατικών εκχυλισμάτων δυόσμου.

Φαινολικά οξέα	Συντελεστής Διάχυσης ($\times 10^{-11}$) ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$)			
	Συγκέντρωση υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου			
	0,33% w/v	0,66% w/v	1% w/v	2% w/v
3,4-Διυδροξυ-φαινολοξικό	0,42	0,49	0,86	1,85
π-Κουμαρικό	0,67	1,13	1,42	1,90
ο-Κουμαρικό	0,67	0,81	1,56	2,95
Καφεϊκό	0,63	0,99	1,39	1,93
Πρωτοκατεχικό	0,38	0,54	1,07	1,80
Βανιλλικό	0,63	1,18	1,71	3,18
Συριγγικό	0,46	0,69	0,90	1,45
π-Υδροξυ-βενζοϊκό	0,50	0,73	1,29	2,20

Από τα δεδομένα του Πίνακα 16 είναι δυνατόν να γίνει και σύγκριση της διαχυτότητας των επιμέρους φαινολικών οξέων στο εμπλουτισμένο ρύζι και ειδικότερα παρατηρείται ότι κατά μέσον όρο το βανιλλικό, το ο-κουμαρικό, το π-κουμαρικό και το καφεϊκό οξύ εμφανίζουν τη μεγαλύτερη διαχυτότητα, ενώ το συριγγικό, το 3,4-διυδροξυ-φαινολοξικό, το πρωτοκατεχικό και το π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ παρουσιάζουν τους μικρότερους συντελεστές διάχυσης για τις συγκεντρώσεις εκχυλίσματος βοτάνου που δοκιμάστηκε ο εμπλουτισμός.

Θεωρώντας ότι το ρύζι κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού του, όπου λαμβάνει χώρα η διάχυση των φαινολικών συστατικών από την εξωτερική επιφάνεια προς το εσωτερικό του, μπορεί να προσομοιωθεί με μία εύκαμπτη πολυμερική μεμβράνη μικρού πορώδους, η οποία αποτελείται κατά το μεγαλύτερο μέρος της από αμυλοπηκτίνη και νερό, μπορεί να υποτεθεί ότι η διαχυτότητα των φαινολικών οξέων θα εξαρτάται από τη φύση των μορίων τους. Επίσης, οι παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά τη μεταφορά μάζας διαμέσου μιας πολυμερικής μεμβράνης είναι το μέγεθος και το σχήμα των μορίων που τη διαπερνούν (π.χ. λόγω εμφάνισης στερικών αλληλεπιδράσεων), καθώς και η διαλυτότητα-έλξη που ασκείται στα συστατικά αυτά από τα αντίστοιχα συστατικά της μεμβράνης. Ειδικότερα, έχει παρατηρηθεί μείωση της διαχυτότητας συστατικών, σε δεδομένη πολυμερική μεμβράνη, όσο αυξάνει το μοριακό βάρος τους, καθώς επίσης και όσο αυξάνει η ισοδύναμη ακτίνα τους. Για

παράδειγμα, μεταξύ μορίων ίδιου μεγέθους μεγαλύτερη διαχυτότητα έχουν βρεθεί να εμφανίζουν τα πιο επιμήκη σε σχέση με τα σφαιρικού σχήματος μόρια. Ωστόσο, οι διαφορές στη διαπερατότητα της μεμβράνης που αποδίδονται στο μέγεθος και το σχήμα των συστατικών γίνονται πιο εμφανείς όταν το πολυμερές βρίσκεται στην υαλώδη του κατάσταση παρά στην μη υαλώδη (εύκαμπτο). (George & Thomas, 2001; Cu & Saltzman, 2009; Dury-Brun et al., 2007)

Όσον αφορά στη χημική συγγένεια μεταξύ των ροφούμενων συστατικών και των συστατικών της μεμβράνης έχει βρεθεί ότι παίζει πολύ σημαντικό ρόλο ως προς τη διαπερατότητα και τη διάχυση. Πιο συγκεκριμένα, η χαμηλή χημική συγγένεια-έλξη μεταξύ των παραπάνω συστατικών έχει δείξει ότι αυξάνει τη διαπερατότητα της μεμβράνης ως προς τα συστατικά αυτά και κατ' επέκταση αυξάνεται και η διαχυτότητά τους. Αντίθετα, τα συστατικά που παρουσιάζουν υψηλό βαθμό έλξης προς αυτά της μεμβράνης τείνουν να αλληλεπιδρούν μαζί τους οπότε η διέλευση τους διαμέσου της μεμβράνης ουσιαστικά παρεμποδίζεται με αποτέλεσμα να εμφανίζουν χαμηλότερη διαχυτότητα στις περισσότερες περιπτώσεις. Ο βαθμός χημικής συγγένειας μεταξύ των συστατικών του ρυζιού και των φαινολικών οξέων μπορεί να εκφραστεί από τις ιδιότητες της πολικότητας και της υδροφοβικότητας αυτών. Ειδικότερα, η υδροφοβικότητα ενός συστατικού ορίζεται μέσω του συντελεστή κατανομής του μεταξύ οκτανόλης και νερού (P) και το αποτέλεσμα εκφράζεται σε λογαριθμική κλίμακα ως αδιάστατος αριθμός (logP). Γενικά, όσο πιο χαμηλές τιμές logP (αρνητικές) εμφανίζουν τα εξεταζόμενα συστατικά τόσο πιο υδρόφιλα είναι, ενώ αντίστοιχα τιμές logP>0 αντιστοιχούν σε πιο υδρόφοβα μόρια που κατά κανόνα έχουν μικρότερη έλξη προς το νερό και άλλα υδρόφιλα μόρια οπότε παρουσιάζουν και μεγαλύτερη διαπερατότητα-διαχυτότητα διαμέσου αυτών. (Cu & Saltzman, 2009; Dury-Brun et al., 2007)

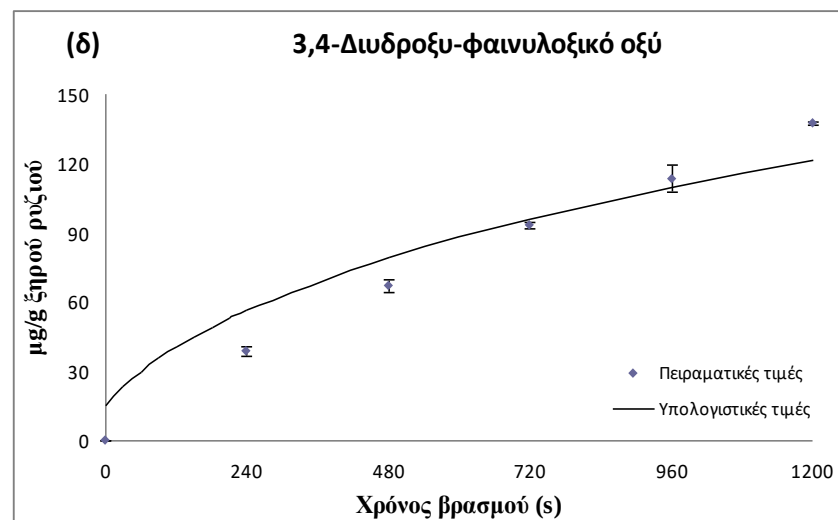
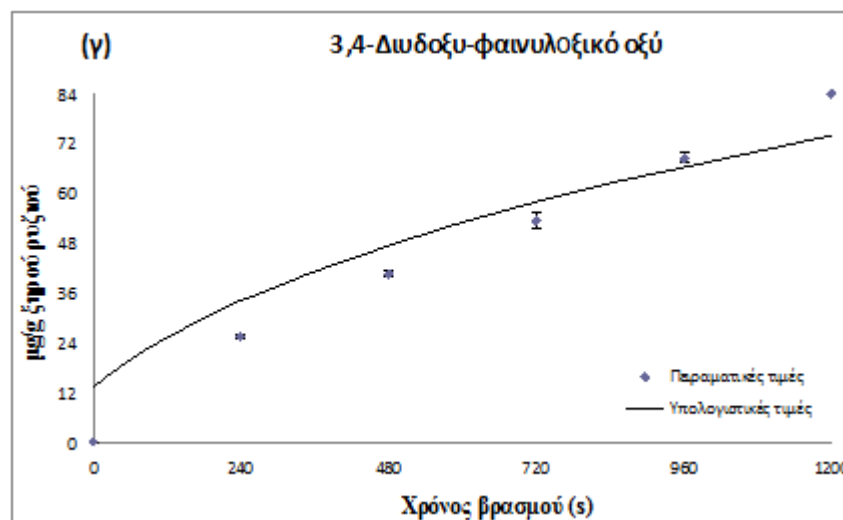
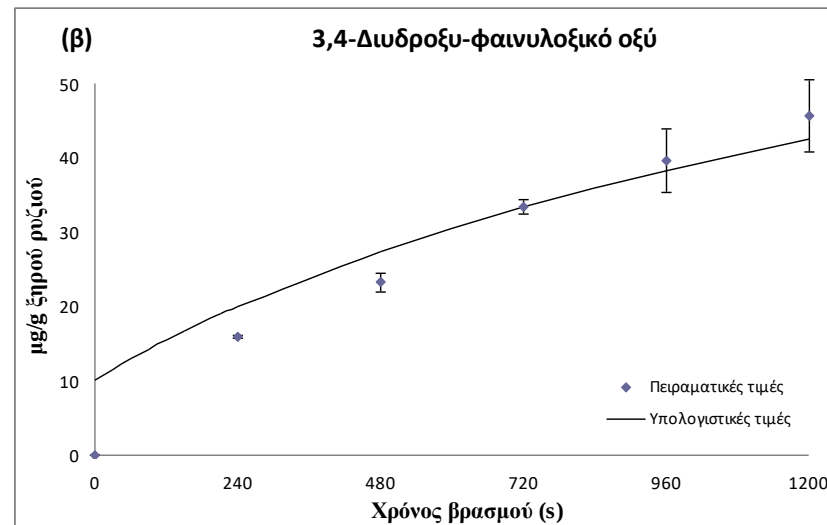
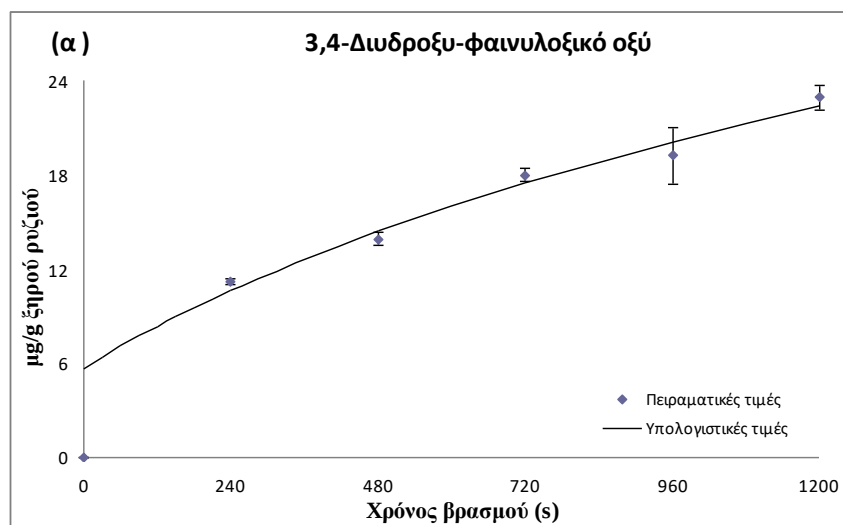
Πίνακας 17: Μοριακό βάρος και δείκτης υδροφοβικότητας (logP) αμυλοπηκτίνης και φαινολικών οξέων που προσροφούνται στο ρύζι. (Πηγή: PUBCHEM)

Φαινολικά οξέα	MB	Εκτιμώμενη τιμή logP
Συριγγικό	198	1
Καφεϊκό	180	1,2
3,4-Διυδροξυ-φαινυλοξικό	168	0,5
Βανιλλικό	168	1,4
ο-Κουμαρικό	164	1,5
π-Κουμαρικό	164	1,5
Πρωτοκατεχικό	154	1,1
π-Υδροξυ-βενζοϊκό	138	1,6
Αμυλοπηκτίνη	-	-10,6

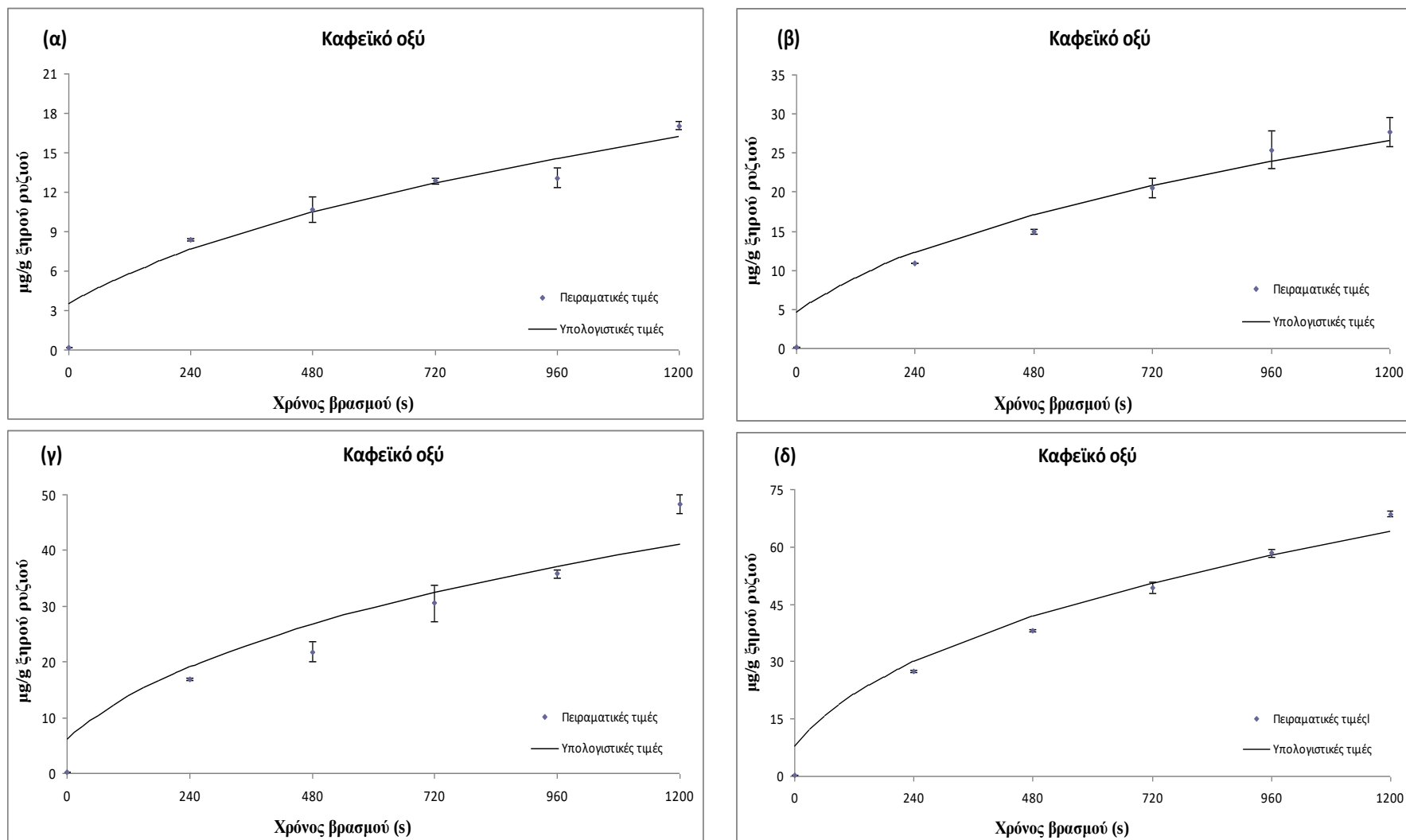
Στον Πίνακα 17 παρουσιάζονται δεδομένα (MB, logP) που αφορούν στο μέγεθος των προσροφόμενων φαινολικών οξέων στο ρύζι, καθώς και τη συγκριτική χημική τους συνάφεια με το νερό και την αμυλοπηκτίνη που αποτελούν τα βασικά συστατικά του εμπλουτιζόμενου ρυζιού. Με βάση αυτά τα δεδομένα θα μπορούσε να αιτιολογηθεί ο συγκριτικά χαμηλότερος συντελεστής διάχυσης (Πίνακας 16) που εμφανίζουν το συριγγικό, το 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικό και το πρωτοκατεχικό, τα οποία φαίνεται να είναι συγκριτικά πιο υδρόφιλα (βάσει των τιμών logP), όπως άλλωστε υδρόφιλη εμφανίζεται να είναι και η αμυλοπηκτίνη. Επιπλέον, το συριγγικό οξύ, το οποίο κατά μέσον όρο παρουσιάζει τη μικρότερη διαχυτότητα στο ρύζι, είναι το εξεταζόμενο συστατικό με το μεγαλύτερο μοριακό βάρος, ενώ και το σχήμα του αντιστοιχεί περισσότερο σε σφαιρικό παρά σε ευθύγραμμο μόριο (βενζοϊκός δακτύλιος με 2 μεθοξυ-ομάδες), γεγονός που θα μπορούσε να αιτιολογήσει τη μικρή του διαχυτότητα. Το μέγεθος των μορίων δεν φαίνεται να επιδρά σημαντικά στη σειρά κατάταξης των υπόλοιπων συστατικών ως προς τη διαχυτότητα καθώς οι διαφορές στα MB είναι σχετικά μικρές και επιπλέον, όπως προαναφέρθηκε, το ρύζι κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού του δεν βρίσκεται σε υαλώδη φάση (προηγείται η διάχυση του θερμού νερού της αντίστοιχης των συστατικών) οπότε το μέγεθος των εισερχόμενων μορίων δεν έχει μεγάλη επίδραση (George & Thomas, 2001). Όσον αφορά τα συστατικά που εμφανίζουν τη μεγαλύτερη διαχυτότητα στο ρύζι (βανιλλικό, ο-κουμαρικό, π-κουμαρικό και καφεϊκό οξύ) θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως συγκριτικά πιο υδρόφοβα (χαμηλότερος βαθμός χημικής συγγένειας τόσο με το νερό, όσο και με την αμυλοπηκτίνη) με βάση το logP που

εμφανίζουν (Πίνακας 17), οπότε και η διέλευσή τους διαμέσου του πλέγματος ρυζιού-νερού να παρεμποδίζεται λιγότερο σε σχέση με τα υπόλοιπα εξεταζόμενα συστατικά.

Στα Σχήματα 24 και 25 απεικονίζεται η προσαρμογή των υπολογισμένων συγκεντρώσεων, βάσει επίλυσης της αναλυτικής εξίσωσης του Fick (Εξίσωση 9) για κύλινδρο απείρου μήκους, των 2 κυρίαρχων φαινολικών οξέων στο ρύζι πάνω στις αντίστοιχες πειραματικές τιμές των αντίστοιχων συγκεντρώσεων που προέκυψαν κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού του ρυζιού. Από τα Σχήματα αυτά φαίνεται ότι η προσαρμογή είναι ικανοποιητική στις περισσότερες περιπτώσεις και ότι ακολουθείται το μοντέλο της διάχυσης κατά Fick σε αρκετά μεγάλο βαθμό και για τα 2 συστατικά.



Σχήμα 24: Απεικόνιση της συσχέτισης μεταξύ πειραματικών και υπολογιστικών τιμών (αναλυτική λύση εξίσωσης του Fick για κύλινδρο) των συγκεντρώσεων του 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικού οξέος, έπειτα από βρασμό του ρυζιού σε υδατικά εκχυλίσματα δύοσμου διαφόρων συγκεντρώσεων: α) 0,33% w/v, β) 0,66% w/v, γ) 1% w/v και δ) 2% w/v.



Σχήμα 25: Απεικόνιση της συσχέτισης μεταξύ πειραματικών και υπολογιστικών τιμών (αναλυτική λύση εξίσωσης του Fick για κύλινδρο) των συγκεντρώσεων του καφεϊκού οξέος, έπειτα από βρασμό του ρυζιού σε υδατικά εκχυλίσματα δυόσμου διαφόρων συγκεντρώσεων: α) 0,33% w/v, β) 0,66% w/v, γ) 1% w/v και δ) 2% w/v.

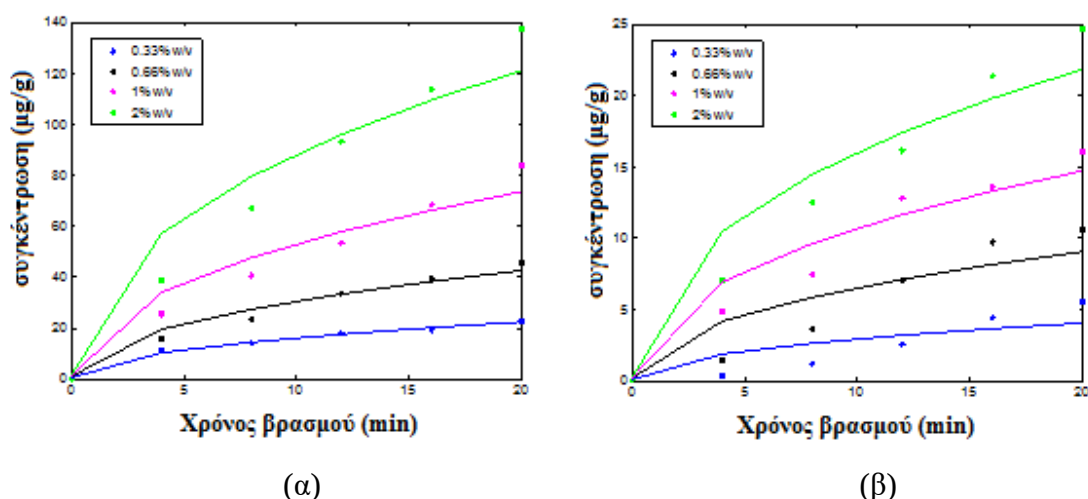
3.6.2 Αριθμητική-υπολογιστική επίλυση της εξίσωσης του 2ου νόμου του Fick για σφαίρα με τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων

Στον Πίνακα 18 εμφανίζονται οι συντελεστές διάχυσης (D_{fit}) των εξετασθέντων φαινολικών οξέων στο ρύζι για τις επιμέρους συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων δυόσμου, όπως προέκυψαν από βελτιστοποίηση μεταξύ των πειραματικών και υπολογιστικών τιμών (αριθμητική-υπολογιστική λύση εξίσωσης του 2^{ου} νόμου του Fick για σφαίρα (Εξίσωση 11)) των συγκεντρώσεων των μικροσυστατικών στο εμπλουτισμένο ρύζι. Οι συντελεστές διάχυσης για όλα τα φαινολικά συστατικά στον Πίνακα 18 φαίνεται να είναι της ίδιας τάξης μεγέθους με τις αντίστοιχες τιμές των συντελεστών D του Πίνακα 16, καθώς επίσης ακολουθούν μια αντίστοιχη τάση αύξησης όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου, όπως δείχνει και ο Πίνακας 16. Επιπλέον, η προσαρμογή των πειραματικών στις υπολογιστικές τιμές συγκεντρώσεων, βάσει του μοντέλου, κρίνεται αρκετά ικανοποιητική για όλες τις εξεταζόμενες ουσίες, πλην του ο-κουμαρικού οξέος που σε κάποιες περιπτώσεις ο συντελεστής συσχέτισης R^2 κρίνεται χαμηλός (Πίνακας 18).

Πίνακας 18: Συντελεστές διάχυσης D_{fit} (βάσει αριθμητικής-υπολογιστικής επίλυσης εξίσωσης Fick για σφαίρα) των εξετασθέντων φαινολικών οξέων στο ρύζι κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού για τις επιμέρους συγκεντρώσεις των υδατικών εκχυλισμάτων δυόσμου. Με R^2 συμβολίζεται ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ πειραματικών και υπολογισμένων συγκεντρώσεων βάσει του μοντέλου.

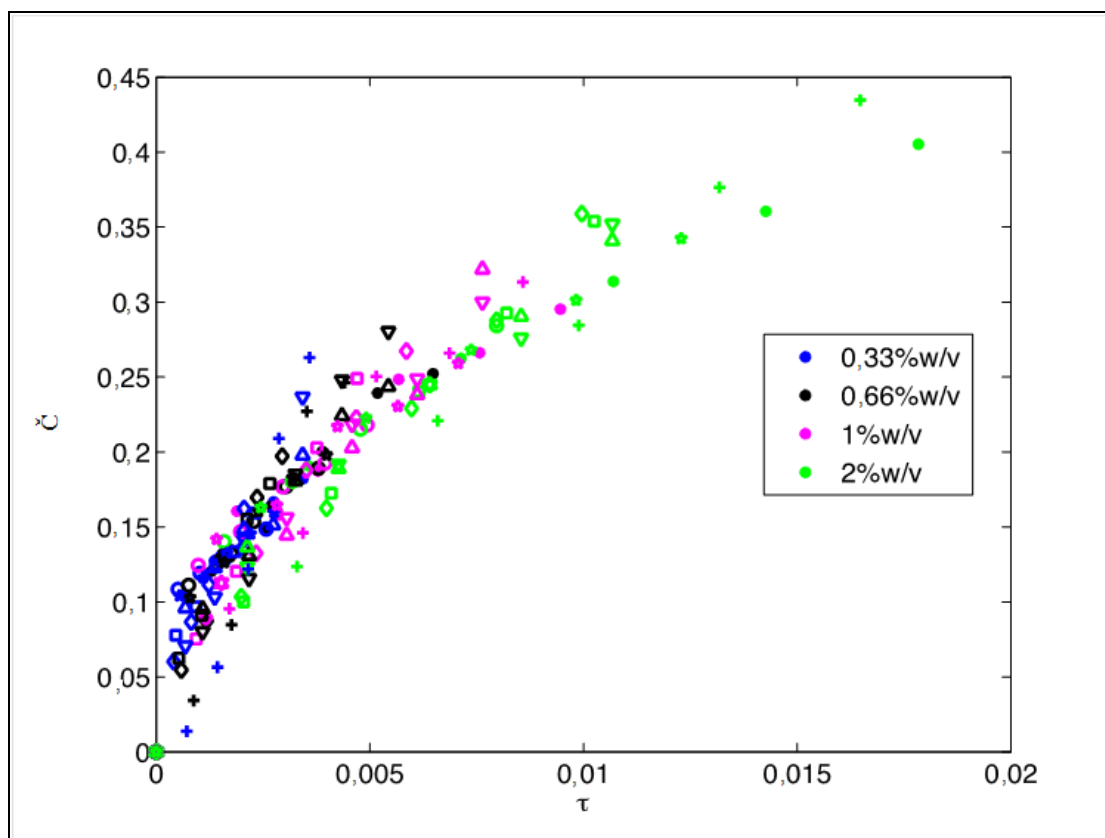
Φαινολικά οξέα	Συγκέντρωση υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου							
	0,33% w/v		0,66% w/v		1% w/v		2% w/v	
	$D_{fit} (m^2s^{-1})$	R^2	$D_{fit} (m^2s^{-1})$	R^2	$D_{fit} (m^2s^{-1})$	R^2	$D_{fit} (m^2s^{-1})$	R^2
3,4-Διυδροξυ-φαινυλοξικό	7,72E-12	0,99	8,87E-12	0,96	1,57E-11	0,93	3,42E-11	0,92
Καφεϊκό	1,14E-11	0,98	1,81E-11	0,97	2,55E-11	0,92	3,56E-11	0,98
Πρωτοκατεχικό	6,86E-12	0,97	9,84E-12	0,91	1,95E-11	0,95	3,32E-11	0,91
π-Κουμαρικό	1,22E-11	0,88	2,06E-11	0,86	2,60E-11	0,97	3,50E-11	0,96
Βανιλλικό	1,15E-11	0,98	2,16E-11	0,99	3,15E-11	0,99	5,95E-11	1
ο-Κουμαρικό	1,20E-11	0,58	1,47E-11	0,76	2,86E-11	0,92	5,49E-11	0,92
Συριγγικό	8,56E-12	0,91	1,27E-11	0,98	1,65E-11	0,98	2,66E-11	0,99
π-Υδροξυ-βενζοϊκό	9,21E-12	0,95	1,33E-11	0,99	2,36E-11	0,99	4,10E-11	1

Στο Σχήμα 26 ενδεικτικά απεικονίζεται η προσαρμογή των πειραματικών μετρήσεων συγκέντρωσης στις αντίστοιχες τιμές που προέκυψαν από το μοντέλο για 2 συστατικά, το 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ, που προσροφήθηκε σε μεγαλύτερες ποσότητες στο ρύζι και γενικά εμφάνισε υψηλούς συντελεστές R^2 , και το ο-κουμαρικό οξύ που εμφάνισε τους πιο χαμηλούς συντελεστές συσχέτισης (Πίνακας 18).



Σχήμα 26: Συσχέτιση πειραματικών αποτελεσμάτων-συγκεντρώσεων φαινολικών οξέων στο ρύζι (αστερίσκοι) με τα αποτελέσματα (γραμμή) που λήφθηκαν βάσει του υπολογιστικού μοντέλου: (α) για το 3,4 διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ και (β) για το ο-κουμαρικό οξύ.

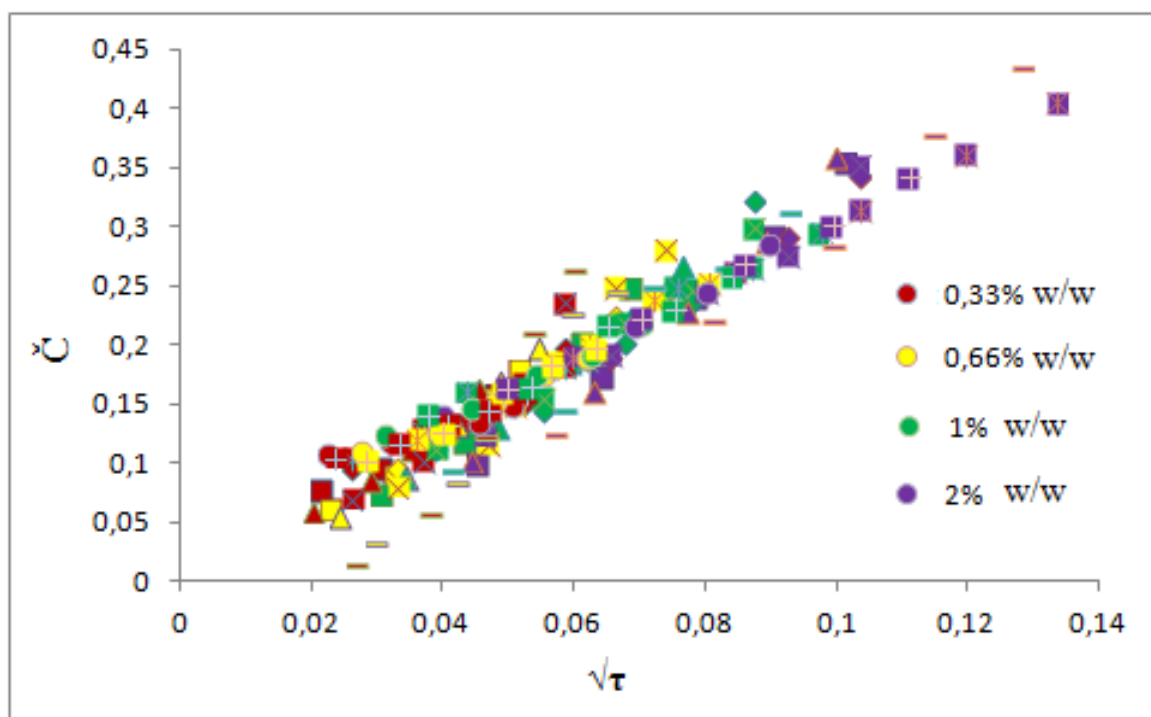
Από τον Πίνακα 18 (συντελεστές R^2) γίνεται αντιληπτό ότι η διάχυση των εξεταζόμενων φαινολικών οξέων στο ρύζι κατά την υγροθερμική του επεξεργασία προσεγγίζει τη συμπεριφορά της διάχυσης που περιγράφεται από τον 2^ο νόμο του Fick. Επιπλέον, στα Σχήματα 27Α και 27Β, λαμβάνοντας υπόψη την προσρόφηση των φαινολικών συστατικών στο ρύζι κατά την υγροθερμική επεξεργασία, παρουσιάζονται συγκεντρωτικά γραφήματα που συσχετίζουν 2 αδιάστατους όρους, την αδιαστατοποιημένη συγκέντρωση των φαινολικών οξέων στο ρύζι $\check{C}$ (Εξίσωση 14) με τον χρόνο Fourier τ (Εξίσωση 15) και την τετραγωνική του ρίζα $\sqrt{\tau}$. Από το Σχήμα 27Α διαπιστώνεται να υπάρχει υπέρθεση (super-imposition) των πειραματικών μετρήσεων, η οποία είναι πιο εμφανής για μικρούς χρόνους Fourier και $\check{C} < 0,2$ με αποτέλεσμα να δημιουργείται συνολικά μια νοητή καμπύλη.



Σχήμα 27Α: Απεικόνιση συσχέτισης μεταξύ αδιαστατοποιημένης συγκέντρωσης όλων των εξεταζόμενων συστατικών $\bar{\chi}$ (Εξίσωση 14) και αδιάστατου χρόνου υγροθερμικής επεξεργασίας τ (Εξίσωση 15) για όλες τις συγκεντρώσεις εκχυλισμάτων στα οποία πραγματοποιήθηκε η επεξεργασία του ρυζιού. Αντιστοιχία συμβόλων: 3,4 δι-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ (τετράγωνα), καφεϊκό οξύ (τρίγωνα άνω), πρωτοκατεχικό οξύ (διαμάντια), π-κουμαρικό οξύ (τρίγωνα κάτω), βανιλλικό οξύ (αστερίσκοι), συριγγικό οξύ (κύκλοι), ο-κουμαρικό οξύ (σταυροί) και π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ (πεντάγωνα). Τα σημεία που αντιστοιχούν σε υγροθερμικές επεξεργασίες εντός εκχυλισμάτων με συγκέντρωση 0,33% w/v απεικονίζονται με μπλε χρώμα, συγκέντρωση 0,66% w/v με μαύρο χρώμα, συγκέντρωση 1% w/v με ροζ χρώμα και συγκέντρωση 2% w/v με πράσινο χρώμα.

Καλύτερα συμπεράσματα για το είδος της διάχυσης μπορούν ενδεχομένως να εξαχθούν από το Σχήμα 27Β, απ' όπου διαπιστώνεται ότι υπάρχει μια γραμμική συσχέτιση μεταξύ της αδιάστατης συγκέντρωσης και της τετραγωνικής ρίζας του χρόνου Fourier, η οποία είναι πιο εμφανής (υπέρθυση περισσότερων πειραματικών δεδομένων σε νοητή ευθεία) για μικρές συγκεντρώσεις $\bar{\chi}$, και χρόνους Fourier,

καθότι για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φαίνεται να υπάρχει διασπορά των δεδομένων.



Σχήμα 27B: Απεικόνιση συσχέτισης μεταξύ αδιαστατοποιημένης συγκέντρωσης όλων των εξεταζόμενων συστατικών $\bar{C}$ (Εξίσωση 14) και τετραγωνικής ρίζας του αδιάστατου χρόνου υγροθερμικής επεξεργασίας τ (Εξίσωση 15) για όλες τις συγκεντρώσεις εκχυλισμάτων στα οποία πραγματοποιήθηκε η επεξεργασία του ρυζιού. Αντιστοιχία συμβόλων: 3,4 δι-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ (τετράγωνα άδεια), καφεϊκό οξύ (ρόμβοι), πρωτοκατεχικό οξύ (τρίγωνα), π-κουμαρικό οξύ (τετράγωνα με X), βανιλλικό οξύ (τετράγωνο με αστερίσκο), συριγγικό οξύ (κύκλοι), ο-κουμαρικό οξύ (παύλες) και π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ (τετράγωνα με σταυρό). Τα σημεία που αντιστοιχούν σε υγροθερμικές επεξεργασίες εντός εκχυλισμάτων με συγκέντρωση 0,33% w/v απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, συγκέντρωση 0,66% w/v με κίτρινο χρώμα, συγκέντρωση 1% w/v με πράσινο χρώμα και συγκέντρωση 2% w/v με μωβ χρώμα.

Από παλαιότερες εργασίες (Ritger & Peppas, 1987; Peppas & Brannon-Peppas, 1994) έχει φανεί ότι η επίλυση της εξίσωσης του 2^{ου} νόμου του Fick για μικρούς χρόνους διάχυσης σε σφαίρα μπορεί να δώσει την απλοποιημένη εξίσωση 20:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 6 \left(\frac{Dt}{\pi a^2} \right)^{1/2} - 3 \frac{Dt}{a^2} \quad (\text{Εξίσωση 20})$$

όπου το πηλίκο M_t/M_∞ εκφράζει μια αναλογία που μπορεί να αντιστοιχηθεί στην αδιάστατη συγκέντρωση $\check{C}$, με a συμβολίζεται η ισοδύναμη ακτίνα της σφαίρας, ενώ το μέγεθος D^*t/a^2 παριστά τον αδιάστατο χρόνο Fourier τ .

Με βάση την εργασία των (Peppas & Brannon-Peppas, 1994) η αναπαράσταση σε γράφημα της αδιάστατης συγκέντρωσης υγρασίας σφαίρας με την τετραγωνική ρίζα του χρόνου Fourier $\sqrt{\tau}$, κατά τον οποίο λαμβάνει χώρα η ρόφηση, έδειξε ότι κατά τα πρώτα στάδια της ρόφησης η εξάρτηση μεταξύ των 2 μεγεθών ήταν γραμμική, ενώ το ίδιο φαινόμενο παρατηρήθηκε όταν η ρόφηση πραγματοποιήθηκε σε κυλινδρικό στερεό ή και πλάκα μικρού πάχους. Κάτι αντίστοιχο, με βάση το Σχήμα 27B, παρατηρείται και στην παρούσα μελέτη όπου φάνηκε ότι κατά τα πρώτα στάδια της προσρόφησης των φαινολικών συστατικών στο ρύζι, για συγκεντρώσεις συστατικών που βρίσκονται σχετικά μακριά από την κατάσταση ισορροπίας ($\check{C} < 0,35 \ll 1$) και για μικρούς χρόνους τ , φαίνεται ότι υφίσταται γραμμική σχέση μεταξύ $\check{C}-\sqrt{\tau}$, οπότε θα μπορούσε να υποθεθεί ότι υπό αυτές τις συνθήκες η διάχυση ακολουθεί τον 2^ο νόμο του Fick.

4. Εκρόφηση αντιοξειδωτικών από ξηρό εμπλουτισμένο ρύζι κατά την ενυδάτωσή του

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 Παρασκευή εμπλουτισμένου ρυζιού με εκχύλισμα δυόσμου και ξήρανσή του

Η παραγωγή του εμπλουτισμένου ρυζιού με εκχύλισμα δυόσμου (προερχόμενο από εμβάπτιση 100 g φύλλων αποξηραμένου δυόσμου σε 3,5 L θερμό νερό) έγινε με τον τρόπο που περιγράφηκε στην παράγραφο Γ 2.1, με μόνη διαφορά ότι τα 200 g λευκού ρυζιού υπέστησαν υγροθερμική επεξεργασία για 15 min εντός του εκχυλίσματος και ολόκληρη η ποσότητα του εμπλουτισμένου ρυζιού παραλήφθηκε μετά το πέρας αυτού του χρόνου, χωρίς να υπάρξουν άλλες δειγματοληψίες. Ο χρόνος βρασμού των 15 min επιλέχθηκε κατόπιν δοκιμών, ώστε το ρύζι να εμπλουτιστεί σε ικανοποιητικό βαθμό, ενώ ταυτόχρονα να περιοριστεί κατά το δυνατόν η υπερβολική διόγκωση και η εμφανής αλλοίωση της δομής των κόκκων που θα λάμβανε χώρα σε περίπτωση που η θερμική διεργασία είχε διάρκεια 20 min. Στη συνέχεια, η ποσότητα του εμπλουτισμένου ρυζιού οδηγήθηκε προς ξήρανση με κατάψυξη, προκειμένου να ακολουθήσει επανενυδάτωσή του με 2 διαφορετικές μεθόδους. Η προετοιμασία εμπλουτισμένου ρυζιού με διακοπή του βρασμού έπειτα από 15 min πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν.

4.2 Ενυδάτωση εμπλουτισμένου ρυζιού σε περίσσεια νερού και σε ακριβή ποσότητα νερού

Σκοπός

Στόχος ήταν η ενυδάτωση ξηρού εμπλουτισμένου ρυζιού, προκειμένου να εκτιμηθεί η απελευθέρωση των συστατικών του εκχυλίσματος από το εμπλουτισμένο ρύζι, έπειτα από βρασμό του σε περίσσεια νερού, καθώς και η μελέτη κατακράτησης των ίδιων συστατικών όταν πραγματοποιηθεί ενυδάτωσή του με χρήση ακριβούς ποσότητας νερού.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Αποξηραμένο (λυοφιλιωμένο) εμπλουτισμένο ρύζι
- Απιονισμένο νερό

Όργανα

Όπως περιγράφονται στην παράγραφο Γ 2.1

Αναλυτική διαδικασία

Η ενυδάτωση του ξηρού εμπλουτισμένου ρυζιού με χρήση περίσσειας νερού επιλέχθηκε να διαρκέσει για 20 min, κατά τη διάρκεια των οποίων πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Πιο συγκεκριμένα, για την υγροθερμική διεργασία χρησιμοποιήθηκαν 100 g εμπλουτισμένου ρυζιού που παράχθηκε και ξηράνθηκε όπως περιγράφηκε στην παράγραφο Γ 4.1, ενώ πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε χρόνους βρασμού t_2 , t_4 , t_6 , t_8 , t_{10} , t_{12} , t_{15} και t_{20} . Στους ίδιους χρόνους βρασμού παραλήφθηκαν με σιφόνιο και 10 ml δειγμάτων από το υγρό βρασμού προκειμένου να πραγματοποιηθούν φωτομετρικές αναλύσεις και να εκτιμηθεί η ενδεχόμενη αύξηση της αντιοξειδωτικής του ικανότητας λόγω συνεχούς διαφυγής των συστατικών από το εμπλουτισμένο ρύζι προς το υγρό κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσης. Στη συνέχεια, τα ενυδατωμένα δείγματα εμπλουτισμένου ρυζιού οδηγήθηκαν προς ξήρανση υπό κατάψυξη.

Ενυδάτωση ποσότητας εμπλουτισμένου ρυζιού, που παράχθηκε και ξηράνθηκε σύμφωνα με την αναλυτική διαδικασία της παραγράφου Γ 4.1, δοκιμάστηκε και με χρήση ακριβούς ποσότητας νερού. Ειδικότερα, χρησιμοποιήθηκαν 50 g ξηρού εμπλουτισμένου ρυζιού τα οποία υπέστησαν υγροθερμική επεξεργασία με προσαρμοσμένη αναλογία όγκων νερού/ρύζι (1,5:1 v/v). Αρχικά, θερμάνθηκε ο προκαθορισμένος όγκος νερού μέχρι βρασμού και ακολούθησε προσθήκη της ποσότητας του εμπλουτισμένου ρυζιού που στη συνέχεια υπέστησε ήπια θερμική διεργασία διάρκειας 3 min διατηρώντας κλειστό το καπάκι του μαγειρικού σκεύους. Μετά το πέρας αυτού του χρόνου διεκόπη η παροχή θερμότητας στο σκεύος και το ρύζι αφέθηκε με κλειστό καπάκι μέχρι απορροφήσεως της υπολοιπούμενης ποσότητας διαθέσιμου νερού. Το ενυδατωμένο ρύζι οδηγήθηκε τελικά προς ξήρανση υπό κατάψυξη.

4.3 Μεθανολική εκχύλιση και χημική αξιολόγηση ενυδατωμένων δειγμάτων εμπλουτισμένου ρυζιού – Κινητική απελευθέρωσης συστατικών στην περίσσεια νερού κατά την υγροθερμική επεξεργασία

Όλα τα δείγματα εμπλουτισμένου ρυζιού που παραλήφθηκαν έπειτα από την υγροθερμική επεξεργασία που πραγματοποιήθηκε (με 2 τρόπους), αφού ξηράνθηκαν,

κονιορτοποιήθηκαν, εκχυλίστηκαν με μεθανόλη και τα μεθανολικά εκχυλίσματα αξιολογήθηκαν ως προς το πολυφαινολικό περιεχόμενο, την αντιοξειδωτική δράση, καθώς και την περιεκτικότητά τους σε επιμέρους φαινολικά συστατικά (καφεϊκό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ, 3-4 διυδροξυφαινυλοξικό οξύ και ναριγκενίνη) με βάση τις αντίστοιχες μεθόδους που περιγράφηκαν στις Παραγράφους Γ 2.3.2, Γ 2.3.3 και Γ 2.3.4.

Όσον αφορά στα δείγματα υδατικού διαλύματος που λήφθηκε στους επιλεγμένους χρόνους ενυδάτωσης του ρυζιού σε περίσσεια υδατικού μέσου, αυτά εξετάστηκαν ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα και το πολυφαινολικό τους περιεχόμενο έπειτα από χρήση των τεχνικών που περιγράφηκαν στις παραγράφους Γ 1.4.1 και Γ 1.4.2.

4.4 Διάχυση μικροσυστατικών στο εμπλουτισμένο ρύζι κατά την εκρόφηση – Εκτίμηση συντελεστή διάχυσης D

Κατά τη διάρκεια της επανενυδάτωσης του εμπλουτισμένου ρυζιού με θερμική επεξεργασία του σε περίσσεια καθαρού νερού, όπως περιγράφηκε στην παράγραφο Γ 4.2, η μεταφορά μάζας των φαινολικών συστατικών, που σχετίζεται με τους κόκκους ρυζιού, λαμβάνει χώρα με 2 τρόπους: υπάρχει η μεταφορά που γίνεται στο εσωτερικό των κόκκων, η οποία θεωρήθηκε ότι οφείλεται σε μοριακή διάχυση, καθώς και η μεταφορά που λαμβάνει χώρα στη διεπιφάνεια ρυζιού – νερού βρασμού, η οποία γίνεται δια μεταφοράς, μέσω του εισερχόμενου στο ρύζι νερού. Λόγω του ότι η εξωτερική επιφάνεια του εμπλουτισμένου ρυζιού εμποτίζεται με νερό σχεδόν ακαριαία μόλις έλθουν σε επαφή (επίτευξη ισορροπίας) και επιπλέον υπάρχει συνεχής ανάδευση του περιβάλλοντος υδατικού μέσου κατά τον βρασμό, η συνεισφορά της προσρόφησης του νερού στη μεταφορά μάζας των φαινολικών συστατικών του ρυζιού μέσω της διεπιφάνειας θεωρήθηκε αμελητέα. Έτσι, ο μοναδικός μηχανισμός στον οποίο πρακτικά αποδόθηκε η μεταφορά μάζας των συστατικών θεωρήθηκε ότι ήταν η μοριακή διάχυσή τους στο εσωτερικό των κόκκων ρυζιού κατά τη διάρκεια της υγροθερμικής διεργασίας και επιπλέον εφαρμόστηκε ο 2^{ος} νόμος του Fick για τη διάχυση που δίδεται από την Εξίσωση 8 (Παράγραφος Γ 3.4.1).

Για την εφαρμογή της Εξίσωσης 8 στο πρόβλημα και της επίλυσής της έγιναν κάποιες επιπλέον παραδοχές που ήταν οι εξής:

α) Το σχήμα των κόκκων ρυζιού θεωρήθηκε ως κύλινδρος απείρου μήκους (αναλογία μήκους κόκκου προς ακτίνα κατ' ελάχιστο 4:1), ενώ για τα φαινολικά συστατικά έγινε η παραδοχή ότι βρίσκονταν ομοιόμορφα κατανεμημένα εντός κάθε κόκκου.

β) Η ζελατινοποίηση του αμύλου στους κόκκους ρυζιού κατά την πρώτη υδροθερμική επεξεργασία (εμπλουτισμός), διάρκειας 15 min εντός του εκχυλίσματος δυόσμου, θεωρήθηκε ότι είχε ολοκληρωθεί και κατά συνέπεια οι διαστάσεις των κόκκων ρυζιού έπειτα από την ξήρανση και την επαναληψη της διεργασίας σε περίσσεια νερού παρέμειναν πρακτικά σταθερές τουλάχιστον κατά τα πρώτα 15 min της 2^{ης} θερμικής επεξεργασίας. Επιπλέον, φαινόμενα όπως η απώλεια στερεών από το εμπλουτισμένο ρύζι, η συρρίκνωση των κόκκων, καθώς και η διόγκωσή τους θεωρήθηκαν αμελητέα έπειτα από 15 min της 2^{ης} διεργασίας. Ωστόσο, από τη στιγμή που η ενυδάτωση ξεπέρασε τον χρόνο των 15 min (20 min) παρατηρήθηκε αισθητή αλλοίωση της μορφολογίας των κόκκων.

γ) Η μεταφορά επιμέρους φαινολικών συστατικών με μοριακή διάχυση από το εσωτερικό των κόκκων ρυζιού προς την εξωτερική τους επιφάνεια μελετήθηκε με εφαρμογή του 2^{ου} νόμου του Fick για τη διάχυση. Επίσης, η διαφορά συγκέντρωσης των φαινολικών ουσιών μεταξύ του εσωτερικού των κόκκων και της εξωτερικής τους επιφάνειας θεωρήθηκε η κινητήρια δύναμη για το φαινόμενο της εκρόφησης των συστατικών εντός του θερμού νερού.

Για τον υπολογισμό του φαινόμενου συντελεστή διάχυσης (D_{app}) επιμέρους φαινολικών ουσιών που περιέχονται σε απείρου μήκους κυλινδρικούς κόκκους εμπλουτισμένου ρυζιού χρησιμοποιήθηκε η αντίστοιχη επιλυμένη μορφή της εξίσωσης του Fick για μη στατικό σύστημα (Crank, 1975; Selman et al., 1983) που δόθηκε σε προηγούμενη Παράγραφο (Γ 3.4.1 Εξίσωση 9).

Η εκτίμηση των συντελεστών διάχυσης D_{app} για κάθε φαινολικό συστατικό έγινε έπειτα από κατάστρωση ενός προβλήματος βελτιστοποίησης και εφαρμογή του εργαλείου SOLVER του MS ExcelTM προκειμένου να επιλυθεί. Ειδικότερα, υιοθετήθηκε μια μη γραμμική μέθοδος βελτιστοποίησης και οι τιμές των D_{app} υπολογίστηκαν με ελαχιστοποίηση των τετραγώνων των διαφορών μεταξύ των πειραματικών τιμών των συγκεντρώσεων για τις φαινόλες και των συγκεντρώσεων που υπολογίστηκαν βάσει της εφαρμογής του προτεινόμενου μοντέλου.

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε υπολογισμός των κινητικών σταθερών (k_c) που αφορούσαν το φαινόμενο της εκρόφησης των μελετούμενων συστατικών στο καθαρό

νερό κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσης του εμπλουτισμένου ρυζιού. Ειδικότερα, θεωρήθηκε ότι η εκρόφηση ακολουθεί κινητική 1^{ης} τάξης, η οποία έχει εφαρμοστεί και σε άλλες περιπτώσεις εκρόφησης-απώλειας συστατικών από αποξηραμένα τρόφιμα κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσής τους (Krokida & Philippopoulos, 2005; Rastogi et al., 2000). Τα πειραματικά αποτελέσματα των συγκεντρώσεων των φαινολών στο εμπλουτισμένο ρύζι προσαρμόστηκαν στην Εξίσωση 21 που περιγράφει την κινητική 1^{ης} τάξης:

$$\ln \left(\frac{C_{ph} - C_{\infty}}{C_0 - C_{\infty}} \right) = -k_c t \quad (\text{Εξίσωση 21})$$

όπου k_c η κινητική σταθερά για την εκρόφηση (s^{-1}), t ο χρόνος ενυδάτωσης του εμπλουτισμένου ρυζιού εκφρασμένος σε s , C_{ph} η συγκέντρωση του κάθε επιμέρους φαινολικού συστατικού στους κόκκους ρυζιού, για κάθε χρονική στιγμή της ενυδάτωσης, μετρούμενη σε ng/g ξηρού ρυζιού, C_0 η συγκέντρωση των ίδιων συστατικών στο εμπλουτισμένο ρύζι κατά την έναρξη t της ενυδάτωσης με μονάδα μέτρησης τα ng/g ξηρού ρυζιού, C_{∞} η εκτιμώμενη συγκέντρωση ισορροπίας των ίδιων φαινολικών στο ρύζι σε θεωρητικά άπειρο χρόνο ενυδάτωσης (ng/g ξηρού ρυζιού).

4.4.1 Προσδιορισμός των φαινολικών συγκεντρώσεων ισορροπίας στο εμπλουτισμένο ρύζι έπειτα από ενυδάτωση σε περίσσεια νερού

Έπειτα από παρατεταμένη ενυδάτωση (20 min) των αποξηραμένων κόκκων εμπλουτισμένου ρυζιού (βέλτιστος χρόνος επαναβρασμού βρέθηκε να είναι τα 10 min βάσει οργανοληπτικής εξέτασης), έλαβε χώρα μια συνεχής μεταφορά συστατικών από τους κόκκους στο θερμό νερό με αποτέλεσμα την πιθανότητα προσέγγισης μιας συγκέντρωσης ισορροπίας για τα εξεταζόμενα συστατικά εντός των κόκκων στο χρονικό διάστημα που διαρκούσε η υγροθερμική επεξεργασία. Προκειμένου να μελετηθεί η συνεχώς μειούμενη συγκέντρωση των συστατικών εντός των κόκκων και η πιθανή επίτευξη ισορροπίας (ύπαρξη ασύμπτωτης) στη διάρκεια της ενυδάτωσης χρησιμοποιήθηκε η Εξίσωση 22:

$$C(t) = C_{\infty} + B e^{-at} \quad (\text{Εξίσωση 22})$$

όπου $C(t)$ η συγκέντρωση των επιμέρους φαινολών εντός των κόκκων ρυζιού για κάθε χρονική στιγμή βρασμού-ενυδάτωσης (ng/g ξηρού ρυζιού), C_{∞} η θεωρητική συγκέντρωση ισορροπίας για τις συγκεντρώσεις των ίδιων συστατικών (ng/g ξηρού

ρυζιού), a μια εμπειρική σταθερά (s^{-1}), B μια άλλη εμπειρική σταθερά (αδιάστατη) και t ο χρόνος βρασμού (s).

Η θεωρητική συγκέντρωση ισορροπίας C_{∞} κάθε φαινολικού συστατικού εντός του ρυζιού εκτιμήθηκε έπειτα από προέκταση της γραμμής της καμπύλης που παρουσιάζει τη συγκέντρωση των συστατικών ως συνάρτηση του χρόνου βρασμού. Ειδικότερα, κατά τα τελευταία στάδια της διεργασίας, η συγκέντρωση υποτέθηκε ότι ακολουθεί μια γραμμική συμπεριφορά, έως και το τέλος της ενυδάτωσης, η οποία θα μπορούσε να προσεγγιστεί κάνοντας χρήση της Εξίσωσης 23:

$$C(t+\Delta t) = C_{\infty}(1 - e^{-a\Delta t}) + C(t)e^{-a\Delta t} \quad (\text{Εξίσωση 23})$$

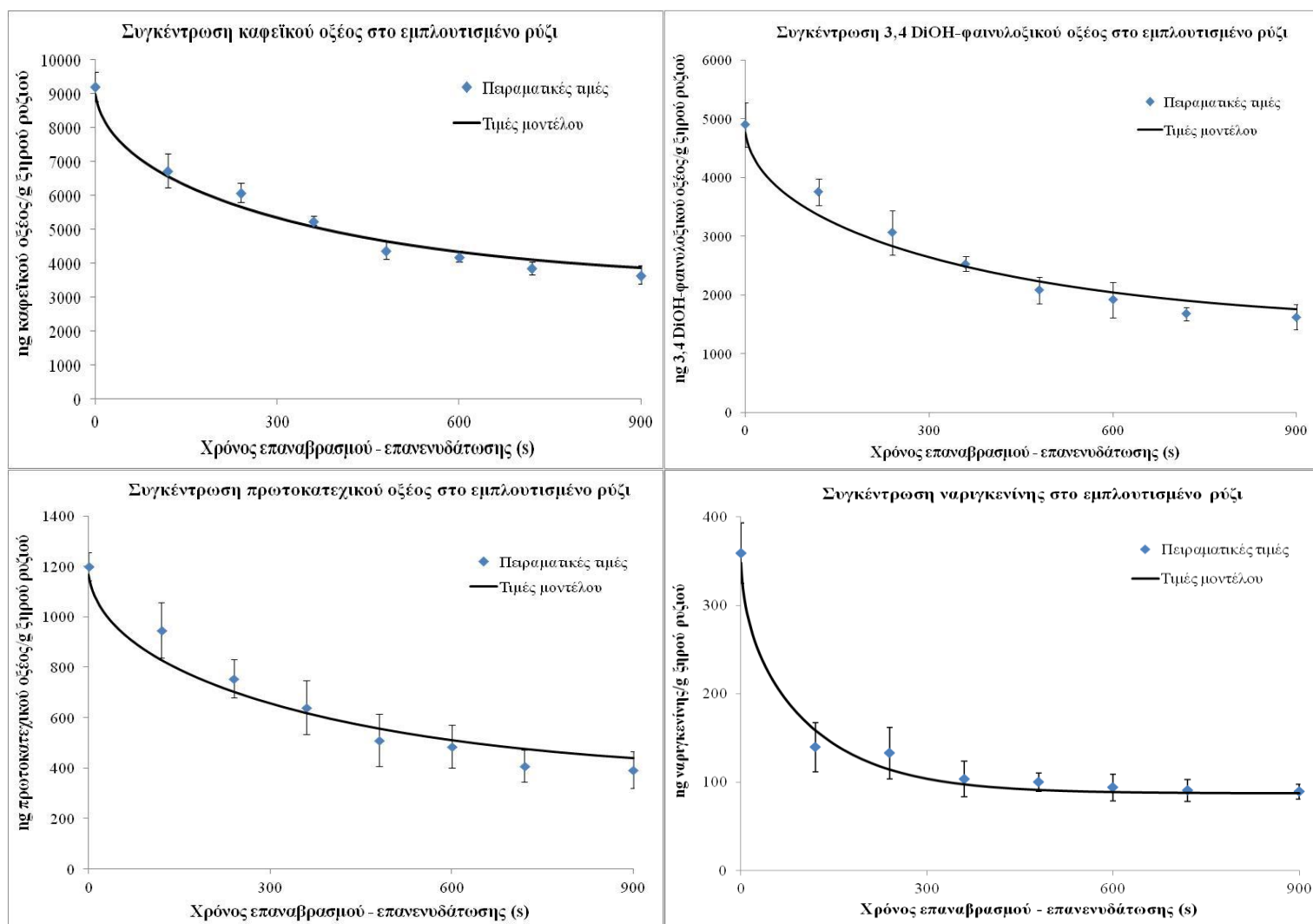
όπου $C(t)$ και $C(t+\Delta t)$ οι συγκεντρώσεις των φαινολικών συστατικών στο ρύζι που αντιστοιχούν σε χρόνους βρασμού t και $t+\Delta t$.

Ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων ισορροπίας για κάθε συστατικό έγινε με βάση τη μεθοδολογία που αναπτύχθηκε από τους Jason & Peters (1973).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

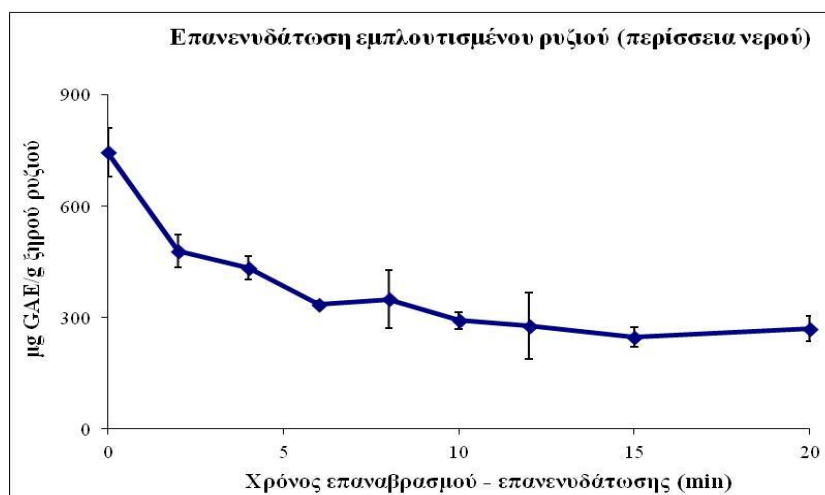
4.5 Ενυδάτωση εμπλουτισμένων κόκκων ρυζιού με περίσσεια νερού

Στο Σχήμα 28 απεικονίζονται οι συγκεντρώσεις (πειραματικές τιμές) καφεϊκού οξέος, 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικού οξέος, πρωτοκατεχικού οξέος και ναριγκενίνης στο εμπλουτισμένο ρύζι σε δείγματα που λήφθηκαν ανά τακτά χρονικά διαστήματα κατά τα πρώτα 15 min (900 s) της διαδικασίας ενυδάτωσης (20 min) σε περίσσεια νερού.

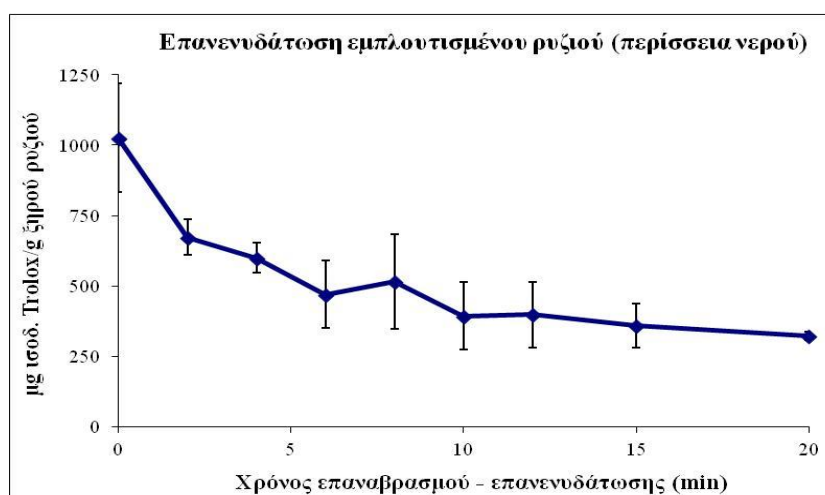


Σχήμα 28: Συσχέτιση μεταξύ των πειραματικών μετρήσεων (κουκίδες) με τις τιμές που υπολογίστηκαν έπειτα από εφαρμογή του μοντέλου διάχυσης (κατά Fick) και αφορούν τις μέσες συγκεντρώσεις 4 φαινολικών συστατικών που ανιχνεύτηκαν στο εμπλουτισμένο ρύζι κατά τη διάρκεια ενυδάτωσης του σε περίσσεια υδατικού μέσου. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση των δειγμάτων (n=3).

Επιπρόσθετα, τα Σχήματα 29 και 30 αναπαριστούν αντιστοίχως τις μεταβολές του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου και της αντιοξειδωτικής ικανότητας σε συνάρτηση με το χρόνο ενυδάτωσης για τα ίδια δείγματα και επιπλέον για αυτά που λήφθηκαν μετά το τέλος της διεργασίας (20 min). Όλες οι φαινολικές συγκεντρώσεις, καθώς και το αντιοξειδωτικό περιεχόμενο του ρυζιού φαίνεται να ακολουθούν την ίδια τάση μείωσης κατά τη διάρκεια των 20 min και ειδικότερα να τείνουν προς μια τιμή ισορροπίας όσο εξελίσσεται η ενυδάτωση.



Σχήμα 29: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (μg GAE/g ξηρού ρυζιού) δειγμάτων εμπλουτισμένου ρυζιού κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσης εντός περίσσειας υδατικού μέσου. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση των δειγμάτων (n=3).

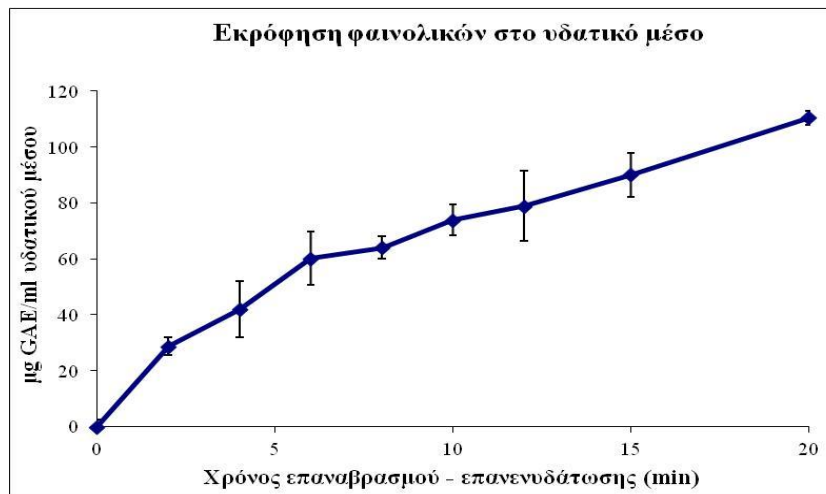


Σχήμα 30: Αντιοξειδωτική ικανότητα (μg ισοδυνάμων Trolox/g ξηρού ρυζιού) δειγμάτων εμπλουτισμένου ρυζιού κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσης εντός περίσσειας υδατικού μέσου. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση των δειγμάτων (n=3).

Ο Πίνακας 19 παρουσιάζει τις συγκεντρώσεις των εξεταζομένων επιμέρους φαινολικών ουσιών, το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική δραστηριότητα των δειγμάτων εμπλουτισμένου ρυζιού κατά την έναρξη και το τέλος της ενυδάτωσης σε περίσσεια υδατικού μέσου (στήλες 3 & 4) και δείχνει ότι η μέση

κατακράτηση καφεϊκού οξέος, 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικού οξέος, πρωτοκατεχικού οξέος και ναριγκενίνης στο ρύζι έπειτα από 20 min υγροθερμικής επεξεργασίας βρέθηκε να είναι 38,1%, 31,5%, 33,5% και 24,5% για τα 4 συστατικά αντιστοίχως. Επίσης, η μέση κατακράτηση για τις ολικές πολυφαινόλες και το αντιοξειδωτικό περιεχόμενο με βάση τα δεδομένα του Πίνακα 19 υπολογίστηκε μετά το τέλος της ενυδάτωσης σε 36,3% και 31,5% αντιστοίχως.

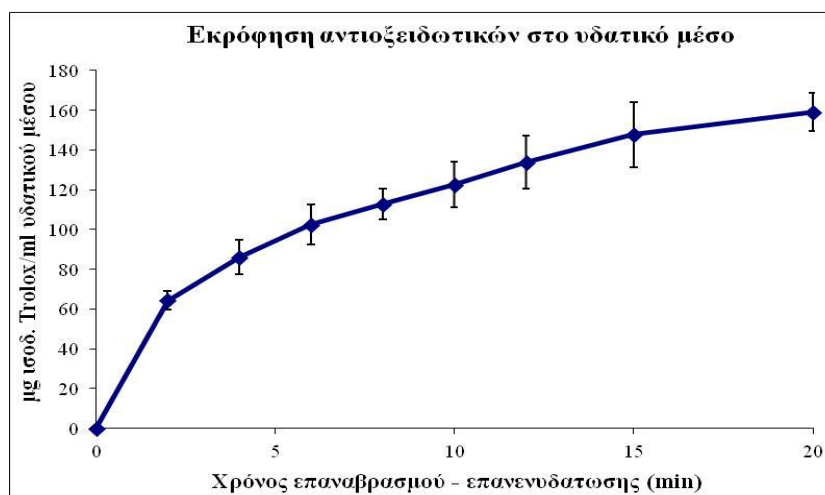
Γενικά, η τάση ελάττωσης που εμφανίζεται σε όλες τις συγκεντρώσεις των συστατικών κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσης του εμπλουτισμένου ρυζιού, όπως διαπιστώνεται από τα παραπάνω Σχήματα, καθώς και τον Πίνακα 19, θα μπορούσε να αποδοθεί στην εκρόφιση των συστατικών από το εμπλουτισμένο ρύζι προς το ζέον υδατικό μέσον, όπως απεικονίζεται και στα Σχήματα 31 και 32, ενώ εντός των κόκκων ρυζιού φαίνεται να επικρατεί ο μηχανισμός της μοριακής διάχυσης. Αντίθετα, η απώλεια συστατικών από το εμπλουτισμένο ρύζι λόγω θερμικής υποβάθμισης θα μπορούσε να θεωρηθεί αμελητέα, καθώς σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής σε προηγούμενη ενότητα, τα συστατικά του εκχυλίσματος δυόσμου, που προσροφήθηκαν στους κόκκους ρυζιού, παρουσίασαν υψηλή θερμική σταθερότητα στον παρατεταμένο βρασμό (40 min).



Σχήμα 31: Ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο (μg GAE/ml υδατικού μέσου) του υγρού (αρχικά καθαρού νερού) εντός του οποίου πραγματοποιείται η ενυδάτωση εμπλουτισμένου ρυζιού. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση των δειγμάτων (n=3).

Πίνακας 19: Ολικές πολυφαινόλες (μg GAE/g ξηρού ρυζιού), αντιοξειδωτική δραστηριότητα (μg Trolox/g ξηρού ρυζιού) και συγκέντρωση κυριότερων φαινολικών ουσιών (ng/g ξηρού ρυζιού) σε ενυδατωμένο λευκό ρύζι, εμπλουτισμένο ρύζι ενυδατωμένο σε περίσσεια νερού, μη ενυδατωμένο εμπλουτισμένο ρύζι και εμπλουτισμένο που ενυδατώθηκε σε προσαρμοσμένη αναλογία όγκου ρυζιού-καθαρού νερού. Όλες οι πειραματικές μετρήσεις έχουν εκφραστεί σε μέσες τιμές ± τυπική απόκλιση (n=3). Στην 5^η στήλη εμφανίζεται η εκτιμώμενη (θεωρητική) συγκέντρωση ισορροπίας των συστατικών στο εμπλουτισμένο ρύζι μετά το πέρας της θερμικής διεργασίας σε περίσσεια νερού.

Φαινολικά συστατικά	Ενυδατωμένο λευκό ρύζι (t=20 min)	Εμπλουτισμένο μη ενυδατωμένο ρύζι (t=0)	Εμπλουτισμένο – ενυδατωμένο ρύζι (t=20 min σε περίσσεια νερού)	Εκτιμώμενη συγκέντρωση ισορροπίας C_∞	Εμπλουτισμένο – ενυδατωμένο ρύζι σε ακριβή ποσότητα νερού
Καφεϊκό οξύ (ng/g ξηρού ρυζιού)	72,5 ± 28,2	9.211,9 ± 441,2	3.505,7 ± 251,4	3.458,5	9.745,5 ± 318,9
3,4-Διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ (ng/g ξηρού ρυζιού)	1,8 ± 0,1	4.899,4 ± 376,3	1.544,8 ± 307,3	1.494,4	5.112,9 ± 726,6
Πρωτοκατεχικό οξύ (ng/g ξηρού ρυζιού)	7,9 ± 1,4	1.199,7 ± 55,3	401,6 ± 73,6	370,6	1.310,2 ± 114,5
Ναριγκενίνη (ng/g ξηρού ρυζιού)	Μη ανιχνεύσιμη	359,0 ± 34,4	87,9 ± 10,4	87,4	356,3 ± 41,9
Ολικές πολυφαινόλες (μg GAE/g ξηρού ρυζιού)	68,8 ± 12,9	744,6 ± 65,3	270,0 ± 34,6	-	776,1 ± 38,2
Αντιοξειδωτική ικανότητα (μg Trolox/g ξηρού ρυζιού)	141,4 ± 20,7	1.026,4 ± 192,4	323,4 ± 15,1	-	1.072,9 ± 134,1



Σχήμα 32: Αντιοξειδωτική ικανότητα (μg ισοδυνάμων Trolox/ml υδατικού μέσου) του υγρού (αρχικά καθαρού νερού) εντός του οποίου πραγματοποιείται η ενυδάτωση εμπλουτισμένου ρυζιού. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση των δειγμάτων (n=3).

Η διεργασία ενυδάτωσης ενός ξηρού τροφίμου, καθώς και η παράλληλη θερμική επεξεργασία σε περίσσεια υδατικού μέσου, έχουν φανεί από τη βιβλιογραφία ότι επιδρούν σημαντικά στην απώλεια υδατοδιαλυτών συστατικών από τα στερεά τρόφιμα. Για παράδειγμα οι Cox et al. (2012) παρατήρησαν ότι η ενυδάτωση ξηρών φυκών σε θερμοκρασία 100°C για χρόνο 40 min είχε σαν αποτέλεσμα απώλεια ολικών πολυφαινολών κατά 83,2%, η οποία αποδόθηκε σε εκρόφηση από τα φύκη προς το καθαρό νερό. Μάλιστα, φάνηκε ότι τόσο η προσρόφηση υγρασίας όσο και η εκρόφηση των συστατικών μετά το πέρας των 40 min είχαν φτάσει σε κατάσταση ισορροπίας. Σε άλλη μελέτη από τους De Maria et al. (1998) έλαβε χώρα υγροθερμική επεξεργασία πατάτας και καρότου υπό τις συνήθεις οικιακές συνθήκες και παρατηρήθηκαν σημαντικές απώλειες 5-καφεοϋλοκινικού οξέος (72% για την πατάτα και 48% για το καρότο), οι οποίες κατά κύριο λόγο οφείλονταν σε εκχύλιση του συστατικού από το θερμό νερό. Επίσης, οι Lewicki et al. (1998) διεπίστωσαν ότι κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσης αποξηραμένων κρεμμυδιών υπήρξε διαφυγή των διαλυτών στερεών στην περίσσεια υδατικού μέσου σε ποσοστό τουλάχιστον 70% σε σχέση με το αρχικό περιεχόμενο των ξηρών κρεμμυδιών. Οι Delchier et al. (2012) εξέτασαν την επίδραση του βρασμού στο περιεχόμενο φρέσκου σπανακιού σε φυλλικό οξύ και βρέθηκε ότι περίπου το 50% της ολικής συγκέντρωσης φυλλικού οξέος εκροφήθηκε στο θερμό νερό, ωστόσο δεν καταγράφηκαν δεδομένα σχετικά με

την επίτευξη συγκέντρωσης ισορροπίας στο σπανάκι μετά το πέρας του βρασμού. Σε άλλη σχετική έρευνα που πραγματοποίησαν οι Bunea et al. (2008) διαπιστώθηκε απώλεια ολικών πολυφαινολών από φύλλα σπανακιού προς το θερμό νερό της τάξης του 50% σε σχέση με το αρχικό περιεχόμενο του τροφίμου, έπειτα από εμβάπτισή τους και ζεμάτισμα για χρόνο 10 min. Αντίθετα με τις παραπάνω περιπτώσεις, η επίτευξη ισορροπίας μετά το πέρας θερμικής διεργασίας φάνηκε να επιτυγχάνεται στη μελέτη απωλειών ασκορβικού οξέος από αρακά έπειτα από ζεμάτισμα του στους 90°C για χρόνο 10 min (Abdel-Kader, 1991). Η κατακράτηση του ασκορβικού οξέος εντός του αρακά έφτασε να είναι μόλις σε ποσοστό περίπου 5% σε σχέση με την αρχική ποσότητά του εντός του τροφίμου, ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό των απωλειών αποδόθηκε σε εκρόφιση μέσω μηχανισμού διάχυσης.

Στον Πίνακα 19 εκτός των άλλων παρουσιάζονται και αποτελέσματα που σχετίζονται με τη θεωρητική συγκέντρωση ισορροπίας C_{∞} που προσεγγίζουν ασυμπτωτικά 4 φαινολικά συστατικά του εμπλουτισμένου ρυζιού (5^η στήλη) κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσης σε περίσσεια νερού. Ταυτόχρονα στη στήλη 2 του ίδιου Πίνακα εμφανίζονται και οι τιμές των συγκεντρώσεων που σχετίζονται με το ενυδατωμένο-θερμικώς επεξεργασμένο λευκό ρύζι (t=20 min), οι οποίες είχαν παρατεθεί και σε προηγούμενο κεφάλαιο της παρούσας διατριβής. Έπειτα από συγκρίσεις στα δεδομένα των στηλών 2, 3 και 5 του Πίνακα 19 προέκυψε ότι: ένα σημαντικό ποσοστό των φαινολικών ουσιών που ανιχνεύτηκαν στο μη ενυδατωμένο εμπλουτισμένο ρύζι (>30% των φαινολικών οξέων και >20% της ναριγκενίνης), οι οποίες πρακτικά είχαν προσροφηθεί σε αυτό μέσω της αρχικής διαδικασίας εμπλουτισμού με εκχύλισμα δυόσμου, παρέμεινε εντός των εμπλουτισμένων κόκκων ακόμα και έπειτα από εξαντλητική εκρόφιση που έλαβε χώρα σε περίσσεια υδατικού μέσου, σχετικά υψηλές θερμοκρασίες (βρασμός) και για χρονική διάρκεια (20 min) που ήταν κατά πολύ μεγαλύτερη από τη βέλτιστη διάρκεια επανενυδάτωσης του συγκεκριμένου ρυζιού (10 min). Η επίτευξη συγκέντρωσης ισορροπίας εντός του ρυζιού για τα φαινολικά συστατικά που εξετάστηκαν υποδηλώνει ότι ένα σημαντικό μέρος αυτών των συστατικών ενδεχομένως να δημιουργήσε ισχυρές αλληλεπιδράσεις με άλλες ομάδες μορίων που περιέχονται στον φυτικό ιστό του λευκού ρυζιού. Από τη διεθνή βιβλιογραφία έχει φανεί ότι ορισμένα μακρομόρια, μεταξύ των οποίων η αμυλόζη, καθώς και μόρια πρωτεϊνών, τα οποία περιέχονται και στο ρύζι, παρουσιάζουν δυνατότητες αλληλεπίδρασης (π.χ. δημιουργίας συμπλόκων

εγκλεισμού) με συγκεκριμένες μοριακές δομές, στις οποίες περιλαμβάνονται και οι πολυφαινόλες, λόγω της ικανότητάς τους να δημιουργούν ελικοειδείς διαμορφώσεις ή να χρησιμοποιούν κατάλληλα τις υδρόφοβες κοιλότητες που διαθέτουν (Sivam et al., 2010; Sivam et al., 2013b; Lorentz et al., 2012). Ωστόσο, η πιθανότητα να υπάρχουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ μακροσυστατικών του ρυζιού και π.χ. φαινολικών οξέων δεν έχει μελετηθεί εκτενώς, με βάση τη βιβλιογραφία, και χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

4.6 Ενυδάτωση ξηρού εμπλουτισμένου ρυζιού με χρήση προσαρμοσμένης αναλογίας όγκου ρυζιού-νερού

Στον Πίνακα 19 (6^η στήλη) παρουσιάζονται οι τιμές του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου, της αντιοξειδωτικής ικανότητας και της συγκέντρωσης 4 επιμέρους φαινολικών συστατικών στο εμπλουτισμένο ρύζι που ενυδατώθηκε σε προσαρμοσμένη-ακριβή ποσότητα υδατικού μέσου σε θερμοκρασίες βρασμού. Συγκρίνοντας τα δεδομένα του Πίνακα 19 (στήλες 3 & 6) γίνεται αντιληπτή μια μικρή αύξηση του ολικού πολυφαινολικού φορτίου, της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας και των συγκεντρώσεων των 3 φαινολικών οξέων (<10%) στα δείγματα εμπλουτισμένου ρυζιού μετά το πέρας της επανενυδάτωσης σε σχέση με το μη ενυδατωμένο εμπλουτισμένο ρύζι. Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι τα προσροφηθέντα συστατικά του δυόσμου στο ρύζι ίσως να παρουσιάζουν πολύ υψηλή θερμική σταθερότητα όταν εφαρμόζεται ο συγκεκριμένος τρόπος βρασμού-ενυδάτωσης. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξε και μελέτη που αφορούσε μαγείρεμα λαχανικών στον ατμό, όπου μετά το τέλος της θερμικής διεργασίας παρατηρήθηκε μια μικρή αύξηση στο ολικό πολυφαινολικό φορτίο αλλά και στο περιεχόμενο των λαχανικών σε φαινολικά οξέα. Το φαινόμενο αυτό αποδόθηκε σε πιθανή απελευθέρωση μέρους των πολυφαινολών από τις συζευγμένες μορφές τους με μόρια όπως π.χ. πρωτεΐνες που περιέχονται στους φυτικούς ιστούς (Gliszczynska-Swiglo et al., 2006; Turkmen et al., 2005).

Επιπλέον, το υδατικό εκχύλισμα δυόσμου, με το οποίο είχε αρχικά εμπλουτιστεί το ρύζι, μπορεί να είναι πλούσιο σε φαινολικά συστατικά που βρίσκονται σε συζευγμένη υδατοδιαλυτή μορφή π.χ. γλυκοζίτες, εκτός από την υψηλή συγκέντρωση που έχει σε ελεύθερες μορφές υδατοδιαλυτών φαινολών. Πρόσφατη έρευνα έχει δείξει ότι στα φρούτα και τα λαχανικά το μεγαλύτερο μέρος των φυτοχημικών συστατικών που περιέχουν βρίσκεται εντός αυτών είτε στην

ελεύθερη, είτε σε συζευγμένη υδατοδιαλυτή μορφή (Acosta-Estrada et al., 2014). Από άλλες μελέτες έχει φανεί ότι θερμικές διεργασίες όπως ο βρασμός, η εξώθηση, η ξήρανση σε φούρνο και το ψήσιμο (roasting) μπορούν να ευνοήσουν την αύξηση της συγκέντρωσης των ελεύθερων υδατοδιαλυτών πολυφαινολών σε ένα τρόφιμο με ταυτόχρονη μείωση των αντίστοιχων συζευγμένων υδατοδιαλυτών μορφών όπως είναι π.χ. οι υδατοδιαλυτοί μαλονυλ-β-γλυκοζίτες (Simonne et al., 2000; Xu & Chang, 2008; Lee & Lee, 2009; Mora-Rochin et al., 2010). Έτσι, η μετατροπή συζευγμένων υδατοδιαλυτών φαινολικών συστατικών στις αντίστοιχες ελεύθερες μορφές τους, με τη βοήθεια των υψηλών θερμοκρασιών που αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια της ενυδάτωσης του εμπλουτισμένου ρυζιού σε ακριβή ποσότητα νερού, θα μπορούσε να είναι μια πιθανή εξήγηση για τη σταθερότητα και την ελαφρά αύξηση της συγκέντρωσης των συστατικών στο τέλος της θερμικής διεργασίας.

4.7 Υπολογισμός συντελεστών διάχυσης D_{app} και κινητικών σταθερών k_c για την εκρόφηση επιμέρους φαινολικών συστατικών από το εμπλουτισμένο ρύζι

Ο υπολογισμός του φαινόμενου συντελεστή διάχυσης D_{app} , για 3 φαινολικά οξέα και ένα φλαβονοειδές που εξετάστηκαν (Πίνακας 20), έγινε έπειτα από προσαρμογή των πειραματικών τιμών τους (μέσες συγκεντρώσεις) στην επιλυμένη εξίσωση του 2^{ου} νόμου του Fick για τη διάχυση. Προκειμένου να γίνουν οι υπολογισμοί, χρησιμοποιήθηκαν και οι εκτιμώμενες τιμές θεωρητικής συγκέντρωσης ισορροπίας C_∞ για κάθε συστατικό εντός του ρυζιού (5^η στήλη Πίνακα 19). Οι τιμές του D_{app} για τα 4 συστατικά κυμάνθηκαν στα επίπεδα των $4,90-16,97 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$. Ο Πίνακας 20 παρουσιάζει επίσης και δεδομένα που σχετίζονται με τις κινητικές σταθερές (k_c), οι οποίες περιγράφουν την κινητική εκρόφησης των φαινολών από το ρύζι προς την περίσσεια υδατικού μέσου και υπολογίστηκαν έπειτα από εφαρμογή κινητικού μοντέλου πρώτης τάξης. Οι τιμές των k_c για τα εξεταζόμενα συστατικά βρέθηκαν να είναι μεταξύ $3,68-4,60 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. Το Σχήμα 28 παρουσιάζει τη συσχέτιση μεταξύ των πειραματικών τιμών (μέσων συγκεντρώσεων φαινολικών ουσιών) και των τιμών που υπολογίστηκαν βάσει του μοντέλου διάχυσης που χρησιμοποιήθηκε για να προσομοιωθεί η ενυδάτωση του ρυζιού σε περίσσεια νερού και η διάχυση των συστατικών. Από το Σχήμα 28 φαίνεται ότι υπήρξε καλή προσαρμογή των υπολογισμένων τιμών με τις αντίστοιχες πειραματικές για όλες τις ουσίες που εξετάστηκαν.

Πίνακας 20: Εκτιμώμενες τιμές του συντελεστή διάχυσης (D_{app}) και των κινητικών σταθερών (k_c), έπειτα από εφαρμογή κινητικής 1^{ης} τάξης, για 4 φαινολικά συστατικά που εκροφούνται από το εμπλουτισμένο ρύζι στο νερό κατά τη διάρκεια επανενυδάτωσης σε περίσσεια νερού.

Φαινολικά συστατικά	D_{app} ($\times 10^{-10}$ m ² /s)	k_c ($\times 10^{-3}$ s ⁻¹)	Συντελεστής συσχέτισης R^2
Καφεϊκό οξύ	5,25	3,68	0,9874
3,4-Διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	5,04	3,87	0,9867
Πρωτοκατεχικό οξύ	4,90	4,32	0,9746
Ναριγκενίνη	16,97	4,60	0,9834

Σύμφωνα με τον Πίνακα 20 η ναριγκενίνη παρουσίασε τις υψηλότερες τιμές μεταξύ όλων των συστατικών τόσο για την k_c όσο και για τον D_{app} . Από τα δεδομένα του Πίνακα 17 και λαμβάνοντας υπόψη ότι ο ισοδύναμος δείκτης υδροφοβικότητας της ναριγκενίνης ($\log P$) ισούται με 2,4 (PUBCHEM) (αρκετά υψηλότερος σε σχέση με το $\log P$ των υπολοίπων φαινολικών συστατικών), φαίνεται ότι η ναριγκενίνη παρουσιάζει τη μικρότερη χημική συγγένεια με την αμυλοπηκτίνη που αποτελεί το κυρίαρχο μακροσυστατικό του ξηρού εμπλουτισμένου ρυζιού. Το γεγονός αυτό ενδεχομένως να ερμηνεύει τη συγκριτικά πιο αυξημένη τάση που παρουσιάζει το μόριο της ναριγκενίνης να εκροφηθεί από τον κόκκο του εμπλουτισμένου ρυζιού. Επίσης, το σχετικά υψηλό μοριακό βάρος της ναριγκενίνης (272 έναντι ≤ 180 για τα υπόλοιπα συστατικά) και η παρουσία 3 φαινολικών δακτυλίων στο μόριό της (1 φαινολικός δακτύλιος στις άλλες ουσίες) ενδέχεται να ευθύνονται για την χαμηλότερη τάση κατακράτησής της εντός των κόκκων ρυζιού σε σχέση με τις υπόλοιπες 3 ουσίες, καθότι για τα πιο ευμεγέθη μόρια η διείσδυση σε ένα υπόστρωμα είναι κατά κανόνα πιο δυσχερής, ενώ ευνοείται κατά κύριο λόγο η επιφανειακή προσρόφηση. Από τη βιβλιογραφία έχει φανεί ότι το μέγεθος ενός μορίου, η ευκαμψία του, η διαλυτότητα και η γενικότερη δομή-διαμόρφωσή του στο χώρο διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο όσον αφορά στην ικανότητά του να παγιδεύεται εντός μια πρωτεϊνικής κοιλότητας ή εντός της V-έλικας αμυλόζης ή στην πιθανότητα να δημιουργεί σύμπλοκα με πολυσακχαρίτες ή να αλληλεπιδρά ισχυρά με άλλα μόρια (Renard et al., 2001; Barros et al., 2012; Obiro et al., 2012). Επιπλέον, συγκρίνοντας τα δεδομένα του Πίνακα 20 για την εκρόφηση των φαινολικών οξέων από το ρύζι με τα αποτελέσματα των Πινάκων 15 και 17 που αφορούσαν τους συντελεστές διάχυσης

των ίδιων συστατικών κατά τη διάρκεια της υδροθερμικής επεξεργασίας (προσρόφηση), γίνεται αντιληπτό ότι οι συντελεστές D των συστατικών κατά την εκρόφηση είναι κατά μια τουλάχιστον τάξη μεγέθους πιο αυξημένοι. Το αποτέλεσμα αυτό θα μπορούσε πιθανότατα να εξηγηθεί από το γεγονός ότι το πορώδες του ξηρού εμπλουτισμένου ρυζιού (ζήρανση με κατάψυξη) κατά την έναρξη της διεργασίας ενυδάτωσης (εκρόφηση) είναι πιο αυξημένο σε σχέση με το αντίστοιχο αρχικό πορώδες των λευκών κόκκων ρυζιού κατά την έναρξη της προσρόφησης, οπότε φαίνεται να ευνοείται περισσότερο το φαινόμενο της εκρόφησης των φαινολικών οξέων από το ρύζι έναντι του φαινομένου της προσρόφησης τους (μικρότεροι συντελεστές D).

Γενικά, με βάση τη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν λίγες αναφορές που να σχετίζονται με μελέτη διάχυσης διαλυτών συστατικών σε τρόφιμα κατά τη διάρκεια υδροθερμικών διεργασιών. Πιο συγκεκριμένα, οι Artoqui et al. (2001) και ο Abdel-Kader (1991) μελέτησαν αντιστοίχως τη διαχυτότητα του ασκορβικού οξέος σε πατάτα και αρακά κατά τη διάρκεια ζεματίσματος των τροφίμων σε νερό και οι συντελεστές διάχυσης D_{app} που βρήκαν κυμάνθηκαν σε υψηλότερα επίπεδα ($17,39 \times 10^{-10}$ και $1,94 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$, αντιστοίχως) από αυτά της παρούσας διατριβής, μολονότι οι εφαρμοζόμενες θερμοκρασίες ζεματίσματος ήταν κατά λίγο χαμηλότερες ($80-90^\circ\text{C}$) από τις θερμοκρασίες βρασμού που χρησιμοποιήθηκαν κατά την ενυδάτωση του ρυζιού. Ο Abdel-Kader (1991) επίσης έδειξε ότι η σταθερά k_c που περιέγραφε το ρυθμό εκρόφησης-εκχύλισης του ασκορβικού οξέος εντός του θερμού νερού (90°C) βρέθηκε να είναι της τάξης των $0,592 \text{ min}^{-1}$ ($9,87 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$), δηλαδή και πάλι υψηλότερη από τις αντίστοιχες k_c που υπολογίστηκαν στην παρούσα μελέτη (Πίνακας 19) και αυτό υποδηλώνει ότι ο ρυθμός απώλειας-εκρόφησης του ασκορβικού οξέος στο θερμό νερό ήταν σαφώς υψηλότερος από τον αντίστοιχο ρυθμό εξόδου των φαινολών από το εμπλουτισμένο ρύζι. Επιπλέον, βάσει των παραπάνω, είναι πιθανό κατά τον εμπλουτισμό του ρυζιού να δημιουργήθηκαν ισχυρότερες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστατικών του ρυζιού με τα προσροφούμενα φαινολικά σε σχέση με τις αλληλεπιδράσεις που υπήρχαν μεταξύ των συστατικών της πατάτας και του αρακά με τα μόρια του ασκορβικού οξέος. Επίσης, σε κάποιες άλλες μελέτες εξετάστηκε η διαχυτότητα διαλυτών στερεών διαμέσου φυτικών ιστών προς το νερό κατά τη διάρκεια ενυδάτωσης ή ζεματίσματος ξηρών φυτικών τροφίμων. Οι τιμές D_{app} σε αυτές τις μελέτες βρέθηκαν να είναι εντός

του εύρους $2,47 \times 10^{-10}$ – $4,74 \times 10^{-9}$ m²/s, ωστόσο τα αποτελέσματα αυτά δεν είναι συγκρίσιμα με τους συντελεστές διάχυσης των συστατικών που υπολογίστηκαν στην παρούσα διατριβή, καθώς οι θερμοκρασίες στις οποίες πραγματοποιήθηκε η ενυδάτωση των φυτικών τροφίμων ήταν μεταξύ 25-90°C, που ήταν είτε λίγο, είτε πολύ χαμηλότερες από αυτές του βρασμού (Rastogi et al., 2004; Debnath et al., 2004; Selman et al., 1983).

5. Εμπλουτισμός ζυμαρικού με μίγμα πολτού τομάτας – φύλλων βασιλικού. Μελέτη εκρόφησης - απώλειας μικροσυστατικών κατά τον βρασμό σε καθαρό νερό

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

5.1 Παρασκευή λευκού και εμπλουτισμένου ζυμαρικού

5.1.1 Λευκό μακαρόνι

Σκοπός

Η παρασκευή χειροποίητου μακαρονιού από σκληρό αλεύρι και σιμιγδάλι.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Σιμιγδάλι
- Σκληρό αλεύρι
- Απιονισμένο νερό

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας 3 δεκαδικών ψηφίων (Ohaus)
- Ογκομετρικός κύλινδρος (1 L)
- Μεταλλικό σκεύος
- Συσκευή ανάμιξης και κοπής (Multi)
- Συσκευή παραγωγής μακαρονιών (Marcato)

Αναλυτική διαδικασία

Αρχικά ζυγίσθηκαν σε ζυγό ακριβείας και αναμίχθηκαν 200 g σιμιγδάλι και 200 g σκληρού αλεύρου, ενώ προστέθηκαν σε αυτά και 250 mL απιονισμένου νερού. Ακολούθησε ζύμωμα του μίγματος έως ότου δημιουργήθηκε μια ομογενοποιημένη ζύμη. Η ζύμη διατηρήθηκε καλυμμένη εντός κλειστού χώρου για περίπου 30 min και στη συνέχεια τεμαχίστηκε σε κομμάτια, τα οποία με τη βοήθεια συσκευής παραγωγής μακαρονιών έλαβαν τη μορφή φύλλου συγκεκριμένου πάχους (~1 mm) και ύστερα κόπηκαν σε μακρόστενες λωρίδες μακαρονιών. Έπειτα, τα νωπά, μη βρασμένα μακαρόνια διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου εντός προστατευμένου χώρου για 1 ημέρα προκειμένου να ξηρανθούν και να οδηγηθούν σε υδροθερμική επεξεργασία.

5.1.2 Εμπλουτισμένο μακαρόνι

Σκοπός

Η δημιουργία χειροποίητου εμπλουτισμένου μακαρονιού από σκληρό αλεύρι και σιμιγδάλι με προσθήκη αποξηραμένων φύλλων βασιλικού και συμπυκνωμένου χυμού τομάτας.

Υλικά - Αντιδραστήρια

- Αποξηραμένα φύλλα βασιλικού (*Ocimum basilicum*)
- Συμπυκνωμένος χυμός τομάτας (Passata)
- Σιμιγδάλι
- Σκληρό αλεύρι

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας 3 δεκαδικών ψηφίων (Ohaus)
- Ογκομετρικός κύλινδρος (1 L)
- Μεταλλικό σκεύος
- Συσκευή ανάμιξης και κοπής (Multi)
- Συσκευή παραγωγής μακαρονιών (Marcato)

Αναλυτική διαδικασία

Αρχικά ζυγίσθηκαν 20 g ξηρών φύλλων βασιλικού, τα οποία αφού τεμαχίστηκαν με χρήση συσκευής μίξερ, αναμίχθηκαν με 300 g τοματοπολτού με περιεχόμενο περίπου 7% w/w σε στερεή τομάτα. Στο μίγμα αυτό προστέθηκαν επιπλέον 180 g σιμιγδάλι και 180 g σκληρού αλεύρου και όλα τα υλικά ζυμώθηκαν έως ότου δημιουργήθηκε μια ομογενοποιημένη ζύμη. Η ποσότητα του τοματοπολτού επιλέχθηκε ώστε να είναι ικανή να αποδώσει μια ποσότητα νερού στη ζύμη, η οποία να είναι λίγο μεγαλύτερη από το νερό (250 mL) που προστέθηκε στην περίπτωση παρασκευής της ζύμης του λευκού μακαρονιού (παράγραφος Γ 5.1.1). Η επιλογή αυτή έγινε λόγω της παρουσίας των φύλλων βασιλικού και των στερεών τομάτας που αντικατέστησαν αντίστοιχες ποσότητες σιμιγδαλιού και σκληρού αλεύρου από το λευκό μακαρόνι και περιείχαν μικρές ποσότητες φυτικών ινών. Στη συνέχεια, η ζύμη διατηρήθηκε καλυμμένη εντός κλειστού χώρου για περίπου 30 min και έπειτα τεμαχίστηκε σε κομμάτια, τα οποία με τη βοήθεια συσκευής παραγωγής μακαρονιών έλαβαν τη μορφή φύλλου συγκεκριμένου πάχους (~1 mm) και κόπηκαν σε μακρόστενες λωρίδες εμπλουτισμένων μακαρονιών. Τα νωπά, εμπλουτισμένα

μακαρόνια διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου εντός προστατευμένου χώρου για 1 ημέρα προκειμένου να ξηρανθούν και να οδηγηθούν προς υγροθερμική επεξεργασία.

5.2 Προετοιμασία ζυμαρικών – Υγροθερμική επεξεργασία

Σκοπός

Στόχος ήταν ο βρασμός των μακαρονιών προκειμένου για να εκτιμηθεί η απελευθέρωση των αντιοξειδωτικών συστατικών με τα οποία εμπλουτίστηκαν και να γίνει σύγκριση με το βιοδραστικό περιεχόμενο του λευκού μακαρονιού.

Υλικά - Αντιδραστήρια

- Λευκά μακαρόνια
- Εμπλουτισμένα μακαρόνια
- Απιονισμένο νερό

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας 3 δεκαδικών ψηφίων (Ohaus)
- Ογκομετρικός κύλινδρος 1 L
- Ηλεκτρική κουζίνα (PITSOS, Uniflam POP, 7680 PK)
- Συσκευή λυοφιλίωσης (Telstar Cryodos, Terrassa, Spain)
- Μαγειρικά σκεύη

Αναλυτική διαδικασία

Ογκομετρήθηκαν 2,5 L απιονισμένου νερού και θερμάνθηκαν μέχρι βρασμού εντός χύτρας. Παράλληλα, 130 g νωπών λευκών μακαρονιών σε λωρίδες ζυγίστηκαν και τοποθετήθηκαν στο ζέον νερό όπου υπέστησαν θερμική επεξεργασία για 14 min συνολικά. Πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία σε χρόνους βρασμού (min) t_0 , t_1 , t_3 , t_5 , t_7 , t_9 , t_{11} , t_{14} και παραλήφθηκε ποσότητα μακαρονιών (περίπου 10-15 g/δείγμα) που φυλάχθηκε σε προζυγισμένα δοχεία αποθήκευσης έως ότου τα δείγματα οδηγηθούν προς ξήρανση με κατάψυξη. Προτού τοποθετηθούν στην κατάψυξη τα δείγματα ζυγίστηκαν (μικτό βάρος), ενώ το ίδιο έγινε και μετά το πέρας της λυοφιλίωσης προκειμένου να υπολογιστούν οι % περιεκτικότητες υγρασίας των δειγμάτων κατά τη διάρκεια της υγροθερμικής διεργασίας. Ο βρασμός των λευκών μακαρονιών και οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν σε 3 επαναλήψεις. Η ίδια ακριβώς υγροθερμική επεξεργασία και συλλογή δειγμάτων εκτελέστηκε χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη τα εμπλουτισμένα μακαρόνια, ενώ όλα τα δείγματα ζυμαρικών, αφού παραλήφθηκαν,

ξηράνθηκαν με λυοφιλίωση, ώστε να κονιορτοποιηθούν και να εκχυλιστούν τα αντιοξειδωτικά τους συστατικά.

5.3 Υπολογισμός παραμέτρων για αξιολόγηση της ποιότητας των ζυμαρικών κατά τη διάρκεια της υγροθερμικής επεξεργασίας

Οι παρακάτω παράμετροι υπολογίστηκαν σύμφωνα με τους παρακάτω τύπους που εφήρμοσαν και οι Tudorica et al. (2002):

Ο Δείκτης Διόγκωσης (ΔΔ) (Swelling Index) (SI) υπολογίστηκε ως τα γραμμάρια του νερού προς τα γραμμάρια των ζυμαρικών κατόπιν ξήρανσης:

$(\Delta\Delta) = (\text{βάρους υγροθερμικά επεξεργασμένων ζυμαρικών} - \text{βάρους ζυμαρικών κατόπιν ξήρανσης}) / \text{βάρους ζυμαρικών κατόπιν ξήρανσης}$

Η Απορρόφηση Υγρασίας (ΑΥ) (%) υπολογίστηκε ζυγίζοντας υγροθερμικώς επεξεργασμένα ζυμαρικά και συγκρίνοντάς τα βάρη τους με τα αντίστοιχα των νωπών ζυμαρικών:

$AY(\%) = 100 \times (\text{βάρους υγροθερμικώς επεξεργασμένων ζυμαρικών} - \text{βάρους νωπών ζυμαρικών}) / (\text{βάρους νωπών ζυμαρικών})$

Η Περιεκτικότητα Υγρασίας (ΠΥ) (%) υπολογίστηκε ως η μάζα του νερού προς την αντίστοιχη μάζα των ζυμαρικών μετά το πέρας της θερμικής διεργασίας:

$PY(\%) = (\text{βάρους νερού} / \text{βάρους βρασμένων ζυμαρικών}) \times 100$

Βέλτιστος χρόνος βρασμού: ο χρόνος βρασμού $t=11$ min θεωρήθηκε ως ο ιδανικότερος χρόνος υγροθερμικής επεξεργασίας των ζυμαρικών κατά τον οποίο είναι έτοιμα προς βρώση. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν για χρόνους βρασμού $t=0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 14$ min για τα λευκά και τα εμπλουτισμένα ζυμαρικά.

5.4 Εκχύλιση αντιοξειδωτικών συστατικών από τα ξηρά δείγματα ζυμαρικών

Σκοπός

Σκοπός ήταν η μετατροπή των αποξηραμένων δειγμάτων μακαρονιών σε μορφή σκόνης προκειμένου να πραγματοποιηθεί αποδοτικότερη εκχύλιση των αντιοξειδωτικών τους συστατικών με χρήση μεθανόλης (MeOH).

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Δείγματα λευκού και εμπλουτισμένου ζυμαρικού σε ξηρή μορφή
- MeOH εργαστηρίου αναλυτικής καθαρότητας (Merck, Darmstadt, Germany)

Όργανα

- Γουδί & γουδοχέρι
- Συσκευή ανάμιξης και κοπής (Multi)
- Ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων (Ohaus)
- Δοκιμαστικοί σωλήνες των 10 ml
- Σιφόνιο 5 ml με πουάρ
- Συσκευή Vortex (VELD Scientifica)
- Φυγόκεντρος (Hermle Z320)
- Συσκευή Speedvac (CentriVac Concentrator LABCONCO)
- Αυτόματη πιπέτα 100-1000 μ l (Eppendorf Reference)

Αναλυτική διαδικασία

Αρχικά τα δείγματα εισήχθησαν σε συσκευή αναμιξης και κοπής, όπου τα μακαρόνια τεμαχίστηκαν σε μικρά κομμάτια και στη συνέχεια υπέστησαν κονιορτοποιήση με γουδί και γουδοχέρι έως ότου μετατράπηκαν σε σκόνη επιθυμητής διαμέτρου. Στη συνέχεια, από κάθε δείγμα μακαρονιού, εμπλουτισμένου και μη, ζυγίστηκαν 2 g εντός γυάλινων δοκιμαστικών σωλήνων, στους οποίους προστέθηκαν αρχικά 5 mL μεθανόλης και πωματίστηκαν. Έπειτα ακολουθήθηκε η τεχνική εκχύλισης που περιγράφηκε στην αναλυτική διαδικασία της παραγράφου Γ 2.3.2 και τελικά παρελήφθησαν τα συμπυκνωμένα μεθανολικά εκχυλίσματα (1 mL) από κάθε δείγμα υδροθερμικά επεξεργασμένου, ξηρού μακαρονιού, λευκού ή εμπλουτισμένου.

5.5 Αξιολόγηση ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής δραστηριότητας σε μεθανολικά εκχυλίσματα υδροθερμικά επεξεργασμένου λευκού και εμπλουτισμένου ζυμαρικού

Για την εκτίμηση του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου των μεθανολικών εκχυλισμάτων βρασμένων ζυμαρικών (παράγραφος Γ 5.4) ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφηκε στην παράγραφο Γ 2.3.3 και σχετιζόταν με μεθανολικά εκχυλίσματα ρυζιού. Τα τελικά αποτελέσματα για τις ολικές πολυφαινόλες στα δείγματα λευκού και εμπλουτισμένου μακαρονιού αποδόθηκαν σε μ g ισοδυνάμων γαλλικού οξέος (GAE)/g ξηρού ζυμαρικού.

Όσον αφορά στον προσδιορισμό της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των ίδιων εκχυλισμάτων, πραγματοποιήθηκε μέσω προσδιορισμού της ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH[•] από τα δείγματα με βάση τη μεθοδολογία που περιγράφηκε στην παράγραφο Γ 2.3.4. Τα τελικά αποτελέσματα εκφράστηκαν σε μg ισοδυνάμων Trolox/g ξηρού ζυμαρικού.

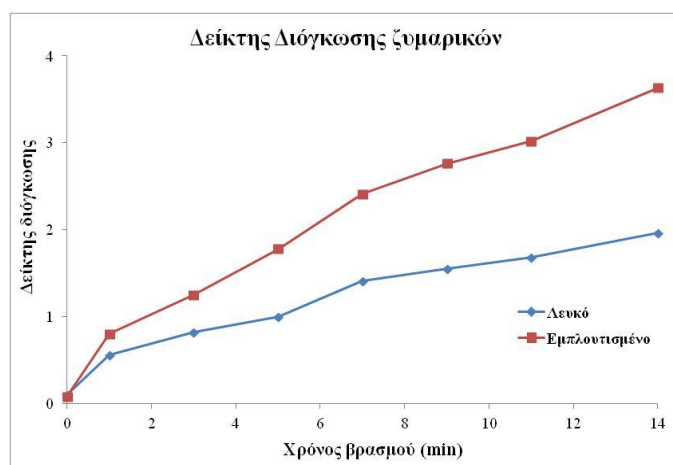
5.6 Προσδιορισμός απλών πολυφαινολών με αέρια χρωματογραφία/φασματοσκοπία μάζας (GC/MS) σε μεθανολικά εκχυλίσματα ζυμαρικών

Ακολουθήθηκαν οι μέθοδοι που περιγράφηκαν στις παραγράφους Γ 1.4.3 και Γ 1.4.4 προκειμένου αρχικά να σιλυλιωθούν τα μεθανολικά εκχυλίσματα των λευκών και εμπλουτισμένων δειγμάτων ζυμαρικών και στη συνέχεια να εξεταστούν ως προς το περιεχόμενό τους σε επιμέρους φαινολικά συστατικά. Τα τελικά αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ng επιμέρους συστατικού/g ξηρού ζυμαρικού (ppb).

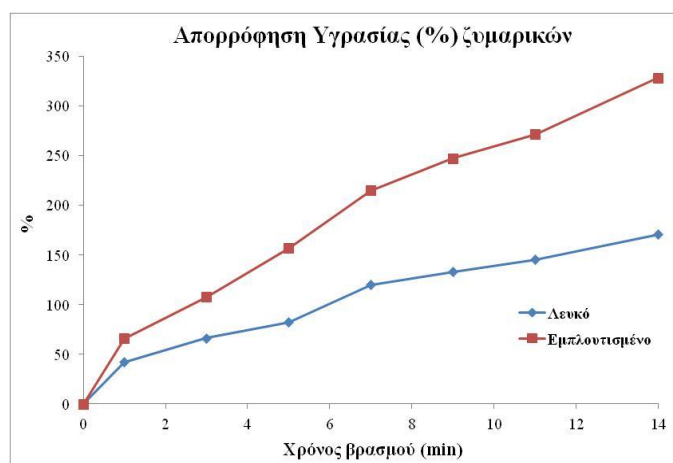
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.7 Αξιολόγηση ποιότητας ζυμαρικών κατά τη διάρκεια του βρασμού

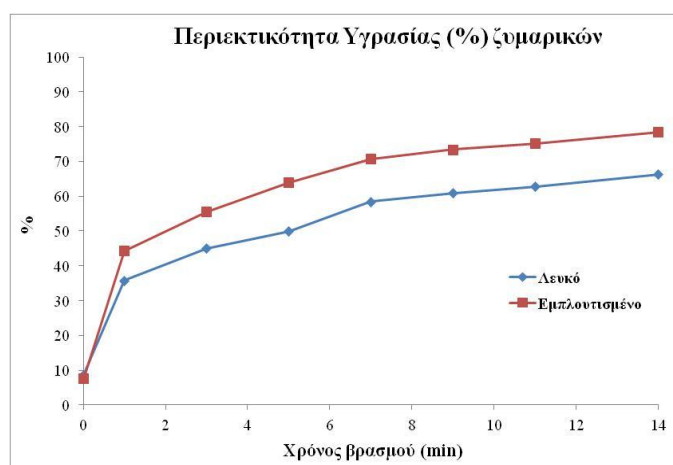
Πραγματοποιήθηκαν οι υπολογισμοί των παραμέτρων Δείκτη Διόγκωσης (ΔΔ), Απορρόφησης Υγρασίας (ΑΥ) και Περιεκτικότητας Υγρασίας (ΠΥ) για τα δύο είδη ζυμαρικών (λευκά, εμπλουτισμένα) σε χρόνους βρασμού $t=0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 14$ min, ενώ τα συγκριτικά αποτελέσματα για όλα τα εξετασθέντα δείγματα λευκών και εμπλουτισμένων ζυμαρικών απεικονίζονται στα Σχήματα 33, 34 και 35.



Σχήμα 33: Τιμές του Δείκτη Διόγκωσης σε σχέση με τον χρόνο βρασμού για λευκά και εμπλουτισμένα ζυμαρικά.



Σχήμα 34: Απορρόφηση υγρασίας (%) σε σχέση με τον χρόνο βρασμού για λευκά και εμπλουτισμένα ζυμαρικά.



Σχήμα 35: Περιεκτικότητα υγρασίας (%) λευκών και εμπλουτισμένων ζυμαρικών συναρτήσει του χρόνου βρασμού.

Ο δείκτης διόγκωσης των ζυμαρικών αποτελεί πολύ σημαντική παράμετρο οργανοληπτικής ποιότητας, καθώς είναι δείκτης για χαρακτηριστικά όπως η συνεκτικότητα, η σταθερότητα, η ελαστικότητα και η κολλώδης συμπεριφορά του βρασμένου τροφίμου (Dexter et al., 1985). Κατά τη διαδικασία βρασμού των ζυμαρικών σχηματίζεται ένα πλέγμα γλουτένης (κύρια πρωτεΐνη ζυμαρικών), το οποίο παγιδεύει τους κόκκους αμύλου και όσο αυξάνεται ο χρόνος βρασμού γίνεται επέκταση αυτού του δικτύου (Bruneel et al., 2010), το οποίο επηρεάζει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του ζυμαρικού (συνεκτικότητα, ελαστικότητα, κολλώδη συμπεριφορά). Απουσία του δικτύου γλουτένης οδηγεί σε έκπλυση των

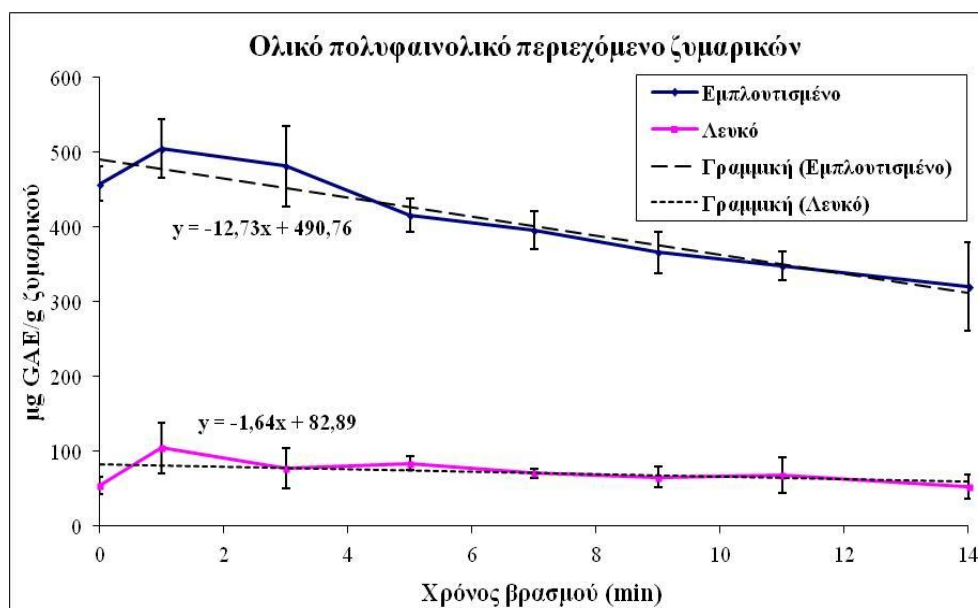
κόκκων αμύλου και κολλώδη συμπεριφορά που θα ήταν μη επιθυμητά για τον καταναλωτή. Αντιθέτα, όταν υπάρχει επαρκής ποσότητα γλουτένης, σχηματίζεται ένα δίκτυο το οποίο δύναται να συγκρατήσει τους διογκωμένους κόκκους αμύλου βελτιώνοντας την ελαστικότητα του ζυμαρικού (Biney & Beta, 2014). Ο δείκτης διόγκωσης είναι ένας δείκτης ο οποίος επί της ουσίας μετρά πόσο καλά δομημένο είναι το δίκτυο γλουτένης. Ως εκ τούτου, αυξημένες τιμές του υποδηλώνουν καλύτερη ποιότητα βρασμένων ζυμαρικών.

Από το Σχήμα 33 φαίνεται ότι τα μη εμπλουτισμένα ζυμαρικά παρουσιάζουν αύξηση του δείκτη διόγκωσης καθ' όλη τη διάρκεια της υδροθερμικής επεξεργασίας. Σε χρόνο $t=11$ min, που βάσει δοκιμών θεωρήθηκε ως βέλτιστος χρόνος επεξεργασίας, ο δείκτης διόγκωσης βρέθηκε να είναι 1,68. Αντίστοιχα, όσον αφορά στα εμπλουτισμένα ζυμαρικά ο δείκτης διόγκωσης φάνηκε να αυξάνεται σε μεγαλύτερο βαθμό και σε χρόνο $t=11$ min ήταν 3,02. Η παρατηρούμενη διαφορά πιθανότατα οφείλεται κατά κύριο λόγο στην παρουσία των φύλλων βασιλικού εντός του εμπλουτισμένου ζυμαρικού. Καταρχάς, η αναλογία γλουτένης - αμύλου και στα δύο είδη ζυμαρικών είναι ίδια, καθώς τα υλικά προέλευσής τους είναι τα ίδια (σιμιγδάλι - σκληρό αλεύρι) και σε ίδιες αναλογίες άρα σχηματίζεται αντίστοιχο πλέγμα γλουτένης - αμύλου. Επίσης, εξαιτίας της παρουσίας φύλλων βασιλικού και στερεών τομάτων πιθανώς υπάρχει αύξηση στο πορώδες του μακαρονιού και επομένως το νερό εισέρχεται ευκολότερα σε αυτό. Από τη στιγμή που ξεκινήσει η προσρόφηση νερού, μέρος αυτού δεσμεύεται στο άμυλο, το οποίο διογκώνεται λόγω θέρμανσης και ζελατινοποιείται. Παράλληλα, οι κόκκοι αμύλου συγκρατούνται από το δίκτυο γλουτένης, καθώς και από τα μόρια κυτταρίνης (αδιάλυτες φυτικές ίνες), που περιέχονται στα φύλλα βασιλικού και που επίσης δεσμεύουν μόρια νερού. Βάσει αυτών κρίνεται εύλογο τα εμπλουτισμένα ζυμαρικά να παρουσιάζουν μεγαλύτερη τιμή του δείκτη διόγκωσης και βελτιωμένες οργανοληπτικές ιδιότητες, ενώ ταυτόχρονα αιτιολογείται και η αυξημένη απορρόφηση και περιεκτικότητα υγρασίας των δειγμάτων εμπλουτισμένου μακαρονιού σε σχέση με τα δείγματα λευκού ζυμαρικού που υπέστησαν υδροθερμική επεξεργασία ίδιας διάρκειας (Σχήματα 34 και 35).

5.8 Αξιολόγηση ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής δράσης λευκού και εμπλουτισμένου μακαρονιού

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου και της αντιοξειδωτικής ικανότητας των υδροθερμικώς επεξεργασμένων δειγμάτων λευκού και εμπλουτισμένου ζυμαρικού. Τα συγκριτικά αποτελέσματα παρουσιάζονται στα Σχήματα 36 και 37.

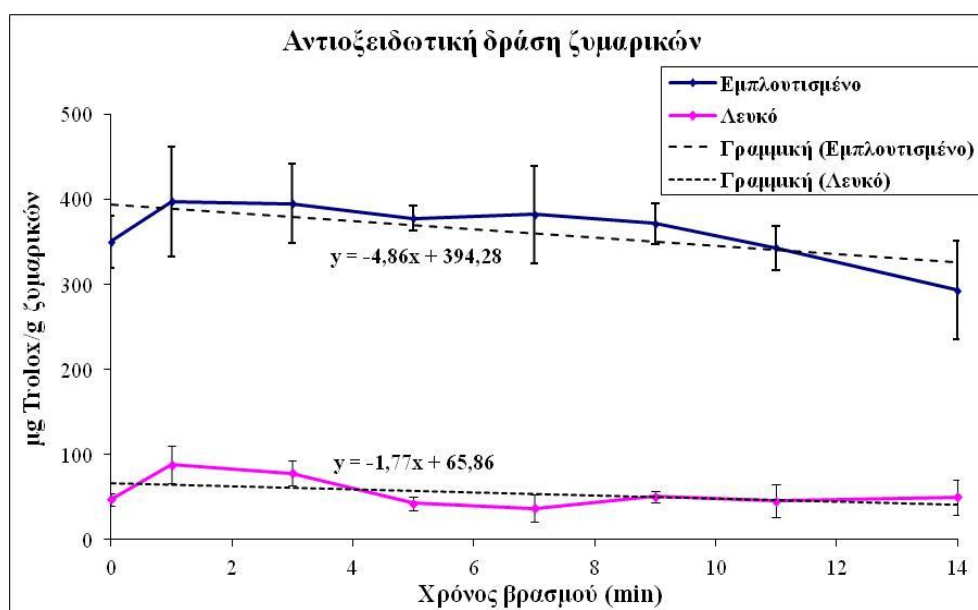
Με βάση το Σχήμα 36 παρατηρείται ότι ο εμπλουτισμός των ζυμαρικών με αποξηραμένα φύλλα βασιλικού και τοματοπολτό είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ολικού πολυφαινολικού φορτίου κατά ~8,5 φορές. Συγκεκριμένα σε χρόνο $t=0$ min (προ βρασμού) η συγκέντρωση πολυφαινολών στα εμπλουτισμένα ζυμαρικά βρέθηκε να είναι 457,8 $\mu\text{g GAE/g}$ μακαρονιού και στα μη εμπλουτισμένα 54,8 $\mu\text{g/g}$ μακαρονιού. Από τη βιβλιογραφία είναι γνωστό ότι τα αποξηραμένα φύλλα βασιλικού έχουν υψηλό πολυφαινολικό περιεχόμενο (Gajula et al., 2004; Benedec et al., 2012; Koca et al., 2015), ενώ και η τομάτα αποτελεί τρόφιμο πλούσιο σε πολυφαινόλες (Crozier et al., 1997; Kalogeropoulos et al., 2012). Αντικαθιστώντας λοιπόν ένα μέρος του μίγματος σιμιγδαλιού - σκληρού αλεύρου με φύλλα βασιλικού και τοματοπολτό μπορεί εύλογα να οδηγήσει σε αισθητή αύξηση του πολυφαινολικού περιεχομένου των ζυμαρικών. Από το Σχήμα 37 προκύπτει επίσης το συμπέρασμα ότι με τον εμπλουτισμό των ζυμαρικών με αποξηραμένα φύλλα βασιλικού και τοματοπολτό αυξάνεται και αντιοξειδωτική τους ικανότητα κατά ~7,5 φορές. Πιο συγκεκριμένα, σε χρόνο $t=0$ min (προ βρασμού) 1 g εμπλουτισμένου μακαρονιού βρέθηκε να περιέχει 350,4 μg ισοδυνάμων Trolox, ενώ στον ίδιο χρόνο 1 g λευκού μακαρονιού 47,3 μg ισοδυνάμων Trolox. Η αύξηση αυτή προφανώς μπορεί να αποδοθεί στην υψηλή συγκέντρωση αντιοξειδωτικών που περιέχονται στον βασιλικό (Gajula et al., 2004), καθώς και την ύπαρξη αντιοξειδωτικών ουσιών στον χυμό τομάτας.



Σχήμα 36: Συγκριτική αξιολόγηση περιεχομένου ολικών πολυφαινολών (ισοδύναμα μg γαλλικού οξέος/ g μακαρονιού) λευκού και εμπλουτισμένου μακαρονιού καθ' όλη τη διάρκεια της υδροθερμικής επεξεργασίας.

Από τα Σχήματα 36 και 37 επίσης φαίνεται ότι η συγκέντρωση ολικών πολυφαινολών και η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων λευκού και εμπλουτισμένου μακαρονιού κατά τη διάρκεια της υδροθερμικής επεξεργασίας παρουσιάζουν μια μικρή τάση μείωσης από την αρχή έως το τέλος της διεργασίας, με εξαίρεση τη χρονική στιγμή $t=1 \text{ min}$ όπου παρατηρείται ελαφρά αύξηση. Ειδικότερα, τα εμπλουτισμένα ζυμαρικά, έπειτα από 11 min βρασμού (βέλτιστος χρόνος επεξεργασίας για τα συγκεκριμένα ζυμαρικά) φαίνεται να χάνουν το 24,1% του ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου τους που περιείχαν προ βρασμού (347,5 ισοδύναμα γαλλικού οξέος έναντι 457,8 που περιείχαν αρχικά) και μόνο το 2,2% της αντιοξειδωτικής τους δραστηριότητας. Παράλληλα, εμφανίζονται να διατηρούν κατά πολύ υψηλότερες τιμές σε σχέση με τα υδροθερμικώς επεξεργασμένα λευκά ζυμαρικά στον βέλτιστο χρόνο επεξεργασίας (5,1 φορές μεγαλύτερο πολυφαινολικό περιεχόμενο και 7,6 φορές μεγαλύτερο αντιοξειδωτικό περιεχόμενο). Επίσης, από τα ίδια Σχήματα γίνεται αντιληπτό ότι η τάση μείωσης του πολυφαινολικού και του αντιοξειδωτικού περιεχομένου των εμπλουτισμένων ζυμαρικών κατά τη διάρκεια του βρασμού προσομοιώνεται ικανοποιητικά από εφαρμογή κινητικής μηδενικής τάξης της οποίας η χαρακτηριστική εξίσωση είναι της μορφής: $C=C_0-k \cdot t$. Για τον λόγο αυτόν έγινε σχεδιασμός των βέλτιστων ευθειών (διακεκομμένες γραμμές) και

εξήχθησαν οι γραμμικές εξισώσεις (Σχήματα 36 και 37) που να αποδίδουν κατά τον καλύτερο δυνατό τρόπο τη μείωση των 2 αυτών μελετούμενων παραμέτρων στα ζυμαρικά. Η κλίση των βέλτιστων ευθειών που απεικονίζεται επί των Σχημάτων (συντελεστής του αγνώστου x των εξισώσεων) υπολογίστηκε να είναι μεγαλύτερη (12,73) για το πολυφαινολικό περιεχόμενο έναντι της κλίσης που αντιστοιχεί στο αντιοξειδωτικό περιεχόμενο (4,86) των εμπλουτισμένων δειγμάτων και αυτό προδίδει ότι η τάση μείωσης των πολυφαινολών είναι υψηλότερη σε σχέση με αυτή των υπολοίπων αντιοξειδωτικών.



Σχήμα 37: Συγκριτική αξιολόγηση λευκού και εμπλουτισμένου μακαρονιού ως προς την αντιοξειδωτική ικανότητα (ισοδύναμα $\mu\text{g Trolox/g}$ μακαρονιού) καθ' όλη τη διάρκεια της υγροθερμικής επεξεργασίας.

Κατά τη διάρκεια του βρασμού παρατηρήθηκε απώλεια μάζας στερεών συστατικών τόσο στα λευκά όσο και τα εμπλουτισμένα ζυμαρικά, μεταξύ των οποίων ήταν μέρος των αλεύρων, αλλά και μέρος των φύλλων βασιλικού και των στερεών τομάτων, με τα οποία εμπλουτίστηκε το τρόφιμο και στα οποία οφείλει το υψηλό πολυφαινολικό του περιεχόμενο. Η απώλεια μάζας εντός της περίσσειας νερού μπορεί να αποδοθεί στην επίδραση της θερμοκρασίας βρασμού, την απορρόφηση νερού και τον χρόνο βρασμού. Σε αρκετές μελέτες έχει προσδιοριστεί η απώλεια στερεών από τα ζυμαρικά κατά τη διαδικασία του βρασμού, η οποία βρέθηκε να είναι της τάξης του 6-10% (Biney & Beta 2014; Petitot et al., 2010; Krishnan et al., 2012).

Ένας δεύτερος παράγοντας που μπορεί να οδηγεί στην παρατηρούμενη μείωση των ολικών πολυφαινολών και των αντιοξειδωτικών του εμπλουτισμένου τροφίμου είναι το φαινόμενο της εκρόφησης-εκχύλισης των συστατικών από το τρόφιμο προς το νερό βρασμού λόγω της παρουσίας περίσσειας υδατικού μέσου, καθώς και της υψηλής θερμοκρασίας (100°C). Μετά το πέρας της θερμικής διεργασίας το υδατικό μέσο φάνηκε να απέκτησε σκούρο πράσινο χρώμα το οποίο προφανώς οφειλόταν στην εκχύλιση και απώλεια χρωστικών ουσιών από τα περιεχόμενα στο μακαρόνι φύλλα βασιλικού. Ένας τρίτος παράγοντας που συμβάλλει στη μείωση των φαινολικών και αντιοξειδωτικών συστατικών κατά τη διαδικασία του βρασμού είναι η πιθανή θερμική υποβάθμιση τους λόγω παρατεταμένης θερμικής επεξεργασίας και σχετικά υψηλής θερμοκρασίας (Nicolini et al., 1997; Podsędek, 2007; Fares et al., 2010; Crozier et al., 1997). Όπως φάνηκε από τα Σχήματα 36 και 37 παρατηρήθηκε συγκριτικά μικρότερη πτώση της συγκέντρωσης των αντιοξειδωτικών σε σχέση με τις πολυφαινόλες και αυτό μπορεί και να οφείλεται στο γεγονός ότι κατά τη διαδικασία βρασμού και την επίδραση υψηλής θερμοκρασίας στο τρόφιμο πιθανώς να παράγονται κάποιες ουσίες με αντιοξειδωτική δράση. Τέτοιες ουσίες μπορεί να είναι οι μελανοϊδίνες που αποτελούν προϊόντα της αντίδρασης Maillard (Nicolini et al., 1997).

5.9 Προσδιορισμός επιμέρους φαινολικών συστατικών σε λευκό και εμπλουτισμένο μακαρόνι (GC/MS)

Χρησιμοποιώντας κατάλληλη μέθοδο που αναπτύχθηκε σε GC/MS, πραγματοποιήθηκε ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός του λευκού και του εμπλουτισμένου μακαρονιού σε επιμέρους φαινολικά συστατικά. Πιο συγκεκριμένα, μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις 24 φαινολικών συστατικών στα δύο είδη ζυμαρικών και οι μέσες τιμές τους (n=2) παρουσιάζονται στον Πίνακα 21 σε χρόνους t=0 min (προ βρασμού), t=11 min (βέλτιστος χρόνος υγροθερμικής επεξεργασίας) και t=14 min (μετά το πέρας του βρασμού).

Πίνακας 21: Συγκέντρωση επιμέρους φαινολικών συστατικών, λευκού και εμπλουτισμένου μακαρονιού σε χρόνους t=0 min (πριν το βρασμό), t=11 min και t=14 min (μετά το πέρας της υγροθερμικής επεξεργασίας).

Χρόνος βρασμού (min)	t=0		t=11		t=14	
Φαινολικά (ng/g ζυμαρικού)	Λευκό	Εμπλουτισμένο	Λευκό	Εμπλουτισμένο	Λευκό	Εμπλουτισμένο
Κιναμωμικό οξύ	29	3.123	14	1.530	15	1.397
Τυροσόλη	9	17	3	11	5	10
π-Υδροξυ-βενζοϊκό οξύ	55	100	36	79	34	68
π-Υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	-	27	-	17	-	19
Ομοβανιλική αλκοόλη	-	-	-	-	-	-
Φλωρετικό οξύ	-	64	-	43	-	39
Βανιλικό οξύ	87	135	50	90	50	76
Πρωτοκατεχικό οξύ	16	591	21	496	19	426
3,4-Διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ	-	-	-	-	-	-
Συριγγικό οξύ	40	151	30	101	27	94
π-Κουμαρικό οξύ	-	770	-	501	-	473
Γαλλικό οξύ	-	-	-	-	-	-
Φερουλικό οξύ	338	351	329	296	260	225
Καφεϊκό οξύ	56	3.166	31	3.906	33	3.494
Σιναπικό οξύ	131	133	111	110	81	123
Ρεσβερατρόλη	326	117	188	121	180	92
Επικατεχίνη	-	-	-	-	-	-
Ναριγκενίνη	-	3.809	-	2.781	-	2.501
Κατεχίνη	-	-	-	-	-	-
Καμφερόλη	-	3.237	-	2.311	-	2.070
Χλωρογενικό οξύ	-	380	-	440	-	382
Κερκετίνη	-	1.216	-	1.101	-	943
Ολεανολικό οξύ	-	16.138	-	13.357	-	11.507
Ουρσολικό οξύ	-	29.397	-	24.917	-	20.889

Με βάση τα δεδομένα του Πίνακα 21 τα εμπλουτισμένα ζυμαρικά περιέχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις, σε ίδιους χρόνους βρασμού, από τα λευκά ζυμαρικά σε όλα τα φαινολικά συστατικά που εξετάστηκαν εκτός από τα φαινολικά οξέα φερουλικό, σιναπικό και τη ρεσβερατρόλη, τα οποία ανιχνεύτηκαν πρακτικά είτε σε ίδιες ή και χαμηλότερες συγκεντρώσεις στο εμπλουτισμένο ζυμαρικό. Επιπλέον, οι ουσίες ομοβανιλική αλκοόλη, 3,4-διυδροξυ-φαινυλοξικό οξύ, γαλλικό οξύ, κατεχίνη και επικατεχίνη δεν ανιχνεύτηκαν σε κανένα είδος ζυμαρικού. Κάποια άλλα

φαινολικά συστατικά (π-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ, φλωρετικό οξύ, π-κουμαρικό οξύ, ναριγκενίνη, καμφερόλη, χλωρογενικό οξύ, κερκετίνη, ολεανολικό και ουρσολικό οξύ) δεν ανιχνεύθηκαν στο λευκό μακαρόνι, οπότε οι συγκεντρώσεις που παρουσίασαν στο εμπλουτισμένο φαίνεται να προέρχονται απόκλειστικά από συνεισφορά των φύλλων βασιλικού και του χυμού τομάτας. Το ίδιο συμβαίνει και με τα συστατικά του καφεϊκού, του πρωτοκατεχικού και του κινναμωμικού οξέος, τα οποία ανιχνεύθηκαν σε μικρές ποσότητες στα λευκά μακαρόνια, ενώ στα εμπλουτισμένα οι συγκεντρώσεις τους βρέθηκαν μεγαλύτερες κατά τουλάχιστον 1 τάξη μεγέθους.

Γενικά, ο εμπλουτισμός των ζυμαρικών με φύλλα βασιλικού και τοματοπολτό φάνηκε να επέφερε αύξηση στη συγκέντρωση των περισσότερων από τα φαινολικά συστατικά του τροφίμου που εξετάστηκαν, επιβεβαιώνοντας ταυτόχρονα τα αποτελέσματα της προηγούμενης ενότητας για το ολικό πολυφαινολικό και το αντιοξειδωτικό περιεχόμενο των 2 ειδών ζυμαρικών. Κατά τη διάρκεια της υγροθερμικής διεργασίας οι συγκεντρώσεις των επιμέρους φαινολικών συστατικών παρουσίασαν, κατά κύριο λόγο, πτωτική τάση, ωστόσο οι συγκεντρώσεις τους στα εμπλουτισμένα ζυμαρικά παραμένουν αρκετά πιο υψηλές συγκριτικά με αυτές των λευκών ζυμαρικών ακόμα και κατόπιν βρασμού για περισσότερο χρόνο από τον βέλτιστο ($t=14$ min). Εξαίρεση αποτέλεσε το καφεϊκό οξύ στο εμπλουτισμένο μακαρόνι, που παρουσίασε αύξηση κατά τα 11 min και τα 14 min βρασμού (~23% και ~10% αντιστοίχως). Το φαινόμενο αυτό θα μπορούσε να εξηγηθεί από πιθανή απελευθέρωση του συστατικού στο υδατικό μέσον υπό τη μορφή εκχυλίσματος φύλλων βασιλικού και την επαναδέσμευσή του στο πλέγμα του ζυμαρικού.

Όσον αφορά στα υπόλοιπα κύρια συστατικά του εμπλουτισμένου ζυμαρικού, έπειτα από 11 min βρασμού (βέλτιστος χρόνος) το ολεανολικό και το ουρσολικό οξύ εμφάνισαν μείωση κατά λιγότερο από 20% της αρχικής τους ποσότητας, οι ναριγκενίνη και καμφερόλη μείωση έως 30% και το κινναμωμικό οξύ μείωση της τάξης του 50%. Η συγκεκριμένη τάση έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα που προέκυψαν στα ίδια δείγματα έπειτα από εφαρμογή των μεθόδων Folin-Ciocalteu και DPPH[•] και οφείλεται κυρίως στην επίδραση υψηλής θερμοκρασίας και την απορρόφηση νερού που μπορεί να προκαλέσει μερική απώλεια στερεών (βασιλικού, τομάτας) από το τρόφιμο και εκρόφηση των φαινολικών τους συστατικών.

6. Διερεύνηση δυνατότητας σύζευξης επιμέρους φαινολικών συστατικών με το άμυλο ρυζιού κατά τον εμπλουτισμό

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

6.1 Ανάλυση διαφορών στη μικροδομή λευκών και εμπλουτισμένων κόκκων ρυζιού με χρήση Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου Σάρωσης (SEM)

Στην παρούσα ενότητα σκοπός ήταν η ανάλυση και σύγκριση της μικροδομής της εσωτερικής και εξωτερικής επιφάνειας κόκκων ρυζιού, που είχαν υποστεί υγροθερμική επεξεργασία (20 min) εντός καθαρού νερού, καθώς και εντός υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου υψηλής συγκέντρωσης σε διαλυτά στερεά (2% w/v), έπειτα από παρατήρηση των κόκκων σε Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (SEM, Hitachi, TM3030, Japan). Πιο συγκεκριμένα, μικρός αριθμός κόκκων λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού, αφού παρασκευάστηκαν με βάση την υγροθερμική επεξεργασία που περιγράφηκε σε προηγούμενη ενότητα (Γ 3) και ξηράνθηκαν με λυοφιλίωση, τοποθετήθηκαν σε ειδικό υποδοχέα από αλουμίνιο, όπου σταθεροποιήθηκαν με χρήση κολλητικής ταινίας διπλής όψεως, και λήφθηκαν εικόνες τους σε διαφορετικές μεγεθύνσεις με τάση επιτάχυνσης (accelerating voltage) 15 kV.

6.2 Μελέτη πιθανών αλληλεπιδράσεων αμύλου-καφεϊκού οξέος με Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)

Σκοπός

Η διερεύνηση της θερμικής σταθερότητας του αμύλου ρυζιού κατά τη θέρμανσή του παρουσία περίσσειας υδατικού μέσου και η μελέτη των φαινομένων της ζελατινοποίησης και ανακρυστάλλωσης του αμύλου, καθώς και της τήξης του συμπλόκου-αμυλόζης λιπιδίων. Στη συνέχεια σκοπός είναι η μελέτη και η ερμηνεία των πιθανών μεταβολών στις θερμικές ιδιότητες του συστήματος αμύλου-νερού έπειτα από προσθήκη καφεϊκού οξέος σε διάφορες αναλογίες προκειμένου να διερευνηθεί η ύπαρξη αλληλεπιδράσεων μεταξύ αμύλου-φαινόλης-νερού. Σημειωτέον, το καφεϊκό οξύ επιλέχθηκε ως ένα από τα κυρίαρχα φαινολικά συστατικά που υπάρχουν σε εκχυλίσματα βοτάνων, με τα οποία μπορεί να λάβει

χώρα εμπλουτισμός του ρυζιού, όπως δοκιμάστηκε σε προηγούμενη παράγραφο (Γ 2.1).

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Πρότυπο άμυλο ρυζιού μη κηρώδες (Sigma Aldrich)
- Πρότυπο καφεϊκού οξέος (Sigma Aldrich)
- Απιονισμένο νερό
- Λαβίδα
- Σπάτουλα
- Μικροσύριγγα
- Καψύλια DSC από ανοξείδωτο ατσάλι

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων (Ohaus)
- Συσκευή Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (DSC-4000, Perkin-Elmer, Inc., Waltham, Massachusetts, USA)

Αναλυτική Διαδικασία

Για την εκτέλεση των πειραμάτων σε συσκευή DSC δημιουργήθηκαν τα προς μέτρηση δείγματα τα οποία ζυγίστηκαν εντός κατάλληλων καψυλίων. Τα δείγματα αυτά ήταν κατά σειρά: πρότυπο καφεϊκού οξέος (1 mg), πρότυπο αμύλου ρυζιού (5 mg) και μίγματα προτύπων αμύλου-καφεϊκού οξέος σε καθορισμένες αναλογίες (mg/mg) που επιλέχθηκαν να είναι 5/0,3, 5/0,5, 5/0,8, 5/1 και 5/2. Σε όλα τα δημιουργηθέντα δείγματα προστέθηκε περίσσεια ποσότητας απιονισμένου νερού με χρήση μικροσύριγγας, ώστε η υγρασία σε κάθε δείγμα να είναι τουλάχιστον 80% w/w. Όπως έχει φανεί από παλαιότερη έρευνα η τήξη των κρυσταλλιτών του αμύλου εντός δειγμάτων που εξετάζονται με DSC παρουσιάζει καλύτερη συμπεριφορά όταν το ποσοστό υγρασίας υπερβαίνει το 80% w/w (Biliaderis et al., 1985). Η παρασκευή όλων των δειγμάτων που προαναφέρθηκαν έλαβε χώρα εις τριπλούν. Στη συνέχεια, τα δείγματα σφραγίστηκαν ερμητικά και παρέμειναν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος προς εξισορρόπηση για 24 ώρες πριν αναλυθούν με DSC. Ένα άδειο σφραγισμένο καψύλλιο χρησιμοποιήθηκε ως δείγμα αναφοράς σε κάθε μέτρηση, ενώ η βαθμονόμηση του οργάνου έγινε με χρήση προτύπου ινδίου. Όλα τα δείγματα υπέστησαν θέρμανση σε θερμοκρασιακό εύρος 10-130°C με ρυθμό 10 C°/min και καταγράφηκαν οι θερμοκρασίες έναρξης, λήξης και κορύφωσης (T_0 , T_c και T_p

αντιστοιχώς) του φαινομένου της ζελατινοποίησης του αμύλου, καθώς και η μεταβολή της ενθαλπίας του συστήματος που αντιστοιχούσε στη ζελατινοποίηση (ΔH_g). Μετά το πέρας της θέρμανσης των δειγμάτων η θερμοκρασία παρέμεινε στους 130°C για χρονικό διάστημα 1 min και έπειτα ακολούθησε βαθμιαία ψύξη των δειγμάτων έως και τους 0°C με ρυθμό 10 C°/min προκειμένου να μελετηθούν πιθανά φαινόμενα ανακρυστάλλωσης. Η ψύξη των δειγμάτων ακολουθήθηκε από άμεση επαναθέρμανσή τους έως και τους 130°C με τις ίδιες συνθήκες όπως και κατά την 1^η θέρμανση (ρυθμός 10°C/min), ώστε να διερευνηθεί η ύπαρξη πιθανών αντιστρεπτών θερμικών φαινομένων που να σχετίζονται με την παρουσία του αμύλου ή και του φαινολικού οξέος. Μετά το πέρας και της επαναθέρμανσης τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε συνθήκες ψύξης (5°C) για 20 ημέρες προκειμένου μελετηθεί η επίδραση του καφεϊκού οξέος στην ανακρυστάλλωση του αμύλου ρυζιού. Έτσι, έπειτα από 20 ημέρες τα δείγματα θερμάνθηκαν στο θερμοκρασιακό εύρος 10-130°C με ρυθμό αυτή τη φορά μικρότερο (5 C°/min), προκειμένου να αυξηθεί η πιθανότητα ανίχνευσης θερμοκρασιακών κορυφών που να αντιστοιχούν σε ανακρυστάλλωση του αμύλου.

6.2.1 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων DSC

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την ανάλυση DSC για τις χαρακτηριστικές θερμοκρασίες και τις ενθαλπίες των ενδόθερμων φαινομένων που μελετήθηκαν εκφράστηκαν ως οι μέσοι όροι των 3 μετρήσεων που λήφθηκαν ανά δείγμα $\pm$ την τυπική απόκλιση (SD). Επιπλέον, έλαβε χώρα στατιστική ανάλυση των θερμοκρασιών που μετρήθηκαν (T_0 , T_c και T_p) και της μεταβολής της ενθαλπίας ΔH_g που αντιστοιχούσε στη ζελατινοποίηση του αμύλου παρουσία ή απουσία καφεϊκού οξέος. Για τον σκοπό αυτόν χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο IBM SPSS 22 και εφαρμόστηκε ανάλυση διακύμανσης ενός παράγοντα (one-way ANOVA), ενώ η στατιστική σημαντικότητα στις διαφορές των τιμών υπολογίστηκε για επίπεδα εμπιστοσύνης 95%. Τέλος, εφαρμόστηκε ανάλυση Post hoc για όλα τα εξετασθέντα δείγματα με χρήση δοκιμής Tukey και πιθανότητα σφάλματος <5%.

6.3 Μελέτη πιθανών αλληλεπιδράσεων αμύλου-φαινολικών συστατικών με Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

6.3.1 Προετοιμασία διαλυμάτων αμύλου ρυζιού με πρότυπα φαινολικών ουσιών σε νερό

Σκοπός

Η παρασκευή υδατικών διαλυμάτων προτύπου αμύλου ρυζιού με πρότυπες φαινολικές ουσίες που έχουν ανιχνευθεί σε υδατικά εκχυλίσματα βοτάνων και ο βρασμός τους για 20 min προκειμένου να προσομοιωθούν οι συνθήκες παρασκευής εμπλουτισμένου ρυζιού. Έπειτα από ξήρανση των βρασμένων μιγμάτων αμύλου-φαινόλης σκοπός ήταν να εξεταστεί η πιθανή ανάπτυξη αλληλεπιδράσεων με χρήση φασματοσκοπίας NMR.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Απιονισμένο νερό
- Πρότυπο καφεϊκού οξέος (Fluka)
- Πρότυπο π-κουμαρικού οξέος (Sigma)
- Πρότυπο ναριγκενίνης (Extrasynthese)
- Πρότυπο άμυλο ρυζιού (Sigma Aldrich)

Όργανα

- Μαγειρικό σκεύος
- Πλαστικοί σωλήνες Falcons
- Ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων (OHAUS)
- Ηλεκτρική κουζίνα (PITSOS, Uniflam POP, 7680 PK)

Αναλυτική Διαδικασία

Αρχικά παρασκευάστηκε υδατικό διάλυμα αμύλου ρυζιού (200 mg αμύλου/100 mL απιονισμένου νερού), το οποίο οδηγήθηκε σε βρασμό υπό περιοδική ανάδευση για χρόνο 20 min με χρήση μαγειρικού σκεύους. Η ποσότητα του διαλύματος που απέμεινε μετά το πέρας του βρασμού (περίπου 50 mL) τοποθετήθηκε σε πλαστικό σωλήνα Falcon και στη συνέχεια οδηγήθηκε προς ξήρανση με κατάψυξη (λυοφιλίωση). Η ίδια διαδικασία βρασμού που ακολουθείται από ξήρανση με κατάψυξη πραγματοποιήθηκε και για υδατικά διαλύματα πρότυπων φαινολικών συστατικών (καφεϊκού, π-κουμαρικού οξέος και ναριγκενίνης σε αναλογία 200 mg φαινολικού/100 mL απιονισμένου νερού), που απαντώνται σε βότανα. Στη συνέχεια

έλαβε χώρα βρασμός και ξήρανση με τον ανωτέρω τρόπο υδατικών διαλυμάτων που περιείχαν μίγματα αμύλου με τις παραπάνω φαινολικές ουσίες σε καθορισμένες % w/w αναλογίες. Ειδικότερα, τα διαλύματα μιγμάτων αμύλου-καφεϊκού οξέος που προετοιμάστηκαν και υπέστησαν βρασμό 20 min και ξήρανση με κατάψυξη βρίσκονταν σε 6 διαφορετικές % w/w αναλογίες αμύλου-φαινολικού οξέος, κατά σειρά 1:1, 2:1, 4:1, 8:1, 40:3 και 20:1. Αντίστοιχα, προετοιμάστηκαν διαλύματα αμύλου-π-κουμαρικού οξέος και αμύλου-ναριγκενίνης σε 4 διαφορετικές % w/w αναλογίες συστατικών, ήτοι 1:1, 10:1, 15:1 και 20:1. Τα διαλύματα αυτά αφού έβρασαν σε κατάλληλο μαγειρικό σκεύος, συλλέχθηκαν και οδηγήθηκαν προς ξήρανση με κατάψυξη.

6.3.2 Φασματοσκοπία $^1\text{H-NMR}$

Σκοπός

Η ανάλυση φασμάτων $^1\text{H-NMR}$ που προέρχονται από ξηρά μίγματα αμύλου ρυζιού με επιμέρους φαινολικές ενώσεις (σε διάφορες αναλογίες), προκειμένου να εξαχθούν συμπεράσματα για πιθανές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αμύλου και των φαινολικών ενώσεων έπειτα από τον βρασμό τους σε περίσσεια υδατικού μέσου για χρόνο 20 min.

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Λυοφιλιωμένα μίγματα αμύλου ρυζιού - φαινολών
- Δευτεριωμένος διαλύτης DMSO- d_6 (Aldrich)
- Σωληνίσκοι NMR NORELL 509-UP-7 (5 mm)
- Eppendorfs χωρητικότητας 1,5 mL
- Πιπέτες Pasteur

Όργανα

- Φασματογράφος Varian 600 MHz με τρικάναλο αισθητήρα ^1H - ^{19}F / ^{15}N - ^{31}P 5 mm PFG AutoX. Οι φασματοσκοπικές τεχνικές που εφαρμόστηκαν στηρίζονται στις κλασσικές παλμικές ακολουθίες της Varian.

Αναλυτική Διαδικασία

Από τα λυοφιλιωμένα δείγματα βρασμένου αμύλου ρυζιού, φαινολικών συστατικών και μιγμάτων τους λήφθηκαν μικρές ποσότητες (περίπου 2,5 mg) και διαλυτοποιήθηκαν πλήρως εντός σωλήνων τύπου eppendorf με χρήση δευτεριωμένου διαλύτη DMSO- d_6 (0,5 ml). Ο διαλύτης δευτεριωμένου νερού (D_2O), που επίσης δοκιμάστηκε, παρουσίασε προβλήματα ως προς την επαναδιάλυσή του

ζελατινοποιημένου αμύλου και των μιγμάτων του με φαινολικές ουσίες στο εύρος των εξεταζόμενων θερμοκρασιών (25-50°C), οπότε η χρήση του απορρίφθηκε. Τα διαλυτοποιημένα δείγματα σε DMSO-*d*6 μεταφέρθηκαν με τη βοήθεια πιπέτας Pasteur σε σωλήνες NORELL 509-UP-7 NMR (5 mm). Στη συνέχεια, λήφθηκαν φάσματα μιας διάστασης ¹H-NMR σε όλα τα δείγματα σε θερμοκρασία 25°C. Οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα πρωτονίου ήταν:

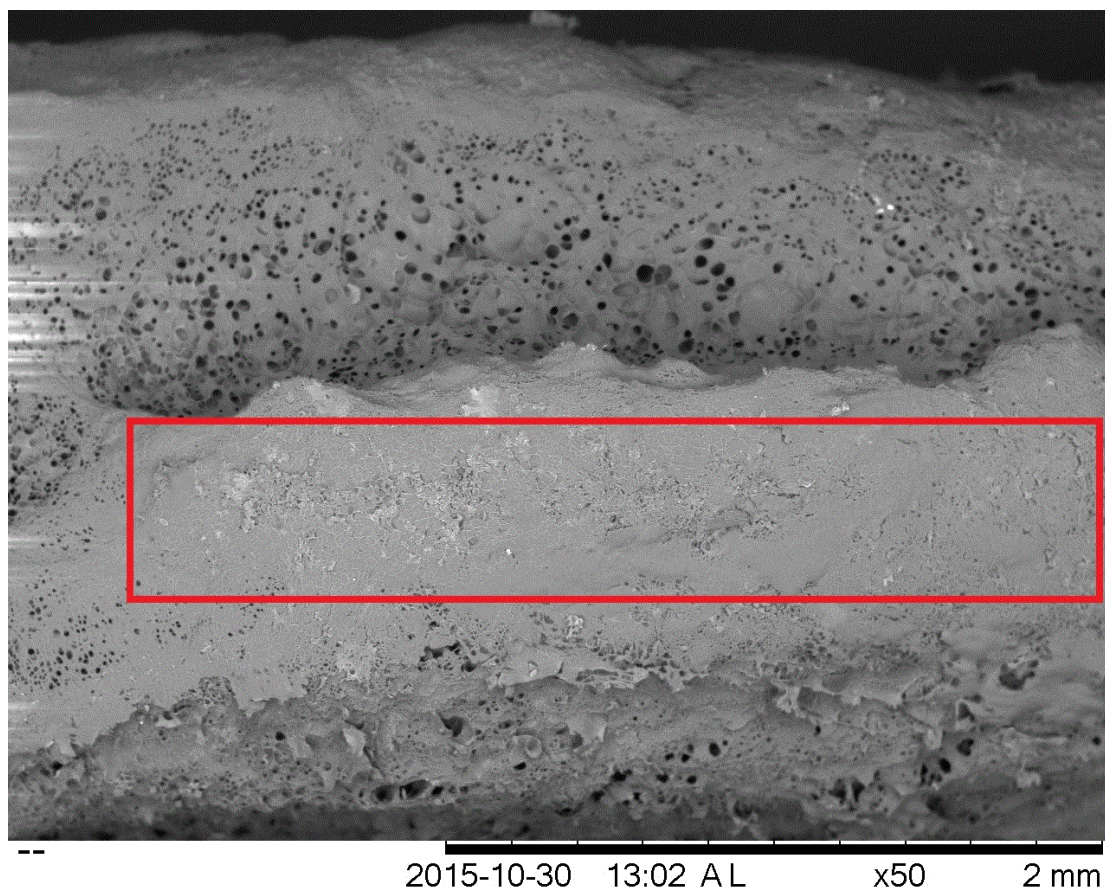
Αριθμός σαρώσεων (ns)=32, εύρος φάσματος (sw)=9615 Hz, χρόνος εφησυχασμού=1 s, ενίσχυση πηνίου λήψης (RG)=22, Παλμός 90°=7,9 μs.

Για το δισδιάστατο πείραμα 2D hsqc το εύρος του φάσματος ήταν 30166 Hz για τον ¹³C, ενώ ο αριθμός σαρώσεων =8400 επαναλήψεις. Σε όλα τα φάσματα NMR που προέκυψαν έγινε επεξεργασία με χρήση λογισμικού Mnova (MestReNova v: 9.0-12821, 2013-Mestrelab Research).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

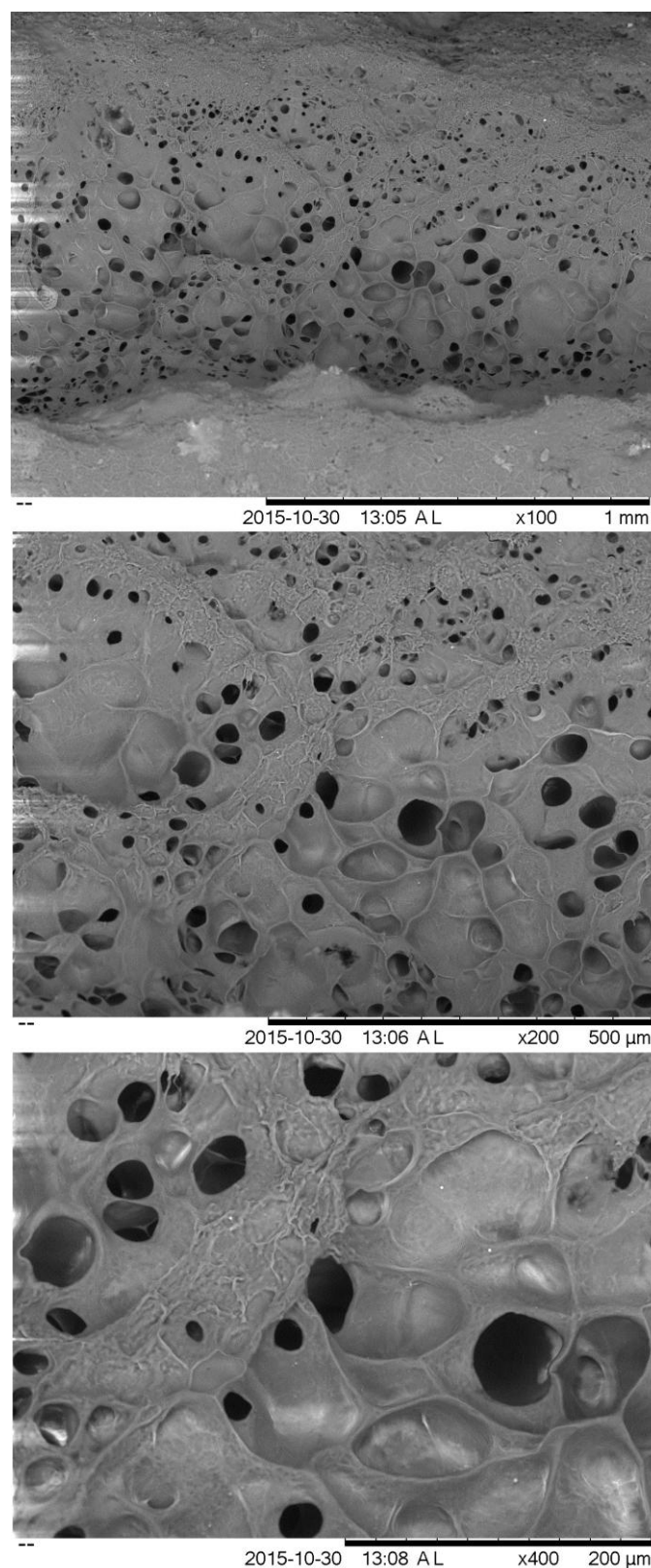
6.4 Ανάλυση εικόνων λευκού και εμπλουτισμένου ρυζιού με SEM

Στο Σχήμα 38 απεικονίζεται τμήμα της εξωτερικής επιφάνειας υγροθερμικώς επεξεργασμένου λευκού κόκκου ρυζιού (20 min), καθώς και μέρος της εσωτερικής του επιφάνειας (πορώδες) στα σημεία όπου ο κόκκος έχει υποστεί διάρρηξη λόγω της διεργασίας (βρασμός). Από το Σχήμα αυτό φαίνεται πως η εξωτερική επιφάνεια του ενδοσπερμίου (περιοχή εντός κόκκινου πλαισίου) εμφανίζει χαμηλότερο πορώδες σε σχέση με την αντίστοιχη εσωτερική επιφάνεια, ίσως λόγω της διάχυσης μορίων αμυλόζης από το εσωτερικό προς το εξωτερικό του κόκκου κατά τη διάρκεια της υγροθερμικής επεξεργασίας. Σύμφωνα και με άλλες μελέτες τα μόρια αμυλόζης παρουσιάζουν μια τάση να γεμίζουν και να καλύπτουν το επιφανειακό πορώδες των κόκκων κατά τον βρασμό του ρυζιού, δημιουργώντας με αυτόν τον τρόπο μια πυκνότερη και πιο λεία επιφανειακή δομή, η οποία έχει αποδοθεί και ως «φίλμ με επικάλυψη» (coated film) ή και «λίμνη αμυλόζης» (amylose pool) (Wu et al., 2016; Ibanez et al., 2007). Στο ίδιο Σχήμα είναι εμφανή και τα κυτταρικά τοιχώματα του κόκκου ρυζιού (μικρά εξάγωνα λευκού χρώματος εντός του κόκκινου πλαισίου), τα οποία φαίνεται να μην καταστρέφονται από την υγροθερμική επεξεργασία.

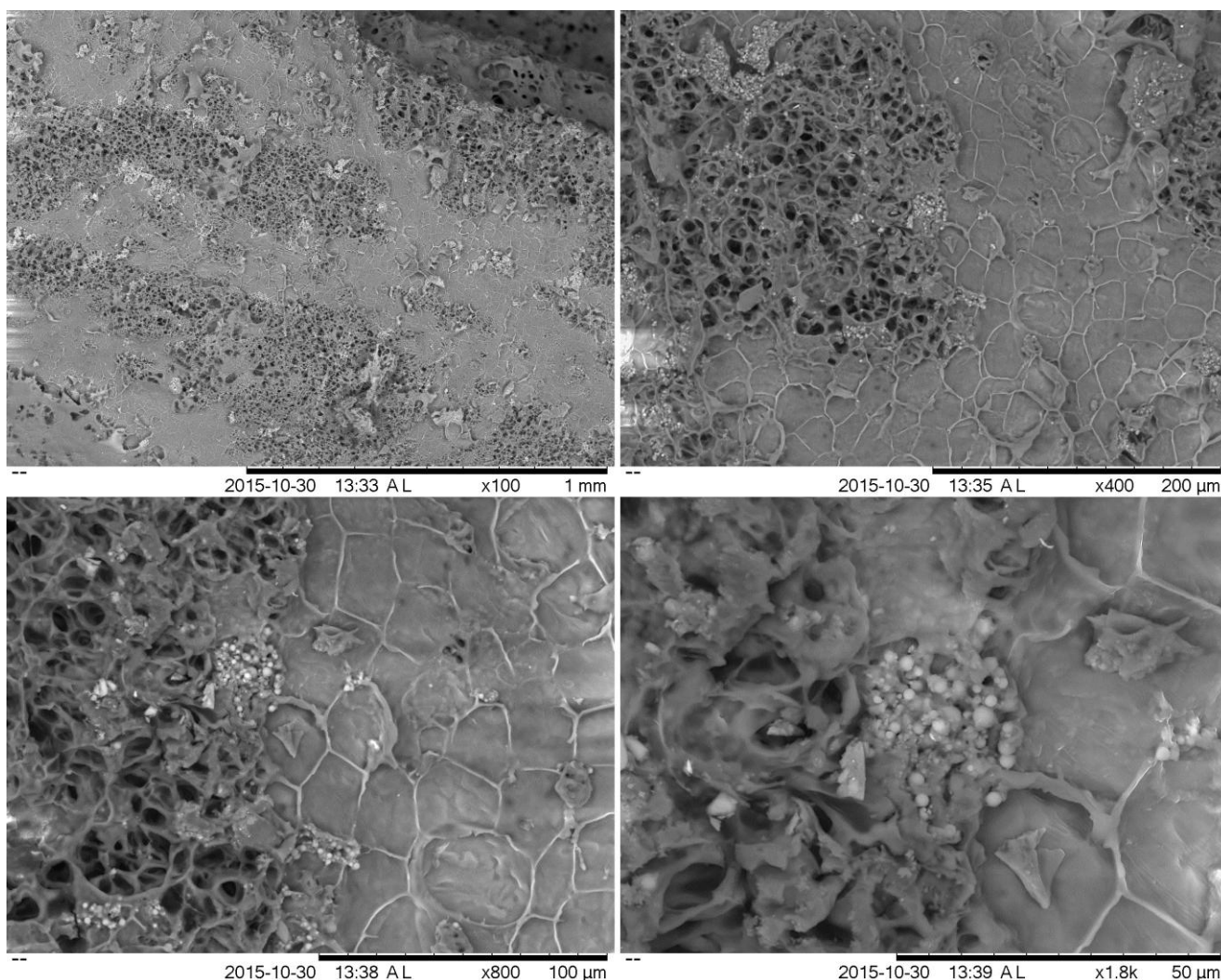


Σχήμα 38: Απεικόνιση επιφάνειας λευκού, υδροθερμικά επεξεργασμένου κόκκου ρυζιού (σε νερό για 20 min). Εντός της περιοχής του κόκκινου πλαισίου φαίνεται η εξωτερική επιφάνεια του κόκκου.

Επιπλέον, το Σχήμα 39 απεικονίζει μια συγκεκριμένη περιοχή του ενδοσπερμίου του λευκού, υδροθερμικώς επεξεργασμένου ρυζιού σε 3 μεγεθύνσεις (εσωτερική στοιβάδα), από όπου φαίνεται το μέγεθος και το σχήμα των πόρων (σχεδόν κυκλικοί με διάμετρο μεταξύ 5-50 μm) και των κοιλοτήτων. Η κατανομή τους μοιάζει να είναι πρακτικά ομοιόμορφη στην εσωτερική επιφάνεια του ενδοσπερμίου, η οποία εμφανίζεται να είναι αρκετά λεία και συνεχής. Όπως και στην εξωτερική επιφάνεια του ενδοσπερμίου, έτσι και στην εσωτερική, τα κυτταρικά τοιχώματα είναι ορατά και μοιάζουν να παραμένουν αναλλοίωτα έπειτα από την υδροθερμική επεξεργασία των 20 min. Επίσης, το μέγεθος των πόρων μπορεί να θεωρηθεί αρκετά μεγάλο δεδομένου ότι ο τρόπος ξήρανσης που επιλέχθηκε (λυοφιλίωση) πρακτικά δεν προκαλεί συρρίκνωση της δομής, οπότε προέκυψε η εικονιζόμενη σπογγοειδής μορφολογία του Σχήματος 39.



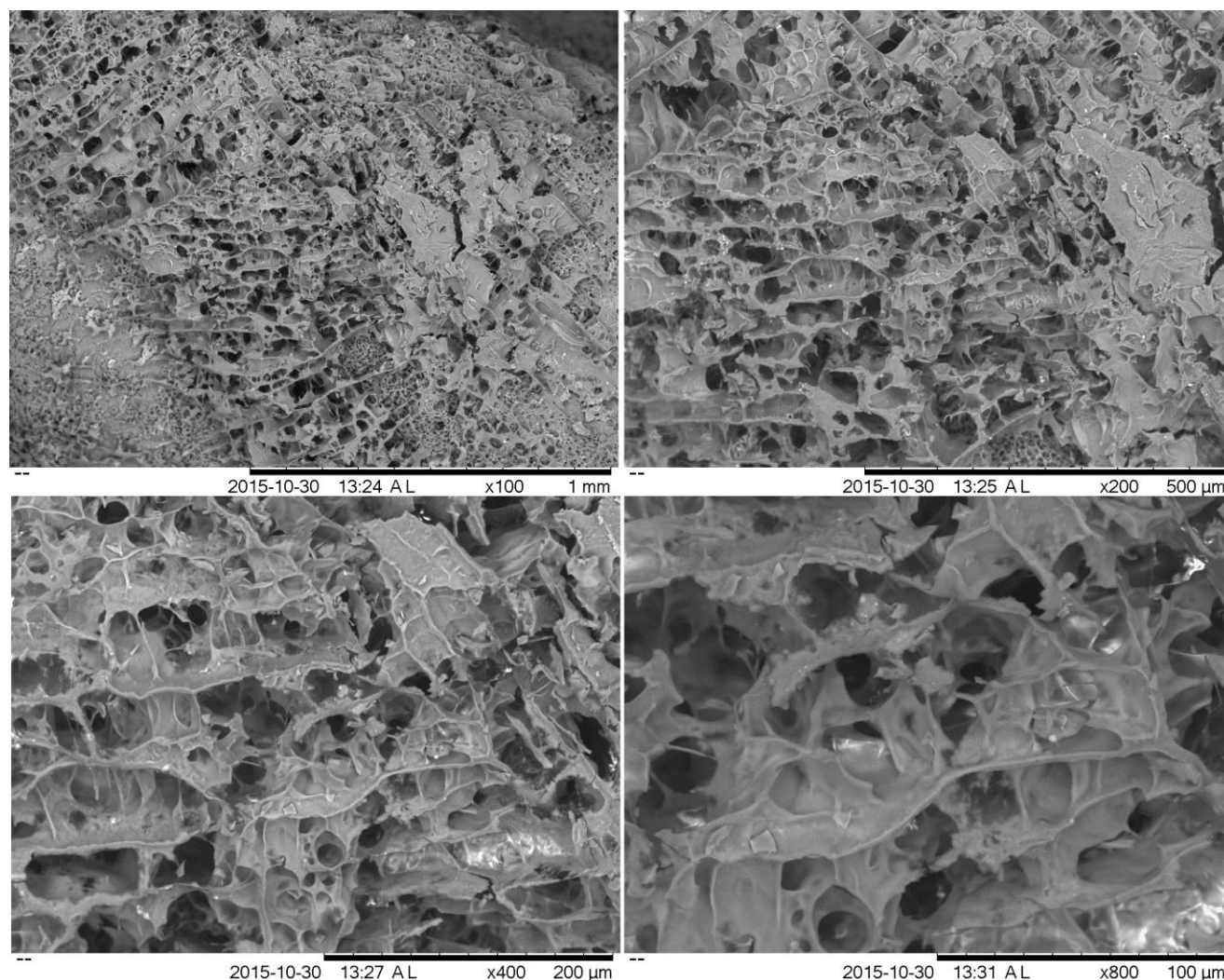
Σχήμα 39: Απεικόνιση εσωτερικής επιφάνειας ενδοσπερμίου λευκού, υδροθερμικώς επεξεργασμένου κόκκου ρυζιού (σε νερό για 20 min) σε 3 μεγεθύνσεις (X100, X200 και X400).



Σχήμα 40: Απεικόνιση εξωτερικής επιφάνειας ενδοσπερμίου υγροθερμικά επεξεργασμένου κόκκου ρυζιού (εντός εκχυλίσματος δυόσμου για 20 min) σε 4 μεγεθύνσεις (X100, X400, X800 και X1800).

Όσον αφορά την εξωτερική επιφάνεια του ενδοσπερμίου του εμπλουτισμένου ρυζιού (Σχήμα 40) αυτή παρουσιάζει μεγαλύτερη τραχύτητα σε σχέση με την αντίστοιχη επιφάνεια του λευκού ρυζιού (Σχήμα 38), ενώ ταυτόχρονα εμφανίζει ασυνέχεια στη δομή, καθώς οι πυκνές-λείες περιοχές στην επιφάνεια εναλλάσσονται με τραχύτερες περιοχές που έχουν πορώδες. Οι πόροι αυτοί είναι κατά κύριο λόγο μικροί (διαμέτρου $<10\ \mu\text{m}$) σε σχέση με τους πόρους της εσωτερικής επιφάνειας του λευκού ρυζιού και συνδέονται μεταξύ τους με ινώδεις σχηματισμούς. Στην ίδια περιοχή εμφανίζονται κατά τόπους τα κυτταρικά τοιχώματα του ρυζιού, καθώς και μικροί σφαιρικοί σχηματισμοί (προσομοιάζουν φυσαλίδες μεγέθους $<3\ \mu\text{m}$). Οι διαφορές που εμφανίζονται μεταξύ των εξωτερικών επιφανειών του λευκού (Σχήμα

38) και του εμπλουτισμένου ρυζιού (Σχήμα 40) θα μπορούσαν να αποδοθούν στην επιφανειακή προσρόφηση του εκχυλίσματος από το εμπλουτισμένο ρύζι.



Σχήμα 41: Απεικόνιση εσωτερικής επιφάνειας ενδοσπερμίου υγροθερμικώς επεξεργασμένου κόκκου ρυζιού (εντός εκχυλίσματος δυόσμου για 20 min) σε 4 μεγεθύνσεις (X100, X200, X400 και X800).

Διαφορές ωστόσο παρατηρούνται και στην εσωτερική επιφάνεια του ενδοσπερμίου ρυζιού όταν αυτό εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα δυόσμου (Σχήμα 41) σε σχέση με την αντίστοιχη επιφάνεια του μη επλουτισμένου (Σχήμα 39). Ειδικότερα, από το Σχήμα 41 φαίνεται ότι η εσωτερική επιφάνεια στον εμπλουτισμένο κόκκο ρυζιού χαρακτηρίζεται από πολλούς μικρούς πόρους μεγέθους $<20 \mu\text{m}$, των οποίων το σχήμα ποικίλλει από σχεδόν κυκλικό έως ακαθόριστο (παρεμβάλλονται ακανθώδεις σχηματισμοί). Επίσης, εντός των πόρων αλλά και στην επιφάνεια βρίσκονται προσκολλημένα και άλλα μικροσωματίδια ακανόνιστου σχήματος, τα

οποία δεν είχαν εντοπιστεί στην εσωτερική επιφάνεια του ενδοσπερμίου λευκού ρυζιού. Συνολικά, η μικροδομή των επιφανειών του εμπλουτισμένου ρυζιού παρουσιάζει αρκετές διαφορές με την αντίστοιχη μικροδομή στο λευκό ρύζι. Αυτό πιθανότατα δείχνει ότι η διαμόρφωση του πλέγματος αμύλου-νερού κατά τη διάρκεια της υγροθερμικής επεξεργασίας επηρεάστηκε από την παρουσία του υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου και τις πιθανές αλληλεπιδράσεις του με τα συστατικά του ρυζιού.

6.5 Μελέτη αλληλεπιδράσεων με Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (DSC)

6.5.1 Γενικά

Η τεχνική της Διαφορικής Θερμιδομετρίας Σάρωσης (DSC) έχει εφαρμοστεί εκτενώς κατά το παρελθόν για τη μελέτη της θερμικής συμπεριφοράς και σταθερότητας διαφόρων τύπων αμύλου (π.χ. πατάτας, σίτου, καλαμποκιού, ρυζιού), προκατεργασμένου με θερμικές ή χημικές μεθόδους ή μη επεξεργασμένου-ζελατινοποιημένου. Οι κυριότερες θερμικές μεταπτώσεις του αμύλου που έχουν μελετηθεί με DSC είναι η ζελατινοποίηση, η τήξη του συμπλόκου αμυλόζης-ενδογενών λιπιδίων του αμύλου, η τήξη των συμπλόκων εγκλεισμού π.χ. αρωματικών ουσιών στην αμυλόζη, καθώς και η τήξη των ανακρυσταλλωμένων μορφών αμύλου όταν το άμυλο θερμανθεί, ψυχθεί υπό κατάλληλες συνθήκες και αναθερμανθεί (Zhu, 2015; Jouquand et al., 2006).

Στην παρούσα διατριβή έγινε μελέτη με DSC της θερμικής συμπεριφοράς αμύλου ρυζιού παρουσία περίσσειας ποσότητας νερού και καφεϊκού οξέος σε διάφορες αναλογίες προκειμένου να διαπιστωθεί κατά πόσο υπάρχει επίδραση του φαινολικού οξέος στις θερμικές ιδιότητες που εμφανίζει το πλέγμα αμύλου-νερού κατά τη θέρμανση. Η επιλογή του καφεϊκού οξέος έγινε καθότι φάνηκε να αποτελεί το κυρίαρχο φαινολικό συστατικό στο υδατικό εκχύλισμα δυόσμου και το εμπλουτισμένο ρύζι, με βάση τα πειραματικά δεδομένα που παρουσιάστηκαν σε προηγούμενες παραγράφους (Γ 1, Γ 2, Γ 3), ενώ η θέρμανση στο όργανο DSC επιλέχθηκε ώστε να μπορεί να γίνει κάποια αντιστοίχιση με τη διεργασία βρασμού του ρυζιού εντός υδατικού εκχυλίσματος βοτάνου.

6.5.2 Ζελατινοποίηση αμύλου

Οι μετρήσεις που λήφθηκαν στη συσκευή DSC έδειξαν συνολικά ότι η προσθήκη ποσοτήτων καφεϊκού οξέος είχε επίδραση στις ιδιότητες του αμύλου

ρυζιού παρουσία περίσσειας υδατικού μέσου όταν ακολουθήθηκαν διαδοχικά τα βήματα της θέρμανσης, ψύξης, αναθέρμανσης και αποθήκευσης σε συνθήκες ψυγείου (5°C). Ειδικότερα, τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στον Πίνακα 22 (2^η γραμμή) δείχνουν ότι η ζελατινοποίηση του καθαρού αμύλου ρυζιού φάνηκε να έλαβε χώρα σε θερμοκρασία κατά μέσον όρο 74,55°C και να απαιτήθηκε για τη συγκεκριμένη ενδόθερμη διεργασία ποσό θερμότητας ΔH_g της τάξης των 10 J/g αμύλου. Επιπλέον, από τα δεδομένα του Πίνακα 22 (5^η στήλη) γίνεται αντιληπτό ότι η ενθαλπία της ζελατινοποίησης βαθμιαία ελαττώνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του καφεϊκού οξέος στο μίγμα του με το άμυλο και μάλιστα ακόμα και για χαμηλές συγκεντρώσεις καφεϊκού οξέος στο σύστημα αμύλου-νερού η μείωση της απαιτούμενης ΔH_g εμφανίζεται να είναι ισχυρά σημαντική (p<0,001) από στατιστική άποψη σε σύγκριση με τη ΔH_g του καθαρού αμύλου.

Πίνακας 22: Πειραματικές τιμές της ενθαλπίας (ΔH_g) και των θερμοκρασιών έναρξης (T_o), κορύφωσης (T_p) και λήξης (T_c) που χαρακτηρίζουν τη ζελατινοποίηση αμύλου ρυζιού έπειτα από προσθήκη καφεϊκού οξέος σε διάφορες αναλογίες μάζας. Το νερό βρισκόταν πάντα σε περίσσεια εντός του κάθε δείγματος (80% w/w). Όλες οι τιμές προέκυψαν έπειτα από αποτίμηση θερμογραφημάτων που λήφθηκαν σε DSC (Σχήμα 42) και εκφράζονται ως μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση (n=3).

Δείγματα/Αναλογία αμύλου ρυζιού-καφεϊκού οξέος (mg:mg)	Χαρακτηριστικά ενδόθερμης καμπύλης ζελατινοποίησης			
	T _o (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔH _g (J/g starch)
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0)	67,45±0,42	74,55±0,35	83,45±0,2	10,73±0,49
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0,3)	66,95±0,52	74,03±0,51	82,97±1,07	8,4±0,52 ^c
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0,5)	67,18±0,16	74,00±0,26	82,70±0,53	7,58±0,45 ^c
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0,8)	66,96±0,08	73,82±0,08	82,11±0,83	7,67±0,41 ^c
Άμυλο-Καφεϊκό (5:1)	67,00±0,06	73,53±0,22 ^a	81,68±0,51 ^a	7,36±0,33 ^c
Άμυλο-Καφεϊκό (5:2)	67,35±0,41	73,40±0,10 ^a	81,50±0,34 ^{a,b}	7,12±0,45 ^{b,c}

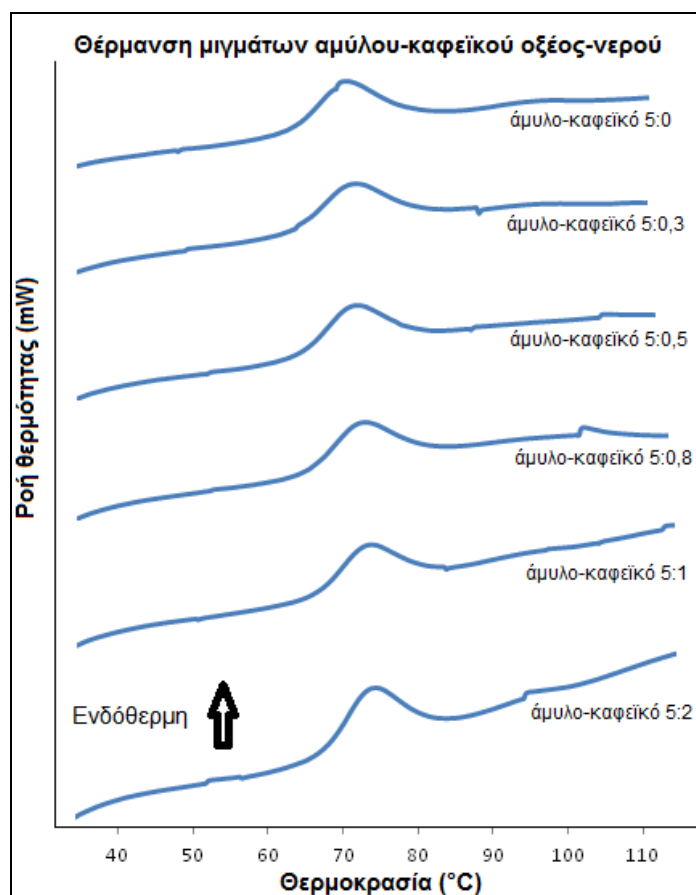
^a p<0,05 συγκρινόμενη με την τιμή στο δείγμα με αναλογία άμυλο-καφεϊκό 5:0

^b p<0,05 συγκρινόμενη με την τιμή στο δείγμα με αναλογία άμυλο-καφεϊκό 5:0,3

^c p<0,001 συγκρινόμενη με την τιμή στο δείγμα με αναλογία άμυλο-καφεϊκό 5:0

Όσον αφορά στις θερμοκρασίες έναρξης, κορύφωσης και λήξης του φαινομένου της ζελατινοποίησης (T_o, T_p και T_c αντιστοίχως), η προσθήκη καφεϊκού

οξέος φάνηκε να έχει μικρή επίδραση στη θερμοκρασία T_o (2^η στήλη Πίνακα 22), ενώ οι θερμοκρασίες T_p και T_c παρουσίασαν πιο αξιοσημείωτες μεταβολές (μειώσεις) με την αύξηση της ποσότητας του φαινολικού οξέος εντός του συστήματος αμύλου-νερού, οι οποίες σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καφεϊκού οξέος ήταν και στατιστικά σημαντικές ($p < 0,05$) (7^η & 8^η γραμμή Πίνακα 22).



Σχήμα 42: Ενδεικτικά θερμογραφήματα που σχετίζονται με τη θέρμανση δειγμάτων αμύλου ρυζιού που περιέχουν καφεϊκό οξύ σε διάφορες % w/w αναλογίες και περίσσεια νερού (80% w/w).

Αντίστοιχα αποτελέσματα που σχετίζονται με τις θερμοκρασίες εμφάνισης και την ενθαλπία της ενδόθερμης καμπύλης της ζελατινοποίησης του αμύλου, παρουσία φαινολικών συστατικών, έχουν επίσης αναφερθεί σε άλλες εργασίες (Zhu & Wang, 2012; Wu et al., 2009; Zhu et al., 2009; Karunaratne & Zhu, 2016). Στις περισσότερες περιπτώσεις η προσθήκη μίας ή περισσότερων φαινολών, για παράδειγμα υπό τη μορφή εκχυλίσματος τσαγιού, επέφερε μια ελαφρά ή και σημαντική μείωση στη

θερμοκρασία που λαμβάνει χώρα η ζελατινοποίηση του αμύλου, καθώς και την αντίστοιχη ενθαλπία ΔH_g . Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 22 και η μείωση της θερμοκρασίας και της ενθαλπίας ζελατινοποίησης με την προσθήκη καφεϊκού οξέος θα μπορούσαν να εξηγηθούν από πιθανή δημιουργία αλληλεπιδράσεων μεταξύ του φαινολικού οξέος και του πλέγματος αμύλου-νερού κατά τη διάρκεια της ζελατινοποίησης. Πιο συγκεκριμένα, εκτός της καρβοξυλομάδας που διαθέτει το καφεϊκό οξύ, στο μόριό του περιλαμβάνονται και 2 ακόμη υδροξυλομάδες (επί του βενζολικού δακτυλίου) και όλες αυτές οι υποομάδες παρουσιάζουν γενικά δυνατότητα ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης με το μόριο του αμύλου. Επιπλέον, η θέρμανση του αμύλου, παρουσία νερού, ευνοεί το φαινόμενο της διάρρηξης των αμυλοκόκκων και της απελευθέρωσης μορίων αμυλόζης από το εσωτερικό τους, οπότε τα μόρια καφεϊκού οξέος θα μπορούσαν να παρεμβληθούν στο πλέγμα αμύλου-νερού, δημιουργώντας ασυνέχεια της δομής, και να αλληλεπιδράσουν τόσο με την αμυλόζη, όσο και με τις πλευρικές ομάδες της αμυλοπηκτίνης, καθώς και τα μόρια νερού, για παράδειγμα μέσω σχηματισμού δεσμών υδρογόνου ή με ασθενείς δυνάμεις τύπου *van der Waals*. Με τον τρόπο αυτόν το φαινολικό οξύ θα μπορούσε πιθανώς να προκαλέσει περιορισμό στην κινητικότητα-διεισδυτικότητα των μορίων νερού εντός των αμυλόκοκκων και ίσως αυτός να είναι ένας λόγος που το φαινόμενο της ζελατινοποίησης λαμβάνει χώρα σε μικρότερο βαθμό, παρουσία του καφεϊκού οξέος, παρουσιάζοντας μειωμένες τιμές ΔH_g . Σημειωτέον, τα διαλυτά μόρια του καφεϊκού οξέος μπορούν να θεωρηθούν υπεύθυνα για την επίδραση στο φαινόμενο της ζελατινοποίησης, ενώ τυχόν αδιάλυτες ποσότητες θεωρήθηκαν ότι είχαν συγκριτικά μικρότερη επίδραση στο φαινόμενο αυτό, καθότι σε παλαιότερη μελέτη είχε φανεί ότι η προσθήκη ποσοτήτων ρουτίνης (πολυφαινόλης με πολύ μικρή διαλυτότητα στο νερό) σε σύστημα αμύλου ρυζιού-νερού προκάλεσε αμελητέες μεταβολές στη ζελατινοποίηση του αμύλου (Karunaratne & Zhu, 2016; Zhu & Wang, 2012).

6.5.3 Ψύξη και αναθέρμανση δειγμάτων

Μόλις ολοκληρώθηκε η αρχική θέρμανση του κάθε δείγματος (10-130°C) ακολούθησε άμεση ψύξη τους με σκοπό τη διερεύνηση φαινομένων ανακρυστάλλωσης του αμύλου ή/και του καφεϊκού οξέος, οπότε για τα περισσότερα δείγματα τα αποτελέσματα των μετρήσεων στο DSC έδειξαν την εμφάνιση 2

εξώθερμων καμπυλών, τα χαρακτηριστικά των οποίων (θερμοκρασία κορυφής και ενθαλπία) απεικονίζονται στον Πίνακα 23.

Πίνακας 23: Πειραματικές τιμές της ενθαλπίας (ΔH) και των θερμοκρασιών που εμφανίζονται εξώθερμες καμπύλες κατά την ψύξη δειγμάτων αμύλου ρυζιού με ή χωρίς προσθήκη καφεϊκού οξέος σε διάφορες αναλογίες μάζας (θερμογραφήματα Σχήματος 43).

Δείγματα/Αναλογία αμύλου ρυζιού-καφεϊκού οξέος (mg:mg)	Χαρακτηριστικά εξώθερμων καμπυλών κατά την ψύξη			
	Θερμοκρασία κορυφής 1 ^{ης} εξώθερμης (°C)	Ενθαλπία 1 ^{ης} εξώθερμης (J/g αμύλου)	Θερμοκρασία κορυφής 2 ^{ης} εξώθερμης (°C)	Ενθαλπία 2 ^{ης} εξώθερμης (J/g αμύλου ή J/g καφεϊκού οξέος)
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0)	≈77	0,97±0,14	-	-
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0,3)	≈66	0,71±0,06	-	-
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0,5)	≈56	0,64±0,08	-	-
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0,8)	≈52	0,52±0,08	έναρξη <14°C	-
Άμυλο-Καφεϊκό (5:1)	≈43	0,36±0,05	≈15	≈10 J/g αμύλου ή ≈50 J/g καφεϊκού
Άμυλο-Καφεϊκό (5:2)	≈45	0,33±0,03	≈28	23,09±3,15 J/g αμύλου ή 57,73±7,88 J/g καφεϊκού

Παράλληλα, στους Πίνακες 24 & 25 φαίνονται τα χαρακτηριστικά των ενδόθερμων καμπυλών που προκύπτουν κατά την αναθέρμανση των ίδιων δειγμάτων που έλαβε χώρα αμέσως μετά την ψύξη τους.

Με βάση τα αποτελέσματα του Πίνακα 23 (3^η γραμμή) υπάρχει μια εξώθερμη καμπύλη που εμφανίζει κορυφή σε θερμοκρασία της τάξης των 77°C κατά τη διάρκεια της ψύξης του δείγματος αμύλου-νερού, η οποία πιθανώς θα μπορούσε να αποδοθεί σε ανακρυστάλλωση του συμπλόκου της αμυλόζης με τα ενδογενή λιπίδια του ρυζιού (Bulpin et al., 1982), ενώ ο Πίνακας 24 (3^η γραμμή) πιθανότατα δείχνει την αντίστοιχη θερμοκρασία τήξης του ίδιου συμπλόκου κατά την αναθέρμανση, η οποία προσδιορίστηκε περίπου στους 101°C. Γενικά, τα σύμπλοκα της αμυλόζης με άλλες ουσίες παρουσιάζουν την τάση να ανακρυσταλλώνονται, κατά τη διάρκεια της ψύξης του αμύλου, σε χαμηλότερες θερμοκρασίες από το αντίστοιχο σημείο τήξης τους (θερμική υστέρηση), όταν αναθερμαίνονται, ενώ το φαινόμενο αυτό έχει βρεθεί ότι είναι θερμο-αντιστρεπτό (Itthisoponkul et al., 2007; Eliasson, 1994; Jovanovich & Anon, 1999). Επίσης, η μεταβολή της ενθαλπίας κατά την ψύξη των συμπλόκων

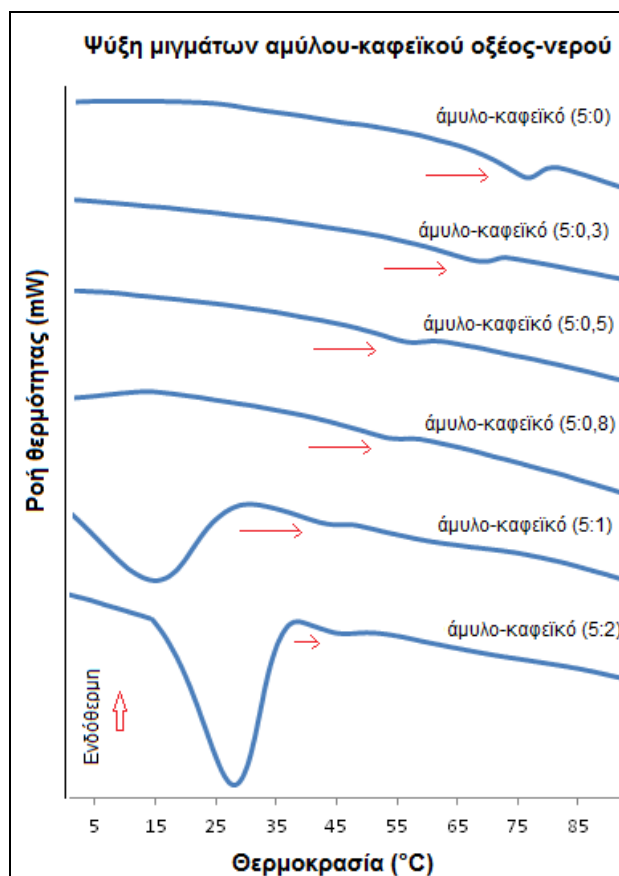
αμυλόζης (εξώθερμη κορυφή) έχει φανεί να είναι της ίδιας τάξης μεγέθους με την απορροφούμενη θερμότητα για την τήξη τους κατά τη διάρκεια της αναθέρμανσης (μεταβολή ενθαλπίας που αντιστοιχεί στην ενδόθερμη κορυφή) (Bulpin et al., 1982). Στην περίπτωση του αμύλου ρυζιού, όπως φαίνεται στους Πίνακες 23 & 24, η θερμική ενέργεια ΔH που εκλύεται ή απορροφάται κατά την ανακρυστάλλωση ή την τήξη του συμπλόκου αμυλόζης-λιπιδίων φάνηκε να είναι της τάξης του 1 J/g αμύλου και βρίσκεται σε συμφωνία με τις αντίστοιχες τιμές που βρέθηκαν σε άλλες εργασίες (Zhu & Wang, 2012; Zhu et al., 2009).

Πίνακας 24: Πειραματικές τιμές της ενθαλπίας (ΔH) και των θερμοκρασιών που εμφανίζεται η ενδόθερμη καμπύλη που αντιστοιχεί στην τήξη του συμπλόκου αμυλόζης-λιπιδίων κατά την αναθέρμανση των δειγμάτων. Όλες οι τιμές προέκυψαν έπειτα από αποτίμηση θερμογραφημάτων που λήφθηκαν σε DSC (Σχήμα 44) και εκφράζονται ως μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση (n=3).

Δείγματα/Αναλογία αμύλου ρυζιού-καφεϊκού οξέος (mg:mg)	Αναθέρμανση δειγμάτων/ Χαρακτηριστικά ενδόθερμης κορυφής συμπλόκου αμυλόζης-λιπιδίων	
	Θερμοκρασία κορυφής (°C)	Ενθαλπία τήξης ΔH (J/g αμύλου)
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0)	101,41±0,91	1,1±0,07
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0,3)	98,02±0,27	1,08±0,08
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0,5)	95,55±0,74	0,75±0,03
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0,8)	91,01±1,32	0,49±0,09
Άμυλο-Καφεϊκό (5:1)	-	-
Άμυλο-Καφεϊκό (5:2)	-	-

Από τους ίδιους Πίνακες γίνεται αντιληπτό ότι η προσθήκη καφεϊκού οξέος στο πλέγμα αμύλου-νερού, ακόμη και στη χαμηλότερη αναλογία του (5:0,3) μπορεί να μεταβάλει τη θερμική σταθερότητα του αμύλου, είτε μειώνοντας τη θερμοκρασία ανακρυστάλλωσης του συμπλόκου αμυλόζης-λιπιδίων κατά την ψύξη (2^η στήλη Πίνακα 23), είτε προκαλώντας την τήξη του συμπλόκου σε χαμηλότερη θερμοκρασία κατά την αναθέρμανση (2^η στήλη Πίνακα 24). Παράλληλα, η μεταβολή της ενθαλπίας ΔH για την κρυστάλλωση ή την τήξη του συμπλόκου αμυλόζης-λιπιδίων φαίνεται να ελαττώνεται με την προσθήκη καφεϊκού οξέος (3^η στήλη Πίνακα 23 & 24). Μάλιστα, για τις μεγαλύτερες αναλογίες καφεϊκού οξέος που προστέθηκαν στα δείγματα (5:1

και 5:2) τα θερμογραφήματα DSC (Σχήμα 44) έδειξαν πρακτικά την εξαφάνιση της ενδόθερμης καμπύλης που αντιστοιχεί στην τήξη του συμπλόκου κατά την αναθέρμανση των δειγμάτων. Αυτό προφανώς σήμαινε ότι η απορροφούμενη θερμότητα για την τήξη δεν ξεπερνούσε τα όρια ανίχνευσης του οργάνου, καθώς επίσης ότι η μοριακή αλληλεπίδραση μεταξύ του πλέγματος αμύλου-νερού και του φαινολικού συστατικού μπορεί να ήταν τόσο ισχυρή που ουσιαστικά δεν επέτρεπε την τήξη του συμπλόκου. Μια άλλη εκδοχή είναι να υφίσταται μια μικρή ενδόθερμη κορυφή, η οποία να είναι μετατοπισμένη σε θερμοκρασία κάτω των 90°C με αποτέλεσμα να καλύπτεται από τη μεγάλη ενδόθερμη κορυφή που εμφανίζεται σε θερμοκρασίες άνω των 80°C όπως φαίνεται στο Σχήμα 44 για τα δείγματα αμύλου-καφεϊκού οξέος 5:1 και 5:2.

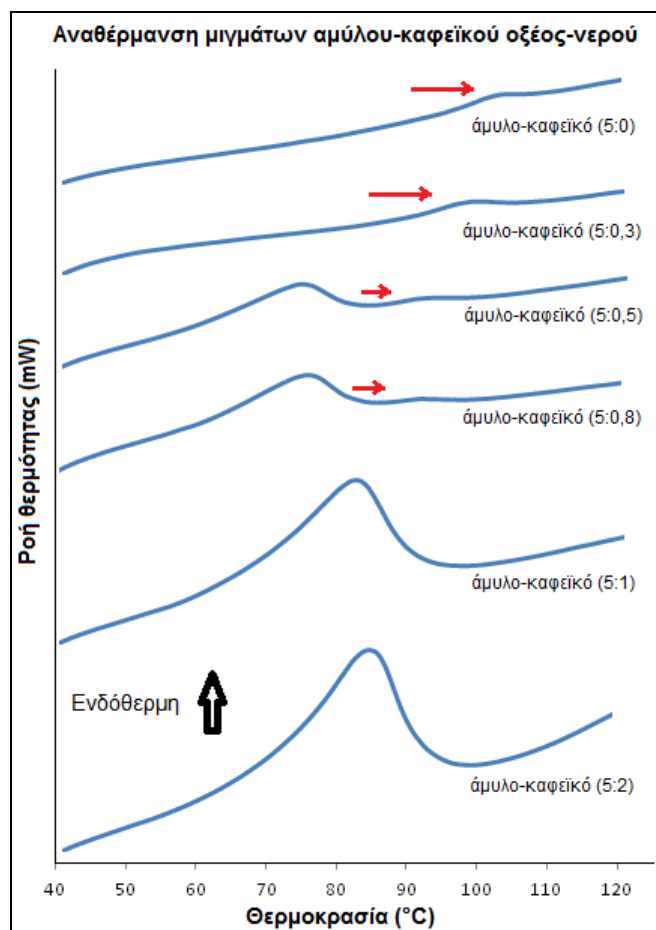


Σχήμα 43: Ενδεικτικά θερμογραφήματα που σχετίζονται με την ψύξη ζελατινοποιημένων δειγμάτων αμύλου που περιέχουν καφεϊκό οξύ σε διάφορες % w/w αναλογίες και περίσσεια νερού (80% w/w). Η ψύξη έλαβε χώρα αμέσως μετά από την αρχική θέρμανση σε θερμοκρασία 130°C. Με μικρά βέλη επισημαίνονται οι μικρές εξώθερμες καμπύλες που φαίνεται να σχετίζονται με το φαινόμενο της ανακρυστάλλωσης του συμπλόκου αμυλόζης-ενδογενών λιπιδίων του ρυζιού.

Κατά τη διάρκεια της ψύξης των δειγμάτων που περιείχαν μίγματα αμύλου-καφεϊκού οξέος παρουσία περίσσειας νερού παρατηρήθηκε η εμφάνιση μιας 2^{ης} εξώθερμης κορυφής σε θερμοκρασίες <30°C και τα χαρακτηριστικά της απεικονίζονται στον Πίνακα 23 (4^η & 5^η στήλη). Η θερμική ενέργεια που απελευθερώνεται (ΔH) για αυτό το εξώθερμο φαινόμενο, που είναι επίσης αντιστρεπτό, όπως και η κρυστάλλωση του συμπλόκου αμυλόζης-λιπιδίων, είναι αρκετά μεγαλύτερη και δε φαίνεται να εξαρτάται από την ποσότητα αμύλου ή νερού που είναι σταθερές σε κάθε δείγμα. Αντίθετα, το μέγεθος της εξώθερμης αυτής καμπύλης φαίνεται να εξαρτάται περισσότερο από την ποσότητα του καφεϊκού οξέος που προστίθεται στα δείγματα σε κάθε περίπτωση, καθώς η αύξηση της συγκέντρωσης του φαινολικού οξέος οδηγεί σε σημαντική μεταβολή της εκλυόμενης θερμότητας ΔH όταν αυτή εκφράζεται σε J/g αμύλου (5^η στήλη Πίνακα 23). Στον Πίνακα 25 παρουσιάζονται επίσης τα χαρακτηριστικά μιας θερμο-αντιστρεπτής ενδόθερμης κορυφής που εμφανίζεται για όλες τις αναλογίες αμύλου-καφεϊκού οξέος πλην της μικρότερης (5:0,3). Η συγκεκριμένη κορυφή παρουσιάζει ΔH της τάξης των 7 J/g αμύλου και ίσως να σχετίζεται με την παρουσία της 2^{ης} εξώθερμης κορυφής που εμφανίστηκε κατά την ψύξη και περιγράφηκε παραπάνω.

Πίνακας 25: Πειραματικές τιμές της ενθαλπίας (ΔH) και των θερμοκρασιών που εμφανίζεται η 2^η ενδόθερμη καμπύλη κατά την αναθέρμανση των δειγμάτων αμύλου-καφεϊκού οξέος. Όλες οι τιμές προέκυψαν έπειτα από αποτίμηση θερμογραφημάτων DSC (Σχήμα 44) και εκφράζονται ως μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση (n=3).

Δείγματα/Αναλογία αμύλου ρυζιού-καφεϊκού οξέος (mg:mg)	Αναθέρμανση δειγμάτων/ Χαρακτηριστικά 2 ^{ης} ενδόθερμης κορυφής		
	Θερμοκρασία κορυφής (°C)	Ενθαλπία ΔH (J/g αμύλου)	Ενθαλπία ΔH (J/g καφεϊκού)
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0,3)	-	-	-
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0,5)	77,40±0,66	7,73±0,75	77,30±7,50
Άμυλο-Καφεϊκό (5:0,8)	79,39±1,13	13,40±1,61	83,75±10,06
Άμυλο-Καφεϊκό (5:1)	81,89±0,30	14,51±0,97	72,55±4,85
Άμυλο-Καφεϊκό (5:2)	84,25±0,27	26,54±2,22	66,35±5,55



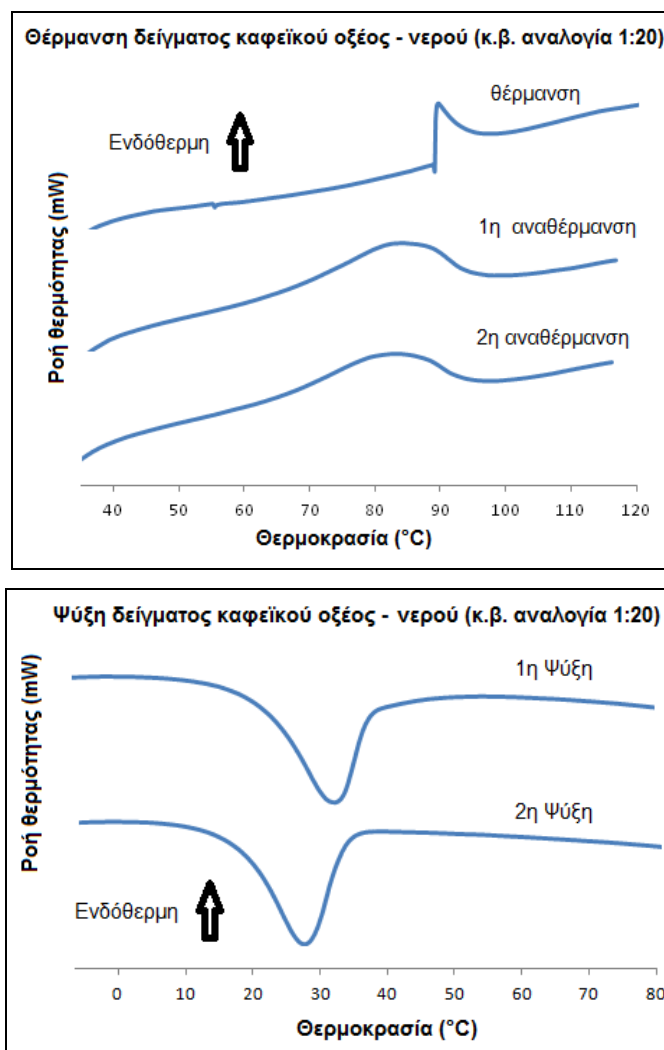
Σχήμα 44: Ενδεικτικά θερμογραφήματα που σχετίζονται με την αναθέρμανση δειγμάτων αμύλου που περιέχουν καφεϊκό οξύ σε διάφορες % w/w αναλογίες και περίσσεια νερού (80% w/w). Με μικρά βέλη επισημαίνονται οι μικρές ενδόθερμες καμπύλες που φαίνεται να σχετίζονται με την τήξης του συμπλόκου αμυλόζης-ενδογενών λιπιδίων του ρυζιού.

Τόσο η 2^η ενδόθερμη όσο και η 2^η εξώθερμη κορυφή που αναλύθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο πιστεύεται ότι σχετίζονται με την ποσότητα του καφεϊκού οξέος που παραμένει σε αδιάλυτη μορφή εντός των δειγμάτων. Η διαλυτότητα του καφεϊκού οξέος στο καθαρό νερό έχει εκτιμηθεί για θερμοκρασίες διάλυσης της τάξεως των 15-50°C και βρέθηκε να είναι εντός του εύρους των 0,55-2,92 g καφεϊκού οξέος ανά L νερού (Mota et al., 2008), που σημαίνει ότι ένα σημαντικό μέρος της ποσότητας του φαινολικού οξέος ίσως παραμένει αδιάλυτο εντός των καψυλλίων DSC κατά τη διάρκεια των μετρήσεων. Επιπλέον, το σημείο τήξης του καθαρού καφεϊκού οξέος έχει εκτιμηθεί ότι βρίσκεται στους 191°C από τους Marrero & Gani (2001), ενώ η απορροφούμενη θερμότητα για την τήξη υπολογίστηκε περίπου στα

220 J/g ουσίας. Ωστόσο, άλλοι ερευνητές δεν προσδιόρισαν επακριβώς ένα συγκεκριμένο σημείο τήξης για το ίδιο συστατικό, αλλά παρατήρησαν ότι η θέρμανση του καφεϊκού οξέος είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μιας μη γραμμικής γραμμής βάσης (baseline) στο θερμογράφημα DSC και μια αποικοδόμηση του φαινολικού οξέος χωρίς την παρουσία κάποιου διακριτού σημείου τήξης (Mota et al., 2008). Στην παρούσα έρευνα, η θέρμανση καθαρού καφεϊκού οξέος (απουσία νερού) στο DSC δεν έδειξε κάποια ενδόθερμη κορυφή που να αντιστοιχεί σε σημείο τήξης τουλάχιστον έως τους 200°C, αλλά φάνηκε να υπάρχει μια διαρκής απορρόφηση θερμότητας από το δείγμα σε θερμοκρασίες άνω των 150°C (θερμογράφημα μη διαθέσιμο), η οποία θα μπορούσε να αποδοθεί σε πιθανή αποδόμηση ή και μερική τήξη του φαινολικού συστατικού. Όταν στη συνέχεια το καφεϊκό οξύ θερμάνθηκε παρουσία περίσσειας νερού, εμφανίστηκε μια ευρεία, θερμο-αντιστρεπτή ενδόθερμη κορυφή (θερμογράφηματα Σχήματος 45 και Πίνακας 26) σε αρκετά χαμηλότερες θερμοκρασίες (<100°C), η οποία θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι οφείλεται σε απορρόφηση θερμότητας από το μη διαλυτοποιημένο φαινολικό συστατικό (μερική αποικοδόμηση ή τήξη), που λόγω δράσης της περίσσειας νερού ως πλαστικοποιητή έλαβε χώρα σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Αντίθετα, το διαλυτοποιημένο καφεϊκό οξύ ίσως δημιουργήσει αλληλεπιδράσεις με το πλέγμα αμύλου-νερού κατά τη διάρκεια της θέρμανσης και διαδοχικής ψύξης των δειγμάτων, όπως περιγράφηκε παραπάνω, με αποτέλεσμα να προκληθούν μεταβολές στα χαρακτηριστικά της ζελατινοποίησης του αμύλου, της κρυστάλλωσης και της τήξης του συμπλόκου αμυλόζης-λιπιδίων όπως φάνηκε από τους Πίνακες 22, 23 και 24.

Πίνακας 26: Χαρακτηριστικά κορυφών DSC (ενδόθερμων ή εξώθερμων) για δείγματα καθαρού καφεϊκού οξέος-H₂O σε αναλογία 1:20 (mg:mg) κατά τη διάρκεια θέρμανσης-ψύξης-αναθέρμανσης.

Δείγματα καφεϊκού-H ₂ O	Θερμοκρασία κορυφής (°C)	Θερμοκρασία έναρξης (°C)	Θερμοκρασία λήξης (°C)	ΔH (J/g καφεϊκού)
Αναθέρμανση (10-130°C)	86,1	64,76	96,26	101,22 J/g καφεϊκού
Ψύξη	28°C (Εξώθερμη)			106,22 J/g καφεϊκού
2 ^η Αναθέρμανση	81,74	63,79	93,93	97,91 J/g καφεϊκού



Σχήμα 45: Ενδεικτικά θερμογραφήματα που σχετίζονται με τις διεργασίες θέρμανσης-ψύξης-αναθέρμανσης δειγμάτων καφεϊκού οξέος-νερού σε αναλογία 1:20 (mg:mg).

6.5.4 Ανακρυστάλλωση αμύλου

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στον Πίνακα 27, η τήξη του ανακρυσταλλωμένου αμύλου, έπειτα από τη ζελατινοποίηση και αποθήκευσή του για χρονική διάρκεια 20 ημερών (5°C), φαίνεται να λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασία της τάξης των 58°C (ενδόθερμη διεργασία) και να απαιτείται θερμότητα περίπου 0,8 J/g αμύλου (2^η γραμμή Πίνακα 27). Επίσης, το φαινόμενο της ανακρυστάλλωσης φαίνεται να παρεμποδίζεται πλήρως για τα δείγματα που το καφεϊκό οξύ ήταν παρόν σε αναλογία $\geq 10\%$ w/w (5/0,5), ενώ για την αναλογία αμύλου-καφεϊκού οξέος 5/0,3 παρατηρείται σημαντική μείωση στην ενθαλπία που απαιτείται για την τήξη του ανακρυσταλλωμένου αμύλου σε σχέση με την αντίστοιχη ενθαλπία στο δείγμα που

δεν έγινε προσθήκη καφεϊκού οξέος (3^η γραμμή Πίνακα 27). Ειδικότερα, η ενδεχόμενη αλληλεπίδραση του φαινολικού μορίου και η ένταξή του (παρέμβαση) εντός του πλέγματος αμύλου-νερού κατά τη διάρκεια της ζελατινοποίησης ίσως να μεταβάλλει την κατανομή των μορίων νερού μεταξύ των κόκκων αμύλου και να προκαλεί την εμφάνιση περιοχών ασυνέχειας εντός του πλέγματος. Επίσης, έχει φανεί σε άλλες εργασίες (Chai et al., 2013; Sivam et al., 2013b) ότι κάποια φαινολικά συστατικά παρουσιάζουν τη δυνατότητα σχηματισμού δεσμών H-H μέσω των υδροξυλομάδων τους τόσο με το άμυλο, όσο και με το νερό. Αντίστοιχη δυνατότητα επισύναψης δεσμών H-H παρουσιάζει και το μόριο του καφεϊκού οξέος, που διαθέτει 2 υδροξυλομάδες και 1 καρβοξυλομάδα. Έτσι, με τον τρόπο αυτόν πιθανώς παρεμποδίζεται η αποβολή μορίων νερού από το πλέγμα αμύλου-καφεϊκού-νερού με αποτέλεσμα να αποτρέπεται η αναδίπλωση των αλυσίδων της αμυλόζης και της αμυλοπηκτικής που λαμβάνουν χώρα στο καθαρό άμυλο κατά την ψύξη, καθυστερώντας ή και εξαλείφοντας το φαινόμενο της ανακρυστάλλωσης (retrogradation). Σε παρόμοιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Karunaratne and Zhu (2016), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι η προσθήκη ενός φαινολικού οξέος (φερουλικό) σε άμυλο σίτου, παρουσία περίσσειας νερού, προκάλεσε σημαντική καθυστέρηση στην εμφάνιση του φαινομένου της ανακρυστάλλωσης του αμύλου έπειτα από θέρμανση και διαδοχική ψύξη του για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Πίνακας 27: Χαρακτηριστικά ενδόθερμης καμπύλης που αποδίδεται σε ανακρυστάλλωση του αμύλου ρυζιού έπειτα από ζελατινοποίησή του, παρουσία καφεϊκού οξέος και περίσσειας νερού, και αποθήκευση υπό ψύξη (5°C) για χρόνο 20 ημερών. Όλες οι τιμές θερμοκρασίας και ενθαλπίας (ΔH) εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ τυπική απόκλιση (n=3).

Δείγματα αμύλου-καφεϊκού οξέος	Έναρξη ενδόθερμης (°C)	Κορυφή ενδόθερμης (°C)	Λήξη ενδόθερμης (°C)	ΔH (J/g αμύλου)
Άμυλο ρυζιού	50,04 $\pm$ 1,66	58,15 $\pm$ 0,47	64,8 $\pm$ 0,25	0,81 $\pm$ 0,03
Άμυλο-Καφεϊκό (5/0,3)	54,46 $\pm$ 0,86	57,67 $\pm$ 0,64	64,26 $\pm$ 0,09	0,16 $\pm$ 0,04
Άμυλο-Καφεϊκό (5/0,5)	-	-	-	-
Άμυλο-Καφεϊκό (5/0,8)	-	-	-	-
Άμυλο-Καφεϊκό (5/1)	-	-	-	-
Άμυλο-Καφεϊκό (5/2)	-	-	-	-

6.5.5 Πιθανές αλληλεπιδράσεις αμύλου-καφεϊκού οξέος

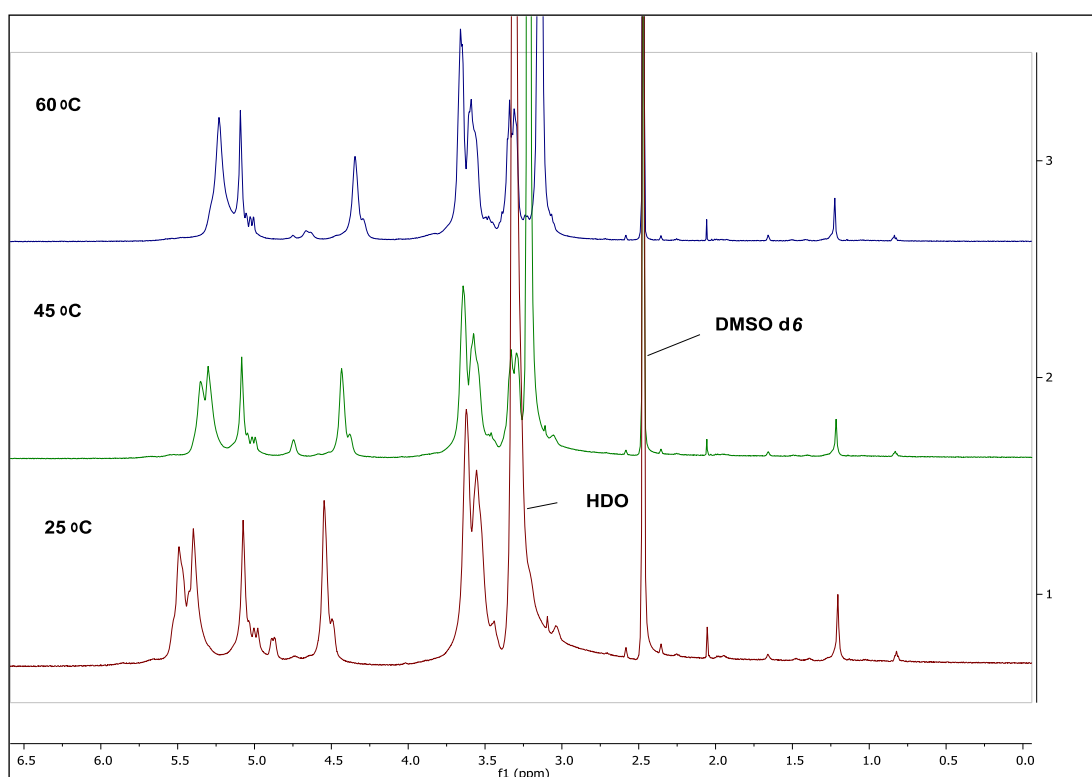
Ο σχηματισμός συμπλόκων εγκλεισμού του αμύλου (αμυλόζη) με κάποιο άλλο εξωγενές μόριο, όπως π.χ. το καφεϊκό οξύ, προϋποθέτει ότι το μόριο αυτό πληροί τις απαιτήσεις χημικής συνάφειας-διαλυτότητας, αλλά και ότι έχει μέγεθος που να του επιτρέπει να ενταχθεί στην ελικοειδή κοιλότητα της αμυλόζης προκειμένου οι αλυσίδες της αμυλόζης να λάβουν την κατάλληλη διαμόρφωση και να εγκλείσουν το «ξένο» μόριο (Biliaderis et al., 1985; Obiro et al., 2012). Επιπλέον, όλα τα σύμπλοκα της αμυλόζης με άλλα μόρια παρουσιάζουν διακριτά σημεία τήξης, καθώς και δεδομένες θερμοκρασίες και ενθαλπίες ανακρυστάλλωσης κατά τη θέρμανση και ψύξη τους σε DSC (Raphaelides and Karkalas, 1988). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που περιγράφηκαν παραπάνω δεν διαπιστώθηκε καμία ένδειξη σχηματισμού συμπλόκου εγκλεισμού μεταξύ αμύλου και καφεϊκού οξέος, πιθανώς λόγω ύπαρξης στερικών αλληλεπιδράσεων (π.χ. περιορισμένου μεγέθους ελικοειδής κοιλότητα αμυλόζης) ή και χαμηλής έλξης-διαλυτότητας του φαινολικού οξέος ως προς το σύστημα αμύλου-νερού. Ο κυρίαρχος μηχανισμός της αλληλεπίδρασης που φαίνεται να υφίσταται είναι πιθανώς η πρόσδεση του καφεϊκού οξέος στο σύστημα αμύλου-νερού μέσω δεσμών υδρογόνου ή και ασθενών αλληλεπιδράσεων τύπου *van der Waals*. Αυτός ο τρόπος δέσμευσης μέσω της ανάπτυξης δυνάμεων σε πολλαπλά σημεία-θέσεις των μορίων καφεϊκού οξέος-αμύλου-νερού μπορεί να μη διαθέτει την ισχύ π.χ. ενός ομοιοπολικού δεσμού ή την ισχύ των δυνάμεων συγκράτησης ενός συμπλόκου εγκλεισμού. Ωστόσο, ίσως υπάρχει μια συνεργιστική δράση μεταξύ των ασθενών δυνάμεων που αναπτύσσονται στα διαφορετικά σημεία των μορίων εντός του πλέγματος, η οποία θα μπορούσε να εξηγήσει και τα αποτελέσματα που προέκυψαν σε προηγούμενο κεφάλαιο της παρούσας διατριβής, όπου ποσότητα άνω του 30% του διαλυτού καφεϊκού οξέος παρέμεινε εντός του πλέγματος εμπλουτισμένου ρυζιού ακόμα και έπειτα από εξαντλητική διεργασία βρασμού προς επανενυδάτωση του ρυζιού (Παράγραφος Γ 4).

6.6 Μελέτη αλληλεπιδράσεων με Φασματοσκοπία NMR

Ο διαλύτης DMSO (διμεθυλοσουλφοξείδιο) είναι ο πλέον διαδεδομένος οργανικός διαλύτης που χρησιμοποιείται για το άμυλο (Hizukuri, 1996), όπως έγινε και στην παρούσα μελέτη, ενώ χρησιμοποιείται συχνά και για τη μελέτη της

παρουσίας δεσμών υδρογόνου σε μόρια υδατανθράκων (Bekiroglou et al., 2003; Christofides & Davies, 1985; Ko et al., 2005). Το DMSO έχει φανεί να είναι κατάλληλος διαλύτης για το άμυλο, καθώς δίνει διαυγή διαλύματα, τα οποία μπορούν να παραμένουν σταθερά για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Η διάλυση θεωρείται συνήθως πλήρης όταν προκύπτει ένα καθαρό διάλυμα, ωστόσο αυτό δεν μπορεί να αποκλείσει την παρουσία μικρών κolloειδών συστημάτων ή συσσωματωμάτων. Για τον λόγο αυτόν κατά την επαναδιάλυση των αποξηραμένων δειγμάτων ζελατινοποιημένου αμύλου ρυζιού-καφεϊκού οξέος σε DMSO-*d*6 έλαβε χώρα θέρμανση των διαλυμάτων προς υποβοήθηση της διάλυσης τέτοιων συστημάτων.

Λόγω της παρουσίας πολλών διαφορετικών υδροξυλομάδων τα φάσματα ^1H -NMR για τους πολυσακχαρίτες μπορεί να είναι σε κάποιες περιπτώσεις πολύπλοκα και να είναι δύσκολη η αποτίμηση των κορυφών. Στο Σχήμα 46 απεικονίζεται το φάσμα ^1H -NMR για το άμυλο ρυζιού που λήφθηκε για 3 διαφορετικές θερμοκρασίες (25, 45 και 60°C). Όπως φαίνεται, εκτός από τη μικρή μετατόπιση του σήματος του νερού (HDO) και την υπερκάλυψη της κορυφής στα 3,3 ppm, η ανάλυση των φασμάτων είναι ικανοποιητική από τους 25°C.

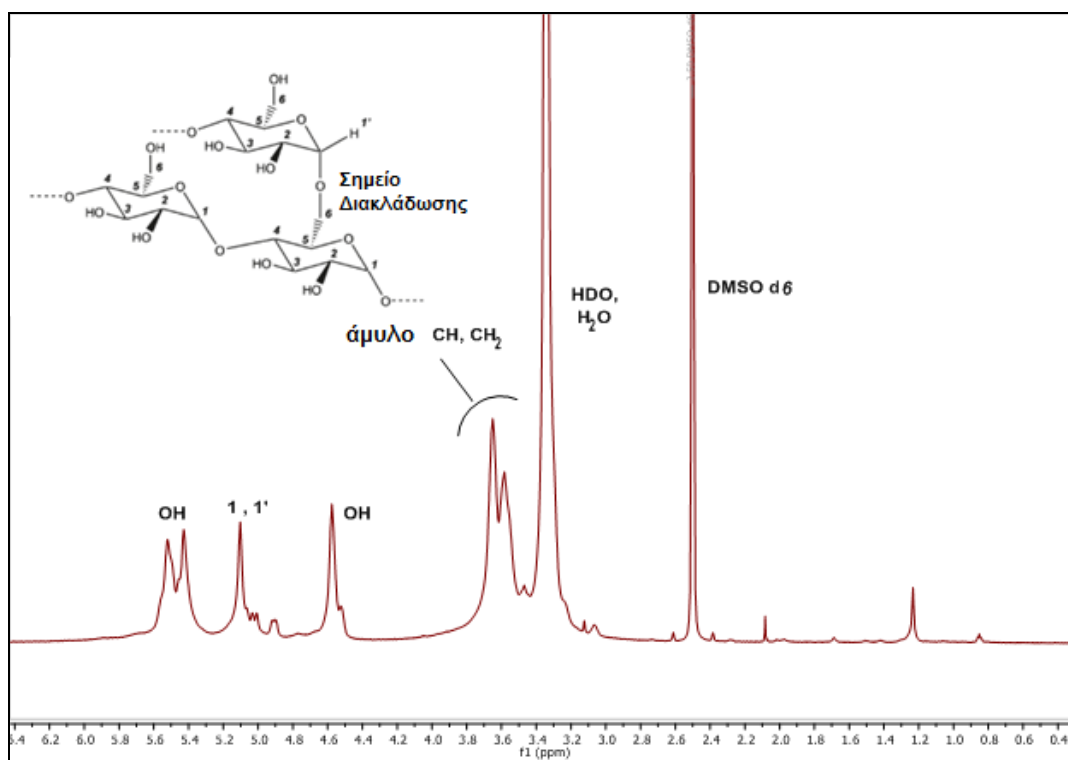


Σχήμα 46: Φάσμα ^1H -NMR που λήφθηκε για το άμυλο ρυζιού σε διαφορετικές θερμοκρασίες.

Στο Σχήμα 47 απεικονίζεται το φάσμα ^1H -NMR του ζελατινοποιημένου αμύλου ρυζιού και η αποτίμηση των κορυφών έγινε με βάση τα ευρήματα της βιβλιογραφίας σε συνδυασμό με το φάσμα 2D HSQC που λήφθηκε (Σχήμα 48). Τα πιο σημαντικά σήματα που εμφανίζονται στο φάσμα του Σχήματος 47 είναι αυτά που εντοπίζονται στην περιοχή χημικών μετατοπίσεων μεταξύ των 4,5 και 5,6 ppm, τα οποία μπορούν να αποδοθούν στα ανωμερικά και υδροξυλικά πρωτόνια των μονομερών του αμύλου ρυζιού (Falk and Stanek, 1997; Tizzotti et al., 2011).

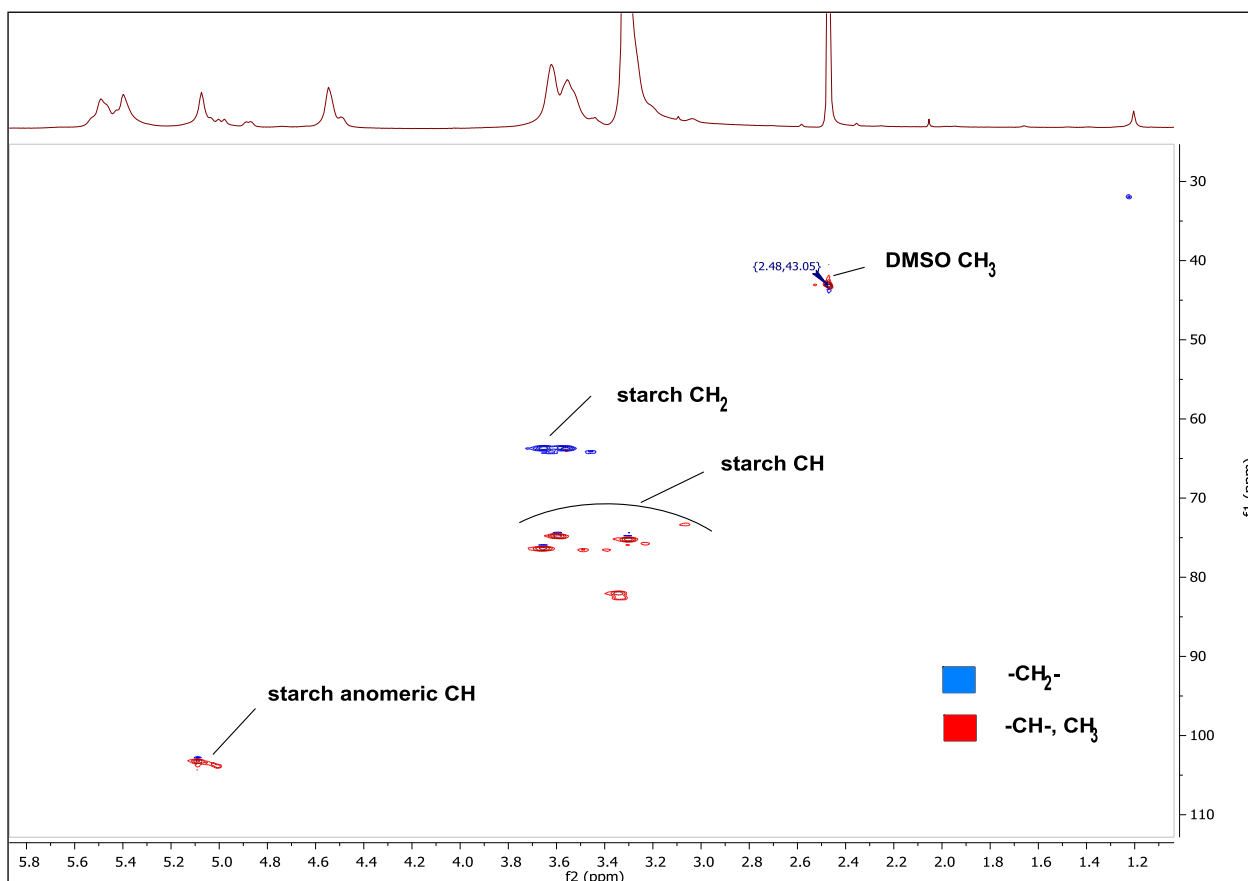
Τα ευκίνητα πρωτόνια που ανήκουν στις υδροξυλομάδες (OH) ή σε άλλες ομάδες που περιλαμβάνουν ανταλλάξιμα πρωτόνια συνήθως συντονίζονται σε υψηλές τιμές ppm και εμφανίζουν ευρείες κορυφές που ενδεχομένως καλύπτουν σήματα άλλων κορυφών που παρουσιάζουν ενδιαφέρον. Για παράδειγμα στο δείγμα αμύλου σε DMSO-*d*₆, τα σήματα των τριών πρωτονίων των OH, καθώς και το ανωμερικό H-1 εντοπίστηκαν στην ίδια περιοχή.

Τα ανωμερικά πρωτόνια, που επισημαίνονται ως 1 και 1' και σχετίζονται με αυτά των διακλαδώσεων α-1,4 και α-1,6 (γλυκοζιτικοί δεσμοί) αντιστοίχως, διακρίνονται δύσκολα στο φάσμα του Σχήματος 47 λόγω της παρουσίας πολλών άλλων κορυφών που αντιστοιχούν σε πρωτόνια των OH του αμύλου στην ίδια περιοχή. Το σήμα του H₂O είναι καλά διαχωρισμένο από τα υπόλοιπα σήματα στα 3,3 ppm και σχετίζεται με τις μικροποσότητες νερού που περιέχονται στο άμυλο ρυζιού και τον γυάλινο δειγματοφορέα, ενώ η κορυφή που αντιστοιχεί στον διαλύτη DMSO-*d*₆ εντοπίζεται στα 2,5 ppm.



Σχήμα 47: Φάσμα ^1H -NMR για το άμυλο ρυζιού με αποτίμηση των κύριων κορυφών.

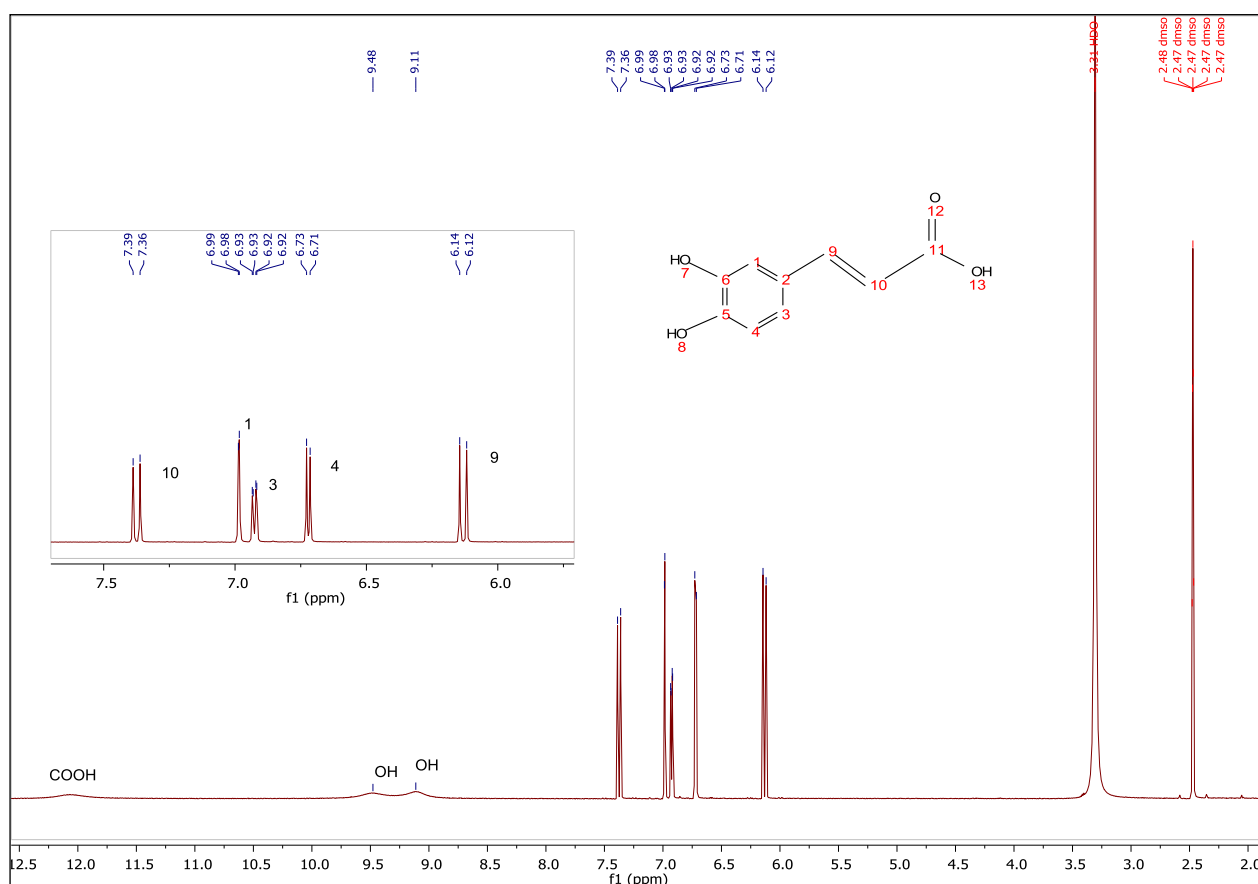
Ο λόγος για τον οποίο το φάσμα ^1H -NMR του ζελατινοποιημένου αμύλου εμφανίζει ευρείες κορυφές είναι ότι το άμυλο ως πολυμερές διαθέτει επαναλαμβανόμενες μονάδες μορίων γλυκόζης, ενώ το κάθε μόριο γλυκόζης βρίσκεται σε ένα διαφορετικό χημικό μικρο-περιβάλλον. Έτσι, ο συντονισμός των πυρήνων υδρογόνου του αμύλου στο φάσμα αποτελείται από το άθροισμα των συντονισμών των επιμέρους μορίων γλυκόζης, οπότε εξηγείται και το πλάτος των κορυφών (Wu et al., 2011a).



Σχήμα 48: Φάσμα NMR 2 διαστάσεων (2D-HSQC) για το άμυλο ρυζιού που λήφθηκε στους 25°C και απεικονίζει αλληλεπιδράσεις C-H. Η απουσία σημάτων στην περιοχή 4,4 – 6,0 ppm υποδεικνύει τα υδρογόνα που δεν είναι συνδεδεμένα σε άνθρακα και συνεπώς είναι τα υδρογόνα των υδροξυλομάδων.

Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση ενός φαινολικού οξέος π.χ. του καφεϊκού οξέος στο φαινόμενο της ζελατινοποίησης του αμύλου ρυζιού πραγματοποιήθηκαν αρκετά πειράματα NMR χρησιμοποιώντας διαφορετικές αναλογίες αμύλου-καφεϊκού οξέος ξεκινώντας από αναλογία 1:1 και φτάνοντας σε w/w αναλογία 20:1. Αντίστοιχα πειράματα πραγματοποιήθηκαν και για συγκεκριμένες αναλογίες αμύλου-π-κουμαρικού οξέος, καθώς και ίδιες αναλογίες αμύλου-ναριγκενίνης.

Το φάσμα ^1H -NMR του καφεϊκού οξέος σε DMSO- d_6 και η αποτίμηση των κορυφών απεικονίζονται στο Σχήμα 49.

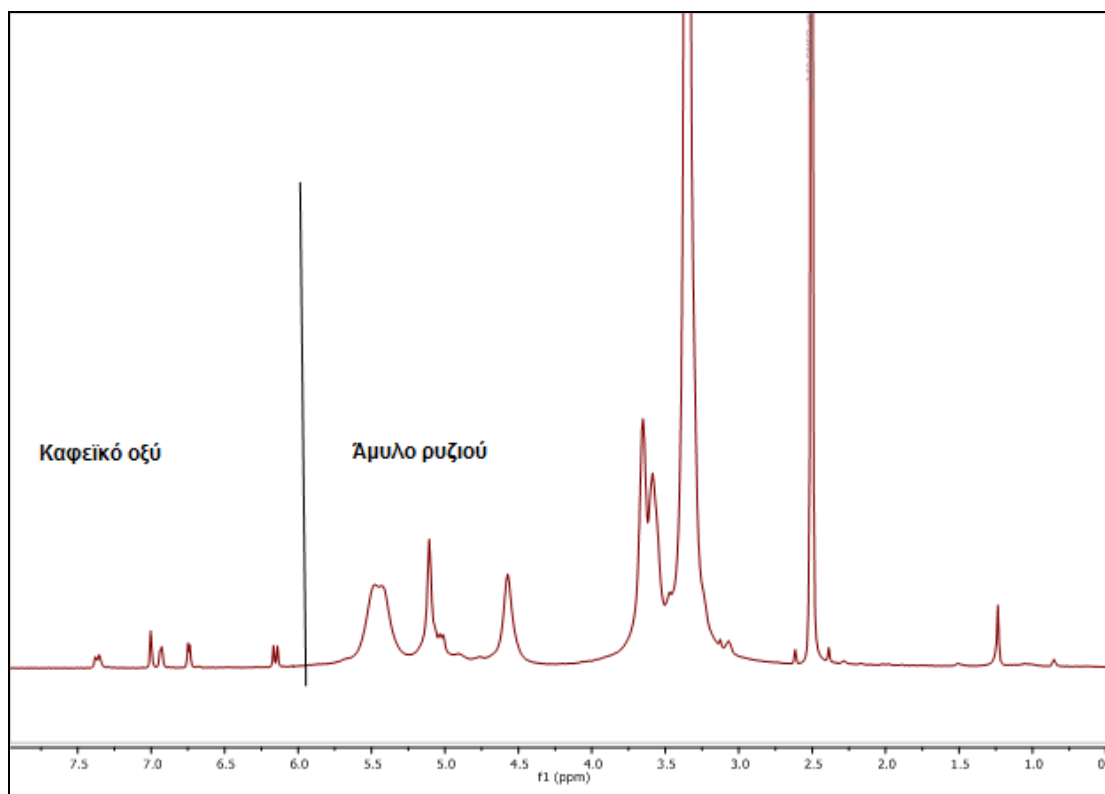


Σχήμα 49: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ καφεϊκού οξέος σε διαλύτη $\text{DMSO-}d_6$.

Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν με εφαρμογή της τεχνικής DSC, όπως αναλύθηκαν στην προηγούμενη ενότητα, υποτέθηκε ότι υφίσταται μια αλληλεπίδραση μεταξύ των μορίων αμύλου ρυζιού και καφεϊκού οξέος κατά τη διάρκεια της ζελατινοποίησης, ωστόσο η αλληλεπίδραση αυτή δεν έδειξε να συνδέεται με κάποιον τύπο εγκλεισμού ή ενσωμάτωσης του φαινολικού οξέος σε ελικοειδή διαμόρφωση του αμύλου.

Οι μετρήσεις με την τεχνική $^1\text{H-NMR}$ έλαβαν χώρα προκειμένου να διερευνηθεί η συγκεκριμένη αλληλεπίδραση σε μοριακό επίπεδο. Το Σχήμα 50 απεικονίζει το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του μίγματος ζελατινοποιημένου αμύλου-καφεϊκού οξέος σε w/w αναλογία 20:1. Από τη στιγμή που δεν υπάρχει αλληλεπικάλυψη των κορυφών του καφεϊκού οξέος (>6 ppm) με τις κορυφές του αμύλου (<6 ppm), αυτό βοηθά σημαντικά στην επισήμανση τυχόν μετατοπίσεων κορυφών και από τις 2 περιοχές που θα αποτελούσαν ενδείξεις αλληλεπίδρασης μεταξύ των 2 μορίων. Κάτι αντίστοιχο φαίνεται να συμβαίνει και για τα φάσματα $^1\text{H-NMR}$ των δειγμάτων

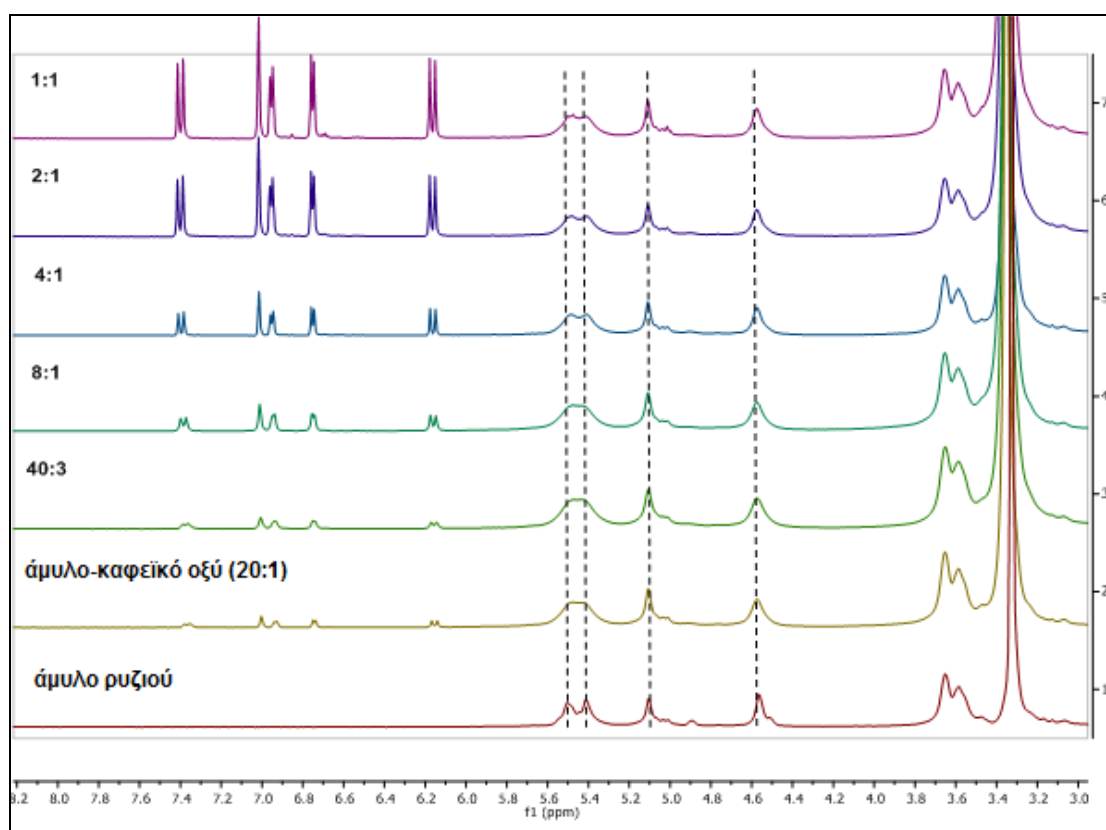
ζελατινοποιημένου αμύλου-π-κουμαρικού οξέος και αμύλου-ναριγκενίνης όπου επίσης παρατηρούνται 2 διακριτές περιοχές εμφάνισης των σημάτων που αφορούν τις φαινολικές ουσίες (>6 ppm) και των σημάτων που σχετίζονται με το άμυλο (<6 ppm) (Σχήματα 52 & 53).



Σχήμα 50: Φάσμα ^1H -NMR για μίγμα ζελατινοποιημένου αμύλου ρυζιού παρουσία καφεϊκού οξέος σε w/w αναλογία 20:1. Οι κορυφές που εμφανίζονται στην αρωματική περιοχή που βρίσκεται αριστερά των 6 ppm αντιστοιχούν στα πρωτόνια του καφεϊκού οξέος, ενώ δεξιά των 6 ppm εμφανίζονται οι κορυφές που αντιστοιχούν στα πρωτόνια του αμύλου.

Στο Σχήμα 51 παρουσιάζεται το φάσμα ^1H -NMR για το άμυλο ρυζιού που έχει ζελατινοποιηθεί παρουσία καφεϊκού οξέος σε διαφορετικές αναλογίες. Με βάση τη σειρά των φασμάτων αυτών γίνεται αντιληπτό ότι οι μόνες μεταβολές στη χημική μετατόπιση είναι αυτές που εμφανίζονται στις κορυφές που αντιστοιχούν στις υδροξυλομάδες του αμύλου στα 5,4 και 5,5 ppm. Ειδικότερα, παρατηρείται μια διεύρυνση αυτών ακόμα και έπειτα από προσθήκη της ελάχιστης ποσότητας καφεϊκού οξέος (αναλογία αμύλου/καφεϊκού 20:1). Επίσης, δεν παρατηρείται κάποια

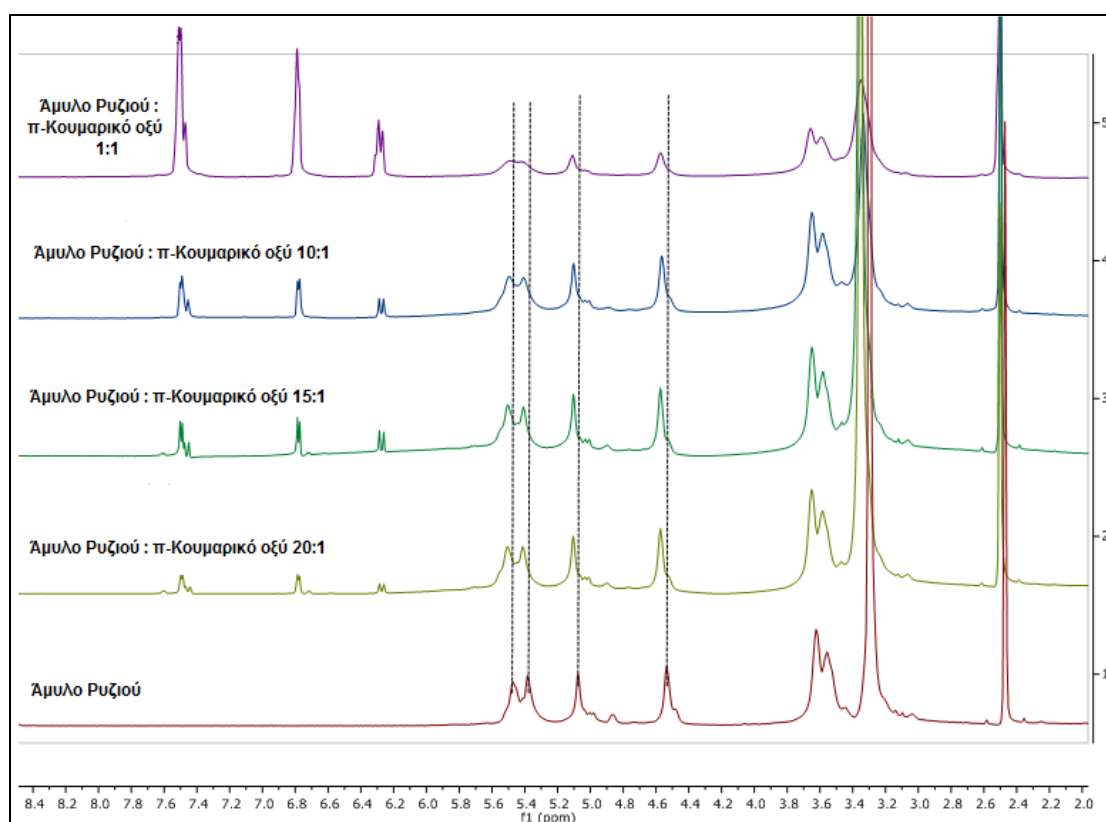
αξιόλογη μετατόπιση στα βινυλικά και τα αρωματικά πρωτόνια του καφεϊκού οξέος, ούτε και στις CH, CH₂ κορυφές του μορίου του αμύλου. Τα ευρήματα αυτά μπορούν εμμέσως να επιβεβαιώσουν την παρουσία διαμοριακών δεσμών ηλεκτροστατικού χαρακτήρα (όπως δεσμοί υδρογόνου) είτε μεταξύ των υδροξυλομάδων των 2 εμπλεκόμενων μορίων είτε μεταξύ των υδροξυλομάδων του αμύλου και των καρβοξυλομάδων του καφεϊκού οξέος. Και οι 2 αυτοί τύποι πιθανών αλληλεπιδράσεων πιστεύεται ότι λαμβάνουν χώρα στην εξωτερική επιφάνεια του πολυμερούς του αμύλου.



Σχήμα 51: Ενδεικτικό φάσμα ¹H-NMR για δείγματα αμύλου ρυζιού και μιγμάτων του με καφεϊκό οξύ, σε διάφορες w/w αναλογίες, που έχουν υποστεί υγροθερμική επεξεργασία και ξήρανση με κατάψυξη.

Στα Σχήματα 52 και 53 παρουσιάζονται τα φάσματα ¹H-NMR για το άμυλο ρυζιού που έχει ζελατινοποιηθεί παρουσία π-κουμαρικού οξέος και ναριγκενίνης, αντιστοίχως, σε διάφορες αναλογίες. Στο Παράρτημα της παρούσας διατριβής δίδονται σε Πίνακες (28, 29 και 30) όλα τα χαρακτηριστικά των κορυφών για τα

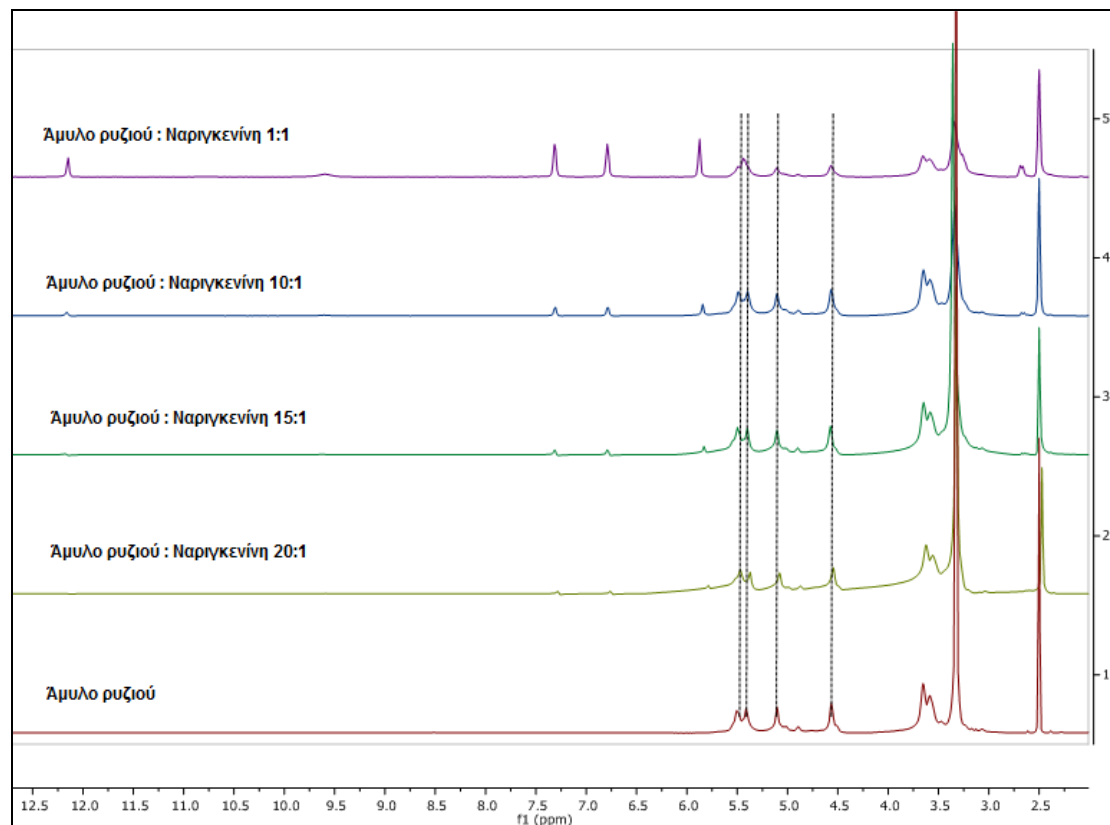
φάσματα ^1H -NMR που λήφθηκαν (χημικές μετατοπίσεις, πολλαπλότητα κορυφών, σταθερές σύζευξης).



Σχήμα 52: Ενδεικτικό φάσμα ^1H -NMR για δείγματα αμύλου ρυζιού και μιγμάτων του με π-κουμαρικό οξύ, σε διάφορες w/w αναλογίες, που έχουν υποστεί υγροθερμική επεξεργασία και ξήρανση με κατάψυξη.

Με βάση τα Σχήματα 52 και 53 γίνεται αντιληπτό ότι οι κυριότερες μεταβολές στη χημική μετατόπιση που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη των φαινολικών ουσιών στο άμυλο ρυζιού είναι αυτές που εμφανίζονται στις κορυφές που αντιστοιχούν στις υδροξυλομάδες του αμύλου στα 5,4 και 5,5 ppm, ενώ σαφείς είναι και οι μεταβολές που αφορούν στις υδροξυλομάδες του αμύλου στα 4,6 ppm. Πιο συγκεκριμένα, όπως και στα δείγματα που περιείχαν καφεϊκό οξύ, παρατηρείται μια διαπλάτυνση των κορυφών στα 5,4 και 5,5 ppm ακόμα και έπειτα από προσθήκη της ελάχιστης ποσότητας π-κουμαρικού οξέος ή ναριγκενίνης (αναλογία 20:1). Επίσης, δεν φαίνεται να υπάρχουν αξιόλογες μετατοπίσεις στα πρωτόνια που σχετίζονται με τις καθαρές ουσίες του π-κουμαρικού οξέος και της ναριγκενίνης (περιοχή φασμάτων >6 ppm), ούτε και στις CH , CH_2 κορυφές του μορίου του αμύλου. Λαμβάνοντας

υπόψη τα ευρήματα αυτά κρίνεται πιθανή η αλληλεπίδραση και των 2 αυτών μορίων, που περιέχουν υδροξυλομάδες και καρβονυλομάδες, με το άμυλο ρυζιού μέσω διαμοριακών δεσμών ηλεκτροστατικού χαρακτήρα (όπως π.χ. δεσμοί υδρογόνου).



Σχήμα 53: Ενδεικτικό φάσμα ^1H -NMR για δείγματα αμύλου ρυζιού και μιγμάτων του με ναριγκενίνη, σε διάφορες w/w αναλογίες, που έχουν υποστεί υγροθερμική επεξεργασία και ξήρανση με κατάψυξη.

Δ. ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

1. Συμπεράσματα διατριβής

Τα κυριότερα συμπεράσματα που προέκυψαν στην παρούσα διατριβή συνοψίζονται στα εξής:

➤ Καταρχάς, διερευνήθηκε η θερμική σταθερότητα σε υδατικά εκχυλίσματα, που παρασκευάστηκαν από ξηρά φύλλα βοτάνων (δυόσμου και βασιλικού), μέσω μελέτης της μεταβολής που παρουσιάζουν οι συγκεντρώσεις τους σε αντιοξειδωτικά συστατικά, κατά τη διάρκεια παρατεταμένου βρασμού τους (40 min). Τα αποτελέσματα ήταν πολύ ενθαρρυντικά, καθώς προέκυψε ότι το ποιοτικό και ποσοτικό προφίλ των ουσιών που εξετάστηκαν παρέμεινε πρακτικά αμετάβλητο για τη διάρκεια του βρασμού που εφαρμόστηκε.

➤ Ο εμπλουτισμός λευκού μυλεμένου ρυζιού με συστατικά που προέρχονται από υδατικό εκχύλισμα δυόσμου έδειξε ότι η αύξηση της ποσότητας των περισσότερων από τα μελετούμενα συστατικά στο τελικό εμπλουτισμένο προϊόν βρέθηκε να είναι σε ισχυρά σημαντικά επίπεδα σε σχέση με τις ποσότητες ίδιων συστατικών που διέθετε το αρχικό λευκό ρύζι και το φαινόμενο αυτό αποδόθηκε εξ ολοκλήρου στην προσρόφηση και τη διάχυση των συστατικών του εκχυλίσματος στους κόκκους ρυζιού. Η κινητική προσρόφησης στο ρύζι που ακολούθησαν τα φαινοτικά και τα αντιοξειδωτικά συστατικά κατά τη διάρκεια του βρασμού εντός υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου φάνηκε να περιγράφεται καλύτερα από κινητική μηδενικής τάξης, ενώ δεν υπήρξαν ενδείξεις προσέγγισης συνθηκών κορεσμού ή ισορροπίας των προσροφούμενων συστατικών εντός των κόκκων ρυζιού έπειτα από 20 min βρασμού.

➤ Η χρήση εκχυλισμάτων δυόσμου αυξημένων συγκεντρώσεων σε συστατικά κατά τη διαδικασία ενυδάτωσης του ρυζιού έδειξε και πάλι ότι το λευκό ρύζι εμπλουτίστηκε με υψηλότερες ποσότητες φαινολικών συστατικών που προσρόφησε από τα εκχυλίσματα μέσω βρασμού (20 min). Ειδικότερα, όσο υψηλότερη ήταν η συγκέντρωση του υδατικού εκχυλίσματος δυόσμου κατά τη διάρκεια του βρασμού, τόσο υψηλότερη εμφανίστηκε να είναι η προσροφούμενη ποσότητα των επιμέρους φαινολικών συστατικών στο λευκό ρύζι, χωρίς ωστόσο να παρατηρείται μια

απολύτως αναλογική συσχέτιση. Επιπλέον, οι τιμές των συγκεντρώσεων ισορροπίας για μεμονωμένα συστατικά εντός του εμπλουτισμένου ρυζιού φάνηκαν να εντοπίζονται έπειτα από παρατεταμένη (σε θεωρητικά άπειρο χρόνο) υγραθερμική επεξεργασία ρυζάλευρου στις ίδιες αραιώσεις εκχυλίσματος που εμπλουτίστηκε και το λευκό ρύζι. Οι τιμές ισορροπίας που υπολογίστηκαν, φάνηκαν επίσης να είναι εξαρτώμενες από τη συγκέντρωση σε συστατικά του εκχυλίσματος εντός του οποίου πραγματοποιούνταν κάθε φορά η διαδικασία εμπλουτισμού.

➤ Όσον αφορά στη διάχυση των επιμέρους φαινολικών συστατικών (οξέα) στο ρύζι που μελετήθηκε κατά τη διάρκεια του εμπλουτισμού του με συστατικά εκχυλισμάτων δυόσμου διαφόρων συγκεντρώσεων, αυτή φάνηκε να προσεγγίζει με αρκετά καλή ακρίβεια τη διάχυση που περιγράφεται από το 2^ο νόμο του Fick. Επιπλέον, η διαχυτότητα των φαινολικών οξέων που εξετάστηκαν εμφανίστηκε να είναι αρκετά χαμηλότερη (1-2 τάξεις μεγέθους) σε σχέση με τη διαχυτότητα των μορίων νερού εντός των κόκκων ρυζιού, προφανώς λόγω του συγκριτικά μεγαλύτερου μεγέθους των φαινολικών μορίων σε σχέση με τα μόρια νερού. Το συγκριτικό μέγεθος των διαχεόμενων μορίων δεν φάνηκε ωστόσο να είναι ο πλέον καθοριστικός παράγοντας που επηρεάζει τη διαχυτότητά τους στο ρύζι, η οποία έδειξε να επηρεάζεται περισσότερο από τον βαθμό χημικής συγγένειας-έλξης (logP) των επιμέρους φαινολικών οξέων προς τα κυρίαρχα συστατικά του εμπλουτιζόμενου ρυζιού (αμυλοπηκτίνη-νερό).

➤ Η επανενυδάτωση εμπλουτισμένων με εκχύλισμα δυόσμου ξηρών κόκκων ρυζιού όταν πραγματοποιήθηκε με βρασμό σε περίσσεια καθαρού νερού φάνηκε να προκαλεί μεταφορά μάζας φαινολικών και άλλων αντιοξειδωτικών συστατικών εντός των κόκκων ρυζιού και από την επιφάνειά τους προς το ζέον νερό. Η μεταφορά μάζας εντός του ρυζιού για επιμέρους φαινολικά συστατικά που μελετήθηκαν βρέθηκε να έχει ως επικρατέστερο υποκινούντα μηχανισμό τη μοριακή διάχυση κατά Fick, ενώ για το μοντέλο που επιλέχθηκε να εφαρμοστεί παρατηρήθηκε καλή σύγκλιση μεταξύ των τιμών που υπολογίστηκαν και των πειραματικών συγκεντρώσεων των συστατικών στο εμπλουτισμένο ρύζι κατά τη διάρκεια της επανενυδάτωσης. Επιπλέον, το φαινόμενο της εκρόφησης των συστατικών προς το νερό βρασμού φάνηκε να ακολουθεί μια κινητική πρώτης τάξης και η συγκέντρωσή τους να προσεγγίζει επίπεδα ισορροπίας έπειτα από 15 min επανενυδάτωσης-επαναβρασμού του εμπλουτισμένου ρυζιού, ενώ παράλληλα η

κατακράτηση των συστατικών εντός των κόκκων ρυζιού έδειξε να παραμένει σε πολύ ικανοποιητικά επίπεδα, γεγονός που φανέρωσε ότι προφανώς έχουν δημιουργηθεί κάποιες ισχυρές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μακρομορίων και των εξετασθέντων φαινολικών συστατικών του εμπλουτισμένου ρυζιού. Επίσης, από την επανενυδάτωση που έλαβε χώρα σε προσαρμοσμένη αναλογία όγκου εμπλουτισμένου ρυζιού – νερού προέκυψε το συμπέρασμα ότι τα προσροφημένα συστατικά του βοτάνου στο ρύζι παρουσίασαν πολύ υψηλή θερμική σταθερότητα.

➤ Η διερεύνηση ύπαρξης αλληλεπιδράσεων μεταξύ του αμύλου ρυζιού (προτύπου) και επιμέρους φαινολικών συστατικών που περιέχονταν στο εκχύλισμα δυόσμου (πρότυπες ουσίες καφεϊκού οξέος, π-κουμαρικού οξέος, ναριγκενίνης) κατά τη διάρκεια της παρασκευής του εμπλουτισμένου ρυζιού έδειξε ότι τα μελετούμενα συστατικά τείνουν να ενταχθούν στο πλέγμα αμύλου-νερού πιθανότατα σχηματίζοντας δεσμούς H και δυνάμεις τύπου *van der Waals*. Η επιβεβαίωση έγινε με έμμεσο τρόπο (DSC), παρατηρώντας τις μεταβολές που επήλθαν στη θερμική σταθερότητα και τις ιδιότητες του πλέγματος αμύλου-νερού (ζελατινοποίηση, τήξη και ανακρυστάλλωση συμπλόκου αμυλόζης-λιπιδίων, ανακρυστάλλωση αμύλου έπειτα από μακρά ψύξη), έπειτα από προσθήκη καφεϊκού οξέος σε διάφορες αναλογίες μάζας. Επίσης, η μελέτη με χρήση φασματοσκοπίας NMR έδειξε ότι υπήρξαν αρκετές διαφορετικές περιοχές (υδροξυλομάδες) στο μόριο του αμύλου ρυζιού που εμφάνισαν σαφείς ενδείξεις επισύναψης δεσμών H με αντίστοιχα τμήματα των μορίων καφεϊκού οξέος, π-κουμαρικού οξέος και ναριγκενίνης.

➤ Εκτός των εμπλουτισμένων τροφίμων που παρασκευάστηκαν, έχοντας ως βάση το λευκό μυλεμένο ρύζι, πραγματοποιήθηκε και παρασκευή εμπλουτισμένου ζυμαρικού με τομάτα και βασιλικό. Το προϊόν που προέκυψε έδειξε ότι ενισχύθηκαν σημαντικά κάποια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά όπως π.χ. η γεύση, το άρωμα, ο δείκτης διόγκωσης, καθώς επίσης και τα χημικά-διαιτολογικά χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν σε σχέση με αυτά που διαθέτε το αντίστοιχο λευκό ζυμαρικό. Ειδικότερα, παρατηρήθηκαν αυξημένες τιμές του εμπλουτισμένου μακαρονιού σε σχέση με το λευκό καθ' όλη τη διάρκεια του βρασμού για τον δείκτη διόγκωσης και την προσρόφηση υγρασίας, που αποτελούν δείκτες αρεστότητας και βελτιωμένης υφής του προϊόντος, για το πολυφαινολικό περιεχόμενο, το αντιοξειδωτικό περιεχόμενο και τη συγκέντρωση του ζυμαρικού σε επιμέρους

φαινολικές ουσίες, γεγονός που φανερώνει ότι ο εμπλουτισμός ήταν επιτυχής. Επιπλέον, οι απώλειες αντιοξειδωτικών συστατικών λόγω εκρόφησης-εκχύλισής τους στο νερό βρασμού ακολούθησαν μια κινητική μείωσης μηδενικής τάξης και κυμάνθηκαν σε χαμηλά επίπεδα, οπότε κατά τη στιγμή που το εμπλουτισμένο ζυμαρικό ήταν έτοιμο προς βρώση (11 min βρασμού) φάνηκε ότι το μεγαλύτερο μέρος των φαινολικών και αντιοξειδωτικών συστατικών, με τα οποία είχε αρχικά εμπλουτιστεί, παρέμειναν εντός του τροφίμου.

2. Προοπτικές διατριβής

Οι πιο ενδιαφέρουσες προοπτικές της παρούσας διατριβής για μετέπειτα έρευνα και τη βιομηχανία συνοψίζονται στις εξής:

- Η θερμική σταθερότητα που επέδειξαν τα συστατικά των εκχυλισμάτων βοτάνων κατά τον παρατεταμένο βρασμό θα μπορούσε να αξιοποιηθεί για ποικίλες εφαρμογές που περιλαμβάνουν θέρμανση εκχυλισμάτων ή και παράλληλο εμπλουτισμό τροφίμων (π.χ. αμυλούχα) με αυτά. Η αξιοποίηση των εκχυλισμάτων ουσιαστικά μπορεί να λαμβάνει χώρα μέχρι εξαντλήσεως των ποσοτικών αποθεμάτων τους σε βιοδραστικά συστατικά, καθότι η θερμική καταπόνηση μπορεί να θεωρηθεί αμελητέα για αρκετά μεγάλο χρόνο θέρμανσης.
- Η βιομηχανία τροφίμων θα μπορούσε να υιοθετήσει και να βελτιώσει την προτεινόμενη τεχνική εμπλουτισμού του ρυζιού με αντιοξειδωτικά, η οποία παρουσιάζει αρκετές ομοιότητες με την εφαρμοζόμενη τεχνική υγροθερμικής επεξεργασίας του έμφλοιου ρυζιού (parboiling), ούτως ώστε να παραχθούν νέα, καινοτομικά τρόφιμα, που να έχουν ως βάση τους το λευκό ρύζι. Τα τρόφιμα αυτά μπορούν να είναι εμπλουτισμένα και με άλλα είδη βιοδραστικών συστατικών, γεύσεις, αρώματα και φυσικές χρωστικές ουσίες που να προέρχονται από φυτικά εκχυλίσματα, τα οποία εξασφαλίζουν οφέλη για την ανθρώπινη υγεία, καθώς και υψηλή εμπορική αξία και προοπτική του τροφίμου για τη βιομηχανία. Επιπλέον, η βιομηχανία θα χρειαζόταν να προβεί σε πρακτικά ελάχιστες προσθήκες εξοπλισμού, μια και θα ήταν δυνατή σε μεγάλο βαθμό η αξιοποίηση του υπάρχοντος εξοπλισμού για την παραγωγή υγροθερμικά επεξεργασμένου ρυζιού (parboiled).
- Επιπλέον, η εφαρμογή της προτεινόμενης τεχνικής εμπλουτισμού ρυζιού εντός εκχυλισμάτων με αυξημένες συγκεντρώσεις σε συστατικά παρουσιάζει ιδιαίτερο

ενδιαφέρον για τη βιομηχανία καθώς δίνει τη δυνατότητα να παραχθεί εμπλουτισμένο ρύζι γρήγορου βρασμού ή και έτοιμο προς βρώση (ready-to-eat) έπειτα από επιλογή κατάλληλων συνθηκών για τις παραμέτρους της συγκέντρωσης του υδατικού εκχυλίσματος βοτάνου και του χρόνου βρασμού. Αυτό έχει ως συνέπεια να μπορεί να παραχθεί εμπλουτισμένο ρύζι με προσαρμοσμένη (επιθυμητή) περιεκτικότητα σε βιοδραστικά συστατικά και προσαρμοσμένο βαθμό καταπόνησης των κόκκων ρυζιού (ζελατινοποίηση, διόγκωση, χρόνος ξήρανσης - οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τελικού προϊόντος).

- Με βάση την προτεινόμενη μεθοδολογία που αφορά στη μελέτη διαχυτότητας συστατικών στο ρύζι κατά την υγροθερμική επεξεργασία, θα μπορούσε να επεκταθεί η έρευνα και στη μελέτη της συγκριτικής διαχυτότητας συστατικών που ανήκουν σε άλλες ομάδες πέραν των απλών φαινολικών οξέων (π.χ. φλαβονοειδή, βιταμίνες, ιχνοστοιχεία) και ενδεχομένως, με βάση τη δομή τους, να μπορεί να υπάρξει μια πρόβλεψη της προσροφησιμότητας που θα εμφανίζουν σε διάφορα αμυλούχα υποστρώματα ανάλογα με τις συνθήκες εμπλουτισμού που επιλέγονται.
- Η προτεινόμενη τεχνική ενυδάτωσης εμπλουτισμένου ρυζιού σε προσαρμοσμένη ποσότητα νερού θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ενός εμπλουτισμένου προϊόντος γρήγορου βρασμού που να διατηρεί πρακτικά αναλλοίωτο το πολυφαινολικό και το αντιοξειδωτικό περιεχόμενο μεταξύ του ξηρού και του ενυδατωμένου προϊόντος.
- Η γνώση των αλληλεπιδράσεων που δημιουργούνται στο πλέγμα αμύλου-νερού-φαινολικών συστατικών κατά τη διάρκεια της θέρμανσης θα μπορούσε να αξιοποιηθεί για την παρασκευή νέων αμυλούχων τροφίμων που παρουσιάζουν ξεχωριστές οργανοληπτικές-φυσικοχημικές και διατροφολογικές ιδιότητες, για παράδειγμα μειωμένο βαθμό ζελατινοποίησης του περιεχόμενου αμύλου σε κάποιο αμυλούχο σνακ, περιορισμένη ανακρυστάλλωση (μπαγιάτεμα) του προϊόντος κατά τη μακρά αποθήκευσή του κ.α.
- Η προτεινόμενη τεχνική παρασκευής χειροποίητων ζυμαρικών έχει εφαρμοστεί στην παραδοσιακή μαγειρική, ωστόσο θα μπορούσε να βελτιωθεί, ώστε να προκύψουν προϊόντα υψηλής διατροφικής αξίας, που να έχουν υψηλό ενεργειακό – θερμιδικό περιεχόμενο, σε συνδυασμό με χρήσιμα για τον οργανισμό φυσικά συστατικά που να προσδίδουν στο τρόφιμο ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και επιπλέον εμπορική αξία.

E. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη Βιβλιογραφία

1. Abdel-Kader, Z.M. (1991). A study of the apparent diffusion coefficients for ascorbic acid losses from peas during blanching in water. *Food Chemistry*, 40, 137-145.
2. Acosta-Estrada, B.A., Gutierrez-Urbe, J.A., & Serna-Saldivar, S.O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152, 46-55.
3. Adam, A., Crespy, V., Levrat-Verny, M.-A., Leenhardt, F., Leuillet, M., Demigne, C., & Remesy, C. (2002). The bioavailability of ferulic acid is governed primarily by the food matrix rather than its metabolism in intestine and liver in rats. *The Journal of Nutrition*, 132, 1962-1968.
4. Ades, H., Kesselman, E., Ungar, Y., & Shimoni, E. (2012). Complexation with starch for encapsulation and controlled release of menthone and menthol. *Food Science & Technology*, 45, 277-288.
5. Ahromit, A., Ledward, D.A., Niranjana, K. (2006). High pressure induced water uptake characteristics of Thai glutinous rice. *Journal of Food Engineering*, 72, 225-233.
6. Akdogan, M., Tamer, M.N., Cure, E., Cure, M.C., Koroglu, B.K., & Delibas, N. (2007). Effect of spearmint (*Mentha spicata Labiatae*) tea on androgen levels in women with hirsutism, *Phytotherapy Research*, 21, 444-447.
7. Almajano, M.P., Delgado, M.E., & Gordon, M.H. (2007). Changes in the antioxidant properties of protein solutions in the presence of epigallocatechin gallate. *Food Chemistry*, 101, 126-130.
8. Arnous, A., Makris, D.P., & Kefalas, P. (2002). Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. *Journal of Food Composition & Analysis*, 15, 655-665.
9. Arroqui, C., Rumsey, T.R., Lopez, A., & Virseda, P. (2001). Effect of different soluble solids in the water on the ascorbic acid losses during water blanching of potato tissue. *Journal of Food Engineering*, 47, 123-126.
10. Arts, M.J.T.J., Haenen, G.R.M.M., Wilms, L.C., Beetstra, S.A.J.N., Heijnen, C.G.M., Voss, H.P., et al. (2002). Interactions between flavonoids and proteins: effect of the total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50(5), 1184-1187.
11. Arvisenet, G., Le Bail, P., Voilley, A., & Cayot, N. (2002a). Influence of physicochemical interactions between amylose and aroma compounds on the retention of aroma in food-like matrices. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50, 7088-7093.
12. Arvisenet, G., Voilley, A., & Cayot, N. (2002b). Retention of aroma compounds in starch matrices: competitions between aroma compounds toward amylose and amylopectin. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50, 7345-7349.

13. Askar, A., Heikal, Y., Ghonaim, S.M., Abdel-Fadeel, M.G., Ali, A.M., & Abd El-Gaied, I.O. (1996). Osmotic and solar dehydration of peach fruits. *Fruit Processing*, 7, 258-262.
14. Bakalis, S., Kyritsi, A., Karathanos, V.T., & Yanniotis, S. (2009). Modeling of rice hydration using finite elements. *Journal of Food Engineering*, 94, 321-325.
15. Bakshi, A.S., & Singh, R.P. (1980). Kinetics of water diffusion and starch gelatinization during rice parboiling. *Journal of Food Science*, 45, 1387-1392.
16. Bao, J.S., & Corke, H. (2002). Pasting properties of γ -irradiated rice starches as affected by pH. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50, 336-341.
17. Barlow, K.K., Buttrose, M.S., Simmonds, D.H., & Vesik, M. (1973). The nature of the starch - protein interface in wheat endosperm. *Cereal Chemistry*, 50, 443-454.
18. Barros, F., Awika, J.M., & Rooney, L.W. (2012). Interaction of tannins and other sorghum phenolic compounds with starch and effects on in vitro starch digestibility. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 60, 11609-11617.
19. Bekiroglu, S., Kenne, L., & Sandstrom, C. (2003). ^1H -NMR studies of maltose, maltoheptaose, α -, β -, and γ -cyclodextrins, and complexes in aqueous solutions with hydroxy protons as structural probes. *The Journal of Organic Chemistry*, 68(5), 1671-1678.
20. Bello, M.O, Tolaba, M.P., & Suarez, C. (2004). Factors affecting water uptake of rice grain during soaking. *LWT - Food Science & Technology*, 37(8), 811-816.
21. Bello, M.O, Tolaba, M.P., & Suarez, C. (2007). Water absorption and starch gelatinization in whole rice grain during soaking. *LWT - Food Science & Technology*, 40, 313-318.
22. Bello, M.O, Tolaba, M.P., Aguerre, R.J., & Suarez, C. (2010). Modeling water uptake in a cereal grain during soaking. *Journal of Food Engineering*, 97, 95-100.
23. Benedec, D., Vlase, L., Hanganu, D., & Oniga, I. (2012). Antioxidant potential and polyphenolic content of Romanian *Ocimum basilicum*. *Digest Journal of Nanomaterial & Biostructures*, 7(3), 1263-1270.
24. Bhagwati, P., Gokhan, B., & Zhongli, P. (2011). Moisture diffusivity in rice components during absorption and desorption. *Drying Technology*, 29, 939-945.
25. Bhattacharya, S. (1995). Kinetics of hydration of raw and roasted corn semolina. *Journal of Food Engineering*, 25, 21-30.
26. Biais, B., Le Bail, P., Robert, P., Pontoire, B., & Buleon, A. (2006). Structural and stoichiometric studies of complexes between aroma compounds and amylose. Polymorphic transitions and quantification in amorphous and crystalline areas. *Carbohydrate Polymers*, 66, 306-315.
27. Biliaderis, C.G., & Galloway, G. (1989). Crystallization behaviour of amylose V-complexes: structure - property relationships. *Carbohydrate Research*, 189, 31-48.

28. Biliaderis, C.G., Page, C.M., Slade, L., & Sirrett, R.R. (1985). Thermal behavior of amylose-lipid complexes. *Carbohydrate Polymers*, 5, 367-389.
29. Biliaderis, C.G., Page, C.M., & Maurice, T.J. (1986a): On the multiple melting transitions of starch/monoglyceride systems. *Food Chemistry*, 22, 279-295.
30. Biliaderis, C.G., Page, C.M., Maurice, T.J., & Juliano, B.O. (1986b). Thermal characterization of rice starches: a polymeric approach to phase transitions of granular starch. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 34, 6-14.
31. Biney, K., & Beta, T. (2014). Phenolic profile and carbohydrate digestibility of durum spaghetti enriched with buckwheat flour and bran. *LWT - Food Science & Technology*, 57, 569-579.
32. Bokkenheuser, V.D., Shackleton, C.H., & Winter, J. (1987). Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal Bacteroides from humans. *The Biochemical Journal*, 248(3), 953-956.
33. Bona, E., da Silva, R.S.S.F., Borsato, D., Silva, L.H.M., & Fidelis, D.A.S. (2010). Multicomponent diffusion during Prato cheese ripening: mathematical modeling using finite element method. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(4), 955-963.
34. Borneo, R., & Aguirre, A. (2008). Chemical composition, cooking quality, and consumer acceptance of pasta made with dried amaranth leaves flour. *LWT - Food Science & Technology*, 41, 1748-1751.
35. Boroski, M., de Aguiar, A.C., Boeing, J.S., Rotta, E.M., Wibby, C.L., Bonafe, E.G., de Souza, N.E., & Visentainer, J.V. (2011). Enhancement of pasta antioxidant activity with oregano and carrot leaf. *Food Chemistry*, 125, 696-700.
36. Bourvellec, C.L., Bouchet, B., & Renard, C.M.G.C. (2005). Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell wall material. Part III: study on model polysaccharides. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1725, 10-18.
37. Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317-333.
38. Bruneel, C., Pareyt, B., Brijs, K., & Delcour, J.A. (2010). The impact of the protein network on the pasting and cooking properties of dry pasta products. *Food Chemistry*, 120(2), 371-378.
39. Bruun, S.W. (2006). Protein – lipid - carbohydrate interactions and importance to food quality. Spectroscopic detection of macromolecular interactions. PhD Thesis.
40. Bugianesi, R., Catasta, G., Spigno, P., D'Uva, A., & Maiani, G. (2002). Naringenin from cooked tomato paste is bioavailable in men. *Journal of Nutrition*, 132, 3349-3352.
41. Buleon, A., Colonna, P., Planchot, V., & Ball, S. (1998). Mini review. Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 23, 85-112.

42. Bulpin, P.V., Welsh, E.J., & Morris, E.R. (1982). Physical characterization of amylose-fatty acid complexes in starch granules and in solution. *Starch/Starke*, 34(10), 335-339.
43. Bunea, A., Andjelkovic, M., Socaciu, C., Bobis, O., Neacsu, M., Verhe, R., et al. (2008). Total and individual carotenoids and phenolic acids content in fresh, refrigerated and processed spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Food Chemistry*, 108, 249-256.
44. Bunzel, M., Allerdings, E., Sinwell, V., Ralph, J., & Steinhart, H. (2002). Cell wall hydroxycinnamates in wild rice (*Zizania aquatica* L.) insoluble dietary fibre. *European Food Research & Technology*, 214, 482-488.
45. Buttriss, J.L., & Stokes, C.S. (2008). Dietary fibre and health: an overview. *Nutrition Bulletin*, 33(3), 186-200.
46. Capecka, E., Mareczek, A., & Leja, M. (2005). Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. *Food Chemistry*, 93, 223-226.
47. Cardoso, M.B., Putaux, J.L., Samios, D., & Silveira, N.P. (2007). Influence of alkali concentration on the deproteinization and/or gelatinization of rice starch. *Carbohydrate Polymers*, 70, 160-165.
48. Casiraghi, M.C., Brighenti, F., Pelegrini, N., Leopardi, E., & Testolin, G. (1993). Effect of processing on rice starch digestibility: evaluated by in vivo and in vitro methods, *Journal of Cereal Science*, 17, 147-154.
49. Chai, Y., Wang, M., & Zhang, G. (2013). Interaction between amylose and tea polyphenols modulates the postprandial glycemic response to high-amylose maize starch. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 61, 8608-8615.
50. Cheevitsopon, E., & Noomhorm, A. (2011). Kinetics of hydration and dimensional changes of brown rice. *Journal of Food Processing & Preservation*, 35, 840-849.
51. Chen, Z.-Y., Zhu, Q.Y., Tsang, D., & Huang, Y. (2001). Degradation of green tea catechins in tea drinks. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 49, 477-482.
52. Chesson, A., Provan, G.J., Russell, W.R., Scobbie, L., Richardson, A.J., & Stewart, C. (1999). Hydroxycinnamic acids in the digestive tract of livestock and humans. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 79(3), 373-378.
53. 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, 543-558.
54. Chrastil, J. (1990). Protein – starch interactions in rice grains. Influence of storage on oryzenin and starch. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 38, 1804-1809.
55. Christofides, J.C., & Davies, D.B. (1985). Simple ¹H-NMR observation of cooperative hydrogen bonding in O-3'-sucrose derivatives. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 34(11), 887-890.

56. Cox, S., Gupta, S., & Abu-Ghannam, N. (2012). Effect of different rehydration temperatures on the moisture, content of phenolic compounds, antioxidant capacity and textural properties of edible Irish brown seaweed. *LWT – Food Science & Technology*, 47, 300-307.
57. Crank, J. (1975). The mathematics of diffusion. New York: Oxford Science Publications 2nd edition.
58. Crozier, A., Lean, M.E.J., McDonald, M.S., & Black, C. (1997). Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce, and celery. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 45, 590-595.
59. Cu, Y., & Saltzman, W.M. (2009). Mathematical modeling of molecular diffusion through mucus. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61, 101-114.
60. Dastmalchi, K., Damien Dorman, H.J., Oinonen, P.P., Darwis, Y., Laakso, I., & Hiltunen, R. (2008). Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *Food Science & Technology*, 41, 391–400.
61. da Silva, J.A.L., Castro, S.M., & Delgadillo, I. (2002). Effect of gelatinization and starch-emulsifier interaction on aroma release from starch-rich model systems. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50, 1976-1984.
62. Debnath, S., Hemavathy, J., Bhat, K.K., & Rastogi, N.K. (2004). Rehydration characteristics of osmotic pretreated and dried onion. *Food and Bioproducts Processing*, 82(C4), 304-310.
63. Delchier, N., Reich, M., & Renard, C.M.G.C. (2012). Impact of cooking methods on folates, ascorbic acid and lutein in green beans (*Phaseolus vulgaris*) and spinach (*Spinacea oleracea*). *LWT – Food Science & Technology*, 49, 197-201.
64. De Maria, C.A.B., Trugo, L.C., De Mariz e Miranda, L.S., & Salvador, E. (1998). Stability of 5-caffeoylquinic acid under different conditions of heating. *Food Research International*, 31, 475-477.
65. Deshpande, S.S., & Salunkhe, D.K. (1982). Interactions of tannic acid and catechin with legume starches. *Journal of Food Science*, 47, 2080-2081.
66. de Vries, J.H., Hollman, P.C., Van Amarsfoort, I., Olthof, M.R., & Katan, M.B. (2001). Red wine is a poor source of bioavailable flavonols in men. *Journal of Nutrition*, 131, 745–748.
67. Dexter, J.E., Matsuo, R.R., & Macgregor, A.W. (1985). Relationship of instrumental assessment of spaghetti cooking quality to the type and the amount of material rinsed from cooked spaghetti. *Journal of Cereal Science*, 3(1), 39-53.
68. Dury-Brun, C., Chali r, P., Desobry, S., & Voilley, A. (2007). Multiple mass transfers of small volatile molecules through flexible food packaging. *Food Reviews International*, 23, 199-255.
69. Duta, D., Brownsey, G.J., Noel, T.R., & Ring, S.G. (2009). Formation of crystalline complexes of amylose with some selected flavor compounds. *Polish Journal of Food & Nutrition Sciences*, 59(1), 29-33.

70. Eliasson, A.C., Carlson, T.L., Larsson, K., & Mieziš, Y. (1981). Some effects of starch lipids on the thermal and rheological properties of wheat starch. *Starch*, 33, 130-134.
71. Eliasson, A.-C., & Krog, N. (1985). Physical properties of amylose-monoglyceride complexes. *Journal of Cereal Science*, 3, 239-248.
72. Eliasson, A.-C. (1994). Interactions between starch and lipids studied by DSC. *Thermochimica Acta*, 246(2), 343-356.
73. Engels, C., Hendrickx, M., De Samblanx, S., De Gryze, I., & Tobback, P. (1986). Modeling water diffusion during long-grain rice soaking. *Journal of Food Engineering*, 5, 55-73.
74. Falk, H., & Stanek, M. (1997). Two-dimensional ¹H and ¹³C NMR spectroscopy and the structural aspects of amylose and amylopectin. *Monatshefte für Chemie*, 128, 777-784.
75. FAO. (1996). Food and Agriculture Organization. Technical consultation on food fortification: technology and quality control. Report of a FAO technical meeting held in Rome, 20-23 November 1995, Rome.
76. FAO/WHO (1994). Codex Alimentarius, Volume 4, 2nd edition.
77. Fares, C., Platani, C., Baiano, A., & Menga, V. (2010). Effect of processing and cooking on phenolic acid profile and antioxidant capacity of durum wheat pasta enriched with debranning fractions of wheat. *Food Chemistry*, 119, 1023-1029.
78. Faulds, C.B., & Williamson, G. (1999). The role of hydroxycinnamates in the plant cell wall. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 79, 393-395.
79. Frei, M., & Becker, K. (2005). On Rice, Biodiversity & Nutrients, Institute of Animal Production in the Tropics and Subtropics (480B), Department of Aquaculture Systems and Animal Nutrition, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany, 17 March.
80. Frost, G.S., Brynes, A.E., Dhillon, W.S., Bloom, S.R., & McBurney, M.I. (2003). The effects of fiber enrichment of pasta and fat content on gastric emptying, GLP-1, glucose, and insulin responses to a meal. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57, 293-298.
81. Funami, T., Kataoka, Y., Omoto, T., Goto, Y., Asai, I., & Nishinari, K. (2005). Effects of non-ionic polysaccharides on the gelatinization and retrogradation behavior of wheat starch. *Food Hydrocolloids*, 19, 1-13.
82. Gajula, D., Verghese, M., Boateng, J., Walker, L.T., Shackelford, L., Mentreddy, S.R., & Cedric, S. (2009). Determination of total phenolics, flavonoids and antioxidant and chemopreventive potential of basil (*Ocimum basilicum* L. and *Ocimum tenuiflorum* L.). *International Journal of Cancer Research*, ISSN 1811-9727.
83. Gallagher, E., Gormley, T.R., & Arendt, E.K. (2004). Recent advances in the formulation of gluten-free cereal based products, *Trends in Food Science & Technology*, 15, 143-150.

84. George, S.C., & Thomas, S. (2001). Transport phenomena through polymeric systems. *Progress in Polymer Science*, 26, 985-1017.
85. Gliszczynska-Swiglo, A., Ciska, E., Pawlak-Lemanska, K., Chmielewski, J., Borkowski, T., & Tyrakowska, B. (2006). Changes in the content of health-promoting compounds and antioxidant activity of broccoli after domestic processing. *Food Additives & Contaminants*, 23(11), 1088-1098.
86. Godet, M.C., Buleon, A., Tran, V., & Colonna, P. (1993). Structural features of fatty acid-amylose complexes. *Carbohydrate Polymers*, 21, 91-95.
87. Godet, M.C., Bizot, H., & Buléon, A. (1995). Crystallization of amylose-fatty acid complexes prepared with different amylose chain lengths. *Carbohydrate Polymers*, 21, 47-52.
88. Goldberg, D.M., Tsang, E., Karumanchiri, A., Diamandis, E.P., Soleas, G. & Ng, E. (1996). Method to assay the concentrations of phenolic constituents of biological interest in wines. *Analytical Chemistry*, 68, 1688-1694.
89. Gomi, Y., Fukuoka, M., Takeuchi, S., Mihori, T., & Watanabe, H. (1996). Effect of temperature and moisture content on water diffusion coefficients in rice starch/water mixtures. *Food Science & Technology International*, 2, 171-173.
90. Gomi, Y., Fukuoka, M., Mihori, T., & Watanabe, H. (1998). The rate of starch gelatinization as observed by PFG-NMR measurement of water diffusivity in rice starch/water mixtures. *Journal of Food Engineering*, 36, 359-369.
91. Goufo, P., & Trindade, H. (2014). Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, c-oryzanol, and phytic acid. *Food Science & Nutrition*, 2(2), 75-104.
92. Gropper, S.S., Smith, J.L., Groff, J.L. (2004). *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. 4th ed., Belmont, CA: Thomson/Wadsworth.
93. Guichard, E. (2002). Interactions between flavor compounds and food ingredients and their influence on flavor perception. *Food Reviews International*, 18(1), 49-70.
94. Gunaratne, A., Ranaweera, S., & Corke, H. (2007). Thermal, pasting, and gelling properties of wheat and potato starches in the presence of sucrose, glucose, glycerol, and hydroxypropyl beta-cyclodextrin. *Carbohydrate Polymers*, 70, 112-122.
95. Guzar, I., Ragaei, S., & Seetharaman, K. (2012). Mechanism of hydrolysis of native and cooked starches from different botanical sources in the presence of tea extracts. *Journal of Food Science*, 77(11), 192-196.
96. Hamaguchi, T., Ono, K., Murase, A., & Yamada, M. (2009). Phenolic compounds prevent Alzheimer's pathology through different effects on amyloid- β aggregation pathway. *The American Journal of Pathology*, 175(6), 2557-2565.
97. Hamer, R.J., & Hosene, R.C. (1998). *Interactions: the key to cereal quality*, American Association of Cereal Chemists. Saint-Paul, Minnesota.
98. Hamilton, R.S. (2006). How many rice varieties are there? *Rice Today*, October - December.

99. Han, L., Qi, S., Lu, Z., & Li, L. (2012). Effects of immature persimmon (*Diospyros Kaki* Linn. F.) juice on the pasting, textural, sensory and color properties of rice noodles. *Journal of Texture Studies*, 43, 187-194.
100. Harukaze, A., Murata, M., & Homma, S. (1999). Analyses of free and bound phenolics in rice. *Food Science & Technology Research*, 5(1), 74-79.
101. Heinemann, C., Conde-Petit, B., Nuessli, J., & Escher, F. (2001). Evidence of starch inclusion complexation with lactones. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 49, 1370-1376.
102. Heinemann, C., Escher, F., & Conde-Petit, B. (2003). Structural features of starch-lactone inclusion complexes in aqueous potato starch dispersions: the role of amylose and amylopectin. *Carbohydrate Polymers*, 51, 159-168.
103. Heinemann, C., Zinsli, M., Renggli, A., Escher, F., & Conde-Petit, B. (2005). Influence of amylose-flavor complexation on build-up and breakdown of starch structures in aqueous food model systems. *Food Science & Technology*, 38, 885-894.
104. Hendrickx, M., Engels, C., Tobback, P., & Johns, P. (1986). Transmission line modeling (TLM) of water diffusion in white rice. *Journal of Food Engineering*, 5, 269-285.
105. Henry J., & Chapman C. (2002). The nutrition handbook for food processors, 2002 Woodhead Publishing, CRC press.
106. Henry, R.J. (1996). Cereal Grain Quality (1st ed., pp. 55, 65-66), Chapman and Hall, UK.
107. Hizukuri, S. (1996). Starch: Analytical aspects. In: Eliasson A.C. (ed.) *Carbohydrates in Food*. New York: Marcel Dekker, Inc., 347-429.
108. Hoffpauer, D.W., & Wright, S.L. (1994). Enrichment of rice, In *Rice Science and Technology*. ed. Marshall, W.E., & Wadsworth, J.I., New York: Marcel Dekker.
109. Hollman, P.C.H., Buysman, M.N.C.P., van Gameren, Y., Cnossen, E.P.J., de Vries, J.H.M. & Katan, M.B. (1999). The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radical Research*, 6, 569-573.
110. Honesey, R.C. (1986). Principles of Cereal Science and Technology. The American Association of Cereal Chemists Inc, USA, 1st edition.
111. Hu, E.A., Pan A., Malik V., & Sun Q. (2012). White rice consumption and risk of type 2 diabetes: meta-analysis and systematic review. *British Medical Journal*, 344:e1454.
112. Ibanez, A.M., Wood, D.F., Yokoyama, W.H., Park, I.M., Tinoco, M.A., Hudson, C.A., McKenzie, K.S., & Shoemaker, C.F. (2007). Viscoelastic properties of waxy and nonwaxy rice flours, their fat and protein-free starch, and the microstructure of their cooked kernels. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 55, 6761-6771.
113. Igoumenidis, P.E., Lekka, E.G., & Karathanos, V.T. (2016). Fortification of white milled rice with phytochemicals during cooking in aqueous extract of

- Mentha spicata* leaves. An adsorption study. *LWT – Food Science & Technology*, 65, 589-596.
114. Islas-Rubio, A.R., Calderon de la Barca, A.M., Cabrera-Chavez, F., Cota-Gastelum, A.G., & Beta, T. (2014). Effect of semolina replacement with a raw: popped amaranth flour blend on cooking quality and texture of pasta. *LWT – Food Science & Technology*, 57, 217-222.
 115. Itthisoponkul, T., Mitchell, J.R., Taylor, A.J., & Farhat, I.A. (2007). Inclusion complexes of tapioca starch with flavor compounds. *Carbohydrate Polymers*, 69, 106-115.
 116. Ivanov, V., Carr, A.C., & Frei, B. (2001). Red wine antioxidants bind to human lipoproteins and protect them from metal-ion dependent and independent oxidation. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 49(9), 4442-4449.
 117. Jason, A.C., & Peters, G.R. (1973). Analysis of bimodal diffusion of water in fish muscle. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 6, 512-521.
 118. Johnson, L.E. (1995). IFT Annual Meeting, Technological aspects of food fortification. [Symposium], p. 92.
 119. Jouquand, C., Ducruet, V., & Le Bail, P. (2006). Formation of amylose complexes with C6-aroma compounds in starch dispersions and its impact on retention. *Food Chemistry*, 96, 461-470.
 120. Jovanovich, G., & Anon, M.C. (1999). Amylose-lipid complex dissociation. A study of the kinetic parameters. *Biopolymers*, 49, 81-89.
 121. Juliano, B.O. (1985). Rice Chemistry and Technology, The American Association of Cereal Chemists Inc, USA, 2nd edition.
 122. Juliano, B.O., Food and Agriculture Organization of the United Nations., & International Rice Research Institute. (1993). Rice in human nutrition, FAO food and nutrition series, Rome: Published with the cooperation of the International Rice Research Institute, Food and Agriculture Organization of the United Nations.
 123. Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.-P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 47(10), 3954-3962.
 124. Kaliora, A.C., Stathopoulou, M.G., Triantafillidis, J.K., Dedoussis, G.V., & Andrikopoulos, N.K. (2007). Chios mastic treatment of patients with active Crohn's disease. *World Journal of Gastroenterology*, 13(5), 748-753.
 125. Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Pyriochou, V., Peristeraki, A., & Karathanos, V.T. (2012). Bioactive phytochemicals in industrial tomatoes and their processing byproducts. *LWT- Food Science & Tecnology*, 49, 213-216.
 126. Kalogeropoulos, N., Konteles, S.J., Troullidou, E., Mourtzinis, I., & Karathanos, V.T. (2009). Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food Chemistry*, 116, 452-461.

127. Kanatt, S.R., Chander, R., & Sharma, A. (2007). Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. *Food Chemistry*, 100, 451-458.
128. Kandil, A., Li, J., Vasanthan, T., & Bressler, D.C. (2012). Phenolic acids in some cereal grains and their inhibitory effect on starch liquefaction and saccharification. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 60, 8444-8449.
129. Kapanidis, A.N., & Lee, T.C. (1996). Novel method for the production of color - compatible ferrous sulfate - fortified simulated rice through extrusion. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 44(2), 522-525.
130. Karmas, E., & Harris, R.S., (1988). Nutritional evaluation of food processing, an Avi Book, NY, USA.
131. Karunaratne, R., & Zhu, F. (2016). Physicochemical interactions of maize starch with ferulic acid. *Food Chemistry*, 199, 372-379.
132. Karwowska, K. (1997). Influence of storage methods of fresh basil (*Ocimum basilicum* L.) and tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) on the quality of oil compositions. *Horticulture*, 18, 127-139.
133. Kashaninejad, M., Maghsoudlou, Y., Rafiee, S., & Khomeiri, M. (2007). Study of hydration kinetics and density changes of rice (Tarom Mahali) during hydrothermal processing. *Journal of Food Engineering*, 79, 1383-1390.
134. Kiselova, Y., Ivanova, D., Chervenkov, T., Gerova, D., Galunska, B., & Yankova, T. (2006). Correlation between in vitro antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs. *Phytotherapy Research*, 20(11), 961-965.
135. Kivilompolo, M., & Hyotylainen, T. (2007). Comprehensive two-dimensional liquid chromatography in analysis of Lamiaceae herbs: characterisation and quantification of antioxidant phenolic acids. *Journal of Chromatography A*, 1145, 155-164.
136. Ko, H., Shim, G., Kim, Y. (2005). Evidences that β -lactose forms hydrogen bonds in DMSO. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 26(12), 2001-2006.
137. Koca, N., & Karaman, S. (2015). The effects of plant growth regulators and L-phenylalanine on phenolic compounds of sweet basil. *Food Chemistry*, 166, 515-521.
138. Kondo, K., Mitsuda, H., & Iwai, K. (1950). Studies on the enrichment of parboiled rice. *Vitamins (Japan)*, 3, 155.
139. Kourimska, L., Sabolova, M., Dvorakova, B., Roubickova, I., Panek, J., & Novy, P. (2014). Antioxidant activity of Lamiaceae herbs grown under organic and conventional farming. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 45(1), 19-25.
140. Kozempel, M.F., Tomasula, P.M., & Craig, J.C. (1991). Correlation of moisture and oil concentration in French fries. *Food Science & Technology*, 24(5), 445-448.
141. Krishnan, J.G., Menon, R., Padmaja, G., Sajeev, M.S., & Moorthy, S.N. (2012). Evaluation of nutritional and physico-mechanical characteristics of dietary

- fiber-enriched sweet potato pasta. *European Food Research & Technology*, 234, 467-476.
142. Krokida, M.K., Philippopoulos, C. (2005). Rehydration of dehydrated foods. *Drying Technology*, 23, 799-830.
 143. Kroll, J., & Rawel, H.M. (2001). Reactions of plant phenols with myoglobin: influence of chemical structure of the phenolic compounds. *Journal of Food Science*, 66(1), 48-58.
 144. Kyritsi, A., Tzia, C., & Karathanos, V.T. (2011). Vitamin fortified rice grain using spraying and soaking methods. *Food Science and Technology*, 44, 312-320.
 145. Lafay, S., & Gil-Izquierdo, A. (2008). Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Reviews*, 7, 301-311.
 146. Lamberts, L., De Bie, E., Vandeputte, G.E., Veraverbeke, W.S., Derycke, V., De Man, W., & Delcour, J.A. (2007). Effect of milling on colour and nutritional properties of rice. *Food Chemistry*, 100, 1496-1503.
 147. Lazarides, H.N., Gekas, V., & Mavroudis, N. (1997). Apparent mass diffusivities in fruit and vegetable tissues undergoing osmotic processing. *Journal of Food Engineering*, 31, 315-324.
 148. Le Bail, P., Rondeau, C., & Buleon, A. (2005). Structural investigation of amylose complexes with small ligands: helical conformation, crystalline structure and thermostability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 35, 1-7.
 149. Lee, S.-W., & Lee, J.-H. (2009). Effects of oven-drying, roasting, and explosive puffing process on isoflavone distributions in soybeans. *Food Chemistry*, 112(2), 316-320.
 150. Lee, J.-Y., Jeong, K.-W., & Kim, Y. (2011). Epigallocatechin 3-gallate binds to human salivary α -amylase with complex hydrogen bonding interactions. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(7), 2222-2226.
 151. Lewicki, P.P., Witrowa, R.D., Pomaranska, L.W., & Nowak, D. (1998). Rehydration properties of dry onion. *International Journal of Food Properties*, 1, 275-290.
 152. Li, N., Taylor, L.S., Ferruzzi, M.G., & Mauer, L.J. (2012). Kinetic study of catechin stability: effects of pH, concentration and temperature. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 60, 12531-12539.
 153. Lombardi, A.M., & Zaritzky, N.E. (1996). Simultaneous diffusion of citric acid and ascorbic acid in prepeeled potatoes. *Journal of Food Process Engineering*, 19, 27-48.
 154. Lorentz, C., Pencreac'h, G., Soultani-Vigneron, S., Rondeau-Mouro, C., de Carvalho, M., Pontoire, B., Ergon, F., & Le Bail, P. (2012). Coupling lipophilization and amylose complexation to encapsulate chlorogenic acid. *Carbohydrate Polymers*, 90, 152-158.
 155. Luh, B.S. (1991). Rice Utilization, An AVI Book, USA, 2nd edition.

156. Lunn, J., & Buttriss, J.L. (2007). Carbohydrates and dietary fibre. *Nutrition Bulletin*, 32(1), 21-64.
157. Ma, X.F., Yu, J.G., & Feng, J. (2004). Urea and formamide as a mixed plasticizer for thermoplastic starch. *Polymer International*, 53, 1780-1785.
158. Mabey, R., McIntyre M., Michael, P., Duff, G., & Stevens, J. (1999). Πλήρης οδηγός για τα βότανα. Θεραπεία – Διατροφή – Καλλυντικά - Καλλιέργεια. Εκδόσεις Ψύχαλος.
159. Mahadevamma, S., & Tharanathan, R.N. (2007). Processed rice starch characteristics and morphology. *European Food Research & Technology*, 225, 603-612.
160. Maisuthisakul, P., & Changchub, L. (2014). Effect of extraction of phenolic antioxidant of different Thai rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *International Journal of Food Properties*, 17, 855-865.
161. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., & Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727-749.
162. Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Remesy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans – Review of 97 bioavailability studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 230-242.
163. Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M.C. & Lerici, C.R. (2001). Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 340-346.
164. Marrero, J., & Gani, R. (2001). Group-contribution based estimation of pure component properties. *Fluid Phase Equilibria*, 183-184, 183-208.
165. Maskan, M. (2001). Effect of maturation and processing on water uptake characteristics of wheat. *Journal of Food Engineering*, 47, 51-57.
166. Mercali, G.D., Marczak, L.D.F., Tessaro, I.C., & Norena, C.P.Z. (2011). Evaluation of water, sucrose and NaCl effective diffusivities during osmotic dehydration of banana (*Musa sapientum*, shum.). *LWT – Food Science & Technology*, 44, 82-91.
167. Mercier, S., Villeneuve, S., Mondor, M., & Des Marchais, L.-P. (2011). Evolution of porosity, shrinkage, and density of pasta fortified with pea protein concentrate during drying. *LWT – Food Science & Technology*, 44, 883-890.
168. Mora-Rochin, S., Gutierrez-Urbe, J.A., Serna-Saldivar, S.O., Sanchez-Pena, P., Reyes-Moreno, C., & Milan-Carrillo, J. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*, 52(3), 502-508.
169. Morrison, W.R., Tester, R.F., Snape, C.E., Law, R., & Gidley, M.J. (1993). Swelling and gelatinization of cereal starches. IV. Some effects of lipid-

- complexed amylose and free amylose in waxy and normal barley starches. *Cereal Chemistry*, 70, 385–391.
170. Mota, F., Queimada, A.J., Pinho, S.P., & Macedo, E.A. (2008). Aqueous solubility of some natural phenolic compounds. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47, 5182-5189.
 171. Nicoletti, I., Martini, D., De Rossi, A., Taddei, F., D' Egidio, M.G., & Corradini, D. (2013). Identification and quantification of soluble free, soluble conjugated, and insoluble bound phenolic acids in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum) and derived products by RP-HPLC on a semimicro separation scale. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 61(48), 11800-11807.
 172. Nicoli, M.C., Anese, M., Parpinel, M.T., Franceschi, L., & Lerici, C.R. (1997). Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage. *Cancer Letters*, 114, 71-74.
 173. Nimz, O., Gessler, K., Uson, I., Sheldrick, G.M., & Saenger, W. (2004). Inclusion complexes of V-amylose with undecanoic acid and dodecanol at atomic resolution: X-ray structures with cycloamylose containing 26 D-glucoses (cyclohexaicosaoose) as host. *Carbohydrate Research*, 339, 1427–1437.
 174. Nsonzi, F., & Ramaswamy, H.S. (1998). Osmotic dehydration kinetics of blueberries. *Drying Technology*, 16, 725-741.
 175. Ntanos, D. (2001). Rice production and research in Greece. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 24(2), 128-130.
 176. Nuessli, J., Putaux, J.L., Le Bail, P., & Buléon, A. (2003). Crystal structure of amylose complexes with small ligands. *International Journal of Biological Macromolecules*, 33, 227–234.
 177. Nutriview (2003). Mandatory food enrichment, special issue, pp. 2-12.
 178. Obiro, W.C., Ray, S.S., & Emmambux, M.N. (2012). V-amylose structural characteristics, methods of preparation, significance, and potential applications. *Food Reviews International*, 28, 412-438.
 179. Padua, A.B., & Juliano, B.O. (1974). Effect of parboiling on thiamin, protein and fat of rice. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 25, 697-701.
 180. Pearson, W., Fletcher, R.S., Kott, L.S., & Hurtig, M.B. (2010). Protection against LPS-induced cartilage inflammation and degradation provided by a biological extract of *Mentha spicata*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10, 19-30.
 181. Peleg, M. (1988). An empirical model for the description of moisture sorption curves. *Journal of Food Science*, 53, 1216-1219.
 182. Peppas, N.A., & Brannon-Peppas, L. (1994). Water diffusion and sorption in amorphous macromolecular systems and foods. *Journal of Food Engineering*, 22, 189-210.
 183. Perez, J.H., Tanaka, F., & Uchino, T. (2011). Comparative 3D simulation on water absorption and hygroscopic swelling in japonica rice grains under

- various isothermal soaking conditions. *Food Research International*, 44, 2615-2623.
184. Perez, J.H., Tanaka, F., & Uchino, T. (2012). Modeling of mass transfer and initiation of hygroscopically induced cracks in rice grains in a thermally controlled soaking condition: With dependency of diffusion coefficient to moisture content and temperature – A 3D finite element approach. *Journal of Food Engineering*, 111(3), 519-527.
 185. Perez, J.H., Tanaka, F., Hamanaka, D., & Uchino, T. (2014). Numerical modeling of heterogeneous moisture diffusion in milled rice grains: diffusion coefficient as a function of moisture, temperature and time. *Food Science & Technology Research*, 20(1), 59-64.
 186. Petitot, M., Boyer, L., Minier, C., & Micard, V. (2010). Fortification of pasta with split pea and faba bean flours: pasta processing and quality evaluation. *Food Research International*, 43, 634-641.
 187. Podsedek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 40, 1-11.
 188. Pooniya, V., & Shivay, Y.S. (2013). Enrichment of basmati rice grain and straw with zinc and nitrogen through ferti-fortification and summer green manuring under indo-gangetic plains of India. *Journal of Plant Nutrition*, 36, 91-117.
 189. Pozo-Bayon, M.-A., Biais, B., Rampon, V., Cayot, N., & Le Bail, P. (2008). Influence of complexation between amylose and a flavored model sponge cake on the degree of aroma compound release. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 56, 6640-6647.
 190. Prathepha, P., Daipolmak, V., Samappito, S., & Baimai, V. (2005). An assessment of alkali degradation, waxy protein and their relation to amylose content in thai rice cultivars, *Science Asia*, 31, 69-75.
 191. Prom-u-thai, C., Fukai, S., Godwin, I.D., Rerkasem, B., & Huang, L. (2008). Iron-fortified parboiled rice – A novel solution to high iron density in rice-based diets. *Food Chemistry*, 110, 390-398.
 192. Prom-u-thai, C., Rerkasem, B., Fukai, S., & Huang, L. (2009). Iron fortification and parboiled rice quality: appearance, cooking quality and sensory attributes. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 89, 2565-2571.
 193. Putseys, J.A., Lamberts, L., & Delcour, J.A. (2010). Amylose-inclusion complexes: formation, identity and physico-chemical properties. *Journal of cereal science*, 51, 238-247.
 194. Raphaelides, S., & Karkalas, J. (1988). Thermal dissociation of amylose-fatty acid complexes. *Carbohydrate Research*, 172, 65-82.
 195. Rastogi, N.K., Angersbach, A., Niranjana, K., & Knorr, D. (2000). Rehydration kinetics of high-pressure pretreated and osmotically dehydrated pineapple. *Journal of Food Science*, 65(5), 838-841.
 196. Rastogi, N.K., Nayak, C.A., & Raghavarao, K.S.M.S. (2004). Influence of osmotic pre-treatments on rehydration characteristics of carrots. *Journal of Food Engineering*, 65, 287-292.

197. Rastogi, N.K., & Raghavarao, K.S.M.S. (1997). Water and solute diffusion coefficients of carrot as a function of temperature and concentration during osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering*, 34, 429-440.
198. Rastogi, N.K., & Raghavarao, K.S.M.S. (2004). Mass transfer during osmotic dehydration of pineapple: considering Fickian diffusion in cubical configuration. *LWT - Food Science & Technology*, 37, 43-47.
199. Rastogi, N.K., Raghavarao, K.S.M.S., & Niranjana, K. (1997). Mass transfer during osmotic dehydration of banana: Fickian diffusion in cylindrical configuration. *Journal of Food Engineering*, 31, 423-432.
200. Rein, M.J., Renouf, M., Cruz-Hernandez, C., Actis-Goretta, L., Thakkar, S.K., & da Silva Pinto, M. (2012). Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 75(3), 588-602.
201. Renard, C.M.G.C., Baron, A., Guyot, S., & Drilleau, J.-F. (2001). Interactions between apple cell walls and native apple polyphenols: quantification and some consequences. *International Journal of Biological Macromolecules*, 29, 115-125.
202. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., & Paganga, G. (1996). Structure – antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*, 20(7), 933-956.
203. Ritger, P.L., & Peppas, N.A. (1987). A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-Fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *Journal of Controlled Release*, 5, 23-36.
204. Rohrer, C.A., & Siebenmorgen, T.J. (2004). Nutraceutical concentrations within the bran of various rice kernel thickness fractions. *Biosystems Engineering*, 88(4), 453-460.
205. Rozek, A., Achaerandio, I., Guell, C., Lopez, F., & Ferrando, M. (2009). Grape phenolic impregnation by osmotic treatment: influence of osmotic agent on mass transfer and product characteristics. *Journal of Food Engineering*, 94, 59-68.
206. Rozek, A., Achaerandio, I., Guell, C., Lopez, F., & Ferrando, M. (2010). Use of commercial grape phenolic extracts to supplement solid foodstuff. *LWT – Food Science & Technology*, 43, 623-631.
207. Sadeghi, M.A., & Bhagya, S. (2008). Quality characterization of pasta enriched with mustard protein isolate. *Journal of Food Science*, 73(5), S229-S237.
208. Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, 130(8S), 2073S-2085S.
209. Schueneman, T.J., Coale, F.J., & Jones, D.B. (1993). An Overview of Florida Rice. University of Florida, Fact Sheet AGR-64, 1-4.
210. Seczyk, L., Swieca, M., & Gawlik-Dziki, U. (2015). Changes of antioxidant potential of pasta fortified with parsley (*Petroselinum Crispum* Mill.) leaves in

- the light of protein-phenolics interactions. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentarium*, 14(1), 29-36.
211. Selman, J.D., Rice, P., Abdul-Rezzak, R.K. (1983). A study of the apparent diffusion coefficients for solute losses from carrot tissue during blanching in water. *International Journal of Food Science & Technology*, 18, 427-440.
 212. Semwal, A.D., Sharma, G.K., & Arya S.S. (1996). Flavour degradation in dehydrated convenience foods: changes in carbonyls in quick-cooking rice and Bengalgram dhal. *Food Chemistry*, 57(2), 233-239.
 213. Shao, Y., Xu, F., Sun, X., Bao, J., & Beta, T. (2014). Identification and quantification of phenolic acids and anthocyanins as antioxidants in bran, embryo and endosperm of white, red and black rice kernels (*Oryza sativa* L.). *Journal of Cereal Science*, 59, 211-218.
 214. Shibuya, N. (1984). Phenolic acids and their carbohydrate esters in rice endosperm cell walls. *Phytochemistry*, 23(10), 2233-2237.
 215. Shobana, S., Malleshi, N.G., Sudha, V., Spiegelman, D., Hong, B., Hu, F.B., Willett, W.C., Krishnaswamy, K., & Mohan, V. (2011). Nutritional and sensory profile of two Indian rice varieties with different degrees of polishing. *International Journal of Food Sciences & Nutrition*, 62, 1-11.
 216. Simonne, A.H., Smith, M., Weaver, D.B., Vail, T., Barnes, S., & Wei, C. (2000). Retention and changes of soy isoflavones and carotenoids in immature soybean seeds (Edamame) during processing. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 48(12), 6061-6069.
 217. Sivam, A.S., Sun-Waterhouse, D., Perera, C.O., & Waterhouse, G.I.N. (2013a). Application of FT-IR and Raman spectroscopy for the study of biopolymers in breads fortified with fibre and polyphenols. *Food Research International*, 50(2), 574-585.
 218. Sivam, A.S., Sun-Waterhouse, D., Quek, S.Y., & Perera, C.O. (2010). Properties of bread dough with added fiber polysaccharides and phenolic antioxidants: A review. *Journal of Food Science*, 75(8), 163-174.
 219. Sivam, A.S., Waterhouse, G.I.N., Zujovic, Z.D., Perera, C.O., & Sun-Waterhouse, D. (2013b). Structure and dynamics of wheat starch in breads fortified with polyphenols and pectin: an ESEM and solid-state CP/MAS ¹³C NMR spectroscopic study. *Food & Bioprocess Technology*, 6(1), 110-123.
 220. Sivam, A.S., Sun-Waterhouse, D., Perera, C.O., & Waterhouse, G.I.N. (2012). Exploring the interactions between blackcurrant polyphenols, pectin and wheat biopolymers in model breads; a FTIR and HPLC investigation. *Food Chemistry*, 131, 802-810.
 221. Solon, F.S. (2000). Building Healthier Societies Through More Nutritious Rice, International Rice Research Institute, January, www.irri.org.
 222. Sperotto, R.A., Ricachenevsky, F.K., Waldow, V.A., & Fett, J.P. (2012). Iron biofortification in rice: it's a long way to the top. *Plant Science*, 190, 24-39.

223. Stach, D., & Schmitz, O.J. (2001). Decrease in concentration of free catechins in tea over time determined by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A*, 924, 519-522.
224. Stalikas, C.D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30, 3268-3295.
225. Takahama, U., & Hirota, S. (2010). Fatty acids, epicatechin-dimethylgallate, and rutin interact with buckwheat starch inhibiting its digestion by amylase: implications for the decrease in glycemic index by buckwheat flour. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 58, 12431-12439.
226. Takeuchi, S., Maeda, M., Gomi, Y., Fukuoka, M., & Watanabe, H. (1997). The change of moisture distribution in a rice grain during boiling as observed by NMR imaging. *Journal of Food Engineering*, 33, 281-297.
227. Talavera, S., Felgines, C., Texier, O., Besson, C., Lamaison, J.-L., & Remesy, C. (2003). Anthocyanins are efficiently absorbed from the stomach in anesthetized rats. *Journal of Nutrition*, 133(12), 4178-4182.
228. Tantawi, B.A., & Sa, G. (2004). Role of agronomic practices in improving quality and nutritional value of rice grains, challenges and opportunities for sustainable rice-based production systems, Torino, Italy, 13-15 September.
229. Telci, I., Demirtas, I., Bayram, E., Arabaci, O., & Kacar, O. (2010). Environmental variation on aroma components of pulegone/piperitone rich spearmint (*Mentha spicata* L.), *Industrial Crops and Products*, 32, 588-592.
230. Telis, V.R.N., Murari, R.C.B.D.L., & Yamashita, F. (2004). Diffusion coefficients during osmotic dehydration of tomatoes in ternary solutions. *Journal of Food Engineering*, 61, 253-259.
231. Thorne, M.J., Thompson, L.U., & Jenkins, D.J.A. (1983). Factors affecting starch digestibility and the glycemic response with special reference to legumes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 38, 481-488.
232. Tian, S., Nakamura, K., & Kayahara, H. (2004). Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice and germinated brown rice. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 52(15), 4808-4813.
233. Tizzotti, M.J., Sweedman, M.C., Tang, D., Schaefer, C., & Gilbert, R.G. (2011). New ¹H NMR procedure for the characterization of native and modified food-grade starches. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 59, 6913-6919.
234. Tudorica, C.M., Kuri, V., & Brennan, C.S. (2002). Nutritional and physicochemical characteristics of dietary fiber enriched pasta. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50, 347-356.
235. Tuley, L. (1991). The rice revolution. *Food Manufacture*, 66(11), 23-26.
236. Tulyathan, V., Laokuldilok, T., & Jongkaewwattana, S. (2007). Retention of Iodine in fortified parboiled rice and its pasting characteristics during storage. *Journal of Food Biochemistry*, 31, 217-229.
237. Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 93, 713-718.

238. van der Doel, L.R., Mohoric, A., Vergeldt, F.J., van Duynhoven, J., Blonk, H., van Dalen, G., van As, H., & van Vliet, L.J. (2009). Mathematical modeling of water uptake through diffusion in 3D inhomogenous swelling substrates. *AIChE Journal*, 55(7), 1834–1848.
239. Verardo, V., Gomez-Caravaca, A.M., Messina, M.C., Marconi, E., & Caboni, M.F. (2011). Development of functional spaghetti enriched in bioactive compounds using barley coarse fraction obtained by air classification. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 59, 9127-9134.
240. Vichapong, J., Sookserm, M., Srijesdaruk, V., Swatsitang, P., & Srijaranai, S. (2010). High performance liquid chromatographic analysis of phenolic compounds and their antioxidant activities in rice varieties. *LWT - Food Science & Technology*, 43, 1325-1330.
241. von Gadow, A., Joubert, E., & Hansmann, C.F. (1997). Effect of extraction time and additional heating on the antioxidant activity of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*) extracts. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 45(4), 1370-1374.
242. Walter, M., Marchesan, E., Massoni, P.F.S., da Silva, L.P., Sartori, G.M.S., & Ferreira, R.B. (2013). Antioxidant properties of rice grains with light brown, red and black pericarp colours and the effect of processing. *Food Research International*, 50(2), 698-703.
243. Wang, D., Tang, J., & Correia, L.R. (2000). Salt diffusivities and salt diffusion in farmed Atlantic salmon muscle as influenced by rigor mortis. *Journal of Food Engineering*, 43, 115-123.
244. Wang, L.-F., Kim, D.-M., & Lee, C.-Y. (2000). Effects of heat processing and storage on flavanols and sensory qualities of green tea beverage. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 48, 4227-4232.
245. Wang, W.Q., & Goodman, M.T. (1999). Antioxidant property of dietary phenolic agents in a human LDL-oxidation ex vivo model: interaction of protein binding activity. *Nutrition Research*, 19(2), 191-202.
246. Watanabe, H., Fukuoka, M., Tomiya, A., & Mihori, T. (2001). A new non-Fickian diffusion model for water migration in starchy food during cooking. *Journal of Food Engineering*, 49, 1-6.
247. Wei, Y., Shohag, M.J.I., Wang, Y., Lu, L., Wu, C., & Yang, X. (2012). Effect of zinc sulfate fortification in germinated brown rice on seed zinc concentration, bioavailability and seed germination. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 60, 1871-1879.
248. Wei, Y., Shohag, M.J.I., Ying, F., Yang, X., Wu, C., & Wang, Y. (2013). Effect of ferrous sulfate fortification in germinated brown rice on seed iron concentration and bioavailability. *Food Chemistry*, 138, 1952-1958.
249. Wollgast, J., & Anklam, E. (2000). Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International*, 33(6), 449-459.
250. Wu, Y., Chen, Z., Li, X., & Li, M. (2009). Effect of tea polyphenols on the retrogradation of starch. *Food Research International*, 42, 221-225.

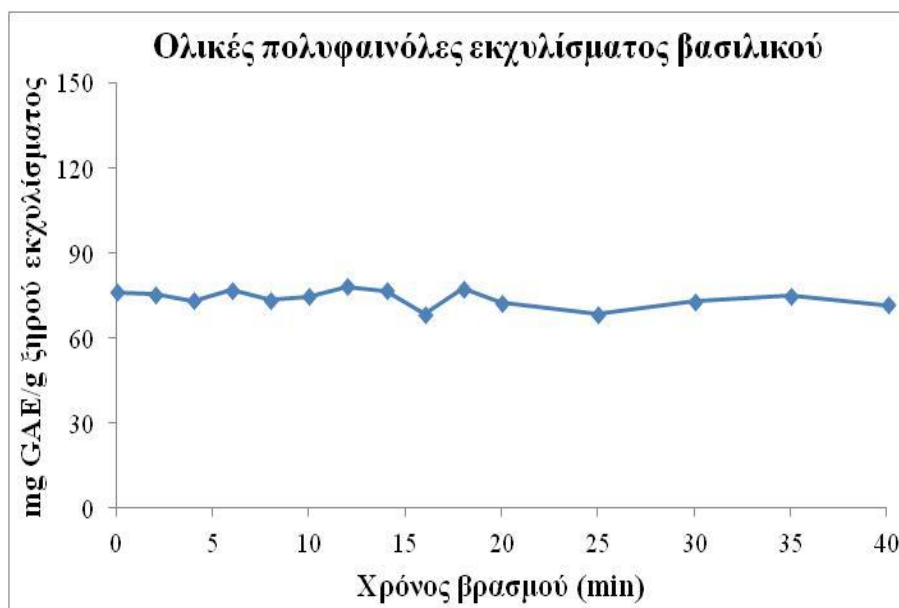
251. Wu, J., Chen, J., Liu, W., Liu, C., Zhong, Y., Luo, D., Li, Z., & Guo, X. (2016). Effects of aleurone layer on rice cooking: a histological investigation. *Food Chemistry*, 191, 28-35.
252. Wu, Y., Lin, Q., Chen, Z., & Xiao, H. (2011a). The interaction between tea polyphenols and rice starch during gelatinization. *Food Science and Technology International*, 17(6), 569-577.
253. Wu, Z., Li, H., Ming, J., & Zhao, G. (2011b). Optimization of adsorption of tea polyphenols into oat β -glucan using response surface methodology. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 59(1), 378-385.
254. Wulff, G., Avgenaki, G., & Guzmán, M.S.P. (2005). Molecular encapsulation of flavours as helical inclusion complexes of amylose. *Journal of Cereal Science*, 41, 239-249.
255. Xu, B., & Chang, S.K.C. (2008). Total phenolics, phenolic acids, isoflavones, anthocyanins and antioxidant properties of yellow and black soybeans as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 56, 7165-7175.
256. Xu, G., Ye, X., Chen, J., & Liu, D. (2007). Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 55(2), 330-335.
257. Yahya, F., Fryer, P.J., & Bakalis, S. (2011). The absorption of 2-acetyl-1-pyrroline during cooking of rice (*Oryza sativa* L.) with Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) leaves. *Procedia Food Science*, 1, 722-728.
258. Yu, J.G., Wang, N., & Ma, X.F. (2005). The effects of citric acid on the properties of thermoplastic starch plasticized by glycerol. *Starch*, 57, 494-504.
259. Zeleznak, K.J., & Hoseney, R.C. (1986). The role of water in the retrogradation of wheat starch gels and bread crumb. *Cereal Chemistry*, 63(5), 407-411.
260. Zeraatpishe, A., Oryan, S., Bagheri, M.H., Pilevarian, A.A., Malekiran, A.A., 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, 205-212.
261. Zhang, L., Yang, X., Li, S., & Gao, W. (2011). Preparation, physicochemical characterization and in vitro digestibility on solid complex of maize starches with quercetin. *Food Science & Technology*, 44, 787-792.
262. Zhang, T.Y., Bakshi, A.S., Gustafson, R.J., & Lund, D.B. (1984). Finite element analysis of nonlinear water diffusion during rice soaking. *Journal of Food Science*, 49(1), 246-50.
263. Zhao, Z., Egashira, Y., & Sanada, H. (2003). Digestion and absorption of ferulic acid sugar esters in rat gastrointestinal tract. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 51(18), 5534-5539.
264. Zhao, Z., & Moghadasian, M.H. (2010). Bioavailability of hydroxycinnamates: a brief review of in vivo and in vitro studies. *Phytochemistry Reviews*, 9(1), 133-145.

265. Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., & Blanchard, C. (2004). The distribution of phenolic acids in rice, *Food Chemistry*, 87(3), 401-404.
266. Zhu, F. (2015). Interactions between starch and phenolic compound. *Trends in Food Science & Technology*, 43, 129-143.
267. Zhu, F., Cai, Y.-Z., Sun, M., & Corke, H. (2008). Effect of phenolic compounds on the pasting and textural properties of wheat starch. *Starch*, 60, 609-616.
268. Zhu, F., Cai, Y.-Z., Sun, M., & Corke, H. (2009). Effect of phytochemical extracts on the pasting, thermal, and gelling properties of wheat starch. *Food Chemistry*, 112, 919-923.
269. Zhu, F., & Wang, Y.-Z. (2012). Rheological and thermal properties of rice starch and rutin mixtures. *Food Research International*, 49, 757-762.
270. Zhu, F., & Wang, Y.-J. (2013). Characterization of modified high-amylose maize starch- α -naphthol complexes and their influence on rheological properties of wheat starch. *Food Chemistry*, 138, 256-262.
271. Zhu, Q., Zheng, X., Luo, J., Gaut, B.S., & Ge, S. (2007). Multilocus analysis of nucleotide variation of *Oryza sativa* and its wild relatives: severe bottleneck during domestication of rice. *Molecular Biology and Evolution*, 24, 875-876.
272. Zubik, L., & Meydani, M. (2003). Bioavailability of soybean isoflavones from aglycone and glucoside forms in American women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77(6), 1459-1465.

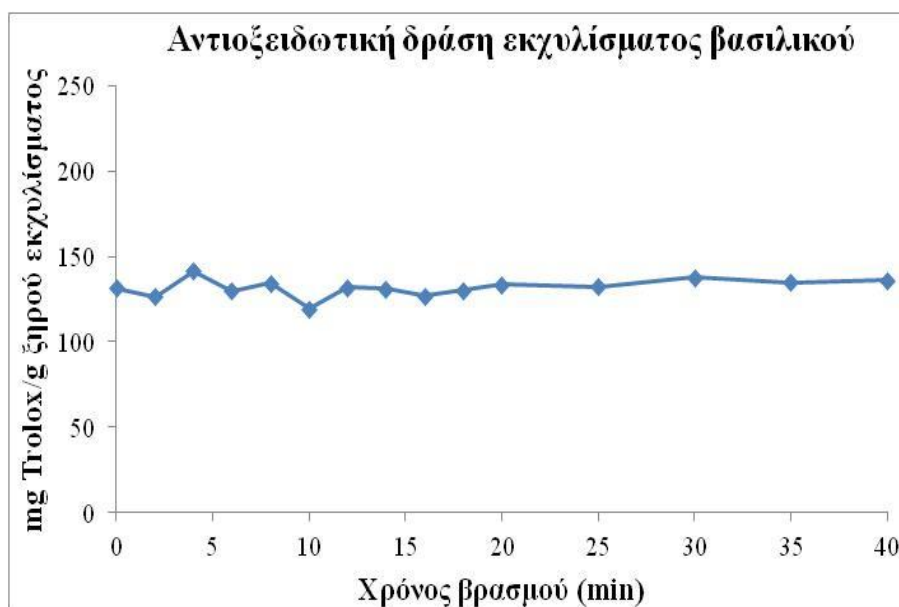
Ελληνική Βιβλιογραφία

273. Καραμάνος, Α.Ι. (1999). Τα σιτηρά των θερμών κλιμάτων, αραβόσιτος-σόργο-ρύζι-κεχρί, Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, 249-263.
274. Κυρίτση, Α. (2009). Μελέτη μεθόδων εμπλουτισμού ρυζιού. Διδακτορική Διατριβή, ΕΜΠ, Αθήνα.

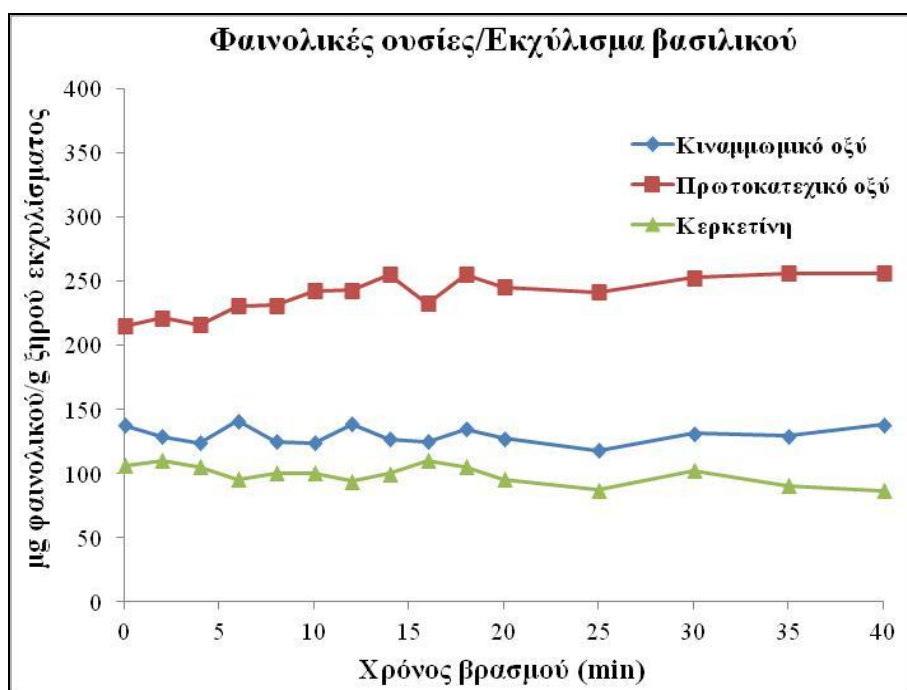
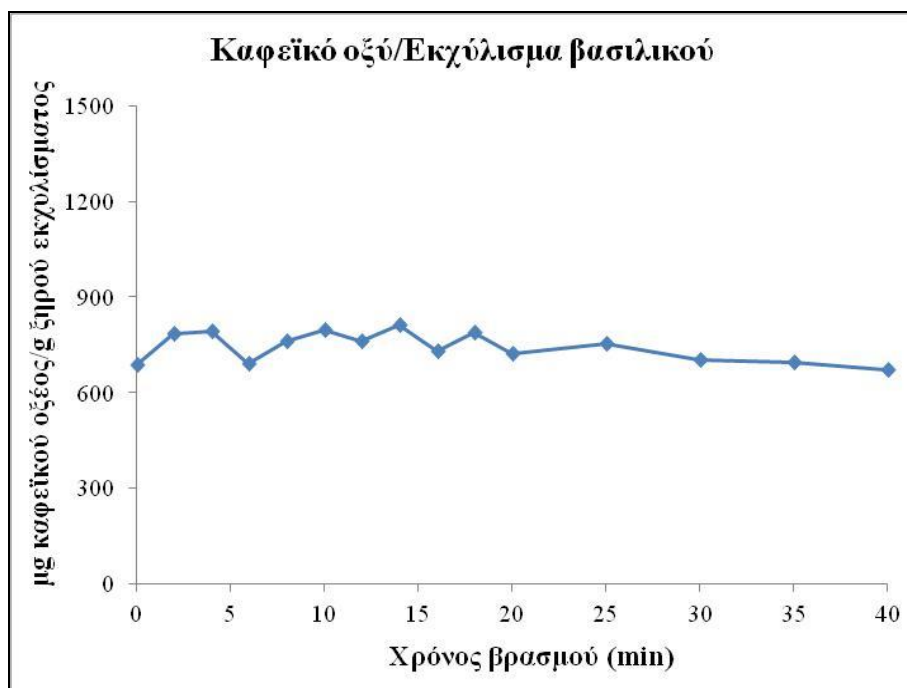
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ



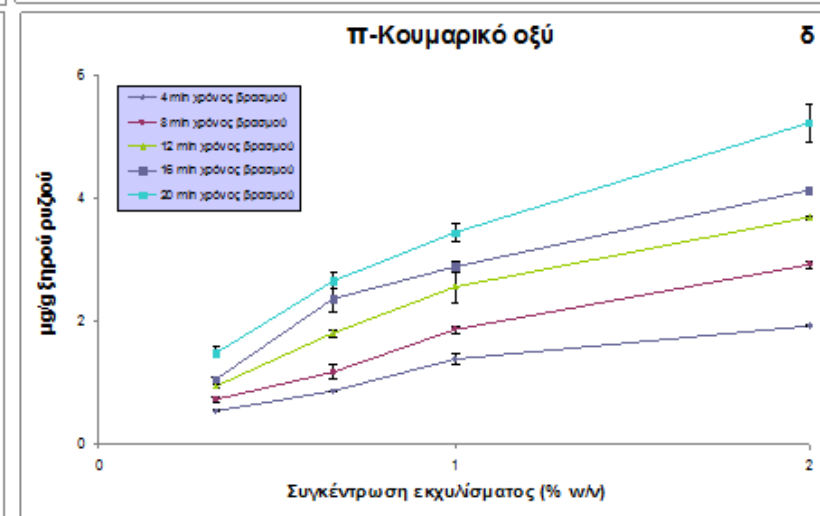
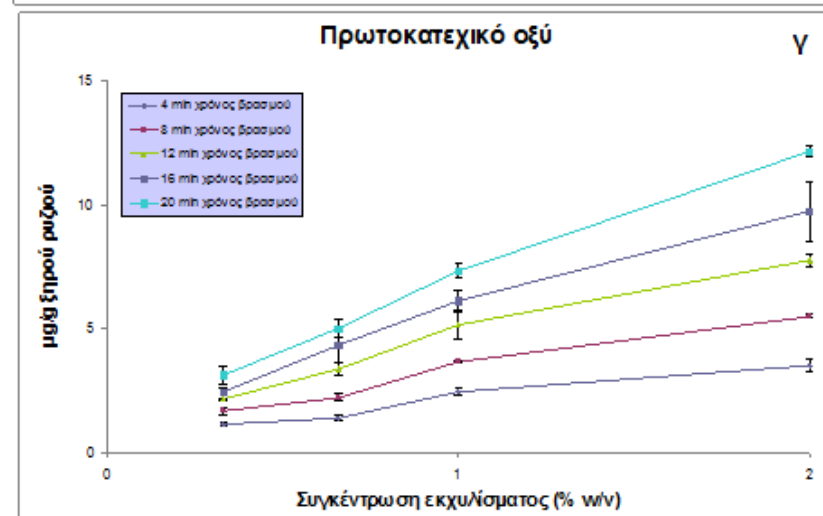
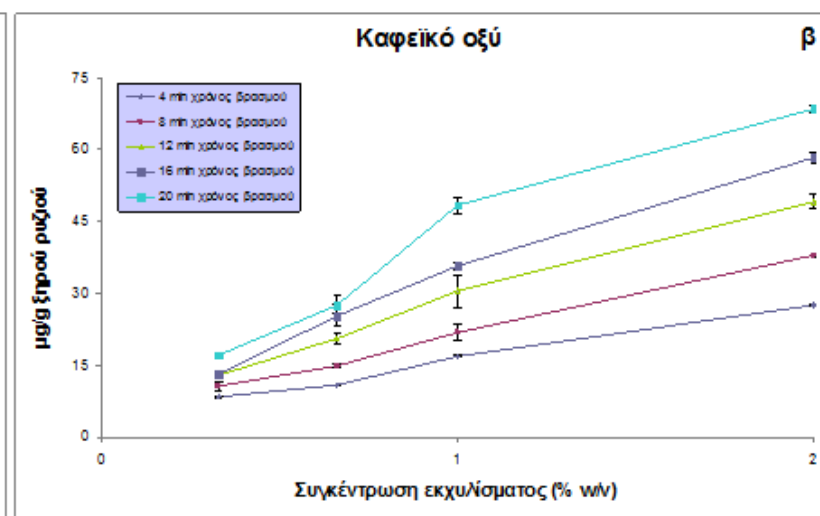
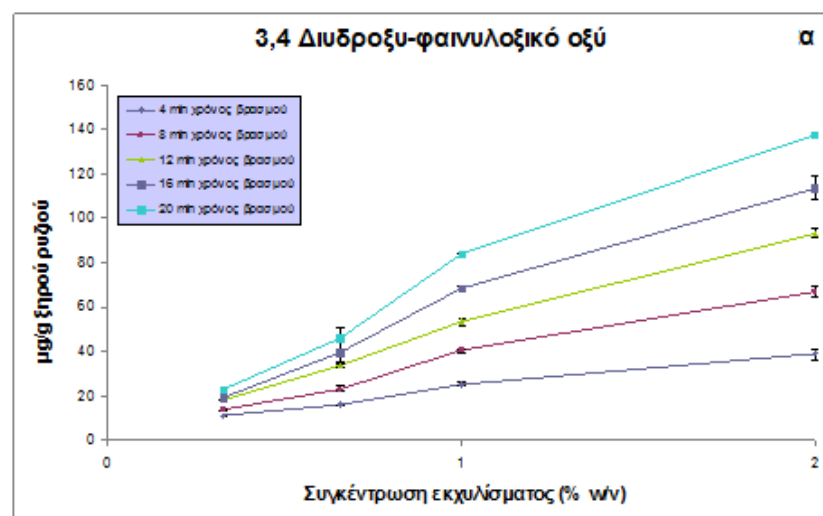
Σχήμα 54: Ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο αποξηραμένου υδατικού εκχυλίσματος φύλλων βασιλικού που έχει υποστεί παρατεταμένο βρασμό (40 min). Όλες οι τιμές του πολυφαινολικού περιεχομένου έχουν εκφραστεί ως μέσες τιμές mg GAE (ισοδυνάμων γαλλικού οξέος)/g ξηρού εκχυλίσματος βοτάνου (n=2).

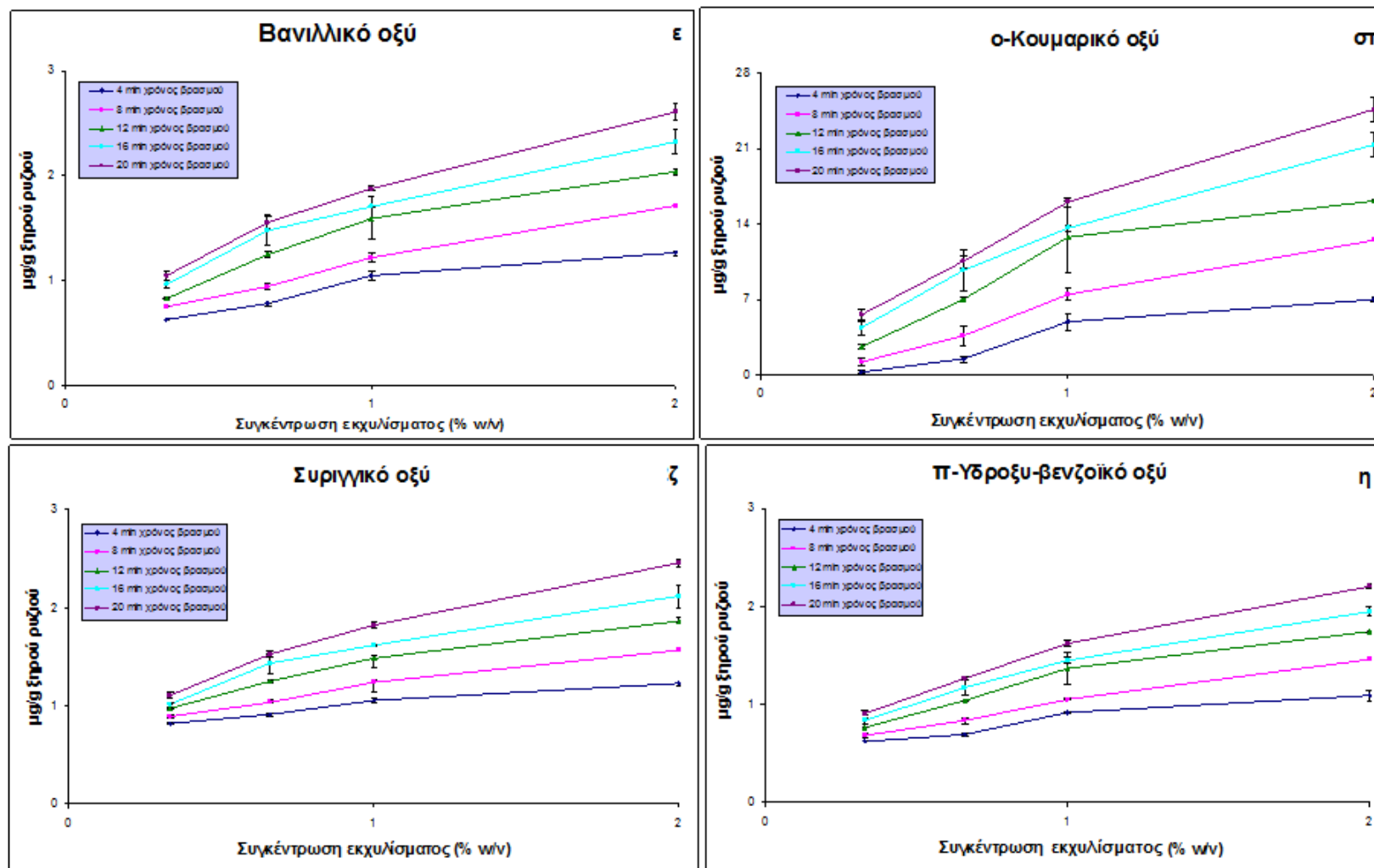


Σχήμα 55: Αντιοξειδωτική ικανότητα αποξηραμένου υδατικού εκχυλίσματος φύλλων βασιλικού που έχει υποστεί παρατεταμένο βρασμό (40 min). Όλες οι τιμές έχουν εκφραστεί ως μέσες τιμές mg ισοδυνάμων Trolox/g ξηρού εκχυλίσματος βοτάνου (n=2).

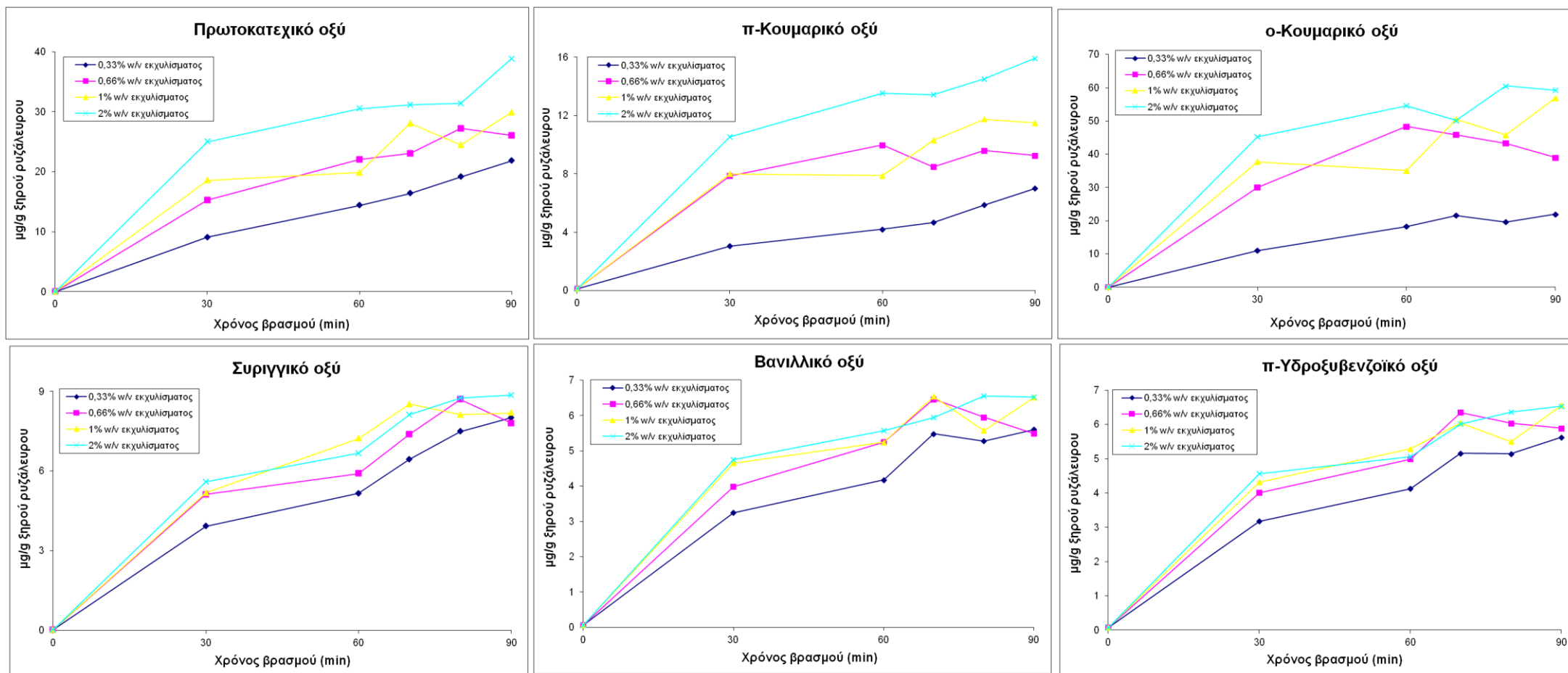


Σχήμα 56: Συγκέντρωση καφεϊκού οξέος και κυριότερων επιμέρους φαινολικών συστατικών σε αποξηραμένο εκχύλισμα φύλλων βασιλικού που έχει υποστεί παρατεταμένο βρασμό (40 min). Όλες οι τιμές έχουν εκφραστεί ως μέσες τιμές µg φαινολικού συστατικού/g ξηρού εκχυλίσματος βοτάνου (n=2).





Σχήμα 57: Συγκέντρωση ($\mu\text{g/g}$ ξηρού ρυζιού) εξετασθέντων φαινολικών οξέων (3,4-Διυδροξυ-φαινυλοξικό (α), καφεϊκό (β), πρωτοκατεχικό (γ), π-κουμαρικό (δ), βανιλλικό (ε), ο-κουμαρικό (στ), συριγγικό (ζ), π-υδροξυ-βενζοϊκό (η)) στο ρύζι σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση των εκχυλισμάτων δύοσμου σε διαφορετικές χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια της υγροθερμικής επεξεργασίας. Όλες οι τιμές έχουν εκφραστεί ως μέσες τιμές ($n=3$), ενώ οι γραμμές σφάλματος αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση των δειγμάτων.



Σχήμα 58: Συγκέντρωση (μg/g ξηρού ρυζάλευρου) φαινολικών οξέων (πρωτοκατεχικό, π-κουμαρικό, ο-κουμαρικό, συριγγικό, βανιλλικό, π-υδροξυ βενζοϊκό) στο ρυζάλευρο κατά τη διάρκεια παρατεταμένης υγροθερμικής επεξεργασίας του σε υδατικά εκχυλίσματα δύοσμου διαφορετικών συγκεντρώσεων.

Πίνακας 28: Χαρακτηριστικά κορυφών $^1\text{H-NMR}$ για φάσματα ζελατινοποιημένου αμύλου ρυζιού, καφεϊκού οξέος και μιγμάτων τους.

Δείγματα	Χημική μετατόπιση (ppm)/Πολλαπλότητα/Σταθερά σύζευξης (Hz)										
Καφεϊκό οξύ	-	-	-	-	-	6,16/d/15,9	6,75/d/8,1	6,95/dd/8,1-2,1	7,02/d/2,2	7,4/d/15,9	9,69/s
Άμυλο:Καφεϊκό (1:1)	3,47-3,59-3,65/m	4,58/s	5,11/s	5,41/bs	5,48/bs	6,16/d/15,9	6,75/d/8	6,95/d/8,1	7,02/s	7,4/d/15,9	9,4/s
Άμυλο:Καφεϊκό (2:1)	3,47-3,59-3,65/m	4,58/s	5,11/s	5,41/bs	5,48/bs	6,16/d/15,8	6,75/d/8,1	6,95/d/8,2	7,01/s	7,4/d/15,8	-
Άμυλο:Καφεϊκό (4:1)	3,47-3,59-3,65/m	4,58/s	5,11/s	5,41/bs	5,48/bs	6,16/d/15,8	6,75/d/8	6,95/d/7,7	7,01/s	7,39/d/15,8	9,51/s
Άμυλο:Καφεϊκό (8:1)	3,47-3,59-3,65/m	4,58/s	5,11/s	5,41/bs	5,49/bs	6,16/d/15,9	6,74/d/8	6,94/d/8	7,01/s	7,38/d/15,8	9,33/s
Άμυλο:Καφεϊκό (40:3)	3,47-3,59-3,65/m	4,58/s	5,11/s	5,41/bs	5,49/bs	6,15/d/15,9	6,74/d/8,1	6,94/d/8,2	7,01/s	7,38/d/15,8	9,31/s
Άμυλο:Καφεϊκό (20:1)	3,47-3,59-3,65/m	4,58/s	5,11/s	5,41/bs	5,49/bs	6,15/d/15,9	6,74/d/8	6,93/d/8,1	7/s	7,36/d/15,5	-
Άμυλο ρυζιού	3,47-3,59-3,65/m	4,56/s	5,11/s	5,41/bs	5,51/bs	-	-	-	-	-	-

Πίνακας 29: Χαρακτηριστικά κορυφών $^1\text{H-NMR}$ για φάσματα ζελατινοποιημένου αμύλου ρυζιού, π-κουμαρικού οξέος και μιγμάτων τους.

Δείγματα	Χημική μετατόπιση (ppm)/Πολλαπλότητα/Σταθερά σύζευξης (Hz)									
π-Κουμαρικό οξύ	-	-	-	-	-	6,28/d/16	6,79/d/8,6	7,49/d/13,2	7,51/d/6,2	10,67/bs
Άμυλο:π-Κουμαρικό (1:1)	3,46-3,59-3,66/m	4,58/s	5,11/s	5,46/bs		6,28/m	6,78/m	-	7,5/m	-
Άμυλο:π-Κουμαρικό (10:1)	3,46-3,58-3,65/m	4,57/s	5,1/s	5,41/bs	5,5/bs	6,28/d/16	6,78/d/8	7,46/s	7,5/d/8,6	-
Άμυλο:π-Κουμαρικό (15:1)	3,46-3,59-3,65/m	4,58/s	5,1/s	5,41/bs	5,5/bs	6,27/d/16	6,78/d/8,2	7,46/d/16	7,5/d/8,3	-
Άμυλο:π-Κουμαρικό (20:1)	3,44-3,59-3,66/m	4,57/s	5,11/s	5,42/bs	5,51/bs	6,27/d/15,8	6,78/d/8	7,45/d/16,4	7,49/d/8,2	-
Άμυλο ρυζιού	3,47-3,59-3,65/m	4,56/s	5,11/s	5,41/bs	5,51/bs	-	-	-	-	-

Πίνακας 30: Χαρακτηριστικά κορυφών ^1H -NMR για φάσματα ζελατινοποιημένου αμύλου ρυζιού, ναριγκενίνης και μιγμάτων τους.

Δείγματα	Χημική μετατόπιση (ppm)/Πολλαπλότητα/Σταθερά σύζευξης (Hz)										
Ναριγκενίνη	-	-	-	-	-	5,88/s	6,79/d/8,7	7,31/d/8,6	9,59/bs	10,79/s	12,16/bs
Άμυλο:Ναριγκενίνη (1:1)	3,47-3,59-3,65/m	4,57/s	5,11/s	5,44/m		5,88/d/8,4	6,79/bs	7,31/bs	9,59/bs	10,82/s	12,16/bs
Άμυλο:Ναριγκενίνη (10:1)	3,46-3,58-3,64/m	4,56/s	5,1/s	5,39/s	5,49/s	5,84/s	6,79/bs	7,31/bs	9,57/bs	-	12,16/bs
Άμυλο:Ναριγκενίνη (15:1)	3,47-3,58-3,64/m	4,57/s	5,1/s	5,4/s	5,49/s	5,83/s	6,79/bs	7,31/bs	9,62/bs	-	12,21/bs
Άμυλο:Ναριγκενίνη (20:1)	3,44-3,55-3,62/m	4,54/s	5,07/s	5,37/s	5,47/s	5,82/s	6,78/bs	7,31/bs	9,57/bs	-	12,16/bs
Άμυλο ρυζιού	3,47-3,59-3,65/m	4,56/s	5,11/s	5,41/bs	5,51/bs	-	-	-	-	-	-