



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Πτυχιακή μελέτη με θέμα:

Διάχυση μικροσυστατικών της διατροφής κατά
την επεξεργασία των τροφίμων.

Εφαρμογή κατά τον εμπλουτισμό των τροφίμων.

Εμπλουτισμός ρυζιού με αντιοξειδωτικά βασιλικού.



Παπαδημητρίου Αναστασία (Α.Μ.: 20926)

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Καραθάνος Βάιος

ΜΕΛΗ: Καλογερόπουλος Νικόλαος

Ευαγγελίου Βασιλική

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT.....	7
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	8
1. Βασιλικός – <i>Ocimum basilicum</i>	8
1.1 Γενικά	8
1.2 Δράσεις	10
1.3 Εφαρμογές	11
1.4 Χημική σύσταση.....	12
2. Ρύζι.....	14
2.1 Μορφολογία φυτού.....	14
2.2 Ποικιλίες ρυζιού	14
2.3 Ιστορία	16
2.4 Καλλιέργεια	17
2.5 Εφαρμογές – Χρήσεις.....	18
2.6 Διατροφική σύσταση	20
ΣΚΟΠΟΣ	21
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	22
3. Υλικά και μέθοδοι.....	22
3.1 Εμπλουτισμός ρυζιού με αντιοξειδωτικά συστατικά βασιλικού	22
3.1.1 Παραλαβή εκχυλίσματος βασιλικού	22
3.1.2 Εμπλουτισμός ρυζιού.....	23
3.1.3 Ξήρανση δειγμάτων εμπλουτισμένου ρυζιού	24
3.2 Μελέτη πιθανής θερμικής υποβάθμισης υδατικού εκχυλίσματος βασιλικού κατά το βρασμό του.....	25
3.3 Προετοιμασία εμπλουτισμένου ρυζιού για χημικές αναλύσεις.....	26
3.3.1 Κονιορτοποίηση δειγμάτων ρυζιού	26

3.3.2 Εκχύλιση πολυφαινολών από τα δείγματα	27
3.3.3 Αντίδραση σιλυλίωσης	28
3.4 Χημικές αναλύσεις εκχυλίσματος βασιλικού κι εμπλουτισμένου ρυζιού ως προς το πολυφαινολικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική δραστηριότητα	29
3.4.1 Προσδιορισμός του συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu	29
3.4.2 Προσδιορισμός της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, μέσω προσδιορισμού της ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH.....	31
3.4.3 Προσδιορισμός απλών πολυφαινολών με αέρια χρωματογραφία / φασματομετρία μάζας (GC/MS).....	35
3.5 Επαναβρασμός εμπλουτισμένου ρυζιού και επαναξιολόγηση του βαθμού εμπλουτισμού	37
4. Αποτελέσματα.....	39
4.1 Ποιοτική και ποσοτική αξιολόγηση του πολυφαινολικού περιεχομένου στο υδατικό εκχύλισμα του βασιλικού.....	39
4.1.1 Αξιολόγηση ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu	39
4.1.2 Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής δράσης εκχυλίσματος βασιλικού με τη μέθοδο DPPH.....	42
4.1.3 Αξιολόγηση επιμέρους πολυφαινολών εκχυλίσματος βασιλικού με αέρια χρωματογραφία / φασματομετρία μάζας (GC/MS)	44
4.2 Ποιοτική και ποσοτική αξιολόγηση πολυφαινολικού περιεχομένου εμπλουτισμένου ρυζιού	46
4.2.1 Αξιολόγηση ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου του εμπλουτισμένου ρυζιού με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu.....	46
4.2.2 Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής δράσης εμπλουτισμένου ρυζιού με τη μέθοδο DPPH.....	48
4.2.3 Αξιολόγηση επιμέρους πολυφαινολών εμπλουτισμένου ρυζιού με αέρια χρωματογραφία / φασματομετρία μάζας (GC/MS)	50
4.2.4 Διατροφική αξιολόγηση.....	52
4.3 Ποιοτική και ποσοτική αξιολόγηση πολυφαινολικού περιεχομένου εμπλουτισμένου ρυζιού κατά τον επαναβρασμό του	53

4.3.1 Αξιολόγηση ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu	53
4.3.2 Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH.....	54
4.3.3 Αξιολόγηση επιμέρους πολυφαινολών με αέρια χρωματογραφία / φασματομετρία μάζας (GC/MS).....	55
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	59
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	60

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ρύζι ως τρόφιμο χαρακτηρίζεται από αρκετά πλεονεκτήματα, όμως λόγω της επεξεργασίας που υφίσταται, η θρεπτική του αξία μειώνεται σημαντικά. Έτσι, σχεδιάστηκε ο εμπλουτισμός του, με σκοπό να παρασκευαστεί ένα λειτουργικό τρόφιμο που θα είναι αφενός οικονομικά προσιτό στον καταναλωτή και αφετέρου ευεργετικό για την υγεία του. Τα συστατικά με τα οποία εμπλουτίστηκαν οι κόκκοι ρυζιού είναι αντιοξειδωτικά που περιέχονται σε αποξηραμένα φύλλα βασιλικού.

Σκοπός ήταν η ανάλυση της σύστασης του υδατικού εκχυλίσματος βασιλικού, η αξιολόγηση της δυνατότητας εμπλουτισμού του ρυζιού με συστατικά του βασιλικού και η μελέτη του βαθμού εμπλουτισμού μετά τον επαναβρασμό σε περίσσεια νερού.

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση των παραπάνω ήταν:

- Folin – Ciocalteu: φωτομετρική μέθοδος για τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού περιεχομένου
- DPPH: φωτομετρική μέθοδος για τον προσδιορισμό της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας
- GC/MS: για τον ποσοτικό και ποιοτικό προσδιορισμό απλών πολυφαινολών

Η μελέτη του εκχυλίσματος βασιλικού έδειξε ότι είναι πλούσιο σε πολυφαινολικά συστατικά, καθώς επίσης φάνηκε ότι η ποσότητά τους μένει πρακτικά σταθερή ακόμα και ύστερα από 40 λεπτά βρασμού.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη μελέτη του ρυζιού, έδειξαν ότι μπορεί να προσροφήσει σχεδόν όλα τα συστατικά του εκχυλίσματος βασιλικού σε μεγάλες ποσότητες. Επιπλέον, φάνηκε ότι οι φαινολικές ενώσεις συνδέονται ισχυρά με τα μόρια του ρυζιού και έτσι η διάχυσή τους προς τη περίσσεια νερού είναι χαμηλή. Τέλος, η διατροφική ανάλυση δείχνει ότι μία μερίδα 100g του εμπλουτισμένου ρυζιού μπορεί να καλύψει σχεδόν το 6% των ημερήσιων αναγκών του ανθρώπου σε πολυφαινόλες. Το ποσοστό αυτό κατατάσσει το εμπλουτισμένο ρύζι ως τέταρτη καλύτερη πηγή πολυφαινολών, αν συγκριθεί με αφεψήματα 13 βοτάνων, σε ποσότητα 200ml, τα οποία μελετήθηκαν σε προηγούμενη έρευνα.

ABSTRACT

Rice as a food has a lot of plenty advantages, but it's nutritional value decreases significantly after the process that is being subsist. For that reason it is enriched, with primary objectives to create a food that will be both affordable by the customer and beneficial for the consumer's health. The ingredients with which the rice grains enriched, are antioxidants contained in dried basil leaves.

The purpose of this research was to analyse the composition of the aqueous extract of basil, to evaluate the capability of rice to be enriched with basil components and to study the enrichment after reboiling the rice in excess amount of water. The methods used for the estimation of the above were:

- Folin-Ciocalteu: photometric method for the determination of total phenolic content
- DPPH: photometric method for the determination of total antioxidant capacity
- GC/MS: for the quantitative and qualitative determination of simple polyphenols

The analysis of the basil extract showed that it is rich in polyphenols and it seemed that their quantity remained practically constant even after 40 minutes of boiling.

The results obtained from the study of rice, indicated that the rice can adsorb the most of the components of basil extract in large quantities. Furthermore, it seemed that the phenolic compounds are linked strongly with the molecules of rice and so their diffusion is low in the excess water. Finally, the nutritional analysis claims that a serving of 100 g of riched rice can cover 6% of daily human needs in polyphenols. By this fact rice is the fourth best source of polyphenols when compared with 13 beverages of herbs in quantity 200ml, which were studied in previous research.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Βασιλικός – *Ocimum basilicum*

1.1 Γενικά

Ο βασιλικός ή αλλιώς το ώκιμο το βασιλικό (*Ocimum basilicum*) είναι ένα αρωματικό βότανο, το οποίο ανήκει στην οικογένεια Λαμπιάτα ή Χειλανθή (*Labiatae*). Συγγενεύει με άλλα γνωστά αρωματικά φυτά, όπως το δενδρολίβανο, ο δυόσμος, η φασκομηλιά, η ρίγανη, η μέντα και η μαντζουράνα.

Η καταγωγή του ξεκινά από τις τροπικές περιοχές της Ασίας, της Αφρικής και της Μεσογείου. Κυριότερος τόπος προέλευσης είναι η Ινδία, στην οποία θεωρείται, μετά το λωτό, το πιο ιερό φυτό, καθώς προωθεί μόνο τα καλά του ανθρώπου και χαρίζει θετική ενέργεια στο σπίτι.

Είναι μονοετές φυτό, ποώδες και συνήθως θαμνώδες, ύψους 30-40 εκατοστά. Το στέλεχος έχει πολλά κλαδιά και πυκνό φύλλωμα σε φωτεινό πράσινο χρώμα. Τα φύλλα είναι μονά, αντίθετα, ωοειδή, με περιθώριο ακέραιο ή ελάχιστα οδοντωτό, ενώ μερικές φορές είναι φουσκωτά και ανάλογα με το είδος περισσότερο ή λιγότερο κατσαρά. Τα άνθη διατάσσονται σε χαλαρούς σπονδύλους, χρώματος άσπρου, κόκκινου ή ιώδους, ανάλογα με την ποικιλία. Είναι αρωματικά και πλούσια σε νέκταρ με αποτέλεσμα να προσελκύουν τις μέλισσες (Beuther B 2003).

Η διαδικασία του υβριδισμού γίνεται με ιδιαίτερη ευκολία στα φυτά αυτού του γένους, με αποτέλεσμα τη δημιουργία πάρα πολλών υποειδών, ποικιλιών και μορφών (Guenther 1975). Επιπλέον, μεγάλη ετερογένεια χαρακτηρίζει τη μορφολογία, τις περιεχόμενες χημικές ενώσεις και την ανάπτυξη (Lawrence 1988, Svecova 2010). Το γένος *Ocimum* περιλαμβάνει περίπου 50 με 150 είδη θάμνων και βοτάνων, από τις τροπικές και υποτροπικές περιοχές της Ασίας, της Αφρικής, της κεντρικής και νότιας Αμερικής (Simon 1999). Η μεγαλύτερη ποικιλία όμως, παρατηρείται στην Αφρική (Paton 1992).

Οι ποικιλίες του βασιλικού είναι οι εξής:

1. «Μεγάλος πράσινος»: αποτελεί πρωτότυπο του είδους. Χαρακτηρίζεται από πλούσια συμπαγή βλάστηση, ωοειδή φύλλα σε φωτεινό πράσινο χρώμα και ήπιο

ευχάριστο άρωμα. Από τη συγκεκριμένη ποικιλία παράγονται τα καλύτερα αιθέρια έλαια.

2. «Μεγάλος ιώδης»: μοιάζει με την παραπάνω ποικιλία και έχει λουλούδια, φύλλα και στελέχη ιώδη.

3. Βασιλικός με φουσκωτά φύλλα: έχει πιο περιορισμένη βλάστηση από τις παραπάνω ποικιλίες, όμως τα φύλλα είναι πλατιά και φουσκωτά, με άκρες διπλωμένες.

4. Κοινός βασιλικός: αποτελεί την πιο ανθεκτική ποικιλία του είδους. Δεν είναι πολύ φουντωτός, έχει λουλούδια άσπρα με πολύ έντονο άρωμα. Μπορεί να καλλιεργηθεί και σε γλάστρα.

5. «Ναπολετάνο»: έχει φύλλα φουσκωτά και διπλωμένα σαν του μαρουλιού. Αποτελεί την καλύτερη ποικιλία για καρυκεύματα και κονσέρβες.

6. «Μαμμούθ»: είναι ημινάνος, με άφθονα πολύ πλατιά φύλλα και είναι κατάλληλη ποικιλία για ξήρανση.

7. «Μικρός βασιλικός»: ονομάζεται και ώκιμο το μικρόφυλλο (*Ocimum minimum*). Είναι ένα είδος ξεχωριστό, με μικρό ανάστημα γύρω στα 20 εκατοστά, φουντωτό, με σφαιρικό σχήμα και χαρακτηριστικό λεπτό άρωμα. Καλλιεργείται και σε γλάστρα, καθώς επίσης χρησιμοποιείται και σαν διακοσμητικό για τα όμορφα πράσινα ή κοκκινωπά φύλλα του (Μαρσέλος Σ 1983).

Η σπορά γίνεται από τον Φεβρουάριο μέχρι και την αρχή του καλοκαιριού, αναλόγως το κλίμα. Η θερμοκρασία δεν πρέπει να είναι χαμηλότερη από τους 10-12°C. Αν υπάρχει αρκετή ηλιοφάνεια είναι δυνατό να καλλιεργηθεί και σε θερμοκήπιο, με θερμοκρασία 15°C, ξεκινώντας από τον Οκτώβριο με κλιμακωτές σπορές, για την παραγωγή νωπού βασιλικού από τον Δεκέμβριο μέχρι τον Μάρτιο. Η βλαστική ανάπτυξη του βασιλικού είναι αρκετά μεγάλη, γι' αυτό έχει συνέχεια ανάγκη από λιπαντικά στοιχεία και υγρασία. Παρόλα αυτά αντέχει και σε πιο αντίξοες συνθήκες. Το έδαφος που αναπτύσσεται πρέπει να είναι μέσης σύστασης και καλά λιπασμένο, κυρίως ως προς το κάλιο. Σε αργιώδη ή πολύ ελαφρά εδάφη, δεν αναπτύσσεται καλά. Για να αποκτήσει το γνωστό, χαρακτηριστικό του άρωμα χρειάζεται πολύ ήλιο. Όσο περισσότερος ο ήλιος, τόσο πιο έντονο είναι το άρωμά του.

Στης μεγάλης έκτασης καλλιέργειες, το φυτό συλλέγεται λίγο πριν την ανθοφορία ή ξηραίνεται ολόκληρο σε μέρος δροσερό και αεριζόμενο. Οι αποδόσεις για το φρέσκο φυτό ποικίλουν μεταξύ 14-713g ανά φυτό και για το αποξηραμένο υπολογίζεται μεταξύ 25-499g ανά φυτό (Svecova 2010). Όταν ο βασιλικός καλλιεργείται για διακοσμητικούς λόγους ή για να χρησιμοποιηθεί σαν καρύκευμα, θα πρέπει να κόβονται λίγα φύλλα κάθε φορά που χρειάζονται, ιδιαίτερα από την κορυφή, ώστε να αναπτύσσονται νέοι πλευρικοί βλαστοί. Είναι σημαντικό να κόβονται τα άνθη μόλις σχηματιστούν, με σκοπό να παραταθεί η ζωή του φυτού.

1.2 Δράσεις

Το εκχύλισμα του βασιλικού χρησιμοποιείται στη παραδοσιακή ιατρική και έχει αποδειχθεί ότι περιέχει βιολογικά δραστικά συστατικά τα οποία ανταγωνίζονται κύτταρα μυκήτων, μικροβίων, εντόμων και νηματωδών (Simon 1990, Albuguerque).

Γενικά, έχει αποδειχθεί ότι τα αιθέρια έλαια πολλών αρωματικών φυτών που ανήκουν στην οικογένεια Labiatae έχουν αντιμικροβιακή δράση (Cosentino 1999). Το εκχύλισμα του βασιλικού συγκεκριμένα, παρουσιάζει αντιμικροβιακή (Arora 1999), αντιβακτηριδιακή (Smith-Palmer 1998, O' Gara 2000) και αντιμυκητησιακή δράση (Duarte 2005).

Όσον αφορά τα βακτήρια, φαίνεται ότι τα έλαια του βασιλικού είναι πιο αποτελεσματικά κατά των gram θετικών βακτηρίων σε σχέση με τα gram αρνητικά βακτήρια. Παραδείγματα βακτηρίων που ανήκουν στη πρώτη κατηγορία είναι τα *Bacillus tearothermophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thurengiensis*, *Micrococcus glutamicus*, *Sarcina lutea* και *Staphylococcus aureus* (Prasad 1986). Αξίζει να σημειωθεί ότι το αιθέριο έλαιο του βασιλικού βρέθηκε να είναι περισσότερο δραστικό από το αντιβιοτικό στρεπτομυκίνη στην αναστολή της ανάπτυξης του *Bacillus mycoides*, καθώς επίσης είναι ιδιαίτερα δραστικό έναντι του βάκιλου του άνθρακα (Lahariya 1979).

Όσον αφορά τη δράση του ελαίου έναντι των μυκήτων, παρατηρήθηκε μυκητοκτόνος δραστηριότητα έναντι των στελεχών *Microsporum gypseum*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* και *Penicillium liliacinum*, ενώ για τα στελέχη *Fusarium oxysporum* και *Rhizopus nigricans* παρατηρήθηκε μυκητοστατική δραστηριότητα (Bara 1995).

1.3 Εφαρμογές

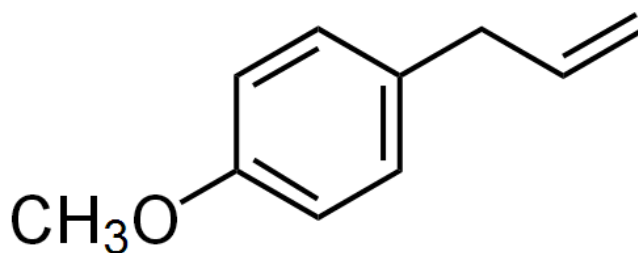
Χάρη στο ιδιαίτερο και έντονο άρωμα του βασιλικού, η χρήση του ως μαγειρικό βότανο ξεκινά από τους αρχαίους Έλληνες και Ρωμαίους. Έχει χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα για πολλά χρόνια ως αρωματική ύλη σε προϊόντα ζαχαροπλαστικής και αρτοποιίας, σε καρυκεύματα (π.χ. κέτσαπ, πάστες τομάτας, σάλτσες τσίλι, τουρσιά, ξύδι), σε λουκάνικα, κρέατα, μη αλκοολούχα ποτά και παγωτά (Karwowska 1997). Σήμερα, αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της Ιταλικής κουζίνας, καθώς είναι βασικό συστατικό της διάσημης σάλτσας πέστο και της σάλτσας πιστού (pistou) (Guenther 1975). Γενικά στη μαγειρική, ταιριάζει γευστικά με μακαρόνια, ρύζι, ψάρια, πουλερικά, μανιτάρια και λαχανικά. Άλλες εφαρμογές του βασιλικού συναντώνται στη κατασκευή ποτών, για παράδειγμα στο ποτό Chartreuse, στο οποίο χρησιμοποιείται παραδοσιακά από τον 11^ο αιώνα. Επίσης, χρησιμοποιείται στην κονσερβοποιία, ιδιαίτερα στις κονσέρβες τομάτας. Τέλος, το αιθέριο έλαιο του βασιλικού αποτελεί συστατικό της φαρμακοβιομηχανίας, της αρωματοποιίας, ενώ συναντάται και σε προϊόντα στοματικής υγιεινής.

Ο βασιλικός συναντάται στο εμπόριο με τη μορφή ολόκληρου φυτού, φρέσκων ή αποξηραμένων φύλλων και ως αιθέριο έλαιο. Τα αιθέρια έλαια του βασιλικού διακρίνονται σε διάφορα είδη ανάλογα με τον τρόπο παρασκευής τους και με το χημικό τους φαινότυπο. Συνήθως, συλλέγονται μετά την εξαγωγή τους από τα φύλλα ή τα άνθη του φυτού, με τη μέθοδο εκχύλισης ατμού. Σπανιότερα, η κοινή μέθοδος εκχύλισης με ατμό αντικαθίσταται από την απόσταξη με διοξείδιο του άνθρακα υπό υγρό ή υπό υπερκρίσιμες συνθήκες. Η περιεκτικότητα του ξηρού φυτού σε αιθέρια έλαια κυμαίνεται από 1,8 μέχρι 14,3 ml/kg (Svecova 2010). Ανάλογα με το χημικό φαινότυπο του ελαίου διακρίνονται τέσσερις κατηγορίες αιθέριων ελαίων βασιλικού, οι οποίες διακρίνονται μεταξύ τους ως προς το κυρίαρχο συστατικό τους (Grayer 1996, Simon 1990, Marotti 1996).

Επειδή ο βασιλικός είναι ευαίσθητος στις χαμηλές θερμοκρασίες, είναι δυνατό τα φύλλα του να διατηρηθούν ξερά, κλεισμένα ερμητικά σε γυάλινα βάζα και στην κατάψυξη, για να διατηρήσουν το άρωμά τους. Τα φρέσκα φύλλα μπορούν να συντηρηθούν σε καλά κλειστά βάζα που περιέχουν λάδι και αλάτι.

1.4 Χημική σύσταση

Σε σχέση με άλλα αρωματικά φυτά, ο βασιλικός (*Ocimum Bacilicum*) βρέθηκε ότι περιέχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικών φαινολών και μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα από τη δάφνη, το κύμινο, το μαϊντανό και το μάραθο (Hinneburg 2006). Στο έλαιο του γλυκού βασιλικού που καλλιεργείται στην Ευρώπη, βασικό συστατικό ποσοτικά, είναι η εστραγκόλη (Εικόνα 1) σε ποσοστό 86,1% (Baratta 1998, Simon 1990), η οποία ανήκει στην ομάδα των φαινυλοπροπενίων. Το αιθέριο έλαιο βασιλικού, ο οποίος έχει καλλιεργηθεί είτε σε θερμοκήπιο είτε σε χωράφι, μπορεί να αποτελείται από φαινυλοπροπένια σε ποσοστό μέχρι και 90% (Gang 2001). Τα φαινυλοπροπένια συναντώνται σε μεγάλες ποσότητες στα αγγειόσπερμα φυτά, καθώς συμβάλλουν σημαντικά στη προστασία τους από παθογόνους μικροοργανισμούς χάρη στις τοξικές τους ιδιότητες. Άλλες ενώσεις που συναντώνται στο βασιλικό είναι η ευγενόλη, η καμφορά, η θυμόλη, το β-καρυοφυλλένιο και η λιναλόλη. Αναλόγως την ένωση που βρίσκεται σε μεγαλύτερη ποσότητα, διαμορφώνεται το ιδιαίτερο άρωμα της κάθε ποικιλίας. Πρέπει να σημειωθεί ότι πολλές από αυτές τις ενώσεις ασκούν ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη τροφογενών παθογόνων (Karapinar 1987, Martini 1996, Smith-Palmer 2001).



Εικόνα 1: Χημική δομή εστραγκόλης

Η χημική σύσταση του βασιλικού δεν είναι σταθερή και εξαρτάται από τους εξής παράγοντες:

Α) Την εποχή συγκομιδής (Miele 2001).

Β) Τη μέθοδο εκχύλισης αιθέριων ελαίων (χρήση ατμού ή υδροξειδίου του άνθρακα) (Lachowicz 1996).

Γ) Τις τεχνικές άλεσης και θερμικής επεξεργασίας (Reverchon 1992).

Δ) Τη μέθοδο ξήρανσης (η μέθοδος της ψυχρής ξήρανσης μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα της λιναλόλης) (Grayer 1996).

Ε) Τη χρήση της UV-B συμπληρωματικής θεραπείας, σε φυτά που αναπτύσσονται σε θερμοκήπιο (Johnson 1999).

ΣΤ) Το περιβάλλον καλλιέργειας (χωράφι ή θερμοκήπιο) (Vieira 2000).

Ζ) Τα μήκη κύματος του φωτός που ανακλώνται στα χρωματιστά προστατευτικά στρώματα και επηρεάζουν το μέγεθος των φύλλων, το άρωμα και τις συγκεντρώσεις των φαινολικών συστατικών (Loughrin 2001).

2. Ρύζι

2.1 Μορφολογία φυτού

Το ρύζι είναι ετήσιο ποώδες, αγροστώδες φυτό. Οι ρίζες του είναι θυσανώδεις, λεπτές, πολλές και επιπόλαιες. Φθάνουν μέχρι βάθους 10 εκατοστών και μόνο ένα μικρό ποσοστό (περίπου 20% των ριζών) φθάνουν σε βάθος 25-30 εκατοστά όταν καλλιεργείται υπό κατάκλυση. Αντίθετα, φυτά που καλλιεργούνται χωρίς κατάκλυση αναπτύσσουν ριζικό σύστημα μέχρι βάθους 100 εκατοστών. Μπορεί να σχηματίσει και εναέριες ρίζες.

Ο βλαστός του είναι όρθιος κοίλος (καλάμι), συμπαγής στο σημείο των κόμβων, με κοντά μεσογονάτια διαστήματα. Φθάνει σε ύψος τα 60-180 εκατοστά ανάλογα με την ποικιλία και τις συνθήκες ανάπτυξης. Το φυτό αδελφώνει εύκολα παράγοντας συνήθως 4-5 αδέρφια.

Τα φύλλα του (10-20 στον αριθμό) είναι επιμήκη, στενά και περιβάλλουν το στέλεχος με τα «ωτία». Γενικά όλα τα υπέργεια όργανα μπορεί να έχουν και ρόδινες αποχρώσεις λόγω παρουσίας ανθοκυανινών.

Η ταξιανθία του ρυζιού αναπτύσσεται στις άκρες των βλαστών με τη μορφή αραιής φόβης. Έχει συνήθως μήκος 10-25 εκατοστά και κάμπτεται όταν γεμίζουν οι καρποί. Απαρτίζεται από 75-150 σταχύδια. Τα σταχύδια είναι τριανθή με ένα μόνο γόνιμο άνθος, που περικλείεται από το χιτώνα και τη λεπίδα. Αυτά θα συνεχίσουν να περιβάλλουν στενά τον καρπό και δεν αποχωρίζονται κατά των αλωνισμό, αλλά μόνο με ειδικές αποφλοιωτικές μηχανές. Το άνθος του ρυζιού έχει έξι στήμονες, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα σιτηρά που διαθέτουν τρεις.

Ο καρπός είναι καρύοψη, μήκους 3,5-8 χιλιοστών, πλάτους 1,7-3,0 χιλιοστών, πάχους 1,3-2,3 χιλιοστών. Λόγω του καστανού χρώματος των περιβλημάτων του, ο καρπός χωρίς τον χιτώνα και τη λεπίδα ονομάζεται «brown rice». Εσωτερικά παρατηρούνται το στρώμα της αλευρόνης, το αμυλώδες ενδοσπέρμιο και το έμβρυο (Καραμάνος 1985, Υφούλη 1986).

2.2 Ποικιλίες ρυζιού

Η γενετική ποικιλομορφία του ρυζιού είναι εκπληκτική, με αποτέλεσμα την ύπαρξη χιλιάδων ποικιλιών, οι οποίες καλλιεργούνται σε όλον τον κόσμο. Το φυτό

του ρυζιού γενικά, ανήκει στην οικογένεια των Ποοειδών (Poaceae) και συγκεκριμένα στο γένος *Oryza* L. Άμεσοι συγγενείς του είναι τα εξής επτά είδη:

1. *Oryza barthii* (άγριο ρύζι)
2. *Oryza glaberrima* (Αφρικάνικο ρύζι)
3. *Oryza grandiglumis*
4. *Oryza latifolia* (πλατύφυλλο ρύζι)
5. *Oryza punctate* (κόκκινο ρύζι)
6. *Oryza rufipogon* (άγριο κόκκινο ρύζι, κόκκινο ρύζι)
7. *Oryza sativa* (απλό ρύζι)

Στη συγκεκριμένη πτυχιακή εργασία χρησιμοποιήθηκε ρύζι του είδους *Oryza sativa*. Το συγκεκριμένο είδος διακρίνεται σε εκατοντάδες ποικιλίες, οι οποίες διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το χρώμα, το μέγεθος, το σχήμα των σιτηρών, την αντοχή σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες και την εποχικότητα (Courteau 2012). Οι σημαντικότερες ποικιλίες του συγκεκριμένου είδους είναι η *Indica* και η *Japonica*. Οι κόκκοι της ποικιλίας *Indica* είναι μακριοί και αναπτύσσονται σε περιοχές με τροπικό κλίμα, όπως η νοτιοανατολική Ασία και οι Φιλιππίνες. Η ποικιλία *Japonica* καλλιεργείται σε εύκρατες περιοχές της Ιαπωνίας και της Βόρειας Κίνας και παράγει ρύζι μικρού μεγέθους (KEW).

Μία μέθοδος κατηγοριοποίησης των διαφορετικών ποικιλιών ρυζιού είναι το σχήμα και το μέγεθος των καρπών, όπως φαίνεται στον Πίνακα 1.

Άλλα κριτήρια ταξινόμησης του ρυζιού είναι η επεξεργασία που έχουν υποστεί οι κόκκοι και η αναλογία αμυλόζης – αμυλοπηκτίνης (Κυρίτση 2009).

ΣΧΗΜΑ		ΜΕΓΕΘΟΣ	
Κατηγορία	Μήκος/ Πλάτος	Κατηγορία	Μήκος/ Πλάτος
<i>Επιμήκης</i> (slender)	>3	<i>Πολύ μακρύς</i> (extra - long)	>7
<i>Ενδιάμεσος</i> (medium)	2,4-3	<i>Μακρύς</i> (long)	6-7
<i>Ημιστρόγγυλος</i> (bold)	2-2,39	<i>Μεσαίου μεγέθους</i> (middling)	5-5,99
<i>Στρογγυλός</i> (round)	<2	<i>Βραχύς</i> (short)	<5

Πίνακας 1: Κατηγορίες ρυζιού ως προς το σχήμα και το μέγεθος των κόκκων (Καραμάνος 1985).

2.3 Ιστορία

Πρόγονος του σημερινού ρυζιού είναι το είδος *Oryza rufipogon*, το οποίο αναπτύσσεται χωρίς οργανωμένες καλλιεργητικές μεθόδους στις περιοχές της Νότιας και Νοτιοανατολικής Ασίας. Η παλαιότερη καταγραφή εξημερωμένης ποικιλίας ρυζιού είναι ίσως εκείνη από την Κάτω Κοιλάδα του ποταμού Yangtze της Νότιας Κίνας, που χρονολογείται περίπου από το 6000 π.Χ.. Χίλια χρόνια αργότερα η καλλιέργεια ρυζιού υιοθετήθηκε σε περιοχές της Βαβυλώνας και της Μέσης Ανατολής, απ' όπου στη συνέχεια εξαπλώθηκε και στην Ευρώπη κατά τη διάρκεια του Μεσαίωνα (Courteau 2012). Ο ρυθμός εξάπλωσης της καλλιέργειας ρυζιού ήταν πολύ μικρότερος σε σχέση με άλλα είδη, λόγω των αυξημένων αναγκών του σε νερό. Για παράδειγμα, η πρώτη οργανωμένη καλλιέργεια ρυζιού στη Βόρεια Αμερική πραγματοποιήθηκε στα τέλη του 17ου αιώνα.

Η καλλιέργεια του ρυζιού συνέβαλε, με διάφορους τρόπους, στην πολιτισμική ανάπτυξη των λαών με το πέρασμα των χρόνων. Χιλιάδες χρόνια πριν, άνθρωποι από την Ανατολή και τη Νότια Ασία εγκαταστάθηκαν σε περιοχές που βρίσκονταν κοντά σε ποτάμια, με αποτέλεσμα την αύξηση της παραγωγικότητας των καλλιεργειών και συνεπώς την αύξηση του πληθυσμού, την ανάπτυξη της κοινωνίας και του

πολιτισμού. Επιπλέον, η επίπονη διαδικασία καλλιέργειας του ρυζιού βοήθησε λαούς με διαφορετικές κουλτούρες να συνεργαστούν.

Το ρύζι συναντάται συχνά σε θρησκείες, όπως ο ινδουισμός και ο βουδισμός. Στον ινδουισμό συγκεκριμένα, το ρύζι θεωρείται σύμβολο ευημερίας και γονιμότητας. Οι μίσχοι και ο αναποφλοιώτος καρπός λατρεύονταν ως έκφραση της θεάς Lakshmi, της θεάς του πλούτου. Επίσης, προσφερόταν στις θεότητες ως τάμα και αποτελούσε μέρος πολλών τελετών, όπως ο γάμος. Η σπορά, η φύτευση και η συγκομιδή του ρυζιού συνοδεύονταν από εορταστικές εκδηλώσεις. Στην Ιαπωνία, αναφέρονται στο ρύζι ως «μητέρα» τους, ενώ οι αγρότες που καλλιεργούν ρύζι αντιμετωπίζονται σα θεματοφύλακες του πολιτισμού τους.

Κατά τη διάρκεια των αιώνων, το ρύζι έχει διαμορφώσει τις διατροφικές συνήθειες των καλλιεργητών και των καταναλωτών του. Είναι σημαντικό το γεγονός ότι σχεδόν κάθε πολιτισμός έχει τον δικό του τρόπο να τρώει το ρύζι και οι συνταγές αυτές αποτελούν μέρος της πολιτιστικής κληρονομιάς του κόσμου. Έτσι, ανάλογα με τη περιοχή το ρύζι συνδυάζεται με ψάρι, κρέας ή όσπρια, όπως φασόλια, φακές και ρεβίθια.

2.4 Καλλιέργεια

Η καλλιέργεια του ρυζιού παγκοσμίως είναι η πιο σημαντική σε σύγκριση με τα υπόλοιπα σιτηρά. Η κατανάλωση ρυζιού καλύπτει το 20% των ενεργειακών αναγκών των ανθρώπων σε όλον τον κόσμο και αποτελεί την κύρια πηγή θερμίδων για περισσότερο από το μισό του παγκόσμιου πληθυσμού (FAO 2004). Μετά τη πράσινη επανάσταση, η παγκόσμια παραγωγή ρυζιού αυξήθηκε από τα 210 εκατομμύρια τόνους το 1961 στα 590 εκατομμύρια τόνους το 2003.

Ανάλογα με το κλίμα και τη γεωγραφία της κάθε περιοχής, έχουν αναπτυχθεί διαφορετικές μέθοδοι καλλιέργειας ρυζιού. Οι γεωπόνοι τις έχουν ταξινομήσει σε πέντε κατηγορίες ανάλογα με το βαθμό χρήσης του νερού.

Συνήθως καλλιεργείται σε κοιλάδες ποταμών ή σε άλλες περιοχές, οι οποίες είναι πλημμυρισμένες. Σπάνια καλλιεργείται και σε ξηρό περιβάλλον, κυρίως σε ορεινές περιοχές, αλλά αυτή η μέθοδος αντιπροσωπεύει μόνο το 4% της παγκόσμιας καλλιέργειας ρυζιού.

Το είδος *Oryza sativa* καλλιεργείται στην Ευρώπη, την Αφρική, στην τροπική και εύκρατη Ασία, την Αυστραλία, τη Βόρεια και Νότια Αμερική (Ανεσιάδης 2005).

Επεξεργασία

Οι σπόροι του ρυζιού, μετά τη συλλογή τους, αλέθονται, με σκοπό την αφαίρεση του φλοιού και του πίτουρου και συνεπώς την παραλαβή ενός εδώδιμου λευκού πυρήνα χωρίς ακαθαρσίες.

2.5 Εφαρμογές – Χρήσεις

Τρόφιμο

Ο καρπός του ρυζιού μπορεί να καταναλωθεί είτε ολόκληρος («καφέ» ρύζι), είτε μετά την αποφλοιώσή του (αφαίρεση περιβλήματος – πίτουρου) ως λευκό ρύζι.

Χάρη στη χαμηλή περιεκτικότητά του σε γλουτένη, το ρυζάλευρο χρησιμοποιείται στη παρασκευή αρτοσκευασμάτων για άτομα που πάσχουν από δυσανεξία στη γλουτένη.

Ποικιλίες ρυζιού που χαρακτηρίζονται από χαμηλή περιεκτικότητα σε αμυλόζη έχουν κολλώδη υφή και γι' αυτό χρησιμοποιούνται ως πυκνωτικό μέσο στη βιομηχανία για σάλτσες και πουτίγκες.

Κοσμετολογία

Το ρύζι αποτελεί συστατικό πολλών καλλυντικών για το πρόσωπο και το δέρμα. Το έλαιό του χρησιμοποιείται σε προϊόντα προστασίας του δέρματος από τον ήλιο, καθώς απορροφούν την υπεριώδη ακτινοβολία. Ακόμα, συναντάται και σε μαλακτικά και σαμπουάν για τα μαλλιά. Πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι έχει ενυδατικές και αντιγηραντικές ιδιότητες. Τα εκχυλίσματα που περιέχουν πρωτεΐνη ρυζιού προστίθενται σε προϊόντα για τα μαλλιά προκειμένου να δώσουν την αίσθηση του όγκου στα μαλλιά.

Ιατρική

Η φαρμακοβιομηχανία χρησιμοποιεί ευρέως το λάδι από το πίτουρο του ρυζιού και τα σκευάσματα που το περιέχουν είναι κατάλληλα για τη θεραπεία δερματικών παθήσεων, στομαχικών διαταραχών, ναυτίας και διαρροιών.

Επίσης, μελέτες έχουν δείξει ότι τα προϊόντα του ρυζιού μπορεί να έχουν αντικαρκινικές ιδιότητες και να είναι ευεργετικά σε παθήσεις όπως ο διαβήτης, οι πέτρες στα νεφρά και οι καρδιαγγειακές νόσοι. Οι παραπάνω δράσεις ίσως οφείλονται στη περιεκτικότητα του πύτουρου σε βιταμίνη Ε, που δρα ως αντιοξειδωτικό, και στη παρουσία μεγάλης ποσότητας ινών, οι οποίες συμβάλλουν στη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης και στην καλύτερη ρύθμιση του σακχάρου στο αίμα.

Τεχνολογία τροφίμων

Με τη βοήθεια της γενετικής μηχανικής σχεδιάστηκε μία νέα ποικιλία ρυζιού, το «χρυσό ρύζι», το οποίο περιέχει αυξημένες ποσότητες βιταμίνης Α και έχει ως στόχο τη μείωση των συμπτωμάτων έλλειψης της συγκεκριμένης βιταμίνης, σε πληθυσμούς των αναπτυσσόμενων χωρών.

2.6 Διατροφική σύσταση

Ανά 100g	Ρύζι, καφέ, μακρύκοκκο, μαγειρεμένο	Ρύζι, καφέ, μεσαίων κόκκων, μαγειρεμένο	Άγριο ρύζι, μαγειρεμένο	Ρύζι, άσπρο, μακρύκοκκο, επεξεργασμένο με βραστό νερό, εμπλουτισμένο, μαγειρεμένο	Ρύζι, άσπρο, μακρύκοκκο, επεξεργασμένο με βραστό νερό, μη εμπλουτισμένο, μαγειρεμένο	Ρύζι, άσπρο, μακρύκοκκο, προμαγειρεμένο ή στιγμιαίο, εμπλουτισμένο, παρασκευασμένο	Ρύζι, άσπρο, μακρύκοκκο, μαγειρεμένο	Ρύζι, λευκό, μεσαίων κόκκων, μαγειρεμένο	Ρύζι, άσπρο, μικρόκοκκο, μαγειρεμένο
Ενέργεια (kcal)	111	112	101	123	123	117	130	130	130
Υδατάνθρακες (g)	23	24	21	26	30	27	28	29	29
Πρωτεΐνες (g)	3	2	4	3	3	2	3	2	2
Λίπη (g)	1	1	0	0	0	0	0	0	0

Πίνακας 2: Σύσταση σε ενέργεια και μακροθρεπτικά συστατικά επιλεγμένων προϊόντων ρυζιού (USDA, Nutrient Data Laboratory).

ΣΚΟΠΟΣ

Το ρύζι βρίσκεται στη βάση της διατροφής πολλών πληθυσμών ανά τον κόσμο, καθώς η καλλιέργειά του υπερβαίνει ποσοτικά τα υπόλοιπα σιτηρά, κάτι που το καθιστά οικονομικά προσιτό σαν τρόφιμο. Στο λευκό ρύζι, που καταναλώνεται πιο συχνά, απουσιάζει το εξωτερικό περίβλημα του καρπού, το οποίο είναι και το πιο πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά. Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι ο εμπλουτισμός του λευκού μυλευμένου ρυζιού με αντιοξειδωτικές ουσίες προκειμένου να αυξηθεί η θρεπτική του αξία.

Ο βασιλικός ως μπαχαρικό διατίθεται ευρέως στο ελληνικό εμπόριο, αφού είναι αναπόσπαστο κομμάτι της μαγειρικής της χώρας. Επιπλέον, υπάρχουν δεδομένα που μαρτυρούν τη χρήση του στην ιατρική για τη καταπολέμηση διαφόρων παθήσεων, από την αρχαιότητα. Στο εκχύλισμα του βασιλικού έχει ανιχνευθεί πληθώρα αντιοξειδωτικών ενώσεων, οι οποίες, από πρόσφατες μελέτες, φαίνεται να προάγουν και να προστατεύουν την υγεία των ανθρώπων. Γι' αυτό το λόγο ο βασιλικός επιλέχθηκε ως πηγή αντιοξειδωτικών για τον εμπλουτισμό του λευκού ρυζιού.

Οι μετρήσεις που θα πραγματοποιηθούν στο εκχύλισμα του βασιλικού έχουν σκοπό τη καταγραφή του φαινολικού προφίλ και τη τάση (ανοδική, καθοδική, σταθερή) της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών κατά τη διάρκεια του βρασμού. Αντίστοιχα, οι αναλύσεις στα δείγματα του εμπλουτισμένου ρυζιού θα γίνουν, σε πρώτο στάδιο, με στόχο να υπολογιστεί ο βαθμός στον οποίο επετεύχθη ο εμπλουτισμός από το εκχύλισμα του βασιλικού και σε δεύτερη φάση για να αξιολογηθεί η πιθανή απελευθέρωση το φαινολικό περιεχόμενο μετά τον επαναβρασμό σε περίσσεια νερού.

Τέλος, θα γίνει διατροφική αξιολόγηση μίας μερίδας από το εμπλουτισμένο ρύζι που παράχθηκε, όσον αφορά την ημερήσια κάλυψη των αναγκών του ανθρώπου σε πολυφαινολικά συστατικά.

Οι μέθοδοι που θα χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό των παραπάνω είναι:

- Αντιοξειδωτική ικανότητα: DPPH
- Ολικό φαινολικό περιεχόμενο: Folin – Ciocalteu
- Φαινολικό προφίλ: αέρια χρωματογραφία / φασματομετρία μάζας (GC/MS)

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3. Υλικά και μέθοδοι

3.1 Εμπλουτισμός ρυζιού με αντιοξειδωτικά συστατικά βασιλικού

3.1.1 Παραλαβή εκχυλίσματος βασιλικού

Σκοπός

Εκχύλιση των συστατικών του βασιλικού με χρήση απιονισμένου νερού και παραλαβή του εκχυλίσματος.

Υλικά-Αντιδραστήρια

- Φύλλα Ocimum basilicum
- Απιονισμένο νερό

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας OHAUS
- Ογκομετρικός κύλινδρος του 1L
- Ηλεκτρική κουζίνα
- 2 κατσαρόλες
- Τούλι
- Σουρωτήρι με σίτα
- Σουρωτήρι
- Τρυπητή κουτάλα
- Διηθητικό χαρτί
- Χωνί

Περιγραφή διαδικασίας

Με χρήση ζυγού ακρίβειας δύο δεκαδικών ψηφίων, ζυγίζουμε 70 γραμμάρια φύλλων βασιλικού, τα οποία τοποθετούνται μέσα στο τούλι. Με τη βοήθεια του ογκομετρικού κυλίνδρου μετρώνται 3,5L απιονισμένο νερό, τα οποία προστίθενται στη μία κατσαρόλα. Η κατσαρόλα τοποθετείται στην εστία της ηλεκτρικής κουζίνας μέχρι να φτάσει το νερό σε σημείο βρασμού, οπότε και αποσύρεται από την εστία. Στη συνέχεια τοποθετείται πάνω στη κατσαρόλα το σουρωτήρι με τη σίτα, μέσα στο

οποίο βρίσκεται το τούλι με τον βασιλικό. Τα φύλλα του βασιλικού αφήνονται για 10 λεπτά -σε επαφή με το ζεστό νερό για να εκχυλιστούν τα συστατικά τους και το μείγμα αναδεύεται περιστασιακά. Μετά το τέλος των 10 λεπτών, τοποθετούμε μέσα σε δεύτερη κατσαρόλα ένα μεταλλικό σουρωτήρι, μέσα στο οποίο εφαρμόζουμε διηθητικό χαρτί και σταδιακά διηθούμε το εκχύλισμα του βασιλικού, ώστε να απομακρυνθούν τυχόν στερεά που υπάρχουν σε αυτό. Στη συνέχεια, μεταφέρουμε τον διηθημένο ζωμό στον ογκομετρικό κύλινδρο με την βοήθεια του χωνιού για να υπολογίσουμε τον όγκο του εκχυλίσματος του βασιλικού που απέμεινε, ο οποίος ήταν σχεδόν 3L.

3.1.2 Εμπλουτισμός ρυζιού

Σκοπός

Ως τρόφιμο εμπλουτισμού επιλέχθηκε το ρύζι τύπου «νυχάκι», γιατί είναι μυλεμένο, άσπρου χρώματος και έτσι είναι εύκολο να διακριθούν οι χρωματικές αλλαγές που οφείλονται στον εμπλουτισμό του με το εκχύλισμα του βασιλικού. Επιπλέον, η δομή του συγκεκριμένου τύπου ρυζιού μετά το τέλος του βρασμού, διάρκειας 20 λεπτών, δεν καταστρέφεται.

Υλικά - Αντιδραστήρια

- Εκχύλισμα βασιλικού
- Ρύζι τύπου «νυχάκι»

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας OHAUS
- Ηλεκτρική κουζίνα
- Χρονόμετρο
- Τρυπητή κουτάλα
- 2 πλαστικά πιάτα
- 16 δοκιμαστικοί σωλήνες και 16 καπάκια
- Μικρή σπάτουλα

Περιγραφή διαδικασίας

Με τη βοήθεια του ζυγού ακριβείας ζυγίζονται 500g ρυζιού. Το υδατικό εκχύλισμα του βασιλικού που βρίσκεται στην κατσαρόλα τοποθετείται στην εστία της ηλεκτρικής κουζίνας. Μόλις το εκχύλισμα φτάσει σε σημείο βρασμού, προστίθεται το ρύζι και ξεκινάει το χρονόμετρο. Το ρύζι αναδεύεται περιοδικά και λαμβάνονται δείγματα, ανά τακτά χρονικά διαστήματα (1-2 λεπτών), με την τρυπητή κουτάλα, τα οποία τοποθετούνται σε πλαστικά πιάτα και από εκεί, μεταφέρονται με τη βοήθεια της μικρής σπάτουλας, στους δοκιμαστικούς σωλήνες. Ένα δείγμα ρυζιού λήφθηκε πριν αρχίσει ο βρασμός (P_0). Επιπλέον κατά τα πρώτα λεπτά λήφθηκαν δείγματα εμπλουτισμένου ρυζιού ανά δύο λεπτά ($P_2, P_4, P_6, P_8, P_{10}$), ενώ κατά τα τελευταία 10 λεπτά του βρασμού λαμβανόταν ένα δείγμα ανά λεπτό ($P_{11}, P_{12}, P_{13}, P_{14}, P_{15}, P_{16}, P_{17}, P_{18}, P_{19}, P_{20}$). Οι δοκιμαστικοί σωλήνες με τα δείγματα σφραγίστηκαν με καπάκια και αποθηκεύτηκαν στην κατάψυξη μέχρι να λυοφιλωθούν.

3.1.3 Ξήρανση δειγμάτων εμπλουτισμένου ρυζιού

Σκοπός

Τα 16 δείγματα του εμπλουτισμένου ρυζιού που παραλήφθηκαν λυοφιλώθηκαν, ώστε να απομακρυνθεί η υγρασία τους.

Υλικά - Αντιδραστήρια

- Εμπλουτισμένο ρύζι

Όργανα

- Συσκευή λυοφιλίωσης Telstar Cryodos, Terrassa, Spain
- Parafilm

Περιγραφή διαδικασίας

Τα 16 δείγματα του εμπλουτισμένου ρυζιού που συλλέχθηκαν τοποθετήθηκαν στη συσκευή λυοφιλίωσης, στην οποία παρέμειναν για 48 ώρες.

3.2 Μελέτη πιθανής θερμικής υποβάθμισης υδατικού εκχυλίσματος βασιλικού κατά το βρασμό του

Σκοπός

Παραλαβή δειγμάτων υδατικού εκχυλίσματος βασιλικού, ανά τακτά χρονικά διαστήματα κατά τη διάρκεια του βρασμού του. Ξήρανση δειγμάτων και εκτίμηση της θερμικής υποβάθμισής του πολυφαινολικού περιεχομένου σε σχέση με το χρόνο βρασμού.

Υλικά - Αντιδραστήρια

- Φύλλα *Ocimum basilicum*
- 3,5L απιονισμένο νερό

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας OHAUS
- Ογκομετρικός κύλινδρος του 1L
- Ηλεκτρική κουζίνα
- 2 κατσαρόλες
- Τούλι
- Σουρωτήρι με σίτα
- Σουρωτήρι
- Τρυπητή κουτάλα
- Διηθητικό χαρτί
- Χωνί
- Πουάρ
- Σιφόνιο 10mL
- 22 δοκιμαστικοί σωλήνες και 22 καπάκια
- Λυοφιλιοτής
- Μικρή σπάτουλα
- Parafilm

Περιγραφή διαδικασίας

Η διαδικασία παρασκευής του εκχυλίσματος του βασιλικού περιγράφεται στην παράγραφο «Παραλαβή εκχυλίσματος βασιλικού». Μόλις ολοκληρωθεί η διαδικασία αυτή συλλέγουμε σε μια κατσαρόλα τα εναπομείναντα 3L του υδατικού εκχυλίσματος φύλλων βασιλικού. Αρχικά, παραλαμβάνουμε ένα δείγμα 10 ml του εκχυλίσματος (B₋₁) και τοποθετούμε την κατσαρόλα με το εκχύλισμα στην εστία της ηλεκτρικής κουζίνας προκειμένου να ξεκινήσει ο βρασμός. Έπειτα, μόλις αρχίσει ο βρασμός, λαμβάνουμε το δεύτερο δείγμα (B₀) και το εκχύλισμα αφήνεται να βράσει για 40 λεπτά. Κατά τη διάρκεια του βρασμού λαμβάνουμε δείγματα εκχυλίσματος 10ml ανά δύο λεπτά (B₂, B₄, B₆, B₈, B₁₀, B₁₂, B₁₄, B₁₆, B₁₈, B₂₀, B₂₂, B₂₄, B₂₆, B₂₈, B₃₀, B₃₂, B₃₄, B₃₆, B₃₈, B₄₀). Οι δοκιμαστικοί σωλήνες με τα δείγματα τοποθετούνται στην κατάψυξη (-20°C) για τουλάχιστον 24 ώρες και στη συνέχεια τοποθετούνται χωρίς πάματα στο λυοφιλιωτή, όπου παραμένουν για 48 ώρες.

3.3 Προετοιμασία εμπλουτισμένου ρυζιού για χημικές αναλύσεις

3.3.1 Κονιορτοποίηση δειγμάτων ρυζιού

Σκοπός

Η μετατροπή των κόκκων του ρυζιού σε σκόνη (πούδρα), για καλύτερη εκχύλιση των συστατικών του εμπλουτισμένου ρυζιού, αφού αυξάνεται η επιφάνεια επαφής του διαλύτη με το ρύζι.

Υλικά - Αντιδραστήρια

- Αποξηραμένα δείγματα εμπλουτισμένου ρυζιού

Όργανα

- Πορσελάνινο γουδί και πορσελάνινο γουδοχέρι

Περιγραφή διαδικασίας

Το κάθε λυοφιλιωμένο δείγμα εισάγεται στο γουδί και με το γουδοχέρι γίνεται κατάτμησή του μέχρι να αποκτήσει τη μορφή σκόνης.

3.3.2 Εκχύλιση πολυφαινολών από τα δείγματα

Σκοπός

Εκχύλιση των πολυφαινολικών συστατικών του εμπλουτισμένου ρυζιού. Ως εκχυλιστικό μέσο χρησιμοποιήθηκε η μεθανόλη (MeOH) και ο οξικός αιθυλεστέρας (EA).

Υλικά – Αντιδραστήρια

- Μεθανόλη (MeOH)
- Οξικός αιθυλεστέρας (EA)
- Κονιορτοποιημένα δείγματα ρυζιού

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας
- Δοκιμαστικοί σωλήνες και πόματα
- Μικρή σπάτουλα
- Σιφόνιο
- Πουάρ
- Vortex
- Φυγόκεντρος
- Αυτόματη πιπέτα
- Tips

Αναλυτική διαδικασία

Από κάθε δείγμα ζυγίζονται 2 γραμμάρια (ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων) και τοποθετούνται σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα με τη βοήθεια της μικρής σπάτουλας. Σε κάθε δείγμα προστίθενται 5ml μεθανόλης με σιφόνιο και ακολουθεί ανάδευση με vortex για τουλάχιστον 30 δευτερόλεπτα. Τα δείγματα φυγοκεντρούνται στις 3000 στροφές ανά λεπτό για 5 λεπτά. Το υπερκείμενο από κάθε δείγμα μεταφέρεται σε νέο δοκιμαστικό σωλήνα με τη βοήθεια της αυτόματης πιπέτας.

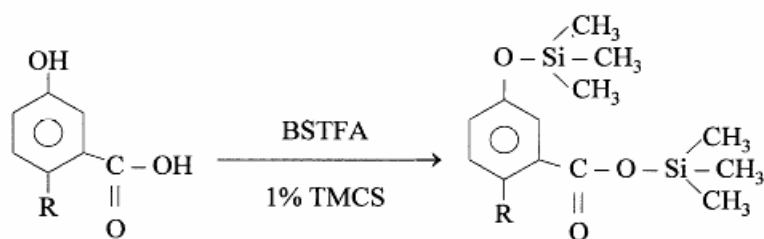
Η διαδικασία επαναλαμβάνεται άλλες τρεις φορές (συνολικά 4 εκχυλίσεις) και κάθε φορά το υπερκείμενο τοποθετείται στον ίδιο δοκιμαστικό σωλήνα. Μετά το

πέρας και της τέταρτης φυγοκέντρωσης τα υπερκείμενα αφήνονται στο Speedvac μέχρι πλήρους εξάτμισης, οπότε παραλαμβάνουμε το καθαρό εκχύλισμα σε ξηρή μορφή. Το εκχύλισμα αυτό αναδιαλύεται σε 1ml μεθανόλης.

3.3.3 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. Η αντίδραση σιλυλίωσης περιλαμβάνει τη μετατροπή των $-OH$ σε αιθερομάδες και τη μετατροπή των $-COOH$ σε εστερομάδες σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:



Εικόνα 2: Αντίδραση σιλυλίωσης

Υλικά - Αντιδραστήρια

- Εσωτερικό πρότυπο πολυφαινολών (3-(4-υδροξύ-φαίνυλο)-1-προπανόλη) συγκέντρωσης 2 µg/mL
- Δι (τριμεθυλοσιλυλο) - τριφθοροακεταμίδιο (BSTFA)
- Μεθανολικά διαλύματα δειγμάτων

Όργανα

- Αυτόματη πιπέτα 100-1000µL (Eppendorf Reference)
- Tips
- Vials – Πώματα για vials
- Speedvac (CentriVap Concentrator, LABCONCO)

- Απαγωγός
- Δοκιμαστικοί σωλήνες χωρίς πώμα
- Υδατόλουτρο (Memmert)

Αναλυτική διαδικασία

Με αυτόματη πιπέτα, παραλαμβάνουμε 500 μL από το κάθε δείγμα και τα τοποθετούμε στο vial. Στη συνέχεια, προσθέτουμε 50 μL εσωτερικού προτύπου πολυφαινολών και το vial τοποθετείται στο όργανο SpeedVac για εξάτμιση του διαλύτη. Μετά την ξήρανση, τα vials τοποθετούνται στον απαγωγό, προστίθενται σε αυτά 250 μL BSTFA και πωματίζονται. Ακολουθεί ανάδευση σε vortex. Στη συνέχεια τα vials τοποθετούνται μέσα σε δοκιμαστικούς σωλήνες χωρίς πώμα και τα δείγματα αφήνονται να επωαστούν σε υδατόλουτρο στους 70°C για 20 min. Μετά από αυτή τη διαδικασία τα δείγματα είναι έτοιμα να τοποθετηθούν στις θέσεις του αυτόματου δειγματολήπτη της συσκευής αέριας χρωματογραφίας (GC/MS).

3.4 Χημικές αναλύσεις εκχυλίσματος βασιλικού κι εμπλουτισμένου ρυζιού ως προς το πολυφαινολικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική δραστηριότητα

3.4.1 Προσδιορισμός του συνολικού πολυφαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu

Σκοπός

Ως Folin – Ciocalteu ορίζεται το μείγμα των μεταλλικών αλάτων που αντιδρούν με έναν ενεργοποιημένο βενζολικό 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 (FC) (Merck, Darmstadt, Germany)
- Κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 , 20% w/v)
- Μεθανόλη εργαστηρίου αναλυτικής καθαρότητας (Merck, Darmstadt, Germany)

- Δις - απεσταγμένο νερό
- Γαλλικό οξύ ως πρότυπη ουσία (Gallic acid, GA) (Sigma Aldrich)
- Μεθανολικά εκχυλίσματα δειγμάτων

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας OHAUS
- Vortex VELD Scientifica
- Φωτόμετρο Analyticjena Specord 200
- Πιπέτα 100-1000 μL (Eppendorf Reference)
- Tips λευκά
- Πιπέτα 10-100 μL (Hirschmann Laborgerate)
- Tips κίτρινα
- Eppendorfs των 1,5 mL
- Ογκομετρικές φιάλες με καπάκι 100 mL
- Κυψελίδες

Αναλυτική διαδικασία

Σε σωλήνες Eppendorf προστίθεται δις- απεσταγμένο νερό όγκου 790 μL και έπειτα 10 μL δείγματος (στα δύο δείγματα ελέγχου που παρασκευάζουμε (blank) προστίθενται 10 μL μεθανόλης, αντί του δείγματος). Στη συνέχεια ακολουθεί προσθήκη 50 μL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu. Το μίγμα αναδεύεται σε συσκευή vortex και αφήνεται για 1 min σε ηρεμία. Κατόπιν, προστίθενται 150 μL κορεσμένου διαλύματος Na_2CO_3 και το μίγμα ανακινείται ξανά. Ακολουθεί παραμονή στο σκοτάδι για 2 ώρες (120 min). Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρείται στα 750 nm ως προς το δείγμα ελέγχου (blank). Για την αξιολόγηση των μετρήσεων της απορρόφησης κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς με το γαλλικό οξύ και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE).

3.4.1.1 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς για τον προσδιορισμό ολικών πολυφαινολών

Από μητρικό διάλυμα γαλλικού οξέος παρασκευάζεται, με αραίωση, διάλυμα εργασίας συγκέντρωσης 1000 $\mu\text{g/mL}$ (1mg/mL). Από το διάλυμα εργασίας παρασκευάζονται διαλύματα συγκέντρωσης 100, 200, 400, 500 και 800 $\mu\text{g/mL}$. Ακολουθεί η αναλυτική πορεία που περιγράφηκε παραπάνω για τον προσδιορισμό του πολυφαινολικού περιεχομένου των αραιωμένων διαλυμάτων του γαλλικού οξέος. Οι μετρήσεις της απορρόφησης στα 750 nm χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό πρότυπης καμπύλης αναφοράς (Σχήμα 1).



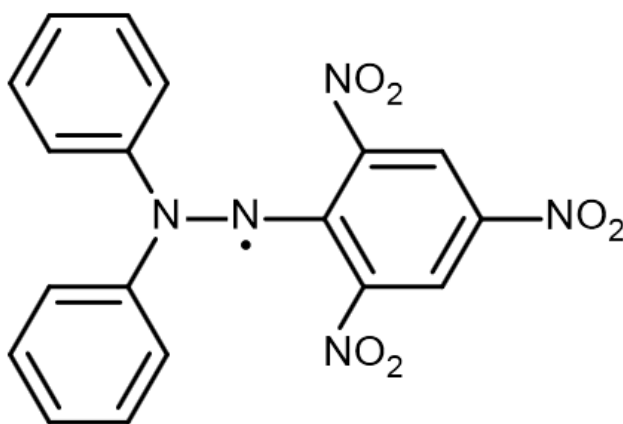
Σχήμα 1: Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος (gallic acid - GAE) $\mu\text{g/mL}$

3.4.2 Προσδιορισμός της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, μέσω προσδιορισμού της ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH

Σκοπός

Για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας όλων των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος DPPH. Στη μέθοδο αυτή οι αντιοξειδωτικές ουσίες των

δειγμάτων δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Εικόνα 3). Όσο περισσότερες ελεύθερες ρίζες δεσμεύονται, δηλαδή αντιδρά μεγαλύτερο ποσοστό του αντιδραστηρίου με το δείγμα, το χρώμα του διαλύματος αλλάζει από μωβ σε κίτρινο. Σκοπός είναι ο υπολογισμός της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας των δειγμάτων του σκέτου ρυζιού, του εμπλουτισμένου ρυζιού και του εκχυλίσματος βασιλικού που βασίζεται σε καμπύλη αναφοράς, για την κατασκευή της οποίας χρησιμοποιούνται πρότυπα διαλύματα Trolox (ανάλογο της Βιταμίνης Ε με ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox.



Εικόνα 3: 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)

Όργανα

- Ζυγός ακριβείας OHAUS
- Vortex VELD Scientifica
- Φωτόμετρο Analyticjena Specord 200
- Πιπέτα 100-1000 µL (Eppendorf Reference)

- Tips λευκά
- Πιπέτα 10-100 μL (Hirschmann Laborgerate)
- Tips κίτρινα
- Eppendorfs των 1,5 mL
- Falcons των 50 mL
- Ογκομετρική φιάλη με καπάκι 250 mL
- Κυψελίδες

Αναλυτική διαδικασία

Πριν την έναρξη της διαδικασίας, παρασκευάζεται διάλυμα DPPH σε MeOH (100 μM), ζυγίζοντας 0,0099 g σκόνης DPPH και διαλύοντάς τη σε 250 ml MeOH. Το διάλυμα χωρίζεται σε falcons των 50 mL και αποθηκεύεται στην κατάψυξη.

Επειδή τα μεθανολικά εκχυλίσματα των δειγμάτων του εμπλουτισμένου ρυζιού περιέχουν μεγάλη συγκέντρωση πολυφαινόλων και η ποσότητα του DPPH καταναλώνεται με μεγάλη ταχύτητα είναι απαραίτητη η παρασκευή αραιωμένων δειγμάτων με μεθανόλη κατά 1/10. Για την παρασκευή των αραιωμένων διαλυμάτων παραλαμβάνονται με αυτόματη πιπέτα 50 μL από το κάθε δείγμα, τα οποία προστίθενται μαζί με 450 μL MeOH σε eppendorfs των 1,5 mL. Στη συνέχεια παραλαμβάνουμε 25 μL από το κάθε αραιωμένο δείγμα και το μεταφέρουμε σε eppendorf μαζί με 975 μL DPPH. Κάθε τέτοιο μίγμα παρασκευάζεται 3 φορές για επανάληψη της φωτομέτρησης και εξαγωγή του μέσου όρου των μετρήσεων. Η διαδικασία αυτή γίνεται σε ξεχωριστές τριάδες eppendorfs για κάθε διαφορετικό δείγμα. Στη συνέχεια, τα eppendorfs με τα μίγματα που έχουν τοποθετηθεί σε ειδική βάση, αναδεύονται στο Vortex για 10 δευτερόλεπτα και τοποθετούνται στο σκοτάδι για τουλάχιστον μισή ώρα, ώστε να γίνει η αντίδραση δέσμευσης της ρίζας DPPH. Μετά το πέρας της μισής ώρας, τα eppendorfs επανέρχονται στο φως για τη φωτομέτρηση. Το φασματοφωτόμετρο ρυθμίζεται στα 515 nm. Για το σταντάρισμα των μετρήσεων του οργάνου χρησιμοποιείται διαλύτης MeOH, και το πρώτο δείγμα που φωτομετρείται είναι αυτό του σκέτου DPPH, του οποίου η απορρόφηση χρησιμεύει ως τυφλό δείγμα στην ανάλυση αποτελεσμάτων. Στη συνέχεια, όλα τα δείγματα μεταφέρονται σε κυψελίδες και φωτομετρούνται από το πιο σκούρο δείγμα στο πιο ανοιχτόχρωμο.

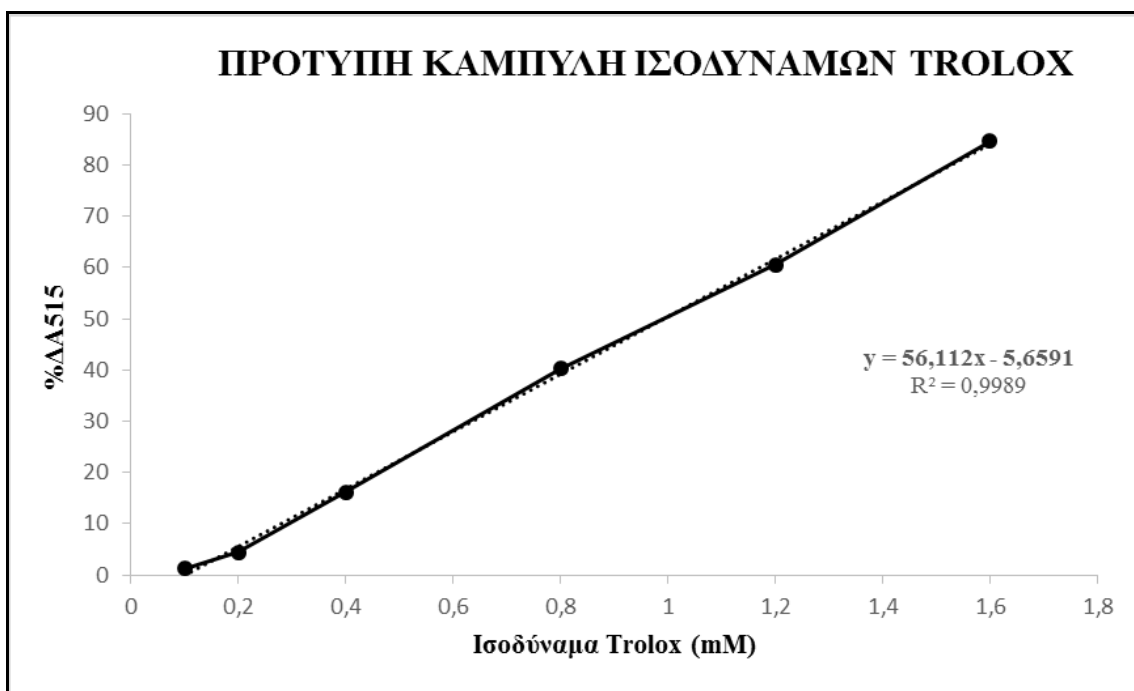
Οι τιμές της απορρόφησης των δειγμάτων προσαρμόζονται στον παρακάτω τύπο και προκύπτει η % μείωση των ριζών DPPH, δηλαδή το ποσοστό των ριζών που δεσμεύτηκαν (ανάλογο της Βιταμίνης E):

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

Για την αξιολόγηση των μετρήσεων της απορρόφησης κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς με Trolox (ανάλογο της Βιταμίνης E) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox.

3.4.2.1 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς για τον προσδιορισμό συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας

Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς παρασκευάζονται τα πρότυπα διαλύματα Trolox σε MeOH (μεθανόλη), ξεκινώντας από συγκέντρωση 1,2 mM και πηγαίνοντας διαδοχικά, με κατάλληλες αραιώσεις, στις υπόλοιπες συγκεντρώσεις (0,8 mM, 0,4 mM, 0,2 mM, και 0,1 mM). Ακολουθεί η αναλυτική πορεία που περιεγράφηκε παραπάνω για τον προσδιορισμό της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων. Για τις μετρήσεις της απορρόφησης στα 515 nm υπολογίζεται η % ΔA515 σύμφωνα με τον τύπο παραπάνω. Οι τιμές % ΔA515 και οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις των προτύπων διαλυμάτων Trolox χρησιμοποιούνται για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς (Σχήμα 2).



Σχήμα 2: Καμπύλη αναφοράς της απορρόφησης σε συνάρτηση με τα ισοδύναμα Trolox (mM)

3.4.3 Προσδιορισμός απλών πολυφαινολών με αέρια χρωματογραφία / φασματομετρία μάζας (GC/MS)

Σκοπός

Η ποσοτική και ποιοτική αξιολόγηση πολυφαινολών στα δείγματα υδατικού εκχυλίσματος βασιλικού και εμπλουτισμένου ρυζιού.

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

Τα πολυφαινολικά συστατικά διαχωρίστηκαν μεταξύ τους με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας και στη συνέχεια η ανίχνευση και ο ποσοτικός

προσδιορισμός τους πραγματοποιήθηκε από το φασματογράφο μάζας με τη τεχνική της εκλεκτικής παρακολούθησης ιόντων (Selective Ion Monitoring - SIM).

Οι συνθήκες κατά την αέρια χρωματογραφία 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): 20:1
- Στήλη: τριχοειδής στήλη HS-5 MS με επικάλυψη 5% plenyl-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 15C°/min
 - (γ) 130 – 160°C με ρυθμό ανόδου 4C°/min και παραμονή για 15 min
 - (δ) άνοδος από 160 – 300°C με ρυθμό 10C°/min
 - (ε) παραμονή στην τελική θερμοκρασία για 15 min

Ο ποσοτικός προσδιορισμός έγινε με τη μέθοδο του εσωτερικού προτύπου, το οποίο ήταν η 3-(4-υδρόξυ-φαίνυλο)-1-προπανόλη. Η ανίχνευση των πολυφαινολών και των τερπενικών οξέων βασίσθηκε στην παρουσία των επιλεγμένων προς σάρωση ιόντων με ανοχή $\pm 0,05$ RT, όπου RT = χρόνος κατακράτησης (residence time). Οι ποσοτικοί υπολογισμοί έγιναν βάσει των ιόντων στόχων (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.

3.5 Επαναβρασμός εμπλουτισμένου ρυζιού και επαναξιολόγηση του βαθμού εμπλουτισμού

Σκοπός

Αξιολόγηση του βαθμού εμπλουτισμού σε ρύζι που υπέστη επαναβρασμό σε περίσσεια καθαρού νερού.

Υλικά – Αντιδραστήρια

Όπως περιγράφονται στη παράγραφο 3.1 Εμπλουτισμός ρυζιού με αντιοξειδωτικά συστατικά βασιλικού.

Όργανα

Όπως περιγράφονται στη παράγραφο 3.1 Εμπλουτισμός ρυζιού με αντιοξειδωτικά συστατικά βασιλικού.

Αναλυτική διαδικασία

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε η διαδικασία παρασκευής του υδατικού εκχυλίσματος βασιλικού, όπως έχει περιγραφεί στη παράγραφο 3.1.1. Στη συνέχεια, ακολουθήθηκαν τα βήματα της παραγράφου 3.1.2 για τον εμπλουτισμό του ρυζιού, με την εξαίρεση ότι απομονώθηκαν δείγματα σε διαφορετικές χρονικές στιγμές και ποσότητες. Πιο συγκεκριμένα, κατά τη διάρκεια του βρασμού του λευκού ρυζιού (ποσότητας 500g) στο υδατικό εκχύλισμα του βασιλικού, έγινε παραλαβή δειγμάτων κατά το 10°, το 15° και το 20° λεπτό, τα οποία ζύγιζαν περίπου 150g το καθένα. Ακολούθησε κατάψυξη και ξήρανσή τους με λυοφιλίωση, για 48 ώρες (παράγραφος 3.1.3).

Σε επόμενο στάδιο πραγματοποιήθηκε ο πρώτος επαναβρασμός σε περίσσεια νερού, για το δείγμα του εμπλουτισμένου ρυζιού που απομονώθηκε κατά το 10° λεπτό του βρασμού. Η ποσότητα του καθαρού νερού στο οποίο έγινε ο βρασμός ήταν 2L. Ο επαναβρασμός πραγματοποιήθηκε για 13 λεπτά (συνολικά 23 λεπτά βρασμού), κατά τη διάρκεια των οποίων απομονώθηκαν δείγματα στο 12°, το 15°, το 20° και το 23° λεπτό.

Τέλος, έγινε ο δεύτερος επαναβρασμός σε περίσσεια νερού, με το δείγμα του εμπλουτισμένου ρυζιού, το οποίο απομονώθηκε το 15° λεπτό του βρασμού. Η

ποσότητα του καθαρού νερού στο οποίο έγινε ο δεύτερος βρασμός ήταν 2L. Ο επαναβρασμός πραγματοποιήθηκε για 10 λεπτά (συνολικά 25 λεπτά βρασμού), κατά τη διάρκεια των οποίων απομονώθηκαν δείγματα στο 17°, το 20°, το 23° και το 25° λεπτό.

Όλα τα δείγματα πωματίστηκαν και αποθηκεύτηκαν στη κατάψυξη, για να ακολουθήσει η λυοφιλίωσή τους και οι χημικές αναλύσεις, όπως περιγράφονται στις παραγράφους 3.3 και 3.4.

4. Αποτελέσματα

4.1 Ποιοτική και ποσοτική αξιολόγηση του πολυφαινολικού περιεχομένου στο υδατικό εκχύλισμα του βασιλικού

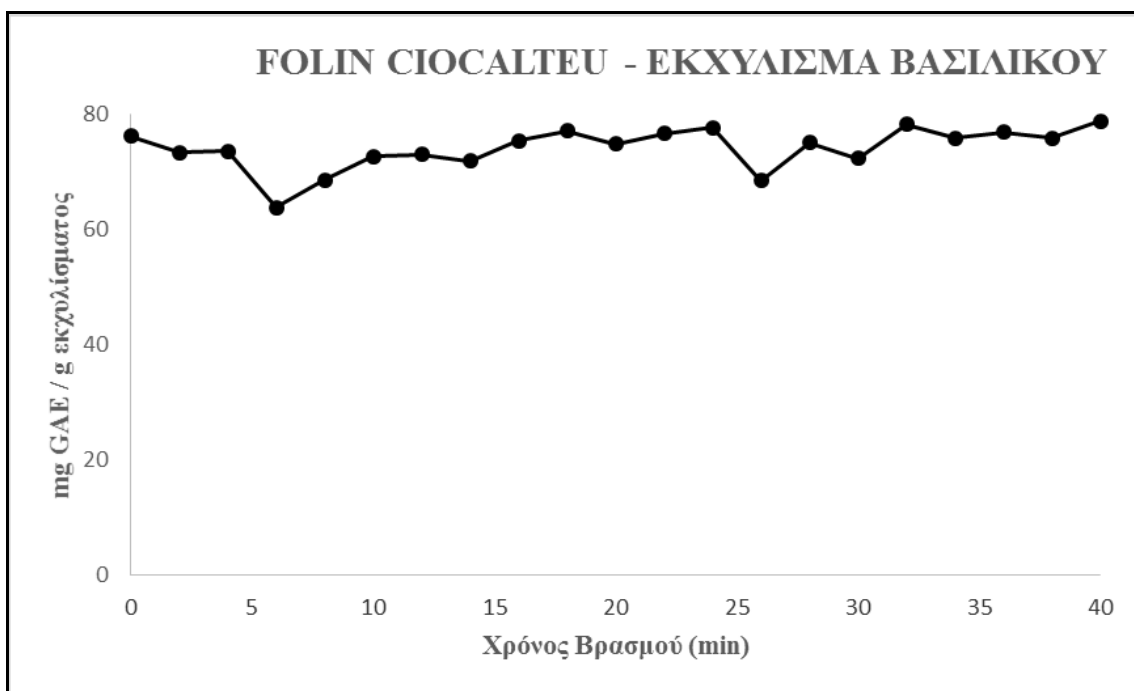
Σε αυτό το στάδιο προσδιορίστηκε το είδος των πολυφαινολών που είναι παρούσες στο εκχύλισμα του βασιλικού, καθώς και ο βαθμός πιθανής θερμικής υποβάθμισης που υφίστανται κατά τη διάρκεια του βρασμού.

4.1.1 Αξιολόγηση ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων της συγκέντρωσης των πολυφαινολών στο υδατικό εκχύλισμα του βασιλικού απεικονίζονται στον Πίνακα 3, καθώς και στο Σχήμα 3.

Χρόνος βρασμού (min)	mg GAE / g εκχυλίσματος
0	76,12
2	73,24
4	73,48
6	63,72
8	68,49
10	72,57
12	72,97
14	71,83
16	75,39
18	77,02
20	74,82
22	76,63
24	77,60
26	68,38
28	74,95
30	72,24
32	78,21
34	75,78
36	76,87
38	75,83
40	78,74

Πίνακας 3: Μέτρηση των ολικών πολυφαινολών ως ισοδύναμα mg γαλλικού οξέος ανά γραμμάριο υδατικού εκχυλίσματος βασιλικού, σε χρόνους από 0 (έναρξη βρασμού) έως και 40 λεπτά.



Σχήμα 3: Ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο του υδατικού εκχυλίσματος του βασιλικού (ισοδύναμα γαλλικού οξέος/g εκχυλίσματος) σε σχέση με το χρόνο βρασμού.

Το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο του εκχυλίσματος του βασιλικού φαίνεται να παραμένει πρακτικά σταθερό κατά τη διάρκεια του βρασμού, που διήρκεσε 40 λεπτά. Το γεγονός αυτό, ενδεχομένως, είναι αποτέλεσμα τριών διαδικασιών, οι οποίες ίσως λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα στο εκχύλισμα. Πρώτον, είναι γνωστό ότι οι πολυφαινόλες είναι ενώσεις θερμοευαίσθητες, με συνέπεια να υποβαθμίζονται λόγω της αυξημένης θερμοκρασίας που επικρατεί κατά τη διάρκεια του βρασμού (100°C). Αντιρροπιστικά μπορεί να πραγματοποιείται απελευθέρωση μορίων πολυφαινολών από το υδατικό εκχύλισμα, οι οποίες βρίσκονταν αρχικά συνδεδεμένες με γλυκοζίτες εντός του φυτικού ιστού. Τέλος, έχει παρατηρηθεί κατά το παρελθόν, μετάπτωση ορισμένων πολυφαινολών από μία δομή σε μία άλλη, η οποία είναι πιο ενεργή ως προς το πολυφαινολικό περιεχόμενο, όπως για παράδειγμα η βανιλίνη μεταπίπτει σε βαννιλικό οξύ (Mourtzinis 2009).

4.1.2 Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής δράσης εκχυλίσματος βασιλικού με τη μέθοδο DPPH

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων για την αντιοξειδωτική δράση του υδατικού εκχυλίσματος βασιλικού απεικονίζονται στον Πίνακα 4, καθώς και στο Σχήμα 4.

Χρόνος βρασμού (min)	mg Trolox / g εκχυλίσματος
0	121,62
2	116,29
4	141,31
6	130,01
8	134,32
10	109,26
12	132,00
14	131,14
16	126,92
18	130,37
20	133,54
22	136,04
24	129,11
26	134,83
28	137,77
30	137,93
32	132,35
34	128,92
36	144,80
38	144,48
40	136,23

Πίνακας 4: Αντιοξειδωτική ικανότητα του υδατικού εκχυλίσματος βασιλικού εκφρασμένη σε ισοδύναμα mg Trolox ανά γραμμάριο εκχυλίσματος, σε χρόνους βρασμού από 0 έως και 40 λεπτά.



Σχήμα 4: Μεταβολές της αντιοξειδωτικής ικανότητας του υδατικού εκχυλίσματος βασιλικού (mg Trolox / g εκχυλίσματος) σε σχέση με το χρόνο βρασμού.

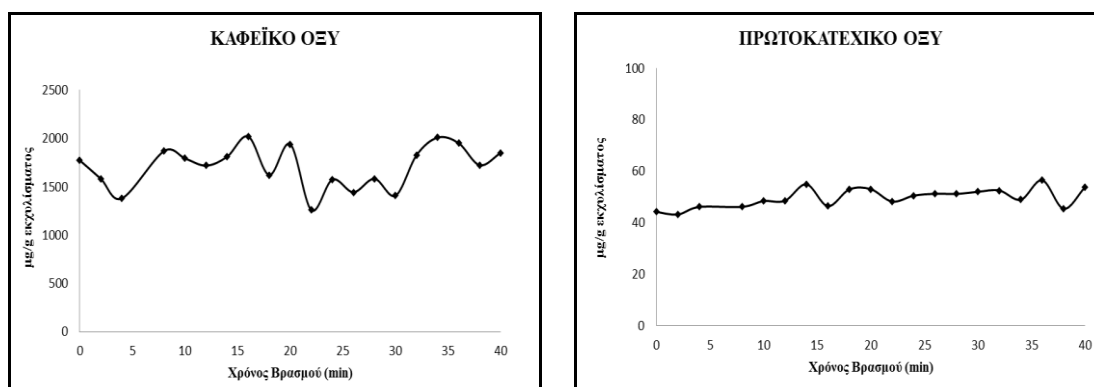
Από τα δεδομένα του Πίνακα 4, που απεικονίζονται αναλυτικά στο Σχήμα 4, είναι φανερό ότι η αντιοξειδωτική δραστηριότητα του υδατικού εκχυλίσματος βασιλικού παραμένει πρακτικά σταθερή μέχρι και το 40^ο λεπτό του βρασμού. Η συμπεριφορά αυτή ίσως είναι το αποτέλεσμα του ισοζυγίου τριών πιθανών ανταγωνιστικών δράσεων που συμβαίνουν ταυτόχρονα στο εκχύλισμα. Αρχικά, οι πολυφαινόλες υφίστανται θερμική υποβάθμιση λόγω της αυξημένης θερμοκρασίας που επικρατεί κατά τη διάρκεια του βρασμού (100°C). Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα θερμοκρασίας και η παρουσία πρωτεϊνικών μορίων και σακχάρων στο εκχύλισμα του βασιλικού ευνοούν τη πραγματοποίηση αντιδράσεων τύπου Maillard. Τα πιθανά τελικά προϊόντα των αντιδράσεων τύπου Maillard ονομάζονται μελανοϊδίνες και με βάση τη βιβλιογραφία φαίνεται να παρουσιάζουν, σε ορισμένο βαθμό, αντιοξειδωτική δράση (Μπόσκου 2004). Τέλος, βάσει μελετών που έχουν διεξαχθεί σε φυτικά εκχυλίσματα φαίνεται ότι μεγάλο μέρος των αντιοξειδωτικών βρίσκεται σε συζευγμένη μορφή (π.χ. γλυκοζυλιωμένες πολυφαινόλες). Έτσι, πιθανώς οι υψηλές θερμοκρασίες που αναπτύσσονται κατά τον βρασμό, να οδηγούν στην απελευθέρωση αντιοξειδωτικών από τα συζευγμένα μόρια και την αύξηση της

διαλυτότητάς τους στο υδατικό εκχύλισμα, με αποτέλεσμα την αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης του εκχυλίσματος του βασιλικού.

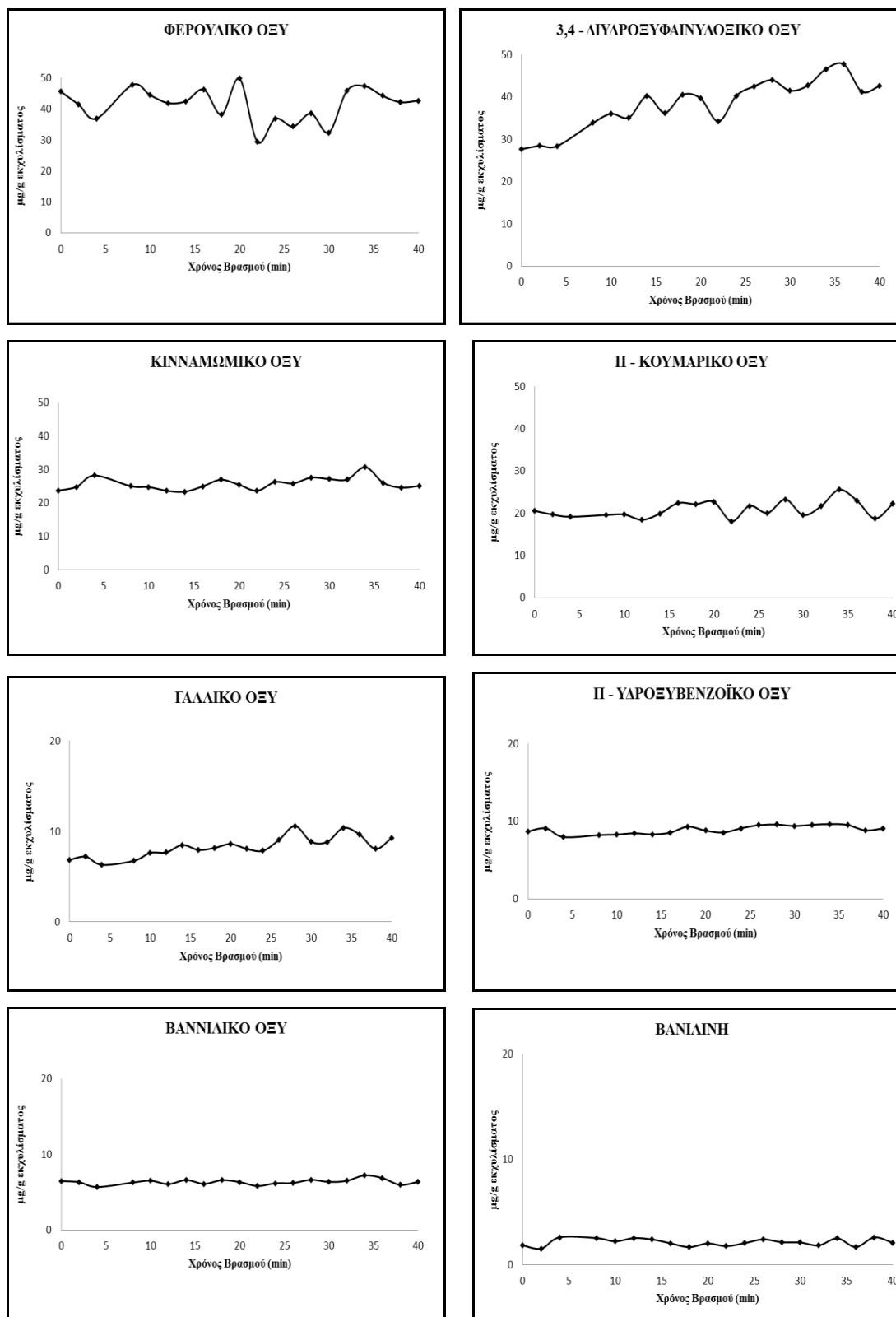
4.1.3 Αξιολόγηση επιμέρους πολυφαινόλων εκχυλίσματος βασιλικού με αέρια χρωματογραφία / φασματομετρία μάζας (GC/MS)

Με τη χρήση του οργάνου GC/MS ανιχνεύθηκαν 18 από τις 30 πολυφαινόλες που εξετάστηκαν, με βάση πρότυπη μέθοδο που περιγράφεται από τους Kalogeropoulos et al. (2007), στο υδατικό εκχύλισμα του βασιλικού. Η επικρατέστερη ποσοτικά πολυφαινόλη φάνηκε να είναι το καφεϊκό οξύ και ανιχνεύθηκε σε ποσότητες της τάξεως των 1700 $\mu\text{g/g}$ εκχυλίσματος. Οι πολυφαινόλες που μετρήθηκαν σε μικρότερες ποσότητες στα δείγματα βρέθηκαν να είναι σε συγκεντρώσεις της τάξεως των 1-5 $\mu\text{g/g}$ εκχυλίσματος (π.χ. ναριγκενίνη, π-υδροξυφαινυλοξικό οξύ, βανιλίνη, τυροσόλη). Γενικά, οι συγκεντρώσεις όλων των πολυφαινόλων που εντοπίστηκαν στο υδατικό εκχύλισμα παρέμειναν πρακτικά αμετάβλητες καθ' όλη τη διάρκεια του βρασμού (40 λεπτά). Το αποτέλεσμα αυτό φαίνεται να συμφωνεί με τις αντίστοιχες μετρήσεις της μεθόδου Folin - Ciocalteu για το εκχύλισμα βασιλικού και πιθανώς να ερμηνεύεται από τις αντικρουόμενες δράσεις, που παρουσιάστηκαν στην ενότητα 4.1.1.

Στο Σχήμα 5 παριστάνονται γραφικά οι συγκεντρώσεις των κυριότερων πολυφαινολικών συστατικών που ανιχνεύθηκαν στο εκχύλισμα, σε συνάρτηση με το χρόνο βρασμού.



Σχήμα 5: Μεταβολές της συγκέντρωσης ($\mu\text{g/g}$ εκχυλίσματος) επιλεγμένων πολυφαινόλων στο υδατικό εκχύλισμα του βασιλικού, κατά τη διάρκεια του βρασμού.



Σχήμα 5 (συνέχεια): Μεταβολές της συγκέντρωσης (μg/g εκχυλίσματος) επιλεγμένων πολυφαινόλων στο υδατικό εκχύλισμα του βασιλικού, κατά τη διάρκεια του βρασμού.

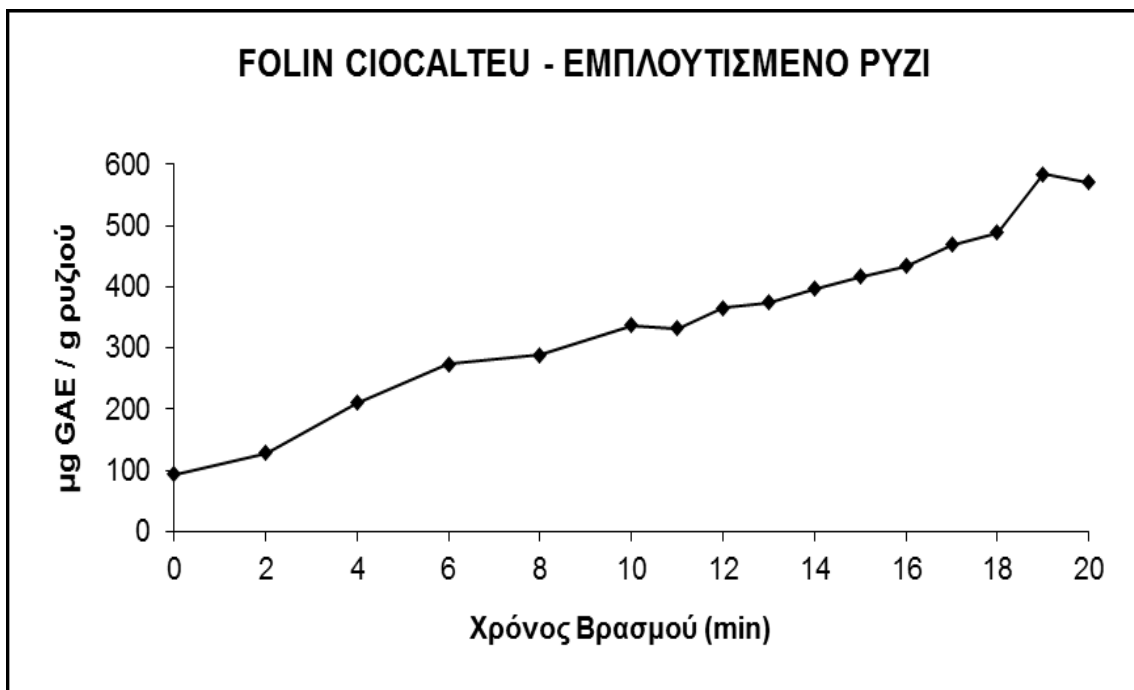
4.2 Ποιοτική και ποσοτική αξιολόγηση πολυφαινολικού περιεχομένου εμπλουτισμένου ρυζιού

4.2.1 Αξιολόγηση ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου του εμπλουτισμένου ρυζιού με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu

Μετά την εκτίμηση του πολυφαινολικού περιεχομένου του εκχυλίσματος βασιλικού, εφαρμόστηκε η ίδια μέθοδος (Folin – Ciocalteu) και για τη μέτρηση των πολυφαινολικών συστατικών στο εμπλουτισμένο ρύζι, τα αποτελέσματα της οποίας παρουσιάζονται στον Πίνακα 5 καθώς και στο Σχήμα 6.

Χρόνος βρασμού (min)	μg GAE / g ρυζιού
0	93,99
2	128,94
4	210,19
6	273,77
8	288,10
10	336,54
11	331,96
12	365,66
13	373,87
14	396,69
15	416,08
16	433,59
17	468,58
18	488,09
19	583,98
20	570,25

Πίνακας 5: Μέτρηση των ολικών πολυφαινολών ως ισοδύναμα μg γαλλικού οξέος ανά γραμμάριο λυοφιλιωμένου ρυζιού, σε χρόνους από 0 (έναρξη βρασμού) έως και 20 λεπτά.



Σχήμα 6: Ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο (μg ισοδυνάμων γαλλικού οξέος/g ρυζιού) του εμπλουτισμένου ρυζιού σε σχέση με το χρόνο βρασμού.

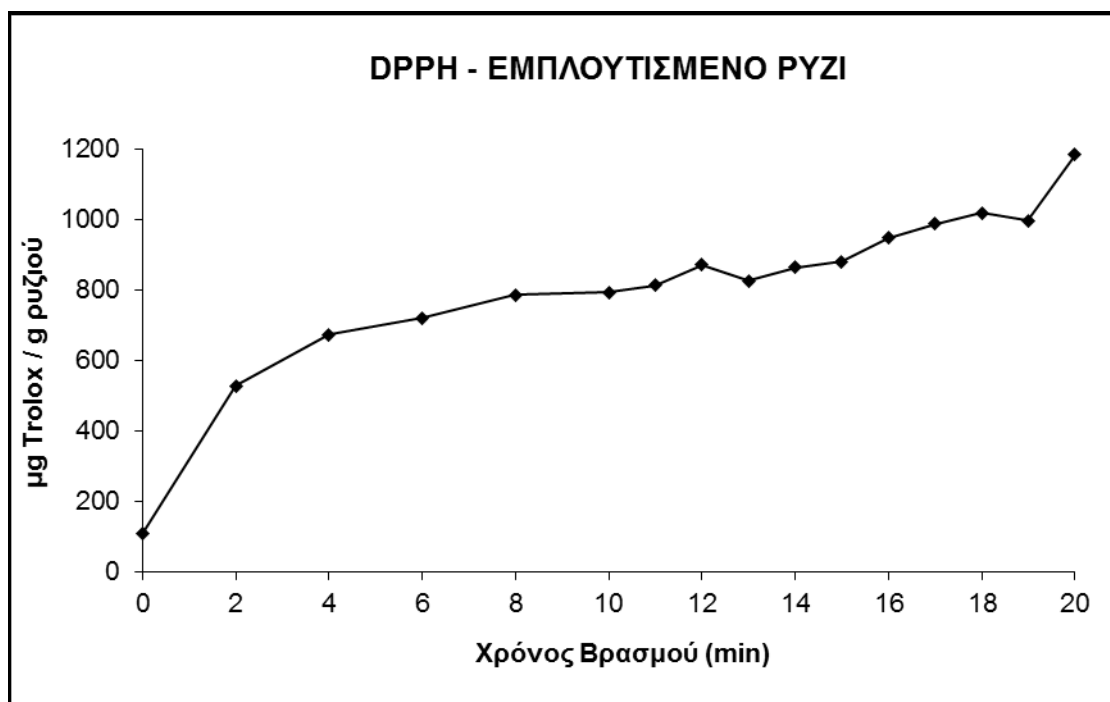
Από τα παραπάνω δεδομένα γίνεται αντιληπτό ότι το ολικό φαινολικό περιεχόμενο του ρυζιού αυξάνεται σχεδόν γραμμικά καθ' όλη τη διάρκεια του βρασμού εντός του εκχυλίσματος βασιλικού. Επιπλέον, παρατηρείται ότι το πολυφαινολικό περιεχόμενο στο εμπλουτισμένο ρύζι του εικοστού λεπτού (τέλος βρασμού) έχει υπερεξαπλασιαστεί, κάτι που συμβαίνει λόγω της πιθανής προσρόφησης και διάχυσης των αντιοξειδωτικών από το υδατικό εκχύλισμα (υψηλή συγκέντρωση) προς το εσωτερικό των κόκκων του ρυζιού.

4.2.2 Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής δράσης εμπλουτισμένου ρυζιού με τη μέθοδο DPPH

Στη συνέχεια αξιολογήθηκε και η αντιοξειδωτική ικανότητα του εμπλουτισμένου ρυζιού με τη χρήση της μεθόδου DPPH, τα αποτελέσματα της οποίας παρουσιάζονται παρακάτω στον Πίνακα 6, καθώς και στο Σχήμα 7.

Χρόνος βρασμού (min)	μg Trolox / g ρυζιού
0	108,24
2	527,86
4	673,85
6	720,23
8	785,42
10	794,11
11	812,49
12	870,96
13	826,35
14	864,81
15	880,72
16	947,32
17	987,41
18	1018,37
19	997,30
20	1183,64

Πίνακας 6: Αντιοξειδωτική ικανότητα του εμπλουτισμένου ρυζιού εκφρασμένη σε ισοδύναμα μg Trolox ανά γραμμάριο λυοφιλιωμένου ρυζιού, σε χρόνους βρασμού από 0 έως και 20 λεπτά.

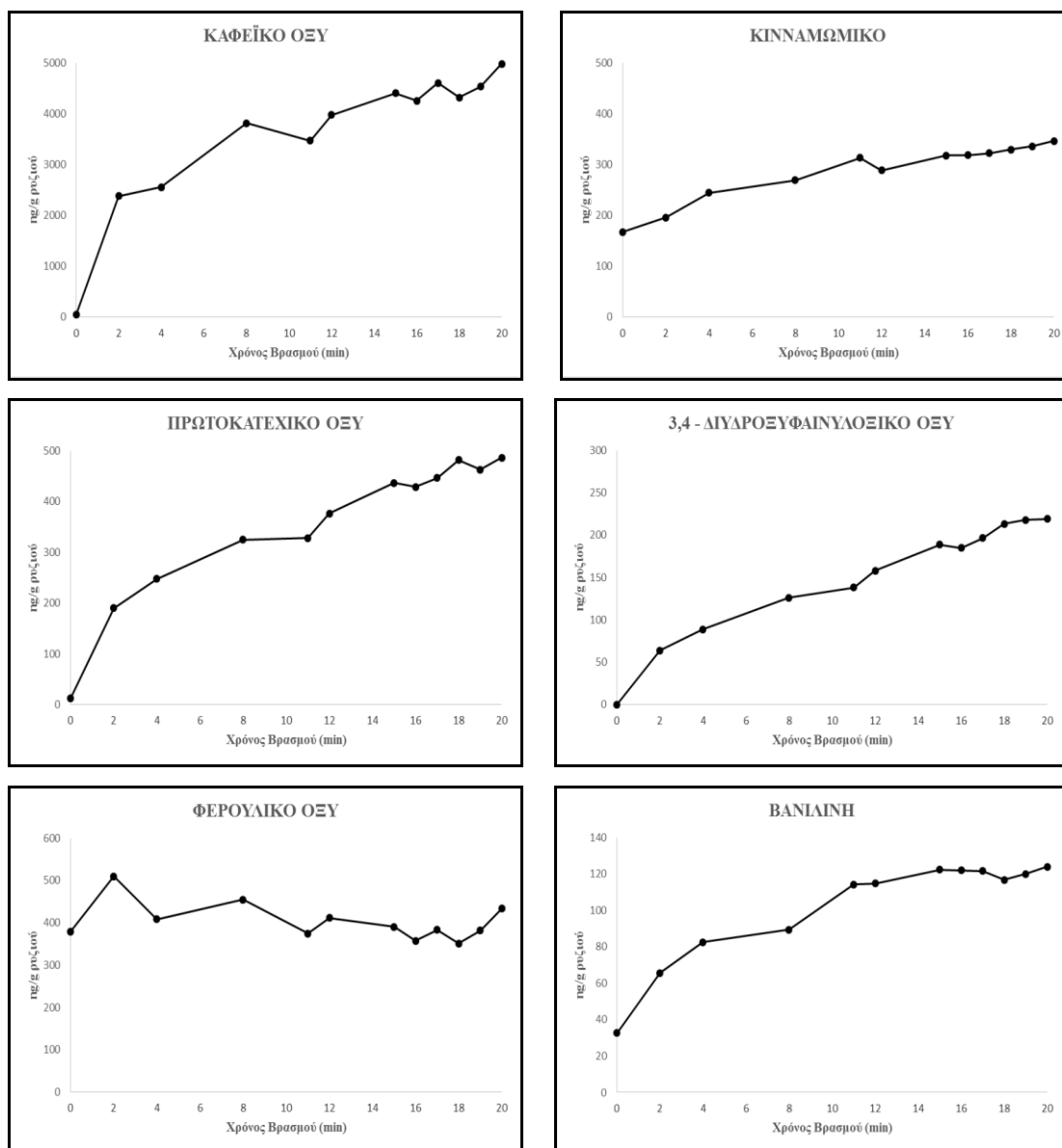


Σχήμα 7: Μεταβολές της αντιοξειδωτικής ικανότητας του εμπλουτισμένου ρυζιού σε σχέση με το χρόνο βρασμού.

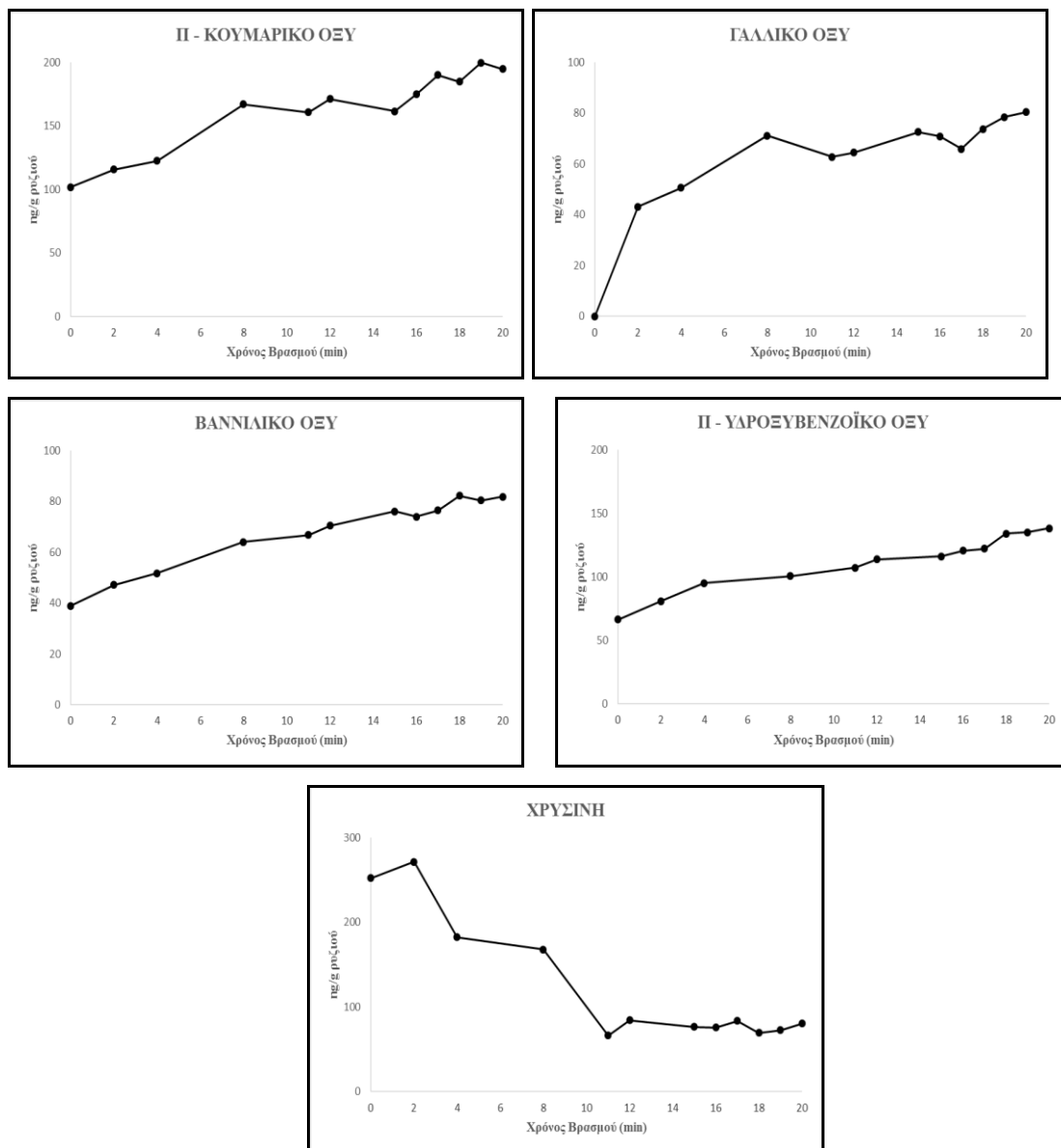
Από το Σχήμα 7 είναι φανερή η απότομη αύξηση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας του εμπλουτισμένου ρυζιού, κατά την αρχική φάση του βρασμού στο υδατικό εκχύλισμα του βασιλικού (0-2 λεπτά). Στη συνέχεια παρατηρείται γραμμική αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, που προφανώς συμβαίνει λόγω του φαινομένου του εμπλουτισμού του ρυζιού με τα αντιοξειδωτικά συστατικά του εκχυλίσματος. Στο 20^ο λεπτό, το τελικό προϊόν του εμπλουτισμένου ρυζιού διαθέτει υπερδεκαπλάσια αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με το αρχικό ρύζι.

4.2.3 Αξιολόγηση επιμέρους πολυφαινολών εμπλουτισμένου ρυζιού με αέρια χρωματογραφία / φασματομετρία μάζας (GC/MS)

Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των κυριότερων επιμέρους πολυφαινολών που ανιχνεύθηκαν στο εμπλουτισμένο ρύζι, σε σχέση με το χρόνο βρασμού.



Σχήμα 8: Διαγραμματική απεικόνιση της συγκέντρωσης επιλεγμένων πολυφαινολών στο εμπλουτισμένο ρύζι (ng/g ρυζιού), σε σχέση με το χρόνο βρασμού.



Σχήμα 8 (συνέχεια): Διαγραμματική απεικόνιση της συγκέντρωσης επιλεγμένων πολυφαινόλων στο εμπλουτισμένο ρύζι (ng/g ρυζιού), σε σχέση με το χρόνο βρασμού.

Από τις μετρήσεις του οργάνου GC/MS παρατηρούμε ότι όλες οι πολυφαινόλες που ανιχνεύθηκαν στο εμπλουτισμένο ρύζι, είχαν ανιχνευθεί και στο εκχύλισμα του βασιλικού, με μοναδική εξαίρεση τη χρυσίνη. Στο εμπλουτισμένο ρύζι φαίνεται ότι η επικρατέστερη ποσοτικά πολυφαινόλη είναι το καφεϊκό οξύ (όπως παρατηρήθηκε και στο εκχύλισμα του βασιλικού). Η συγκεκριμένη ουσία προϋπήρχε στο ρύζι σε μικρές ποσότητες (48 ng/g ρυζιού) και μετά το πέρας του βρασμού εκατονταπλασιάστηκε και μετρήθηκε σε ποσότητα της τάξης των 5000 ng/g ρυζιού. Εκτός του καφεϊκού οξέος άλλες ουσίες όπως το πρωτοκατεχικό οξύ, το π-κουμαρικό οξύ και το

κινναμωμικό οξύ, προϋπήρχαν στο ρύζι και τελικά οι συγκεντρώσεις τους φάνηκαν να έχουν υπερδιπλασιαστεί. Επίσης, το γαλλικό και το 3,4-φαινυλοξικό οξύ δεν ανιχνεύθηκαν στο μη βρασμένο ρύζι, ωστόσο προσροφήθηκαν στο ρύζι από το υδατικό εκχύλισμα και έφτασαν σε ποσότητες της τάξης των 80 και 220 ng/g ρυζιού αντιστοίχως. Το φερουλικό οξύ προϋπήρχε τόσο στο εκχύλισμα βασιλικού όσο και στο ρύζι, ωστόσο η ποσότητά του κατά τη διάρκεια του βρασμού φάνηκε να παραμένει πρακτικά σταθερή. Αντίθετα, η χρυσίνη ανιχνεύθηκε στο ρύζι προ του βρασμού, σε ποσότητα 252 ng/g ρυζιού, ενώ στη συνέχεια εκδήλωσε πτωτική τάση, πιθανώς λόγω θερμικής υποβάθμισης.

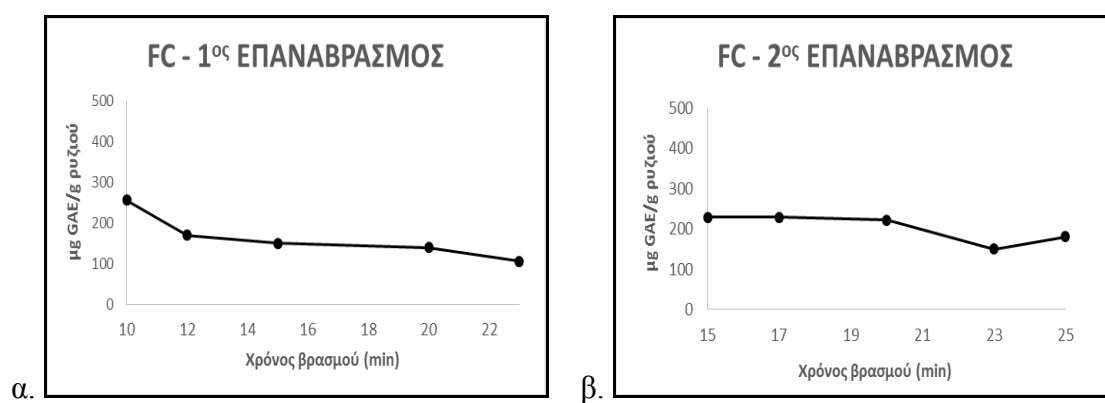
4.2.4 Διατροφική αξιολόγηση

Από τα δεδομένα που παρουσιάστηκαν παραπάνω υπολογίζεται ότι μία μερίδα 100g του εμπλουτισμένου ρυζιού που παρασκευάστηκε, περιέχει 57mg GAE/g ρυζιού. Βάσει βιβλιογραφίας, η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη πολυφαινολών για έναν ενήλικα είναι 1000mg/day (Kuhnau 1976). Συνεπώς, η κατανάλωση μίας μερίδας εμπλουτισμένου ρυζιού μπορεί να καλύψει περίπου το 6% των ημερήσιων αναγκών του ανθρώπου. Η ποσότητα αυτή είναι ισοδύναμη με τη ποσότητα των πολυφαινολών που προσλαμβάνονται με τη κατανάλωση μίας κούπας αφεψήματος (200ml) ρίγανης ή μαντζουράνας, τα οποία κατατάσσονται στη δεύτερη και τρίτη θέση αντίστοιχα, μεταξύ 13 αφεψημάτων που εξετάστηκαν ως προς το φαινολικό περιεχόμενο (Κώστα 2009).

4.3 Ποιοτική και ποσοτική αξιολόγηση πολυφαινολικού περιεχομένου εμπλουτισμένου ρυζιού κατά τον επαναβρασμό του

4.3.1 Αξιολόγηση ολικού πολυφαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu

Στα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζεται η συμπεριφορά του ολικού φαινολικού περιεχομένου εμπλουτισμένου ρυζιού, κατά τον επαναβρασμό του σε περίσσεια νερού.



Σχήμα 9: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (μg GAE/g ρυζιού) του εμπλουτισμένου ρυζιού σε σχέση με το χρόνο βρασμού. α: κατά τον πρώτο επαναβρασμό, β: κατά το δεύτερο επαναβρασμό.

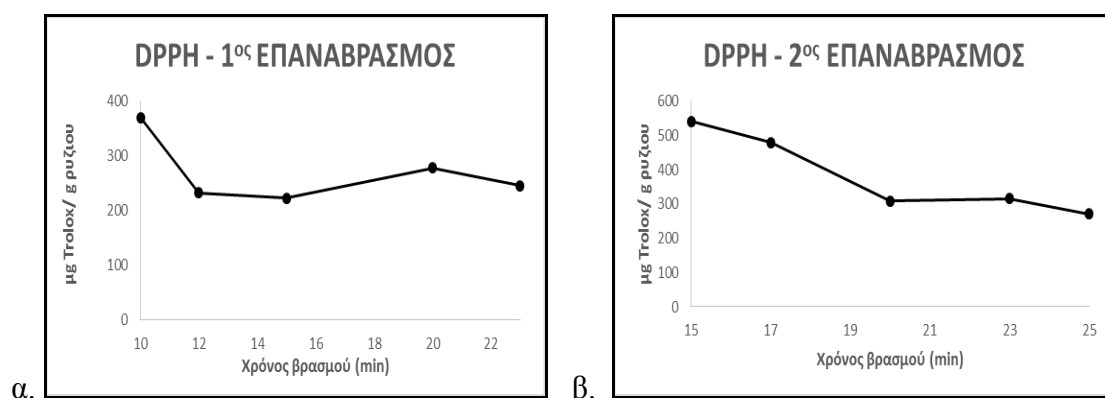
Αρχικά, παρατηρήθηκε ότι τα δείγματα ρυζιού που απομονώθηκαν κατά το 10^ο και 15^ο λεπτό και στη συνέχεια λυοφιλιώθηκαν, χρειάστηκαν 4-5 λεπτά περισσότερο ολικό χρόνο βρασμού σε σχέση με το αρχικό ρύζι, ώστε να αποκτήσουν ικανοποιητικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

Από το Σχήμα 9 είναι φανερό ότι το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο του εμπλουτισμένου ρυζιού μειώνεται όσο περισσότερο διαρκεί ο επαναβρασμός του σε περίσσεια νερού. Η πτωτική αυτή τάση της συγκέντρωσης των ουσιών, προφανώς οφείλεται στην απελευθέρωση των εγκλεισμένων συστατικών, από το ρύζι στο νερό. Όσον αφορά το πρώτο επαναβρασμό, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά το πέρας του, επήλθε συνολική μείωση του φαινολικού περιεχομένου του ρυζιού της τάξης του 59%. Αντίθετα, κατά το δεύτερο επαναβρασμό το τελικό ποσοστό υποβάθμισης του

φαινολικού περιεχομένου του ρυζιού (25^ο λεπτό) μειώθηκε σημαντικά, καθώς βρέθηκε να είναι σε επίπεδα της τάξης του 21%.

4.3.2 Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH

Στα ακόλουθα διαγράμματα φαίνεται η μεταβολή της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας του εμπλουτισμένου ρυζιού κατά τη διάρκεια των δύο πειραμάτων επαναβρασμού.

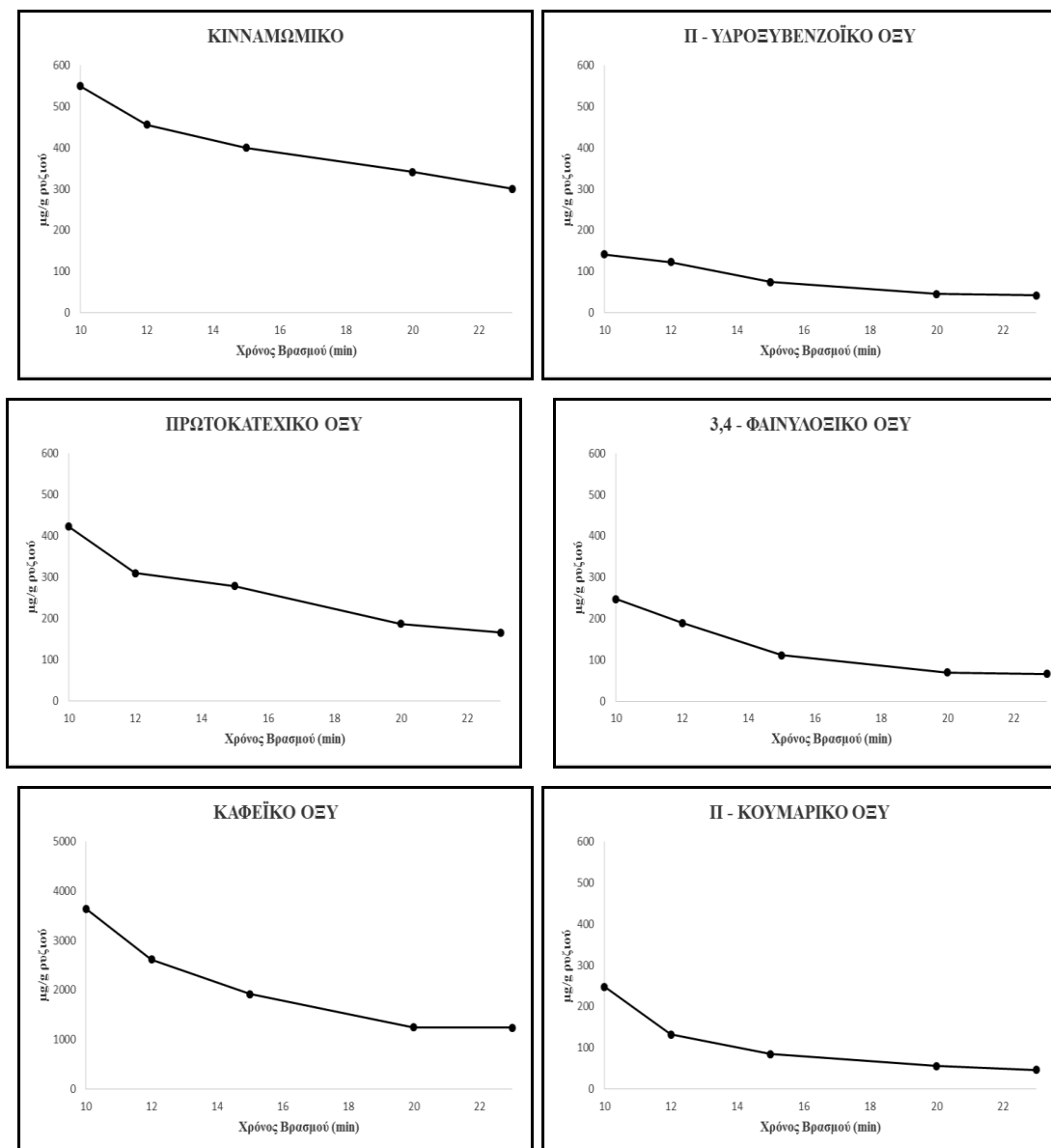


Σχήμα 10: Μεταβολές της αντιοξειδωτικής ικανότητας του εμπλουτισμένου ρυζιού σε σχέση με το χρόνο βρασμού. α: κατά τον πρώτο επαναβρασμό, β: κατά το δεύτερο επαναβρασμό.

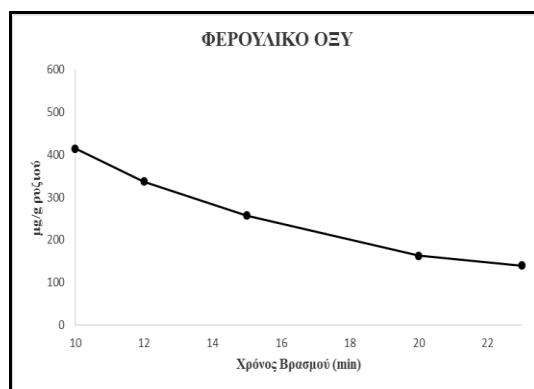
Από το Σχήμα 10α προκύπτει ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων κατά τον πρώτο επαναβρασμό (10-23 λεπτά) εμφάνισε αρχικά πτωτική τάση και στη συνέχεια διατηρήθηκε πρακτικά σταθερή. Το τελικό προϊόν (23^ο λεπτό) είχε χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα (244,95 μg Trolox/g ρυζιού) σε σχέση με αυτή που θα μπορούσε να είχε σε περίπτωση που το ρύζι είχε υποστεί έναν βρασμό για 20 λεπτά (608,35 μg Trolox/g ρυζιού).

Στο σχήμα 10β απεικονίζεται η πτωτική τάση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας των δειγμάτων κατά τον δεύτερο επαναβρασμό. Πρέπει να σημειωθεί όμως, ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα του τελικού προϊόντος του επαναβρασμού στο 25^ο λεπτό (270,94 μg Trolox/g ρυζιού) ήταν μεγαλύτερη από την αντίστοιχη του πρώτου επαναβρασμού (244,95 μg Trolox/g ρυζιού).

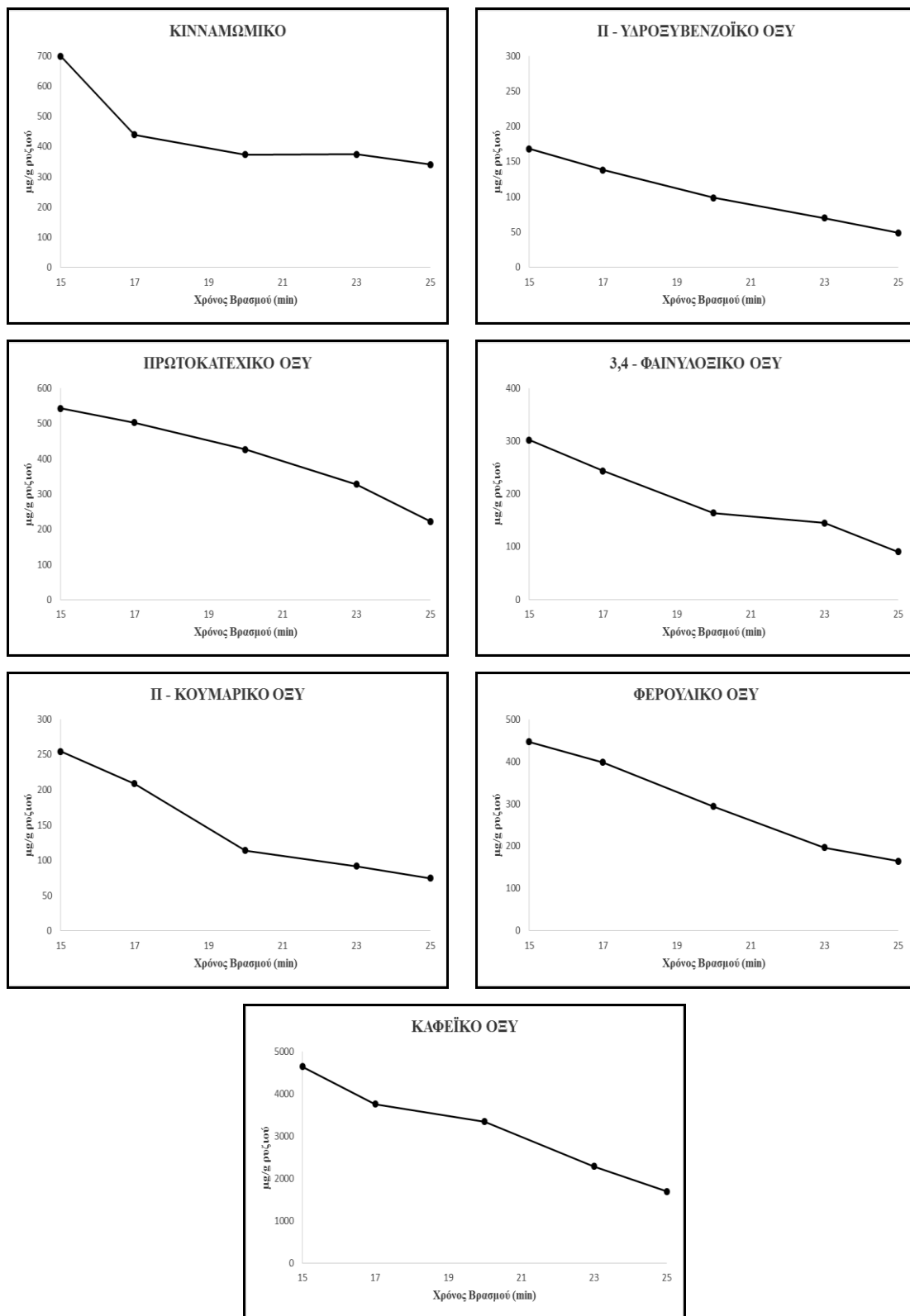
4.3.3 Αξιολόγηση επιμέρους πολυφαινολών με αέρια χρωματογραφία / φασματομετρία μάζας (GC/MS)



Σχήμα 11: Μεταβολές της συγκέντρωσης ορισμένων πολυφαινολών (μg/g ρυζιού) κατά τον επαναβρασμό (διάρκειας 13 min) του εμπλουτισμένου ρυζιού, το οποίο απομονώθηκε στο 10^ο λεπτό του βρασμού.



Σχήμα 11 (συνέχεια): Μεταβολές της συγκέντρωσης ορισμένων πολυφαινολών (μg/g ρυζιού) κατά τον επαναβρασμό (διάρκειας 13 min) του εμπλουτισμένου ρυζιού, το οποίο απομονώθηκε στο 10^ο λεπτό του βρασμού.



Σχήμα 12: Μεταβολές της συγκέντρωσης ορισμένων πολυφαινολών κατά τον επαναβρασμό (διάρκειας 10min) του εμπλουτισμένου ρυζιού, το οποίο απομονώθηκε στο 15^ο λεπτό του βρασμού.

Από το Σχήμα 12 φαίνεται ότι η συγκέντρωση των πολυφαινολών στο ρύζι που απομονώθηκε στο 10^ο και το 15^ο λεπτό παρουσιάζει πτωτική τάση σε σχέση με το χρόνο επαναβρασμού. Υπολογίζοντας τη μέση επί τοις εκατό μείωση της συγκέντρωσης των πολυφαινολών στο ρύζι, από το 10^ο έως το 23^ο λεπτό, για όλες τις επιμέρους πολυφαινόλες, ήταν της τάξεως του ποσοστού 66%. Αντίστοιχα, για το δεύτερο επαναβρασμό (15^ο-25^ο λεπτό), το μέσο ποσοστό μείωσης των ανιχνευθέντων συστατικών ήταν της τάξης του 64%. Η μείωση αυτή, και στις δύο περιπτώσεις, πιθανότατα οφείλεται τόσο στην απελευθέρωση των συστατικών εντός της περίσσειας του νερού, όσο και στην περεταίρω θερμική τους υποβάθμιση κατά τη διάρκεια του επαναβρασμού. Πρέπει να σημειωθεί βέβαια, ότι ο δεύτερος επαναβρασμός φαίνεται να υπερτερεί του πρώτου, καθώς παρουσιάζει μικρότερο ποσοστό μείωσης των πολυφαινολικών συστατικών.

Γενικά λοιπόν, ο επαναβρασμός δειγμάτων ρυζιού που απομονώθηκε κατά το 15^ο λεπτό του αρχικού βρασμού, φάνηκε να είναι πολύ πιο αποδοτικός από αυτόν των δειγμάτων του 10^{ου} λεπτού (αρχικός βρασμός), ως προς όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Κατά τη ποιοτική ανάλυση των δειγμάτων του υδατικού εκχυλίσματος βασιλικού, φάνηκε ότι περιείχε σε μεγάλες ποσότητες, 18 από τις 30 πολυφαινόλες που εξετάστηκαν. Οι αναλύσεις με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu έδειξαν ότι το φαινολικό περιεχόμενο του εκχυλίσματος έμεινε πρακτικά σταθερό κατά τα 40 λεπτά του βρασμού, με μέσο όρο τιμών 74,04 mg GAE/g εκχυλίσματος, αποδεικνύοντας έτσι τη μεγάλη σταθερότητά του κατά τη θερμική επεξεργασία. Παρομοίως, τα αποτελέσματα του GC/MS έδειξαν τη σταθερότητα των επιμέρους φαινολικών συστατικών. Η αντιοξειδωτική ικανότητα που μετρήθηκε με τη μέθοδο DPPH, φάνηκε να είναι και αυτή σταθερή για τα 40 λεπτά του βρασμού, με μέσο όρο τιμών 671,58 μ g Trolox/g εκχυλίσματος.

Αναφορικά με τις αναλύσεις του εμπλουτισμένου ρυζιού, το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενό του λευκού ρυζιού παρουσίασε γραμμική αύξηση σε σχέση με το χρόνο βρασμού και τελικά υπερεξαπλάσιάστηκε. Η αντιοξειδωτική ικανότητα υπολογίστηκε ότι είναι υπερδεκαπλάσια σε σχέση με το λευκό ρύζι. Επιπλέον, με τη χρήση του GC/MS ανιχνεύθηκαν στο εμπλουτισμένο ρύζι οι περισσότερες πολυφαινόλες από το εκχύλισμα βασιλικού, οι οποίες εκδήλωσαν αυξητική ή σταθερή τάση κατά τη διάρκεια των 20 λεπτών του βρασμού. Πρέπει να σημειωθεί ότι παρόλη την αύξηση της συγκέντρωσης των πολυφαινολών στο ρύζι (και συνεπώς τη συνεχώς μειούμενη συγκέντρωση στο εκχύλισμα) ο εμπλουτισμός του ρυζιού συνέχισε να πραγματοποιείται με τον ίδιο ρυθμό μέχρι και το τέλος του βρασμού.

Μετά τη ξήρανση και τον επαναβρασμό του εμπλουτισμένου ρυζιού σε περίσσεια νερού (πρακτικά άπειρη αραίωση), ο οποίος προσομοιάζει την παρασκευή ρυζιού στο σπίτι, ήταν φανερό η απομάκρυνση σημαντικού μέρους των πολυφαινολών, αλλά όχι όλης της ποσότητάς τους. Πιο συγκεκριμένα το ολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο παρουσίασε πτωτική τάση της τάξης του 40%, η αντιοξειδωτική ικανότητα αρχικά μειώθηκε και στη συνέχεια παρέμεινε πρακτικά σταθερή, ενώ η αέρια χρωματογραφία έδειξε μείωση των πολυφαινολών κατά μέσο όρο 65%.

Τέλος, από τη διατροφική ανάλυση προέκυψε ότι μία μερίδα 100g του εμπλουτισμένου ρυζιού μπορεί να καλύψει το 6% περίπου των ημερήσιων αναγκών του ανθρώπου σε πολυφαινόλες. Το ποσοστό αυτό κατατάσσει το ρύζι ως τέταρτη καλύτερη πηγή πολυφαινολών, αν συγκριθεί με αφηνήματα 13 βοτάνων σε ποσότητα 200ml, τα οποία μελετήθηκαν σε προηγούμενη έρευνα.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Albuguerque U. 1996. Taxonomy and ethnobotany of the genus *Ocimum*. Fed Univ Pernambuco.
- Arora, Kaur. 1999. Antimicrobial activity of spices. *Int J Antimicrob Ag.* 12:257-262.
- Bara M T F, Vanetti M C D. 1995. Antimicrobial effect of spices on the growth of *Yersinia enterocolitica*. *J Herbs Spices Med Plants.* 3:51-58.
- Baratta M T, Dorman H J D, Deans S G, Figueiredo A C, Barroso J G, Ruberto G. 1998. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and fragr J.* 13:235-244.
- Blank G, Al-Khayat M, Ismond M. 1987. Germination and heat resistance of *Bacillus subtilis* spores produced on clove and eugenol based media. *Food Microbiol.* 4:35-42.
- Beuther B. 2003. Μπαχαρικά από τον κήπο στην κουζίνα. Ψυχάλου.
- Cosentino S, Tuberoso Cl, Pisano B, Satta M, Mascia V, Arzedi E, Palmas F. 1999. In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. 29:130-135.
- Duarte M C T, Figueira G M, Sartoratto A, Rehder V L G, Delarmelina C. 2005. Anti-candida activity of brazilian medicinal plants. *J Ethnopharm.* 97:305-311.
- Gang D R, Wang J, Dudareva N, Nam K H, Simon J E, Lewinsohn E, Pichersky E. 2001. An investigation of the storage and biosynthesis of phenylpropenes in sweet basil. *Plant physiol.* 125:539-555.
- Grayer R J, Kite G C, Goldstone F J, Bryan S E, Paton A, Putievsky E. 1996. Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil *Ocimum basilicum*. *Phytochem.* 43:1033-1039.
- Guenther E. 1975. The Essential Oils. Krieger Publ Comp. Vol III.
- Hinneburg I, Dorman H J D, Hiltunen R. 2006. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chem.* 97:122-129.

- Johnson C B, Kirby J, Naxakis G, Pearson S. 1999. Substantial UV-B-mediated induction of essential oils in sweet basil (*Ocimum basilicum* L). *Phytochem.* 51:507-510.
- Kalogeropoulos N, Chiou A, Mylona A, Ioannou MS, Andrikopoulos NK 2007. Recovery and distribution of natural antioxidants (α-tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after pan-frying of Mediterranean finfish in virgin olive oil. *Food Chem.* 100:509-517.
- Karapınar M, Aktug S E. 1987. Inhibition of foodborne pathogens by thymol, eugenol, menthol and anethole. *Int J Food Microbiol.* 4:161-166.
- Karwowska K. 1997. Influence of storage methods of fresh basil (*Ocimum basilicum* L.) and tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) on the quality of oil compositions. *Horticult.* 18:127-139.
- Kohnau J. 1976. The flavonoids: A class of semi-essential food components, their role in human nutrition. *World Revolut Nutrit Diet.* 24:117–191.
- Lachowicz K J, Jones G P, Briggs D R, Bienvenu F E, Palmer M V, Ting S S T, Hunter M. 1996. Characteristics of essential oil from basil (*Ocimum basilicum* L) grown in Australia. *J Agric Food Chem.* 44:877-881.
- Lahariya A K, Rao J T. 1979. In vitro antimicrobial studies of the essential oils of *Cyperus scariosus* and *Ocimum basilicum*. *Indian Dr.* 16:150-152.
- Lawrence B M, Mookherjee B D, Willis B J. 1988. A further examination of the variation of *Ocimum basilicum* L in flavors and fragrances: A world perspective. Elsevier Sc. p161-170.
- Loughrin J H, Kasperbauer M J. 2001. Light reflected from colored mulches affects aroma and phenol content of sweet basil (*Ocimum basilicum* L) leaves. *J Agric Food Chem.* 49:1331-1335.
- Martini H, Weidenborner M, Adams S, Kunz B. 1996. Eugenol and carvacrol – the main fungicidal compounds in clove and savory. *It J Food Sc.* 8:63-67.
- Marotti M, Piccaglia R, Giovanelli E. 1996. Differences in essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L) Italian cultivars related to morphological characteristics. *J Agric Food Chem.* 44:3926-3929.
- Miele M, Dondero R, Ciarallo G, Mazzei M. 2001. Methyleugenol in *Ocimum basilicum* L Cv Genovese Gigante. *J Agric Food Chem.* 49:517-521.

- Miyao S. 1975. Inhibitory effects of ethanol extract of mace and eugenol on the growth of microorganisms isolated from Vienna sausages. *J Food Hygienic Soc Japan*. 16:412-416.
- Mourtzinou I, Konteles S, Kalogeropoulos N, Karathanos V T. 2009. Thermal oxidation of vanillin affects its antioxidant and antimicrobial properties. *Food Chem*. 114:791 – 797.
- O’Gara E A, Hill D J, Maslin D J. 2000. Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Appl Environ Microbiol*. 66:2269–2273.
- Paton A. 1992. A synopsis of *Ocimum* L (Labiatae) in Africa. *Kew Bull* 47:403-435.
- Prasad G, Kumar A, Singh A K, Bhattacharya A K, Singh K, Sharma V D. 1986. Antimicrobial activity of essential oils of some *Ocimum* species and clove oil. *Fitoterap*. 57:429-432.
- Reverchon E, Donsi G, Pota F. 1992. Extraction of essential oils using supercritical CO₂: Effect of some process and pre-process parameters. *Ital J Food Sci*. 4:187-194.
- Simon J E, Morales M R, Phippen R F, Vieira, Hao Z. 1999. A Source of Aroma Compounds and a Popular Culinary and Ornamental Herb. *J Janick ed*. p499-505
- Simon J E, Quinn J, Murray R G. 1990. Basil: a source of essential oils. *Advances in new crops*. Timber Pr. p484-489.
- Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett Appl Microbiol*. 25:118-122.
- Srinivasan D, Nathan S, Suresh T, Perumalsamy L P. 2001. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. *J Ethnopharm*. 74:217-220.
- Svecova E, Neugebauerova J. 2010. A study of 34 cultivars of basil (*Ocimum* L.) and their morphological, economic and biochemical characteristics, using standardized descriptors. *Acta Univ Sapientiae Aliment*. 3:118-135.

- Vieira R F, Simon J E. 2000. Chemical characterization of basil (*Ocimum spp*) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. *Econ Bot.* 54:207-216.
- Ανεσιάδης Α. 2005. Καλλιέργεια, παραγωγή, κατανάλωση: Ρύζι.
- Καραμάνος Α Ι. 1985. Το ρύζι. Σημειώσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου.
- Κυρίτση Α. 2009. Μελέτη μεθόδων εμπλουτισμού ρυζιού. Διδακτορική διατριβή. ΕΜΠ.
- Κώστα Α. 2009. Αντιοξειδωτικό περιεχόμενο και αντιοξειδωτική δράση εκχυλισμάτων και αφεψημάτων από βότανα της Κρήτης. Διατριβή μεταπτυχιακού διπλώματος ειδίκευσης.
- Μαρσέλος Σ. 1983. Κηπουρική για όλους: Πρακτική εγκυκλοπαίδεια για λουλούδια, φυτά, δέντρα, λαχανικά. Αλκυών.
- Μπόσκου Δ. 2004. Χημεία τροφίμων. Γαρταγάνης.
- Υφούλη Α, Καλτσίκη Π Ι. 1986. Φυτά μεγάλης καλλιέργειας. Ίδρ Ευγενίδου.
- <http://www.fao.org/>. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2004. International year of rice.
- <http://www.kew.org/>. KEW.