

**Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Σχολή Περιβάλλοντος,
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής**

Πτυχιακή Μελέτη

Τίτλος: Εκχύλιση αντιοξειδωτικών φυτικής προέλευσης και μελέτη εμπλουτισμού μαγιονέζας



Χριστοφιλέα Κωνσταντίνα Ελένη

A.M: 611/2017133

Τριμελής Επιτροπή καθηγητών:

Επιβλέπων καθηγητής: Καραντώνης Χαράλαμπος, Αναπληρωτής Καθηγητής

Μέλη: Νασοπούλου Κωνσταντίνα, Επίκουρη Καθηγήτρια

Κουτελιδάκης Αντώνιος, Επίκουρος Καθηγητής

Λήμνος: Οκτώβριος 2021

Ευχαριστίες

Με την περάτωση της παρούσας πτυχιακής μελέτης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή μου κ. Καραντώνη Χαράλαμπο για την πολύτιμη καθοδήγηση του, την υποστήριξη, την κατανόηση και τις συμβουλές του. Επίσης, θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την πολύ καλή συνεργασία μας.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ στους γονείς μου που μου πρόσφεραν στήριξη όλα τα χρόνια των σπουδών μου και στην αδερφή μου, Μάρθα Χριστοφιλέα για την συμπαράσταση και την συνεχή εμπύχωση καθ' όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

Πίνακας περιεχομένων

Περίληψη	5
Abstract	6
Εισαγωγή	7
I. Θεωρητικό Μέρος	9
Κεφάλαιο 1: Τα αντιοξειδωτικά συστατικά	9
1.1 Οι ελεύθερες ρίζες και το φαινόμενο της οξείδωσης.....	9
1.2 Οι αντιοξειδωτικές ουσίες και οι μηχανισμοί τους	10
1.3 Μέθοδοι παραλαβής αντιοξειδωτικών.....	13
1.4 Μέθοδοι προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης	13
Κεφάλαιο 2: Βότανα και μπαχαρικά	22
2.1 Βότανα.....	22
2.1.1 Το Δεντρολίβανο	22
2.1.2 Το Θυμάρι.....	23
2.1.3 Ο Βασιλικός	23
2.2 Μπαχαρικά.....	25
2.2.1. Το Garam Masala	25
2.2.2 Ο Κουρκουμάς.....	30
Κεφάλαιο 3: Μαγιονέζα	31
Η μαγιονέζα.....	31
II. Πειραματικό μέρος:	33
Κεφάλαιο 4: Μεθοδολογία πειραμάτων	33
4.1 Σκοπός της πτυχιακής μελέτης.....	33
4.2 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους (Ultrasound assisted extraction).....	33
4.3 Εκτίμηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των βοτάνων με την μέθοδο ABTS.....	36
4.4 Διαδικασία εμπλουτισμού της μαγιονέζας:.....	38
4.4.1 Παρασκευή μαγιονέζας:	38
4.4.2 Προετοιμασία των δειγμάτων εμπλουτισμού	39
4.4.3 Εμπλουτισμός μαγιονέζας και εκχύλιση	41
4.5 Εκτίμηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας της εμπλουτισμένης μαγιονέζας με την μέθοδο ABTS.....	43
Αποτελέσματα	45
Κεφάλαιο 5	45
Αξιολόγηση αντιοξειδωτικών στα βότανα και μπαχαρικά με την μέθοδο ABTS	45

Κεφάλαιο 6: Συμπεράσματα	48
Κεφάλαιο 7: Συζήτηση	49
Βιβλιογραφία	52

Περίληψη

Η μαγιονέζα είναι μια ευρέως διαδεδομένη σάλτσα που συναντάται σε όλες τις γωνιές του πλανήτη. Ωστόσο, το υψηλό περιεχόμενο της σε λιπαρά ευνοεί την οξείδωση των λιπιδίων, μια σημαντική ανησυχία που καλείται να αντιμετωπίσει η βιομηχανία των τροφίμων. Η οξείδωση των λιπιδίων είναι υπεύθυνη για τις ανεπιθύμητες μυρωδιές και γεύσεις στα τρόφιμα, μεταξύ των άλλων και της μαγιονέζας ενώ παράλληλα μειώνει και την διατροφική ποιότητα των προϊόντων. Μάλιστα, σε όλο και περισσότερες έρευνες γίνεται λόγος για την ασφάλεια κατανάλωσης εξαιτίας του σχηματισμού δευτερογενών και δυνητικά τοξικών ενώσεων, αποτέλεσμα του παραπάνω φαινομένου. Παρόμοιο ζήτημα ασφάλειας υπάρχει και με την παρουσία των συνθετικών συντηρητικών, όπως είναι για παράδειγμα η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA). Επομένως, σήμερα υπάρχει όλο και μεγαλύτερο ενδιαφέρον από την πλευρά των καταναλωτών για πιο υγιεινά αλλά και ασφαλέστερα τρόφιμα. Τα φυσικά αντιοξειδωτικά, που έχουν απομονωθεί από φυτικές πηγές έχουν το πλεονέκτημα να συμβάλλουν στην προστασία από την οξείδωση των λιπιδίων, να προσφέρουν επιθυμητά χαρακτηριστικά και να αυξάνουν την ζωή στο ράφι του προϊόντος.

Στην παρούσα πτυχιακή μελέτη ερευνήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα με την μέθοδο ABTS (2,2'-αζινο-δισ-(3-αιθυλοβενζοθειαζολινο-6-σουλφονικού οξέος) του βασιλικού, του Garam masala, του κουρκουμά, του θυμαριού και του δεντρολίβανου ως πιθανά αντιοξειδωτικά στον εμπλουτισμό της μαγιονέζας. Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε πως το δεντρολίβανο σε σύγκριση με όλα τα άλλα βότανα και μπαχαρικά έχει την μεγαλύτερη αντιοξειδωτικότητα στην εμπλουτισμένη μαγιονέζα και θα μπορούσε να αξιοποιηθεί ως φυσικό συντηρητικό της. Τέλος, την μικρότερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα την παρουσιάζει το θυμάρι.

Λέξεις-κλειδιά: μαγιονέζα, ABTS, εμπλουτισμός, βότανα, μπαχαρικά, δεντρολίβανο, αντιοξειδωτική ικανότητα

Abstract

Mayonnaise is a widespread sauce found in all corners of the globe. However, its high fat content favors the oxidation of lipids, a major concern that the food industry has been facing for a long time. Lipid oxidation is responsible for unwanted odors and flavor in food, while simultaneously it reduces the nutritional value of food products, including mayonnaise. This has resulted in extensive research focusing on safe food consumption due to the formation of secondary and potentially toxic compounds. Synthetic preservatives, such as butylated hydroxyanisole (BHA) poses a similar safety issue. Therefore, there is a growing demand from consumers for healthier and safer food. Natural antioxidants isolated from plant sources, have the advantage to protect against lipid oxidation and provide desirable characteristics therefore increasing the shelf –life of food products.

In the present dissertation, the antioxidant capacity of basil, Garam masala, turmeric, thyme and rosemary as potential natural antioxidants was investigated by the ABTS (2,2D-azino-bis- (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) method. The results showed that rosemary in enriched mayonnaise, compared to all the other herbs and spices, is the most efficient natural antioxidant and could be used as a natural preservative. Finally, thyme contains the least antioxidant activity compared to all the other herbs and spices.

Keywords: mayonnaise, ABTS, enrichment, herbs, spices, rosemary, Garam masala, antioxidant capacity

Εισαγωγή

Τα φυσικά αντιοξειδωτικά κερδίζουν όλο και πιο πολύ το έδαφος στην βιομηχανία των τροφίμων χάριν στην θρεπτική και θεραπευτική τους αξία αλλά και την ασφάλεια έναντι των συνθετικών πρόσθετων. Άλλωστε ο McClements και ο Demetriades από το 1998 ανέφεραν πως υπάρχει μακροχρόνια ζήτηση των καταναλωτών για πιο θρεπτικά φυσικά τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων τροφίμων που μπορούν να προσφέρουν επιπλέον οφέλη για την υγεία στον άνθρωπο. Τα αντιοξειδωτικά συστατικά βρίσκονται σε αφθονία στα βότανα και στα μπαχαρικά. Τα αιθέρια έλαια βιοσυντίθενται από αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά (H. Falleh, M. Ben Jemaa, K. Djebelai, S. Abid, M. Saada et al., 2019) και σε αυτά περιλαμβάνονται οι διαφορετικές ομάδες βιοενεργών ενώσεων.

Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών ενώσεων περιλαμβάνει την απενεργοποίηση των ελεύθερων ριζών και ταυτόχρονα να προλαμβάνουν την αυτό-οξειδωση των τροφίμων. Σήμερα, έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι που εστιάζουν τόσο στην απομόνωση των αντιοξειδωτικών συστατικών όσο και αναλύσεις βασιζόμενες σε διαφορετικές αρχές για να προσδιορίζουν την αντιοξειδωτική τους δραστηριότητα. Η μαγιονέζα αποτελεί ένα προϊόν το οποίο ξεκίνησε να είναι εμπορικά διαθέσιμο από την δεκαετία του 1900 και έκτοτε είναι από τις πιο δημοφιλείς σάλτσες στο καταναλωτικό κοινό. Ωστόσο, η μαγιονέζα, ένα σταθερό γαλάκτωμα με ποσοστό λίπους γύρω στο 70-80% είναι επιρρεπής στην οξειδωση των λιπιδίων που επηρεάζει άμεσα την ποιότητα του προϊόντος.

Στο πλαίσιο αυτό, χρησιμοποιήθηκαν για τον εμπλουτισμό της μαγιονέζας, εκχυλίσματα από βασιλικό, θυμάρι, δεντρολίβανο, κουρκουμά και Garam masala. Τα βότανα και τα μπαχαρικά επιλέχθηκαν διότι περιέχουν πληθώρα διαφορετικών αντιοξειδωτικών συστατικών και σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Για αυτό υπάρχει και ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τα αποτελέσματα που αναδείχθηκαν. Ένας δευτερεύον λόγος επιλογής τους αποτέλεσε η εμπορική διαθεσιμότητα τους.

Αυτή η μελέτη είχε ως στόχο τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας των παραπάνω βοτάνων, μέσω της μεθόδου του ABTS και τον εμπλουτισμό μαγιονέζας με αυτά ώστε να διαπιστωθεί η καταλληλότητά τους να χρησιμοποιηθούν ως συντηρητικά. Στο πρώτο κεφάλαιο του θεωρητικού μέρους, γίνεται αναφορά στις αντιοξειδωτικές ενώσεις, τον ρόλο τους, τις μεθόδους παραλαβής τους καθώς και στις αναλύσεις προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Στο δεύτερο κεφάλαιο αναλύονται τα χαρακτηριστικά των βοτάνων και μπαχαρικών που χρησιμοποιήθηκαν. Στο τρίτο κεφάλαιο περιγράφεται το προϊόν

της μαγιονέζας. Όσον αφορά στο Πειραματικό μέρος το τέταρτο κεφάλαιο περιγράφονται οι μεθοδολογίες που έλαβαν μέρος στην έρευνα. Στο πέμπτο κεφάλαιο συνοψίζονται οι παρατηρήσεις και τα αποτελέσματα. Στο έκτο κεφάλαιο παρατίθενται τα συμπεράσματα από την έρευνα αυτήν.

I. Θεωρητικό Μέρος

Κεφάλαιο 1: Τα αντιοξειδωτικά συστατικά

1.1 Οι ελεύθερες ρίζες και το φαινόμενο της οξειδωσης

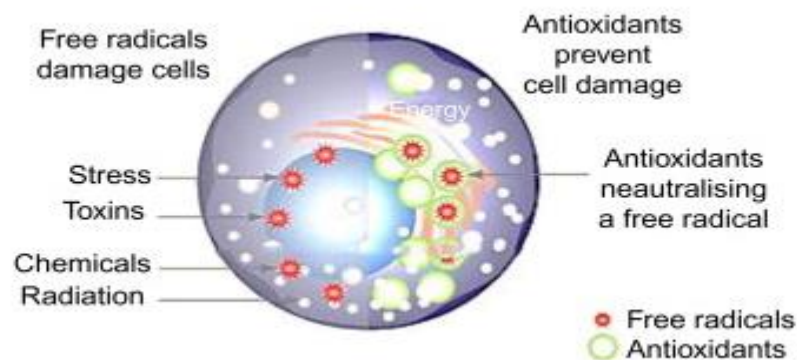
Η ελεύθερη ρίζα ορίζεται ως ένα μόριο ή άτομο που περιέχει ένα μη ζευγαρωμένο ηλεκτρόνιο σε ένα ατομικό τροχιακό. Η παρουσία ενός μη ζευγαρωμένου ηλεκτρονίου έχει ως αποτέλεσμα ορισμένες κοινές ιδιότητες που μοιράζονται οι περισσότερες ρίζες. Πολλές ρίζες είναι ασταθείς και ιδιαίτερα δραστικές. Οι ελεύθερες ρίζες έχουν την δυνατότητα είτε να δώσουν ένα ηλεκτρόνιο, είτε να δεχτούν ένα ηλεκτρόνιο από άλλα μόρια, επομένως συμπεριφέρονται ως οξειδωτικά ή αναγωγικά (K. H. Cheeseman, T. F. Slater, 1993).

Οι ελεύθερες ρίζες παράγονται είτε ενδογενώς στα κύτταρα του ανθρώπινου οργανισμού μέσα από τα μεταβολικά μονοπάτια τους είτε από την επίδραση εξωτερικών παραγόντων όπως είναι η ακτινοβολία και η ρύπανση. Στην δεύτερη περίπτωση, τα κύτταρα του οργανισμού έρχονται συνεχώς σε επαφή με τοξικές ενώσεις και μεταλλαξιόγόνους παράγοντες δημιουργώντας ενδιάμεσα αντιδρώντα. Πέρα από τις ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου (ROS) και του αζώτου (RNS), οι ελεύθερες ρίζες περιλαμβάνουν το υδροξύλιο (OH^\bullet), το υπεροξειδίο ($\text{O}_2 \bullet^-$), το νιτρικό οξειδίο (NO^\bullet), το διοξειδίο του αζώτου (NO_2^\bullet), η υπερόξυ-αλκυλική ρίζα (ROO^\bullet) και η υπερόξυ-λιπιδική ρίζα (LOO^\bullet). Επίσης, το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), το όζον (O_3), το απλό οξυγόνο ($^1\text{O}_2$), το υποχλωρικό οξύ (HOCl), το νιτρικό οξύ (HNO_2), τον υπεροξυνιτρίτη (ONOO^-), το τριοξειδίο του αζώτου (N_2O_3), το υπεροξειδίο του λιπιδίου (LOOH), αποτελούν οξειδωτικά και μπορούν εύκολα να οδηγήσουν σε αντιδράσεις ελεύθερων ριζών (Pham-Huy L.A, Hua He, Pham-Huy C., 2008).

Βέβαια, υπάρχουν και άλλοι ηλεκτρόφιλοι μεταβολίτες που αντιδρούν με τα υγιή κύτταρα του οργανισμού και συμβάλλουν στην παρεμπόδιση της φυσιολογικής τους λειτουργίας (Weng, C.-J., Yen, G.-C., 2015). Όταν λοιπόν, οι ελεύθερες ρίζες συσσωρεύονται στον οργανισμό τότε λαμβάνει χώρα μια διαδικασία που ονομάζεται οξειδωτικό στρες. Οι ελεύθερες ρίζες επιδρούν αρνητικά στα κύτταρα καθώς μπορούν να εισέρχονται δια μέσου της κυτταρικής μεμβράνης και να αντιδρούν με τα λιπίδια, τις πρωτεΐνες αλλά και το DNA (Young, I. S. and Woodside, J. V., 2001). Τέλος, το οξειδωτικό στρες έχει συνδεθεί από τους ερευνητές με πολλές ασθένειες. Μερικές από αυτές είναι η αθηροσκλήρωση, ο καρκίνος, τα καρδιαγγειακά και τα αυτοάνοσα νοσήματα (Pham-Huy L.A, Hua He, Pham-Huy C., 2008).

1.2 Οι αντιοξειδωτικές ουσίες και οι μηχανισμοί τους

Τα αντιοξειδωτικά συστατικά είναι ενώσεις που βρίσκονται φυσικά στα τρόφιμα και ο ρόλος τους στον οργανισμό έχει κριθεί πολύτιμος αφού προλαμβάνει την καταστροφή των κυττάρων του οργανισμού από τις ελεύθερες ρίζες. Βέβαια, ο ανθρώπινος οργανισμός μπορεί να παράγει αντιοξειδωτικά ενδογενώς ως ένας μηχανισμό ενάντια στις ελεύθερες ρίζες (Pham-Huy L.A, Hua He, Pham-Huy C., 2008), αλλά όχι σε επαρκή ποσότητες για την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες. Επί της ουσίας, τα αντιοξειδωτικά απενεργοποιούν τις ελεύθερες ρίζες διότι μπορούν να τους δίνουν ένα ηλεκτρόνιο, που τους λείπει από την εξωτερική τους στιβάδα, ώστε να μην αντιδρούν με άλλα μόρια. Άλλους μηχανισμούς που χρησιμοποιούν τα αντιοξειδωτικά είναι να γίνονται δότες υδρογόνου, να μπορούν να αποσυνθέτουν τα υπεροξειδία, να δρουν ως αναστολείς συνεργιστικών ενζύμων και να συμβάλουν στην χηλικόποιηση των τοξικών μετάλλων. Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να δράσουν μέσω ποικίλων μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της απενεργοποίησης των ελεύθερων ριζών, της καταστολής των προ-οξειδωτικών και του ελέγχου των υποστρωμάτων οξείδωσης (Kishk, Y. F. M. and Elsheshetawy, H. E., 2013).



Εικόνα 1. Ο μηχανισμός λειτουργίας των αντιοξειδωτικών συστατικών (V. Rajeswer Rao, 2016)

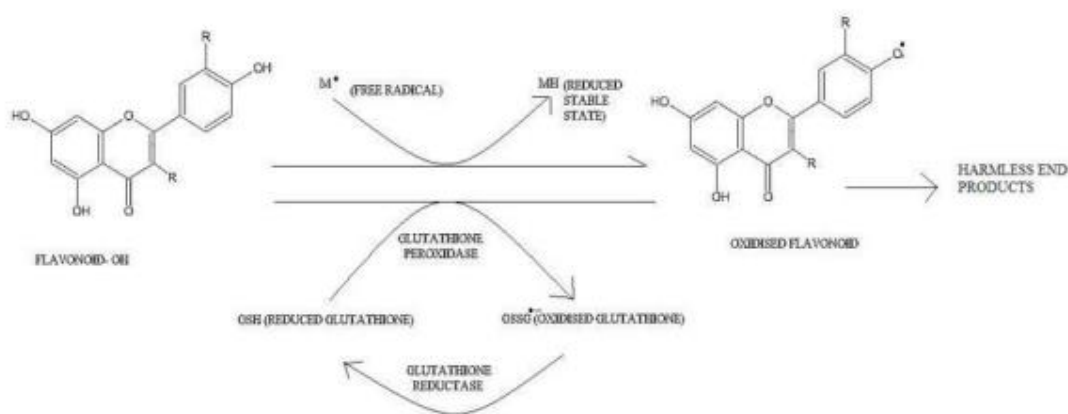
Τόσο τα ενζυματικά αντιοξειδωτικά όσο και τα μη ενζυματικά δραστηριοποιούνται στο ενδοκυτταρικό αλλά και στο εξωκυτταρικό περιβάλλον για την καταστροφή των ελεύθερων ριζών.

Ένζυμα	Αντίδραση που καταλύουν
Υπεροξειδική δισμουτάση	$2 O_2^{\cdot -} + 2 H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
Καταλάση	$2 H_2O_2 \rightleftharpoons O_2 + H_2O$
Περοξειδάση της γλουταθειόνης	$GSH + R^{\cdot} \rightarrow GSSG + R$
Ρεδουκτάση της γλουταθειόνης	$NADPH + GSSG \rightleftharpoons NADP^+ + 2GSH$

GSH: γλουταθειόνη, GSSG: οξειδωμένη μορφή γλουταθειόνης, R[·]: ελεύθερη ρίζα,
NADPH: φωσφορικό νικοτιναμίδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο.

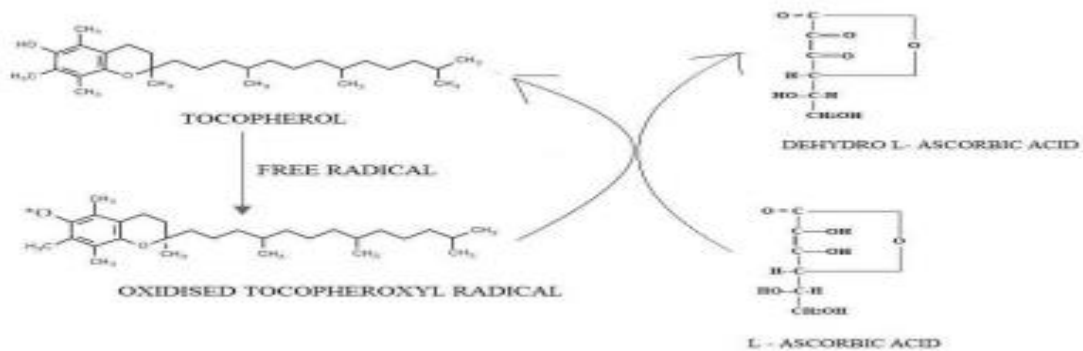
Εικόνα 3. Σημαντικά ενζυματικά αντιοξειδωτικά και οι αντιδράσεις που καταλύουν.

Το σύστημα της γλουταθειόνης, ένα ενζυματικό αντιοξειδωτικό σύστημα περιλαμβάνει την γλουταθειόνη, την αναγωγή της γλουταθειόνης, τις υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης και τις S-τρανσφεράσες της γλουταθειόνης. Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης είναι ένα ένζυμο που περιέχει τέσσερις συν-παράγοντες σεληνίου που καταλύουν τη διάσπαση του υπεροξειδίου του υδρογόνου και των οργανικών υδροϋπεροξειδίων. Υπάρχουν τουλάχιστον τέσσερα διαφορετικά ένζυμα τέτοιου είδους υπεροξειδάσης γλουταθειόνης στα ζώα (Brigelius-Flohé, R., 1999). Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης - 1 είναι η πιο άφθονη και είναι ένας πολύ αποτελεσματικός παράγοντας απενεργοποίησης του υπεροξειδίου του υδρογόνου, ενώ η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης - 4 είναι η πιο δραστική με τα υδροϋπεροξειδία λιπιδίων. Οι S-τρανσφεράσες γλουταθειόνης δείχνουν επίσης, υψηλή δραστηριότητα με υπεροξειδία λιπιδίων. Αυτά τα ένζυμα βρίσκονται σε ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα στο ήπαρ και επίσης χρησιμεύουν στον μεταβολισμό κατά την αποτοξίνωση του οργανισμού (Hayes, J. D., Flanagan, J. U. and Jowsey, I. R., 2005).



Εικόνα 2. Ο μηχανισμός μέσω της αλληλεπίδρασης ενός φλαβονοειδούς, της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και των ενζύμων αναγωγής της γλουταθειόνης για την εκκαθάριση ελεύθερων ριζών (Sarkar, A. and Ghosh, U., 2017).

Ένα μη ενζυματικό αντιοξειδωτικό είναι η βιταμίνη E, που αντιπροσωπεύει μια ομάδα που περιλαμβάνει οκτώ στερεοϊσομερή: α, β, γ, δ τοκοφερόλες και α, β, γ, δ τοκοτριενόλες (Nguyen, L., He, H. and Pham-Huy, C., 2006). Η πιο σημαντική από όλες για τον άνθρωπο, λόγω της υψηλής βιοενεργής της δράσης είναι η α-τοκοφερόλη (Brigelius-Flohé, R, and M G Traber, 1999). Η βιταμίνη E έχει αποδειχθεί ότι προστατεύει τις μεμβράνες των κυττάρων από τις ελεύθερες ρίζες των λιπιδίων που παράγονται δια μέσω του φαινομένου της υπεροξειδωσης των λιπιδίων (Mayo Clinic Medical Information, 2005). Με τον τρόπο αυτόν, καταστρέφονται τα ενδιάμεσα των ελεύθερων ριζών και εμποδίζεται η αντίδραση διάδοσης. Αυτή η αντίδραση παράγει οξειδωμένες ρίζες α-τοκοφεροξυλίου που μπορούν να ανακυκλωθούν πίσω στη δραστική μορφή μέσω αναγωγής από άλλα αντιοξειδωτικά, όπως είναι για παράδειγμα το ασκορβικό, η ρετινόλη ή η ουβικινόλη (Wang, X, and P J Quinn, 1999).



Εικόνα 3. Ο αντιοξειδωτικός μηχανισμός της τοκοφερόλης και του ασκορβικού οξέος (Sarkar A., Ghosh U., 2017).

1.3 Μέθοδοι παραλαβής αντιοξειδωτικών

Στη βιομηχανία των τροφίμων τα αντιοξειδωτικά συστατικά χρησιμοποιούνται κυρίως για την καλύτερη διατήρηση των προϊόντων και την αύξηση της ζωής τους στο ράφι μέσω της παρεμπόδισης των οξειδωτικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα στους ιστούς των τροφίμων. Συμπληρωματικά, οι ενώσεις αυτές πέρα από τις αντιμικροβιακές τους ιδιότητες είναι ικανές να χαρίσουν πλούσια γεύση, χρώμα και άρωμα στο προϊόν. Τα αντιοξειδωτικά που προστίθενται στα τρόφιμα μπορεί να είναι φυσικά, όπως το β-καροτένιο, τα φλαβονοειδή, τα φαινολικά ή συνθετικά όπως την βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA). Για την απομόνωση των αντιοξειδωτικών από τα τρόφιμα και τα φαρμακευτικά φυτά έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι συμβατικές και μη συμβατικές. Η επιλογή και η αποτελεσματικότητα της κάθε μεθόδου εξαρτάται από τον διαλύτη εκχύλισης, την θερμοκρασία, τον χρόνο και το pH. Στις συμβατικές μεθόδους συγκαταλέγονται οι εξής: η εκχύλιση, η απόσταξη και η μηχανική παραλαβή. Παρόλα αυτά, χάριν στα νέα διαθέσιμα τεχνολογικά μέσα έχουν αναπτυχθεί και άλλες τεχνικές όπως η εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους (UAE), η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα (MAE), η εκχύλιση υποβοηθούμενη από ένζυμα (EAE), η εκχύλιση με υγρό υπό πίεση (PLE), η υπερκρίσιμη εκχύλιση (SFE), η εκχύλιση με υψηλή υδροστατική πίεση (HHPE), η εκχύλιση με ηλεκτρικές εκκενώσεις υψηλής τάσης (HVED) και τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία (PEF) (Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou et al., 2017).

1.4 Μέθοδοι προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης

Τα τελευταία χρόνια η ανάπτυξη και η μεγάλη ζήτηση των καταναλωτών για λειτουργικά τρόφιμα έφερε την ανάγκη για όλο πιο αξιόπιστες και εύκολα αναπαραγώγιμες μεθόδους εκτίμησης της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας. Για τον λόγο αυτόν, έχουν αναπτυχθεί τεχνικές οι οποίες παρουσιάζουν διαφορές ως προς τον μηχανισμό λειτουργίας και την ειδικότητα τους ως προς ορισμένα μόρια, τον εξοπλισμό, την ευκολία διεξαγωγής τους αλλά και τον χρόνο διεκπεραίωσης τους.

Ανάλογα με την αντίδραση που πραγματοποιείται στις διαφορετικές μεθόδους μέτρησης της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας, χωρίζονται σε δυο κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία αφορά τις αναλύσεις που βασίζονται στην μεταφορά ατόμων υδρογόνου (Hydrogen Atom Transfer ή HAT) από την ουσία που έχει τον ρόλο του αντιοξειδωτικού προς την ελεύθερη ρίζα, όπως είναι η μέθοδος Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC). Στην δεύτερη κατηγορία, ανήκουν οι τεχνικές που βασίζονται στην μεταφορά ηλεκτρονίων (Single

Electron Transfer ή SET) και έχουν ως στόχο να ανιχνεύσουν εάν μια πιθανή αντιοξειδωτική ένωση έχει την ικανότητα να μεταφέρει ένα μονήρες ηλεκτρόνιο σε μια ελεύθερη ρίζα, κάποιο μέταλλο ή και καρβονύλιο. Ουσιαστικά, η SET αναφέρεται σε μια οξειδοαναγωγική αντίδραση που πραγματοποιείται με την αντιοξειδωτική ένωση. Μάλιστα, η αντιοξειδωτική ένωση είναι που χρησιμοποιείται, ώστε να εντοπιστεί η εξέλιξη της αντίδρασης που με την σειρά της φανερώνεται μέσω χρωματικής αλλαγής. Στις αναλύσεις βάση της SET περιλαμβάνονται οι εξής: η FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma), η ABTS (2,2-azinobis-(3-ethilenebenzotiazolin)-6-sulfonic acid) και η μέτρηση του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με την μέθοδο Folin-Ciocalteu (Prior, R. L., Hoang, H., Gu, L., Wu, X., Bacchiocca, M. et al., 2003, D. Huang, Ou Boxin, and R. L. Prior, 2005). Σημειώνεται επίσης, πως η μέθοδος ABTS αλλά και DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) μπορεί να ταξινομηθεί και στις δυο κατηγορίες, μιας που πολλές φορές ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του αντιοξειδωτικού το σύστημα βασίζεται και στο HAT αλλά και στο SET και ισορροπείται εν τέλει σύμφωνα μόνο με το ένα από τα δυο.

Παρακάτω αναλύονται μερικές από τις μεθόδους εκτίμησης αντιοξειδωτικής δραστηριότητας.

Η μέθοδος ABTS

Η κατιονική ρίζα του ABTS έχει ένα σκούρο μπλε χρώμα που γίνεται άχρωμο κατά την αντίδραση του με μια αντιοξειδωτική ουσία (Dasgupta A., Klein K. et al., 2014). Ο σταδιακός αποχρωματισμός, δηλαδή η μείωση της απορρόφησης μπορεί να καταγραφεί φασματοφωτομετρικά καθώς η ρίζα μπορεί να απορροφά ικανοποιητικά στα 414, 645, 734 και 815 nm (Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K., 2005). Ωστόσο, προτιμούνται τα 734 nm διότι σε αυτό το μήκος κύματος η ρίζα απορροφά αρκετά ισχυρά.

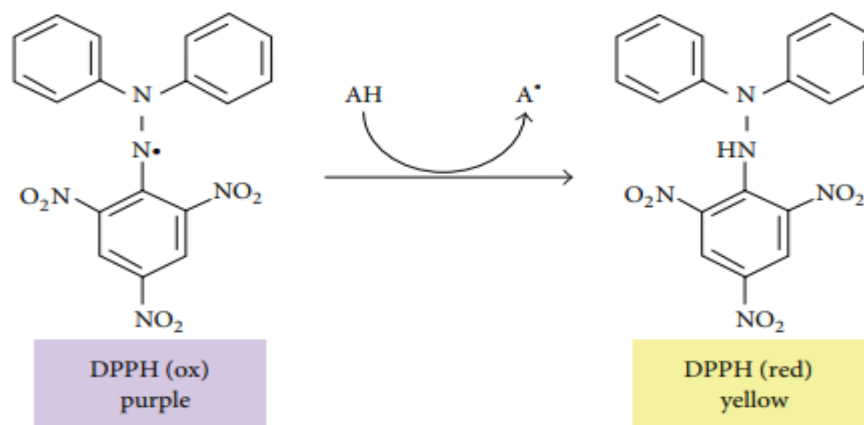
Το ριζικό κατιόν ABTS (2,2'-αζινο δις (3-αιθυλοβενζοθειαζολινο)-6-σουλφονικό οξύ) παράγεται με διαφορετικούς τρόπους. Για παράδειγμα, η μεταμυοσφαιρίνη αντιδρά με υπεροξείδιο του οξυγόνου και η ρίζα που δημιουργείται στην συνέχεια αντιδρά με το ABTS, για να παραχθεί τελικά το ABTS^{•+} (Miller N.J., Rice-Evans C., Davies, M.J., Gopinathan, V., 1993). Άλλοι τρόποι που έχουν αναφερθεί από τους ερευνητές είναι η αντίδραση με διοξείδιο του μαγνησίου (C.A. Rice-Evans, N.J. Miller, G.Paganga, 1996), με 2,2'-αζινο (2-αμιδινοπροπάνιο) διυδροχλωρίδιο (AAPH), με υπερθειικό κάλιο (Van den Berg, R., Haenen, G. R. M. M., Van den Berg, H. and Bast, A., 1999), με ενζυματική αντίδραση (Cano, A., Hernández-Ruiz, J., García-Cánovas, F., Acosta, M., Arnao, M.B., 1998) ή τέλος με ηλεκτροχημική οξείδωση (A.M. Alonso, C. Domínguez, D.A. Guill'en, C. G. Barroso, 2002)

Η δοκιμασία ABTS ονομάζεται TEAC (Trolox Equivalents Antioxidant Capacity) καθώς εκφράζεται συνήθως σε ισοδύναμα Trolox και περιλαμβάνει τόσο τον χρόνο αναστολής, όσο και τον βαθμό αναστολής της οξείδωσης. Η ανάλυση γίνεται κοντά σε ουδέτερο pH περίπου δηλαδή στο 7. Το ABTS^{•+} μπορεί να αντιδράσει γρήγορα με αντιοξειδωτικά, έτσι ο προσδιορισμός με αυτήν την μέθοδο έχει τα πλεονεκτήματα της ταχύτητας. Επιπλέον, το ABTS^{•+} δεν επηρεάζεται από την ιοντική ισχύ και είναι διαλυτό τόσο σε οργανικούς όσο και σε υδατικούς διαλύτες, συνεπώς μπορεί να εφαρμοστεί εύκολα για την ανίχνευση τόσο υδρόφιλων όσο και λιπόφιλων αντιοξειδωτικών (Awika, J.M., Rooney, L.W., Wu, X.L., Prior, R.L, 2003).

Η μέθοδος DPPH

Η ανάλυση DPPH (2, 2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζυλιο) αποτελεί μια σταθερή ρίζα που μπορεί να αδρανοποιηθεί με την προσθήκη ενός ηλεκτρονίου ή υδρογόνου. Όταν στο ίδιο διάλυμα με την ρίζα DPPH υπάρχει μια αντιοξειδωτική ουσία, τότε ανάγεται και το χρώμα από μωβ γίνεται κίτρινο (Prior, R. L., Hoang, H., Gu, L., Wu, X., Bacchiocca, M., Howard, L. et al, 2005). Η μείωση της απορρόφησης του DPPH είναι ενδεικτική της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών, η μέτρηση της οποίας πραγματοποιείται στα 517 nm, μέγιστο του φάσματος του μορίου της ρίζας. Η μέθοδος DPPH χρησιμοποιείται ευρέως διότι είναι απλή, γρήγορη και έχει σχετικά χαμηλό κόστος. Η αντιοξειδωτική δράση της DPPH εκφράζεται συχνά και ως EC₅₀ (Effective Concentration) η οποία ορίζεται ως η αποτελεσματική συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού που απαιτείται για την μείωση της αρχικής συγκέντρωσης DPPH κατά 50% (Shahidi, F., 2015). Επιπλέον, TEC₅₀ είναι ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη της σταθερής κατάστασης με την τιμή EC₅₀. Ενίοτε, αναφέρεται η αντιδραστική αποτελεσματικότητα (AE) η οποία συνδυάζει τις EC₅₀ και TEC₅₀ σε μία παράμετρο σύμφωνα με την εξίσωση $AE = (1/EC_{50}) TEC_{50}$ (Shahidi F., Zhong Y., 2015).

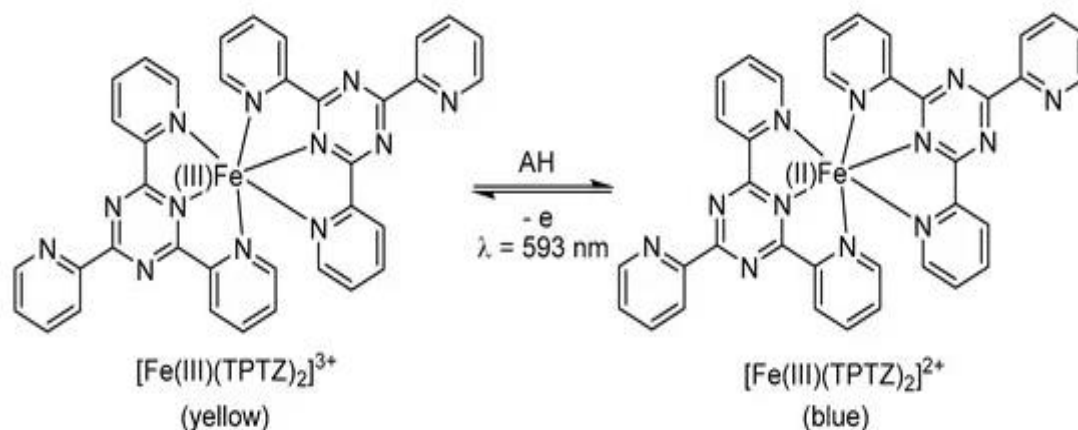
Αν και ο προσδιορισμός με την δοκιμασία DPPH είναι απλός και δεν απαιτεί ειδική επεξεργασία δείγματος, η ευαισθησία της μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους παράγοντες, όπως είναι το είδος και η ποσότητα του διαλύτη που χρησιμοποιείται (Dawidowicz, A.L., Wianowska, D., Olszowy, M., 2012).



Εικόνα 4. Η αρχή της μεθόδου DPPH (Teixeira, J., Gaspar, A. et al., 2013)

Η μέθοδος FRAP

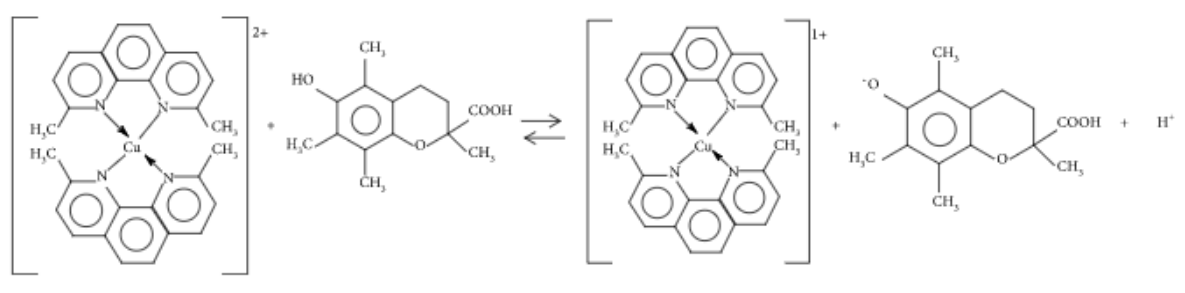
Η τεχνική FRAP στηρίζεται στην μειωμένη ικανότητα μιας αντιοξειδωτικής ουσίας να ανάγει έναν τρισθενή σίδηρο (Fe^{3+}) σε δισθενή (Fe^{2+}), μέσω της μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου. Όταν ανάγεται ο Fe^{3+} σε Fe^{2+} παράγεται με παρουσία αντιοξειδωτικών ουσιών το σύμπλοκο 2,4,6-τριπυριδυλο-s-τριαζίνη $[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{2+}$, που παρουσιάζει ένα βαθύ μπλε χρώμα. Η ένταση του χρώματος μετράται εύκολα με φασματοφωτόμετρο με μέγιστη απορρόφηση στα 593 nm. Η διεξαγωγή της μεθόδου μπορεί να επιτευχθεί και με αναγωγή του φερρικυανιδίου $[\text{Fe}^{3+}(\text{CN})_6]$ σε φερροκυανίδιο $[\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6]$, με το ιόν του σιδήρου να προσδίδει το βαθύ μπλε χρώμα. Η ανίχνευση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας με την FRAP πραγματοποιείται σε όξινο pH, γύρω στο 3,6 (Dasgupta, A., Klein, K, 2014). Η τιμή που προσδιορίζεται εκφράζεται ως ισοδύναμα Mol Fe^{2+} . Η FRAP βρίσκει εφαρμογή σε τρόφιμα που περιέχουν σίδηρο αλλά στα μειονεκτήματα της μεθόδου σημειώνεται ότι δεν είναι όλες οι ενώσεις που ανάγονται αντιοξειδωτικά αλλά δεν είναι και σε θέση όλα τα βιοενεργά συστατικά να αναχθούν με το Fe^{3+} (Hidalgo G.I., Almajano M.P., 2017). Η αντιοξειδωτική δραστηριότητα των ενώσεων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον χρόνο της αντίδρασης, όπως στις φαινόλες που είναι αρκετά αργός ενώ στις πολυφαινόλες γρήγορος (Prior et al., 2005, Huang et al., 2005).



Εικόνα 5. Αναγωγή του συμπλόκου Fe C13-TPTZ σε έγχρωμο προϊόν (Santos, C., Silva, A., 2020).

Η μέθοδος CUPRAC

Η μέθοδος CUPRAC (Potassium Ferricyanide Reducing Power) είναι ένας προσδιορισμός αναγωγής χαλκού που αναπτύχθηκε ως μια παραλλαγή της δοκιμασίας FRAP. Σε αυτήν την ανάλυση χρησιμοποιείται ο χαλκός ως οξειδωτικό αντί του σιδήρου στη δοκιμή FRAP. Η μέθοδος βασίζεται στον σχηματισμό ενός συμπλέγματος χαλκού-2,9-διμεθυλο-1,10-φαινανθρολίνη, για τη διευκόλυνση της μέτρησης της απορρόφησης. Η αρχή της μεθόδου περιλαμβάνει τη μείωση του συμπλόκου χαλκού-νεοκοπροΐνού $[\text{Cu}(\text{Nc})_2]^{2+}$ από το αντιοξειδωτικό συστατικό παρουσία οξικού αμμωνίου για να σχηματιστεί το σύμπλοκο χαλκού-νεοκοπροΐνης $[\text{Cu}(\text{Nc})_2]^+$, μια κίτρινη χρωμογόνα ένωση με μέγιστη απορρόφηση στα 450 nm (Trofin, A., Trinca, L. C., 2019, Apak, R., Güçlü, K. et al., 2004). Η αντίδραση λαμβάνει χώρα σε ουδέτερο pH (Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E. et al., 2011). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox.



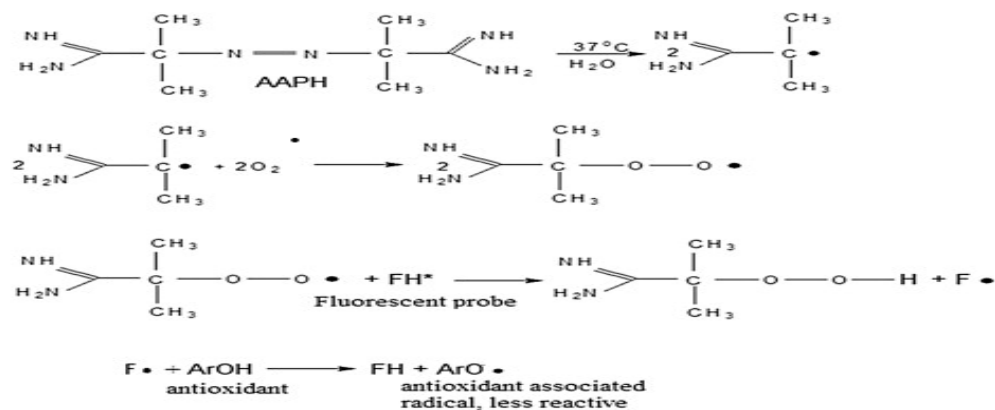
Εικόνα 6. Σχήμα της οξειδοαναγωγικής αντίδρασης μεταξύ του συμπλόκου χαλκού-νεοκοπροΐνού και Trolox (Trofin A.E. et al., 2019)

Η μέθοδος ORAC

Η μέθοδος ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) στην αρχική εκδοχή της βασιζόταν στην χρήση μιας φθορίζουσας πρωτεΐνης ανιχνευτή την β-φυκοερυθρίνη (β-PE), που είχε απομονωθεί από το *Porphyridium cruentum* (Cao, G., Alessio, H. M., Cutler, R. G., 1993). Ωστόσο, εντοπίστηκαν πολλά μειονεκτήματα μεταξύ των άλλων η αντίδραση της β-PE με την ρίζα του υπεροξειδίου (Ou, Hampsch-Woodill, Prior, 2001). Αργότερα, χρησιμοποιήθηκε ως ανιχνευτής η φλουροεσκεΐνη (FL) που είναι ένας συνθετικός και μη πρωτεϊνικός ανιχνευτής που ξεπερνούσε τους περιορισμούς της β-PE (Lucas-Abellán, C., Mercader-Ros, M. T., Zafrilla, M. P. et al., 2008).

Ο προσδιορισμός ORAC μετρά την ικανότητα ριζικής θραύσης της αλυσίδας των αντιοξειδωτικών συστατικών παρακολουθώντας την αδρανοποίηση της επαγόμενης ρίζας του

υπεροξειδίου. Σε αυτόν τον προσδιορισμό, παράγεται η ρίζα υπεροξειδίου από την θερμική αποσύνθεση ενώσεων αζώτου, όπως είναι η 2,2'-αζώδις (2- διυδροχλωρικό αμιδινοπροπάνιο) (AAPH), όπου η ρίζα αντιδρά με τον ανιχνευτή και με τα αντιοξειδωτικά συστατικά. Το πλεονέκτημα του AAPH είναι η αντίδραση του τόσο με υδατοδιαλυτά όσο και με λιποδιαλυτά συστατικά, άρα ενδείκνυται για μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής δραστηριότητας σε ένα τρόφιμο. Επίσης, η ORAC είναι η μόνη μέθοδος που συνδυάζει τόσο τον χρόνο αναστολής της αντίδρασης όσο και τον βαθμό αναστολής της ρίζας σε μία μόνο δοκιμή (Prior R.L. et al., 2003). Από την άλλη στα μειονεκτήματα της μπορεί να καταλογιστεί η ευαισθησία στην θερμοκρασία που επηρεάζει τα αποτελέσματα. Βέβαια, αυτό έχει ξεπεραστεί ως έναν βαθμό λόγω της ανάπτυξης αυτόματης ανάγνωσης πλακών φθορισμού εξοπλισμένες με δυνατότητα θερμοστάτισης. Μάλιστα, συνίσταται από τους επιστήμονες η επώαση του ρυθμιστικού διαλύματος της αντίδρασης στους 37 °C πριν από τη διάλυση του στο AAPH, ώστε να μειωθεί η διακύμανση των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας (Prior, R. L., Hoang, H., Gu, L., Wu, X. Et al., 2005).



Εικόνα 7. Η αντίδραση οξείδωσης στην μέτρηση αντιοξειδωτικής δραστηριότητας ORAC (Litescu S. C. et al., 2015).

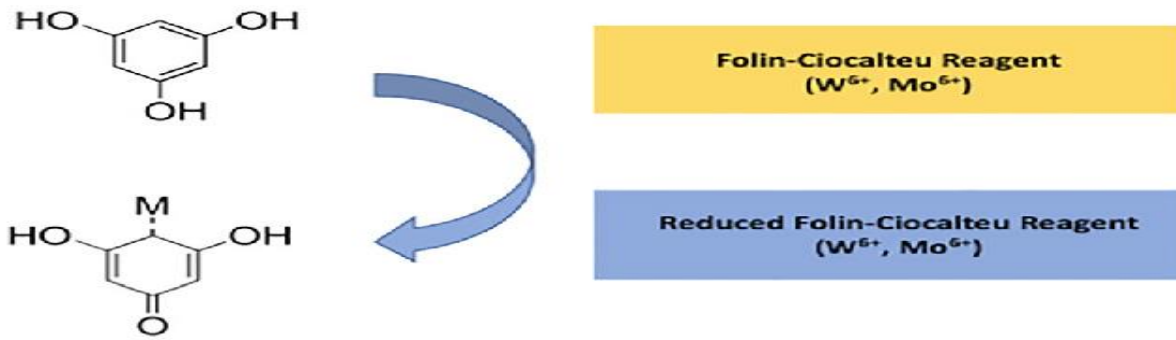
Η καταγραφή της απώλειας του μορίου του φθορισμού, ως αποτέλεσμα της αντίδρασης οξείδωσης καταγράφεται εύκολα με φθορισμόμετρο (Shahidi F., Zhong Y., 2015). Συνήθως, όταν ο ανιχνευτής φθορισμού είναι η φλουορεσκεΐνη η απορρόφηση ξεκινά στα 490 nm με μέγιστο στα 514 nm, ενώ οι συνθήκες εργασίας περιλαμβάνουν ρυθμιστικό διάλυμα σε pH 7,40. Τέλος, τα αποτελέσματα αποδίδονται σε ισοδύναμα Trolox (Litescu, S.C., Eremia, S.A.V., Tache, A. et al., 2015).

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu (FC) ονομάζεται και προσδιορισμός ολικών φαινολικών συστατικών. Ο προσδιορισμός Folin-Ciocalteu σχεδιάστηκε αρχικά για την ανάλυση πρωτεϊνών, η οποία εκμεταλλεύεται το φαινολικό αμινοξύ τυροσίνη στις πρωτεΐνες (Folin, O., Ciocalteu V., 1927). Αργότερα όμως, υιοθετήθηκε από τους Singleton, Orthofer και Lamuela-Raventos (1999) για την ανάλυση φαινολικών συστατικών στο κρασί, μετά την οποία έγινε μια ανάλυση ρουτίνας για την αντιοξειδωτική εκτίμηση φαινολικών στα τρόφιμα και τα φυτικά εκχυλίσματα.

Η FC αποτελεί χρωματομετρική ανάλυση, όπου τα ολικά φαινολικά συστατικά ενός δείγματος, προσδιορίζονται μέσω της αντίδρασής τους με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (διάλυμα φωσφορομολυβδενικού/φωσφοροβολφραμικού οξέος). Τα φαινολικά έχουν την δυνατότητα να σχηματίζουν σύμπλοκο μπλε χρώματος με το διάλυμα, σε αλκαλικές συνθήκες (Magalhaes, L., Segundo, M., Reis, S., Lima, J., 2008). Πιο συγκεκριμένα, μια φαινολική ένωση αποδίδει ένα ηλεκτρόνιο και το Mo^{6+} (ιόν μολυβδαινίου) ανάγεται σε Mo^{5+} . Το μέγιστο της απορρόφησης καταγράφεται στα 725nm και η τιμή προσδιορισμού που χρησιμοποιείται συνήθως είναι τα ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE) ανά γραμμάριο του δείγματος ή του εκχυλίσματος (Hidalgo, G.-I., Almajano, M. P., 2017).

Σύμφωνα με τους ερευνητές η FC ανάλυση είναι απλή και παρουσιάζει καλή αναπαραγωγικότητα. Εντούτοις, ένα από τα κύρια μειονεκτήματα της είναι ότι δεν είναι ακριβής, γιατί το αντιδραστήριο ανάγεται από άλλες ενώσεις εκτός από τις φαινολικές (Rupasinghe, H.P.V., Yu, L.J., Bhullar K.S, 2012). Για παράδειγμα, θα μπορούσαν να προκύψουν οι υψηλές τιμές που λαμβάνονται για το FC εξαιτίας παρεμβολών άλλων αναγωγικών ουσιών, όπως ασκορβικό οξύ ή αναγωγικά σάκχαρα (Bessada, S.M.F., Barreira, J.C.M., Oliveira, M.B.P.P., 2015). Τέλος, οφείλει να σημειωθεί ότι παράγοντες, όπως είναι η ευαισθησία στο pH, στην θερμοκρασία και στον χρόνο αντίδρασης (Karadag, A., Ozcelik, B., Saner, S., 2009) πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν για την διεξαγωγή της FC.



Εικόνα 8. Η μείωση του διαλύματος του FC λόγω της οξείδωσης των φαινολικών σε ένα δείγμα (Louise Ford et al., 2019).

Κεφάλαιο 2: Βότανα και μπαχαρικά

2.1 Βότανα

2.1.1 Το Δεντρολίβανο

Το δεντρολίβανο (*Rosmarinus officinalis Linn*) ανήκει στην οικογένεια *Lamiaceae*. Το εκχύλισμα δεντρολίβανου, ειδικά το εκχύλισμα των φύλλων του είναι ένα από τα πιο δημοφιλή φυτικά προϊόντα που καταναλώνεται είτε ως αρωματική ουσία είτε ως αντιοξειδωτικός παράγοντας στη διατήρηση των τροφίμων και των καλλυντικών (Hassani, F.V., Shirani, K., Hosseinzadeh, H., 2016). Το δεντρολίβανο έχει ξεχωρίσει μεταξύ των βοτάνων για τις αντιοξειδωτικές του ιδιότητες. Σε προηγούμενες μελέτες, έχει αποδειχθεί πως η αντιοξειδωτική του δράση οφείλεται κυρίως στα συστατικά του, δηλαδή στο καρνοσικό οξύ, στην καρνοσόλη και στο ροσμαρινικό οξύ (Erkan, N., Ayrançi, G. and Ayrançi, E., 2008). Κυρίως οι ενώσεις του δεντρολίβανου που εντοπίζονται σε σημαντικές συγκεντρώσεις είναι τα φλαβονοειδή, τα φαινολικά οξέα (καφεϊκό, ροσμαρινικό) και τα αιθέρια έλαια (καμφορά και κινεόλη) και τα διτερπένια (καρνοσόλη) (Carol A. Newall, Linda A. Anderson, J.D Phillipson, 1996). Επιπροσθέτως, έχουν απομονωθεί 19 διαφορετικά συστατικά από το αιθέριο έλαιο του δεντρολίβανου, με τα κύρια να αποτελούν η 1,8-κινεόλη (27,23%), το α-πινένιο (19,43%), η καμφορά (14,26%), το καμφένιο (11,52%) και το β-πινένιο (6,71%), αντίστοιχα (W. Wang, N. Wu, Y.G. Zu, Y.J. Fu., 2008). Σε έρευνα των Moreno, Scheyer, Romano, Vojnov το 2009 μελετήθηκε η αντιοξειδωτική δράση και η αποτελεσματικότητα του δεντρολίβανου ως αντιμικροβιακή ουσία. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα μεθανολικά εκχυλίσματα από τα φύλλα και τα άνθη του δεντρολίβανου περιείχαν υψηλές ποσότητες ενώσεων πολυφαινόλης καθώς και εκδήλωσαν υψηλή αντιοξειδωτική δραστηριότητα. Επίσης, οι συγκεντρώσεις του καρνοσικού οξέος επηρεάζονται από το νερό, το φως και την θερμική καταπόνηση. Η έρευνα αυτή έδειξε ότι οι αντιμικροβιακές ιδιότητες τόσο του νερού όσο και των βιολογικών εκχυλισμάτων του δεντρολίβανου συνδέονται με τις διαφορετικής δομής πολυφαινόλες. Μία από τις αντιμικροβιακές δράσεις των φαινολικών που περιέχει είναι μέσω της αδρανοποίησης των κυτταρικών ενζύμων, τα οποία εξαρτώνται από το ρυθμό διεύθυνσης της ουσίας στο κύτταρο ή μέσω μεταβολής της διαπερατότητας των κυτταρικών μεμβρανών. Ο μηχανισμός δράσης των τερπενίων δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητός αλλά εικάζεται πως περιλαμβάνει την διαταραχή της μεμβράνης από λιπόφιλες ενώσεις. Κατ' αυτόν τον τρόπο, η υψηλή δραστηριότητα του καρνοσικού οξέος μπορεί να προκύψει από το λιπόφιλο χαρακτήρα. Γενικά, η αντιοξειδωτική ικανότητα του δεντρολίβανου και των ενώσεων του προσδιορίζεται με διάφορες μεθόδους σε διαφορετικά λιπιδικά και υδατικά συστήματα. Σε λιπιδικά

συστήματα, εκχυλίσματα με υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικό διτερπένιο είναι πιο αποτελεσματικά, ενώ σε υδατικά συστήματα, το ροσμαρινικό οξύ παρουσιάζει την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση. Σύμφωνα με τους del Baño, Lorente, Castillo, Benavente-García, del Río, Ortuño (2003) έχει αποδειχθεί από προηγούμενες μελέτες πως η ηλικία των φύλλων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην συγκέντρωση του καρνοσικού οξέος και σε άλλα φαινολικά διτερπένια. Η παρουσία φλαβονών στο εκχύλισμα του δεντρολίβανου προτείνει μία πιθανή συνεργιστική συμπεριφορά στην ικανότητα εξουδετέρωσης των ελεύθερων ριζών του.

2.1.2 Το Θυμάρι

Το θυμάρι είναι ένα αρωματικό και φαρμακευτικό φυτό, που ανήκει στην οικογένεια *Lamiaceae* και προέρχεται από την Μεσόγειο. Τα φυτά που ανήκουν στην οικογένεια *Lamiaceae* είναι γνωστό πως περιέχουν μία πληθώρα δευτερευόντων μεταβολιτών όπως είναι τα τερπενοειδή και τα φλαβονοειδή (Roby, M.H.H., Sarhan, M.A., Selim, K.A.H., Khalel, K.I., 2013, Yanishlieva, N. V., Marinova, E., Pokorný, J., 2006). Τα κύρια χημικά συστατικά του αιθέριου ελαίου του θυμαριού (των αποξηραμένων φύλλων και των λουλουδιών) είναι η θυμόλη, η καρβακρόλη, οι οποίες είναι υπεύθυνες για το χαρακτηριστικό άρωμα του αιθέριου ελαίου, τα φλαβονοειδή, οι τανίνες και τα τριτερπένια (Bisset, N.M., 1994, Yanishlieva P., 2006). Τα φυλλώδη μπαχαρικά όπως το θυμάρι έδειξαν σε έρευνα τους οι Yanishlieva, N. V et al. (2006) την προ-οξειδωτική δράση για τα τρόφιμα που εκτίθενται στο φως, ενώ το ίδιο το τρόφιμο το οποίο είναι αποθηκευμένο σε σκοτεινό μέρος επιβεβαίωσε την αντιοξειδωτική δράση του μπαχαρικού. Μάλιστα σε μελέτη του 2005 (Lee S.J., Umamo K., Shibamoto T., Lee, K.G.) οι σημαντικές ενώσεις που βρέθηκαν στα πτητικά εκχυλίσματα του θυμαριού, δηλαδή η ευγενόλη, η θυμόλη, η καρβακρόλη και η 4-αλλυλοφαινόλη παρουσίασαν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, συγκρίσιμη με τα γνωστά αντιοξειδωτικά, BHT και α-τοκοφερόλη. Επιπλέον, η κατάποση του θυμαριού μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη της in vivo οξειδωτικής βλάβης, όπως είναι η υπεροξείδωση των λιπιδίων, η οποία σχετίζεται με τον καρκίνο, την πρόωρη γήρανση, την αθηροσκλήρωση και τον διαβήτη.

2.1.3 Ο Βασιλικός

Ο βασιλικός (*Ocimum basilicum L.*) ανήκει στην οικογένεια *Lamiaceae*, η οποία αντιπροσωπεύει ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα φαρμακευτικά και αρωματικά φυτά σε όλο τον κόσμο. Υπάρχουν πολλές ποικιλίες βασιλικού, αλλά η πιο γνωστή ποικιλία είναι ο γλυκός βασιλικός ή ο βασιλικός Genovese, ένα σημαντικό συστατικό στη μεσογειακή διατροφή όπου χρησιμοποιείται ως φρέσκο φυλλώδες καρύκευμα βοτάνων ή ως γαρνιτούρα

και είναι το κύριο συστατικό στη σάλτσα πέστο "genovese". Τα μέλη της οικογένειας *Lamiaceae* παράγουν ενώσεις όπως τα φαινολικά οξέα και τα αιθέρια έλαια, τα οποία είναι υπεύθυνα για το χαρακτηριστικό άρωμα των φυτών αυτών (Comite E., El-Nakhel, C., Roupheal Y., Ventorino V., Pepe et al., 2021). Τα

Το γένος *Ocimum*, συλλογικά γνωστό ως βασιλικός, προέρχεται από τη Νοτιοανατολική Ασία και την Αφρική. Σήμερα, καλλιεργείται ευρέως σε ολόκληρο τον κόσμο με τις Ηνωμένες Πολιτείες να είναι ο μεγαλύτερος γεωργικός παραγωγός γλυκού βασιλικού (Wyenandt, C. A., Simon, J. E., Pyne, R. M., Homa, K. et al., 2015). Οι χημικές ενώσεις που λαμβάνονται κυρίως από τον βασιλικό είναι τα αιθέρια έλαια (λιναλοόλη, οιστραγκόλη και ευγενόλη), οι τανίνες και τα φλαβονοειδή (Bisset N.M., 1994). Τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου του βασιλικού, που έχουν απομονωθεί είναι η μέθυλο χαβικόλη (36,81%), η μέθυλο ευγενόλη (20,40%), η β-λινανοόλη (14,35%), η ευγενόλη (10,55%) και η L (-)-καρβόνη (39,05%) (Teneva, D., Denkova, Z., Denkova-Kostova, R., et al., 2021). Είναι γνωστό πως ο βασιλικός περιέχει αντιοξειδωτικές ενώσεις ικανές να προσφέρουν οφέλη για την υγεία στους καταναλωτές προστατεύοντας τα κύτταρα από βλάβες που προκαλούνται από το οξειδωτικό στρες και τις ελεύθερες ρίζες, υπεύθυνες για πολυάριθμες εκφυλιστικές ασθένειες. Μάλιστα, μεταξύ των πολλών δευτερογενών μεταβολιτών που εντοπίστηκαν στο βασιλικό, τα αιθέρια έλαια αναγνωρίζονται ως αποτελεσματικά στη μείωση του αντιοξειδωτικού και αντιμικροβιακού στρες, ενώ τα φαινολικά οξέα είναι γνωστό ότι δρουν προληπτικά προστατεύοντας αποτελεσματικά την ανθρώπινη υγεία (Comite, E. Et al., 2021).

Όσο αναφορά την αντιοξειδωτική του ικανότητα σε έρευνα του 2000 (Shiow Y. Wang, Hsin-Shan Lin) όπου αξιολογήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα εκχυλισμάτων με βάση την ικανότητα εκκαθάρισης της ρίζας υπεροξειδικού αλκυλίου (ROO[•]), του υποχλωριώδους οξέος (HOCl), του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) και της ρίζας υπεροξειδίου (O₂^{•-}) μεταξύ ορισμένων φρούτων και λαχανικών που είναι γνωστά για την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, βρέθηκε πως ο βασιλικός παρουσίασε την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με την φράουλα και το βατόμουρο. Αξιοσημείωτο να αναφερθεί είναι το γεγονός ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα του βασιλικού ίσως είναι υψηλότερη όταν μη φαινολικές ενώσεις συνδράμουν στο συνολικό αντιοξειδωτικό φορτίο μιας μήτρας τροφίμων/φυτών. Για παράδειγμα, ο βασιλικός είναι αρωματικό φυτό και γνωρίζουμε πως ορισμένες πτητικές ενώσεις που περιέχει μπορούν επίσης να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα. Την βιοδραστικότητα αυτή μπορούν να επηρεάσουν και τα πεπτίδια

καθώς μερικές μήτρες παρουσιάζουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες σε σύγκριση με άλλες πηγές φύλλων (De Souza, Da Silveira, Rodrigues, Ruiz, Neves, Duarte, 2021).

Η εξαιρετική αντιμικροβιακή ικανότητα του βασιλικού επιβεβαιώθηκε και μέσα από την έρευνα των Couto, Barbosa, Nizio, Nogueira, Arrigoni-Blank και Pinto το 2021 όπου το αιθέριο έλαιο του βασιλικού ξεχώρισε μεταξύ άλλων παρεμποδίζοντας αποτελεσματικά την ανάπτυξη Gram θετικών και Gram αρνητικών βακτηρίων. Συμπεραίνουμε εύλογα, λοιπόν, πως θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στην βιομηχανία των τροφίμων ως φυσικό συντηρητικό βελτιώνοντας, έτσι την θρεπτική αξία των προϊόντων και την συντήρησή τους.

2.2 Μπαχαρικά

Τα μπαχαρικά αποτελούν την αποξηραμένη μορφή οποιουδήποτε βοτάνου, τους σπόρους, τις ρίζες των φυτών καθώς και άλλα φυτικά μέρη που μπορούν και αποδίδουν άρωμα, γεύση και χρώμα στα τρόφιμα (Chaudhary P., Singh P., 2014). Από νωρίς οι άνθρωποι είχαν αναγνωρίσει την αξία των μπαχαρικών στην συντήρηση ευαλλοίωτων τροφίμων, όπως είναι το κρέας. Τα καρυκεύματα περιέχουν βιοενεργά συστατικά τα οποία έχουν την δυνατότητα να παρεμβαίνουν στις χημικές και βιολογικές διαδικασίες των τροφίμων προτρέποντας την αλλοίωση τους (Berdahl D.R, McKeague J., 2015). Η παρεμπόδιση της οξείδωσης των τροφίμων, επισημάνθηκε μόλις το 1943 όπου οι επιστήμονες Dubois και Tressler απέδειξαν πως το φασκόμηλο, το μασίς (άνθος του μοσχοκάρυδου) και το μαύρο πιπέρι αναστέλλουν την οξείδωση του κατεψυγμένου κρέατος. Επίσης, οι αντιοξειδωτικές ενώσεις των μπαχαρικών παρουσιάζουν και αντιμικροβιακές ιδιότητες που συνεισφέρουν παράλληλα στην προστασία των τροφίμων από μικροοργανισμούς διασφαλίζοντας την ποιότητα τους αλλά και στην υγεία του ανθρώπου. Πολλές μελέτες ερευνητών φανερώνουν ότι τα αντιοξειδωτικά συστατικά αποτελούν ισχυρούς αναστολείς της φλεγμονής των ιστών που προκαλείται από τα υψηλά επίπεδα του σακχάρου και των λιπιδίων στο αίμα (Dattatray S, Kamini B, Manjula, Mohanlal J., 2021). Τέλος, είναι εύλογη η χρήση των μπαχαρικών ως συντηρητικά σε πληθώρα τροφίμων, αφού η προσθήκη τους έχει χαμηλό κόστος, έχουν σχετικά εύκολη εφαρμογή και δεν έχουν θερμίδες.

2.2.1. Το Garam Masala

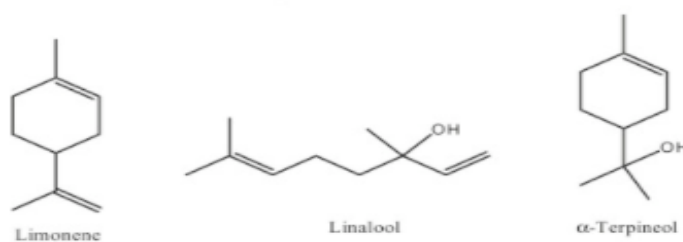
Το *Garam Masala* είναι ένα μίγμα μπαχαρικών που επί της ουσίας σημαίνει «καυτερό» καρύκευμα και χρησιμοποιείται κυρίως στην ινδική κουζίνα. Η Ινδία είναι χώρα με μεγάλη ποικιλομορφία στην κουλτούρα γεγονός που συνεπάγεται και την πλούσια κουζίνα της. Με αυτόν τον τρόπο, η συνταγή του *Garam Masala* αν και έχει προέλθει από την Β. Ινδία

παρουσιάζει πολλές διαφορετικές εκδοχές (Dattatray S. et al., 2021). Τα συστατικά αλλά και οι ποσότητες τους διαφέρουν ανάλογα με την γεωγραφική περιοχή προετοιμασίας του *Masala*. Μάλιστα, η συνταγή μπορεί να περιλαμβάνει ως και 13 διαφορετικά συστατικά. Σε εκείνα ενίοτε περιλαμβάνονται το μαύρο πιπέρι, το κύμινο, το κάρδαμο, το τσίλι, η κανέλα, το γαρίφαλο, ο κόλιανδρος, ο μάραθος, το τζίντζερ, το μοσχοκάρυδο, το αλάτι και ο γλυκάνισος σε ανάλογες ποσότητες το καθένα (Vasavada, M. N., Dwivedi, S., Cornforth, D., 2006). Εξαιτίας της παρουσίας πολλών μπαχαρικών το *Garam Masala* μίγμα περιλαμβάνει σε αφθονία αντιοξειδωτικές ενώσεις

Το μαύρο πιπέρι (*Piper nigrum Linn*) ανήκει στην οικογένεια *Piperaceae* και είναι ενδογενές είδος στην περιοχή της Ινδίας και της Μαλαισίας. Το πιπέρι περιέχει τεράστια ποικιλία σε αντιοξειδωτικές και αντιβακτηριακές ενώσεις. Ταυτόχρονα, βοηθά στην πέψη και στην απώλεια βάρους. Κύρια δραστική ένωση του μαύρου πιπεριού είναι η πιπερίνη, όπου σε διάφορες μελέτες *in vitro* έχει επιδείξει ότι παρεμποδίζει και αναστέλλει τις ελεύθερες ρίζες (ROS) προστατεύοντας από το οξειδωτικό στρες. Από την άλλη, σε *in vivo* μελέτη έχει αποδειχθεί η θετική συσχέτιση της πιπερίνης με την μείωση της υπεροξειδωσης των λιπιδίων (Srinivasan K., 2007). Ακόμη, σε έρευνα *in vivo*, ποντίκια που η διατροφή τους ήταν πλούσια σε λιπαρά, η χορήγηση της πιπερίνης έδειξε σημαντική μείωση της χοληστερόλης, των ελεύθερων λιπαρών οξέων, των τριγλυκεριδίων και των φωσφολιπιδίων (Vijayakumar RS, Surya D, Senthilkumar R, et al., 2002). Το μαύρο πιπέρι είναι καλή πηγή βαναδίου, το οποίο έχει δείξει πως βοηθά στην λειτουργική αποκατάσταση από έμφραγμα του μυοκαρδίου (Shenuarin B, Fukunaga K., 2009). Οι ουσίες που προσδίδουν το χαρακτηριστικό άρωμα είναι τα τερπένια και οι ενώσεις που περιέχουν άζωτο στο έλαιο του μαύρου πιπεριού (Jeleń, H. H., Gracka, A. 2015). Βασικά αρωματικά συστατικά του μαύρου πιπεριού είναι το α- και β-πινένιο, το μυρκένιο, το α-φελλανδρένιο, το λιμονένιο, η λιναλοόλη, η μέθυλο προπανάλη, η 2- και η 3-μεθυλοβουτανάλης, το βουτυρικό οξύ και το 3-μεθυλοβουτυρικό οξύ. Οι ενώσεις 2,3-διαιθυλο-5-μεθυλοπυραζίνη και 2-ισοπροπυλο-3-μεθοξυπυραζίνη είναι υπεύθυνες για τη μαγαιάτικη δυσάρεστη γεύση στο μαύρο πιπέρι (Jagella, T., Grosch, W., 1999).

Το κάρδαμο (*Elettaria cardamomum*) ανήκει στην οικογένεια *Zingiberaceae* και προέρχεται από την Νότιο-Ανατολική Ασία και Ινδία. Το μπαχαρικό κάρδαμο παράγεται από τους σπόρους του φυτού και φημίζεται για το άρωμα και την ελαφρώς πικάντικη γεύση που προσδίδει όταν προστίθεται στα τρόφιμα. Το έλαιο του καρδάμου περιέχει τις ενώσεις, κινεόλη και το οξύ β-τερπινύλιο (Menon, A., 2000). Από μελέτες το κάρδαμο έχει δείξει πως λειτουργεί ευεργετικά κατά την διάρκεια της πέψης, μπορεί να παρεμποδίζει την δημιουργία θρομβώσεων

και να αυξάνει τα επίπεδα της γλουταθειόνης ενός φυσικού αντιοξειδωτικού που παράγει ο άνθρωπος (Suneetha W, J., Krishnakantha, T.,2005). Επιπλέον, από άλλη έρευνα που διεξάχθηκε για το κάρδαμο βρέθηκαν κάποια συστατικά στον ελαιοπυρήνα του όπως: η methanol oleoresin, η 5- (υδροξυμέθυλο) -2- φουραλδεύδη, η α-τερπινεόλη, η 1,8-κινεόλη, το 2,3-διϋδροβενζοφουράνιο, η acetone oleoresin, η 1,8 -κινεόλη, η ευγενόλη, η α-τερπινεόλη, η-επτακοζάνη και η β-σιτοστερόλη. Στο έλαιο του καρπού βρέθηκαν ποικίλες φαινολικές ενώσεις που παρουσίασαν καλύτερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα σε σχέση με το συνθετικό αντιοξειδωτικό BHA (I.P.S Kapoor, B. Singh, G. Singh et al., 2008). Όσον αφορά το αιθέριο έλαιο στην σύνθεση του περιείχε: α-πινένιο (1,5%), β-πινένιο (0,2%), σαμπινένιο (2,8%), μυρκένιο (1,6%), α-φελλανδρένιο (0,2%), λιμονένιο (11,6%), 1,8-κινεόλη (36,3%) , γ-τερπινολένιο (0,5%), λιναλοόλη (3,0%), οξικό λιναλύλιο (2,5%), τερπινεν-4-όλη (0,9%), α-τερπινεόλη (2,6%), α-τερπινυλικό οξικό (31,3%), κιτρονελόλη (0,3%), νερόλη (0,5%), γερανιόλη (0,5%), μεθύλιο της ευγενόλης (0,2%) και τρανσ-νερολιδόλη (2,7%) (Lawrence BM., 1979). Τέλος, το κάρδαμο γενικά παρουσιάζει αντιμικροβιακές, αναλγητικές, αντισπασμωδικές, ηπατοπροστατευτικές, διουρητικές ιδιότητες (Al-Zuhair H, El-Sayeh B, Ammen HA, Khan I, Abourashed E., 2010, Banerjee, S., Sharma, R., Kale, R. K., Rao, A. R., 2013).

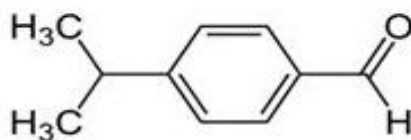


Εικόνα 9. Συστατικά του αιθέριου ελαίου που έχει απομονωθεί από το κάρδαμο (Anwar F. et al., 2016).

Το μοσχοκάρυδο (*Myristica fragrans* Houtt) προέρχεται από τους σπόρους του φρούτου που φυτρώνει στο δέντρο *Myristica fragrans*. Η καταγωγή του είναι από την Ινδονησία και ανακαλύφθηκε από τους Πορτογάλους το 1512. Επίσης, το μοσχοκάρυδο έχει αναγνωριστεί πως βοηθά στην καταπολέμηση του ρευματισμού, των χρόνιων εμετών, του άλγους στην κοιλιακή χώρα, της χολέρας και της ψύχωσης αφού επιδρά στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Gupta, A. D., Rajpurohit, D., 2011). Το αιθέριο έλαιο κοντά στο 10%, περιέχει

ενώσεις όπως είναι οι υδρογονάνθρακες του τερπενίου (πινένιο, καμφένιο, p-κυμένιο, σαμπινένιο, φελλανδρένιο, τερπινένιο, λιμονένιο και μυρκένιο από 60 έως 90%) και παράγωγα (λιναλοόλη, γερανιόλη και τερπινεόλη, 5 έως 15%), και φαινυλοπροπάνια (μυριστικήνη, ελεμικήνη και σαφρόλη · 2 έως 20%· (Nakatani, N., 2003). Το έλαιο από μοσχοκάρυδο έχει επίσης αντισηπτικές, αναλγητικές και αντιρρευματικές ιδιότητες (Gupta, A. D., Rajpurohit, D., 2011).

Το κύμινο είναι ένα ετήσιο φυτό που παράγεται από το τους καρπούς του φυτού *Cuminum cyminum* που ανήκει στην οικογένεια *Apiaceae*. Καλλιεργείται στην Μεσόγειο, την Ινδία, την Κίνα και το Μεξικό. Το έντονο άρωμα του οφείλεται στο πτητικό έλαιο του μπαχαρικού (υπο μορφή σκόνης) ενώ η ζεστή αλλά ταυτόχρονα πικρή γεύση στην παρουσία της κυμινάλδεϋδης σε ποσοστό 2,5-4 % στους καρπούς (Dhunna, A., Anand, S., Aggarwal, A. et al., 2018). Επίσης, είναι πλούσιο σε μονοακόρεστα λιπαρά, πρωτεΐνες, διαιτητικές ίνες, σίδηρο, βιταμίνη Β και Ε. Άλλα, συστατικά του αποτελούν η κυμινική αλκοόλη, το γ-τερπινένιο, τη σαφρανάλη, το p-κυμένιο και το β-πινένιο (Bettaieb, I., Knioua, S., Hamrouni, I. Et al., 2011, Li, R. and Jiang, Z.T., 2004). Τα τερπένια, τα φαινολικά και τα φλαβονοειδή μαζί με τα υπόλοιπα αντιοξειδωτικά συστατικά αποδίδουν ευεργετικές ιδιότητες κατά την κατανάλωση του κύμινου (Mnif S, Aifa S., 2015). Τα οφέλη στην υγεία του ανθρώπου από το κύμινο συμπεριλαμβάνουν την καταπολέμηση της οξείας γαστρίτιδας, την δυσπεψία, τον διαβήτη, τον καρκίνο ενώ ταυτόχρονα είναι αντιφλεγμονώδες και καρδιοπροστατευτικό (Karnick, C. R., 1991, Wei et al., 2015, Kalaivani, P., et al., 2013, Gagandeep, Dhanalakshmi, S. et al., 2003).



Cuminaldehyde
(Major bioactive compound in *C. cyminum*)

Εικόνα 10. Η κυμινάλδεϋδη βιοενεργό συστατικό στο κύμινο.

Οι πιπεριές τσίλι (*Capsicum annuum*) περιέχουν την καψαϊκίνη, η οποία είναι αντιοξειδωτικό (Surh Y.J., 1999). Αντιοξειδωτική δράση σε φρέσκες πιπεριές έχει επίσης αποδοθεί στην παρουσία του ασκορβικού οξέος, των φλαβονοειδών, και τα φαινολικά οξέα (Jiménez, A., Romojaro, F., Gómez, J. M. Et al., 2003).

Ο κόλιανδρος (*Coriandrum sativum*) περιέχει την λιναλοόλη, κύρια αντιοξειδωτική του ένωση (Reddy AC, Lokesh BR., 1992). Το εκχύλισμα κόλιανδρου έχει επιδείξει αντιοξειδωτική δράση μόνο και σε συνέργεια με το BHT και έτσι ένα υδατικό εκχύλισμα κόλιανδρου έχει δυνατότητες να χρησιμοποιηθεί ως συντηρητικό σε τρόφιμα (Melo, E. D. A., Mancini Filho, J. et al., 2003).

Το σκόρδο (*Allium sativum* L.) ανήκει στην οικογένεια *Liliaceae* και χρησιμοποιείται για ιατρικούς σκοπούς για περισσότερα από 3000 χρόνια (Cavallito, Chester J., Johannes S. Buck, et al., 1944). Το σκόρδο περιέχει ποικίλες βιοδραστικές ενώσεις, όπως είναι η αλισίνη, η αλλίνη, το διαλλυλο - σουλφίδιο, το διαλλυλο δισουλφίδιο, το διαλλυλο τρισουλφίδιο και την S-αλλυλο-κυστεΐνη. Ουσιαστικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι το σκόρδο και τα βιοδραστικά συστατικά του εμφανίζουν αντιφλεγμονώδεις, αντιβακτηριακές, αντιμυκητιασικές, ανοσορρυθμιστικές, καρδιοπροστατευτικές, αντικαρκινικές, ηπατοπροστατευτικές, αντιδιαβητικές, νευροπροστατευτικές ιδιότητες (Shang A., Cao S.Y., Xu X.Y. et al., 2019). Στο σκόρδο έχουν εντοπιστεί πάνω από 20 φαινολικά που σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε σχέση με πολλά λαχανικά (Liu, J., Zhang, G., Cong, X., Wen, C., 2018).

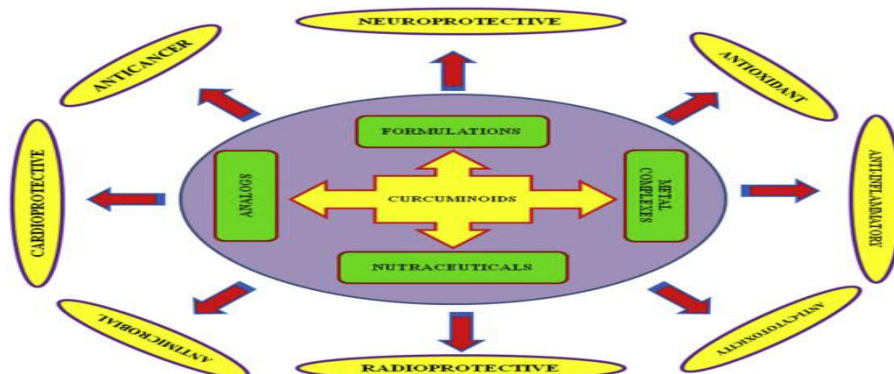
Οι σπόροι του μάραθου (*Foeniculum vulgare* Mill.) αλλά και το έλαιο του χρησιμοποιούνται για να προάγουν την ανθρώπινη υγεία και να προλαμβάνουν ασθένειες. Υπάρχουν δυο ποικιλίες ο κοινός και ο γλυκός μάραθος. Ο κοινός μάραθος περιέχει 2,5-6,5% πτητικό έλαιο. Το λάδι είναι άχρωμο με αρωματική, πικάντικη οσμή. Το κύριο συστατικό στο σπορέλαιο του μάραθου είναι η ανεθόλη. Άλλες ενώσεις που εντοπίζονται στο πτητικό έλαιο είναι η ανεθόλη (50-60%) και η φενκόνη (19-22%). Μικρές ποσότητες α-πινενίου, φελλανδρίνης, καμπενίου, διπεντενίου, μέθυλο χαβικόλη-υδροξυφαινοϋλακετόνης και λιμονενίου υπάρχουν επίσης στο λάδι. (Shelef, L. A, 2003). Οι σπόροι έχουν γλυκιά γεύση, είναι χρήσιμοι ως καθαρτικά, βοηθούν στην θεραπεία του πονοκεφάλου, στην καταπολέμηση της γρίπης, των οφθαλμικών προβλημάτων, της αδυναμίας της όρασης (Saddiqi, H.A., Jabbar, A., Sarwar, M. et al. 2011).

Η δάφνη (*Laurus nobilis* L.) βρίσκει ευρεία χρήση χάριν στις θεραπευτικές τις ιδιότητες που οφείλονται στην παρουσία φαινολικών και του αιθέριου ελαίου της. Τα κύρια συστατικά

του αιθέριου ελαίου είναι η 1,8-κινεόλη, το α-τερπινυλικό οξύ, η μέθυλο ευγενόλη, η λιναλοόλη, το α-πινένιο, το σαμπινένιο και το β-πινένιο. Η επικατεχίνη, το διμερές προκυανιδίνης, το τριμερές προκυανιδίνης, η φλαβονόλη και παράγωγα φλαβόνης αποτελούν τις εξέχουσες φαινολικές ενώσεις (Diaz-Maroto, M.C., Diaz-Maroto Hidalgo I.J., Sanchez-Palomo E., et al., 2014). Η κατανάλωση της δάφνης έχει αντιφλεγμονώδης, αντιμικροβιακή, αντι-ασθματική, αντι-αρθριτική και αναλγητική δράση (Sayyah M., et al., 2003, Kaileh M. et al., 2007, Lee T., et al., 2013).

2.2.2 Ο Κουρκουμάς

Η κουρκουμίνη είναι η ένωση και το κύριο συστατικό που περιέχει ο κουρκουμάς (*Curcuma longa* Linn.) της οικογένειας *Zingiberaceae*, όπου προέρχεται από την Ινδία, την Νοτιοανατολική Ασία και την Ινδονησία. Η ένωση αυτή έχει μεγάλη ποικιλία φαρμακολογικών επιδράσεων, όπου έχουν αποδειχθεί μέσω *in vivo* και *in vitro* μελέτες, όπως είναι η αντικαρκινική, η αντιμικροβιακή, η αντιφλεγμονώδης, η αντιμυκητιακή και η αντιοξειδωτική δράση (de Moura, A., Gaglieri, C., da Silva-Filho, L.C., Caires, 2021, Amalraj, A., Pius, A., Gori, S. and Gori, S., 2017). Κατά την φυτοχημική ανάλυση του κουρκουμά βρέθηκαν σαπωνίνες, τανίνες, φλαβονοειδή, ανθοκυανίνες, ανθρακινόνες, χαλκόνες, αλκαλοειδή, υδατάνθρακες, κουμαρίνες, φαινόλες, στεροειδή, διτερπένια, πρωτεΐνες και γλυκοσίδες. Η φαρμακολογική δραστηριότητα του κουρκουμά έχει αποδοθεί κυρίως στα κουρκουμινοειδή που αποτελούνται από κουρκουμίνη (CUR) και δύο σχετικές ενώσεις την διμεθοξυκουρκουμίνη(DMC) και την δισδιμεθοξυκουρκουμίνη (BDMC). Η αντιοξειδωτική ικανότητα του κουρκουμά αποδίδεται κυρίως στο φαινολικό του φορτίο καθώς η συγκέντρωσή του μπορεί να φτάσει έως και 8% (Tonin, L.T.D., de Oliveira, T.F.V., de Marco, I.G. et al., 2021, Amalraj et al., 2017).



Εικόνα 11. Τα οφέλη στην υγεία των κουρκουμινοειδών, αντιοξειδωτικών συστατικών του κουρκουμά. (Amalraj, et al., 2017).

Κεφάλαιο 3: Μαγιονέζα

Η μαγιονέζα

Η μαγιονέζα αποτελεί ένα γαλάκτωμα λαδιού σε νερό ή με άλλα λόγια μικροσκοπικά σταγονίδια ελαίου διεσπαρμένα μέσα σε μια συνεχή φάση νερού. Η σταθερότητα του γαλακτώματος οφείλεται στα μικροσταγονίδια του λίπους και ειδικότερα στο ισχυρό σημείο σύνδεσης των φωσφολιπιδίων με τις χαμηλής πυκνότητας φωσφοπρωτεΐνες, που προέρχονται από τον κρόκο του αυγού (Ishibashi, C., Hondoh, H. and Ueno, S., 2016). Οι δυνάμεις που αλληλοεπιδρούν μεταξύ των σταγονιδίων είναι οι Van der Waals που εξισορροπούνται σε κάποιον βαθμό, από την ηλεκτροστατική και στερεοχημική ανάκρουση των σωματιδίων (Kiosseoglou, V.D., Sherman, P., 1983). Ακόμα, η κατανομή του λίπους στο γαλάκτωμα και το μέγεθος των σταγονιδίων του ελαίου, καθώς και η μεταξύ τους αλληλεπίδραση έχει άμεση συσχέτιση με την κρεμώδη υφή της μαγιονέζας και την σταθερότητά της. Άλλες παράμετροι που παίζουν ρόλο για τον καταναλωτή είναι η δομή, η εμφάνιση και οι ρεολογικές ιδιότητες που συντελούν στα οργανοληπτικά κριτήρια του προϊόντος.

Τα κύρια συστατικά του μίγματος είναι τα αυγά, το έλαιο, το ξύδι και τα μπαχαρικά, όπως είναι η μουστάρδα και το αλάτι. Σύμφωνα με την παραδοσιακή συνταγή η μαγιονέζα αποτελείται από 70-80 % λίπος και έχει pH που κυμαίνεται μεταξύ του 3,8-4,0. Το αυγό χρησιμοποιείται στην συνταγή κυρίως ως γαλακτωματοποιητής. Από την άλλη, η μουστάρδα περιέχει ορισμένες ουσίες που ονομάζονται ισοθειοκυανικά, οι οποίες συνεισφέρουν σημαντικά στην χαρακτηριστική γεύση της μαγιονέζας και έχουν την δυνατότητα να σταθεροποιούνται στην υδατική φάση με το κιτρικό οξύ, που παρέχεται από το ξύδι (Depree J.A., Savage G.P., 2001). Στις εμπορικά διαθέσιμες σάλτσες μαγιονέζας προστίθενται πυκνωτικά μέσα και ενισχυτικά γεύσης στην συνταγή (Mun, S., Kim, Y.-L., Kang, C.G. et al., 2009).

Το υψηλό ποσοστό λαδιού της μαγιονέζας, που κυμαίνεται από το 65% έως το 85%, σε κάποιες συνταγές κάνει το προϊόν αρκετά ευπαθές στην οξείδωση των λιπιδίων (Raikos, V., et al., 2016). Η οξείδωση των ακόρεστων και πολυακόρεστων λιπιδίων του ελαίου υποβαθμίζει την ποιότητα της γεύσης αλλά και τον χρόνο ζωής της μαγιονέζας στο ράφι. Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι οι δευτερογενείς μεταβολίτες από την οξείδωση του λίπους είναι τοξικοί για τον ανθρώπινο οργανισμό (Kwon, H., Ko, J. H. and Shin, H.S, 2015). Η εξέλιξη της οξείδωσης του λίπους σε ένα τρόφιμο μπορεί να καταγραφεί είτε με την μέτρηση των υπεροξειδασών, είτε στην συνέχεια με μέτρηση της συγκέντρωσης των αλδευδών, των κετονών, των αλκοολών, των

οξέων και των μορίων λακτόνης. Άλλος τρόπος αποτελεί, η παρακολούθηση των επιπέδων του οξυγόνου κατά την διαδικασία της οξειδωσης (Gray JI., 1978). Για να αντιμετωπιστεί αυτό το φαινόμενο, γίνεται προσθήκη συνθετικών συντηρητικών όπως είναι η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA), το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA) και το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT). Ωστόσο, έπειτα από μελέτες οι επιστήμονες έχουν καταλήξει στο γεγονός ότι σε μεγάλες συγκεντρώσεις τα συντηρητικά αυτά μπορούν να προκαλέσουν καρκινογένεση και να προωθήσουν την ογκογένεση (Ghosh, S., Bhattacharyya, D.K., Ghosh, M., 2021, Altemimi A. et al., 2017).

Σήμερα, υπάρχει η τάση οι καταναλωτές να αναζητούν όλο και πιο υγιεινά και πιο «φυσικά» τρόφιμα για να εμπλουτίσουν την διατροφή τους. Όσον αφορά στην μαγιονέζα, υπάρχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την λεγόμενη μαγιονέζα «light» με μείωση της περιεκτικότητας των λιπαρών από το 80% στο 36% (D.J. McClements, 2005). Εντούτοις, για να επιτευχθεί αυτό καθίσταται δύσκολο γιατί τα λιποσφαιρίδια διαμορφώνουν την δομή και την υφή της μαγιονέζας. Επομένως, τα υποκατάστατα του λίπους που έχουν χρησιμοποιηθεί από τους ερευνητές σε συγκεκριμένες ποσότητες, με στόχο να σταθεροποιήσουν το γαλακτώμα και να αυξήσουν το ιξώδες περιλαμβάνουν την πηκτίνη, το τροποποιημένο άμυλο, την ινουλίνη, την караγενάνη (Liu, H., Xu, X. M., Guo, S. D. 2007), το κόμμι ξανθάνης (Mun et al., 2009) και διάφορες πρωτεΐνες (D.J. McClements, 2005). Η άλλη τάση, στην οποία εστιάζει τελευταία το καταναλωτικό κοινό είναι η παραγωγή μαγιονέζας με συντηρητικά από φυσικές πηγές (Kwon H. et al., 2015). Τα φυσικά αυτά συστατικά, περιέχουν βιοενεργές ουσίες που εάν εμπλουτιστούν στην μαγιονέζα έχουν την δυνατότητα να παρέχουν μικροβιολογική σταθερότητα, να επιβραδύνουν την χημική αλλοίωση, να συνεισφέρουν στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αλλά και στην θρεπτική αξία του τροφίμου (Ozdemir, N., Kantekin-Erdogan, M. N.. et al., 2021, Botsoglou N.A. et al., 2002). Τέλος, πολλοί ερευνητές εκτός από τον εμπλουτισμό κάνουν λόγο και για τον όρο «βιο-συντήρηση», σύμφωνα με την οποίο μικροοργανισμοί και κυρίως οι προβιοτικοί αν εμπλουτιστούν σε τρόφιμα, όπως η μαγιονέζα λειτουργούν ως συντηρητικά. Τέτοιοι μικροοργανισμοί είναι τα γαλακτικά βακτήρια (*Lactobacilli*, *Bifidobacteria*) που με την παραγωγή γαλακτικού οξέος, υπεροξειδίου του υδρογόνου, διακετυλίου, βακτηριοσινών αναστέλλουν την ανάπτυξη των ανεπιθύμητων μικροοργανισμών ενώ παράλληλα τους ανταγωνίζονται για τα θρεπτικά συστατικά (Denkova R., 2014).

II. Πειραματικό μέρος:

Κεφάλαιο 4: Μεθοδολογία πειραμάτων

4.1 Σκοπός της πτυχιακής μελέτης

Ο στόχος της παρούσας πτυχιακής μελέτης ήταν ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας 4 βοτάνων και 2 μπαχαρικών και ο εμπλουτισμός δειγμάτων μαγιονέζας με αυτά. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν ο βασιλικός, το θυμάρι, το δεντρολίβανο, ο κουρκουμάς και το masala.

Για την εκχύλιση των βοτάνων και των μπαχαρικών εφαρμόστηκε υδατική εκχύλιση με την βοήθεια υπερήχων και για την μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης της μαγιονέζας εκτελέστηκε επιμέρους εκχύλιση με διάλυμα εξανίου/ισοπροπανόλης/απεσταγμένου νερού, σύμφωνα με την βιβλιογραφία.

Η εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας τόσο των δειγμάτων μεμονωμένα όσο και της εμπλουτισμένης μαγιονέζας, πραγματοποιήθηκε με την χρήση διαλύματος της ελεύθερης σταθερής ρίζας 2,2'-αζινο-δισ-(3-αιθυλοβενζοθειαζολινο-6-σουλφονικού οξέος ή αλλιώς ABTS).

Δείγματα:

Τα βότανα και τα μπαχαρικά που μελετήθηκαν ήταν τα εξής: ο βασιλικός, το θυμάρι, το δεντρολίβανο, ο κουρκουμάς και το *Garam masala*. Τα δείγματα που αγοράστηκαν ήταν εμπορικά διαθέσιμα στην Λήμνο και βρίσκονταν σε αποξηραμένη μορφή, στην οποία και αξιοποιήθηκαν στο πείραμα.

Προετοιμασία δειγμάτων:

4.2 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους (Ultrasound assisted extraction)

Σκοπός:

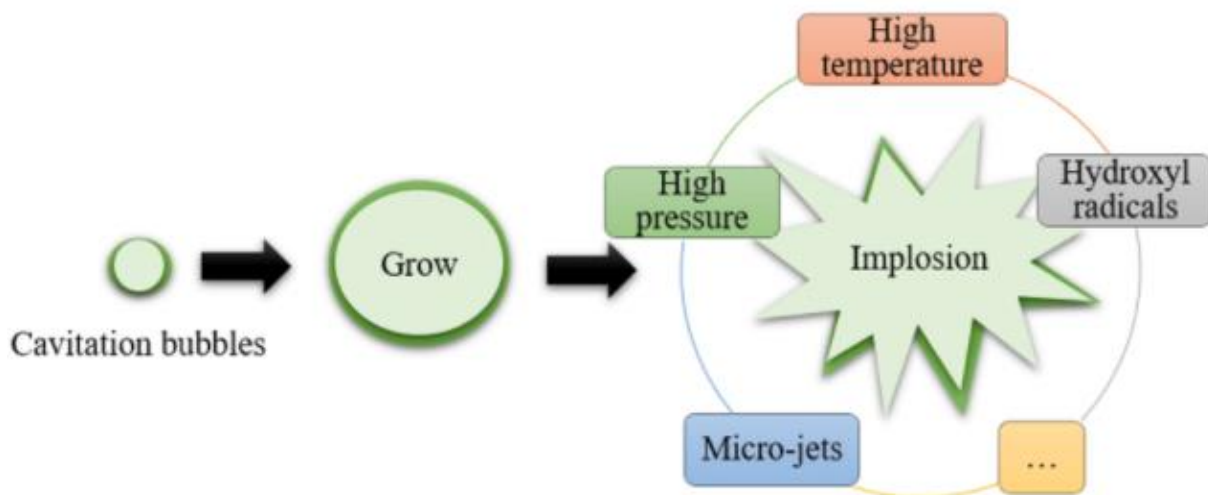
Η απομόνωση και παραλαβή αντιοξειδωτικών συστατικών από τα επιλεγμένα βότανα και μπαχαρικά.

Αρχή μεθόδου:

Οι υπέρηχοι αποτελούν μηχανικά κύματα που απαιτούν ένα ελαστικό μέσο ώστε να διαδοθούν και περιλαμβάνουν συχνότητες τις οποίες ο άνθρωπος δεν μπορεί να αντιληφθεί, δηλαδή από 20 kHz και πάνω.

Η μέθοδος χαρακτηρίζεται από το φαινόμενο της ακουστικής σπηλαίωσης. Σύμφωνα με αυτό, διαμήκη κύματα δημιουργούνται από τα ηχητικά κύματα που συναντούν το υγρό ελαστικό μέσο. Με τον τρόπο αυτόν, παράγονται περιοχές εναλλασσόμενης πίεσης και αποσυμπίεσης που έχουν την δυνατότητα να προκαλούν διάρρηξη των κυτταρικών τοιχωμάτων και καλύτερη επαφή μεταξύ του διαλύτη και των αντιοξειδωτικών συστατικών. Ειδικότερα, δημιουργούνται φυσαλίδες λόγω της πίεσης που επεκτείνονται μέχρι το κρίσιμο σημείο που η υπερηχητική δύναμη των κυμάτων δεν μπορεί να συγκρατήσει την τάση των ατμών στην φούσκα. Κατά συνέπεια, ταχεία συμβαίνει συμπύκνωση και μεγάλες ποσότητες ενέργειας εκλύονται προκαλώντας αύξηση της πίεσης και της θερμοκρασίας (Picó, Y., 2013).

Η υπερηχητική δύναμη, ο χρόνος, η θερμοκρασία και η πυκνότητα (η αναλογία δείγματος προς τον διαλύτη) απαιτείται να ρυθμιστούν κατάλληλα για την αποτελεσματικότερη εκχύλιση των μεταβολιτών στόχων (Saini, R.K., Keum, YS, 2017).



Εικόνα 12. Ο μηχανισμός λειτουργίας της ακουστικής σπηλαίωσης (Sijia Zheng, 2021).

Οι διαλύτες που συνηθίζεται να χρησιμοποιούνται μπορεί να είναι οργανικοί ή ανόργανοι καθώς και πολικοί ή μη πολικοί. Πιο συχνά συναντώνται διαλύτες σαν το εξάνιο, το βενζόλιο, το χλωροφόρμιο, ο διαιθυλεθέρας, το νερό, η ακετόνη, η αιθανόλη και η μεθανόλη.

Υλικά:

- Απεσταγμένο νερό
- Υπο μελέτη δείγματα

Όργανα και εξοπλισμός:

- Δοκιμαστικοί σωλήνες των 50 mL με βιδωτό καπάκι
- Ογκομετρικός κύλινδρος 50 mL
- Ζυγός ακριβείας
- Λουτρό παραγωγής υπερήχων
- Διηθητικό χαρτί
- Γυάλινη ράβδος
- Χωνί
- Γυάλινη ράβδος
- Σιφώνι των 10 mL
- Πουάρ

Πειραματική πορεία:

- 1) Ζυγίζονται από 1g των βοτάνων και μπαχαρικών και προστίθενται μέσα σε δοκιμαστικούς σωλήνες των 50 mL.
- 2) Προστίθενται από 20 mL απεσταγμένο νερό με την βοήθεια ογκομετρικού κύλινδρου στον κάθε δοκιμαστικό σωλήνα. Το νερό αποτελεί ανόργανο και πολικό διαλύτη.
- 3) Το λουτρό υπερήχων τύπου Elmasonic P ρυθμίζεται στα 37 kHz για 30 λεπτά (100% power, pulsed on/off) και σε θερμοκρασία 60 °C. Μέσα σε αυτό τοποθετούνται οι δοκιμαστικοί σωλήνες που περιέχονται τα δείγματα.
- 4) Το παραγόμενο εκχύλισμα παραλαμβάνεται με διήθηση μέσω βαρύτητας με χρήση χωνιού με ηθμός από διηθητικό χαρτί.
- 5) Ο όγκος όλων των εκχυλισμάτων που παραλαμβάνεται τελικά συμπληρώνεται με την βοήθεια σιφωνιού, με απεσταγμένο νερό ώστε να είναι 20 mL.
- 6) Αποθήκευση στους -40°C.

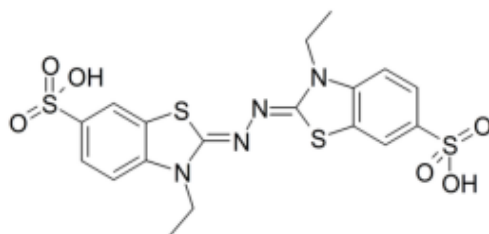
4.3 Εκτίμηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των βοτάνων με την μέθοδο ABTS

Σκοπός:

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω δέσμευσης ελεύθερης ρίζας.

Αρχή της μεθόδου:

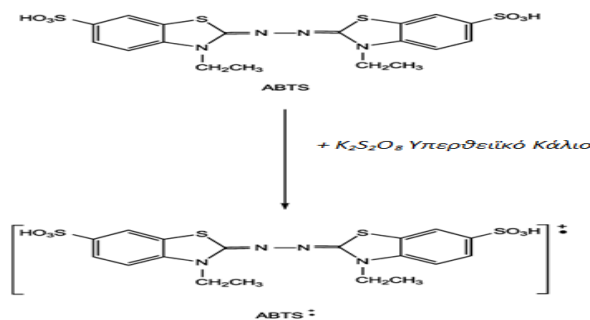
Η αρχή της μεθόδου του ABTS (2,2'-αζινο δις (3-αιθυλοβενζοθειαζολινο)-6-σουλφονικού οξέος) βασίζεται στην οξείδωσή του προς ριζικό κατιόν με υπερθειικά ιόντα με βαθύ κυανοπράσινο χρώμα που απορροφά ισχυρά στα 734 nm, και στον ακόλουθο αποχρωματισμό αυτού υπό την παρουσία αντιοξειδωτικών ουσιών.



Εικόνα 13. Μοριακή δομή του ABTS (2,2'-αζινο δις (3-αιθυλοβενζοθειαζολινο)-6-σουλφονικού οξέος)

Η ποσότητα του ριζικού κατιόντος $ABTS^{*+}$ που καταναλώνεται λόγω της αντίδρασης με τις αντιοξειδωτικές ουσίες του δείγματος, εκφράζεται συνήθως σε ισοδύναμα Trolox (6-hydroxy - 2,5,7,8 tetramethylchoman-2-carboxylic acid) και εκφράζει την αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος (Roginsky και Lissi, 2004).

Το $ABTS^{*+}$ μπορεί να παραχθεί είτε από χημική αντίδραση [(π.χ. με διοξείδιο του μαγγανίου (MnO_2), με υπερθειικό κάλιο ($K_2S_2O_8$) ή από ενζυμικές αντιδράσεις (π.χ. μεταμυοσφαιρίνη, αιμοσφαιρίνη)].



Εικόνα 14. Σχηματισμός σταθερών ριζών ABTS από ABTS με υπερθειικό κάλιο ($K_2S_2O_8$)

Γενικά, η χημική αντίδραση απαιτεί πολύ χρόνο (μέχρι και 16 ώρες για την παραγωγή υπερθειϊκού καλίου) ή υψηλές θερμοκρασίες, ενώ οι ενζυμικές αντιδράσεις είναι ταχύτερες και οι συνθήκες αντίδρασης ηπιότερες.

Η μέγιστη απορρόφηση του ABTS^{•+} αποδείχτηκε ότι είναι σε μήκη κύματος 415, 645, 734 και 815nm. Τα μήκη κύματος, τα οποία επιλέχτηκαν από τους περισσότερους ερευνητές για να ελέγξουν φασματοφωτομετρικά την αντίδραση μεταξύ των αντιοξειδωτικών και του ABTS^{•+} είναι 415 και 734nm.

Οι πιο πρόσφατες αναθεωρημένες μέθοδοι μετρούν την μείωση της απορροφητικότητας του ABTS^{•+} παρουσία του προς εξέταση δείγματος ή του πρότυπου αντιδραστήριου Trolox σε ένα σταθερό χρονικό διάστημα 4-6min και έπειτα η αντιοξειδωτική ικανότητα υπολογίζεται σε ισοδύναμα Trolox (Prior et al., 2005).

Υλικά και αντιδραστήρια

- Πυκνό διάλυμα ABTS (2,2'-αζινοβις (3-αιθυλβενζοθειαζολινο) – 6 σουλφονικού οξέος) (M.W.:514.62 g/mol)
- Υπερκάθαρο νερό
- Υπό μελέτη δείγματα

Όργανα και Εξοπλισμός

- Αυτόματη πιπέτα μεταβλητού όγκου 0,5-5 mL
- Αυτόματες πιπέτες σταθερού όγκου 1000 μ L και 100 μ L
- Κυψελίδες πολυστυρενίου οπτικής διαδρομής 1 cm και όγκου 1 mL
- Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 10 mL
- Υδροβολέας
- Φασματοφωτόμετρο (734nm)
- Σωλήνας πολυπροπυλενίου με βιδωτό πώμα των 50 mL.

Παρασκευή διαλυμάτων

Παρασκευή διαλύματος φύλαξης ριζικού κατιόντος ABTS

Σε ποτήρι ζέσεως των 100 mL τοποθετούνται 20 mL dH₂O και προστίθενται 0,1801 g ABTS (m.w: 514,62 g/mol) και 0,0331 g K₂S₂O₈ (m.w: 270,322 g/mol). Ακολουθεί ανάδευση έως την πλήρης διαλυτοποίηση και στη συνέχεια, το διάλυμα μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 50,0 mL και συμπληρώνεται ο όγκος έως τα 50,0 mL για να δώσει συγκέντρωση 7

mM σε ABTS και 2,45 mM σε $K_2S_2O_8$. Το μίγμα που δημιουργείται διατηρείται στο σκοτάδι και σε θερμοκρασία δωματίου για 16h, ώστε να προκύψει βαθύ κυανό διάλυμα. Στη συνέχεια αποθηκεύεται σε φιαλίδια πολυπροπυλενίου μικρού όγκου στους $-40\text{ }^\circ\text{C}$.

Παρασκευή διαλύματος εργασίας ριζικού κατιόντος ABTS

Σε σωλήνα πολυπροπυλενίου με βιδωτό πάμα των 50 mL τοποθετούμε 49,5 mL υπερκάθαρο νερό και 0,5 mL διαλύματος φύλαξης ριζικού κατιόντος του ABTS. Ακολουθεί καλή ανάδευση και μέτρηση της απορρόφησης στα 734 nm η οποία θα πρέπει να βρίσκεται στην 0,700.

Πειραματική Πορεία

- 1) Σε δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες εκχυλισμάτων.
- 2) Σε κάθε δείγμα προστίθεται ανά 1 λεπτό, από 1 ml διαλύματος εργασίας του ριζικού κατιόντος του ABTS ($ABTS^{+}$). Στη συνέχεια τα δείγματα επωάζονται για 15 λεπτά ακριβώς.
- 3) Μετά τα 15 λεπτά επώασης ακολουθεί καταγραφή της απορρόφησης των δειγμάτων στα 734nm.

4.4 Διαδικασία εμπλουτισμού της μαγιονέζας:

4.4.1 Παρασκευή μαγιονέζας:

Υλικά:

Υλικά	Ποσότητα
Κρόκος αυγού	0,57 g
Μουστάρδα	0,48 g
Ξύδι	0,46 g
Αλάτι	0,05 g
Ηλιέλαιο	6,98 g
Χυμός Λεμονιού	0,46 g

Όργανα και εξοπλισμός:

- Ζυγός ακριβείας
- Εργαστηριακή σπάτουλα
- Πλαστικός δοκιμαστικός σωλήνας των 50 mL

- Εργαστηριακός ομογενοποιητής τύπου IKA Ultra-Turrax T10

Πειραματική Πορεία:

1. Τα υλικά ζυγίζονται με την βοήθεια ζυγού ακριβείας και προστίθενται όλα στον δοκιμαστικό σωλήνα των 50 mL.
2. Τοποθετείται ο δοκιμαστικός σωλήνας στον ομογενοποιητή και το μίγμα αναδεύεται για λίγα λεπτά στην μέγιστη ταχύτητα του ομογενοποιητή (30000 rpm), ώστε να δημιουργηθεί το γαλάκτωμα.

4.4.2 Προετοιμασία των δειγμάτων εμπλουτισμού

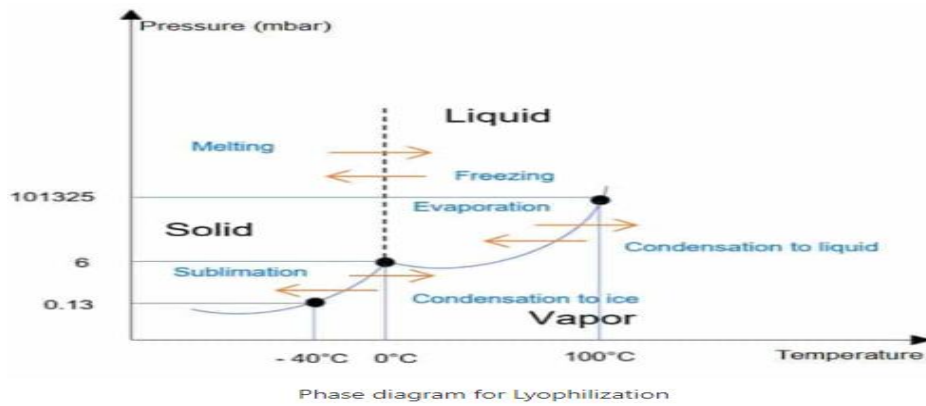
Σκοπός:

Ο στόχος της μεθόδου η παραλαβή των ανυδρων διαλυμένων ουσιών του εκχυλίσματος των βοτάνων, από το αρχικό υγρό-στερεό διάλυμα.

Αρχή μεθόδου λιοφιλοποίησης:

Η μέθοδος περιλαμβάνει αρχικά την ψύξη του υδατικού διαλύματος, όπου η θερμοκρασία εντός του θαλάμου μειώνεται και η πίεση ρυθμίζεται σε τέτοιο επίπεδο ώστε να είναι μικρότερο από την πίεση ατμών του πάγου σε τοπική θερμοκρασία για να ξεκινήσει η ξήρανση με κατάψυξη.

Σε επόμενο στάδιο, η υγρασία απομακρύνεται επειδή λαμβάνει χώρα το φαινόμενο της εξάχνωσης. Σύμφωνα με αυτό, ο πάγος δηλαδή η στερεή φάση του νερού απομακρύνεται ως αέριο χωρίς να μεσολαβήσει η υγρή φάση. Προϋπόθεση, για γίνει η εξάχνωση αποτελεί η τροφοδότηση με ενέργεια στην μορφή της θερμότητας. Η θερμοκρασία είναι δηλαδή, αρκετά υψηλή για την εξάχνωση χωρίς να προκαλείται λιώσιμο των κρυστάλλων του πάγου. Με τον τρόπο αυτόν, σταδιακά εκτελείται η ξήρανση του διαλύματος (Wei Wang et al., 2012).



Εικόνα 15. Οι διαφορετικές φάσεις της λιοφιλοποίησης (Saket Yeotikar, 2021)

Υλικά και αντιδραστήρια:

- Υπο μελέτη εκχυλίσματα από τα βότανα και μπαχαρικά

Όργανα και εξοπλισμός:

- Λειοφυλοποιητής
- Δοκιμαστικοί σωλήνες των 50 mL
- Ζυγός ακριβείας
- Εργαστηριακή σπάτουλα
- 5 Δοκιμαστικοί πλαστικοί σωλήνες με βιδωτό καπάκι των 50 mL
- Αυτόματη πιπέτα μεταβλητού όγκου 100 μ L -1000 μ L
- Συσκευή vortex

Πειραματική πορεία:

1. Τα εκχυλίσματα που βρίσκονται μέσα στους δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετούνται στον λειοφυλοποιητή για χρόνο που κυμαίνεται ανάλογα με τον όγκο του δείγματος και παραλαμβάνεται το στερεό υπόλειμμα μετά την λιοφιλοποίηση.
2. Ζυγίζονται από 100 mg των βοτάνων (βασιλικός, θυμάρι, δεντρολίβανο) καθώς και 30 mg κουρκουμάς και 70 mg masala.
3. Προστίθεται από 100 μ L απεσταγμένου νερού σε καθέναν από τους δοκιμαστικούς σωλήνες με τα βότανα και μπαχαρικά.
4. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες υπόκεινται σε ανάδευση με χρήση κυκλοαναδευτήρα έως και την πλήρη διαλυτοποίηση των στερεών.

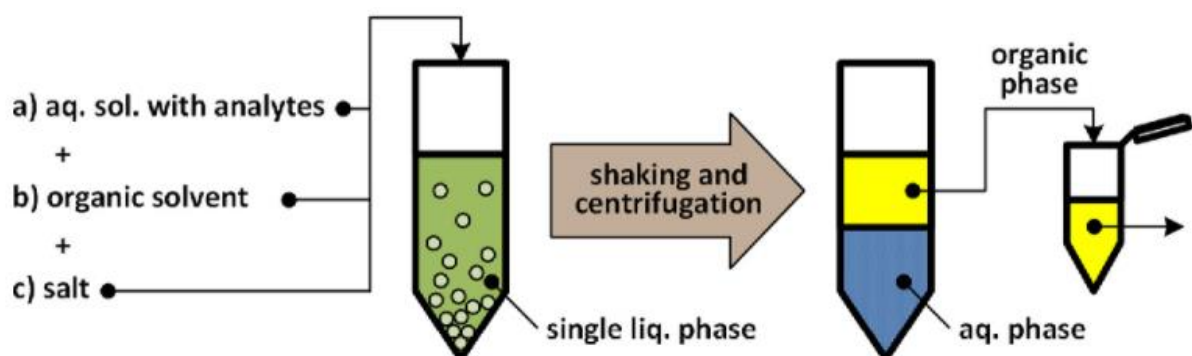
4.4.3 Εμπλουτισμός μαγιονέζας και εκχύλιση

Αρχή μεθόδου εκχύλισης με διαλύτες:

Η μέθοδος στηρίζεται στην διαφορετική διαλυτότητα που παρουσιάζουν τα συστατικά της μαγιονέζας σε δυο διαλύτες που δεν αναμειγνύονται μεταξύ τους και για αυτό κατανέμονται σε δυο διαφορετικές φάσεις. Το διφασικό αυτό, όπως ονομάζεται σύστημα χωρίζεται στην άνω και η κάτω φάση.

Ο λόγος της κατανομής μιας διαλυμένης ουσίας ορίζεται ως ο λόγος της συνολικής συγκέντρωσής της στην οργανική φάση προς εκείνη στην υδατική φάση σε ισορροπία. Όταν εκχυλίζεται η επιθυμητή ένωση, όσο μεγαλύτερη είναι η αναλογία κατανομής της, τόσο υψηλότερη είναι η ανάκτηση του παράγοντα εμπλουτισμού (Biju, V.M., and T. Prasada Rao, 2005).

Μερικά πρωτόκολλα, συμπεριλαμβάνουν την προσθήκη χλωριούχου νατρίου γιατί έχει την δυνατότητα να διαλύεται στην υδατική φάση εξωθώντας τις διαλυμένες ουσίες να κατανεμηθούν στον οργανικό διαλύτη (Kyle P. B., 2017). Συνεπώς, επιτυγχάνεται καλύτερος διαχωρισμός των δυο φάσεων.



Εικόνα 16. Τα βήματα που περιλαμβάνονται σε μια εκχύλιση υγρού-υγρού με διαλύτες (I. Valente et al., 2013).

Στην προκειμένη περίπτωση, χρησιμοποιήθηκε το εξάνιο ένας μη πολικός διαλύτης και ισοπροπανόλη με αναλογία 3:2 καθώς και φυσιολογικός ορός στον οποίο περιέχεται χλωριούχο νάτριο, για τον λόγο που αναφέρθηκε παραπάνω. Το εξάνιο, αποτελεί την άνω οργανική φάση του συστήματος ενώ η ισοπροπανόλη την κατώτερη υδατική φάση.

Οι αντιοξειδωτικές ουσίες από τα βότανα και τα μπαχαρικά βρίσκονται στην υδατική φάση (κάτω φάση), εφόσον η πρώτη εκχύλιση τους πραγματοποιήθηκε με υδατικό διάλυμα (απεσταγμένο νερό). Επομένως, η κατώτερη φάση απομονώνεται για περαιτέρω μελέτη.

Υλικά και αντιδραστήρια:

- Δείγμα μαγιονέζας
- Δείγματα βοτάνων και μπαχαρικών
- Διάλυμα εξανίου
- Διάλυμα ισοπροπανόλης
- Φυσιολογικός ορός

Όργανα και εξοπλισμός:

- Ζυγαριά ακριβείας
- Εργαστηριακή σπάτουλα
- Δοκιμαστικοί πλαστικοί σωλήνες των 50 mL με βιδωτό καπάκι
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 500 mL
- Γυάλινο μπουκάλι των 500 mL με βιδωτό καπάκι
- Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες
- Αυτόματη πιπέτα μεταβλητού όγκου 100 μ L -1000 μ L
- Αυτόματη πιπέτα μεταβλητού όγκου 10 μ L -100 μ L
- Εργαστηριακή φυγόκεντρος
- Μικροφιαλίδια πολυπροπυλενίου τύπου Eppendorf των 1,5 mL

Παρασκευή διαλυμάτων:

Για το διάλυμα εξανίου/ισοπροπανόλης:

Σε ογκομετρικό κύλινδρο των 500 mL φέρονται 300 ml εξανίου και προστίθενται σε γυάλινο μπουκάλι των 500 ml. Στην ίδια γυάλινη φιάλη συμπληρώνονται και 200 ml ισοπροπανόλης με την χρήση του ογκομετρικού κυλίνδρου. Η τελική αναλογία των δυο διαλυτών είναι 3:2 v/v.

Πειραματική πορεία:

1. Ζυγίζεται σε 5 διαφορετικούς δοκιμαστικούς σωλήνες από 1 g μαγιονέζας και προστίθενται τα δείγματα εμπλουτισμού. Ειδικότερα, συμπληρώνεται στον πρώτο σωλήνα 100 mg (0,1 g) βασιλικός, στον δεύτερο σωλήνα 100 mg (0,1 g) δεντρολίβανο, στον τρίτο σωλήνα 100 mg (0,1 g) θυμάρι και στον τέταρτο σωλήνα 100 mg (0,1 g) εκ των οποίων τα 30 mg είναι κουρκουμάς και τα 70 mg Garam masala.

2. Ο τελευταίος δοκιμαστικός σωλήνας που περιέχει 1 g μη εμπλουτισμένης μαγιονέζας αποτελεί το υπο μελέτη τυφλό δείγμα.
3. Εκτελείται ανάδευση με σπάτουλα σε κάθε σωλήνα μέχρι την πλήρη ομογενοποίηση του κάθε δείγματος εμπλουτισμένης μαγιονέζας.
4. Ζυγίζονται 0,5 g εμπλουτισμένης μαγιονέζας σε ξεχωριστούς δοκιμαστικούς σωλήνες και συμπληρώνονται στον καθέναν από αυτούς 200 μL διαλύματος εξανίου/ισοπροπανόλης (3:2) και προσθήκη 40 μL φυσιολογικού ορού.
5. Τα δείγματα τοποθετούνται για φυγοκέντρηση στα 20.000 g για 5 λεπτά.
6. Γίνεται προσθήκη άλλων 200 μL διαλύματος εξανίου/ισοπροπανόλης (3:2) και δεύτερη φυγοκέντρηση στα 20.000 g για 5 λεπτά, με στόχο την πιο αποτελεσματική εκχύλιση.
7. Ο όγκος της κάτω φάσης που έχει σχηματιστεί σε κάθε δείγμα μεταφέρεται με πιπέτα σε καθαρό σωλήνα Eppendorf.

4.5 Εκτίμηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας της εμπλουτισμένης μαγιονέζας με την μέθοδο ABTS

Υλικά και αντιδραστήρια:

- Υπό μελέτη δείγματα

Όργανα και Εξοπλισμός:

- Αυτόματη πιπέτα μεταβλητού όγκου 0,5-5 mL
- Αυτόματες πιπέτες σταθερού όγκου 1000 μL και 100 μL
- Πλαστικές κυψελίδες πολυστυρενίου οπτικής διαδρομής 1 cm και όγκου 1 mL
- Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 10 mL
- Υδροβολέας
- Φασματοφωτόμετρο (734nm)

Παρασκευή διαλυμάτων:

Γίνεται χρήση του διαλύματος εργασίας ριζικού κατιόντος ABTS που είχε παραχθεί και φυλαχθεί στην ψύξη στους -20°C . Το διάλυμα ABTS όταν χρησιμοποιείται είναι σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Πραγματοποιείται μέτρηση της απορρόφησης στα 734 nm η οποία θα πρέπει να βρίσκεται σε τιμή κοντά στο 0,7. Η τιμή που βρέθηκε ήταν ίση με 0,751 βάσει της οποίας έγιναν οι υπολογισμοί.

Πειραματική Πορεία:

1. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετούνται κατάλληλες ποσότητες εκχυλισμάτων.
2. Σε κάθε δείγμα προστίθεται ανά 1 λεπτό, από 1 mL διαλύματος εργασίας του ριζικού κατιόντος του ABTS (ABTS^{•+}). Στη συνέχεια τα δείγματα επωάζονται για 15 λεπτά ακριβώς.
3. Μετά τα 15 λεπτά επώασης ακολουθεί καταγραφή της απορρόφησης των δειγμάτων στα 734nm.

Αποτελέσματα

Κεφάλαιο 5

Αξιολόγηση αντιοξειδωτικών στα βότανα και μπαχαρικά με την μέθοδο ABTS

Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων υπολογίστηκαν οι μέσες τιμές της απορρόφησης από τις διπλές μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν, στα 734 nm για κάθε εκχύλισμα. Στην συνέχεια, κατασκευάστηκαν πρότυπες καμπύλες για το κάθε δείγμα και από τις εξισώσεις υπολογίστηκε το IC₅₀. Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται οι ποσότητες (μL) που χρησιμοποιήθηκαν από το κάθε βότανο και μπαχαρικό κατά την δοκιμασία ABTS.

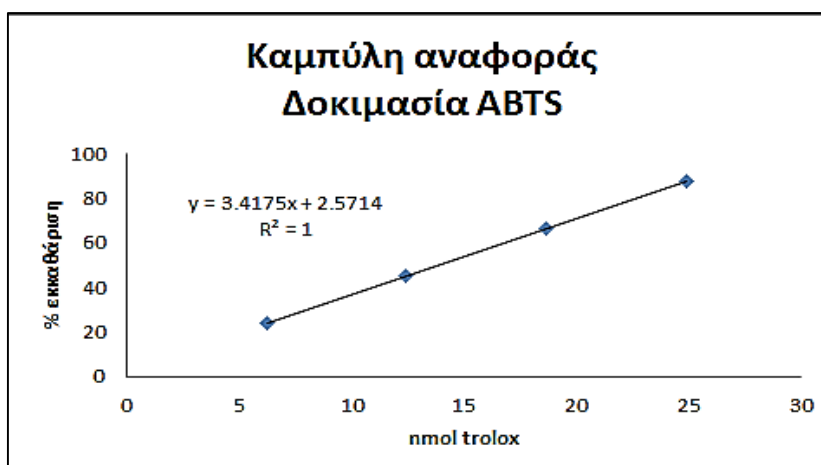
Βότανα/Μπαχαρικά	Ποσότητες (μL)	Ποσότητες (μL)
Μασάλα	5	10
Κουρκουμάς	15	30
Βασιλικός	10	20
Θυμάρι	10	20
Δεντρολίβανο	10	20

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης

Για την ποσοτικοποίηση των απορροφήσεων που προέκυψαν από τις μετρήσεις κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς Trolox. Για την κατασκευή της καμπύλης χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα που φαίνονται στον Πίνακα 1.

ul	nmol Trolox	A734nm	A%	%Εκκαθάριση
10	6,22	0,533	76	24
20	12,44	0,385	55	45
30	18,66	0,235	34	66
40	24,88	0,087	12	88
Δείγμα αναφοράς		0,7		

Πίνακας 1. Τα δεδομένα της πρότυπης καμπύλης αναφοράς.



Διάγραμμα 1. Πρότυπη καμπύλη για την εκτίμηση της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο ABTS.

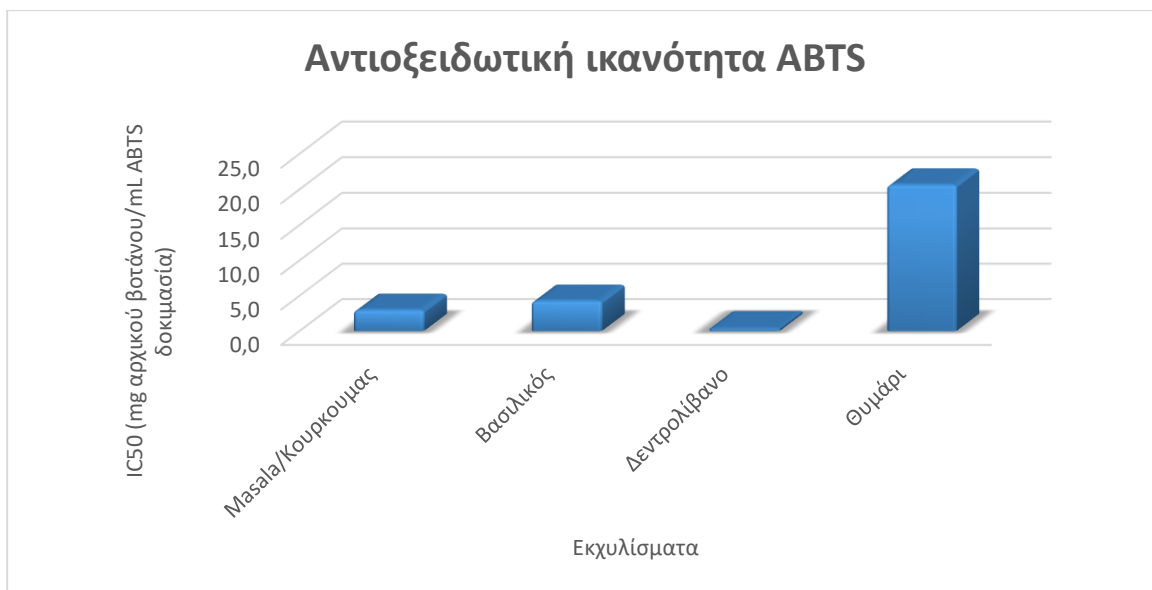
Χρησιμοποιώντας την καμπύλη αναφοράς (Διάγραμμα 1) υπολογίστηκαν οι ποσότητες nmol Trolox που είναι αντίστοιχες της εκκαθάρισης του ελεύθερου ριζικού κατιόντος ABTS για τις διάφορες ποσότητες των εκχυλισμάτων των δειγμάτων.

Η έκφραση των ποσοτήτων πραγματοποιήθηκε ως mL εκχυλίσματος, ισοδύναμων των mg του βοτάνου και ισοδύναμων nmol Trolox και παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 2). Τα nmol Trolox/ 100g μαγιονέζας αναφέρονται στα mL του υδατικού εκχυλίσματος κάθε βοτάνου και μπαχαρικού.

Herbs/Spices	IC50(μL)	IC50 (mg αρχικού βοτάνου/mL ABTS δοκιμασία)	nmol Trolox	nmol Trolox/100g μαγιονέζας
control	26,9	0,0	13,9	27,8
Masala/Κουρκουμας	3,0	7,5	13,9	27,8
Βασιλικός	4,3	10,7	13,9	27,8
Δεντρολίβανο	0,4	1,0	13,9	27,8
Θυμάρι	20,6	51,6	13,9	27,8

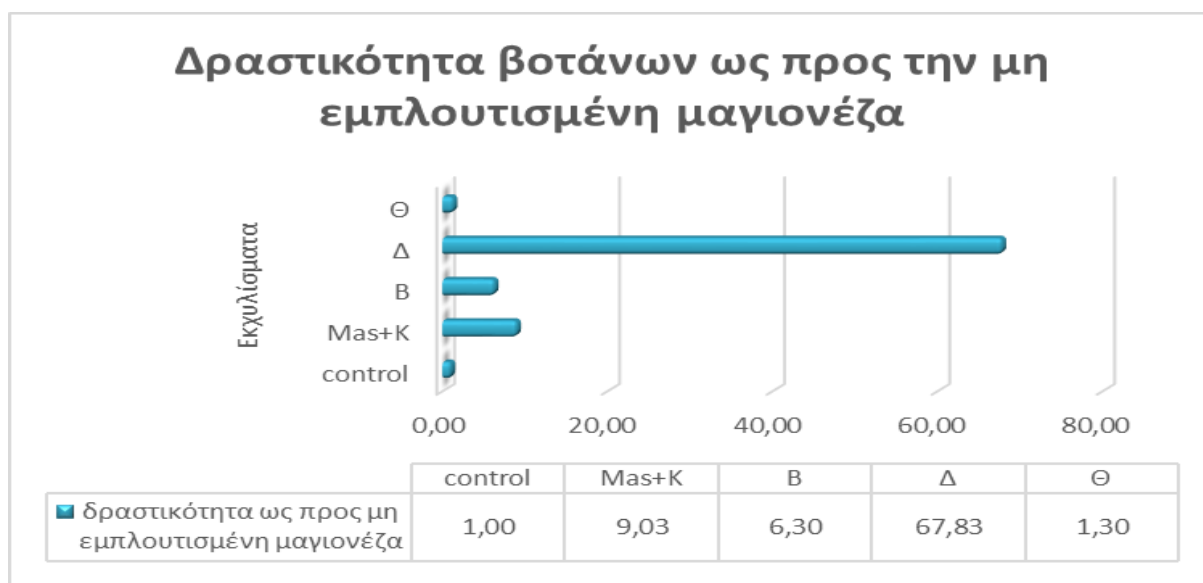
Πίνακας 2 .Ποσότητες δειγμάτων εκφρασμένες σε mL εκχυλίσματος και mg βοτάνου για 50% εκκαθάριση, σε nmol Trolox και nmol Trolox/ 100g μαγιονέζας.

Το παρακάτω ραβδόγραμμα (Σχήμα 1) παρουσιάζει τα αποτελέσματα του προσδιορισμού των τιμών συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο ABTS στο υδατικό εκχύλισμα εξανίου/ ισοπροπανόλης των δειγμάτων.



Σχήμα 1. Ραβδόγραμμα που απεικονίζει την σχετική δραστηριότητα μεταξύ των εμπλουτισμένων δειγμάτων μαγιονέζας.

Σε επόμενο ραβδόγραμμα (Σχήμα 2) που κατασκευάστηκε απεικονίζεται η δραστηριότητα του κάθε βοτάνου ως αντιοξειδωτικό στην εμπλουτισμένη μαγιονέζα σε σύγκριση με την μη εμπλουτισμένη (control).



Σχήμα 2. Ραβδόγραμμα της δραστηριότητας των βοτάνων ως προς την μη εμπλουτισμένη μαγιονέζα.

Κεφάλαιο 6: Συμπεράσματα

Αναφορικά με τα αποτελέσματα προσδιορισμού της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο του ABTS, τα οποία παρουσιάζονται παραπάνω μπορούν να διεξαχθούν ορισμένα συμπεράσματα για την δραστικότητα των βοτάνων. Αρχικά, από τον πίνακα αποτελεσμάτων και το διάγραμμα παρατηρείται πως μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα από όλα παρουσιάζει το δεντρολίβανο. Αυτό οφείλεται στην μικρή ποσότητα που απαιτείται, μόλις 0,4 μL για την 50 % εκκαθάριση του ABTS. Αυτό που ισχύει είναι ότι όσο μικρότερο το IC_{50} , τόσο πιο μεγάλη η αντιοξειδωτική δραστηριότητα του βοτάνου. Εν συνεχεία, ακολουθεί ο συνδυασμός των μπαχαρικών masala και κουρκουμάς. Τέλος, κατά σειρά δραστικότητας ο βασιλικός και το θυμάρι.

Στο ραβδόγραμμα που απεικονίζονται τα αποτελέσματα της δραστικότητας των βοτάνων στην εμπλουτισμένη μαγιονέζα έναντι του τυφλού δείγματος που δεν είχε εμπλουτιστεί, φανερώνει τα εξής:

- Το δεντρολίβανο είναι σχεδόν 68 φορές πιο δραστικό όσον αφορά στην αντιοξειδωτικά του δράση εντός της εμπλουτισμένης μαγιονέζας έναντι της μη εμπλουτισμένης.
- Ο συνδυασμός του Garam masala και του κουρκουμά με συγκέντρωση 70% και 30% αποδίδουν γύρω στις 9 φορές μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση.
- Ο βασιλικός βρέθηκε 6 φορές πιο δραστικός από το τυφλό δείγμα.
- Το θυμάρι υπολογίστηκε ότι η αντιοξειδωτική του ικανότητα ήταν λίγο παραπάνω από την μη εμπλουτισμένη μαγιονέζα. Με διαφορά 1,30 και 1 αντιστοίχως. Οι φαινολικές ενώσεις που περιέχονται στο θυμάρι όπως είναι η θυμόλη και η καρβακρόλη είναι λιπόφιλες και επομένως δεν εκχυλίζονται εύκολα με το νερό. Συνεπώς, η παρατήρηση αυτή οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το θυμάρι έχει αντιοξειδωτική δράση, ωστόσο το υδατικό του εκχύλισμα είναι φτωχότερο σε αντιοξειδωτικά σε σχέση με τα υπόλοιπα εκχυλίσματα.

Κεφάλαιο 7: Συζήτηση

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη πραγματοποιήθηκε με στόχο τη διερεύνηση της αντιοξειδωτικής δράσης 3 βοτάνων και 2 μπαχαρικών με την προσθήκη των εκχυλισμάτων τους σε δείγματα μαγιονέζας και εκτίμησης της αντιοξειδωτικής δράσης τους με την μέθοδο ABTS.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που λήφθηκαν οι διαφορές στην κατάταξη της αντιοξειδωτικής ικανότητας και συγκεκριμένα αυτή είναι:

Δεντρολίβανο > Garam masala/κουρκουμάς> Βασιλικός > Θυμάρι

οφείλονται στην διαφορετική συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών ουσιών που εμφανίζει το κάθε βότανο, αλλά και στο γεγονός ότι κάθε ένωση έχει διαφορετική αντιοξειδωτική δραστηριότητα. Άρα αφού μια ένωση μπορεί να έχει πιο αντιοξειδωτική δράση από μια άλλη δεν θα πρέπει να συγχέεται η περιεκτικότητα σε αντιοξειδωτικά με την αντιοξειδωτική ικανότητα.

Σε έρευνα που διεξάχθηκε από τους Kwon, Hyung Ko και Shin το 2015 έπειτα από τον εμπλουτισμό της μαγιονέζας με ρίγανη, δεντρολίβανο, τζίντζερ και μαύρο πιπέρι μετρήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα με την μέθοδο του ABTS. Ο εμπλουτισμός της μαγιονέζας πραγματοποιήθηκε με τα εκχυλίσματα των παραπάνω βοτάνων και μπαχαρικών έπειτα από την εκχύλιση τους με 80% (v/v) αιθανόλη. Οι επιστήμονες ανακάλυψαν πως μεγαλύτερη εκκαθάριση της ελεύθερης ρίζας ABTS είχε η ρίγανη και ακολουθούν το δεντρολίβανο, το μαύρο πιπέρι και τέλος το τζίντζερ. Επίσης, στην ίδια έρευνα συγκρίθηκαν και τα εμπορικά χρησιμοποιούμενα συντηρητικά: η βιταμίνη C, το BHT και η τοκοφερόλη με τα εμπλουτισμένα δείγματα. Το αποτέλεσμα ήταν να διαπιστωθεί ότι η ρίγανη έχει σχεδόν ίδια αντιοξειδωτική ικανότητα με την τοκοφερόλη αλλά η βιταμίνη C και το BHT είχαν την μεγαλύτερη δέσμευση της ρίζας ABTS από όλα τα παραπάνω βότανα. Όπως και στην παρούσα μελέτη η παραπάνω κάνει λόγο και για την σημαντική αντιοξειδωτική δραστηριότητα του δεντρολίβανου έναντι άλλων μπαχαρικών. Το δεντρολίβανο έχει βρεθεί να επιβραδύνει την οξείδωση των λιπιδίων σε μεγαλύτερο βαθμό και από την τριτ-βουτυλυδροκινόνη (TBHQ), μια συνθετική αρωματική οργανική ένωση η οποία είναι ένας τύπος φαινόλης και χρησιμοποιείται ως συντηρητικό (Alizadeh, L., Abdolmaleki, K., Nayebzadeh, K., Shahin, R., 2019)

Σε μελέτη των Park, Kim, Lee, Lim και Hwang το 2019 εκτελέστηκε πείραμα για τον εμπλουτισμό μαγιονέζας με φλαβονοειδή από εκχύλισμα φαγόπυρου και ταταρικού φαγόπυρου. Σε σύγκριση με το BHT, το φαγόπυρο φάνηκε να είναι πιο αποτελεσματικό στην καθυστέρηση της οξειδωσης των λιπιδίων στη μαγιονέζα. Ως εκ τούτου, το κοινό και ταταρικό φαγόπυρο εκχύλισμα με 50% αιθανόλη θα μπορούσαν να εφαρμοστούν στα τρόφιμα και στην προκειμένη περίπτωση στην μαγιονέζα, επειδή είναι πλούσια σε φαινολικές ενώσεις με διάφορα φλαβονοειδή που διαθέτουν υψηλή σε αντιοξειδωτική δραστηριότητα. Μάλιστα, οφείλει να υπογραμμιστεί ότι δεν είναι λίγες οι φορές όπου τα φυσικά αντιοξειδωτικά είναι πιο αποδοτικά συντηρητικά στην οξείδωση των λιπιδίων σε σύγκριση με ορισμένα συνθετικά, όπως φανερώνεται στην παραπάνω μελέτη.

Η επίδραση στην οξείδωση των λιπιδίων της μαγιονέζας εμπλουτίζοντας την με έλαιο από μαύρο κύμινο έναντι ηλιέλαιου εξερευνήθηκε από τους Ozdemir, Kantekin-Erdogan, Tekin και Tat το 2018. Απότοκο της μελέτης τους ήταν πως το έλαιο από κύμινο παρεμπόδιζε σε καλύτερο βαθμό την οξείδωση των λιπιδίων σε σχέση με το ηλιέλαιο και το πρώτο εμφάνιζε και καλύτερα οργανοληπτικά που θα ενθάρρυναν εύκολα την δημιουργία μιας τέτοιας εμπορικής μαγιονέζας. Τα συμπεράσματα αυτά είναι εύλογα διότι το έλαιο από το κύμινο περιέχει φαινολικές ενώσεις, με κυριότερη την θυμοκινόνη.

Οι Mihon, Nikovska, Nenon και Slavchev διεξήγαγαν μελέτη το 2012 που αφορούσε την διερεύνηση γαλακτωμάτων τύπου μαγιονέζας με εκχυλίσματα μπαχαρικών και βοτάνων, δίνοντας βάση στην μικροβιολογική ποιότητα, την οξειδωτική σταθερότητα και τον οργανοληπτικό έλεγχο. Συγκεκριμένα, τα μπαχαρικά και βότανα που προστέθηκαν είναι ο βασιλικός, ο μαϊντανός, οι κόκκοι μαύρου πιπεριού και η καυτερή πάπρικα. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης έρευνας έδειξαν πως όταν προστέθηκαν τα εκχυλίσματα των μπαχαρικών και των βοτάνων η μικροβιολογική ποιότητα των γαλακτωμάτων βελτιώθηκε σημαντικά. Ακόμα, όταν συνέβη η ίδια αντικατάσταση στην μαγιονέζα εκείνη ήταν λιγότερο ευαίσθητη στην οξείδωση λόγω της υψηλής αντιμικροβιακής δράσης των μπαχαρικών και των βοτάνων. Η μαγιονέζα με εκχυλίσματα ήταν η πιο αρεστή όσον αφορά τον οργανοληπτικό έλεγχο. Την οξειδωτική σταθερότητα της μαγιονέζας έπειτα από προσθήκη μπαχαρικών και βοτάνων και συγκεκριμένα σκόνη τζίντζερ επιβεβαίωσε και η έρευνα των Kishk, Elsheshetawy το 2013. Και σε αυτή την μελέτη προτιμήθηκε από τους ειδικούς κατά την διάρκεια του οργανοληπτικού ελέγχου η εμπλουτισμένη μαγιονέζα. Το φασκόμηλο έχει, επίσης ερευνηθεί ως προς την αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα κατά την προσθήκη του σε μαγιονέζα. Με περισσότερα λόγια, βρέθηκε ως το πιο αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό διερευνώμενο με δύο διαφορετικές

μεθόδους (DPPH, καρωτένιο – λινελαϊκό οξύ) με τις αντιοξειδωτικές του ιδιότητες να πλησιάζουν σημαντικά εκείνες του συνθετικού προσθέτου ΒΗΑ. Η προσθήκη του φασκόμηλου στην μαγιονέζα είναι ιδιαίτερας σημασίας τόσο για τον έλεγχο των ελεύθερων ριζών όσο και για την αύξηση διάρκειας ζωής του τροφίμου. Τα στοιχεία δείχνουν, λοιπόν, ότι τα εκχυλίσματα διαφορετικών μπαχαρικών και βοτάνων θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τη βελτίωση της αποδοχής των καταναλωτών και της διατροφικής ποιότητας των γαλακτωμάτων τροφίμων σε σύγκριση με τα παραδοσιακά μπαχαρικά. Αυτά τα εκχυλίσματα θα μπορούσαν να αποτελέσουν μια βιώσιμη τεχνική και οικονομική εναλλακτική λύση έναντι των φυσικών μπαχαρικών.

Γενικά, τα μπαχαρικά και τα βότανα είναι εξαιρετικές πηγές φαινολικών συστατικών τα οποία έχουν δείξει καλή αντιοξειδωτική δραστηριότητα (C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, and G. Paganga, 1996, Zheng, W., Wang, S.Y., 2001). Επομένως, βρίσκουν χρήση ως φυσικά συντηρητικά στα τρόφιμα. Εντούτοις, αυτά πολλές φορές φέρουν αιθέριο έλαιο που έχει αντιοξειδωτική δράση αλλά προσδίδει και ανεπιθύμητη γεύση στο τρόφιμο (Ruberto, Baratta, Deans, Dorman, 2000, Teissedre, Waterhouse, 2000). Γι' αυτόν τον λόγο, πολλές φορές εκτελείται υδροαπόσταξη για την απομάκρυνση της ανεπιθύμητης γεύσης από τα βότανα. Ακόμα, η χρήση της υδατικής φάσης μπορεί να αποτρέψει τα προβλήματα υδατοδιαλυτότητας και να αποφευχθούν τυχών επιβλαβή κατάλοιπα από οργανικούς διαλύτες. Επομένως, θα είχε τεράστιο ενδιαφέρον να μελετηθούν τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του κάθε δείγματος μαγιονέζας. Παράλληλα, σε μελλοντική προσέγγιση θα ήταν χρήσιμη η παρακολούθηση των δειγμάτων της εμπλουτισμένης μαγιονέζας από την ημέρα παρασκευής ως την ημέρα λήξεως, ώστε να παρατηρηθεί σε βάθος χρόνου η αυτό-οξείδωση των προϊόντων.

Βιβλιογραφία

A. M. Alonso, C. Domínguez, D. A. Guillén, and C. G. Barroso, "Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, no. 11, pp. 3112–3115, 2002.

Alizadeh, L., Abdolmaleki, K., Nayebzadeh, K. and Shahin, R. "Effects of tocopherol, rosemary essential oil and *Ferulago angulata* extract on oxidative stability of mayonnaise during its shelf life: A comparative study," *Food Chemistry* (285), 2019, pp. 46-52.

Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G. and Lightfoot, D. A. "Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts," *Plants* (6:4), 2017.

Al-Zuhair H, El-Sayeh B, Ammen HA, 2000, Khan I, Abourashed E. "ESSENTIAL OIL MONOGRAPH: Cardamom," Salvatore Battaglia, 2010.

Amalraj, A., Pius, A., Gopi, S. and Gopi, S. "Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives – A review," *Journal of Traditional and Complementary Medicine* (7:2), 2017, pp. 205-233.

Anwar, F., Abbas, A., Alkharfy, K. M. and Gilani, A.-u.-H. "Chapter 33 - Cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton) Oils", in Preedy, V. R., ed., 'Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety', Academic Press, San Diego, 2016, pp. 295-301.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. and Erçağ, E. "The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas," *International Journal of Food Sciences and Nutrition* (57:5-6), 2006, pp. 292-304.

Awika, J.M.; Rooney, L.W.; Wu, X.L.; Prior, R.L.; Cisneros-Zevallos, L. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 6657–6662.

Banerjee, S., Sharma, R., Kale, R. K. and Rao, A. R. "Influence of certain essential oils on carcinogen-metabolizing enzymes and acid-soluble sulfhydryls in mouse liver," *Nutrition and Cancer* (21:3), 1994, pp. 263-269.

Berdahl, D. R. and McKeague, J. "8 - Rosemary and sage extracts as antioxidants for food preservation", in Shahidi, F., ed., 'Handbook of Antioxidants for Food Preservation', Woodhead Publishing, 2015, pp. 177-217.

Bessada, S. M. F., Barreira, J. C. M. and Oliveira, M. B. P. P. "Asteraceae species with most prominent bioactivity and their potential applications: A review," *Industrial Crops and Products* (76), 2015, pp. 604-615.

Bettaieb, I., Knioua, S., Hamrouni, I., Limam, F. and Marzouk, B. "Water-Deficit Impact on Fatty Acid and Essential Oil Composition and Antioxidant Activities of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Aerial Parts," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (59:1), 2011, pp. 328-334.

Biju, V. M., and T. Prasada Rao. "FAAS determination of selected rare earth elements coupled with multielement solid phase extractive preconcentration." *Chemia analityczna* 50.5 (2005): 935-944.

Bisset, N.M. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*. CRC Press, London, 1994.

Botsoglou, N. A., Christaki, E., Fletouris, D. J., Florou-Paneri, P. and Spais, A. B. "The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage," *Meat Science* (62:2), 2002, pp. 259-265.

Brigelius-Flohé, R, and M G Traber. "Vitamin E: function and metabolism." *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* vol. 13, 10 (1999): 1145-55.

Brigelius-Flohé, R. "Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases," *Free Radical Biology and Medicine* (27:9), 1999, pp. 951-965.

C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, and G. Paganga, "Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 20, no. 7, pp. 933–956, 1996.

Cano, A., Hernández-Ruíz, J., García-Cánovas, F., Acosta, M. and Arnao, M.B. (1998), An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *Phytochem. Anal.*, 9: 196-202.

Cao, G., Alessio, H. M. and Cutler, R. G. "Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants," *Free Radical Biology and Medicine* (14:3), 1993, pp. 303-311.

Carol A Newall, Linda A Anderson, J D Phillipson. *Herbal medicines : a guide for health-care professionals*. London : Pharmaceutical Press, 1996.

Cavallito, Chester J., Johannes S. Buck, and C. M. Suter. "Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. II. Determination of the chemical structure." *Journal of the American Chemical Society* 66.11 (1944): 1952-1954.

Chaudhary Priyanka, and Padma Singh. "Isolation, identification and molecular characterization of microflora obtained from spices and spice mixes." *World J Pharmaceutical Res* 3.2 (2014): 2020-2030.

Comite, E., El-Nakhel, C., Roupheal, Y., Ventorino, V., Pepe, O., Borzacchiello, A., Vinale, F., Rigano, D., Staropoli, A., Lorito, M. and Woo, S. L. "Bioformulations with Beneficial Microbial Consortia, a Bioactive Compound and Plant Biopolymers Modulate Sweet Basil Productivity, Photosynthetic Activity and Metabolites," *Pathogens* (10:7), 2021.

D. Huang, O. U. Boxin, and R. L. Prior, "The chemistry behind antioxidant capacity assays," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, no. 6, pp. 1841–1856, 2005.

D. Julian McClements & Kyros Demetriades (1998) *An Integrated Approach to the Development of Reduced-Fat Food Emulsions*, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38:6, 511-536, DOI: 10.1080/10408699891274291

Dasgupta, A.; Klein, K. *Fruits, Vegetables, and Nuts*. In *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements*; Elsevier: San Diego, CA, USA, 2014; pp. 209–235.

Dattatray S, Kamini B, Manjula, Mohanlal J. Garam masala (mixture of spices) for cardiac health: An overview. *J Indian Sys Medicine* 2016;4:211-222.

Dawidowicz, A. L., Wianowska, D. and Olszowy, M. "On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH method (Problems in estimation of antioxidant activity)," *Food Chemistry* (131:3), 2012, pp. 1037-1043.

de Moura, A., Gaglieri, C., da Silva-Filho, L.C. et al. Mechanochemical synthesis, characterization and thermoanalytical study of a new curcumin derivative. *J Therm Anal Calorim*, 2021.

del Baño, M. J., Lorente, J., Castillo, J., Benavente-García, O., del Río, J. A., Ortuño, A., Quirin, K.-W. and Gerard, D. "Phenolic Diterpenes, Flavones, and Rosmarinic Acid Distribution during the Development of Leaves, Flowers, Stems, and Roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant Activity," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (51:15), 2003, pp. 4247-4253.

Denkova, R., Ilieva, S., Denkova, Z., Georgieva, L. and Krastanov, A. "Examination of the technological properties of newly isolated strains of the genus *Lactobacillus* and possibilities for their application in the composition of starters," *Biotechnology & Biotechnological Equipment* (28:3), 2014, pp. 487-494.

Depree, J. A. and Savage, G. P. "Physical and flavour stability of mayonnaise," *Trends in Food Science & Technology* (12:5), 2001, pp. 157-163.

Dhunna, A., Anand, S., Aggarwal, A. et al. New visualization agents to reveal the hidden secrets of latent fingerprints. *Egypt J Forensic Sci* 8, 32 (2018). <https://doi.org/10.1186/s41935-018-0063-9>

Diaz-Maroto, M.C.; Diaz-Maroto Hidalgo, I.J.; Sanchez-Palomo, E.; Perez-Coello, M.S. Volatile components and key odorants of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil extracts obtained by simultaneous distillation-extraction and supercritical fluid extraction. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 5385–5389.

Dubois, C. W., and D. K. Tressler, *Proc. Inst. Food Technol.* (1943) 202 –217.

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

Folin, O. and Ciocalteu, V. "ON TYROSINE AND TRYPTOPHANE DETERMINATIONS IN PROTEINS," *Journal of Biological Chemistry* (73), pp. 627-650.

Ford, L., Theodoridou, K., Sheldrake, G. and Walsh, P. "A critical review of analytical methods used for the chemical characterisation and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds," *Phytochemical Analysis* (30), 2019, pp. 1-13.

Gagandeep, Dhanalakshmi, S., Mendiz, E., Rao, A. R. and Kale, R. K. "Chemopreventive Effects of Cuminum cyminum in Chemically Induced Forestomach and Uterine Cervix Tumors in Murine Model Systems," *Nutrition and Cancer* (47:2), 2003, pp. 171-180.

Ghosh, S., Bhattacharyya, D. K. and Ghosh, M. "Production and Characterization of Functional Lipid and Micronutrient Rich Health Beneficial Mayonnaise", in Ramkrishna, D., Sengupta, S., Dey Bandyopadhyay, S. and Ghosh, A., ed., 'Advances in Bioprocess Engineering and Technology', Springer Singapore, Singapore, 2021, pp. 91--100.

Gray, J.I. Measurement of lipid oxidation: A review. *J Am Oil Chem Soc* 55, 539–546 (1978).

Gupta, A. D. and Rajpurohit, D. "Chapter 98 - Antioxidant and Antimicrobial Activity of Nutmeg (*Myristica fragrans*)", in Preedy, V. R., Watson, R. R. and Patel, V. B., ed., 'Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention', Academic Press, San Diego, 2011, pp. 831-839.

H. Falleh, M. Ben Jemaa, K. Djebblai, S. Abid, M. Saada, R. Ksouri Application of the mixture design for optimum antimicrobial activity: Combined treatment of *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Myrtus communis*, and *Lavandula stoechas* essential oils against *Escherichia coli*, *Journal of Food Processing and Preservation* (2019), 10.1111/jfpp.14257.

Hassani, F.V., Shirani, K. & Hosseinzadeh, H. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: a review. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2016.

Hayes, J. D., Flanagan, J. U. and Jowsey, I. R. "Glutathione Transferases," *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* (45:1), 2005, pp. 51-88.

Hidalgo, G.-I. and Almajano, M. P. "Red Fruits: Extraction of Antioxidants, Phenolic Content, and Radical Scavenging Determination: A Review," *Antioxidants* (6:1), 2017.

Ishibashi, C., Hondoh, H. and Ueno, S. "Influence of morphology and polymorphic transformation of fat crystals on the freeze-thaw stability of mayonnaise-type oil-in-water emulsions," *Food Research International* (89), 2016, pp. 604-613.

Jagella, T., Grosch, W. Flavour and off-flavour compounds of black and white pepper (*Piper nigrum* L.) I. Evaluation of potent odorants of black pepper by dilution and concentration techniques. *Eur Food Res Technol* 209, 16–21 (1999). <https://doi.org/10.1007/s002170050449>

Jagella, T., Grosch, W. Flavour and off-flavour compounds of black and white pepper (*Piper nigrum* L.) I. Evaluation of potent odorants of black pepper by dilution and concentration techniques. *Eur Food Res Technol* 209, 16–21 (1999).

Jeleń, H. H. and Gracka, A. "Analysis of black pepper volatiles by solid phase microextraction–gas chromatography: A comparison of terpenes profiles with hydrodistillation," *Journal of Chromatography A* (1418), 2015, pp. 200-209.

Jiménez, A., Romojaro, F., Gómez, J. M., Llanos, M. R. and Sevilla, F. "Antioxidant Systems and Their Relationship with the Response of Pepper Fruits to Storage at 20 °C," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (51:21), 2003, pp. 6293-6299.

K. H. Cheeseman, T. F. Slater, An introduction to free radical biochemistry, *British Medical Bulletin*, Volume 49, Issue 3, 1993, Pages 481–493, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a072625>

Kaileh, M., Berghe, W.V., Boone, E., Essawi, T., Haegeman, G., 2007. Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. *J. Ethnopharmacol.* 113, 510–516.

Kalaivani, P., Saranya, R. B., Ramakrishnan, G., Ranju, V., Sathiya, S., Gayathri, V., Thiagarajan, L. K., Venkatesh, J. R., Babu, C. S. and Thanikachalam, S. "Cuminum cyminum, a Dietary Spice, Attenuates Hypertension via Endothelial Nitric Oxide Synthase and NO Pathway in Renovascular Hypertensive Rats," *Clinical and Experimental Hypertension* (35:7), 2013, pp. 534-542.

Kapoor, I. P. S., Singh, B. and Singh G. "Essential oil and oleoresins of *cinnamomum tamala* (tejpat) as natural food preservatives for pineapple fruit juice," *Journal of Food Processing and*

Preservation (32:5), 2008, pp. 719-728.

Karadag, A., Ozcelik, B. & Saner, S. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Anal. Methods* 2, 41–60 (2009). <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>.

Karnick, C. R. (1991). A clinical trial of a composite herbal drug in the treatment of diabetes mellitus.

Kiosseoglou, V.D., Sherman, P. The influence of egg yolk lipoproteins on the rheology and stability of O/W emulsions and mayonnaise. *Colloid & Polymer Sci* 261, 502–507 (1983).

Kishk, Y. F. M. and Elsheshetawy, H. E. "Effect of ginger powder on the mayonnaise oxidative stability, rheological measurements, and sensory characteristics," *Annals of Agricultural Sciences* (58:2), 2013, pp. 213-220.

Kwon, H., Ko, J. H. and Shin, H.-S. "Evaluation of antioxidant activity and oxidative stability of spice-added mayonnaise," *Food Science and Biotechnology* (24:4), 2015, pp. 1285-1292.

Kyle, P. B. "Chapter 7 - Toxicology: GCMS", in Nair, H. and Clarke, W., ed., 'Mass Spectrometry for the Clinical Laboratory', Academic Press, San Diego, 2017, pp. 131-163.

Lawrence, Brian M. Essential oils 1978. Allured Publishing Corporation. 1979.

Lee, S.-J., Umamo, K., Shibamoto, T. and Lee, K.-G. "Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties," *Food Chemistry* (91:1), 2005, pp. 131-137.

Lee, T., Lee, S., Kim, K.H., Oh, K.-B., Shin, J., Mar, W., 2013. Effects of magnolialide isolated from the leaves of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) on immunoglobulin E-mediated type I hypersensitivity in vitro. *J. Ethnopharmacol.* 149,550–556.

Li, R. and Jiang, Z.-T. "Chemical composition of the essential oil of *Cuminum cyminum* L. from China," *Flavour and Fragrance Journal* (19:4), 2004, pp. 311-313.

Litescu, S. C., Eremia, S. A. V., Tache, A., Vasilescu, I. and Radu, G.-L. "Chapter 25 - The Use of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Trolox Equivalent Antioxidant

Capacity (TEAC) Assays in the Assessment of Beverages' Antioxidant Properties", in Preedy, V., ed., 'Processing and Impact on Antioxidants in Beverages', Academic Press, San Diego, 2014, pp. 245-251.

Liu, H., Xu, X. M. and Guo, S. D. "Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics," *LWT - Food Science and Technology* (40:6), 2007, pp. 946-954.

Liu, J., Zhang, G., Cong, X. and Wen, C. "Black Garlic Improves Heart Function in Patients With Coronary Heart Disease by Improving Circulating Antioxidant Levels," *Frontiers in Physiology* (9), 2018, pp. 1435.

Lucas-Abellán, C., Mercader-Ros, M. T., Zafrilla, M. P., Fortea, M. I., Gabaldón, J. A. and Núñez-Delicado, E. "ORAC-Fluorescein Assay To Determine the Oxygen Radical Absorbance Capacity of Resveratrol Complexed in Cyclodextrins," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (56:6), 2008, pp. 2254-2259.

Magalhaes, L., Segundo, M., Reis, S. and Lima, J. "Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties," *Analytica Chimica Acta* (613), 2008, pp. 1-19.

McClements, D. J. "Emulsion Design to Improve the Delivery of Functional Lipophilic Components," *Annual Review of Food Science and Technology* (1:1), 2010, pp. 241-269.

Melo, E. D. A., Mancini Filho, J., Guerra, N. B., & Maciel, G. R. (2003). Antioxidant activity of coriander extracts (*Coriandrum sativum* L.). *Food Science and Technology*, 23, 195-199.

Menon, A. "Studies on the Volatiles of Cardamom (*Elleteria cardamomum*)," *J Food Sci Technol* (37), 2000, pp. 406-408.

Miller, N.J.; Rice-Evans, C.; Davies, M.J.; Gopinathan, V.; Milner, A. A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. *Clin. Sci.* 1993, 84, 407–412.

Mnif S, Aifa S. "Cumin (*Cuminum cyminum* L.) from traditional uses to potential biomedical applications," *Chem Biodivers.* 2015.

Moreno S., Scheyer T., Romano C.S., Vojnov A.A. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research*, 2009. Αναρτημένο από: 10.1080/10715760500473834

Mun, S., Kim, Y.-L., Kang, C.-G., Park, K.-H., Shim, J.-Y. and Kim, Y.-R. "Development of reduced-fat mayonnaise using 4 α GTase-modified rice starch and xanthan gum," *International Journal of Biological Macromolecules* (44:5), 2009, pp. 400-407.

Nagwa M. Rasmy, Amal A. Hassan, Mervat I. Foda, Marwa M. El-Moghazy. Assessment of the Antioxidant Activity of Sage (*Salvia officinalis* L.) Extracts on the Shelf Life of Mayonnaise. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 2012.

Nakatani, N. "Biologically Functional Constituents of Spices and Herbs," *Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi* (56), 2003, pp. 389-395.

Nguyen, L., He, H. and Pham-Huy, C. "Chiral Drugs: An Overview," *International journal of biomedical science: IJBS* (2), 2006, pp. 85-100.

Ou B, Hampsch-Woodhill M, Flanagan J, Deemer EK, Prior RL and Huang D, Novel fluorometric assay for hydroxyl radical prevention capacity using fluorescein as the probe. *J Agric Food Chem* 50:2772–2777 (2002)

Ou, B., Hampsch-Woodill, M. and Prior, R. L. "Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (49:10), 2001, pp. 4619-4626.

Ozdemir, N., Kantekin-Erdogan, M. N., Tat, T. and Tekin, A. "Effect of black cumin oil on the oxidative stability and sensory characteristics of mayonnaise," *Journal of Food Science and Technology* (55:4), 2018, pp. 1562-1568.

Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E., Başkan, K. S., Erçağ, E., Esin Çelik, S., Baki, S., Yıldız,

L., Karaman, Ş. and Apak, R. "A comprehensive review of CUPRAC methodology," *Anal. Methods* (3), 2011, pp. 2439-2453.

P Patriani, J Hellyward, H Hafid, N L Apsari, Hasnudi. Application of sweet basil (*Ocimum basilicum*) on physical and organoleptic qualities of chicken meatballs. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2021. doi: 10.1088/1755-1315/782/2/022083

Park, B.I., Kim, J., Lee, K. et al. Flavonoids in common and tartary buckwheat hull extracts and antioxidant activity of the extracts against lipids in mayonnaise. *J Food Sci Technol* 56, 2712–2720 (2019).

Pham-Huy, L., He, H. and Pham-Huy, C. "Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health," *International journal of biomedical science: IJBS* (4), 2008, pp. 89-96.

Picó, Y. "Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples," *TrAC Trends in Analytical Chemistry* (43), 2013, pp. 84-99.

Prior, R. L., Hoang, H., Gu, L., Wu, X., Bacchiocca, M., Howard, L., Hampsch-Woodill, M., Huang, D., Ou, B. and Jacob, R. "Assays for Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of Plasma and Other Biological and Food Samples," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (51:11), 2003, pp. 3273-3279.

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>

R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.

R. Mihov, Kr. Nikovska, N. Nenov and A. Slavchev. Evaluation of mayonnaise-like food emulsions with extracts of herbs and spices. *Emir. J. Food Agric.* 2012.

Raikos, V., McDonagh, A., Ranawana, V. and Duthie, G. "Processed beetroot (*Beta vulgaris* L.) as a natural antioxidant in mayonnaise: Effects on physical stability, texture and sensory attributes," *Food Science and Human Wellness* (5:4), 2016, pp. 191-198.

Rao, V. R. "Chapter 7 - Antioxidant Agents", in Penta, S., ed., 'Advances in Structure and Activity Relationship of Coumarin Derivatives', Academic Press, Boston, 2016, pp. 137-150.

Reddy AC, Lokesh BR. 1992. Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. *Mol Cell Biochem* 111(1-2):117-24.

Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A.-H., Khalel, K. I. "Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts," *Industrial Crops and Products* (43), 2013, pp. 827-831.

Roginsky, V. and Lissi, E. A. "Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food," *Food Chemistry* (92:2), 2005, pp. 235-254.

Ruberto G, Baratta MT, Deans SG, Dorman HJ. Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. *Planta Med.* 2000;66(8):687-693. doi:10.1055/s-2000-9773

Rupasinghe, H.P.V.; Yu, L.J.; Bhullar, K.S.; Bors, B. Short Communication: Haskap (*Lonicera caerulea*): A new berry crop with high antioxidant capacity. *Can. J. Plant Sci.* 2012, 92, 1311-1317.

Saddiqi, H.A., Jabbar, A., Sarwar, M. et al. Small ruminant resistance against gastrointestinal nematodes: a case of *Haemonchus contortus*. *Parasitol Res* 109, 1483-1500 (2011). <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2576-0>

Saini, R.K., Keum, YS. Progress in Microbial Carotenoids Production. *Indian J Microbiol* 57, 129-130 (2017).

Santos, C. and Silva, A. "The Antioxidant Activity of Prenylflavonoids," *Molecules* (25), 2020, pp. 696.

Sarkar, A. and Ghosh, U. "Natural Antioxidants -The Key to Safe and Sustainable Life," *International Journal of Latest Trends in Engineering and Technology* (6), 2016, pp. 460-466.

Sayyah, M., Saroukhani, G., Peirovi, A., Kamalinejad, M., 2003. Analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* Linn. *Phytother. Res.* 17, 733–736.

Shahidi, F. "Antioxidants: Principles and applications", 2015.

Shahidi, F. and Zhong, Y. "Measurement of antioxidant activity," *Journal of Functional Foods* (18), 2015, pp. 757-781.

Shang, A., Cao, S.-Y., Xu, X.-Y., Gan, R.-Y., Tang, G.-Y., Corke, H., Mavumengwana, V. and Li, H.-B. "Bioactive Compounds and Biological Functions of Garlic (*Allium sativum* L.)," *Foods* (8:7), 2019.

Shelef, L. A. "HERBS | Herbs of the Umbelliferae", in Caballero, B., ed., 'Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)', Academic Press, Oxford, 2003, pp. 3090-3098.

Shenuarin B, Fukunaga K. Cardioprotection by vanadium compounds targeting Akt-mediated signaling. *J PharmacolSci* 2009; 110: 1-13.

Shiow Y. Wang and Hsin-Shan Lin. Antioxidant Activity in Fruits and Leaves of Blackberry, Raspberry, and Strawberry Varies with Cultivar and Developmental Stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000.

Silva de Araújo Couto, H. G., Teixeira Barbosa, A. A., de Castro Nizio, D. A., de Lima Nogueira, P. C., de Fátima Arrigoni-Blank, M., Oliveira Pinto, J. A., Fitzgerald Blank, A. (2021). Antibacterial activity of *Lippia alba*, *Myrcia lundiana* and *Ocimum basilicum* essential oils against six food-spoiling pathogenic microorganisms. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 20(3).

Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R. M. "[14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent" 'Oxidants and Antioxidants Part A', Academic Press, 1999, pp. 152-178.

Souza, T. C. L. D., Silveira, T. F. F. D., Rodrigues, M. I., Ruiz, A. L. T. G., Neves, D. A., Duarte, M. C. T., Cunha-Santos, E. C. E., Kuhnle, G., Ribeiro, A. B. and Godoy, H. T. "A study of the bioactive potential of seven neglected and underutilized leaves consumed in Brazil," *Food Chemistry* (364), 2021, pp. 130350.

Srinivasan K. Black pepper and its pungent principle - piperine, a review of diverse physiological effects. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2007; 47: 735-748.

Suneetha W, J. and Krishnakantha, T. "Cardamom extract as inhibitor of human platelet aggregation," *Phytotherapy research: PTR* (19), 2005, pp. 437-40.

Surh, Y.-J. "Molecular mechanisms of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances," *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* (428:1), 1999, pp. 305-327.

Teissedre, P. L. and Waterhouse, A. L. "Inhibition of Oxidation of Human Low-Density Lipoproteins by Phenolic Substances in Different Essential Oils Varieties," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (48:9), 2000, pp. 3801-3805.

Teixeira, J., Gaspar, A., Garrido, E., Garrido, J. and Borges, F. "Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview," *BioMed research international* (2013), 2013, pp. 251754.

Teneva, D., Denkova, Z., Denkova-Kostova, R., Goranov, B., Kostov, G., Slavchev, A., Hristova-Ivanova, Y., Uzunova, G. and Degraeve, P. "Biological preservation of mayonnaise with *Lactobacillus plantarum* LBRZ12, dill, and basil essential oils," *Food Chemistry* (344), 2021, pp. 128707.

Tonin, L.T.D., de Oliveira, T.F.V., de Marco, I.G. et al. Bioactive compounds and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of extracts of *Curcuma longa*. *Food Measure* 15, 3752–3760 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11694-021-00950-6>

Trofin, A., Trinca, L. C., Elena, U. and Ariton, A. "CUPRAC Voltammetric Determination of Antioxidant Capacity in Tea Samples by Using Screen-Printed Microelectrodes," *Journal of Analytical Methods in Chemistry* (2019), 2019, pp. 1-10.

Valente, I., GonCalves, L. and Rodrigues, J. A. "Another glimpse over the salting-out assisted liquid-liquid extraction in acetonitrile/water mixtures.," *Journal of chromatography. A* (1308), 2013, pp. 58-62 .

van den Berg, R., Haenen, G. R. M. M., van den Berg, H. and Bast, A. "Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures," *Food Chemistry* (66:4), 1999, pp. 511-517.

Vasavada, M. N., Dwivedi, S. and Cornforth, D. "Evaluation of Garam Masala Spices and Phosphates as Antioxidants in Cooked Ground Beef," *Journal of Food Science* (71:5), 2006, pp. C292-C297.

Vijayakumar RS, Surya D, Senthilkumar R, Nalini N. Hypolipidemic effect of black pepper (*Piper nigrum* Linn.) in rats fed high fat diet. *J ClinBiochemNutr* 2002; 32: 31- 42.

W. Wang, N. Wu, Y.G. Zu, Y.J. Fu. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry*, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.046>

Wang, X, and P J Quinn. "Vitamin E and its function in membranes." *Progress in lipid research* vol. 38,4 (1999): 309-36. doi:10.1016/s0163-7827(99)00008-9

Wei, J., Zhang, X., Bi, Y., Miao, R., Zhang, Z. and Su, H. "Anti-Inflammatory Effects of Cumin Essential Oil by Blocking JNK, ERK, and NF- κ B Signaling Pathways in LPS-Stimulated RAW 264.7 Cells," *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM* (2015), 2015, pp. 474509

Wei, W. A. N. G., Mo, C. H. E. N. and Guohua, C. H. E. N. "Issues in Freeze Drying of Aqueous Solutions," *Chinese Journal of Chemical Engineering* (20:3), 2012, pp. 551-559.

Weng, C.-J., Yen, G.-C. "10 - Natural plant extracts as antioxidants for food preservation", *in*

Shahidi, F., ed., 'Handbook of Antioxidants for Food Preservation', Woodhead Publishing, 2015, pp. 235-249.

Yeotikar, S., What Is Lyophilization or Freeze-Drying: A Definitive Guide - Pharma GxP. <https://pharmagxp.com/process-engineering/lyophilization/>. Ημερομηνία πρόσβασης 20 Σεπτέμβριος 2021.

Wyenandt, C. A., Simon, J. E., Pyne, R. M., Homa, K., McGrath, M. T., Zhang, S., Raid R. N., Ma L.-J., Wick R., Guo L., & Madeiras, A. (2015). Basil downy mildew (*Peronospora belbahrii*): Discoveries and challenges relative to Iterkanwang's control. *Phytopathology*.

Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J. J., & Li, H. B. (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 96.

Yanishlieva, N. V., Marinova, E. and Pokorný, J. "Natural antioxidants from herbs and spices," *European Journal of Lipid Science and Technology* (108:9), 2006, pp. 776-793.

Young, I. S. and Woodside, J. V. "Antioxidants in health and disease," *Journal of Clinical Pathology* (54:3), 2001, pp. 176--186.

Zheng, S., Zhang, X., Li, Z., Hoene, M., Fritsche, L., Zheng, F., Li, Q., Fritsche, A., Peter, A., Lehmann, R., Zhao, X. and Xu, G. "Systematic, Modifying Group-Assisted Strategy Expanding Coverage of Metabolite Annotation in Liquid Chromatography–Mass Spectrometry-Based Nontargeted Metabolomics Studies," *Analytical Chemistry* (93:31), 2021, pp. 10916-10924.

Zheng, W. and Wang, S. Y. "Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (49:11), 2001, pp. 5165-5170.