

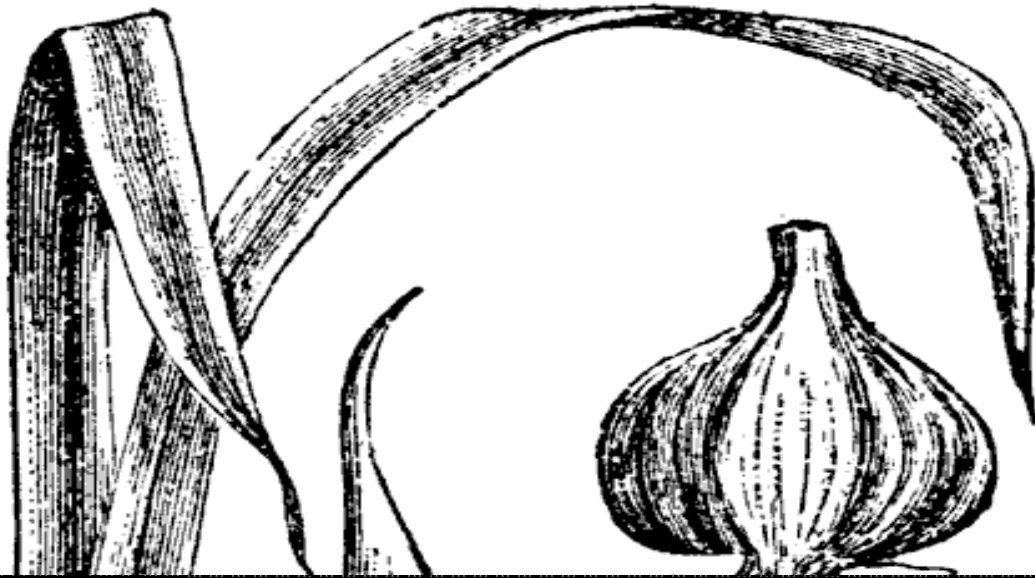


ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΓΕΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ

ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ

ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ: ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ



ΑΛΕΞΙΑ –
ΜΑΡΙΑ Μ.
ΚΑΝΑΚΑΡΑΚΗ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ
ΣΚΟΡΔΟΥ (*ALLIUM SATIVUM*)
ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΟΥ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ Ν.ΒΥΣΣΑΣ



ΑΘΗΝΑ
ΙΟΥΝΙΟΣ 2011



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΓΕΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ

ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ

ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ: ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Μελέτη των Δραστικών Συστατικών του Σκόρδου (*Allium Sativum*) καλλιεργούμενου στην Περιοχή Ν. Βύσσας.

ΑΛΕΞΙΑ ΜΑΡΙΑ Μ. ΚΑΝΑΚΑΡΑΚΗ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων: 1. Π. Ταραντίλης, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α.

Μέλη Επιτροπής: 2. Μ. Πολυσίου, Καθηγητής Γ.Π.Α.

3. Α. Κυμπάρης, Επίκουρος Καθηγητής Δ.Π.Θ.

Αθήνα

ΙΟΥΝΙΟΣ 2011

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης «Μελέτη και Αξιοποίηση Φυσικών Προϊόντων» και συγκεκριμένα στο Γενικό τμήμα του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών κατά το ακαδημαϊκό έτος 2010.

Το αντικείμενό της αφορά στη μελέτη του σκόρδου καλλιεργούμενο στην περιοχή της Ν. Βύσσας, σε άλλες περιοχές της χώρας (Τεγέα, Χαλκίδα, Νεάπολη), καθώς και Κίνα και Αργεντινή. Επίσης μελετήθηκε η αντιοξειδωτική δράση του σε συνδυασμό με το ελαιόλαδο.

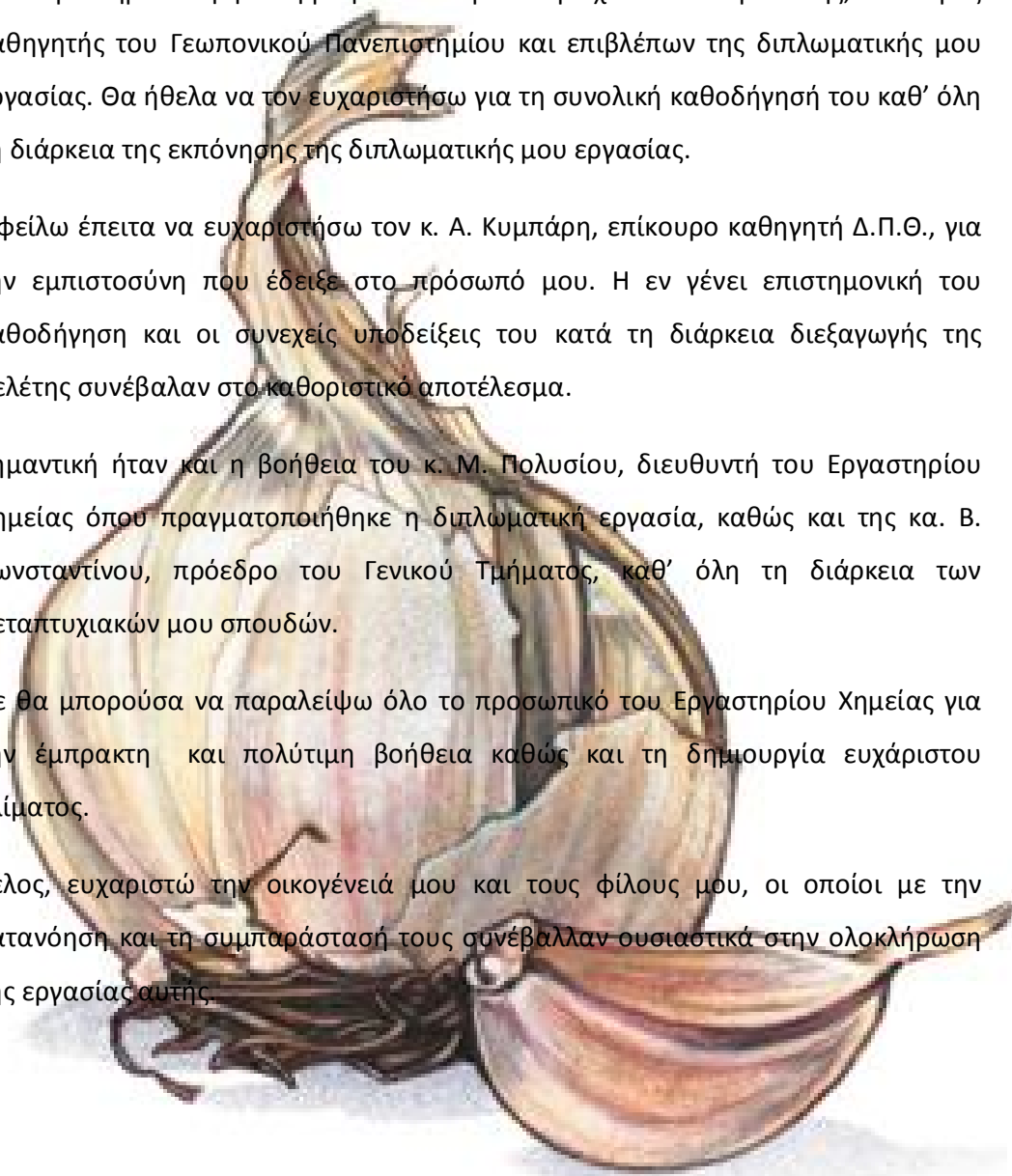
Ιδιαίτερα σημαντική ήταν η βοήθεια που μου παρείχε ο κ. Π. Ταραντίλης, επίκουρος καθηγητής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου και επιβλέπων της διπλωματικής μου εργασίας. Θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για τη συνολική καθοδήγησή του καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Οφείλω έπειτα να ευχαριστήσω τον κ. Α. Κυμπάρη, επίκουρο καθηγητή Δ.Π.Θ., για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου. Η εν γένει επιστημονική του καθοδήγηση και οι συνεχείς υποδείξεις του κατά τη διάρκεια διεξαγωγής της μελέτης συνέβαλαν στο καθοριστικό αποτέλεσμα.

Σημαντική ήταν και η βοήθεια του κ. Μ. Πολυσιού, διευθυντή του Εργαστηρίου Χημείας όπου πραγματοποιήθηκε η διπλωματική εργασία, καθώς και της κα. Β. Κωνσταντίνου, πρόεδρο του Γενικού Τμήματος, καθ' όλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Δε θα μπορούσα να παραλείψω όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Χημείας για την έμπρακτη και πολύτιμη βοήθεια καθώς και τη δημιουργία ευχάριστου κλίματος.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένειά μου και τους φίλους μου, οι οποίοι με την κατανόηση και τη συμπαράστασή τους συνέβαλλαν ουσιαστικά στην ολοκλήρωση της εργασίας αυτής.



Περίληψη

Αντικείμενο έρευνας αποτέλεσε η απομόνωση, η ανάλυση και ο χαρακτηρισμός συστατικών του σκόρδου (πτητικών και μη πτητικών δευτερογενών μεταβολιτών) που παράγεται στον Β. Έβρο και ειδικότερα στην περιοχή της Ν. Βύσσας, συγκρινόμενο με εγχώριο καλλιεργούμενο και σε άλλες περιοχές (Τεγέα, Χαλκίδα, Νεάπολη) καθώς και σκόρδου εισαγόμενο από άλλες χώρες (Κίνα και Αργεντινή).

Η παραλαβή των συστατικών των δειγμάτων του σκόρδου πραγματοποιήθηκε με μεθόδους απόσταξης και εκχύλισης, ενώ η ανάλυση και ο χαρακτηρισμός τους επιτεύχθηκε με σύγχρονες τεχνικές ενόργανης χημικής ανάλυσης όπως Αέρια Χρωματογραφία - Φασματομετρία Μαζών (Gas Chromatography – Mass Spectrometry, GC-MS) για τον ποιοτικό προσδιορισμό και Αέρια Χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (Gas Chromatography-Flame Ionization Detector, GC-FID) για τον ποσοτικό προσδιορισμό των συστατικών των δειγμάτων.

Στη συνέχεια ακολούθησε η μελέτη αντιοξειδωτικής δράσης του σκόρδου σε συνδυασμό με ελαιόλαδο σε διάρκεια 3 εβδομάδων.

Abstract

Title of thesis: Study of the active compounds of garlic (*allium sativum* L.) cultivated in the area of N.Vissa.

The subject of this research was the isolation and characterization of garlic (volatile or non volatile secondary metabolites) which is produced in the area of N. Evros and especially in the area of Southern Vissa as well as others cultivated in other areas of Greece (Chalcida, Tegea, Neapolis) and garlic imported from foreign countries (China and Argentina).

The samples of garlic were derived with methods of hydro distillation and extraction, while the analysis and the characterization succeeded with modern techniques of instrumental analysis like Gas Chromatography – Mass Spectrometry and Gas Chromatography with a Flame Ionization Detector (GC-FID).

In addition, followed a study of the antioxidant activity of garlic combined with olive oil in a period of three weeks time.

Πίνακας περιεχομένων

Πρόλογος.....	3
Περίληψη.....	4
Abstract	5
Πίνακας περιεχομένων	6
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	9
1.Σκόρδο	9
1.1. Καταγωγή-Ιστορικό	9
1.2. Παραγωγή	10
1.3. Καλλιέργεια-Συγκομιδή-Επεξεργασία	13
1.4. Βοτανική Περιγραφή	16
1.5. Χημική Σύσταση	20
1.6. Αιθέριο Έλαιο	22
1.7. Βιοδραστικότητα και Χρήσεις.....	24
1.8. Παραλαβή και Ανάλυση Αιθέριου Ελαίου	28
2. Αντιοξειδωτικά.....	31
2.1 Εισαγωγή.....	31
2.2 Παραγωγή ελεύθερων ριζών και μηχανισμός δράσης τους.....	31
2.3 Γενικά περί αντιοξειδωτικών	33
2.4 Συνθετικά αντιοξειδωτικά	34
2.5 Φυσικά αντιοξειδωτικά	36
2.6 Μηχανισμός δράσης αντιοξειδωτικών	38
3. Μέτρηση Αντιοξειδωτικής Ικανότητας.....	42
3.1 Εισαγωγή.....	42
3.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την αντιοξειδωτική ικανότητα.....	43

3.3 Μέθοδος μέτρησης της αποικοδόμησης της ρίζας 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζιλίου (DPPH')	45
3.4 Μέθοδος β-καροτένιο/λινελαϊκό οξύ	48
4. ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΑ ΠΑΡΘΕΝΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ.....	49
4.1 Εισαγωγή.....	49
4.2 Χημική σύσταση του ελαιολάδου.....	51
4.3 Αλλοιώσεις του ελαιολάδου-οξείδωση	53
4.4 Δευτερογενείς μεταβολίτες του ελαιολάδου και αντιοξειδωτική δράση	56
4.5 Αρωματισμένο ελαιόλαδο ως λειτουργικό τρόφιμο.....	60
5. Σκοπός Μελέτης.....	62
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	64
6. Υλικά, Συσκευές και Μέθοδοι	64
6.1. Φυτικό Υλικό	64
6.2 Παραλαβή αιθέριου ελαίου.....	66
6.3 Ελαιόλαδο αρωματισμένο με σκόρδο	67
6.4 Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση του αιθέριου ελαίου με αεριοχρωματογραφία (GC-MS/FID).....	68
6.5 Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο του Διφαινυλοπικρυλυδραζιλίου-DPPH	70
6.6 Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο β-καροτένιο/λινελαϊκό οξύ	71
7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	72
7.1 Αποδόσεις σε αιθέριο έλαιο.....	72
7.2 Αεριοχρωματογραφική Ανάλυση- Ποιοτικά και Ποσοτικά χαρακτηριστικά των αιθέριων ελαίων	74
7.3 Αντιοξειδωτική ικανότητα	83
8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	86
Βιβλιογραφία	88

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	96
I. Κατάλογος Συντημήσεων	96
II. Χρωματογραφήματα από το GC-MS του αιθέριου ελαίου του σκόρδου.....	97
III. Χρωματογραφήματα από το GC-FID	101

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Σκόρδο

1.1. Καταγωγή-Ιστορικό

Το σκόρδο μαζί με το κρεμμύδι και το πράσο, αποτελούν τα σημαντικότερα βολβώδη λαχανικά που καλλιεργούνται στην Ελλάδα. Καλλιεργείται κυρίως για το βολβό του, που χρησιμοποιείται σαν άρτυμα, καρύκευμα σε διάφορα φαγητά και τροφές, εξ αιτίας της χαρακτηριστικής οσμής και καυστικής γεύσης που έχει, η οποία σχετίζεται με τα όργανο-σουλφιδικά συστατικά του (Virtanen, 1962, 1965, Block, 1993) . Ο Semmler καθιέρωσε την σημασία του διαλλυλ-δισουλφιδίου και διαλλυλ-τρисуλφιδίου στην γεύση του αποστάγματος. Ήταν επίσης φανερό ότι σ ένα πρώιμο στάδιο τα εύοσμα συστατικά δεν ήταν παρόντα στο φυτό ως έχουν αλλά σχηματίζονται με διάρρηξη του κυτταρικού ιστού. Πέρα από τη χρήση του ως είδος διατροφής, χρησιμοποιείται σήμερα και για τις θεραπευτικές του ιδιότητες.

Η χρήση του σκόρδου χρονολογείται τουλάχιστον 5000 χρόνια στους Βαβυλώνιους. Πολλοί αρχαίοι πολιτισμοί χρησιμοποίησαν το σκόρδο, συμπεριλαμβανομένων των Αιγυπτίων, των Φοινίκων, των Ελλήνων, των Ρωμαίων, των Κινέζων και των Βίκινγκς. Στην αρχαία Αίγυπτο, σε γραπτό του 1550 π. Χ. γίνεται αναφορά στη θρεπτική αξία του σκόρδου και ιατρική διατριβή του 6^{ου} π. Χ. αιώνα στην Ινδία, εξαιρεί τις φαρμακευτικές του ιδιότητες. Οι αρχαίοι είχαν ανακαλύψει τις θεραπευτικές του ιδιότητες για προβλήματα κυκλοφορίας του αίματος και της πίεσης. Το σκόρδο έγινε δημοφιλές στην παραδοσιακή ιατρική στο πέρασμα των χρόνων για την θεραπεία πολλών διαταραχών όπως αναπνευστικές παθήσεις, άσθμα, πνευμονία, διαβήτη, καρδιαγγειακές παθήσεις και ρευματισμούς κ.α..

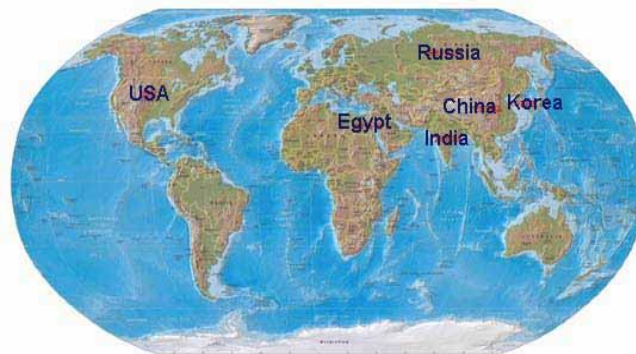
Το σκόρδο είναι φυτικό είδος, γνωστό από την αρχαία εποχή, μάλιστα ο Vanilov θεωρεί σαν αρχικό κέντρο καταγωγής του την κεντρική Ασία, και δευτερογενές κέντρο τη Μεσόγειο. Άγριος πρόγονος του σκόρδου, θεωρείται το *Allium longicispis*, το οποίο ευδοκimeί στην Κεντρική Ασία, και επομένως συνάγεται ότι το σκόρδο έχει την καταγωγή του από την περιοχή αυτή. Σύμφωνα με έναν ινδικό μύθο για την

προέλευση του σκόρδου (από ένα σανσκριτικό χειρόγραφο που χρονολογείται το 350-375 μ.Χ.) ο βασιλιάς των Ασσυρίων, Ραχού έκλεψε το ελιξίριο της ζωής από τον Βισχού και το ήπιε. Ο Βισχού εκδικούμενος, τον αποκεφάλισε και το σκόρδο αναπήδησε από το αίμα που χύθηκε.

Είναι γνωστό όμως μόνο από την καλλιέργεια του, και αναφέρεται στα κείμενα των αρχαίων Κινέζων, Αιγυπτίων και Ελλήνων. Υπάρχουν μαρτυρίες ότι το σκόρδο καλλιεργείτο και καταναλωνόταν την εποχή που κτίζονταν οι πυραμίδες στην Αίγυπτο το 2780-2100 π. Χ.. Ο Ηρόδοτος αναφέρει ότι καλλιεργείτο στη Σκυθία και την Αίγυπτο. Το αναφέρει συχνά και ο Αριστοφάνης, που δείχνει ότι καλλιεργείτο και χρησιμοποιούταν από τους αρχαίους Έλληνες. Ο Θεόφραστος, περιγράφει διάφορες ποικιλίες και μάλιστα σημειώνει την περιοχή της Κυπριακής. Στους Ρωμαίους δεν άρεσε το δυνατό άρωμα του σκόρδου, αλλά το χρησιμοποιούσαν οι εργάτες και οι στρατιώτες, οι οποίοι το μετέφεραν στην Αγγλία, τον 16^ο αιώνα. Ο Chancer το 1340 μ.Χ., όπως και άλλοι βοτανολόγοι, αναφέρει ότι το σκόρδο ήταν συνηθισμένο πλέον λαχανικό στην Ευρώπη κατά τον Μεσαίωνα. (Ολύμπιος Χ., 1994)

1.2. Παραγωγή

Υπάρχουν περίπου 300 ποικιλίες του σκόρδου που καλλιεργούνται παγκοσμίως, ιδιαίτερα σε περιοχές με θερμό και ξηρό κλίμα. Σήμερα, το σκόρδο είναι ένα από τα είκοσι σημαντικότερα λαχανικά στον κόσμο, με μια ετήσια παραγωγή περίπου τρία εκατομμύρια μετρικών τόνων. Σημαντικές αυξανόμενες περιοχές είναι ΗΠΑ, Κίνα, Αίγυπτος, Κορέα.



Εικόνα 1.1: Σημαντικότερες καλλιεργούμενες χώρες σκόρδου

Στις λιγότερο ανεπτυγμένες χώρες, το σκόρδο καταναλώνεται νωπό. Στις Η.Π.Α. και τις Β. Ευρωπαϊκές χώρες, μεγάλο ποσοστό των παραγόμενων σκόρδων, αποξηραίνεται, αλέθεται, και κυκλοφορεί συσκευασμένο. Η κατανάλωση του σκόρδου είναι χαμηλή στις Β. Ευρωπαϊκές χώρες, στις ΗΠΑ και στον Καναδά, όπου και σπάνια χρησιμοποιείται στη μαγειρική. Χρησιμοποιείται όμως από τους μετανάστες για την παρασκευή παραδοσιακών τους φαγητών. Αντίθετα η κατανάλωση είναι μεγάλη σε χώρες της Ν. Ευρώπης, σε περιοχές της Ασίας και της Ν. Αμερικής.

Στην Ελλάδα, το σκόρδο καλλιεργείται τόσο για τους βολβούς όσο και για νωπά σκορδάκια. Οι εκτάσεις και η παραγωγή που καταγράφηκαν τα τελευταία 13 χρόνια, δείχνουν μια σταδιακή μείωση για τους βολβούς, γεγονός που οφείλεται κατά ένα μεγάλο ποσοστό στη μείωση των εξαγωγών τα τελευταία χρόνια. Οι κυριότεροι νομοί παραγωγής βολβών κατά σειρά έκτασης είναι: Β. Έβρου, Ροδόπης, Ευβοίας, Αιτωλοακαρνανίας, Κέρκυρας και Δράμας. Τα σκόρδα συγκομίζονται στην Ελλάδα από το Γενάρη μέχρι τον Οκτώβρη. Ο κύριος όγκος της παραγωγής συγκεντρώνεται τους μήνες Ιούνιο (27%) ,Ιούλιο (34%) και Αύγουστο (21%). Σύνολο Ιουνίου- Αυγούστου 82% της ολικής ετήσιας παραγωγής.

Αντίθετα, η έκταση και η παραγωγή για τα νωπά σκορδάκια παραμένει σταθερή τα τελευταία χρόνια. Οι κυριότεροι νομοί που παράγουν νωπά σκορδάκια κατά σειρά έκτασης είναι: Τρικάλων, Ροδόπης, Σερρών, Ευβοίας και Καρδίτσας . Για τα νωπά σκορδάκια η συγκομιδή γίνεται όλο το χρόνο, με εξαίρεση τον Σεπτέμβριο. Το μεγαλύτερο μέρος της παραγωγής, συγκομίζεται τους μήνες Μάρτιο(13%), Απρίλιο(28%) και Μάιο (34%), δηλαδή συγκομίζεται το 75% της ολικής ετήσιας παραγωγής.

Εξαγωγές στα νωπά σκορδάκια γίνονται σε περιορισμένη κλίμακα στις χώρες της Ευρώπης (Σουηδία, Δ. Γερμανία, Ιταλία), ενώ κατά καιρούς παρατηρούνται και εισαγωγές μικρών ποσοτήτων από Ολλανδία, Ιταλία, κλπ. (Ολύμπιος Χ.,1994)

Πίνακας 1.1: Παγκόσμια εγχώρια παραγωγή σκόρδου (Source: FAOSTAT, 2005)

Χώρα	Παραγωγή (Mt)	Χώρα	Παραγωγή (Mt)	Χώρα	Παραγωγή (Mt)
Αλγερία	40,000	Ινδία	500,000	Παλαιστίνη	1,400
Αργεντινή	142,735	Ινδονησία	35,254	Παραγουάη	770
Αρμενία	6,000	Ιράν	70,000	Περού	52,000
Αζερμπαϊτζάν	20,919	Ισραήλ	6,900	Φιλιππίνες	14,000
Μπαγκλαντές	73,000	Ιταλία	30,472	Πορτογαλία	1,400
Βολιβία	8,170	Ιορδανία	3,621	Ρουμανία	76,172
Βοσνία Ερζεγοβίνη	7,900	Κένυα	2,000	Ρωσία	230,000
Βραζιλία	88,471	Κορέα	95,000		
Βουλγαρία	4,300	Δημοκρατία	350,000	Σερβία και Μαυροβούνιο	25,000
Πράσινο Ακρωτήριο	50	Κουβέιτ	400	Σλοβακία	4,200
Χιλή	19,500	Κιργιστάν	25,000	Σλοβενία	260
Κίνα	11,093,500	Λεττονία	500	Ισπανία	145,300
Κροατία	8,200	Λίβανος	6,000	Σουδάν	17,500
Κούβα	60,000	Αραβικά Εμιράτα	3,800	Συρία	37,000
Κύπρος	220	Λιθουανία	400	Τατζικιστάν	100
Τσέχικη Δημοκρατία	1,500	Σκόπια	3,500	Τανζανία	2,000
Δομινικανή Δημοκρατία	3,000	Μαδαγασκάρη	820	Ταϋλάνδη	110,000
Εκουαδόρ	1,030	Μάλτα	491	Ανατολικό Τιμόρ	250
Αίγυπτος	162,077	Μαυρίκιος	65	Τυνησία	6,100
Εσθονία	200	Μεξικό	44,431	Τουρκία	99,500
Αιθιοπία	71,000	Μολδαβία	5,000	Τουρκμενιστά ν	2,800
Γαλλία	28,800	Μαρόκο	21,610	Ουκρανία	100,000
Γάζα	0	Μιανμάρ	121,000	Η.Π.Α.	236,960
Ελλάδα	15,200	Νεπάλ	28,614	Ουρουγουάη	1,155
Γουατεμάλα	5,500	Ολλανδία	12,000	Ουζμπεκιστάν	25,000
Αιτή	550	Νέα Ζηλανδία	1,500	Βενεζουέλα	9,800
Ονδούρας	110	Νιγηρία	8,000	Δυτική Ακτή	0
Ουγγαρία	6,500	Πακιστάν	55,900	Υεμένη	12,000

1.3. Καλλιέργεια-Συγκομιδή-Επεξεργασία

Το σκόρδο έχει περίπου τις ίδιες απαιτήσεις σε κλίμα και έδαφος, όπως και το κρεμμύδι. Καλλιεργείται σε κλίματα ευκράτου ζώνης κατά τη διάρκεια του χειμώνα και της άνοιξης. Αντέχει στις χαμηλές θερμοκρασίες του χειμώνα, που κρίνονται και αναγκαίες σε κάποιο βαθμό για την εξέλιξη της βολβοποίησης στο φυτό. Υψηλή ατμοσφαιρική υγρασία δεν είναι επιθυμητή, ιδιαίτερα κατά το στάδιο ωρίμανσης των βολβών, καθώς καθυστερεί την ωρίμανση και αυξάνει ο κίνδυνος προσβολής από μύκητες.

Καλλιεργείται σε ποικιλία εδαφών, όμως ένα καλά αποστραγγισμένο, γόνιμο, βάθους τουλάχιστον 45-60 εκ. και πλούσιο σε οργανική ουσία έδαφος θεωρείται περισσότερο ικανοποιητικό. Το σκόρδο αποδίδει καλύτερα στα ουδέτερα ή ελαφρά όξινα εδάφη με $pH=6-7$. Σε πολύ υγρά εδάφη και κάτω από συνθήκες συνεχούς υψηλής εδαφικής υγρασίας, ιδιαίτερα την περίοδο της βολβοποίησης μέχρι την ωρίμανση, ο βολβός συχνά σαπίζει. Σε βαριά εδάφη η φύτευση όσο και η καταπολέμηση των ζιζανίων μπορεί να είναι προβληματική. Η καλλιέργεια του σκόρδου θα πρέπει να ενταχθεί σε ένα σύστημα αμειψισποράς με άλλες καλλιέργειες κηπευτικών, βιομηχανικών φυτών ή δημητριακών.

Ο βολβός είναι έτοιμος να συγκομιστεί 6-8 μήνες μετά την φύτευση, όταν το υπέργειο μέρος του φυτού αρχίσει να ξηραίνεται και από όρθια θέση γέρνει προς το έδαφος ή όταν οι σκελίδες διαχωρίζονται από το βολβό. Καθυστέρηση στη συγκομιδή μπορεί να προκαλέσει ζημιά στους εξωτερικούς χιτώνες του βολβού. Μετά την εξαγωγή τα φυτά παραμένουν σε σωρούς για μεθωρίμανση, περίπου μία εβδομάδα ή και περισσότερο, εφόσον βέβαια οι βολβοί καλύπτονται με τα ξηρά φύλλα ή με άλλο υλικό για να αποφεύγεται το κάψιμο των βολβών από τον ήλιο. Θα πρέπει επίσης να λαμβάνεται υπόψιν ο εξαερισμός των σωρών. Εάν κατά την εξαγωγή επικρατεί βροχερός καιρός θα πρέπει να αποθηκεύονται σε καλυμμένους χώρους, μακριά από την υγρασία. Μετά την περίοδο της μεθωρίμανσης ακολουθεί η διαλογή. Η διαλογή είναι αναγκαία για να απομακρύνονται οι τραυματισμένοι και οι προσβεβλημένοι βολβοί και να γίνει ο διαχωρισμός σε μεγέθη. Στην Ελλάδα

γίνεται χονδρική διαλογή. Φυτά που φέρουν όμοιο μέγεθος βολβού πλέκονται σε πλεξίδες ή δένονται σε δεσμίδες για να διοχετευτούν στην αγορά ή μεταφέρονται στην αποθήκη. Όταν το σκόρδο προσδιορίζεται για κατανάλωση μπορεί να αποθηκεύεται για μερικούς μήνες σε συνηθισμένες θερμοκρασίες αποθήκης, αλλά για παρατεταμένη αποθήκευση θα πρέπει να διατηρείται σε θερμοκρασία γύρω στους 0°C και σε υγρασία κάτω του 60% Σ.Χ.(σχετικά ξηρή ατμόσφαιρα). Το σκόρδο εάν αποθηκευτεί σε υγρασία πάνω από 70% Σ.Υ., ανεξάρτητα της θερμοκρασίας που επικρατεί, υπάρχει πιθανότητα να αναπτυχθεί μούχλα στο βολβό και να παραχθούν ρίζες. Οι σκελίδες βλαστάνουν γρήγορα σε θερμοκρασία αποθήκευσης 5° C, έτσι οι θερμοκρασίες γύρω από το επίπεδο αυτό θα πρέπει να αποφεύγονται. Οι βολβοί μπορούν να αποθηκευτούν σε θερμοκρασία πάνω από 25° C αλλά στις θερμοκρασίες αυτές το σκόρδο συρρικνώνεται και χάνει αρκετό βάρος. Το σκόρδο μπορεί να αποθηκευτεί για 6-7 μήνες.

Οι αποδόσεις στην Ελλάδα κυμαίνονται από 0.5-1 τον./στρέμμα ή εάν η απόδοση εκφραστεί σε αριθμό βολβών ανέρχεται σε 20-30.000 τον./στρέμμα. Στην Καλιφόρνια αναφέρονται αποδόσεις 1,5-1,75 τον./στρέμμα. (Ολύμπιος Χ., 1994)

Οι εμπορικές μορφές του σκόρδου στην αγορά περιλαμβάνουν :

- Σκελίδες σκόρδου
- Φρέσκος χυμός
- Φρέσκα υδατικά και αλκοολικά εκχυλίσματα
- Λυοφιλοποιημένες σκόρες (αφυδατωμένο προϊόν σε χαμηλή θερμοκρασία)
- Αποσταγμένα έλαια (Σκορδέλαιο)
- Αλκοολικό εκχύλισμα σκόρδου με την τεχνική της βραδείας ωρίμανσης (περίπου 20 μήνες, Kyolic ή Aged Garlic)
- Αλκοολικά εκχυλίσματα με χρήση υπερήχων

Ποιοτικά χαρακτηριστικά κατά ISO 5560: 1997

Οργανοληπτικά Χαρακτηριστικά

Αφυδατωμένοι βολβοί ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις του International Standard και με επανυδάτωση του βολβού αποκτά ξανά τα χαρακτηριστικά του φρέσκου σκόρδου.

Χρώμα

Το χρώμα του βολβού θα είναι χαρακτηριστικό της ποικιλίας και κυμαίνεται σε αποχρώσεις του λευκού. Το προϊόν αυτό θα είναι απαλλαγμένο από καμένα και ψημένα ίχνη.

Οσμή

Μετά από επανυδάτωση, το σκόρδο θα έχει την χαρακτηριστική πικάντικη οσμή, απελευθερωμένο από ξένες όπως σωματίδια ταγγισμένα, μουχλιασμένα ή καμένα.

Γεύση

Η γεύση του σκόρδου αξιολογείται μετά από την επανυδάτωση του, απαλλαγμένο από σωματίδια καμένα ή μουχλιασμένα.

Εξωγενείς Ύλες

Φυτικό υλικό όπως οι ρίζες και ο φλοιός είναι καθορισμένο (ISO 927) και δεν πρέπει να ξεπερνά τα 0.5% (m/m). Απαλλαγμένο από έντομα, μούχλα κ.α.

Συσκευασία και Σήμανση

Το αποξηραμένο σκόρδο θα αποθηκεύεται σε καθαρούς, άθικτους και στεγνούς περιέκτες, κατασκευασμένα από υλικό που δεν επηρεάζει το προϊόν και το προστατεύει από τον ήλιο και την υγρασία.

Πάνω στη συσκευασία θα αναγράφονται:

- i. το όνομα του προϊόντος, βοτανική και εμπορική ονομασία
- ii. το όνομα και διεύθυνση του παραγωγού-παρασκευαστή
- iii. ο κωδικός
- iv. το καθαρό βάρος
- v. η χώρα παραγωγής
- vi. οποιαδήποτε άλλη πληροφορία που αφορά τον αγοραστή πχ έτος παραγωγής και ημ/νία συσκευασίας
- vii. η αναφορά στο ISO
- viii. η αναφορά στα συντηρητικά αν περιέχονται

1.4. Βοτανική Περιγραφή

Το διεθνές όνομα *garlic* (σκόρδο) προέρχεται από τις Άγγλο-σαξονικές λέξεις *gar* (δόρυ) και *lac* (φυτό) που αναφέρεται στο σχήμα του φυλλώματος. Στον ακόλουθο πίνακα ακολουθεί η βοτανική ταξινόμηση του σκόρδου.

Βασίλειο	Plantae
Κλάση	Angiosperms
Υποκλάση	Monocotyledoneae
Τάξη	Liliales
Οικογένεια	Liliaceae
Υποοικογένεια	Allioideae
Γένος	<i>Allium</i>
Είδος	<i>A. sativum</i>
Κοινή ονομασία	Σκόρδο καλλιεργούμενο

Φυσιολογικά χαρακτηριστικά

Είναι πώδες, ετήσιο, μονοκοτυλήδονο, βολβώδες φυτό, συγγενές με το κρεμμύδι και το πράσο. Μοιάζει με το κοινό κρεμμύδι στο μέγεθος και τις συνήθειες ανάπτυξης του φυτού αλλά διαφέρει όσον αφορά τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού και του βολβού. Το γένος *Allium* περιέχει γύρω στα 450 είδη συμπεριλαμβανομένου ποικιλιών σχοινόπρασου, κρεμμυδιού και πράσου.

Τα φύλλα του σκόρδου είναι διατεταγμένα σε δύο σειρές και έχουν λεπτά και πλήρη ελάσματα, λογχοειδή, επίπεδα, σε αντίθεση με τα κυλινδρικά κούφια του κρεμμυδιού.

Το φυτό σχηματίζει ψευδοστέλεχος με τις αλληλεπικαλυπτόμενες κυλινδροειδείς βάσεις των φύλλων του όπως στο κρεμμύδι.

Ανθικά στελέχη δεν σχηματίζουν όλες οι ποικιλίες του σκόρδου και σε όλες τις κλιματικές περιοχές. Στις ποικιλίες που σχηματίζονται ανθικά στελέχη αυτά είναι πλήρη, συνεκτικά, ισοδιαμετρικά και διαφέρουν σημαντικά από τα ανθικά στελέχη του κρεμμυδιού. Στο σκόρδο τα ανθικά στελέχη παράγουν στην κορυφή τα ανθοταξικά βολβίδια (εναέρια βολβίδια) που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον πολλαπλασιασμό του φυτού, εφόσον έχουν κάποιο σχετικά μεγάλο μέγεθος. Μερικές καινούριες ποικιλίες σκόρδου, πιθανόν να παράγουν ανθικά στελέχη που στην ανθοταξία, η οποία είναι σκιάδιο, να σχηματίζουν λευκά άνθη, εξαμερή, ανάμικτα με τα βολβίδια, αλλά τα άνθη αυτά δεν σχηματίζονται ευκρινώς, είναι κατά το πλείστον στείρα, και δεν παράγουν σπόρους. Το σκόρδο στην Ελλάδα και γενικά στα εύκρατα κλίματα, σπάνια σχηματίζει ανθικά στελέχη και άνθη, και γι' αυτό πολλαπλασιάζεται αποκλειστικά με σκελίδες (βολβομερή).

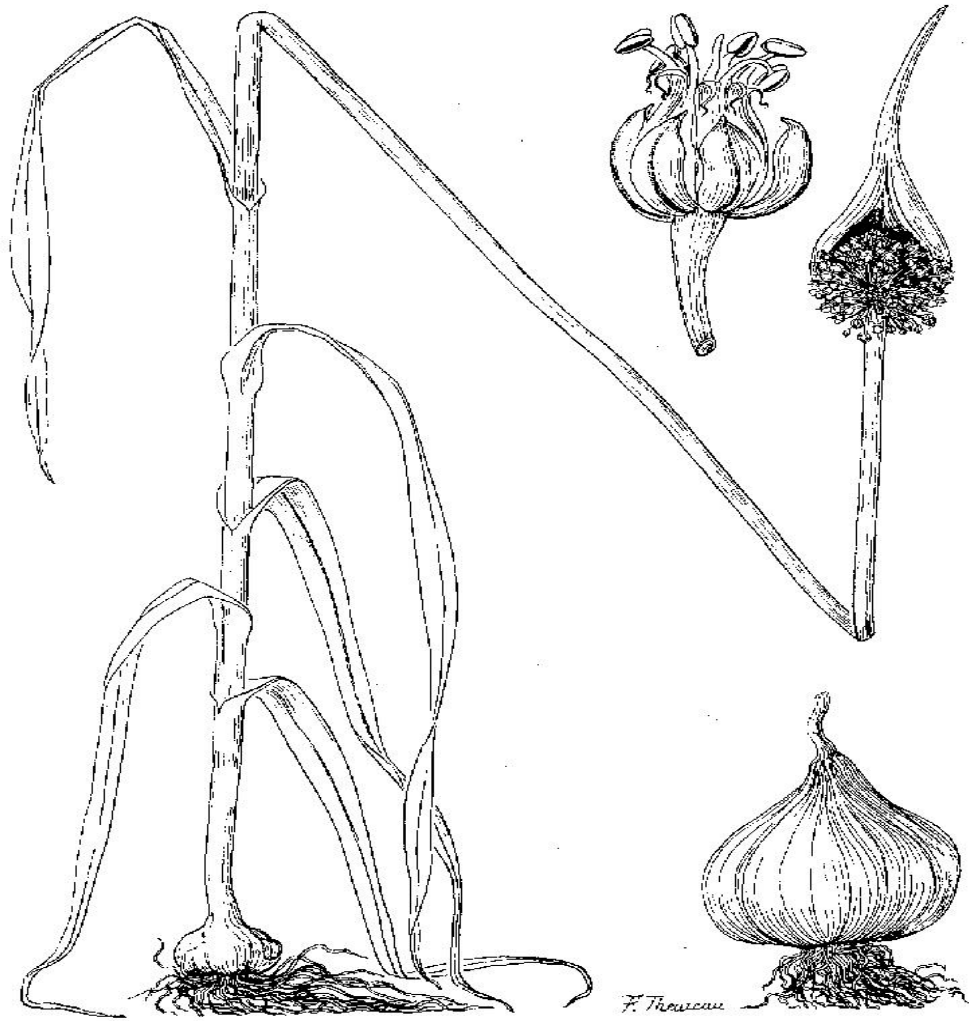


Εικόνα 1.2: Ανθοκεφαλή του σκόρδου

Σε αντίθεση με το κρεμμύδι ο βολβός αποτελείται από μερικά (περίπου δέκα) επιμέρους μέρη τα βολβομερή ή σκελίδες ή πυρήνες, οι οποίες περιβάλλονται από πολύ λεπτούς λευκούς ασημίζοντες ή ρόδινης απόχρωσης μεμβρανώδεις χιτώνες. Το σχήμα του βολβού είναι σφαιρικό και διαφοροποιείται στις διάφορες ποικιλίες, ενώ η επιφάνειά του είναι σχετικά λεία. Οι σκελίδες δημιουργούνται σταδιακά μέσα στον άξονα των εσωτερικών φύλλων και τα εξωτερικά φύλλα διαμορφώνονται στους χιτώνες που περιβάλλουν το βολβό. Κάθε σκελίδα αποτελείται από δύο ώριμα φύλλα και ένα βλαστικό οφθαλμό. Το εξωτερικό φύλλο μετατρέπεται σε ένα ξηρό χιτώνα που έχει αποβάλλει το έλασμα. Το δεύτερο φύλλο έχει παχυνθεί πολύ και καταλαμβάνει το πλείστο του μεγέθους της σκελίδας και έχει και αυτό αποβάλλει το έλασμα. Ο βλαστικός οφθαλμός αποτελείται από ένα βλαστητικό φύλλο, το οποίο δεν έχει έλασμα και από μια-δύο καταβολές φύλλων, που όμως βρίσκονται σε στάδιο ανάπαυσης, λίγο μετά την ωρίμανση του βολβού. Μετά το στάδιο ανάπαυσης, οι σκελίδες παραμένουν σε λήθαργο, μέχρι να δημιουργηθούν συνθήκες κατάλληλες για φύτευμα και ανανέωση βλάστησης.

Το φυτό φέρει αρκετές ρίζες θυσσανώδεις που αναπτύσσονται σε αρκετό βάθος (45-50εκ.). Έχει σχετικά περισσότερο ανεπτυγμένο ριζικό σύστημα σε σύγκριση με το κρεμμύδι, που το καθιστά λιγότερο απαιτητικό στη συχνότητα ποτίσματος. Ο μεγαλύτερος όγκος του ριζικού συστήματος αναπτύσσεται σε επιφανειακό στρώμα του εδάφους.

Allium sativum L.



Εικόνα 1.4: Βοτανικοί χαρακτήρες του *allium sativum*

1.5. Χημική Σύσταση

Η γενική σύσταση του σκόρδου φαίνεται στον Πίνακα 1.3 που ακολουθεί.. Το σκόρδο περιέχει ως επί το πλείστον νερό (65%) και ο βολβός του ξηρού του βάρους περιέχει φρουκτόζες (υδατάνθρακες), καθώς και σουλφιδικά συστατικά, πρωτεΐνες, ίνες, και ελεύθερα αμινοξέα (Lawson 1996). Το σκόρδο επίσης περιλαμβάνει υψηλά επίπεδα σαπώνων, φωσφόρου, ποτάσας, θείου καθώς και ίχνη σεληνίου, βιταμινών Α και C, ασβεστίου, μαγνησίου, ιωδίου, μαγγανίου και σύμπλεγμα βιταμινών Β.

Τα μοναδικά σουλφιδικά χαρακτηριστικά που περιέχει το σκόρδο, στα οποία οφείλεται η χαρακτηριστική του οσμή και γεύση, το καθιστούν ιδιαίτερα ενδιαφέρον ως προς την βιολογική του δραστηριότητα. Πάνω από το 90% των ερευνών γύρω από τις αρχές της δράσης του έχουν επικεντρωθεί στα σουλφιδικά του συστατικά.

Λόγω του μεγάλου ενδιαφέροντος προς την μελέτη των ιδιοτήτων του σκόρδου με το πέρασμα των χρόνων εμπορικά σκευάσματα σκόρδου είναι πλέον διαθέσιμα για άμεση εφαρμογή μελετών. Σε αυτά περιλαμβάνονται ωριμασμένα εκχυλίσματα σκόρδου (GEX: Aged garlic extract) (Rahman 2003).

Πίνακας 1.3: Γενική σύσταση σκόρδου

Συστατικό	Ποσοστό%(νωπού βάρους)
Νερό	62-68
Υδατάνθρακες	26-30
Πρωτεΐνες	1.5-2.1
Αμινοξέα	1-1.5
Σουλφοξίδια κυστεΐνης	0.6-1.9
γ-Γλουταμινοκυστεΐνες	0.5-1.6
Λιπίδια	0.1-0.2
ΐνες	1.5
Ολικά σουλφιδικά συστατικά	1.1-3.5
Θείο	0.23-0.37
Άζωτο	0.6-1.3
Μεταλλικά στοιχεία	0.7
Βιταμίνες	0.015
Σάπωνες	0.04-0.11
Ολικά λιποδιαλυτά συστατικά	0.15
Ολικά υδατοδιαλυτά συστατικά	97

1.6. Αιθέριο Έλαιο

Ως αιθέριο έλαιο ονομάζεται το προϊόν που παραλαμβάνεται από την απόσταξη με ατμό, με υδροαπόσταξη ή με έκθλιψη, ενός φυτού ή τμήματός του. Ο παραπάνω ορισμός έχει γενικευτεί σήμερα και χρησιμοποιείται για όλα τα παραλαμβανόμενα κλάσματα διαφόρων τεχνικών, τα οποία λανθασμένα κατατάσσονται ως αιθέρια έλαια. Γενικότερα είναι πιο σωστό να τα χαρακτηρίζουμε ως πτητικά κλάσματα του φυτικού υποστρώματος και τον όρο αιθέριο έλαιο να τον χρησιμοποιούμε ειδικά για δείγματα που παραλαμβάνονται με έκθλιψη ή με απόσταξη (Ραγκούση 2009).

Τα αιθέρια έλαια εκχυλίζονται από φυτά που αναπτύσσονται σε θερμές περιοχές του πλανήτη, όπως η Μεσόγειος και οι τροπικές χώρες και σε συνθήκες περιβάλλοντος (20-30° C και 0,1 MPa), είναι υγρά και πτητικά. Πρόκειται για διαυγείς, συνήθως άχρωμες ουσίες, φυσικές και πολύπλοκες ενώσεις, που είναι διαλυτές σε λίπη και οργανικούς διαλύτες και με πυκνότητα, κατά κύριο λόγο, μικρότερη του νερού. Διακρίνονται για το δυνατό τους άρωμα και σχηματίζονται από τα αρωματικά φυτά ως δευτερογενείς μεταβολίτες. Η σύνθεση τους μπορεί να γίνει σε όλα τα τμήματα του φυτικού υλικού, όπως άνθη, φύλλα, σπόρους, φρούτα, ρίζες, μίσχο, φλοιό και κλαδιά. Αποθηκεύονται σε κοιλότητες, πόρους και κύτταρα της επιδερμίδας και το τρίχωμα όπου απαντώνται με τη μορφή σταγονιδίων.

Το έλαιο του σκόρδου περιέχει κατά βάση ενώσεις του θείου (σουλφίδια), με κυριότερες το διαλλυλο δι- και τρισουλφίδιο όπως και το μεθυλοαλλυλο τρισουλφίδιο (Σχήμα 2). Η μεγάλη απόδοση του σκόρδου σε αιθέριο έλαιο, όπως και η υψηλή περιεκτικότητα του αιθέριου ελαίου σε αυτές τις ενώσεις είναι ένας άλλος δείκτης της αξίας του σκόρδου, δεδομένης της μεγάλης δραστηριότητας αυτών των ουσιών.

Όπως προαναφέρθηκε στο σκόρδο, καθώς και άλλα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, τα πτητικά του συστατικά δεν υπάρχουν στον βολβό του αλλά αντίθετα δημιουργούνται με την διαδικασία που ακολουθεί.

Με την σύνθλιψη ή την κοπή μιας σκελίδας απελευθερώνονται μια σειρά από άοσμα σουλφόξυ-παράγωγα του αμινοξέος κυστεΐνη με κυριότερους

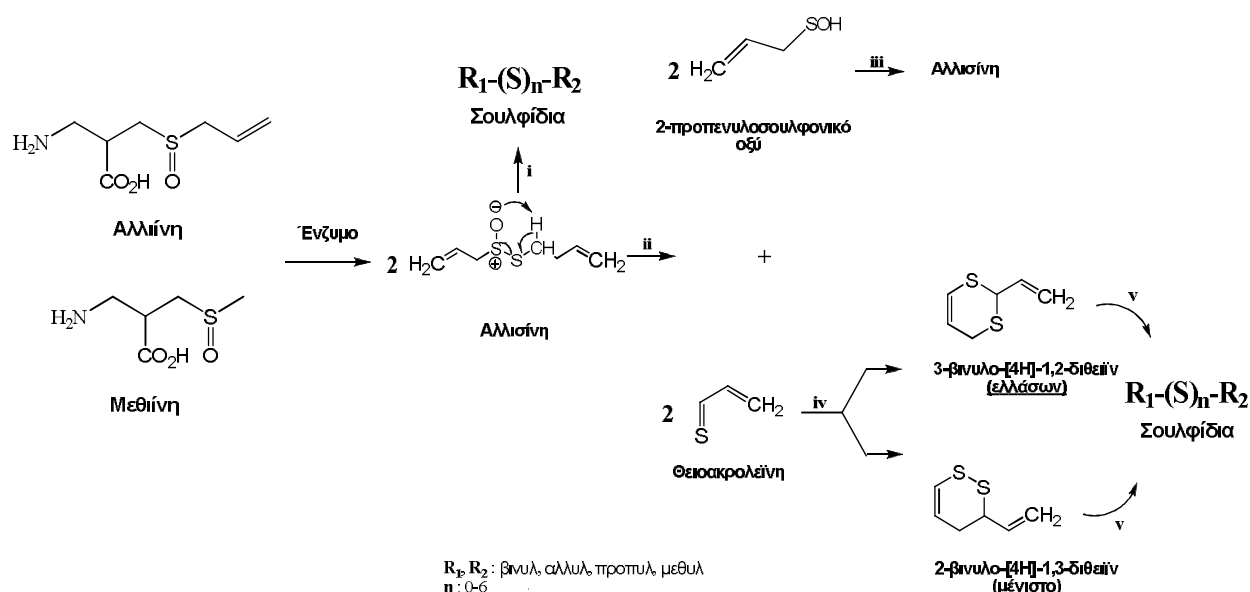
αντιπροσώπους την Αλιίνη και Μεθίνη, τα οποία μεταβολίζονται ταχύτατα από το ένζυμο αλλινάση (τα αμινοξέα και το ένζυμο βρίσκονται σε διαφορετικά σημεία της σκελίδας) ώστε να παράγουν την αλλισίνη και άλλες οργανικές ενώσεις του θείου, που είναι η πηγή της χαρακτηριστικής μυρωδιάς του σκόρδου.

Η αλλισίνη, οργανική ένωση του θείου και εξαιρετικά θερμοευαίσθητη, μετατρέπεται επίσης ταχύτατα σε μια σειρά από σουλφίδια, ενώσεις οι οποίες περιέχουν από ένα (1) έως έξι (6) άτομα θείου (Σχήμα 1). Όλες οι παραπάνω ουσίες μαζί με τους υπόλοιπους δευτερογενείς μεταβολίτες του σκόρδου (σκορδινίνες, στεροειδή, τερπενοειδή, флаβονοειδή και άλλες φαινόλες) ευθύνονται για όλο το φάσμα των θεραπευτικών του δράσεων όπως αυτές παρουσιάζονται και έχουν διερευνηθεί.

1.7. Βιοδραστικότητα και Χρήσεις

Πειραματικά δεδομένα έχουν αποδείξει την πολύ ισχυρή αντιβιοτική δράση της ένωσης αλλισίνη. Αυτό σε συνδυασμό με τον μικρό χρόνο «ζωής» της αποσαφηνίζει τη χρήση της από το ίδιο το φυτό, ως μέρος του χημικού του οπλοστασίου σε περίπτωση προσβολής του ιστού. Έτσι το φυτό μπορεί να αμυνθεί από εξωτερικές επιμολύνσεις χωρίς την ίδια στιγμή να αυτοκαταστρέφεται ο ιστός του από τον ίδιο τον αμυντικό του μηχανισμό.

Εκτός από την αλλισίνη, μεγάλη βαρύτητα έχει δοθεί και στην μελέτη των ιδιοτήτων των σουλφιδίων, τα οποία άλλωστε στην πραγματικότητα καταναλώνονται με την μαγειρεμένη τροφή. Ως αποτέλεσμα, έχει αποδειχθεί ερευνητικά τόσο η ευεργετική τους δράση ως μέσο πρόληψης αλλά και καταπολέμησης διαφόρων ανθρώπινων νοσημάτων όσο και η δραστικότητά τους στην καταπολέμηση εντόμων, όπως για παράδειγμα το κουνούπι (έντομο υγειονομικής σημασίας).



Σχήμα 1.1: Σχηματισμός συστατικών αιθέριου ελαίου του σκόρδου.

Οι ευεργετικές ιδιότητες του σκόρδου συνοψίζονται στα εξής:

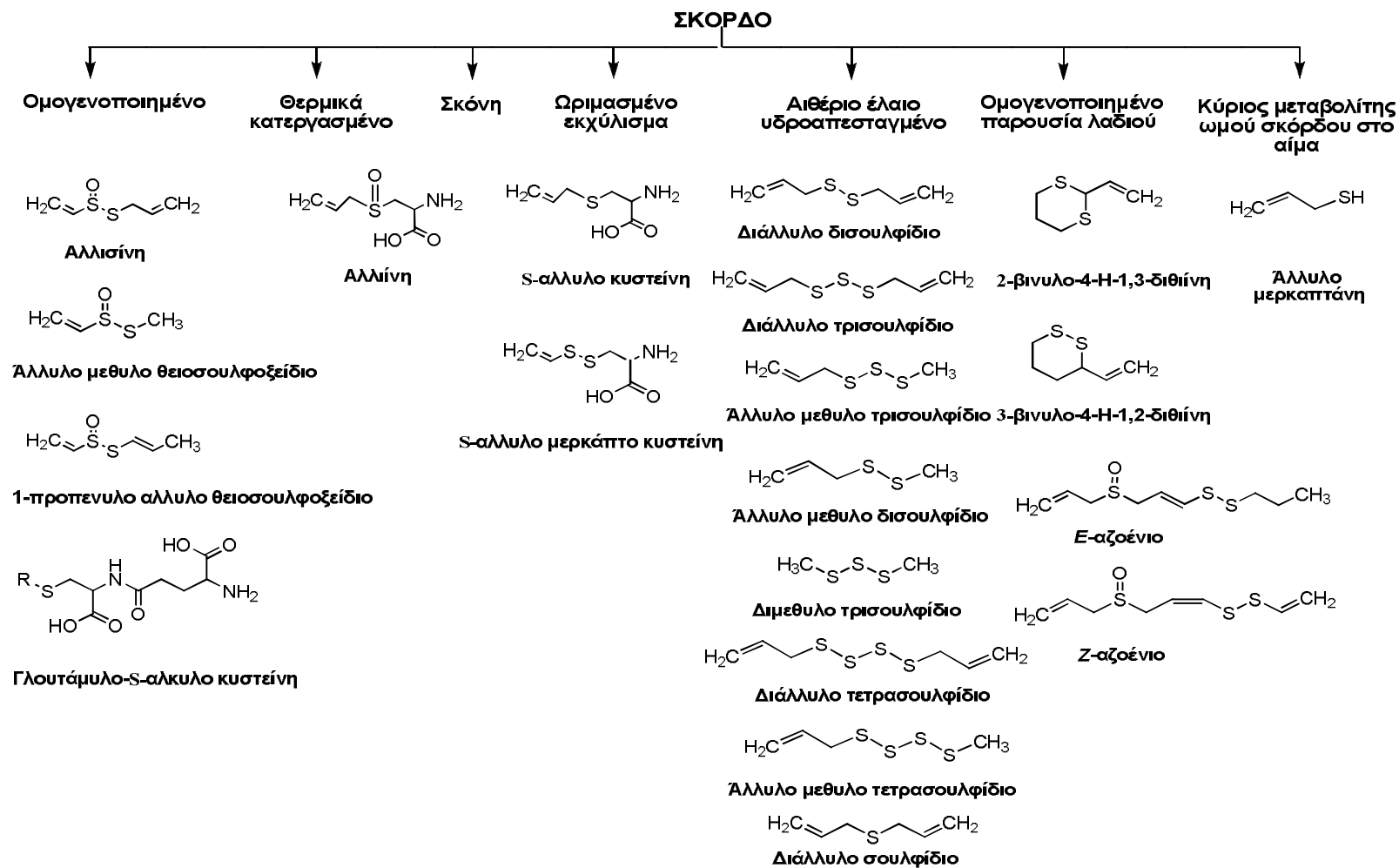
Γενική Αντιμικροβιακή Δράση

- Διαθέτει ευρύ αντιβιοτικό φάσμα έναντι gram-θετικών και gram-αρνητικών βακτηρίων
- Παρεμπόδιση των εντεροτοξικών στελεχών της E. Coli όπως και άλλων παθογόνων εντερικών βακτηριδίων, υπεύθυνων για διαρροϊκά σύνδρομα στον άνθρωπο και στα ζώα.
- Συνδυασμός εκχυλισμάτων σκόρδου με αντιβιοτικά σε μερικώς ή πλήρως συνεργικό αποτέλεσμα.
- Ικανοποιητική δραστηριότητα κατά της φυματίωσης
- Προστατευτική δράση κατά του καρκίνου του στομάχου χάρη στην παρεμπόδιση του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού (*Helicobacter pylori*), το οποίο θεωρείται υπεύθυνο για αυτή την πάθηση. Αποτελεσματική δοσολογία : 5 mg/ml από υδατικό εκχύλισμα σκόρδου δηλαδή μια (1) σκελίδα σκόρδου ανά ημέρα.

Πρόσθετα Τροφίμων

- Προτείνεται ως εναλλακτική στρατηγική στην αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας που παρουσιάζουν τα μικρόβια στα κλασικά αντιβιοτικά λειτουργώντας συνεργιστικά με αυτά στα σιτηρέσια των ζώων
- Εφαρμόζεται στην συντήρηση των τροφίμων (εμποδίζει την αύξηση των μικροοργανισμών όπως και των τοξινών που παράγονται από αυτά) στον αντίποδα των χημικών συντηρητικών

Στο Σχήμα 1.2 δίνονται οι κυριότεροι τρόποι επεξεργασίας άρα και κατανάλωσης του σκόρδου σε σχέση με τα κυριότερα συστατικά που περιέχονται σε αυτά. Σε κάθε περίπτωση, βιβλιογραφικά, η ευεργετική δράση των προϊόντων επεξεργασίας του σκόρδου έχει συνδεθεί άμεσα με την ύπαρξη των συστατικών όπως αυτά παρουσιάζονται.



Σχήμα 1.2: Οι κυριότερες οργανοθειικές ενώσεις όπως αυτές εμφανίζονται στα διάφορα προϊόντα κατεργασίας του Σκόρδου

Σε κάθε περίπτωση χρήσης και εφαρμογής του σκόρδου ή των προϊόντων κατεργασίας αυτού είναι ξεκάθαρο γεγονός ότι η εμπορική τους αξία είναι συνάρτηση της γνώσης της περιεκτικότητας τους (χημικής σύστασης). Σύμφωνα με τα παραπάνω, η διαφοροποίηση δειγμάτων σκόρδου σχετίζεται κυρίως με το συνολικό τους περιεχόμενο σε Αλλιλίνη και Μεθίνη από τις οποίες στη συνέχεια προέρχονται όλες οι υπόλοιπες θειοενώσεις. Προκειμένου να υπολογισθεί η περιεκτικότητα του σκόρδου σε αυτά τα σουλφόξυ-άμινο παράγωγα όλες οι βιβλιογραφικές προσεγγίσεις περιλαμβάνουν την αδρανοποίηση της ακαριαίας ενζυμικής αντίδρασης μετατροπής αυτών στην ασταθή αλλισίνη (Σχήμα 1.1).

Η επιθυμητή διαφοροποίηση μπορεί επίσης να εκφραστεί στις ενώσεις που είναι τα τελικά παράγωγα θερμικής διάσπασης της αλλισίνης που είναι τα σουλφίδια. Τα σουλφίδια περιέχονται στο αιθέριο έλαιο του σκόρδου το οποίο παράγεται και απομονώνεται με την τεχνική της απόσταξης.



1.8. Παραλαβή και Ανάλυση Αιθέριου Ελαίου

Η παραλαβή των αιθέριων (πτητικών) ουσιών που περιέχονται σε φυτικούς ιστούς χρειάζεται ειδικές προφυλάξεις και επιτυγχάνεται με τους εξής τρόπους:

- Απόσταξη με υδρατμούς (Steam Distillation, SD)
- Μικρό απόσταξη με Υδρατμούς Εκχύλιση με Οργανικό Διαλύτη (Micro Steam Distillation Extraction, MSDE).
- Απομόνωση από το χώρο πάνω από το φυτό.(Head Space, HD).
- Απόσταξη με κενό (Vacuum Head Space Distillation, VHSD)
- Εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά (Super Critical Liquids)

Οι κλασσικές μέθοδοι απομόνωσης των πτητικών συστατικών, που είναι υπεύθυνα για το άρωμα ενός φυτού, βασίζονται κυρίως στην εκχύλιση με διαλύτη και στην απόσταξη με υδρατμούς. Βασικό μειονέκτημα των μεθόδων αυτών είναι, πολλές φορές, η δημιουργία συστατικών που δεν αντιπροσωπεύουν το πραγματικό άρωμα του φυτού. Ευαίσθητες ενώσεις μπορεί να υποβαθμιστούν ή να καταστραφούν κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της απομόνωσης. (Πολυσίου 2008)

Η απόσταξη με υδρατμούς εφαρμόζεται για παραλαβή αιθέριων ελαίων, των οποίων τα συστατικά είναι ενώσεις σχετικά σταθερές, όπως το έλαιο της λεβάντας, της δάφνης και της μέντας. Αυτή η μέθοδος δεν είναι επιτυχής στις περιπτώσεις, όπου η παραμονή του φυτικού υλικού σε υψηλή θερμοκρασία και πίεση για αρκετή ώρα μπορεί να προκαλέσει σημαντικές μεταβολές στη δομή των περιεχομένων ευπαθών ενώσεων, όπως π.χ. υδρόλυση, οξείδωση, αφυδάτωση τριτοταγών αλκοολών, μετάθεση ή πολυμερισμό. Οι μεταβολές αυτές αλλοιώνουν την ποιότητα του αιθέριου ελαίου. Γενικά είναι επιθυμητό να εφαρμόζονται υψηλές θερμοκρασίες για μικρό χρόνο ή χαμηλή θερμοκρασία υπό ελαττωμένη πίεση.

Η μέθοδος της εκχύλισης με πτητικούς αδρανείς διαλύτες εφαρμόζεται κυρίως στα ευαίσθητα αρώματα. Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται στην περίπτωση αυτή είναι συνήθως ο πετρελαϊκός αιθέρας, σπανιότερα ο αιθέρας, ενώ για ευαίσθητα ή μεγάλης αξίας αιθέρια έλαια χρησιμοποιείται το υγροποιημένο βουτάνιο ή ακόμα και το υγροποιημένο διοξείδιο του άνθρακα. Μετά την εκχύλιση και την απομάκρυνση του διαλύτη υπό ελαττωμένη πίεση, παραμένει μια ημιστερεά ελαιώδης αρωματική μάζα, που ονομάζεται concrete. Το concrete περιέχει εκτός από τις αρωματικές ύλες, σημαντικές ποσότητες κηρών, χρωστικών και πηκτινών και είναι μερικώς διαλυτό στην αιθανόλη. Κατεργασία της μάζας αυτής με θερμή αιθανόλη, ψύξη και διήθηση, δίνει ένα διαυγές αλκοολικό διάλυμα. Μετά την απομάκρυνση της αιθανόλης υπό ελαττωμένη πίεση, λαμβάνεται το λεγόμενο απόλυτο αιθέριο έλαιο (absolute), το οποίο χρησιμοποιείται στην αρωματοποιία. Με τη μέθοδο αυτή παραλαμβάνονται τα αρώματα των λουλουδιών όπως π.χ. του γιασεμιού, του υακίνθου, της γαρδένιας κλπ.

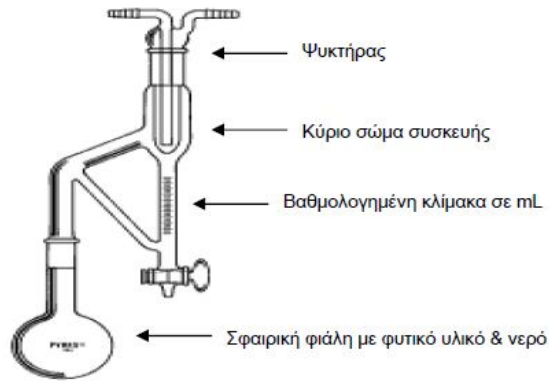
Με την ψυχρή συμπίεση παραλαμβάνονται τα αιθέρια έλαια των φυτικών ιστών, οι οποίοι έχουν ελαιώδεις θύλακες όπως π.χ. ο φλοιός των εσπεριδοειδών. Το έλαιο που λαμβάνεται με αυτή τη μέθοδο περιέχει μεγάλα ποσά κήρων, που απομακρύνονται με κατεργασία με αιθανόλη. (Ραγκούση 2009)

Προκειμένου να μελετηθεί η χημική σύσταση των πτητικών ουσιών του σκόρδου, μετά την παραλαβή του αιθέριου ελαίου και των αντίστοιχων υδρολυμάτων, σύμφωνα με πειράματα τα οποία προηγήθηκαν του κύριου όγκου των παραλαβών ακολουθείτε συνήθως είτε η μέθοδος της υδροαπόσταξης σε συσκευή τύπου Clevenger είτε η μέθοδος της απόσταξης-μικροεκχύλισης σε συσκευή τύπου Lickens-Nickelson.

Με συντομία η μέθοδος της υδροαπόσταξης περιλαμβάνει την εξής πορεία:

Οι δημιουργούμενοι από τη θέρμανση υδρατμοί συμπαρασύρουν τα πτητικά συστατικά του δείγματος στον ψυκτήρα, όπου συμπυκνώνονται και καταλήγουν στο σωλήνα του κύριου μέρους της συσκευής Clevenger σχηματίζοντας διπλή στιβάδα (πάνω στιβάδα: αιθέριο έλαιο, κάτω στιβάδα: υδατική φάση). Μέρος της

υποκείμενης υδατικής φάσης επιστρέφει στη σφαιρική φιάλη που περιέχει το φυτικό υλικό, ενώ παράλληλα παράγεται νέα ποσότητα ατμών. Η όλη διαδικασία συνεχίζεται μέχρι να ολοκληρωθεί η συλλογή του αιθέριου ελαίου. Μετά το τέλος της αποστάξεως το έλαιο αφήνεται να ψυχθεί , ενώ ο όγκος του μετριέται στη διαβαθμισμένη περιοχή της παγίδας. Το ποσό του αιθέριου ελαίου εκφράζεται σε mL/100g ξηρού φυτικού υλικού. Εντός της σφαιρικής φιάλης παραμένει εν τέλει το αποσπασμένο φυτικό υλικό και το υδατικό εκχύλισμα, ενώ στα προϊόντα της απόσταξης είναι το αιθέριο έλαιο και η υποκειμενική σε μορφή γαλακτώματος, υδατική φάση, η οποία όμως πλέον περιέχει και μέρος των συστατικών του αιθέριου ελαίου που καλείται υδρόλυμα.



Σχήμα 1.3: Συσκευή υδροαπόσταξης Clevenger

2. Αντιοξειδωτικά

2.1 Εισαγωγή

Μεγάλο προβληματισμό για το σύγχρονο άνθρωπο προκαλεί η συχνή εμφάνιση αρτηριακών ασθενειών και καρκίνων. Η επιστημονική κοινότητα γνωρίζει σήμερα ότι υπάρχει μια στενή σχέση μεταξύ των ασθενειών αυτών και της παρουσίας ελεύθερων ριζών στον ανθρώπινο οργανισμό. Ωστόσο, υπάρχουν ακόμα πολλά αναπάντητα ερωτήματα σχετικά με την ακριβή τους συσχέτιση, η απάντηση των οποίων πιθανότατα στην παρούσα ή στις επόμενες δεκαετίες να συντελέσει στον περιορισμό της εμφάνισής τους.

Παρά το γεγονός ότι πολλές ουσίες έχουν μελετηθεί για την αντιοξειδωτική τους δράση *in vitro*, η εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με το ρόλο τους και η σημασία τους για τον ανθρώπινο οργανισμό, αποτελεί έργο εξαιρετικά δυσχερές. Απαιτείται η κατανόηση των μηχανισμών, με τους οποίους βλάπτονται οι ιστοί από τις ελεύθερες ρίζες, καθώς και της αλληλουχίας των αντιδράσεων, με τις οποίες οι τελευταίες σχηματίζονται *in vivo* (Μπόσκου, 2004).

2.2 Παραγωγή ελεύθερων ριζών και μηχανισμός δράσης τους

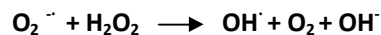
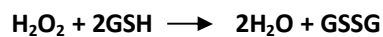
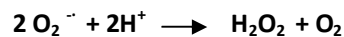
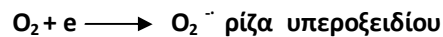
Σήμερα είναι γενικότερα αποδεκτό ότι κατά τη διάρκεια του κανονικού μεταβολισμού στο ανθρώπινο σώμα, δημιουργούνται ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (*free radicals*) και άλλες οξυγονούχες ομάδες που μετατρέπονται σε ενεργά συστατικά (*R.O.S.*), ικανά να βλάψουν το DNA, τις πρωτεΐνες, τους υδατάνθρακες και τα λιπίδια (Μπόσκου, 2004).

Όταν ο αριθμός των ελεύθερων ριζών που σχηματίζεται είναι μεγάλος, τότε αυτές μπορούν να υπερνικήσουν προστατευτικά ένζυμα, όπως είναι η καταλάση και η υπεροξειδάση, με συνέπεια να προκαλούν καταστροφικές κυτταρικές επιδράσεις (π.χ. απόπτωση), οξειδώνοντας μεμβράνες λιπιδίων, πρωτεΐνες, DNA, διακόπτοντας ακόμα και την κυτταρική αναπνοή (Antolovich et al., 2002).

Η οξειδωση είναι μία διαδικασία η οποία επηρεάζει ακόμα και τα τρόφιμα, στα οποία αποτελεί και την κύρια αιτία χημικής αλλοίωσης, οδηγώντας το προϊόν σε τάγγιση ή μείωση της θρεπτικής ποιότητας, του χρώματος, του αρώματος, της υφής και της ασφάλειας του. Εκτιμάται ότι η μισή από την παγκόσμια παραγωγή φρούτων και λαχανικών καταστρέφεται, λόγω των αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα μετά την συγκομιδή και οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα την πλήρη αλλοίωση των προϊόντων αυτών. Σε όλες αυτές τις επιδράσεις των υπερβολικών οξειδώσεων, υπάρχουν κάποιοι αμυντικοί μηχανισμοί, οι οποίοι αφορούν κυρίως δράσεις διαφόρων ουσιών που ονομάζονται αντιοξειδωτικά συστατικά. (Antolovich et al., 2002).

Αντιδράσεις σχηματισμού ελεύθερων ριζών

Η σειρά των αντιδράσεων που μπορούν να προκαλέσουν το σχηματισμό επικίνδυνων ελεύθερων ριζών είναι:



Αρχικά σχηματίζεται μία ρίζα σουπεροξειδίου, η οποία ανάγεται με την αντίστοιχη δισμουτάση προς υπεροξείδιο του υδρογόνου. Το τελευταίο μπορεί να απομακρυνθεί με την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Αυτοί οι αμυντικοί μηχανισμοί του σώματος όμως, δεν επαρκούν γιατί παρουσία ιόντων μετάλλων (σιδήρου, μαγγανίου) η ρίζα του σουπεροξειδίου και το υπεροξείδιο του υδρογόνου αντιδρούν προς σχηματισμό ριζών υδροξυλίου.

Οι ρίζες αυτές είναι εξαιρετικά ενεργές και αφαιρούν υδρογόνα από το πλησιέστερο διαθέσιμο μόριο λιπιδίου, πρωτεΐνης ή νουκλεϊνικού οξέος. Το αρχικό αυτό στάδιο εξελίσσεται σε μια αυτοκαταλυόμενη αλυσιδωτή αντίδραση, που

μπορεί να προκαλέσει τη βλάβη στο κύτταρο. Σε αυτό ακριβώς το σημείο, θεωρεί η επιστημονική κοινότητα ότι βρίσκει εφαρμογή η παρουσία των αντιοξειδωτικών, όπως είναι η βιταμίνη Ε. Πιο συγκεκριμένα οι ουσίες αυτές / (δηλαδή ότι) δρουν ως αποσβέστες (quenchers) ριζών αφού μπορούν να αποτρέψουν τον σχηματισμό νέων αλυσίδων υπεροξειδωσης, πράγμα το οποίο δεν επιτυγχάνεται από την υπεροξειδάση (η οποία απομακρύνει μόνο τα υπεροξειδία). Ανάλογα προς τη βιταμίνη Ε πιστεύεται ότι δρα και το β-καροτένιο, καθώς και η βιταμίνη C, η οποία δρα έμμεσα ως αντιοξειδωτικό σε συνέργεια με την τοκοφερόλη (την οποία αναγεννά επαναφέροντας υδρογόνα). Στα τρόφιμα υπάρχουν πολλά άλλα αντιοξειδωτικά, των οποίων ο ρόλος πρέπει να μελετηθεί. Ένα τέτοιο είναι το εκχύλισμα του δεντρολίβανου που περιέχει φαινόλες στις οποίες αποδίδεται αντικαρκινογόνος δράση. Για τη χώρα μας έχει ιδιαίτερη σημασία ένα άλλο αντιοξειδωτικό, η υδροξυτυροσόλη, η οποία απαντά στο παρθένο ελαιόλαδο. Στην φαινόλη αυτή έχει αποδοθεί η ικανότητα μη συγκόλλησης των αιμοπεταλίων λόγω ελάττωσης της θρομβοξάνης. Η φαινόλη αυτή έχει συσχετιστεί επίσης με την προκαλούμενη από το ελαιόλαδο αντίσταση στην οξείδωση λιποπρωτεϊνών, η οποία συνδέεται με την παθογένεση της αρτηριοσκλήρωσης (Μπόσκου, 2004).

2.3 Γενικά περί αντιοξειδωτικών

Τα αντιοξειδωτικά, αποτελούν ενώσεις, οι οποίες μπορούν να επιβραδύνουν ή να παρεμποδίσουν την οξείδωση λιπών, ελαίων, όπως επίσης και τροφίμων που περιέχουν λιπαρές ύλες, αναστέλλοντας τις αντιδράσεις έναρξης και διάδοσης της αυτοοξείδωσης. Αδιαμφισβήτητα σε αυτά περιλαμβάνονται α) τα φυσικά αντιοξειδωτικά, τα οποία είναι κυρίως ενώσεις φυτικής προέλευσης και β) τα συνθετικά αντιοξειδωτικά. Μεγαλύτερο ενδιαφέρον υπάρχει για τα φυσικά αντιοξειδωτικά, τα οποία ενδέχεται να αντικαταστήσουν τα συνθετικά διότι ορισμένα από τα τελευταία έχουν θεωρηθεί υπεύθυνα για καρκινογένεση (Zheng και Wang, 2001).

Πολλές λιπαρές ύλες, ιδιαίτερα όταν δεν έχουν υποστεί εξευγενισμό, παρουσιάζουν αξιοσημείωτη σταθερότητα στην οξείδωση. Αυτό οφείλεται στην

παρουσία συστατικών με αντιοξειδωτική δράση. Παρατηρείται όμως ότι τα περισσότερα λίπη, τα έλαια και τα λιπαρά τρόφιμα ζωικής προέλευσης, περιέχουν μόνο μικρές ποσότητες φυσικών αντιοξειδωτικών, λόγω της επεξεργασίας στην οποία υποβάλλονται για να καταστούν εδώδιμα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να είναι επιρρεπή στην οξείδωση. Τα σπουδαιότερα φυσικά αντιοξειδωτικά είναι οι φαινόλες και οι τοκοφερόλες (Κυριτσάκης, 2007).

2.4 Συνθετικά αντιοξειδωτικά

Αποτελούν ενώσεις φαινολικής κυρίως δομής και χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα λιπαρών τροφίμων, ώστε να αποτρέψουν ή να επιβραδύνουν την οξείδωση τους. Η ανώτατη επιτρεπόμενη συγκέντρωση των συνθετικών αντιοξειδωτικών στα τρόφιμα είναι 0,02%.

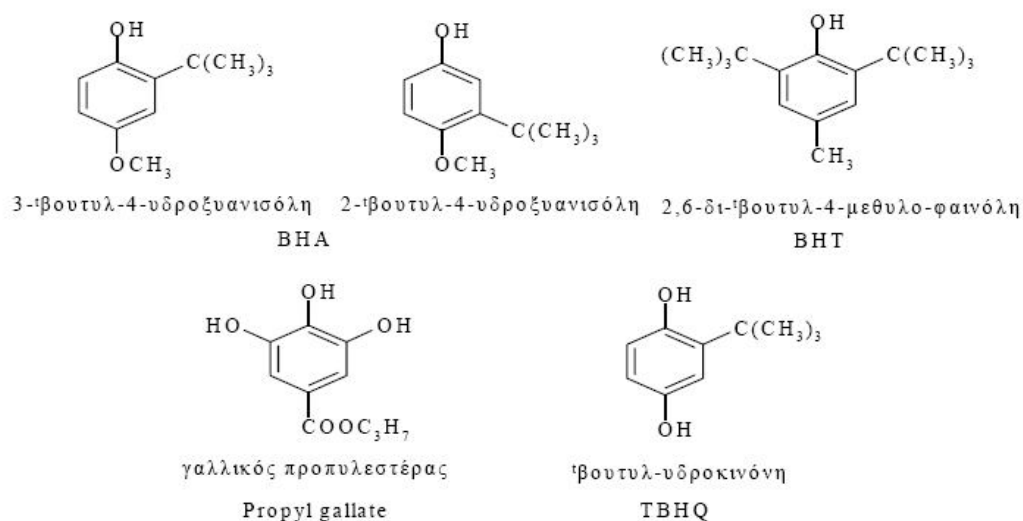
Χαρακτηριστικά ιδανικού αντιοξειδωτικού είναι τα εξής (Κυριτσάκης, 2007):

- να μην είναι τοξικό,
- να μην προσδίδει δυσάρεστη οσμή και γεύση, ούτε ανεπιθύμητο χρώμα στις λιπαρές ύλες,
- να είναι αποτελεσματικό σε πολύ μικρές δόσεις,
- να είναι λιποδιαλυτό,
- να μην αλλοιώνεται στις διάφορες συνθήκες που υποβάλλεται η λιπαρή ύλη,
- εύκολη εύρεση στην αγορά,
- να μην αντιδρά με άλλα συστατικά της λιπαρής ύλης,
- να προσδιορίζεται εύκολα η περιεκτικότητα του στα τρόφιμα και
- να είναι οικονομικό.

Τα σπουδαιότερα από τα συνθετικά αντιοξειδωτικά είναι (Μπόσκου, 2004):

1. βουτυλο-υδροξυ-ανισόλη ή BHA, μίγμα δύο ισομερών της 2-τριτ.-βούτυλο-4-μεθοξυφαινόλης και 3-τριτ.-βούτυλο-4-μεθοξυφαινόλης
2. το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο ή (BHT), δηλ. 2,6-δι-τριτ.-βουτυλο-παρακρεσόλη

3. εστέρες του γαλλικού οξέος όπως ο προπυλικός ή PG, ο οκτυλικός και δωδεκυλικός και
4. η τριτοταγής βουτυλοϋδροκινόνη (TBHQ).



Σχήμα 1.4: Συνθετικά αντιοξειδωτικά

Η TBHQ είναι το πλέον αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό για τα φυτικά έλαια, ενώ η BHA και το BHT χρησιμοποιούνται κυρίως κατά την επεξεργασία των δημητριακών για την αποφυγή της οξείδωσης τους, στις υψηλές θερμοκρασίες που εφαρμόζονται, κατά την επεξεργασία τους.

Τα δύο τελευταία χρησιμοποιούνται επίσης στην παρασκευή προϊόντων αρτοποιίας. Οι εστέρες του γαλλικού οξέος είναι ευαίσθητοι στη θέρμανση και για το λόγο αυτό η προσθήκη τους σε λιπαρή ύλη που προορίζεται για τηγάνισμα δεν είναι αποτελεσματική (Κυριτσάκης, 2007).

Σύμφωνα με τις Ογεορουλου και Tzia (1998), η σειρά της αντιοξειδωτικής δράσης των ανωτέρω συνθετικών αντιοξειδωτικών είναι: TBHQ>PG>BHT>BHA, σε όλες τις συνθήκες αποθήκευσης των ελαίων. Τα τελευταία χρόνια, όπως προαναφέρθηκε, διατυπώθηκαν επιφυλάξεις σε ότι αφορά τη χρήση των συνθετικών

αντιοξειδωτικών, αφού ορισμένα από αυτά όπως το ΒΗΤ και η ΤΒΗΩ σχετίζονται με τη πρόκληση διαφόρων μορφών καρκίνου σε πειραματόζωα.

2.5 Φυσικά αντιοξειδωτικά

Τα φυσικά αντιοξειδωτικά είναι ουσίες φυτικής προέλευσης με αντιοξειδωτική δράση. Η αποτελεσματικότητα των φυσικών αντιοξειδωτικών εξαρτάται κυρίως από τα φυτά από τα οποία προέρχονται και από τον τρόπο παραλαβής τους. Παραλαμβάνονται λοιπόν είτε σε μορφή αιθερίου ελαίου ή ως εκχυλίσματα (extracts).

Σύμφωνα με τους Κυριτσάκη και Gamel (1997), η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων τα οποία παραλαμβάνονται από τα φυτά, επηρεάζεται σημαντικά από:

- Τις συνθήκες εκχύλισης που εφαρμόζονται στην παραλαβή τους και
- Την πολικότητα του διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε για την παραλαβή τους.

Εκτός των αρκετά γνωστών φυσικών αντιοξειδωτικών, όπως βιταμίνες Α, C και Ε, υπάρχουν και τα λιγότερο γνωστά: πολυφαινόλες, σελήνιο, φλαβονοειδή και λυκοπένιο. Οι κυριότερες διατροφικές πηγές των τελευταίων αντιοξειδωτικών είναι:

Βιταμίνη Α: απαντάται στο αυγό, το βούτυρο, τα γαλακτοκομικά προϊόντα, το συκώτι και τα ιχθυέλαια

β-καροτένιο: απαντάται στα φρούτα, κυρίως τα εσπεριδοειδή (πορτοκάλια, μανταρίνια, κίτρα) και τα λαχανικά, ιδιαίτερα τα κίτρινα και πορτοκαλί (καρότα, πιπεριές)

Βιταμίνη C: απαντάται στα φρούτα, κυρίως τα εσπεριδοειδή, τα φραγκοστάφυλα, τις φράουλες, τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά και τα κραμβοειδή (σπανάκι, μπρόκολο)

Βιταμίνη Ε (τοκοφερόλη): απαντάται στα φυτικά έλαια, κυρίως στο ελαιόλαδο

Σελήνιο: απαντάται στο κρέας, το συκώτι, τα θαλασσινά

Φλαβονοειδή: ισχυρή ομάδα αντιοξειδωτικών που περιέχονται στα φρούτα και τα λαχανικά. Αντιπροσωπευτικά είναι οι κατεχίνες (τσάι, κρασί), η κερσετίνη (μπρόκολα, σταφύλι), η ροτίνη (μήλα), η απιγενίνη (σέλινο) και οι θειοφλαβίνες (τσάι).

Λυκοπένιο: κόκκινη χρωστική ουσία, η οποία ανήκει στην κατηγορία των καροτενοειδών, βρίσκεται στα φρούτα και στα λαχανικά (κυρίως ντομάτες).

Πολυφαινόλες: ουσίες που περιέχονται σε ελιά και ελαιόλαδο, έχουν αρκετά καλή αντιοξειδωτική δράση και προστατεύουν από καρκινογενέσεις, αντιπροσωπευτικές είναι η προβιταμίνη Α και η βιταμίνη Ε.

Είναι όμως γενικά αποδεκτό ότι τα αρωματικά φυτά, κυρίως της οικογένειας *Lamiaceae* αποτελούν τις κυριότερες πηγές φυσικών αντιοξειδωτικών (Bozin et al., 2006, Kulisic et al., 2007).

Δευτερογενή αντιοξειδωτικά

Πρόκειται για ενώσεις οι οποίες από μόνες τους παρουσιάζουν ασήμαντη αντιοξειδωτική δράση, αλλά σε συνδυασμό με τα πρωτοταγή (κύρια) αντιοξειδωτικά αυξάνουν την αποτελεσματικότητα των τελευταίων (Κυριτάκης 1993). Ο μηχανισμός της δράσης τους δεν έχουν εξακριβωθεί πλήρως, αλλά πιστεύεται ότι ορισμένα από αυτά συμβάλλουν στην αναγωγή της οξειδωμένης ανενεργούς μορφής των πρωτογενών αντιοξειδωτικών προς την ενεργό μορφή. Άλλα συμβάλλουν στην παρεμπόδιση της διάσπασης των υδροϋπεροξειδίων, γεγονός που συντελεί στον περιορισμό της παρουσίας ελεύθερων ριζών στο λιπαρό υπόστρωμα, οπότε και διευκολύνεται το έργο του πρωτοταγούς αντιοξειδωτικού. Τέλος, τα δευτεροταγή αντιοξειδωτικά δρουν και ως δεσμευτές μετάλλων.

Ο χαλκός και ο σίδηρος είναι τα σημαντικότερα και τα πιο συχνά εμφανιζόμενα μέταλλα στα έλαια. Τα δευτεροταγή αντιοξειδωτικά δεσμεύουν τα μεταλλικά ιόντα που δρουν ως καταλύτες στις αντιδράσεις της οξείδωσης. Κάθε δευτεροταγές αντιοξειδωτικό παρουσιάζει διαφορετική ικανότητα δέσμησης μεταλλικών ιόντων. Στα δευτεροταγή αντιοξειδωτικά περιλαμβάνονται και τα μέσα δέσμησης του

οξυγόνου. Τα σημαντικότερα δευτεροταγή αντιοξειδωτικά είναι το κιτρικό οξύ και το φωσφορικό οξύ (Κυριτσάκης, 2007).

2.6 Μηχανισμός δράσης αντιοξειδωτικών

Η οξείδωση μπορεί να ενεργοποιηθεί από έναν σημαντικό αριθμό χημικών και φυσικών φαινομένων και να εξελίσσεται πάνω σε κατάλληλο υπόστρωμα μέχρι κάποιος αμυντικός μηχανισμός (αντιοξειδωτικό) να μπλοκάρει την όλη διαδικασία. Τα υποστρώματα-στόχος είναι συνήθως πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), φωσφορολιπίδια, χοληστερόλη και DNA.

Η οξειδωτική αποσύνθεση των λιπιδίων αποτελεί έναν από τους κυριότερους παράγοντες αλλοίωσης των τροφίμων και της οξειδωτικής μετατροπής της LDL. Η οξείδωση των λιπαρών υλών λαμβάνει χώρα με τη μορφή αλυσιδωτής αντίδρασης, η οποία διαχωρίζεται σε τρία στάδια: έναρξη (initiation), διάδοση (propagation) και τερματισμός (termination).

Πίνακας 1.4 Ταξινόμηση παρεμποδιστών οξείδωσης λιπιδίων (Μπόσκου, 2004)

Πρωτοταγή αντιοξειδωτικά

Διακόπτουν τις αντιδράσεις διάδοσης, παρέχοντας άτομα υδρογόνου στις ελεύθερες ρίζες.

Φαινολικές ενώσεις όπως ΒΗΑ, ΒΗΤ, ΤΒΗQ, ΡG, τοκοφερόλες, καφεϊκό οξύ, καρνοσόλη, ροσμαρινικό οξύ κ.α.

Δεσμευτές μετάλλου

Δεσμεύουν μέταλλα, τα οποία με μεταφορά ηλεκτρονίου δημιουργούν ελεύθερες ρίζες. Οξέα ή παράγωγα τους που σχηματίζουν χηλικές ενώσεις όπως EDTA, κιτρικό οξύ, φωσφορικό, άλατα κ.λ.π.

Δεσμευτές οξυγόνου

Αντιδρούν με το οξυγόνο και ελαττώνουν τη συγκέντρωσή του σε ένα κλειστό σύστημα.

Ασκορβικό οξύ και εστέρες του

Αναγωγικά

Αναγεννούν φαινόλες, συνέργεια

Ασκορβικό οξύ

Αποσβέστες διηγεμένου (singlet) οξυγόνου

Απενεργοποιούν το μονήρες οξυγόνο

Τοκοφερόλες, β-καροτένιο

Ένζυμα

Απομακρύνουν ενεργά είδη οξυγόνου

Δισμουτάση σουπεροξειδίου, υπεροξειδάση γλουταθειόνης, οξειδάση γλυκόζης-καταλάση

Μεθυλοσιλικόνη και στερόλες με αιθυλιδενική πλευρική αλυσίδα

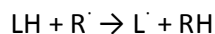
Εμποδίζουν τον οξειδωτικό πολυμερισμό σε θερμαινόμενα έλαια

Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο, Δ⁵-αβεναστερόλη-κιτροσταδιενόλη

Αντιοξειδωτικά με πολλαπλή ή πλήρως γνωστή δράση

Φωσφολιπίδια-προϊόντα αντιδράσεων Maillard.

Κατά το πρώτο στάδιο παρουσία φωτός, θέρμανσης, μετάλλων (Cu, Fe) ή μεταλλοπρωτεϊνών σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες:

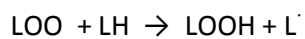
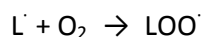


Όπου LH το λιπαρό υπόστρωμα

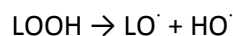
R[·] ο οξειδωτικός παράγοντας

L[·] ρίζα

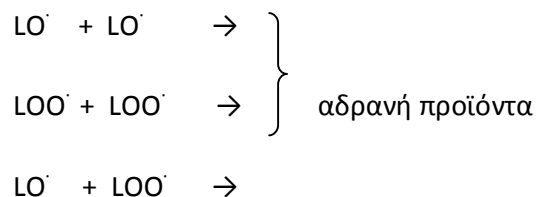
Στη συνέχεια, οι ρίζες (L[·]) ενώνονται με οξυγόνο και σχηματίζουν υπεροξειδικές ρίζες (LOO[·]), οι οποίες αποσπούν ένα μόριο υδρογόνου από ένα άλλο μόριο (LH) και σχηματίζουν υπεροξείδιο (LOOH) και μια νέα ρίζα (L[·]). Η νέα ρίζα μπορεί επίσης να αντιδράσει με οξυγόνο και να δώσει νέες ρίζες και υπεροξείδια.



Τα υπεροξείδια είναι άοσμα, αλλά διασπώνται σε αλκοόλες, αλδεΐδες και κετόνες, που προσδίδουν τη χαρακτηριστική οσμή στις αλλοιωμένες λιπαρές ύλες, καθώς και υδρογονάνθρακες και αλκοξυλ – ρίζες (LO[·]).

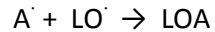
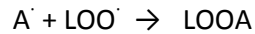
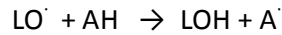
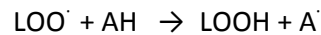
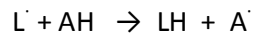


Στο τρίτο στάδιο οι ρίζες αντιδρούν μεταξύ τους παρέχοντας αδρανή προϊόντα.



Η προστατευτική δράση των αντιοξειδωτικών εφαρμόζεται σε πολλά στάδια της αλυσιδωτής αντίδρασης και με διάφορους τρόπους. Έχουν κατηγοριοποιηθεί σε

δύο κύριες κατηγορίες: σε παρεμποδιστές της αλυσιδωτής αντίδρασης ή πρωτεύοντα αντιοξειδωτικά (chain-breaking or primary antioxidants) και σε προστατευτικά ή δευτερεύοντα αντιοξειδωτικά (preventive or secondary antioxidants) (Antolovich et al., 2002). Τα δευτερεύοντα απλώς καθυστερούν τον ρυθμό της οξείδωσης. Τα πρωτεύοντα καθυστερούν ή παρεμποδίζουν το στάδιο έναρξης, αντιδρώντας με τη ρίζα (L[·]) ή παρεμποδίζουν το στάδιο διάδοσης αντιδρώντας με τις υπεροξειδικές (LOO[·]) και αλκοξυλ – ρίζες (LO[·]). Παράλληλα σχηματίζεται ελεύθερη αντιοξειδωτική ρίζα (A[·]), που δεν έχει την ικανότητα να αρχίσει και να προάγει νέα αλυσιδωτή αντίδραση, απλά μπορεί να αντιδράσει με τις ρίζες και να δώσει υπερόξυ αντιοξειδωτικά συστατικά.



Ο μηχανισμός που αποτρέπει την οξείδωση, μέσω χηλικοποίησης των μεταλλικών ιόντων που καταλύουν την οξείδωση, δεν περιλαμβάνει ελεύθερες ρίζες. Εμποδίζει, απλώς, το μεταλλικό ιόν να συμμετάσχει σε αντιδράσεις αποικοδόμησης των υδροϋπεροξειδίων (LOOH), και κατά συνέπεια τον σχηματισμό ελεύθερων ριζών. Τα αντιοξειδωτικά που δρουν σύμφωνα με τον τρίτο μηχανισμό, οφείλουν την αντιοξειδωτική τους δράση στην καταστολή του οξυγόνου απλής κατάστασης. Αυτό μπορεί να γίνει είτε με μεταφορά ενέργειας από το οξυγόνο απλής κατάστασης στο μόριο του αντιοξειδωτικού, γεγονός που επαναφέρει το οξυγόνο στην αδρανή βασική κατάσταση, είτε με αντίδραση με το οξυγόνο απλής κατάστασης και την παραγωγή σταθερών προϊόντων.

3. Μέτρηση Αντιοξειδωτικής Ικανότητας

3.1 Εισαγωγή

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας δεν επιτυγχάνεται άμεσα, αλλά με μέτρηση της επίδρασης των αντιοξειδωτικών συστατικών πάνω στον έλεγχο της οξείδωσης (Antolovich et al, 2002). Η αντιοξειδωτική δράση ενός μόνο συστατικού του φυτικού εκχυλίσματος είναι αδύνατο να προσδιοριστεί, λόγω της πολυπλοκότητας της σύστασης του εκχυλίσματος, καθώς και της συνεργιστικής δράσης μεταξύ των συστατικών (Erkan et al, 2008).

Υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός μεθόδων μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας, αλλά καμία επίσημη μέθοδος προσδιορισμού, με αποτέλεσμα να είναι αδύνατη η σύγκριση και η αξιολόγηση των πειραματικών δεδομένων. Επομένως, εξαιτίας της πολυπλοκότητας των συστημάτων, έχει επιβληθεί η χρήση πολλών διαφορετικών μεθόδων μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας (Antolovich et al, 2002, Erkan et al, 2008).

Η αντιοξειδωτική δράση των συστατικών επηρεάζεται σημαντικά από (Antolovich et al, 2002, Κυριτσάκης, 2007):

- τη μέθοδο προσδιορισμού,
- τον χημικό τους τύπο,
- τις συνθήκες εκχύλισης που εφαρμόζονται κατά την παραλαβή των εκχυλισμάτων
- την πολικότητα του διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε
- την πολικότητα του υποστρώματος (τρόφιμα ή σύστημα λιπιδίων) που χρησιμοποιήθηκε (Miura et al, 2002)
- και τη συγκέντρωση του δείγματος

3.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την αντιοξειδωτική ικανότητα

Μέθοδος προσδιορισμού

Υπάρχουν μέθοδοι που περιλαμβάνουν ένα διακριτό στάδιο οξείδωσης, πάνω στο οποίο γίνεται ακολούθως η μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης, ανάλογα με την εξέλιξη της οξείδωσης, όπως για παράδειγμα η οξείδωση του λινολεϊκού οξέος, ακολουθείται από προσδιορισμό της σύζευξης διενίου Σε αυτές ανήκουν και οι μέθοδοι που παρεμποδίζουν την παρουσία ελεύθερων ριζών (free radical-trapping methods). Σε άλλες μεθόδους προσδιορίζεται η ικανότητα των αντιοξειδωτικών να περιορίζουν την οξείδωση των λιπαρών συστατικών (lipid oxidation) (Erkan et al, 2008).

Λαμβάνοντας υπόψη, ότι τα χαρακτηριστικά στοιχεία μίας οξείδωσης είναι το υπόστρωμα, το οξειδωτικό μέσο, ο εκκινητής, καθώς και τα ενδιάμεσα και τα τελικά προϊόντα, η μέτρηση καθενός από αυτά τα χαρακτηριστικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης (Antolovich et al, 2002).

Σχετικά με τις χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα, κατά τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, οι μέθοδοι χωρίζονται σε:

1. μέθοδοι που βασίζονται σε αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίου (Electron Transfer based assays, ET)
2. μέθοδοι που βασίζονται σε αντιδράσεις μεταφοράς υδρογόνου (Hydrogen Atom Transfer based assays, HAT).

Οι ET μέθοδοι μετρούν την ικανότητα του αντιοξειδωτικού να αλλάζει χρώμα, καθώς ανάγεται στην αντίδραση με το οξειδωτικό. Οι HAT μέθοδοι εξετάζουν την κινητική των αντιδράσεων και οι συγκεντρώσεις απορρέουν από τις κινητικές καμπύλες (Huang et al, 2005).

Επειδή, τα εκχυλίσματα φυτών περιέχουν τόσο λιπόφιλα, όσο και υδρόφιλα συστατικά, η μέθοδος που χρησιμοποιείται επιδρά στην μετρούμενη αντιοξειδωτική ικανότητα.

Η περισσότερο χρησιμοποιούμενη μέθοδος ΕΤ- μεθόδων, η οποία χρησιμοποιείται και στην παρούσα μελέτη είναι αυτή του DPPH.

Συνθήκες εκχύλισης

Το είδος και η πολικότητα του διαλύτη της εκχύλισης, παίζει σημαντικό ρόλο στον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας με το DPPH. Τα περισσότερο πολικά συστατικά, όπως είναι οι πολυφαινόλες, είναι πιο δραστικά στην εξουδετέρωση του DPPH από τα λιγότερο πολικά (Miura et al., 2002, Chizzola et al., 2008). Εκχυλίσματα θυμαριού με διχλωρομεθάνιο έδειξαν χαμηλή δραστικότητα με το DPPH, διότι ο διαλύτης αυτός δεν είναι κατάλληλος για εκχύλιση πολικών φαινολικών συστατικών (Chizzola et al., 2008).

Σε εργασία των Tsimogiannis et al.(2006), μελετήθηκε η αντιοξειδωτική δράση με το DPPH εκχυλισμάτων ρίγανης από διαφορετικούς διαλύτες. Σε εκχυλίσματα με αιθανόλη και ακετόνη παρατηρήθηκε ικανοποιητική αντιοξειδωτική δράση, η οποία αποδόθηκε στο ροσμαρινικό οξύ, που ανιχνεύθηκε ως κύριο συστατικό. Αντιθέτως, το εκχύλισμα με οξικό αιθυλεστέρα είχε μικρή δράση έναντι στο DPPH, λόγω της ύπαρξης γλυκοζιτών απιγενίνης. Ομοίως και στο εκχύλισμα με διαιθυλαιθέρα παρατηρήθηκε μέτρια αντιοξειδωτική ικανότητα εξαιτίας της παρουσίας φλαβονοειδών με Β-μονουδρόξυ-υποκατάσταση. Τέλος, στην ίδια εργασία παρατηρήθηκε ότι τα εκχυλίσματα ρίγανης με πετρελαϊκό αιθέρα, περιείχαν κυρίως το αιθέριο έλαιο της ρίγανης με κύρια συστατικά θυμόλη και καρβακρόλη, τα οποία έδειξαν μέτρια αντιοξειδωτική ικανότητα. Γενικά, τα αιθέρια έλαια της ρίγανης και άλλων αρωματικών φυτών που έδειξαν δράση σε λάδια και λιπαρά συστήματα, είχαν μικρότερη αντιοξειδωτική δράση, συγκριτικά με τα μεθανολικά εκχυλίσματα των ίδιων βοτάνων.

Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα δειγμάτων extra παρθένου ελαιολάδου, που παρασκευάστηκαν με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα (Ethyl Acetate). Προτιμήθηκε ο συγκεκριμένος διαλύτης, διότι σε ανάλογη μελέτη σύγκρισης διαλυτών για ελαιόλαδο, παρατηρήθηκε ικανοποιητική δέσμευση των ριζών του DPPH από τα δείγματα με οξικό αιθυλεστέρα (Koprivnjak et al.,2008).

Συγκέντρωση και σύσταση του εκχυλίσματος

Η αντιοξειδωτική ικανότητα εξαρτάται επίσης και από τη συγκέντρωση του εκχυλίσματος σε δραστικά μόρια. Κατά κανόνα η αντιοξειδωτική δράση αυξάνεται με αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος, αλλά μέχρι μια μέγιστη συγκέντρωση, που εξαρτάται τόσο από το δείγμα, όσο και από τη μέθοδο προσδιορισμού. Κάποια ισχυρά αντιοξειδωτικά μπορούν να οξειδωθούν και να δράσουν ως οξειδωτικοί παράγοντες. Σε διάφορες πρόσφατες έρευνες έχει βρεθεί προοξειδωτική δράση αντιοξειδωτικών φυτικών εκχυλισμάτων σε χαμηλές συγκεντρώσεις και αντιοξειδωτική πάνω από κρίσιμα όρια, ενώ σε κάποιες άλλες, παρατηρήθηκε αντιοξειδωτική δράση σε χαμηλές και προοξειδωτική σε υψηλές (Moure et al., 2001).

Επιπρόσθετα, η συνεργιστική δράση μεταξύ των δευτερογενών μεταβολιτών των εκχυλισμάτων, επηρεάζει την αντιοξειδωτική ικανότητα (Heilerova et al., 2003). Έχει παρατηρηθεί πειραματικά ότι υπάρχει συνεργιστική δράση αντιοξειδωτικών συστατικών των εκχυλισμάτων και δευτερογενών μεταβολιτών του υποστρώματος, όπως για παράδειγμα η συνεργιστική δράση εκχυλίσματος δενδρολίβανου με τη ατοκοφερόλη ελαιολάδου (Horja et al., 1996, Banias et al., 1992).

Η ταυτόχρονη παρουσία κάποιων συστατικών είναι δυνατό άλλοτε να προσδίδει μεγαλύτερο και άλλοτε χαμηλότερο αποτέλεσμα αντιοξειδωτικής δράσης από το αναμενόμενο (Moure et al., 2001).

3.3 Μέθοδος μέτρησης της αποικοδόμησης της ρίζας 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζιλίου (DPPH')

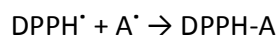
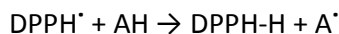
Η μέθοδος DPPH ανήκει στις πιο γνωστές ET-μεθόδους, αν και υπάρχουν διαφορούμενες απόψεις.

Όσον αφορά το ελαιόλαδο, με το οποίο ασχολείται και η παρούσα μελέτη, έχει χρησιμοποιηθεί η μέθοδος DPPH από αρκετούς ερευνητές με επιτυχία τα τελευταία χρόνια (Espin et al., 2000, Gorinstein et al., 2003, Ramadan et al., 2003, Gomez-alonso et al., 2003, Valavanidis et al., 2004, Koprivnjak et al., 2008). Σύμφωνα με τον

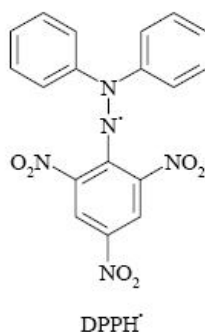
Lavelli (2002), τα έλαια που περιλαμβάνουν λιπόφιλα παράγωγα της 3,4-DHPEA, είναι ικανά να δεσμεύουν τις σταθερές ρίζες του DPPH. Στο έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, όπως αναφέρθηκε και στο 4ο κεφάλαιο της παρούσας μελέτης, τα κυρίαρχα φαινολικά συστατικά είναι η διαλδεϋδική μορφή του ελενολικού οξέος, συνδεδεμένου με το 3,4-DHPEA ή το p-HPEA.

Επομένως, η μέθοδος DPPH φαίνεται να ικανοποιεί τις απαιτήσεις για σωστό προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας σε αρωματισμένο ελαιόλαδο με αρωματικά φυτά της οικογένειας Lamiaceae.

Το DPPH[•] είναι μία σταθερή ρίζα, η οποία παρουσιάζει μία έντονη απορρόφηση στα 515 nm στο φάσμα του ορατού. Η μέθοδος βασίζεται στην ικανότητα του αντιοξειδωτικού να αντιδρά με την ρίζα του DPPH α) δίνοντάς του ένα υδρογόνο, ή β) με το να δεσμεύεται πάνω σε αυτήν:



Έτσι, παρακολουθώντας την απορρόφηση στα 515 nm, μπορούμε να παρακολουθήσουμε την καταστροφή της ρίζας DPPH[•].



Σχήμα 3.3: Δομή 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλο-υδραζιλίου

Η μέθοδος του DPPH μπορεί να εφαρμοστεί είτε ως στατική, είτε ως δυναμική. Κατά τη στατική μέθοδο μετριέται η μείωση της απορρόφησης του διαλύματος DPPH μετά από 30 λεπτά από την προσθήκη διαλύματος κάποιας αντιοξειδωτικής ουσίας. Στη συνέχεια υπολογίζεται το ποσοστό της παρεμποδιστικής δράσης κάθε εκχυλίσματος από τον παρακάτω τύπο:

$$I\% = [(A_0 - A)/A_0] * 100$$

Όπου I% = η % δέσμευση της ελεύθερης ρίζας

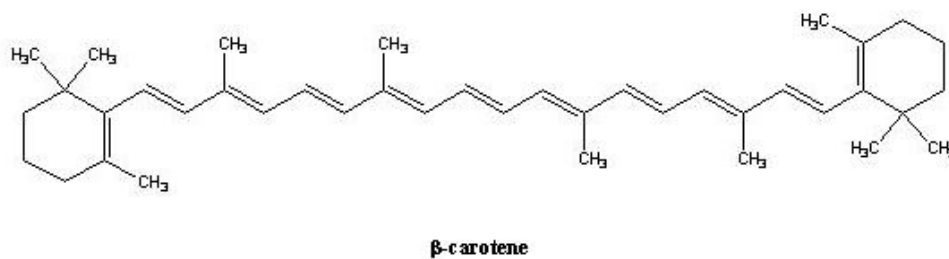
A₀ = η απορρόφηση του τυφλού

A = η απορρόφηση του δείγματος

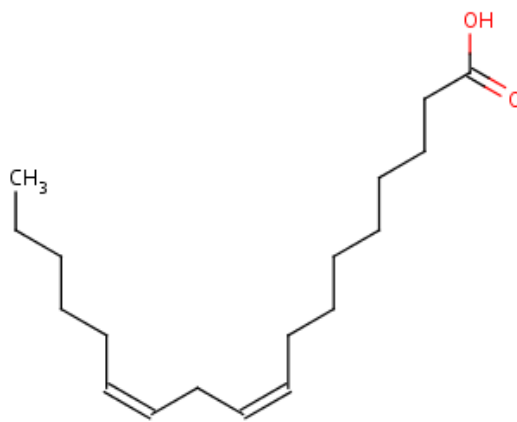
Ως μέτρο σύγκρισης της αντιοξειδωτικής ικανότητας, χρησιμοποιείται το EC₅₀, το οποίο περιγράφεται ως η ποσότητα του αντιοξειδωτικού που είναι απαραίτητη για την μείωση στο 50% της αρχικής συγκέντρωσης του DPPH (Antolovich et al., 2002, Erkan et al., 2008). Επίσης, παρεμφερές κριτήριο προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας αποτελεί και το χρονικό διάστημα (TEC₅₀), το οποίο απαιτείται για να φτάσει σε σταθερή κατάσταση το EC₅₀. Οι επιδράσεις του συνδυασμού των δύο παραμέτρων, που αναφέρθηκαν, βρίσκουν έκφραση σε μία νέα παράμετρο, την *αντιοξειδωτική δραστηριότητα* (Antolovich et al., 2002).

3.4 Μέθοδος β-καροτένιο/λινελαϊκό οξύ

Η αντιοξειδωτική ικανότητα καθορίζεται μετρώντας την αναστολή του αιθέριου, οργανικού συστατικού καθώς και τα συζευγμένα διεν-υπεροξείδια που προκύπτουν από την οξείδωση του λινολεϊκού οξέως (Darkevicious, Venskutonis, Van Beek, & Lissen, 1998).



Σχήμα 2.2: Δομή β-καροτένιου



Σχήμα 2.4: Δομή λινελαϊκού οξέως

4. ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΑ ΠΑΡΘΕΝΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ

4.1 Εισαγωγή

Τα οφέλη της μεσογειακής διατροφής αποδίδονται σε σημαντικό βαθμό στο εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο. Το συγκεκριμένο φυτικό έλαιο αποτελεί την κύρια πηγή λίπους στη Μεσογειακή διατροφή και η κατανάλωση του συσχετίζεται με ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου. Ενδεικτικό είναι το χαμηλό ποσοστό καρδιαγγειακών παθήσεων και σημαντικών μορφών καρκίνου (Antoun and Tsimidou, 1997, Salvivi et al., 2005, Kalantzakis et al., 2006).

Οι επιστημονικές ενδείξεις για τα οφέλη του ελαιολάδου δεν περιορίζονται μόνο στην πρόληψη της στεφανιαίας νόσου, της υπέρτασης, της θρόμβωσης, του διαβήτη και της παχυσαρκίας. Η υψηλή περιεκτικότητά του σε αντιοξειδωτικά φαίνεται να συμβάλλει σημαντικά στη μακροζωία. Είναι χαρακτηριστικό ότι η προσδοκώμενη διάρκεια ζωής είναι μεγαλύτερη στην Ελλάδα απ' ό τι στη Βόρεια Ευρώπη, παρά το σταθερά αυξανόμενο αριθμό καπνιστών. Η προστατευτική δράση του ελαιολάδου κατά των καρδιαγγειακών παθήσεων οφείλεται κυρίως σε δύο βασικά συστατικά του: στα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και τις αντιοξειδωτικές ουσίες (Καφάτος, 2001).

Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και ιδιαίτερα το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, ελαττώνουν το επίπεδο της LDL χοληστερόλης, χωρίς να ελαττώνουν την HDL χοληστερόλη, έτσι ώστε να παρέχουν προστασία κατά της στεφανιαίας νόσου και της αθηρωμάτωσης γενικότερα. Ενδέχεται επίσης, να παρέχουν κάποιο βαθμό προστασίας απέναντι στον καρκίνο του μαστού και ίσως και σε άλλες μορφές καρκίνου. Είναι αξιοσημείωτο ότι το ελαιόλαδο έχει βρεθεί είτε να έχει ευνοϊκές ή οπωσδήποτε μη δυσμενείς επιδράσεις, σε σχέση με οποιοδήποτε χρόνια νόσημα, συμπεριλαμβανομένου του σακχαρώδη διαβήτη. Το γεγονός αυτό αποδίδεται τόσο στην περιεκτικότητα του ελαιολάδου στο μονοακόρεστο ελαϊκό οξύ, όσο και στην πληθώρα των αντιοξειδωτικών παραγόντων, που κυρίως ανευρίσκονται στο ελαιόλαδο. (Αρχεία ελληνικής Ιατρικής, 1999)

Αναμφισβήτητα λοιπόν, οι οφέλιμες επιδράσεις του ελαιόλαδου σχετίζονται με την υψηλή του περιεκτικότητα σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα και με την παρουσία φυσικών αντιοξειδωτικών, όπως είναι οι τοκοφερόλες, πολικά και μη πολικά φαινολικά συστατικά και καροτενοειδή. Τα συστατικά αυτά προσδίδουν στο παρθένο ελαιόλαδο αξιόλογη αντοχή κατά της οξείδωσης (Moldao-Martins et al., 2004, Kalantzakis et al., 2006, Papadimitriou et al., 2006, Gambacorta et al., 2007, Sanchez et al., 2007, Romani et al., 2007).

Από την αρχαιότητα ακόμα, χρησιμοποιούνται αρωματικά φυτά, η προσθήκη των οποίων στα τρόφιμα προσδίδει φαρμακευτικές ιδιότητες και αυξάνει την βιολογική τους αξία, συμβάλλοντας παράλληλα και στην βελτίωση των οργανοληπτικών τους ιδιοτήτων. Επιπρόσθετα, επιβραδύνουν την οξειδωτική υποβάθμιση των τροφίμων, συνεισφέρουν στη διατήρηση της θρεπτικής αξίας τους και βελτιώνουν την ποιότητα συντήρησής τους, με αποτέλεσμα την επιμήκυνση της διάρκειας ζωής τους (Antoun and Tsimidou, 1997, Moldao-Martins et al., 2004, Gambacorta et al., 2007).

Τα βότανα, κυρίως της οικογένειας *Lamiaceae*, αλλά και κάποια μπαχαρικά χρησιμοποιούνται για την παραγωγή gourmet προϊόντων ελαιόλαδου. Βασική μέθοδος παρασκευής τέτοιων προϊόντων είναι η προσθήκη ξηρού ή φρέσκου φυτικού υλικού, καθώς και η πρόσθεση των εκχυλισμάτων τους. Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί αύξηση της ζήτησης τέτοιων gourmet προϊόντων, γεγονός ενθαρρυντικό για χρήση του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου και από μη παραδοσιακούς καταναλωτές της μεσογειακής διατροφής, με αποτέλεσμα την ενίσχυση της αξίας αυτού του πολύτιμου αγροτικού προϊόντος (Antoun and Tsimidou, 1997, Damechki et al., 2001).

4.2 Χημική σύσταση του ελαιολάδου

Το ελαιόλαδο, όπως και κάθε λιπαρή ύλη είναι κυρίως μίγμα τριγλυκεριδίων, δηλαδή τριεστέρων της γλυκερόλης με ανώτερα λιπαρά οξέα. Μερικά από τα λιπαρά οξέα είναι ακόρεστα, ενώ άλλα είναι κορεσμένα. Εκτός, από τα τριγλυκερίδια, το ελαιόλαδο περιέχει μικρές ποσότητες και από άλλα συστατικά, που προέρχονται από τον ελαιόκαρπο ή σχηματίζονται κατά την παραλαβή του, όπως:

- ελεύθερα λιπαρά οξέα (προϊόντα υδρόλυσης των τριγλυκεριδίων)
- φωσφατίδια (ή φωσφολιπίδια)
- στερόλες
- αλειφατικές αλκοόλες
- φαινόλες
- τοκοφερόλες
- χρωστικές
- πτητικές οργανικές ενώσεις και
- διάφορες ρητινοειδείς και ζελατινοειδείς ουσίες

Τα συστατικά του ελαιολάδου διακρίνονται σε σαπωνοποιήσιμα (τριγλυκερίδια, φωσφολιπίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα κ.α.) και ασαπωνοποιήτα (υδρογονάνθρακες, αλειφατικές αλκοόλες, στερόλες, φαινόλες κ.α.). Το 98,0-99,5% περίπου των συστατικών είναι σαπωνοποιήσιμα και το υπόλοιπο μη σαπωνοποιήσιμα. Παρόλο το μικρό ποσοστό του σαπωνοποιήσιμου κλάσματος, τα συστατικά του διαδραματίζουν σημαντικό διατροφικό και βιολογικό ρόλο (Κυριτσάκης, 2007).

Στο μη σαπωνοποιήσιμο κλάσμα του ελαιολάδου ανήκουν οι αντιοξειδωτικές ουσίες και άλλα δευτερεύοντα συστατικά. Οι τοκοφερόλες έχουν σημαντικό ρόλο στη σταθεροποίηση των διαδικασιών αυτοοξειδωσης του ελαιολάδου και αποτελούν σημαντική πηγή βιταμινών στη διατροφή του ανθρώπου. Οι φαινολικές ενώσεις (φαινόλες, φαινολικά οξέα, πολυφαινόλες) έχουν ανάλογο ρόλο και προσδίδουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στην οξείδωση του ελαιολάδου κατά τη θέρμανση.

Το ελαιόλαδο περιέχει επίσης στερόλες με σημαντικότερα τη β-σιτοστερόλη, υδρογονάνθρακες όπως σκουαλένιο και β-καροτένιο, τερπενικές αλκοόλες, φωσφολιπίδια, χρωστικές με κυριότερη τη χλωροφύλλη και αρωματικές ουσίες που συνεισφέρουν στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και συμβάλλουν στην ποιοτική αναβάθμιση του ελαιολάδου (Ποντίκης, 2000).

Τα σημαντικότερα λιπαρά οξέα που απαντούν στο ελαιόλαδο είναι ακόρεστα. Μεταξύ αυτών σε μεγαλύτερη αναλογία απαντά το μονοακόρεστο ελαϊκό οξύ (C18:1). Το δεύτερο σημαντικότερο ακόρεστο λιπαρό οξύ του ελαιολάδου είναι το λινελαϊκό (C18:2). Άλλα ακόρεστα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στο ελαιόλαδο σε μικρότερες ποσότητες είναι το λινολενικό (C18:3), το αραχιδονικό (C20:4) και το παλμιτελαϊκό (C16:1).

Από τα κορεσμένα οξέα σε μεγαλύτερη αναλογία απαντά το παλμιτικό (C16:0) και ακολούθως το στεατικό (C18:0).

Τα κύρια τριγλυκερίδια είναι αυτά, στα οποία απαντά το ελαϊκό οξύ, καθώς αποτελούν 70-80% του βάρους του ελαίου. Επειδή τα τριγλυκερίδια αυτά είναι υγρά σε θερμοκρασία δωματίου, το ελαιόλαδο στο σύνολο του παραμένει σε υγρή κατάσταση σε συνήθεις θερμοκρασίες δωματίου.

Οι τακτικοί έλεγχοι που πρέπει να πραγματοποιούνται για τον ποιοτικό έλεγχο του ελαιολάδου αφορούν (Κυριτσάκης, 2007):

- την οξύτητα του ελαιολάδου,
- την οξείδωσή του, η μέτρηση της οξείδωσης φανερώνει την παλαιότητα του ελαιολάδου. Συγκεκριμένα, κατά τον έλεγχο οξείδωσης δύο κυρίως μετρήσεις γίνονται, του δείκτη K232 και του δείκτη K270. Ο πρώτος δείχνει: **α)** την ηλικία του ελαιολάδου, **β)** εάν έχει γίνει η έκθλιψη απευθείας μετά τη ελαιοσυλλογή ή έχουν αποθηκευτεί οι ελιές για αρκετές μέρες, **γ)** τις συνθήκες έκθλιψης τωνελαιών και **δ)** τις συνθήκες αποθήκευσης του ελαιολάδου. Ο δεύτερος υποδεικνύει το ενδεχόμενο ανάμιξης ελαιολάδων, εάν ποσότητα εξαιρετικούπαρθένου ελαιολάδου ή παρθένου ελαιόλαδο έχει

αναμιχθεί με ραφινρισμένοή πυρηνέλαιο και εάν ελαιόλαδα διαφορετικής προέλευσης ή ηλικίας έχουν ανακατευθεί.

- τα οργανοληπτικά του στοιχεία (π.χ. γεύση, οσμή)
- τα λιπαρά του οξέα
- τις στερόλες
- και τους κηρούς

4.3 Αλλοιώσεις του ελαιολάδου-οξειδωση

Οι κύριες αλλοιώσεις του ελαιολάδου και των άλλων λιπαρών υλών είναι η υδρόλυση ή υδρολυτική τάγγιση και η οξειδωση ή οξειδωτική τάγγιση.

Η υδρόλυση (γνωστή και ως λιπόλυση) λαμβάνει χώρα κυρίως κατά το χρόνο πριν από την παραλαβή του ελαιολάδου από τον ελαιόκαρπο, ενώ η οξειδωση παρατηρείται κυρίως μετά την παραλαβή του και ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης του σε ακατάλληλες συνθήκες.

Η οξειδωση λαμβάνει χώρα, τόσο απουσία φωτός (αυτοξειδωση), όσο και παρουσία φωτός (φωτοξειδωση) (Κυριτσάκης, 2007).

Αυτοξειδωση των λιπών και ελαίων καλείται η αντίδρασή αυτών με το οξυγόνο. Αποτέλεσμα της αντίδρασής αυτής, είναι η οξειδωτική τάγγιση του ελαίου. Κυρίως υπεύθυνα για την οξειδωση είναι τα πολυακόρεστα οξέα του ελαίου. Ο μηχανισμός της αυτοξειδωσης είναι αρκετά πολύπλοκος και μελετάται ακόμα.

Γενικά, σήμερα δεχόμαστε ότι η αυτοξειδωση είναι μία αυτοκαταλυόμενη αλυσιδωτή αντίδραση που συνδέεται με το μηχανισμό των ελεύθερων ριζών.

Έχει τρία στάδια: την έναρξη (initiation), τη διάδοση (propagation) και τον τερματισμό (termination).

Στο στάδιο της διάδοσης, κάθε σχηματιζόμενη ρίζα αντιδρά με ένα ουδέτερο μόριο και δίνει μια νέα ρίζα. Η νέα ρίζα αντιδρά με άλλο μόριο κ.ο.κ. έτσι η

αντίδραση συνεχίζεται από μόνη της και θα σταματήσει όταν όλες οι ελεύθερες ρίζες αντιδράσουν προς προϊόντα που δεν παρέχουν πλέον νέες ρίζες. η αλληλουχία των αντιδράσεων μπορεί να παραστεί σχηματικώς ως εξής:

$R\cdot$ (ελεύθερη ρίζα)

Έναρξη/ Διάδοση $\rightarrow R\cdot + O_2 \rightarrow ROO\cdot$ (ρίζα υπεροξειδίου)

$ROO\cdot + RH \rightarrow R\cdot + ROOH$

$R\cdot + R\cdot \rightarrow R-R$ (αδρανή προϊόντα που δεν προκαλούν

Τερματισμός $\rightarrow ROO\cdot + R\cdot \rightarrow ROOR$ (έναρξη ή διάδοση αντίδρασης)

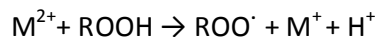
$ROO\cdot + ROO\cdot \rightarrow ROOR + O_2$

Όπως φαίνεται από το σχήμα η έναρξη της αντίδρασης οφείλεται στον σχηματισμό των πρώτων ελεύθερων ριζών, δηλαδή ομάδων με μονήρες ηλεκτρόνιο. Τα κυριότερα από τα αρχικά προϊόντα της αυτοξειδωσης είναι τα υδροξυ-υπεροξειδία. Αυτά στη συνέχεια δίνουν νέες ρίζες υπεροξειδίων, άλλα υδροξυ-υπεροξειδία και νέες ρίζες από το υδρογονανθρακικό τμήμα του μορίου. Τα νέα προϊόντα συμβάλλουν με τη σειρά τους στην αλυσιδωτή αντίδραση που συνεχίζεται με ταχύτερο ρυθμό.

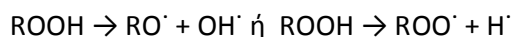
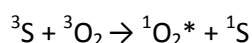
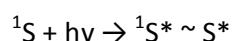
Τα υδρογόνα α- ως προς το διπλό δεσμό είναι πιο ευπαθή λόγω της ηλεκτρονικής κατανομής στο δεσμό αυτό. Έτσι στο στάδιο της διάδοσης τα υδρογόνα αυτά εύκολα αφαιρούνται και σχηματίζονται δευτεροταγή υδροξυ-υπεροξειδία στο άτομο άνθρακα α- ως προς το διπλό δεσμό.

Από τα υπεροξειδία ή τα άλλα ενδιάμεσα προϊόντα σχηματίζεται ένα πλήθος οργανικών ενώσεων. Από τις ενώσεις αυτές, οξέα χαμηλού μοριακού βάρους και αλδεΐδες συμβάλλουν στην εμφάνιση δυσάρεστης οσμής.

Μέταλλα όπως ο σίδηρος και ο χαλκός προκαλούν σχηματισμό νέων ριζών κι έτσι δρουν προοξειδωτικά.



Ένας από τους πιο ενδιαφέροντες τομείς έρευνας στο πεδίο της οξειδωσης των λιπαρών υλών είναι η προέλευση των ριζών που στη συνέχεια προκαλούν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις. Η δημιουργία ελεύθερων ριζών είναι πιθανόν ότι οφείλεται και σε μοριακό μηχανισμό από το οξυγόνο απλής διηγημένης κατάστασης (singlet oxygen). Το τελευταίο σχηματίζεται με τη βοήθεια του φωτός παρουσία ενός φωτοευαίσθητοποιητή, π.χ. χλωροφύλλης, που μπορεί να βασίζεται στο τρόφιμο έστω και σε αναλογία ελάχιστων ppm. Στην αρχική φάση της αυτοοξειδωσης, η αντίδραση του οξυγόνου στη βασική του κατάσταση με ένα μόριο λιπαρού οξέος δεν ευνοείται γιατί συνεπάγεται μια μεταβολή στην συνολική στροφορμή του spin του συστήματος. Αντίθετα, ο σχηματισμός υδροϋπεροξειδίων από το οξυγόνο που μεταπίπτει στην απλή διηγημένη κατάσταση είναι πιο εύκολη. Μετά το σχηματισμό των υδροϋπεροξειδίων συνεχίζεται πλέον η αντίδραση με το μηχανισμό των ελεύθερων ριζών.



Από πρακτική άποψη, σημασία έχει ότι η φωτοοξειδωση δεν ελέγχεται με τα γνωστά φαινολικά αντιοξειδωτικά (BHA, τοκοφερόλες, κ.λ.π.) αλλά με τους αποδιεγέρτες (singlet oxygen quenchers), όπως είναι διάφορες χημικές ενώσεις του νικελίου. Πιστεύεται ότι παρουσία χλωροφύλλης ως αποδιεγέρτη, δρα και το β-καροτένιο (Μπόσκου, 2004).

4.4 Δευτερογενείς μεταβολίτες του ελαιολάδου και αντιοξειδωτική δράση

Οι κυριότεροι δευτερογενείς μεταβολίτες, που περιέχονται στο ελαιόλαδο είναι οι τοκοφερόλες, φαινόλες και τα καροτενοειδή.

Τοκοφερόλες

Οι τοκοφερόλες είναι ομάδα συγγενών ενώσεων που είναι γνωστές ως α-, β-, γ- και δ- τοκοφερόλη. Από τις ομόλογες τοκοφερόλες η α- είναι τριμεθυλοτοκόλη, η β- και η γ- διμεθυλοτοκόλες και η δ- μονομεθυλοτοκόλη.

Οι τοκοφερόλες του ελαιολάδου αποτελούνται κατά 90% από α- τοκοφερόλη και η δράση τους επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, το φως και τη συγκέντρωση. Οι τοκοφερόλες παρουσιάζουν και βιταμινική δράση η οποία μειώνεται από την α- προς την δ- τοκοφερόλη, ενώ η αντιοξειδωτική τους δράση μειώνεται από τη δ- προς την α- τοκοφερόλη. Πέραν της βιταμινικής της δράσης η α- τοκοφερόλη καθώς και οι άλλες τοκοφερόλες, δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται στον ανθρώπινο οργανισμό από την οξείδωση των λιπαρών υλών και που σε κάποιο βαθμό είναι υπεύθυνες για την γήρανση και την καταστροφή των κυττάρων. Υπολογίζεται ότι ένα μόριο της α- τοκοφερόλης προστατεύει 20.000 μόρια λιπαρών οξέων από την οξείδωση.

Οι τοκοφερόλες συμβάλλουν στην παρεμπόδιση της οξείδωσης, ενώ οι ίδιες οξειδώνονται. Από τη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των τοκοφερολών δεν εξαρτώνται μόνο από την ικανότητα ανενεργοποίησης ελευθέρων λιπιδικών ριζών, αλλά και από την αλληλεπίδρασή τους.

Καταστρέφονται με τη θέρμανση και ιδίως στις συνθήκες που επικρατούν κατά τον εξευγενισμό (ραφινάρισμα) των λιπαρών υλών. Για το λόγο αυτό, η περιεκτικότητα των εξευγενισμένων λιπαρών υλών σε τοκοφερόλες είναι μικρότερη απ' αυτή των μη εξευγενισμένων (π.χ. εξευγενισμένου ελαιολάδου έναντι παρθένου). Προσθήκη φωσφολιπιδίων σε ελαιόλαδο που θερμαίνεται στους 180 ° C εμπόδισε τη διάσπαση των τοκοφερολών.

Τα φυτικά έλαια είναι πλουσιότερα σε τοκοφερόλες από τα ζωικά λίπη. Η ανάμειξη φυτικών ελαίων με ζωικά λίπη συντελεί στην αύξηση της αντοχής του μείγματος στην αυτοοξειδωση. Σύμφωνα με τον Μπαλατσούρα (1997), οι τοκοφερόλες είναι αποτελεσματικές για τα ζωικά λίπη, ενώ παρουσιάζουν ήπια αντιοξειδωτική δράση στα φυτικά έλαια. Η αποτελεσματικότερη συγκέντρωση για να επιτευχθεί το μέγιστο της αντιοξειδωτικής τους δράσης κυμαίνεται από 0,03 μέχρι 0,10%.

Το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο έχει λιγότερη συγκέντρωση τοκοφερολών σε σχέση με τα φυτικά έλαια και ως εκ τούτου η παρουσία άλλων φαινολικών ενώσεων, όπως είναι οι πολικές φαινόλες, είναι πολύ σημαντική. Γι' αυτό η προστασία του από την οξείδωση, εξασφαλίζεται κυρίως από τα πολικά φαινολικά συστατικά που περιέχει και λιγότερο από τις τοκοφερόλες (Κυριτσάκης, 2007).

Φαινόλες

Όπως αναφέρθηκε οι φαινόλες είναι οι ενώσεις εκείνες, που περιέχουν τουλάχιστον ένα βενζολικό δακτύλιο με ένα ή περισσότερα υδροξύλια. Διακρίνονται σε απλές φαινόλες, πολυφαινόλες, φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή.

Στο ελαιόλαδο απαντούν φαινολικές ενώσεις, οι οποίες προέρχονται από τον ελαιόκαρπο, αλλά και σε μικρό ποσοστό και από τα φύλλα της ελιάς, που πιθανόν να μην έχουν απομακρυνθεί στο αποφυλλωτήριο του ελαιουργείου και αλέθονται με τον καρπό.

Η σάρκα της ελιάς είναι ιδιαίτερα πλούσια σε φαινολικά συστατικά, υπολογίσιμες ποσότητες των οποίων έχουν βρεθεί στο ελαιόλαδο. Το υψόμετρο, στο οποίο καλλιεργούνται τα ελαιόδεντρα, επηρεάζει σημαντικά το συνολικό φαινολικό φορτίο του καρπού. Το χαμηλό υψόμετρο δίνει υψηλότερο φαινολικό περιεχόμενο, γεγονός που πιθανώς να οφείλεται στο ότι σε χαμηλότερα ύψη, επικρατούν μεγαλύτερες θερμοκρασίες, οι οποίες αυξάνουν τη βιοσύνθεση των υδατανθράκων και των ακυλικών πλεγμάτων και περαιτέρω των πολυφαινολών.

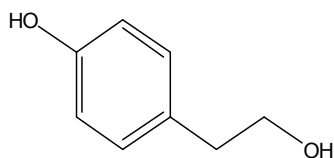
Γενικά, η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών που απαντούν στο παρθένο ελαιόλαδο εξαρτάται από: την ποικιλία του ελαιόκαρπου, τις καλλιεργητικές φροντίδες, τους περιβαλλοντικούς παράγοντες, το βαθμό ωριμότητας του ελαιόκαρπου, τις συνθήκες διατήρησης του ελαιοκάρπου πριν από την επεξεργασία στο ελαιουργείο, τον τύπο του ελαιουργείου και τις συνθήκες, που εφαρμόζονται στο ελαιουργείο (Κυριτσάκης, 2007).

Ελαιόλαδα, τα οποία είχαν παραληφθεί με μηχανικά μέσα (εφαρμογή υδραυλικής πίεσης ή φυγοκέντριση) παρουσίασαν μικρότερη αντοχή στην οξείδωση από ελαιόλαδα που η παραλαβή τους είχε γίνει με τη χρήση διαλύτη, εξαιτίας της μεγαλύτερης περιεκτικότητας των τελευταίων σε ολικές φαινόλες.

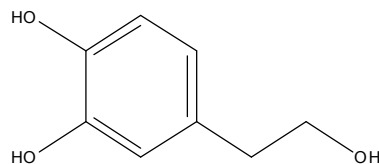
Οι κυριότερες από τις φαινόλες, που απαντούν στο ελαιόλαδο σε ελεύθερη και δεσμευμένη μορφή είναι η τυροσόλη και η υδροξυτυροσόλη, η οποία παρουσιάζει αξιόλογη αντιοξειδωτική δράση.

Εκτός από τις δύο αυτές φαινολικές ενώσεις, στο ελαιόλαδο έχουν ανιχνευτεί και φαινολικά οξέα, όπως το καφεϊκό και το πρωτοκατεχικό.

Τόσο η τυροσόλη (4-υδροξυ-φαινυλο-αιθανόλη) όσο και η υδροξυτυροσόλη (3,4-διυδροξυ-φαινυλο-αιθανόλη) προέρχονται από την υδρόλυση διαφόρων σεκοϊριδοειδών, όπως είναι η ελευρωπαΐνη, ενώ τα υδροξυβενζοϊκά και τα υδροξυκινναμικά οξέα (φαινολικά οξέα) από την αποικοδόμηση των флаβονοειδών (ανθοκυάνες, флаβόνες), οι οποίες απαντούν σε σημαντικές συγκεντρώσεις, κυρίως στον ώριμο ελαιόκαρπο.



Τυροσόλη



Υδροξυτυροσόλη

Συνοψίζοντας, τα κύρια συστατικά του φαινολικού κλάσματος του παρθένου ελαιολάδου, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως είναι η υδροξυτυροσόλη (3,4-DHPEA), η τυροσόλη (HPEA) και τα παραγωγά τους με την αλδεϋδική και διαλδεϋδική μορφή του ελενολικού οξέος. Τα συστατικά αυτά παρέχουν σημαντική αντιοξειδωτική σταθερότητα στα παρθένα ελαιόλαδα, κατά την αποθηκευσή τους στο σκοτάδι (Κυριτσάκης, 2007).

Πρέπει να σημειωθεί ότι η ελευρωπαϊνή, της οποίας παράγωγα είναι η τυροσόλη και υδροξυτυροσόλη, είναι το κύριο φαινολικό συστατικό του ελαιόκαρπου και έχει παρουσιάσει εξαιρετική αντιοξειδωτική ικανότητα. Όμως δεν περιέχεται στο εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο, διότι κατά την επεξεργασία του ελαιόκαρπου στο ελαιουργείο συγκεντρώνεται στα απόνερα εξαιτίας της υψηλής της υδατοδιαλυτότητας. Η παρουσία των λιπόφιλων παραγώγων της ελευρωπαϊνης στο εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο οφείλεται στην υδρολυσή της, από ενδογενείς γλυκοσιδάσες, κατά την διάρκεια της έκθλιψης του ελαιόκαρπου (Lavelli et al., 2002).

Βιταμίνες

Η βιταμίνη Ε (τοκοφερόλη) απαντά στο ελαιόλαδο, όπως και σε όλες σχεδόν τις φυσικές λιπαρές ύλες. Στο ελαιόλαδο απαντά επίσης και η προβιταμίνη Α (β-καροτένιο).

Στερόλες

Το ελαιόλαδο περιέχει ασυνήθιστες φυτοστερόλες. Είναι ουσιαστικά το μοναδικό έλαιο που περιέχει ιδιαίτερα υψηλό ποσοστό β-σιτοστερόλης (89,5%). Περιέχει επίσης και άλλες φυτοστερόλες, όπως Δ5-ανεμαστερόλη (8%), καμπεστερόλη (2%), σιγμαστερόλη (0,5%) και χοληστερόλη σε ίχνη.

Υδρογονάνθρακες

Οι υδρογονάνθρακες, κορεσμένοι και ακόρεστοι, δημιουργούνται πιθανότητα ως παραπροϊόντα της σύνθεσης των λιπαρών οξέων. Ανάμεσα στους υδρογονάνθρακες

που έχουν βρεθεί στο ελαιόλαδο, είναι και το σκουαλένιο (1,5 mg/Kg), καθώς και το β-καροτένιο (0,3-3,7 mg/Kg).

Τερπενικές αλκοόλες

Οι τερπενικές αλκοόλες υπάρχουν στο ελαιόλαδο τόσο σε ελεύθερη μορφή όσο και εστεροποιημένες με λιπαρά οξέα.

Φωσφολιπίδια

Τα φωσφολιπίδια περιέχονται σε μικρές ποσότητες με τη μορφή φωσφατιδυλ-χολίνης και φωσφατιδυλ-αιθανολαμίνης.

Χρωστικές ουσίες

Στο ελαιόλαδο συναντώνται διάφορες χρωστικές ουσίες, με κυριότερες την χλωροφύλλη και το β-καροτένιο (Κυριτσάκης, 2007).

4.5 Αρωματισμένο ελαιόλαδο ως λειτουργικό τρόφιμο

Τα τελευταία χρόνια είναι δεδομένη η αυξανόμενη ζήτηση καινοφανών προϊόντων με βάση το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο στην αγορά των τροφίμων. Τα αρωματισμένα ελαιόλαδα με αρωματικά φυτά, βότανα ή καρυκείμενα βρίσκονται στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος των καταναλωτών.

Η επιστημονικά τεκμηριωμένη περιεκτικότητα του εξαιρετικά παρθένου ελαιόλαδου σε ισχυρά φυσικά αντιοξειδωτικά σε συνδυασμό με την χρήση αρωματικών φυτών, είτε τμημάτων τους, είτε

εκχυλισμάτων τους, ή αιθέριων ελαίων τους, γίνεται ολοένα και πιο αποδεκτό, ότι συμβάλλει σε ένα προϊόν με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση με ευεργετικές επιδράσεις για την υγεία των καταναλωτών. Τέτοια προϊόντα μπορεί να είναι το θυμάρι, το δεντρολίβανο, η ρίγανη, το σκόρδο, η πιπεριά, τα μανιτάρια, ξηροί



καρποί καθώς και φρούτα (λεμόνι, πορτοκάλι, μήλο, μπανάνα). Επιπρόσθετα, εξασφαλίζεται καλύτερα η σταθερότητα του ελαιολάδου έναντι στην οξείδωση κατά τη διάρκεια ζωής του «στο ράφι».

Εν τέλει, τα παραπάνω στοιχεία προσδιορίζουν το αρωματισμένο ελαιόλαδο ως ένα καινούριο λειτουργικό τρόφιμο, με αξιόλογες αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες, που χρήζει συνεχής έρευνας και περαιτέρω βελτίωσης.

Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για τον αρωματισμό του ελαιολάδου, και η επιλογή πρέπει να γίνει με ιδιαίτερη προσοχή, καθώς η μέθοδος εκχύλισης θα επηρεάσει την δεκτικότητα και τη σταθερότητα της οξείδωσης του αρωματισμένου ελαιολάδου.

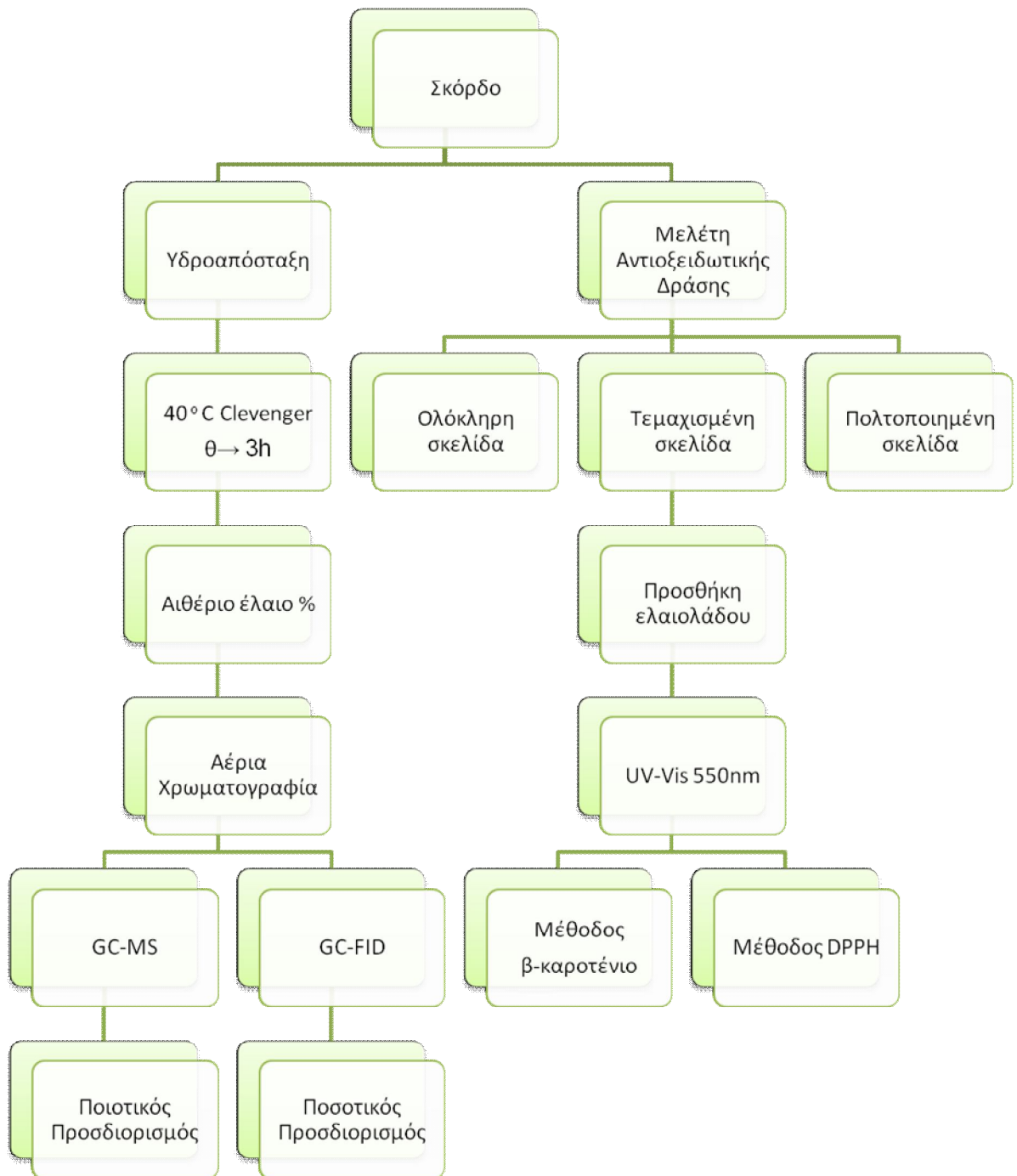
Η διαδικασία της έγχυσης είναι μια παραδοσιακή μέθοδος του αρωματισμού του ελαιολάδου. Φυσικά υλικά, που περιέχουν αντιοξειδωτικά και αρωματικά συστατικά όπως βότανα, μυρωδικά και φρούτα αναμιγνύονται με το ελαιόλαδο και αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου με περιοδική ανάδευση ανά διαστήματα. Στη συνέχεια μετά από διήθηση το δείγμα είναι έτοιμο για χρήση. Για να επιταχύνουμε τη διαδικασία, εφαρμόζουμε αλλαγές στις συνθήκες όπως για παράδειγμα χρήση νιτρογενούς ατμόσφαιρας ή την εκχύλιση σε ελεγχόμενη θερμοκρασία σε φούρνο μικροκυμάτων (Baiano et al.,2010).

5. Σκοπός Μελέτης

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ποιοτική και ποσοτική μελέτη του αιθέριου ελαίου του σκόρδου, καλλιεργούμενο στην περιοχή της Ν. Βύσσας, καθώς και σε άλλες περιοχές της χώρας (Τεγέα, Νεάπολη, Χαλκίδα) και του εξωτερικού (Κίνα και Αργεντινή). Η μελέτη αυτή μπορεί να οδηγήσει στην άντληση πληροφοριών για την αναβάθμιση και χρήση του ως πρώτη ύλη για την παραγωγή πλήθους άλλων προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας.

Ένα άλλο σημαντικό κομμάτι είναι η μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης του σκόρδου σε συνδυασμό με ελαιόλαδο. Όπως προαναφέρθηκε η αντιοξειδωτική δράση του ελαιολάδου ενισχύεται σημαντικά με την προσθήκη αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών και συμβάλλει στην παραγωγή ενός προϊόντος με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Στο συγκεκριμένο πείραμα μελετήθηκε η αντιοξειδωτική δραστηριότητα του ελαιολάδου σε συνδυασμό με το σκόρδο με τρεις διαφορετικούς τρόπους: Προσθήκη στο ελαιόλαδο ολόκληρης σκελίδας σκόρδου, τεμαχισμένο σκόρδο και πολτοποιημένο.

Το διάγραμμα ροής του πειραματικού μέρους φαίνεται στο ακόλουθο σχήμα:



ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6. Υλικά, Συσκευές και Μέθοδοι

6.1. Φυτικό Υλικό

Προμήθεια και Συντήρηση φυτικού Υλικού

Η προμήθεια του φυτικού υλικού πραγματοποιήθηκε από:

- παραγωγούς της Ν. Βύσσας
- παραγωγούς από την περιοχή της Εύβοιας (Χαλκίδας), Αρκαδίας (Τεγέα) και Λακωνίας (Νεάπολη)
- λαϊκές αγορές και συγκεκριμένα, εισαγόμενα από Κίνα και Αργεντινή

Ειδικότερα, έγινε η προμήθεια τουλάχιστον ενός κιλού φρέσκου σκόρδου σε κεφάλια. Από την περιοχή Ν. Βύσσας παραλήφθηκαν 2 δείγματα από τους αντίστοιχους παραγωγούς και θα αναφέρονται πλέον ως **Π1** και **Π2**. Όσο αναφορά τα υπόλοιπα έχουν δοθεί οι κωδικοί **Π3** (Τεγέα), **Π4** (Νεάπολη), **Π5** (Χαλκίδα), **Π6** (Κίνας) και **Π7** (Αργεντινής), όπως φαίνεται και στον Πίνακα 1.

Πίνακας 6.1: Στοιχεία Υλικού

Κωδικός		Πρόελευση	Χρονολογία
Π1	Ν. Βύσσα	Ύψωμα	2010
Π2	Ν. Βύσσα	Βασιλικά	2010
Π3	Τεγέα	Τοπική ποικιλία	2010
Π4	Νεάπολη	Τοπική ποικιλία	2010
Π5	Χαλκίδα	Τοπική ποικιλία	2010
Π6	Κίνα	(Λαϊκή Αγορά)	2010
Π7	Αργεντινή	(Λαϊκή Αγορά)	2010

Το φυτικό υλικό παραλήφθηκε ξηραμένο από τους παραγωγούς, σύμφωνα με τη διαδικασία φυσικής ξήρανσης που εφαρμόζουν. Στη συνέχεια η ξήρανση συνεχίστηκε για άλλες επτά ημέρες εντός εργαστηρίου, σε συνθήκες χαμηλής θερμοκρασίας και υγρασίας, ώστε τα επίπεδα υγρασίας των βολβών να είναι συγκρίσιμα. Αφού τα δείγματα ξηράθηκαν, αποθηκεύτηκαν σε συνθήκες ψύξης έως ότου αναλυθούν.



Εικόνα 6.1: Βολβοί προς αποθήκευση

6.2 Παραλαβή αιθέριου ελαίου

Προκειμένου να μελετηθεί η χημική σύσταση των πτητικών ουσιών του σκόρδου, έγινε η παραλαβή του αιθέριου ελαίου και των αντίστοιχων υδρολυμάτων, σύμφωνα με πειράματα τα οποία προηγήθηκαν του κύριου όγκου των παραλαβών και αφορούσαν τη μέθοδο της υδροαπόσταξης σε συσκευή τύπου Clevenger, ελαφρώς τροποποιημένη.

Συγκεκριμένα, για τον κάθε ένα παραγωγό (Π1 έως και Π7) οι σκελίδες του σκόρδου αφού αποφλοιώθηκαν με προσοχή, ζυγίστηκαν 200 g, τεμαχίστηκαν και ομογενοποιήθηκαν σε μπλέντερ κουζίνας και τοποθετήθηκαν σε σφαιρική φιάλη των 5 L με τη χρήση ενός λίτρου απιονισμένου νερού. Το σώμα της συσκευής Clevenger πληρώθηκε με νερό και επιπρόσθετα τοποθετήθηκαν 10 mL άπολου οργανικού διαλύτη (εξάνιο 99.0 %), με αποτέλεσμα να δημιουργηθεί διπλή φάση. Το εξάνιο τοποθετείται εξαιτίας της μικρής απόδοσης σε πτητικά συστατικά από το σκόρδο, ώστε να μη χαθεί αιθέριο έλαιο στα τοιχώματα της συσκευής. Η διαδικασία της υδροαπόσταξης διήρκεσε 3 ώρες.

Τα σταγονίδια του αιθέριου ελαίου διαλυτοποιούνται στην στοιβάδα του εξανίου ενώ το συναποσταζόμενο νερό επαναρέει στην σφαιρική. Ακολούθησε ψύξη του υδρολύματος και της οργανικής φάσης, συλλογή της φάσης του εξανίου, ξήρανση με άνυδρο θειικό μαγνήσιο, τοποθέτηση σε προζυγισμένο φιαλίδιο και απομάκρυνση του εξανίου (συμπύκνωση) κάτω από ήπιο ρεύμα αζώτου. Υπολογίστηκε η καθαρή μάζα του αιθέριου ελαίου που απομονώθηκε από 200 g σκόρδου και εκφράστηκε και σε g αιθέριου ελαίου ανά 100 g νωπού σκόρδου.

Η όλη διαδικασία πραγματοποιήθηκε άλλες δυο φορές άρα συνολικά τρεις. Έτσι, για παράδειγμα για τον παραγωγό Π1 απομονώθηκαν και αποθηκεύτηκαν, σε συνθήκες βαθιάς κατάψυξης (-22 °C), τρία δείγματα αιθέριου ελαίου με τους κωδικούς G1D1, G1D2 και G1D3 και η απόδοση για κάθε παραγωγό καταγράφηκε και εκτιμήθηκε ως μέσος όρος των τριών. Η όλη διαδικασία επαναλήφθηκε πανομοιότυπα για όλους τους παραγωγούς αποδίδοντας συνολικά είκοσι ένα αποστάγματα, τα οποία αποθηκεύτηκαν έως ότου αναλυθούν.

6.3 Ελαιόλαδο αρωματισμένο με σκόρδο

Προετοιμασία δείγματος

Τα δείγματα ελαιολάδου που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα εξής:

- 1.ελαιόλαδο
- 2.ελαιόλαδο με σκελίδα σκόρδου ολόκληρη
- 4.ελαιόλαδο με σκελίδα σκόρδου θρυμματισμένη
- 5.ελαιόλαδο με σκελίδα σκόρδου πολτοποιημένη

Αφού ακολούθησε διήθηση στα δείγματα 3,4 και 4 τα οποία παρέμειναν σε διάστημα 3 εβδομάδων (από 21/9/2010-1/10/2010) σε θερμοκρασία δωματίου σε σκοτεινό χώρο, εφαρμόστηκε η μέθοδος για μελέτη αντιοξειδωτικού χαρακτήρα του ελαιολάδου εμπλουτισμένο με σκόρδο.

6.4 Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση του αιθέριου ελαίου με αεριοχρωματογραφία (GC-MS/FID)

Ο διαχωρισμός και η ταυτοποίηση των συστατικών πραγματοποιήθηκε με αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με ανιχνευτή φασματοφωτομετρίας μαζών (GC-MS) και στη συνέχεια ακολούθησε ο ποσοτικός προσδιορισμός με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID).

Ποιοτική ανάλυση με αέριο χρωματογράφο συνδεδεμένο με φασματογράφο μαζών

Για την ανάλυση των παραληφθέντων αιθέριων ελαίων εφαρμόστηκε η τεχνική της αέριας χρωματογραφίας ενώ για την ταυτοποίηση των συστατικών τους χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία μαζών. Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε ήταν ένας αέριος χρωματογράφος της εταιρίας Hewlett Packard 5890 σειράς II εξοπλισμένος με τριχοειδή στήλη (30 m x 0.25 mm i.d., 0.25 μm πάχος στήλης) συνδεδεμένο με ανιχνευτή χρωματογράφου μαζών (GC-MS) της Hewlett Packard 5972, ο οποίος λειτουργεί σε πεδίο ιονισμού E1 70 eV. Η θερμοκρασία θαλάμου εισαγωγής του δείγματος όπως και του ανιχνευτή αντίστοιχα ήταν στους 220 και 290 °C. Το πρόγραμμα ανάλυσης περιλάμβανε άνοδο της θερμοκρασίας από τους 60 και 240 °C με ρυθμό 3 °C/λεπτό και μετά ισόθερμα στους 240 °C για 120 λεπτά. Το φέρον αέριο ήταν He με ροή 1 mL/λεπτό. Όγκος 1 μL των δειγμάτων συγκέντρωσης 1/100 v/v σε ακετόνη, εισαχθήκανε χειρονακτικά με την τεχνική splitless mode. Η αναγνώριση των συστατικών των αιθέριων ελαίων έγινε με σύγκριση των χρόνων έκλουσης όπως και των φασμάτων μάζας τους με αυτά προτύπων ουσιών. Επίσης έγινε σύγκριση με τα φάσματα μαζών ουσιών από ηλεκτρονικές βιβλιοθήκες όπως NIST 98, Willey 275 και Adams 2007.

Ποσοτική ανάλυση με αέριο χρωματογράφο συνδεδεμένο με ανιχνευτή φλόγας

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των συστατικών του αιθέριου ελαίου του σκόρδου (εκφρασμένο σε εμβαδόν κορυφών, peak area), πραγματοποιήθηκε μέσω

αέριου χρωματογράφου συνδεδεμένου με ανιχνευτή φλόγας (GC-FID) της εταιρίας Hewlett Packard 5890 σειράς II, εφοδιασμένο με ανιχνευτή φλόγας FID και τριχοειδή στήλη HP-5ms. Η θερμοκρασία θαλάμου εισαγωγής του δείγματος όπως και του ανιχνευτή αντίστοιχα ήταν στους 220 και 290 °C. Το πρόγραμμα ανάλυσης περιλάμβανε άνοδο της θερμοκρασίας από τους 60 και 240 °C με ρυθμό 3 °C/λεπτό και μετά ισόθερμα στους 240 °C για 120 λεπτά. Το φέρον αέριο ήταν He με ροή 1 mL/λεπτό. Όγκος 1 mL των δειγμάτων συγκέντρωσης 1/100 v/v σε ακετόνη, εισαχθήκανε χειρονακτικά με την τεχνική splitless mode. Για τη δημιουργία των εναίσιμων δειγμάτων αναμίχθηκαν 10 mL δείγματος ελαίου (γνωστής με ζύγιση μάζας) με 0,990 mL ακετόνης. Επίσης διαλύματα προτύπων ουσιών γνωστής συγκέντρωσης αναλύθηκαν με τις ίδιες συνθήκες. Η μάζα των επιμέρους συστατικών στο μίγμα πραγματοποιήθηκε είτε με σύγκριση του εμβαδού των κορυφών των προτύπων με αυτές των αγνώστων δειγμάτων είτε με εφαρμογή της μεθόδου ποσοτικού προσδιορισμού ουσιών (απουσία εμπορικών προτύπων) γνωστή ως παράγοντα απόκρισης (response factor).

Ποσοτικά χαρακτηριστικά των παραλαμβανόμενων ελαίων

Για τον καθορισμό της ποσοτικής σύστασης των αιθέριων ελαίων του σκόρδου στα συστατικά τους χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος:

- Μέθοδος συντελεστή απόκρισης (Responsive Factor)

Σύμφωνα με αυτή, για όσα από τα συστατικά δεν διατίθενται στο εμπόριο πρότυπες ουσίες, λήφθηκαν χρωματογραφήματα (GC-FID) διαλυμάτων συγγενικών δομικά ενώσεων γνωστών συγκεντρώσεων, στις ίδιες συνθήκες προγράμματος με αυτές των ελαίων. Στη συνέχεια, μετά την ολοκλήρωση, έγινε σύγκριση των εμβαδών των «ανάλογων» προτύπων (peak area) με αυτά των συστατικών των δειγμάτων.

6.5 Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο του Διφαινυλοπικρυλυδραζυλίου-DPPH

Αφού ακολούθησε διήθηση στα δείγματα 3,4 και 5 τα οποία παρέμειναν σε διάστημα 3 εβδομάδων (από 21/9/2010-1/10/2010) σε θερμοκρασία δωματίου σε σκοτεινό χώρο, εφαρμόστηκε η παρακάτω μέθοδος για μελέτη αντιοξειδωτικού χαρακτήρα του ελαιολάδου εμπλουτισμένο με σκόρδο.

Το αντιδραστήριο μίγμα του ελαιολάδου και το DPPH διάλυμα παρασκευάστηκαν ως εξής:

Για το διάλυμα DPPH ζυγίστηκαν 4mg σε 100mL οξικού αιθυλεστέρα

Για κάθε δείγμα ζυγίστηκαν 1g ελαίου σε 10mL οξικού αιθυλεστέρα

Στη συνέχεια 1mL του διαλύματος ελαιολάδου (10%w/v) προστέθηκαν σε 4 mL διαλύματος DPPH σε κυψελίδα χαλαζία, αφού ανακινήθηκε γρήγορα, και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 515nm σε φωτόμετρο... Οι μετρήσεις λαμβάνονταν κάθε ένα λεπτό ξεκινώντας από την στιγμή της ανάμιξης του διαλύματος DPPH με το δείγμα. Η απορρόφηση υπολογίστηκε από τον τύπο $A_0 = A_B + A_S$ όπου A_B είναι η απορρόφηση του τυφλού δείγματος(DPPH) και A_S είναι η απορρόφηση του διαλύματος ελαιολάδου στον οξικό αιθυλεστέρα. Για κάθε δείγμα η ανάλυση έγινε σε τριπλέτες και υπολογίστηκε σε αντίστοιχο πίνακα η τυπική απόκλιση. Το πείραμα επαναλήφθηκε ανά 5 ημέρες στο διάστημα 3 εβδομάδων.

6.6 Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο β-καροτένιο/λινελαϊκό οξύ

Αφού ακολούθησε διήθηση στα δείγματα 3,4 και 5 τα οποία παρέμειναν σε διάστημα 3 εβδομάδων (από 21/9/2010-1/10/2010) σε θερμοκρασία δωματίου σε σκοτεινό χώρο, εφαρμόστηκε η παρακάτω μέθοδος για μελέτη αντιοξειδωτικού χαρακτήρα του ελαιολάδου εμπλουτισμένο με σκόρδο.

Για το διάλυμα (stock) του β-καροτένιου/ λινολεϊκού οξέως ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία:

Διαλύθηκαν 0.5mg β-καροτένιου σε 1ml χλωροφόρμιο και στη συνέχεια προστέθηκαν 25ml λινελαϊκού οξέως και 200mg Tween 40. Το χλωροφόρμιο εξατμίζεται με τη χρήση του συμπυκνωτήρα κενού. Στη συνέχεια προστέθηκαν 100ml απεσταγμένου νερού (αφού πρώτα είχε οξυγονωθεί για περίπου 30 λεπτά) αναδεύοντας έντονα.

Σε 350 μl από κάθε δείγμα συγκέντρωσης 2 g l^{-1} από τα παραπάνω προστίθενται 2.5ml από το μίγμα αυτό, καλυμμένα σε σκοτεινό μέρος και με θερμοκρασία δωματίου για 48 ώρες. Η λήψη των δειγμάτων έγινε σε τριπλέτες.

Η ίδια ακριβώς διαδικασία ακολουθήθηκε για το BHT (butylated hydroxytoluene) ως δείκτης και για το λευκό δείγμα.

Στο πέρασμα των 48 ωρών μετρήθηκε η απορρόφηση των δειγμάτων στα 490 nm. Η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων θα συγκριθεί με το λευκό και το BHT.

. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

7.1 Αποδόσεις σε αιθέριο έλαιο

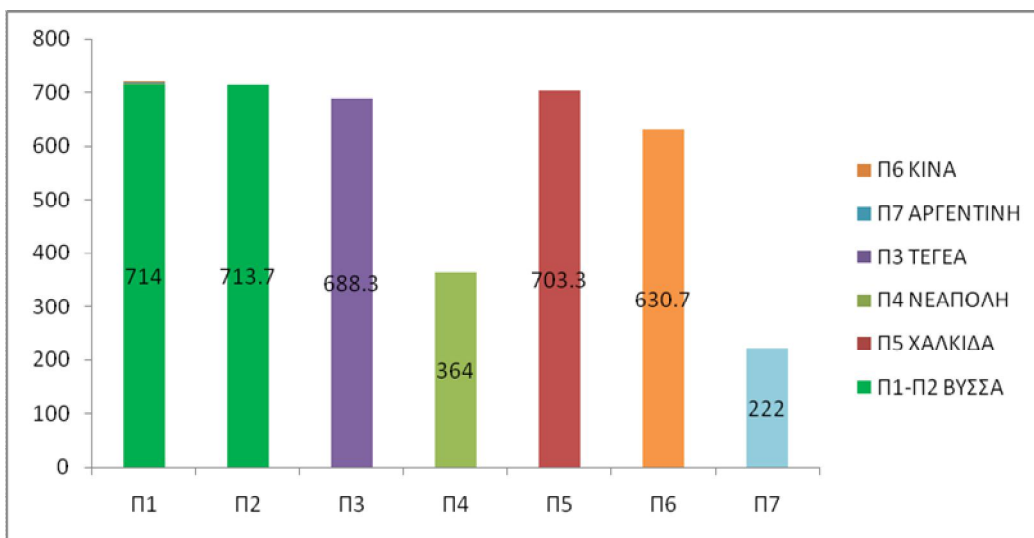
Τα αποτελέσματα της παραλαβής των αιθέριων ελαίων προερχόμενα από σκόρδα διαφορετικών παραγωγών δίνονται στον Πίνακα 7.1 και αναγράφονται ως τριπλέτα ανά παραγωγό εκφραζόμενα ως mg λαδιού ανά 200 g σκόρδου.

Πίνακας 7.1: Μάζα των αιθέριων ελαίων (τρεις επαναλήψεις και μέσοι όροι ανά παραγωγό) των σκόρδων όπως απομονώθηκαν από 200 g φυτικού υλικού, όπως και απόδοση απόσταξης εκφρασμένη σε mg αιθέριου ελαίου ανά 100g φυτικού υλικού

Παραγωγοί	mg αιθέριου ελαίου / 200 g σκόρδου			mg / 100 g	
	1 ^η Απόσταξη	2 ^η Απόσταξη	3 ^η Απόσταξη	M.O.	M.O.
Π1	684	702	756	714.0	357
Π2	705	702	734	713.7	356,7
Π3	673	659	733	688.3	344.1
Π4	418	310	364	364.0	182.0
Π5	692	688	730	703.3	352.0
Π6	625	658	609	630.7	315.3
Π7	244	200	222	222.0	111.0

Είναι εμφανές ότι ποσοτικά το Σκόρδο Βύσσας (Π1-Π2) εμφανίζει υψηλή απόδοση σε αιθέριο έλαιο με ποσοστά να κυμαίνονται στα 713-714 mg/ 200g. φρέσκου σκόρδου. Ακολουθούν με υψηλά ποσοστά η Χαλκίδα (Π5), (703 mg/200g) και η Τεγέα (Π3) (688 mg/200g). Ακολουθεί το έλαιο Κίνας (Π6) και χαμηλότερες αποδόσεις εμφανίζουν η Νεάπολη (Π4) και η Αργεντινή (Π7).

Ακολουθως εκφράζονται και ως μέσος όρος ανά παραγωγό εκφραζόμενα τόσο ως mg λαδιού ανά 200 g αλλά και ανά 100 g σκόρδου. Συγχρόνως, αποδίδεται και γραφικά ο μέσος όρος στο Διάγραμμα 1. που ακολουθεί.



Διάγραμμα 7. 1: Μάζα των αιθέριων ελαίων (ως μέσοι όροι) σε mg από 200 g σκόρδου σχετιζόμενα ανά παραγωγό.

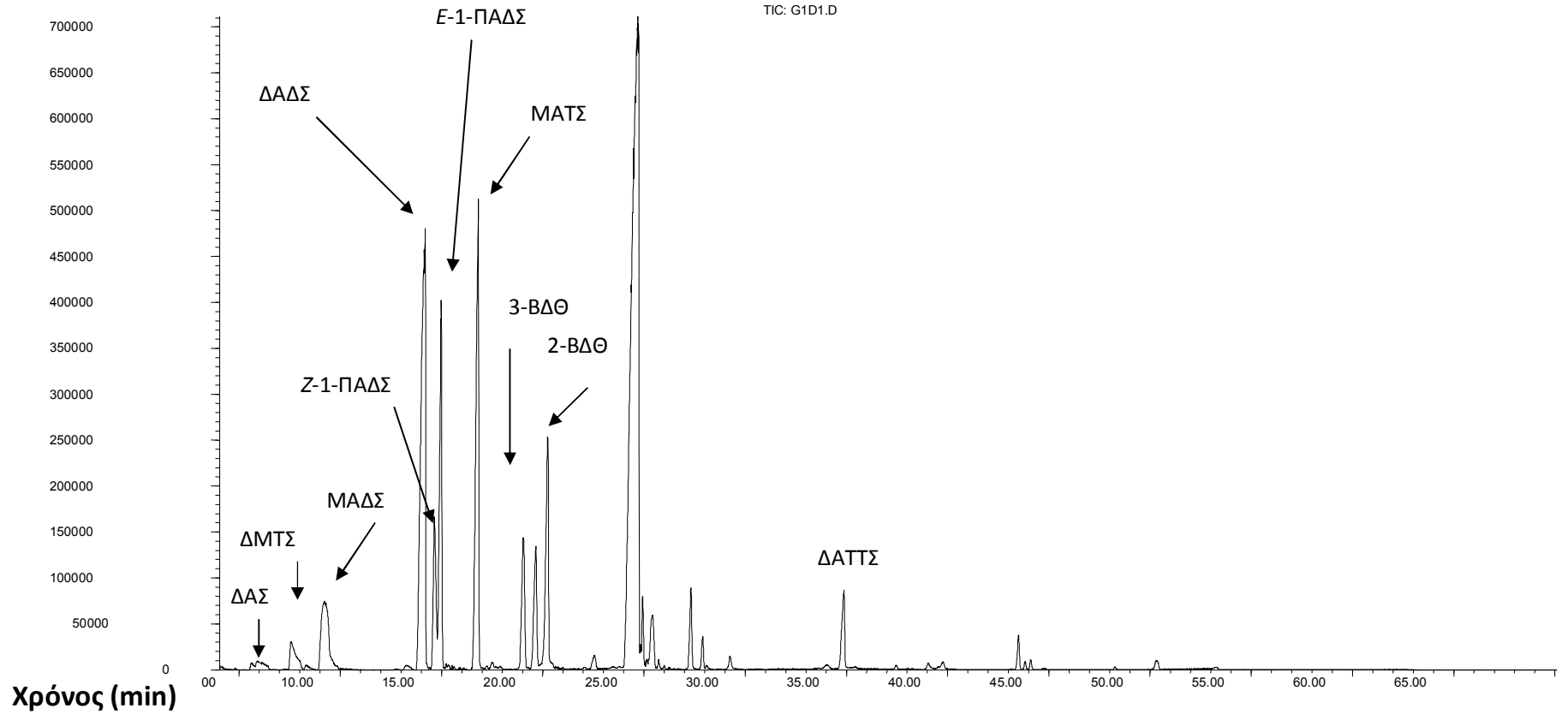
Στο διάγραμμα 7.1 απεικονίζεται με διαφορετικό χρώμα ο κάθε παραγωγός, όπου και πάλι παρατηρείται πως το σκόρδο N. Βύσσας υπερτερεί και είναι εμφανής η χαμηλή απόδοση αιθέριου ελαίου της Αργεντινής και της Νεάπολης.

7.2 Αεριοχρωματογραφική Ανάλυση- Ποιοτικά και Ποσοτικά χαρακτηριστικά των αιθέριων ελαίων

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης με αέρια χρωματογραφία – φασματοσκοπία μαζών (GC-MS) όλων των αιθέριων ελαίων που προέκυψαν από την απόσταξη των δειγμάτων σκόρδου διαφορετικής γεωγραφικής προέλευσης, κατέληξε στην αναγνώριση των ίδιων περίπου συστατικών τα οποία ανήκουν στην τάξη των σουλφιδίων. Έτσι προέκυψαν 42 χρωματογραφήματα της μορφής του Σχήματος 7.1, όπου και εμφανίζονται τα αναγνωρισμένα κύρια συστατικά των ελαίων.

Σε ότι αφορά στην πειραματική πορεία των αναλύσεων, οι κωδικοί που δόθηκαν ακολούθησαν την εξής διαδικασία. : για παράδειγμα για τον παραγωγό Π1 δόθηκε ο κωδικός G1, οπότε για κάθε έλαιο που προέκυψε από την τριπλέτα απόσταξης, προέκυψαν όπως ειπώθηκε παραπάνω τριπλέτα ελαίων τα οποία αντιστοιχούν σε τριπλέτα χρωματογραφημάτων με τους κωδικούς G1D1, G2D2 και G3D3. Το υπόδειγμα του Σχήματος 4 αντιστοιχεί στο έλαιο της πρώτης απόσταξης του παραγωγού Π1.

Αφθονία



Σχήμα 7.1: Χαρακτηριστικό χρωματογράφημα αιθέριου ελαίου Σκόρδου Βύσσας (G1D1) με τα κυριότερα σουλφίδια να παριστάνονται με τις συντομογραφίες τους (Σχήμα 5)

Η επί τοις εκατό σύσταση των ελαίων απέδωσε, σε κατά κύριο λόγο, έντεκα συστατικά τα οποία συνιστούν πάνω από το 90% του συνόλου των συστατικών. Οι ουσίες αυτές σε σειρά αφθονίας ήταν το: διάλλυλο δισουλφίδιο (ΔΑΔΣ), διάλλυλο τρισουλφίδιο (ΔΑΤΣ), μεθυλο άλλυλο τρισουλφίδιο (ΜΑΤΣ), E-1-προπένυλο άλλυλο δισουλφίδιο (E-1-ΠΑΔΣ), Z-1-προπένυλο άλλυλο δισουλφίδιο (E-1-ΠΑΔΣ), μέθυλο άλλυλο δισουλφίδιο (ΜΑΔΣ), διμέθυλο τρισουλφίδιο (ΔΜΤΣ), 2-βινυλο διθειίνη (2-ΒΔΘ), 3-βινυλο διθειίνη (3-ΒΔΘ), διάλλυλο σουλφίδιο (ΔΑΣ) και διαλλυλο τετρασουλφίδιο (ΔΑΤΤΣ). Λεπτομερείς απεικόνιση δίνεται στο Σχήμα 5. Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των προς μελέτη δειγμάτων είναι σε συμφωνία με τα βιβλιογραφικά δεδομένα.

Πίνακας 7.2: Ποιοτικός προσδιορισμός ουσιών

α/α	Συστατικό	RT%	Σύσταση %	Βιβλιοθήκη
1.	Διάλλυλο σουλφίδιο	9,58	2,50	Wiley 275
2.	Διμέθυλο τρισουλφίδιο	10,05	0,14	Wiley 275
3.	Μέθυλο-άλλυλο τρισουλφίδιο	11,39	3,19	Adams
4.	άγνωστη	15,87	0,13	
5.	Διάλλυλο δι-σουλφίδιο	16,73	25,20	Nist 98
6.	Z-1-προπένυλο άλλυλο δισουλφίδιο	17,26	3,58	Wiley 275
7.	E-1-προπένυλο άλλυλο δισουλφίδιο	17,61	7,93	Nist 98
8.	Μέθυλο-άλλυλο σουλφίδιο	19,67	12,5	Wiley 275
9.	άγνωστη	20,78	0,28	
10.	3-βινυλο διθειίνη	22,00	1,66	Wiley 275
11.	άγνωστη	22,68	0,93	

12.	2-βινυλο διθειίνη	23,20	2,74	Wiley 275
13.	άγνωστη	25,56	0,59	
14.	Διάλλυλο τρισουλφίδιο	27,69	32,95	Adams
15.	άγνωστη	27,93	0,36	
16.	άγνωστη	28,50	1,56	
17.	άγνωστη	30,68	0,26	
18.	άγνωστη	31,19	0,18	
19.	Διάλλυλο τέτρασουλφίδιο	38,29	1,08	Wiley 275
20.	άγνωστη	47,31	1,18	
Σύνολο			98.94	

Η επεξεργασία των πειραματικών αποτελεσμάτων παρατίθεται σε δυο άξονες. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών συστατικών των δειγμάτων σκόρδου που εκφράζεται σε mg συστατικού / 1 g ελαίου αξιολογώντας έτσι τα αναλυτικά χαρακτηριστικά των κατά περίπτωση ελαίων, και εκφραζόμενη σε mg συστατικού / 100 g φρέσκου σκόρδου αναδεικνύοντας αντίστοιχα τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του φυτικού υλικού από το οποίο προέκυψε το έλαιο.

Πραγματοποιήθηκε ποσοτικός προσδιορισμός έντεκα συστατικών των δειγμάτων, εκφρασμένος ως mg συστατικού / 1 g ελαίου, ανά κάθε παραγωγό ξεχωριστά. Ακολούθως γίνεται η ποσοτική σύγκριση των συστατικών των ελαίων παραγωγών Σκόρδου Βύσσας, ως μέσου όρου, με αυτά των ελαίων παραγωγών άλλων περιοχών (πίνακας 7.3).

Όπως φαίνεται από τους πίνακες που παρατίθενται παρακάτω τα κυρίαρχα συστατικά σε όλα τα δείγματα είναι το διάλλυλο τρισουλφίδιο και το διάλλυλο δισουλφίδιο με ποσοστά που κυμαίνονται από 270 – 390 mg το πρώτο και 251 – 326 το δεύτερο. Τα υπόλοιπα συστατικά ακολουθούν σε εμφανώς χαμηλότερες

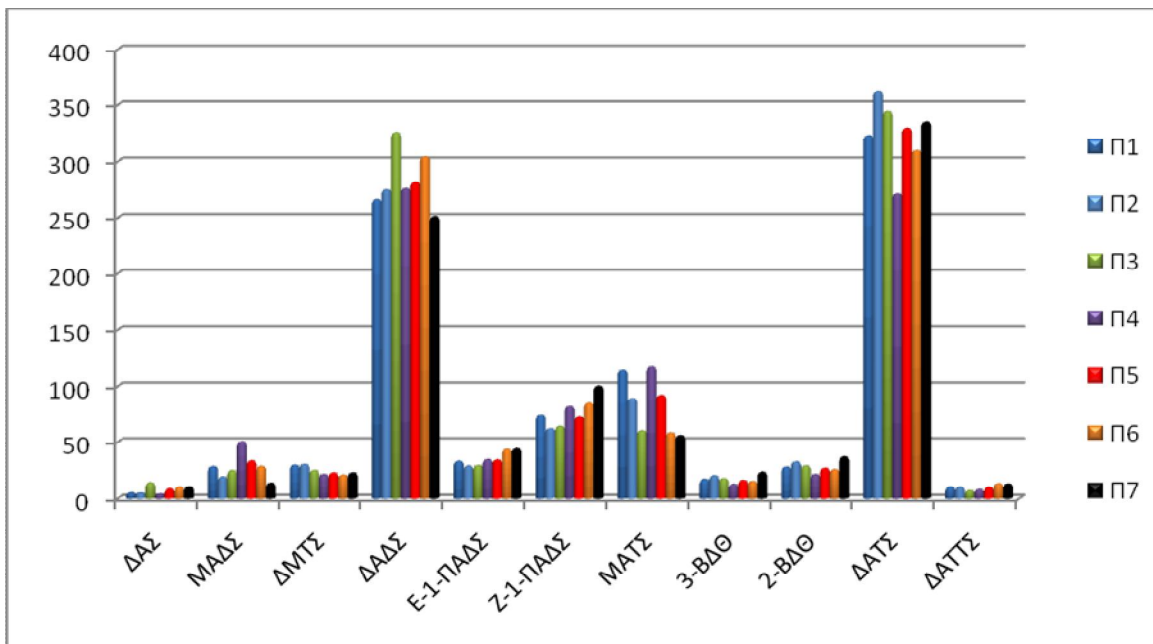
τιμές με το μεθυλο άλλυλο τρισουλφίδιο (52 – 115 mg) και το Z-1-προπένυλο άλλυλο δισουλφίδιο (26 – 44 mg) να ξεχωρίζουν. Τα σουλφίδια E-1-προπένυλο άλλυλο δισουλφίδιο, μέθυλο άλλυλο δισουλφίδιο, διμέθυλο τρισουλφίδιο, 2-βινυλο διθειίνη, 3-βινυλο διθειίνη, διάλλυλο σουλφίδιο και διαλλυλο τετρασουλφίδιο παρουσιάζονται σε ακόμη χαμηλότερα ποσοστά.

Ειδικότερα σε ότι αφορά στη σύγκριση αιθερίων ελαίων διαφορετικής προέλευσης, το Σκόρδο Βύσσας υπολείπεται ελαφρά των σκόρδων προέλευσης Χαλκίδας και Κίνας. στο συστατικό διάλλυλο δισουλφίδιο, ενώ υπερτερεί επίσης ελαφρά αυτών στο συστατικό διάλλυλο τρισουλφίδιο. Στα υπόλοιπα συστατικά, φαίνεται πως και πάλι στις περισσότερες των περιπτώσεων τα έλαια προέλευσης Βύσσας εμφανίζουν υψηλότερες τιμές.

Πίνακας 7.3 : Ποσοτικός προσδιορισμός των κυριότερων συστατικών των αιθερίων ελαίων των υπό εξέταση δειγμάτων σκόρδου εκφρασμένα σε mg συστατικού ανά 1 g αιθέριου ελαίου ανά παραγωγό.

Συστατικά	mg συστατικού / 1 g αιθερίου ελαίου						
	Παραγωγοί						
	Π1	Π2	Π3	Π4	Π5	Π6	Π7
ΔΑΣ	5.2	5.0	14.3	3.8	9.0	10.3	10.7
ΜΑΔΣ	28.6	19.4	25.1	50.4	33.6	28.7	13.9
ΔΜΤΣ	29.8	30.5	25.3	21.7	23.0	21.1	23.1
ΔΑΔΣ	266.2	274.8	326.0	275.9	281.3	304.3	251.3
E-1-ΠΑΔΣ	33.2	29.1	29.5	34.8	34.4	43.7	44.3
Z-1-ΠΑΔΣ	74.1	62.3	64.4	82.1	72.8	85.1	100.3
ΜΑΤΣ	114.1	89.1	60.3	117.1	92.0	58.5	56.0
3-ΒΔΘ	17.4	20.5	17.9	12.9	16.3	15.4	23.6

2-ΒΔΘ	28.1	32.8	29.2	21.7	27.1	25.9	37.2
ΔΑΤΣ	323.4	362.5	344.5	271.1	329.7	310.0	335.5
ΔΑΤΤΣ	10.5	10.3	7.3	8.3	10.0	13.4	13.2



Διάγραμμα 7.2: Ποσοτική σύγκριση συστατικών αιθέριων ελαίων σκόρδου εκφρασμένη σε mg συστατικού ανά 1g αιθέριου ελαίου ανά παραγωγό.

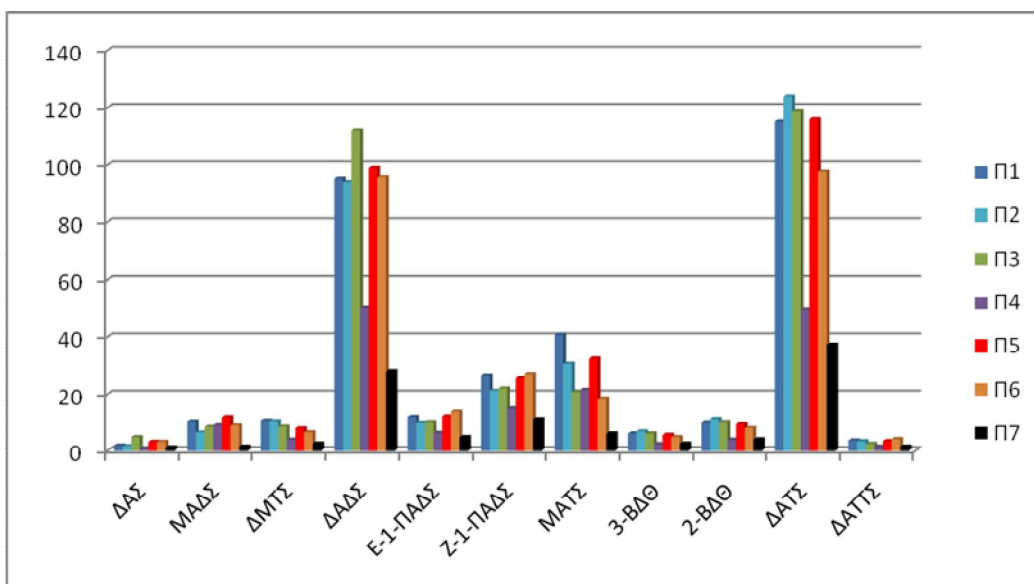
Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ποσοτικός προσδιορισμός ένδεκα συστατικών των δειγμάτων, εκφρασμένος ως mg συστατικού / 100 g φρέσκου σκόρδου ανά κάθε παραγωγό ξεχωριστά. Στον Πίνακα 7.4 και στο Διάγραμμα 7.4 γίνεται η ποσοτική σύγκριση των συστατικών των ελαίων παραγωγών Σκόρδου Βύσσας, ως μέσου όρου, με αυτά των ελαίων παραγωγών άλλων περιοχών.

Όπως ήταν αναμενόμενο, από τους πίνακες που παρατίθενται παρακάτω φαίνεται ότι τα κυρίαρχα συστατικά σε όλα τα δείγματα είναι το διάλλυλο τρισουλφίδιο και το διάλλυλο δισουλφίδιο με ποσοστά που κυμαίνονται από 37 –

137 mg το πρώτο και 50 – 113 mg το δεύτερο. Τα υπόλοιπα συστατικά ακολουθούν σε εμφανώς χαμηλότερες τιμές με το μεθυλο άλλυλο τρισουλφίδιο (6 – 40 mg), Z-1-προπένυλο άλλυλο δισουλφίδιο δισουλφίδιο (11 – 27 mg) να ξεχωρίζουν. Τα σουλφίδια E-1-προπένυλο άλλυλο δισουλφίδιο, μέθυλο άλλυλο δισουλφίδιο, διμέθυλο τρισουλφίδιο, 2-βινυλο διθειίνη, 3-βινυλο διθειίνη, διάλλυλο σουλφίδιο και διαλλυλο τετρασουλφίδιο παρουσιάζονται σε ακόμη χαμηλότερα ποσοστά.

Πίνακας 7.4: Ποσοτικός προσδιορισμός των κυριότερων συστατικών των αιθερίων ελαίων των υπό εξέταση δειγμάτων σκόρδου εκφρασμένα σε mg συστατικού ανά 100 g σκόρδου ανά παραγωγό.

	mg συστατικού / 100 g σκόρδου						
Συστατικά	Παραγωγοί						
	Π1	Π2	Π3	Π4	Π5	Π6	Π7
ΔΑΣ	1.9	1.7	4.9	0.7	3.2	3.2	1.2
ΜΑΔΣ	10.3	6.6	8.6	9.2	11.8	9.1	1.5
ΔΜΤΣ	10.6	10.4	8.7	4.0	8.1	6.7	2.6
ΔΑΔΣ	95.3	94.0	112.1	50.1	99.0	95.8	27.9
E-1-ΠΑΔΣ	11.9	9.9	10.1	6.4	12.1	13.8	4.9
Z-1-ΠΑΔΣ	26.4	21.3	22.1	15.0	25.6	26.9	11.1
ΜΑΤΣ	40.7	30.5	20.8	21.6	32.3	18.5	6.2
3-ΒΔΘ	6.2	7.0	6.2	2.4	5.7	4.9	2.6
2-ΒΔΘ	10.0	11.2	10.1	4.0	9.5	8.2	4.1
ΔΑΤΣ	115.2	124.0	118.7	49.5	116.0	97.7	37.3
ΔΑΤΤΣ	3.7	3.5	2.5	1.5	3.5	4.2	1.5

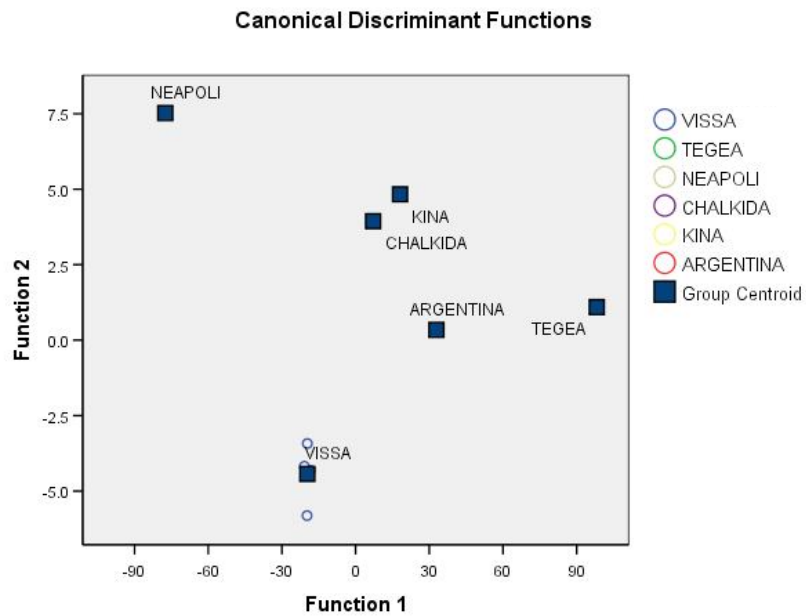


Διάγραμμα 7.4: Ποσοτική σύγκριση συστατικών αιθέριων ελαίων σκόρδου, εκφρασμένη σε mg συστατικού ανά 100 g σκόρδου ανά παραγωγό.

Κανονικοποιημένη Διαχωριστική Ανάλυση σκόρδων Βύσσας με όλων των υπολοίπων περιοχών προέλευσης,

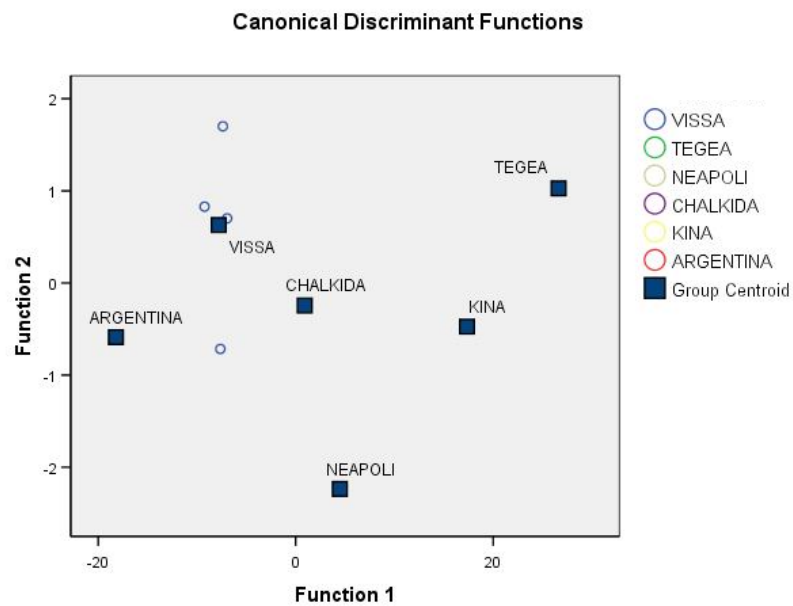
Με στόχο τη διαφοροποίηση των δειγμάτων σκόρδου διαφορετικής γεωγραφικής προέλευσης εφαρμόστηκε η στατιστική μέθοδος διαχωριστικής ανάλυσης (discriminant analysis) του στατιστικού πακέτου SPSS 14 για περιβάλλον Windows. Για την εφαρμογή της μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν τα ένδεκα συστατικά των αιθέριων ελαίων τα οποία αναγνωρίστηκαν τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά. Το στατιστικό πακέτο προσανατολίστηκε σε δύο άξονες, με κοινό χαρακτηριστικό τη σύγκριση αιθέριων ελαίων άρα και σκόρδων Βύσσας με σκόρδα των υπολοίπων περιοχών.

Παρατηρείται καθαρά αφενός μεν η ομαδοποίηση των παραγωγών Σκόρδου Βύσσας μεταξύ τους, αφετέρου δε η διαφοροποίηση των παραγωγών Σκόρδου Βύσσας σε σχέση με τους υπόλοιπους παραγωγούς της Χαλκίδας, Τεγέας και Νεάπολης αλλά και της Κίνας και Αργεντινής.



Γράφημα 7.1: Παρουσίαση ομαδοποίησης αποτελεσμάτων όλων των παραγωγών

Η ομαδοποίηση των αποτελεσμάτων έγινε με βάση τα τρία πρώτα στοιχεία στον πίνακα 3.3, όπως φαίνεται να χρησιμοποιήσει το Function 1.

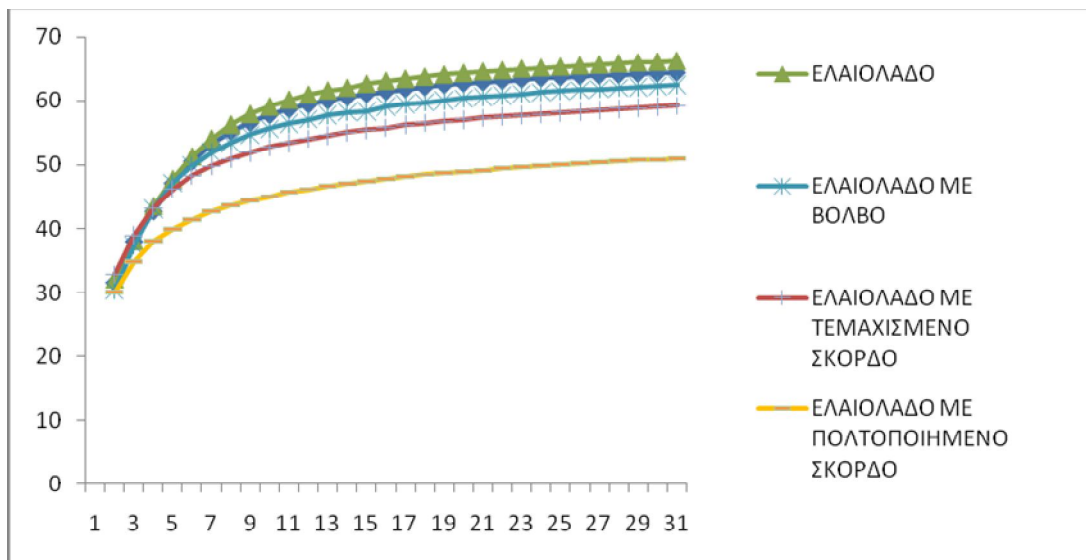


Γράφημα 7.2: Ομαδοποίηση των αποτελεσμάτων με βάση τα κύρια συστατικά

7.3 Αντιοξειδωτική ικανότητα

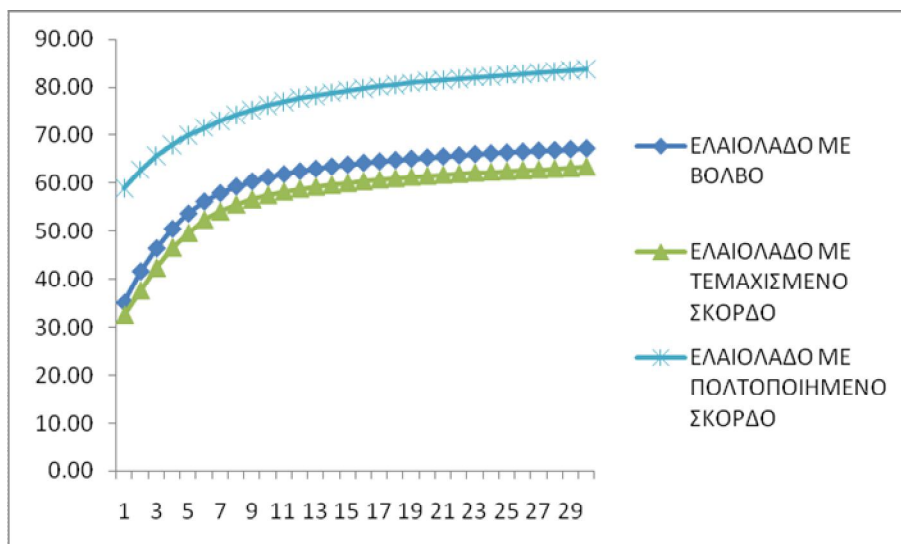
Η μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο β-καροτένιο/ λινελαϊκό οξύ δεν είχε επιθυμητό αποτέλεσμα για το ελαιόλαδο. Επομένως απορρίφθηκε και παρακάτω ακολουθούν τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH.

Στα διαγράμματα που ακολουθούν φαίνεται η πορεία δράσης του δείγματος ελαιολάδου, ελαιολάδου με τον βολβό του σκόρδου είτε ως ολόκληρος βολβός, είτε τεμαχισμένος είτε θρυμματισμένος.



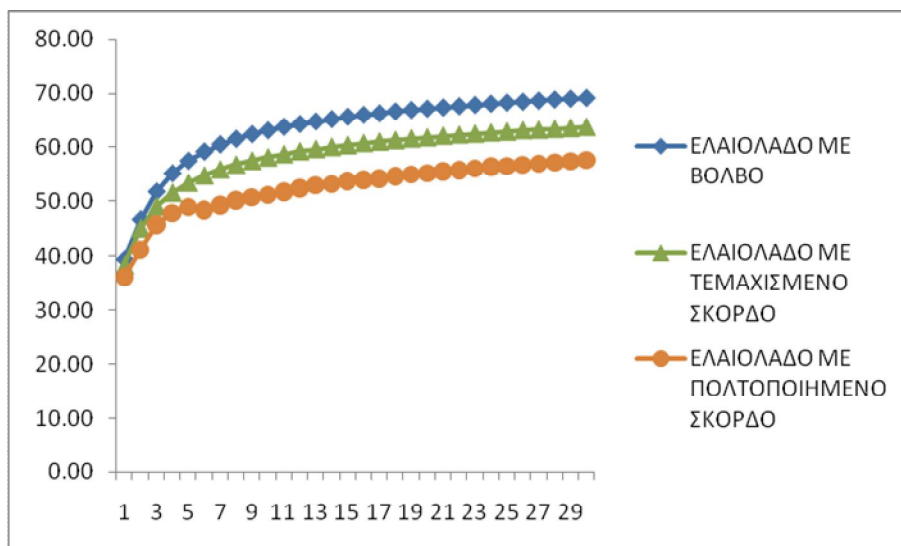
Διάγραμμα 7.5: Μέθοδος DPPH (21/9)

Παρατηρούμε ότι η δράση του ελαιολάδου υπερτερεί των δειγμάτων με την προσθήκη του σκόρδου είτε ως βολβό, είτε ως τεμαχισμένο ή και θρυμματισμένο.



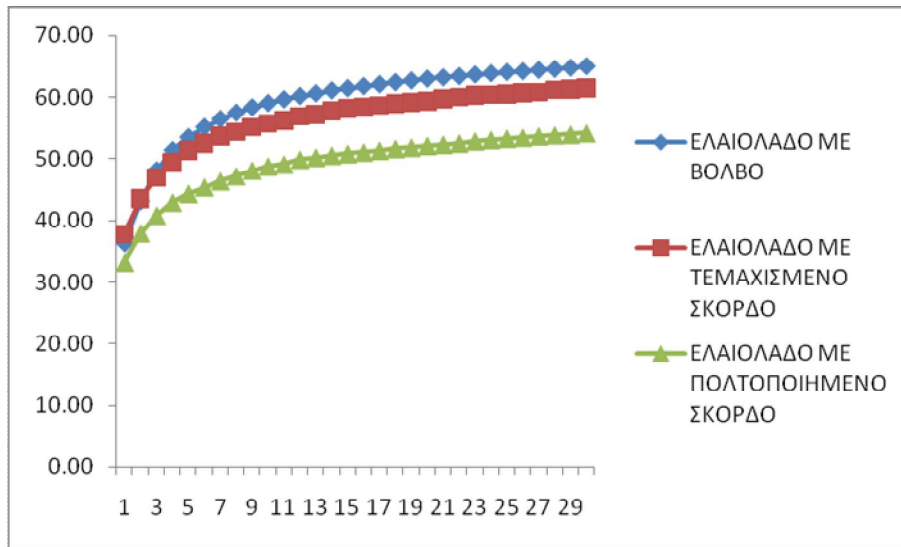
Διάγραμμα 7.6: Μέθοδος DRPH (24/9)

Επαναλαμβάνουμε το πείραμα σταδιακά ανά εβδομάδα στο ελαιόλαδο που έχει προστεθεί σκόρδο και παρατηρούμε ότι στην περίπτωση του πολτοποιημένου σκόρδου εμφανίζεται αντιοξειδωτική δράση, περισσότερο αισθητή σε σχέση με εκείνο που έχει προστεθεί ολόκληρος ο βολβός ή είναι τεμαχισμένο.



Διάγραμμα 7.7: Μέθοδος DRPH (27/9)

Σταδιακά τρεις εβδομάδες μετά η αντιοξειδωτική δράση μειώνεται και για τα 3 δείγματα.



Διάγραμμα 7.8: Μέθοδος DPPH (1/10)

Στο διάστημα ενός μήνα η αντιοξειδωτική δράση μειώνεται και παρατηρείται η σταθερή πορεία της αντιοξειδωτικής δράσης του ελαιολάδου με την προσθήκη του ολόκληρου βολβού του σκόρδου.

8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το σκόρδο περιέχει μοναδικά σουλφιδικά συστατικά, που του προσδίδουν χαρακτηριστική γεύση και οσμή, και σε αυτά οφείλει την βιολογική του δραστηριότητα. Το σκόρδο περιέχει πάνω από 100 διαφορετικά συστατικά που συμβάλλουν στη δράση του. Συγκεκριμένα στο σκόρδο περιέχονται τέσσερις φορές περισσότερα σουλφίδια απ ότι στο κρεμμύδι, το μπρόκολο ή το κουνουπίδι. Τα πτητικά συστατικά του σκόρδου συλλέχθηκαν με υδροαπόσταξη με συσκευή Clevenger, και στη συνέχεια ακολούθησε ποιοτική και ποσοτική ανάλυση του αιθέριου ελαίου με αέρια χρωματογραφία(GC-MS/GC-FID).

Στο προηγούμενο κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την ποσότητα αιθέριου ελαίου που συλλέχθηκε κατά την υδροαπόσταξη καθώς και από την αεριοχρωματογραφική ανάλυση απ όπου και προκύπτουν τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά του αιθέριου ελαίου του σκόρδου. Συμπερασματικά το σκόρδο Βύσσας εμφανίζει και την υψηλότερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο.

Από τα αέρια χρωματογραφήματα συμπεραίνεται ότι τα κυρίαρχα συστατικά σε όλα τα δείγματα είναι το διάλλυλο τρισουλφίδιο και το διάλλυλο δισουλφίδιο, των οποίων η αναλογία κυμαίνεται από 270-390mg και 251-366mg αντιστοίχως. Συγκριτικά το σκόρδο Κίνας και Χαλκίδας υπερτερούν σε ποσότητα στο διάλλυλο τρισουλφίδιο ενώ το σκόρδο Βύσσας υπερτερεί στο διάλλυλο δισουλφίδιο. Τα υπόλοιπα συστατικά ακολουθούν σε εμφανώς χαμηλότερες τιμές με το μεθυλοάλλυλο τρισουλφίδιο (52 – 115 mg) και το Z-1-προπένυλο άλλυλο δισουλφίδιο (26 – 44 mg) να ξεχωρίζουν.

Στη συνέχεια έγινε ο διαχωρισμός σκόρδων με βάση την γεωγραφική προέλευση, χρησιμοποιώντας όλα τα συστατικά του αιθέριου ελαίου καθώς και με τα 2 κυρίαρχα συστατικά. Τα γραφήματα δείχνουν ότι μπορεί να πραγματοποιηθεί διαχωρισμός με βάση τα συστατικά του αιθέριου ελαίου και συγκεκριμένα τα 2 δείγματα από την περιοχή της Βύσσας εμφανίζονται στην ίδια περιοχή στο γράφημα. Έτσι λοιπόν γνωρίζοντας την σύσταση του αιθέριου ελαίου μπορεί να γίνει ο διαχωρισμός των παραγωγών.

Το σκόρδο έχει χρησιμοποιηθεί και στο παρελθόν για να ελέγξει και να υποβοηθήσει ασθένειες όπως οι ρευματοπάθειες ή δερματικές παθήσεις, λόγω των δραστικών του μορίων με αντιβακτηριδιακές και αντιβιοτικές ιδιότητες, ιδιαιτέρως της αλλισίνης. Παρολαυτά και ενώ έχει παρατηρηθεί έντονη δραστηριότητα κατά την προσθήκη στο ελαιόλαδο άλλων φυτικών υλικών συγκεκριμένα το δεντρολίβανο και το θυμάρι, το σκόρδο δεν φαίνεται να μειώνει ή να ενισχύει την αντιοξειδωτική δραστηριότητα του ελαιολάδου.

Οργανοληπτικά είναι αποδεκτό από τους καταναλωτές και προϊόντα ελαιολάδου με σκόρδο προωθούνται στις αγορές.

Συγκρίνοντας τα τρία διαφορετικά δείγματα ελαιολάδου με το σκόρδο (ελαιόλαδο με ολόκληρη σκελίδα σκόρδου, ελαιόλαδο με τεμαχισμένη σκελίδα και ελαιόλαδο με πολτοποιημένη σκελίδα σκόρδου) φαίνεται ότι οι πιο έντονες μεταβολές παρατηρούνται στο τρίτο δείγμα ελαιολάδου με το πολτοποιημένο σκόρδο που σε διάστημα 2 εβδομάδων το δείγμα εμφανίζει μια μικρή ενίσχυση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας. Όσον αφορά τα δείγματα ελαιόλαδο με ολόκληρη σκελίδα και ελαιόλαδο με τεμαχισμένη σκελίδα, δεν εμφανίζεται κάποια μεταβολή.

Το σκόρδο παρουσιάζει ένα ευρύ φάσμα χημικών αντιδράσεων με συστατικά που εμφανίζουν οξειδωτική και αντιοξειδωτική συμπεριφορά. Καθώς αποτελεί μέρος της διατροφής του ανθρώπου για αιώνες είναι σημαντικό να απομονωθούν και να ταυτοποιηθούν τα συστατικά με αντιοξειδωτική δραστηριότητα. Επιπλέον έρευνες έχουν δείξει ότι η κατανάλωση του σε υψηλά ποσοστά οδηγεί σε προβλήματα τοξικότητας και γι αυτό θα πρέπει να οριστούν όρια για την ασφάλεια των καταναλωτών.

Βιβλιογραφία

Διεθνής

Abu-Lafi et al., The use of Cryogenic GC/MS and on-column injection for study of organosulfur compounds of the *Allium sativum*, Journal of Food Composition and Analysis 17 (2004), 235-245

Ankri S., D.Mirelman, Antimicrobial Properties of allicin from garlic, Microbes and Infection 2 (1999), 125-129

Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., Mcdonald, S., & Robards, K. (2001). Methods for testing antioxidant activity. Analyst, 127, 183-198.

Antolovich M. et al., 2002, *Methods for testing antioxidant activity*, The Analyst, 127: 183-198

Antoun Nouhad and Tsimidou Maria, 1997, *Gourmet olive oils: stability and consumer acceptability studies*, Food Research International, Vol. 30, 2: 131-136

Ariga, T., Koshiyama, I., & Fukushima, U.S. (1989). Patent, 4,797,421.

Armstrong., D. (Ed) (1998). Free radical and antioxidant protocols, Vol 108 of methods in molecular biology. Hummana Press, Totowa, NJ.

Arzanlou M., Bohlooli S., Introducing of green garlic plant as a new source of allicin, Food Chemistry 120 (2010), 179-183

Baiano A., Gambacorta G., La Notte E., Aromatization of Olive Oil, Transworld Research Network , 2010 (1-29)

Banias C. et al., 1992, *The effect of Primary Antioxidants and Synergists on the Activity of Plant Extracts in Lard*, Journal of the American Oil Chemists' Society, Vol. 69, 6: 520-524

Benkeblia N., Antimicrobial activity of essential oil extracts of variety of various onion and garlic, Lebensm Wiss u –Technol.37 (2004), 263-268

Block E., S. Naganathan, D.Putman et S. Zhao, Organosulfur Chemistry of Garlic and Onion: Recent Results, Pure and Applied Chemistry Vol. 64 No 4 (1993), 625-632

Bozin Biljana et al., 2006, *Characterization of the Volatile Composition of Essential Oils of Some Lamiaceae Spices and the Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Entire Oils*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 1822-1828

Chizzola Remigius et al., 2008, *Antioxidative Properties of Thymus vulgaris Leaves: Comparison of Different Extracts and Essential Oil Chemotypes*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 6897-6904

Damechki Mayada, Sotiropoulou Sofia and Tsimidou Maria, 2001, *Antioxidant and pro-oxidant factors in oregano and gourmet olive oils*, Grasas y Aceites, Vol. 52, 3-4: 207-213

Del Bano Jose Maria et al., 2003, *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: 4247-4253

Economou D.K. et al., 1991, *Antioxidant Activity of Some Plant Extracts of the Family Labiatae*, Journal of the American Oil Chemists' Society, Vol. 68, 2: 109-113

Erkan Naciye et al., 2008, Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol, Food Chemistry, 110: 76-82

Espin Carlos Juan et al., 2000, *Characterization of the Total Free Radical Scavenger Capacity of Vegetable Oils and Oil Fractions Using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48: 648-656

Farag S.R. et al., 1989, *Antioxidant Activity of Some Spice Essential Oils on Linoleic Acid Oxidation in Aqueous Media*, Journal of the American Oil Chemists' Society, Vol. 66, 6: 792-799

Frankel, E.N., & Meyer, A.S. (2000). Review: The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1925-1241.

Frankel, E.N., Huang, S.-W., Prior, E., & Aeschbach, R. Evaluation of antioxidant activity of rosemary extracts, carnosol and carnosic acid in bulk vegetable oils and fish oil and their emulsions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72, 201-208

Frankel, E.N., Huang, S.-W., Kanner, J., & German, J.B. (1994). Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: Bulk oils vs. emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1054-1059.

Gambacorta G. et al., 2007, *Changes in the chemical and sensorial profile of extra virgin olive oil flavoured with herbs and spices during storage*, Journal of Food Lipids, 14: 202-215

Guillen D. Maria and Cabo Nerea, 1996, *Characterisation of the Essential Oils of some Cultivated Aromatic Plants of Industrial Interest*, Journal of the Science of Food and Agriculture, 70: 359-363

Heilerova et al., 2003, *Comparison of Antioxidative Activity Data for Aqueous Extracts of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.), Oregano (*Origanum vulgare* L), thyme (*Thymus vulgaris* L.), and Agrimony (*Agrimonia eupatoria*L.) obtained by Conventional Methods and the DNA-based Biosensor*, Czech Journal of Food Science, Vol. 21, 2: 78-84

Ho S.H., Koh L. et al., The oil of garlic (*Allium sativum* L.), as a potential grain protectant against *Tribolium castaneum*(Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch Postharvest Biology and Technology 9 (1996), 41-48

Hopia I. Anu et al., 1996, *Effect of Different Lipid Systems on Antioxidant Activity of Rosemary Constituents Carnosol and Carnosic acid with and without α -Tocopherol*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44: 2030-2036

Huang D. et al., 2005, *Reviews: The chemistry behind Antioxidant Capacity Assays*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 1841-1856

Igarashi, K., Takanashi, K., Makino, M., & Yasui, T. (1989). Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology, 36, 852.

Igarashi, K., Yoshida, T., & Suzuki, E. (1993). Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology, 40, 138.

Kalantzakis Georgios et al., 2006, *Stability and radical-scavenging activity of heated olive oil and other vegetable oils*, European Journal of Lipid Science and Technology, 108: 329-335

Kimparis A.C., Siatis N.G. et al., Comparison of distillation and ultrasound assisted extraction for the isolation of aroma compounds from garlic (*Allium sativum*), Ultrasonics Sonochemistry 13 (2006), 54-60

Koprivnjak Olivera et al., 2008, *The antioxidant capacity and oxidative stability of virgin olive oil enriched with phospholipids*, Food chemistry, 111: 121-126

Kozłowska, H., Naczka, M. (1990). Production, Chemistry, Nutrition, and Processing Technology (F. Shahidi, Ed.), Van Nostrand Reinhold, New York, p. 193.

Kulisic Tea et al., 2007, *The effects of essential oils and aqueous tea infusions of oregano (Origanum vulgare L. spp. hirtum), thyme (Thymus vulgaris L.) and wild thyme (Thymus sepryllum L.) on the copper-induced oxidation of human low-density lipoproteins*, International Journal of Food Sciences and Nutrition, Vol. 58, 2: 87-93

Lagouri Vasiliki and Boskou Dimitrios, 1996, *Nutrient antioxidants in oregano*, International Journal of Food Science and Nutrition, 47: 493-497

Lavelli Vera, 2002, *Comparison of the Antioxidant Activities of Extra Virgin Olive oils*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 7704-7708

Lawson et al., A Spectrophotometric Method for quantitative determination of allicin and total garlic thiosulphinates, Analytical Biochemistry 225 (1995) : 157-160

Lu Y. and Yeap Foo L., 2001, *Antioxidant activity of polyphenols from sage (Salvia officinalis)*, Food Chemistry, 75: 197-202

Madsen Lindberg Helle and Bertelsen Grete, 1995, *Spices as antioxidants*, Trends in Food Science and Technology, Vol. 6: 271-277

Meunier, M.T., Duroux, E., Bastide, P. (1990). *Plantes Medicine Phytotherapie*, 23(4), 267.

Miron T. et al., Reaction Mechanisms of allicin and allyl-mixed disulfides with proteins and small molecules, European Journal of Medicinal Chemistry 45 (2010) 1912-1918

Miura Kayoko et al., 2002, *Antioxidant Activity of Chemical Components from Sage (Salvia officinalis L.) and Thyme (Thymus vulgaris L.) Measured by the Oil Stability Index Method*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 1845-1851

Moldao-Martins Margarida et al., 2004, *Olive oil flavoured by the essential oils of Mentha piperita and Thymus mastichina L.*, Food Quality and Preference, 15: 447-452

Moure A. et al., 2001, *Natural antioxidants from residual sources*, Food Chemistry, 72: 145-171

Ning He et al., Isolation, Purification and Characterization of superoxide dismutase from garlic, Biochemical Engineering Journal (38) 2008, 33-38

Packer, L., & Ong, A.S.H. (1998). *Biological oxidants: Molecular mechanisms and health effects*. AOCS Press, Champaign, IL.

Papadimitriou V. et al., 2006, *Oxidative stability and radical scavenging activity of extra virgin olive oils: An electron paramagnetic resonance spectroscopy study*, *Analytica Chimica Acta*, 573-574: 453-458

Porter, W.L. (1993). Paradoxical behavior of antioxidants in food and biological systems. *Toxicology and Industrial Health*, 9, 93-122

Rajalakshmi, D., & Narasimhan, S. (1996). Food antioxidants: Sources and methods of evaluation, in food antioxidants. (pp65-157). Ed by Madhavi, DL, Deshpande SS and Salunkhe DK, Marcel Dekker, New York.

Richheimer L. Steven et al., 1996, *Antioxidant Activity of Lipid-Soluble Phenolic Diterpenes from Rosemary*, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 73, 4: 507-514

Romani Annalisa et al., 2007, *Evolution of Minor Polar Compounds and Antioxidant Capacity during Storage of Bottled Extra Virgin Olive oil*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 1315-1320

Salvini Simoneta et al., 2006, *Daily consumption of a high-phenol extra virgin olive oil reduces oxidative DNA damage in postmenopausal women*, *British Journal of Nutrition*, 95: 742-751

Sanchez C. Samaniego et al., 2007, *Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content*, *Analytica Chimica Acta*, 593: 103-107

Schwarz Karin and Ernst Hedda, 1996, *Evaluation of Antioxidative Constituents from Thyme*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70: 217-223

Shaath N.A. et Flores F.B., The essential oil of *allium sativum L.* Liliaceae, *Food Flavor Generation, Analysis and Process Influence* 1995, 2025-2038

Stefanovits-Banyai Eva et al., 2003, *Antioxidant effect of various rosemary (Rosmarinus officinalis L.) clones*, *Acta Biologica Szegediensis*, Vol. 47, 1-4: 111-113

Tiziana Baratta M. et al., 1998, *Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oil*, *Flavour and Fragrance Journal*, 13: 235-244

Triantaphyllou Kalliopi et al., 2001, *Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae*, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 52: 313-317

Tsimogiannis Dimitrios et al., 2006, *Isolation and characterization of antioxidant components from oregano (Origanum Heracleoticum)*, International Journal of Food Science and Technology, 41: 39-48

Tsuda, T., Ohshima, K., Kawakishi, S., Osawa, T. (1994) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 248.

Valavanidis Athanasios et al., 2004, *Comparison of the Radical Scavenging Potential of Polar and Lipid Fractions of Olive oil and Other Vegetable Oils under Normal Conditions and after Thermal Treatment*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52: 2358-2365

Veillet S., Tomao V., Chemat F., *Ultra Sound Assisted Maceration: An original procedure for direct aromatization of olive oil with basil*, Food Chemistry Vol 122, Issue 3, Dec 2010: 905-911

Vekiari A.S. et al., 1993, *Oregano Flavonoids as Lipid Antioxidants*, Journal of the American Oil Chemists' Society, Vol. 70, 5: 483-487

Virginia Lanzotti, *The analysis of onion and garlic*, Journal of Chromatography A 1112 (2006), 3-22

Virtanen A.I., γ -Glutamylpeptidase in sprouting onion bulbs, Short Communications Acta Chem. Scand. 19 (1965) No 5 : 1261-1262

Virtanen A.I., *On the labeling of sulphur-containing Amino Acids and γ -Glytamypeptides after injection of labeled sulphate into onion (allium cepa)*, Laboratory of the foundation for chemical research Sept 1962 : 2061-2063

Vokou Despina et al., 1993, *Geographic Variation of Greek Oregano (Origanum vulgare ssp. hirtum) Essential oils*, Biochemical Systematics and Ecology, Vol. 21, 2: 287-295

Wang J. et al., *Effect of ultrasound on the activity of aliinase from fresh garlic*, Ultrasonics Sonochemistry (2010)

Zheng W. and Wang S.Y., 2001, *Antioxidant activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49: 5165-5170

Ελληνική βιβλιογραφία

Δαφερέρα Δ., Ταραντίλης Π., Πολυσιού Μ., 2006, «*Θυμαρί (Thyme): Φαρμακευτική - Βιολογική δράση*», Άρθρο, Πρακτικά Επιστημονικού Συνεδρίου, Ελληνική Εταιρεία Εθνοφαρμακολογίας, Άνδρος, σελ. 1-13

Καφάτος Α., 2001, *Ελαιόλαδο το ισχυρό τονωτικό του οργανισμού*, Περιοδικό Ελιά & Ελαιόλαδο, τεύχος 24 (Σεπτέμβριος - Οκτώβριος), σελ.57.

Κυριτσάκης Κ.Α., 2007, *Ελαιόλαδο Συμβατικό και Βιολογικό, Βρώσιμη Ελιά και Πάστα Ελιάς*, Θεσσαλονίκη, σελ. 65, 74-78, 422-425, 451-463

McMurry John, 2006, *Οργανική Χημεία*, Τόμος 2, (Μετάφραση Βαρβόγλης Α.) Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, σελ. 1204, 1356-1358

Μπόσκου Δ., 2004, *Χημεία Τροφίμων*, Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη, σελ. 123-124, 155-157, 236-238, 292-295

Ολύμπιος Χ.Μ., Τα Βολβώδη Λαχανικά (1994). (Σελ 141-154, 163-168)

Πάνου - Φιλοθέου Ε., Φασούλας Α., Bellenot D., Oger J.M., 1997, *Φαρμακευτικά και Αρωματικά Φυτά. Ζ' τριήμερο εργασίας*, σελ 354

Πολυσιού Γ. Μόσχος και Ταραντίλης Α. Πέτρος, 2007, *Ενόργανη Ανάλυση Φυσικών Προϊόντων*, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Γενικό Τμήμα, Εργαστήριο Χημείας, Αθήνα, σελ. 5-22, 29, 38, 51-55

Ποντίκης Α.Κ., 2000, *Ειδική δεντροκομία - Ελαιοκομία*, Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα

Ραγκούση - Ιγνατιάδου Βαλεντίνη, 1996, *Χημεία Φυσικών Προϊόντων*, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Χημείας, Αθήνα, σελ. 1-3, 27-52

Samuelsson Gunnar, 2004, *Φαρμακευτικά Προϊόντα Φυσικής Προέλευσης*, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, σελ. 1-2

Στεφανάκη - Νικηφοράκη Μ., 1999, *Συστηματική Βοτανική Αγγειόσπερμα*, Τόμος Α, Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα

Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας, Ανώτατο Ειδικό Επιστημονικό Συμβούλιο Υγείας, 1999, *Διατροφικές οδηγίες για ενήλικες στην Ελλάδα*, Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής, τόμος 16, 6: 615-625

Κατζηϊωάννου Π.Θ., 1996, *Εργαστηριακές Ασκήσεις Ποσοτικής Αναλυτικής Χημείας*, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Χημείας, Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Αθήνα, σελ. 467

Διαδίκτυο

Cruz Medina and H.S. García, Garlic postharvest operations manual

<<http://www.fao.org/inpho/content/compend/AE622e/ae622e01.htm>> (17 January 2011)

Foster Steven Garlic *Allium sativum* (2008)

<<http://www.stevenfoster.com/education/monograph/garlic.html>> (29 October 2010)

Καγιάφα Δήμητρα, Αντιοξειδωτικές Ιδιότητες του τσαγιού και Ελληνικών Βοτάνων

<<http://estia.hua.gr:8080/dspace/bitstream/123456789/591/1/kagiafa.pdf>>(14 March 2011)

J. D Natural resources Conservation Database

<<http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=ALSA2>> (12 February 2011)

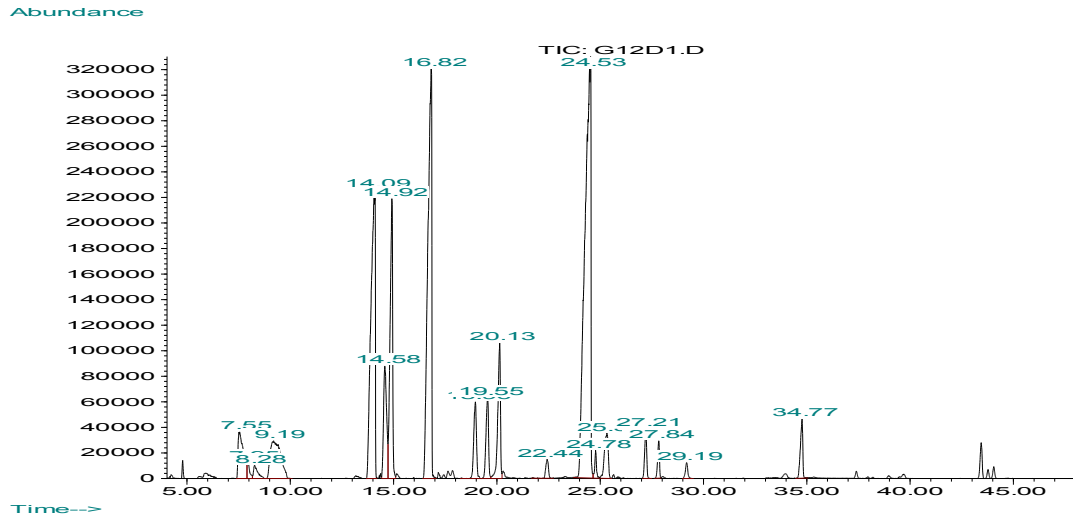
< <http://en.wikipedia.org/wiki/Garlic>> (15 September 2010)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

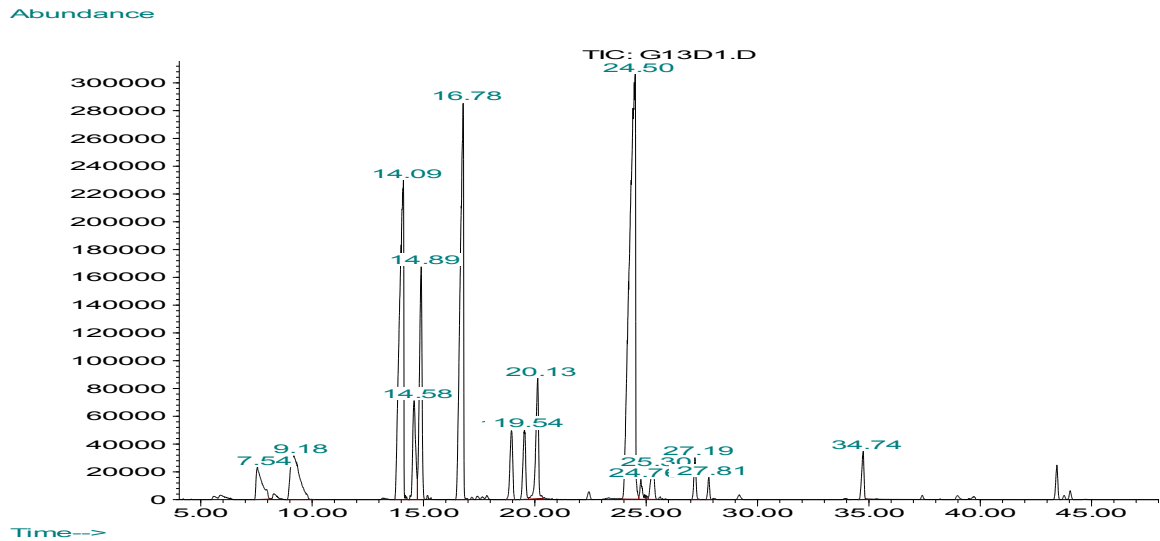
1. Κατάλογος Συντμήσεων

BHT	Butylated Hydroxyanisole	βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl	2,2 διφαινυλ-πικρυλ-υδραζίλιο
FAO/WHO	Food Agriculture Organization/ World Health Organization	
FID	Flame Ionization Detector	ανιχνευτής ιονισμού φλόγας
GC-MS	Gas Chromatography	αέρια χρωματογραφία
HD	Head Space	
ISO	International Organization of Standardization	
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry	
MS	Mass Spectrometry	φασματομετρία μαζών
MSDE	Micro Steam Distillation Extraction	Μικρό-απόσταξη με υδρατμούς Εκχύλιση με Οργανικό Διαλύτη
N₂	nitrogen	Άζωτο
RNS	Reactive Nitrogen Species	ενεργά είδη αζώτου
ROS	Reactive Oxygen Species	ενεργά είδη οξυγόνου
SD	Steam distillation	Απόσταξη με υδρατμούς
UV-VIS	Ultraviolet-Visible	φασματοφωτομετρία υπεριώδους ορατού
VHSD	Vacuum Head Space Distillation	Απόσταξη με κενό

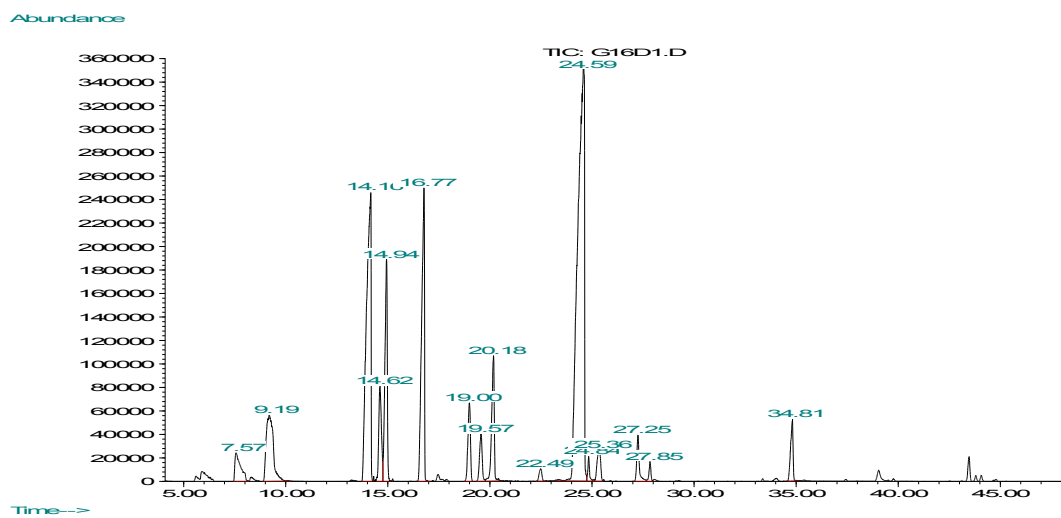
II. Χρωματογραφήματα από το GC-MS του αιθέριου ελαίου του σκόρδου



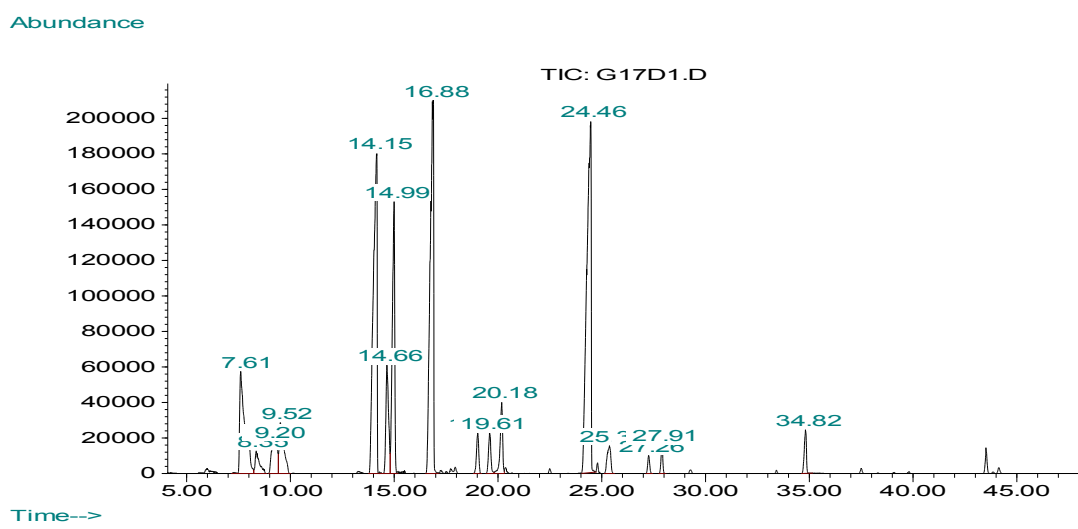
Σχήμα 1: Αέριο χρωματογράφημα του δείγματος G1D1



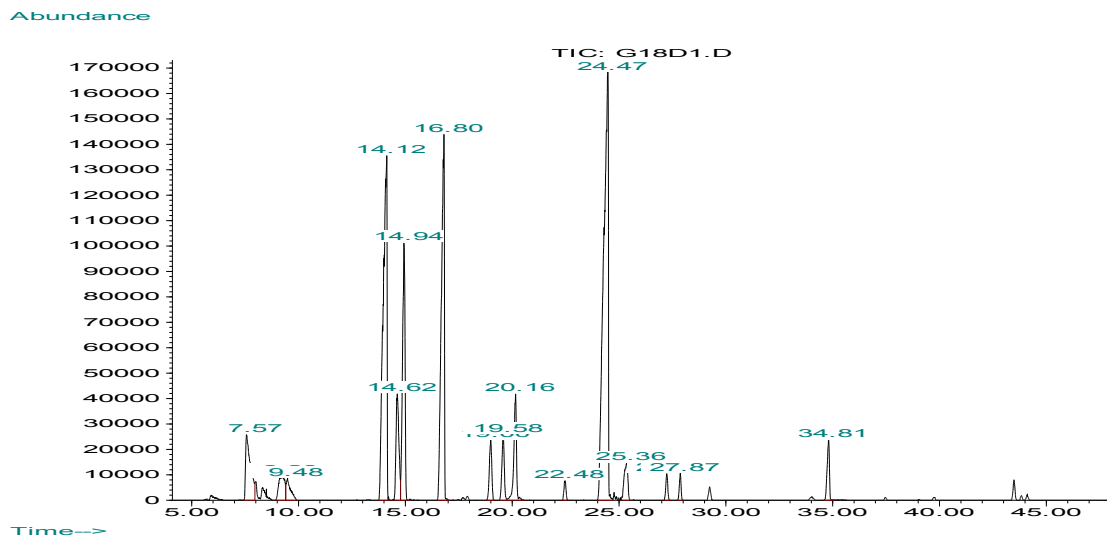
Σχήμα 2: Αέριο χρωματογράφημα του δείγματος G2D1



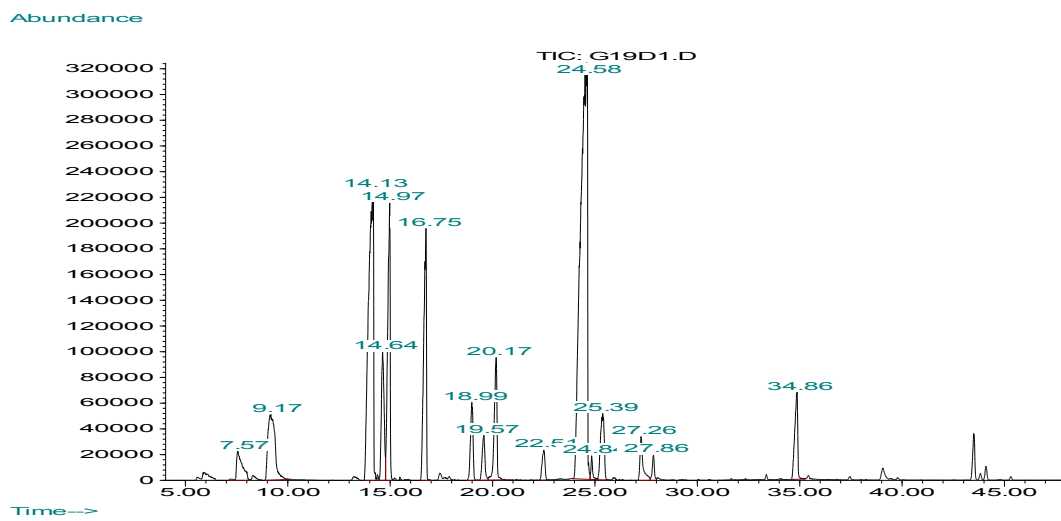
Σχήμα 3: Αέριο χρωματογράφημα του δείγματος G3D1



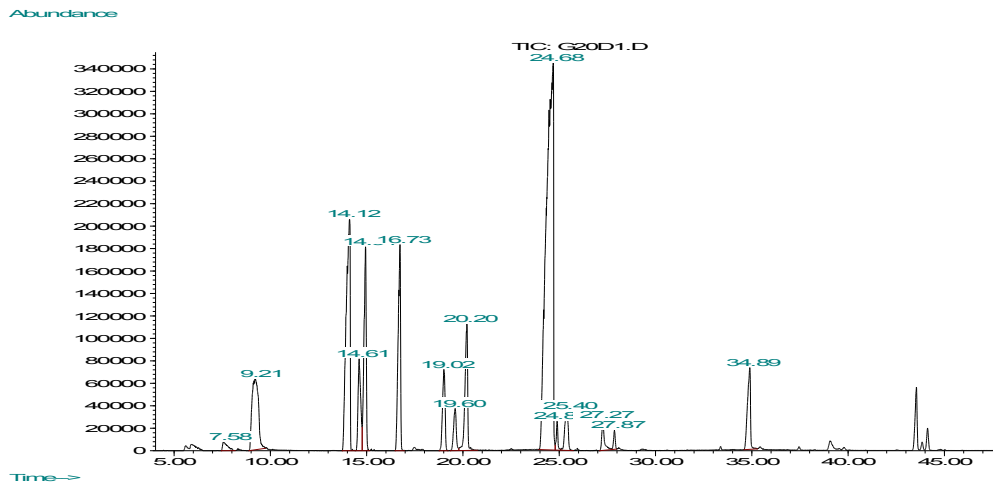
Σχήμα 4: Αέριο χρωματογράφημα του δείγματος G4D1



Σχήμα 5: Αέριο χρωματογράφημα του δείγματος G5D1

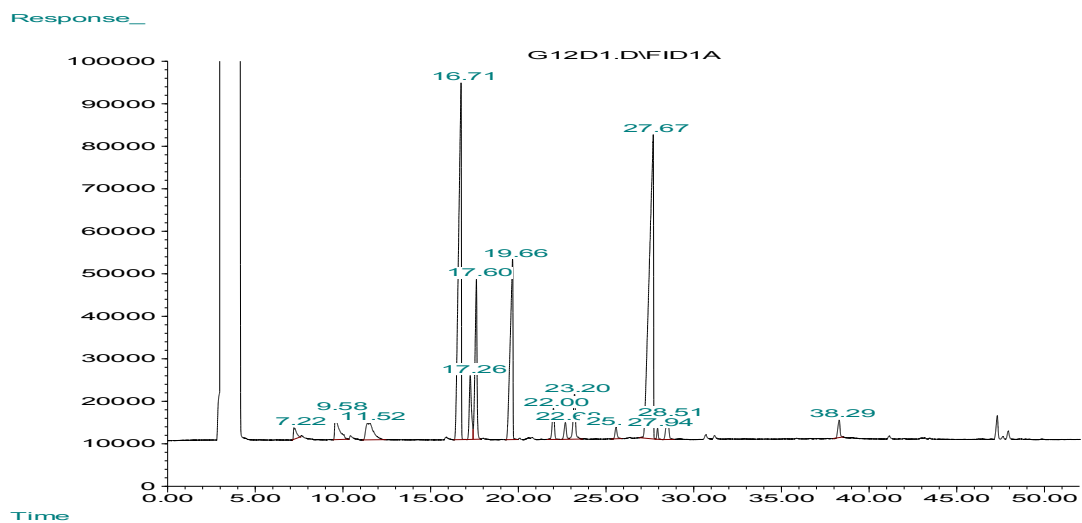


Σχήμα 6: Αέριο χρωματογράφημα του δείγματος G6D1

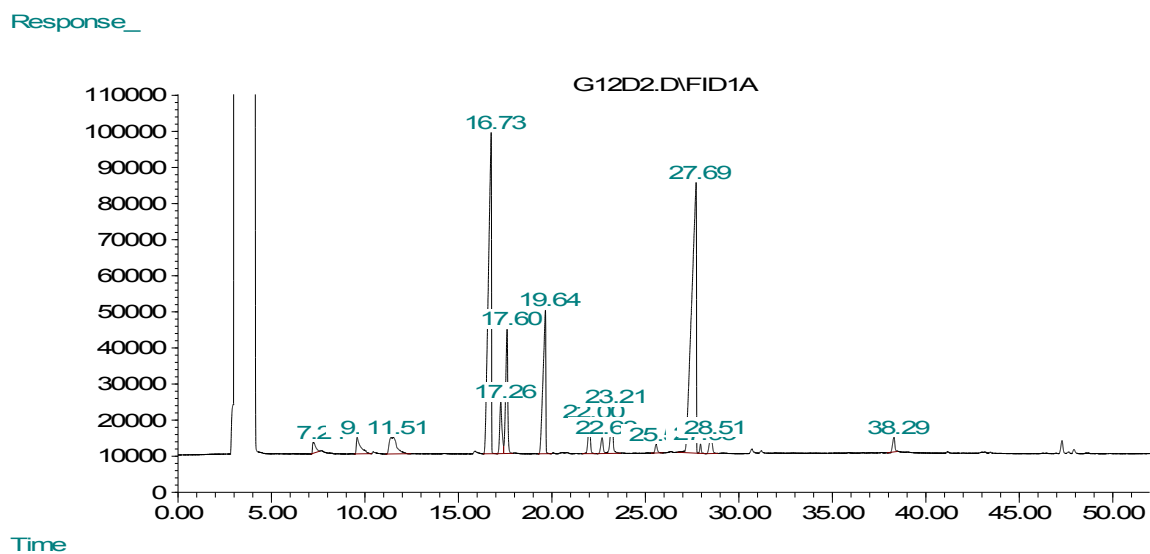


Σχήμα 7: Αέριο χρωματογράφημα του δείγματος G7D1

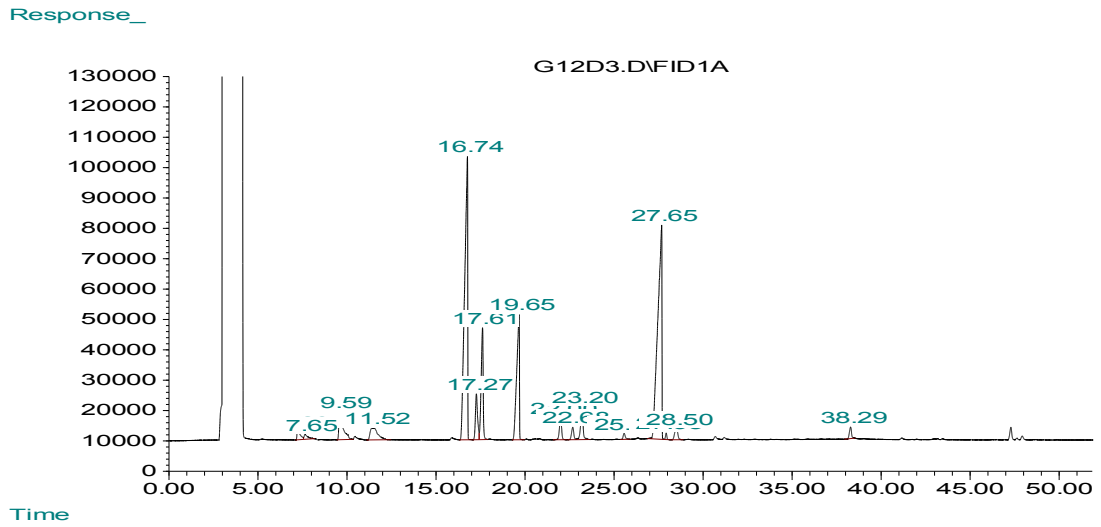
III. Χρωματογραφήματα από το GC-FID



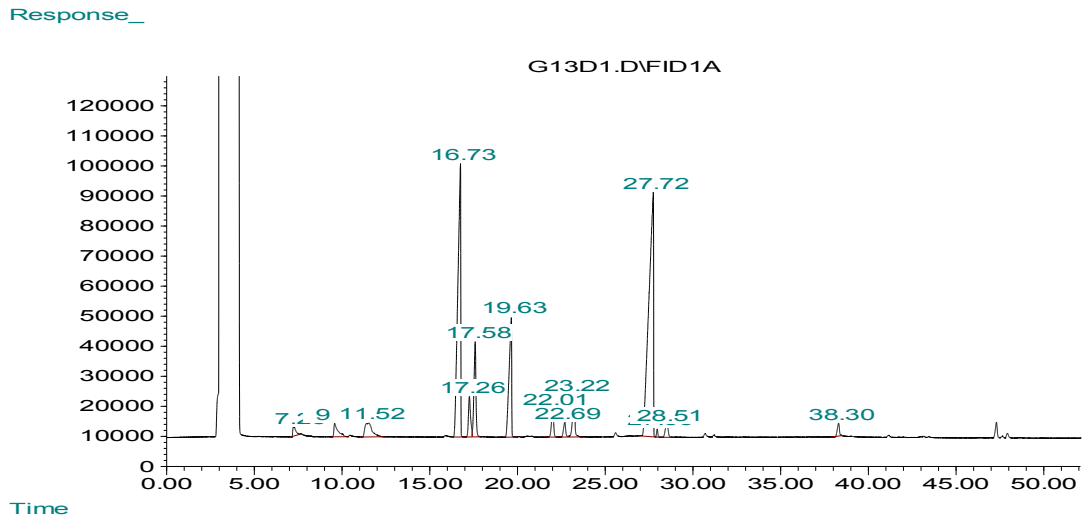
Σχήμα 8: Αέριο χρωματογράφημα G1D1



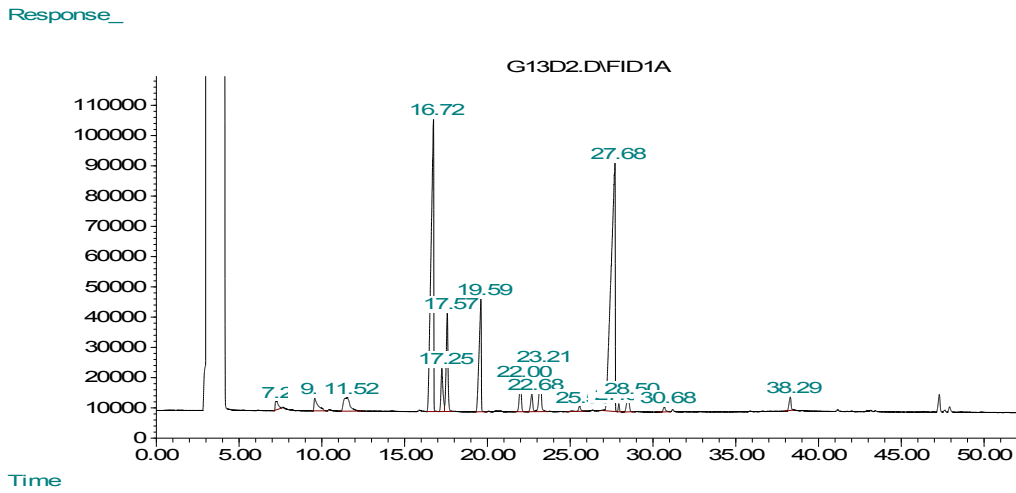
Σχήμα 9: Αέριο χρωματογράφημα G1D2



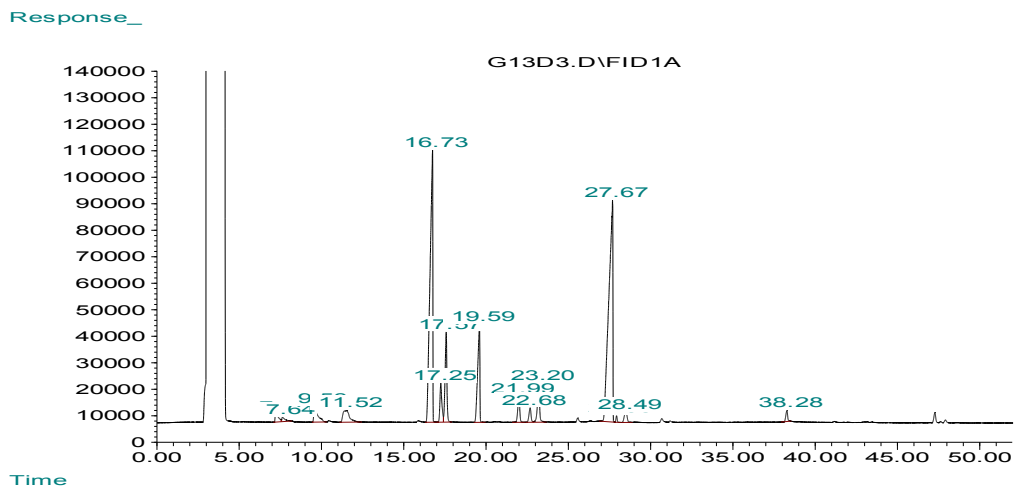
Σχήμα 10: Αέριο χρωματογράφημα G1D3



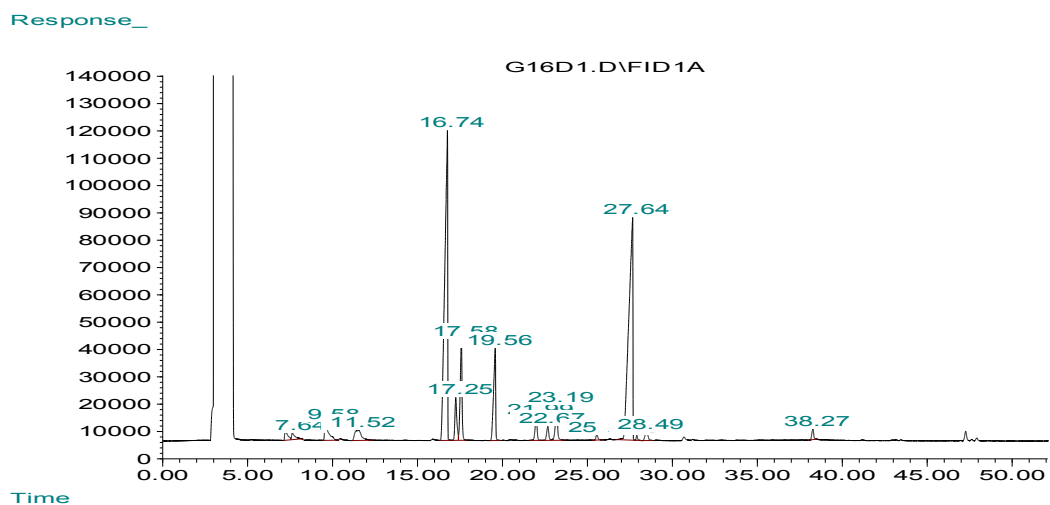
Σχήμα 11: Αέριο χρωματογράφημα G2D1



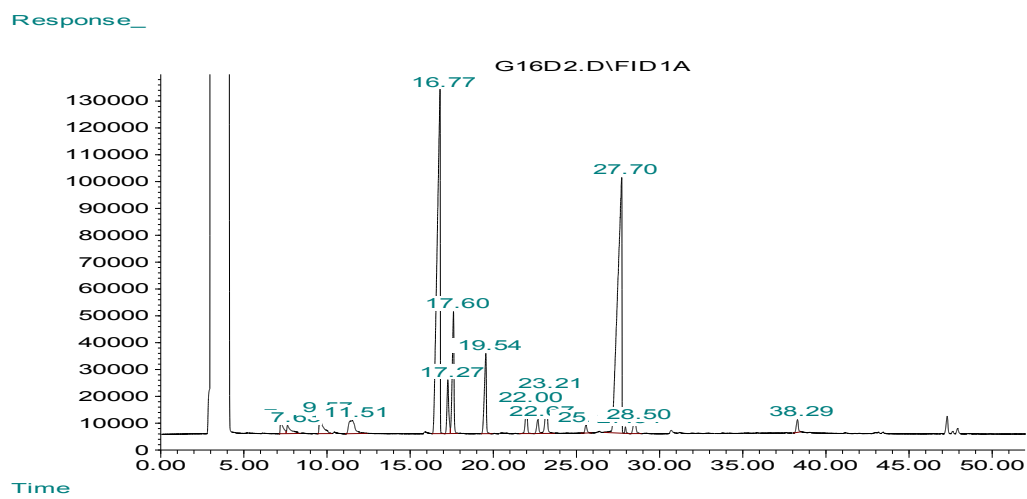
Σχήμα 12: Αέριο χρωματογράφημα G2D2



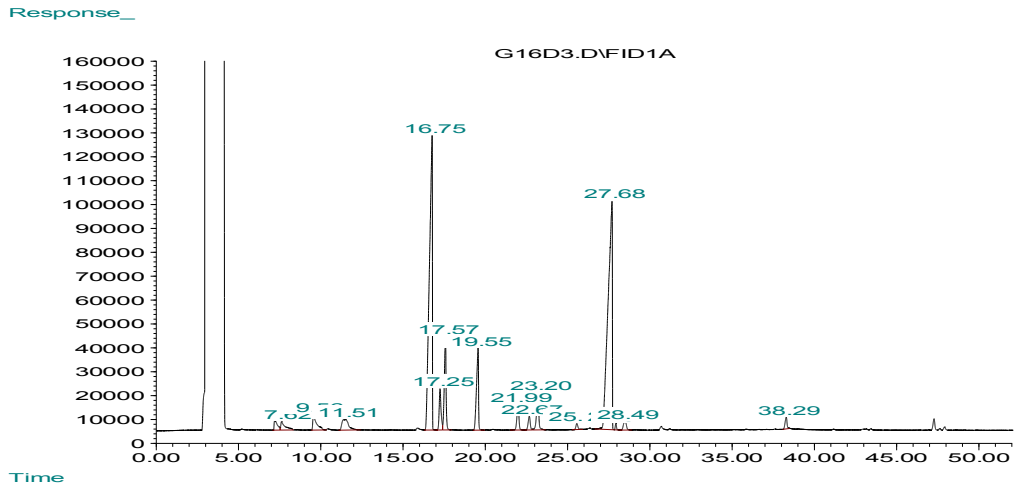
Σχήμα 13: Αέριο χρωματογράφημα G2D3



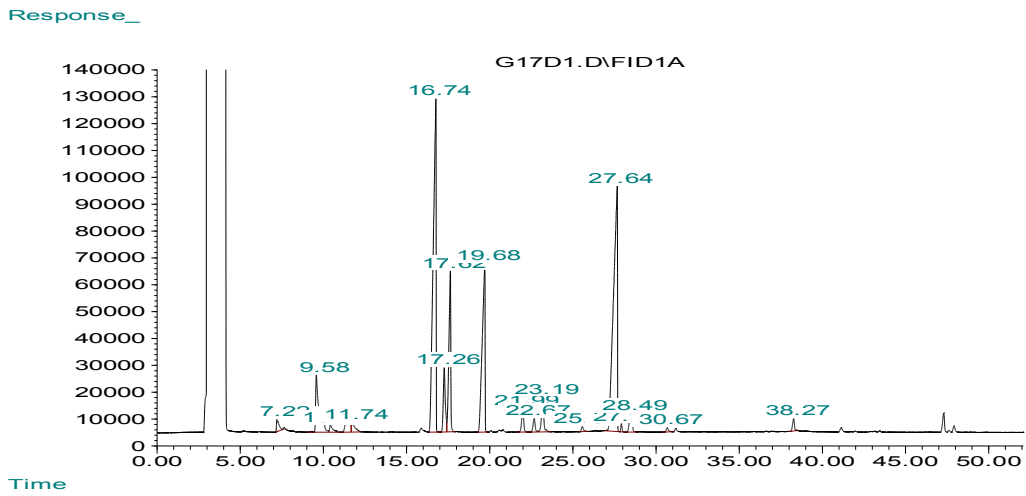
Σχήμα 14: Αέριο χρωματογράφημα G3D1



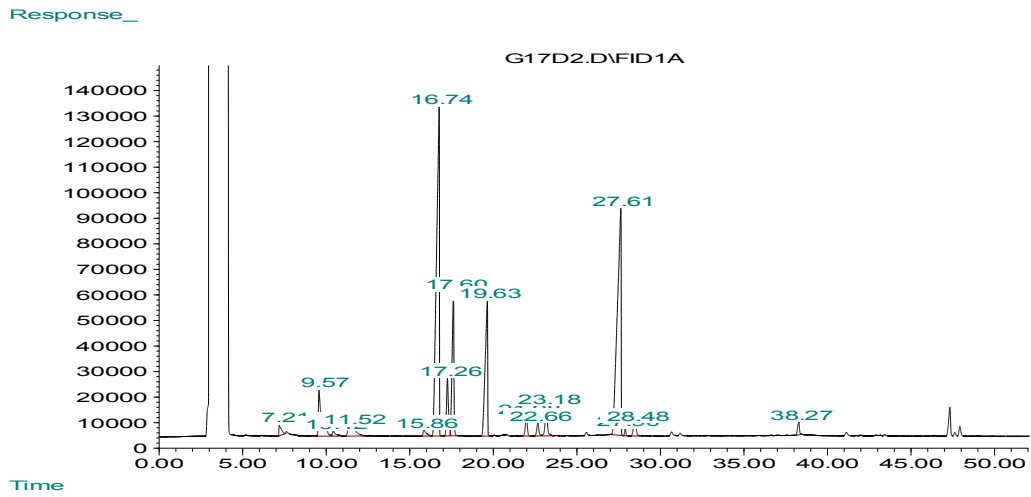
Σχήμα 15: Αέριο χρωματογράφημα G3D2



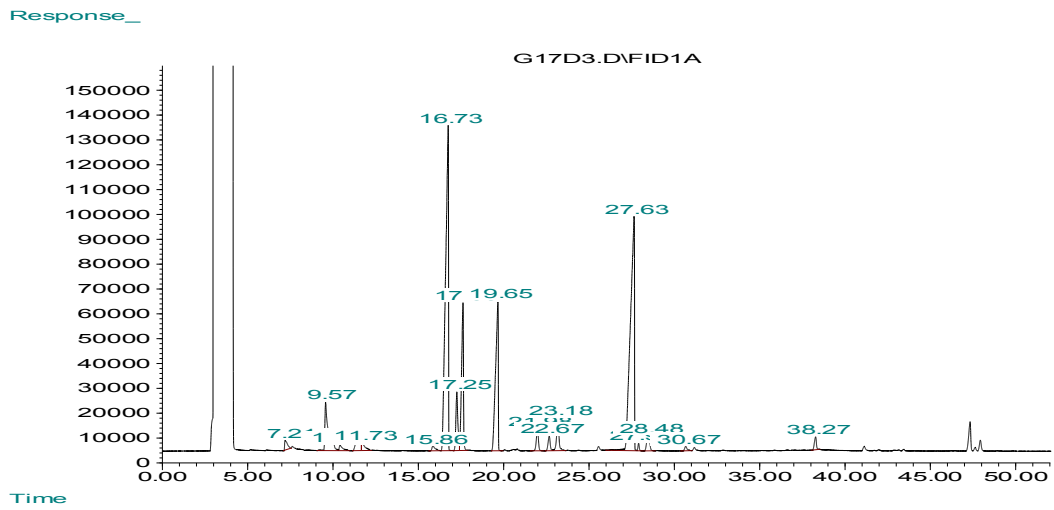
Σχήμα 16: Αέριο χρωματογράφημα G3D3



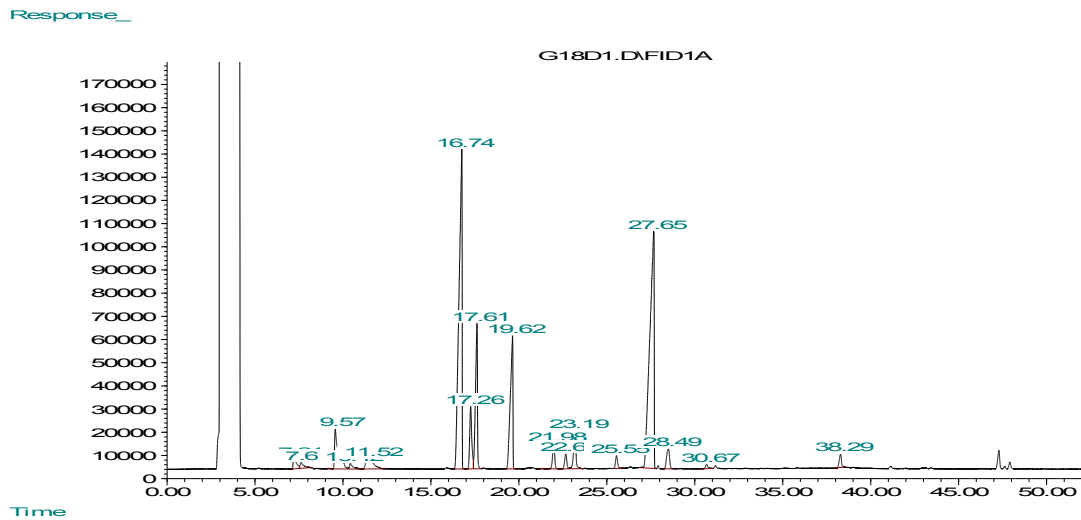
Σχήμα 17: Αέριο χρωματογράφημα G4D1



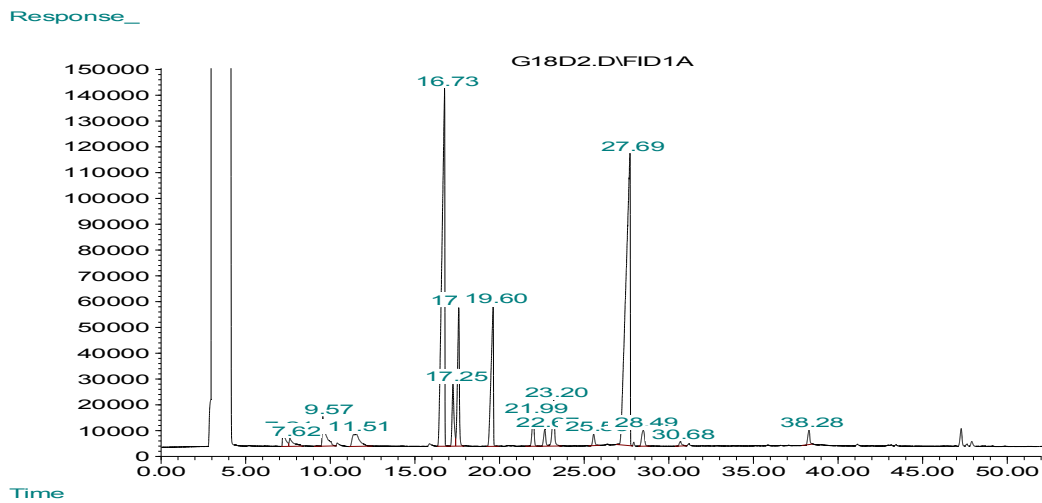
Σχήμα 18: Αέριο χρωματογράφημα G4D2



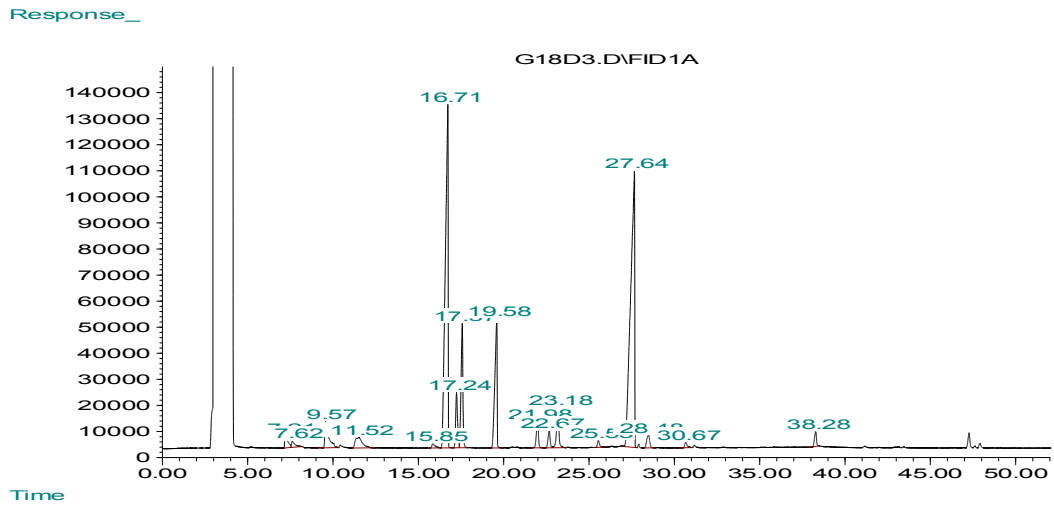
Σχήμα 19: Αέριο χρωματογράφημα G4D3



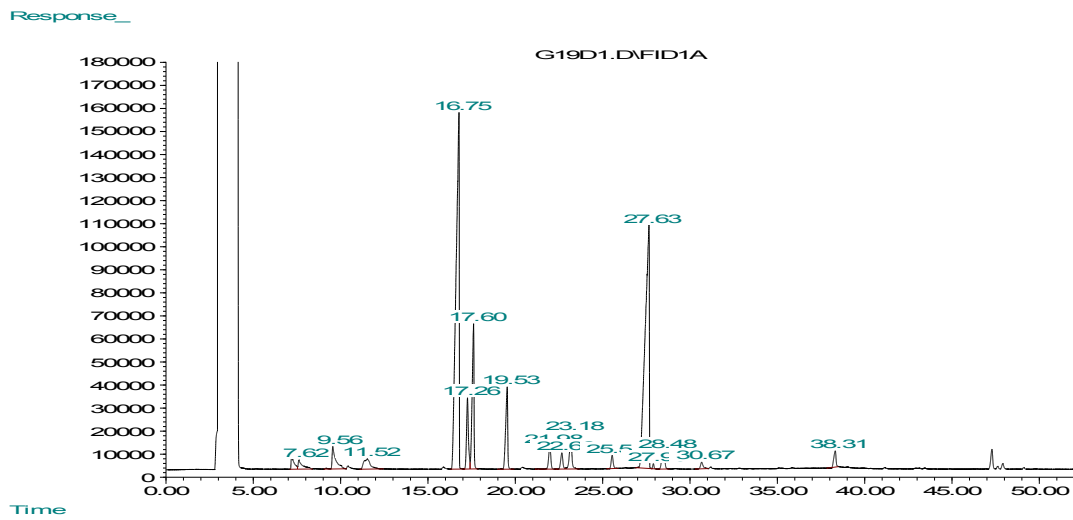
Σχήμα 20: Αέριο χρωματογράφημα G5D1



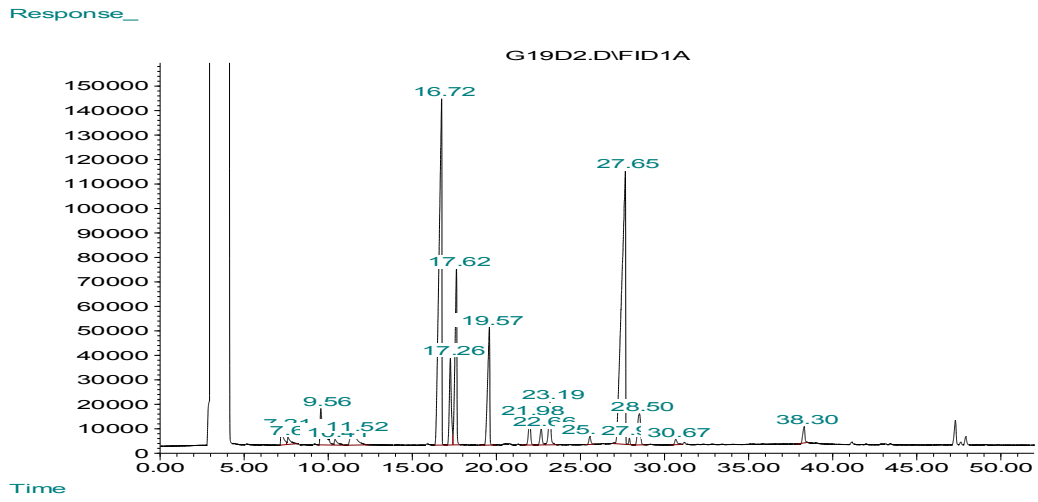
Σχήμα 21: Αέριο χρωματογράφημα G5D2



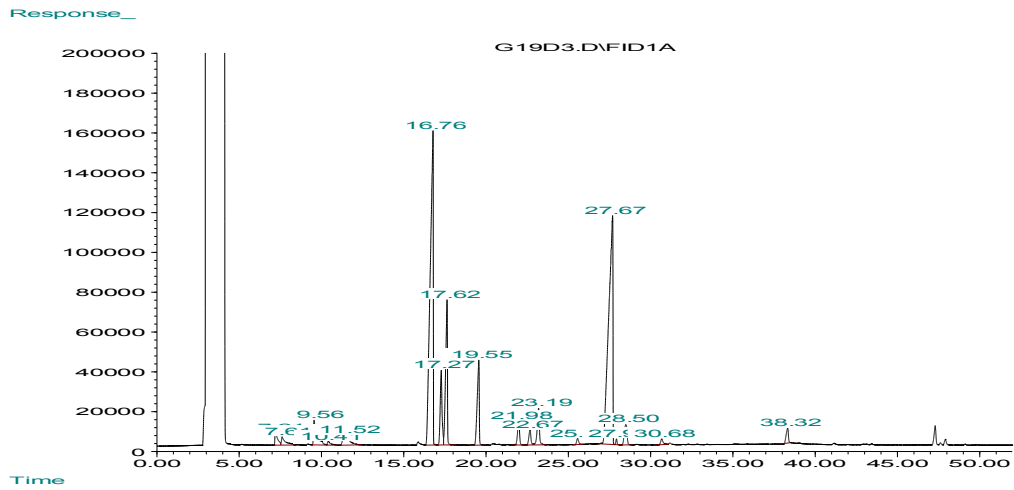
Σχήμα 22: Αέριο χρωματογράφημα G5D3



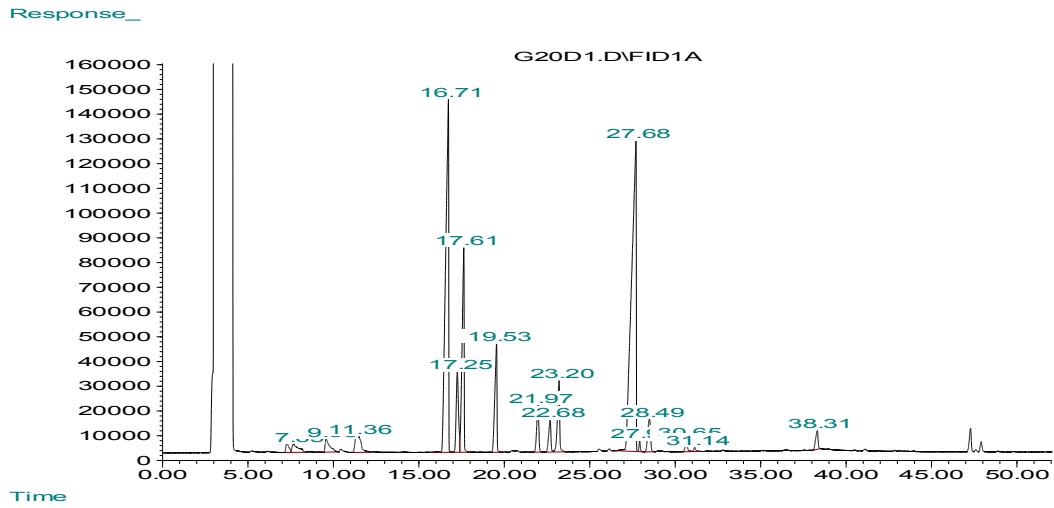
Σχήμα 23: Αέριο χρωματογράφημα G6D1



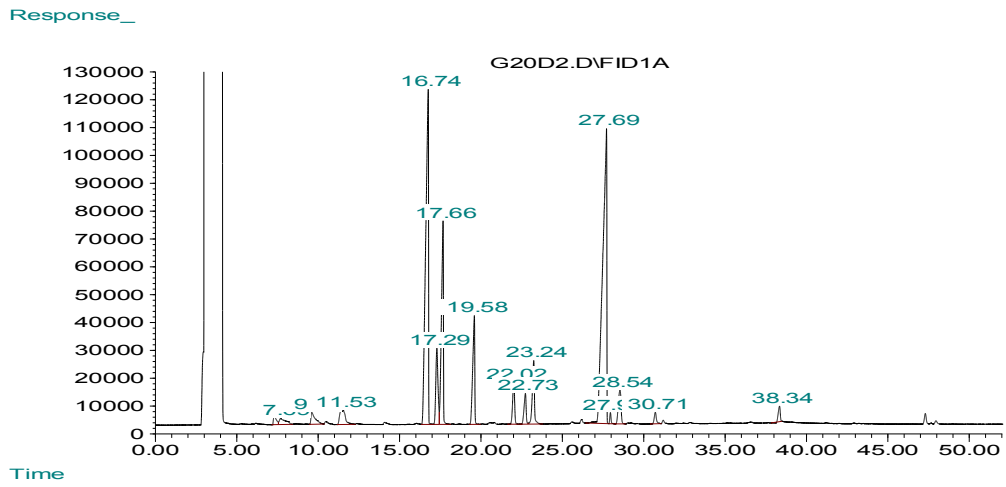
Σχήμα 22: Αέριο χρωματογράφημα G6D2



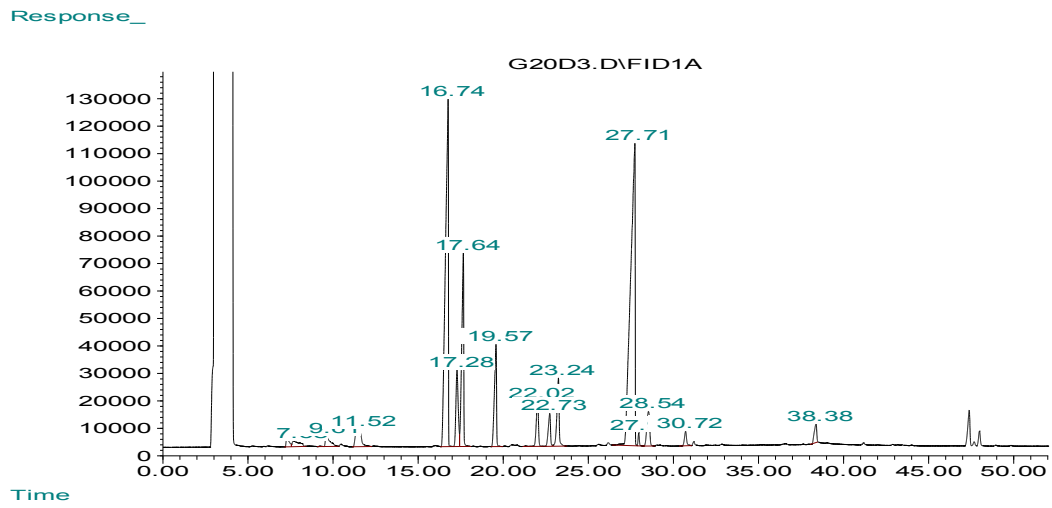
Σχήμα 22: Αέριο χρωματογράφημα G6D3



Σχήμα 22: Αέριο χρωματογράφημα G7D1



Σχήμα 22: Αέριο χρωματογράφημα G7D2



Σχήμα 22: Αέριο χρωματογράφημα G7D3