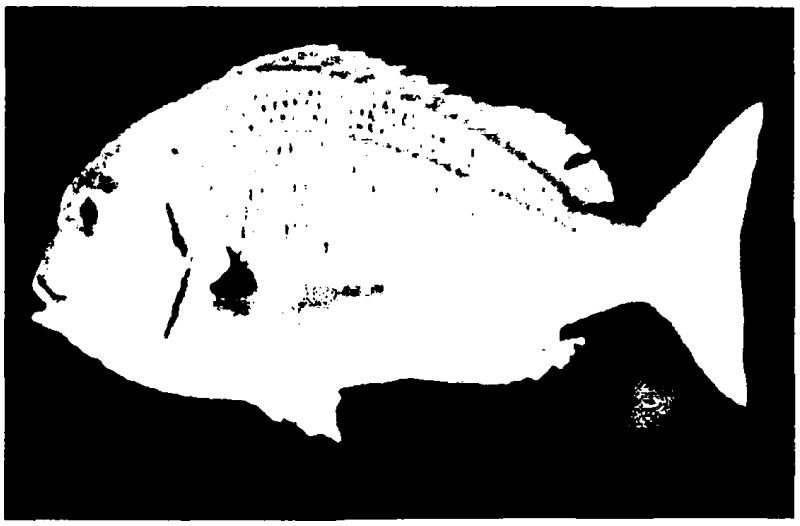
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑ & ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ»

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
με θέμα:

«ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ. ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΩΝ ΣΕ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ»



της φοιτήτριας

Ελένης Ι. Μουστάκα

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2007

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑ & ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ»

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

με θέμα:

«ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ. ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΩΝ ΣΕ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ»

της φοιτήτριας

Ελένης Ι. Μουστάκα

Επιβλέποντας:
Δρ. Γρηγόριος Κανλής

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2007

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα μελέτη με τίτλο, «Χρωστικές ουσίες στα τρόφιμα. Χρήση καροτενοειδών σε προϊόντα ιχθυοκαλλιέργειας» πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της Πτυχιακής μου εργασίας στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών Αγροχημεία και βιολογικές καλλιέργειες του πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Ευχαριστώ θερμά τον κ. Γρηγόριο Κανλή, καθηγητή του Τμήματος στη Βιοασφάλεια των προϊόντων , για τη συνεχή καθοδήγησή του, το πολύτιμο υλικό που μου διέθεσε και τις εύστοχες παρατηρήσεις του.

Ξεχωριστά, θέλω να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές του Μεταπτυχιακού Προγράμματος σπουδών οι οποίοι καθ' όλη τη διάρκεια της φοίτησης στάθηκαν δίπλα μου σε κάθε απορία ανοίγοντάς μου νέους δρόμους.

Ιωάννινα, Ιούνιος 2007

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 [illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

1.1 Πρόσθετα τροφίμων

Τα πρόσθετα τροφίμων είναι φυσικές ή συνθετικές ουσίες που προστίθενται σκόπιμα στα τρόφιμα για να εκτελέσουν ορισμένες τεχνολογικές λειτουργίες. Η προσθήκη μπορεί να έχει κύριο σκοπό:

-τη βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών

-τη σταθερότητα,

-τη συντήρηση των τροφίμων.

Για παράδειγμα, η προσθήκη συντηρητικού εμποδίζει την ανάπτυξη μικροοργανισμών που θα μπορούσε να προκαλέσει τροφική δηλητηρίαση, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η διάρκεια συντήρησης του τροφίμου. Ομοίως, η προσθήκη ενισχυτικού γεύσης, ή χρωστικής βελτιώνει τη γεύση ή την εμφάνιση του τροφίμου αντίστοιχα.

Πολλά από τα πρόσθετα τροφίμων υπάρχουν στη φύση (π.χ. η ερυθρά χρωστική της ρίζας των τεύτλων, οι ανθοκυανίνες κ.τ.λ.), αρκετά ακόμη υπάρχουν στη φύση αλλά παρασκευάζονται συνθετικά (π.χ. το ασκορβικό οξύ), ενώ τέλος υπάρχουν πρόσθετα που δεν βρίσκονται στη φύση αλλά παρασκευάζονται συνθετικά (π.χ. το συνθετικό γλυκαντικό ασπαρτάμη, που χρησιμοποιείται αντί της ζάχαρης).

Σύμφωνα με την κοινοτική νομοθεσία στα " πρόσθετα τροφίμων " περιλαμβάνεται οποιαδήποτε ουσία που είτε έχει θρεπτική αξία είτε όχι, δεν καταναλώνεται από μόνη της

ως τρόφιμο ούτε χρησιμοποιείται ως χαρακτηριστικό συστατικό των τροφίμων. Η σκόπιμη προσθήκη τους στα τρόφιμα γίνεται για τεχνολογικούς σκοπούς κατά την κατασκευή, τη μεταποίηση, την παρασκευή, την κατεργασία, τη συσκευασία, τη μεταφορά ή την αποθήκευση, έχει ως αποτέλεσμα ή αναμένεται λογικά να έχει ως αποτέλεσμα το να αποτελέσουν η ίδια ή τα παράγωγά της συστατικό στοιχείο των τροφίμων αυτών άμεσα, ή έμμεσα.

Τα πρόσθετα αξιολογούνται για την ασφάλειά τους πριν να εγκριθούν. Ανεξάρτητες επιτροπές επιστημόνων υποβάλλουν τα πρόσθετα σε κατάλληλες δοκιμές και τοξικολογική αξιολόγηση. Εάν αποδειχθεί η τεχνολογική ανάγκη για τη χρήση τους και η ασφάλειά τους, δηλαδή ότι δεν παρουσιάζουν κανένα κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία, εγκρίνονται. Με την έγκριση που λαμβάνουν τα πρόσθετα τροφίμων , προσδιορίζεται:

-σε ποια τρόφιμα επιτρέπεται η χρήση τους,

-οι όροι σύμφωνα με τους οποίους γίνεται η προσθήκη αυτή,

-η ελάχιστη δόση που είναι απαραίτητη για την επίτευξη του επιθυμητού αποτελέσματος.

Αντίστοιχα αν αποδειχθεί ότι δεν είναι ασφαλή για την ανθρώπινη υγεία, αναστέλλεται η χρήση τους γενικά ή σε συγκεκριμένα μόνο τρόφιμα.

Τα πρόσθετα τροφίμων ομαδοποιούνται σε κατηγορίες σύμφωνα με την κύρια λειτουργία τους. Ωστόσο η κατάταξη ενός πρόσθετου σε συγκεκριμένη κατηγορία δεν αποκλείει τη χρησιμοποίησή του και σε άλλες λειτουργίες.

Σε κάθε πρόσθετο αντιστοιχεί ένας τριψήφιος ή τετραψήφιος αριθμός. Πριν από τον αριθμό υπάρχει η ένδειξη Ε που δηλώνει ότι έχει εγκριθεί η κυκλοφορία του στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Χρησιμοποιώντας τον κωδικό αριθμό δεν συγχέονται τα πρόσθετα που έχουν περισσότερα από ένα ονόματα, ή παρόμοια ονόματα.

Επίσης εξοικονομείται χώρος κατά την επισήμανση του τροφίμου. Στη συσκευασία όλων των τροφίμων υπάρχει υποχρεωτικά ο κατάλογος των συστατικών του, ο οποίος συνίσταται στην παράθεση όλων των συστατικών του τροφίμου κατά σειρά ελαττούμενης περιεκτικότητας ως προς το βάρος, συμπεριλαμβανομένων των πρόσθετων. Ο καταναλωτής μπορεί επομένως να ελέγξει ποια πρόσθετα περιέχονται σε ένα τρόφιμο, διαβάζοντας την ετικέτα. Στον κατάλογο των συστατικών τα πρόσθετα αναφέρονται

υποχρεωτικά με το όνομα της κατηγορίας και το ειδικό τους όνομα ή τον αριθμό Ε. Όταν υπάρχουν νέα στοιχεία που οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η χρήση ενός πρόσθετου θέτει σε κίνδυνο την ανθρώπινη υγεία, η χρήση του μπορεί να καταργηθεί, να ανασταλεί ή να περιοριστεί προσωρινά.

1.2 Σκοπός και αρχές χρήσης των προσθέτων

Τα τρόφιμα αποτελούν ένα καλό θρεπτικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη μυκήτων, βακτηρίων και ζυμών. Η ανάπτυξη τους αλλοιώνει τις ιδιότητες του τροφίμου καθιστώντας ακόμη και ακατάλληλο προς βρώση, είτε διότι σε αυτό αναπτύσσονται παθογόνοι οργανισμοί, είτε διότι οι οργανισμοί που αναπτύσσονται σε αυτό παράγουν τοξίνες. Επίσης η επαφή λιπαρών ουσιών με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο μπορεί μέσα από μια αλυσίδα αντιδράσεων να οδηγήσει σε οξείδωση των πρώτων, κάτι το οποίο προσδίδει δυσάρεστες ιδιότητες στο τρόφιμο.

Τα πρόσθετα επίσης βελτιώνουν κάποια τεχνολογικά χαρακτηριστικά επιτρέποντας την ευκολότερη επεξεργασία του τροφίμου,τη δημιουργία γαλακτωμάτων ή ακόμη και μια πιο ελκυστική μορφή του τελικού προϊόντος.

Η χρήση προσθέτων έχει τις ρίζες της στην αρχαιότητα. Αλάτι και ξύδι είναι τα πιο γνωστά από τα πρόσθετα που για αιώνες τώρα χρησιμοποιούνται. Οι Αιγύπτιοι χρησιμοποιούσαν χρωστικές και αρωματικές ουσίες, ενώ οι Ρωμαίοι χρωστικές καθώς και νιτρικό νάτριο.

Ο σύγχρονος τρόπος ζωής όμως, παράλληλα με τη συνεχιζόμενη ανάγκη για μείωση των απωλειών σε τρόφιμα οδήγησε στην εντατικοποίηση της χρήσης πρόσθετων. Η παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων τροφίμων μακριά από τις περιοχές κατανάλωσης του, καθώς και η απαίτηση για ελκυστικά, σταθερής ποιότητας προϊόντα καθ' όλη τη διάρκεια του έτους δημιουργούν προβλήματα στην μεταφορά, αποθήκευση και επεξεργασία του προϊόντος, επιβάλλοντας τη χρήση προσθέτων. Σε άλλες περιοχές, υπό ανάπτυξη, με ελλιπή υποδομή για ορθή μεταφορά και συντήρηση των τροφίμων υπό ψύξη, ή με χρήση άλλων μη χημικών μεθόδων, σε συνδυασμό με τις ιδιαίτερες κλιματικές συνθήκες επιβάλλουν τη

χρήση προσθέτων προκειμένου να προστατευθεί ικανοποιητικά η αγροτική παραγωγή έως την κατανάλωση.

Η χρήση προσθέτων θεωρείται δικαιολογημένη από τον FAO όταν αυτή γίνεται

i) για τη διατήρηση της θρεπτικής αξίας του τροφίμου.

ii) για τη συντήρηση και τη σταθερότητα του τροφίμου με στόχο την μείωση των απωλειών σε τρόφιμα.

iii) για τη δημιουργία ελκυστικών στον καταναλωτή τροφίμων με τρόπο που να την τον εξαπατά.

iv) για διευκόλυνση στην επεξεργασία του τροφίμου.

Αντίθετα δεν θα πρέπει να γίνεται χρήση προσθέτων στις παρακάτω περιπτώσεις

i) Για την κάλυψη λαθών στο χειρισμό και στην επεξεργασία του τροφίμου.

ii) όταν εξαπατώνται οι καταναλωτές

iii) όταν ως αποτέλεσμα της χρήσης τους έχουμε ουσιαστική μείωση της θρεπτικής αξίας του τροφίμου

iv) όταν το επιθυμητό αποτέλεσμα μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση καλύτερων τεχνικών χειρισμού και επεξεργασίας οι οποίες να είναι οικονομικά εφικτό να εφαρμοστούν.

Η ασφάλεια του καταναλωτή είναι ένας παράγοντας που θα πρέπει να λαμβάνεται πάντοτε υπόψη. Αν και δεν είναι δυνατό να βεβαιωθεί πως κάποια ουσία είναι ασφαλής κάτω από όλες τις συνθήκες για όλους τους ανθρώπους, μελέτες σε ζώα για τη φυσιολογική, φαρμακολογική και βιοχημική συμπεριφορά του υπό εξέταση προσθέτου μπορούν να αποτελέσουν μια βάση για την εκτίμηση της ασφάλειας χρήσης του προσθέτου αυτού σε συγκεκριμένες δόσεις. Κατά τη λήψη αποφάσεων σχετικά με τη χρήση προσθέτων θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η γνώμη ειδικών επιστημόνων για την ασφάλεια της χρήσης, ενώ θα πρέπει να εξετάζεται και η σκοπιμότητα της χρήσης της συγκεκριμένης ουσίας. Απαραίτητο επίσης θεωρείται να υπάρχει νομοθετικός έλεγχος με λίστα επιτρεπόμενων προσθέτων και αποτελεσματικό ελεγκτικό σώμα. (WHO, 1957)

Η Ευρωπαϊκή Ένωση θέτει τα κριτήρια για τη χρήση των προσθέτων τροφίμων στο Παράρτημα ΙΙ, της Οδηγίας του Συμβουλίου της 21ης Δεκεμβρίου 1988, 89/107/ΕΟΚ, τα οποία είναι σύμφωνα με τα όσα αναφέρθηκαν παραπάνω.

1.3. Κατηγορίες προσθέτων- Αριθμός Ε

Η νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης σχετικά με τα πρόσθετα, χωρίζεται σε τρεις κατηγορίες, για τις χρωστικές, για τις γλυκαντικές και για τα λοιπά πρόσθετα. Ουσιαστικά υπάρχουν πολλές περισσότερες κατηγορίες προσθέτων.

Αναλυτικότερα είναι οι:
Χρωστικές, Συντηρητικά, Αντιοξειδωτικά, Γαλακτωματοποιητής, Γαλακτωματοποιητικό άλας, Πυκνωτικό μέσο, Πηκτωματοποιητής, Σταθεροποιητές, Ενισχυτικό γεύσης, Μέσο οξινισμού, Διορθωτικό οξύτητας, Αντισυσωματωτικό, Τροποποιημένο άμυλο, Γλυκαντικά, Διογκωτική σκόνη, Αντιαφριστικό, Υλικό επικάλυψης, Βελτιωτικό αλεύρων, Σκληρυντικό, Υγροσκοπικό μέσο, Συμπλοκοποιητής, Ενζυμο, Διογκωτικό, Προωστικό αέριο και αέριο συσκευασίας. (89/107/ΕΟΚ)

Ο αριθμός με τον οποίο κωδικοποιείται κάθε πρόσθετο, στο πλαίσιο της Ευρωπαϊκής Κοινότητας, συνοδεύεται και από το γράμμα Ε το οποίο ακριβώς δηλώνει ότι είναι επιτρεπόμενο. Το πρώτο ψηφίο του αριθμού δείχνει την κατηγορία του προσθέτου. Οι χρωστικές έχουν νούμερα από 101-180, τα συντηρητικά και τα αντιοξειδωτικά από 200-321, γαλακτοποιητές, σταθεροποιητές και πηκτωματοποιητές από 322-495, οι παράγοντες επεξεργασίας (πυκνωτικά μέσα, μέσα οξίνισης, αντισυσσωματικά, υγροσκοπικά μέσα, διογκωτικά κ.ά.) από 500-585, τα ενισχυτικά γεύσης από 620-640, τα υλικά επικάλυψης από 900-914, τα βελτιωτικά αλεύρων από 920-928, τα αέρια συσκευασίας από 941-948, τα γλυκαντικά από 950-967, ενώ τα βελτιωτικά γεύσης δεν χαρακτηρίζονται από αριθμό Ε.

Από όλες τις παραπάνω κατηγορίες προσθέτων στα τρόφιμα, αυτή που θα μας απασχολήσει στη συγκεκριμένη εργασία, είναι αυτή των χρωστικών ουσιών. Γι' αυτό και θα αναφερθούμε εκτενέστερα.

1.3.1. Τί είναι οι χρωστικές ουσίες τελικά;

Είναι ουσίες ζωηρά χρωματισμένες και ικανές, έστω και σε μικρές ποσότητες να δώσουν σταθερούς χρωματισμούς σε υλικά διάφορης φύσης. Αυτές μπορεί να είναι φυσικές ή συνθετικές. Ανόργανες ή οργανικές.

Οι φυσικές χρωστικές είναι φυτικές και ζωικές, όπως η χλωροφύλλη, η αιμοσφαιρίνη, ο μελανίτης, το ανθοκυάνιο και οι χρωστικές του καρότου. Οι οργανικές χρωστικές είναι ουσίες με πολύπλοκη σύνθεση, ανήκουν στη σειρά των αρωματικών ενώσεων και περιέχουν κατά πλείστον άνθρακα, υδρογόνο, οξυγόνο, άζωτο και μερικές φορές θείο και αλογόνα . Γενικά έχουν υψηλό μοριακό βάρος και είναι διαλυτά ή αδιάλυτα.

Οι ανόργανες χρωστικές, είναι όλες αδιάλυτες και αποτελούνται από οξείδια μετάλλων ή από άλατα απλά ή σύνθετα. Σε σχέση με τα οργανικά, έχουν λιγότερη λαμπρότητα, μικρότερη χρωστική ικανότητα και μεγαλύτερη πυκνότητα.

1.3.2. Ιστορική αναδρομή: Από πότε εφαρμόζονται οι χρωστικές στα τρόφιμα ;

Από τους αρχαίους κιόλας χρόνους χρησιμοποιούνται χρωστικές φυτικής και ζωικής προέλευσης, όπως από ορισμένα φυτά (ινδικό), από ξύλα, ρίζες, άνθη, από λειχήνες, έντομα και μαλάκια.

Σήμερα, περίπου όλες οι χρωστικές παράγονται με σύνθεση και η ιστορία τους μπορεί να θεωρηθεί ότι άρχισε το 1771, όταν ο Άγγλος χημικός Πίτερ Γουλφ (περίπου 1730-1803) πέτυχε για πρώτη φορά την Παρασκευή του πικρικού οξέος (κατά την αντίδραση του ινδικού με το νιτρικό οξύ) και παρατήρησε ότι το προϊόν αυτό είχε την ιδιότητα να βάφει κίτρινο το μετάξι.

Το 1856, ο Πέρκιν ανακάλυψε ένα ιώδες χρωστικό, τη μαλβεΐνη. Ήταν το πρώτο συνθετικό πραγματικό χρωστικό. Χάρη στις μελέτες και στις ανακαλύψεις του, άρχισε η

χημική βιομηχανία παραγωγής χρωστικών η οποία αναπτύχθηκε ταχύτατα σε Μεγάλη Βρετανία, Γαλλία και Γερμανία.

Μετά την ανακάλυψη των πρώτων χρωστικών, η οποία δεν ήταν εμπειρική ή τυχαία, άρχισε η σύνθεση νέων προϊόντων με ικανοποιητικές τεχνολογικές ιδιότητες και ιδρύθηκαν μεγάλα βιομηχανικά συγκροτήματα και εργαστήρια ερευνών.

1.3.3. Ποιες είναι οι χρωστικές ;

Οι πιο γνωστές χρωστικές συνοδευόμενες από τον αριθμό Ε και το χρώμα τους παρουσιάζονται στον πίνακα 1 που ακολουθεί.

Πίνακας 1: Χρωστικές ουσίες-αριθμός Ε- χρώμα

Κωδικός	Ονομασία	Λειτουργία
E100	Κουρκουμίνη	Πορτοκαλί-κίτρινο χρώμα
E100(ii)	Τουρμερικό	Πορτοκαλί-κίτρινο χρώμα
E101	Ριβοφλαβίνη	Κίτρινο χρώμα, βιταμινη Β2
E101(ii)	5-φωσφορική Ριβοφλαβίνη	Κίτρινο χρώμα, βιταμινη Β2
E102	Ταρτραζίνη	Κίτρινο χρώμα, αζώχρωμα
E104	Κίτρινη Κινολίνη	Πράσινο-κίτρινο χρώμα,συνθετική
E106	5-φωσφορικό νάτριο Ριβοφλαβίνη	Κίτρινο χρώμα, βιταμινη Β2
E107	Κίτρινο 2G	Κίτρινο χρώμα, αζώχρωμα
E110	Κ ιτρινοπορτοκαλί FCF	Κίτρινο χρώμα
E120	Καρμίνη, κοχενίλη	Κόκκινο χρώμα, φυσικό
E122	Αζορουμπίνη	Κόκκινο χρώμα.αζώχρωμα
E123	Αμαράνθη	Κόκκινο χρώμα.αζώχρωμα
E124	Ερυθρό κοχενίλης (Ponceau 4R)	Κόκκινο χρώμα . αζώχρωμα
E127	Ε ρυθροσίνη	Κόκκινο χρώμα, συνθετικό
E128	Κόκκινο 2G	Κόκκινο χρώμα, συνθετικό
E129	Κόκκινο τροφίμων 17 (Allura Red AC)	Κόκκινο χρώμα . αζώχρωμα

E131	Μπλε V	Μπλε χρώμα, συνθετικό
E132	Ι νδικοτίνη	Μπλε χρώμα, συνθετικό
E133	Λαμπρό κυανούν FCF	Μπλε χρώμα, συνθετικό
E140	Χλωροφύλλη	Πράσινο χρώμα, φυσικό
E141	Συμπλέγματα χλωροφύλλης με χαλκό	Πράσινο χρώμα, συνθετικό
E142	Πράσινο S	Πράσινο χρώμα, συνθετικό
E150a-d	Καραμελόχρωμα	Καφέ χρώμα
E151	Λαμπρό μαύρο BN	Μαύρο χρώμα, αζώχρωμα
E153	Άνθρακας	Φυσικό μαύρο χρώμα
E154	Καφέ FK	Καφέ χρώμα, αζώχρωμα
E155	Καφέ HT	Καφέ χρώμα, αζώχρωμα
E160a	Άλφα-, βήτα- και γάμα- καροτένιο	Φυσικό πορτοκαλί-κίτρινο χρώμα
E160b	Ανάτο, Μπιξίνη, Νορπιξίνη	Φυσικό κίτρινο χρώμα
E160c	Εκχύλισμα πιπεριάς	Φυσικό πορτοκαλί χρώμα
E160d	Λυκοπένιο	Φυσικό κόκκινο χρώμα
E160e	Βήτα-απο-8-καροτενάλη	Φυσικό πορτοκαλί-κίτρινο χρώμα
E160f	Αιθυλεστέρας του βήτα-απο-8-καροτενικου οξέος	Φυσικό πορτοκαλί-κίτρινο χρώμα
E161a	Φλαβοξανθίνη	Φυσικό, κίτρινο χρώμα
E161b	Λουτε ί νη	Φυσικό, κίτρινο χρώμα
E161c	Κρυπτοξανθίνη	Φυσικό, κίτρινο χρώμα
E161d	Ρουβιξανθίνη	Φυσικό, κίτρινο χρώμα
E161e	Βιολοξανθίνη	Φυσικό, κίτρινο χρώμα
E161f	Ροδοξανθίνη	Φυσικό, κίτρινο χρώμα
E161g	Κανθαξανθίνη	Φυσικό, πορτοκαλί χρώμα
E161h	Κιτρονοξανθίνη	Φυσικό, κίτρινο χρώμα
E162	Εκχύλισμα παντζαριού	Φυσικό κόκκινο χρώμα
E163	Ανθοκυάνες	Φυσικό κόκκινο-μωβ χρώμα
E170	Ανθρακικό ασβέστιο	Άσπρο χρώμα
E171	Διοξείδιο του τιτανίου	Άσπρο χρώμα
E172	Οξείδια του σιδήρου	Φυσικό κόκκινο-καφέ χρώμα

E173	Αλουμίνιο	Μεταλλικό (χρώμα)
E174	Άργυρος	Μεταλλικό (χρώμα)
E175	Χρυσός	Μεταλλικό (χρώμα)
E180	Λιθορουμπίνη ΒΚ	Κόκκινο χρώμα, αζώχρωμα
181	Ταννίνες	Κίτρινο-άσπρο χρώμα και γεύση

2. ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

2.1. ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΗ -ΤΕΤΡΑΤΕΡΠΕΝΙΑ

Τα καροτενοειδή (κίτρινα, πορτοκαλόχρωμα και κόκκινα) είναι τετρατερπένια που λειτουργούν ως δευτερογενείς χρωστικές στη φωτοσυνθετική διαδικασία και προστατεύουν τους φωτοσυνθετικούς ιστούς από τη φωτοοξείδωση. Τα τερπένια ή τα τερπενοειδή αποτελούν την πιο πολυάριθμη ομάδα των δευτερογενών μεταβολιτών. Τα διάφορα συστατικά της ομάδας αυτής είναι αδιάλυτα στο νερό, ενώ έχουν κοινή βιοσυνθετική προέλευση. Όλα τα τερπένια προέρχονται από την συνένωση περισσοτέρων της μιας μονάδας ανθρακικών ενώσεων με σαράντα άτομα άνθρακα.

Τα πιο γνωστά τετρατερπένια που είναι ευρέως διαδεδομένα στη φύση είναι τα καροτενοειδή (Εικόνα 1). Είναι λιποδιαλυτές χρωστικές, με χρώμα ερυθρό, πορτοκαλί ή κίτρινο και εντοπίζονται στους χλωροπλάστες και χρωμοπλάστες των φυτικών ιστών. Όπως οι χλωροφύλλες έτσι και τα καροτενοειδή είναι βυθισμένα στα θυλακοειδή των χλωροπλαστών και συμμετέχουν ως βοηθητικές χρωστικές στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης, ενώ ταυτόχρονα εμποδίζουν ορισμένες οξειδώσεις κατά τη διεξαγωγή της φωτοσύνθεσης. Από χημική άποψη μπορεί να είναι άκυκλα (λυκοπαΐνη) ή δικυκλικά (α-καροτένιο, β-καροτένιο).

Εικόνα 1: Καροτενοειδή ανώτερου φυτού όπως φαίνεται σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο

Τα καροτενοειδή βρίσκονται στα τρόφιμα όπως τα καρότα, οι κολοκύθες, οι γλυκές πατάτες, οι τομάτες, και άλλα πράσινα, κίτρινα, πορτοκαλί, και κόκκινα φρούτα και

λαχανικά. Επίσης, βρίσκονται στα πέταλα των ανθέων και στις ρίζες όπου η συγκέντρωσή τους μπορεί να φτάσει σε υψηλά επίπεδα. Εκτιμάται ότι η παγκόσμια ετήσια παραγωγή των χρωστικών αυτών ανέρχεται στα 100 εκατομμύρια τόνους.

Πιστεύεται ότι τα είδη αυτά των καροτενοειδών συμβάλλουν στην προσέλκυση των εντόμων για τη γονιμοποίηση τους. Το ίδιο συμβαίνει και με τα πουλιά, τα οποία χρησιμοποιούν τις χρωστικές αυτές για να δώσουν το κόκκινο, κίτρινο ή πορτοκαλί χρώμα στο φτέρωμά τους με το οποίο θα προσελκύσουν το ταίρι τους. Η α-καροτίνη, η β-καροτίνη, η λουτεΐνη, ζεαξανθίνη, και λυκοπαΐνη είναι τα πιο κοινά καροτενοειδή (Καράταγλης, 1994).

Τα καροτενοειδή διακρίνονται σε:

• Πορτοκαλί καροτενοειδή: α-, β- και γ-καροτένιο

• Κόκκινα καροτενοειδή: λυκοπαΐνη και ασταξανθίνη

• Κίτρινα καροτενοειδή: λουτεΐνη και ζεαξανθίνη

Περισσότερα από 600 καροτενοειδή έχουν βρεθεί στα φυτά (Πίνακας 2), (Εικόνα 2). Περίπου τα μισά από αυτά κατά προσέγγιση χρησιμοποιούνται στην ανθρώπινη διατροφή και απορροφώνται από το αίμα.

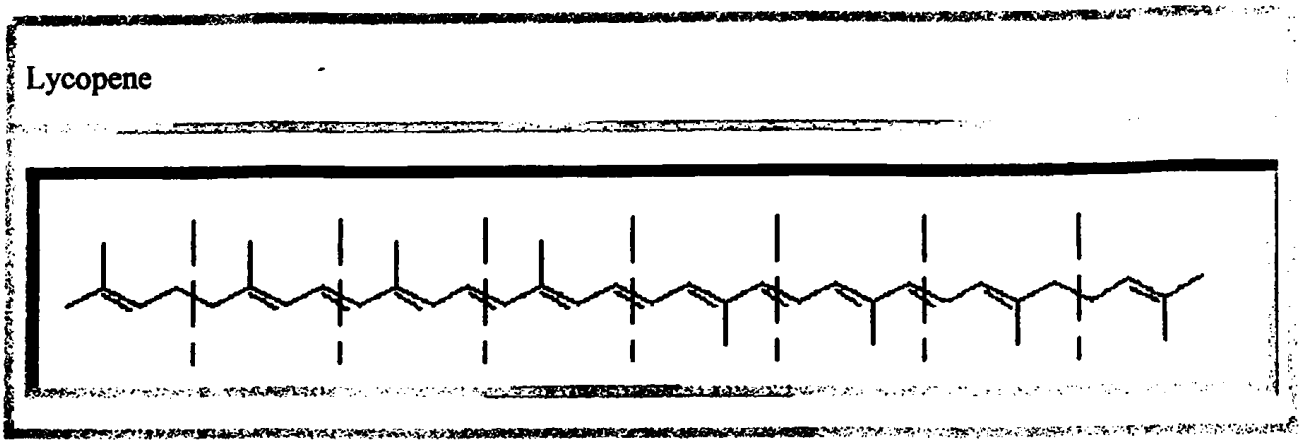
Εικόνα 2: Τρόφιμα πλούσια σε καροτενοειδή.

Πίνακας 2: Τρόφιμα τα οποία περιέχουν καροτενοειδή.

Τρόφιμα	β-καρότένιο*	α-καροτένιο*
Γλυκοπατάτα	9.5	0
Καρότο	8.8	4.6
Κολοκύθα	6.9	4.8
Λάχανο	6.2	0
Σπανάκι	5.6	0
	* mg \100 gr	

2.1.2 Λυκοπαΐνη

Η λυκοπαΐνη είναι μια χρωστική ουσία που προσδίδει το κόκκινο χρώμα στις τομάτες, τα κόκκινα σταφύλια, το καρπούζι, το γκρεϊπφρουτ, τη guava, τα βερίκοκα και την παπάγια (**Εικόνες 3, 4, 5**). Όπως και τα καροτενοειδή, η λυκοπαΐνη είναι αδιάλυτη στο νερό αλλά διαλύεται καλύτερα στα έλαια. Είναι ισχυρά αντιοξειδωτικό (DNA και τις πρωτεΐνες).



Εικόνα 3: Χημικός τύπος της λυκοπαΐνης.

Η κατανάλωση τροφίμων πλουσίων σε λυκοπαΐνη συνδέεται με μείωση του καρκίνου του προστάτη, του πνεύμονα, του τραχήλου της μήτρας, του δέρματος, καθώς επίσης συμβάλει στη μείωση των επιπέδων λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL) με συνέπεια μείωση του κινδύνου αρτηριοσκλήρωσης. Επίσης, προστατεύει το δέρμα από την υπεριώδη ακτινοβολία λόγω της βήτα-καροτίνης. Στο σώμα, η λυκοπαΐνη εναποτίθεται στο συκώτι, στους πνεύμονες, στον προστατικό αδένα και στο δέρμα.

Εικόνα 4: Τρόφιμα πλούσια σε λυκοπαΐνη.

Η συγκέντρωσή της στους ιστούς τείνει να είναι υψηλότερη από όλα τα άλλα καροτενοειδή. Μερικά όργανα, όπως όρχεις και αδένες, αποθηκεύουν μεγαλύτερη

ποσότητα λυκοπαΐνης σε σχέση με άλλα όργανα ή ιστούς. Ο τοματοπολτός έχει σχεδόν τέσσερις φορές μεγαλύτερη βιολογική σημασία από τις φρέσκιες τομάτες (Best Ben, 2002; Kristal AR, 2002; Norrish A.E. et al, 2002).

Μερικά τρόφιμα που είναι καλές πηγές λυκοπαΐνης παρατίθενται στον πίνακα 3.

Πίνακας 3: Τρόφιμα πλούσια σε λυκοπαΐνη (USDA/NCC Carotenoid Database for U.S. Foods 1998 & Tomato Research Counci).

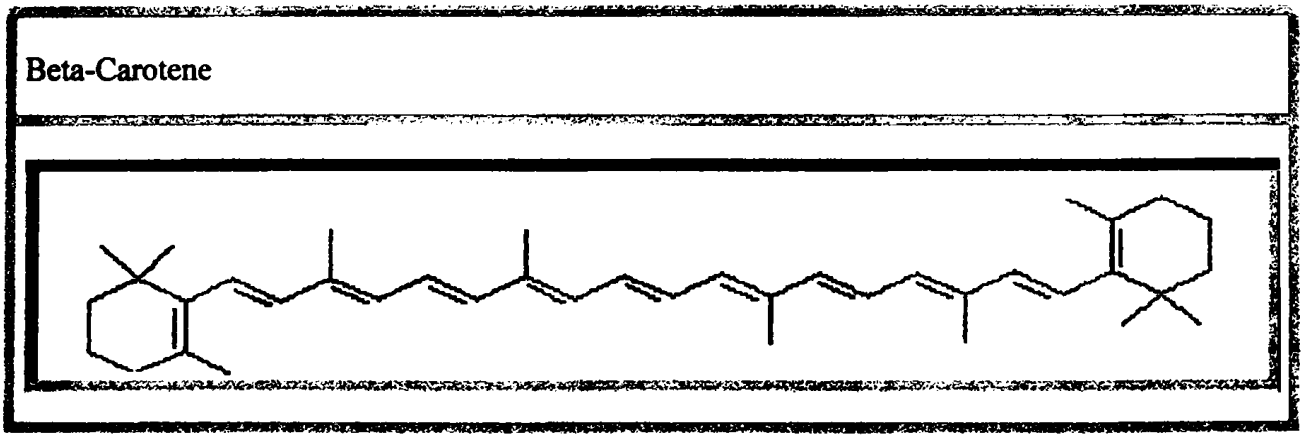
Τρόφιμα	Λυκοπαΐνη(mcg)
Τοματοπολτός	75,362
Πουρές τομάτας	54,385
Σάλτσα marinara	39,975
Τοματόσουπα	25,615
Κοκτέιλ φυσικού χυμού	23,337
Τοματοχυμός	21,960
Καρπούζι	12,962
Τομάτες	4,631
Κέτσαπ	2,551
Γκρέιπφρουτ	1,745
Φασόλια	1,298
Κόκκινη γλυκοπιπεριά	459

Εικόνα 5: Η δομή της λυκοπαΐνης κάτω από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

2.1.3. Βήτα-καροτένιο

Στους ανθρώπους τα καροτενοειδή μπορούν να εξυπηρετήσουν διάφορες σημαντικές λειτουργίες. Ο ευρύτατα μελετημένος θρεπτικός ρόλος των καροτενοειδών είναι η δραστηριότητα της προβιματίνης Α τους. Η ανεπάρκεια της βιταμίνης Α είναι μια σημαντική αιτία πρόωρου θανάτου στα αναπτυσσόμενα έθνη, ιδιαίτερα μεταξύ των παιδιών. Η βιταμίνη Α που έχει πολλές ζωτικής σημασίας λειτουργίες στους ανθρώπους, μπορεί να παραχθεί μέσα στο σώμα από ορισμένα καροτενοειδή , ειδικότερα από τη Β-καροτίνη (Britton et al., 1995). Η διαιτητική Β- καροτίνη (**Εικόνα 7**) ,λαμβάνεται από διάφορα φρούτα και λαχανικάόπως τα καρότα, το σπανάκι, τα ποδάκινα, τα βερίκοκα και τις γλυκές πατάτες (Mangels et al., 1993). Άλλες προβιταμίνες Α καροτενοειδών είναι η Αλφα καροτίνη (που βρίσκεται στα καρότα, την κολοκύθα και στην κόκκινη και κίτρινη πιπεριά) και η κρυπτοξανθίνη (από τα πορτοκάλια, τα ποδάκινα, κτλ.) (**Εικόνα 9**)

Το β-καροτένιο είναι πρόδρομη ένωση για τη δημιουργία της προβιταμίνης Α, που σημαίνει ότι μπορεί να μετατραπεί στο σώμα σε ρετινόλη. Βρίσκεται σε πολλά κίτρινα φρούτα και λαχανικά (Εικόνες 7, 8). Το β-καροτένιο είναι το πιο μελετημένο καροτενοειδές.



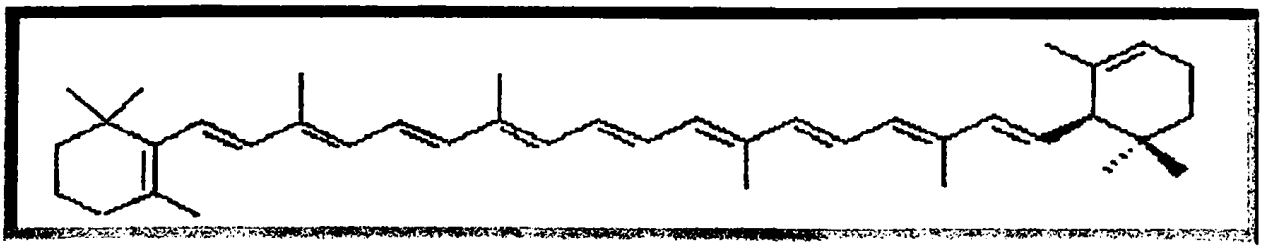
Εικόνα 6: Χημικός τύπος βήτα-καροτένιου

Εικόνα 7: Η δομή του β-καροτένιου κάτω από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Εικόνα 8: Βασική πηγή β-καροτένιου.

Τα φυτά που είναι πλούσια σε β - καροτένιο όπως τα καρότα, το μπρόκολο, το σπανάκι, το λάχανο, τα πορτοκάλια και τα κίτρινα φρούτα αποτελούν μια εξαιρετικά ισχυρή πηγή αντιοξειδωτικών (Best Ben, 2002).

Alpha-Carotene

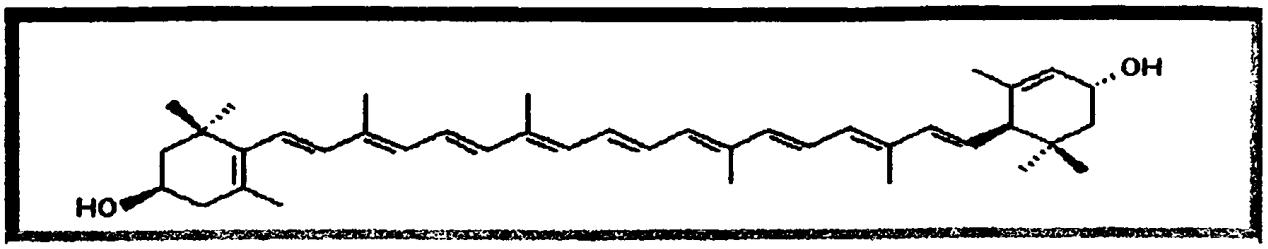


Εικόνα 9: Χημικός τύπος άλφα-καροτένιου

2.1.4 Λουτείνη

Η λουτεΐνη (LOO-teen) είναι ένα λιπόφιλο μόριο και γενικά αδιάλυτο στο νερό. Η λουτεΐνη είναι συνδεμένη με ένα ή περισσότερα λιπαρά οξέα που είναι παρόντα σε μερικά φρούτα και λουλούδια (**Εικόνες 10, 11**).

Lutein



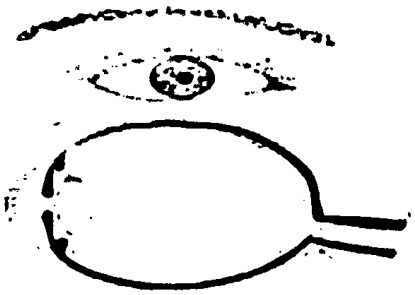
Εικόνα 10: Χημικός τύπος της λουτεΐνης.

Η αλυσίδα πολυαινίου είναι ευαίσθητη στο φως και στη θερμότητα και είναι χημικά ασταθής στα οξέα. Η λουτεΐνη δίνει ένα κίτρινο χρώμα στη λέκιθο του καλαμποκιού, του μάνγκο και των αυγών (**Εικόνα 12**).

Εικόνα 11:Η λουτεΐνη κάτω από το μικροσκόπιο.

Εικόνα 12:Το μάνγκο είναι πλούσιο σε λουτεΐνη.

Η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη αποτελούν τα μισά από τα καροτενοειδή που υπάρχουν στον αμφιβληστροειδή του ματιού και είναι τα μόνα καροτενοειδή στην ωχρή κηλίδα του ματιού που απορροφούν το καταστρεπτικό μπλε φως και προφυλάσσουν το μάτι από τον κηλιδικό εκφυλισμό και τους καταρράκτες (**Εικόνα 13**).

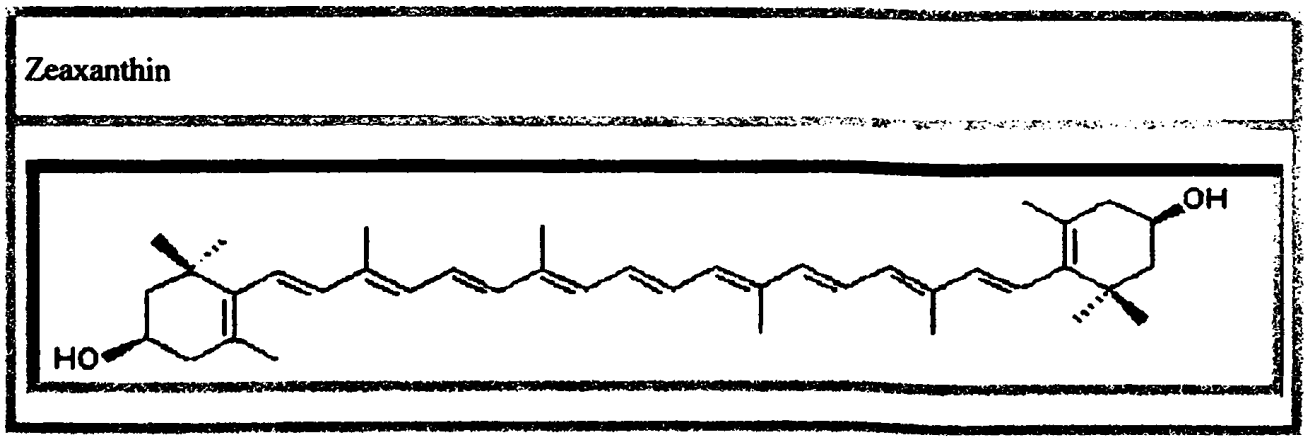


Εικόνα 13:Ο αμφιβληστροειδής του ματιού αποτελείται από λουτεΐνη.

Η λουτεΐνη περιέχεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο λάχανο, στο σπανάκι, στο κάρδαμο και στον μαϊντανό (Ben Best, 2002; Seddon JM et al, 1994; Hankinson SE, et al,1992; Roodenburg Aj et al, 2000).

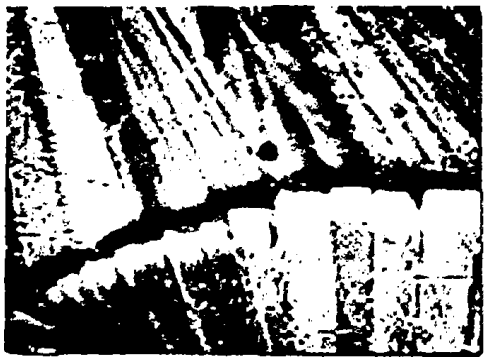
2.1.5. Ζεαξανθίνη

Η ζεαξανθίνη είναι ένα οξειδωμένο υδροξύ-παράγωγο του βήτα-καροτένιου. Είναι μια λιποδιαλυτή ξανθοφύλλη και αποτελεί την κύρια χρωστική ουσία των καροτενοειδών που βρίσκεται στα υδρόβια ζώα και επίσης είναι άφθονη στο σπανάκι, στα πράσινα λαχανικά και στο καλαμπόκι (Εικόνες 14, 15). Η κόκκινη-πορτοκαλί αυτή χρωστική ουσία συσχετίζεται πολύ με άλλα γνωστά καροτενοειδή όπως το β-καροτένιο ή η λουτεΐνη, αλλά αναπτύσσει μια ισχυρότερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα (10 φορές υψηλότερη από το β-καροτένιο).



Εικόνα 14: Χημικός τύπος της ζεαξανθίνης.

Η ζεαξανθίνη θεωρείται ότι λειτουργεί στο επιβλαβές μπλε φως ως φίλτρο, προστατεύοντας το μάτι από τον ηλικιακό κηλιδικό εκφυλισμό, την κύρια αιτία της τύφλωσης άνω των 65 (Snodderly et al., 1995). Σε πολλά από τα υδρόβια ζώα όπου έχει βρεθεί, η ζεαξανθίνη έχει διάφορες ουσιαστικές βιολογικές λειτουργίες, όπως προστασία ενάντια στην οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, προστασία της όρασης, ανοσία, επικοινωνία και βελτίωση της αναπαραγωγικής ικανότητας.



Εικόνα 15: Η ζεαξανθίνη κάτω από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

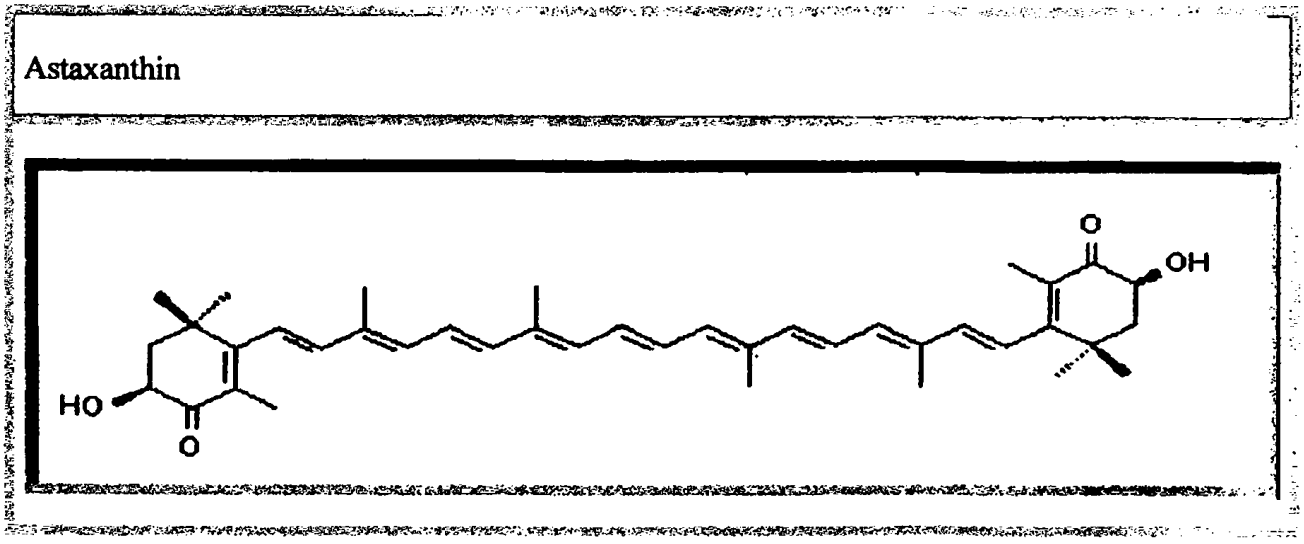
Στα είδη όπως ο σολομός ή οι γαρίδες, η ζεαξανθίνη θεωρείται σημαντική για την κανονική αύξηση και επιβίωση. Μπορεί να βρεθεί σε πολλά εδώδιμα θαλασσινά, όπως ο σολομός, η πέστροφα, οι γαρίδες, ο αστακός και τα αυγά ψαριών, καθώς και σε διάφορα είδη πουλιών. Η ζεαξανθίνη δεν μπορεί να συντεθεί από τα ζώα και πρέπει να λαμβάνεται με τη διατροφή, όπως συμβαίνει με άλλα καροτινοειδή. Ορισμένα ψάρια (π.χ. σολομός) είναι ανίκανα να μετατρέψουν τα διάφορα καροτενοειδή σε ζεαξανθίνη άλλα όμως, όπως οι γαρίδες έχουν μια περιορισμένη ικανότητα να μετατρέψουν τα καροτενοειδή σε ζεαξανθίνη.

Αυτά τα καροτενοειδή προστατεύουν από την ανάπτυξη καταρράκτη και μπορούν να έχουν άλλα οφέλη υγείας στους ανθρώπους. Η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη αποθηκεύονται και οι δύο στον αμφιβληστροειδή του ματιού (**Εικόνα 13**), αλλά καμία από τις δύο δεν μετατρέπεται σε βιταμίνη Α. Είναι ισχυρά αντιοξειδωτικές ουσίες και οι δύο και απαραίτητες για υγιή μάτια (Best Ben,2002; M Mozaffarieh et al, 2003; CR Gale et al, 2003; RA Bone et al, 2003).

2.1.6. Ασταξανθίνη

Η ασταξανθίνη είναι η κύρια χρωστική ουσία καροτενοειδών που βρίσκεται στα υδρόβια ζώα. Δίνει το χαρακτηριστικό χρώμα στο σολομό, τις γαρίδες και στο καβούρι (**Εικόνα 16, 17**). Αυτή η κόκκινη-πορτοκαλιά χρωστική ουσία συσχετίζεται πολύ με άλλα γνωστά καροτενοειδή όπως το β–καροτένιο ή η λουτεΐνη, αλλά αναπτύσσει μια ισχυρότερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα (10 φορές υψηλότερη από το β-καροτένιο) (Di Mascio et al., 1991).

Εικόνα 16: Ο σολομός περιέχει μεγάλη ποσότητα ασταξανθίνης.



Εικόνα 17: Χημικός τύπος της ασταξανθίνης

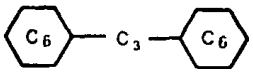
2.2. ΦΑΙΝΟΛΕΣ

Σχεδόν όλα τα ανώτερα φυτά και πολλοί μικροοργανισμοί περιέχουν διάφορα είδη και διαφορετικές ποσότητες φαινολικών συστατικών. Τα συστατικά αυτά ίσως είναι τα πιο

άφθονα από όλες εκείνες τις φυτικές χημικές ενώσεις που περιλαμβάνονται στην κατηγορία των φυσικών ή δευτερογενών μεταβολιτών. Αν εξαιρέσουμε μεμονωμένες περιπτώσεις, η λειτουργία των περισσοτέρων φαινολών είναι ασαφής. Σήμερα για τις περισσότερες γνωρίζουμε ότι είναι παραπροϊόντα του μεταβολισμού με ενεργή δραστηριότητα, όπως φυτικές ορμόνες, οξειδοαναγωγικοί συμπαράγοντες (π.χ. το συνένζυμο Q –ουβικινόνη), χρωστικές των φλαβονοειδών κ.λ.π.

2.2.1. Φλαβονοειδή

Μια από τις μεγαλύτερες κλάσεις των φυτικών φαινολών είναι τα φλαβονοειδή. Ο βασικός ανθρακικός σκελετός ενός φλαβονοειδούς παρουσιάζεται στην **εικόνα 18** περιέχει 15 άτομα άνθρακα σε μια διάταξη με δύο αρωματικούς δακτυλίους, που συνδέονται με μια γέφυρα τριών ατόμων άνθρακα. Η γέφυρα αυτή αναφέρεται και ως κεντρικός ετεροδακτύλιος.



Εικόνα 18: Χαρακτηριστική δομή ενός φλαβονοειδούς.

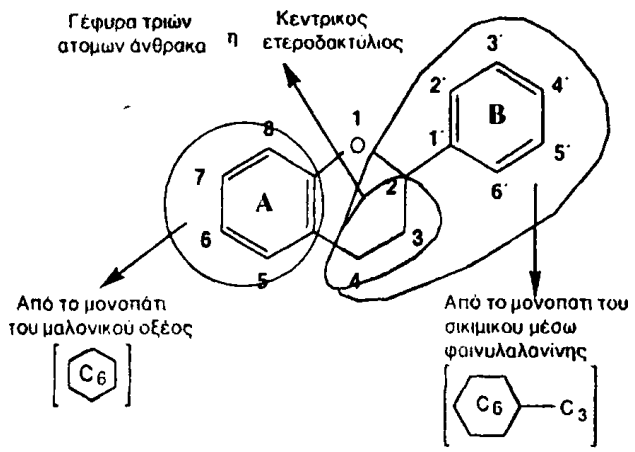
Η δομή αυτή είναι το αποτέλεσμα της συνένωσης δύο προϊόντων που προέρχονται από δύο διαφορετικά βιοσυνθετικά μονοπάτια.

Η ονομασία τους προέρχεται από το κίτρινο χρώμα (flavus=κίτρινος) μερικών ενώσεων της ομάδας αυτής. Τα φλαβονοειδή ταξινομούνται σε διαφορετικές ομάδες που βασίζονται πρωτογενώς στο βαθμό οξείδωσης των ατόμων του άνθρακα της γέφυρας (**Εικόνα 19, Πίνακας 4**).

Τα φλαβονοειδή περιέχουν ουσίες με αντιοοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση. Τα φλαβονοειδή και η ρεσβερατρόλη είναι παρόντα στο κόκκινο κρασί αλλά όχι στο λευκό για το λόγο ότι η ζύμωση του κόκκινου κρασιού πραγματοποιείται με την επιδερμίδα και τα σπέρματα των σταφυλιών, ενώ στο λευκό έχει απομακρυνθεί η επιδερμίδα (Καράταγλης, 1994).

Πίνακας 4: Οι σημαντικότερες κατηγορίες φλαβονοειδών και η βιολογική σημασία τους (Nach J. B. HARBORNE, 1980).

Οι σημαντικότερες κατηγορίες φλαβονοειδών και η βιολογική σημασία τους		
Κατηγορία	Αριθμός γνωστών μελών	Βιολογική σημασία
anthocyanin(s)	250	κόκκινες και μπλε χρωστικές ουσίες
chalcons	60	κίτρινες χρωστικές ουσίες
aurones	20	κίτρινες χρωστικές ουσίες
Flavones	350	κρεμ χρώματος χρωστικές ουσίες των λουλουδιών
flavonols	350	αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης δράση
dihydrochalcons	10	πικρή γεύση
proanthocyanidins	50	στυπτικές ουσίες
catechins	40	έχουν ιδιότητες όπως οι ταννίνες
biflavonoids ?	65	δεν γνωρίζουμε ακριβώς την λειτουργία τους
isoflavonoids	15	επίδραση οιστρογόνων



Εικόνα 19: Βασικός σκελετός των φλαβονοειδών.

Τα φλαβονοειδή είναι υψίστης σημασίας για την ανθρώπινη υγεία λόγω των συστατικών που περιέχουν με αποτέλεσμα την πρόληψη και θεραπεία ασθενειών.

Τρεις ομάδες των φλαβονοειδών παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη φυσιολογία των φυτών. Οι ομάδες αυτές είναι: οι ανθοκυανιδίνες, οι φλαβόνες και οι φλαβονόλες.

2.2.1.α. Ανθοκυανιδίνες

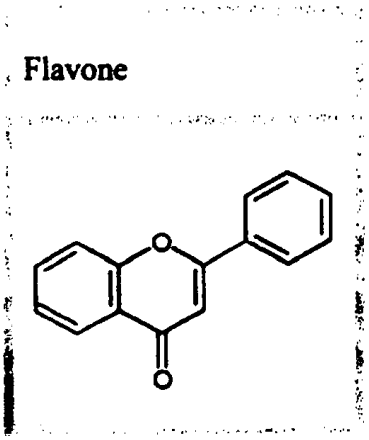
Η πιο διαδεδομένη ομάδα των φλαβονοειδών χρωστικών είναι οι ανθοκυανιδίνες, οι οποίες είναι υπεύθυνες για πάρα πολλά από τα κόκκινα, ροζ, ιώδη και μπλε χρώματα που παρατηρούνται σε διάφορα φυτικά όργανα. Οι ανθοκυανιδίνες προσδίδουν το κόκκινο χρώμα στα άνθη του τριαντάφυλλου, του κερασιού και στις φράουλες, καθώς επίσης το μπλε στις βιολέτες και στα βατόμουρα. Στα έγχρωμα άνθη και καρπούς, οι ανθοκυανιδίνες είναι ζωτικής σημασίας στην προσέλκυση των εντόμων για τη γονιμοποίηση των ανθέων και τη διασπορά των σπερμάτων. Την άποψη αυτή είχε εκφράσει και ο Δαρβίνος λέγοντας ότι η ελκυστικότητα ενός καρπού εξυπηρετεί την προσέλκυση των πουλιών και εντόμων, έτσι ώστε τρώγοντας τους καρπούς να διασπείρονται τα σπέρματα τους σε μεγάλη έκταση με τα περιττώματα των ζώων.

Η βιοσύνθεση των ανθοκυανιδινών επηρεάζεται από την παρουσία της άμεσης ακτινοβολίας, (για παράδειγμα τα πιο κόκκινα μήλα βρίσκονται στην έντονα φωτιζόμενη πλευρά του δένδρου). Η έλλειψη αζώτου, φωσφόρου ή θείου οδηγεί στη συσσώρευση

ανθοκυανιδινών σε μερικά φυτικά είδη καθώς επίσης και οι χαμηλές θερμοκρασίες αυξάνουν το σχηματισμό τους όπως φαίνεται στα φθινοπωρινά τους φύλλα. Τα έντονα ζωηρά χρώματα των φθινοπωρινών φύλλων οφείλονται κατά μεγάλο μέρος στη συσσώρευση ανθοκυανιδινών κατά τις ηλιόλουστες και κρύες μέρες του φθινοπώρου. Σε μερικά φυτικά είδη, παρόλο που οι κίτρινες και οι πορτοκαλί χρωστικές των καροτενοειδών υπερισχύουν στα φθινοπωρινά φύλλα, το ζωηρό τους χρώμα οφείλεται κυρίως στις ανθοκυανίδινες. Οι ανθοκυανιδίνες είναι γλυκοζίτες που έχουν σάκχαρα στη θέση 3 και μερικές φορές σε κάποιες άλλες θέσεις (π.χ. Πελαργονιδίνη, Μαλβιδίνη). Οι ανθοκυανίνες δίχως τα σάκχαρα τους, είναι γνωστές ως ανθοκυανιδίνες (ανθοκυανίνες = ανθοκυανιδίνες + σάκχαρο).

2.2.1.β. Φλαβόνες -Φλαβονόλες

Δύο άλλες μεγάλες ομάδες των φλαβονοειδών που βρίσκονται στα άνθη είναι οι φλαβόνες και οι φλαβονόλες. Αν μια υδροξυλική ομάδα εισέλθει στην 3-θέση της γέφυρας μιας φλαβόνης τότε προκύπτουν οι φλαβονόλες (**Εικόνα 20**). Οι γλυκοζίτες των φλαβονολών δίδουν ένα λευκό ή ελαφρώς κίτρινο χρώμα στα άνθη. Η παρουσία τους δεν περιορίζεται μόνο στα άνθη αλλά και σε άλλα μέρη του φυτού. Η έντονη παρουσία των φλαβονολών υποδηλώνει ότι επιτελούν μια βασική λειτουργία. Πιστεύεται ότι μερικές φλαβονόλες παίζουν σημαντικό ρόλο στις φυσιολογικές λειτουργίες της ρύθμισης της δραστηριότητας των οξειδασών του IAA (μερικές δρουν ως αναστολείς και άλλες ως ενεργοποιητές της οξειδάσης του IAA).



Εικόνα 20: Βασικός σκελετός της φλαβόνης και της φλαβονόλης.

2.3 ΑΛΛΕΣ ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ

Εκτός από τις δύο κύριες κατηγορίες χρωστικών που αναφλερθηκαν εκτενώς σε προηγούμενη παράγραφο, υπάρχουν αρκετές ακόμη χρωστικές φυσικές και μη οι οποίες χρησιμοποιούνται ιδιαίτερα συχνά.

Στη συνέχεια θα αναφερθούν επιγραμματικά οι κυριότερες από αυτές καθώς και η πρέλευσή τους, όπως και τα κοινά χαρακτηριστικά

2.3.1 E101 (i): Ριβοφλαβίνη - E 101 (ii): 5-φωσφορικό νάτριο Ριβοφλαβίνη

Η συγκεκριμένη χρωστική συχνά αναφέρεται και ως Ε 106, Βιταμίνη Β2, λακτοφλαβίνη κτλ.

Προέλευση: Φυσική χρωστική ουσία που περιλαμβάνεται σε πολλά τρόφιμα όπως το γάλα, τα αυγά, το συκώτι και τα λαχανικά. Παρασκευάζεται από τη μαγιά. Μπορεί επίσης να παρασκευαστεί συνθετικά.

Λειτουργίες & χαρακτηριστικά: Χρώμα κίτρινο. Όχι ιδιαίτερα ευδιάλυτη στο νερό

Προϊόντα : Διάφορα προϊόντα .

Ανώτατο όριο καθημερινής λήψης: Μέχρι 0.5 mg ανά καλό σωματικού βάρους.

Παρενέργειες : Δεν έχουν βρεθεί παρενέργειες για τις συγκετρώσεις που υπάρχει στα τρόφιμα.

Διατροφικοί περιορισμοί : Κανένας,το Ε 101 μπορει να καταναλωθεί από όλες τις θρησκευτικές ομάδες, καθώς και από ακραίους και μη χορτοφάγους. Παρά το γεγονός ότι μπορεί να παρασκευαστεί από το γάλα, σε βιομηχανική κλίμακα δεν παράγεται με αυτόν τον τρόπο.

2.3.2 E150 Καραμέλα

E 150 a Αλκαλική καραμέλα, Τάξη καραμέλας I

E 150 b A λκαλική θειούχα καραμέλα, Τάξη καραμέλας II

E 150 c A μμωνία καραμέλα, Τάξη καραμέλας III

E 150 d Θειούχα- αμμωνία καραμέλα, Τάξη καραμέλας I V

Προέλευση : Καφέ χρωστικές . Αποτελούνται από πολύπλοκα μείγματα που παράγονται κατά τη θέρμανση και καύση σακχάρων με την παρουσία αλκάλεων, αμμωνίας,θειούχων ενώσεων ή συνδυασμό αυτών.

Λειτουργίες & χαρακτηριστικά: Καφέ προς μαύρες χρωστικές . Ευδιάλυτες στο νερό με ιδιαίτερη, ορισμένες φορές πικρή γεύση.

Προϊόντα: Διάφορα προϊόντα .

Ανώτατο όριο καθημερινής λήψης: Μέχρι 200 mg ανά κιλό σωματικού βάρους για το E 150 c και το E 150 d, ενώ δεν έχει καθοριστεί ανώτατο όριο (A DI) για το E 150 a και το E 150 b .

Παρενέργειες: Δεν έχουν παρουσιαστεί παρενέργεις για τη χρήση του E 150 c και E 150 d, όμως έχουν παρουσιαστεί εντερικά προβλήματα με τη λήψη μεγάλης ποσότητας. Λόγω της πολύπλοκης φύσης των μειγμάτων αυτών, ακόμα πραγματοποιούνται έρευνες για την τοξικότητα των ουσιών αυτών.

Διατροφικοί περιορισμοί: Κανένας. Το E 150 μπορεί να καταναλωθεί από όλες τις θρησκευτικές ομάδες, καθώς και από τους χορτοφάγους.

2.3.3 E 123: Αμαράνθη : Κόκκινο τροφίμων 9, CI 16185

Προέλευση : Συνθετικό αζώχρωμα.

Λειτουργίες & χαρακτηριστικά: Κόκκινη χρωστική για τρόφιμα. Πολύ ευδιάλυτη στο νερό

Προϊόντα: Διάφορα προϊόντα .

Ανώτατο όριο καθημερινής λήψης: Μέχρι 0.5 mg ανά κιλό σωματικού βάρους.

Παρενέργειες: Το Ε123 ως αζώχρωμα μπορεί να προκαλέσει δισανεξία, σε άτομα δισανεκτικά σε άλατα του σαλικυλικού οξέος. Επιπλέον, απελευθερώνει ισταμίνη και μπορεί να εντείνει τα συμπτώματα του άσθματος. Σε συνδυασμό με εστέρες του βενζοϊκού οξέος, μπορεί να προκαλέσει υπερδραστηριότητα σε παιδιά. Έχει βρεθεί ότι στα ποντίκια, η αμαράνθη συνδέεται με το σχηματισμό όγκων κάτι που όμως δεν έχει αποδειχθεί για τον άνθρωπο. Σε πολλές χώρες η χρήση της έχει περιοριστεί και η περαιτέρω έρευνα έχει ανασταλλεί, ενώ το ανώτατο όριο καθημερινής λήψης έχει μειωθεί στα 0.5 mg / kg σωματικού βάρους.

Διαιτροφικοί περιορισμοί: Κανένας, το Ε 123 μπορεί να καταναλωθεί από όλες τις θρησκευτικές ομάδες, καθώς και από τους χορτοφάγους.

2.3.4 E124: Ερυθρό κοχενίλης : Κόκκινο τροφίμων -Κόκκινο κοχενίλης Α

Προέλευση :Συνθετικό αζώχρωμα .

Λειτουργίες & χαρακτηριστικά : Κόκκινη χρωστική για τρόφιμα. Πολύ ευδιάλυτη στο νερό

Προϊόντα : Διάφορα προϊόντα .

Ανώτατο όριο καθημερινής λήψης: Μέχρι 4 mg ανά κιλό σωματικού βάρους.

Παρενέργειες : Το Ε124 ως αζώχρωμα μπορεί να προκαλέσει δισανεξία, σε άτομα δισανεκτικά σε άλατα του σαλικυλικού οξέος.Επιπλέον, απελευθερώνει ισταμίνη και μπορεί να εντείνει τα συμπτώματα του άσθματος. Σε συνδυασμό με εστέρες του βενζοϊκού οξέως, μπορεί να προκαλέσει υπερδραστηριότητα σε παιδιά.

Διατροφικοί περιορισμοί :Κανένας,το Ε 124 μπορει να καταναλωθεί από όλες τις θρησκευτικές ομάδες, καθώς και από τους χορτοφάγους.

2.3.5 E 161 (β) Λουτεΐνη ή Μείγματα καροτενοειδών ή ξανθοφύλλες

Φυσικά χρωστική που υπάρχει στα φύλλα των πράσινων λαχανικών και λαμβάνεται με εκχύλιση.

Χαρακτηριστικά : Σκούρο κίτρινο έως καφέ υγρό.

Θα τη βρούμε σε προϊόντα : Παγωτά, παρασκευάσματα, σάλτσες.

Επιπτώσεις στην υγεία : Δεν έχουν αναφερθεί αρνητικές επιπτώσεις.

2.3.6 E 160

◊ **(στ) Πορτοκαλί τροφίμων 67 ή β-από-8΄-καροτενικός εστέρας**

Προέλευση: Σύνθετη χρωστική

Χαρακτηριστικά : Πορτοκαλοκίτρινη κρυσταλλική σκόνη.

Θα τη βρούμε σε προϊόντα : Μη αλκοολούχα αρωματισμένα ποτά και ποτά από φρούτα, παγωτά, σάλτσες, τουρσιά.

Επιπτώσεις στην υγεία : Δεν υπάρχουν γνωστές αρνητικές επιπτώσεις.

◊ **E 160 (γ) Εκχύλισμα πάπρικας ή Ελαιορητίνη πάπρικας**

Ποέλευση: Είναι φυσική χρωστική και λαμβάνεται με εκχύλιση του καρπού της πάπρικας (κόκκινο πιπέρι).

Χρήση: Χρησιμοποιείται κυρίως στην τροφή των κοτόπουλων για να κιτρινίσει ο κρόκος των αυγών.

Χαρακτηριστικά : Σκούρο κόκκινο, παχύρρευστο υγρό.

Θα την βρούμε σε προϊόντα : Κατεργασμένα τυριά, μαρμελάδες, ζελέ, γλυκά από κόκκινα φρούτα, καπνιστά ψάρια, στιγμιαίες σούπες, σάλτσες, οινοπνευματώδη ποτά.

Επιπτώσεις στην υγεία : Δεν έχουν αναφερθεί αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία.

◊ **Ε 160 (α) Μείγματα καροτενίων ή πορτοκαλί τροφίμων 5**

Προέλευση: Φυτικές χρωστικές που υπάρχουν κυρίως στα καρότα, στα πράσινα λαχανικά, στις ντομάτες και στα πορτοκάλια. Μετά την πρόσληψη τους μετατρέπονται από τον οργανισμό σε βιταμίνη Α. Όταν χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα, παρασκευάζονται στην πλειοψηφία τους με εκχύλιση.

Μορφή- Χαρακτηριστικά : Πορτοκαλοκίτρινο χρώμα.

Θα την βρούμε σε προϊόντα :Βούτυρο, μαργαρίνες, κίτρινα και υπόλευκα τυριά, λαχανικά σε ξίδι, άλμη ή λάδι κ.α.

Επιπτώσεις στην υγεία : Δεν υπάρχουν γνωστές αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία .

2.3.7 Ε 104 Κίτρινο κινολίνης

Προέλευση : Συνθετική χρωστική ουσία.

Μορφή - Χαρακτηριστικά :Σκόνη ή κόκκοι κίτρινου χρώματος.

Θα την βρούμε σε προϊόντα :Καραμέλες, μουστάρδες, παγωτά, γλυκά, στιγμιαίες σούπες.

Επιπτώσεις στην υγεία : Από τις μέχρι τώρα έρευνες, δεν παρατηρήθηκαν βλαβερές επιπτώσεις.

2.3.8 Ε 102 Ταρτραζίνη

Προέλευση :Συνθετική χρωστική ουσία (αζώχρωμα).

Μορφή - Χαρακτηριστικά :Σκόνη ή κόκκοι με ανοιχτό πορτοκαλί χρώμα.

Θα την βρούμε σε προϊόντα :Αναψυκτικά, αφρώδη ποτά, κρέμες και σούπες στιγμιαίας παρασκευής σε φακελάκια, πίκλες, αρακά σε κονσέρβα, σάλτσες, μουστάρδα, ζελέ, γλυκά, προϊόντα εκλεκτής αρτοποιίας (π.χ. διάφορα κρουασάν, μπισκότα, κέικ, γκοφρέτες),

Επιπτώσεις στην υγεία : Έχει ενεχοποιηθεί για ανεπιθύμητες ενέργειες σε αλλεργικά και ασθματικά άτομα και κυρίως σε άτομα που είναι ευαίσθητα στην ασπιρίνη.

2.3.9 E 100 Κουρκουμίνη

Προέλευση: Η κουρκουμίνη είναι φυσική χρωστική ουσία που παραλαμβάνεται με ειδική διαδικασία από ένα φυτό που ονομάζεται curcuma longa L (κουρκουμάς).

Μορφή : Πορτοκαλοκίτρινη, κρυσταλλική σκόνη που διαλύεται στο νερό.
Θα την βρούμε σε προϊόντα :Μαργαρίνες, μαρμελάδες, ζελέ, κατεργασμένα τυριά, σκόνη κάρι, παστουρμά (προστίθεται στο εξωτερικό περίβλημα), μουστάρδα, λουκάνικα, αναψυκτικά, συσκευασμένους χυμούς φρούτων μακράς διάρκειας, γλυκά του κουταλιού, παγωτά.

Επιπτώσεις στην υγεία : Από πειράματα που έγιναν σε ζώα δεν έχει αποδειχτεί ότι μπορεί να προκαλέσει τοξικολογικά προβλήματα στις ποσότητες που περιέχεται στα τρόφιμα.

2.3.10 E 150 (α) Απλό καραμελόχρωμα

Προέλευση: Πρόκειται για μια χρωστική ουσία που παρασκευάζεται με ειδική διαδικασία. Για την παρασκευή της χρησιμοποιούνται, μεταξύ άλλων, και διάφοροι υδατάνθρακες του εμπορίου, όπως σιρόπι γλυκόζης, σακχαρόζη κ.λπ. Είναι η χρωστική ουσία που χρησιμοποιείται περισσότερο από τις άλλες. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Ένωση, χρησιμοποιούνται διάφοροι τύποι καραμελοχρώματος.

Χαρακτηριστικά : οι χρωστικές καραμέλας είναι υγρά ή στερεά σώματα, με σκούρο καστανό έως και μαύρο χρώμα.
Θα την βρούμε σε προϊόντα :Ξίδι, ουίσκι, ρούμι, κονιάκ, αρωματισμένα ποτά με βάση το κρασί, λικέρ, μπίρες, μη αλκοολούχα ποτά, ζελέ, λουκάνικα, σάλτσες κ.τ.λ.

Επιπτώσεις στην υγεία : Δεν έχουν παρατηρηθεί τοξικολογικά προβλήματα.

2.3.11 E -142 Πράσινο s ή Πράσινο τροφίμων 4 ή Λαμπρό πράσινο bs

Προέλευση: Συνθετική χρωστική.

Μορφή -χαρακτηριστικά : Σκόνη ή κόκκοι σκούρου μπλε ή σκούρου πράσινου χρώματος.

Θα την βρούμε σε προϊόντα : Φασολάκια και αρακά σε κονσέρβα, λουκάνικα, πατέ, παγωτά, ζαχαρώδη παρασκευάσματα, αρωματισμένα κρασιά.

Επιπτώσεις στην υγεία : Δεν έχουν αναφερθεί αρνητικές επιπτώσεις.

2.3.12 E 141 (i) Σύμπλοκα χαλκού των χλωροφυλλών ή φυσικό πράσινο 3

Προέλευση: Φυσική πράσινη χρωστική ουσία που παράγεται από τη χλωροφύλλη διαφόρων φυτών, όπως του τριφυλλιού και της τσουκνίδας.

Μορφή - Χαρακτηριστικά : Κηρώδες στερεό του οποίου το χρώμα ποικίλλει από κυανό πράσινο έως βαθύ πράσινο.

Θα την βρούμε σε προϊόντα : Λαχανικά διατηρημένα σε ξίδι, άλμη ή λάδι (εκτός από ελιές), μαρμελάδες, ζελέ, παγωτά, στιγμιαίες σούπες, φρούτα σε κονσέρβες, κατεργασμένα τυριά, προϊόντα ζαχαροπλαστικής

Επιπτώσεις στην υγεία : Λαχανικά διατηρημένα σε ξίδι, άλμη ή λάδι (εκτός από ελιές), μαρμελάδες, ζελέ, παγωτά, στιγμιαίες σούπες, φρούτα σε κονσέρβες, κατεργασμένα τυριά, προϊόντα ζαχαροπλαστικής.

2.3.13 E 131 - Μπλε Πατεντέ V ή Μπλε τροφίμων 5

Προέλευση : Συνθετική χρωστική

Μορφή - Χαρακτηριστικά : Σκόνη ή κόκκοι σε χρώμα βαθύ μπλε..

Θα την βρούμε σε προϊόντα : Σάλτσες, στιγμιαίες σούπες, καραμέλες, ζαχαρωτά, προμαγειρεμένα καρκινοειδή.

Επιπτώσεις στην υγεία : Η χρωστική αυτή μπορεί να προκαλέσει αλλεργικές αντιδράσεις που εκδηλώνονται συνήθως με κνησμό και ερεθισμό του δέρματος. Σε σπάνιες

περιπτώσεις είναι δυνατό να προκαλέσει σοβαρές αντιδράσεις, όπως δύσπνοια, οίδημα και ναυτία.

2.3.14 E 129 Allura Red AC ή Κόκκινο τροφίμων

Προέλευση : Συνθετική χρωστική (αζώχρωμα).
Μορφή - Χαρακτηριστικά : Σκόνη ή κόκκοι σε βαθύ κόκκινο χρώμα.

Θα την βρούμε σε προϊόντα : Λουκάνικα προγεύματος, μη αλκοολούχα αρωματισμένα ποτά και ποτά από φρούτα, υποκατάστατα σολομού, υποκατάστατα κρέατος και ψαριού, βασισμένα σε φυτικές πρωτεΐνες, τουρσιά, αρωματισμένα κρασιά

Επιπτώσεις στην υγεία : Στην Ποσότητα που περιέχεται στα τρόφιμα θεωρείται ασφαλές.

2.3.15 E 127 - Ερυθροζίνη

Προέλευση: Συνθετική χρωστική ουσία.
Μορφή - Χαρακτηριστικά : Σκόνη ή κόκκοι κόκκινου χρώματος.

Θα την βρούμε σε προϊόντα : Κονσερβοποιημένα φρούτα όπως είναι τα δαμάσκηνα , κεράσια και φρούτων, γλυκά και μαρμελάδες φράουλας, τριανταφυλλάδα, βυσσινάδα

Επιπτώσεις στην υγεία : Η ερυθροζίνη μπορεί να προκαλέσει φωτοτοξικότητα , αν δηλαδή καταναλώσετε μεγάλες ποσότητες τροφίμων που την περιέχουν και μετά εκτεθείτε στο φως, μπορεί να παρουσιάσετε φωτοευαισθησία.

2.3.17 E 120 - Κοχενίλη ή Καρμινικό οξύ ή Καρμίνες

Προέλευση: Πρόκειται για μια φυσική κόκκινη χρωστική, η οποία παράγεται από το εκχύλισμα αποξηραμένων θηλυκών εντόμων του είδους Dactylopius coccus Casta .

Χρήση: Χρησιμοποιείται κυρίως για το χρωματισμό υγρών.

Μορφή - Χαρακτηριστικά : Το εκχύλισμα κοχενίλης είναι συνήθως βαθύ κόκκινο υγρό, αλλά μπορεί επίσης να αφυδατωθεί κι έτσι να πάρει τη μορφή σκόνης.
Θα την βρούμε σε προϊόντα : Αλκοολούχα ποτά, λουκάνικα, πατέ, παστουρμά (προστίθεται ατο εξωτερικό περίβλημα), παγωτά, προϊόντα εκλεκτής αρτοποιίας (π.χ, διάφορα κρουασάν, μπισκότα, κέικ, γκοφρέτες), στιγμιαίες σούπες σε φακελάκια, γλυκά .
Επιπτώσεις στην υγεία : Καλό είναι να τα αποφεύγουν όσοι είναι ευαίσθητοι στην ασπιρίνη και όσοι υποφέρουν από άσθμα ή αλλεργίες.

2.40 Πίνακας των κυρίων φυτοχημικών χρωστικών ουσιών

Ο ακόλουθος πίνακας δίνει τη φυτοχημική κατηγορία που παρέχει την κύρια πηγή χρωματισμού για τα συγκεκριμένα φρούτα ή τα λαχανικά (Πίνακας 5) (Best Ben, 2002).

ΚΥΡΙΕΣ ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ		
ΧΡΩΜΑ	ΧΡΩΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ	ΦΡΟΥΤΑ Η΄ ΛΑΧΑΝΙΚΑ
ΚΟΚΚΙΝΟ	Anthocyanins	Φράουλες, σμέουρα, κεράσια, βακκίνια, ρόδια, μήλα, κόκκινα σταφύλια
	Lycopene	Τομάτες, ρόδινο γκρέιπφρουτ, καρπούζι
	Betacyanins	Τεύτλα
ΠΟΡΤΟΚΑΛΙ	Beta-carotene	Καρότα, μάγκο, βερίκοκα, καντελούπη, κολοκύθα, γλυκοπατάτα
	Beta-cryptoxanthin	Πορτοκάλι, tangerines
ΜΠΛΕ / ΜΩΒ	Anthocyanins	Βακκίνια, δαμάσκηνα, μελιτζάνα, σταφύλια
ΚΙΤΡΙΝΟ	Lutein, Zeaxantin	Καλαμπόκι, αβοκάντο
	Curcumin	Tumeric (Curry)
ΠΡΑΣΙΝΟ	Chlorophyll	Μπρόκολο, κατσαρό λάχανο, σπανάκι, λάχανο, σπαράγγι, πράσινο τσάι
ΜΑΥΡΟ	Thearubigens	Μαύρο τσάι
	Anthocyanins	Βατόμουρα

Πίνακας 5: Οι κυριότερες φυτοχημικές χρωστικές ουσίες.

3. ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

3.1 ADI (Acceptable Daily Intake)

Ένα σημαντικό εργαλείο για τον νομοθέτη είναι το ADI (Acceptable Daily Intake) ή Αποδεκτή Ημερησία Λήψη. Η τιμή του ADI είναι η μέγιστη μέση ποσότητα ενός προσθέτου που θα καταναλώνει ημερησίως καθ' όλη τη διάρκεια τη ζωής του ένας άνθρωπος δίχως να υποστεί βλάβες στην υγεία του από τη μακροχρόνια κατανάλωση του. Δηλαδή μας δίνει το επίπεδο πέρα από το οποίο θα έχουμε πιθανόν οξύς ή χρόνιες τοξικές αντιδράσεις. Μάλιστα μπορεί κατά καιρούς το άτομο να υπερβαίνει αυτή τη δόση δίχως προβλήματα για την υγεία του, αρκεί στο σύνολο της ζωής του, ο μέσος όρος της ημερήσιας λήψης να μην υπερβαίνει το ADI .

Ο προσδιορισμός του γίνεται αφού πρώτα, μετά από μακροχρόνια πειράματα σε ζώα, καθοριστεί το No Effect Level (Επίπεδο μη Επίδρασης). Η τιμή αυτή είναι η δόση με την οποία ταΐστηκαν τα πειραματόζωα σε καθημερινή βάση δίχως να εκδηλώσουν κάποια ανεπιθύμητη παρενέργεια και η μονάδα της είναι mg/kg σωματικού βάρους. Στησυνέχεια και προκειμένου να καλυφθούν οι ασθενείς και ευαίσθητες ομάδες του πληθυσμού, η τιμή αυτή διαιρείται με ένα παράγοντα ίσο με 100-1000 για να μας δώσει το ADI (ΓεώργιοςΛ. Αργυράκος)

Στους πίνακες όπου δεν έχει καθοριστέι τιμή ADI (not specified) είναι διότι οι συγκεκριμένες ουσίες κρίνονται γενικά ασφαλείς. Τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα για ορισμένα από τα πρόσθετα δεν αφορούν τα μικρά παιδιά, όπου για αυτά τα πρόσθετα έχουν θεσπιστεί διαφορετικά όρια

Στον **πίνακα 6** παρουσιάζονται όλες οι εγκεκριμένες από την Ε.Ε. πρόσθετες ουσίες με τον αριθμό Ε που έχουν, την αγγλική και την ελληνική τους ονομασία, τον χημικό τους τύπο και την τιμή ADI. Στον **πίνακα 7** παρουσιάζονται οι στερεοχημικοί τύποι για όσες ενώσεις ο χημικός τύπος δεν δίνει αρκετές πληροφορίες για τη δομή τους.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. ΕΓΚΕΚΡΙΜΕΝΑ ΑΠΟ ΤΗΝ Ε.Ε. ΠΡΟΣΘΕΤΑ. ΑΡΙΘΜΟΣ Ε, ΟΝΟΜΑΣΙΑ (ΑΓΓΛΙΚΗ, ΕΛΛΗΝΙΚΗ), ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ, ADI				
Αριθμός Ε	**ΟΝΟΜΑΣΙΑ (ΑΓΓΛΙΚΑ)**	**ΟΝΟΜΑΣΙΑ (ΕΛΛΗΝΙΚΑ)**	**ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ**	**ADI (mg/kg βάροςσώματος)**
100	Curcumin	Κουρκουμίνη	i) $C_{21}H_{20}O_6$ ii) $C_{20}H_{18}O_5$ iii) $C_{19}H_{16}O_4$	not specified
101	Riboflavins (i) Riboflavin (ii) Riboflavin-5'-phosphate	Ριβοφλαβίνες(i) Ριβοφλαβίνη(ii) 5' φωσφορικήριβοφλαβίνη	i) $C_{17}H_{20}N_4O_6$ ii)$C_{17}H_{20}N_4NaO_9P \cdot 2H_2O$	not specified
102	Tartrazine	Ταρτραζίνη	$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$	7.5
104	Quinoline Yellow	Κίτρινοτηςκινολίνης	$C_{18}H_9NNa_2O_8S_2$ (κυρίωςσυστατικό)	10.0
110	Sunset Yellow FCF, Orange Yellow S	Κίτρινο Sunset FCF; Κιτρινοπορτοκαλί S	$C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$	2.5
120	Cochineal, Carminic acid, Carmines	Κοχεωίλη, Καρμινικόοξύ, Καρμίνες	$C_{22}H_{20}O_{13}$	5.0
122	Azorubin, Carmoisine	Αζωρουμπίνη, Καρμοϊσίνη	$C_{20}H_{12}N_2Na_2O_7S_2$	4.0
123	Amaranth	Αμαράνθη	$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$	0.8
124	Ponceau 4R, Cochineal Red A	Πονσώ 4R, Ερυθρότηςκοχελίνης A	$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3 \cdot 1.5\ H_2O$	4.0
127	Erythrosine	Ερυθροσίνη	$C_{20}H_6I_4Na_2O_5 \cdot H_2O$	0.1
128	Red 2G	Ερυθρό 2G	$C_{18}H_{13}N_3Na_2O_8S_2$	0.1
129	Allura red AC	Ερυθρό-Allura AC	$C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$	7.0
131	Patent Blue V	Μπλέπατεντέ V	i) ΑλαςΑσβεστίου: $C_{27}H_{31}N_2O_7S_2$½Ca ii) ΑλαςΝατρίου: $C_{27}H_{31}N_2O_7S_2Na$	15.0
132	Indigotine, Indigo Carmine	Ινδικοτίνη, Ινδικοκαρμίνη	$C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$	5.0
133	Brillant Blue FCF	ΛαμπρόΚυανό FCF	$C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$	10.0
140	Chlorophylls and chlorophyllins (i) chlorophylls (ii) chlorophyllins	Χλωροφύλλεςκαιχλωροφυλλίνες	i) Phytyl (132R,17S,18S)-3-(8-ethyl-132-methoxycarbonyl-2,7,12,18-tetramethyl-13'-oxo-3-vinyl-131-132-17,18-tetrahydrocyclopenta [at]-prophylrin- 17-yl)propionate, (Pheophytin a), or as the magnesium complex (Χλωροφύλλη α). Phytyl (132R,17S,18S)-3-(8-ethyl-7-formyl-132-methoxycarbonyl2,12,18-trimethyl-13'-oxo-3-vinyl-131-132-17,18-tetrahydrocyclopenta [at]-prophylrin-17-yl)propionate, (Pheophytin b), or as the magnesium complex (Χλωροφύλλη β).	not specified

141	Copper complexes of chlorophylls and chlorophyllins (i) copper complexes of chlorophylls (ii) copper complexes of chlorophillins	Σύμπλοκατωνχλωροφυλλώνκαιχλωροφυλλινών μεχαλκό	ii)3-(10-Carboxylato-4-ethyl-1,3,5,8-tetramethyl-9-oxo-2-vinylphorbin-7-yl)propionate, copper complex (Copper chlorophyllin a) 3-(10-carboxylato-4-ethyl-3-formyl-1,5,8-trimethyl-9-oxo-2vinylphorbin-7-yl)propionate, copper complex (Copper chlorophyllin b)	15.0
142	Green S	Πράσινο S	$C_{27}H_{25}N_2NaO_7S_2$	5.0
150 α	Caramel (Plain)	Απλό καραμελόχρωμα		not specified
150 β	Caramel (Caustic sulphite)	Καυστικό θειώδες καραμελόχρωμα		200.0
150 γ	Caramel (Ammonia)	Εναμμώνιο καραμελόχρωμα		200.0
150 δ	Caramel (Sulphite ammonia)	Εναμμώνιοθειώδεςκαραμελόχρωμα		200.0
151	Brillant Black BN, Black BN	ΛαμπρόΜαύρο BN, Μαύρο BN	$C_{28}H_{17}N_5Na_4O_{14}S_4$	5.0
153	Vegetable carbon	Φυτικός άνθρακας	C	not specified
154	Brown FK	Καστανό FK	i) $C_{12}H_{11}N_4NaO_3S$ ii) $C_{13}H_{13}N_4NaO_3S$ iii) $C_{18}H_{14}N_6Na_2O_6S_2$ iv) $C_{18}H_{14}N_6Na_2O_6S_2$ v) $C_{19}H_{16}N_6Na_2O6S_2$ vi) $C_{24}H_{17}N_6Na_3O_9S_3$	0.15
155	Brown HT	Καστανό HT	$C_{27}H_{18}N_4Na_2O_9S_2$	3.0
160 α	Carotenes (i) Mixed carotenes (ii) Beta-carotene	Καροτένια(i) Μίγματακαροτενίων(ii) β-καροτένιο	$C_{40}H_{56}$ (ß-καροτίνη)	ii)5
160 β	Anatto, bixin, norbixin	Αννάτο, μπιξίνη, νορμπιξίνη		0.065
160 γ	Paprika extract, capsanthin, capsorubin	Εκχύλισμαπάπρικας, καψανθίνη, καψορουμπίνη	Capsaicin $C_{18}H_{27}NO_3$ Capsanthin $C_{40}H_{56}O_3$ Capsorubin $C_{40}H_{56}O_4$	
160 δ	Lycopene	Λυκοπένιο		not specified
160 ε	Beta-apo-8'-carotenal (C 30)	β-από-8'-καροτενάλη (C30)		5.0
160 στ	Ethyl ester of Beta-apo-8'-carotenic acid (C30)	Αιθυλεστέραςτουβ-από-8' καροτενικούοξέως(C30)	$C_{32}H_{44}O_2$	5.0
161 β	Lutein	Λουτεΐνη	$C_{40}H_{56}O_2$	not specified
161 ζ	Canthaxanthin	Κανθαξανθίνη	$C_{40}H_{52}O_2$	0.03
162	Beetroot Red, betanin	Ερυθράχρωστικήτηςρίζαςτωντεύτλων, βετανίνη	$C_{24}H_{26}N_2O_{13}$	not specified

163	Anthocyanins	Ανθοκυάνες (Ανθοκυανίνες)		not specified
170	Calcium carbonates (i) Calcium carbonate (ii) Calcium hydrogen carbonate	Ανθρακικάάλαταασβεστίουi) Ανθρακικόασβέστιοii) Όξινοανθρακικόασβέστιο	$CaCO_3$	not specified
171	Titanium dioxide	Διοξείδιοτουτιτανίου	TiO_2	not specified
172	Iron oxides and hydroxides	Οξείδιακαιυδροξείδιατουσιδήρου	Οξείδιοτουσιδήρουκίτρινο: $FeO(OH) \cdot xH_2O$ Οξείδιοτουσιδήρουκόκκινο: Fe_2O_3 Οξείδιοτουσιδήρουμαύρο: $FeO \cdot Fe_2O_3$	not specified
173	Aluminum	Αργίλιο (αλουμίνιο)	Al	not specified
174	Silver	Άργυρος		not specified
175	Gold	Χρυσός		not specified
180	Litholrubine BK	Λιθορουμπίνη BK	$C_{18}H_{12}CaN_2O_6S$	1.5
200	Sorbic acid	Σορβικό οξύ	$C_6H_8O_2$	25.0
202	Potassium sorbate	Σορβικό κάλιο	$C_6H_7KO_2$	25.0
203	Calcium sorbate	Σορβικό ασβέστιο	$C_{12}H_{14}CaO_4$	25.0
210	Benzoic acid	Βενζοϊκό οξύ	$C_7H_6O_2$	5.0
211	Sodium benzoate	Βενζοϊκόνάτριο	$C_7H_5NaO_2$	5.0
212	Potassium benzoate	Βενζοϊκόκάλιο	$C_7H_5KO_2 \cdot 3H_2O$	5.0

ΠΙΝΑΚΑΣ 7. ΧΡΩΣΤΙΚΕΣΟΥΣΙΕΣ – ΕΠΙΤΡΕΠΤΕΣΧΡΗΣΕΙΣΚΑΙΜΕΓΙΣΤΑΕΠΙΤΡΕΠΤΑΕΠΙΠΕΔΑ		
Αριθμός Ε	**ΕΠΙΤΡΕΠΤΕΣΧΡΗΣΕΙΣ (ΝΟΜΟΘΕΣΙΑΕ.Ε.)**	**Μέγιστο επιτρεπτό επίπεδο**
100	1. Μηαλκοολούχααρωματισμέναποτάκαιποτάαπόφρούτα2. Σακχαρόπηκταφρούτακαιλαχανικά, Mostarda di Frutta 3. Γλυκάαπόκόκκιναφρούτα4. Ζαχαρώδηπαρασκευάσματα5. Προϊόνταδιακόσμησηςκαιεπικάλυψηςστατρόφιμα6. Προϊόνταεκλεκτήςαρτοποιΐας (π.χ. διάφορακρουασάν, μπισκότα, κέικκαιγκοφρέτες) 7. Παγωτά8. Αρωματισμένολυωμένοτυρί9. Επιδόρπασυμπεριλαμβανομένωντωναρωματισμένωνγαλακτοκομικώνπροϊόντων10. Σάλτσες, αρτύματακαικαρυκεύματα (π.χ. σκόνη curry, Tandoori), τουρσιά, (ενδεχομένωςψιλοκομμένα), Chutney και Picalili 11. Μουστάρδα12. Πολτόςψαριώνκαικαρκινοειδών13. Προμαγειρευμένακαρκινοειδή14. Υποκατάστατασολομού15. Surimi 16. Αυγάψαριών17. Καπνιστόψάρι"Σνακς": αρτυμένακαιξεράμεζεδάκιαμεβάσητηνπατάτα, τασιτηράήτοάμυλο18. αρτυμέναμεζεδάκιαπαραγόμεναμεεξώθησηήδιόγκωση19. άλλεσαρτυμέναμεζεδάκιακαιαρτυμένοιξηροίκαρποίμεπερίβλημα20. Βρώσιμοςφλοιόςτυριούκαιβρώσιμαπεριβλήματα21. Πλήρηπαρασκευάσματαγιατονέλεγχοτουσωματικούβάρουςπουπροορίζονταιναναντικαταστήσουντοσύνολοτηςημερήσιαςπρόσληψηςτροφήςήέναεπιμέρουςγεύμα22. Πλήρηπαρασκευάσματακαισυμπληρώματαδιατροφήςγιαχρήσηυπόιατρικόέλεγχο23. Υγράδιαιτητικάσυμπληρώματα24. Στερεάδιαιτητικάσυμπληρώματα25. Σούπες26. Υποκατάστατακρέατοςκαιψαριούβασισμένασεφυτικέςπρωτεΐνες27. Οινοπνευματώσηποτά (συμπεριλαμβανομένωντωνπροϊόντωνμεκατ' όγκοπεριεκτικότητασεαλκοόληκάτωτου 15%) εκτόςτωναναφερόμενωνστοπαράρτημαIήστοπαράρτημαIIήτηςΟδηγίας 94/36/ΕΚ28. Αρωματισμένοιοίνοι, αρωματισμέναποτάμεβάσητονοίνοκαιαρωματισμένακοκτέιλαμπελοοινικώνπροϊόντων, όπωςαναφέρονταιστονκανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 1601/91, εκτόςαυτώνπουαναφέρονταιστοπαράρτημαIήστοπαράρτημαIIήτηςΟδηγίας 94/36/ΕΚ29. Οίνοιαπόφρούτα (αφρώδειςκαιμη) Μηλίτης (εκτόςτου Cidre bouche) καιαπίτηςΑρωματισμένοιοίνοιαπόφρούτα, αρωματισμένοςμηλίτηςκαιαπίτης	1. 100 mg/l 2. 200 mg/kg 3. 200 mg/kg 4. 300 mg/kg 5. 500 mg/kg 6. 200 mg/kg 7. 150 mg/kg 8. 100 mg/kg 9. 150 mg/kg 10. 500 mg/kg 11. 300 mg/kg 12. 100 mg/kg 13. 250 mg/kg 14. 500 mg/kg 15. 500 mg/kg 16. 300 mg/kg 17. 100 mg/kg 18. 200 mg/kg 19. 100 mg/kg 20. όσοναρκεί21. 50 mg/kg 22. 50 mg/kg 23. 100 mg/l 24. 300 mg/kg 25. 50 mg/kg 26. 100 mg/kg 27. 200 mg/l 28. 200 mg/l 29. 200 mg/l
101		όσον αρκεί
102	βλ. Ε 100	
104	βλ. Ε 100	

110	1. Μηαλκοολούχοαρωματισμέναποτάκαιποτάαπόφρούτα2. Σακχαρόπηκταφρούτακαιλαχανικά, Mostarda di Frutta 3. Γλυκάαπόκόκκιναφρούτα4. Ζαχαρώδηπαρασκευάσματα5. Προϊόνταδιακόσμησηςκαιεπικάλυψηςστατρόφιμα6. Προϊόνταεκλεκτήςαρτοποιΐας (π.χ. διάφορακρουασάν, μπισκότα, κέικκαιγκοφρέτες) 7. Παγωτά8. Αρωματισμένολυωμένοτυρί9. Επιδόρπιασυμπεριλαμβανομένωντωναρωματισμένωνγαλακτοκομικώνπροϊόντων	1. 100 mg/l 2. 200 mg/kg 3. 200 mg/kg 4. 300 mg/kg 5. 500 mg/kg 6. 200 mg/kg 7. 150 mg/kg 8. 100 mg/kg 9. 150 mg/kg

10. Σάλτσες, αρτύματακαικαρυκεύματα (π.χ. σκόνη curry, Tandoori), τουρσιά, (ενδεχομένωςψιλοκομμένα), Chutney και Picalili 11. Μουστάρδα12. Πολτόςψαριώνκαικαρκινοειδών13. Προμαγειρευμένακαρκινοειδή14. Υποκατάστατασολομού15. Surimi 16. Αυγάψαριών17. Καπνιστόψάρι"Σνακς": αρτυμένακαιξεράμεζεδάκιαμεβάσητηνπατάτα, τασιτηράήτοάμυλο18. αρτυμέναμεζεδάκιαπαραγόμεναμεεξώθησηήδιόγκωση19. άλλααρτυμέναμεζεδάκιακαιαρτυμένοιξηροίκαρποίμεπερίβλημα20. Βρώσιμοςφλοιόςτυριούκαιβρώσιμαπεριβλήματα21. Πλήρηπαρασκευάσματαγιατονέλεγχοτουσωματικούβάρουςπουπροορίζονταιναναντικαταστήσουντοσύνολοτηςημερήσιαςπρόσληψηςτροφήςήέναεπιμέρουςγεύμα22. Πλήρηπαρασκευάσματακαισυμπληρώματαδιατροφήςγιαχρήσηυπόιατρικόέλεγχο23. Υγράδιαιτητικάσυμπληρώματα24. Στερεάδιαιτητικάσυμπληρώματα25. Σούπες26. Υποκατάστατακρέατοςκαιψαριούβασισμένασεφυτικέςπρωτεΐνες27. Οινοπνευματώσηποτά (συμπεριλαμβανομένωντωνπροϊόντωνμεκατ' όγκοπεριεκτικότητασεαλκοόληκάτωτου 15%) εκτόςτωναναφερόμενωνστοπαράρτημαIIήστοπαράρτημαIIIτηςΟδηγίας 94/36/ΕΚ28. Αρωματισμένοιοίνοι, αρωματισμέναποτάμεβάσητονοίνοκαιαρωματισμένακοκτέιλαμπελοοινικώνπροϊόντων, όπωςαναφέρονταιστονκανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 1601/91, εκτόςαυτώνπουαναφέρονταιστοπαράρτημαIIήστοπαράρτημαIIIτηςΟδηγίας 94/36/ΕΚ29. Οίνοιαπόφρούτα (αφρώδειςκαιμη) Μηλίτης (εκτόςτου Cidre bouche) καιαπίτηςΑρωματισμένοιοίνοιαπόφρούτα, αρωματισμένοςμηλίτηςκαιαπίτης30. Μηαλκοολούχοαρωματισμέναποτά, παγωτά, επιδόρπια, προϊόνταεκλεκτήςαρτοποιΐαςκαιζαχαροπλαστικής	10. 500 mg/kg 11. 300 mg/kg 12. 100 mg/kg 13. 250 mg/kg 14. 500 mg/kg 15. 500 mg/kg 16. 300 mg/kg 17. 100 mg/kg 18. 200 mg/kg 19. 100 mg/kg 20. όσοναρκεί21. 50 mg/kg 22. 50 mg/kg 23. 100 mg/l 24. 300 mg/kg 25. 50 mg/kg 26. 100 mg/kg 27. 200 mg/l 28. 200 mg/l 29. 200 mg/l 30. 50 mg/kg ή 50 mg/l
βλ. Ε 100	

122	βλ. Ε 110	
123	1. Οίνοιαπεριτίφ, οινοπνευματώδηποτάσυμπεριλαμβανομένωντωνπροϊόντωνμεκατ' όγκοπεριεκτικότητασεαλκοόληκάτωτου 15% 2. Αυγάψαριών	1. 30 mg/l 2. 30 mg/kg
124	βλ. Ε 110	

127	1. Κεράσιακοκτέιλκαισαικχαρόπηκτακεράσια2. Κεράσια Bigarreaux σεσιρόπικαισεκοκτέιλ	1. 200 mg/kg 2. 150 mg/kg
128	Λουκάνικαπρογεύματοςμεπερκεκτικότητασεσιτηράτουλάχιστον 6% Κιμάςγιαμπιφτέκιαμεπερκεκτικότητασελαχανικάκαι/ήσιτηράτουλάχιστον 4%	20 mg/kg
129	βλ. Ε 100	
131	βλ. Ε 100	
132	βλ. Ε 100	
133	βλ. Ε 100	
140		όσον αρκεί
141		όσον αρκεί
142	βλ. Ε 100	
150		όσον αρκεί
150α		όσον αρκεί
150β		όσον αρκεί
150γ		όσον αρκεί
151	βλ. Ε 100	
153		όσον αρκεί
154	Kippers	20 mg/kg
155	βλ. Ε 110	
160α		ii) όσοναρκεί

4. ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΟΔΟΣ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΩΝ

4.1 Η ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΤΩΝ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΩΝ

4.1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα καροτενοειδή αποτελούν μια σημαντική ιατρική και βιοτεχνολογική κατηγορία φυσικών χρωστικών ουσιών που παράγονται από πολλούς μικροοργανισμούς και φυτά. Αυτές οι δομικές χρωστικές ουσίες έχουν ποικίλες βιολογικές λειτουργίες, όπως ο χαρακτηριστικός χρωματισμός διαφόρων ειδών, η προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία, απορρόφηση ηλιακής ακτινοβολίας και η χρησιμότητα τους ως πρόδρομες ενώσεις για πολλές ορμόνες (Vershinin, 1999). Παραδοσιακά τα καροτενοειδή έχουν χρησιμοποιηθεί στη διατροφή ενώ εμπορικά χρησιμοποιούνται ως χρωστικές ουσίες τροφίμων, συμπληρώματα ζωικών τροφών και πιο πρόσφατα, σε καλλυντικά και φαρμακευτικά παρασκευάσματα. Έρευνες απέδειξαν ότι τα καροτενοειδή παρέχουν ευεργετικές και φαρμακευτικές ιδιότητες στην υγεία μας. Η παραγωγή των καροτενοειδών από βιολογικές πηγές είναι ένας τομέας εντατικής έρευνας. Λόγω της έμφυτης βιοσυνθετικής ικανότητας των διαφορετικών οργανισμών έχει γίνει μια ιδιαίτερη προσπάθεια για τη δημιουργία συστημάτων με σκοπό την εμπορική παραγωγή των καροτενοειδών από βιολογικούς ξενιστές. Προς το παρόν, μόνο μερικά καροτενοειδή όπως το β–καροτένιο, η λυκοπαΐνη, η ασταξανθίνη, η κανθαξανθίνη, η καπσανθίνη, η λουτεΐνη, η annatto, το β-apo-8-carotenal, το β-apo-8-carotenal-εστέρας μπορούν να παραχθούν εμπορικά με χημική σύνθεση, με ζύμωση ή με απομόνωση μικρού ποσοστού γενετικού υλικού από άφθονες φυσικές πηγές (Lee P.C. και C. Schmidt-Dannert, 2002).

Μέχρι σήμερα αυτή η ερευνητική προσπάθεια έχει στεφθεί με οριακή μόνο επιτυχία. Με τις νέες τεχνικές της βιοεπεξεργασίας και της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA η ανάπτυξη διαφόρων βιολογικών συστημάτων για τη παραγωγή καροτενοειδών είναι σε εξέλιξη. Η διαθεσιμότητα ενός αξιοσημείωτου αριθμού μικροβιακών και φυτικών καροτενοειδών που μπορούν να εκφραστούν λειτουργικά σε ετερόλογους ξενιστές, ανοίγει το δρόμο για τη ετερόλογη παραγωγή καροτενοειδών. Η απαίτηση και η αγορά για τα καροτενοειδή αυξήθηκε τόσο πολύ λόγω της ανακάλυψης ότι διαθέτουν αντικαρκινικές ιδιότητες και διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στη πρόληψη των χρόνιων παθήσεων

(Lee P.C.και C. Schmidt-Dannert, 2002). Ενδεικτικά η παγκόσμια αγορά το 1999 για τα καροτενοειδή ήταν 750–800 εκατομμύρια δολάρια, ενώ το 2005 έφτασε γύρω 1 δισεκατομμύριο δολάρια (Business Communications Co. 2000).

4.1.2 ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΩΝ

Τα καροτενοειδή είναι ενώσεις που περιέχουν στο μόριο τους 40 άτομα άνθρακα και συνεπώς προέρχονται από οκτώ ισοπρενικές ομάδες. Ο σχηματισμός του σκελετού των καροτενίων προέρχεται από τη συμπύκνωσή **'ουρά με ουρά'** δύο μορίων πυροφωσφορικού γερανυλο-γερανυλίου, οπότε σχηματίζεται το φυτοένιο το οποίο θεωρείται πρόδρομη ένωση όλων των καροτενοειδών. Με βάση το φυτοένιο, τα καροτενοειδή σχηματίζονται με αφυδρογόνωση και κυκλοποίηση των ακραίων ομάδων. Με τη διαδικασία αυτή από το φυτοένιο σχηματίζεται η λυκοπαΐνη η οποία αποτελεί τη κόκκινη χρωστική της τομάτας.

Περαιτέρω αφυδρογόνωση και κυκλοποίηση των ακραίων ομάδων καταλήγει στο σχηματισμό των καροτενίων (Καράταγλης, 1994). Η βιοχημική ανάλυση της βιοσύνθεσης των καροτενοειδών, περιλαμβάνει τη μοριακή γενετική και πιο πρόσφατα τη γονιδιωματική γενετική (genomics), η οποία οδήγησε στη διαλεύκανση των κύριων μεταβολικών οδών της σύνθεσης των ακυκλικών και κυκλικών καροτενοειδών σε μοριακό επίπεδο (P.C. Lee και C. Schmidt-Dannert, 2002). Υπάρχουν περισσότερα από 150 γονίδια που κωδικοποιούν 27 διαφορετικά καροτενοειδή (crt) και τα ένζυμα αυτών έχουν κλωνοποιηθεί από βακτήρια, φυτά, άλγη και μύκητες (**Πίνακας 8**).

Έκτος από λίγες εξαιρέσεις τα γονίδια των καροτενοειδών μπορούν να εκφραστούν λειτουργικά σε ποικίλους ξενιστές και τα ένζυμα από απομακρυσμένα φυλογενετικά είδη μπορούν να ανασυσταθούν λειτουργικά στα κύτταρα με σκοπό τη βιοσύνθεση των καροτενοειδών που λαμβάνουν χώρα σε αυτά (Lee P.C.και C. Schmidt-Dannert, 2002). Οι γνώσεις είναι ελάχιστες για τη βιοσύνθεση των καροτενοειδών που περιέχουν τις πρόσθετες τροποποιήσεις των ομάδων. Η αλυσίδα πολυενίου και οι μεθυλικές ομάδες συμβάλλουν στη τεράστια δομική ποικιλομορφία των καροτενοειδών. Μέχρι στιγμής, έχουν απομονωθεί και χαρακτηριστεί εκατοντάδες μεμονωμένα καροτενοειδή και η προσπάθεια συνεχίζεται.

Πίνακας 8: Επιλογή γονιδίων που κωδικοποιούν τα βιοσυνθετικά ένζυμα των καροτενοειδών.

Enzyme	Gene	Organism	Accession number
Formation of carotenoid backbone			
Dehydrosqualene synthase[a]	*crtM*	*Staphylococcus aureus*	X73889
GGPP synthase	*crtE*	*Erwinia uredevora*	D90087
	crtE	*Synechocystis* PCC6803	D90899
	al-3	*Neurospora crassa*	X53979
	gps	*Arabidopsis thaliana*	L25813
Phytoene synthase	*crtB*	*Agrobacterium aurantiacum*	D58420
	crtB	*Synechocystis* PCC6803	X69172
	crtB	*Brevibacterium linens*	T51118
	al-2	*Neurospora crassa*	L27652
	psy	*Arabidopsis thaliana*	L25812
Formation of acyclic carotenoids and their derivatives			
Dehydrosqualene desaturase[a]	*crtN*	*Staphylococcus aureus*	X73889
Phytoene desaturase			
Two desaturations	*crtP*	*Synechocystis* PCC6803	X62574
	pds1	*Arabidopsis thaliana*	L16237
Three desaturations	*crtI*	*Rhodobacter capsulatus*	Z11165
Four desaturations	*crtI*	*Erwinia uredevora*	D90087
Up to five desaturations	*al-1*	*Neurospora crassa*	M57465
ζ-Carotene desaturase	*crtQ*	*Synechocystis* PCC6803	X62574
	zds	*Capsicum annuum*	X68058
Hydroxyneurosporene synthase	*crtC*	*Rhodobacter sphaeroides*	X82458
	crtC	*Rubrivivax gelatum*	U73944
Methoxyneurosporene desaturase	*crtD*	*Rhodobacter capsulatus*	Z11165
	crtD	*Rubrivivax gelatum*	U73944
Hydroxyneurosporene-O-methyltransferase	*crtF*	*Rhodobacter sphaeroides*	X82458
Spheroidene monooxygenase	*crtA*	*Rhodobacter capsulatus*	Z11165
Lycopene elongase[b]	*crtEb*	*Corynebacterium glutamicum*	AF159510
Formation of cyclic carotenoids and their derivatives			
Lycopene-β-cyclase	*crtY*	*Erwinia uredevora*	D90087
	crtY	*Synechocystis* PCC6803	X74599
	crtL-b	*Arabidopsis thaliana*	Z29211
Lycopene-ε-cyclase	*crtL-e*	*Arabidopsis thaliana*	U50738
β-Carotene hydroxylase	*crtZ*	*Agrobacterium aurantiacum*	D58420
	crtR-b1	*Capsicum annuum*	Y09225
Zeaxanthin glucosylase	*crtX*	*Erwinia herbicola* Ehol	M87280
β-Carotene C(4) oxygenase	*crtW*	*Agrobacterium aurantiacum*	D58420
	crtO	*Synechocystis* PCC6803	D64004
	crtW	*Alcaligenes* PC1	D58422
	crtO/bkt	*Haematococcus pluvialis*	X86782/D45881
Zeaxanthin epoxidase	*zep1*	*Arabidopsis thaliana*	T45502
Violaxanthin deepoxidase	*vde1*	*Arabidopsis thaliana*	N37612
Violaxanthin cleavage	*vp14*	*Zea mays*	U95953
Capsanthin/capsorubin synthase	*ccs*	*Capsicum annuum*	X77289
β-Carotene desaturase	*crtU*	*Streptomyces griseus*	X95596
	crtU	*Brevibacterium linen*	AAF65586
Decaprenoxanthin synthase[b]	*crtYe/Yf*	*Corynebacterium glutamicum*	AF159510

4.1.2 α. ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΤΕΡΠΕΝΙΩΝ

Η βιοσύνθεση των τερπενίων αρχίζει με το Ακετυλο–CoA και προχωράει μέσω του μονοπατιού του μεβαλονικού οξέος . Σ' αυτή τη διαδικασία, 3 μόρια του Ακετυλο–CoA ενώνονται σταδιακά, για να σχηματίσουν το μεβαλονικό οξύ με 6 άτομα άνθρακα. Η ένωση

Πίνακας 8: Επιλογή γονιδίων που κωδικοποιούν τα βιοσυνθετικά ένζυμα των καροτενοειδών.

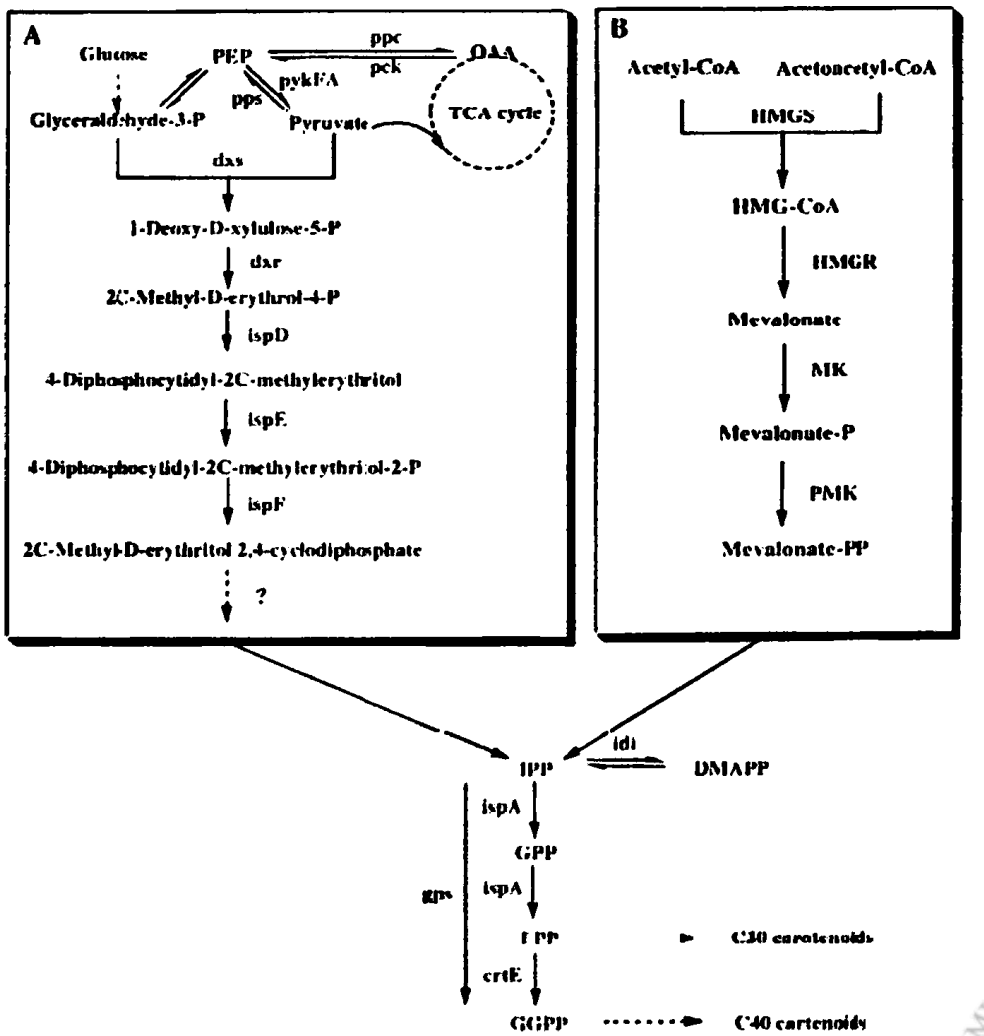
Enzyme	Gene	Organism	Accession number
Formation of carotenoid backbone			
Dehydrosqualene synthase[a]	*crtM*	*Staphylococcus aureus*	X73889
GGPP synthase	*crtE*	*Erwinia uredevora*	D90087
	crtE	*Synechocystis* PCC6803	D90899
	al-3	*Neurospora crassa*	X53979
	gps	*Arabidopsis thaliana*	L25813
Phytoene synthase	*crtB*	*Agrobacterium aurantiacum*	D58420
	crtB	*Synechocystis* PCC6803	X69172
	crtB	*Brevibacterium linens*	T51118
	al-2	*Neurospora crassa*	L27652
	psy	*Arabidopsis thaliana*	L25812
Formation of acyclic carotenoids and their derivatives			
Dehydrosqualene desaturase[a]	*crtN*	*Staphylococcus aureus*	X73889
Phytoene desaturase			
Two desaturations	*crtP*	*Synechocystis* PCC6803	X62574
	pds1	*Arabidopsis thaliana*	L16237
Three desaturations	*crtI*	*Rhodobacter capsulatus*	Z11165
Four desaturations	*crtI*	*Erwinia uredevora*	D90087
Up to five desaturations	*al-1*	*Neurospora crassa*	M57465
ζ-Carotene desaturase	*crtQ*	*Synechocystis* PCC6803	X62574
	zds	*Capsicum annuum*	X68058
Hydroxyneurosporene synthase	*crtC*	*Rhodobacter sphaeroides*	X82458
	crtC	*Rubrivivax gelatum*	U73944
Methoxyneurosporene desaturase	*crtD*	*Rhodobacter capsulatus*	Z11165
	crtD	*Rubrivivax gelatum*	U73944
Hydroxyneurosporene-O-methyltransferase	*crtF*	*Rhodobacter sphaeroides*	X82458
Spheroidene monooxygenase	*crtA*	*Rhodobacter capsulatus*	Z11165
Lycopene elongase[b]	*crtEb*	*Corynebacterium glutamicum*	AF159510
Formation of cyclic carotenoids and their derivatives			
Lycopene-β-cyclase	*crtY*	*Erwinia uredevora*	D90087
	crtY	*Synechocystis* PCC6803	X74599
	crtL-b	*Arabidopsis thaliana*	Z29211
Lycopene-ε-cyclase	*crtL-e*	*Arabidopsis thaliana*	U50738
β-Carotene hydroxylase	*crtZ*	*Agrobacterium aurantiacum*	D58420
	crtR-b1	*Capsicum annuum*	Y09225
Zeaxanthin glucosylase	*crtX*	*Erwinia herbicola* EhoI	M87280
β-Carotene C(4) oxygenase	*crtW*	*Agrobacterium aurantiacum*	D58420
	crtO	*Synechocystis* PCC6803	D64004
	crtW	*Alcaligenes* PC1	D58422
	crtO/bkt	*Haematococcus pluvialis*	X86782/D45881
Zeaxanthin epoxidase	*zep1*	*Arabidopsis thaliana*	T45502
Violaxanthin deepoxidase	*vde1*	*Arabidopsis thaliana*	N37612
Violaxanthin cleavage	*vp14*	*Zea mays*	U95953
Capsanthin/capsorubin synthase	*ccs*	*Capsicum annuum*	X77289
β-Carotene desaturase	*crtU*	*Streptomyces griseus*	X95596
	crtU	*Brevibacterium linen*	AAF65586
Decaprenoxanthin synthase[b]	*crtYe/Yf*	*Corynebacterium glutamicum*	AF159510

4.1.2 α. ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΤΕΡΠΕΝΙΩΝ

Η βιοσύνθεση των τερπενίων αρχίζει με το Ακετυλο–CoA και προχωράει μέσω του μονοπατιού του μεβαλονικού οξέος . Σ' αυτή τη διαδικασία, 3 μόρια του Ακετυλο–CoA ενώνονται σταδιακά, για να σχηματίσουν το μεβαλονικό οξύ με 6 άτομα άνθρακα. Η ένωση

αυτή πυροφωσφορυλιώνεται και στη συνέχεια αποκαρβοξυλιώνεται και αφυδατώνεται για να σχηματίσει το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο (IPP).

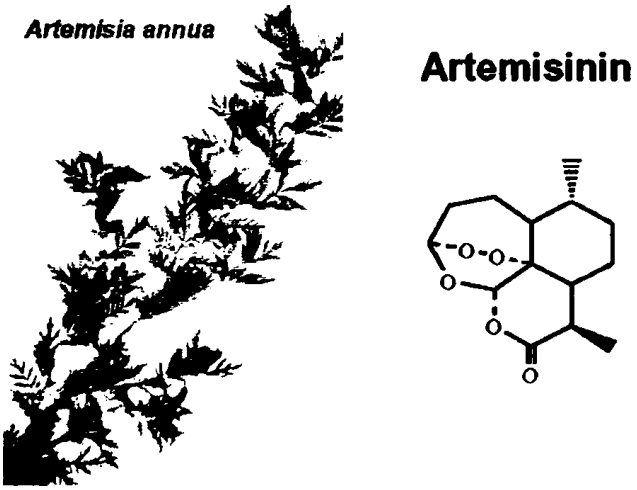
Το τελευταίο μαζί με το ισομερές του, που είναι το πυροφωσφορικό διμεθυλοαλύλιο (DMAPP) είναι ενεργά C_5 δομικά συστατικά των τερπενίων. Στα κύτταρα, τα δύο αυτά συστατικά βρίσκονται σε ισορροπία και συνδυάζονται για να σχηματίσουν τις διάφορες ομάδες των τερπενοειδών με άτομα άνθρακα πολλαπλάσια του πέντε. Το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο και το πυροφωσφορικό διμεθυλοαλύλιο αντιδρούν και δίνουν το πυροφωσφορικό γερανύλιο (GPP) που αποτελεί την πρόδρομο μορφή σχεδόν όλων των μονοτερπενίων με 10 άτομα C. Στη συνέχεια το πυροφωσφορικό γερανύλιο μπορεί να συνδεθεί με ένα άλλο μόριο πυροφωσφορικού ισοπεντενυλίου για να δώσει το πυροφωσφορικό φαρνεζύλιο (FPP) (C_{15}), την πρόδρομη μορφή σχεδόν όλων των σεσκιτερπενίων. Το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο (IPP) είναι η πρόδρομη μορφή για τη παραγωγή καροτενοειδών σε φυτά, ζώα και μύκητες (**Εικόνα 22**) (Ρουμπελάκη, 2003).



Εικόνα 22: Βιοσύνθεση του ισοπρενίου ή τερπενίου με το μη μεβαλονικό (A) και το μεβαλονικό μονοπάτι (B).

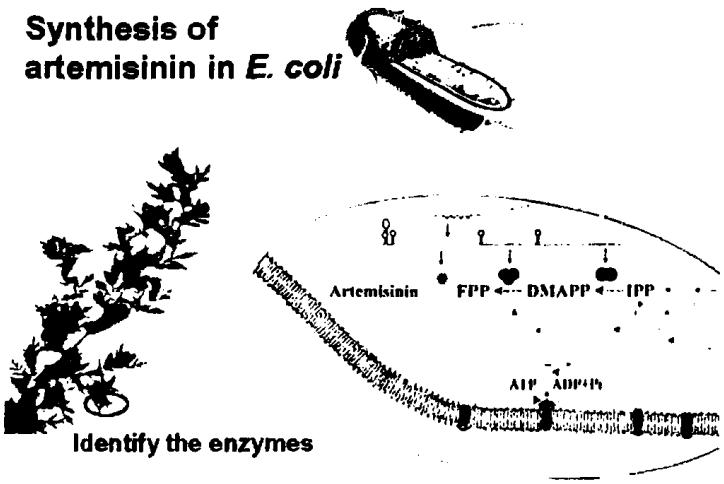
Εκτός από τα φυτά η βιοσύνθεση των τερπενίων μπορεί να πραγματοποιηθεί και στο βακτήριο E. coli. Το E. coli μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή του amorpha-4,11-diene. Το Amorphadiene είναι σεσκιτερπένιο, πρόδρομη ένωση για την παραγωγή artemisinin. Η artemisinin είναι ένα φυσικό προϊόν και χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση της ελονοσίας και απομονώθηκε πρώτα από την Artemisia annu (**Εικόνα 23, 24**). Η εμπορική παραγωγή του artemisinin στηρίζεται αυτή την περίοδο στην εξαγωγή και τον καθαρισμό της από το φυτικό ιστό και όπως αναμενόταν, οι παραγωγές είναι χαμηλές. Με τη βοήθεια του E. coli έγινε εφικτό η αύξηση της παραγωγής της. Υπάρχουν δύο βιοσυνθετικά μονοπάτια ισοπρενίων που συνθέτουν τα πρόδρομα, πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο (IPP) και το ισομερές του πυροφωσφορικό διμεθυλαλύλιο (DMAPP) (Vincent et.al.,2003).

Εικόνα 23: Αριστερά :Αρτεμίσια, Δεξιά Χημικός τύπος της artemisinin.



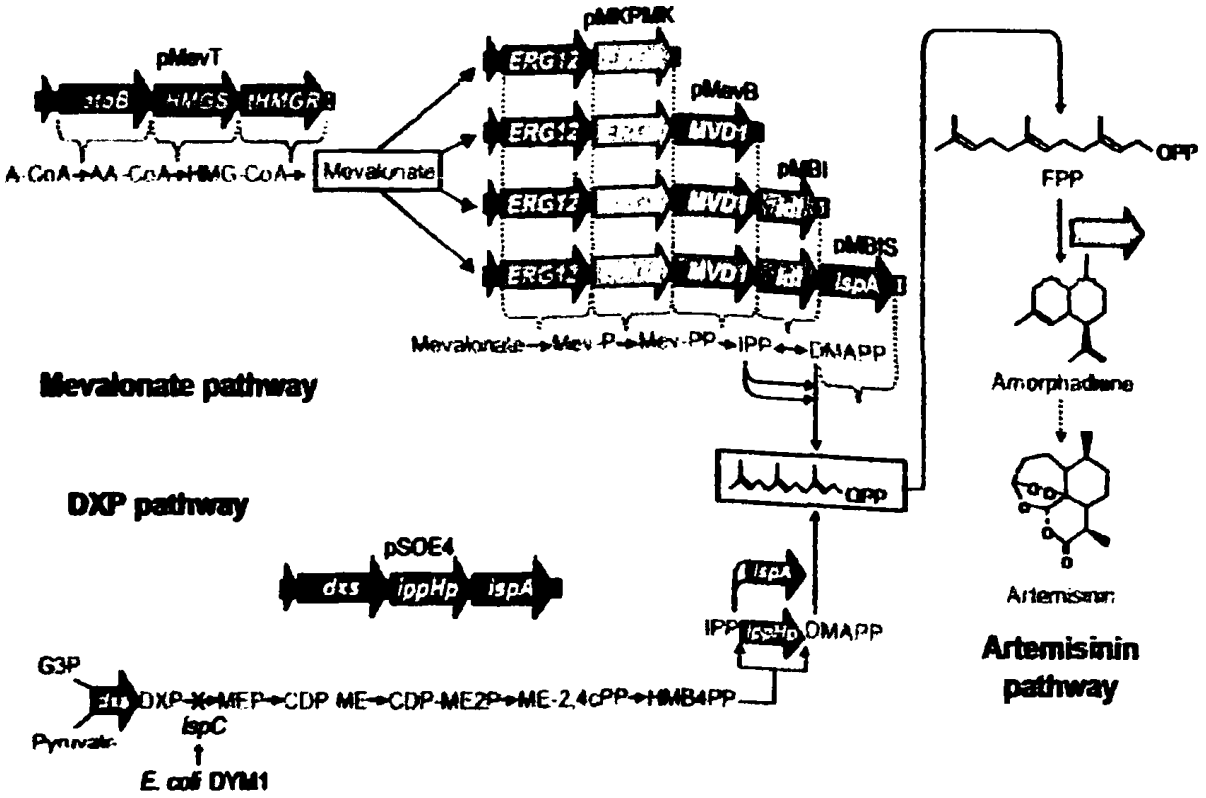
Οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί χρησιμοποιούν το μεβαλονικό μονοπάτι (MEV) για τη σύνθεση των ισοπρενίων για τη μετατροπή του Ακετυλο-CoA σε IPP το οποίο στην συνέχεια ισομερειώνεται σε DMAPP. Τα φυτά χρησιμοποιούν το μεβαλονικό και το μη- μεβαλονικό μονοπάτι (MEV) ή το deoxyxylulose 5-phosphate (DXP), για τη σύνθεση ισοπρενίων. Οι προκαρυωτικοί οργανισμοί με μερικές εξαιρέσεις, χρησιμοποιούν το μονοπάτι του DXP στα προϊόντα IPP και DMAPP χωριστά (**Εικόνα 24**). Τα IPP και DMAPP είναι πρόδρομες ενώσεις για την πρενυλιώση του tRNAs και τη σύνθεση πυροφωσφορικού φαρνεζύλιο (FPP), που χρησιμοποιείται για τη βιοσύνθεση κινόνης και κυτταρικών τοιχωμάτων στο E. coli (Vincent et.al.,2003) .

Εικόνα 24: Η σύνθεση της artemisinin στο E.coli.



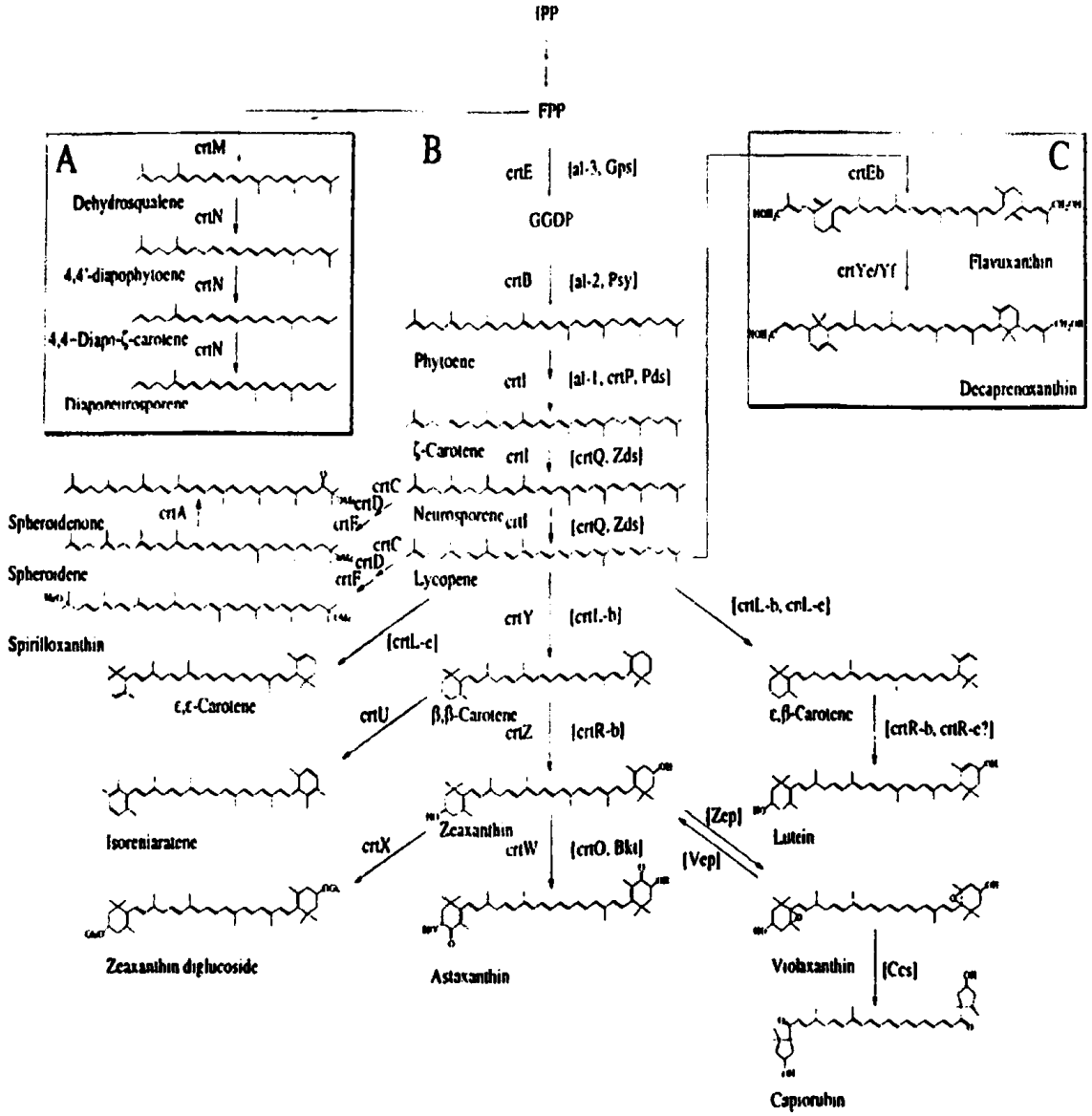
Η αύξηση των glyceraldehyde-3-phosphate, pyruvate, 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase (DXS; που κωδικοποιείται από το γονίδιο dxs) και IPP (κωδικοποιείται από το idi), κατευθύνει την αυξανόμενη συγκέντρωση καροτενοειδών στο κύτταρο. Αν και σημειώθηκαν σημαντικές βελτιώσεις στην παραγωγή ισοπρενίων, αυτή η προσέγγιση έπασχε πιθανότατα από τους περιορισμούς των μηχανισμών ελέγχου του ξενιστή. Αυτό ξεπεράστηκε με την αύξηση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης του υποστρώματος FPP που παρέχεται στο ένζυμο synthase amorphadiene. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τα ένζυμα βιοσύνθεσης του ισοπρενίου με το μεταβολικό και το μη μεταβολικό μονοπάτι από το S. cerevisiae συνδυάστηκαν μέσα σε οπερόνια και εκφράστηκαν στο E.coli (Vincent et.al.,2003).

Διαπιστώθηκε ότι η έκφραση αυτής της ετερόλογης έκφρασης στο E.coli οδήγησε σε αφθονία προδρόμων ισοπρενίων, τα κύτταρα είτε έπαψαν να αυξάνονται είτε αλλοιωνόντουσαν για να υπερνικήσουν την τοξικότητα. Το E. coli μπορεί να παράγει και να συνθέτει FPP με την βοήθεια των γονιδίων ispA, crtE και al-3 (Πίνακας 9). Η Erwinia uredevora μετατρέπει το FPP σε GGPP με το crtE, ενώ το GGPP μπορεί να συντεθεί από το Archaeoglobus fulgidus με το γονίδιο gps (Lee P.C. και C. Schmidt-Dannert, 2002).



Εικόνα 25: Η παραγωγή amorphadiene δια μέσου του DXS, βιοσυνθεσή του ισοπρενίου μέσου του μεβαλονικού μονοπατιού και απεικόνιση του συνθετικού οπερονίου.

Ομοίως, μπορεί να συντεθεί το ένζυμο dehydrosqualene synthase με το γονίδιο crtM από το βακτήριο Staphylococcus aureus (Lee P.C. και C. Schmidt-Dannert, 2002). Τα διάφορα κλωνοποιημένα γονίδια του φυτοενίου όταν εισαχθούν σε αυτό δύο, τρεις, τέσσερις ή πέντε διπλοί δεσμοί παράγουν τη ζ-καροτίνη στα φυτά, στα κυανοβακτήρια και στα άλγη. Με τον ίδιο τρόπο παράγεται και η νευροσπορένη από Rhodobacter και η λυκοπαΐνη που περιέχεται στους περισσότερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς και στους μύκητες (Lee P.C.και C. Schmidt-Dannert, 2002). Πρόσφατα ένα νέο γονίδιο κωδικοποιεί τη παραγωγή της λυκοπαΐνης με τη βοήθεια του γονιδίου crtEb από το Corynebacterium glutamicum, το οποίο καταλύει τη συμπύκνωση ενός μορίου DMAPP που έχει σαν αποτέλεσμα η λυκοπαΐνη να παράγει τη φλαβοξανθίνη που περιέχει C_{50} (Lee P.C.και C. Schmidt-Dannert, 2002) **(Εικόνα 25).**



Εικόνα 26: Η βιοσύνθεση των καροτενοειδών σε φυτά και μικροοργανισμούς. Βιοσυνθετικά μονοπάτια των καροτενοειδών C30, C40 και C50 σε φυτά και μικροοργανισμούς από τους οποίους τα ένζυμα έχουν κλωνοποιηθεί. Παρουσιάζονται τα τελικά προϊόντα των βιοσυνθετικών μονοπατιών. Τα ένζυμα από τα φυτά, τα άλγη και τα κυανοβακτήρια δίνονται σε παρένθεση.

4.1.3 ΧΗΜΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΩΝ

Τα καροτενοειδή είναι ενδοκυτταρικά συστατικά και δεν μπορούν να εκκριθούν στο μέσο μιας ζύμωσης. Υπάρχουν βασικές αρχές αυτής της φυσιολογικής κατάστασης. Η βασική παραγωγικότητα για τη βιολογική παραγωγή καροτενοειδούς είναι το κόστος παραγωγής βιομάζας, η συγκέντρωση του καροτενοειδούς μέσα στο κύτταρο και η μεταβολική δραστηριότητα των κυττάρων που παράγουν τα καροτενοειδή.

Περαιτέρω, απαιτείται ιδιαίτερη μεταχείριση εάν χρειάζεται καθαρισμό και οι δαπάνες της επεξεργασίας είναι υψηλές.

Οι στρατηγικές για τη παραγωγή καροτενοειδών στα βιολογικά συστήματα πρέπει να λάβουν υπόψη τους βιοχημικούς και φυσιολογικούς περιορισμούς του συστήματος τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα κάθε μεθόδου. Πολλές διαδικασίες έχουν αναπτυχθεί για τη χρησιμοποίηση βιολογικής παραγωγής ως τρόπο παραγωγής ποικίλων προϊόντων, συμπεριλαμβανομένων των ενζύμων, τις θεραπευτικές πρωτεΐνες, τα αμινοξέα και πολλές άλλες ενώσεις. Αυτές οι υπάρχουσες διαδικασίες χρησιμοποιούν τα κύτταρα των ξενιστών ως χημικό αντιδραστήρα.

Το υπό μελέτη προϊόν παράγεται συχνά στα συστήματα ζύμωσης, και στις περισσότερες περιπτώσεις εκκρίνεται στο μέσο παραγωγής. Η έκκριση στο μέσο είναι βασικός παράγοντας στην επιτυχία των διαδικασιών για τους ακόλουθους λόγους:

- Τα κύτταρα δεν συσσωρεύουν μεγάλα ποσά του προϊόντος. Οι υψηλές συγκεντρώσεις του προϊόντος στο κύτταρο μπορούν να οδηγήσουν σε μια αρνητική ανατροφοδότηση των ενζύμων που είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση του προϊόντος. Επιπλέον οι υψηλές συγκεντρώσεις του προϊόντος στο κύτταρο μπορούν να είναι τοξικές, με συνέπεια τη μείωση του μεταβολισμού ή τη βιωσιμότητα των κυττάρων.
- Εάν το προϊόν απαιτεί περαιτέρω επεξεργασία και καθαρισμό, το κόστος του καθαρισμού είναι χαμηλότερο όταν το προϊόν συσσωρεύεται στο μέσο καλλιέργειας παρά μέσα στα κύτταρα.

Η παραγωγικότητα της σύνθεσης σε αυτές τις διαδικασίες εξαρτάται από τη μεταβολική δραστηριότητα των κυττάρων και το κόστος παραγωγής βιομάζας. Αυτό όμως, δεν αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στην παραγωγικότητα και στο κόστος διαδικασίας (Ausich R.L., 1997).

4.1.4 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΩΝ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΩΝ

ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ: Στη φύση υπάρχουν πάνω από 600 διαφορετικά είδη καροτενοειδών, με ευρύ φάσμα βιοσυνθετικής ικανότητας. Ο κλασσικός τρόπος σύνθεσης για τη παραγωγή των καροτενοειδών είναι η χημική σύνθεση. Επίσης χρησιμοποιείται και η σύγχρονη τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA. Επειδή τα χαρακτηριστικά της βιοσύνθεσης των καροτενοειδών είναι γνωστά, μπορούμε να βιοσυνθέσουμε ένα καροτενοειδές και να το χρησιμοποιήσουμε για τη δημιουργία των υπολοίπων. Με τη βιολογική παραγωγή, εμφανίζονται και παράγονται μόνο τα φυσικά στερεοϊσομερή. Υπάρχουν πολλά πλεονεκτήματα της χημικής σύνθεσης για την παραγωγή καροτενοειδών. Οι χημικές μέθοδοι παράγουν καροτενοειδή εξαιρετικής καθαρότητας και συνοχής και το κόστος παραγωγής είναι αρκετά χαμηλό. Επιπλέον παράγονται νέες ενώσεις από τα πρόδρομα βιοσυνθετικά μονοπάτια (Ausich R.L., 1997).

ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ: Όπως με οποιαδήποτε τεχνολογία υπάρχουν επίσης και μειονεκτήματα για τη βιοσύνθεση των καροτενοειδών. Μίγματα καροτενοειδών παράγονται συχνά στα βιολογικά συστήματα και απαιτούν την περαιτέρω επεξεργασία και καθαρισμό. Σε πολλές περιπτώσεις που η τεχνολογία είναι νέα απαιτείται ιδιαίτερη έρευνα για τον καθαρισμό τους, και το γενικό κόστος παραγωγής είναι υψηλότερο από της χημικής σύνθεσης. Η σύνθεση ορισμένων καροτενοειδών είναι πολύ σύνθετη. Η γνώση και η τεχνολογία που αναπτύσσονται για τη σύνθεση ενός καροτενοειδούς ίσως ενισχύσει τη σύνθεση άλλων καροτενοειδών, αλλά συχνά η σύνθεση ενός νέου καροτενοειδούς απαιτεί ανάπτυξη μιας νέας χημικής διαδικασίας. Τέλος, η χημική σύνθεση παράγει μίγματα στερεοϊσομερών, μερικά από τα οποία ίσως να μην είναι ενεργά όπως συμβαίνει στα φυσικά ισομερή καροτενοειδή, ίσως να μην είναι επιθυμητό για ευρεία κατανάλωση, ή μπορεί να έχει ανεπιθύμητες παρενέργειες (Ausich R.L., 1997).

4.1.5 ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΩΝ ΜΕ ΤΗ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ

Τα περισσότερα γονίδια καροτενοειδών και ομάδες γονιδίων έχουν κλωνοποιηθεί και έχουν εκφραστεί σε γενετικά μη-καροτινογενείς ξενιστές. Υπάρχουν διάφορες εμπορικές διαδικασίες για τη Ν παραγωγή καροτενοειδών για ανθρώπινη και ζωική κατανάλωση. Διάφορες ερευνητικές ομάδες έχουν μελετήσει ποικίλους οργανισμούς και συστήματα για να παράγουν τα διάφορα καροτενοειδή. Υπάρχουν διάφορες εμπορικές διαδικασίες που χρησιμοποιούνται αυτήν τη περίοδο για να παράγουν τα καροτενοειδή για ανθρώπινη καθώς επίσης και για ζωική κατανάλωση. Η παραγωγή β-καροτένιου από τα άλγη Dunaliella sp. είναι μια καλά αναπτυγμένη τεχνολογία. Τα μη κυψελοειδή άλγη στερούνται κυτταρικού τοιχώματος και παράγουν υψηλά επίπεδα β-καροτίνης όταν αναπτύσσονται υπό υψηλή συγκέντρωση άλατος. Η εκχύλιση από κύτταρα φυκιών έχει αναπτυγμένη απόδοση β-καροτενίου. Η έρευνα έχει συμβάλει για να αναπτυχθούν άλλα βιολογικά συστήματα όπως μύκητες, άλγη και άλλοι οργανισμοί για την παραγωγή β-καροτένιου.

Τα κύτταρα του E. coli, μετά από μετασχηματισμό με ετερόλογα γονίδια, έχουν την ικανότητα παραγωγής καροτενοειδών, αλλά σε χαμηλό επίπεδο. Ενδεικτικά μπορούμε να συλλεχθεί περίπου 1 mg/g βάρος ξηρών κυττάρων (DCW), σε αντίθεση με τα καροτινογενή άλγη και άλλους οργανισμούς όπως Dunalliella, Haematococcus, Flavobacterium και Xanthophyllomyces dendrorhous (Phaffia rhodozyma) κ.α. που η παραγωγή των καροτενοειδών είναι σε υψηλότερα επίπεδα. Η υψηλή παραγωγή των καροτενοειδών στους «τροποποιημένους» μικροβιακούς ξενιστές απαιτεί (1) τη βελτιστοποίηση διαθέσιμης πηγής προδρόμων ενώσεων ισοπρενίου, (2) εξισορρόπηση της έκφρασης των καροτενογενών γονιδίων για το μετασχηματισμό των πρόδρομων ενώσεων κατά την παραγωγή επιθυμητών καροτενοειδών (3) να έχουν την ικανότητα αποθήκευσης των λιπόφιλων καροτενοειδών, π.χ. πρόσθετη αποθήκευση στις μεμβράνες του κυττάρου ή επιλογή κατάλληλου ξενιστή, ο οποίος να έχει την ικανότητα αποθήκευσης των υδρόφοβων ενώσεων (Ausich R.L., 1997).

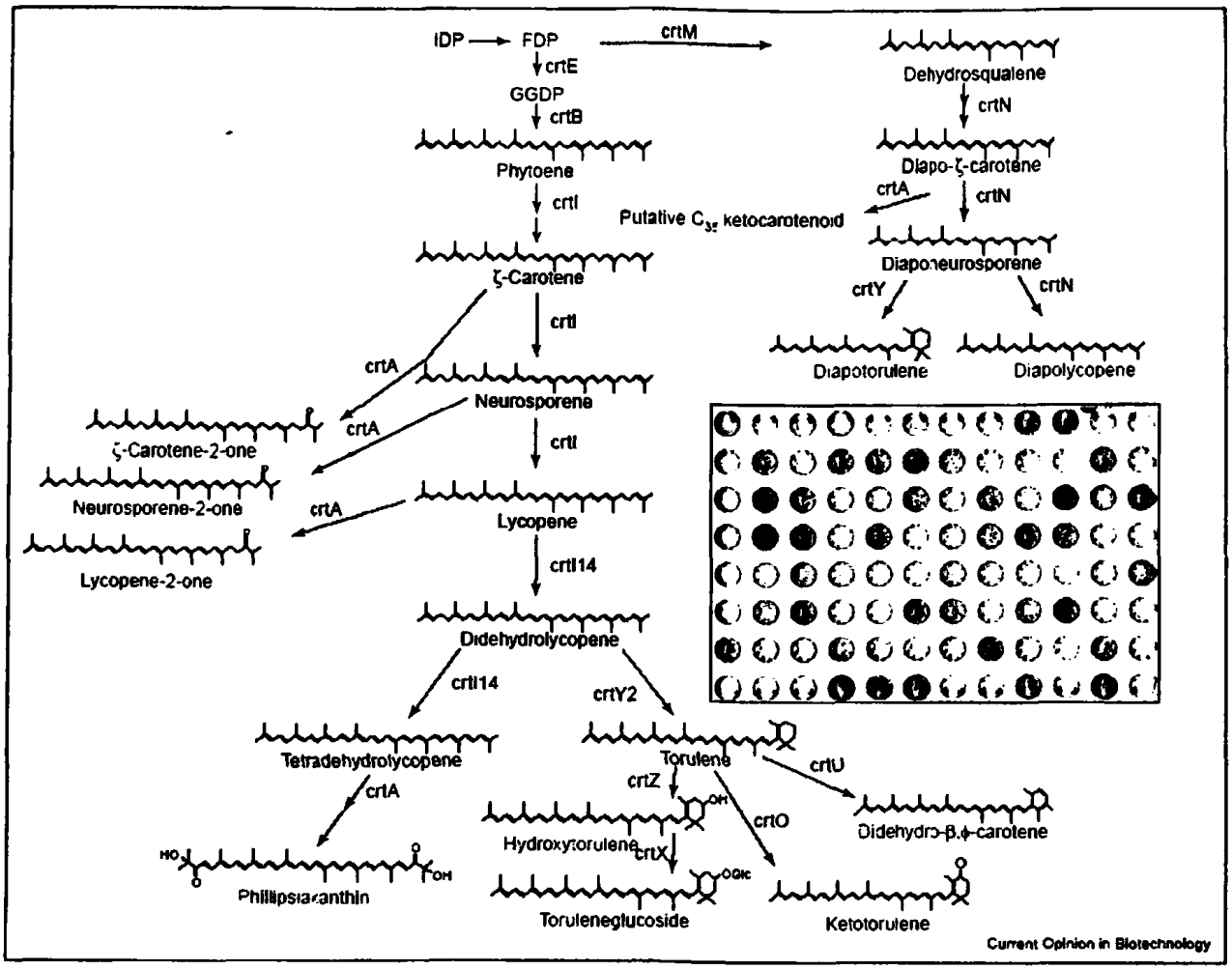
Το E. coli και άλλα μη-καροτενογενή μικροβιακά κύτταρα έχουν περιορισμένη τροφοδοσία σε πρόδρομα ισοπρένια για τη σύνθεση των μεταβολιτών όπως τα δολιχολή και τις κινίνες που απαιτούνται στο κύτταρο σε μικρές ποσότητες. Για μεγαλύτερη παραγωγή καροτενοειδών από τα κύτταρα του E. coli πρέπει να αυξηθούν οι πηγές των προδρόμων ενώσεων. Οι προσπάθειες έχουν επικεντρωθεί στην υπερέκφραση των διαφορετικών

ενζύμων του μη μεβαλονικού μονοπατιού του ισοπρενίου στα καροτενοειδή που συνθέτουν τα κύτταρα του E. coli (**Εικόνα 26**).

Η μεγαλύτερη παραγωγή καροτενοειδών επιτεύχθηκε όταν ανακαλύφθηκε το ένζυμο idi που συμβάλλει στον ισομερισμό του IPP σε DMAPP και βοηθά στη καλύτερη βιοσύνθεση του ισοπρενίου.

Ο Kajiwaraet και οι συνεργάτες του (1995) ανέφεραν ότι με τη βοήθεια του idi υπήρχε αυξημένη παραγωγή λυκοπαΐνης από 3.6 σε 4.5 mg/g DCW^{-1}, του β–καροτένιου από περίπου 1.3 σε 2.7 mg/g DCW^{-1}, τέλος ο συνδυασμός idi και dxs ή dxr είχε ως αποτέλεσμα αύξηση της παραγωγής της ζεαξανθίνης σε επίπεδο 1.6 mg/g DCW^{-1} και 6 φορές υψηλότερη παραγωγή της ασταξανθίνης (Lee P.C. και C.Schmidt-Dannert, 2002).

Η εξισορρόπηση της έκφρασης των βιοσυνθετικών ενζύμων περιορίζει τη βιοσύνθεση του ισοπρενίου και των καροτενοειδών, ενώ ήταν αποτελεσματική στη παρεμπόδιση της αυξημένης ροής που προκαλείται από την υπερέκφραση των ενζύμων μέσω των μονοπατιών των καροτενοειδών. Η χρησιμοποίηση ενός χαμηλού αριθμού αντιγράφων σε αντίθεση με ένα υψηλού αριθμού αντιγράφων ενός πλασμιδίου περιορίζει την έκφραση του ένζυμο DXS ενώ ενισχύει τη παραγωγή της λυκοπαΐνης από 2 σε 3 φορές. Αυτό αναδεικνύει την υπερέκφραση του DXS στις ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις. Συγκεκριμένα, όταν αυτό υπερβεί τη διαθεσιμότητα των υποστρωμάτων γλυκολυτικού, πυροσταφυλικού και του G3P έχει ως αποτέλεσμα την εκπροσώπηση του μεταβολικού φορτίου για το κύτταρο.



Εικόνα 26: Η βιοσύνθεση των καροτενοειδών στο E. coli.

Η έκφραση των ενζύμων μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ως στρατηγική για να επιτευχθεί συσσώρευση των διαφορετικών αναλογιών των ενδιάμεσων προϊόντων μέσω της βιοσύνθεσης των καροτενοειδών. Η σημασία των ενδοκυτταρικών βιοσυνθετικών ενζυμικών δραστηριοτήτων για την ενδιάμεση συσσώρευση και το τελικό σχηματισμό προϊόντων παρατηρήθηκε από τις διαφορετικές συνθετικές διαδρομές κατά τη διάρκεια σχηματισμού ασταξανθίνης σε in vitro και in vivo τεχνικές που οδηγεί στη συσσώρευση των διαφορετικών ενδιάμεσων προϊόντων (Lee P.C. και C. Schmidt-Dannert, 2002).

4.1.5.α Η χρήση του ανασυνδυασμένου DNA για την παραγωγή καροτενοειδών

Η αύξηση της αποδοτικότητας της παραγωγής καροτενοειδών από τα βιολογικά συστήματα μπορεί να επιτευχθεί σήμερα μόνο με δύο στρατηγικές: α) αύξηση της αποδοτικότητας της παραγωγής βιομάζας και β) αύξηση της αποδοτικότητας της σύνθεσης των καροτενοειδών. Βελτιώσεις μπορούν αναμφισβήτητα να γίνουν για να αυξήσουν την αποδοτικότητα της παραγωγής βιομάζας από επιλεγμένους ξενιστές. Η βελτίωση είναι πιθανό να είναι μόνο μικρή συγκριτικά και μη επαρκής για να μειώσει σημαντικά τις δαπάνες παραγωγής.

Η σύνθεση των καροτενοειδών ελέγχεται στα κύτταρα από το επίπεδο και τη δραστηριότητα των βιοσυνθετικών ενζύμων. Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA μπορεί να αλλάξει το επίπεδο και τη δραστηριότητα των ενζύμων. Η εφαρμογή της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αυξήσει την παραγωγικότητα των καροτενοειδών και είναι το εργαλείο για να οδηγήσει πιθανότατα σε μια αυξημένη παραγωγή καροτενοειδών από τα βιολογικά συστήματα. Υπάρχουν δύο απαιτήσεις για τη χρήση της τεχνολογίας ανασυνδυασμένου DNA για την παραγωγή οποιασδήποτε ένωσης. Η πρώτη είναι η διαθεσιμότητα υποκινητών και των γονιδίων που κωδικοποιούν τα ένζυμα που μετέχουν στην παραγωγή μιας επιθυμητής ένωσης. Αυτό απαιτεί την απομόνωση και το χαρακτηρισμό των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση της ένωσης καθώς επίσης και των γονιδίων-υποκινητών. Η δεύτερη απαίτηση αφορά τη διαδικασία ένθεσης των γονιδίων γονίδια στον επιθυμητό ξενιστή για να εκφραστούν στις επόμενες γενιές. Ο μύκητας Phycomyces blakesleeanus κανονικά παράγει β-καροτένιο. Με τη βοήθεια της μικρό-έγχυσης οι ερευνητές κατάφεραν να εισάγουν ένα ξένο DNA στο γενετικό υλικό του Phycomyces. Σήμερα υπάρχουν πολλά συστήματα μετασχηματισμού σε πολλά βακτήρια και μύκητες, συμπεριλαμβανομένων της Pichia, του Saccharomyces, της Erwinia uredovora, του E. coli και του Zymomonas mobilis.

Όλα τα εργαλεία της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA είναι σε θέση να χρησιμοποιηθούν για να αυξήσουν τη παραγωγικότητα των καροτενοειδών. Αυτά τα εργαλεία περιλαμβάνουν τα συστήματα μετασχηματισμού για την ένθεση ξένου DNA σε ένα επιθυμητό ξενιστή, τα γονίδια που κωδικοποιούν τα ένζυμα από το βιοσυνθετικό μονοπάτι ισοπρενίων και τα γονίδια που κωδικοποιούν τα ένζυμα για τη βιοσύνθεση ενός καροτενοειδούς.

Υπάρχουν διάφορα παραδείγματα της χρήσης του ανασυνδυασμένου DNA για αύξηση της παραγωγικότητας καροτενοειδών, όπως το βιοσυνθετικό μονοπάτι των καροτενοειδών που ανασυστάθηκε στο S. cerevisiae. Με τη βοήθεια της ζύμης έγινε δυνατό να αυξηθεί η σύνθεση του φυτοενίου που οδηγεί σε αυξανόμενα επίπεδα καροτενοειδών στα φυτά (βάση ξηρού βάρους) και το γονίδιο για τη σύνθεση φυτοενίου τις τομάτες προκαλώντας αυξημένη σύνθεση καροτενοειδών. Παραμένει το πρόβλημα εάν η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA θα επιτρέψει τελικά την ανάπτυξη ενός συστήματος για βιολογική παραγωγή των καροτενοειδών με καλύτερα αποτελέσματα από της χημικής σύνθεσης (Ausich R.L., 1997 και Lee. P.C. και C Schmidt-Dannert, 2002).

4.1.5.β Επιλογή των ξενιστών

Η συνεισφορά των κυττάρων του E. coli στη βιοτεχνολογική παραγωγή καροτενοειδών είναι πρόσφατη. Τα επίπεδα παραγωγής δεν είναι ακόμα ανταγωνιστικά σε σύγκριση με τα επίπεδα των καροτενοειδών που παράγονται προς το παρόν από τη ζύμωση, τη σύνθεση ή την απομόνωση. Ένας από τους σημαντικότερους περιορισμούς στη παραγωγή καροτενοειδών στο E. coli, είναι η τροφοδοσία των προδρόμων ενώσεων ισοπρενίου και η ανεπαρκής ικανότητα αποθήκευσης για τις λιπόφιλες ενώσεις.

Διάφορα νέα είδη βακτηρίων έχουν ανακαλυφθεί πρόσφατα που παράγουν καροτενοειδή. Γίνεται προσπάθεια παραγωγής ασταξανθίνης, κανθαξανθίνης, β-καροτένιου και ζεαξανθίνης. Η παραγωγή ασταξανθίνης από τη Phaffia sp. έχει μελετηθεί εκτενώς. Η Phaffia είναι μια ζύμη που φυσικά παράγει ασταξανθίνη. Η παραγωγή ασταξανθίνης από τα κύτταρα της Phaffia είναι περίπου 300 ppm ανά ξηρή μάζα. Το επίπεδο της παραγωγής είναι πολύ χαμηλό για να αναπτυχθεί μια εμπορικά βιώσιμη σύνθεση. Σκοπός της έρευνας είναι η αυξημένη παραγωγή σύνθεσης της ασταξανθίνης στη Phaffia. Η έρευνα απέδειξε ότι τα ψάρια ή τα όστρακα των ψαριών μπορούν ικανοποιητικά να χρησιμοποιήσουν τα διαρρυγμένα κύτταρα που περιέχουν την ασταξανθίνη. Επομένως, δεν υπάρχει καμία ανάγκη να καθαριστεί η ασταξανθίνη από τα άλλα συστατικά που υπάρχουν στα κύτταρα της ζύμης.

Η τεχνολογία έχει επίσης αναπτυχθεί για να εκμεταλλευθεί τη φυσιολογία των αλγών. Υπό κανονικές συνθήκες τα άλγη δεν μπορούν να παράγουν ασταξανθίνη. Όταν η καλλιέργεια υποβάλλεται σε κατάσταση πίεσης και λαμβάνουν τροφή από το θρεπτικό μέσο, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή και τη συσσώρευση της ασταξανθίνης. Το άλγος

Haematococcus pluvialis έχει μελετηθεί εκτενώς ως ξενιστής για τη παραγωγή ασταξανθίνης.

Τα επίπεδα ασταξανθίνης μπορούν να ξεπεράσουν το 4% ανά ξηρή μάζα. Τα υψηλά επίπεδα σύνθεσης και συσσώρευσης αυτής εμφανίζονται μετά από αρκετές εβδομάδες από την ανάπτυξη της. Οι μέθοδοι για να μειώσουν το χρόνο παραγωγής ασταξανθίνης, αυτή την περίοδο βρίσκονται υπό έρευνά. Η Phaffia και τα κύτταρα του Haematococcus pluvialis έχει βρεθεί ότι είναι κατάλληλοι φορείς για τη παραγωγή ασταξανθίνης για υδατοκαλλιέργεια και δεν απαιτείται κανένας περαιτέρω καθαρισμός (Lee P.C. και C Schmidt-Dannert, 2002 και Ausich R.L., 1997).

Το φυτό Adonis aestivalis παράγει ασταξανθίνη στα πέταλα του. Οι ερευνητές έχουν αναπτύξει ποικιλίες του Adonis με αυξανόμενη ποσότητα ασταξανθίνης. Η κανθαξανθίνη είναι ένα ενδιάμεσο μόριο για τη σύνθεση της ασταξανθίνης. Η Phaffia rhodozyma κάτω από πιέσεις μπορεί να παράγει κανθαξανθίνη. Οι προσπάθειες ανάπτυξης για τη παραγωγή υψηλών επιπέδων καροτενοειδών εστιάζονται στον άγριο τύπο βακτηριακού κυττάρου. Ο Corynebacterium sp. βρέθηκε ότι παράγει κανθαξανθίνη. Προσπάθειες γίνονται επίσης για την αύξηση της βιοσυνθετικής ικανότητας καθώς επίσης και στα βελτιστοποιημένα συστήματα ζύμωσης, με σκοπό την αύξηση της παραγωγικότητας.

Δύο νέα βακτήρια, το Altermonas sp.και το Flexibacter sp. και τα πράσινα άλγη Neospongiococcu mexcentricum ανακαλύφθηκε ότι παράγουν ζεαξανθίνη. Οι εντατικές προσπάθειες που πραγματοποιήθηκαν με τα άλγη συνδέθηκαν με τη βελτιστοποίηση του όρου ζύμωσης και οδήγησαν στη διαδικασία για τη παραγωγή ξανθοφύλλης 0,65% (ξηρά μαζική βάση). Το Flavobacterium multivorum είναι γνωστό από πολλά χρόνια για τη παραγωγή ζεαξανθίνης, όμως πρόσφατα συνδέθηκε με την υψηλή παραγωγή βιομάζας σε μια ημέρα με δύο περιόδους ζύμωσης. Σε αντίθεση με το E. coli, οι ζύμες εκθέτουν έναν αποδοτικό μεταβολισμό των ισοπρενίων και είναι σε θέση να παράγουν μεγάλες ποσότητες τριτερπενοειδών και εργοστερόλης στις μεμβράνες τους. Επιπλέον εξετάζονται οι ζύμες οι οποίες είναι επιθυμητές για την παραγωγή καροτενοειδών με σκοπό την παραγωγή φαρμακευτικών, θρεπτικών ουσιών και τροφών (Ausich R.L., 1997).

Αν και η μεταβολική μηχανική των ανασυνδυασμένων ζυμών για τη παραγωγή καροτενοειδών δεν έχει εξερευνηθεί ακόμα ευρέως, τα λίγα δημοσιευμένα παραδείγματα που περιλαμβάνουν τις ζύμες ως ετερόλογους ξενιστές για τη παραγωγή καροτενοειδών είναι ελπιδοφόρες Οι μη-καροτενογενείς ζύμες S. cerevisiae και Candida utilis μπορούν να παράγουν επιτυχώς λυκοπαΐνη, β-β καροτένιο και ασταξανθίνη στο μέσο του μονοπατιού της εργοστερόλης και των καροτενογενών γονίδιων που προέρχονται από το βακτήριο Erwinia.

Ένας άλλος εξίσου σημαντικός ξενιστής για την παραγωγή των καροτενοειδών είναι τα φωτοσυνθετικά βακτήρια. Τα φωτοσυνθετικά βακτήρια συνθέτουν ήδη σημαντικά ποσά καροτενοειδών στις ενδοκυτταρικές τους μεμβράνες τους οπότε θα μπορούσε να παρέχει μια εναλλακτική λύση για την ετερόλογη παραγωγή των καροτενοειδών (Lee P.C. και C.Schmidt-Dannert, 2002).

Στην πραγματικότητα, μερικά από τα πιο πρώιμα παραδείγματα στα μονοπάτια των καροτενοειδών πραγματοποιήθηκαν με συνδυασμό των μονοπατιών από την Erwinia herbicola (crtB, crtI, crtY και crtZ) και το Rhodobacter sphaeroides, με συνέπεια την παραγωγή καροτενογενών γονιδίων από την Erwinia και την παραγωγή λυκοπαΐνης, β-καροτένιου και ζεαξανθίνης από Rhodobacter, το οποίο παράγει χαρακτηριστικά άκυκλες ξανθοφύλλες spheroidene και το spheroidenone από τη νευροσπορίνη (Lee P.C. και C. Schmidt-Dannert, 2002).

Η μεταβολική μηχανική της ποικιλομορφίας των καροτενοειδών και η ανασυνδυασμένη παραγωγή των καροτενοειδών στους μη-καροτενογενείς μικροοργανισμούς επιτρέπει τη μεταβολική μηχανική νέων μονοπατιών για τη παραγωγή διαφορετικών δομών. Τα πολυάριθμα παραδείγματα συνδυασμού γονιδίων κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών καταδεικνύουν ότι τα crt γονίδια από διαφορετικές πηγές μπορούν να συνδυαστούν και να δημιουργηθούν νέα βιοσυνθετικά μονοπάτια σε διάφορους ξενιστές .

Σύμφωνα με τα παραπάνω έχουν πραγματοποιηθεί ιδιαίτερες έρευνες και προσπάθειες για την παραγωγή καροτενοειδών από τους διάφορους μικροοργανισμούς. Το κόστος παραγωγής των διαφόρων συστημάτων που έχουν αναπτυχθεί είναι υψηλό από αυτό της αντίστοιχης χημικής σύνθεσης. Μέχρι σήμερα η βιολογική παραγωγή των καροτενοειδών δεν μπορεί άμεσα να ανταγωνιστεί τη χημική σύνθεση στο κόστος παραγωγής.

4.1.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΤΩΝ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΩΝ

Η μεγάλη ομάδα των διαθέσιμων βιοσυνθετικών γονιδίων των καροτενοειδών από διαφορετικούς οργανισμούς μπορούν να συνδυαστούν λειτουργικά στα ανασυνδυασμένα μονοπάτια, ανοίγοντας το δρόμο για πολυάριθμες δυνατότητες για τη σύνθεση διαφορετικών καροτενοειδών στους ανασυνδυασμένους μικροοργανισμούς. Στη πραγματικότητα, η

ανασυνδυασμένη βιοσύνθεση των καροτενοειδών αντιπροσωπεύει προς το παρόν το καλύτερο παράδειγμα για τη συνδυαστική βιοσύνθεση, η οποία περιλαμβάνει το συνδυασμό ενζύμων στα νέα μονοπάτια.

Η in vitro εξέλιξη των ενζύμων των καροτενοειδών θα διευρύνει την ποικιλομορφία των ετερόλογων παραχθέντων δομών καροτενοειδών ακόμα περαιτέρω και επιπλέον θα επιτρέψει τη σύνθεση των καροτενοειδών που δε βρίσκονται στη φύση.

Οι πρόσφατες ανακαλύψεις στη μεταβολική μηχανική της ροής των προδρόμων ισοπρενίων μέσω μονοπατιών των καροτενοειδών στο E. coli για την αυξανόμενη παραγωγή καροτενοειδών, έχουν αναφέρει διάφορες δυσχέρειες και περιορισμούς βημάτων στη μικροβιακή βιοσύνθεση καροτενοειδών. Παραγωγή καροτενοειδών σε έναν μη-καροτενογενή μικροοργανισμό όπως το E. coli έχει διαταράξει μέχρι τώρα άγνωστα μεταβολικά μονοπάτια που θα μπορούσαν να προσδιοριστούν με τη σκιαγράφηση της έκφρασης των γονιδίων και να γίνουν έπειτα οι στόχοι της μελλοντικής μεταβολικής μηχανικής. Μια συστηματική ανάλυση ροής της βιοσύνθεσης καροτενοειδών, συμπεριλαμβανομένου του προσδιορισμού των μεμονωμένων ενζυμικών δραστηριοτήτων και των λειτουργικών επιπέδων έκφρασης, δεν έχει πραγματοποιηθεί ακόμα. Μόνο πολύ λίγα είναι γνωστά για τη λειτουργία των βιοσυνθετικών μονοπατιών των καροτενοειδών, την αλληλεπίδραση και τον εντοπισμό των διαφορετικών ενζύμων είτε στους φυσικούς, είτε στους ανασυνδυασμένους ξενιστές και πώς οι φυσιολογικοί ή και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες έχουν επιπτώσεις στη βιοσύνθεση καροτενοειδών. Κατά συνέπεια, η κατανόηση των βιοχημικών μηχανισμών που κυβερνούν τη ροή μονοπατιών των καροτενοειδών είναι το κλειδί στην επιτυχή μελλοντική μεταβολική μηχανική της μικροβιακής παραγωγής καροτενοειδών. Η περιορισμένη ικανότητα αποθήκευσης καροτενοειδών στους τρέχοντες ξενιστές παραμένει ένα σημαντικό εμπόδιο για την επίτευξη των εμπορικά σχετικών επιπέδων παραγωγής καροτενοειδών. Οι ξενιστές εκτός από το E. coli π.χ., ζύμες, πρέπει επομένως να εξεταστούν για τη μελλοντική εφαρμοσμένη μηχανική της μικροβιακής παραγωγής καροτενοειδών.

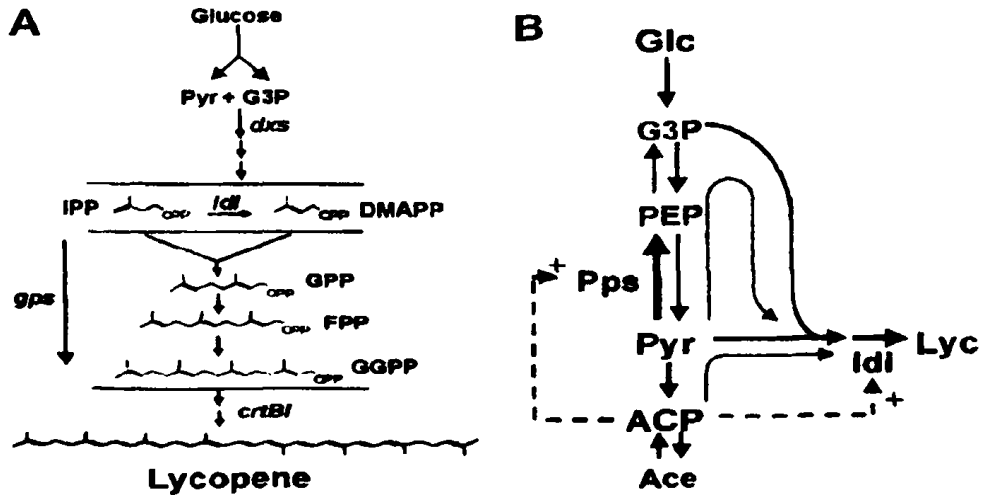
Εναλλακτικά, η μεταβολική μηχανική των καροτενοειδών που διαχωρίζει τα συστήματα στο E. coli πρέπει να ωθήσει τη παραγωγή καροτενοειδών σε πιο οικονομικές παραγωγές. Οι στρατηγικές που πρέπει να αναπτυχθούν για συγκεκριμένα καροτενοειδή από τους ξενιστές, συνδέονται με την παραγωγή βιομάζας με χαμηλό κόστος, λόγω της ικανότητας των ξενιστών να υποστηρίξουν υψηλής σύνθεσης καροτενοειδή. Τέλος θα πρέπει

να ληφθεί υπόψη και η ανάγκη καθαρισμού των καροτενοειδών από τους διάφορους ξενιστές.

4.2 ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΛΥΚΟΠΑΪΝΗΣ

Η λυκοπαΐνη επιλέχτηκε ως πρότυπη ένωση λόγω των ευεργετικών αποτελεσμάτων που παρέχει στην ανθρώπινη υγεία. Η λυκοπαΐνη έχει ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες με πιθανά οφέλη στη πρόληψη διαφόρων τύπων καρκίνου και καρδιαγγειακών παθήσεων. Κατά συνέπεια, η in vivo σύνθεση λυκοπαΐνης έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον των επιστημόνων.

Συγκεκριμένα, στρατολόγησαν και μετέβαλλαν ένα από τα σφαιρικά ρυθμιστικά συστήματα, το Ntr, μέσα στο E.coli, για να ελέγξει την παραγόμενη λυκοπαΐνη μέσω του βιοσυνθετικού της μονοπατιού. Η τεχνητά παραγόμενη, υποκινημούμενη από τη γλυκολυτική ροή μέσω ενός ενδοκυτταρικού μεταβολίτη (ακέτυλο φωσφορικό άλας), ελέγχει την έκφραση δύο βασικών ενζύμων κλειδιών για τη σύνθεση της λυκοπαΐνης. Αυτός ο ενδοκυτταρικός έλεγχος ενίσχυσε σημαντικά τη παραγωγή της λυκοπαΐνης ενώ έγινε η αιτία για την ελάττωση της μεταβολικής δυσαναλογίας (**Εικόνα 27**). Η στρατηγική αυτή μπορεί να επεκταθεί και σε άλλους τομείς όπου η έκφραση γονιδίων πρέπει να ελεγχθεί πολύ από την ενδοκυτταρική φυσιολογία, όπως η θεραπεία γονιδίων (W. R. και. Liao J. C., 2000).



Εικόνα 27: A) Ανασύσταση μονοπατιού λυκοπαΐνης με τη βοήθεια dxs, idi, gps, crtBI, Pyr, pyruvate, G3P, glyceraldehyde 3-phosphate, IPP, isopentenyl diphosphate, DMAPP, dimethylallyl, diphosphate, GPP, geranyl diphosphate, FPP, farnesyl diphosphate; GGPP, geranylgeranyl diphosphate. (B) Στρατηγική για την εκτροπή του μεταβολικού μονοπατιού της λυκοπαΐνης με τον έλεγχο IDI και της PPS glnAp2.

5. ΒΙΟΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ

5.1 ΒΙΟΣΥΝΘΕΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ

5.1.1 Εισαγωγή

Τα φλαβονοειδή είναι φαινολικές ενώσεις παραγόμενες από τη φαινυλαλανίνη και μοιράζονται ένα κοινό μεταβολικό μονοπάτι με τις λιγνίνες και τα λιγνάνια. Το πρώτο βήμα στη βιοσύνθεση των φλαβονοειδών είναι η μετατροπή του προδρόμου 4-coumaroyl-CoA σε χαλκόνη από το ένζυμο συνθάσης της χαλκόνης. Το ένζυμο συνθάση της χαλκόνης καταλύει μια σειρά ενζυμικών βημάτων για να παράγει ποικιλία μορίων που ενεργούν ως χρωστικές ουσίες, αμυντικές χημικές ουσίες (φυτοαλεξίνες) και ρυθμιστικά μόρια.

Τα φλαβονοειδή είναι ένας ελκυστικός στόχος από τη δεκαετία του '90 λόγω των διαφορετικών τροποποιήσεων που μπορούν να επιφέρουν στο χρώμα των λουλουδιών. Ένα πρόσφατο παράδειγμα είναι η συσσώρευση του dihydroflavonol 4-reductase και της ανθοκυανιδίνης στο forsythia από διαδοχικό μετασχηματισμό. Αυξάνοντας τα επίπεδα φλαβονοειδών μέσα στα φυτά μπορούν να παρέχουν σημαντικά οφέλη στην υγεία γιατί αναπτύσσουν αντιοξειδωτική δραστηριότητα. Αυτό αποδείχθηκε στην περίπτωση της τομάτας με την έκφραση του γονιδίου στης πετούνιας για το chalcone isomerase, που οδηγεί στην αύξηση κατά 80-φορές των φλαβονοειδών στην επιδερμίδα τη τομάτας και 20-φορές σε επίπεδο τοματοπολτού (Capell T.και Christou P., 2004).

Περίπου 3.000 ενώσεις, ίσως και περισσότερος αριθμός, είναι γνωστές και απαντούν στα ανώτερα φυτά. Στις λειχήνες και στο ζωικό βασίλειο δεν έχουν βρεθεί φλαβονοειδή μέχρι σήμερα εκτός από μερικά φλαβονοειδή που βρέθηκαν στα φτερά μιας πεταλούδας. Επίσης, δεν απαντούν στα φύκη και τους μύκητες, αν και υπάρχει μια αναφορά για μια φλαβόνη που απαντά στα φύκη του γένους Nitella και ενός άλλου που βρέθηκε στο μύκητα *Aspergillus candidus*.

Στα φυτά απαντούν είτε με τη μορφή αγλύκου ή σε μορφή γλυκοσιδών. Οι γλυκοσίδες είναι Ο-γλυκοσίδες και μικρός αριθμός είναι C-γλυκοσίδες .

Επειδή είναι ευρέως διαδεδομένα στη φύση συνιστούν μέρος της διατροφής του ανθρώπου. Υπολογίζεται ότι ο άνθρωπος παίρνει με την τροφή του 1 gr /ημερησίως

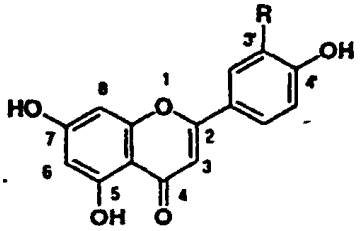
5.1.2 Κατηγορίες φλαβονοειδών

Ανάλογα του βαθμού οξείδωσης του πυρανικού τους δακτυλίου διαιρούνται σε κατηγορίες:

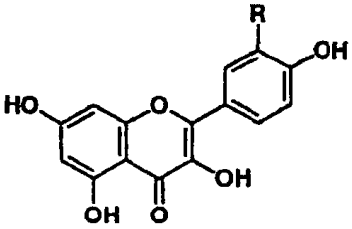
1. Παράγωγα του 2-φαινυλοβενζοπυριλίου: ανθοκυάνες
2. Παράγωγα της 2-φαινυλοχρωμόνης: φλαβόνες, φλαβονόλες, και τα διμερή τους, φλαβανόνες, ισοφλαβόνες, ισοφλαβανόλες, ξανθόνες.
3. Παράγωγα της 2-φαινυλοχρωμανόνης: Φλαβάνες, φλαβαν-3- όλες, φλαβαν-3,4-διόλες, χαλκόνες, διϋδροχαλκόνες, κατεχίνες.
4. Παράγωγα της βενζυλιδενεκουμαρόνης: αουρόνες (Εικόνα 2).

5.1.3 Βιοσύνθεση των φλαβονοειδών:

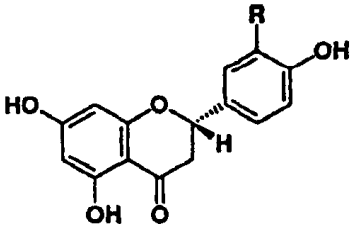
Όλα τα φλαβονοειδή έχουν κοινό βιοσυνθετικό δρόμο και ως εκ τούτου έχουν τον ίδιο βασικό σκελετό. Προέρχονται από τη συσσωμάτωση δύο άλλων δρόμων του άλατος του σικιμικού και μαλονικού οξέος.



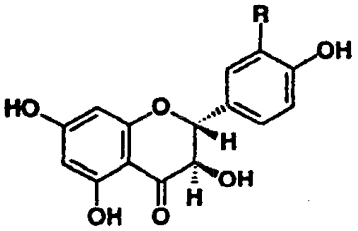
FLAVONES
R = H: *Apigenin*
R = OH: *Luteolin*



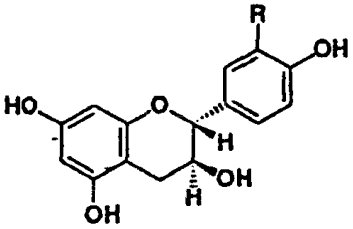
FLAVONOLS
R = H: *Kaempferol*
R = OH: *Quercetin*



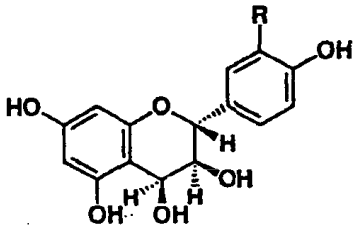
FLAVANONES
R = H: *Naringenin*
R = OH: *Eriodictyol*



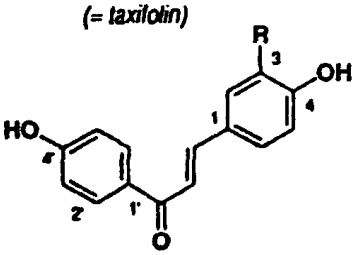
DIHYDROFLAVONOLS
R = H: *Dihydrokaempferol*
R = OH: *Dihydroquercetin*
(= taxifolin)



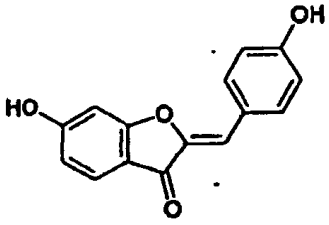
FLAVAN-3-OLS
R = H: *Afzelechin*
R = OH: *Catechin*



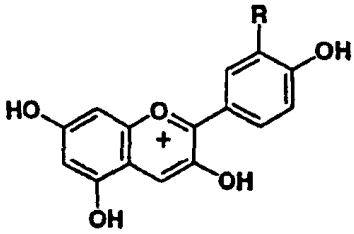
FLAVAN-3,4-DIOLS
R = H: *Leucopelargonidin*
R = OH: *Leucocyanidin*



CHALCONES
R = H: *Isoliquiritigenin*
R = OH: *Butein*

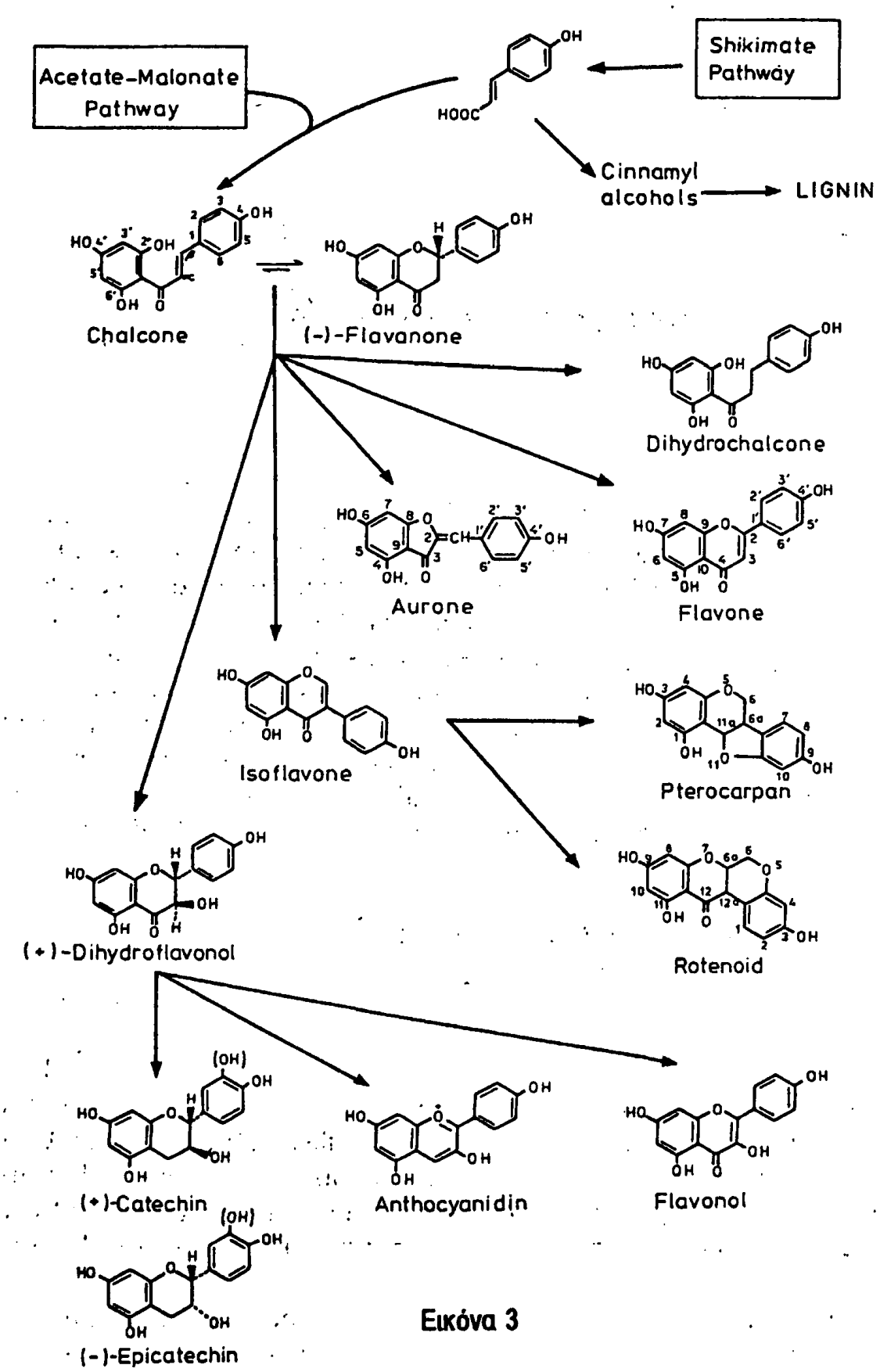


AURONES
Hispidol



ANTHOCYANIDINS
R = H: *Pelargonidin*
R = OH: *Cyanidin*

Εικόνα 2



Εικόνα 3

Το πρώτο φλαβονοειδές που προέκυψε από τη συνένωση των δύο δρόμων είναι η χαλκόνη (Εικόνα 28) και από αυτή με την επίδραση διαφόρων ενζυμικών συστημάτων προέκυψαν οι άλλοι τύποι των φαλβονοειδών (Εικόνα 29).

5.1.4 Πώς λαμβάνονται από τα φυτά

Φλαβονοειδή και οι γλυκοσίδες τους είναι σταθερές ενώσεις και μπορούν να παραλαμβάνονται από τα φυτά με εκχύλιση με ψυχρούς ή θερμούς διαλύτες. Οι διαλύτες μπορεί να είναι νερό, οργανικοί διαλύτες (μεθανόλη, αιθανόλη, οξικός αιθυλεστέρας, βουνανόλη, ακετόνη) ή συνδυασμός αυτών.

Μετά την παραλαβή τους με την εκχύλιση ακολουθεί ο διαχωρισμός τους με μεθόδους χρωματογραφίας όπως: PC, TLC, CC, DCCC, HPLC, χρησιμοποιώντας διάφορα συστήματα χρωματογραφίας (διαλύτες).

Στη συνέχεια με μεθόδους φασματοσκοπίας γίνεται ο ταυτισμός των ουσιών. Τέτοιες μέθοδοι είναι: UV, IR, NMR, MS. .

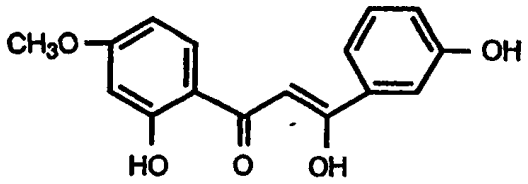
5.1.5. Χαλκόνες, αουρόνες, διϋδροχαλκόνες

Είναι μικρές ομάδες **χρωστικών**, οι οποίες είναι κίτρινες και σε αλκαλικό περιβάλλον μετατρέπονται σε κόκκινες.

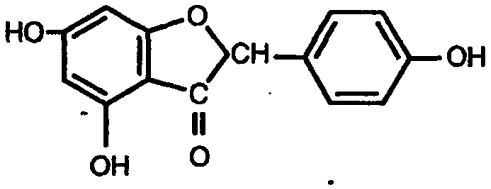
Ο οικολογικός τους ρόλος στη φύση σε σχέση με το χρώμα των φυτών και κυρίως των ανθέων είναι σημαντικός.

Οι διϋδροχαλκόνες είναι υδρογονωμένα παράγωγα των χαλκονών και είναι άχρωμες.

Οι χαλκόνες χαρακτηρίζονται από την παρουσία μιας γέφυρας με τρία άτομα άνθρακος με ένα ακόρεστο (α,β) δεσμό, οι δε αουρόνες από την παρουσία του δακτυλίου της βενζιλιδίνης.



Χαλκόνη

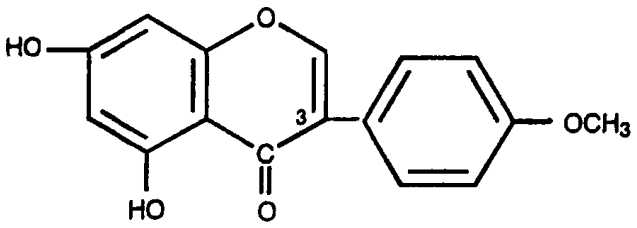


Αουρόνη

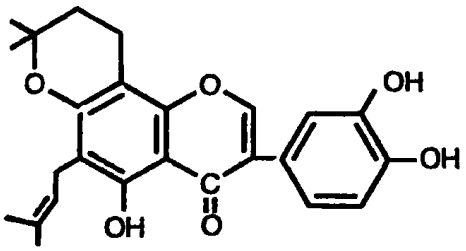
Απαντούν p.χ. στα Prunus, στο Piper methysticum, στο λυκίσκο και άλλα φυτά.

5.1.6 <u>Ισοφλαβόνες - Ισοφλαβανόλες</u>

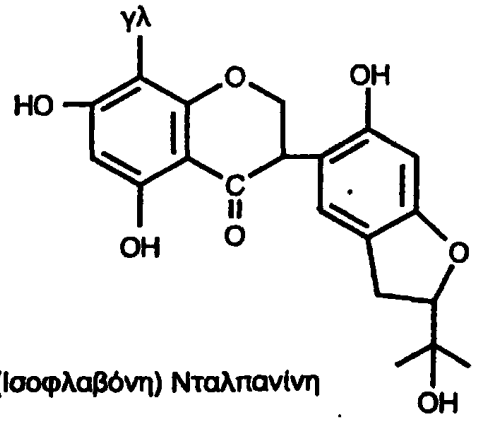
Οι ισοφλαβόνες διαφέρουν από τις άλλες τάξεις των φλαβονοειδών στο ότι είναι 3-φαινυλοχρωμόνες Π.χ. η βιοχανίνη



Είναι γνωστές περίπου 600 ενώσεις με σκελετό ισοφλαβόνης. Μπορούν να διαιρεθούν σε 12 τάξεις σύμφωνα με τα επίπεδα οξείδωσης και το είδος του δακτυλίου που μπορεί να είναι ενωμένος στο βασικό σκελετό της ισοφλαβόνης.



Πομιφερίνη (ισοφλαβόνη)



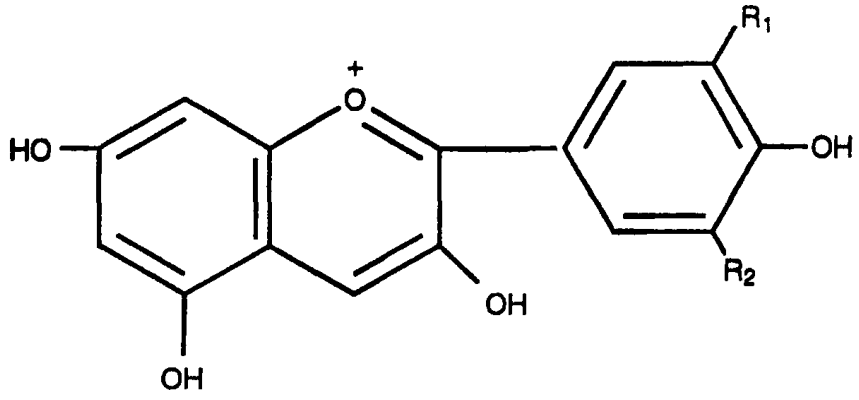
(Ισοφλαβόνη) Νταλπανίνη

5.1.7 Ανθοκυάνες

Η ονομασία ανθοκυάνη αρχικώς χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει τις ενώσεις που ήταν υπεύθυνες για το χρώμα των ανθέων του αραβοσίτου. Αργότερα εφαρμόσθηκε σε ενώσεις που ήταν διαλυτές στο νερό και το χρώμα τους ήταν κόκκινο, μωβ, μπλε, βιολέτ στους καρπούς και τα άνθη. Παράγονται από το κατιόν 2-φαινυλοβενζοπυρίλιο, κοινός ως κατιόν φλαβίλιο.

Οι ανθοκυάνες απαντούν σε όλα τα αγγειόσπερμα εκτός από τα Caryophyllaceae. Καίτοι αυτές γενικώς χαρακτηρίζουν το χρώμα των ανθέων και των καρπών, έχουν βρεθεί επίσης σε βράκτια φύλλα, ακόμη και σε ρίζες.

Έχουν το γενικό τύπο, με OH στη θέση C-3.



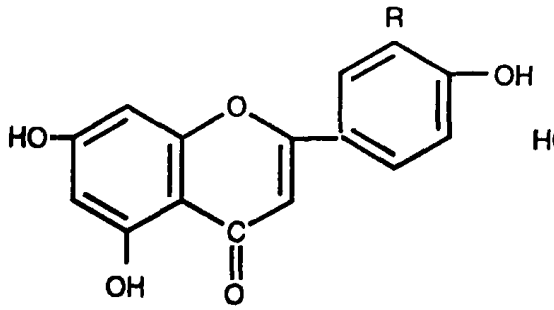
R_1=R_2=H=Πελαργονιδίνη
R_1=OH, R_2=H=Κυανιδίνη
R_1=R_2=OH= Δελφινίνη

5.1.7 Φλαβόνες - Φλαβονόλες

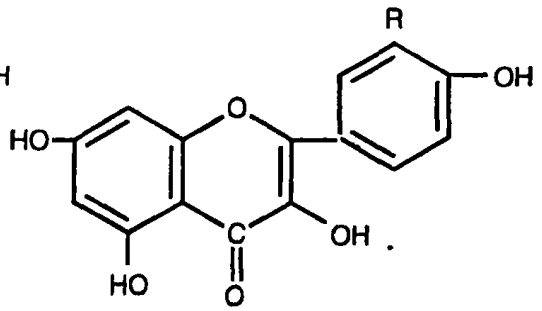
Ο όρος "flavone" προέρχεται από το λατινικό flavus=κίτρινο. Απαντούν είτε ως άγλυκα είτε σε μορφή γλυκοσιδών. Σπουδαιότερες είναι: απιγενίνη, λουτεολίνη και οι γλυκοσίδες τους.

Οι φυσικές φλαβόνες είναι συνήθως ολιγοϋδροξυλιωμένα παράγωγα. Ο βαθμός υδροξυλίωσης κυμαίνεται από 0-7. Ο βαθμός υδροξυλίωσης μπορεί να έχει βιογενετική σημασία διότι σε χαμηλό βαθμό υδροξυλίωσης επικρατούν οι φλαβόνες (3-θέση ελεύθερη), ενώ οι πολυϋδροξυλιωμένες συνήθως είναι φλαβονόλες (με OH στη θέση C-3). Σπουδαιότερες είναι: κερκετίνη, καιμφερόλη, μυρικετίνη, ισοραμνετίνη και οι γλυκοσίδες τους.

Η ύπαρξη ή όχι OH στη θέση C-3 έχει σημαντική βιοσυνθετική, φυσιολογική, φαρμακολογική και αναλυτική σημασία.



R=H=Απιγενίνη
R=OH=Λουτεολίνη



R=H=Καιμφερόλη
R=OH=Κερκετίνη

5.2 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Όπως καταδεικνύεται από τα παραδείγματα που παρέχονται παραπάνω, η μεταβολική μηχανική και οι ανασυνδυασμένοι μεταβολίτες που παράγουν στους οργανισμούς είναι ένα ισχυρό εργαλείο για τη βελτίωση της παραγωγής, που κατευθύνουν τη σύνθεση των επιθυμητών προϊόντων και παραγωγή νέων ενώσεων.

Ποικίλες προσεγγίσεις έχουν χρησιμοποιηθεί για να παράγουν νέες ενώσεις στα μικροβιακά κύτταρα. Μια τεράστια πηγή πληροφοριών από τη γονιδιωματική ερευνά βοηθάει στην αποκάλυψη νέων βιοσυνθετικών μονοπατιών και γονιδίων. Αν και οι περισσότερες νέες δομές ανήκουν στα αντιβιοτικά πολυκετίδια και καροτενοειδή, οι δευτερογενείς μεταβολίτες (π.χ. τερπενοειδή και αλκαλοειδή) αρχίζουν να αναδύονται. Η συλλογή των διαθέσιμων ενζύμων διευκολύνει την αναζήτηση κατάλληλων ενζύμων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη κατασκευή νέων μεταβολικών μονοπατιών. Η μεταβολική μηχανική έχει σαν στόχο τη βελτίωση και δημιουργία νέων μονοπατιών. Πολλές νέες ενώσεις μπορούν να δημιουργηθούν από τη κατασκευή γενομικής βιβλιοθήκης.

Τα περισσότερα από τα παραδείγματα που περιγράφονται παραπάνω αναφέρονται ιδιαίτερα στο E.coli λόγω της διαθεσιμότητας κατάλληλων γενετικά εργαλείων που παρέχουν. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον εντούτοις παρέχεται στα αρχικά στάδια της μεταβολικής μηχανικής από τη δευτερογενή παραγωγή μεταβολίτη. Η μεταβολική μηχανική θα συνεχίσει να τροποποιεί πολλαπλά γονίδια και ρυθμιστικές αλληλεπιδράσεις για να επιτύχει σημαντικές μετατοπίσεις στη φυσιολογία και παραγωγή νέων μορίων. Η γνώση και η εκμετάλλευση της έκφρασης των γονιδίων και της ρύθμισής των ενζύμων μπορεί να αποδειχθεί η πιο χρήσιμη μεταβολική και συνδυαστική προσέγγιση της μεταβολικής μηχανικής. Σε συνδυασμό με πρόσθετες τεχνικές για τη μεταβολική τροποποίηση μονοπατιών, όπως η κατευθυνόμενη εξέλιξη, οι στόχοι βελτίωσης για την παραγωγή δευτερογενών μεταβολίτων και η παραγωγή νέων προϊόντων μπορεί να επιτευχθεί σχετικά γρήγορα.

Συνεχείς προσπάθειες εφευρίσκουν νέες μεθόδους για τη **"πράσινη οικονομία"**. Ο όρος πράσινη οικονομία περιλαμβάνει όλες τις προσπάθειες που γίνονται για την καλύτερη προστασία του περιβάλλοντος αξιοποιώντας τις φυσικές πηγές. Για παράδειγμα, σαν πηγή ενέργειας χρησιμοποιείται το υδρογόνο, με το οποίο μπορούνε να αναπτυχθούν φιλικές προς

το περιβάλλον βιοχημικές διαδικασίες με στόχο να υποβαθμίσουμε τα επιβλαβή απόβλητα. Σαν λύση για τα παραπάνω είναι η χρησιμοποίηση των βακτηρίων ως χημικοί βιοαντιδραστήρες. Τα βακτήρια που επιλέχτηκαν, για τους λόγους ότι υπάρχουν στο περιβάλλον, αναπαράγονται εύκολα, είναι σχετικά μικρά και απλά και είναι ανανεώσιμη πηγή. Τα βακτήρια χρησιμοποιούνται για την παραγωγή φυσικών προϊόντων (βιταμίνες, αμινοξέα, χρωστικές ουσίες κ.α.), για τη παραγωγή καυσίμων (υδρογόνο, μεθάνιο, αιθανόλη), για τη δημιουργία πλαστικών και το σημαντικότερο απ'όλα την παραγωγή φαρμάκων. Η ανάπτυξη φαρμάκων από τα βακτήρια εισάγει μια νέα εποχή. Μαθηματικά πρότυπα και αναλύσεις ευαισθησίας από τα μεταβολικά συστήματα και τη σύνδεσή τους στη φυσιολογία θα καθοδηγήσει το προσδιορισμό φαρμάκων, με σκοπό τη θεραπεία και τη μείωση των παρενεργειών.

Εκτός από την οικονομία η μεταβολική μηχανική καινοτομεί και στην ιατρική. Βοηθάει στη γρήγορη κατανόηση του φαινοτύπου μέσω των γονιδίων, μπορούν να κατασκευαστούν γενομικές βιβλιοθήκες και να μελετηθεί η αλληλεπίδραση του κυττάρου με το περιβάλλον. Το γονιδίωμα, το μεταγραφόσωμα και το πρωτέωμα είναι τα σημαντικότερα και ισχυρότερα στοιχεία και εργαλεία της βιοπληροφορικής. Οι απαντήσεις για τη σύνδεση των γονιδίων με το φαινότυπο λαμβάνονται μέσα από τη βιοπληροφορική. Η βιοπληροφορική συνδυάζει τη τεχνολογία με την επιστήμη. Επιπλέον υπάρχουν μελέτες σε ερευνητικό επίπεδο ακόμα για τη πρόληψη και θεραπεία διαφόρων τύπου καρκίνου.

Με τη βοήθεια της βιομηχανίας και της μεταβολικής μηχανικής μπορούν να αναπτυχθούν νέοι οργανισμοί οι οποίοι θα περιέχουν υψηλά επίπεδα φυτοχημικών για καλύτερη ποιότητα ζωής και προστασία του περιβάλλοντος. Σαν τελική σκέψη που μπορούμε να κάνουμε είναι να χρησιμοποιήσουμε τη δύναμη της φύσης για να ωφεληθεί η ανθρωπότητα και να διατηρηθεί το περιβάλλον.

6. ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΩΝ ΣΕ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

6.1 ΕΠΙΛΟΓΗ ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΥ ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΟΥΣ

Το μέγεθος της παραγωγής οποιουδήποτε είδους ψαριών εξαρτάται από τις εκάστοτε ανάγκες τις αγοράς. Οι καταναλωτές απαιτούν ψάρια με καλύτερη ποιότητα κρέατος καθώς και με καλύτερη εμφάνιση. Έχοντας στο μυαλό μας την ανάγκη για υγιεινή και ασφαλή τροφή, οι έρευνες σ'αυτόν τον τομέα επικεντρώθηκαν στην αντικατάσταση της κανθαξανθίνης που χρησιμοποιούνταν μέχρι τώρα με φυσική ασταξανθίνη.

Και τα δύο προιόντα χρησιμοποιούνται ήδη στα σολομοειδή με σκοπό την παραγωγή ψαριών με το επιθυμητό κόκκινο χρώμα στη σάρκα τους. Σε γενικές γραμμές η ασταξανθίνη χρησιμοποιείται με καλύτερη απόδοση αποτελεσμάτων σχετικά με την κανθαξανθίνη στην ιριδίζουσα πέστροφα (Foss et. Al., 1984, ; Torrisen et.al., 1986).

6.2 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΕΙΔΗ ΨΑΡΙΩΝ ΠΟΥ ΑΠΟΔΕΙΚΝΥΟΥΝ ΟΤΙ Η ΑΣΤΑΞΑΝΘΙΝΗ ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΤΗΝ ΚΑΛΥΤΕΡΗ ΕΠΙΛΟΓΗ

Η επίδραση της ασταξανθίνης και της κανθαξανθίνης , σε σχέση με το πώς επηρεάζουν την αποθήκευση των χρωστικών στην ιριδίζουσα πέστροφα έχει μελετηθεί από τον Torrisen, (1989). Πιο συγκεκριμένα, παρατήρησε ότι ψάρια με ατομικό βάρος κάτω των 90 γραμμαρίων αποθηκεύουν μικρότερο ποσοστό χρωστικών σε σχέση με αυτά που έχουν βάρος μεγαλύτερο των 90 γραμμαρίων. Η συγκέντρωση καροτενοειδών στο δέρμα τους αυξάνεται παράλληλα με την ανάπτυξη του ψαριού, αλλά σχετικά μειώθηκε σταδιακά για ψάρια με ραγδαία ανάπτυξη.

Το ποσοστό των χρωστικών στο δέρμα της ιριδίζουσας πέστροφας στην οποία δίδονταν ασταξανθίνη ή κανθαξανθίνη σε γλυκό ή αλμυρό νερό μελετήθηκε από τους Storebakken and Choubert (1991). Προσδιόρισαν την επίδραση της θερμοκρασίας του νερού στο μεταβολισμό της ασταξανθίνης στην ιριδίζουσα πέστροφα. Επίσης μετρήθηκαν το χρώμα του δέρματος της πέστροφας (με μετρητές χρώματος) και η σχέση του χρώματος με

τη συγκέντρωση καροτεναειδών , καθώς και το ποσοστό λίπους σε αυτό. Παρατήρησαν ότι η ασταξανθίνη αποτελεί καλύτερη επιλογή σε σχέση με άλλα καροτενοειδή.

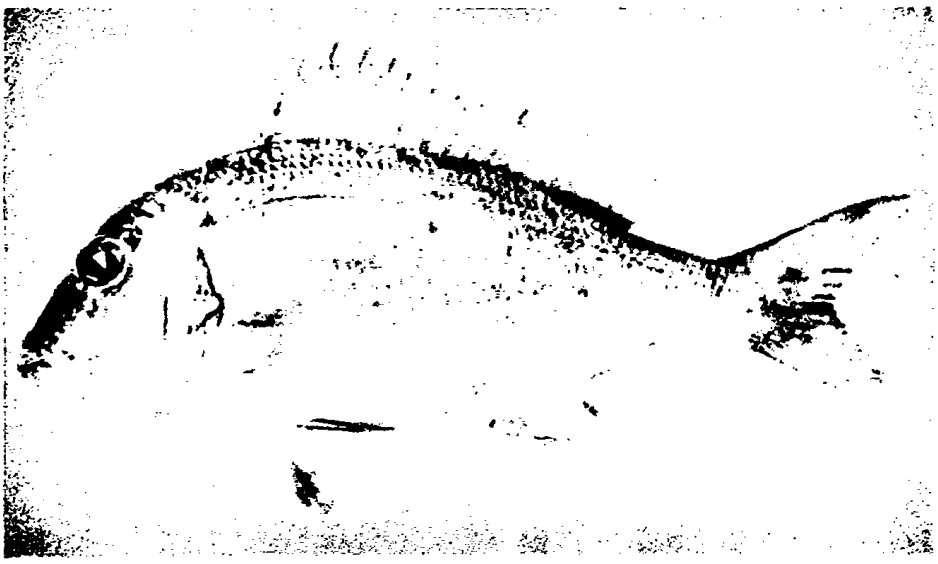
6.3 ΛΟΓΟΙ ΕΠΙΛΟΓΗΣ ΑΣΤΑΞΑΝΘΙΝΗΣ

Με την ασταξανθίνη παρουσιάστηκε μεγάλη βελτίωση στο χρώμα των ψαριών με άμεσο αποτέλεσμα την αύξηση του αγοραστικού ενδιαφέροντος για το συγκεκριμένο είδος ψαριών. Μειώθηκε η θνησιμότητα, βελτιώθηκε το ανοσοποιητικό, η αντοχή στο στρες , η υγεία, η ανάπτυξη, η αναπαραγωγή, η αντιοξειδωτική δραστηριότητα, η δραστηριότητα της προβιταμίνης Α. Ποιο συγκεκριμένα, μετά από έρευνες αποδείχθηκε ότι όταν οι *Penaeus monodon, Tiger Prawn* ταίστηκαν με φυσική ασταξανθίνη που προερχόταν από μικροφύκη, παρουσίασαν βελτίωση στην αντοχή της μεταβολής των επιπέδων της αμμωνίας, στις μεταβολές της θερμοκτασίας, της αλατότητας, σε σχέση με τους οργανισμούς που προσελάμβαναβ συνθετική ασταξανθίνη. Επίσης παρουσιάστηκε βελτίωση στο σολομό του ατλαντικού . Αποδείχθηκε επίσης ότι η χρήση ασταξανθίνης βοήθησε εκτός από τα παραπάνω και στη μετατρεψιμότητα (FRC) της τροφής με ποσοστό αύξησης μέχρι και 30 % που παρατηρήθηκε σε ιριδίζουσες πέστροφες. Ακόμη, μετά από έρευνα του Watanabe (2003) στην Ιαπωνία παρατηρήθηκε ότι εστέρες ασταξανθίνης αυξάνουν την ποσότητα αλλά και την ποιότητα των αυγών. Τέλος βοηθά σημαντικά στην αναπαραγωγική διαδικασία, ενώ αποτελεί ένα πολύ ισχυρό αντιοξειδωτικό και αντιφλεγμονώδες.

6.4 ΦΥΣΙΚΟΣ ΧΡΩΜΑΤΙΣΜΟΣ ΣΕ ΦΑΓΚΡΙ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

6.4.1. ΦΑΓΚΡΙ (*Pargus pargus*)

Φημισμένο ψάρι της οικογένειας των σπαριδών (Pagrus pagrus) που χαρακτηρίζεται από μεγάλο κεφάλι καμπύλο προφίλ της ράχης κοντόχοντρη μουσούδα και στόμα σχετικά πλατύ και πολύ δυνατό με δόντια. Χαρακτηριστικό επίσης είναι το κόκκινο χρώμα της ράχης ενώ τα πλευρά είναι ροζ με αργυρές ανταύγειες. Η κοιλιά έχει χρώμα λευκό ασημί. Τα πτερύγια είναι ροζ ή κόκκινα. Το ραχιαίο πτερύγιο είναι εκτεταμένο και στηρίζεται σε αγκαθωτές ακτίνες στο πρώτο τμήμα όπως και το εδρικό πτερύγιο. Το ουριαίο πτερύγιο είναι δίλοβο. Το φαγκρί συναντιέται σε διάφορες τοποθεσίες σε βραχώδεις βυθούς ανάμεσα στα φύκια και σε βυθούς γυμνωμένους σκεπασμένους με ψιλή άμμο. Είναι πάντως πιο εύκολο να το συναντήσει κανείς σε αμμώδεις βυθούς σε αποχές που συνορεύουν με βράχια σε βάθος 30 έως 80 μέτρων. Μεγάλα φαγκριά μήκους μέχρι 75 εκατ. ψαρεύονται με την καθετή κοντά σε βυθισμένα ναυάγια και σε βάθος μεγαλύτερο από εκατό μέτρα. Το φαγκρί όντας σαρκοφάγο και φυτοφάγο μπορεί να ψαρευτεί με διαφορετικά δολώματα από σκουλήκι της άμμου μέχρι ψαχνό μυδιού με γκρίζα γαριδούλα που είναι το καλύτερο δόλωμα κομματάκι από χταπόδι ή σουπιά με ψαράκι δολωμένο ολόκληρο ή με ένα κομμάτι σαρδέλας. Τα φαγκριά είναι πολυάριθμα στις Ελληνικές ακτές αλλά εξολοθρεύονται συστηματικά από τις τράτες .Ψαρεύεται εύκολα και με δίχτυα μανομένα.



Οικογένεια	*Sparidae*
Τάξη	*Perciformes*
Κλάση	Ακτινοπτερύγιοι
Κοινή ονομασία	Φαγκρί
Μέγεθος	Μέχρι 91 cm . Δημοσιευμένο βάρος 7,720gr
Περιβάλλον	Βενθοπελαγικό. Θαλασσινό εύρος βάθους 0-250 m.
Κλίμα	Υποτροπικό
Σημασία	Αλιεία: Εμπορικό. Υδατοκαλλιέργειες : Εμπορικό. Ενυδρεία
Ελαστικότητα	Ελαχιστος χρόνος για διπλασιασμό πληθυσμού 1,4-4,4 έτη
Κατανομή	Ανατολικός ατλαντικός : Κανάρια νησιά, Γιβλαρτάρ, Μεσόγειος, Βρετανικά νησιά Δυτικός ατλαντικός : Νέα Υόρκη, USA , βόρειος κόλπος του Μεξικού, ηπειρωτική ακτή καραιβικής
Μορφολογία	Ραχιαίες άκανθες : 12. Μαλακές ραχιαίες ακτίνες : 10. Εδρικές άκανθες : 3 . Μαλακές εδρικές ακτίνες : 8. Ροζ ασημένιο χρώμα με κόκκινες αποχρώσεις στην ράχη του σώματος. Ροζ πτερύγια
Βιολογία	Βρίσκεται σε πετρώδη και αμμώδη υποστρώματα (νεογνά μποπρεί να βρεθούν και σε φυκιόνες). Μπορούν να ζήσουν μέχρι και 250 m βάθος, όμως συνήθως τα συναντάμε πάνω από τα 150 m. Τρέφονται με οστρακόδερμα, ψάρια και μαλάκια.

6.4.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΧΡΩΣΗ ΦΑΓΚΡΙΟΥ

Στα εκτατικά και ημιεντατικά συστήματα εκτροφής, τα ψάρια καλύπτουν όλες ή μέρος των γενικών και ειδικών διατροφικών τους αναγκών με τους διαθέσιμους οργανισμούς από το φυσικό τους περιβάλλον. Αντίθετα, στα εντατικά συστήματα η ικανοποίηση αυτών των αναγκών βασίζεται αποκλειστικά στην παροχή ενός διατροφικά πλήρους σιτηρεσίου καθ' όλη τη διάρκεια της εκτροφής.

Σε μονάδες πάχυνσης κόκκινων ψαριών , παρά το γεγονός ότι οι χρησιμοποιούμενες τροφές προέρχονται από εξειδικευμένες βιομηχανίες ιχθυοτροφών , συχνά παρατηρείται σημαντική καθυστέρηση στην ανάπτυξη των εισερχόμενων ιχθυδίων (του γόνου), σημειώνονται εντερίτιδες στα ιχθύδια, ενώ αυξημένα είναι και τα ποσοστά σκελετικών δυσμορφιών κατά την πορεία της εκτροφής των ψαριών. Τα παραπάνω αποτελούν σαφείς ενδείξεις διατροφικής ανεπάρκειας και η μη έγκαιρη αντιμετώπιση του προβλήματος μπορεί να οδηγήσει ακόμη και σε θάνατο. Οι απώλειες αυτές μπορεί να είναι μικρές, αλλά συνήθως είναι συνεχείς ενώ η παρατεταμένη καθυστέρηση της ανάπτυξης έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της εμπορευσιμότητας των ψαριών με συνέπεια την αυξανόμενη οικονομική δυσλειτουργία της μονάδας.

Αναφορικά με τον κόκκινο χρωματισμό του δέρματος , χορηγούνται κόκκινες χρωστικές κατά τους τελευταλιους μήνες της εκτροφής , οι οποίες όμως δεν δίνουν τον επιθυμητό χρωματισμό με αποτέλεσμα τη μείωση της εμπορικής αξίας του εκτρεφόμενου είδους.

6.4.3 ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΤΟΥ ΦΥΚΟΥΣ *Haematococcus pluvialis*

Το *Haematococcus pluvialis* παράγεται σε μονάδα εντατικής καλλιέργειας φυκιών και είναι πλούσιο σε ασταξανθίνη. Στο συγκεκριμένο πείραμα θελήσαμε να δούμε τα αποτελέσατα στο χρωματισμό του ψαριού έναντι της συνθετικής ασταξανθίνης που χρησιμοποιείται συνήθως. Ας σημειωθεί ότι η φυσική ασταξανθίνη που χρησιμοποιήθηκε έχει μελετηθεί εκτενώς από το Αμερικάνικο ινστιτούτο ελέγχου ποτών και τροφίμων και βρέθηκε απόλυτα ασφαλής τόσο για τον οργανισμό που την καταναλώνει άμεσα (φαγκρί), όσο και για τον οργανισμό που την καταναλώσει έμεσα, ο άνθρωπος.

6.4.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΧΡΩΣΗ ΦΑΓΚΡΙΟΥ

Στα εκτατικά και ημιεντατικά συστήματα εκτροφής, τα ψάρια καλύπτουν όλες ή μέρος των γενικών και ειδικών διατροφικών τους αναγκών με τους διαθέσιμους οργανισμούς από το φυσικό τους περιβάλλον. Αντίθετα, στα εντατικά συστήματα η ικανοποίηση αυτών των αναγκών βασίζεται αποκλειστικά στην παροχή ενός διατροφικά πλήρους σιτηρεσίου καθ' όλη τη διάρκεια της εκτροφής.

Σε μονάδες πάχυνσης κόκκινων ψαριών , παρά το γεγονός ότι οι χρησιμοποιούμενες τροφές προέρχονται από εξειδικευμένες βιομηχανίες ιχθυοτροφών , συχνά παρατηρείται σημαντική καθυστέρηση στην ανάπτυξη των εισερχόμενων ιχθυδίων (του γόνου), σημειώνονται εντερίτιδες στα ιχθύδια, ενώ αυξημένα είναι και τα ποσοστά σκελετικών δυσμορφιών κατά την πορεία της εκτροφής των ψαριών. Τα παραπάνω αποτελούν σαφείς ενδείξεις διατροφικής ανεπάρκειας και η μη έγκαιρη αντιμετώπιση του προβλήματος μπορεί να οδηγήσει ακόμη και σε θάνατο. Οι απώλειες αυτές μπορεί να είναι μικρές, αλλά συνήθως είναι συνεχείς ενώ η παρατεταμένη καθυστέρηση της ανάπτυξης έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της εμπορευσιμότητας των ψαριών με συνέπεια την αυξανόμενη οικονομική δυσλειτουργία της μονάδας.

Αναφορικά με τον κόκκινο χρωματισμό του δέρματος , χορηγούνται κόκκινες χρωστικές κατά τους τελευταλιους μήνες της εκτροφής , οι οποίες όμως δεν δίνουν τον επιθυμητό χρωματισμό με αποτέλεσμα τη μείωση της εμπορικής αξίας του εκτρεφόμενου είδους.

6.4.3 ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΤΟΥ ΦΥΚΟΥΣ *Haematococcus pluvialis*

Το *Haematococcus pluvialis* παράγεται σε μονάδα εντατικής καλλιέργειας φυκιών και είναι πλούσιο σε ασταξανθίνη. Στο συγκεκριμένο πείραμα θελήσαμε να δούμε τα αποτελέσματα στο χρωματισμό του ψαριού έναντι της συνθετικής ασταξανθίνης που χρησιμοποιείται συνήθως. Ας σημειωθεί ότι η φυσική ασταξανθίνη που χρησιμοποιήθηκε έχει μελετηθεί εκτενώς από το Αμερικάνικο ινστιτούτο ελέγχου ποτών και τροφίμων και βρέθηκε απόλυτα ασφαλής τόσο για τον οργανισμό που την καταναλώνει άμεσα (φαγκρί), όσο και για τον οργανισμό που την καταναλώσει έμεσα, ο άνθρωπος.

6.4.4 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΚΤΡΟΦΗΣ ΤΩΝ ΙΧΘΥΩΝ

- Ιχθυοκλωβοί : στρογγυλοί, διαμέτρου 12m
- Θερμοκρασία νερού :14'C (min)- 25'C (max)
- Αλατότητα : 34%
- Οξυγόνο :5-8 mg/lt

Αναλυτικά : Στην ανωτέρω μονάδα, που έχει πληθυσμό 200.000 ιχθύων φαγκριού μέσου ατομικού βάρους 120 γραμμαρίων χορηγήθηκε το συγκεκριμένο φύκος ενσωματούμενο στις ιχθυοτροφές σε συγκέντρωση 100 ppm για το διάστημα των τελευταίων 40 ημερών (πριν την εξαλίευση των ιχθυοπληθυσμών) .

Πληθυσμοί ιχθύων ίδιας προέλευσης και ίσου πληθυσμού στους οποίους χρησιμοποιήθηκαν μόνο οι εμπορικές ιχθυοτροφές, ακριβώς ίδιες όσον αφορά το περιεχόμενό τους σε ιχνοστοιχεία και θρεπτικά συστατικά χωρίς όμως τη χορήγηση της χρωστικής στην τροφή τους, χρησίμευσαν ως μάρτυρες .

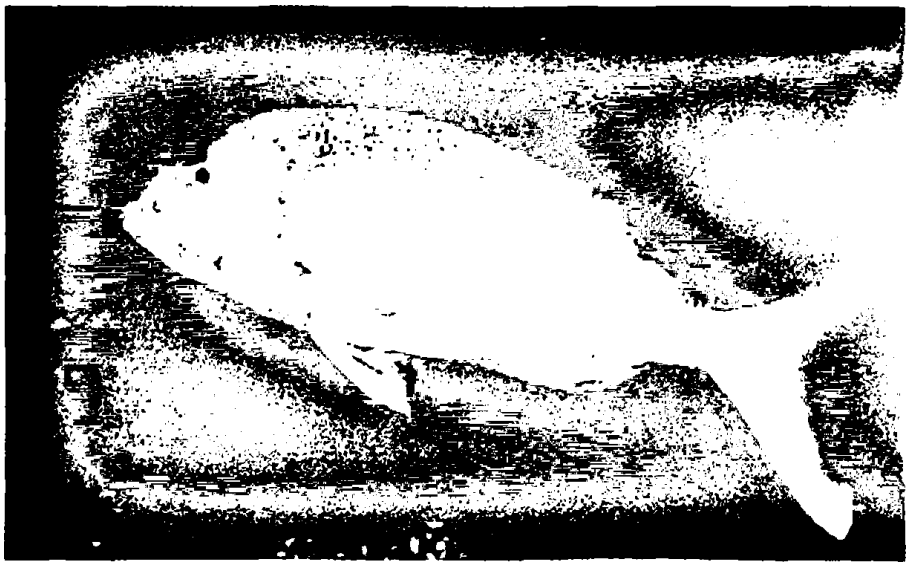
Η θερμοκρασία, η αλατότητα και ο φωτισμός ήταν αυστηρά ελεγχόμενος και ίδιος και στις δύο ομάδες του πειράματος καθ'όλη τη διάρκεια με όρια που εξασφαλίζαν ιδανικές συνθήκες ανάπτυξης και εκτροφής.

6.4.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην ομάδα των ιχθύων, στην οποία χορηγήθηκε ιχθυοτροφή εμπλουτισμένη με τη χρωστική παρατηρήθηκε ομοιόμορφος ερυθρός χρωματισμός του δέρματος και απεικόνιση ομοιάζουσα αυτής των ελεύθερα διαβιόντων (άγριων) πληθυσμών (εικόνα 30) .

Εικόνα 30: Ομοιόμορφος ερυθρός χρωματισμός στο φαγκρί

Σε αντίθεση με τα παραπάνω, οι χρησιμοποιούμενοι ω φυσιολογικά, χωρίς όμως να παρατηρηθούν αλλαγές στο χρωμ (εικόνα 31).



Εικόνα 31 : Φαγκρί αγρίου τύπου που χρησιμοποιήθηκε ως μάρτι

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βιβλιογραφία

Ausich R. L., 1997. **Commercial opportunities for carotenoid production by biotechnology.** Pure &Applied Chemistry 69, 10:2169-2173.

Bailey, J. E., 1991. **Toward a science of metabolic engineering.** Science, 252: 1668-1675.

Becker J. V.W, Armstrong G. O., Merwe M. J., Lambrechts M. G., Vivier M. A., Pretorius I.S., 2003. **Metabolic engineering of Saccharomyces cerevisiae for the synthesis of the wine-related antioxidant resveratrol**. FEMS Yeast Research, 4 :79-85.

Boer A. L. and Schmidt-Danner C., 2003. **Recent efforts in engineering microbial cells to produce new chemical compounds.** Current Opinion in Chemical Biology, 7:273–278.

Bone R.A. et al., 2003. **Lutein and zeaxanthin dietary supplements raise macular pigment density and serum concentrations of these carotenoids in humans.** Journal of Nutrition, 133: 992-998.

Britton G.,1998. **Carotenoids: biosynthesis and metabolism.** Birkhäuser Basel, 13–47.

Business Communications Company RGA-110, 2000.**The Global market for carotenoids.** Business Communications Company, Norwalk, Conn.

Capell T. and Christou P., 2004. **Progress in plant metabolic engineering** Current Opinion in Biotechnology, 15:148–154.

Dekker M., 2004. **Phytochemicals in health and disease.** Free Radical Biology & Medicine 37, 12:2082.

Farmer W. R. and Liao J. C., 2000. **Improving lycopene production in Escherichia coli by engineering metabolic control.** Nature Biotechnology, 18: 533-537 .

Gale C.R. et al.,2003. **Lutein and zeaxanthin status and risk of age-related macular degeneration.** Invest Ophthalmol Vis, Sci 44: 2461-2465.

Grusak M. A., 2002. **Phytochemicals in plants: genomics-assisted plant improvement for nutritional and health benefits.** Current Opinion in Biotechnology, 13:508–511.

Hankinson S.E., Stampfer M.J., Seddon J.M., et al.,1992. **Nutrient intake and cataract extraction in women: a prospective study**. 335–339.

Hopwood, D. A., Malpartida, F., Kieser H. M., Ikeda H., Duncan J., Fuji I., Rudd B. A., Floss H. G. and Omura S.,1985. **Production of hybrid antibiotics by genetic engineering.** Nature, 314:642-644.

Kristal A.R., Cohen J.H., 2000. **Invited commentary: tomatoes, lycopene, and prostate cancer. How strong is the evidence?** Am J Epidemiol; 151:124-127

Lee P.C. and Schmidt-Dannert C., 2002. Metabolic engineering towards biotechnological production of carotenoids in microorganisms Apply Microbiological Biotechnology, 60:1–11

Lee-Sang Yup.,1999. **Metabolic Engineering** . Biotechnology & Bioengineering, 53:132-137.

Lessard P.,1996. **Metabolic engineering, the concept coalesces.** Nature Biotechnology, 14: 1654-1655.

Mozaffarieh M. et al., 2003. **The role of carotenoids, lutein and zeaxanthin, in protecting against age-related macular degeneration: a review based on controversial evidence.** Nutritional Journal, 2:20.

Norrish A.E., Jackson R.T., Sharpe S.J., Skeaff C.M.,2000. **Prostate cancer and dietary carotenoids.** Am J Epidemiol, 151:119–123

Oleszek W., 2002. **Dietary phytochemicals and human health.** Phytochemistry Reviews, 1: 163–166.

Roodenburg A.J., Leenen R., Hof K.H., et al.,2000. **Amount of fat in the diet affects bioavailability of lutein esters but not of alpha-carotene, beta-carotene, and vitamin E in humans.** Am J Clinical Nutritional , 71:1187–1193.

Seddon J.M., Ajani U.A., Sperduto R.D., et al.,1994. **Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration.** JAMA , 272:1413–1420.

Stephanopoulos G., 1999. **Metabolic fluxes and metabolic engineering.** Metabolic. Engineering , 1 1-11.

Stephanopoulos G. and Vallino J.J., 1991. **Network rigidity and metabolic engineering in metabolite overproduction.** Science, 252:1675-1681.

Strohl W. R., 2001. **Biochemical Engineering of Natural Product Biosynthesis Pathways.** Metabolic Engineering, 3:4-14

Martin V. J.J., Pitera D. J., Withers S.T., Newman J. D. and Keasling J. D., 2003. **Enginnering a mevalonate pathway in Escherichia coli for proctuction of terpenoids.** Nature Biotechnology 21, 7:796-802

Vershinin A., 1999. **Biological functions of carotenoids–diversity and evolution.** Biofactors, 10:99–104

Bruneton J. (1995). **Pharmacognosy - Phytochemistry Medicinal plants** pp. 265-311, Technique and Documentation - Lavoisier, Paris.

Dey P.M. and Harborne J.B. (1989). **Methods in Plant Biochemistry** Vol. I pp. 197-441, Academic Press, London.

Markham K.R. (1982). **Techniques of Flavonoid Identification**, Academic Press London, New York.

Trease G.E., and Evans W.C. (1985). **Pharmacognosy, ed. 12th, pp. 411-414**, Baillíere Tindal, London.

Wijesekera R.O.B. (1991). **The Medicine Plant Industry, pp. 115-118**, CRC Press, Boca Raton Ann. Arbor Boston London.

Foss, P., Storebakken, T.,Austreng, E., Liaaen-Jensen, S., Austreng, E., Streiff, K., 1984. **Carotenoids in diets for salmonids** : V . Pigmentation of rainbow trout and sea trout with astaxanthin and astaxanthin dipalmitatein comparison with canthaxanthin. Aquaculture 65, 93-305.

Storebakken, T., Choubert, G., 1991. Flesh pigmentation of rainbow trout fed astaxanthin or canthaxanthin at different feeding rates in freshwater and saltwater. Aquaculture 95, 289-295.

Ελληνική βιβλιογραφία

Καράταλγης Σ., 1994. **Φυσιολογία φυτών.** Κεφάλαιο 10, σελ:365-414.

Ρουμπελάκη-Αγγελάκη Κ., 2003. **Φυσιολογία φυτών από το μόριο στο περιβάλλον.** Κεφάλαιο 10, σελ:333-354.