



Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
Σχολή Θετικών Επιστημών
Τμήμα Χημείας
Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων

Μελέτη επίδρασης προσθήκης φυτικών προϊόντων σε ποιοτικά χαρακτηριστικά ελαιολάδου και τσίπουρου



Ιωάννα Κ. Κουκουλάκη

Χημικός

Ιωάννινα 2023

Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών (ΠΜΣ) στη «Χημεία» του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, με ειδίκευση σε «Αναλυτική Χημεία, Χημεία και Τεχνολογία Περιβάλλοντος και Τροφίμων».

Η ανάθεση του θέματος και η επίβλεψη της μεταπτυχιακής εργασίας έγινε από τον καθηγητή κ. Ρούσση Ιωάννη, στον οποίο θα ήθελα να εκφράσω θερμές ευχαριστίες για την πολύτιμη καθοδήγησή του, καθώς και την συνολικά εξαιρετική συνεργασία μας, καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης και, γενικότερα, της μεταπτυχιακής εκπαίδευσης.

Κατόπιν, θα ήθελα να ευχαριστήσω το μέλος ΕΔΙΠ κ. Πυπερίδη Χριστίνα και το μέλος ΙΔΑΧ κ. Καλλιμάνη Αριστείδη, για την παροχή βοήθειας εργαστηριακής τεχνικής φύσης, όταν τους ζητήθηκε. Θα ήταν παράλειψη να μην ευχαριστήσω τις συναδέλφους μου στο Ερευνητικό Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων (αλφαβητικά) Δημητρίου Μαριάνθη, Σιώζου Αικατερίνη, Σουλτσιώτου Αποστολία και Χλη Σοφία, για την άψογη συνεργασία και υποστήριξη σε όλα τα επίπεδα.

Έπειτα, οφείλω θερμές ευχαριστίες από καρδιάς στους γονείς μου, Κώστα και Σοφία, και στην αδελφή μου, Κατερίνα, οι οποίοι μου προσέφεραν τα μέγιστα κατά τη διάρκεια των σπουδών μου, τόσο ηθικά όσο και υλικά, και έκαναν τα αδύνατα δυνατά σε όλη αυτή τη διαδρομή.

Τέλος, επιθυμώ να ευχαριστήσω τα πολυαγαπημένα μου πρόσωπα, Μάριο, Ελένη, Διονυσία και Υβόννη, για την ανιδιοτελή υποστήριξη τους και για το γεγονός ότι πλαισίωσαν τα φοιτητικά μου χρόνια με τα πιο χαρούμενα χρώματα. Με την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής εργασίας, επικυρώνεται το κλείσιμο ενός ακόμη ακαδημαϊκού κύκλου, πλούσιου σε γνώσεις και εμπειρίες.

Το τμήμα της μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας που αφορά στην ανάπτυξη προϊόντων τσίπουρου υλοποιήθηκε στο πλαίσιο της πράξης «Ανάπτυξη ερευνητικών υποδομών για τον σχεδιασμό, την παραγωγή και την ανάδειξη των χαρακτηριστικών ποιότητας και ασφάλειας αγροδιατροφικών και βιολειτουργικών προϊόντων (ΕΥ-ΑΓΡΟΔΙΑΤΡΟΦΗ)» (MIS 5047235) που εντάσσεται στη δράση «Ενίσχυση των Υποδομών Έρευνας και Καινοτομίας» και χρηματοδοτείται από το Επιχειρησιακό Πρόγραμμα «Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα και Καινοτομία» στο πλαίσιο του ΕΣΠΑ 2014-2020, με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης).

Ιωάννα Κουκουλάκη

Περιεχόμενα

Περίληψη	6
A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	7
A.1. Ελαιόλαδο	7
A.1.1. Εισαγωγή	7
A.1.2. Παραγωγή ελαιολάδου	7
A.1.3. Κατηγορίες ελαιολάδου	9
A.1.4. Χημική σύσταση ελαιολάδου	11
A.1.5. Αλλοιώσεις ελαιολάδου	14
A.1.6. Μέθοδοι ανάλυσης ελαιολάδου – Αρχές μεθόδων.....	17
A.2. Μαστίχα Χίου	24
A.2.1. Εισαγωγή	24
A.2.2. Παραγωγή και συλλογή μαστίχας Χίου	24
A.2.3. Χημική σύσταση μαστίχας Χίου	26
A.2.4. Βιοδράσεις μαστίχας Χίου.....	28
A.3. Κρόκος Κοζάνης.....	39
A.3.1. Εισαγωγή	39
A.3.2. Παραγωγή κρόκου Κοζάνης	40
A.3.3. Χημική σύσταση κρόκου Κοζάνης.....	41
A.3.4. Βιοδράσεις κρόκου Κοζάνης	43
A.4. Εμπλουτισμός ελαιολάδου	47
A.5. Τσίπουρο	50
A.5.1. Εισαγωγή	50
A.5.2. Παραγωγή τσίπουρου	50
A.5.3. Χημική σύσταση τσίπουρου.....	51
A.5.4. Μέθοδοι ανάλυσης τσίπουρου – Αρχές μεθόδων.....	53
A.6. Ροδόνηρο	56
A.6.1. Εισαγωγή	56
A.6.2. Παραγωγή ροδόνηρου	57
A.6.3. Χημική σύσταση ροδόνηρου	57
A.6.4. Βιοδράσεις ροδόνηρου	57
A.7. Εμπλουτισμός τσίπουρου	59
A.8. Σκοπός	60
B. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	61

B.1. Αντιδραστήρια – Σκεύη – Όργανα – Προϊόντα	61
B.1.1. Αντιδραστήρια πειράματος εμπλουτισμού ελαιολάδου	61
B.1.2. Αντιδραστήρια πειράματος εμπλουτισμού τσίπουρου	62
B.2. Πειραματική διαδικασία.....	64
B.2.1. Ανάπτυξη προϊόντων εμπλουτισμένου ελαιολάδου	64
B.2.2. Ανάπτυξη προϊόντων εμπλουτισμένου τσίπουρου	64
B.3. Μέθοδοι ανάλυσης	65
B.3.1. Αναλύσεις ελαιολάδου	65
B.3.2. Αναλύσεις μαστιχέλαιου	75
B.3.3. Αναλύσεις τσίπουρου και προϊόντων τσίπουρου με ροδόνερο	76
B.3.4. Αναλύσεις ροδόνερου	81
B.4. Επεξεργασία αποτελεσμάτων	82
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	83
Γ.1. Εμπλουτισμένο ελαιόλαδο.....	83
Γ.1.1. Αντιοξειδωτική δράση μαστιχέλαιου Χίου	83
Γ.1.2. Ποιοτικά χαρακτηριστικά ελαιολάδου	83
Γ.1.3. Ποιοτικά χαρακτηριστικά ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων	84
Γ.1.4. Αντιοξειδωτική δράση και Σταθερότητα στην οξείδωση σε θερμική κατεργασία ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων.....	89
Γ.1.5. Βιοδράσεις πολικών εκχυλισμάτων ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων ..	95
Γ.2. Προϊόν τσίπουρου	99
Γ.2.1. Βασική σύσταση και αντιοξειδωτική δράση ροδόνερου	99
Γ.2.2. Βασική σύσταση και αντιοξειδωτική δράση τσίπουρου	100
Γ.2.3. Βασική σύσταση προϊόντων τσίπουρου	102
Γ.2.4. Αντιοξειδωτική δράση προϊόντων τσίπουρου	102
Γ.2.5. Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά προϊόντων τσίπουρου	107
Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	108
Δ.1. Εμπλουτισμένο ελαιόλαδο	108
Δ.2. Προϊόν τσίπουρου	111
Ε. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	112
Ε.1. Εμπλουτισμένο ελαιόλαδο	112
Ε.2. Προϊόν τσίπουρου	112
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	113

Περίληψη

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή αναπτύχθηκαν νέα προϊόντα με προσθήκη φυτικών προϊόντων, τα οποία είναι εμπλουτισμένα ελαιόλαδα και προϊόντα τσίπουρου.

Σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο προστέθηκε κρόκος Κοζάνης, σε δύο συγκεντρώσεις για δύο διαφορετικούς χρόνους εκχύλισης. Επίσης, προστέθηκε αιθέριο έλαιο μαστίχας Χίου σε σταθερή συγκέντρωση.

Στο ελαιόλαδο και στα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα μελετήθηκαν η αντιοξειδωτική δράση και βιοδράσεις τους (δέσμευση ριζών υδροξυλίου, αντιφλεγμονώδης δράση), όπως και η αντοχή τους στην οξείδωση στους 120 °C και 180 °C.

Τα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα, σε σχέση με το ελαιόλαδο, παρουσίασαν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση (μέθοδοι Folin, FRAP, DPPH). Επιπλέον, παρουσίασαν μεγαλύτερη δέσμευση ριζών υδροξυλίου και ισχυρότερη αντιφλεγμονώδη δράση. Επίσης, τα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα παρουσίασαν υψηλότερη οξειδωτική σταθερότητα στους 120 °C και 180 °C, όπως προσδιορίστηκε με μέτρηση της απορρόφησης στα 234 και 270 nm (αποτίμηση πρωτογενούς και δευτερογενούς οξείδωσης).

Σε τσίπουρο προστέθηκε ροδόνηρο σε δύο συγκεντρώσεις και αναπτύχθηκαν νέα προϊόντα τσίπουρου με χαμηλό αλκοολικό βαθμό (30% vol). Τα δείγματα αναλύθηκαν σε χρόνο 0 και μετά από 30 και 60 ημέρες παραμονής στους 20 °C. Τα προϊόντα τσίπουρου με ροδόνηρο παρουσίασαν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση (μέθοδοι Folin, FRAP, DPPH) σε σύγκριση με το προϊόν τσίπουρου (30% vol) και το αρχικό τσίπουρο (40% vol).

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A.1. Ελαιόλαδο

A.1.1. Εισαγωγή

Η προέλευση της ελιάς χάνεται στα βάθη των χρόνων, σχετίζεται ωστόσο με την επέκταση των μεσογειακών πολιτισμών. Η αφετηρία της καλλιέργειας της ελιάς στην Ελλάδα ήταν τον 16^ο αιώνα π.Χ., όταν οι Φοίνικες άρχισαν να διαδίδουν την ελιά στα νησιά και αργότερα στην ηπειρωτική Ελλάδα. Από τον 6ο αιώνα π.Χ. και έπειτα, η ελιά εξαπλώθηκε σε όλες τις μεσογειακές χώρες φτάνοντας στην Τρίπολη, την Τύνιδα και το νησί της Σικελίας. Από εκεί, μετακόμισε στη νότια Ιταλία και σύντομα εξαπλώθηκε σε όλη την έκταση της χώρας. Οι Ρωμαίοι συνέχισαν τη διάδοση της ελιάς στις χώρες που συνόρευαν με τη Μεσόγειο. Με την ανακάλυψη της Αμερικής, η διάδοση της ελιάς ξεπέρασε τα όρια της Μεσογείου και έφτασε να καλλιεργείται σε χώρες όπως το Μεξικό, το Περού, η Αργεντινή κ.ά.. Στις μέρες μας, η ελιά συνέχισε να εξαπλώνεται εκτός της Μεσογείου και σήμερα καλλιεργείται σε χώρες που απέχουν αρκετά από εκείνη, όπως η νότια Αφρική, η Αυστραλία, η Ιαπωνία και η Κίνα (1).

Το ελαιόλαδο είναι ο φυσικός χυμός που λαμβάνεται από τον καρπό της ελιάς που ανήκει στο είδος *Olea europaea* L. (2). Το ελαιόλαδο είναι βασικό στοιχείο της Μεσογειακής διατροφής, της οποίας η δημοτικότητα έχει εξαπλωθεί παγκοσμίως λόγω των αναγνωρισμένων θετικών επιπτώσεων στην υγεία και την ευημερία των καταναλωτών (3). Η συνολική παραγωγή του ελαιολάδου έχει τριπλασιαστεί τα τελευταία 60 χρόνια. Η παραγωγή για το καλλιεργητικό έτος 2021-22 ανέρχεται σε 3.098.500 τόνους. Κατά το έτος 2020-21, οι χώρες-μέλη του IOC παρήγαγαν 2.809.500 τόνους ελαιόλαδου, με την Ελλάδα να κατέχει τη δεύτερη μεγαλύτερη παραγωγή, μετά από εκείνη της Ισπανίας (1).

A.1.2. Παραγωγή ελαιολάδου

Οι μέθοδοι συγκομιδής της ελιάς έχουν παραμείνει σχεδόν αμετάβλητες για πολλούς αιώνες. Παραδοσιακά, οι ελιές για εξαγωγή λαδιού συλλέγονται είτε χτυπώντας τα κλαδιά των δέντρων με μακριά κοντάρια είτε απλώνοντας δίχτυα κάτω από τα δέντρα ορισμένων ποικιλιών, με τους καρπούς να πέφτουν σε αυτά με φυσικό τρόπο. Η συλλογή των ελιών γίνεται κατά το δυνατόν στο βέλτιστο στάδιο ωριμότητας, από το οποίο και έπειτα ο καρπός αφυδατώνεται και η οξύτητα αυξάνεται (4).

Τα κυριότερα στάδια παραγωγής ελαιολάδου είναι τα ακόλουθα:

- *Πλύσιμο – Αποφύλλωση*

Οι καρποί διέρχονται από δονούμενο μηχάνημα με φυσητήρα, όπου αφαιρούνται τα φύλλα και άλλα τυχόν σώματα. Κατόπιν πλένονται, εφόσον έχουν συλλεχθεί από το έδαφος ή φέρουν υπολείμματα φυτοφαρμάκων.

- *Άλεσμα – Σύνθλιψη*

Λαμβάνει χώρα θραύση των καρπών, ώστε να σπάσουν τα κύτταρα και να απελευθερωθεί το έλαιο για εκχύλιση. Χρησιμοποιούνται δύο τύποι σύνθλιψης, ο *πετρόμυλος* και ο *σφυρόμυλος*. Ο πετρόμυλος αποτελεί παλαιότερη τεχνική, με τα πλεονεκτήματα ωστόσο της αργής κίνησης των πέτρινων σπαστήρων που δεν οδηγεί σε ανάπτυξη θερμότητας και της καλύτερης εκχύλισης. Ωστόσο, διακρίνεται για τη βραδύτητα, τον μεγάλο όγκο των μηχανημάτων και το υψηλό κόστος. Από την άλλη πλευρά, ο σφυρόμυλος έχει μεγαλύτερη απόδοση και μικρότερο κόστος, αλλά η γρήγορη σύνθλιψη των καρπών επιφέρει περισσότερη γαλακτοματοποίηση της ελαιομάζας και υψηλότερες θερμοκρασίες.

- *Μάλαξη*

Αποτελεί το στάδιο προετοιμασίας της ελαιομάζας για διαχωρισμό του ελαίου και γίνεται για την αντιμετώπιση της δημιουργίας γαλακτωμάτων κατά τη σύνθλιψη. Οι μαλακτήρες αναδεύουν αργά την ελαιομάζα για 30-60 λεπτά, ενώ η θερμοκρασία πρέπει να ελέγχεται συνεχώς και να μην υπερβαίνει τους 30 °C, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει στην απώλεια του φρουτώδους αρώματος, στην αύξηση της στυφότητας και της πικρότητας.

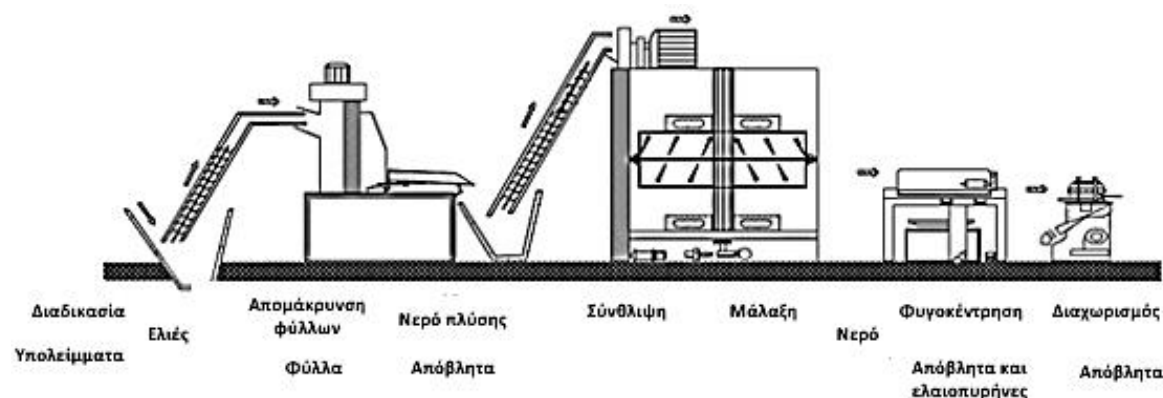
- *Παραλαβή του ελαιολάδου από την ελαιοζύμη*

Το έλαιο μπορεί να εξαχθεί με συμπίεση, φυγοκέντρηση, εκλεκτική διήθηση ή με συνδυασμό μεθόδων. Η συμπίεση αποτελεί την παλαιότερη τεχνική, που απαιτεί ωστόσο περισσότερη εργασία και υπάρχει κίνδυνος μόλυνσης από ζύμες και οξείδωσης του ελαίου. Η φυγοκέντρηση βασίζεται στη διαφορά του ειδικού βάρους που παρουσιάζουν τα συστατικά της ελαιοζύμης (ελαιόλαδο, νερό και στερεά συστατικά) και διακρίνεται σε δύο συστήματα· το τριφασικό και το διφασικό. Στο τριφασικό σύστημα, προστίθεται νερό ώστε να έχει μεγαλύτερη ρευστότητα η ελαιομάζα, γεγονός που οδηγεί σε κάποια απώλεια γεύσης και αντιοξειδωτικών. Στο διφασικό σύστημα από την άλλη, δεν προστίθεται νερό, οι πολυφαινόλες διατηρούνται και προκύπτουν ελαιόλαδα με υψηλότερα επίπεδα φρουτώδους, πικρότητας, πικάντικου κλπ. Η εκλεκτική διήθηση (διαδικασία *sino/lea*) βασίζεται στην διαφορά της επιφανειακής τάσης του ελαίου και του νερού, όταν έρχονται σε

επαφή με πλάκα χάλυβα. Η πλάκα αυτή βυθιζόμενη στην ελαιομάζα επικαλύπτεται από λάδι λόγω της χαμηλότερης επιφανειακής τάσης του σε σχέση με το νερό (5).

- Διήθηση, αποθήκευση και εμφιάλωση

Μετά την επεξεργασία, το λάδι αποθηκεύεται σε δοχεία για 1 έως 3 μήνες για περαιτέρω διαχωρισμό των εναπομεινάντων σωματιδίων και του ελαίου, διαδικασία που αποτρέπει τη δημιουργία ιζήματος στο μπουκάλι. Σε ορισμένες περιπτώσεις, εφαρμόζεται και φιλτράρισμα πριν από την εμφιάλωση (6).



Εικόνα 1. Μοντέρνο σύστημα ελαιόμυλου με φυγοκέντρηση (5).

A.1.3. Κατηγορίες ελαιολάδου

Σύμφωνα με τον ορισμό του Διεθνούς Συμβουλίου του Ελαιολάδου, «παρθένα ελαιόλαδα καλούνται τα έλαια που λαμβάνονται από τον καρπό της ελιάς (*Olea europaea* L.) αποκλειστικά με μηχανικά ή άλλα φυσικά μέσα υπό συνθήκες, ιδιαίτερα θερμικές, που δεν οδηγούν σε αλλοιώσεις στο λάδι και δεν έχουν υποστεί καμία επεξεργασία εκτός από το πλύσιμο, τη μετάγγιση, τη φυγοκέντρηση και τη διήθηση» (1). Οι κατηγορίες του παρθένου ελαιολάδου είναι οι εξής (1,7):

- Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο

Είναι το ελαιόλαδο του οποίου η οξύτητα, εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 0,8% (w/w), ο αριθμός των υπεροξειδίων εκφρασμένος σε meq O₂/Kg ελαίου είναι μικρότερος ή ίσος του 20, η σταθερά K₂₇₀ μικρότερη ή ίση με 0,22 και η σταθερά ΔK μικρότερη ή ίση με 0,01. Επίσης κατά την οργανοληπτική αξιολόγηση η τιμή του φρουτώδους είναι μεγαλύτερη από μηδέν και η τιμή ελαττώματος είναι ίση με μηδέν.

- *Παρθένο ελαιόλαδο*

Είναι το ελαιόλαδο του οποίου η οξύτητα εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 2% (w/w), ο αριθμός υπεροξειδίων και η τιμή ΔΚ καθορίζονται όπως στο εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο ενώ τη τιμή K_{270} είναι 0,25. Κατά την οργανοληπτική αξιολόγηση η τιμή του φρουτώδους είναι μεγαλύτερη από μηδέν και η τιμή του ελαττώματος είναι μικρότερη ή ίση με 3,5.

- *Μειονεκτικό ελαιόλαδο (Lampante)*

Είναι το ελαιόλαδο με οξύτητα εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ υψηλότερη από 2%. Το ελαιόλαδο Λαμπάντε είναι ακατάλληλο για κατανάλωση ως έχει και προορίζεται για ραφινάρισμα ή για βιομηχανική χρήση. Στο σημείο αυτό να σημειωθεί ότι το Διεθνές Συμβούλιο Ελαιολάδου (1) διατηρεί την κατηγορία κοινό παρθένο ελαιόλαδο, με οξύτητα εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ μικρότερη ή ίση με 3,3% και για τις τιμές ΔΚ και Κ ισχύουν αυτές του παρθένου ελαιολάδου, όμως η κατηγορία αυτή έχει καταργηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση.

- *Ραφιναρισμένο (εξευγενισμένο) ελαιόλαδο*

Είναι το ελαιόλαδο που έχει διορθωθεί με επεξεργασία, χωρίς ωστόσο να προκαλούνται αλλαγές στην αρχική δομή των τριγλυκεριδίων. Η ελεύθερη οξύτητά του εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ, δεν υπερβαίνει το 0,3%, ο αριθμός υπεροξειδίων είναι μικρότερος ή ίσος με 5, η σταθερά K_{270} είναι μικρότερη ή ίση με 1,25 και η σταθερά ΔΚ είναι μικρότερη ή ίση με 0,16.

- *Ελαιόλαδο*

Είναι το ελαιόλαδο που προκύπτει από την ανάμειξη εξευγενισμένου και παρθένου ελαιολάδου (εκτός του Λαμπάντε) και του οποίου η οξύτητα εκφρασμένη σε ελαϊκό οξύ δεν υπερβαίνει το 1%, ο αριθμός των υπεροξειδίων είναι ίσος ή μικρότερος του 15, η σταθερά K_{270} μικρότερη ή ίση με 1,15 και η σταθερά ΔΚ μικρότερη ή ίση με 0,15.

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά ποιότητας ελαιολάδου (7)

Κατηγορία	Οξύτητα	Αριθμός υπεροξειδίων	K_{232}	K_{270}	ΔΚ	Οργανοληπτική αξιολόγηση	
						Ενδιάμεση τιμή φρουτώδους	Ενδιάμεση τιμή ελαττωμάτων
Εξαιρετικό	≤0,8	≤20	≤2,50	≤0,22	≤0,01	>0	=0

παρθένο							
Παρθένο	≤2,0	≤20	≤2,60	≤0,25	≤0,01	>0	≤3,5
Κοινό	≤3,3	≤20	≤2,60	≤0,25	≤0,01	0	≤3,5
Λαμπάντε	>2	-	-	-	-	-	>3,5
Ραφινρισμένο (Εξευγενισμένο)	≤0,3	≤5	-	≤1,25	≤0,16	-	-
Ελαιόλαδο	≤1,0	≤15	-	≤1,15	≤0,15	-	-

Α.1.4. Χημική σύσταση ελαιολάδου

Η σύνθεση του ελαιολάδου αποτελείται πρωτίστως από τριακυλογλυκερόλες (~99%) και δευτερευόντως από ελεύθερα λιπαρά οξέα, μονο- και διακυλογλυκερόλες και μια σειρά λιπιδίων όπως υδρογονάνθρακες, στερόλες, αλειφατικές αλκοόλες, τοκοφερόλες και χρωστικές. Εντοπίζονται επίσης μια πληθώρα φαινολικών ενώσεων, καθώς και πτητικών ενώσεων. Μερικές από αυτές τις ενώσεις συμβάλλουν στον μοναδικό χαρακτήρα του λαδιού (8). Επιπρόσθετα, τα συστατικά του ελαιολάδου μπορούν να χωριστούν σε δύο κλάσματα· το σαπωνοποιήσιμο, στο οποίο ανήκουν οι τριακυλογλυκερόλες, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και τα φωσφατίδια, και το μη σαπωνοποιήσιμο, όπως οι υδρογονάνθρακες και οι λιπαρές αλκοόλες (9).



Εικόνα 2. Σύσταση ελαιολάδου (10).

Σαπωνοποιήσιμο κλάσμα

Το σαπωνοποιήσιμο κλάσμα αποτελείται κυρίως από τριγλυκερίδια, η διάσπαση των οποίων οδηγεί στην παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων. Τα τριγλυκερίδια είναι υπεύθυνα για την λιπαρή αίσθηση στην υφή και στο στόμα, ενώ τα ελεύθερα λιπαρά οξέα είναι υπεύθυνα για την οξύτητα (10). Τα κύρια λιπαρά οξέα που απαντώνται ως γλυκερίδια στο ελαιόλαδο είναι πρωτίστως το ελαϊκό (18:1) και έπειτα, το λινελαϊκό (18:2), το παλμιτολεϊκό (16:1), το παλμιτικό (16:0) και το στεατικό (18:0) (4). Η σύνθεση των λιπαρών οξέων μπορεί να διαφέρει από δείγμα σε δείγμα, καθώς εξαρτάται από τη ζώνη παραγωγής, το γεωγραφικό πλάτος, το κλίμα, την ποικιλία και το στάδιο ωρίμανσης του καρπού της ελιάς. Τα τριγλυκερίδια με τη μεγαλύτερη αναλογία στο ελαιόλαδο είναι εκείνα που περιέχουν τρία μόρια ελαϊκού οξέος (OOO, 40-59%), δύο μόρια ελαϊκού οξέος και ένα παλμιτικό (POO, 12-20%) ή λινελαϊκό (OOL, 12,5-20%) ή στεατικό (SOO, 3-7%) και τέλος εκείνα που σχηματίζονται από ένα μόριο παλμιτικό, ελαϊκό και λινελαϊκό (POL, 5,5-7%) (8). Τέλος, το ελαιόλαδο περιέχει μια μικρή ποσότητα φωσφολιπιδίων (φωσφατιδυλοχολίνη και φωσφατιδυλαιθανολαμίνη), που κυμαίνεται από 40 έως 135 ppm (4).

Ασωπονοποίητο κλάσμα

- Υδρογονάνθρακες

Οι υδρογονάνθρακες που απαντώνται στο ελαιόλαδο σε μεγαλύτερη συγκέντρωση είναι το σκουαλένιο και το β-καροτένιο. Το σκουαλένιο, που αποτελεί πρόδρομη ένωση των στερολών, ευθύνεται σε μεγάλο βαθμό για τις θετικές επιδράσεις του ελαιολάδου στην υγεία και σχετίζεται με χημειοπροστατευτική δράση έναντι ορισμένων μορφών καρκίνου. Η περιεκτικότητα του ελαιολάδου σε σκουαλένιο κυμαίνεται από 200 έως 7500 mg ανά Kg ελαιολάδου (8). Το β-καροτένιο, παρόλο που εντοπίζεται σε μικρές ποσότητες (0,3-3,6 mg/Kg ελαιολάδου), έχει αποδειχθεί ότι δεσμεύει το μονήρες οξυγόνο και ως εκ τούτου, αναστέλλει την οξείδωση των λιπιδίων που προκαλείται από αυτό (4).

- Στερόλες

Οι στερόλες είναι λιπίδια που σχετίζονται με την ποιότητα του ελαίου και χρησιμοποιούνται ευρέως για τον έλεγχο της αυθεντικότητάς του. Στο ελαιόλαδο υπάρχουν τέσσερις κατηγορίες στερολών: οι κοινές στερόλες (4-διμεθυλστερόλες), οι 4α-μεθυλστερόλες, οι τριτερπενικές αλκοόλες (4,4-διμεθυλστερόλες) και οι τριτερπενικές διαλκοόλες (8). Μεταξύ των κυριότερων φυτοστερολών του ελαιολάδου είναι η β-σιτοστερόλη (96%), η στιγμαστερόλη (1%) και η

καμπεστερόλη (3%). Στο ελληνικό ελαιόλαδο εντοπίζεται και μία ακόμη στερόλη, η ανεμαστερόλη (4).

- Τοκοφερόλες

Μεταξύ των ομολόγων των τοκοφερολών, η α -τοκοφερόλη καλύπτει περίπου το 90% του ολικού περιεχομένου. Στο παρελθόν, ο μέσος όρος περιεκτικότητας α -τοκοφερόλης ανερχόταν σε 100 mg/Kg ελαιολάδου. Τα επίπεδα στο ελληνικό ελαιόλαδο είναι αρκετά υψηλότερα (100-365 mg/Kg), γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό λόγω της αντιοξειδωτικής της δράσης. Συχνά εντοπίζονται και χαμηλά επίπεδα από τα ομόλογα β -τοκοφερόλη (~10 mg/Kg), δ -τοκοφερόλη (~10 mg/Kg) και γ -τοκοφερόλη (~20 mg/Kg) (8). Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε τοκοφερόλες μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση νοθείας του ελαιολάδου με σπορέλαιο (9).

- Χρωστικές

Το χρώμα του παρθένου ελαιολάδου οφείλεται σε χρωστικές ουσίες, όπως οι χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή (9). Μερικοί από τους παράγοντες που το επηρεάζουν είναι η ποικιλία της ελιάς, ο βαθμός ωρίμανσης, η ζώνη παραγωγής, το σύστημα παραλαβής του ελαιολάδου και οι συνθήκες αποθήκευσης και ως εκ τούτου, θεωρείται δείκτης ποιότητας. Οι χλωροφύλλες απαντώνται ως φαιοφυτίνες, με την χλωροφύλλη α να είναι η κυριότερη και η παρουσία της να σχετίζεται με τις συνθήκες επεξεργασίας ή την ενζυμική δραστηριότητα (8). Έχει βρεθεί ότι παρουσία φωτός οι χλωροφύλλες και οι φαιοφυτίνες ασκούν προοξειδωτική δράση στα λιπίδια, ενώ στο σκοτάδι δρουν ως αντιοξειδωτικά (4). Συνήθως, η χλωροφύλλη α εντοπίζεται σε φρέσκα έλαια, ενώ επίσης απαντώνται και η χλωροφύλλη β και η φαιοφυτίνη β σε μικρά ποσά (8).

Τα κυριότερα καροτενοειδή του ελαιολάδου αποτελούν η λουτεΐνη και το β -καροτένιο. Το κλάσμα των καροτενοειδών μπορεί επίσης να περιλαμβάνει ξανθοφύλλες, όπως η βιολαξανθίνη, η νεοξανθίνη, η λουτεοξανθίνη κ.ά. (8).

Φαινολικές ενώσεις

Το ελαιόλαδο περιέχει τόσο απλές όσο και σύνθετες φαινολικές ενώσεις που αυξάνουν την οξειδωτική του σταθερότητα και βελτιώνουν τη γεύση του (9). Μεταξύ των φαινολικών οξέων που αξίζει να αναφερθούν είναι το καφεϊκό και το πρωτοκατεχικό οξύ, ενώ οι κύριες πολυφαινόλες του ελαιολάδου είναι το άγλυκο της ελευρωπαΐνης, η τυροσόλη και η υδροξυτυροσόλη, που προέρχονται από την υδρόλυση της ελευρωπαΐνης. Το βενζοϊκό οξύ και το κινναμικό οξύ, που

προέρχονται από την αποικοδόμηση των φλαβονοειδών, υπάρχουν επίσης στο ελαιόλαδο (4,11). Οι φαινολικές ενώσεις του ελαιολάδου έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών (11).

Πτητικές ενώσεις

Το χαρακτηριστικό άρωμα και η γεύση του ελαιολάδου οφείλονται σε μία πληθώρα πτητικών ενώσεων, που μπορεί να περιέχονται ακόμη και σε ίχνη (9). Κατά προσέγγιση, 280 ενώσεις έχουν εντοπιστεί στο πτητικό κλάσμα παρθένων ελαιολάδων. Σε αυτές συγκαταλέγονται υδρογονάνθρακες (περισσότερες από 80 ενώσεις), αλκοόλες (45 ενώσεις), αλδεΐδες (44 ενώσεις), κετόνες (26 ενώσεις), οξέα (13 ενώσεις), εστέρες (55 ενώσεις), αιθέρες (5 ενώσεις), παράγωγα φουρανίου (5 ενώσεις), παράγωγα θειοφαινίου (5 ενώσεις), πυρανόνες (1 ένωση), θειόλες (1 ένωση) και πυραζίνες (1 ένωση). Από αυτόν τον μεγάλο αριθμό ενώσεων, οι 67 βρέθηκαν να είναι παρούσες σε επίπεδα υψηλότερα από το κατώφλι αρώματος και να συνεισφέρουν στο άρωμα, ενώ 20 από αυτές συμβάλουν στη χαρακτηριστική γεύση του ελαιολάδου (8).

Ελαιόλαδο που λαμβάνεται από υγιείς ελιές που συλλέγονται στην κατάλληλη ωρίμανση και παραλαμβάνεται με ορθές τεχνικές εκχύλισης περιέχει κυρίως πτητικές ενώσεις που προέρχονται από την αποικοδόμηση του λινελαϊκού και λινολενικού οξέος. Οι κυριότερες είναι η εξανάλη, η trans-2-εξανάλη, η 1-εξανόλη, ο εξανοϊκός αιθυλεστέρας και η 3-μεθυλοβουτανόλη (8).

A.1.5. Αλλοιώσεις ελαιολάδου

Οι κύριες διεργασίες που οδηγούν σε υποβάθμιση του ελαιολάδου είναι η υδρολυτική τάγγιση ή λιπόλυση και η οξειδωτική τάγγιση ή οξείδωση. Η λιπόλυση, που προκαλείται από την απελευθέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων από τριγλυκερίδια, συμβάλλει σημαντικά στη γεύση του προϊόντος, δεν συνεισφέρει στη θρεπτική αξία του ελαίου. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η λιπόλυση θεωρείται επιθυμητή. Από την άλλη πλευρά, η οξείδωση οδηγεί στον σχηματισμό τόσο δυσάρεστων όσο και τοξικών ενώσεων και επομένως είναι διατροφικά ανεπιθύμητη (12). Επίσης, η υδρόλυση λαμβάνει κυρίως χώρα όταν το έλαιο βρίσκεται ακόμη στον καρπό, ενώ η οξείδωση παρατηρείται κυρίως μετά την παραλαβή του και ιδιαίτερα στη διάρκεια της αποθήκευσής του σε ακατάλληλες συνθήκες (13).

Η οξείδωση μπορεί να λάβει χώρα είτε παρουσία φωτός (φωτοοξείδωση), είτε απουσία φωτός (αυτοοξείδωση) (13). Κατά την οξείδωση των λιπιδίων σχηματίζονται υδροϋπεροξειδία, τα οποία είναι ευαίσθητα σε περαιτέρω οξείδωση ή

αποικοδόμηση σε δευτερογενή προϊόντα όπως αλδεΐδες, κετόνες, οξέα και αλκοόλες. Σε πολλές περιπτώσεις, οι ενώσεις αυτές έχουν αρνητικό αντίκτυπο στη γεύση, στο άρωμα, στη θρεπτική αξία και στην συνολική ποιότητα. Ποικίλοι παράγοντες μπορούν να δράσουν καταλυτικά στο φαινόμενο όπως το φως, η θερμοκρασία, τα ένζυμα, τα μέταλλα, οι μεταλλοπρωτεΐνες και οι μικροοργανισμοί (12).

Οξειδωση (αυτοοξειδωση)

Η αυτοοξειδωση, που επηρεάζει τη σταθερότητα του ελαιολάδου, λαμβάνει χώρα μέσω μηχανισμού ελεύθερων ριζών και περιλαμβάνει τρία στάδια: έναρξη, διάδοση, και τερματισμός.

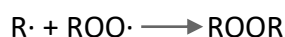
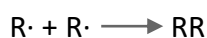
Στο στάδιο της έναρξης, το υδρογόνο αφαιρείται από ένα μόριο ολεφινικού οξέος (RH) και σχηματίζονται δύο ελεύθερες ρίζες:



Κατόπιν, στο στάδιο της διάδοσης, η ολεφινική ελεύθερη ρίζα συνδυάζεται με μοριακό οξυγόνο, δίνοντας υπερόξυ-ελεύθερη ρίζα. Η τελευταία μπορεί να αφαιρέσει υδρογόνο από ένα άλλο ακόρεστο μόριο ολεφίνης και να δώσει υδροϋπεροξειδίο και μια νέα ελεύθερη ρίζα, συνεχίζοντας το μηχανισμό διάδοσης



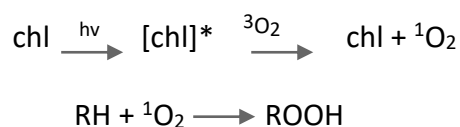
Αυτή η αλυσιδωτή αντίδραση συνεχίζεται έως ότου η ακόρεστη ένωση εξαντληθεί ή οι ελεύθερες ρίζες απενεργοποιηθούν ή μία την άλλη, οπότε και επέρχεται τερματισμός:



Συνολικά, αποτέλεσμα της αυτοοξειδωσης είναι ο σχηματισμός υδροϋπεροξειδίων (ROOH). Τα υδροϋπεροξειδία είναι ασταθή και αποσυντίθενται προς ποικίλα προϊόντα δευτερογενούς οξείδωσης, όπως ορισμένες αλδεΐδες, με δυσάρεστη οσμή και γεύση που συμβάλλουν στην ταγγισμένη γεύση του λαδιού (4).

Φωτοοξειδωση

Τα περισσότερα ελαιόλαδα περιέχουν φυσικούς φωτοευαισθητοποιητές που ενεργοποιούνται όταν αυτά εκτίθενται στο φως. Έτσι, παρουσία οξυγόνου και φωτοευαισθητοποιητή μπορεί να προκληθεί σχηματισμός υδροϋπεροξειδίων (13). Ως φωτοευαισθητοποιητές δρουν ορισμένες χρωστικές του ελαιολάδου, όπως οι χλωροφύλλες και οι φαιοφυτίνες (4). Ο σχηματισμός των υδροϋπεροξειδίων και η μεταφορά ενέργειας από το φως προς τον φωτοευαισθητοποιητή ακολουθεί τον παρακάτω μηχανισμό (4):



Όταν ο ευαισθητοποιητής, στην προκειμένη περίπτωση η χλωροφύλλη (chl), εκτεθεί σε ηλιακή ακτινοβολία, απορροφά ενέργεια και διεγείρεται ([chl]*). Κατόπιν, η ενέργεια αυτή μεταφέρεται στο οξυγόνο τριπλής κατάστασης (³O₂), αυτό διεγείρεται σε οξυγόνο απλής κατάστασης (¹O₂) και ο ευαισθητοποιητής επανέρχεται στην αρχική του κατάσταση (chl). Έπειτα, το ¹O₂ μεταφέρει την ενέργεια στο ακόρεστο λιπαρό οξύ (RH), που λειτουργεί ως αποσβέστης, και σχηματίζονται υδροϋπεροξείδια. Έχει βρεθεί ότι το ατομικό οξυγόνο αντιδρά με το λινολεϊκό οξύ 1500 φορές ταχύτερα από το μοριακό οξυγόνο και ως εκ τούτου θεωρείται ο πιο σημαντικός εκκινητής στην αυτοοξείδωση ελεύθερων ριζών στα φυτικά έλαια (12,13).

Ενζυμική οξείδωση

Για την αποικοδόμηση των ακόρεστων λιπαρών οξέων απαιτείται μια σειρά από ενζυμικές δράσεις. Η αλληλουχία ξεκινά με την υδρόλυση των ακυλογλυκερών από τις λιπάσες, τις λιπολυτικές ακυλοϋδρολάσες και τις φωσφολιπάσες που οδηγούν στην απελευθέρωση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Έπειτα, λιποξυγενάσες μετατρέπουν τα ακόρεστα λιπαρά οξέα σε υδροϋπεροξείδια, κυρίως στα ισομερή 9 και 13, τα οποία είναι ασταθή. Στο τελευταίο στάδιο, οι λυάσες, οι ισομεράσες και οι αφυδρογονάσες αποδομούν τα υδροϋπεροξείδια σε ένα πλήθος πτητικών και μη πτητικών προϊόντων. Ορισμένα συστατικά που σχηματίζονται, όπως αλδεΐδες, κετόνες και αλκοόλες, επιδρούν αρνητικά στο flavor του ελαιολάδου, ωστόσο το παρθένο ελαιόλαδο αποτελεί μοναδική περίπτωση καθώς σε αυτό η ενζυμική οδός είναι υπεύθυνη για τη γένεση της γνήσιας και χαρακτηριστικής γεύσης του (12,13).

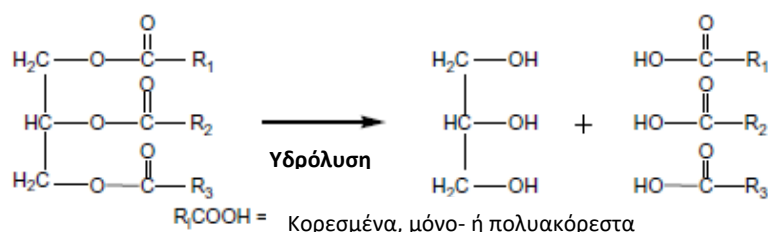
A.1.6. Μέθοδοι ανάλυσης ελαιολάδου – Αρχές μεθόδων

Οξύτητα

Ως ελεύθερη οξύτητα στο ελαιόλαδο ορίζεται ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας του ελαιολάδου σε ελεύθερα λιπαρά οξέα και εκφράζεται σε γραμμάρια ελαϊκού οξέος ανά 100 γραμμάρια ελαιολάδου (10). Με άλλα λόγια, ορίζεται ως ο αριθμός των mg υδροξειδίου του νατρίου (ή καλίου) που απαιτούνται για την εξουδετέρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων που υπάρχουν σε 1 g λίπους (14).

Ένα ειδικό ένζυμο, η λιπάση, που περιέχεται στον ελαιόκαρπο δρα λιπολυτικά ειδικά στις θέσεις 1 και 3 των τριγλυκεριδίων και έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων (που είναι υπεύθυνα για την οξύτητα στο ελαιόλαδο) και μονο- και δι- γλυκεριδίων (10). Η τιμή της οξύτητας προσδιορίζεται με απευθείας τιτλοδότηση του ελαίου, που είναι διαλυμένο σε μείγμα διαλυτών, με τυπικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου ή υδροξειδίου του νατρίου (14,15).

Η υδρόλυση των τριγλυκεριδίων, αποτέλεσμα της οποίας είναι η αύξηση της οξύτητας του ελαιολάδου, μπορεί να επηρεαστεί από πολλούς παράγοντες μεταξύ των οποίων είναι ο βαθμός ωρίμανσης, η υγρασία, η θερμοκρασία, τα ένζυμα και οι μικροοργανισμοί (10).



Εικόνα 3. Αντίδραση υδρόλυσης τριγλυκεριδίων (16).

Πυκνότητα

Η πυκνότητα μιας ουσίας ορίζεται ως ο λόγος της μάζας της προς τον όγκο της και ποικίλλει ανάλογα με τη θερμοκρασία. Για τα έλαια και τα λίπη εκφράζεται σε γραμμάρια ανά χιλιοστόλιτρο (g/mL). Ο προσδιορισμός της επιτυγχάνεται μέσω προσδιορισμού της μάζας ενός δεδομένου όγκου λαδιού σε συγκεκριμένη θερμοκρασία (17).

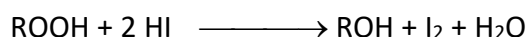
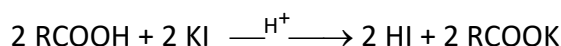
Χλωροφύλλες – Καροτενοειδή

Το χρώμα του ελαιολάδου οφείλεται σε δύο ξεχωριστές οικογένειες ενώσεων των χλωροφυλλών και των καροτενοειδών. Η κυριότερη χρωστική μεταξύ των

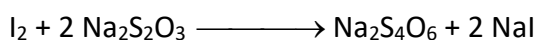
χλωροφυλλών είναι η φαιοφυτίνη α, ενώ από τα καροτενοειδή το β-καροτένιο και η λουτεΐνη. Η περιεκτικότητα σε χρωστικές ουσίες των ελαιολάδων μπορεί να προσδιοριστεί μέσω φασματοφωτομετρικών μετρήσεων. Πιο συγκεκριμένα, η ποσοτικοποίηση του κλάσματος χλωροφύλλης επιτυγχάνεται με μέτρηση της απορρόφησης στα 670 nm, αφού η απορρόφηση σε αυτό το μήκος κύματος οφείλεται αποκλειστικά σε αυτό το κλάσμα. Αντίστοιχα, ο ποσοτικός προσδιορισμός των καροτενοειδών γίνεται με μέτρηση της απορρόφησης στα 470 nm, με την ομάδα των χλωροφυλλών να μην απορροφά σε αυτό το μήκος κύματος (18).

Αριθμός υπεροξειδίων

Ο αριθμός των υπεροξειδίων οφείλεται στα υδροϋπεροξείδια, τα οποία είναι προϊόντα της πρωτογενούς οξείδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων των τριγλυκεριδίων. Πρόκειται για χημικές ενώσεις που σχηματίζονται κατά την επίδραση οξυγόνου στο ελαιόλαδο, μέσω χημικών αντιδράσεων (μηχανισμός σχηματισμού ελεύθερων ριζών) ή ενζυμικών αντιδράσεων (δράση λιποξειδασών) (10). Ο προσδιορισμός του αριθμού υπεροξειδίων χρησιμοποιείται ως δείκτης της πρωτογενούς οξείδωσης (12). Τα υπεροξείδια υπεισέρχονται σε επακόλουθες αντιδράσεις οξείδωσης, οδηγώντας στην παραγωγή ποικιλίας πτητικών και μη πτητικών δευτερογενών προϊόντων (19). Με την προσθήκη KI, λαμβάνουν χώρα οι εξής αντιδράσεις:



Το παραγόμενο I_2 ογκομετρείται με διάλυμα $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ και, παρουσία δείκτη αμύλου, απαλείφεται το μαύρο χρώμα.



Το οξικό οξύ που χρησιμοποιείται στην μέθοδο αποτελεί το οξύ, μέσο αντίδρασης, απαραίτητο για την οξειδοαναγωγική αντίδραση.

Μέτρηση απορρόφησης στο υπεριώδες

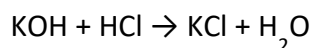
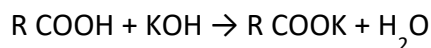
Η απορρόφηση στην περιοχή 232-234 nm οφείλεται στα υδροϋπεροξείδια (προϊόντα πρωτογενούς οξείδωσης) και σε συζυγή διένια (προϊόντα ενδιάμεσης κατάστασης οξείδωσης). Αντίστοιχα, η απορρόφηση στα 270 nm οφείλεται στις καρβονυλικές ομάδες (κετόνες και αλδεΐδες, προϊόντα δευτερογενούς οξείδωσης) και σε συζυγή τριένια (προϊόντα βιομηχανικής επεξεργασίας) (10).

Ο συντελεστής Κ αποτελεί συντελεστή ειδικής απορρόφησης και δηλώνει την απορρόφηση διαλύματος 1% (w/v) του ελαίου σε ειδικό διαλύτη, σε κυψελίδα 10 mm (19). Η τιμή του συντελεστή απορρόφησης K_{232} οδηγείται σε αύξηση, όταν μεσολαβεί μεγάλο χρονικό διάστημα από τη συγκομιδή μέχρι την έκθλιψη του ελαιόκαρπου και όταν το ελαιόλαδο αποθηκεύεται σε ακατάλληλες συνθήκες, ενώ η τιμή του συντελεστή απορρόφησης K_{270} εξαρτάται από το πόσο φρέσκο είναι ένα ελαιόλαδο. Η απορρόφηση στα 270 nm και ο δείκτης ΔΚ, εκτός από κριτήρια ποιότητας, μπορούν να αποτελέσουν και κριτήρια γνησιότητας (10).

Αριθμός σαπωνοποίησης

Ο αριθμός σαπωνοποίησης εκφράζει τα mg του υδροξειδίου του καλίου που απαιτούνται για την σαπωνοποίηση ενός γραμμαρίου λίπους και εξαρτάται από το είδος των λιπαρών οξέων που περιέχονται σε αυτό (20). Αποτελεί μέτρο του περιεχομένου των εστερικών δεσμών (21).

Το δείγμα του λίπους αρχικά υφίσταται σαπωνοποίηση παρουσία αλκοολικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου και έπειτα, η περίσσεια του υδροξειδίου του καλίου ογκομετρείται με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος, παρουσία δείκτη φαινολοφθαλεΐνης (20,21). Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα είναι οι εξής (20):

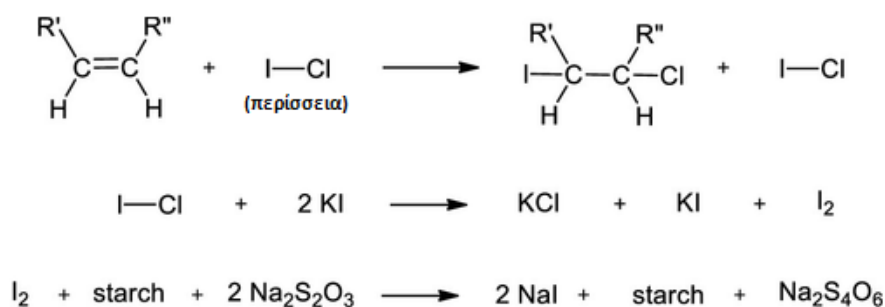


Αριθμός ιωδίου

Ο αριθμός ιωδίου ορίζεται ως ο αριθμός των γραμμαρίων ιωδίου που απορροφάται από 100 γραμμάρια λίπους και αποτελεί μια χημική σταθερά για το βαθμό ακορεστότητας του δείγματος αυτού (22,23). Ο αριθμός ιωδίου εξαρτάται, εκτός από τον αριθμό των διπλών δεσμών στη λιπαρή ύλη, και από το μοριακό βάρος (23). Αυτό διότι, το ελαϊκό οξύ περιέχει έναν διπλό δεσμό μέσα στην ανθρακική αλυσίδα 18 ατόμων, ενώ το λινολενικό οξύ περιέχει τρεις διπλούς δεσμούς αντίστοιχα. Έτσι, ένα μόριο λίπους που περιέχει ελαϊκό οξύ μπορεί να αντιδράσει μόνο με το ένα τρίτο του ιωδίου που αντιδρά ένα μόριο λίπους με λινολενικό οξύ (22).

Μια τυπική μέθοδος προσδιορισμού, περιλαμβάνει τη διάλυση ενός ζυγισμένου δείγματος σε χλωροφόρμιο και προσθήκη περίσσειας αλογόνου (I_2). Μετά από παραμονή στο σκοτάδι για ελεγχόμενη χρονική περίοδο, η περίσσεια ιωδίου που

δεν αντέδρασε προσδιορίζεται με τιτλοδότηση με διάλυμα θειοθειικού νατρίου (22).

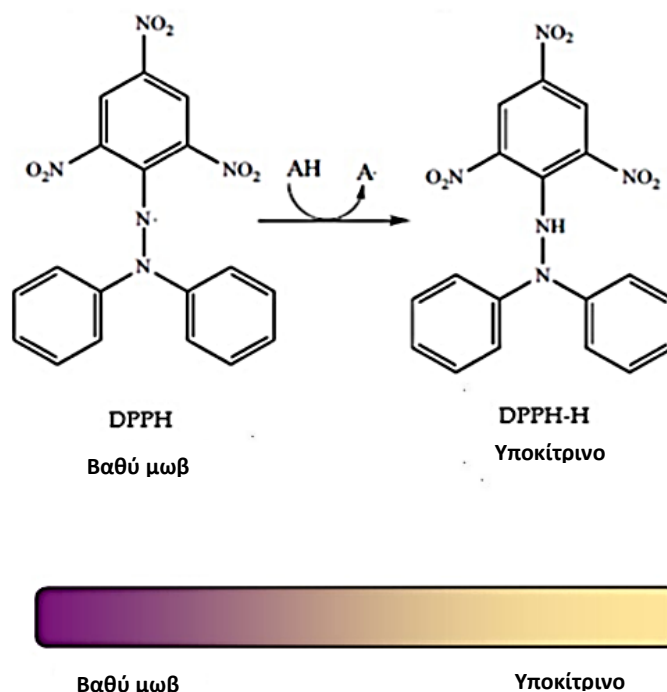


Εικόνα 4. Αντιδράσεις κατά τον προσδιορισμό του αριθμού ιωδίου (IBr αντί ICl) (23)

Δέσμευση ρίζας DPPH

Η ρίζα DPPH πρόκειται για μία σταθερή ελεύθερη ρίζα, με χαρακτηριστικό βιολετί χρώμα όταν διαλύεται σε μεθανόλη. Κατά την ανάμιξη διαλύματος ρίζας DPPH με ουσία που μπορεί να προσφέρει άτομο υδρογόνου, όπως ένα αντιοξειδωτικό, γίνεται θραύση της αλυσίδας της ρίζας, οδηγείται στην ανηγμένη μορφή της και το χρώμα μεταβάλλεται σε ανοιχτό κίτρινο (25,26).

Η αντίδραση που λαμβάνει χώρα είναι η ακόλουθη:



Εικόνα 5. Αντίδραση δέσμευσης ρίζας DPPH από αντιοξειδωτικό (27)

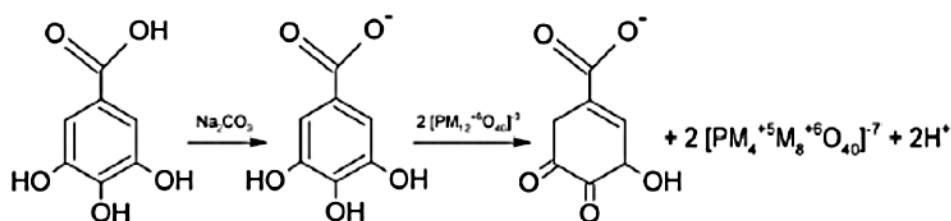
Πικρότητα

Οι ενώσεις που θεωρούνται υπεύθυνες για την πικρή γεύση του ελαιολάδου είναι φαινολικής φύσης, που εντοπίζονται στο πολικό εκχύλισμα ελαιολάδου, και οι κυριότερες είναι η ελευρωπαΐνη και τα παράγωγα της λιγκστροσίδης. Πρόσφατα, η πικάντικη γεύση και η αίσθηση του καψίματος στο πίσω μέρος του στόματος αποδόθηκαν σε μία ένωση παράγωγης της τυροσόλης, που ονομάστηκε ελαιοκανθάλη (28). Η ελαιοκανθάλη έχει αντιφλεγμονώδη δράση ανάλογη της ιβουπροφαίνης. Επίσης, η υδροξυτυροσόλη εντοπίζεται κυρίως σε εστεροποιημένη μορφή, τη λεγόμενη ελαιασίνη, με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση (29).

Μέθοδος Folin

Η μέθοδος Folin–Ciocalteu είναι μια πολύ γνωστή μέθοδος που στοχεύει στον προσδιορισμό του συνολικού φαινολικού περιεχομένου. Βασίζεται στην αναγωγή του αντιδραστήριου Folin–Ciocalteu από φαινολικές ενώσεις σε αλκαλικό περιβάλλον. Το αντιδραστήριο Folin–Ciocalteu περιέχει ένα σύμπλεγμα του φωσφομολυβδαινικού και φωσφοβολφραμικού οξέος που ανάγεται για να ληφθεί ένα μπλε χρωμοφόρο με μέγιστη απορρόφηση στα 760 nm (27).

Η μέθοδος Folin–Ciocalteu χαρακτηρίζεται από απλότητα, ταχύτητα και επαναληψιμότητα, ωστόσο επηρεάζεται σημαντικά από τον χρόνο αντίδρασης και από την παρουσία άλλων οξειδώσιμων ενώσεων όπως ασκορβικό οξύ, αρωματικές αμίνες, αναγωγικά σάκχαρα και αρωματικά αμινοξέα (26,27).



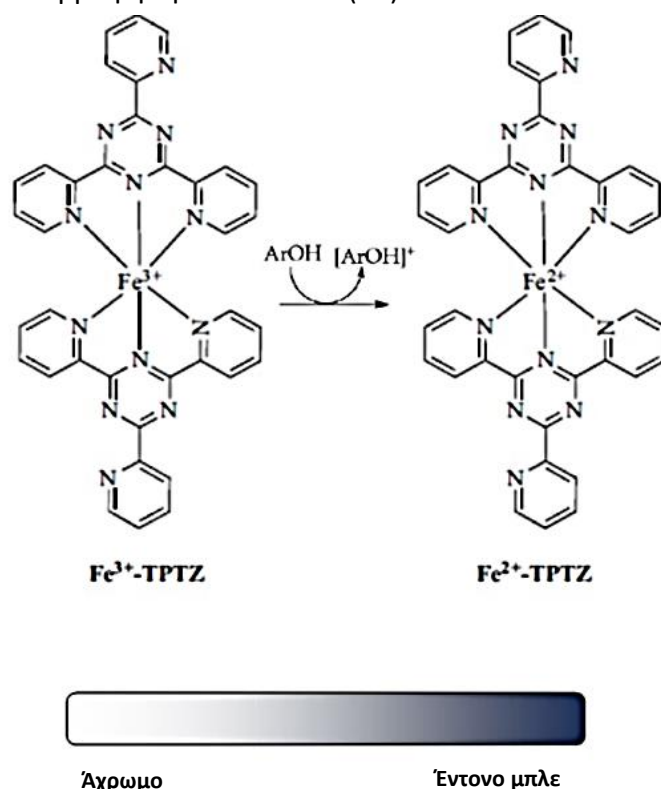
M = Mo or W



Εικόνα 6. Αντίδραση φαινολικών ενώσεων και αντιδραστήριου Folin, σε αλκαλικό περιβάλλον, και σχηματισμός μπλε συμπλόκου (27)

Μέθοδος FRAP (Αναγωγική ισχύς)

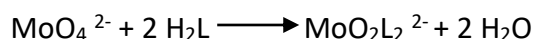
Η μέθοδος FRAP βασίζεται στην αναγωγή του συμπλόκου ιόντων σιδήρου Fe^{3+} προς σύμπλοκο ιόντων σιδήρου Fe^{2+} έντονου μπλε χρώματος, παρουσία αντιοξειδωτικού σε όξινο περιβάλλον (27). Ο μηχανισμός της αντίδρασης βασίζεται στη μεταφορά ηλεκτρονίων και όχι ατόμων υδρογόνου. Η αντίδραση FRAP λαμβάνει χώρα σε όξινο pH 3,6 για τη διατήρηση της διαλυτότητας του σιδήρου. Όταν η αναγωγή του Fe^{3+} σε Fe^{2+} πραγματοποιείται παρουσία 2,4,6-τριπυριδυλο-s-τριαζίνης (TPTZ), η αντίδραση συνοδεύεται από το σχηματισμό επίσης χρωματισμένου συμπλόκου με Fe^{2+} , με μέγιστη απορρόφηση στα 593 nm (30).



Εικόνα 7. Αντίδραση αναγωγής συμπλόκου Fe^{3+} -TPTZ προς Fe^{2+} -TPTZ (27)

ο-Διφαινόλες

Το μολυβδαίνιο, παρουσία ο-διφαινολών και σε ασθενώς όξινα ή ουδέτερα μέσα δημιουργεί διάλυμα κίτρινου χρώματος. Η αντίδραση που λαμβάνει χώρα μεταξύ του μολυβδαινικού με κατεχόλη (H_2L) ή με ο-διφαινόλες, σε ουδέτερα μέσα, φαίνεται παρακάτω (31):



Οι ο-διφαινόλες οξειδώνονται εύκολα κατά την ακατάλληλη ή μακροχρόνια αποθήκευση του ελαιολάδου και η έτσι η περιεκτικότητά τους χρησιμεύει για την αξιολόγηση του ελαιολάδου. Επίσης, η ποσότητα των ο-διφαινολών παίζει

σημαντικό ρόλο αφού “προικίζει” το προϊόν με αντιοξειδωτικό δυναμικό, ευεργετικό για την υγεία του ανθρώπου (32).

Δέσμευση ρίζας υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$)

Η ικανότητα δέσμευσης ρίζας υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$) από ένα δείγμα προσδιορίζεται μέσω της οξείδωσης του συμπλόκου φαινανθρολίνης- Fe^{2+} στο σύστημα του Lin. Η ρίζα υδροξυλίου δημιουργείται από την αντίδραση Fenton, όπου η φαινανθρολίνη- Fe^{2+} οξειδώνεται σε φαινανθρολίνη- Fe^{3+} , με τη μεταβολή της απορρόφησης να ανιχνεύεται στα 536 nm (33). Πιο συγκεκριμένα, η ικανότητα δέσμευσης ρίζας υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$) αποτιμάται από την μέτρηση της απορρόφησης του πορτοκαλκόκκινου συμπλόκου φαινανθρολίνης- Fe^{2+} . Το H_2O_2 οξειδώνει το ιόν Fe^{2+} σε Fe^{3+} , και έτσι καθιστά αδύνατο το σχηματισμό του έγχρωμου συμπλόκου. Παρουσία αντιοξειδωτικού, η οξείδωση του σιδήρου εμποδίζεται και έτσι ευνοείται ο σχηματισμός του έγχρωμου συμπλόκου φαινανθρολίνης- Fe^{2+} (34).

Αντιφλεγμονώδης δράση

Η φλεγμονή αποτελεί φυσιολογική απόκριση του σώματος όταν αυτό προσβληθεί από μολυσματικούς παράγοντες, διεγερθεί από αντιγόνα ή υποβληθεί σε φυσική, χημική ή τραυματική αλλαγή. Οι μηχανισμοί φλεγμονής περιλαμβάνουν πολύπλοκες πορείες όπου οι χημικοί αγγελιοφόροι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο. Μια σημαντική κατηγορία αγγελιοφόρων είναι τα προ-φλεγμονώδη λευκοτριένια, τα οποία προκύπτουν από το μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος, το οποίο ξεκινά με την οξείδωσή του από το ένζυμο 5-λιποξυγενάση (5-LOX) (35).

Το αραχιδονικό οξύ είναι ένα ω -6 λιπαρό οξύ του οποίου τα επίπεδα καθορίζονται από τη διατροφή. Τα αντιφλεγμονώδη φάρμακα δρουν κυρίως, είτε αναστέλλοντας τα ένζυμα που μετατρέπουν το αραχιδονικό οξύ σε προ-φλεγμονώδη εικοσανοειδή ή αναστέλλοντας την απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέος από τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης. Το αραχιδονικό οξύ παράγεται από το λινολεϊκό οξύ μέσω μιας μεταβολικής οδού (36).

Το ένζυμο 5-λιποξυγενάση (5-LOX) καταλύει την οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων που περιέχουν δομές 1-4 πενταδιένιου. Το αραχιδονικό οξύ είναι το βιολογικό υπόστρωμα του 5-LOX, αλλά το ένζυμο επιδρά και στο λινολεϊκό οξύ. Ο αρχικός ρυθμός αντίδρασης μπορεί να μετρηθεί με φασματοφωτομετρία και η ανασταλτική δραστηριότητα μιας ουσίας μετράται με τη μείωση αυτού του αρχικού ποσοστού (35).

A.2. Μαστίχα Χίου

A.2.1. Εισαγωγή



Εικόνα 8.
Το “δάκρυ” της μαστίχας Χίου
(Επίσημη ιστοσελίδα Ένωσης
Μαστιχοπαραγωγών Χίου (ΕΜΧ), 2022.
<https://www.gummastic.gr/el/>)

Η μαστίχα της Χίου είναι η ρητινώδης έκκριση του μαστιχόδενδρου (*Pistacia lentiscus* cv. *Chia*), ενός αιθαλούς θάμνου της οικογένειας Anacardiaceae (42). Πρόκειται για φυσική, αρωματική, ημιδιάφανη ρητίνη, που εκκρίνεται από τον κορμό και τα κλαδιά του μαστιχόδενδρου, μέσω επιφανειακών τομών που προξενούν οι καλλιεργητές με ειδικά αιχμηρά εργαλεία (43). Η μαστίχα εμφανίζεται σε αυτές τις τομές σε σχήμα δακρύων και ρέει κατά σταγόνες στο χώμα. Κατά τη ροή της, η μαστίχα είναι ένα κολλώδες, πολύ διαυγές και καθαρό υγρό, ενώ κατά την στερεοποίησή της μετατρέπεται σε κρυσταλλική.

Από το 1997, η μαστίχα Χίου έχει χαρακτηριστεί ως Προϊόν Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Π.Ο.Π.), βάσει του υπ’ αριθμ. 123/1997 Κανονισμού (L0224/24-1-97) της Ευρωπαϊκής Ένωσης και εντάσσεται στον αντίστοιχο Κοινοτικό Κατάλογο των Προϊόντων Π.Ο.Π.. Ως προϊόν Π.Ο.Π., φέρει το αντίστοιχο σήμα πιστοποίησης. Το 2014, η τεχνογνωσία για την καλλιέργεια της μαστίχας Χίου, στο νησί της Χίου, εντάχθηκε στον Αντιπροσωπευτικό Κατάλογο Άυλης Πολιτιστικής Κληρονομιάς της Ανθρωπότητας της UNESCO. Παράλληλα, κατά το ίδιο έτος, έλαβε πιστοποίηση GMP (*Good Manufacturing Practice*) από τον Εθνικό Οργανισμό Φαρμάκων (ΕΟΦ) και αναγνώριση ως λειτουργικό τρόφιμο από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων της Κορέας (KFDA). Ακόμη, το 2015, αναγνωρίστηκε ως φυτικό φαρμακευτικό προϊόν παραδοσιακής χρήσης από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA) για ήπιες δυσπεπτικές διαταραχές, για τη θεραπεία ήπιων φλεγμονών του δέρματος και την επούλωση μικρών εκδορών του δέρματος (44).



Εικόνα 9.
Σήμα Π.Ο.Π.
(Επίσημη ιστοσελίδα
Mastishop, 2022.
<https://www.mastishop.com/>)

A.2.2. Παραγωγή και συλλογή μαστίχας Χίου

Η παραγωγή, η συλλογή και η επεξεργασία της μαστίχας Χίου αποτελούν χρονοβόρες διαδικασίες που εκτείνονται σε όλη τη διάρκεια του έτους.

Αποτελούνται από πληθώρα προκαταρτικών εργασιών, με αφετηρία τους χειμερινούς μήνες. Οι εργασίες ξεκινούν από τον Δεκέμβριο, όπου λαμβάνει χώρα προαιρετικά λίπανση των μαστιχόδενδρων, προς συμπλήρωση της φυσικής λίπανσης από τα ξερά φύλλα των ίδιων των δένδρων. Έπειτα, κατά τους μήνες Ιανουάριο και Φεβρουάριο, πραγματοποιείται κλάδεμα των δέντρων σε κατάλληλο σχήμα που να διευκολύνει αφενός τις εργασίες που θα ακολουθήσουν και αφετέρου τη διέλευση του φωτός και του αέρα. Κατά τους μήνες της άνοιξης, Μάρτιο και Απρίλιο, πραγματοποιείται σκάψιμο του εδάφους (39).

Οι καλοκαιρινοί μήνες αποτελούν τους μήνες παραγωγής της μαστίχας Χίου. Αρχικά, τον Ιούνιο, το έδαφος γύρω από το βλαστό προετοιμάζεται μεθοδικά με απομάκρυνση άλλων φυτών και με ισοπέδωσή του, με σκοπό τη διευκόλυνση της συλλογής της μαστίχας που θα πέσει μελλοντικά σε αυτό. Έπειτα, το έδαφος καλύπτεται από ειδικό χώμα, το λεγόμενο “ασπρόχωμα”. Πρόκειται για ένα αδρανές υλικό, αποτελούμενο από ανθρακικό ασβέστιο (CaCO_3), το οποίο δεν επηρεάζει τις φυσικοχημικές ιδιότητες της μαστίχας. Απεναντίας, οι σταγόνες μαστίχας αποκτούν λαμπρότητα και στερεοποιούνται πάνω σε αυτό, καθώς επίσης καθιστά ευκολότερη και τη συλλογή της (39,42).

Το επόμενο στάδιο, το χάραγμα των μαστιχόδενδρων (“κέντημα” όπως συνηθίζεται να λέγεται), αποτελεί το σημαντικότερο της παραγωγικής διαδικασίας (39). Πρόκειται για τη δημιουργία κάθετων τομών, βάθους 4-5 mm και μήκους 10-15 mm, στον κορμό και στα κλαδιά του δέντρου με αιχμηρό εργαλείο, διαδικασία που πυροδοτεί την έκκριση της μαστίχας (39,45). Η μαστίχα στάζει σε μορφή δακρύων προς το έδαφος, και έπειτα από παραμονή 15-20 ημερών σε αυτό, στερεοποιείται και αποκτά κρυσταλλική μορφή (39). Ακολουθεί η συλλογή της χειρωνακτικά (39,45). Μετά τη συλλογή της, η μαστίχα Χίου υποβάλλεται σε μία σειρά διαδικασιών καθαρίσματος, όπως κοσκίνισμα, ταξινόμηση, πλύσιμο με φυσικό νερό και απομάκρυνση μικρών ξύλων, φύλλων και χώματος (41).



Εικόνα 10. Η τεχνική του “ασπροχωματίσματος”



Εικόνα 11. Η τεχνική του “κεντήματος”

Α.2.3. Χημική σύσταση μαστίχας Χίου

Η μαστίχα Χίου πρόκειται για μία φυσική ρητίνη πολύπλοκης σύνθεσης που περιέχει μία ποικιλία 120 χημικών ενώσεων, όπως έχει αναφερθεί έως σήμερα (42). Μεταξύ άλλων, απαντώνται ένα φυσικό πολυμερές (25-30% του συνολικού ξηρού βάρους), πτητικά και αρωματικά συστατικά τα οποία απαρτίζουν το αιθέριο έλαιο της μαστίχας, τριτερπενικά οξέα (65-70%), φυτοστερόλες, πολυφαινόλες και πληθώρα άλλων ενεργών δευτερογενών μεταβολιτών (42,46). Η τυπική χημική σύσταση της μαστίχας Χίου παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

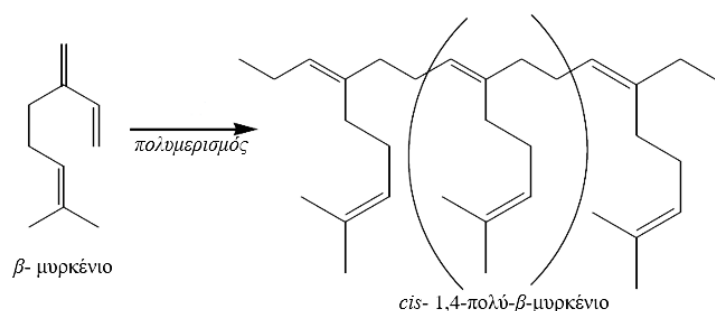
Πίνακας 2. Τυπική χημική σύσταση μαστίχας Χίου (47)

Χημική Ένωση	Περιεκτικότητα (%)
Αιθέριο έλαιο	1 – 3 %
Μαστιχαδιενονικό οξύ	8 – 15 %
Ισομαστιχαδιενονικό οξύ	8 – 15 %
Άλλα τριτερπενικά οξέα, αλδεΐδες, αλκοόλες	44 – 58 %
Πολύ-β-μυρκένιο (φυσικό πολυμερές)	25 – 30 %

Αναφορικά με τη διαλυτότητα, η μαστίχα Χίου είναι αδιάλυτη στο νερό (~1%), αλλά διαλυτή σε διαλύτες όπως ισοπροπυλική αλκοόλη, ακετόνη, εξάνιο, μεθανόλη, χλωροφόρμιο, διαιθυλαιθέρα και η-βουτυλαιθέρα. Η πυκνότητά της κυμαίνεται από 0.45 – 0.55 g/ml (20 °C), ενώ το σημείο τήξης της έχει εύρος από 85 – 105 °C (48).

Τα μη πτητικά συστατικά της μαστίχας Χίου

Το 1,4-πολύ-β-μυρκένιο αποτελεί τη βάση του πολυμερούς της μαστίχας Χίου και το συστατικό που διατηρεί όλες τις βιοδραστικές ενώσεις σε μορφή ρητίνης (42). Το 1998, πραγματοποιήθηκε η πρώτη μελέτη για τον καθορισμό της δομής του πολυμερούς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το 1,4-πολύ-β-μυρκένιο βρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία σε *cis*-διαμόρφωση (75%), καθώς και ότι το πολυμερές κλάσμα έχει κατανομή μοριακού βάρους έως 100.000 Da (49).



Εικόνα 12. Πολυμερισμός β-μυρκενίου προς σχηματισμό του πολυμερούς της μαστίχας Χίου (45)

Συνολικά, στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζονται τα μη πτητικά συστατικά της μαστίχας που έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία:

Πίνακας 3. Τα μη πτητικά συστατικά της μαστίχας Χίου (45,46)

Τα μη πτητικά συστατικά της μαστίχας	
μαστιχαδιενονικό οξύ	3-οξο-28-νορλουπ-20(29)-ένιο
τιρουκαλλόλη	(8R)-30-οξο-8-υδροξυ-πολυποδα-13E,17E,21-τριένιο
ολεανολικό οξύ	1,4-πολύ-β-μυρκένιο
ισομαστιχαδιενονικό οξύ	Τυροσόλη
3-οξο-28-νορολεαν-12-ένιο	π-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ
20(S)-3β-ακετοξυ-20-υδροξυδαμπαρ-24-ένιο	π-υδροξυ-φαινυλοξικό οξύ
3-οξο-δαμπαρ-20(21),24-διένιο	βανιλλικό οξύ
3β-υδροξυμαλαμπαρ-14(26),17E,21-τριένιο	γαλλικό οξύ
3-οξομαλαμπαρ-14(26),17E,21-τριένιο	<i>trans</i> -κινναμωνικό οξύ
3β-υδροξυ-28-νορολεαν-12-ένιο	

Τα πτητικά συστατικά της μαστίχας Χίου που εντοπίζονται στο αιθέριο έλαιο της

Η μαστίχα Χίου περιέχει ένα κλάσμα (~3%) από αιθέριο έλαιο, το μαστιχέλαιο, το οποίο αποτελεί μίγμα πτητικών ενώσεων, κατά βάση μονοτερπενίων (42). Η σύστασή του έχει υπάρξει αντικείμενο αρκετών μελετών και έχει βρεθεί ότι ποικίλει και καθορίζει την ποιότητα της μαστίχας. Ωστόσο, όλες οι μελέτες καταδεικνύουν ως κύρια συστατικά το α -πινένιο, το β -μυρκένιο και το β -πινένιο, που συνολικά απαρτίζουν το 90% του ελαίου (42,45). Η αναλογία α -πινενίου/ β -μυρκενίου χαρακτηρίζει την αυθεντικότητα του προϊόντος, ενώ όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα σε β -μυρκένιο υποβαθμίζεται η ποιότητα και η εμπορική αξία (45).

Πίνακας 4. Χημική σύσταση μαστιχέλαιου

Χημική Ένωση	Περιεκτικότητα (%)		
	1 (43)	2 (50)	3 (51)
α -πινένιο	63,3	72,1	66,48
β -μυρκένιο	25,0	16,5	8,34
β -πινένιο	3,3	2,9	3,29
Λιμονένιο	1,5	1,0	1,26
β -καρυοφυλλένιο	0,9	1,1	2,04
Καμφένιο	0,6	0,7	0,83
Λιναλόλη	0,5	1,0	2,84
Μεθυλ-ο-κρεσόλη	0,6	0,7	1,17

Το 1999, διεξήχθη μία σημαντική μελέτη της σύστασης του μαστιχέλαιου που αποσκοπούσε στη σύγκριση ανάμεσα στα τρία αιθέρια έλαια που προέρχονται από τη μαστίχα, τα φύλλα και τα κλαδιά του μαστιχόδενδρου. Η ταυτοποίηση των συστατικών πραγματοποιήθηκε μέσω αέριας χρωματογραφίας συζευγμένης με φασματομετρία μάζας (GC-MS) και περιλάμβανε το α -πινένιο (66,84%), το μυρκένιο (8,34%) και το β -πινένιο (3,29%) για τη μαστίχα, το μυρκένιο (20,58%), το D-γερμακρένιο (13,30%), το L-καρυοφυλλένιο (8,33%), την α -καδινόλη (7,33%) και το δ -καδινένιο (7%) για τα φύλλα, ενώ τέλος το μυρκένιο (47,92%), το D-γερμακρένιο (15,46%) και το E-καρυοφυλλένιο (4,75%) για τα κλαδιά (50,46%).

Το 2005, η ομάδα των Κουτσουδάκη και των συνεργατών της ανέλυσαν τη χημική σύσταση του αιθέριου ελαίου της μαστίχας μέσω GC-MS, προσδιορίζοντας το α -πινένιο (63%), το β -μυρκένιο (25%), το β -πινένιο (3,3%), το λιμονένιο (1,5%) και τα β -καρυοφυλλένιο (1%) ως τα κυριότερα συστατικά του (43).

Παρόμοια αποτελέσματα λήφθηκαν από εργασία του 2009, όπου πραγματοποιήθηκε αρχικά υδραπόσταξη της μαστίχας παρουσία ή απουσία φωσφορικού οξέος και στη συνέχεια ανάλυση του αποστάγματος με GC-MS και GC-FID. Διαπιστώθηκε ότι η απόδοση της απόσταξης διπλασιάστηκε παρουσία H_3PO_4 . Επίσης, εντοπίστηκε και προσδιορίστηκε ένα σύνολο 46 ενώσεων, που αντιστοιχούσε στο 90,16–99,13% του συνόλου των πτητικών ενώσεων. Οι κυριότερες ενώσεις ήταν το α -πινένιο (63,22–71,17%), το β -μυρκένιο (16,60–18,09%) και το β -πινένιο (2,08–2,78%). Εντοπίστηκε επίσης μικρή ποσότητα οξυγονωμένων μονοτερπενίων (1,06–3,11%), μεταξύ των οποίων η λιναλοόλη βρισκόταν σε μεγαλύτερη αφθονία (0,59–1,23%) (46,52).

A.2.4. Βιοδράσεις μαστίχας Χίου

Οι ευεργετικές ιδιότητες της μαστίχας Χίου, όπως προαναφέρθηκε, παραμένουν γνωστές ήδη από την αρχαιότητα. Ωστόσο στις μέρες μας, τεκμηριώνονται από την επιστημονική κοινότητα μέσω πολυάριθμων εργαστηριακών ερευνών και κλινικών δοκιμών. Μεταξύ άλλων, έχουν επιβεβαιωθεί ή βρίσκονται υπό περαιτέρω διερεύνηση η αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης δράση της μαστίχας Χίου, οι αντιμικροβιακές της ιδιότητες, η ευεργετική δράση της στις παθήσεις του πεπτικού συστήματος, η προστασία της από την αθηροσκλήρωση, οι αντιδιαβητικές και αντιυπερτασικές ιδιότητες της, η αντικαρκινική δράση της, η ηπατοπροστασία της, η συμβολή της στη στοματική υγιεινή, καθώς και στην ανάπτυξη και επούλωση του δέρματος (44).

Αντιοξειδωτική και Αντιφλεγμονώδης δράση

Η εφαρμογή της μαστίχας Χίου σαν αντιοξειδωτικός παράγοντας έχει πραγματοποιηθεί εδώ και αρκετά χρόνια. Ειδικότερα, στην Αίγυπτο κατά τη δεκαετία του 1970, χρησιμοποιείτο για την προστασία των λιπών και των ελαίων. Πλέον, οι αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες της μαστίχας Χίου έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον των ερευνητών, τόσο *in vitro* σε λιπαρά υποστρώματα τροφίμων, στη κοσμετολογία και στη φαρμακευτική, όσο και *in vivo* αναφορικά με την οξείδωση της χοληστερόλης, με τις φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου κ.ά. (44).

Το 2002, μελετήθηκε η βιολογική δράση της σιέλου εθελοντών που κατανάλωναν διαφορετικές τσίκλες στη μείωση της οξείδωσης της LDL. Η ακατέργαστη μαστίχα Χίου παρείχε τα βέλτιστα αποτελέσματα, με την εμπορική μαστίχα Χίου να την ακολουθεί (44). Το 2003, ερευνήθηκαν ποικίλες ρητίνες για την πιθανή προστασία τους *in vitro* από την επαγόμενη από χαλκό οξείδωση της LDL. Το υδατομεθανολικό εκχύλισμα μαστίχας Χίου αποδείχθηκε το πιο αποτελεσματικό (40,42,44,53).

Το 2005, ερευνητική ομάδα μελέτησε την αντιοξειδωτική δράση διαφόρων φυσικών ρητινών και των βιοδραστικών τριτερπενίων τους σε μία ποικιλία λιπών και ελαίων (χοιρινό λίπος, αραβοσιτέλαιο, ελαιόλαδο, ηλιέλαιο). Διαπιστώθηκε ότι η μαστίχα Χίου έδειξε τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε καθένα από τα υποστρώματα. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο συνδυασμός της μαστίχας Χίου με κιτρικό οξύ επέφερε συνεργιστική δράση στα δείγματα αραβοσιτελαίου και ηλιελαίου, καθώς επίσης και ότι η μαστίχα Χίου ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματική κατά της οξείδωσης του χοιρινού λίπους. Το συμπέρασμα που εξήχθη ήταν ότι η μαστίχα Χίου δύναται να χρησιμοποιηθεί ως φυσικό αντιοξειδωτικό συστατικό σε τρόφιμα, αλλά και φαρμακευτικά και κοσμητικά προϊόντα, λόγω της αντιοξειδωτικής της δράσης σε λιπαρά υποστρώματα (39,44,45,53).

Το 2009, από μία άλλη ερευνητική ομάδα μελετήθηκε η επίδραση της μαστίχας Χίου στη λειτουργία ενεργοποιημένων μακροφάγων. Βρέθηκε ότι η μαστίχα Χίου, τόσο σε στερεά όσο και σε υγρή μορφή, αναστέλλει την παραγωγή προ-φλεγμονωδών ενώσεων, όπως είναι το μονοξείδιο του αζώτου (NO) και η προσταγλανδίνη (PG) E₂. Επίσης, η δράση αυτή συνοδεύεται από μείωση του αριθμού ζώντων κυττάρων και από ισχυρή δέσμευση ριζών υδροξυλίου. Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδηλώνουν τις αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές δράσεις της μαστίχας Χίου (44,55).

Το 2010, η ομάδα του Mahmoudi και των συνεργατών του διερεύνησαν τη μαστίχα Χίου, και ιδίως τα ανόργανα συστατικά της, την αντιφλεγμονώδη και την

αντιοξειδωτική της δράση σε ποντίκια. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μαστίχα Χίου προκάλεσε σημαντική αναστολή του οιδήματος, σε οποιαδήποτε δόση χρησιμοποιήθηκε. Πλήρης αναστολή της φλεγμονής επιτεύχθηκε με δόση 800 mg/Kg μαστίχας Χίου ενδοπεριτοναϊκά. Η ρητίνη ήταν ασφαλής και δεν παρουσίαζε τοξικότητα μέχρι τα 3 g/Kg βάρους σώματος στα ποντίκια (44,56).

Η αντιφλεγμονώδης δράση της μαστίχας Χίου μελετήθηκε επίσης, το 2011, για τη θεραπεία φλεγμονωδών ασθενειών σε ποντίκια. Το αλλεργικό άσθμα χαρακτηρίζεται από φλεγμονή των αεραγωγών, ηωσινοφιλία και υπεραπόκριση των αεραγωγών. Το προϊόν διαπιστώθηκε ότι αναστέλλει σημαντικά την ηωσινοφιλία, μειώνει παράλληλα την υπεραπόκριση των αεραγωγών και καταστέλλει την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών (44,57).

Το 2011, η ομάδα της Τριανταφύλλου και των συνεργατών της διερεύνησαν τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες της μαστίχας Χίου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, δεν υπήρχε σημαντική δέσμευση του ανιόντος σουπεροξειδίου. Ωστόσο, παρατηρήθηκε αναστολή της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC), γεγονός που ουσιαστικά οδηγεί σε μείωση της παραγωγής ανιόντων σουπεροξειδίου και υπεροξειδίου του υδρογόνου, από NADPH οξειδάσες. Το τελευταίο υποδηλώνει τις αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις της μαστίχας Χίου (44,58).

Προσθέτοντας στα παραπάνω, το 2014, διεξήχθη μελέτη αντικείμενο της οποίας ήταν οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες της μαστίχας Χίου, μετά την ενθυλάκωση της σε λιποσώματα. Χρησιμοποιήθηκε το συνολικό εκχύλισμα της μαστίχας μετά την απομάκρυνση του περιεχόμενου αδιάλυτου πολυμερούς για τη βελτίωση της διαλυτότητας και της *in vivo* δραστικότητας. Το συμπέρασμα που εξήχθη ήταν ότι τα ενθυλακωμένα κλάσματα της μαστίχας Χίου, και ειδικότερα το όξινο, εμφάνιζαν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση σε σύγκριση με τα μη ενθυλακωμένα κλάσματα (44,59).

Τέλος, το 2018, ερευνήθηκε η βιοδιαθεσιμότητα των τερπενίων σε ανθρώπους και η ενδεχόμενη αντιοξειδωτική τους δράση μετά από χορήγηση δια στόματος. Βάσει μετρήσεων του οξειδωτικού στρες ορισμένων βιοδεικτών στο πλάσμα των εθελοντών, διαπιστώθηκε ότι τα περιεχόμενα στη μαστίχα Χίου τερπένια συμβάλλουν στη μείωση της οξείδωσης τους. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η οξείδωση της LDL μειώθηκε σημαντικά μετά από μία ώρα χορήγησης μαστίχας Χίου. Ως εκ τούτου, τα τερπένια της μαστίχας Χίου συμβάλλουν δυννητικά στην αντιοξειδωτική άμυνα *in vivo* (44,60).

Αντιμικροβιακή δράση

Η αντιμικροβιακή δράση της μαστίχας Χίου έχει αποτελέσει πολλές φορές αντικείμενο ερευνητικών δραστηριοτήτων, στις οποίες διερευνάται ο περιορισμός του ρυθμού αύξησης αλλά και η θανάτωση μικροβίων, βακτηρίων και παθογόνων μικροοργανισμών, σε υποστρώματα που έχει προστεθεί μαστίχα Χίου. Τα αποτελέσματα των μελετών υποδεικνύουν τη σημαντική αντιμικροβιακή και αντιμυκητιακή δράση της μαστίχας Χίου. Ως εκ τούτου, δύναται να αξιοποιηθεί ως συστατικό φαρμακευτικών σκευασμάτων, σκευασμάτων προστασίας και περιποίησης, καθώς επίσης και ως φυσικό συντηρητικό των τροφίμων.

Αρχικά, πολυάριθμες έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με την αντιμικροβιακή δράση της μαστίχας Χίου έναντι του *Helicobacter pylori*, ενός βακτηρίου που συσχετίζεται με γαστρικές ασθένειες (40). Η πρώτη ερευνητική μελέτη σχετικά με αυτήν δημοσιεύθηκε το 1998, αποδεικνύοντας την *in vitro* αντιμικροβιακή δράση της σε χαμηλές συγκεντρώσεις (60 µg μαστίχας/mL υγρού καλλιέργειας). Σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, η ανάπτυξη εξακολουθούσε να αναστέλλεται σημαντικά, ακόμη και στη χαμηλότερη χρησιμοποιούμενη συγκέντρωση (7.5 µg/mL υγρού καλλιέργειας) (61). Έκτοτε, πολλές έρευνες έχουν διεξαχθεί, τόσο *in vitro* πειράματα όσο και *in vivo* κλινικές δοκιμές, που υπογραμμίζουν τη δράση της έναντι του *Helicobacter pylori* και των διαταραχών που προκύπτουν από αυτό (40). Η πρώτη μελέτη για τη δράση της μαστίχας Χίου και των συστατικών της έναντι του *Helicobacter pylori* έλαβε χώρα το 2007 και περιελάμβανε τη χορήγηση εκχυλίσμάτων μαστίχας Χίου, κατόπιν αφαίρεσης του πολυμερούς, σε μολυσμένα με SS1 ποντίκια για διάστημα 3 μηνών. Η μέση ημερήσια δόση ήταν 0,75 mg/ημέρα και οδήγησε σε μείωση κατά 30 φορές τον αποικισμό του βακτηρίου. Κατόπιν, μελετήθηκαν τα εκχυλίσματα μαστίχας Χίου καθώς και απομονωμένα τριτερπενικά οξέα για την *in vitro* δράση τους έναντι 11 στελεχών του *H.pylori*. Το όξινο κλάσμα, που περιείχε κυρίως τριτερπενικά οξέα, βρέθηκε το πιο αποτελεσματικό από τα εκχυλίσματα, ενώ ως η πιο βιοδραστική καθαρή ένωση βρέθηκε το ισομαστιχαδιενονικό οξύ **(Σφάλμα! Το αρχείο προέλευσης της αναφοράς δεν βρέθηκε.)**. Το 2014, εξετάστηκαν τα υπεύθυνα για τη δράση κατά του *Helicobacter pylori* συστατικά της μαστίχας Χίου. Εξ αυτών, η α-τερπινεόλη και η (E)-μεθυλ-ισοευγενόλη ήταν τα πιο δραστικά συστατικά έναντι τεσσάρων στελεχών του βακτηρίου, απομονωμένων από ασθενείς που έπασχαν από γαστρίτιδα, γαστρικό έλκος και καρκίνο του στομάχου (62).

Εκτός από την αντιμικροβιακή δράση κατά του *Helicobacter pylori*, ερευνητικές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για τη δράση της μαστίχας Χίου έναντι διαφόρων

αλλοιογόνων και παθογόνων βακτηρίων στα τρόφιμα. Το 1995, μελετήθηκε η αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου της μαστίχας Χίου έναντι των βακτηρίων *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum*, *Pseudomonas fragi* και *Salmonella enteritidis*. Διαπιστώθηκε ότι προκαλούσε αναστολή της ανάπτυξης των βακτηρίων, και κυρίως των θετικών κατά Gram βακτηρίων σε σχέση με των Gram-αρνητικών (44,64). Μία παρόμοια μελέτη, που διεξήχθη από τη Φαρμακευτική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών, επιβεβαίωσε την αντιμικροβιακή δράση της μαστίχας Χίου έναντι Gram-θετικών και Gram-αρνητικών βακτηρίων, όπως του *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Escherichia coli* κ.ά., καθώς επίσης και παθογόνων μυκήτων (50).

Το 2004 πραγματοποιήθηκε, στο Κεμπέκ του Καναδά, μία ερευνητική μελέτη από τη Σχολή Επιστήμης Τροφίμων και Γεωργικής Χημείας, σχετικά με την επίδραση της μαστίχας Χίου στην ανάπτυξη στελεχών *Clostridium botulinum* σε προϊόντα αρτοποιίας. Βρέθηκε ότι η προσθήκη μαστιχέλαιου σε ελάχιστη συγκέντρωση 0.3% ήταν αρκετή για την αναστολή της ανάπτυξης του βακτηρίου. Ως εκ τούτου, εξήχθη το συμπέρασμα ότι η μαστίχα Χίου και το αιθέριο έλαιο της μπορούν να χρησιμοποιηθούν όχι μόνο σαν παράγοντες αρώματος και γεύσης, αλλά και ως φυσικά συντηρητικά σε προϊόντα αρτοποιίας (65).

Το 2005, εξετάστηκε επίσης η αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου της μαστίχας Χίου έναντι των παθογόνων βακτηρίων *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* και *Bacillus subtilis*, με τη μέθοδο διάχυσης δίσκου. Πραγματοποιήθηκε αρχικά κλασμάτωση των συστατικών, ώστε να μελετηθεί η δράση κάθε συστατικού μεμονωμένα. Ωστόσο διαπιστώθηκε ότι η αντιμικροβιακή δράση της μαστίχας Χίου δεν προκύπτει από ένα συστατικό αποκλειστικά, αλλά είναι αποτέλεσμα συνεργιστικής δράσης πολλών διαφορετικών συστατικών (39,43).

Τέλος, το 2014, ερευνήθηκαν οι αντιμικροβιακές ιδιότητες εκχυλισμάτων μαστίχας Χίου (EtOAc-MeOH), αλλά και των όξινων και ουδέτερων κλασμάτων της, έναντι εννέα Gram-θετικών και Gram-αρνητικών βακτηρίων και μυκήτων (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *C. tropicalis* και *C. glabrata*). Μεταξύ όλων, το εκχύλισμα ακατέργαστης μαστίχας Χίου εμφάνισε τη μεγαλύτερη δράση, ιδίως κατά των Gram-θετικών παθογόνων βακτηρίων (τιμές MIC 0.05-0.20 mg/mL) (59).

Πρόληψη και θεραπεία παθήσεων του πεπτικού συστήματος

Αποτελέσματα σύγχρονων επιστημονικών μελετών συσχετίζουν τη μαστίχα Χίου με τη θεραπεία παθήσεων του πεπτικού συστήματος, όπως γαστρικών διαταραχών, προβλημάτων δυσπεψίας, γαστραλγιών, καθώς και πεπτικών ελκών (39). Αρχικά, όπως προαναφέρθηκε, η μαστίχα Χίου δρα κατά του *Helicobacter pylori*, ενός Gram(-) βακτηρίου που αποικίζει το στομάχι και συνδέεται με γαστρίτιδα, πεπτικό έλκος, γαστρικό λέμφωμα και αδеноκαρκίνωμα του στομάχου (45). Η έρευνα για πιθανή δράση της μαστίχας Χίου έναντι του βακτηρίου αυτού γεννήθηκε από την ανάγκη εύρεσης εναλλακτικών, άνευ αντιβιοτικών θεραπειών, για την αντιμετώπιση αναδυόμενων παθογόνων μικροοργανισμών ανθεκτικών στα αντιβιοτικά και του πιθανού κινδύνου που προκύπτει από αυτά για τη δημόσια υγεία (40).

Περί τα μέσα του 1980, αναφέρθηκε για πρώτη φορά η ενδεχόμενη θεραπευτική δράση της μαστίχας Χίου στο έλκος του δωδεκαδακτύλου στον άνθρωπο (40). Έτσι, το 1984, διεξήχθη η πρώτη κλινική δοκιμή σε 38 ασθενείς με έλκος του δωδεκαδακτύλου προκειμένου να διαπιστωθεί η θεραπευτική απόκριση της μαστίχας (1 g καθημερινά, σε 20 ασθενείς) σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (placebo) (1 g λακτόζης, σε 18 ασθενείς), τα οποία χορηγούνταν καθημερινά δια της στοματικής οδού για περισσότερο από δύο εβδομάδες. Παρατηρήθηκε ανακούφιση των συμπτωμάτων σε 16 ασθενείς (80%) που λάμβαναν μαστίχα Χίου σε ημερήσια βάση, έναντι 9 ασθενών (50%) που λάμβαναν το εικονικό φάρμακο. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε ενδοσκοπικά ίαση σε 14 ασθενείς (70%) που λάμβαναν μαστίχα, ενώ σε μόλις 4 ασθενείς (22%) που λάμβαναν το εικονικό φάρμακο. Συμπερασματικά, η μαστίχα Χίου δρα θεραπευτικά στο έλκος του δωδεκαδακτύλου (40,44,66).

Λίγο αργότερα, το 1986, μελετήθηκε η δράση της μαστίχας Χίου στα έλκη του στομάχου και του δωδεκαδακτύλου σε ποντίκια. Η δια του στόματος και καθημερινή χορήγηση μαστίχας Χίου σε δόση 500 mg/kg βάρους σώματος, οδήγησε σε σημαντική μείωση της βλάβης του γαστρικού βλεννογόνου (44,67).

Το 2007, διερευνήθηκε η επίδραση της μαστίχας Χίου σε ασθενείς που έπασχαν από τη νόσο του Crohn. Διαπιστώθηκε ότι η μαστίχα περιόριζε την έξαρση της νόσου, καθώς και τα επίπεδα των σχετιζόμενων παραγόντων (της ιντερλευκίνης-6 και της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης) σε ασθενείς που νοσούσαν σε ήπιο και μέτριο βαθμό. Επίσης, η μαστίχα βελτίωνε τα κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου, ρυθμίζοντας τη φλεγμονή και αυξάνοντας το αντιοξειδωτικό δυναμικό. Τα παραπάνω καθιστούν τη μαστίχα Χίου έναν σημαντικό ρυθμιστή του ανοσοποιητικού συστήματος σε ασθενείς με νόσο του Crohn (44,68).

Το 2010, σε μελέτη που διεξήχθη σε ασθενείς που έπασχαν από λειτουργική δυσπεψία παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση των συμπτωμάτων σε 40% των

ασθενών που λάμβαναν το εικονικό φάρμακο και σε 77% των ασθενών που λάμβαναν μαστίχα (350 mg, 3 φορές ημερησίως). Η κατανάλωση μαστίχας επέφερε αισθητή βελτίωση συμπτωμάτων όπως του στομαχικού άλγους γενικά, του στομαχικού άλγους σε καταστάσεις άγχους, του πόνου της άνω κοιλιακής χώρας και της καούρας. Συμπερασματικά, η μαστίχα Χίου δρα ευεργετικά σε ασθενείς με λειτουργική δυσπεψία (44,69).

Κλείνοντας, το 2020, πραγματοποιήθηκε ερευνητική μελέτη για την αποτίμηση των αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων της μαστίχας Χίου σε ποντίκια που έπασχαν από κολίτιδα. Μετά από χορήγηση μαστιχέλαιου (400 mg/Kg βάρους σώματος/ημέρα) για διάστημα 7 συναπτών ημερών, διαπιστώθηκε σημαντική μείωση της σοβαρότητας της κολίτιδας μετά τις 7 ημέρες. Ειδικότερα, οδήγησε σε σημαντική μείωση του παράγοντα νέκρωσης όγκων α (TNF- α) και της πρεδνιζολόνης, υποδηλώνοντας ότι δύναται να χρησιμοποιηθεί ως φυσική πηγή για την αντιμετώπιση της φλεγμονής της ελκώδους κολίτιδας (70).

Προστασία από αθηροσκλήρωση και καρδιακές παθήσεις

Όπως προαναφέρθηκε, η μαστίχα Χίου αποτελεί ένα φυσικό αντιοξειδωτικό. Χάρη στη σύνθεσή της και ειδικότερα, λόγω της παρουσίας φαινολικών ενώσεων, τιτερπενικών ενώσεων και φυτοστερολών, δύναται να δράσει ενάντια στο σχηματισμό αθηρωματικών πλακών και στην οξείδωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL), αποτρέποντας κατά αυτόν τον τρόπο τον κίνδυνο αθηροσκλήρωσης και καρδιακών παθήσεων (39).

Ερευνητική μελέτη του 2009 έδειξε ότι το ουδέτερο κλάσμα της μαστίχας Χίου και το συστατικό της τιρουκαλλόλη ανέστειλαν σε σημαντικό βαθμό την έκφραση των VCAM-1 και ICAM-1 μορίων και την πρόσδεση των λευχαιμικών κυττάρων U937 στα ενεργοποιημένα από το TNF- α ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα αορτής (HAECs). Επίσης, παρατηρήθηκε περιορισμός της φωσφορυλίωσης του παράγοντα NF κ B p65. Συμπερασματικά, η μαστίχα Χίου θα μπορούσε να αποτελέσει βάση μίας νέας πιθανής θεραπείας για την αποτροπή της αθηροσκλήρωσης (44,71). Σε άλλη μελέτη, το μαστιχέλαιο και το όξινο κλάσμα της μαστίχας Χίου επέδειξαν υψηλή προστατευτική δράση έναντι της οξείδωσης της LDL, της τάξεως του 65-77,8%. Αξίζει να σημειωθεί ότι ποσότητα 50 mg μαστίχας Χίου ανέστειλε σχεδόν πλήρως την οξείδωση της LDL, σε ποσοστό 99,9% (44,53).

Οι υπολιπιδαιμικές ιδιότητες της μαστιχέλαιου μελετήθηκαν επίσης σε υγιή και σε επιρρεπή στην υπερλιπιδαιμία ποντίκια. Διαπιστώθηκε ότι το μαστιχέλαιο μείωσε τα επίπεδα της χοληστερόλης του ορού και των τριγλυκεριδίων. Ειδικότερα, η

χορήγηση καμφενίου, του συστατικού του ελαίου που συνδέθηκε με την υπολιπιδαιμική δράση, σε δόση 30 μg/g βάρους σώματος μείωσε κατά 54,5% την ολική χοληστερόλη, 54% την LDL-χοληστερόλη και 34,5% τα τριγλυκερίδια (44,72). Σε επόμενη μελέτη, το 2016, βρέθηκε ότι το καμφένιο προκαλούσε αναστολή της βιοσύνθεσης της χοληστερόλης με ρυθμό εξαρτώμενο από τη συγκέντρωσή του. Η μέγιστη αναστολή της τάξεως του 39% επιτεύχθηκε με συγκέντρωση καμφενίου ίση με 100 μM. Επιπλέον, η θεραπεία με καμφένιο είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των τριγλυκεριδίων κατά 34% (44,73).

Σε μία άλλη *in vivo* μελέτη, κουνέλια ακολούθησαν συγκεκριμένη διαίτα εμπλουτισμένη με το ουδέτερο κλάσμα της μαστίχας (NMF) και το συνολικό εκχύλισμα της μαστίχας εκτός του πολυμερούς (TMEWP) στην ίδια δόση (46 mg/kg/ημέρα), μέσω διαλύματος ηλιέλαιου για διάστημα 6 εβδομάδων. Τα εκχυλίσματα μαστίχας Χίου φάνηκε να μειώνουν το μέγεθος του εμφράγματος στα αναισθητοποιημένα κουνέλια που ακολουθούσαν φυσιολογική διατροφή, καθώς δεν εντοπίστηκε αθηροσκλήρωση σε αυτά. Παρατηρήθηκε μείωση των συνολικών επιπέδων χοληστερόλης κατά 47% για το TMEWP και κατά 88% για το NMF (42,74).

Το 2015 διεξήχθη μελέτη που αποσκοπούσε στην αποτίμηση της δράσης τριών διαφορετικών μορφών της μαστίχας Χίου (ακατέργαστη μαστίχα, μαστίχα άνευ πολυμερούς, μαστίχα σε σκόνη) σε 156 εθελοντές με επίπεδα ολικής χοληστερόλης υψηλότερα από 200 mg/dl. Οι εθελοντές χωρίστηκαν στις εξής ομάδες: ομάδα που λάμβανε εικονικό (*placebo*) φάρμακο, ομάδα που λάμβανε 1 g ακατέργαστης μαστίχας Χίου ανά ημέρα (κάψουλα 330 mg, 3 φορές/ημέρα), ομάδα που λάμβανε 1 g μαστίχας άνευ πολυμερούς ανά ημέρα (κάψουλα 330 mg, 3 φορές/ημέρα) και ομάδα που λάμβανε σκόνη μαστίχας σε συνολική δόση 2 g ανά ημέρα. Μετά το πέρας 8 εβδομάδων, τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης μειώθηκαν κατά 11.5 mg/dl στην ομάδα που κατανάλωνε ακατέργαστη μαστίχα και κατά 4.5 mg/dl σε αυτήν που κατανάλωνε μαστίχα μετά την απομάκρυνση του πολυμερούς. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι τα αποτελέσματα ήταν μεγαλύτερα στα υπέρβαρα και παχύσαρκα άτομα (42,44,75).

Κλείνοντας, η καρδιοπροστατευτική δράση της μαστίχας Χίου υπεδείχθη με την κατανάλωση 5 g σκόνης μαστίχας ανά ημέρα για 18 μήνες. Οι βιοχημικοί δείκτες του ορού των εθελοντών προσδιορίζονταν σε μηνιαία βάση. Διαπιστώθηκε μείωση της ολικής χοληστερόλης του ορού, της LDL-χοληστερόλης και της αναλογίας ολικής χοληστερόλης/χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας (HDL) (44,76).

Αντιδιαβητική και ηπατοπροστατευτική δράση

Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν την ευεργετική δράση της μαστίχας Χίου στο μεταβολισμό της γλυκόζης και ειδικότερα στη βελτίωση της υπεργλυκαιμίας (44). Πειραματικά αποτελέσματα έδειξαν ότι η χορήγηση μαστίχας Χίου για διάστημα 4 εβδομάδων σε διαβητικά ποντίκια μείωσε σημαντικά τη γλυκόζη του ορού, καθώς και τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων (77).

Το 2015, μελετήθηκε η αντιδιαβητική δράση της ακατέργαστης μαστίχας Χίου σε διαβητικά ποντίκια που ακολουθούν αγωγή με αλλοξάνη. Διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση μαστίχας σε ποσότητα 100 mg/Kg επέφερε σημαντική μείωση της γλυκόζης του αίματος. Επιπλέον, παρατηρήθηκε βελτίωση στη λειτουργία του ήπατος των ποντικών που κατανάλωναν μαστίχα σε σχέση με εκείνα που ακολουθούσαν αγωγή με αλλοξάνη. Ως εκ τούτου, η μαστίχα Χίου διαθέτει αντι-υπεργλυκαιμική δράση καθώς μειώνει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα των ποντικών και αυξάνει την ανοχή στη γλυκόζη σε σημαντικό βαθμό, ενώ ταυτόχρονα προστατεύει το ήπαρ βελτιώνοντας το μικροπεριβάλλον του (78).

Το 2016, διερευνήθηκε η δράση της μαστίχας Χίου στο μεταβολικό προφίλ και στην ιστολογία του ήπατος σε διαβητικά ποντίκια, τα οποία έλαβαν διαφορετική ποσότητα μαστίχας (20 mg/Kg βάρους σώματος και 500 mg/Kg βάρους σώματος) για διάστημα 8 εβδομάδων. Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική ελάττωση της γλυκόζης του ορού, της ολικής και της LDL-χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων. Παράλληλα, η ηπατική στεάτωση φάνηκε να αντιστράφηκε μερικώς με τη χορήγηση μαστίχας Χίου (44,79).

Σύμφωνα με την ερευνητική μελέτη της ομάδας του Καρτάλη (2015), η χορήγηση ακατέργαστης μαστίχας Χίου ποσότητας 1 g ημερησίως για διάστημα 8 εβδομάδων οδήγησε σε μείωση της γλυκόζης πλάσματος νηστείας (FPG) κατά 4.5 mg/dl. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα αποτελέσματα ήταν μεγαλύτερα στα υπέρβαρα και παχύσαρκα άτομα όπου η αντίστοιχη μείωση ήταν κατά 5.1 mg/dl. Επομένως, η μαστίχα επιφέρει σημαντική μείωση των επιπέδων γλυκόζης (75).

Ακόμη, το 2017, ερευνήθηκε η δράση της μαστίχας Χίου σε υγιείς εθελοντές από την Ιαπωνία. Η ημερήσια πρόσληψη 5 g σκόνης μαστίχας οδήγησε σε μείωση των τριγλυκεριδίων σε διάστημα 3 μηνών, καθώς και των τιμών της ινσουλίνης σε διάστημα 6 μηνών. Η ελάττωση της ινσουλίνης επιτεύχθηκε σε μικρότερο χρόνο (3 μήνες) με συνδυασμό πρόσληψης μαστίχας και φυσικής σωματικής άσκησης. Συμπερασματικά, η μαστίχα Χίου μειώνει τα επίπεδα τριγλυκεριδίων και ινσουλίνης του ορού, ενώ η φυσική άσκηση ενισχύει τη δράση της αναφορικά με την ινσουλίνη (44,80).

Αντικαρκινική δράση

Σύμφωνα με πολυάριθμες μελέτες, υπάρχουν ενδείξεις ότι η μαστίχα Χίου διαθέτει αντικαρκινική δράση, επιδρώντας θετικά σε διάφορες μορφές καρκίνου, όπως του παχέος εντέρου, του πνεύμονα, του στόματος, του προστάτη και της λευχαιμίας, καθιστώντας την μελλοντικά έναν πιθανό θεραπευτικό παράγοντα των παραπάνω (40,44).

Σε πρώτο στάδιο, το 2007, αποτελέσματα έρευνας έδειξαν ότι το 50% αιθανολικό εκχύλισμα της μαστίχας προκαλεί αναστολή του πολλαπλασιασμού και θανάτωση των HCT116 καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου *in vitro*, μέσω μονοπατιών που σχετίζονται με τη δράση κασπασών (40,44,81). Στη συνέχεια ακολούθησε μία *in vivo* μελέτη που αποσκοπούσε στην αποτίμηση της αντικαρκινικής δράσης του εξανικού εκχυλίσματος της μαστίχας σε καρκινικά κύτταρα παχέος εντέρου ποντικών. Χορήγηση εξανικού εκχυλίσματος μαστίχας σε ημερήσια δόση 200 mg/Kg για 4 συναπτές ημέρες (ακολουθούμενες από 3 ημέρες χωρίς χορήγηση) ανέστειλε την αύξηση του όγκου κατά 35% μετά από 35 ημέρες (39,44,82). Μελετήθηκε επίσης η αποτελεσματικότητα του μαστιχέλαιου και των επιμέρους συστατικών του μεμονωμένα στην αναστολή της ανάπτυξης καρκινικών κυττάρων παχέος εντέρου σε ποντίκια μετά από αγωγή δια του στόματος. Βρέθηκε ότι πράγματι το μαστιχέλαιο προκαλούσε αναστολή της ανάπτυξης καρκινικών όγκων, σε αντίθεση με τα συστατικά του που είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό δεν παρουσίασαν αυτή τη δράση (83).

Μελέτη του 2009 υπέδειξε την ανασταλτική δράση του αιθέριου ελαίου της μαστίχας στην αύξηση των Lewis καρκινωμάτων του πνεύμονα (LLC) σε ποντίκια. Ειδικότερα, χορηγήθηκε μαστιχέλαιο (45 mg/Kg βάρους σώματος, ενδοπεριτοναϊκά, 3 φορές την εβδομάδα για 3 εβδομάδες), το οποίο περιόρισε την αύξηση του όγκου κατά 56.4% (42,84). Μία ακόμη *in vivo* μελέτη σε ποντίκια έδειξε ότι η αγωγή με μαστιχέλαιο σε συγκεντρώσεις εύρους 0.01-0.04% v/v σε καρκινικά κύτταρα LLC μειώνει τις μεταστάσεις, αναστέλλοντας το σχηματισμό νέων δικτύων που ευθύνονται για αυτές (42,85).

Το 2011 σχεδιάστηκε μία μελέτη για να εξεταστεί το εκχύλισμα μαστίχας Χίου ως ένας πιθανός αντικαρκινικός παράγοντας στην *in vitro* ανάπτυξη καρκινικών πλακωδών κυττάρων στην περιοχή του στόματος (YB-10B). Βρέθηκε ότι ο συνδυασμός 10 $\mu\text{g/ml}$ μαστίχας και 50 $\mu\text{g/ml}$ ταξόλης, ενός ευρέως

χρησιμοποιούμενου χημειοθεραπευτικού παράγοντα, προκάλεσαν κατακερματισμό του DNA σε 24 ώρες και πλήρη διάσπαση της προσκαπάσης-3 (86).

Το 2006 μελετήθηκε η επίδραση της μαστίχας Χίου στην ενεργότητα του υποδοχέα των ανδρογόνων σε μία σειρά καρκινικών κυττάρων του προστάτη. Βρέθηκε ότι η μαστίχα (6-12 $\mu\text{g/ml}$) αναστέλλει την έκφραση του υποδοχέα σε μεταγραφικό επίπεδο και σε πρωτεϊνικό επίπεδο (87). Ένα χρόνο αργότερα, η ίδια ερευνητική ομάδα μελέτησε τη δράση της μαστίχας στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων PC-3 του ανδρογόνο-ανεξάρτητου καρκίνου του προστάτη και διαπιστώθηκε ότι εμποδίζει την ανάπτυξη τους, αναστέλλοντας τον κυτταρικό κύκλο στη G1 φάση (88).

Προσθέτοντας στα παραπάνω, αποτελέσματα έρευνας έδειξαν ότι το μαστιχέλαιο ασκεί αντι-πολλαπλασιαστική δράση σε ανθρώπινα λευχαιμικά κύτταρα K562, η οποία εξαρτάται από τη συγκέντρωση και τον χρόνο επίδρασης του αιθέριου ελαίου. Επιπλέον, προκαλεί αναστολή του πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων με τρόπο εξαρτώμενο από τη συγκέντρωση. Ως εκ τούτου, μέσω πολλαπλών δράσεων στα κακοήγη και ενδοθηλιακά κύτταρα, το μαστιχέλαιο θα μπορούσε να αποτελέσει ένα ωφέλιμο φυσικό συμπλήρωμα διατροφής για την πρόληψη του καρκίνου (89).

Αντιυπερτασική δράση

Πρόσφατη ερευνητική μελέτη αποδίδει αντιυπερτασικές ιδιότητες στη μαστίχα Χίου. Το 2018, διερευνήθηκε η πιθανή δράση της μαστίχας έναντι της πίεσης του αίματος και της βλάβης των οργάνων που επάγεται από την υπέρταση. Υπερτασικά ποντίκια λάμβαναν ημερήσια δόση μαστίχας Χίου 40 mg/Kg βάρους σώματος για 2 εβδομάδες, η οποία οδήγησε σε μείωση της αρτηριακής πίεσης και σε αποτροπή της βλάβης οργάνων. Ο τρόπος δράσης της μαστίχας πιθανότατα σχετίζεται με τη μείωση της ρενίνης του ορού, της ιντερλευκίνης-6 (IL-6) και της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP), καθώς επίσης και με τη βελτίωση ιδιοτήτων της αορτής, όπως της ακαμψίας και του πάχους του τοιχώματος της αορτής (44,90).

Στοματική υγιεινή και οδοντιατρική έρευνα

Από την αρχαιότητα έως σήμερα, υπάρχουν ενδείξεις ότι η μαστίχα Χίου διαθέτει ευεργετικές ιδιότητες για την οδοντοστοιχία και την υγιεινή της στοματικής κοιλότητας. Πολυάριθμες δοκιμές έχουν συνδέσει τη μάσηση μαστίχας Χίου με δράση, μεταξύ άλλων, κατά του σχηματισμού μικροβιακής πλάκας, της χρόνιας περιοδοντίτιδας, της δυσάρεστης αναπνοής, στη πρόληψη της τερηδόνας κ.ά. (44). Μελέτες έδειξαν επίσης ότι η συστηματική μάσηση μαστίχας Χίου συμβάλλει στην

εγκύμναση των ούλων, ενώ οι μύες της γνάθου αναρρώνουν ταχύτατα μετά από παρατεταμένη μάσηση (91). Παράλληλα, η μαστίχα Χίου παρουσιάζει σημαντική *in vivo* και *in vitro* αντιβακτηριακή δράση ενάντια στο *Streptococcus mutans* και στο *Porphyromonas gingivalis*, ενός βακτηρίου που ευθύνεται για την περιοδοντίτιδα και τη δυσάρεστη αναπνοή (44,92,93). Επιπλέον, συνεισφέρει στην αντιμετώπιση της ξηροστομίας, ενός φαινομένου που ταλαιπωρεί κυρίως άτομα της τρίτης ηλικίας. Λόγω των παραπάνω, η μαστίχα χρησιμοποιείται ως συστατικό σε οδοντόκρεμες και στοματικά διαλύματα, αλλά και ως συστατικό του σφραγίσματος των δοντιών και των εκμαγείων οδοντοστοιχιών (39).

Ανάπλαση και φροντίδα δέρματος

Οι εξαιρετικές επουλωτικές και συγκολλητικές ιδιότητες της μαστίχας Χίου προκύπτουν ως αποτελέσματα πολυάριθμων δημοσιεύσεων. Η ρητίνη χρησιμοποιείται συχνά ως συστατικό σε επιδέσμους, έμπλαστρα και επιθέματα που εφαρμόζονται για την προστασία και την επούλωση τραυμάτων ή μετεγχειρητικών τομών. Συνεισφέρει σημαντικά στην επούλωση, ενώ ταυτόχρονα λειτουργεί σαν αναπλαστικός παράγοντας της επιδερμίδας, χωρίς να προκαλεί ανεπιθύμητα αποτελέσματα (ερεθισμός, κνησμός, δερματίτιδα, αποχρωματισμός κ.ά.). Επίσης, στη κοσμετολογία, βρίσκει εφαρμογές σε καλλυντικά για τον καθαρισμό του δέρματος, ελέγχοντας την έκκριση του σμήγματος, και για την προστασία κατά του γήρατος, ενισχύοντας τη σύνθεση του κολλαγόνου (39).

A.3. Κρόκος Κοζάνης

A.3.1. Εισαγωγή



Εικόνα 13. Κρόκος Κοζάνης ΠΟΠ
(Κρόκος Κοζάνης ΠΟΠ, 2019.
<https://www.krokoskozanispdo.eu/index.php/e1/>)

Ο κρόκος Κοζάνης (*Crocus sativus* L.) συγκαταλέγεται ανάμεσα στα παλαιότερα και ακριβότερα μπαχαρικά και συνήθως καλλιεργείται ως πολυετής καλλιέργεια. Τα στίγματα κρόκου του φυτού χρησιμοποιούνται ως μπαχαρικό (95). Ο κρόκος, γνωστός κι ως σαφράν, συλλεγόταν ήδη από την Μινωική περίοδο (2600 - 1100 π.Χ.) και υπάρχουν αναφορές σε πολυάριθμα λογοτεχνικά κείμενα, όπως στα έργα του Ομήρου ή στην Παλαιά Διαθήκη, καθώς και στην ελληνική μυθολογία (94).

Το φυτό κρίκος φέρει λουλούδια βιολετί χρώματος, τα στίγματα των οποίων χρησιμοποιούνται ως μπαχαρικό. Το στίγμα έχει χρώμα σκούρο κόκκινο έως καστανοκόκκινο, με έντονη, χαρακτηριστική και αρωματική οσμή. Επίσης η γεύση του είναι χαρακτηριστική και πικρή (95).

Το 1971 ιδρύθηκε ο Αναγκαστικός Συνεταιρισμός Κροκοπαραγωγών Κοζάνης που κατέχει το αποκλειστικό δικαίωμα συλλογής, συσκευασίας και διακίνησης του κρίκου Κοζάνης (<https://safran.gr/the-cooperative/>). Αξίζει να αναφερθεί ότι έχει αποκτήσει πιστοποιητικό διασφάλισης ποιότητας ISO 9001 και έχει αναπτύξει πιστοποιημένη βιολογική καλλιέργεια κρίκου. Επίσης, η ονομασία "ΚΡΟΚΟΣ ΚΟΖΑΝΗΣ" έχει καταχωρηθεί ως προστατευόμενη ονομασία προέλευσης (ΠΟΠ) (97).

A.3.2. Παραγωγή κρίκου Κοζάνης

Το είδος κρίκου που καλλιεργείται συστηματικά σε ολόκληρο τον κόσμο είναι ο εδώδιμος ή ήμερος κρίκος ή όπως είναι γνωστός στη διεθνή επιστημονική ορολογία *Crocus sativus Linneaus*. Αποτελείται ονομαστικά από τρία τμήματα· τους βολβούς, τα άνθη, από τα οποία προκύπτουν τρία στίγματα μήκους 2,5-3 εκατοστών, και τα φύλλα (95).

Τα άνθη του κρίκου εμφανίζονται μόνο μία φορά ετησίως, στα μέσα Οκτωβρίου για 20 έως 25 ημέρες (98,99). Κατά τη συγκομιδή, τα άνθη συλλέγονται χειρωνακτικά, από την ανατολή μέχρι τη δύση σχεδόν του ήλιου, μέσα σε ποδιές ή σε καλάθια. Κατόπιν, ακολουθεί ο διαχωρισμός των σιγμάτων και των στημόνων από τα πέταλα. Σε ειδικό τραπέζι και με τη βοήθεια ενός ηλεκτρικού ανεμιστήρα λαμβάνει χώρα ο διαχωρισμός αυτός (98).

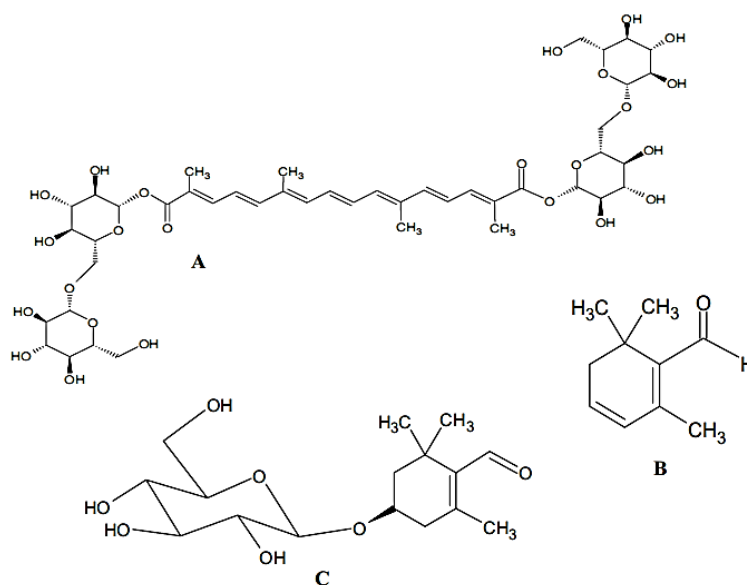
Το πιο σημαντικό και απαιτητικό στάδιο στην παραγωγή του κρίκου αποτελεί η ξήρανση, διεργασία που αποσκοπεί στην μείωση της υγρασίας για την αποφυγή ενζυμικής και μικροβιακής δράσης και επιμήκυνση του χρόνου ζωής του προϊόντος (101). Στην περίπτωση ορθής εφαρμογής, ο κρίκος διατηρεί αμετάβλητες τις χαρακτηριστικές του ιδιότητες και την ποιότητά του, καθώς δεν υπάρχει απώλεια χρωστικής δύναμης και αιθέριου ελαίου. Τα στίγματα μεταφέρονται σε λεπτές στρώσεις πάνω σε κόσκινα με βάση από μετάξι και διατηρούνται σε καλά αεριζόμενους, θερμαινόμενους χώρους. Μετά την αποξήρανση του, το προϊόν υποβάλλεται σε διαλογή και καθαρισμό και αποθηκεύεται σε δοχεία, έως και την παράδοσή του στον συνεταιρισμό. Στις διεργασίες αυτές δεν εμπλέκεται κανένα μηχανικό μέσο, γίνονται αποκλειστικά με το χέρι και διαρκούν από 20 έως 60 ημέρες (98).

Κατά την παράδοση στο συνεταιρισμό, πραγματοποιείται έλεγχος της ποιότητας του προϊόντος σε παραμέτρους όπως η υγρασία, η ποσότητα γύρης, τυχόν ξένες ύλες κ.ά. Το επίπεδο υγρασίας δεν πρέπει να είναι υψηλότερο από 8 έως 11,5%, λόγω κινδύνου ανάπτυξης μυκήτων. Μόλις διασφαλιστεί η ποιότητα, το προϊόν συσκευάζεται (98).

A.3.3. Χημική σύσταση κρόκου Κοζάνης

Λαμβάνοντας υπόψη το ευρύ φάσμα των ιατρικών του χρήσεων, ο κρόκος έχει υποβληθεί σε εκτενείς φυτοχημικές και βιοχημικές μελέτες και έχει απομονωθεί ποικιλία βιοδραστικών συστατικών (99). Χημικές αναλύσεις έχουν δείξει την παρουσία έως και 150 πτητικών και μη πτητικών ενώσεων, 50 από τις οποίες έχουν ταυτοποιηθεί (100). Το ιδιαίτερο άρωμα, η γεύση και το χρώμα του προϊόντος οφείλεται στην παρουσία δευτερογενών μεταβολιτών, οι οποίοι προέρχονται από πρωτογενείς μεταβολίτες. Πρωτογενείς μεταβολίτες, οι οποίοι είναι πανταχού παρόντες στη φύση, όπως υδατάνθρακες, μέταλλα, λίπη, βιταμίνες, αμινοξέα και πρωτεΐνες, μεταβολίζονται και προκύπτει μεγάλος αριθμός δευτερογενών μεταβολιτών, όπως καροτενοειδή, μονοτερπένια, και флаβονοειδή, συμπεριλαμβανομένων κυρίως των ανθοκυανινών. Τα τρία κύρια βιοενεργά συστατικά του κρόκου είναι (95):

- Κροκίνη, μια καροτενοειδής χρωστική που είναι υπεύθυνη για το κίτρινο-πορτοκαλί χρώμα,
- Σαφρανάλη, μια πτητική ένωση που είναι υπεύθυνη για το χαρακτηριστικό άρωμα του κρόκου, και
- Πικροκροκίνη, στην οποία αποδίδεται η χαρακτηριστική πικρή γεύση.



Εικόνα 14. Χημική δομή (Α) κροκίνης, (Β) σαφρανάλης και (Γ) πικροκροκίνης (95).

Η κροκίνη αποτελεί τη χρωστική ουσία του κρόκου, αντιστοιχεί περίπου στο 80% των συνολικών συστατικών του και είναι διαλυτή στο νερό. Έχει μοριακό τύπο $C_{44}H_{64}O_{24}$ και αποδίδει το χαρακτηριστικό χρώμα στον κρόκο. Η 1-κροκίνη, γνωστή κυρίως ως α -κροκίνη, εμπεριέχεται σε μεγαλύτερο βαθμό στο προϊόν και εμφανίζεται τη μεγαλύτερη διαλυτότητα. Η κροκίνη είναι γνωστή για την αντιοξειδωτική της δράση, δεσμεύοντας ελεύθερες ρίζες και προστατεύοντας τα κύτταρα και τους ιστούς από οξείδωση. Τέλος, είναι εξαιρετικά σταθερή ακόμη και υπό ακραίες συνθήκες, ενώ εμφανίζει μέγιστο απορρόφησης (λ_{max}) στα 440 nm (95).

Η σαφρανάλη, με μοριακό τύπο $C_{10}H_{14}O$, είναι υπεύθυνη για το χαρακτηριστικό άρωμα του κρόκου και αποτελεί το κύριο συστατικό του αιθέριου ελαίου. Αξίζει να σημειωθεί ότι στα φρέσκα στίγματα κρόκου δεν εντοπίζεται σαφρανάλη. Σχηματίζεται από τη δράση της β -γλυκοσιδάσης στην πικροκροκίνη κατά την ξήρανση και την αποθήκευση μετά τη συγκομιδή. Σε ορισμένα δείγματα, τα επίπεδα της σαφρανάλης μπορεί να αγγίζουν το 70% του συνολικού πτητικού κλάσματος. Τέλος, εμφανίζει μέγιστο απορρόφησης (λ_{max}) στα 330 nm (95,100).

Η χαρακτηριστική γεύση του κρόκου αποδίδεται στην παρουσία της πικροκροκίνης, ενός μονοτερπενικού γλυκοσιδίου που αποτελεί πρόδρομη ένωση της σαφρανάλης, όπως προαναφέρθηκε. Έχει μοριακό τύπο $C_{16}H_{26}O_7$ και αποτελεί το 1 έως 13% του στερεού υπολείμματος του κρόκου (95,100).

Εκτός από τα παραπάνω, στα κύρια συστατικά του κρόκου συγκαταλέγονται οι ανθοκυανίνες, τα φλαβονοειδή, διάφορες βιταμίνες, αμινοξέα, πρωτεΐνες, άμυλο, μεταλλικά στοιχεία και κόμμεα. Επιπλέον, εντοπίζονται και μη πτητικά ενεργά συστατικά, πολλά από τα οποία ανήκουν στα καροτενοειδή, όπως η ζεαξανθίνη, το λυκοπένιο και διάφορα α - και β -καροτένια (100).

Πίνακας 5. Τυπική χημική σύσταση κρόκου (99)

Συστατικό	Περιεκτικότητα (%)
Υδατοδιαλυτά συστατικά	53,0
Κόμμεα	10,0
Πεντοζάνες	8,0
Πηκτίνες	6,0
Άμυλο	6,0
α -Κροκίνη	2,0
Καροτενοειδή	1,0
Λιπίδια	12,0
Μη πτητικά έλαια	6,0
Πτητικά έλαια	1,0
Πρωτεΐνες	12,0

Ανόργανο κλάσμα -Τέφρα	6,0
Τέφρα διαλυτή σε HCl	0,5
Υγρασία	10,0
Ίνες	5,0

Κλείνοντας, η ποιότητα του κρόκου εξαρτάται από τη συγκέντρωση των τριών κύριων μεταβολιτών, της κροκίνης, της σαφρανάλης και της πικροκροκίνης, που αποδίδουν το χαρακτηριστικά άρωμα και γεύση. Το περιεχόμενό τους επηρεάζεται από το περιβάλλον και τις καλλιεργητικές τεχνικές. Η ποιότητά του ρυθμίζεται από τα πρότυπα ISO 3632, με στόχο την τυποποίηση της αξιολόγησης του κρόκου παγκοσμίως και ενημερώνονται κάθε τρία χρόνια (100).

A.3.4. Βιοδράσεις κρόκου Κοζάνης

Από την αρχαιότητα, ο κρόκος Κοζάνης χρησιμοποιούνταν από πολλούς πολιτισμούς παγκοσμίως ως παραδοσιακό φάρμακο. Λαοί, όπως οι Έλληνες, οι Αιγύπτιοι και οι Άραβες, θεωρούσαν το φυτό αυτό πανάκεια για πολλές ασθένειες. Επίσης, ο κρόκος χρησιμοποιείται ευρέως στην αισθητική και κοσμητολογία (100).

Αντιοξειδωτική δράση

Το οξειδωτικό στρες, που ορίζεται ως η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (ελεύθερες ρίζες) και αντιοξειδωτικών, εμπλέκεται σε διάφορες ασθένειες, όπως καρκίνο, καρδιαγγειακές παθήσεις, παχυσαρκία, σακχαρώδη διαβήτη και νευροεκφυλιστικές διαταραχές, όπως νόσο Αλτσχάιμερ, Πάρκινσον, Χάντινγκτον και πολλαπλή σκλήρυνση (101). Τα καροτενοειδή διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην υγεία δρώντας ως φυσικά αντιοξειδωτικά, προστατεύοντας τα κύτταρα και τους ιστούς από τις βλαβερές συνέπειες των ελεύθερων ριζών και τα δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) (100). Σε κλινική δοκιμή 20 ατόμων βρέθηκε ότι η κατανάλωση 50 mg κρόκου διαλυμένα σε 100 mL γάλα δύο φορές την ημέρα οδηγεί σε σημαντική μείωση της οξείδωσης των λιποπρωτεϊνών σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο, αλλά και υγιή άτομα, γεγονός που υποδεικνύει την δράση του κρόκου ως αντιοξειδωτικό (99,102).

Η αντιοξειδωτική δράση του κρόκου φαίνεται επίσης και κατά την προσθήκη του σε ποικίλα τρόφιμα. Ο εμπλουτισμός γιαουρτιού με σαφράν σε συγκέντρωση 0,0125% (w/w) οδήγησε σε αύξηση των βιοδραστικών συστατικών - κατ'επέκταση σε ενίσχυση της αντιοξειδωτικής δράσης - και παρέτεινε τη βιωσιμότητα των καλλιεργειών εκκίνησης. Επίσης, η αντιοξειδωτική δράση του εμπλουτισμένου γιαουρτιού αυξήθηκε κατά τη διάστημα αποθήκευσης, υποδηλώνοντας ότι η δράση του κρόκου είτε παραμένει σταθερή είτε αυξάνεται κατά την αποθήκευση (103).

Η προσθήκη κρόκου σε ζυμαρικά, σε συγκεντρώσεις 0,2 και 0,4%, αύξησε την αντιοξειδωτική δράση του προϊόντος και βελτίωσε ορισμένες αισθητικές παραμέτρους, όπως το χρώμα, τη γεύση και την υφή (104). Επίσης θετικό αντίκτυπο είχε ο εμπλουτισμός μπισκότων αλεύρου σίτου με κρόκο. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα μπισκότα με εκχυλίσματα κρόκου αφενός αξιολογήθηκαν υψηλότερα στον οργανοληπτικό έλεγχο σε σύγκριση με το μάρτυρα και αφετέρου διατήρησαν υψηλότερα χαρακτηριστικά ποιότητας μέχρι και τους 6 μήνες αποθήκευσης (105). Ακόμη, η προσθήκη κρόκου σε στήθος κοτόπουλου οδήγησε σε βελτίωση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του και σε περιορισμό της οξείδωσης, μέσω αναστολής της παραγωγής μηλονικής αλδεϋδης (δείκτης υπεροξείδωσης των λιπιδίων) (106).

Αντιφλεγμονώδης δράση

Αναφορικά με την αντιφλεγμονώδη δράση, η αξιολόγηση διαφορετικών συγκεντρώσεων υδατικών (0.32, 0.56 και 0.8 g kg⁻¹) και αλκοολικών (0.8, 1.4 και 2 g kg⁻¹) εκχυλισμάτων κρόκου υπέδειξε ότι οι υψηλότερες συγκεντρώσεις εμφάνιζαν οξεία ή και χρόνια αντιφλεγμονώδη δράση (107). Επίσης, μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι ο κρόκος ελέγχει την έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν τις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες (όπως IL-1, IL-2, IL-6, TNF-α), επαγωγίμα ένζυμα (π.χ. COX-2 και iNOS), μόρια προσκόλλησης (π.χ. ICAM, VCAM, E-σελεκτίνη), χημειοκίνες και μερικές από τις πρωτεΐνες οξείας φάσης, οι οποίες παίζουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο των περισσότερων φλεγμονωδών διεργασιών στο ανοσοποιητικό σύστημα. Ως εκ τούτου, Κατά συνέπεια, ο κρόκος και τα συστατικά του θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν ως ένας ανοσορυθμιστικός παράγοντας στη θεραπεία διαταραχών του ανοσοποιητικού (108).

Αντιμικροβιακή δράση

Η αντιμικροβιακή δράση του κρόκου μελετήθηκε εναντίον του μικροοργανισμού *Salmonella*, ενός παθογόνου βακτηρίου που είναι συχνά υπεύθυνο για τροφικές δηλητηριάσεις. Διαπιστώθηκε ότι τα κύρια συστατικά του κρόκου, η σαφρανάλη και η κροκίνη σε επίπεδα 8–16 mg mL⁻¹ και 64–128 mg mL⁻¹, αντίστοιχα, μπορούν να συμβάλλουν στη θανάτωση των βακτηρίων (109).

Εκτός από αντιβακτηριακή δράση, ο κρόκος εμφανίζει αντιμυκητιακή δράση. Σε μελέτη που διενεργήθηκε σε φυτό ντομάτας, το εκχύλισμα του κρόκου σε συγκέντρωση 0.6 g L⁻¹ συνέβαλε σε σημαντική βελτίωση της ανάπτυξης και του περιεχομένου του φυτού σε αντιοξειδωτικά, αναστέλλοντας επίσης την εξάπλωση του μύκητα *Phytophthora infestans* (110).

Αντικαρκινική δράση

Ο κρόκος Κοζάνης και τα συστατικά του φαίνεται να έχουν αντικαρκινική δράση και να εμποδίζουν τον σχηματισμό όγκων, χωρίς να επιδρούν κυτταροτοξικά στα υγιή κύτταρα. Η ενθυλάκωση του κρόκου σε λιποσώματα παρείχε σημαντική ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη μεταμοσχευμένων καρκινικών κυττάρων σε ποντίκια. Βρέθηκε ότι η κατανάλωση δια του στόματος 100 mg κρόκου ανά κιλό σώματος ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματική κατά σαρκωμάτων μαλακών μορίων στα ποντίκια (111).

Ακόμη, ο κρόκος και τα κύρια συστατικά του είναι ικανά να αναστείλουν τα λευχαιμικά κύτταρα μέσω διαφόρων μηχανισμών, όπως δρώντας αντιπολλαπλασιαστικά, μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης ελεύθερων ριζών, επαγωγής απόπτωσης, κυτταρικής διαφοροποίησης και σύνθεσης νουκλεϊκών οξέων. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι ο κρόκος έχει επιλεκτική τοξικότητα ενάντια στα λευχαιμικά κύτταρα, ενώ είναι ασφαλής για τα φυσιολογικά υγιή κύτταρα (112).

Αντιδιαβητική δράση και υπολιπιδαιμική δράση

Ο κρόκος έχει ισχυρά υπογλυκαιμικά αποτελέσματα μέσω ποικίλων μηχανισμών, όπως προάγοντας την ευαισθησία στην ινσουλίνη, ενισχύοντας την λειτουργία των β-κυττάρων με την αναστολή των βλαβερών οδών που εμπλέκονται σε ανεπάρκεια β-κυττάρων έχει ως αποτέλεσμα την ανεπαρκή απελευθέρωση ινσουλίνης και προκαλώντας μεταφορά της GLUT-4 στην πλασματική μεμβράνη αυξάνοντας έτσι την πρόσληψη γλυκόζης από τους εξαρτημένους από ινσουλίνη ιστούς (113). Επιπλέον, ο εμπλουτισμός και η κατανάλωση άρτου σίκαλης με κρόκο είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση έκκρισης ινσουλίνης, τη μείωση των επιπέδων των τριγλυκεριδίων και της γλυκόζης, υποδεικνύοντας έτσι ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη θεραπεία του διαβήτη (114).

Η κροκίνη που εμπεριέχεται στον κρόκο έχει αναφερθεί ως ένας αποτελεσματικός υπολιπιδαιμικός παράγοντας σε αρκετούς ανθρώπους και ζώα. Χαρακτηριστικά, σε υπερλιπιδαιμικούς αρουραίους, η πρόσληψη κροκίνης για διάστημα 10 ημερών είχε σαν αποτέλεσμα την μείωση των επιπέδων τριγλυκεριδίων και της χοληστερόλης με ημερήσια δόση από 25 έως 100 mg/Kg. Σύμφωνα με τα ερευνητικά ευρήματα, η κροκίνη δρα υπολιπιδαιμικά αναστέλλοντας την παγκρεατική λιπάση, οδηγώντας σε δυσασπορρόφηση λίπους και χοληστερόλης (115).

Προσθέτοντας στα παραπάνω, το 2017 διενεργήθηκε μελέτη σε αρουραίους για την πιθανή επίδραση του εκχυλίσματος κρόκου και της κροκίνης σε διάφορους

βιοδείκτες του αίματος που σχετίζονται με την παχυσαρκία. Τα πειραματόζωα που έπασχαν από παχυσαρκία, χωρίστηκαν σε ομάδες με διαφορετική διατροφή· στους μάρτυρες, σε εκείνα που ακολουθούσαν φυσιολογική διατροφή, διατροφή υψηλή σε λιπαρά και διατροφή υψηλή σε λιπαρά σε συνδυασμό με πρόσληψη εκχυλίσματος κρόκου σε δύο δοσολογίες (40 και 80 mg/Kg/ημέρα). Μετά από 8 εβδομάδες, διαπιστώθηκε ότι τα πειραματόζωα που έλαβαν την υψηλή συγκέντρωση εκχυλίσματος κρόκου στη διατροφή τους είχαν χαμηλότερα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα και ινσουλίνης στο πλάσμα, υποδηλώνοντας την δράση του κρόκου στη μείωση ορισμένων βιοδεικτών του αίματος που σχετίζονται με την παχυσαρκία (116).

Αντικαταθλιπτική και αγχολυτική δράση

Η αποτελεσματικότητα του κρόκου, και ειδικότερα του υδατοαλκοολικού εκχυλίσματός του, ενάντια στην κατάθλιψη συγκρίθηκε με τη δράση της αντικαταθλιπτικής ουσίας φλουοξετίνης. Σε κλινική δοκιμή διάρκειας 6 εβδομάδων και συμμετοχής 40 εθελοντών με ήπια έως μέτρια κατάθλιψη, το 50% των εθελοντών λάμβανε ημερησίως κάψουλες που περιείχαν 30 mg κρόκου και το υπόλοιπο 50% λάμβανε ημερησίως κάψουλες 20 mg φλουοξετίνης. Βρέθηκε ότι η πρόσληψη κρόκου σε αυτή τη δοσολογία παρείχε παρόμοιο αποτέλεσμα με εκείνο του φαρμάκου, υποδηλώνοντας έτσι την πιθανή αξιοποίηση του κρόκου ως φυτικό φάρμακο για την αντιμετώπιση της ήπιας έως μέτριας κατάθλιψης (117).

Οι πιθανές αγχολυτικές ιδιότητες του κρόκου μελετήθηκαν σε αρουραίους, σε σύγκριση με το αγχολυτικό φάρμακο διαζεπάμη. Για το σκοπό αυτό, εφαρμόστηκε η τεχνική φωτός/σκότους. Για αμφότερες τις ουσίες, κροκίνη και διαζεπάμη, επιλέχθηκαν δόσεις που δεν επηρέαζαν την κινητική δραστηριότητα (50 mg/Kg κροκίνης και 1.5 mg/Kg διαζεπάμης) και παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στην καθυστέρηση εισόδου στο σκοτεινό θάλαμο και παράταση του χρόνου παραμονής στον φωτισμένο θάλαμο. Το παραπάνω υποδεικνύει την αγχολυτική δράση του κρόκου, που είναι αντίστοιχη ενός αγχολυτικού φαρμάκου (118).

Προστασία του δέρματος

Ο κρόκος είναι γνωστό ότι προσφέρει αντιηλιακή προστασία στο δέρμα από τις βλαβερές ακτίνες UV. Μελέτες δείχνουν ότι η λοσιόν που περιέχει κρόκο μπορεί να λειτουργήσει αποτελεσματικότερα από το homosalate, μία οργανική ένωση που χρησιμοποιείται συχνά σε αντηλιακά. Ως εκ τούτου, ο κρόκος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως φυσικός παράγοντας απορρόφησης UV ακτινοβολίας. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο κρόκος, εκτός από τις αντιηλιακές ιδιότητες, μπορεί να συμβάλλει

στην πρόληψη της καρκίνου του δέρματος, λόγω της αντιοξειδωτικής δράσης του (100).

Επιπλέον, ο κρόκος έχει αναφερθεί ότι περιορίζει μία πάθηση του δέρματος που ονομάζεται ερύθημα, ενώ αξιοσημείωτο είναι ότι η εφαρμογή της σύνθεσης που περιέχει 3% εκχύλισμα κρόκου στο ανθρώπινο δέρμα μπορεί να συνδράμει στη διαχείριση του μελανώματος (100).

A.4. Εμπλουτισμός ελαιολάδου

Ο εμπλουτισμός των παρθένων ελαιολάδων αποτελεί μία ανερχόμενη εμπορική τάση, με στόχο να ικανοποιήσει τις απαιτήσεις των καταναλωτών για νέα διαφοροποιημένα προϊόντα. Συνήθως συνεισφέρει θετικά στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και στη χημική σύνθεση των ελαίων, αυξάνοντας το περιεχόμενο σε βιοδραστικές ενώσεις (37). Τα αρωματικά βότανα και τα μπαχαρικά αποτελούν συστατικά που συχνά χρησιμοποιούνται στον εμπλουτισμό ελαιολάδου. Ένα τέτοιο ελαιόλαδο, που παρασκευάζεται με την προσθήκη κάποιου βοτάνου, οφείλει να ικανοποιεί όχι μόνο τις απαιτήσεις των καταναλωτών οργανοληπτικά, αλλά θα πρέπει να αποκτά κάποιες άλλες σημαντικές ιδιότητες για την αγορά τροφίμων, π.χ. βελτιωμένη ποιότητα διατήρησης σε σύγκριση με αυτή του μη εμπλουτισμένου ελαιολάδου (38).

Ως εκ τούτου, ως «εμπλουτισμένο ελαιόλαδο» μπορεί να οριστεί ένα ελαιόλαδο που έχει υποστεί επεξεργασία με φυτά, βότανα, μπαχαρικά ή άλλα φρούτα με στόχο τη βελτίωση της θρεπτικής αξίας, τον εμπλουτισμό των γευστικών χαρακτηριστικών του και την αύξηση της διάρκειας ζωής του προϊόντος. Όπως προαναφέρθηκε, παρθένο ελαιόλαδο είναι το ελαιόλαδο που λαμβάνεται από τον ελαιόκαρπο αποκλειστικά με μηχανικές ή άλλες φυσικές μεθόδους και δεν έχει υποστεί καμία άλλη επεξεργασία πέραν της πλύσης, μετάγγισης, φυγοκέντρωσης και διήθησης. Έτσι, εξ ορισμού, τα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα δεν μπορούν να χαρακτηρισθούν με την αρχική εμπορική κατηγορία του ελαιολάδου που χρησιμοποιήθηκε, καθώς αντικρούουν στους κανονισμούς της ΕΕ (37).

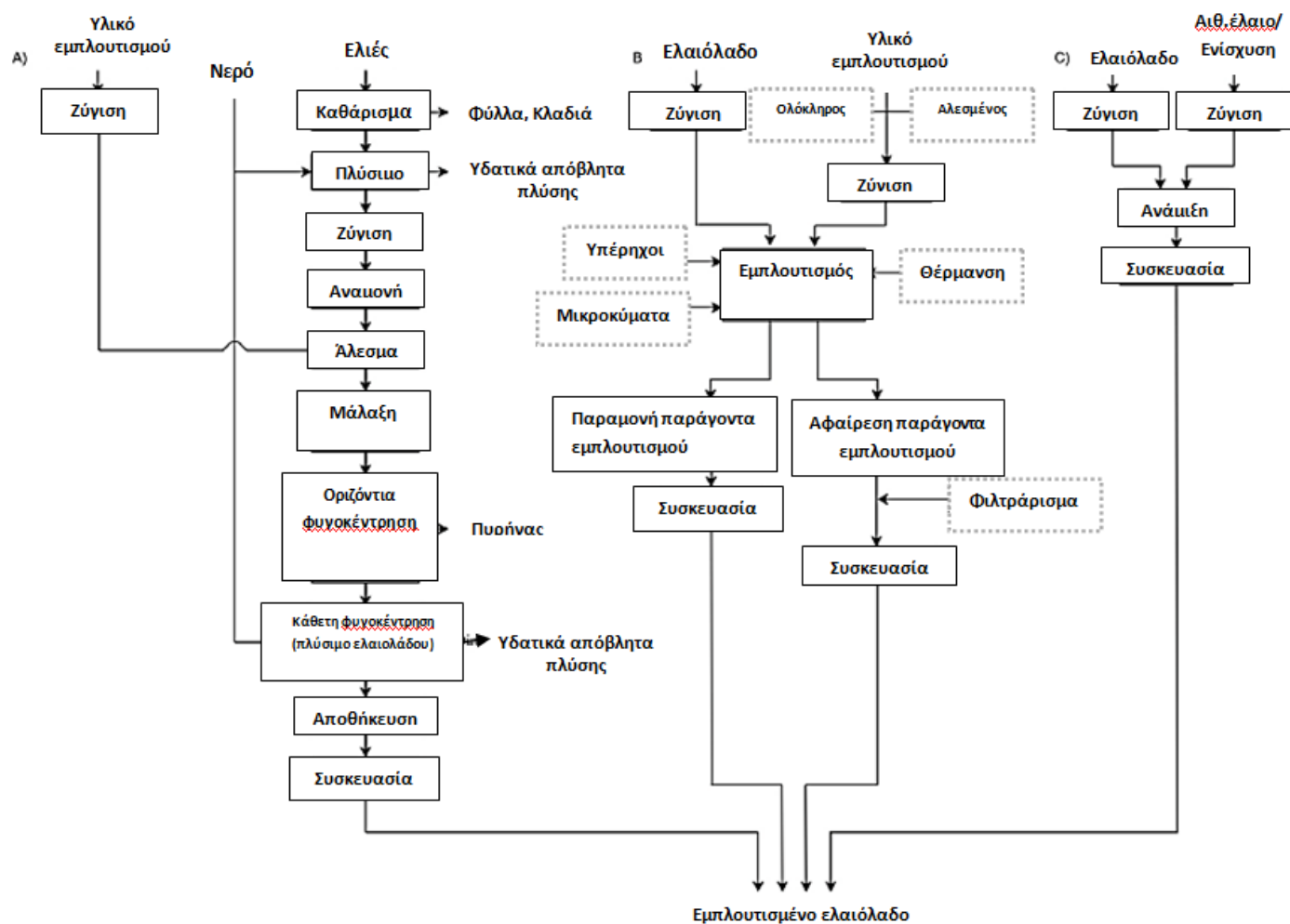
Κατά καιρούς η προσθήκη φυτικών προϊόντων και αιθερίων ελαίων, που διαθέτουν αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές και άλλες ιδιότητες, έχει μελετηθεί ως φυσικό μέσο συντήρησης ελαιολάδου. Σε ερευνητική μελέτη, αιθέρια έλαια όπως αυτά της ρίγανης, του δενδρολίβανου και του τσίλι, προσέδωσαν στο ελαιόλαδο υψηλότερη αντοχή στην οξείδωση και αυξημένη θερμική σταθερότητα. Ειδικότερα, οι

συγκεντρώσεις των αιθέριων ελαίων που οδήγησαν στα παραπάνω αποτελέσματα ήταν 3% για τα αιθέρια έλαια ρίγανης και δενδρολίβανου και 1% για το τσίλι, αντίστοιχα (151).

Ερευνητική ομάδα επίσης μελέτησε την προσθήκη κανέλλας, σκόρδου και δενδρολίβανου σε ελαιόλαδο σε ξηρή μορφή. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η προσθήκη του κάθε φυτικού προϊόντος σε ποσότητα 1,5% (w/v) για διάστημα 15 ημερών σε θερμοκρασία περιβάλλοντος οδήγησε σε μείωση του αριθμού υπεροξειδίων, ενίσχυση του φαινολικού περιεχομένου και αύξηση της οξειδωτικής σταθερότητας. Μεταξύ των τριών φυτικών παραγόντων, το δενδρολίβανο ήταν αυτό που προσέδωσε την καλύτερη συνολική ποιότητα και τη μέγιστη οξειδωτική σταθερότητα (152).

Ο εμπλουτισμός ελαιολάδου με μαστίχα Χίου σε διαφορετικές μορφές και συγκεντρώσεις έχει επίσης μελετηθεί. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μαστίχα Χίου παρουσιάζει αντιοξειδωτική δράση, αυξανόμενη με τη συγκέντρωση. Η προσθήκη ρητίνης σε ποσότητες 0,1 και 0,15% (w/w) επέφερε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, ενώ το αιθέριο έλαιο μαστίχας Χίου ήταν αποτελεσματικό ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις (0,02% w/w). Αξίζει να σημειωθεί ότι κατά την διατήρηση του ελαιολάδου σε θερμοκρασία 65°C, ο αριθμός υπεροξειδίων του ελαιολάδου ήταν 20,6 στις 139 ώρες και αντίστοιχα, του εμπλουτισμένου ελαιολάδου με μαστιχέλαιο στην προαναφερθείσα συγκέντρωση ήταν 18,4. Μετά το πέρας 431 ωρών, ο αριθμός υπεροξειδίων του ελαιολάδου αυξήθηκε σε 88,2, ενώ του εμπλουτισμένου ελαιολάδου πολύ λιγότερο σε 48,5 (54).

Ο εμπλουτισμός του ελαιολάδου μπορεί να πραγματοποιηθεί με επαφή, με συνεκχύλιση ή με ενσωμάτωση αιθερίων ελαίων. Η επαφή και η ενσωμάτωση αιθερίων ελαίων είναι τεχνικές που εφαρμόζονται μετά την εκχύλιση του ελαιολάδου, ενώ η συνεκχύλιση συνεπάγεται την επαφή μεταξύ της ελαιομάζας και του αρωματικού παράγοντα κατά τη διάρκεια της εκχύλισης του ελαιολάδου. Οι τεχνικές εμπλουτισμού συνοψίζονται παρακάτω (37):



Εικόνα 15. Εμπλουτισμός ελαιολάδου με Α) συνεχύλιση, Β) επαφή και Γ) ενσωμάτωση αιθέριου ελαίου (37)

A.5. Τσίπουρο

A.5.1. Εισαγωγή

Το τσίπουρο αποτελεί ένα παραδοσιακό, «δυνατό» απόσταγμα στεμφύλων που παράγεται από παραπροϊόντα της οινοποιητικής διαδικασίας, είτε από λευκά είτε από ερυθρά σταφύλια που τηρούν τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 110/20081 (119). Πρόκειται για απόσταγμα με υψηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλη, συνήθως 40-45% vol (120).

Η απαρχή της παραγωγής του τσίπουρου πιστεύεται ωστόσο ότι ξεκίνησε στο Άγιο Όρος από μοναχούς που διαβιούσαν εκεί. Με το πέρασμα των χρόνων εξαπλώθηκε και σε άλλες περιοχές του ελλαδικού χώρου, όπως στη Μακεδονία, την Ήπειρο, τη Θεσσαλία και την Κρήτη.

Οι πρακτικές παραγωγής του τσίπουρου είναι στενά συνδεδεμένες όχι μόνο με την απόσταξη, αλλά και με οινοποιητικές πρακτικές, δεδομένου ότι μια από τις πρώτες ύλες για το τσίπουρο είναι τα υπολείμματα της διαδικασίας οινοποίησης. Σύμφωνα με την ΕΚ 110/2008 (Παράρτημα III, Ευρωπαϊκή Ένωση 2008), το τσίπουρο τεσσάρων γεωγραφικών περιοχών αναγνωρίζεται ως Προστατευόμενης Γεωγραφικής Ένδειξης (ΠΓΕ) (τσίπουρο Μακεδονίας, Θεσσαλίας, Τυρνάβου, Κρήτης «τσιακουδιά») (122,124). Σε εθνικό επίπεδο, το τσίπουρο των περιοχών Ηπείρου, Μουζάκι και Νάουσας επίσης αναγνωρίζεται ως ΠΓΕ (124).

A.5.2. Παραγωγή τσίπουρου

Η διαδικασία παραγωγής του τσίπουρου περιλαμβάνει τη ζύμωση των στέμφυλων, που ακολουθείται από δύο διαδοχικές αποστάξεις και τη συλλογή του δεύτερου και τελευταίου αποστάγματος. Κατόπιν, το απόσταγμα αυτό αραιώνεται με νερό σε τελική περιεκτικότητα σε αιθανόλη 40-45% (v/v) και προκύπτει το κλασικό αλκοολούχο ποτό «τσίπουρο» (119). Τα κυριότερα στάδια παραγωγής είναι:

- (α) παραγωγή στεμφύλων
- (β) αποθήκευση στεμφύλων
- (γ) απόσταξη των στεμφύλων που έχουν υποστεί ζύμωση.

Ως στέμφυλα ορίζονται τα στερεά απόβλητα που λαμβάνονται μετά την εκχύλιση του χυμού σταφυλιού κατά την οινοποίηση. Τα στέμφυλα παραδοσιακά αποθηκεύονται υπό αναερόβιες συνθήκες (διαδικασία γνωστή και ως «ενσίρωση») σε ερμητικά κλειστά δοχεία, προκειμένου να λάβει χώρα αυθόρμητα αναερόβια ζύμωση υπολειμματικών σακχάρων. Κατά αυτόν τον τρόπο, οι ζύμες μεταβολίζουν τα σάκχαρα κυρίως σε αιθανόλη, καθώς επίσης και σε δευτερογενή πτητικά υποπροϊόντα μέσω δευτερογενών ζυμώσεων (122).

Η απόσταξη λαμβάνει χώρα μετά την αλκοολική ζύμωση της πρώτης ύλης (122). Κατά τη διάρκεια παραγωγής του αποστάγματος, ο αργός ρυθμός απόσταξης επιτρέπει τον διαχωρισμό του αποστάγματος σε τρία κλάσματα: την «κεφαλή», την «καρδιά» και την «ουρά» (123). Η σειρά απόσταξης των διαφόρων συστατικών που εξαρτάται από την τάση ατμών και την διαλυτότητα τους σε αιθανόλη και σε νερό. Ως εκ τούτου, το πρώτο κλάσμα («κεφαλή») αποτελείται κυρίως από αλκοολοδιαλυτά συστατικά (π.χ. ακεταλδεΐδη, οξικός αιθυλεστέρας κ.ά.), τα οποία ευθύνονται για ισχυρά και έντονα αρώματα. Το δεύτερο κλάσμα αποτελεί την «καρδιά» που αποτελείται κυρίως από αιθανόλη, καθώς και ανώτερες αλκοόλες (π.χ. προπανόλη, βουτανόλη και εξανόλη). Το τελευταίο κλάσμα, η «ουρά», είναι πλούσιο σε λιγότερο πτητικές ενώσεις (π.χ. 2-φαινυλ-αιθανόλη, γαλακτικός αιθυλεστέρας). Αξίζει να σημειωθεί ότι η μεθανόλη, παρότι αποτελεί ένα τυπικό προϊόν κεφαλής, αποστάζει καθόλη τη διάρκεια της απόσταξης. Τα αρχικά και τα τελικά κλάσματα του αποστάγματος, οι κεφαλές και οι ουρές, κόβονται γιατί περιέχουν ανεπιθύμητα συστατικά. Οι χρόνοι για τη διακοπή της απόσταξης, ωστόσο, εξακολουθούν να πραγματοποιούνται εμπειρικά, βάση της εμπειρίας του οινοποιού και της συγκέντρωσης αλκοολών όπως εκτιμάται με χρήση πυκνόμετρου (122).

A.5.3. Χημική σύσταση τσίπουρου

Τα κυριότερα συστατικά του τσίπουρου αποτελούν το νερό και η αιθυλική αλκοόλη, η οποία προέρχεται από τη ζύμωση σακχαρούχων προϊόντων. Ωστόσο περιέχουν και δευτερογενή προϊόντα, που είναι κυρίως υπεύθυνα για τη γεύση και το άρωμα και οι συγκεντρώσεις τους καθορίζουν την ποιότητα του αποστάγματος, όπως αλκοόλες, αλδεΐδες, εστέρες, κ.ά. (123,124).

Ανώτερες αλκοόλες

Οι ανώτερες αλκοόλες παράγονται κατά την αλκοολική ζύμωση και αποτελούν την ομάδα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση, η οποία προσφέρει ένα ευχάριστο άρωμα στο απόσταγμα (125). Η κυριότερη από τις αλκοόλες που περιέχεται στην «καρδιά» του τσίπουρου είναι η αιθανόλη, σε ποσοστό περίπου 42%. Η περιεκτικότητα σε αιθανόλη εξαρτάται από την ποικιλία σταφυλιού από την οποία προέρχεται, τις συνθήκες ζύμωσης και την τεχνική απόσταξης (124).

Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης σχηματίζονται επίσης ανώτερες αλκοόλες. Οι αμυλικές αλκοόλες, η 2-μεθυλ-1-βουτανόλη και η 3-μεθυλ-1-βουτανόλη, εντοπίζονται σε συγκεντρώσεις από 35,57-56,82 mg/L και 91,85- 143,55 mg/L, αντίστοιχα, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην οργανοληπτική ποιότητα του αποστάγματος (124).

Η 1-εξανόλη προέρχεται αποκλειστικά από το γλεύκος και συνεισφέρει θετικά στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά σε επίπεδα έως 5 mg/L. Σε συγκεντρώσεις άνω των 200 mg/L επηρεάζει αρνητικά, προσδίδοντας «χορτώδες» flavor (124,125). Επιπρόσθετα, εντοπίζεται η 2-φαινυλαιθανόλη σε μικρές συγκεντρώσεις ως προϊόν ουράς, προσδίδοντας γλυκό άρωμα τριαντάφυλλου (123, 125).

Αλδεΐδες

Μεταξύ των κυριότερων αλδεϋδών είναι η ακεταλδεϋδη και η ακετάλη, οι οποίες συνιστούν το 90% των αλδεϋδών των αποσταγμάτων. Η ακεταλδεϋδη είναι πτητική, έχει πικάντικη-ερεθιστική οσμή, αλλά σε μικρές συγκεντρώσεις συνεισφέρει θετικά δίνοντας ευχάριστο φρουτώδες άρωμα. Λόγω της τοξικότητάς της, η ΕΕ έχει θεσπίσει ως μέγιστο όριο τα 500 g/hl για τα αποστάγματα (124).

Ανώτερες εστέρες

Η πλειοψηφία των εστέρων θεωρείται ότι είναι δευτερογενή προϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης, τα οποία συμβάλλουν θετικά στη γεύση των οινοπνευματωδών ποτών και είναι υπεύθυνα για τη φρουτώδη και λουλουδένια οσμή τους. Παρόλα αυτά, εστέρες όπως ο οξικός και ο γαλακτικός αιθυλεστέρας, παράγονται κυρίως από βακτηριακή αλλοίωση και δίνουν όξινο χαρακτήρα, μειώνοντας την ποιότητα των αποσταγμάτων (125).

Η παρουσία οξικού αιθυλεστέρα σε επίπεδα 150-200 mg/L έχει αλλοιωτικό χαρακτήρα, που περιγράφεται ως «ασετόν αφαίρεσης βερνικιού νυχιών». Σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, ωστόσο, συμβάλλει στο φρουτώδες. Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας, σε χαμηλές συγκεντρώσεις, θεωρείται ότι σταθεροποιεί το flavor του αποστάγματος και μαλακώνει τα σκληρά γευστικά χαρακτηριστικά. Από την άλλη πλευρά, σε υψηλές συγκεντρώσεις προκύπτει από αλλοίωση από τη δράση γαλακτικών βακτηρίων και επιδρά αρνητικά στην ποιότητα του αποστάγματος (123).

Οξέα

Τα οξέα των αποσταγμάτων διακρίνονται στα σταθερά και στα πτητικά οξέα. Τα σταθερά οξέα προέρχονται από τον οίνο, όπου παρασύρονται κατά τη διάρκεια της απόσταξης στο προϊόν, από το ξύλο του βαρελιού. Τα σημαντικότερα σταθερά οξέα είναι το ηλεκτρικό, το γαλακτικό, το κιτρικό και το τρυγικό.

Τα πτητικά οξέα προέρχονται από τον οίνο ως προϊόντα ζυμώσεων και μεταφέρονται στο απόσταγμα κατά τη διάρκεια της απόσταξης. Τα σημαντικότερα

πτητικά οξέα είναι το οξικό, το βουτυρικό, το ισοβουτυρικό, το ισοβαλερικό, το εξανοϊκό, το οκτανοϊκό κ.α. (125).

A.5.4. Μέθοδοι ανάλυσης τσίπουρου – Αρχές μεθόδων

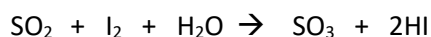
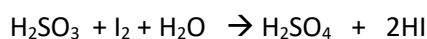
Αλκοόλη

Η % κατ'όγκο περιεκτικότητα των οίνων σε αλκοόλη αποτελεί τον αλκοολομετρικό τίτλο, ο οποίος εκφράζει τον αριθμό των λίτρων αιθανόλης που περιέχονται σε 100 λίτρα τσίπουρου, σε θερμοκρασία 20 °C. Συμβολίζεται με % vol. Η μέθοδος βασίζεται στην απόσταξη ποσότητας προϊόντος, παρουσία υδροξειδίου του ασβεστίου. Κατόπιν, πραγματοποιείται μέτρηση του αλκοολικού τίτλου του αποστάγματος με αλκοολόμετρο (126).

Θειώδης ανυδρίτης

Ο θειώδης ανυδρίτης (SO₂) χρησιμοποιείται σε μικρές δόσεις στην οινοποίηση για την αποφυγή ανάπτυξης μικροοργανισμών (ως *αντιμικροβιακό*) και για την προφύλαξη από την επίδραση του οξυγόνου (ως *αντιοξειδωτικό*). Σε επίπεδα πάνω από ορισμένα όρια είναι τοξικός για τον ανθρώπινο οργανισμό. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έχει θέσει ως μέγιστη αποδεκτή δόση SO₂ τα 0,7 mg/Kg σώματος, ενώ η Ευρωπαϊκή Ένωση επιβάλλει την επισήμανση «περιέχει θειώδη» στην ετικέτα αλκοολούχων ποτών με επίπεδα πάνω από 10 mg/L (127). Ως εκ τούτου, ο έλεγχος της ποσότητας του SO₂ που περιέχεται στο αλκοολούχο ποτό είναι σημαντικός. Ο θειώδης ανυδρίτης βρίσκεται στο αλκοολούχο ποτό σε δύο μορφές· είτε σε ελεύθερη μορφή ως SO₂, H₂SO₃, HSO₃⁻, είτε δεσμευμένος με ενώσεις που έχουν στο μόριο τους αλδεϋδική ή κετονική ομάδα, όπως ακεταλδεϋδη, αλδόζες, χρωστικές κ.ά.

Ο ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης προσδιορίζεται άμεσα με τιτλοδότηση με ιώδιο. Ο ολικός θειώδης ανυδρίτης στη συνέχεια προσδιορίζεται με ιωδομετρική τιτλοδότηση μετά από αλκαλική υδρόλυση (*για μεταβολή του pH σε ισχυρά αλκαλικό και αποδέσμευση του θειώδη ανυδρίτη*) (128). Ο προσδιορισμός του θειώδους οξέος στηρίζεται στην αντίδραση οξειδοαναγωγής:



Οξύτητα

Η ολική οξύτητα ορίζεται ως το σύνολο των ογκομετρούμενων οξυτήτων και προσδιορίζεται άμεσα με ογκομέτρηση του αλκοολούχου ποτού με NaOH.

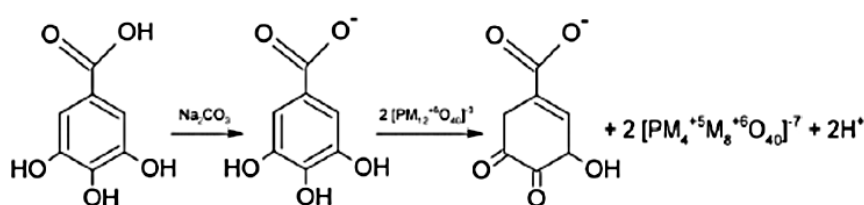
Η σταθερή οξύτητα προκύπτει από την οξύτητα του υπολείμματος κατόπιν εξάτμισης του αλκοολούχου ποτού μέχρι ξήρανσης. Ο προσδιορισμός πραγματοποιείται με τιτλοδότηση του υδατικού διαλύματος που παραλαμβάνεται από τη διάλυση του υπολείμματος μετά την εξάτμιση.

Η πτητική οξύτητα προκύπτει από το οξικό οξύ και άλλα μεγαλύτερα αλειφατικά οξέα που εντοπίζονται στο απόσταγμα και προσδιορίζεται υπολογιστικά αφαιρώντας την σταθερή οξύτητα από την ολική οξύτητα (129).

Μέθοδος Folin

Η μέθοδος Folin–Ciocalteu είναι μια πολύ γνωστή μέθοδος που στοχεύει στον προσδιορισμό του συνολικού φαινολικού περιεχομένου. Βασίζεται στην αναγωγή του αντιδραστηρίου Folin–Ciocalteu από φαινολικές ενώσεις σε αλκαλικό περιβάλλον. Το αντιδραστήριο Folin–Ciocalteu περιέχει ένα σύμπλεγμα του φωσφομολυβδαινικού και φωσφοβολφραμικού οξέος που ανάγεται για να ληφθεί ένα μπλε χρωμοφόρο με μέγιστη απορρόφηση στα 760 nm (27).

Η μέθοδος Folin–Ciocalteu χαρακτηρίζεται από απλότητα, ταχύτητα και επαναληψιμότητα, ωστόσο επηρεάζεται σημαντικά από τον χρόνο αντίδρασης και από την παρουσία άλλων οξειδώσιμων ενώσεων όπως ασκορβικό οξύ, αρωματικές αμίνες, αναγωγικά σάκχαρα και αρωματικά αμινοξέα (26,27).



M = Mo or W



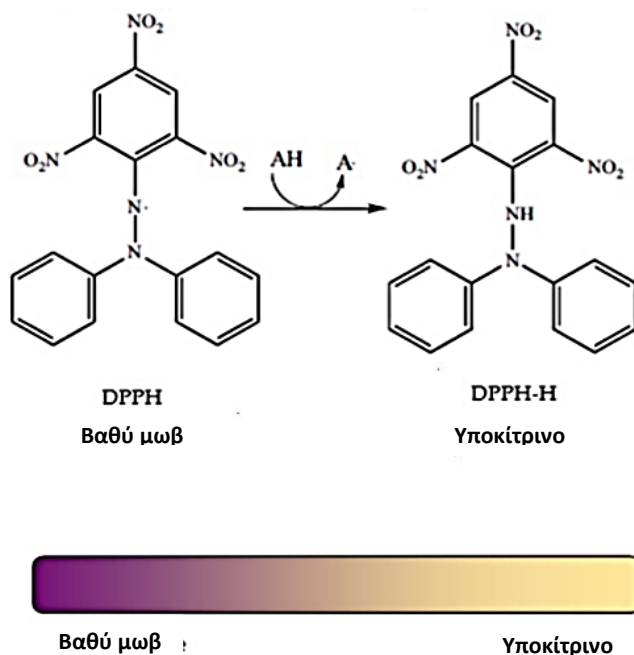
Κίτρινο

Μπλε

Εικόνα 16. Αντίδραση φαινολικών ενώσεων και αντιδραστηρίου Folin, σε αλκαλικό περιβάλλον, και σχηματισμός μπλε συμπλόκου (27)

Δέσμευση ρίζας DPPH

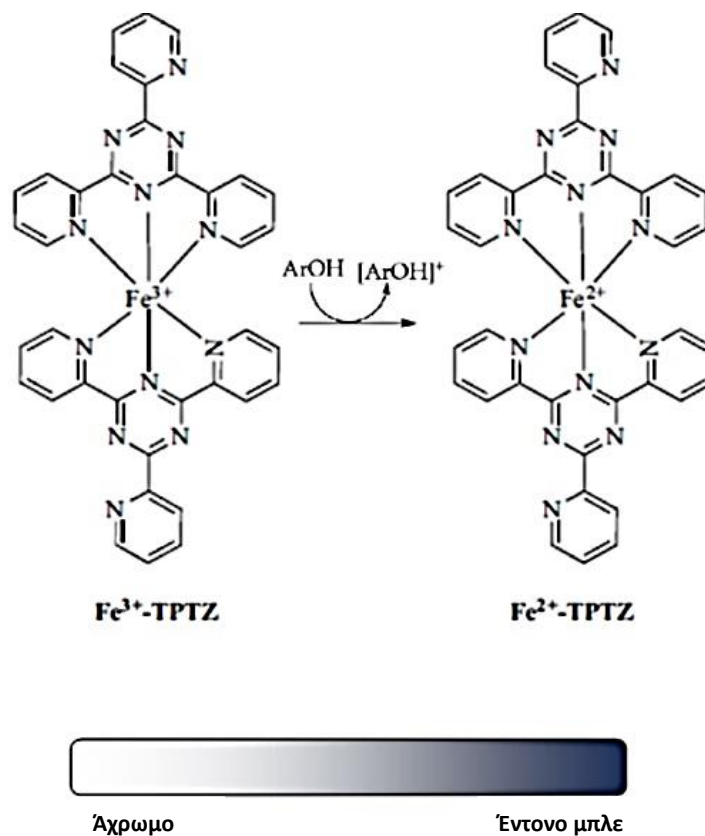
Η ρίζα DPPH πρόκειται για μία σταθερή ελεύθερη ρίζα, με χαρακτηριστικό βιολετί χρώμα όταν διαλύεται σε μεθανόλη. Κατά την ανάμιξη διαλύματος ρίζας DPPH με ουσία που μπορεί να προσφέρει άτομο υδρογόνου, όπως ένα αντιοξειδωτικό, γίνεται θραύση της αλυσίδας της ρίζας, οδηγείται στην ανηγμένη μορφή της και το χρώμα μεταβάλλεται σε ανοιχτό κίτρινο (25,26). Η αντίδραση που λαμβάνει χώρα είναι η ακόλουθη:



Εικόνα 17. Αντίδραση δέσμευσης ρίζας DPPH από αντιοξειδωτικό (27)

Μέθοδος FRAP (Αναγωγική ισχύς)

Η μέθοδος FRAP βασίζεται στην αναγωγή του συμπλόκου ιόντων σιδήρου Fe^{3+} προς σύμπλοκο ιόντων σιδήρου Fe^{2+} έντονου μπλε χρώματος, παρουσία αντιοξειδωτικού σε όξινο περιβάλλον (27). Ο μηχανισμός της αντίδρασης βασίζεται στη μεταφορά ηλεκτρονίων και όχι ατόμων υδρογόνου. Η αντίδραση FRAP λαμβάνει χώρα σε όξινο pH 3,6 για τη διατήρηση της διαλυτότητας του σιδήρου. Όταν η αναγωγή του Fe^{3+} σε Fe^{2+} πραγματοποιείται παρουσία 2,4,6-τριπυριδυλο-s-τριαζίνης (TPTZ), η αντίδραση συνοδεύεται από το σχηματισμό επίσης χρωματισμένου συμπλόκου με Fe^{2+} , με μέγιστη απορρόφηση στα 593 nm (30).



Εικόνα 18. Αντίδραση αναγωγής συμπλόκου Fe³⁺-TPTZ προς Fe²⁺-TPTZ (27)

A.6. Ροδόνερο

A.6.1. Εισαγωγή



Εικόνα 19. Το φυτό *Rosa damascena* (132).

Το φυτό *Rosa damascena* (Rosaceae) είναι ένα σημαντικό καλλωπιστικό και φαρμακευτικό φυτό, που αποτελεί ταυτόχρονα πηγή αρώματος. Πρόκειται για πολυετές θαμνώδες φυτό που φτάνει περίπου τα 1 με 2 μέτρα σε ύψος με μεγάλα άνθη (131). Υπάρχουν ενδείξεις ότι η οικογένεια Rosaceae αποτελεί ένα αρχαίο φυτό. Έχουν βρεθεί στην Αμερική απολιθώματα τριαντάφυλλου

ηλικίας 30 εκατομμυρίων χρόνων. Η καταγωγή του *Rosa damascena* είναι η Μέση Ανατολή και ορισμένα στοιχεία δείχνουν ότι η προέλευση του ροδόνερου είναι το Ιράν, ενώ του ελαίου και των εκχυλισμάτων του είναι η Ελλάδα. Καλλιεργείται σε

πολλές περιοχές ανά τον κόσμο, συμπεριλαμβανομένων του Ιράν, της Ευρώπης, της Βουλγαρίας, της Τουρκίας και της Ινδίας. Θεωρείται ότι η απόσταση των ρόδων για την λήψη ελαίου και εκχυλίσματος προήλθε από την Περσία στα τέλη του 7^{ου} αιώνα μ.Χ. και εξαπλώθηκε στις επαρχίες της Οθωμανικής Αυτοκρατορίας αργότερα τον 14^ο αιώνα (132). Το προϊόν είναι ιδιαίτερα δημοφιλές ως πρόσθετο στη βιομηχανία τροφίμων, αλλά διαθέτει και κλινικές ιδιότητες που αναλύονται στη συνέχεια (131). Τέλος, το ροδόνερο περιέχει αιθέριο έλαιο σε ποσοστά που κυμαίνονται από 10-50% (132).

A.6.2. Παραγωγή ροδόνερου

Το ροδόνερο είναι ένα υγρό παρασκεύασμα που λαμβάνεται με υδραπόσταξη φρέσκων ανθών τριανταφυλλιάς (133). Τόσο σε οικιακή όσο και σε βιομηχανική κλίμακα, το ροδόνερο (συχνά καλείται *hydrosol*) λαμβάνεται μέσω απόσταξης και συνήθως περιέχει αιθέριο έλαιο σε ποσοστό από 10-50% (131). Μία μέθοδος που αναφέρεται στη βιβλιογραφία είναι η εξής: σε καζάνι μεταφέρονται 200 κιλά ανθών *Rosa damascena* και νερό και ακολουθεί βρασμός για 1 ώρα. Μετά το βρασμό, οι ατμοί μεταφέρονται διαμέσου προσαρτημένου σωλήνα συμπύκνωσης σε ψυγείο, δίνοντας το προϊόν απόσταξης, το ανθόνερο *Rosa damascena* (134).

A.6.3. Χημική σύσταση ροδόνερου

Στα κυριότερα συστατικά του ροδόνερου που λαμβάνεται με υδραπόσταξη συγκαταλέγονται η γερανιόλη (30,7%), η κιτρονελλόλη (29,4%), η φαινυλαιθανόλη (23,7%) και η νερόλη (16,1%). Επίσης, σε μικρότερα ποσοστά εντοπίζονται οι ενώσεις *heneicosane*, *nonadecane* και *tricosane* (135). Άλλη έρευνα ασχολήθηκε με την μελέτη των πτητικών ενώσεων σε πτητικό συμπύκνωμα ροδόνερου που λήφθηκε με εκχύλιση υγρού-υγρού με διχλωρομεθάνιο και μελετήθηκε με GC/MS. Τα πτητικά αποτελούνταν κυρίως από 2-φαινυλαιθανόλη (69,7-81,6%), λιναλοόλη (1,5-3,3%), κιτρονελλόλη (1,8-7,2%), νερόλη (0,2-4,2%), γερανιόλη (0,9-7,0%) μαζί με οξείδια του τριαντάφυλλου και άλλες χαρακτηριστικές δευτερεύουσες ενώσεις τριαντάφυλλου (133).

A.6.4. Βιοδράσεις ροδόνερου

Γενικότερα, στις ιατρικές χρήσεις του *Rosa damascena* περιλαμβάνονται η αντιμετώπιση πεπτικών διαταραχών, πόνων στο στήθος, αιμορραγίας έμμηνου ρύσεως, διαταραχών των πνευμόνων, δυσκοιλιότητας, έντασης και κατάθλιψης. Αρκετές μελέτες για τις φαρμακολογικές ιδιότητες του αναφέρουν ότι το αιθέριο έλαιο του τριαντάφυλλου διαθέτει αναλγητικές, αντιφλεγμονώδεις, υπνωτικές,

αντιβηχικές και αντισπασμωδικές ιδιότητες. Εκτός από το αιθέριο έλαιο, το υδατοαλκοολικό και το υδατικό εκχύλισμα του τριαντάφυλλου έχουν δείξει αντιοξειδωτική προστασία και καθαρτική, αναλγητική και υπογλυκαιμική δράση σε ζώα (131).

Αντιμικροβιακή δράση

Σε νεότερες μελέτες, το μεθανολικό και το υδατικό εκχύλισμα του *Rosa damascena* έδειξαν να έχουν αντική δράση κατά της μόλυνσης από τον HIV, στοχεύοντας διαφορετικά στάδια του κύκλου αναδιπλασιασμού του HIV. Επίσης, το ροδόενερο αποδεδειγμένα έχει αντιβακτηριακή δράση έναντι των *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *Chromobacterium violaceum* και στελεχών *Erwinia carotovora* (135).

Αντιοξειδωτική δράση

Το υδατικό εκχύλισμα και το αιθέριο έλαιο του *R. Damascena* έχουν δείξει αντιοξειδωτική δράση σε διάφορα συστήματα (135). Η παρουσία φαινολικών στο αιθανολικό εκχύλισμα *R. damascena* προσδίδει αντιοξειδωτική δράση παρόμοια με εκείνη του τυπικού αντιοξειδωτικού L-ασκορβικού οξέος στη μέθοδο δέσμευσης ρίζας DPPH. Επιπλέον, η αντιοξειδωτική δράση και η ανασταλτική δράση οξείδωσης των λιπιδίων αξιολογήθηκαν σε μια *in vivo* μελέτη. Τα αποτελέσματα έδειξαν ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό και με ισχυρή ανασταλτική δράση στην υπεροξείδωση των λιπιδίων συγκρίσιμη με την α -τοκοφερόλη, υποδηλώνοντας ότι το φυτό μπορεί να θεωρηθεί ως ιατρικό προϊόν για τη θεραπεία και την πρόληψη πολλών ασθενειών που σχετίζονται με ελεύθερες ρίζες (132).

Αντιφλεγμονώδης δράση

Το αιθέριο έλαιο και το υδατοαλκοολικό εκχύλισμα του *R. Damascena* έχουν αντιφλεγμονώδη δράση, όπως έδειξαν τα αποτελέσματα επαγόμενης πρόκλησης οίδηματος από καρραγενάνη σε αρουραίους. Το αιθέριο έλαιο δεν έδειξε αντιφλεγμονώδη αποτέλεσμα ενώ το εκχύλισμα κατάφερε να μειώσει σημαντικά το οίδημα μέσω αναστολής των μεσολαβητών της οξείας φλεγμονής. Επιπλέον, το *R. damascena* περιέχει βιταμίνη C, που έχει αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση (132).

Αντικαρκινική δράση

Η γερανιόλη, καθώς οι κύριες ενώσεις του *R. Damascena*, φαίνεται να δρουν μέσω διαφορετικών μηχανισμών, προσδίδοντας αντικαρκινικές και κυτταροτοξικές ιδιότητες έναντι των καρκινικών κυττάρων (135).

Αντιδιαβητική δράση

Έχει βρεθεί ότι το *R. damascena* ασκεί αντιδιαβητική. Η δια του στόματος χορήγηση του μεθανολικού εκχυλίσματος του φυτού μειώνει σημαντικά τη γλυκόζη του αίματος, μετά από αύξηση μαλτόζης, σε φυσιολογικούς και διαβητικούς αρουραίους με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Επιπρόσθετα, αναστέλει τη μεταγευματική υπεργλυκαιμία, με παρόμοια αποτελέσματα με εκείνα της ακαρβόζης. Έτσι, το φυτό αυτό διαθέτει αντιδιαβητική δράση μέσω της αναστολής της α -γλυκοσιδάσης που καταστέλει την απορρόφηση υδατανθράκων από το λεπτό έντερο και μπορεί να μειώσει τα μεταγευματικά επίπεδα γλυκόζης (132).

Άλλες δράσεις

Προσθέτοντας στα παραπάνω, έχει μελετηθεί η χαλαρωτική και υπνωτική δράση των διαφορετικών εκχυλισμάτων του *R. damascena* (αιθανολικό εκχύλισμα, υδατικό, σε οξικό αιθυλεστέρα, υδατικό κλάσμα και *n*-βουτανόλης) και η δράση τους ήταν συγκρίσιμη με αυτή της διαζεπάμης (135).

Το αιθέριο έλαιο του *R. damascena*, καθώς και το αιθανολικό και υδατικό εκχύλισμα έδειξαν αντισπασμωδικά αποτελέσματα και μείωση των επιληπτικών κρίσεων. Η συγγένεια των φλαβονοειδών με GABAergic σύστημα στον εγκέφαλο έχει προταθεί ως ένα από τους πιθανούς μηχανισμούς δράσης διότι τα φλαβονοειδή ενισχύουν την επίδραση των βενζοδιαζεπινών στους υποδοχείς GABA (135).

Τέλος, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι το υδατικό εκχύλισμα *R. damascena* αυξάνει τον καρδιακό ρυθμό και τη συστολή σε ινδικό χοιρίδιο μέσω διεγερτικής δράσης στον β -αδρενεργικό υποδοχέα και καταστέλλοντας τη δραστηριότητα του ενζύμου MEA (μετατρεπτική αγγειοτενσίνη I) (135).

A.7. Εμπλουτισμός τσίπουρου

Κατά καιρούς, έχει παρατηρηθεί η προσθήκη διάφορων αρωματικών φυτών ή σπόρων σε αποστάγματα. Κατά αυτόν τον τρόπο, προκύπτουν ποτά με ενίσχυση της γεύσης τους και με παρουσία φυτικών συστατικών που μπορεί να έχουν προστατευτική δράση. Επιπλέον, οι φυτικές φαινολικές ενώσεις παρέχουν επιθυμητά οφέλη για την υγεία, κυρίως λόγω των αντιοξειδωτικών και αντιβακτηριδιακών τους ιδιοτήτων και της χαμηλής τους τοξικότητας (130).

Αρωματικοί σπόροι ή φυτά, όπως γλυκάνισου, μάραθου και κρόκου Κοζάνης προστίθενται από ορισμένους αμπελουργούς, χωρίς ωστόσο η παραγωγή να είναι

μαζική. Παράδειγμα ερευνητικής μελέτης αποτελεί ο εμπλουτισμός ενός ελληνικού παραδοσιακού αποστάγματος στεμφύλων, της τσικουδιάς, με επιλεγμένα βότανα για την ενίσχυση των φυσικών αντιοξειδωτικών του (130).

Ειδικότερα, προμηθεύτηκαν σε ξηρή μορφή και προστέθηκαν στο απόσταγμα τα εξής φυτικά προϊόντα: Goji berry (*Lycium Barbarum Mill*), roselle (*Hibiscus sabdariffa L.*), γιασεμί (*Jasminum officinale L.*), ευκάλυπτος (*Eucalyptus globulus Labill.*), γαρίφαλο (*Syzygium aromaticum L.*), δάφνη (*Laurus nobilis L.*), κανέλλα (*Cinnamomum species*) κ.ά. Η συγκέντρωση που επιλέχθηκε ήταν 2 g φυτικού προϊόντος ανά 100 mL τσικουδιάς (40% v/v), παραμονή για 24 ώρες και κατόπιν φιλτράρισμα. Διαπιστώθηκε ότι το ολικό φαινολικό περιεχόμενο, μέσω της μεθόδου Folin-Ciocalteu, στο αρχικό απόσταγμα ήταν ελάχιστο. Μέσω των προσθηκών, το φαινολικό περιεχόμενο αυξήθηκε σημαντικά, με μέγιστη αύξηση στο απόσταγμα με γαρίφαλο και ακολούθως σε αυτό με το γιασεμί και τον ευκάλυπτο. Επιπλέον, με μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο FRAP και της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας ABTS, βρέθηκε ότι η προσθήκη γιασεμιού προσφέρει τα μέγιστα αποτελέσματα. Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν τη μετανάστευση των ενώσεων από το βότανο στο απόσταγμα, γεγονός που μπορεί να προσδώσει πρόσθετες λειτουργικές ιδιότητες στα ποτά αυτά (130).

A.8. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν:

α) η ανάπτυξη αρτυμάτων ελαιολάδου, με προσθήκη μαστιχέλαιου Χίου και κρόκου Κοζάνης σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο, τα οποία να παρουσιάζουν αυξημένη αντιοξειδωτική δράση και οξειδωτική σταθερότητα, καθώς επίσης και αυξημένες βιοδράσεις και θετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, και

β) η ανάπτυξη νέων προϊόντων τσίπουρου, με προσθήκη ροδόνηρου, χαμηλότερου αλκοολικού βαθμού συγκριτικά με εκείνον ενός τυπικού εμπορικού τσίπουρου, που να παρουσιάζουν αυξημένη αντιοξειδωτική δράση και θετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

B. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

B.1. Αντιδραστήρια – Σκεύη – Όργανα – Προϊόντα

B.1.1. Αντιδραστήρια πειράματος εμπλουτισμού ελαιολάδου

- Sodium Hydroxide Pellets 97% 1 Kg & Potassium Hydroxide Pellets 1 Kg (Mallinckrodt, Chemical Works, St.Louis, USA). Phenolphthalein Indicator pH 8.2-9.8 FW=318.33 100 g (Ferak Berlin, Berlin, Germany), Ethanol ≥98% denaturated with MEK, IPA and Bitrex Mol Wt=46 g/mol 2.5 L, Methanol for analysis ≥99.8% 2.5 L & Aceton >99.5% 2.5 L (Honeywell, Seelze, Germany). Diethyl ether ≥99,8% M.W.=74.12 2.5 L, DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) FW=394.32 100 g, Hydrochloric acid puriss ≥37% 2.5 L, Sodium carbonate anhydrous ≥99.8% M.W.105.99 1 Kg, Ferric Chloride 97% FW=162.21 100 g, Caffeic acid 5 g, 1,10-Phenanthroline monohydrate >99.5% 5 g & Lipoxygenase from glycine (soybean) lyophilised powder >50000 units/mg 67 mg (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). n-Hexane ≥98.5% 86 g/mol 2.5 L, Acetic acid 100%, extra pure (glacial) 99.8-100.5% 60.05 g/mol 2.5 L & Isooctane for spectroscopy 2.5 L (Carlo Erba, Val-de-Reuil, France). Chloroform 119.36 g/mol 99.0-99.4% 2.5 L, Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent 2 N 500 mL, Sodium acetate anhydrous 99.99% 82.03 g/mol 1 Kg, Hydrogen peroxide 30% 1 L, di- Potassium hydrogen phosphate 3-hydrate Mol. 228.23 min. 99% 250 g, Boric acid Pro Analysis 99.8% & Gallic acid (anhydrous) 97.5-102.5% 170.12 g/mol 100 g (Merck, Darmstadt, Germany). Potassium Iodide p.a. FW=166.01 1Kg & Iron (II) sulfate heptahydrate pure 278.02 g/mol (POCh S.A.Gliwice, Gliwice, Slaskie, Poland). Starch soluble analytical reagent 100 g (Riedel-de Haen, Seelze, Germany). Sodium thiosulfate anhydrous 99% FW=158.10 500 g & Sodium Molybdenum oxide dihydrate 98% 100 g (Alfa Aesar, Karlsruhe, Germany). Ethyl acetate ≥99.8% 2.5 L (Fisher Chemical, Belgium). TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) ≥99.0% FW=312.33 g/mol 100 g (Fluka Analytical, part of Sigma Aldrich Co. LLC, Gillingham, U.K). Potassium dihydrogen orthophosphate 136.09 99.5-100.5% (AnalaR Normapur, France). Dimethylsulphoxide (DMSO) Analytical reagent A.R. 99.5% 1 L (Lab-scan analytical sciences, Bangkok, Thailand).

Σκεύη

- Κωνική φιάλη των 100 mL, Εσφυρισμένη κωνική φιάλη των 250 mL, Ογκομετρική φιάλη των 5 & 10 mL, Προχοΐδα των 25 mL διαβάθμισης 0,1,

Σιφώνια των 5, 10 & 25 mL, Ογκομετρικός κύλινδρος των 50 mL, Δοκιμαστικοί σωλήνες, Φυγοκεντρικοί σωλήνες, Γυάλινα σκουρόχρωμα φιαλίδια καφέ χρώματος χωρητικότητας 50 mL με βιδωτό πώμα, Σκουρόχρωμα φιαλίδια των 5 mL, Αυτόματες πιπέττες των 2-20 μ L, 20-200 μ L και 100-1000 μ L, Πιπέττα Παστέρ υάλινη, Πιπέττα πλαστική/Σταγονόμετρο, Κυψελίδα υάλινη/χαλαζία οπτικής διαδρομής 10 mm, Ψυκτήρας, Μαγνητάκια.

Όργανα - Συσκευές

- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων Kern Abs (Balingen, Germany), Φασματοφωτόμετρο UV-Vis 6505 Jenway (Essex, United Kingdom), Φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV – 1280 εύρους 190-1100 nm (Duisburg, Germany), Φυγόκεντρος Centromix J.P. Selecta (Barcelona, Spain), Vortex Genie-2 Scientific Industries (New York, USA), Υδατόλουτρο, Θερμαινόμενος μαγνητικός αναδευτήρας BK MODEL 620, Λάμπα υπεριώδους, Θερμοστατούμενος θάλαμος Velp Scientifica (frigotermostato foc 225d 5+49.9 °C) (Usmate Velate MB, Italy), Πυριαντήριο Memmert (Buechenbach, Germany), Συσκευή υπερήχων Ultrasonic Cleaner Trade Raypa (Barcelona, Spain), Πυκνόμετρο με θερμόμετρο, Θερμαντικός μανδύας, Πεχάμετρο multi-parameter analyser consort G831 (Turnhout, Belgium).

Προϊόντα

- Εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο ποικιλίας «Λιανολιά» από την περιοχή της Πρέβεζας, εσοδείας 2020, συσκευασμένο αεροστεγώς σε ασκό χωρητικότητας περίπου 5 L
- Μαστιχέλαιο original 100% pure (LOT: L210728) συσκευασίας των 5 g με ευγενική χορηγία από την «Ένωση Μαστιχοπαραγωγών Χίου»
- Βιολογικός ελληνικός κρόκος σε σκόνη από «Κρόκος Κοζάνης P.D.O.» συσκευασίας 1 g

B.1.2. Αντιδραστήρια πειράματος εμπλουτισμού τσίπουρου

- Gallic acid (anhydrous) 97.5-102.5%, Methanol, Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent 2N, Hydrogen peroxide 30%, di- Potassium hydrogen phosphate 3-hydrate 99% (Merck, Darmstadt, Germany). Sulfuric acid 95-97%, Sodium carbonate anhydrous, 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH), Hydrochloric acid puriss $\geq 37\%$, Ferric chloride 97%, 1,10-Phenanthroline monohydrate $>99.5\%$ (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA). Potassium hydroxide pellets, Sodium hydroxide pellets 97% (Mallinckrodt, Chemical Works, St. Louis, USA).

Ethanol 99,8% denaturated with IPA, MEK and Bitrex (PanReac AppliChem, Darmstadt, Germany). Iodine concentrate 0.05 mol I₂ FIXANAL (Honeywell Fluka, Charlotte, North Carolina, USA). TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) ≥99.0% FW=312.33 g/mol 100 g (Fluka Analytical, part of Sigma Aldrich Co. LLC, Gillingham, U.K). Iron (II) sulfate heptahydrate pure & Phenol red p.a. indicator (POCh S.A.Gliwice, Gliwice, Slaskie, Poland). Starch soluble analytical reagent 100 g (Riedel-de Haen, Seelze, Germany).

Σκεύη

- Σφαιρική φιάλη των 500 mL, Ογκομετρικός κύλινδρος των 250 mL, Κωνική φιάλη των 250 & 500 mL, Εσφυρισμένη κωνική φιάλη των 250 mL, Ογκομετρική φιάλη των 100 mL, Προχοΐδα των 25 mL διαβάθμισης 0,1, Σιφώνια των 1,5,10 & 25 mL, Κάψα πορσελάνης κυλινδρικού πυθμένα, Δοκιμαστικοί σωλήνες, Γυάλινα διάφανα φιαλίδια χωρητικότητας 50 mL με βιδωτό πώμα, Αυτόματες πιπέττες των 20-200 μL και 100-1000 μL, Πιπέττα Παστέρ υάλινη, Πιπέττα πλαστική/Σταγονόμετρο, Κυψελίδα υάλινη οπτικής διαδρομής 10 mm, Ψυκτήρας, Μαγνητάκια.

Όργανα – Συσκευές

- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων Kern Abs (Balingen, Germany), Φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV – 1280 εύρους 190-1100 nm (Duisburg, Germany), Φασματοφωτόμετρο LLG-uniSPEC UV/VIS με εύρος μετρήσεων 190-1100 nm (Meckenheim, Germany), Υδατόλουτρο, Θερμαινόμενος μαγνητικός αναδευτήρας BK MODEL 620, Θερμοστατούμενος θάλαμος Velp Scientifica (frigotermostato foc 225d 5+49.9 °C) (Usmate Velate MB, Italy), Πυριαντήριο Memmert (Buechenbach, Germany), Συσκευή υπερήχων Ultrasonic Cleaner Trade Raypa (Barcelona, Spain), Θερμαντικός μανδύας, Ξηραντήρας, Πεχάμετρο multi-parameter analyser consort G831 (Turnhout, Belgium).

Προϊόντα

- Τσίπουρο αλκοόλης 40%, εσοδείας 2021, ποικιλίας *Ντεμπίνα*, ZOINOS WINERY, συσκευασία 200 mL
- Ροδόνερο Τζουμέρκων (Rose water, Rosa Damascena), εσοδείας 2021, διπλής απόσταξης, ΚΙΤΣΟΣ, συσκευασία 150 mL

B.2. Πειραματική διαδικασία

B.2.1. Ανάπτυξη προϊόντων εμπλουτισμένου ελαιολάδου

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε μελέτη των χαρακτηριστικών ποιότητας του ελαιολάδου με σκοπό την κατάταξη και την κατηγοριοποίηση του. Έπειτα, σε ελαιόλαδο που είχε μεταφερθεί σε σκουρόχρωμο γυάλινο βιδωτό περιέκτη όγκου 50 mL πραγματοποιήθηκε η προσθήκη του κρόκου Κοζάνης σε συγκεντρώσεις K_1 και K_2 για χρόνους t_1 και t_2 . Επίσης, προστέθηκε μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M. Στους χρόνους t_1 και t_2 έλαβαν χώρα αναλύσεις ποιοτικών χαρακτηριστικών, βιοδράσεων και βιοδραστικών συστατικών, καθώς και οργανοληπτικός έλεγχος.

Το ελαιόλαδο και τα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα αποτιμήθηκαν όσον αφορά την οξειδωτική τους σταθερότητα στους 120 και 180 °C σε σκουρόχρωμα γυάλινα φιαλίδια των 5 mL χωρίς πώμα (Εικόνα 20).



Εικόνα 20. Φιαλίδιο των 5 mL που χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη της προόδου της οξείδωσης στους 120 και 180 °C

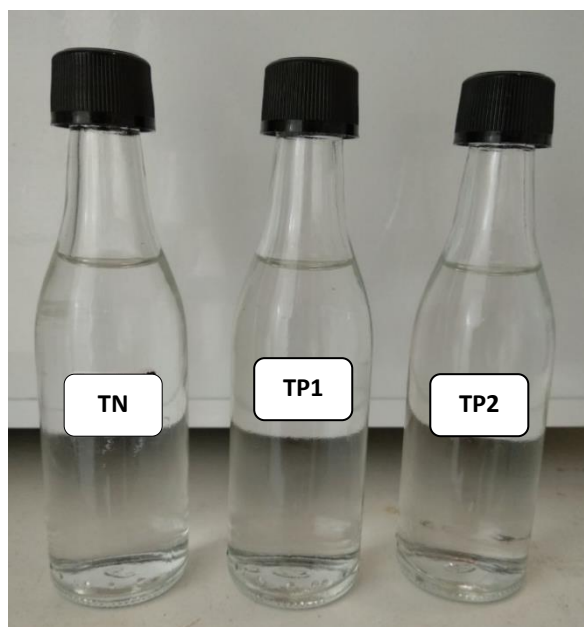
B.2.2. Ανάπτυξη προϊόντων εμπλουτισμένου τσίπουρου

Αρχικά, έλαβαν χώρα αναλύσεις στο αρχικό τσίπουρο αλκοόλης 40% vol και στο αρχικό ροδόνερο. Έπειτα, για την παρασκευή των εμπλουτισμένων προϊόντων τσίπουρου χαμηλότερου αλκοολικού βαθμού (30% vol) πραγματοποιήθηκαν τα εξής:

Για την παρασκευή 100 mL εμπλουτισμένου προϊόντος τσίπουρου, σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL μεταφέρθηκαν:

- 75 mL τσίπουρου 40 % vol + 25 mL απιονισμένου νερού, Μάρτυρας (TN)
- 75 mL τσίπουρου 40 % vol + 10 mL ροδόνηρου + 15 mL απιονισμένου νερού (TP1)
- 75 mL τσίπουρου 40 % vol + 20 mL ροδόνηρου + 5 mL απιονισμένου νερού (TP2)

Η φιάλη αναδεύτηκε και το περιεχόμενο διαμοιράστηκε σε διάφανα φιαλίδια με πώμα των 50 mL (Εικόνα 21). Η διαδικασία επαναλήφθηκε μέχρι την παρασκευή της απαιτούμενης ποσότητας. Ακολούθησε ανάλυση των δειγμάτων την ημέρα της προσθήκης (χρόνος t_0) και αποθήκευση δειγμάτων σε θάλαμο σταθερής θερμοκρασίας 20 °C για αναλύσεις σε μεταγενέστερους χρόνους (t_1 = 30 ημέρες, t_2 = 60 ημέρες).



Εικόνα 21. Δείγματα TN, TP1, TP2 σε διάφανα φιαλίδια των 50 mL για διατήρηση στους 20 °C και μελέτη σε χρόνους 30 και 60 ημερών.

TN: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη νερού, TP1: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε χαμηλή συγκέντρωση και TP2: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε υψηλή συγκέντρωση.

B.3. Μέθοδοι ανάλυσης

B.3.1. Αναλύσεις ελαιολάδου

Οξύτητα

Σε κωνική φιάλη των 100 mL ζυγίζονται περίπου 5 g ελαιολάδου (με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων, καταγραφή μάζας). Στη συνέχεια, με σιφώνιο προστίθενται 10 mL αιθανόλης, 10 mL διαιθυλαιθέρα για τη διάλυση του δείγματος. Ακολουθεί

ογκομέτρηση (σε προχοΐδα των 25 mL, διαβάθμισης 0,1 mL) με διάλυμα NaOH 0,1M και δείκτη φαινολοφθαλεΐνη (10 g/L σε αιθανόλη), έως ότου το χρώμα γίνει γαλακτερό ροζ-ρόδινο.

Η οξύτητα, ως % ελαιικό οξύ, προκύπτει από τη σχέση:

$$\% \text{ ελαιικό οξύ} = V \times c \times \frac{M}{1000} \times \frac{100}{m} = \frac{V \times c \times M}{10 \times m} = \frac{0,0282 \times V \times 100}{m}$$

όπου: V : ο όγκος σε mL του διαλύματος NaOH,

c : η ακριβής συγκέντρωση (moles/L) του διαλύματος NaOH,

M : 282 g/mol, το MB σε g/mole του ελαιικού οξέος,

m : το βάρος του δείγματος σε g.

Το αποτέλεσμα εκφράζεται με δύο δεκαδικά για τιμές από 0 μέχρι και 1, και με ένα δεκαδικό για τιμές από 1 μέχρι και 100 (15).

Πυκνότητα

Χρησιμοποιείται ειδικό πυκνόμετρο. Αρχικά, ζυγίζεται το πυκνόμετρο μαζί με το θερμόμετρο. Στη συνέχεια, γεμίζεται με ελαιόλαδο μέχρι πάνω έτσι ώστε, να μην υπάρχει αέρας στο πυκνόμετρο, επανατοποθετείται το θερμόμετρο και το πυκνόμετρο καθαρίζεται καλά με ακετόνη. Ακολουθεί καταγραφή της θερμοκρασίας και ζύγιση.

Γνωρίζουμε ότι το πυκνόμετρο χωράει ακριβώς 24,496 mL ελαιόλαδου άρα η πυκνότητα υπολογίζεται από τον τύπο:

$$d = \frac{m}{V} = \frac{m_1 - m_0}{24,496}$$

όπου: m₀ : η μάζα, σε g, του άδειου πυκνομέτρου

m₁ : η μάζα, σε g, του γεμάτου πυκνομέτρου (17).

Χλωροφύλλες - Καροτενοειδή

Η αποτίμηση του χρώματος του ελαιολάδου γίνεται με μέτρηση της απορρόφησης στα 470 (καροτενοειδή) και 670 (χλωροφύλλες) nm με χρήση γυάλινης κυψελίδας. Για τη μέτρηση η γυάλινη κυψελίδα γεμίζεται με ελαιόλαδο και ως τυφλό δείγμα χρησιμοποιείται εξάνιο (μηδενισμός φωτομέτρου).

Οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις (σε mg/kg) υπολογίζονται από τους τύπους (18):

$$C_{\text{χλωροφυλλών}} = \frac{A_{670} \times 10^6}{613 \times 100 \times \text{density}}$$

$$C_{\text{καροτενοειδών}} = \frac{A_{470} \times 10^6}{2000 \times 100 \times \text{density}}$$

Αριθμός Υπεροξειδίων

Σε εσφυρισμένη κωνική φιάλη των 250 mL και με πώμα ζυγίζονται 0,5-1 g λιπαρής ύλης με ακρίβεια 4 δεκαδικών ψηφίων. Προστίθενται με σιφώνιο 5 mL χλωροφορμίου, 7,5 mL οξικού οξέος, 0,5 mL κορεσμένου KI, η φιάλη πωματίζεται αμέσως και ακολουθεί ανάδευση για 1 min. Έπειτα, η κωνική φιάλη τοποθετείται σε σκοτεινό μέρος (σε ντουλάπι) για 5 min. Ακολουθεί προσθήκη 37,5 mL απεσταγμένου νερού με ογκομετρικό κύλινδρο των 50 mL και δείκτης άμυλο 1% (3-4 σταγόνες). Τέλος γίνεται ογκομέτρηση (προχοΐδα των 25 mL, διαβάθμισης 0,1 mL) με 0,002N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ μέχρι να εξαλειφθεί το μαύρο χρώμα του δείκτη. Παράλληλα, λαμβάνει χώρα και λευκός προσδιορισμός ο οποίος περιέχει όλα τα αντιδραστήρια εκτός της λιπαρής ύλης.

Ο Α.Υ. (meq O_2 / Kg ελαιολάδου) υπολογίζεται από τον τύπο:

$$A.Y = 1000 \times A \times N / B$$

Όπου: A : τα mL του διαλύματος θειοθειϊκού νατρίου που καταναλώθηκαν για το δείγμα μείον τα mL του διαλύματος θειοθειϊκού νατρίου που καταναλώθηκαν για τον λευκό προσδιορισμό,

B : το βάρος του δείγματος σε g και

N : η κανονικότητα του διαλύματος θειοθειϊκού νατρίου (0,002 N)

Το αποτέλεσμα εκφράζεται με ένα δεκαδικό ψηφίο (136).

Μέτρηση Απορρόφησης στο UV (234 και 270 nm)

Σε δοκιμαστικό σωλήνα εισάγονται 5 mL ισοοκτανίου και 5 μL λιπαρής ύλης. Η παραλαβή της λιπαρής ύλης γίνεται με αυτόματη πιπέτα, προσεκτικά, από την επιφάνεια του λαδιού καθώς η ποσότητα του απαιτούμενου δείγματος είναι πολύ μικρή και έτσι είναι πολύ εύκολο να έχουμε σφάλμα. Ακολουθεί ανάδευση στο vortex και με κυψελίδες χαλαζία του 1 cm μετράται η απορρόφηση στα 234 και 270 nm. Σαν τυφλό (μηδενισμός φωτομέτρου) χρησιμοποιείται ισοοκτάνιο (137).

Προσδιορισμός Συντελεστών Km και ΔK

Σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL ζυγίζονται 0,1 g λιπαρής ύλης και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι την χαραγή με ισοοκτάνιο. Ακολουθεί καλή ανάδευση στο vortex. Έπειτα, γίνεται φωτομέτρηση στα 232, 268, 264 ($\lambda_{\text{max}}-4$) και 272 ($\lambda_{\text{max}}+4$) nm. Για την μέτρηση της απορρόφησης στα 232 nm απαιτείται, συνήθως, αραίωση του

δείγματος σε αναλογία 1/10 λόγω λήψης υψηλών τιμών απορρόφησης (>0,8). Για τον μηδενισμό του οργάνου χρησιμοποιείται ισοοκτάνιο.

Ο υπολογισμός των συντελεστών γίνεται με τους παρακάτω τύπους:

$$K_m = \frac{E\lambda}{c \times s}$$

όπου: $E\lambda$: η τιμή της απορρόφησης σε κάθε μήκος κύματος

c : η συγκέντρωση του διαλύματος σε g/100mL διαλύτη

s : το πάχος της κυψελίδας χαλαζία (1 cm).

Για τον προσδιορισμό του συντελεστή ΔK γίνεται χρήση του τύπου (138):

$$\Delta K = K_m - \left(\frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2} \right)$$

όπου: $K_m = K_{268}$, $K_{m-4} = K_{264}$ και $K_{m+4} = K_{272}$

Αριθμός Σαπωνοποίησης

Σε εσφυρισμένη κωνική φιάλη των 250 mL ζυγίζονται 0,25-0,5 g λιπαρής ύλης. Με σιφώνιο προστίθενται 6,25 mL αλκοολικού διαλύματος KOH 0,5N και πέτρες βρασμού. Ακολουθεί σαπωνοποίηση του δείγματος με θέρμανση της φιάλης επί 1 ώρα με κάθετο ψυκτήρα σε υδατόλουτρο που βράζει. Κατά την διάρκεια της σαπωνοποίησης η φιάλη ανακινείται αρκετές φορές. Στην συνέχεια, και όσο είναι ακόμα ζεστό, ογκομετρείται η περίσσεια KOH με 0,5N HCl και δείκτη φαινολοφθαλεΐνη (εξάλειψη του ροζ χρώματος, 10 g/L σε αιθανόλη). Συγχρόνως, γίνεται και λευκός προσδιορισμός ο οποίος περιέχει όλα τα αντιδραστήρια εκτός από το δείγμα και για το οποίο ακολουθείται η ίδια πειραματική πορεία.

Ο αριθμός σαπωνοποίησης (Α.Σ.) υπολογίζεται από τον τύπο (139):

$$Α.Σ. = [28,05 (\alpha - \beta)] / \text{βάρος δείγματος (g)}$$

όπου: α και β ο αριθμός των mL του HCl 0,5N, που καταναλώθηκαν αντίστοιχα στον λευκό προσδιορισμό και στον προσδιορισμό του δείγματος.

Αριθμός Ιωδίου

Σε εσφυρισμένη κωνική φιάλη των 250 mL με πώμα ζυγίζονται 0,1-0,125 g λιπαρής ύλης και προστίθενται 5 mL χλωροφορμίου. Ακολουθώντας, με την βοήθεια προχοΐδας (όγκου 25 mL, διαβάθμισης 0,1 mL, εντός απαγωγού) προστίθενται 12,5 mL ειδικού διαλύματος ιωδίου, η φιάλη πωματίζεται με κατάλληλο πώμα και αφήνεται στο σκοτάδι (στο ντουλάπι) για 30 λεπτά. Κατά την παραμονή γίνεται ανακίνηση της

φιάλης ανά τακτά χρονικά διαστήματα (κάθε ~10min). Στη συνέχεια γίνεται προσθήκη με σιφώνιο 7,5 mL διαλύματος KI 10%, και η περίσσεια του ιωδίου ογκομετρείται με διάλυμα 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Αρχικά γίνεται προσθήκη του διαλύματος 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ μέχρι να ατονήσει το χρώμα του ιωδίου και μετά πραγματοποιείται προσθήκη δείκτη αμύλου 1% και συνέχιση της ογκομέτρησης μέχρι να εξαφανιστεί το κυανό χρώμα. Παράλληλα, γίνεται και λευκός προσδιορισμός ο οποίος περιέχει όλα τα αντιδραστήρια εκτός από το δείγμα και για το οποίο ακολουθείται η ίδια πειραματική πορεία.

Ο αριθμός ιωδίου (A.I.) υπολογίζεται από τον τύπο (140):

$$A. I. = ((\alpha - \beta) \times N \times 12,69) / (\text{βάρους δείγματος (g)})$$

Όπου,

α : τα mL του 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ που καταναλώθηκαν στο λευκό προσδιορισμό

β : τα mL του 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ που καταναλώθηκαν στο δείγμα

N : ο τίτλος του $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (εδώ 0,1)

Δέσμευση Ρίζας DPPH

Παρασκευάζεται φρέσκο διάλυμα DPPH σε οξικό αιθυλεστέρα συγκέντρωσης 80 μM .

Για την προετοιμασία του δείγματος γίνεται αραιώση του δείγματος σε αναλογία 1/10.

Σε γυάλινη κυψελίδα διαστάσεων 10 mm εισάγεται με αυτόματη πιπέτα 1 mL διαλύματος DPPH. Η κυψελίδα τοποθετείται στο φασματοφωτόμετρο, το οποίο έχει ρυθμιστεί στα 515 nm και έχει μηδενιστεί με τον διαλύτη της ρίζας (οξικός αιθυλεστέρας). Στη συνέχεια, με αυτόματη πιπέτα προστίθενται 0,25 mL δείγματος στην κυψελίδα και ξεκινάνε οι μετρήσεις. Αυτό γίνεται για να ελαχιστοποιηθεί ο χρόνος από την στιγμή που θα γίνει η προσθήκη, μέχρι την στιγμή που θα καταγραφεί η πρώτη μέτρηση.

Για το control γίνεται προσθήκη στην κυψελίδα 1 mL διαλύματος DPPH και 0,25 mL οξικού αιθυλεστέρα αντί δείγματος (141).

Λήψη Πολικού Εκχυλίσματος - Εκχύλιση

Σε φυγοκεντρικό σωλήνα ζυγίζεται 1 g λιπαρής ύλης. Στην συνέχεια, ακολουθεί προσθήκη:

- 2 mL εξανίου

- 2 mL μεθανόλης:νερό (σε αναλογία 60:40)

Γίνεται ανάδευση στο vortex για 2 min και φυγοκέντρωση για 5 min στα 7000 rpm.

Λήψη της πολικής (κάτω) φάσης με χρήση γυάλινης πιπέτας Paster.

Μετά την ολοκλήρωση της φυγοκέντρωσης ακολουθεί παραλαβή του πολικού κλάσματος του ελαιολάδου με τη βοήθεια πιπέτας Pasteur. Η διαδικασία αυτή γίνεται τρεις φορές και τα πολικά εκχυλίσματα συνενώνονται σε γυάλινο φιαλίδιο με πώμα (142).

Πικρότητα

Σε φιαλίδιο των 7 mL προστίθενται με αυτόματη πιπέτα 2 mL μεθανολικού εκχυλίσματος και 2 mL διαλύματος μεθανόλης 60% → διάλυμα C₀

1,25 mL από το C₀ μεταφέρονται με την βοήθεια αυτόματης πιπέτας σε ογκομετρική φιάλη των 5 mL και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι την χαραγή με διάλυμα μεθανόλης 60% → διάλυμα C₁

Τέλος γίνεται φωτομέτρηση του C₁ στα 225nm (μηδενισμός οργάνου με μεθανόλη 60%).

Υπολογισμός δείκτη K₂₂₅:
$$K_{225} = \frac{A_{225}}{C}$$
, όπου C= g λαδιού / 100 mL

Υπολογισμός δείκτη πικρότητας IB :
$$IB = 13,33 \times K_{225} - 0,837$$

- 1) Για την παρασκευή του διαλύματος C₀ παίρνουμε: 2mL εκχυλίσματος και 2mL MeOH/H₂O. Άρα βρίσκουμε πόσα γραμμάρια λαδιού αντιστοιχούν σε αυτά τα 2 mL εκχυλίσματος.

1gr λαδιού → περίπου 6mL εκχυλίσματος

X; =0,33gr → 2mL εκχυλίσματος

Επομένως, στο C₀ έχουμε 0,33gr λαδιού/ 4mL.

- 2) Για το C₁ παίρνουμε 1,25mL από το C₀ και συμπληρώνουμε μέχρι τα 5mL με MeOH/H₂O. Βρίσκω πόσα γραμμάρια λαδιού αντιστοιχούν στο 1,25mL C₀.

0,33gr λαδιού → 4mL

γ; =0,1031gr → 1,25mL

Επομένως 0,1031 g ελαιολάδου/5 mL

0,1031gr λαδιού $\longrightarrow$ 5mL

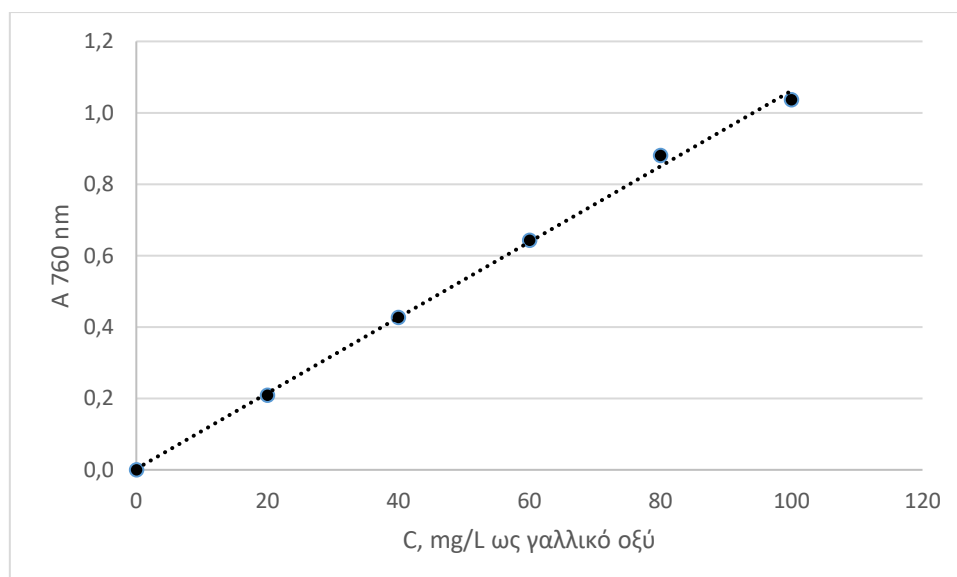
z; =2,062gr $\longrightarrow$ 100 mL

Άρα με βάση τα παραπάνω υπολογίζεται ο δείκτης K_{225} και ο δείκτης πικρότητας IB (28).

Μέθοδος Folin

Σε δοκιμαστικό σωλήνα αναμιγνύονται 0,5 mL μεθανολικού εκχυλίσματος με 2,5 mL αντιδραστήριου Folin (αραιωμένο 1/10 σε νερό) και πραγματοποιείται ανάδευση στο vortex. Μετά από παραμονή 5 min στο σκοτάδι γίνεται προσθήκη 2 mL Na_2CO_3 7,5% σε νερό, ανάδευση στο vortex και το διάλυμα παραμένει στο σκοτάδι (ντουλάπι) για ακόμα 2 ώρες. Παράλληλα, παρασκευάζεται και τυφλό το οποίο περιέχει διάλυμα μεθανόλης 60% αντί για εκχύλισμα. Μετά το πέρας των 2 ωρών γίνεται φωτομέτρηση στα 760 nm (μηδενισμός του οργάνου με το τυφλό) (142).

Ο προσδιορισμός των ολικών φαινολικών ενώσεων γίνεται με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος (0-100 mg/L) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mg γαλλικού οξέος ανά Kg ελαιολάδου. Η εξίσωση της πρότυπης καμπύλης του γαλλικού οξέος είναι $C \text{ (mg/L ως γαλλικό οξύ)} = (A - 0,0028) / 0,0106$, $R^2=0,9980$. Η διαδικασία γίνεται εις τριπλούν.



Εικόνα 22. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος (0-100 mg/L) – Μέθοδος Folin

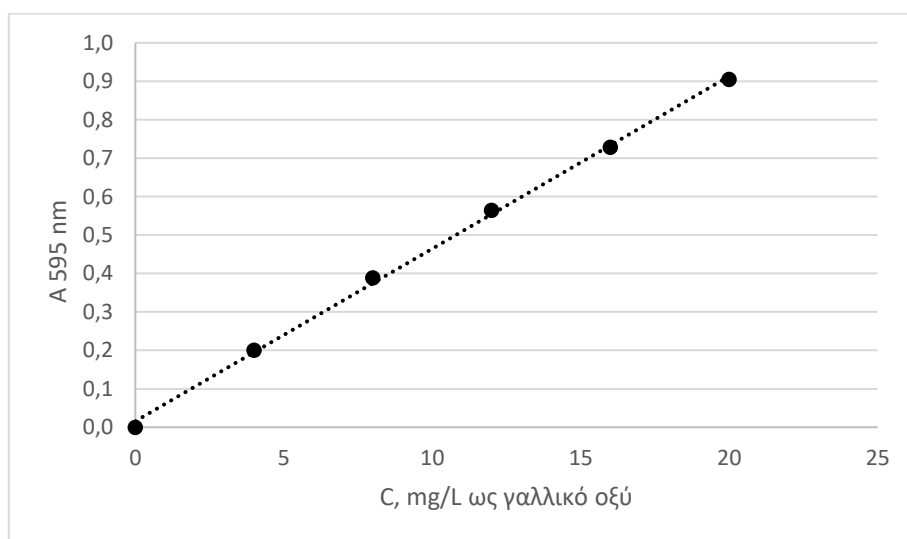
Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι ($n = 3$).

Μέθοδος FRAP (Αναγωγική ισχύς)

Αρχικά παρασκευάζεται το αντιδραστήριο FRAP το οποίο περιέχει τα διαλύματα TPTZ 9mM σε HCl 0,05M, FeCl₃ 20mM σε HCl 0,05M και το buffer οξικού οξέος 0,3M pH 3,6 σε αναλογία 1:1:10.

Σε Eppendorf των 1,5 mL και με αυτόματη πιπέτα αναμιγνύονται 1400 µL αντιδραστηρίου FRAP και 100 µL πολικού εκχυλίσματος. Παράλληλα παρασκευάζεται και το τυφλό στο οποίο αντί για εκχύλισμα προστίθεται μεθανόλη 60%. Ακολουθεί ελαφριά ανάδευση στο vortex και επώαση σε υδατόλουτρο στους 37 °C για 30min στο σκοτάδι. Τέλος πραγματοποιείται φωτομέτρηση στα 595 nm. Μηδενισμός του οργάνου με το τυφλό (143).

Ο προσδιορισμός της αναγωγικής ισχύος γίνεται με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος (0 -20 mg/L) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mg γαλλικού οξέος ανά Kg ελαιολάδου. Η εξίσωση της πρότυπης καμπύλης του γαλλικού οξέος είναι $C \text{ (mg/L ως γαλλικό οξύ)} = (A - 0,0156) / 0,0449$, $R^2=0,9988$. Η διαδικασία γίνεται εις τριπλούν.



Εικόνα 23. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος (0-20 mg/L) – Μέθοδος FRAP

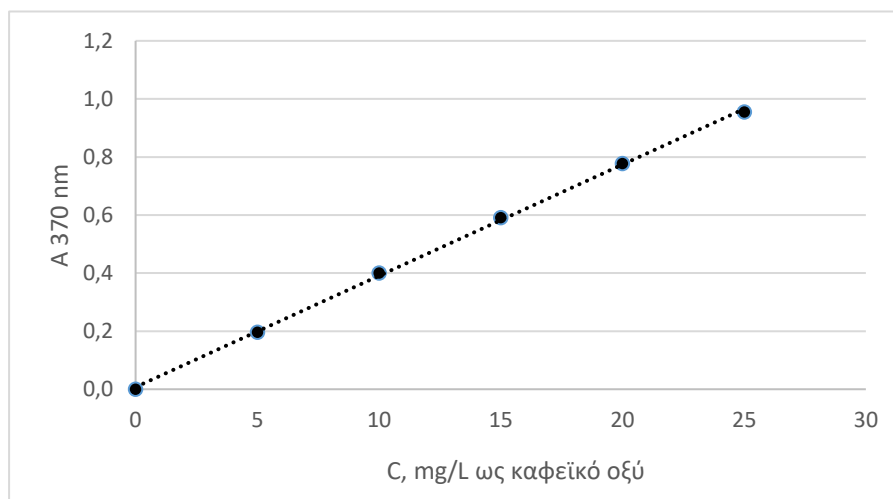
Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι (n = 3).

ο-Διφαινόλες

Σε δοκιμαστικό σωλήνα εισάγονται με αυτόματη πιπέτα 2 mL εκχυλίσματος και 0,5 mL διαλύματος μολυβδαινικού νατρίου 5% (5% σε αιθανόλη:νερό 1:1 v/v). Το μείγμα αναδεύεται ελαφρώς σε vortex και ακολουθεί παραμονή για 15min (στο σκοτάδι). Παράλληλα, παρασκευάζεται και τυφλό το οποίο περιέχει 2 mL

μεθανόλης 60% αντί για εκχύλισμα. Έπειτα, μετράται η απορρόφηση στα 370nm (μηδενισμός του οργάνου με το τυφλό) (144,145,146).

Ο ποσοτικός προσδιορισμός γίνεται με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης καφεϊκού οξέος (0 -25 mg/L) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mg γαλλικού οξέος ανά Kg ελαιολάδου. Η εξίσωση της πρότυπης καμπύλης του γαλλικού οξέος είναι $C \text{ (mg/L ως γαλλικό οξύ)} = (A - 0,0074) / 0,0383$, $R^2=0,9994$. Η διαδικασία γίνεται εις τριπλούν.



Εικόνα 24. Πρότυπη καμπύλη καφεϊκού οξέος (0-25 mg/L) – Προσδιορισμός ο-διφαινολών.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι ($n = 3$).

Δέσμευση ρίζας *OH

Σε σωλήνα Eppendorf των 2 mL, αναμειγνύονται:

- 250 μ L 1,10-φαιναθρολίνη 2 mM
- 500 μ L ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών pH 7,4 0,15 M
- 250 μ L μεθανολικού εκχυλίσματος
- 250 μ L διαλύματος $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,75 mM
- 250 μ L H_2O_2 0,01%

Ακολουθεί ανάδευση στο vortex και επώαση στους 37 °C σε υδατόλουτρο για 1h (δεν απαιτείται σκοτάδι). Παράλληλα, παρασκευάζεται διάλυμα control, το οποίο περιέχει 250 μ L διαλύματος μεθανόλης 60% αντί δείγματος και διάλυμα τυφλού, με νερό αντί για υπεροξείδιο. Μετά το πέρας της 1h, μετρήθηκε η απορρόφηση στα 536 nm με χρήση γυάλινης κυψελίδας (1 cm). Ο μηδενισμός του φωτόμετρου πραγματοποιείται με νερό. Ο υπολογισμός της % δέσμευσης της υδροξυλικής ρίζας γίνεται μέσω του τύπου (33):

$$\% \text{ δέσμευση} = \frac{A_{\text{δείγμα}} - A_{\text{control}}}{A_{\text{τυφλό}} - A_{\text{control}}} * 100\%$$

Αντιφλεγμονώδης δράση

Αρχικά, το μεθανολικό εκχύλισμα συμπυκνώνεται με άζωτο στο 40% του αρχικού όγκου έτσι ώστε να απομακρυνθεί η μεθανόλη (λήψη υδατικού εκχυλίσματος). Η διαδικασία που ακολουθείται για την συμπύκνωση είναι η εξής: σε erendorff των 1,5 mL εισάγονται πρώτα το 40% του όγκου του εκχυλίσματος που θα χρησιμοποιηθεί και σημειώνεται με ένα μαρκαδόρο (π.χ. για 1 mL, εισάγονται πρώτα 400 μL εκχυλίσματος, σημειώνεται η στάθμη με μαρκαδόρο, εισάγονται και τα υπόλοιπα 600 μL).

Μετά την συμπύκνωση αναμιγνύονται σε Eppendorf των 1,5 mL:

- 900 μL ρυθμιστικό διάλυμα βορικού οξέος 0,2 M pH=9
- 100 μL υδατικού εκχυλίσματος
- 100 μL LOX 1U/μL

Γίνεται ανάδευση στο vortex και 5 min επώαση σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι (ντουλάπι).

Έπειτα, προστίθενται 100 μL λινολεϊκού οξέος (4,18mM σε αιθανόλη), ανάδευση και παρακολούθηση κινητικής στα 234 nm για 15 min.

Για κάθε δείγμα παρασκευάζεται και το αντίστοιχο τυφλό όπου ακολουθείται η ίδια διαδικασία αλλά αντί για λινολεϊκό οξύ προστίθεται αιθανόλη. Επιπλέον, παρασκευάζεται και δείγμα control όπου αντί για υδατικό εκχύλισμα στην αντίδραση προστίθεται απεσταγμένο νερό. Παράλληλα, παρασκευάζεται και τυφλό του control το οποίο περιέχει αιθανόλη αντί λινολεϊκό οξύ και απεσταγμένο νερό αντί για εκχύλισμα. Ο μηδενισμός του φωτομέτρου γίνεται με το αντίστοιχο τυφλό κάθε δείγματος. Η % αναστολή για κάθε λεπτό υπολογίζεται από τον εξής τύπο (146) :

$$\% \text{ αναστολή} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

Λήψη Φάσματος στο UV

Σε Eppendorff των 1,5 mL εισάγονται με αυτόματη πιπέτα 900 μL μεθανόλης 60% και 100 μL εκχυλίσματος (αραίωση 1/10). Έπειτα, γίνεται παραλαβή του φάσματος UV (στα 190-400nm) στο φασματοφωτόμετρο (μηδενισμός του οργάνου με μεθανόλη 60%).

Οργανοληπτικός έλεγχος

Η οργανοληπτική αποτίμηση των δειγμάτων έγινε από δύο δοκιμαστές. Σε καλά αεριζόμενο χώρο, 10 mL κάθε δείγματος μεταφέρθηκαν σε μικρά διάφανα ποτηράκια. Ο δοκιμαστής αποτίμησε αρωματικά χαρακτηριστικά και γευστικά χαρακτηριστικά, σε χρόνο t_0 , t_1 και t_2 .

B.3.2. Αναλύσεις μαστιχέλαιου

Δέσμευση Ρίζας DPPH

Παρασκευάζεται φρέσκο διάλυμα DPPH σε οξικό αιθυλεστέρα συγκέντρωσης 80 μM .

Για την προετοιμασία του δείγματος γίνεται αραιώση του μαστιχέλαιου με οξικό αιθυλεστέρα σε αναλογία 1/5.

Σε γυάλινη κυψελίδα διαστάσεων 10 mm εισάγεται με αυτόματη πιπέτα 1 mL διαλύματος DPPH. Η κυψελίδα τοποθετείται στο φασματοφωτόμετρο, το οποίο έχει ρυθμιστεί στα 515 nm και έχει μηδενιστεί με τον διαλύτη της ρίζας (οξικός αιθυλεστέρας). Στη συνέχεια, με αυτόματη πιπέτα προστίθενται 0,25 mL δείγματος στην κυψελίδα και ξεκινάνε οι μετρήσεις. Αυτό γίνεται για να ελαχιστοποιηθεί ο χρόνος από την στιγμή που θα γίνει η προσθήκη, μέχρι την στιγμή που θα καταγραφεί η πρώτη μέτρηση.

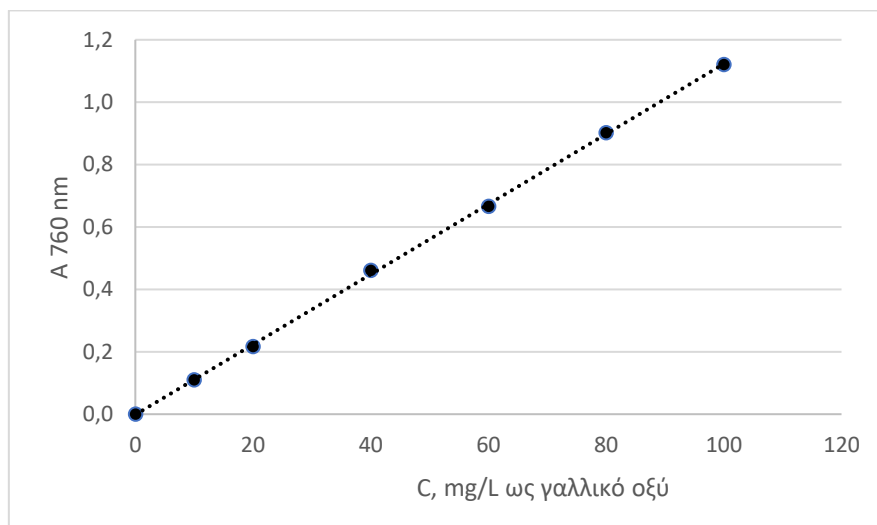
Για το control γίνεται προσθήκη στην κυψελίδα 1 mL διαλύματος DPPH και 0,25 mL οξικού αιθυλεστέρα αντί δείγματος (141).

Μέθοδος Folin

Σε δοκιμαστικό σωλήνα αναμιγνύονται 0,5 mL μαστιχέλαιου (αραιώση 1/10 σε DMSO) με 2,5 mL αντιδραστηρίου Folin (αραιωμένο 1/10 σε νερό) και πραγματοποιείται ανάδευση στο vortex. Μετά από παραμονή 5 min στο σκοτάδι γίνεται προσθήκη 2 mL Na_2CO_3 7,5% σε νερό, ανάδευση στο vortex και το διάλυμα παραμένει στο σκοτάδι (ντουλάπι) για ακόμα 2 ώρες. Παράλληλα, παρασκευάζεται και τυφλό το οποίο περιέχει DMSO αντί για μαστιχέλαιο. Μετά το πέρας των 2 ωρών γίνεται φωτομέτρηση στα 760 nm (μηδενισμός του οργάνου με το τυφλό) (142).

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης γίνεται με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος (0-100 mg/L) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως mg γαλλικού οξέος/L μαστιχέλαιου. Η εξίσωση της πρότυπης καμπύλης του γαλλικού

οξέος είναι $C \text{ (mg/L ως γαλλικό οξύ)} = (A + 0,0017) / 0,0112$, $R^2=0,9997$. Η διαδικασία γίνεται εις τριπλούν.



Εικόνα 25. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος (0-100 mg/L) – Μέθοδος Folin για μαστιχέλαιο

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι ($n = 3$).

B.3.3. Αναλύσεις τσίπουρου και προϊόντων τσίπουρου με ροδόνηρο

Αλκοόλη

Σε σφαιρική φιάλη των 500 mL, μεταφέρονται 200 mL δείγματος τσίπουρου, 10 mL Ca(OH)_2 2M (για αποφυγή λήψης πτητικών οξέων στο απόσταγμα) και πέτρες βρασμού (για αποφυγή αφρισμού). Το διάλυμα υποβάλλεται σε απλή απόσταξη, μέχρι να συλλεχθούν 150 mL αποστάγματος σε ογκομετρικό κύλινδρο των 250 mL. Ο ογκομετρικός κύλινδρος συμπληρώνεται με H_2O μέχρι τα 200 mL. Ακολουθώς, εισάγονται στον ογκομετρικό κύλινδρο το αλκοολόμετρο (κλίμακας 0-100%) για τον προσδιορισμό των αλκοολικών βαθμών (μέτρηση απευθείας της αλκοολικής ισχύος κατά όγκο) και το θερμόμετρο (μέτρηση της θερμοκρασίας). Γίνεται ανάγνωση της θερμοκρασίας μετά από 1 min (για την επίτευξη ισορροπίας ανάμεσα στον ογκομετρικό κύλινδρο, το θερμόμετρο, το αλκοολόμετρο και το απόσταγμα). Κατόπιν, απομακρύνεται το θερμόμετρο και πραγματοποιείται ανάγνωση της ένδειξης του αλκοολομέτρου και καταγραφή της αλκοολικής ισχύος. Τέλος, πραγματοποιείται διόρθωση του αλκοολικού τίτλου με αναγωγή στους 20 °C και το αποτέλεσμα εκφράζεται σε % vol (124).

Ελεύθερος Θειώδης Ανυδρίτης

Σε κωνική φιάλη των 250 mL φέρονται 25 mL δείγματος και 2,5 mL διαλύματος H_2SO_4 25%. Ακολουθεί ογκομέτρηση με I_2 0,01M και 1 mL δείκτη άμυλο, μέχρι το χρώμα του διαλύματος να γίνει κυανό (128).

Ο υπολογισμός του ελεύθερου θειώδους γίνεται ως εξής (128):

$$\text{ελεύθερος SO}_2 \text{ (mg/L)} = (V \times N \times 32 \times 1000) / U = 12,8 \times V$$

όπου: V : ο όγκος του διαλύματος I_2 0,01 N που καταναλώθηκε σε mL

N : η κανονικότητα του διαλύματος I_2

U : ο όγκος του δείγματος σε mL

Ολικός Θειώδης Ανυδρίτης

Σε κωνική φιάλη των 250 mL φέρονται 25 mL δείγματος και 12,5 mL διαλύματος KOH 1M. Το διάλυμα αφήνεται σε ηρεμία για 15 min (για την αποδέσμευση του δεσμευμένου θειώδη ανυδρίτη από τις καρβονυλικές ενώσεις). Μετά το πέρας των 15 min, το διάλυμα οξινίζεται με 5 mL διαλύματος H_2SO_4 25% w/v. Ακολουθεί ογκομέτρηση με I_2 0.01M και δείκτη άμυλο, μέχρι το χρώμα του διαλύματος να γίνει κυανό (128).

Ο υπολογισμός του ελεύθερου θειώδους γίνεται ως εξής (128):

$$\text{ολικός SO}_2 \text{ (mg/L)} = (V \times N \times 32 \times 1000) / U = 12,8 \times V$$

όπου: V : ο όγκος του διαλύματος I_2 0,01 N που καταναλώθηκε σε mL

N : η κανονικότητα του διαλύματος I_2

U : ο όγκος του δείγματος σε mL

Ολική Οξύτητα

Σε κωνική φιάλη των 500 mL μεταφέρονται με σιφώνιο 25 mL δείγματος τσίπουρου. Προστίθενται 200 mL απιονισμένου νερού που προηγουμένως έχει υποστεί βρασμό και ψύξη και 2-6 σταγόνες από το διάλυμα των δεικτών. Ακολουθεί ογκομέτρηση με διάλυμα NaOH 0,05 M μέχρι το κίτρινο-πράσινο χρώμα του διαλύματος να μετατραπεί σε βιολετί (στην περίπτωση των άχρωμων αποσταγμάτων). Καταγράφεται ο όγκος n_1 του διαλύματος NaOH 0,05 M που καταναλώθηκε. Η ολική οξύτητα εκφράζεται σε mg οξικού οξέος/L δείγματος ως εξής (129):

$$\text{Ολική οξύτητα (mg/L ως οξικό οξύ)} = 120 \times n_1$$

Σταθερή Οξύτητα

Σε κάψα πορσελάνης μεταφέρονται με σιφώνιο 25 mL δείγματος τσίπουρου. Ακολουθεί μεταφορά σε ζέον υδατόλουτρο και το δείγμα αφήνεται προς εξάτμιση στην επιφάνεια του υδατόλουτρο (για περίπου 45 min). Μόλις ολοκληρωθεί η εξάτμιση, το υπόλειμμα μεταφέρεται σε ξηραντήρα για ψύξη. Ακολούθως, το υπόλειμμα μεταφέρεται ποσοτικά με απιονισμένο νερό (που προηγουμένως έχει βράσει και έχει ψυχθεί) σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL. Το δείγμα μεταφέρεται σε κωνική φιάλη των 250 mL, προστίθενται 2-6 σταγόνες από το διάλυμα των δεικτών και ακολουθεί ογκομέτρηση με διάλυμα NaOH 0,05 M μέχρι το κίτρινο-πράσινο χρώμα του διαλύματος να μετατραπεί σε βιολετί (στην περίπτωση των άχρωμων αποσταγμάτων). Καταγράφεται ο όγκος n_2 του διαλύματος NaOH 0,05 M που καταναλώθηκε. Η σταθερή οξύτητα εκφράζεται σε mg οξικού οξέος/L δείγματος ως εξής (129):

$$\text{Σταθερή οξύτητα (mg/L ως οξικό οξύ)} = 120 \times n_2 \times 25/V = 120 \times n_2$$

όπου V : ο όγκος του δείγματος τσίπουρου που χρησιμοποιήθηκε (εδώ 25 mL)

Πτητική Οξύτητα

Η πτητική οξύτητα προκύπτει από την αφαίρεση της σταθερής οξύτητας από την ολική οξύτητα ως εξής (129):

$$\text{Πτητική οξύτητα (mg/L ως οξικό οξύ)} = \text{Ολική οξύτητα (mg/L ως οξικό οξύ)} - \text{Σταθερή οξύτητα (mg/L ως οξικό οξύ)}$$

Μέθοδος Folin

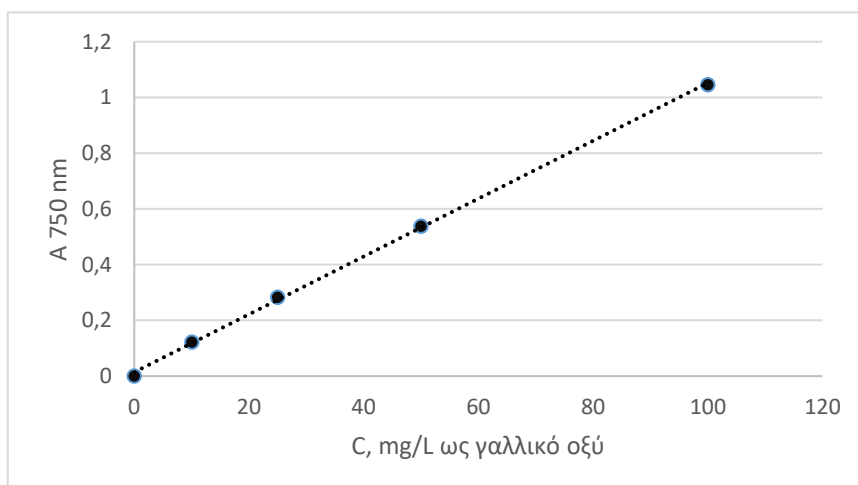
Σε σωλήνα Eppendorf των 1,5 mL, εισάγονται 700 μ L απιονισμένου, νερού, 100 μ L δείγματος τσίπουρου και 50 μ L αντιδραστηρίου Folin–Ciocalteu. Ακολουθεί ανάδευση (vortex). Μετά από 1 min ακριβώς, προστίθενται 150 μ L διαλύματος Na_2CO_3 20% και ακολουθεί ανάδευση (vortex) (Συνολικός όγκος μείγματος: 1 mL). Παράλληλα, ετοιμάζεται και τυφλό διάλυμα το οποίο περιέχει 100 μ L αιθανόλης 40 % v/v (ή αιθανόλη 30 % v/v αντίστοιχα) αντί του δείγματος. Τα μείγματα αφήνονται στο σκοτάδι (ντουλάπι) για 60 min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και μετά το πέρας των 60 min, μετράται η απορρόφηση στα 750 nm με γυάλινη κυψελίδα του 1 cm. Ο μηδενισμός του φωτομέτρου πραγματοποιείται με το τυφλό διάλυμα (147,148).

Για την ποσοτικοποίηση των ολικών φαινολικών σε mg/L ως γαλλικό οξύ, κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη με διάλυμα γαλλικού οξέος (0, 10, 25, 50, 100 mg/L σε αιθανόλη 40% v/v, νερό ή αιθανόλη 30% v/v, αντίστοιχα). Η αντιοξειδωτική

δράση του δείγματος εκφράζεται σε mg/L ως γαλλικό οξύ με βάση την αντίστοιχη εξίσωση που προκύπτει. Οι εξισώσεις που προέκυψαν είναι οι εξής:

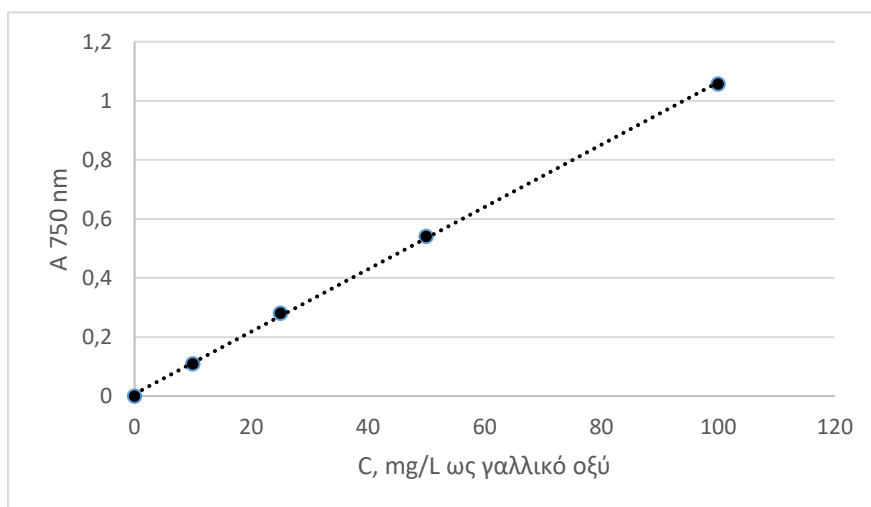
$$C = (A - 0,0141) / 0,0104, R^2 = 0,9995 \text{ (αιθανόλη 40 \% v/v)}$$

$$C = (A - 0,0073) / 0,0105, R^2 = 0,9997 \text{ (αιθανόλη 30 \% v/v)}$$



Εικόνα 26. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος σε αιθανόλη 40 % v/v - Μέθοδος Folin.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι ($n = 3$).



Εικόνα 27. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος σε αιθανόλη 30 % v/v - Μέθοδος Folin.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι ($n = 3$).

Δέσμευση της ρίζας DPPH

Σε γυάλινη κυψελίδα του 1 cm μεταφέρονται 0,5 mL διαλύματος DPPH σε MeOH και 0,8 mL δείγματος τσίπουρου. Παρακολουθείται η κινητική της αντίδρασης στα 515 nm για 20 min. Η μέτρηση αρχίζει τη στιγμή της προσθήκης ($t=0$) του δείγματος. Ο μηδενισμός του φωτομέτρου πραγματοποιείται με διάλυμα 0,5 mL μεθανόλης και 0,8 mL αιθανόλης 40 % v/v (ή 30 % v/v, αντίστοιχα). Για το τυφλό του δείγματος (Control), αντί του δείγματος τσίπουρου, προστίθενται 0,8 mL αιθανόλης 40 % v/v

(ή 30 % v/v) σε 0,5 mL μεθανολικού διαλύματος DPPH. Η % αναστολή της ρίζας DPPH υπολογίζεται ως εξής (149,150):

$$\% \text{ αναστολή} = [(A_c - A_d) / A_c] \times 100$$

όπου A_c = η απορρόφηση του control σε χρόνο t και A_d = η απορρόφηση του δείγματος σε χρόνο t . Η % αρχική ταχύτητα δέσμευσης της ρίζας DPPH υπολογίστηκε μέσω των τιμών απορρόφησης στο 1 λεπτό, ενώ για τον υπολογισμό της % ολικής δέσμευσης χρησιμοποιήθηκαν οι τιμές στα 18 λεπτά της αντίδρασης.

Μέθοδος FRAP

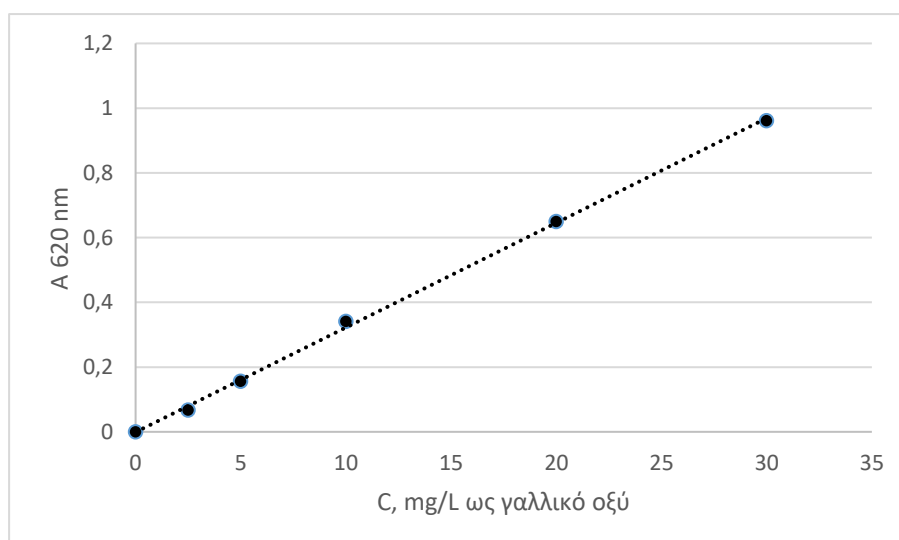
Δείγμα 50 μL τσίπουρου και 50 μL FeCl_3 (3 mM σε 0,05 M HCl) αναμειγνύονται καλά σε σωλήνα Eppendorf του 1,5 mL και ακολουθεί παραμονή για 30 min σε υδατόλουτρο στους 37 °C. Έπειτα, στο μείγμα προστίθενται 900 μL διαλύματος 1 mM TPTZ σε 0,05 M HCl και ακολουθεί ανάδευση σε vortex. Μετά από ακριβώς 10 min μετράται η απορρόφηση στα 620 nm.

Για την μέτρηση της απορρόφησης κάθε δείγματος, το όργανο μηδενίζεται με το αντίστοιχο τυφλό. Το τυφλό ετοιμάζεται για κάθε δείγμα με τον ίδιο τρόπο, όμως προστίθεται διάλυμα 0,05 M HCl αντί του διαλύματος τριχλωριούχου σιδήρου. Από τις τιμές που λαμβάνουμε, καθώς και στις πρότυπες καμπύλες, αφαιρείται η τιμή που λαμβάνεται όταν ως δείγμα χρησιμοποιείται αιθανόλη 40 % v/v (ή αιθανόλη 30 % v/v, αντίστοιχα) (μάρτυρας) (148).

Τα αποτελέσματα εξάγονται μέσω κατασκευής πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος (0, 2,5, 5, 10, 20 και 30 mg/L, σε αιθανόλη 40 % v/v ή 30 % v/v αντίστοιχα) και εκφράζονται σε mg/L ως γαλλικό οξύ. Οι εξισώσεις που προέκυψαν είναι οι εξής:

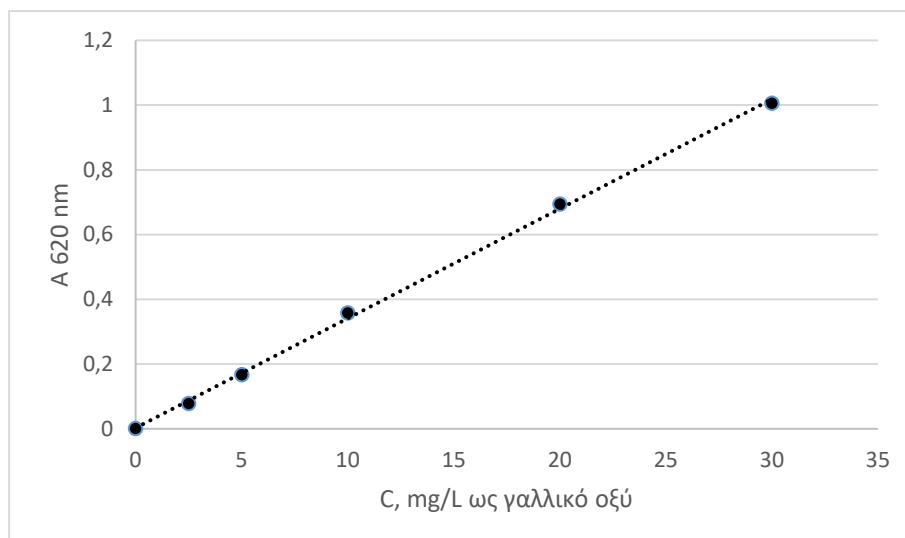
$$C = (A + 0,0010) / 0,0323, R^2 = 0,9991 \text{ (αιθανόλη 40 \% v/v)}$$

$$C = (A - 0,0026) / 0,0338, R^2 = 0,9990 \text{ (αιθανόλη 30 \% v/v)}$$



Εικόνα 28. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος σε αιθανόλη 40 % v/v - Μέθοδος FRAP.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι ($n = 3$).



Εικόνα 29. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος σε αιθανόλη 30 % v/v - Μέθοδος FRAP.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι ($n = 3$).

Λήψη φάσματος UV-Vis

Σε κυψελίδα χαλαζία οπτικής διαδρομής 1 cm και με αυτόματη πιπέττα εισάγεται ποσότητα δείγματος ίση με 1 mL και γίνεται παραλαβή του φάσματος στις περιοχές υπεριώδους και ορατού. Ο μηδενισμός του οργάνου πραγματοποιείται με αιθανόλη 40 % vol ή 30 % vol αντίστοιχα.

Οργανοληπτικός έλεγχος

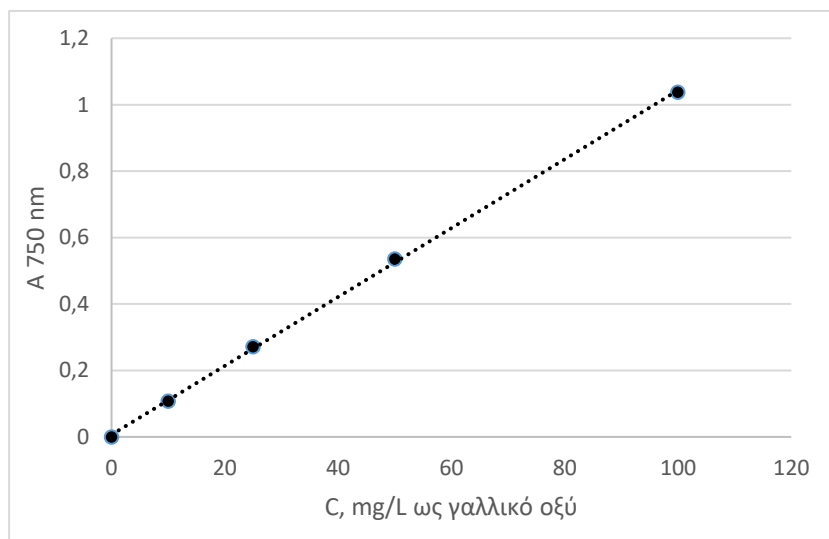
Η οργανοληπτική αξιολόγηση έλαβε χώρα από δύο δοκιμαστές ως εξής:

Σε καλά αεριζόμενο χώρο, σε διάφανο ποτήρι μεταφέρθηκαν 10 mL δείγματος τσίπουρου (TN, TP1, TP2) και αξιολογήθηκαν όσον αφορά το άρωμα και τη γεύση από δύο δοκιμαστές, στους χρόνους 0, 30 και 60 ημέρες.

B.3.4. Αναλύσεις ροδόνηρου

Για τις αναλύσεις του ροδόνηρου εφαρμόστηκαν όλες οι παραπάνω μέθοδοι της ενότητας B.3.3., με τη διαφοροποίηση ότι χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο νερό, αντί για αιθανόλη 40 % vol ή 30 % vol, όπου χρησιμοποιήθηκαν αντίστοιχα για τις αναλύσεις του τσίπουρου και των προϊόντων του. Έτσι, κατασκευάστηκαν πρότυπες καμπύλες γαλλικού οξέος σε νερό για τις μεθόδους Folin και FRAP, ωστόσο χωρίς διαφοροποιήσεις στην πειραματική πορεία. Οι εξισώσεις που προέκυψαν είναι οι εξής:

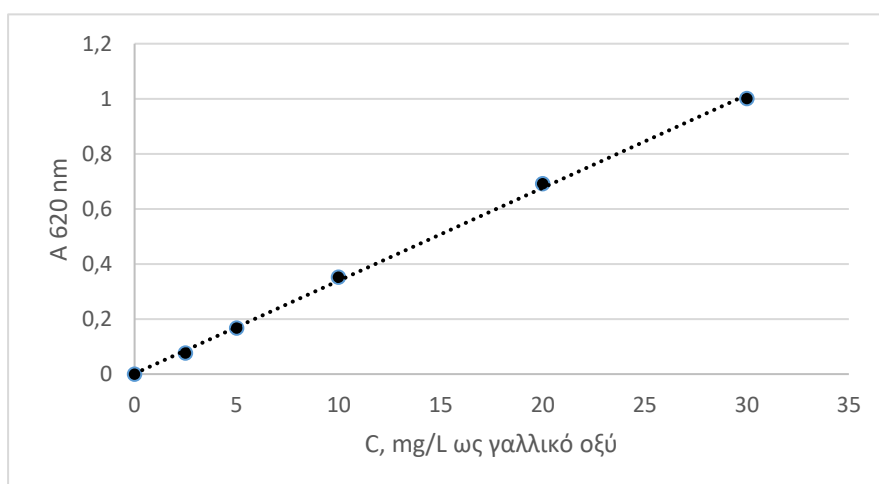
$$C = (A - 0,0067) / 0,0104, R^2 = 0,9997 \text{ (Μέθοδος Folin)}$$



Εικόνα 30. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος σε απιονισμένο νερό - Μέθοδος Folin.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι ($n = 3$).

$$C = (A - 0,0018) / 0,0337, R^2 = 0,9991 \text{ (Μέθοδος FRAP)}$$



Εικόνα 31. Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος σε απιονισμένο νερό - Μέθοδος FRAP.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι ($n = 3$).

B.4. Επεξεργασία αποτελεσμάτων

Όλα τα πειράματα έγιναν εις τριπλούν. Οι τιμές που αναφέρονται είναι οι μέσοι όροι των τριών πειραματικών διαδικασιών με την τυπική απόκλιση. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν στατιστικά με τη βοήθεια του προγράμματος SPSS Statistics version 28.0.1.0 [142] της εταιρίας IBM. Οι διαφορές μεταξύ των μέσων όρων τριών ομάδων δειγμάτων εξετάστηκαν με τη μέθοδο ANOVA με τη βοήθεια του τεστ Duncan σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$, ενώ μεταξύ δύο ομάδων δειγμάτων με τη μέθοδο Paired-Test. Οι εκθέτες a,b,c εκφράζουν τις πιθανές στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν σημαντικά στατιστικά μεταξύ τους.

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

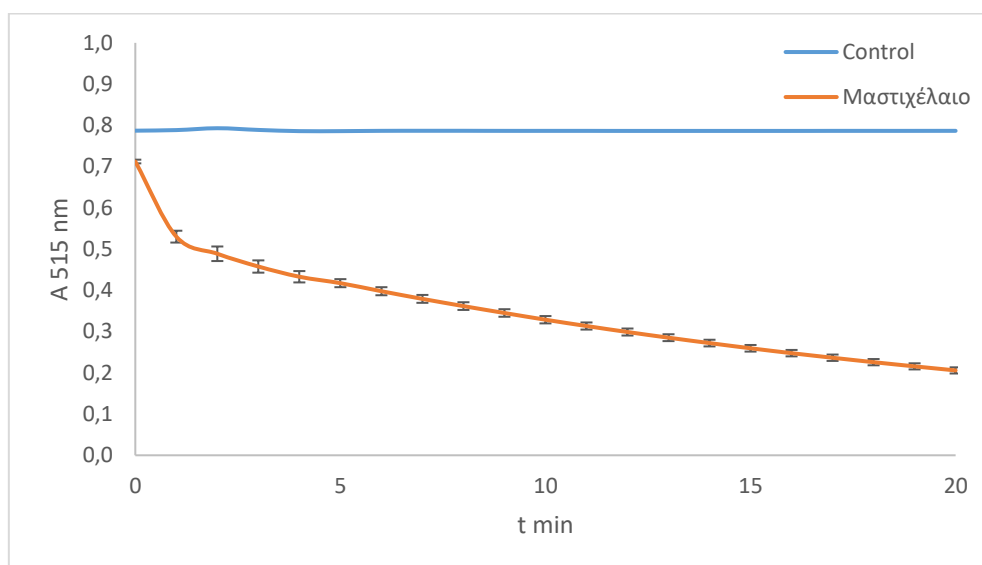
Γ.1. Εμπλουτισμένο ελαιόλαδο

Γ.1.1. Αντιοξειδωτική δράση μαστιχέλαιου Χίου

Πίνακας 6. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης μαστιχέλαιου με τη μέθοδο Folin.

Μαστιχέλαιο	
Μέθοδος Folin (mg γαλλικού οξέος /L ελαίου)	388,3 ± 4,9

Το αποτέλεσμα που παρουσιάζεται στον πίνακα είναι ο μέσος όρος ± τυπική απόκλιση (n = 3).



Εικόνα 32. Απορρόφηση ρίζας DPPH σε σχέση με τον χρόνο δείγματος μαστιχέλαιου.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3).

Πίνακας 7. Προσδιορισμός % δέσμευσης ρίζας DPPH μαστιχέλαιου.

Δέσμευση ρίζας DPPH	Μαστιχέλαιο (αραίωση 1/5)
% Αρχική ταχύτητα δέσμευσης (1 min)	32,8 ± 1,8
% Ολική δέσμευση (18 min)	71,3 ± 1,0

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3).

Γ.1.2. Ποιοτικά χαρακτηριστικά ελαιολάδου

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ελαιολάδου που χρησιμοποιήθηκε στον πείραμα ήταν τα ακόλουθα:

Πίνακας 8. Βασική σύσταση και χαρακτηριστικά ποιότητας ελαιολάδου.

Οξύτητα (% w/w ελαϊκό οξύ)	0,36 ± 0,03
Αριθμός υπεροξειδίων (meq O ₂ /Kg ελαιολάδου)	11,2 ± 0,2
K ₂₃₂	1,637 ± 0,012
K ₂₇₂	0,154 ± 0,003
ΔK	-0,007 ± 0,001
Πυκνότητα (g/mL, 20 °C)	0,911 ± 0,001
Αριθμός σαπωνοποίησης	211 ± 3
Αριθμός ιωδίου	89 ± 1
Δείκτης πικρότητας	4,215 ± 0,027

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3).

Σύμφωνα με τα κριτήρια ποιότητας που έχουν θεσπιστεί από τον ΕΟΚ (αριθ. 2568/91, τροποποίηση 2019), το ελαιόλαδο πληροί τις προϋποθέσεις (οξύτητα ≤0,8, αριθμός υπεροξειδίων ≤20, K₂₃₂ ≤2,5, K₂₇₀ ≤0,22, ΔK ≤0,01) και ανήκει στην κατηγορία «εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο».

Γ.1.3. Ποιοτικά χαρακτηριστικά ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων

Πίνακας 9. Επίδραση του μαστιχέλαιου Χίου και του κρόκου Κοζάνης στις χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων.

Χλωροφύλλες (mg/Kg)			
Χρόνος εκχύλισης	M	MK1	MK1
t ₀	9,47 ^B ± 0,02		
t ₁	9,40 ^{aAB} ± 0,08	9,86 ^{bA} ± 0,11	10,22 ^{cA} ± 0,09
t ₂	9,35 ^{aA} ± 0,03	10,06 ^{bA} ± 0,06	10,53 ^{cB} ± 0,05
Καροτενοειδή (mg/Kg)			
Χρόνος εκχύλισης	M	MK1	MK2
t ₀	7,31 ^A ± 0,03		
t ₁	7,42 ^{aB} ± 0,02	7,71 ^{bA} ± 0,10	7,91 ^{cA} ± 0,07
t ₂	7,40 ^{aB} ± 0,01	8,01 ^{bB} ± 0,03	8,22 ^{cB} ± 0,01

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Βάσει του πίνακα συμπεραίνεται ότι η προσθήκη μαστιχέλαιου Χίου και κρόκου Κοζάνης αυξάνει την περιεκτικότητα τόσο σε χλωροφύλλες όσο και σε

καροτενοειδή. Η αύξηση αυτή είναι ανάλογη της ποσότητας του κρόκου Κοζάνης που προστέθηκε στο ελαιόλαδο προς εκχύλιση, καθώς επίσης και του χρόνου εκχύλισης, όπου παρουσιάζονται και σημαντικές στατιστικές διαφορές. Αξίζει να σημειωθεί ότι η αύξηση της απορρόφησης στα 670 nm στα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα δεν οφείλεται στην αύξηση του περιεχομένου σε χλωροφύλλες, αλλά σε άλλα λιπόφιλα συστατικά του κρόκου Κοζάνης που εμφανίζουν απορρόφηση σε αυτό το μήκος κύματος, καθόσον ο κρόκος Κοζάνης δεν περιέχει χλωροφύλλες.

Πίνακας 10. Επίδραση του μαστιχέλαιου Χίου και του κρόκου Κοζάνης στην οξύτητα ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων.

Οξύτητα (% w/w ελαϊκό οξύ)			
Χρόνος εκχύλισης	M	MK1	MK2
t ₀	0,36 ^A ± 0,03		
t ₁	0,45 ^{bb} ± 0,00	0,39 ^{aa} ± 0,01	0,39 ^{aa} ± 0,01
t ₂	0,45 ^{bb} ± 0,00	0,41 ^{aa} ± 0,03	0,39 ^{aa} ± 0,00

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Δεδομένου ότι η οξύτητα του ελαιολάδου σε χρόνο t₀ ήταν 0,36% ως ελαϊκό οξύ, παρατηρείται ότι η οξύτητα τόσο του μάρτυρα όσο και των εμπλουτισμένων δειγμάτων αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου και διατήρησης. Η αύξηση της οξύτητας είναι μέγιστη στον μάρτυρα, μικρότερη στο δείγμα MK1 και ακόμη μικρότερη στο MK2. Μεταξύ του μάρτυρα και των εμπλουτισμένων δειγμάτων, παρατηρείται σημαντική στατιστική διαφορά, τόσο σε χρόνο t₁ όσο και t₂.

Πίνακας 11. Επίδραση του μαστιχέλαιου Χίου και του κρόκου Κοζάνης στον αριθμό υπεροξειδίων και στην απορρόφηση στο υπεριώδες ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων.

Αριθμός Υπεροξειδίων (meq O ₂ / Kg ελαιολάδου)			
Χρόνος εκχύλισης	M	MK1	MK2
t ₀	11,2 ^A ± 0,2		
t ₁	11,8 ^{aAB} ± 0,4	11,6 ^{aA} ± 0,2	11,5 ^{aA} ± 0,2
t ₂	12,4 ^{bb} ± 0,6	12,0 ^{abA} ± 0,2	11,5 ^{aA} ± 0,3
A _{234 nm}			
Χρόνος εκχύλισης	M	MK1	MK2
t ₀	0,100 ^A ± 0,002		
t ₁	0,103 ^{aAB} ± 0,004	0,099 ^{aA} ± 0,004	0,097 ^{aA} ± 0,005
t ₂	0,108 ^{bb} ± 0,002	0,102 ^{aA} ± 0,002	0,099 ^{aA} ± 0,001
A _{270 nm}			

Χρόνος εκχύλισης	M	MK1	MK2
t ₀	0,008 ^A ± 0,001		
t ₁	0,008 ^{aA} ± 0,001	0,008 ^{aA} ± 0,000	0,008 ^{aA} ± 0,001
t ₂	0,009 ^{bA} ± 0,001	0,008 ^{aA} ± 0,001	0,008 ^{aA} ± 0,000

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Με την πάροδο του χρόνου, ο αριθμός υπεροξειδίων του μάρτυρα και των αυξάνεται. Η μέγιστη αύξηση παρατηρείται στον μάρτυρα, η αύξηση στο MK1 δεν είναι σημαντική, ενώ ο αριθμός υπεροξειδίων παραμένει αμετάβλητος στο δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση του κρόκου Κοζάνης, το οποίο μάλιστα εμφανίζει σημαντική στατιστική διαφορά με τα άλλα δύο δείγματα στο χρόνο t₂. Συνεπώς, η προσθήκη μαστιχέλαιου Χίου και κρόκου Κοζάνης φαίνεται να αναστέλλει την οξείδωση σε κάποιο βαθμό.

Βάσει του πίνακα εξάγεται το συμπέρασμα ότι η προσθήκη μαστιχέλαιου Χίου και κρόκου Κοζάνης αναστέλλει την πρωτογενή και δευτερογενή οξείδωση των δειγμάτων σε χρόνο t₂. Η αναστολή είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των προστιθέμενων και η επίδραση αυξάνεται όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος εκχύλισης. Στον χρόνο t₂, τόσο η πρωτογενής όσο κι η δευτερογενής οξείδωση των εμπλουτισμένων δειγμάτων εμφανίζουν σημαντική στατιστική διαφορά σε σχέση με τον μάρτυρα.

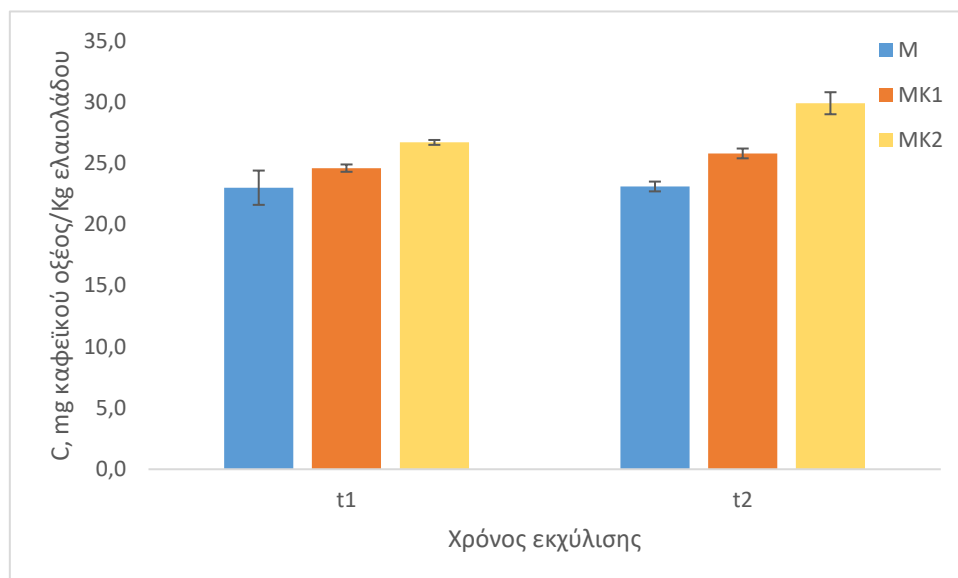
Πίνακας 12. Επίδραση του μαστιχέλαιου Χίου και του κρόκου Κοζάνης στο περιεχόμενο ο-διφαινολών πολικού εκχυλίσματος ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων.

ο-Διφαινόλες (mg καφεϊκού οξέος/Kg ελαιολάδου)			
Χρόνος εκχύλισης	M	MK1	MK2
t ₁	23,0 ^{aA} ± 1,4	24,6 ^{aA} ± 0,3	26,7 ^{bA} ± 0,2
t ₂	23,1 ^{aA} ± 0,4	25,8 ^{bA} ± 0,4	29,9 ^{cB} ± 0,9

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

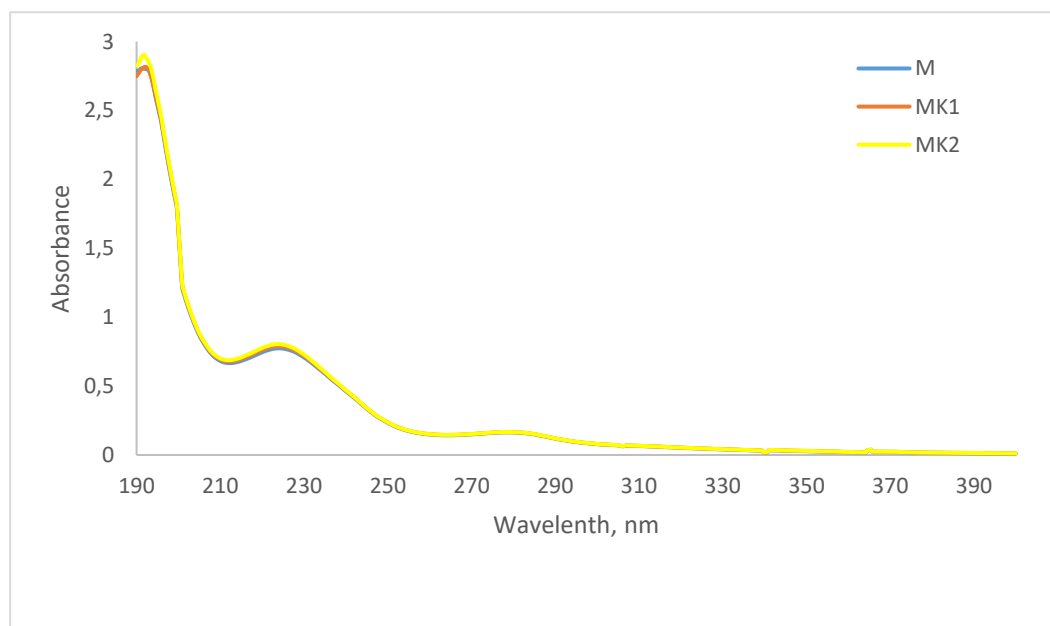
Η προσθήκη μαστιχέλαιου Χίου και κρόκου Κοζάνης φαίνεται να αυξάνει το περιεχόμενο σε ο-διφαινόλες στο δείγμα MK2, συγκριτικά με τον μάρτυρα και το MK1 σε χρόνο t₁. Σε χρόνο t₂, η αύξηση αυτή είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των πρόσθετων. Η συγκέντρωση των ο-διφαινολών στον μάρτυρα και στο δείγμα με τη

χαμηλότερη συγκέντρωση κρόκου δεν παρουσιάζει σημαντική στατιστική διαφορά. Το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση κρόκου Κοζάνης παρουσιάζει σημαντική στατιστική διαφορά, τόσο μεταξύ των δύο χρόνων όσο και με τα άλλα δύο δείγματα.



Εικόνα 33. Περιεχόμενο σε ο-διφαινόλες, εκφρασμένο σε mg καφεϊκού οξέος/Kg ελαιολάδου, μετά από χρόνους t_1 και t_2 .

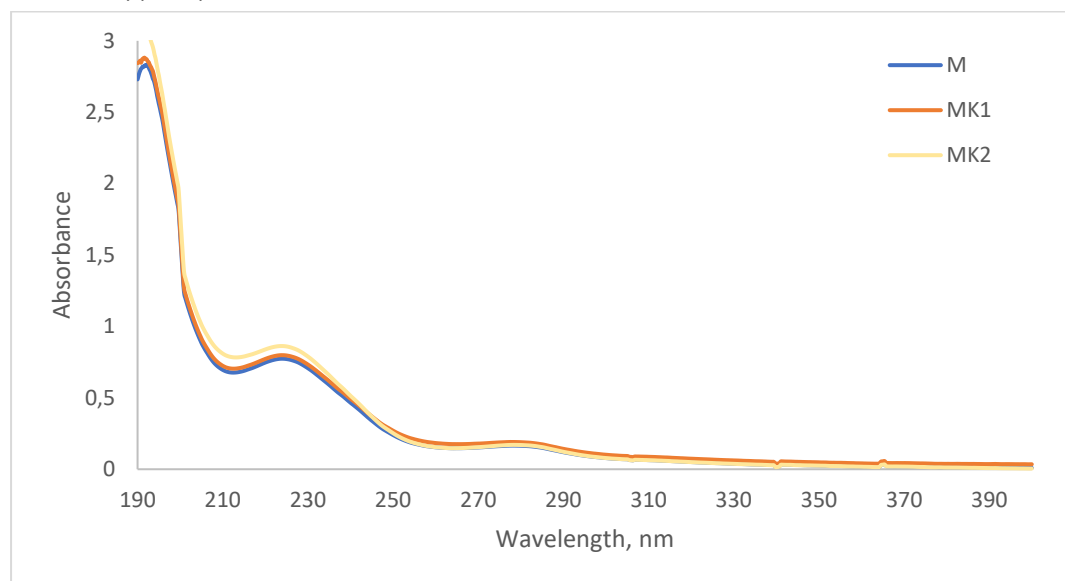
M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).



Εικόνα 34. Φάσμα απορρόφησης στο υπεριώδες (UV) πολικών εκχυλισμάτων ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων μετά από χρόνο t_1 .

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2.

Κοζάνης Κ2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).



Εικόνα 35. Φάσμα απορρόφησης στο υπεριώδες (UV) πολικών εκχυλισμάτων ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων μετά από χρόνο t_2 .

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης Κ1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης Κ2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).

Πίνακας 13. Κορυφές απορρόφησης στο υπεριώδες (UV) στους χρόνους εκχύλισης t_1 και t_2 .

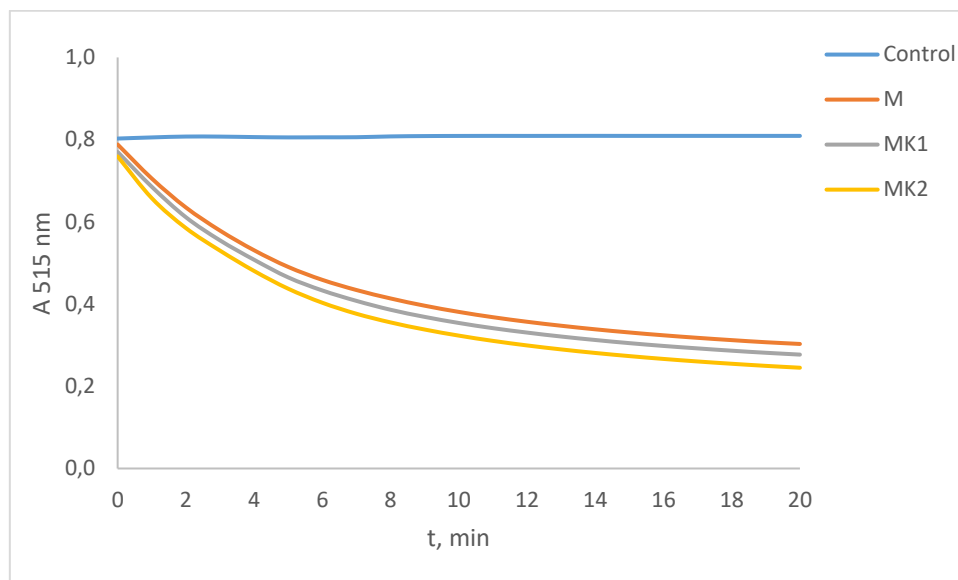
Χρόνος εκχύλισης	A_{225nm}		
	M	MK1	MK2
t_1	$0,772^{aA} \pm 0,022$	$0,787^{aA} \pm 0,028$	$0,801^{aA} \pm 0,013$
t_2	$0,772^{aA} \pm 0,002$	$0,797^{aA} \pm 0,010$	$0,860^{bA} \pm 0,021$

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης Κ1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης Κ2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$).

Στο ελαιόλαδο και στα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα παρατηρούνται κορυφές στα 225 nm. Επίσης, υπάρχουν κορυφές στα 280 nm που αποτελούν περιοχή απορρόφησης φαινολικού δακτυλίου (153).

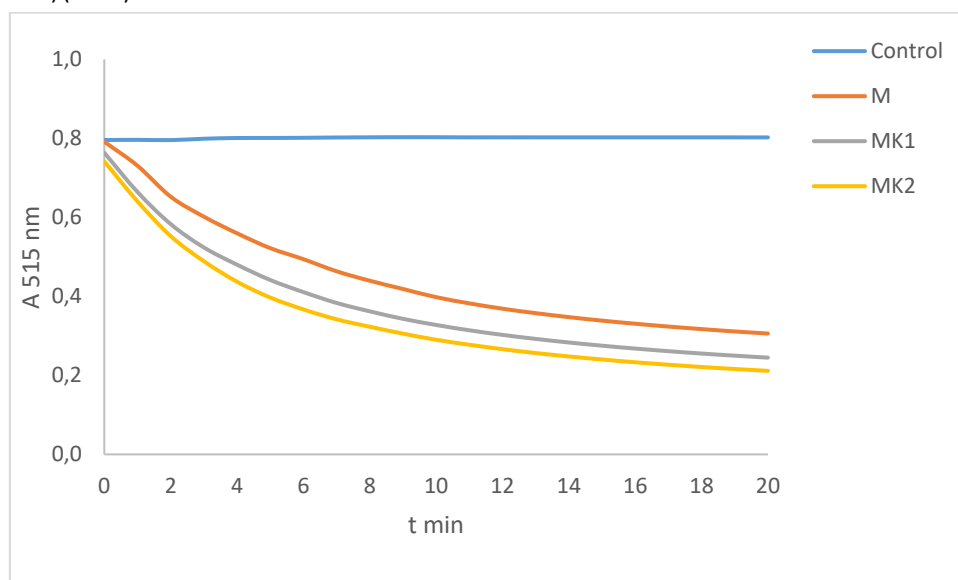
Γ.1.4. Αντιοξειδωτική δράση και Σταθερότητα στην οξείδωση σε θερμική κατεργασία ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων

Γ.1.4.1. Αντιοξειδωτική δράση ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων



Εικόνα 36. Απορρόφηση ρίζας DPPH σε σχέση με τον χρόνο σε χρόνο t_1 .

M: μάρτυρας, MK1: ελαιολάδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιολάδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).



Εικόνα 37. Απορρόφηση ρίζας DPPH σε σχέση με τον χρόνο σε χρόνο t_2 .

M: μάρτυρας, MK1: ελαιολάδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιολάδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).

Πίνακας 14. Επίδραση του μαστιχέλαιου Χίου και του κρόκου Κοζάνης στη % δέσμευση ρίζας DPPH ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων.

% Αρχική ταχύτητα δέσμευσης ρίζας DPPH (1 min)			
Χρόνος εκχύλισης	M	MK1	MK2
t₁	12,4 ^{aB} ± 0,2	14,9 ^{bA} ± 1,0	18,3 ^{cA} ± 1,4
t₂	8,2 ^{aA} ± 1,2	16,6 ^{bA} ± 1,2	19,6 ^{cA} ± 0,1
% Ολική δέσμευση ρίζας DPPH (18 min)			
Χρόνος εκχύλισης	M	MK1	MK2
t₁	61,4 ^{aA} ± 1,0	64,6 ^{bA} ± 1,3	68,5 ^{cA} ± 1,4
t₂	60,5 ^{aA} ± 1,8	68,2 ^{bB} ± 1,0	72,4 ^{cB} ± 0,2

M: μάρτυρας, MK1: ελαιολάδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιολάδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Η δέσμευση της ελεύθερης ρίζας DPPH είναι αυξημένη, σε σχέση με τον μάρτυρα, στα δείγματα που περιέχουν τα πρόσθετα, εμφανίζοντας σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ τους τόσο σε χρόνο t₁ όσο και t₂. Το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση κρόκου Κοζάνης παρουσιάζει το μεγαλύτερο ποσοστό αρχικής και ολικής δέσμευσης. Αναφορικά με τον χρόνο, το % ποσοστό δέσμευσης ρίζας DPPH του μάρτυρα μειώνεται όσο αυξάνεται ο χρόνος, εμφανίζοντας σημαντική στατιστική διαφορά στην αρχική ταχύτητα. Εν αντιθέσει, στα εμπλουτισμένα δείγματα η ικανότητα δέσμευσης της ρίζας DPPH αυξάνεται με την αύξηση του χρόνου εκχύλισης, παρουσιάζοντας σημαντικές στατιστικές διαφορές στην ολική δέσμευση σε χρόνο t₂.

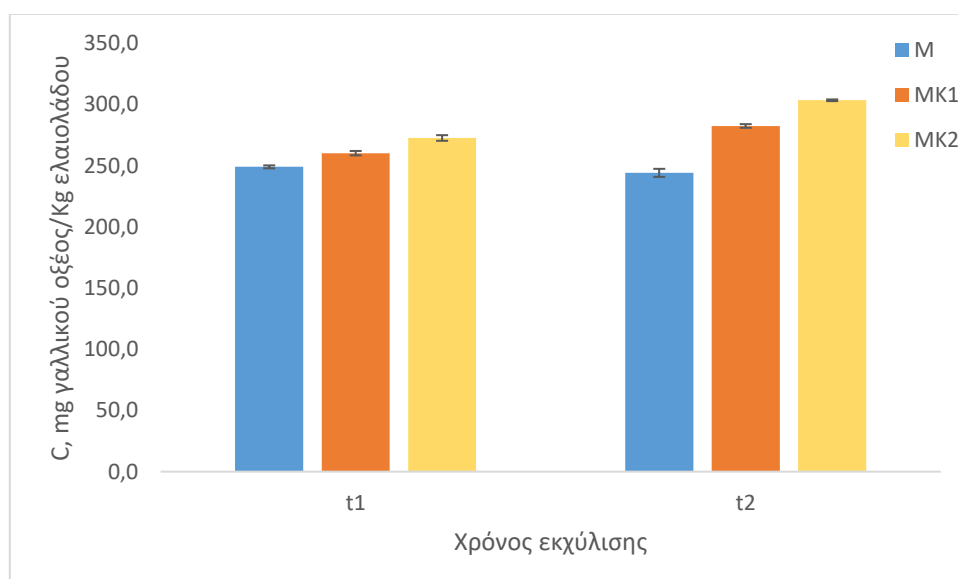
Γ.1.4.2. Αντιοξειδωτική δράση πολικών εκχυλισμάτων ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων

Πίνακας 15. Επίδραση του μαστιχέλαιου Χίου και του κρόκου Κοζάνης στην αντιοξειδωτική δράση ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων, με τη μέθοδο Folin.

Μέθοδος Folin (mg γαλλικού οξέος/Kg ελαιολάδου)			
Χρόνος εκχύλισης	M	MK1	MK2
t₁	249,0 ^{aA} ± 1,2	260,2 ^{bA} ± 1,8	272,6 ^{cA} ± 2,3
t₂	244,1 ^{aA} ± 3,3	282,4 ^{bB} ± 1,5	303,4 ^{cB} ± 0,7

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$).

Η προσθήκη μαστιχέλαιου Χίου και κρόκου Κοζάνης αυξάνει το περιεχόμενο σε ολικά φαινολικά, με τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα δείγματα να εμφανίζουν σημαντική στατιστική διαφορά σε χρόνο t_1 αλλά και t_2 . Η αύξηση των φαινολικών στα δείγματα είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των προσθέτων. Συγκρίνοντας τους χρόνους t_1 και t_2 , το επίπεδο των φαινολικών μειώνεται στον μάρτυρα, σε αντίθεση με τα εμπλουτισμένα δείγματα όπου αυξάνεται σημαντικά, εμφανίζοντας στατιστική διαφορά μεταξύ των δύο χρόνων σε αμφότερα τα δείγματα.



Εικόνα 38. Αντιοξειδωτική δράση, εκφρασμένη σε mg γαλλικού οξέος/Kg ελαιολάδου, με τη μέθοδο Folin, μετά από χρόνους t_1 και t_2 .

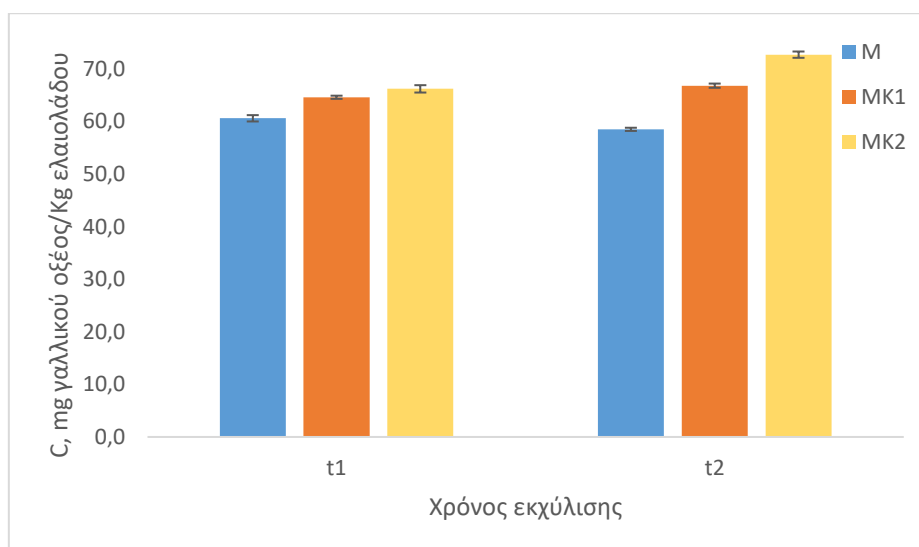
M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).

Πίνακας 16. Επίδραση του μαστιχέλαιου Χίου και του κρόκου Κοζάνης στην αναγωγική ισχύ ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων, με τη μέθοδο FRAP.

Αναγωγική ισχύς - Μέθοδος FRAP (mg γαλλικού οξέος/Kg ελαιολάδου)			
Χρόνος εκχύλισης	M	MK1	MK2
t_1	60,6 ^{aB} $\pm$ 0,6	64,6 ^{bA} $\pm$ 0,3	66,2 ^{cA} $\pm$ 0,7
t_2	58,5 ^{aA} $\pm$ 0,3	66,8 ^{bB} $\pm$ 0,4	72,7 ^{cB} $\pm$ 0,6

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$).

Η αναγωγική ισχύς των εμπλουτισμένων δειγμάτων αυξάνεται συγκριτικά με του μάρτυρα, τόσο σε χρόνο t_1 όσο και t_2 . Μεταξύ του μάρτυρα και των δειγμάτων εμφανίζεται σημαντική στατιστική διαφορά και η αύξηση είναι ανάλογη της ποσότητας των προστιθέμενων φυτικών προϊόντων. Με σύγκριση των χρόνων, διαπιστώνεται ότι η αναγωγική ισχύς του μάρτυρα μειώνεται με το χρόνο. Εν αντιθέσει, στα εμπλουτισμένα δείγματα, όσο αυξάνεται ο χρόνος αυξάνεται και η αναγωγική δράση, εμφανίζοντας σημαντική στατιστική διαφορά.



Εικόνα 39. Αναγωγική ισχύς, εκφρασμένη σε mg γαλλικού οξέος/Kg ελαιολάδου, με τη μέθοδο FRAP, μετά από χρόνους t_1 και t_2 .

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).

Γ.1.4.3. Σταθερότητα στην οξείδωση σε θερμική κατεργασία ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων

Πίνακας 17. Επίδραση μαστιχέλαιου Χίου και κρόκου Κοζάνης στην πορεία οξείδωσης των δειγμάτων στους 120 °C μετά από χρόνο t_1 .

t (h)	A _{234nm}		
	M	MK1	MK2
0 (t_0)	0,106 ^{ba} $\pm$ 0,004	0,099 ^{abA} $\pm$ 0,007	0,094 ^{aA} $\pm$ 0,004

0,5	0,116 ^{bB} ± 0,003	0,109 ^{abB} ± 0,008	0,102 ^{aB} ± 0,004
1,0	0,129 ^{cC} ± 0,001	0,118 ^{bC} ± 0,007	0,108 ^{aB} ± 0,004
1,5	0,142 ^{cD} ± 0,002	0,130 ^{bD} ± 0,001	0,122 ^{aC} ± 0,002
2,0	0,165 ^{cE} ± 0,003	0,148 ^{bE} ± 0,001	0,142 ^{aD} ± 0,002
2,5	0,175 ^{cF} ± 0,003	0,160 ^{bF} ± 0,002	0,150 ^{aE} ± 0,006
3,0	0,188 ^{cG} ± 0,002	0,167 ^{bF} ± 0,003	0,161 ^{aE} ± 0,001
A_{270 nm}			
t (h)	M	MK1	MK2
0 (to)	0,010 ^{bA} ± 0,001	0,009 ^{aA} ± 0,001	0,009 ^{aA} ± 0,001
0,5	0,011 ^{aA} ± 0,001	0,010 ^{aAB} ± 0,000	0,010 ^{aB} ± 0,000
1,0	0,013 ^{bB} ± 0,001	0,012 ^{abBC} ± 0,001	0,011 ^{aBC} ± 0,001
1,5	0,014 ^{bB} ± 0,001	0,013 ^{abC} ± 0,001	0,012 ^{aCD} ± 0,001
2,0	0,016 ^{cC} ± 0,001	0,014 ^{bCD} ± 0,001	0,012 ^{aD} ± 0,001
2,5	0,018 ^{bD} ± 0,000	0,015 ^{aD} ± 0,001	0,014 ^{aDE} ± 0,001
3,0	0,024 ^{cE} ± 0,001	0,019 ^{bE} ± 0,003	0,016 ^{aF} ± 0,001

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Από τον παραπάνω πίνακα διαπιστώνεται ότι το ελαιόλαδο με το μαστιχέλαιο Χίου και τον κρόκο Κοζάνης στις δύο συγκεντρώσεις, παρουσίασε υψηλότερη αντοχή στην οξείδωση μετά από 3 ώρες στους 120 °C, εμφανίζοντας σημαντικές στατιστικές διαφορές σε σχεδόν κάθε χρόνο μέτρησης. Η επίδραση των προστιθέμενων είναι αντίστοιχη και στην πρωτογενή και δευτερογενή οξείδωση.

Πίνακας 18. Επίδραση μαστιχέλαιου Χίου και κρόκου Κοζάνης στην πορεία οξείδωσης των δειγμάτων στους 120 °C μετά από χρόνο t₂.

A_{234nm}			
t (h)	M	MK1	MK2
0 (to)	0,109 ^{cA} ± 0,001	0,103 ^{bA} ± 0,003	0,099 ^{aA} ± 0,001
0,5	0,144 ^{bB} ± 0,004	0,129 ^{aB} ± 0,001	0,125 ^{aB} ± 0,002
1,0	0,155 ^{cC} ± 0,001	0,147 ^{bC} ± 0,002	0,141 ^{aC} ± 0,002
1,5	0,174 ^{cD} ± 0,002	0,159 ^{bD} ± 0,004	0,149 ^{aD} ± 0,004
2,0	0,185 ^{cE} ± 0,000	0,165 ^{bE} ± 0,002	0,157 ^{aE} ± 0,002
2,5	0,192 ^{cF} ± 0,002	0,175 ^{bF} ± 0,003	0,165 ^{aF} ± 0,003
3,0	0,208 ^{cG} ± 0,003	0,191 ^{bG} ± 0,004	0,176 ^{aG} ± 0,004
A_{270nm}			
t (h)	M	MK1	MK2
0 (to)	0,011 ^{bA} ± 0,001	0,010 ^{aA} ± 0,001	0,009 ^{aA} ± 0,000
0,5	0,014 ^{cB} ± 0,001	0,012 ^{bB} ± 0,001	0,010 ^{aA} ± 0,001
1,0	0,014 ^{cB} ± 0,001	0,013 ^{bBC} ± 0,000	0,011 ^{aB} ± 0,001
1,5	0,016 ^{bC} ± 0,000	0,014 ^{aCD} ± 0,002	0,012 ^{aC} ± 0,001
2,0	0,018 ^{cD} ± 0,001	0,015 ^{bD} ± 0,001	0,013 ^{aC} ± 0,001

2,5	0,020 ^{CE} ± 0,000	0,017 ^{BE} ± 0,001	0,014 ^{AD} ± 0,001
3,0	0,023 ^{BF} ± 0,002	0,017 ^{AE} ± 0,001	0,015 ^{AD} ± 0,001

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Η υψηλή θερμοκρασία επιτάχυνε την πορεία οξείδωσης των δειγμάτων. Ωστόσο το μαστιχέλαιο Χίου και ο κρόκος Κοζάνης φαίνεται να δρουν προστατευτικά, περιορίζοντας την πρωτογενή και τη δευτερογενή οξείδωση στα εμπλουτισμένα δείγματα σε σχέση με τον μάρτυρα, εμφανίζοντας σημαντικές στατιστικές διαφορές. Η προστατευτική δράση είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των προστιθέμενων και του χρόνου εκχύλισης.

Πίνακας 19. Επίδραση μαστιχέλαιου Χίου και κρόκου Κοζάνης στην πορεία οξείδωσης των δειγμάτων στους 180 °C μετά από χρόνο t₁.

A_{234nm}			
t (h)	M	MK1	MK2
0 (t₀)	0,104 ^{aA} ± 0,007	0,097 ^{aA} ± 0,006	0,096 ^{aA} ± 0,005
0,5	0,154 ^{cB} ± 0,002	0,144 ^{bB} ± 0,001	0,137 ^{aB} ± 0,003
1,0	0,177 ^{cC} ± 0,002	0,164 ^{bC} ± 0,005	0,155 ^{aC} ± 0,002
1,5	0,189 ^{cD} ± 0,001	0,176 ^{bD} ± 0,002	0,165 ^{aD} ± 0,004
2,0	0,233 ^{cE} ± 0,013	0,201 ^{bE} ± 0,006	0,189 ^{aE} ± 0,002

A_{270nm}			
t (h)	M	MK1	MK2
0 (t₀)	0,010 ^{bA} ± 0,001	0,008 ^{aA} ± 0,001	0,008 ^{aA} ± 0,001
0,5	0,030 ^{cB} ± 0,002	0,021 ^{bB} ± 0,002	0,017 ^{aB} ± 0,001
1,0	0,060 ^{cC} ± 0,001	0,054 ^{bC} ± 0,002	0,047 ^{aC} ± 0,002
1,5	0,089 ^{cD} ± 0,002	0,078 ^{bD} ± 0,003	0,054 ^{aD} ± 0,001
2,0	0,101 ^{cE} ± 0,002	0,089 ^{bE} ± 0,001	0,073 ^{aE} ± 0,002

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Από τον πίνακα παρατηρείται ότι μετά από δύο ώρες στους 180°C, τα δείγματα ελαιόλαδου με το μαστιχέλαιο Χίου και τον κρόκο Κοζάνης παρουσίασαν τη μικρότερη πρωτογενή αλλά και δευτερογενή οξείδωση σε σχέση με το μάρτυρα. Η υψηλή συγκέντρωση προστιθέμενων οδήγησε σε μεγαλύτερη οξειδωτική σταθερότητα συγκριτικά με τη χαμηλή συγκέντρωση.

Πίνακας 20. Επίδραση μαστιχέλαιου Χίου και κρόκου Κοζάνης στην πορεία οξείδωσης των δειγμάτων στους 180 °C μετά από χρόνο t₂.

A _{234nm}			
t (h)	M	MK1	MK2
0 (t ₀)	0,109 ^{cA} ± 0,001	0,104 ^{bA} ± 0,001	0,100 ^{aA} ± 0,000
0,5	0,158 ^{cB} ± 0,002	0,149 ^{bB} ± 0,005	0,135 ^{aB} ± 0,005
1,0	0,179 ^{cC} ± 0,001	0,157 ^{bC} ± 0,002	0,151 ^{aC} ± 0,001
1,5	0,204 ^{cD} ± 0,006	0,172 ^{bD} ± 0,006	0,161 ^{aD} ± 0,004
2,0	0,239 ^{cE} ± 0,004	0,220 ^{bE} ± 0,003	0,192 ^{aE} ± 0,002

A _{270nm}			
t (h)	M	MK1	MK2
0 (t ₀)	0,011 ^{cA} ± 0,000	0,010 ^{bA} ± 0,000	0,009 ^{aA} ± 0,001
0,5	0,031 ^{cB} ± 0,001	0,022 ^{bB} ± 0,003	0,018 ^{aB} ± 0,002
1,0	0,063 ^{cC} ± 0,002	0,050 ^{bC} ± 0,005	0,032 ^{aC} ± 0,002
1,5	0,087 ^{cD} ± 0,004	0,056 ^{bD} ± 0,004	0,049 ^{aD} ± 0,001
2,0	0,105 ^{cE} ± 0,005	0,088 ^{bE} ± 0,002	0,064 ^{aE} ± 0,003

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Η θερμική κατεργασία των δειγμάτων στους 180 °C για διάστημα δύο ωρών έδειξε ότι τόσο η πρωτογενής όσο και η δευτερογενής οξείδωση του μάρτυρα προχωρά ταχύτατα, ενώ εκείνη των εμπλουτισμένων δειγμάτων αυξάνεται σε μικρότερο βαθμό. Σε κάθε χρόνο μέτρησης, ο μάρτυρας παρουσιάζει τη μεγαλύτερη οξείδωση, ακολουθεί το δείγμα με τη μικρότερη συγκέντρωση προσθέτων και τέλος, το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση. Τα τρία δείγματα εμφανίζουν σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους σε όλους τους χρόνους και στα δύο μήκη κύματος.

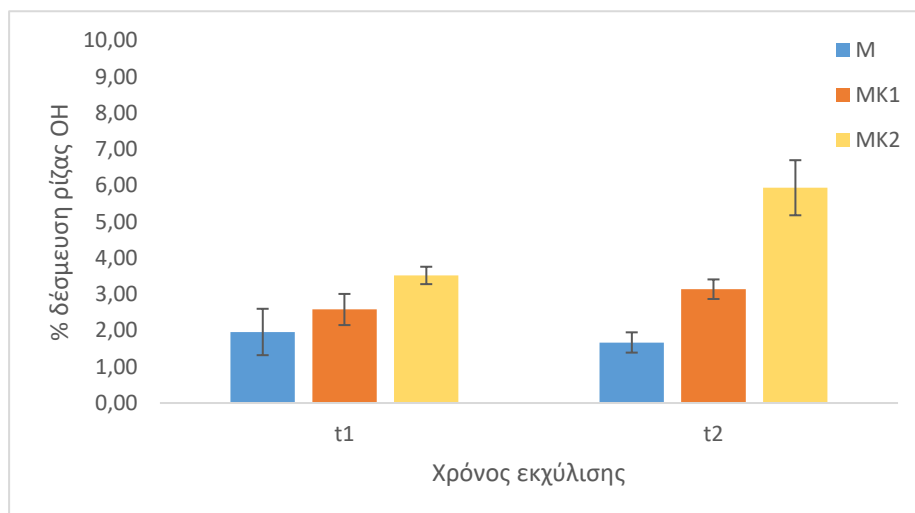
Γ.1.5. Βιοδράσεις πολικών εκχυλισμάτων ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων

Πίνακας 21. Επίδραση του μαστιχέλαιου Χίου και του κρόκου Κοζάνης στην % δέσμευση υδροξυλικής ρίζας.

% Δέσμευση Υδροξυλικής Ρίζας			
Χρόνος εκχύλισης	M	MK1	MK2
t ₁	2,0 ^{aA} ± 0,6	2,6 ^{aA} ± 0,4	3,5 ^{bA} ± 0,2
t ₂	1,7 ^{aA} ± 0,3	3,1 ^{bA} ± 0,8	5,9 ^{cB} ± 0,8

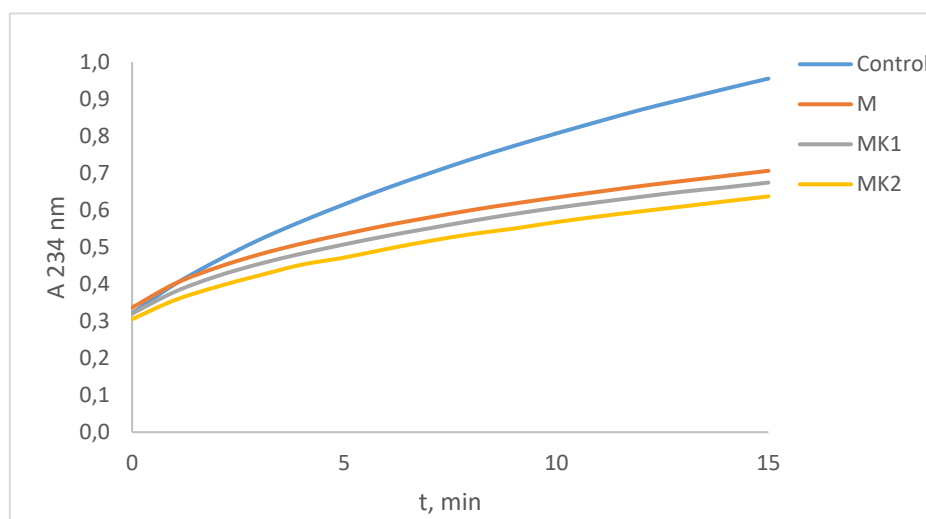
M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Η ικανότητα δέσμευσης ριζών υδροξυλίου αυξάνεται με την προσθήκη μαστιχέλαιου Χίου και κρόκου Κοζάνης, με τρόπο που εξαρτάται αφενός από την συγκέντρωση των προστιθέμενων και αφετέρου από τον χρόνο εκχύλισης. Το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση προστιθέμενων εμφανίζει το μεγαλύτερο ποσοστό δέσμευσης και στους δύο χρόνους, παρουσιάζοντας σημαντική στατιστική διαφορά.



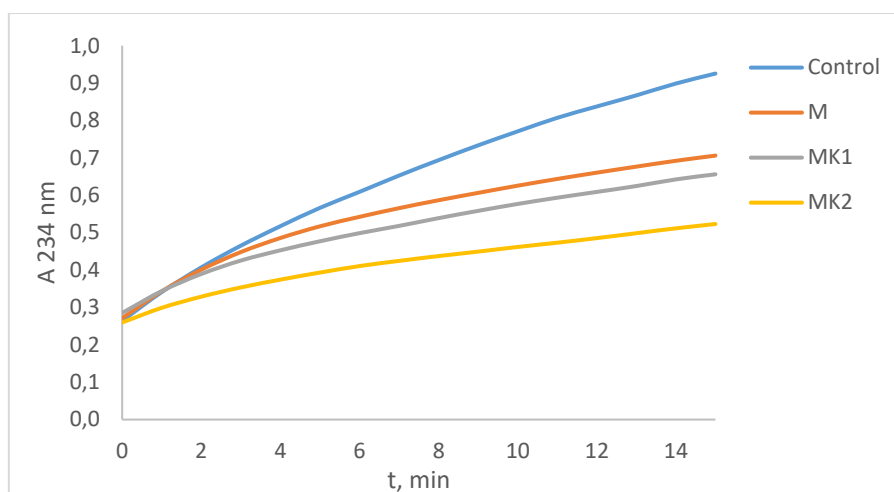
Εικόνα 40. Δέσμευση υδροξυλικής ρίζας, εκφρασμένη σε % δέσμευση, μετά από χρόνους t_1 και t_2 .

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).



Εικόνα 41. Απορρόφηση στα 234 nm στον προσδιορισμό της αντιφλεγμονώδους δράσης ελαιολάδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων σε χρόνο t_1 .

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι ($n = 3$).



Εικόνα 42. Απορρόφηση στα 234 nm στον προσδιορισμό της αντιφλεγμονώδους δράσης ελαιόλαδου και εμπλουτισμένων ελαιολάδων σε χρόνο t_2 .

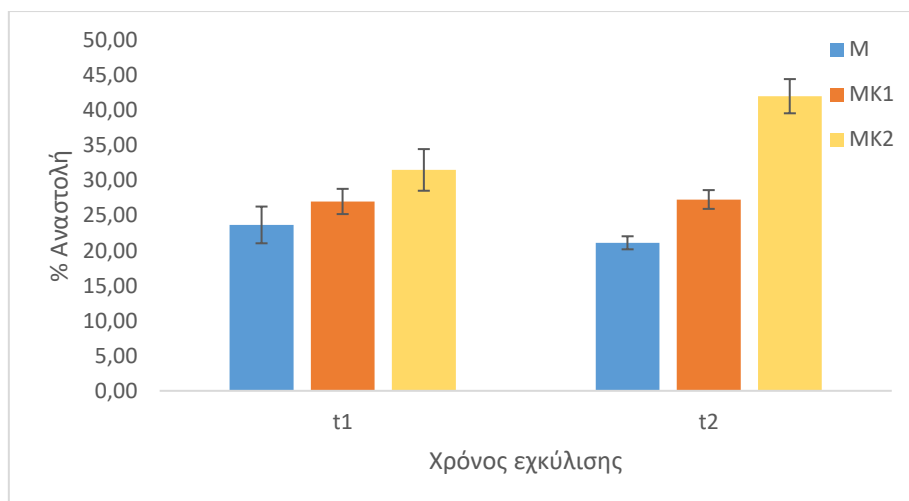
M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι ($n = 3$).

Πίνακας 22. Επίδραση του μαστιχέλαιου Χίου και του κρόκου Κοζάνης στην αντιφλεγμονώδη δράση.

Χρόνος εκχύλισης	Αντιφλεγμονώδης Δράση (% αναστολή)		
	M	MK1	MK2
t_1	$23,7^{aA} \pm 2,6$	$27,0^{abA} \pm 1,8$	$31,5^{bA} \pm 3,0$
t_2	$21,1^{aA} \pm 0,9$	$27,3^{bA} \pm 1,3$	$42,0^{cB} \pm 2,4$

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$).

Το αποτέλεσμα της προσθήκης μαστιχέλαιου Χίου και κρόκου Κοζάνης στο ελαιόλαδο είναι η αύξηση του % ποσοστού αναστολής της φλεγμονώδους δράσης. Σε χρόνο t_1 , ο μάρτυρας παρουσιάζει τη μικρότερη αναστολή και το δείγμα με τη υψηλότερη συγκέντρωση προστιθέμενων την μεγαλύτερη, ενώ ενδιάμεση είναι η αναστολή του δείγματος με τη μικρή συγκέντρωση προστιθέμενων. Παρόμοια ισχύουν και σε χρόνο t_2 , με τα τρία δείγματα να παρουσιάζουν σημαντικές στατιστικές διαφορές. Αναφορικά με τον χρόνο, η αντιφλεγμονώδης δράση του μάρτυρα μειώνεται σε χρόνο t_2 . Στον αντίποδα, η αντιφλεγμονώδης δράση του δείγματος με τη μικρή συγκέντρωση παραμένει σχεδόν η ίδια, μη παρουσιάζοντας στατιστική διαφορά, ενώ εκείνη του δείγματος με τη μεγάλη συγκέντρωση αυξάνεται σημαντικά, εμφανίζοντας στατιστική διαφορά στους δύο χρόνους.



Εικόνα 43. Αντιφλεγμονώδης δράση, εκφρασμένη σε % αναστολή, μετά από χρόνους t₁ και t₂.

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις (n = 3).

Γ.1.6. Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά εμπλουτισμένου ελαιολάδου

Πίνακας 23. Επίδραση του μαστιχέλαιου Χίου και του κρόκου Κοζάνης στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

Χρόνος εκχύλισης	M	MK1	MK2
t ₁	<i>Άρωμα:</i> Ελαφρύ άρωμα ελαιολάδου, πιο αδύναμο σε σχέση με τα εμπλουτισμένα <i>Γεύση:</i> Κλασική γεύση ελαιολάδου, σαφής η πικρότητα	<i>Άρωμα:</i> Πιο πυκνό και πιο σύνθετο άρωμα από τον μάρτυρα <i>Γεύση:</i> Σαφής στη γεύση η επίδραση της μαστίχας, θετική εντύπωση, μεγαλύτερη η επίδραση της μαστίχας από αυτής του κρόκου	<i>Άρωμα:</i> Πιο πυκνό άρωμα από τον μάρτυρα, πιο σύνθετο, το άρωμα του MK2 προτιμητέο <i>Γεύση:</i> Αίσθηση πικάντικου-πικρού, μεγαλύτερη η επίδραση του κρόκου που μετριάξει αυτή της μαστίχας
t ₂	<i>Άρωμα:</i> Μύτη λαδιού, όχι έντονα αρωματικό ελαιόλαδο, όχι φρουτώδες <i>Γεύση:</i> Κλασική γεύση ελαιολάδου, χαρακτηριστική πικρότητα στην κατάποση	<i>Άρωμα:</i> Στο άρωμα υπερτερεί η μαστίχα <i>Γεύση:</i> Η μαστίχα κυριαρχεί του κρόκου και στην πρώτη εντύπωση στο στόμα, αλλά και στην κατάποση	<i>Άρωμα:</i> Πιο μεικτό, πιο σύνθετο άρωμα <i>Γεύση:</i> Πιο σύνθετο στο στόμα, αναφέρεται και εδώ η μαστίχα αλλά όχι σε τόσο μεγάλο βαθμό, μεγαλύτερη επίδραση του κρόκου σε σχέση με το MK1

M: μάρτυρας, MK1: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K1 και MK2: ελαιόλαδο εμπλουτισμένο με μαστιχέλαιο Χίου σε συγκέντρωση M και κρόκο Κοζάνης K2.

Συνοψίζοντας, η σειρά προτίμησης όπως κρίθηκε από τον οργανοληπτικό έλεγχο κατά αύξουσα σειρά είναι: M, MK1, MK2.

Γ.2. Προϊόν τσίπουρου

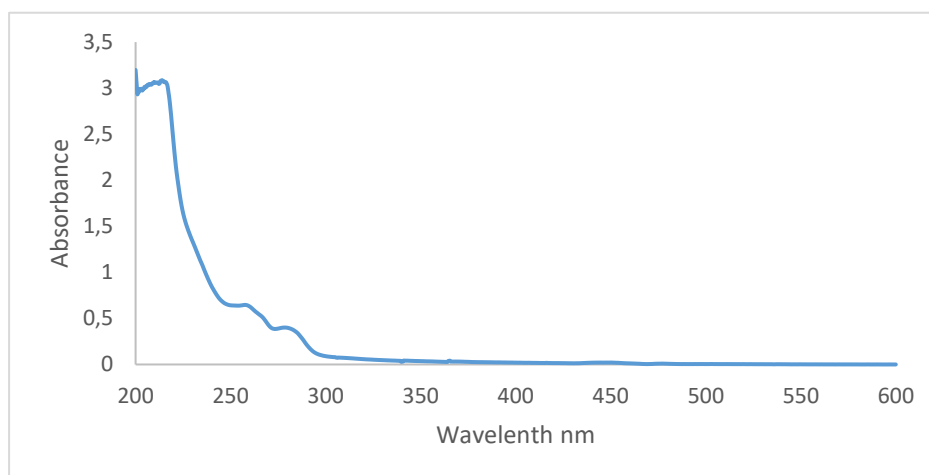
Γ.2.1. Βασική σύσταση και αντιοξειδωτική δράση ροδόνηρου

Πίνακας 24. Βασική σύσταση ροδόνηρου.

Αλκοολικοί βαθμοί (% vol)	0 ± 0
Ελεύθερος SO ₂ (mg/L)	$0,0 \pm 0,0$
Ολικός SO ₂ (mg/L)	$0,0 \pm 0,0$
Ολική Οξύτητα (mg /L ως οξικό οξύ)	92 ± 7
Σταθερή Οξύτητα (mg /L ως οξικό οξύ)	64 ± 7
Πτητική Οξύτητα (mg /L ως οξικό οξύ)	22 ± 7

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις (n = 3).

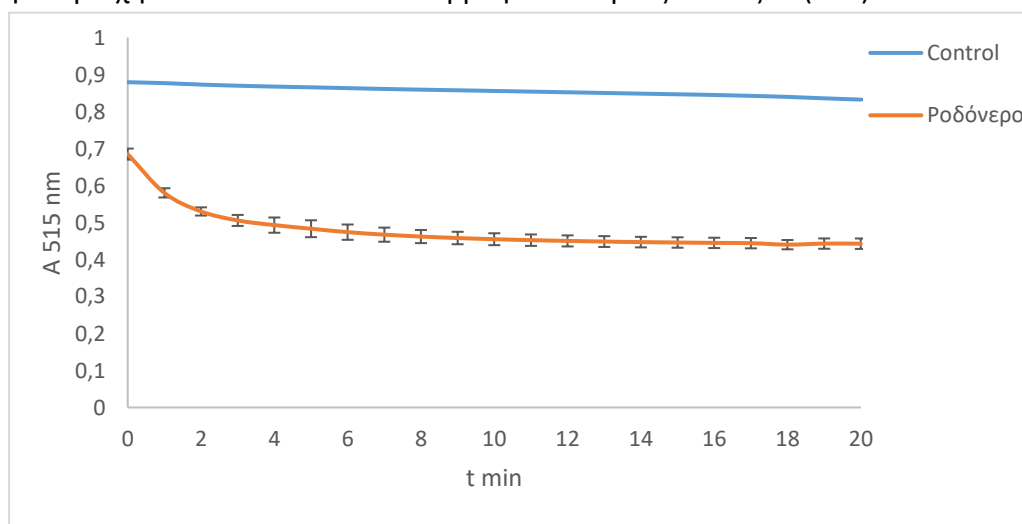
Φάσμα UV-Vis



Εικόνα 44. Φάσμα ορατού-υπεριώδους (UV-Vis) ροδόνηρου.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι (n = 3).

Στο φάσμα υπεριώδους-ορατού του ροδόνηρου παρατηρούνται κορυφές στα 280 nm περίπου, μήκος κύματος που χαρακτηρίζει τον φαινολικό δακτύλιο (153) και στην περιοχή 255-260 nm όπου απορροφούν τα βενζοϊκά οξέα (154).



Εικόνα 45. Κινητική της αντίδρασης δέσμευσης της ρίζας DPPH από ροδόνηρο.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις (n = 3).

Πίνακας 25. Αντιοξειδωτική δράση ροδόνερου.

Μέθοδος Folin (mg/L ως γαλλικό οξύ)	18,8 ± 0,2
Μέθοδος FRAP (Αναγωγική ισχύς) (mg/L ως γαλλικό οξύ)	10,5 ± 0,3
Δέσμευση ρίζας DPPH	
% Αρχική ταχύτητα (1 min)	33,8 ± 1,4
% Ολική δέσμευση (18 min)	47,6 ± 1,5

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3).

Λαμβάνοντας υπόψιν την κινητική της αντίδρασης και επιλέγοντας δύο σημεία, ένα σημείο στα πρώτα στάδια της αντίδρασης και ένα στα τελικά, υπολογίζονται η % αρχική ταχύτητα δέσμευσης της ρίζας DPPH και η % ολική δέσμευση της ρίζας DPPH, αντίστοιχα. Έτσι, για το ροδόνερο η % αρχική ταχύτητα δέσμευσης στο 1 λεπτό υπολογίστηκε 33,8%, ενώ η % ολική ταχύτητα δέσμευσης στα 18 λεπτά 47,6%.

Γ.2.2. Βασική σύσταση και αντιοξειδωτική δράση τσίπουρου

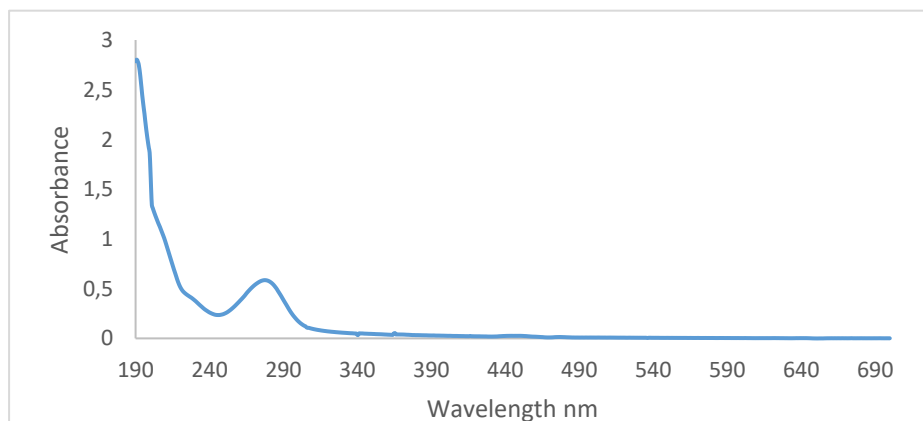
Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τσίπουρου που χρησιμοποιήθηκε στον πείραμα ήταν τα ακόλουθα:

Πίνακας 26. Βασική σύσταση τσίπουρου

Αλκοολικοί βαθμοί (% vol)	40 ± 0
Ελεύθερος SO ₂ (mg/L)	5,5 ± 0,8
Ολικός SO ₂ (mg/L)	57,0 ± 1,0
Ολική Οξύτητα (mg /L ως οξικό οξύ)	160 ± 7
Σταθερή Οξύτητα (mg /L ως οξικό οξύ)	20 ± 7
Πτητική Οξύτητα (mg /L ως οξικό οξύ)	140 ± 7

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3).

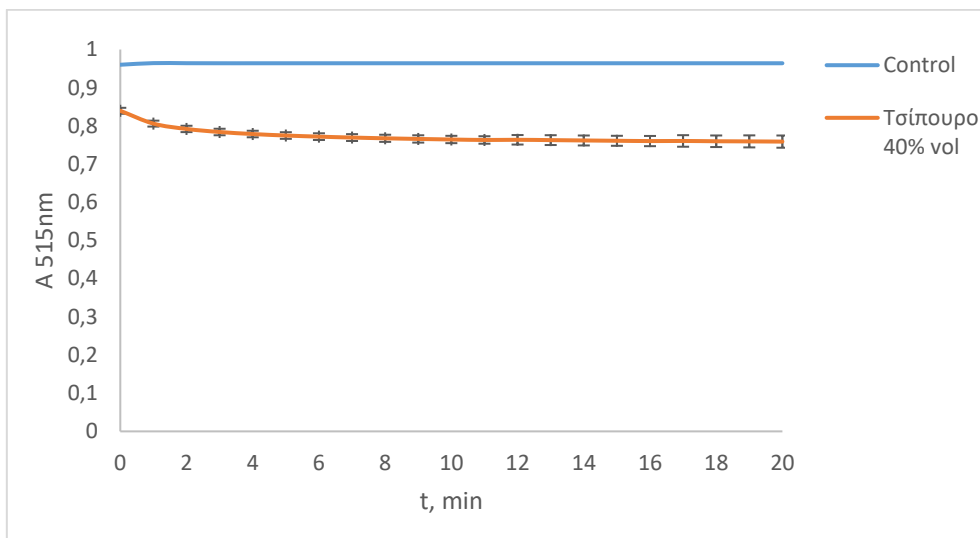
Φάσμα UV-Vis



Εικόνα 46. Φάσμα ορατού-υπεριώδους (UV-Vis) τσίπουρου 40% vol

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι (n = 3).

Στο φάσμα υπεριώδους-ορατού του τσίπουρου 40% vol παρατηρείται κορυφή στα 280 nm. Η απορρόφηση σε αυτό το μήκος κύματος αποδίδεται στα φαινολικά συστατικά του τσίπουρου και πιο συγκεκριμένα στον φαινολικό τους δακτύλιο (153).



Εικόνα 47. Κινητική της αντίδρασης δέσμευσης της ρίζας DPPH από τσίπουρο 40 % vol.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).

Πίνακας 27. Αντιοξειδωτική δράση τσίπουρου

Μέθοδος Folin (mg/L ως γαλλικό οξύ)	12,3 $\pm$ 0,1
Μέθοδος FRAP (Αναγωγική ισχύς) (mg/L ως γαλλικό οξύ)	6,9 $\pm$ 0,1
Δέσμευση ρίζας DPPH	
% Αρχική ταχύτητα (1 min)	16,4 $\pm$ 0,8
% Ολική δέσμευση (18 min)	21,2 $\pm$ 1,6

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).

Λαμβάνοντας υπόψιν την κινητική της αντίδρασης και επιλέγοντας δύο σημεία, ένα σημείο στα πρώτα στάδια της αντίδρασης και ένα στα τελικά, υπολογίζονται η % αρχική ταχύτητα δέσμευσης της ρίζας DPPH και η % ολική δέσμευση της ρίζας DPPH, αντίστοιχα. Έτσι, για το τσίπουρο 40% v/v η % αρχική ταχύτητα δέσμευσης στο 1 λεπτό υπολογίστηκε 16,4%, ενώ η % ολική δέσμευση στα 18 λεπτά 21,2%.

Γ.2.3. Βασική σύσταση προϊόντων τσίπουρου

Η σύσταση σε χρόνο το (ημέρα προσθήκης) του μάρτυρα και των εμπλουτισμένων προϊόντων τσίπουρου ήταν η ακόλουθη:

Πίνακας 28. Βασική σύσταση προϊόντων τσίπουρο με νερό/ροδόνερο.

	TN	TP1	TP2
Αλκοολικοί βαθμοί (% vol)	30 ^a ± 0	30 ^a ± 0	30 ^a ± 0
Ολική Οξύτητα (mg/L ως οξικό οξύ)	124 ^a ± 7	140 ^b ± 7	136 ^{ab} ± 7
Σταθερή Οξύτητα (mg/L ως οξικό οξύ)	24 ^a ± 0	28 ^a ± 7	24 ^a ± 0
Πτητική Οξύτητα (mg/L ως οξικό οξύ)	100 ^a ± 7	116 ^b ± 7	112 ^{ab} ± 7

TN: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη νερού, TP1: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνερου σε χαμηλή συγκέντρωση και TP2: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνερου σε υψηλή συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Γ.2.4. Αντιοξειδωτική δράση προϊόντων τσίπουρου

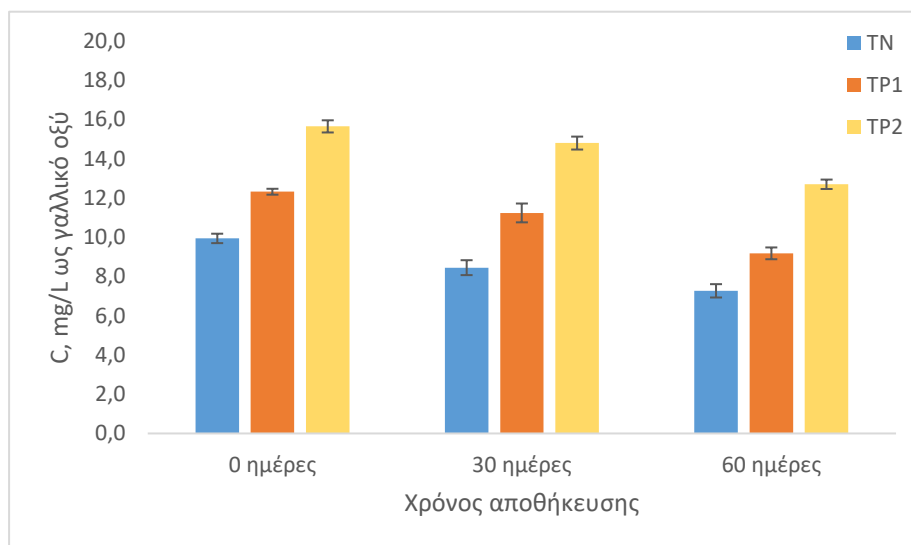
**Πίνακας 29. Μέθοδος Folin (mg/L ως γαλλικό οξύ)
προϊόντων τσίπουρου.**

	TN	TP1	TP2
0 ημέρες	9,9 ^{aC} ± 0,3	12,2 ^{bC} ± 0,2	15,7 ^{cC} ± 0,3
30 ημέρες	8,5 ^{aB} ± 0,4	11,2 ^{bB} ± 0,5	14,8 ^{cB} ± 0,3
60 ημέρες	7,3 ^{aA} ± 0,3	9,2 ^{bA} ± 0,3	12,7 ^{cA} ± 0,2

TN: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη νερού, TP1: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνερου σε χαμηλή συγκέντρωση και TP2: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνερου σε υψηλή συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Με την προσθήκη του ροδόνερου παρατηρείται αύξηση των φαινολικών ήδη από την χρονική στιγμή μηδέν, συγκριτικά με τον μάρτυρα, γεγονός που αποτυπώνεται στη σημαντική στατιστική διαφορά. Η αύξηση των φαινολικών στα δείγματα με ροδόνερο είναι ανάλογη της συγκέντρωσης. Με το πέρας του χρόνου τα φαινολικά μειώνονται τόσο στον μάρτυρα, όσο και στα δείγματα που περιέχουν το πρόσθετο υδατικό εκχύλισμα. Στον χρόνο t₁=30 ημέρες, η μείωση αυτή είναι μεγαλύτερη στο μάρτυρα, μικρότερη στο δείγμα με τη μικρότερη συγκέντρωση ροδόνερου και ακόμη μικρότερη στο δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ροδόνερου. Στον

χρόνο $t_2=60$ ημέρες, τα ολικά φαινολικά εξακολουθούν να παρουσιάζουν μείωση, με το δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ροδόνηρου να εμφανίζει το υψηλότερο περιεχόμενο σε φαινολικά. Και στους τρεις χρόνους, υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα (TN) και των δειγμάτων (TP1, TP2). Παράλληλα, αναφορικά με το ολικό φαινολικό περιεχόμενο στις 0 ημέρες, το τσίπουρο με την υψηλή συγκέντρωση ροδόνηρου ($15,7 \pm 0,3$) εμφανίζει σημαντική στατιστική διαφορά με το αρχικό τσίπουρο 40% vol ($12,3 \pm 0,1$), ενώ η χαμηλή συγκέντρωση ροδόνηρου δεν εμφανίζει ($12,2 \pm 0,2$).



Εικόνα 48. Αντιοξειδωτική δράση, εκφρασμένη σε mg γαλλικού οξέος/L, με τη μέθοδο Folin, μετά από 0, 30 και 60 ημέρες αποθήκευσης.

TN: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη νερού, TP1: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε χαμηλή συγκέντρωση και TP2: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε υψηλή συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).

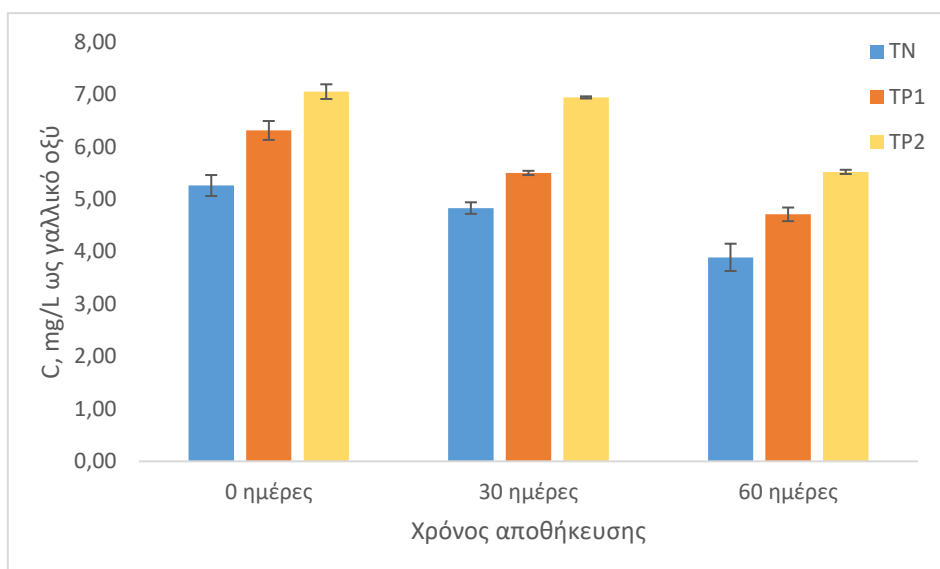
Πίνακας 30. Μέθοδος FRAP (Αναγωγική ισχύς) (mg/L ως γαλλικό οξύ) προϊόντων τσίπουρου.

	TN	TP1	TP2
0 ημέρες	$5,3^{aC} \pm 0,2$	$6,3^{bC} \pm 0,2$	$7,1^{cB} \pm 0,1$
30 ημέρες	$4,8^{aB} \pm 0,1$	$5,5^{bB} \pm 0,0$	$6,9^{cB} \pm 0,0$
60 ημέρες	$3,9^{aA} \pm 0,3$	$4,7^{bA} \pm 0,1$	$5,5^{cA} \pm 0,0$

TN: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη νερού, TP1: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε χαμηλή συγκέντρωση και TP2: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε υψηλή συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$).

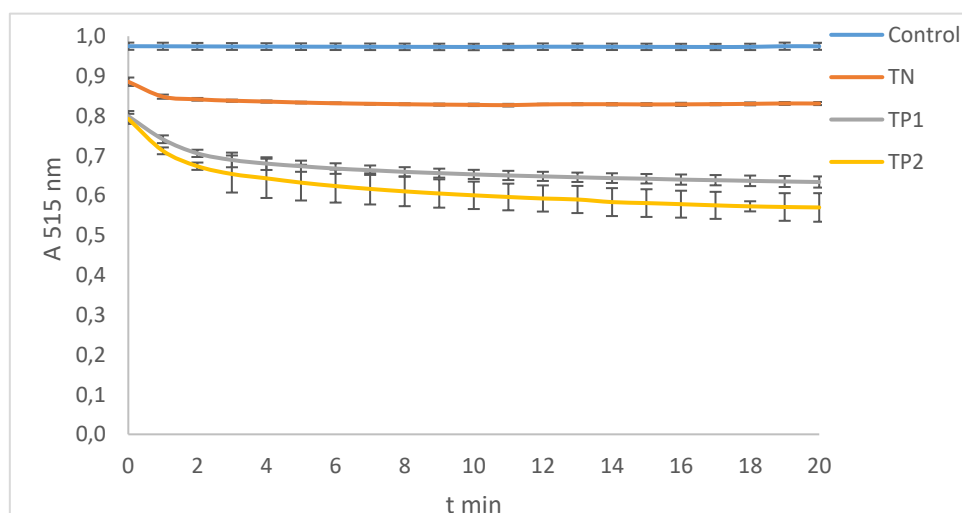
Με την προσθήκη του ροδόνηρου παρατηρείται αύξηση της αναγωγικής δράσης ήδη από την στιγμή της προσθήκης, συγκριτικά με τον μάρτυρα. Η αύξηση της

αναγωγικής δράσης στα δείγματα με ροδόνηρο είναι ανάλογη της συγκέντρωσης, δηλαδή το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση ροδόνηρου εμφανίζει και τη μέγιστη αναγωγική δράση. Με την πάροδο του χρόνου, η αναγωγική δράση μειώνεται τόσο στον μάρτυρα, όσο και στα δείγματα που περιέχουν το ροδόνηρο. Ωστόσο, και στους επόμενους χρόνους (30 και 60 ημέρες) ακολουθείται το ίδιο μοτίβο. Παρά τη μείωση, που είναι ανάλογη του χρόνου, το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση ροδόνηρου εμφανίζει τη μέγιστη αναγωγική δράση, ακολουθεί εκείνο με την μικρότερη συγκέντρωση ροδόνηρου και τέλος, ο μάρτυρας παρουσιάζει την μικρότερη αναγωγική δράση. Και στους τρεις χρόνους, υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα (TN) και των δειγμάτων (TP1, TP2). Ωστόσο, σε σχέση με το αρχικό τσίπουρο 40% vol ($6,9 \pm 0,1$), τα προϊόντα τσίπουρου με χαμηλή ($6,3 \pm 0,2$) και υψηλή συγκέντρωση ($7,1 \pm 0,1$) ροδόνηρου δεν εμφανίζουν σημαντική στατιστική διαφορά.



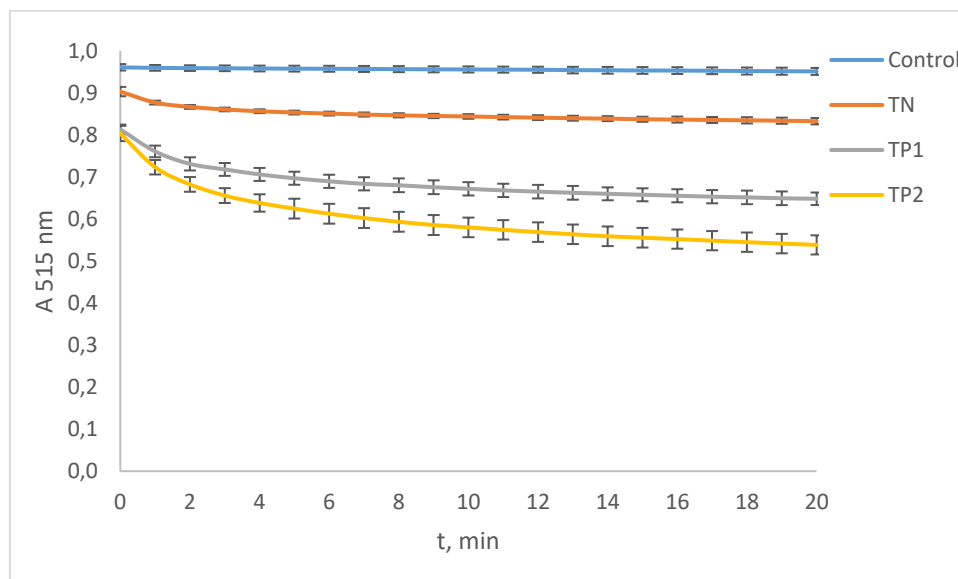
Εικόνα 49. Αναγωγική ισχύς, εκφρασμένη σε mg γαλλικού οξέος/L, με τη μέθοδο FRAP, μετά από 0, 30 και 60 ημέρες αποθήκευσης.

TN: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη νερού, TP1: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε χαμηλή συγκέντρωση και TP2: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε υψηλή συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).

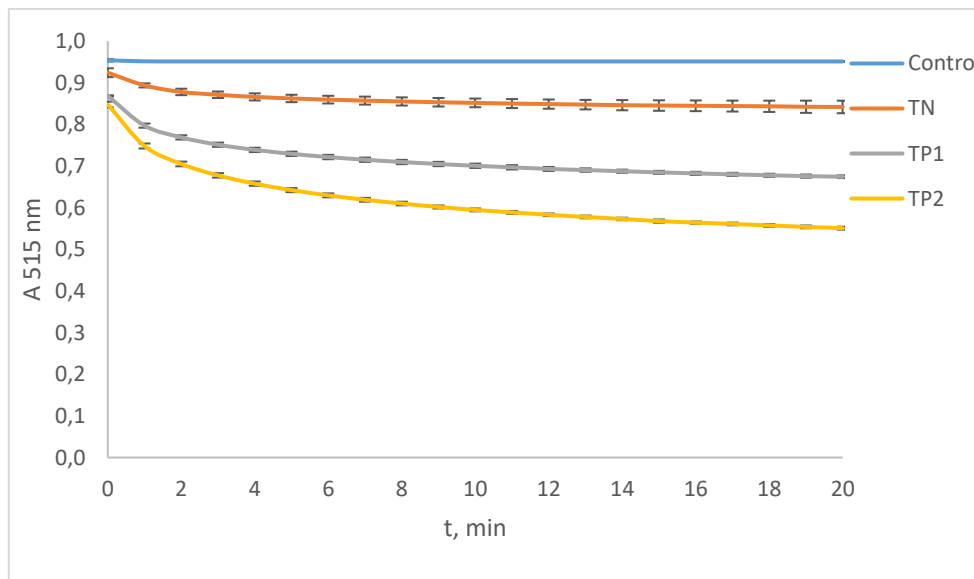


Εικόνα 50. Κινητικής της δέσμευσης της ρίζας DPPH προϊόντων τσίπουρου σε χρόνο το (ημέρα προσθήκης).

TN: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη νερού, TP1: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε χαμηλή συγκέντρωση και TP2: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε υψηλή συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).



Εικόνα 51. Κινητικής της δέσμευσης της ρίζας DPPH προϊόντων τσίπουρου σε χρόνο $t_1 = 30$ ημέρες. TN: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη νερού, TP1: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε χαμηλή συγκέντρωση και TP2: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε υψηλή συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).



Εικόνα 52. Κινητικής της δέσμευσης της ρίζας DPPH προϊόντων τσίπουρου σε χρόνο $t_2 = 60$ ημέρες. TN: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη νερού, TP1: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε χαμηλή συγκέντρωση και TP2: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε υψηλή συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).

Πίνακας 31. Αρχική ταχύτητα δέσμευσης και ολική δέσμευση της ρίζας DPPH προϊόντων τσίπουρου.

% Αρχική Ταχύτητα Δέσμευσης ρίζας DPPH (1 min)	TN	TP1	TP2
0 ημέρες	13,0 ^{aC} ± 0,6	24,0 ^{bC} ± 1,0	26,9 ^{cC} ± 0,9
30 ημέρες	8,6 ^{aB} ± 1,0	20,7 ^{bB} ± 1,1	24,6 ^{cB} ± 1,3
60 ημέρες	6,1 ^{aA} ± 0,6	16,2 ^{bA} ± 0,6	21,4 ^{cA} ± 0,7
% Ολική Δέσμευση ρίζας DPPH (18 min)	TN	TP1	TP2
0 ημέρες	14,7 ^{aB} ± 0,4	34,6 ^{bB} ± 1,8	43,2 ^{cA} ± 1,8
30 ημέρες	12,3 ^{aA} ± 1,3	31,6 ^{bA} ± 1,7	42,8 ^{cA} ± 2,1
60 ημέρες	11,3 ^{aA} ± 1,5	28,7 ^{bA} ± 0,4	41,4 ^{cA} ± 0,4

TN: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη νερού, TP1: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε χαμηλή συγκέντρωση και TP2: προϊόν τσίπουρου με προσθήκη ροδόνηρου σε υψηλή συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο σχήμα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Τόσο η αρχική όσο και η ολική δέσμευση της ρίζας DPPH είναι αυξημένη, σε σχέση με τον μάρτυρα, στα δείγματα που περιέχουν το ροδόνηρο από την στιγμή της προσθήκης στις μηδέν ημέρες. Το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση ροδόνηρου παρουσιάζει το μεγαλύτερο ποσοστό δέσμευσης, ενώ εκείνο με την μικρότερη συγκέντρωση ροδόνηρου εμφανίζει ποσοστό δέσμευσης μεταξύ του μάρτυρα και της υψηλότερης συγκέντρωσης ροδόνηρου. Όλες οι διαφορές μεταξύ των τριών δειγμάτων είναι στατιστικά σημαντικές.

Στους μεταγενέστερους χρόνους (30 και 60 ημέρες), τα ποσοστά δέσμευσης της ρίζας DPPH μειώνονται και στα τρία δείγματα, αναλογικά με τον χρόνο. Ωστόσο, το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση ροδόνηρου εξακολουθεί να εμφανίζει τη μεγαλύτερη αρχική και ολική δέσμευση ρίζας DPPH, με τις διαφορές μεταξύ αυτού, και του μάρτυρα και του δείγματος με τη μικρότερη συγκέντρωση ροδόνηρου να είναι στατιστικά σημαντικές.

Συμπερασματικά, η προσθήκη του ροδόνηρου οδηγεί σε αύξηση της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας DPPH. Διαπιστώνεται ότι το τσίπουρο τόσο με τη χαμηλή (24,0±1,0) όσο και με την υψηλή (26,9±0,9) συγκέντρωση ροδόνηρου εμφανίζει σημαντική στατιστική διαφορά στην αρχική ταχύτητα δέσμευσης της ρίζας, σε σύγκριση με το αρχικό τσίπουρο 40% vol (16,4±0,8). Ομοίως ισχύει και για την ολική δέσμευση ρίζας DPPH από το τσίπουρο με χαμηλή (34,6±1,8) και υψηλή (43,2±1,8) συγκέντρωση ροδόνηρου, σε σύγκριση με το αρχικό τσίπουρο 40% vol (21,2±1,6).

Γ.2.5. Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά προϊόντων τσίπουρου

Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν από την οργανοληπτική αξιολόγηση ήταν τα εξής:

- Σε χρόνο 0, την ημέρα της προσθήκης, ο μάρτυρας (TN) αξιολογήθηκε ως ένα κλασικό τσίπουρο, που άφηνε ωστόσο μία αίσθηση χαμηλότερης έντασης στο άρωμα και στη γεύση. Η αίσθηση αυτή διορθώθηκε με την προσθήκη ροδόενερου, που οδήγησε σε δύο διαφοροποιημένα προϊόντα. Το δείγμα με τη χαμηλή συγκέντρωση ροδόενερου εμφάνιζε ένα έντονο αλλά ευχάριστο άρωμα ρόδου, με ελαφρώς γλυκιά γεύση. Το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση ροδόενερου παρουσίασε αρκετά έντονο άρωμα ρόδου, με αίσθηση που παρέπεμπε σε «λουκούμι τριάνταφυλλο». Για τον λόγο αυτό, το προϊόν με τη χαμηλότερη συγκέντρωση ροδόενερου προτιμήθηκε και έγινε περισσότερο αποδεκτό από τους δοκιμαστές.
- Σε χρόνο $t_1 = 30$ ημέρες, ο μάρτυρας (TN) χαρακτηρίστηκε ως ένα κλασικό τσίπουρο, με χαμηλότερες εντάσεις από ένα τυπικό. Το δείγμα με τη χαμηλότερη συγκέντρωση ήταν έντονο αλλά ευχάριστο, με ελαφρώς γλυκιά γεύση αλλά θετική επίγευση. Το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση ροδόενερου εμφάνισε έντονο άρωμα και γεύση τριαντάφυλλου. Περισσότερο αποδεκτό το προϊόν με τη χαμηλότερη συγκέντρωση ροδόενερου.
- Σε χρόνο $t_2 = 60$ ημέρες, ο μάρτυρας (TN) παρουσιάστηκε ως ένα τσίπουρο, με χαμηλότερες εντάσεις από ένα τυπικό προϊόν. Η χαμηλή συγκέντρωση ροδόενερου έδινε στο προϊόν έντονο αλλά ευχάριστο άρωμα τριαντάφυλλου, με ελαφρώς γλυκιά γεύση που ωστόσο αποτιμήθηκε θετικά. Η υψηλότερη συγκέντρωση ροδόενερου έδωσε έντονο άρωμα και γεύση τριαντάφυλλου, σε συνδυασμό με σκληρή-πικρή γεύση. Οργανοληπτικά έγινε περισσότερο αποδεκτό το προϊόν με τη χαμηλότερη συγκέντρωση ροδόενερου.

Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Δ.1. Εμπλουτισμένο ελαιόλαδο

Η μαστίχα Χίου, ως δάκρυ μαστίχας, χρησιμοποιείται ως αντιοξειδωτικός παράγοντας από τη δεκαετία του 1970 στην Αίγυπτο για την προστασία λιπών και ελαίων (44,155). Μελέτη έδειξε ότι η μαστίχα Χίου έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση σε έλαια, συγκρίσιμη με εκείνη των γνωστών εμπορικών αντιοξειδωτικών, της βουτυλιωμένης υδροξυανισόλης (BHA) και του Embanox 3 (EMB: 20% BHA, 6% γαλλικός προπυλεστέρας, 4% κιτρικό οξύ, προπυλενογλυκόλη ως διαλύτης). Σε βαμβακέλαιο και ηλιέλαιο, προστέθηκε μαστίχα σε δάκρυ σε συγκεντρώσεις 0,02, 0,05 και 0,10% και χωριστά τα αντιοξειδωτικά BHA και EMB σε συγκέντρωση 0,02%. Τα έλαια αποθηκεύτηκαν στους 25, 35 και 45 °C για διάστημα 50 ημερών και μελετήθηκε η πορεία της οξείδωσης με προσδιορισμό του αριθμού υπεροξειδίων. Στις θερμοκρασίες αποθήκευσης, οι συγκεντρώσεις της μαστίχας 0,05 και 0,10% έδειξαν καλή αντιοξειδωτική δράση. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι, καθώς η μαστίχα περιέχει τριτερπενικά οξέα σε ποσοστό 44%, στη συγκέντρωση 0,05% που προστέθηκε περιέχονται 0,02% τριτερπενικά οξέα, συγκέντρωση ίση με εκείνη των εμπορικών αντιοξειδωτικών που προστέθηκαν. Έτσι, οι ερευνητές συμπέραναν ότι η μαστίχα Χίου είναι εξίσου ισχυρό αντιοξειδωτικό όσο τα BHA και EMB (155).

Ερευνητική ομάδα μελέτησε την αντιοξειδωτική δράση διαφόρων φυσικών ρητινών (*Pistacia lentiscus* cv. *Chia*, *Commiphora myrrh*, *Boswellia serrata*, *Gum storax*) και των βιοδραστικών τριτερπενίων τους (ολεανολικό οξύ, ουρσολικό οξύ) σε μία ποικιλία λιπών και ελαίων (χοιρινό λίπος, αραβοσιτέλαιο, ελαιόλαδο, ηλιέλαιο). Σε καθεμία από τις λιπαρές ύλες, η μαστίχα Χίου επέδειξε τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση. Ειδικότερα, ο συνδυασμός της με κιτρικό οξύ λειτούργησε συνεργιστικά σε δείγματα αραβοσιτελαίου και ηλιελαίου. Εστιάζοντας στο ελαιόλαδο, η μαστίχα Χίου προστέθηκε ως σκόνη σε συγκεντρώσεις 0,02-0,15% (w/w) και ως αιθέριο έλαιο σε συγκέντρωση 0,02% (w/w) και μελετήθηκε η πορεία της οξείδωσης σε θερμοκρασία 65 °C, με προσδιορισμό του αριθμού υπεροξειδίων. Το μαστιχέλαιο παρουσίασε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, ακόμη και σε χαμηλή συγκέντρωση, περιορίζοντας την οξείδωση του ελαιολάδου κατά 45% (54).

Σε άλλη ερευνητική μελέτη, αιθέρια έλαια ρίγανης και δενδρολίβανου προστέθηκαν σε ελαιόλαδο σε συγκέντρωση 3% (w/w), δίνοντας υψηλότερη αντοχή στην οξείδωση και αυξημένη θερμική σταθερότητα. Η οξείδωση του ελαιολάδου και των εμπλουτισμένων ελαιολάδων μελετήθηκε σε Oxitest όργανο, το οποίο επιταχύνει την πορεία της οξείδωσης μεταβάλλοντας τη θερμοκρασία και την πίεση. Μέσω του

οργάνου προσδιορίστηκε η περίοδος επαγωγής (Induction Period) για κάθε ελαιόλαδο και βρέθηκε ότι και τα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα παρουσίασαν μεγαλύτερη περίοδο επαγωγής, επιβεβαιώνοντας την αντιοξειδωτική δράση των αιθερίων ελαίων που προστέθηκαν (151).

Ο κρόκος Κοζάνης βρίσκει ευρέως εφαρμογές σε τρόφιμα και στη μαγειρική, ως παράγοντας γεύσης και χρώματος. Έχουν κυκλοφορήσει στην αγορά ποικίλα προϊόντα με κρόκο Κοζάνης, όπως ελαιόλαδο, μέλι, τσίπουρο, ροφήματα και ριζότο με κρόκο Κοζάνης.

Η επίδραση του κρόκου Κοζάνης δεν έχει μελετηθεί κατά την προσθήκη του σε ελαιόλαδο.

Ερευνητική ομάδα μελέτησε την αντιφλεγμονώδη δράση της κροκίνης που περιέχεται στον κρόκο Κοζάνης. Η κροκίνη και η ινδομεθακίνη (μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες) μελετήθηκαν *in vitro* για την αναστολή κυκλοοξυγενάσεων (COX-1, COX-2) σε κίτ ενζυμικής ανοσοδοκιμασίας. Τα IC₅₀ (μM) για την αναστολή της COX-1 και της COX-2 ήταν 9,7 και 1,2 μM για την κροκίνη, ενώ 2,1 και 1,8 μM για την ινδομεθακίνη, αντίστοιχα. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι η κροκίνη είχε υψηλότερη ανασταλτική δράση στην COX-2 από ότι στην COX-1 κι ότι η δράση της στην COX-2 ήταν μεγαλύτερη της ινδομεθακίνης (158).

Επίσης έχει μελετηθεί η δέσμευση ριζών υδροξυλίου από την κροκίνη που περιέχεται στον κρόκο Κοζάνης, συγκριτικά με την φαινολική ένωση κατεχίνη. Η κροκίνη που απομονώθηκε από τον κρόκο έδειξε καλή δέσμευση ριζών υδροξυλίου, αλλά χαμηλότερη από την κατεχίνη. Η τιμή IC₅₀ (μg/mL) για την κροκίνη ήταν 227 ± 3,8 ενώ η αντίστοιχη τιμή για την κατεχίνη ήταν 850 ± 20,0. Επίσης βρέθηκε ότι η ικανότητα δέσμευσης ριζών υδροξυλίου αυξανόταν με την αύξηση της συγκέντρωσης (159).

Η προσθήκη τσίλι σε σκόνη σε συγκέντρωση 1% (w/w) σε ελαιόλαδο έχει βρεθεί ότι αυξάνει την αντοχή του στην οξείδωση και τη θερμική του σταθερότητα. Η οξείδωση του εμπλουτισμένου και του αρχικού ελαιολάδου μελετήθηκε σε Oxitest όργανο, το οποίο δημιουργεί συνθήκες επιταχυνόμενης οξείδωσης. Με το όργανο προσδιορίστηκε η περίοδος επαγωγής για τα ελαιόλαδα και βρέθηκε ότι και το εμπλουτισμένο ελαιόλαδο παρουσίασε μεγαλύτερη περίοδο επαγωγής (151).

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο εμπλουτισμένων ελαιολάδων με κανέλλα, σκόρδο και δενδρολίβανο έχουν επίσης μελετηθεί. Τα φυτικά προϊόντα προστέθηκαν ως σκόνη σε συγκέντρωση 1,5% (w/v), η εκχύλιση έγινε σε θερμοκρασία δωματίου για 15 ημέρες και κατόπιν ακολούθησε

φιλτράρισμα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα με δενδρολίβανο και σκόρδο έδειξαν μειωμένο αριθμό υπεροξειδίων κατά 26% και 11%, αντίστοιχα, σε σχέση με το μη εμπλουτισμένο. Μείωση εμφανίστηκε και στον συντελεστή K_{232} στα ελαιόλαδα με σκόρδο και κανέλλα σε ποσοστό 29% και 24%, αντίστοιχα. Επίσης, η προσθήκη του δενδρολίβανου οδήγησε σε αύξηση της περιόδου επαγωγής κατά 14%. Η προσθήκη των τριών αυτών φυτικών προϊόντων είχε ως αποτέλεσμα αύξηση του φαινολικού περιεχομένου (μέθοδος Folin) από 20 έως 40% (161).

Ερευνητική ομάδα πραγματοποίησε εμπλουτισμό γιαουρτιού με κρόκο Κοζάνης σε συγκέντρωση 0,0125% (w/w) και αποτέλεσμα ήταν η αύξηση των βιοδραστικών συστατικών και η ενίσχυση της αντιοξειδωτικής δράσης (103).

Επίσης, μελετήθηκε η προσθήκη υδατικού διαλύματος κρόκου Κοζάνης σε συγκεντρώσεις 0,1, 0,2 και 0,4 % (w/w) κατά το μαγείρεμα φρέσκων ζυμαρικών. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν το ολικό φαινολικό περιεχόμενο και η αντιοξειδωτική δράση. Βρέθηκε ότι ο κρόκος Κοζάνης σε συγκέντρωση 0,4% οδήγησε σε αύξηση του φαινολικού περιεχομένου (μέθοδος Folin). Η προσθήκη κρόκου σε συγκέντρωση έως 0,02% αύξησε την αντιοξειδωτική δράση (μέθοδος DPPH), σε σύγκριση με το ζυμαρικό χωρίς κρόκο Κοζάνης, ενώ η συγκέντρωση 0,04% δεν επέφερε περαιτέρω αύξηση (104).

Ακόμη, η επίδραση του κρόκου Κοζάνης μελετήθηκε με προσθήκη του σε μπισκότα. Στο αλεύρι προστέθηκε εκχύλισμα κρόκου σε δύο συγκεντρώσεις, από 50 mg και 100 mg κρόκου αντίστοιχα, και μετά από το ψήσιμο, μελετήθηκαν τα ολικά φαινολικά (μέθοδος Folin) και η αντιοξειδωτική δράση (μέθοδοι FRAP, DPPH). Βρέθηκε ότι με την προσθήκη αυξήθηκε σημαντικά το ολικό φαινολικό περιεχόμενο. Επίσης, μετά από 3 μήνες αποθήκευσης, τα ολικά φαινολικά στα εμπλουτισμένα μπισκότα μειώθηκαν μη σημαντικά ($P>0,05$), σε σύγκριση με το control (χωρίς προσθήκη κρόκου) που μειώθηκαν σημαντικά ($P<0,05$). Η ικανότητα δέσμευσης ρίζας DPPH αυξήθηκε σημαντικά μετά την προσθήκη κρόκου και το ψήσιμο. Στους 3 μήνες αποθήκευσης, η ικανότητα δέσμευσης του control μειώθηκε σημαντικά, σε αντίθεση με τα εμπλουτισμένα όπου η μείωση δεν ήταν σημαντική. Ομοίως, η αναγωγική ισχύς αυξήθηκε σημαντικά με την προσθήκη κρόκου σε χρόνο 0 και μετά τους 3 μήνες αποθήκευσης, τα εμπλουτισμένα μπισκότα εξακολουθούσαν να έχουν σημαντική στατιστική διαφορά με το control (105).

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, που αφορούν την αύξηση της οξειδωτικής σταθερότητας και της αντιοξειδωτικής δράσης, συνάδουν με τα παραπάνω για συνδυασμό μαστιχέλαιου Χίου και κρόκου Κοζάνης. Επιπλέον, στην παρούσα

μελέτη παρουσιάζεται αύξηση βιοδράσεων, όπως της δέσμευσης ριζών υδροξυλίου και της αντιφλεγμονώδους δράσης.

Δ.2. Προϊόν τσίπουρου

Η προσθήκη αρωματικών σπόρων ή φυτών, όπως γλυκάνισου, μάραθου και κρόκου Κοζάνης, αποτελεί τακτική για τον εμπλουτισμό τσίπουρου, χωρίς ωστόσο η παραγωγή να είναι μαζική.

Το μεθανολικό εκχύλισμα του *R. damascena* - με απόσταξη του οποίου προκύπτει το ροδόνερο - έχει αναλυθεί για την μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης μεθανολικών εκχυλισμάτων ανθών του είδους *Rosa* (*Rosa damascena*, *Rosa bourboniana* και *Rosa brunonii*). Με τη μέθοδο δέσμευσης ρίζας DPPH, βρέθηκε ότι το εκχύλισμα του *R. damascena* είχε παρόμοια δράση με εκείνη του τυπικού αντιοξειδωτικού L-ασκορβικού οξέος (158).

Σε ερευνητική μελέτη έγινε εμπλουτισμός ενός ελληνικού παραδοσιακού αποστάγματος στεμφύλων, της τσικουδιάς, με επιλεγμένα βότανα για την ενίσχυση των φυσικών αντιοξειδωτικών του. Στο απόσταγμα προστέθηκαν, σε ξηρή μορφή, τα εξής φυτικά προϊόντα: Goji berry (*Lycium Barbarum Mill*), roselle (*Hibiscus sabdariffa L.*), γιασεμί (*Jasminum officinale L.*), ευκάλυπτος (*Eucalyptus globulus Labill.*), γαρίφαλο (*Syzygium aromaticum L.*), δάφνη (*Laurus nobilis L.*), κανέλλα (*Cinnamomum species*) κ.ά. Η συγκέντρωση που επιλέχθηκε ήταν 2 g φυτικού προϊόντος ανά 100 mL τσικουδιάς (40% v/v), παραμονή για 24 ώρες και κατόπιν φιλτράρισμα. Βρέθηκε ότι το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (μέθοδος Folin) στο αρχικό απόσταγμα ήταν ελάχιστο. Με τις προσθήκες, το φαινολικό περιεχόμενο αυξήθηκε σημαντικά, με μέγιστη αύξηση στο απόσταγμα με γαρίφαλο και ακολούθως σε αυτό με το γιασεμί και τον ευκάλυπτο. Στη μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο FRAP και της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας ABTS, βρέθηκε ότι η προσθήκη γιασεμιού προσφέρει τη μεγαλύτερη δράση μεταξύ των φυτικών προϊόντων (130).

Χαρακτηριστικό παράδειγμα εμπλουτισμού αλκοολούχου ποτού με φυτικό προϊόν αποτελεί η ρετσίνα, κατά την παραγωγή της οποίας προστίθενται ρητίνη πεύκου. Η προσθήκη ρητίνης πεύκου, εκτός του ότι καθορίζει το χρώμα και τη γεύση του ποτού, δίνει υψηλότερα επίπεδα φαινολικών ενώσεων, ιδιαίτερα της τυροσόλης, του γαλλικού οξέος, της (-)-επικατεχίνης, του π-κουμαρικού οξέος και της (+)-κατεχίνης, όπως προσδιορίστηκε με την τεχνική της HPLC (156,157).

Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των ερευνητικών μελετών που αναφέρθηκαν παραπάνω, η προσθήκη ροδόνηρου σε απόσταγμα (τσίπουρο) αυξάνει την αντιοξειδωτική δράση.

Ε. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ε.1. Εμπλουτισμένο ελαιόλαδο

Η προσθήκη μαστιχέλαιου Χίου σε συγκέντρωση Μ και κρόκου Κοζάνης σε συγκεντρώσεις Κ₁ και Κ₂ σε εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο οδηγεί στην ανάπτυξη νέων προϊόντων εμπλουτισμένου ελαιολάδου. Τα εμπλουτισμένα ελαιόλαδα παρουσιάζουν ενισχυμένη αντιοξειδωτική δράση (μέθοδοι Folin, FRAP, DPPH), αυξημένη οξειδωτική σταθερότητα σε υψηλές θερμοκρασίες (120 °C και 180 °C), καθώς επίσης και υψηλότερα επίπεδα βιοδράσεων (δέσμευση ριζών υδροξυλίου, αντιφλεγμονώδης δράση).

Ε.2. Προϊόν τσίπουρου

Η προσθήκη ροδόνηρου σε τσίπουρο 40% vol οδηγεί σε νέα προϊόντα τσίπουρου με 30% vol. Τα προϊόντα τσίπουρου με ροδόνηρο παρουσιάζουν αυξημένη αντιοξειδωτική δράση (μέθοδοι Folin, FRAP, DPPH), σε σύγκριση με το αντίστοιχο προϊόν τσίπουρου ίδιου αλκοολικού βαθμού (μέθοδοι Folin, FRAP, DPPH), όπως και σε σύγκριση με το αρχικό τσίπουρο 40% vol (μέθοδοι Folin, DPPH).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. International Olive Council (IOC), 2022. <https://www.internationaloliveoil.org/>
2. Lolis, A., Badeka, A.V. & Kontominas, M.G. Quality retention of extra virgin olive oil, Koroneiki cv. packaged in bag-inbox containers under long term storage: A comparison to packaging in dark glass bottles. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100549, 2020. DOI: [10.1016/j.fpsl.2020.100549](https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100549)
3. Lamas, S., Rodrigues, N., Peres A.M. & Pereira J.A. Flavoured and fortified olive oils - Pros and cons. *Trends in Food Science & Technology*, 124, 108-127, 2022. DOI: [10.1016/j.tifs.2022.04.013](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.013)
4. Kiritsakis, A. & Markakis, P. Olive oil: A review. In Chichester, C.O., Mrak, E.M., Schweigert, B.S. (eds.) *Advances in Food Research*, USA: Academic Press, 31, 453-482, 1988.
5. Kapellakis, I.E., Tsagarakis, K.P. & Crowther, J.C. Olive oil history, production and by-product management. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 7(1), 1–26, 2008. DOI: [10.1007/s11157-007-9120-9](https://doi.org/10.1007/s11157-007-9120-9)
6. Vossen, P. Olive oil: History, production, and characteristics of the world's classic oils. *HortScience*, 42(5), 1093–1100, 2007. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.42.5.1093>
7. Commission Regulation (EEC) No 2568/91 of 11 July 1991 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis (modification 2019). DOI: <http://data.europa.eu/eli/reg/1991/2568/2019-10-20>
8. Boskou, D., Blekas, G. & Tsimidou, M. Polar Phenolic Compounds. In Boskou, D. (eds.) *Olive Oil: Chemistry and Technology*, Florida: Academic Press and AOCS Press, 5, 73-92, 2006.
9. Kiritsakis, A. & Christie, W.W. Analysis of Edible Oils. In Harwood, J. & Aparicio, R. (eds.) *Handbook of Olive Oil*. Springer Science+Business Media New York, 6, 129–158, 2000. DOI: [10.1007/978-1-4757-5371-4_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4757-5371-4_6)
10. ΕΦΕΤ, Κανόνες εμπορίας & επισήμανσης ελαιολάδου, 2015. https://www.efet.gr/files/F3406_odel.pdf
11. Tuck, K.L., & Hayball, P. J. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(11), 636–644, 2002. DOI: [10.1016/s0955-2863\(02\)00229-2](https://doi.org/10.1016/s0955-2863(02)00229-2)
12. Barjol, J.L. Introduction. In Aparicio, R., Harwood, J. (eds) *Handbook of Olive Oil*. Springer, Boston, MA, 2nd ed., 1-17, 2000. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7777-8_1
13. Morales, M.T. & Przybylski, R. Olive oil oxidation. . In Harwood, J. & Aparicio, R. (eds.) *Handbook of Olive Oil*. Springer Science+Business Media New York, 13, 459-490, 2000. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4757-5371-4_13
14. Manual of methods of analysis of foods, Oils and Fats, Food safety and standards authority of India, Ministry of Health and Family Welfare, New Delhi, 2015. https://www.fssai.gov.in/upload/uploadfiles/files/OILS_AND_FAT.pdf

15. International Olive Council (IOC). Determination of free fatty acids, cold method, 2017. <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/COI-T.20-Doc.-No-34-Rev.-1-2017.pdf>
16. Oliveira, M., Balesteros, M.R., Adriana, F.F. & Vaz, F. Determination of Olive Oil Acidity. In Preedy, V. & Watson, R. (eds.) *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, USA: Academic Press, 59, 545-552, 2010. DOI: [10.1016/B978-0-12-374420-3.00059-0](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374420-3.00059-0)
17. Paquot, C. Determination of the Density in *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives*, 6th ed., 20–22. UK: Pergamon Press, 1979. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-10129-8>
18. Moyano, M.J., Meléndez-Martínez, A.J., Alba, J., & Heredia, F.J. A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (I): CIEXYZ non-uniform colour space. *Food Research International*, 41(5), 505–512, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.03.007>
19. Yang, X. & Boyle, R.A. Sensory evaluation of oils/fats and oil/fat-based foods. In Hu, M. & Jacobsen, C. (eds.) *Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats*, USA: Academic Press and AOCS Press, 3, 157-185, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-63067-056-6.00003-3>
20. TIB-99307 Ver.01. Fat and Oil Saponification value of Fat and Oil, KEM Application Note, 1-4. <http://yiqi-oss.oss-cn-hangzhou.aliyuncs.com/aliyun/900101637/solution/95331.pdf>
21. Typical methods of quality control of plasticizers. In Wypych, G. (eds.) *Handbook of Plasticizers*, 2nd ed., Toronto: ChemTec Publishing, 3, 85–109, 2012. DOI: [10.1016/b978-1-895198-50-8.50005-9](https://doi.org/10.1016/b978-1-895198-50-8.50005-9)
22. Hendl, O. Rapid Method for Determination of Iodine Numbers of Vegetable Oils, Master's Theses, Michigan, 1996. https://scholarworks.wmich.edu/masters_theses/4354
23. Pulassery, S., Abraham, B., Ajikumar, N., Munnilath, A. & Yoosaf, K. Rapid Iodine Value Estimation Using a Handheld Raman Spectrometer for On-Site, Reagent-Free Authentication of Edible Oils. *ACS Omega*, 7(11), 9164-9171, 2022. DOI: [10.1021/acsomega.1c05123](https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05123)
24. Patterson, H.B.W. Quality and control. In List, G.R., King, J.W. (eds.) *Hydrogenation of fats and oils*, 2nd ed., AOCS Press, 329-350, 2011.
25. Kedare, S.B. & Singh, R.P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol*, 48(4), 412–422, 2011. DOI: [10.1007/s13197-011-0251-1](https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1)
26. Malta, L.G. & Liu, R.H. Analyses of Total Phenolics, Total Flavonoids, and Total Antioxidant Activities in Foods and Dietary Supplements. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, 1, 305-314, 2014. DOI: [10.1016/B978-0-444-52512-3.00058-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00058-9)

27. Munteanu I.G., Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 3380, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
28. Inarejos-Garcia, A. M., Androulaki, A., Salvador, M. D., Fregapane, G., & Tsimidou, M. Z. Discussion on the objective evaluation of virgin olive oil bitterness. *Food Research International*, 42(2), 279–284, 2009. DOI: [10.1016/j.foodres.2008.11.009](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.11.009)
29. Karkoula, E., Skantzari, A., Melliou, E., & Magiatis, P. Quantitative Measurement of Major Secoiridoid Derivatives in Olive Oil Using qNMR. Proof of the Artificial Formation of Aldehydic Oleuropein and Ligstroside Aglycon Isomers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(3), 600–607, 2014. DOI: [10.1021/jf404421p](https://doi.org/10.1021/jf404421p)
30. Cerretani, L., & Bendini, A. Rapid Assays to Evaluate the Antioxidant Capacity of Phenols in Virgin Olive Oil. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, 625–635, 2010. DOI: [10.1016/b978-0-12-374420-3.00067-x](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-374420-3.00067-x)
31. Soni, R.N, & Bartusek, M. Molybdate complexes with o-diphenols, *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, Great Britain: Pergamon Press, 33(8), 2557-2563, 1971.
32. Bounegru, A.V. & Apetrei, C. Evaluation of Olive Oil Quality with Electrochemical Sensors and Biosensors: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 12708, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms222312708>
33. Zhang, K-Z., Deng, K., Luo, H-B., Zhou, J., Wu, Z-Y., & Zhang, W-X. Antioxidant properties and phenolic profiles of four Chinese Za wines produced from hull-less barley or maize. *J. Inst. Brew.*, 119: 182–190, 2013. [10.1002/jib.81](https://doi.org/10.1002/jib.81)
34. Kim, H.M., Song, Y., Hyun, G.H., Long, N.P., Park, J.H., Hsieh, Y.S.Y., & Kwon, S.W. Characterization and Antioxidant Activity Determination of Neutral and Acidic Polysaccharides from *Panax Ginseng* C. A. Meyer. *Molecules*, 25(4), 791, 2020. DOI: [10.3390/molecules25040791](https://doi.org/10.3390/molecules25040791)
35. Baylac, S. & Raccine, P. Inhibition of 5-lipoxygenase by essential oils and other natural fragrant extracts. *International Journal of Aromatherapy*, 13, 2/3, 138-142, 2003. DOI: [10.1016/S0962-4562\(03\)00083-3](https://doi.org/10.1016/S0962-4562(03)00083-3)
36. Sears, B., & Ricordi, C. Anti-Inflammatory Nutrition as a Pharmacological Approach to Treat Obesity. *Journal of Obesity*, 2011, 1–14, 2011. DOI: [10.1155/2011/431985](https://doi.org/10.1155/2011/431985)
37. Lamas, S., Rodrigues, S., Pares, A.M. & Pereira, J.A. Flavoured and fortified olive oils - Pros and cons. *Trends in Food Science & Technology*, 124, 108–127, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.013>
38. Antoun, N. & Tsimidou, M. Gourmet olive oils: stability and consumer acceptability studies. *Food Research International*, 30(2), 131-136, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(97\)00037-9](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(97)00037-9)
39. Chios Mastiha Growers Association, 2023. 5 March 2023. <https://www.gummastic.gr/en>

40. Paraschos, S., Mitakou, S. & Skaltsounis, A.L. Chios Gum Mastic: A Review of its Biological Activities. *Current Medicinal Chemistry*, 19(14), 2292-2302, 2012. DOI: [10.2174/092986712800229014](https://doi.org/10.2174/092986712800229014)
41. Zacharopoulos, C. & Barbikas, E. Chios Mastiha^{PDO} Historic and folkloric references. The Chios Mastiha Growers Association, (n.d.).
42. Pachi, V.K., Mikropoulou, E.V., Gkiouvetidis, P., Siafakas, K., Argyropoulou, A., Angelis, A., Mitakou, S. & Halabalaki, M. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of Chios mastic gum (*Pistacia lentiscus* var. *Chia*, Anacardiaceae): A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 254, 112485, 2020. DOI: [10.1016/j.jep.2019.112485](https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112485)
43. Koutsoudaki, C., Krsek, M., & Rodger, A. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil and the Gum of *Pistacia lentiscus* Var. *chia*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20), 7681–7685, 2005. DOI: [10.1021/jf050639s](https://doi.org/10.1021/jf050639s)
44. Smyrnioudis, I (ed.). Overview of the major scientific publications on the beneficial activity of Chios mastiha, 2021.
https://www.gummastic.gr/el/?option=com_k2&view=item&layout=item&id=783
45. Paraskevopoulou, A. & Kiosseoglou, V. Chios mastic gum and its food applications. In Kristbergsson, K. & Semih, O. (eds.) *Functional properties of traditional foods*. New York: Springer, 19, 271-287, 2016. DOI: [10.1007/978-1-4899-7662-8_19](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7662-8_19)
46. European Medicines Agency (EMA). Assessment report on *Pistacia lentiscus* L., resin (mastix), EMA/HMPC/46756/2015, 1-43, 2015.
https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/draft-assessment-report-pistacia-lentiscus-l-resin-mastic_en.pdf
47. Benovias, I. Chios mastiha (Gum mastic) Technical specifications, *The Chios Gum Mastic Growers Association*, 1-4. 2019.
<https://mastic.gr/wp-content/uploads/2020/07/Mastic-Gum-Technical-Specifications-2019.pdf>
48. Benovias, I. Chios Gum Mastic - Chios Mastiha Product characteristics. *The Chios Gum Mastic Growers Association*, 1-1, 2018. <https://mastic.gr/wp-content/uploads/2018/03/Mastic-Gum-Product-Characteristics.pdf>
49. Van den Berg, K.J., van der Horst, J., Boon, J.J., & Sudeijer, O.O. *Cis*-1,4-poly- β -myrcene; the structure of the polymeric fraction of mastic resin (*Pistacia lentiscus* L.) elucidated. *Tetrahedron Letters*, 39(17), 2645–2648, 1998. DOI: [10.1016/S0040-4039\(98\)00228-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(98)00228-7)
50. Daferera, D., Pappas, C., Tarantilis, P.A. & Polissiou, M. Quantitative analysis of α -pinene and β -myrcene in mastic gum oil using FT-Raman spectroscopy. *Food Chem*, 77(4), 511–515, 2002. DOI: [10.1016/S0308-8146\(01\)00382-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00382-X)
51. Magiatis, P., Melliou, E., Skaltsounis, A.L., Chinou, I., & Mitaku, S. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Pistacia lentiscus* var. *chia*. *Planta Medica*, 65(08), 749–752, 1999. DOI: [10.1055/s-2006-960856](https://doi.org/10.1055/s-2006-960856)

52. Kokolakis, A.K., Kouvarakis, A.N. & Katerinopoulos, H.E. Effect of hydrodistillation with phosphoric acid on the yield of Chios mastic gum essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(1), 48–53, 2010. DOI: [10.1002/ffj.1958](https://doi.org/10.1002/ffj.1958)
53. Andrikopoulos, N.K., Kaliora, A.C., Assimopoulou, A.N., & Papapeorgiou, V.P. Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against *in vitro* LDL oxidation. *Phytotherapy Research*, 17(5), 501–507, 2003. DOI: [10.1002/ptr.1185](https://doi.org/10.1002/ptr.1185)
54. Assimopoulou, A., Zlatanov, S., & Papageorgiou, V. Antioxidant activity of natural resins and bioactive triterpenes in oil substrates. *Food Chemistry*, 92(4), 721–727. 2005. DOI: [10.1016/j.foodchem.2004.08.033](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.033)
55. Zhou, L., Satoh, K., Takahashi, K., Watanabe, S., Nakamura, W., Maki J., Hatano, H., Takekawa, F., Shimada C. & Sakagami, H. Re-evaluation of anti-inflammatory activity of mastic using activated macrophages. *In vivo*, 23, 583-590, 2009. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19567394/>
56. Mahmoudi, M., Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Hafezi, S., Nabavi, S.M., Eslami, S. Antiinflammatory and antioxidant activities of gum mastic. *Eur. Rev. for Med. and Pharm. Sci.*, 14, 765-769, 2010. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21061835/>
57. Qiao, J., Li, A., Jin, X. & Wang, J. Mastic alleviates allergic inflammation in asthmatic model mice by inhibiting recruitment of eosinophils. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 45, 95–100, 2011. DOI: [10.1165/rcmb.2010-0212OC](https://doi.org/10.1165/rcmb.2010-0212OC)
58. Triantafyllou, A., Bikineyeva, A., Dikalova, A., Nazarewicz, R., Lerakis, S. & Dikalov S. Anti-inflammatory activity of Chios mastic gum is associated with inhibition of TNF-alpha induced oxidative stress. *Nutrition Journal*, 10, 64-72, 2011. <http://www.nutritionj.com/content/10/1/64>
59. Gortzi, O., Athanasiadis, V., Lalas, S., Chinou, I. & Tsaknis, J. Study of antioxidant and antimicrobial activity of chios mastic gum fractions (neutral, acidic) before and after encapsulation in liposomes. *Journal of Food Processing & Technology*, 5(8), 355-359, 2014. DOI: [10.4172/2157-7110.1000355](https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000355)
60. Papada, E., Gioxari, A. Briudes, V., Amerikanou, C., Halabalaki, M., Skaltsounis A.L., Smyrnioudis, I. & Kaliora A.C. Bioavailability of Terpenes and Postprandial Effect on Human Antioxidant Potential. An Open-Label Study in Healthy Subjects. *Molecular Nutrition Food Research*, 62(3), 1700751, 2018. DOI: [10.1002/mnfr.201700751](https://doi.org/10.1002/mnfr.201700751)
61. Huwez, F.U., Thirlwell, D., Cockayne, A., & Ala'Aldeen, D.A.A. Mastic Gum Kills *Helicobacter pylori*. *New England Journal of Medicine*, 339(26), 1946–1946, 1998. DOI: [10.1056/nejm199812243392618](https://doi.org/10.1056/nejm199812243392618)
62. Paraschos, S., Magiatis, P., Mitakou, S., Petraki, K., Kalliaropoulos, A., Maragkoudakis, P., Mentis, A., Sgouras, D. & Skaltsounis A.L. In vitro and in vivo activities of Chios mastic gum extracts and constituents against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 51(2), 551–559, 2007. DOI: [10.1128/AAC.00642-06](https://doi.org/10.1128/AAC.00642-06)
63. Miyamoto, T., Okimoto, T., & Kuwano, M. Chemical Composition of the Essential Oil of Mastic Gum and their Antibacterial Activity Against Drug-Resistant *Helicobacter*

- pylori*. *Natural Products and Bioprospecting*, 4(4), 227–231, 2014. DOI: [10.1007/s13659-014-0033-3](https://doi.org/10.1007/s13659-014-0033-3)
64. Tassou, C.C. & Nychas, G.J.E. Antimicrobial activity of the essential oil of mastic gum (*Pistacia lentiscus* var. *chia*) on Gram positive and Gram negative bacteria in broth and in model food system. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 36(3), 411–420, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(95\)00103-4](https://doi.org/10.1016/0964-8305(95)00103-4)
 65. Daifas, D.P., Smith, J.P., Blanchfield, B., Sanders, G., Austin, J.W., & Koukoutsis, J. Effects of mastic resin and its essential oil on the growth of proteolytic *Clostridium botulinum*. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 313–322, 2004. DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.017](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.017)
 66. Al-Habbal, M.J., Al-Habbal, Z., Huwez, F.U. A double-blind controlled clinical trial of mastic and placebo in the treatment of duodenal ulcer. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 11(5), 541–544, 1984. DOI: [10.1111/j.1440-1681.1984.tb00864.x](https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.1984.tb00864.x)
 67. Al-Said, M.S., Ageel, A.M., Parmar, N.S. & Tariq, M. Evaluation of mastic, a crude drug obtained from *Pistacia Lentiscus* for gastric and duodenal antiulcer activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 15(3), 271–278, 1986. DOI: [10.1016/0378-8741\(86\)90165-0](https://doi.org/10.1016/0378-8741(86)90165-0)
 68. Kaliora, A.C., Stathopoulou, M.G., Triantafyllidis, J.K., Dedoussis G.V.Z. & Andrikopoulos N.K. Chios mastic treatment of patients with active Crohn's disease. *World Journal of Gastroenterology*, 13(5), 748–753, 2007. DOI: [10.3748/wjg.v13.i5.748](https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i5.748)
 69. Dabos, K.J., Sfika, E., Vlatas, L.J., Frantzi, D., Amygdalos, G.I., & Giannikopoulos, G. Is Chios mastic gum effective in the treatment of functional dyspepsia? A prospective randomised double-blind placebo controlled trial. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(2), 205–209, 2010. DOI: [10.1016/j.jep.2009.11.021](https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.11.021)
 70. Ostovan, M., Fazljou, S.M.B., Khazraei, H., Araj Khodaei, M., & Torbati, M. The Anti-Inflammatory Effect of *Pistacia Lentiscus* in a Rat Model of Colitis. *Journal of Inflammation Research*, 13, 369–376, 2020. DOI: [10.2147/jir.s259035](https://doi.org/10.2147/jir.s259035)
 71. Loizou, S., Paraschos, S., Mitakou, S., Chrousos, G.P., Lekakis, I., Moutsatsou, P. Chios mastic gum extract and isolated phytosterol tirucallol exhibit anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Experimental Biology and Medicine*, 234, 553–561, 2009. DOI: [10.3181/0811-RM-338](https://doi.org/10.3181/0811-RM-338)
 72. Vallianou, I., Peroulis, N., Pantazis, P., & Hadzopoulou-Cladaras, M. Camphene, a Plant-Derived Monoterpene, Reduces Plasma Cholesterol and Triglycerides in Hyperlipidemic Rats Independently of HMG-CoA Reductase Activity. *PLoS ONE*, 6(11), e20516, 2011. DOI: [10.1371/journal.pone.0020516](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020516)
 73. Vallianou, I., & Hadzopoulou-Cladaras, M. Camphene, a Plant Derived Monoterpene, Exerts Its Hypolipidemic Action by Affecting SREBP-1 and MTP Expression. *PLoS ONE*, 11(1), e0147117, 2016. DOI: [10.1371/journal.pone.0147117](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147117)
 74. Andreadou, I., Mitakou, S., Paraschos, S., Efentakis, P., Magiatis, P., Kaklamanis, L., Halabalaki, M., Skaltsounis, L. & Iliodromitis, E.K. "*Pistacia lentiscus* L." reduces the

- infarct size in normal fed anesthetized rabbits and possess antiatheromatic and hypolipidemic activity in cholesterol fed rabbits. *Phytomedicine*, 15, 23(11), 1220-1226, 2016. DOI: [10.1016/j.phymed.2016.06.002](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.06.002)
75. Kartalis, A., Didagelos, M., Georgiadis, I., Benetos, G., Smyrnioudis, N., Marmaras, H., Voutas, P., Zotika, C, Garoufalos, S. & Andrikopoulos G. Effects of Chios mastic gum on cholesterol and glucose levels of healthy volunteers: A prospective, randomized, placebo-controlled, pilot study (Chios-Mastiha). *European Journal of Preventive Cardiology*, 23(7), 722–729, 2015. DOI: [10.1177/2047487315603186](https://doi.org/10.1177/2047487315603186)
 76. Triantafyllou, A., Chaviaras, N, Sergeantanis, T.N., Protopapa, E. & Tsaknis J. *Chios mastic gum modulates serum biochemical parameters in a human population. Journal of Ethnopharmacology*, 111(1), 43-49, 2007. DOI: [10.1016/j.jep.2006.10.031](https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.10.031)
 77. Georgiadis, I., Karatzas, T., Korou, L.-M., Agrogiannis, G., Vlachos, I.S., Pantopoulou, A., Tzanetakou, I.P., Katsilambros, N. & Perrea D.N. Evaluation of chios mastic gum on lipid and glucose metabolism in diabetic mice. *Journal of Medicinal Food*, 00 (0), 1–7, 2013. DOI: [10.1089/jmf.2013.0069](https://doi.org/10.1089/jmf.2013.0069)
 78. Saad Ur Rehman, M., Hafeez Kamran, S., Ahmad, M. & Akhtar, U. Anti-Diabetic Activity of Crude *Pistacia Lentiscus* in alloxan-Induced diabetes in Rats. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 10(3), 543-547, 2015. DOI: [10.3329/bjp.v10i3.23225](https://doi.org/10.3329/bjp.v10i3.23225)
 79. Tzani, A., Georgiadis, I., Korou, L.M., Konstantopoulos, P., Agrogiannis, G., Vlachos, I., Doulamis, I., Katsilambros, N. & Perrea, D. Investigation of chios mastic gum effect on metabolic profile in streptozotocin-induced diabetic mice. *Atherosclerosis*, 252, e95, 2015. DOI: [10.1016/j.atherosclerosis.2016.07.552](https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.07.552)
 80. Fukazawa, T., Smyrnioudis, I., Konishi, M., Takahashi, M., Kim, H.K., Nishimaki, M., Xiang, M. & Sakamoto, S. Effects of Chios mastic gum and exercise on physical characteristics, blood lipid markers, insulin resistance, and hepatic function in healthy Japanese men. *Food Science and Biotechnology*, 27(3), 773-780, 2018. DOI: [10.1007/s10068-018-0307-3](https://doi.org/10.1007/s10068-018-0307-3)
 81. Balan, K.V., Prince, J., Han, Z., Dimas, K., Cladara,s M., Wyche, J.H., Sitaras, N.M. & Pantazis, P. Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. *chia*. *Phytomedicine*, 14(4), 263-272, 2007. DOI: [10.1016/j.phymed.2006.03.009](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2006.03.009)
 82. Dimas, K., Hatziantoniou, S., Wyche, J.H. & Pantazis P. A mastic gum extract induces suppression of growth of human colorectal tumor xenografts in immunodeficient mice. *In Vivo*, 23(1), 63-68, 2009. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19368126/>
 83. Spyridopoulou, K., Tiptiri-Kourpeti, A., Lampri, E., Fitsiou, E., Vasileiadis, S., Vamvakias, M., Bardouki, H., Goussia, A., Malamou-Mitsi, V., Panayiotidis, M.I., Galanis, A., Pappa, A. & Chlichlia, K. Dietary mastic oil extracted from *Pistacia lentiscus* var. *chia* suppresses tumor growth in experimental colon cancer models. *Scientific Reports*, 7(3782), 2017. DOI: [10.1038/s41598-017-03971-8](https://doi.org/10.1038/s41598-017-03971-8)

84. Magkouta, S., Stathopoulos, G.T., Psallidas, I., Papapetropoulos, A., Kolisis, F.N., Roussos, C. & Loutrari, H. Protective effects of mastic oil from *Pistacia lentiscus* variation *chia* against experimental growth of lewis lung carcinoma. *Nutrition and Cancer*, 61(5), 640-648, 2009. DOI: [10.1080/01635580902825647](https://doi.org/10.1080/01635580902825647)
85. Loutrari, H., Magkouta, S., Papapetropoulos, A. & Roussos, C. Mastic oil inhibits the metastatic phenotype of mouse lung adenocarcinoma cells. *Cancers*, 3, 789-801, 2011. DOI: [10.3390/cancers3010789](https://doi.org/10.3390/cancers3010789)
86. Li, S., Cha, I.H. & Nam, W. Chios Mastic Gum Extracts as a Potent Antitumor Agent that Inhibits Growth and Induces Apoptosis of Oral Cancer Cells. *Asian Pac J Cancer Prev.*, 12(7),1877-1880, 2011. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22126583/>
87. He, M.L., Yuan, H.Q., Jiang, A.L., Gong, A.Y., Chen, W.W., Zhang, P.J., Young, C.Y.F. & Zhang, J.Y. Gum mastic inhibits the expression and function of the androgen receptor in prostate cancer cells. *Cancer*, 106(12), 2547–2555, 2006. DOI: [10.1002/cncr.21935](https://doi.org/10.1002/cncr.21935)
88. He, M.L., Li, A., Xu, C.S., Wang, H.L., Zhang, M.J., Gu, H., Yang, Y.Q. & Tao, H.H. Mechanisms of antiprostata cancer by gum mastic: NF-κB signal as target. *Acta Pharmacologica Sinica*, 28 (3): 446-452, 2007. DOI: [10.1111/j.1745-7254.2007.00536.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2007.00536.x)
89. Loutrari, H., Magkouta, S., Pyriochou, A., Koika, V., Kolisis, F.N., Papapetropoulos, A. & Roussos, C. Mastic oil from *Pistacia lentiscus* var. *chia* inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis. *Nutrition and Cancer*, 55 (1), 86–93, 2006. DOI: [10.1207/s15327914nc5501_11](https://doi.org/10.1207/s15327914nc5501_11)
90. Tzani, A.I., Doulamis, I.P., Konstantopoulos, P.S., Pasiou, E.D., Daskalopoulou, A., Iliopoulos, D.C., Georgiadis, I.V., Kavantzias, N., Kourkoulis, S.K. & Perrea, D.N. Chios mastic gum decreases renin levels and ameliorates vascular remodeling in renovascular hypertensive rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 899–906, 2018. DOI: [10.1016/j.biopha.2018.06.067](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.06.067)
91. Farella, M., Bakke, M., Michelotti, A. & Martina R. Effects of prolonged gum chewing on pain and fatigue in human jaw muscles. *European Journal of Oral Sciences*, 109(2), 81-85, 2001. DOI: [10.1034/j.1600-0722.2001.00991.x](https://doi.org/10.1034/j.1600-0722.2001.00991.x)
92. Aksoy, A., Duran, N. & Koksai F. *In vitro* and *in vivo* antimicrobial effects of mastic chewing gum against *Streptococcus mutans* and mutans streptococci. *Archives of Oral Biology*, 51(6), 476-481, 2006. DOI: [10.1016/j.archoralbio.2005.11.003](https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2005.11.003)
93. Sterer N. Antimicrobial effect of mastic gum methanolic extract against *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Medicinal Food*, 9(2), 290–292, 2006. DOI: [10.1089/jmf.2006.9.290](https://doi.org/10.1089/jmf.2006.9.290)
94. European Union, 2023. https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/food-safety-and-quality/certification/quality-labels/eu-quality-food-and-drink/krokos-kozanis-pdo_el
95. Sampathu, S. R., Shivashankar, S., Lewis, Y. S., & Wood, A. B. Saffron (*Crocus Sativus* Linn.)-Cultivation, processing, chemistry and standardization. *C R C Critical Reviews in*

- Food Science and Nutrition*, 20(2), 123–157, 1984. DOI: [10.1080/10408398409527386](https://doi.org/10.1080/10408398409527386)
96. Kothari, D., Thakur, R., & Kumar, R. Saffron (*Crocus sativus* L.): gold of the spices—a comprehensive review. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 62(5), 661–677, 2021. DOI: [10.1007/s13580-021-00349-8](https://doi.org/10.1007/s13580-021-00349-8)
 97. Bosmali, I., Ordoudi, S.A., Tsimidou, M.Z. & Madesis, P. Greek PDO saffron authentication studies using species specific molecular markers. *Food Research International*, 100(1), 899–907, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.001>
 98. European Union, 2023. https://agriculture.ec.europa.eu/farming/geographical-indications-and-quality-schemes/geographical-indications-food-and-drink/krokos-kozanis-pdo_el
 99. Srivastava, P., Ahmed, H., Dixit, R. K., Dharamveer & Sara, S. A. *Crocus sativus* L.: A comprehensive review. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 200–208, 2010. DOI: [10.4103/0973-7847.70919](https://doi.org/10.4103/0973-7847.70919)
 100. Mzabri, I., Addi, M. & Berrichi, A. Traditional and Modern Uses of Saffron (*Crocus Sativus*). *Cosmetics*, 6(4), 63, 2019. DOI: [10.3390/cosmetics6040063](https://doi.org/10.3390/cosmetics6040063)
 101. Cardone, L., Castronuovo, D., Perniola, M., Cicco, N., & Candido, V. Saffron (*Crocus sativus* L.), the king of spices: An overview. *Scientia Horticulturae*, 272, 109560, 2020. DOI: [10.1016/j.scienta.2020.109560](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109560)
 102. Verma, R.S. & Middha, D. Analysis of Saffron (*Crocus sativus* L. Stigma) Components by LC–MS–MS. *Chromatographia*, 71, 117–123, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1365/s10337-009-1398-z>
 103. Gaglio, R., Gentile, C., Bonanno, A., Vintaloro, L., Perrone, A., Mazza, F., Barbaccia, P., Settanni, L. & Di Grigoli, A. Effect of saffron addition on the microbiological, physicochemical, antioxidant and sensory characteristics of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 70, 1–10, 2018. DOI: [10.1111/1471-0307.12569](https://doi.org/10.1111/1471-0307.12569)
 104. Armellini, R., Peinado, I., Pittia, P., Scampicchio, M., Heredia, A., & Andres, A. Effect of saffron (*Crocus sativus* L.) enrichment on antioxidant and sensorial properties of wheat flour pasta. *Food Chemistry*, 254, 55–63, 2018. DOI: [10.1016/j.foodchem.2018.01.174](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.174)
 105. Bhat, N.A., Hamdani, A.M. & Masoodi, F.A. Development of functional cookies using saffron extract. *J Food Sci Technol*, 55, 4918–4927, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3426-1>
 106. Masoumi, B., Abbasi, A. & Mazloomi, S.M. The Effect of Saffron on Microbial, Physicochemical and Texture Profile of Chicken (Breast) Meat Stored in Refrigerator. *International Journal of Nutrition Sciences*, 3(3), 164–170, 2018. https://ijns.sum.sums.ac.ir/article_43458_e8f728657360f2c2245f66c6fae926a3.pdf
 107. Hosseinzadeh, H., Younesi, H.M. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacology*, 2, 7, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2210-2-7>

108. Zeinali, M, Zirak, M.R., Rezaee, S.A., Karimi, G., Hosseinzadeh, H. Immunoregulatory and anti-inflammatory properties of *Crocus sativus* (Saffron) and its main active constituents: A review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(4), 334-344, 2019. DOI: [10.22038/ijbms.2019.34365.8158](https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.34365.8158)
109. Pintado, C., de Miguel, A., Acevedo, O., Nozal, L., Novella, J. L., & Rotger, R. Bactericidal effect of saffron (*Crocus sativus* L.) on *Salmonella enterica* during storage. *Food Control*, 22(3-4), 638–642, 2011. DOI: [10.1016/j.foodcont.2010.09.031](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.031)
110. Khoulati, A., Ouahhoud, S., Mamri, S., Alaoui, K., Lahmass, I., Choukri, M., Kharmach, EZ., Asehraou, A. & Saalaoui, E. Saffron extract stimulates growth, improves the antioxidant components of *Solanum lycopersicum* L., and has an antifungal effect. *Annals of Agricultural Sciences*, 64, 2, 138-150, 2019. DOI: [10.1016/j.aos.2019.10.002](https://doi.org/10.1016/j.aos.2019.10.002)
111. Abdullaev, F. Biological Properties and Medicinal Use of Saffron (*Crocus sativus* L.). *Acta Horticulturae*, 739(739), 339-346, 2007. DOI: [10.17660/ActaHortic.2007.739.44](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.739.44)
112. Moradzadeh, M., Kalani, M. R., & Avan, A. The antileukemic effects of saffron (*Crocus sativus* L.) and its related molecular targets: A mini review. *Journal of Cellular Biochemistry*, 1-7, 2019. DOI: [10.1002/jcb.27525](https://doi.org/10.1002/jcb.27525)
113. Yaribeygi, H., Zare, V., Butler, A. E., Barreto, G. E., & Sahebkar, A. Antidiabetic potential of saffron and its active constituents. *Journal of Cellular Physiology*, 234, 8610-8617, 2019. DOI: [10.1002/jcp.27843](https://doi.org/10.1002/jcp.27843)
114. Bajerska, J., Mildner-Szkudlarz, S., Podgórski, T., & Oszmiatek-Pruszyńska, E. Saffron (*Crocus sativus* L.) Powder as an Ingredient of Rye Bread: An Anti-Diabetic Evaluation. *Journal of Medicinal Food*, 16(9), 847–856, 2013. DOI: [10.1089/jmf.2012.0168](https://doi.org/10.1089/jmf.2012.0168)
115. Sheng, L., Qian, Z., Zheng, S., & Xi, L. Mechanism of hypolipidemic effect of crocin in rats: Crocin inhibits pancreatic lipase. *European Journal of Pharmacology*, 543(1-3), 116–122, 2006. DOI: [10.1016/j.ejphar.2006.05.038](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.05.038)
116. Mashmoul, M., Azlan, A., Mohtarrudin, N., Yusof, B. M. & Khaza'ai, H. Saffron Extract and Crocin Reduced Biomarkers Associated with Obesity in Rats Fed a High-Fat Diet. *Mal J Nutr*, 23(1), 117-127, 2017. <https://nutriweb.org.my/mjn/publication/23-1/k.pdf>
117. Noorbala, A. A., Akhondzadeh, S., Tahmacebi-Pour, N., & Jamshidi, A. H. Hydro-alcoholic extract of *Crocus sativus* L. versus fluoxetine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized pilot trial. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(2), 281–284, 2005. DOI: [10.1016/j.jep.2004.11.004](https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.11.004)
118. Pitsikas, N., Boultsadakis, A., Georgiadou, G., Tarantilis, P. A., & Sakellaris, N. Effects of the active constituents of *Crocus sativus* L., crocins, in an animal model of anxiety. *Phytomedicine*, 15(12), 1135–1139, 2008. DOI: [10.1016/j.phymed.2008.06.005](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.06.005)
119. Giannakourou M., Stratati I.F., Manika E.M., Resiti V., Tataridis P., Zoumpoulakis P., Sinagoglou V.J. Assessment of phenolic content, antioxidant activity, colour and

- sensory attributes of wood aged “Tsipouro”. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 6(2), 318-328, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.6.2.07>
120. Vlontzos G., Niavis S., Duquenne M.N. Introduction on the market of Tsipouro, a greek traditional liquor, precursor of ouzo. *International Journal of Euro-Mediterranean Studies*, 7(2), 175-188, 2014. https://emuni.si/wp-content/uploads/2019/02/7_175-188.pdf
 121. Zabetakis, I. Anise spirits: types, sensory properties and sensory analysis. In Piggott, J. (eds.) *Alcoholic Beverages*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 10, 229–241, 2012. DOI: [10.1533/9780857095176.3.229](https://doi.org/10.1533/9780857095176.3.229)
 122. Flouros A.I., Apostolopoulou A.A., Demertzis P.G, Akrida-Demertzi K. Note: Influence of the packaging material on the major volatile compounds of Tsipouro, a traditional greek distillate. *Food Science and Technology International*, 9(5), 371-378, 2003. DOI: [10.1177/108201303038872](https://doi.org/10.1177/108201303038872)
 123. Apostolopoulou A.A, Flouros A.I., Demertzis P.G., Akrida-Demertzi K. Differences in concentration of principal volatile constituents in traditional Greek distillates. *Food Control*, 16, 157-164, 2005. DOI: [10.1016/j.foodcont.2004.01.005](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.01.005)
 124. Kokoti, K., Kosma, I.S., Tataridis, P., Badeka, A.V. & Kontominas, M.G. Volatile aroma compounds of distilled “tsipouro” spirits: effect of distillation technique. *Eur Food Res Technol*, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04205-0>
 125. Soufleros, E.H., Natskoulis, P. & Mygdalia, A.S. Discrimination and risk assessment due to the volatile compounds and the inorganic elements present in the Greek marc distillates Tsipouro and Tsikoudia. *J Int des Sci Vigne du Vin*, 39(1), 31–45, 2005. DOI: <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2005.39.1.907>
 126. Compendium of international analysis of methods of wine and must analysis, International Organisation of Vine and Wine (OIV), Alcoholic strength by volume – Type I methods(OIV-MA-AS312-01A:R2016),1,2021. <https://www.oiv.int/public/medias/7907/oiv-vol1-compendium-of-international-methods-of-analysis.pdf>
 127. OIV, Resolution OIV-OENO 631-2020. Review of practices for the reduction of SO₂ doses used in winemaking, 2020. <https://www.oiv.int/standards/review-of-practices-for-the-reduction-of-so2-doses-used-in-winemaking->
 128. Compendium of international methods of analysis (OIV) – Sulfur dioxide (OIV-MA-AS323-04B: R2009), 1-3, 2009. <https://www.oiv.int/public/medias/2582/oiv-ma-as323-04b.pdf>
 129. Compendium of international methods of analysis of spirituous beverages of vitivinicultural origin, Determination of the principal volatile substances of spirit drinks of viti-vinicultural origin, Determination of the acidites of spirit drinks of viti-vinicultural origin - Type II Method (OIV-MA-BS-12). <https://www.oiv.int/standards/compendium-of-international-methods-of-analysis-for-spirituos-beverages-and-alcohols/spirituous-beverages-and-alcohols/methods->

- [of-analysis-for-spirituuous-beverages-and-alcohols/determination-of-the-acidities-of-spirit-drinks-of-viti-vini](#)
130. Andreou V., Stratia I.F., Fotakis C., Liouni M., Zoumpoulakis P., Sinanoglou V.J. Herbal distillates: A new era of grape marc distillates with enriched antioxidant profile. *Food Chemistry*, 253, 171–178, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.162>
 131. Moein M., Zarshenas M.M., Delnavaz S. Chemical composition analysis of rose water samples from Iran. *Pharmaceutical Biology*, 52(10), 1358-1361, 2014. DOI: [10.3109/13880209.2014.885062](https://doi.org/10.3109/13880209.2014.885062)
 132. Boskabady M.H., Shafei M.N., Saberi Z., Amini S., Pharmacological effects of *Rosa Damascena*. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 14(4), 295-307, 2011. DOI: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23493250/>
 133. Agarwal S. G., Gupta A, Kapahi B. K., Baleshwar, Thappa R. K., Suri O.P. Chemical composition of rose water volatiles. *Journal of Essential Oil Research*, 17, 265-267, 2005. DOI: [10.1080/10412905.2005.9698897](https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698897)
 134. Preethi S.R. Safety Assessment of Rosa damascena-Derived Ingredients as Used in Cosmetics. *Cosmetic Ingredient Review*, 2022. https://www.cir-safety.org/sites/default/files/Rosa%20damascena_0.pdf
 135. Mahboubi M. Rosa damascena as holy ancient herb with novel applications. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 6, 10-16, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2015.09.005>
 136. International Olive Council (IOC). Determination of peroxide value method, COI/T.20/Doc.No 35/Rev.1, 2017. <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/Method-COI-T.20-Doc.-No-35-Rev.-1-2017.pdf>
 137. Papadopoulou, D., & Roussis, I.G. Inhibition of corn oil oxidation by N-acetyl-cysteine and glutathione. *Food Chemistry*, 109(3), 624–629, 2008. DOI: [10.1016/j.foodchem.2007.12.082](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.082)
 138. International Olive Council (IOC). Spectrophotometric investigation in the ultraviolet, COI/T.20/Doc.No 19/Rev.5, 2019. <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/Method-COI-T.20-Doc.-No-19-Rev.-5-2019-2.pdf>
 139. Afolayan, M., Fausat, A., & Idowu, D. Extraction and physicochemical analysis of some selected seed oils. *International Journal of Advanced Chemistry*, 2(2), 2014. DOI: [10.14419/ijac.v2i2.2203](https://doi.org/10.14419/ijac.v2i2.2203)
 140. Firestone, D. & Yuraweez, M.P. (eds). Oils and fats. In AOAC official methods of Analysis, 41, 6-7, 2002. <https://www.usc.gal/caa/MetAnalysisStgo1/Grasas%20AOAC%20Chapter%2041.htm>
 141. Del Monaco, G., Officioso, A., D'Angelo, S., La Cara, F., Ionata, E., Marcolongo, L., Squillaci, G., Maurelli, L. & Morana, A. Characterization of extra virgin olive oils produced with typical Italian varieties by their phenolic profile. *Food Chemistry*, 184, 220–228, 2015. DOI: [10.1016/j.foodchem.2015.03.071](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.071)

142. Ballus, C. A., Meinhart, A. D., de Souza Campos, F. A., & Godoy, H. T. Total Phenolics of Virgin Olive Oils Highly Correlate with the Hydrogen Atom Transfer Mechanism of Antioxidant Capacity. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(6), 843–851, 2015. DOI: [10.1007/s11746-015-2629-0](https://doi.org/10.1007/s11746-015-2629-0)
143. Seiquer, I., Rueda, A., Olalla, M., & Cabrera-Vique, C. Assessing the bioavailability of polyphenols and antioxidant properties of extra virgin argan oil by simulated digestion and Caco-2 cell assays. Comparative study with extra virgin olive oil. *Food Chemistry*, 188, 496–503, 2015. DOI: [10.1016/j.foodchem.2015.05.006](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.006)
144. Arranz, S., Cert, R., Pérez-Jiménez, J., Cert, A., & Saura-Calixto, F. Comparison between free radical scavenging capacity and oxidative stability of nut oils. *Food Chemistry*, 110(4), 985–990, 2008. DOI: [10.1016/j.foodchem.2008.03.021](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.021)
145. Garcia, B., Coelho, J., Costa, M., Pinto, J., & Paiva-Martins, F. A simple method for the determination of bioactive antioxidants in virgin olive oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(7), 1727–1732, 2012. DOI: [10.1002/jsfa.5958](https://doi.org/10.1002/jsfa.5958)
146. Figueiredo-González, M., Reboredo-Rodríguez, P., González-Barreiro, C., Simal-Gándara, J., Valentão, P., Carrasco-Pancorbo, A., Andrade, P.B. & Cancho-Grande, B. Evaluation of the neuroprotective and antidiabetic potential of phenol-rich extracts from virgin olive oils by in vitro assays. *Food Research International*, 106, 558–567, 2018. DOI: [10.1016/j.foodres.2018.01.026](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.026)
147. Taloumi, T. & Makris, D.P. Accelerated aging of the traditional greek distillate Tsipouro using wooden chips. Part I: Effect of Static Maceration vs. Ultrasonication on the Polyphenol Extraction and Antioxidant Activity. *Beverages*, 3, 5, 2017. DOI: [10.3390/beverages3010005](https://doi.org/10.3390/beverages3010005)
148. Psarra, C.; Gortzi, O. & Makris, D.P. Kinetics of polyphenol extraction from wood chips in wine model solutions: effect of chip amount and botanical species. *Institute of Brewing & Distilling*, 121, 207–212, 2015. DOI: [10.1002/jib.212](https://doi.org/10.1002/jib.212)
149. Katalinić, V., Milos, M., Modun, D., Musić, I. & Boban, M. Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. *Food Chemistry*, 86, 593–600, 2004. DOI: [10.1016/j.foodchem.2003.10.007](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.10.007)
150. Villano, D., Fernández-Pachón, S., Troncoso, A.M. & García-Parrilla, M.C. Comparison of antioxidant activity of wine phenolic compounds and metabolites in vitro. *Analytica Chimica Acta*, 538, 391–398, 2005. DOI: [10.1016/j.aca.2005.02.016](https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.02.016)
151. Cavazza, A., Salvadeo, P., Laganà, C., Corti, S., Mancinelli, C. & Corradini, C. Enhancing stability of olive oils by enrichment with natural ingredients. *Natural Antioxidants*, 26(10), 620-623, 2015. <https://www.velp.com/public/file/enhancing-stability-of-olive-oils-201020-229890.pdf>
152. Rodrigues, N., Silva K., Veloso, ACA., Pereira, J.A. & Peres, A.M. The Use of Electronic Nose as Alternative Non-Destructive Technique to Discriminate Flavored and Unflavored Olive Oils. *Foods*, 10(11), 2886, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10112886>

153. Aleixandre-Tudo, L.J. & du Toit, W. The Role of UV-Visible Spectroscopy for Phenolic Compounds Quantification in Winemaking. *Frontiers and New Trends in the Science of Fermented Food and Beverages*, 2019. DOI: [10.5772/intechopen.79550](https://doi.org/10.5772/intechopen.79550)
154. Papadopoulou, C., Soulti K. & Roussis, I.G. Potential Antimicrobial Activity of Red and White Wine Phenolic Extracts against Strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *Food Technol. Biotechnol*, 43(1), 41–46, 2005. <https://core.ac.uk/download/pdf/18315005.pdf>
155. Abdel-Rahman, A.-H. Y., & Youssef, A. M. Mastich as an antioxidant. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 52(10), 423–423, 1975. DOI: [10.1007/bf02545280](https://doi.org/10.1007/bf02545280)
156. Liang, Z., Zhang, P., Zeng, X.-A., & Fang, Z. The art of flavored wine: Tradition and future. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 130–145, 2021. DOI: [10.1016/j.tifs.2021.07.020](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.020)
157. Proestos, C., Bakogiannis, A., Psariano, C., Koutinas, A. A., Kanellaki, M. & Komaitis, M. High performance liquid chromatography analysis of phenolic substances in Greek wines. *Food Control*, 16(4), 319–323, 2005. DOI: [10.1016/j.foodcont.2004.03.011](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.03.011)
158. Kumar, N., Bhandari, P., Shamsher, S. & Bari, B. Antioxidant activity and ultra-performance LC-electrospray ionization-quadrupole time-of-flight mass spectrometry for phenolics-based fingerprinting of Rose species: *Rosa damascena*, *Rosa bourboniana* and *Rosa brunonii*. *Food Chem Toxicol*, 47, 361–367, 2009. DOI: [10.1016/j.fct.2008.11.036](https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.11.036)
159. Xu, G.-L., Li, G., Ma, H.-P., Zhong, H., Liu, F., & Ao, G.-Z. Preventive Effect of Crocin in Inflamed Animals and in LPS-Challenged RAW 264.7 Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8325–8330, 2009. DOI: [10.1021/jf901752f](https://doi.org/10.1021/jf901752f)
160. Hamid, B., Sam, S., Islam, T., Singh, P., & Sharma, M. The free radical scavenging and the lipid peroxidation inhibition of crocin isolated from Kashmiri saffron (*Crocus sativus*) occurring in northern part of India. *International Journal of PharmTech Research*, 1 (4), 1317-1321, 2009. [https://sphinx.sai.com/ptvol4/pdf_vol4/pt=57%20\(1317-1321\).pdf](https://sphinx.sai.com/ptvol4/pdf_vol4/pt=57%20(1317-1321).pdf)
161. Rodrigues, N., Silva, K., Veloso, A.C.A., Pereira, J.A. & Peres, A.M. The Use of Electronic Nose as Alternative Non-Destructive Technique to Discriminate Flavored and Unflavored Olive Oils. *Foods*, 10(11), 2886, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10112886>