



Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Τμήμα Χημείας

Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων

**Πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών στη Χημεία, με κατεύθυνση στην Αναλυτική
Χημεία, Χημεία και Τεχνολογία Περιβάλλοντος και Τροφίμων**

**Μελέτη επίδρασης προσθήκης εκχυλισμάτων φυτικών προϊόντων
σε ποιοτικά χαρακτηριστικά τσίπουρου**



Γεωργία Π. Τσακμάκη

Χημικός

Ιωάννινα 2024

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Γενικά η ιδέα της παρούσας διπλωματικής εργασίας ξεκίνησε από το γεγονός ότι, το τσίπουρο είναι ένα αρκετά διαδεδομένο αλκοολούχο ποτό, ευρέως γνωστό και αρεστό. Θεωρήθηκε πως ενδιαφέρον θα είχε η δημιουργία ενός προϊόντος τσίπουρου με αυξημένες οργανοληπτικές και αντιοξειδωτικές ικανότητες. Για το σκοπό αυτό έγινε εμπλουτισμός του τσίπουρου με φυτικά προϊόντα, δηλαδή το τσάι του βουνού και τον κρόκο Κοζάνης, τα οποία είναι ευρέως γνωστά για τις ευεργετικές τους ιδιότητες.

Η ανάθεση του θέματος και η επίβλεψη της διπλωματικής εργασίας έγινε από τον Ομότιμο Καθηγητή Ιωάννη Ρούσση. Για τα εκχυλίσματα που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα ευχαριστώ πολύ τον Αναπληρωτή Καθηγητή, του Τμήματος Φαρμακευτικής του ΕΚΠΑ Προκόπη Μαγιάτη, ο οποίος παρασκεύασε τα εκχυλίσματα που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα. Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν με το τσίπουρο Θεσσαλίας, ήταν προσφορά της βιομηχανίας Τσιλιλή. Το τσάι του βουνού ήταν μία προσφορά της εταιρείας Myrtali Organics, Ιωάννινα. Επομένως, ευχαριστώ θερμά για τις προσφορές αυτές.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το τσίπουρο είναι ένα προϊόν ευρέως γνωστό στον τόπο μας που προτιμάται από ένα μεγάλο αριθμό καταναλωτών. Λόγω αυτού, η εργασία αυτή στοχεύει στη μελέτη της επίδρασης προσθέτων σε δείγματα τσίπουρου. Χρησιμοποιήθηκαν, λοιπόν δύο δείγματα και έγιναν δύο ξεχωριστά πειράματα. Στο πρώτο πείραμα, το τσίπουρο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Ηπειρώτικο, στο οποίο προστέθηκε εκχύλισμα τσαγιού σε μικρή και μεγάλη συγκέντρωση. Στο δεύτερο πείραμα χρησιμοποιήθηκε το Θεσσαλικό τσίπουρο και σε αυτό έγινε προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου επίσης σε μικρή και μεγάλη συγκέντρωση. Στην οργανοληπτική αξιολόγηση τα εμπλουτισμένα τσίπουρα παρουσίασαν βελτιωμένο άρωμα και γεύση σε σχέση με τον αντίστοιχο μάρτυρα. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως και τα δύο προϊόντα παρουσιάζουν βελτιωμένες ιδιότητες σε σχέση με το αρχικό τσίπουρο. Συγκεκριμένα παρουσίασαν αύξηση της αντιοξειδωτικής τους δράσης (μέθοδοι Folin, FRAP, DPPH) και αυξημένη αντιφλεγμονώδη δράση.

Όσον αφορά το πτητικό τους προφίλ, μετά τις προσθήκες έγινε πιο πλούσιο, όπως φάνηκε με τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στον αέριο χρωματογράφο.

Τέλος, έγινε μελέτη με το χρόνο. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως με το πέρασ του χρόνου υπήρχε στατιστική μείωση στην αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση, καθώς και στα πτητικά, η οποία ήταν μικρότερη στα εμπλουτισμένα με φυτικά προϊόντα τσίπουρα.

ABSTRACT

Tsipouro is a product widely known in our country and preferred by a large number of consumers. Because of this, this work aims to study the effect of additives on tsipouro samples. Therefore, two samples were used and two separate experiments were performed. In the first experiment, the tsipouro used called zoinos. Into this tea extract was added in small and large concentration. In the second experiment, the Thessalian tsipouro tsilili was used and safran extract was added to it also in a small and large concentration. Then the products were evaluated organoleptically and a study was made regarding the basic composition, the antioxidative and anti-inflammatory action, while the aromatic profile of the products was also evaluated. The evaluation was done in 4 times, the first of which was time 0. The results showed that both products have improved properties compared to the original tsipouro.

In particular, they showed an increase in their antioxidant activity (Folin, FRAP, DPPH methods), increased anti-inflammatory activity and as for their volatile profile, it became richer after the additions, as shown by the measurements made in the gas chromatograph. The products were evaluated organoleptically, with the enriched ones being more pleasant in taste and smell, according to the testers. Finally, in relation to time, there was a statistical decrease in antioxidant and anti-inflammatory activity, as well as in volatiles.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Το Τσίπουρο.....	7
1.1. Εισαγωγή.....	7
1.2. Παραγωγή τσίπουρου.....	8
1.3. Χημική σύσταση τσίπουρου.....	9
1.4. Μέθοδοι ανάλυσης τσίπουρου – Αρχές μεθόδων.....	10
2. Το τσάι (τσάι του βουνού).....	18
2.1. Εισαγωγή.....	18
2.2. Παραγωγή τσαγιού.....	19
2.3. Χημική σύσταση τσαγιού.....	19
2.4. Βιοδράσεις τσαγιού.....	20
3. Ο κρόκος (σαφράν).....	21
3.1. Εισαγωγή.....	21
3.2. Παραγωγή κρόκου Κοζάνης.....	21
3.3 Χημική σύσταση κρόκου Κοζάνης.....	23
3.4. Βιοδράσεις κρόκου Κοζάνης.....	23
4. Εμπλουτισμός τσίπουρου.....	24
5. Σκοπός.....	24

B. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Αντιδραστήρια – Σκεύη – Όργανα – Προϊόντα	
1.1. Αντιδραστήρια.....	25
1.2. Όργανα – Συσκευές.....	27
1.3. Προϊόντα.....	28
2. Πειραματική πορεία.....	28

2.1.Ανάπτυξη προϊόντων εμπλουτισμένου τσίπουρου.....	29
3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ	
3.2. Μέθοδοι προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης.....	35
3.3. Μέθοδος προσδιορισμού αντιφλεγμονώδους δράσης.....	39
3.4. Οργανοληπτικός έλεγχος.....	40
3.5. Προσδιορισμός πτητικών ενώσεων με αέρια χρωματογραφία.....	40
4. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	42
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
1. Σύσταση τσίπουρου Θεσσαλίας και Ηπείρου	40
2. Τσίπουρο Ηπείρου και προσθήκη εκχυλίσματος τσαγιού.....	49
3. Τσίπουρο Θεσσαλίας και προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου (σαφράν).....	66
Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	89
Ε. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	90
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	93
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	97

Α. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



Εικόνα 1: Τυπική εικόνα τσίπουρου στα σκεύη στα οποία σερβίρεται

1. Το Τσίπουρο

1.1. Εισαγωγή

Το τσίπουρο είναι ένα παραδοσιακό αλκοολούχο ποτό που παράγεται κυρίως στην ηπειρωτική Ελλάδα. Είναι ένα δυνατό απόσταγμα με 40–45 % αλκοόλη κατ' όγκο, που παράγεται με απόσταξη του υπολείμματος της οινοποίησης, κυρίως των στέμφυλων. Υπάρχουν δύο τύποι προϊόντος: το αγνό τσίπουρο και αυτό με τον γλυκάνισο. Παραδοσιακά, το τσίπουρο σερβίρεται ως aperitif πριν το μεσημεριανό γεύμα. Πολλές φορές συνοδεύεται από μικρά πιάτα που ονομάζονται μεζέδες (1).

Η πρώτη αναφορά σε απόσταγμα στέμφυλων γίνεται στην Αρχαία Ελλάδα κατά τη διάρκεια των Ελληνιστικών χρόνων, όπου γίνεται λόγος για ένα ποτό, το «τρίμμα» το οποίο παρασκευαζόταν από το βράσιμο (απόσταξη) φλοιών σταφυλιού. Η τέχνη της απόσταξης όμως αναπτύσσεται, κατά τους Βυζαντινούς χρόνους, στις μονές του Αγίου Όρους, στη χερσόνησο του Άθω. Και είναι οι μοναχοί του Αγίου Όρους, που μυούν τους μοναχούς των Μετεώρων στα μυστικά της απόσταξης. Βέβαια, η αμπελοκαλλιέργεια στην περιοχή των Μετεώρων μαρτυράται από τη Νεολιθική Εποχή. Αρχαιολογικές ανασκαφές, στο προϊστορικό σπήλαιο της Θεόπετρας, έφεραν στο φως, ανάμεσα στα άλλα, κουκούτσια σταφυλιού.

Το τσίπουρο τεσσάρων γεωγραφικών περιοχών αναγνωρίζεται ως Προστατευόμενης Γεωγραφικής Ένδειξης (ΠΓΕ) (τσίπουρο Μακεδονίας, Θεσσαλίας, Τυρνάβου, Κρήτης «τσικουδιά») (2,3). Σε εθνικό επίπεδο, το τσίπουρο των περιοχών Ηπείρου, Μουζάκι και Νάουσας επίσης αναγνωρίζεται ως ΠΓΕ (3). Παρόμοια αποστάγματα έχουν ισοδύναμες ονομασίες, για παράδειγμα στην Ιταλία υπάρχει η «γκράπα», στη Γαλλία το «eau-de-vie de marc» και στην Ισπανία το «aguardente». Ο κανονισμός 1576/89 της ΕΕ καθιέρωσε τις

γενικές διαδικασίες παραγωγής για όλα αυτά τα αποστάγματα και τα σταθερά κοινά όρια αναλυτικής σύνθεσης. Οι εθνικοί κανονισμοί μπορούν να καθορίζουν ορισμένες διαδικασίες παραγωγής και σε ειδικές περιπτώσεις, πιο περιοριστικές αναλυτικές παραμέτρους για συγκεκριμένες γεωγραφικές ονομασίες (3).

1.2. 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» (5). Τα κυριότερα στάδια παραγωγής είναι: (α) παραγωγή στεμφύλων, (β) αποθήκευση στεμφύλων και (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 κι 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 (3).

Η απόσταξη λαμβάνει χώρα μετά την αλκοολική ζύμωση της πρώτης ύλης (4). 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» (5). Η σειρά απόσταξης των διαφόρων συστατικών 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 πως η μεθανόλη αποσπάζεται καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας απόσταξης και παρουσιάζει μια ελαφρά αύξηση στο κλάσμα της «ουράς» (6). Τα αρχικά και τα τελικά κλάσματα του αποστάγματος, οι κεφαλές κι οι ουρές, κόβονται γιατί περιέχουν ανεπιθύμητα συστατικά (6). Ο ορισμός των χρόνων που γίνονται οι αποστάξεις γίνεται ακόμα με εμπειρικό τρόπο με βάση την ιδιαίτερη ικανότητα του αποστακτηρίου (6).

1.3. Χημική σύσταση τσίπουρου

Από χημικής άποψης, το τσίπουρο είναι ένα υδατικό διάλυμα πρωτίστως αιθυλικής αλκοόλης αλλά και άλλων αλκοολών (μεθανόλη, προπανόλη, αμυλάση), πτητικών οξέων (οξικό οξύ), αλδευδών (φουρφουράλη), εστέρων (οξικός αιθυλεστέρας) και άλλων.

Στην περιοχή της Ηπείρου το τσίπουρο παράγεται με απόσταξη στέμφυλων χωρίς προσθήκη τυχόν αρωματικών φυτών ή βοτάνων. Επομένως το άρωμα του αποδίδεται στις ποικιλίες σταφυλιού που χρησιμοποιούνται, στα πτητικά υποπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης ή/και στα προϊόντα των χημικών αντιδράσεων μεταξύ των προαναφερθέντων ενώσεων (6).

Γενικά μπορεί να υπάρξουν πτητικά οξέα που υπήρχαν στο αρχικό μείγμα και πέρασαν στο απόσταγμα, προσδίδοντας τη χαρακτηριστική του γεύση, το άρωμα και τις ιδιότητες του. Εκτός από τα επιθυμητά συστατικά που προέρχονται από την απόσταξη, υπάρχουν επίσης ανεπιθύμητες ουσίες που είναι επικίνδυνες για την υγεία των καταναλωτών. Οι πιο επικίνδυνες ουσίες που μπορούν να αποσταχθούν σε τσίπουρο είναι:

α) Cis-Anethole: αυτό είναι ένα τοξικό ισομερές που προέρχεται από τον γλυκάνισο που χρησιμοποιείται στην απόσταξη. Είναι ένα προϊόν του κλάσματος κεφαλής που πρέπει να διαχωριστεί από τα άλλα αποσταγμένα προϊόντα του κλάσματος. Δεν πρέπει να περιέχεται περισσότερο από το 1 % της συνολικής ανηθόλης στο τσίπουρο (7).

β) Η μεθανόλη, η οποία αποστάζεται μαζί με νερό μετά την αιθυλική αλκοόλη, θεωρείται προϊόν κυρίως του κλάσματος της ουράς. Η συγκέντρωση της μεθανόλης στο τσίπουρο είναι 50-84 γραμμάρια ανά εκατόλιτρο άνυδρης αλκοόλης. Σύμφωνα με την ευρωπαϊκή νομοθεσία (Κανονισμός 110/2008 της ΕΕ), η μέγιστη επιτρεπόμενη περιεκτικότητα σε μεθανόλη στα αποστάγματα πρέπει να είναι λιγότερο από 1.000 γραμμάρια ανά εκατόλιτρο 100 % vol (7).

γ) Φουρφουράλη: η παρουσία του στο τσίπουρο είναι αποτέλεσμα κακής οινοποίησης. Αποστάζεται σε όλη τη διαδικασία της απόσταξης, κυρίως στο κλάσμα της καρδιάς. Το τσίπουρο περιέχει ποσότητες φουρφουράλης και των παραγώγων της, που προέρχονται από σάκχαρα που παρέμειναν χωρίς ζύμωση (εξόζες), μη ζυμώσιμα σάκχαρα (πεντόζες) και τα στελέχη που δεν έχουν αφαιρεθεί.

δ) Τοξικά μέταλλα όπως το αρσενικό, ο χαλκός, ο μόλυβδος κ.λπ.: η παρουσία τους στον πυρηνόλιθο και στα έκδοχα απαιτεί αυστηρό έλεγχο. Τέτοιες ουσίες πρέπει να παραμένουν εντός των ανώτατων επιτρεπόμενων ορίων, σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία.

ε) Αποθήκευση τσίπουρου: η αποθήκευση γίνεται σε ειδικά ανοξείδωτα ή γυάλινα δοχεία. Πλαστική συσκευασία από PVC πρέπει να αποφεύγεται, καθώς οι φθαλικές ενώσεις διαλύονται στο τσίπουρο, λόγω της επίδρασης του αλκοόλ στο πλαστικοποιημένο PVC (7).

Η μόλυνση του τσίπουρου από φθαλικές ενώσεις εξαρτάται από τη θερμοκρασία, τη διάρκεια και την επιφάνεια επαφής με την πλαστική συσκευασία από PVC. Η αποθήκευση τσίπουρου σε γυάλινα δοχεία ή μπουκάλια αποτελεί θεμελιώδη παράμετρο για την ασφάλεια και την υγιεινή των καταναλωτών (7).

Περισσότερες από 300 διαφορετικές ενώσεις εντοπίζονται στο τσίπουρο, οι οποίες παράγουν βασικές νότες που χαρακτηρίζουν τη γεύση και το άρωμα του. Κατά την παραγωγή των αποσταγμάτων, πολλοί είναι οι παράγοντες που επηρεάζουν τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά που εκτιμώνται στα τελικά εμπορικά προϊόντα, όπως τα ακατέργαστα υλικά, τα διαφορετικά συστήματα απόσταξης και η ωρίμανση του αποστάγματος σε ξύλο (όταν αυτό συμβαίνει). Στην περίπτωση ενός μη παλαιωμένου αποστάγματος, αυτό το σύνολο ενώσεων αποτελείται από πτητικές ουσίες που προέρχονται από τα σταφύλια και από πτητικές ουσίες που σχηματίζονται είτε κατά τη ζύμωση είτε κατά τη διάρκεια της απόσταξης. Μερικές από αυτές τις ενώσεις υπάρχουν σε σχετικά υψηλές ποσότητες και δύνανται να προσδιοριστούν με άμεση αέρια χρωματογραφία, ενώ άλλες ενώσεις υπάρχουν σε πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις (6).

Μεταξύ των παραγόντων που επηρεάζουν τα πτητικά συστατικά του τσίπουρου είναι η πρώτη ύλη (η ποικιλία του σταφυλιού που επιλέγεται όπως Μοσχάτο Τυρνάβου, Μαλαγουζιά, Ροδίτης, Ντεμπίνα κ.λπ.), η ωρίμανση του σταφυλιού, οι κλιματικές συνθήκες, η ημερομηνία του τρύγου, οι αμπελουργικές πρακτικές, ο τρόπος αποθήκευσης των στέμφυλων, το χρησιμοποιούμενο στέλεχος ζύμης, οι συνθήκες ζύμωσης, το ειδικό σύστημα απόσταξης που χρησιμοποιείται (CAD, FCD) και η παλαίωση σε ξύλινα βαρέλια (όταν αυτή εφαρμόζεται) (8). Επίσης, η διαδικασία οينوποίησης που εφαρμόζεται συμβάλλει σημαντικά στο αρωματικό προφίλ. Οι ήπιες συνθήκες επεξεργασίας συνιστώνται για τη διατήρηση των αισθητηριακών ιδιοτήτων της πρώτης ύλης (4).

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 (3).

1.4. Μέθοδοι ανάλυσης – Αρχές μεθόδων

Μέθοδοι αποτίμησης αντιοξειδωτικής δράσης

A) Μέθοδος Folin-ciocalteu

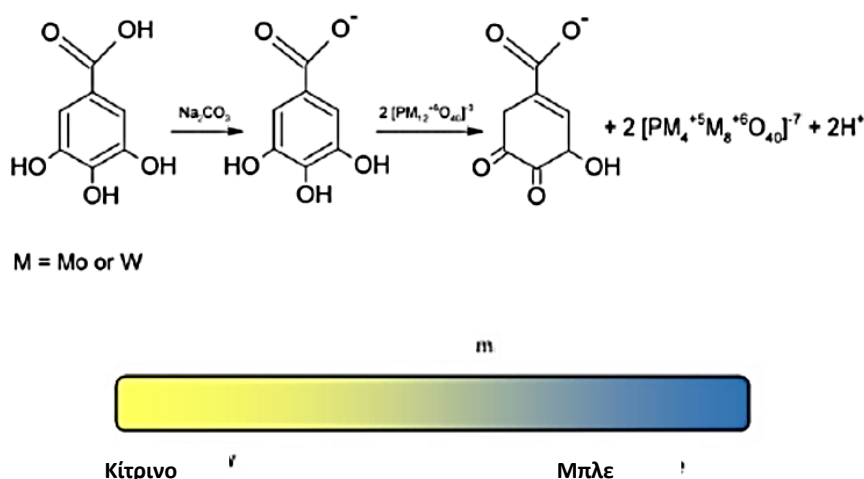
Η μέθοδος Folin–Ciocalteu είναι μία ευρέως γνωστή χημική αναλυτική μέθοδος με την οποία προσδιορίζονται και ελέγχονται τα φαινολικά συστατικά που απαντώνται σε φυτικά

δείγματα μέσω του φασματοφωτομέτρου υπεριώδους-ορατού (UV-vis) διά της μέτρησης της απορρόφησής στα 765 nm.

Με τον όρο φαινολικά εννοούμε τις τανίνες και τις ανθοκυάνες, χημικές ενώσεις που αποτελούν πολύ σημαντικά συστατικά αφού έχουν άμεση σχέση με το χρώμα και την γεύση. Στις τανίνες οφείλεται η αίσθηση ξηρότητας (στυφάδα) στο στόμα, ενώ στις ανθοκυάνες οφείλεται το κόκκινο χρώμα σε ορισμένα κρασιά για παράδειγμα.

Η όλη εργαστηριακή διαδικασία βασίζεται ουσιαστικά στην οξείδωση των φαινολικών συστατικών από το λεγόμενο αντιδραστήριο *Folin–Ciocalteu* που περιλαμβάνει φωσφορομολυβδενικό και φωσφοροβολφραμικό οξύ. Έτσι συντίθεται ένα φωσφορομολυβδενικό/φωσφοροβολφραμικό-φαινολικό σύμπλοκο, το οποίο εμφανίζει αμέσως μπλε χρώμα σε ένα κατεχοχρήν αλκαλικό περιβάλλον.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των ολικών φαινολών πραγματοποιείται με τη χρήση πρότυπης καμπύλης του γαλλικού οξέος, ενώ η ακριβής ταυτοποίηση κάθε φαινολικής ένωσης ξεχωριστά δεν είναι εφικτή (21).



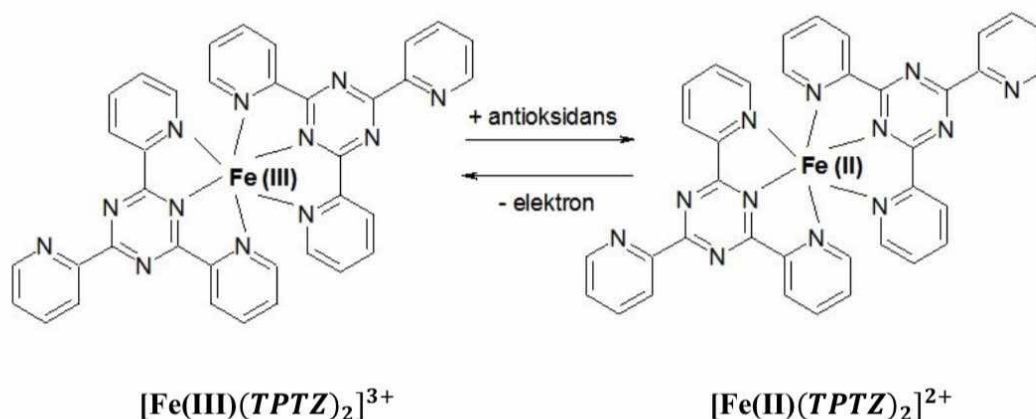
Εικόνα 2. Αντίδραση φαινολικών ενώσεων και αντιδραστήριου Folin, σε αλκαλικό περιβάλλον, και σχηματισμός μπλε συμπλόκου (Σφάλμα! Το αρχείο προέλευσης της αναφοράς δεν βρέθηκε.).

B) Μέθοδος FRAP

Η δοκιμή FRAP είναι μια γρήγορη και άμεση φασματοφωτομετρική μέθοδος υπολογισμού της συνολικής αντιοξειδωτικής δύναμης (αναγωγικής ικανότητας) και στηρίζεται στην αναγωγή, κάτω από όξινες συνθήκες, του συμπλόκου Fe+3- τριπυρίδυλο- τριαζίνη (Fe+3- TPTZ) σε δισθενή μορφή, που αποκτά έντονο μπλε χρώμα και απορροφά στα 620 nm (18).

Η αντίδραση ανιχνεύει ουσίες που έχουν αναγωγικό δυναμικό συνεπώς η FRAP είναι μια κατάλληλη μέθοδος για την εκτίμηση της ικανότητας διατήρησης της αναγωγικής ισορροπίας στα κύτταρα και τους ιστούς. Η αναγωγική ικανότητα μιας ουσίας φαίνεται να

σχετίζεται με το βαθμό υδροξυλίωσης και το βαθμό σύζευξης της, όπως για παράδειγμα στις πολυφαινόλες. Παρόλα αυτά η μέθοδος FRAP δεν μπορεί να ανιχνεύσει ουσίες που δρουν μέσω προσφοράς υδρογόνου, ειδικά τις θειόλες και τις πρωτεΐνες (18).



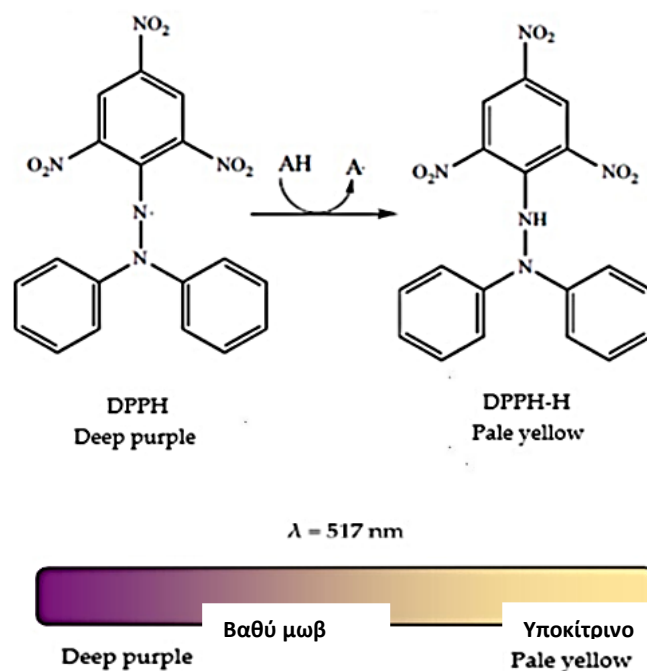
Εικόνα 3. Αντίδραση αναγωγής, του συμπλόκου Fe+3- τριπυριδύλο- τριαζίνη (Fe+3-TPTZ) σε δισθενή μορφή.

Γ) Μέθοδος DPPH

Είναι μία γρήγορη, απλή, φθηνή και ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος μέτρησης της ικανότητας των ενώσεων να δρουν ως ελεύθεροι ριζοκαθαριστές ή δότες υδρογόνου και να αξιολογούν την αντιοξειδωτική δράση των τροφίμων. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για ποσοτικοποίηση αντιοξειδωτικών σε πολύπλοκα βιολογικά συστήματα, για στερεά ή υγρά δείγματα.

Το διάλυμα αποκτά βαθύ βιολετί χρώμα, με απορρόφηση σε αιθανόλη στα 520 nm περίπου. Κατά την ανάμειξη του διαλύματος DPPH με μια ουσία που μπορεί να δώσει ένα άτομο υδρογόνου, δημιουργείται η μειωμένη μορφή με την απώλεια του βιολετί χρώματος. Αντιπροσωπεύοντας τη ρίζα DPPH με Z• και το μόριο δότη με AH, η πρωταρχική αντίδραση είναι : $Z^{\bullet} + \text{AH} = \text{ZH} + \text{A}^{\bullet}$

Όπου ZH είναι η ανοιγμένη μορφή και A• η ελεύθερη ρίζα (19).



Εικόνα 4 . Αντίδραση δέσμευσης ρίζας DPPH από αντιοξειδωτικό (38)

Μέθοδος αποτίμησης αντιφλεγμονώδους δράσης

Η μέθοδος προσδιορισμού της αντιφλεγμονώδους δράσης σε αλκοολούχα ποτά περιλαμβάνει συνήθως αρκετά στάδια. Καταρχάς, είναι σημαντικό να επιλεγούν κατάλληλα μοντέλα, όπως *in vitro* (κυτταρικές καλλιέργειες) ή *in vivo* (ζωικά μοντέλα).

Στη συνέχεια, οι ερευνητές συχνά αξιολογούν τις βιολογικές επιδράσεις των αλκοολούχων ποτών μέσω μετρήσεων φλεγμονωδών δεικτών, όπως η κυτοκίνη IL-6 ή TNF- α , χρησιμοποιώντας μεθόδους όπως η ELISA ή η PCR.

Η συγκέντρωση των ενεργών συστατικών του ποτού μπορεί να αναλυθεί με φασματομετρία ή χρωματογραφία. Τέλος, οι αναλύσεις των αποτελεσμάτων πραγματοποιούνται για να διαπιστωθεί η συσχέτιση της αντιφλεγμονώδους δράσης με την περιεκτικότητα σε συγκεκριμένα συστατικά.

Η διαδικασία αυτή μπορεί να προσφέρει πολύτιμα δεδομένα σχετικά με την επίδραση των αλκοολούχων ποτών στη φλεγμονή και τις πιθανές θεραπευτικές τους ιδιότητες.

Μέθοδοι προσδιορισμού βασικής σύστασης

Α) Προσδιορισμός αλκοόλης

Η αλκοόλη δείχνει την περιεκτικότητα του ποτού σε αιθυλική αλκοόλη (αλκοόλη), η οποία είναι το κύριο δραστικό συστατικό. Η περιεκτικότητα αυτή εκφράζεται συνήθως σε ποσοστά (π.χ. % vol).

Συνολικά, η αλκοόλη είναι ένα κρίσιμο στοιχείο που καθορίζει την ποιότητα και την αποδοχή του τσίπουρου στην αγορά.

Όπως έχει αναφερθεί το απόσταγμα χωρίζεται σε τρία κλάσματα: το "κεφάλι", την «καρδιά» και την «ουρά». Το πρώτο κλάσμα αποτελείται κυρίως από αλκοολοδιαλυτά συστατικά (π.χ. ακεταλδεΐδη, οξικός αιθυλεστέρας, ανώτερες αλκοόλες), το δεύτερο από αιθανόλη και ανώτερες αλκοόλες ενώ το τρίτο από τις λιγότερο πτητικές ενώσεις. Το αρχικό και το τελικό κλάσμα του αποστάγματος απορρίπτονται λόγω των ανεπιθύμητων ομοειδών ουσιών που περιέχουν. Η απόφαση για το που θα γίνουν αυτές οι τομές ωστόσο βασίζεται σε εμπειρικό τρόπο με βάση τη συγκεκριμένη δεξιότητα του αποστακτηρίου. Το κόψιμο μεταξύ προϊόντων κεφαλής και καρδιάς γίνεται συνήθως μεταξύ 70 και 80 % (v/v) αιθανόλης, ενώ η κοπή μεταξύ καρδιάς και ουράς μεταξύ 35 και 50 % (v/v). Η επιλογή των σημείων κοπής στην αρχή και το τέλος της συλλογής αλκοολούχων ποτών είναι κρίσιμο για την ποιότητα του τελικού προϊόντος και εξαρτάται από την εμπειρία του αποστακτηρίου. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε αιθανόλη των οινοπνευματωδών ποτών. Οι περισσότερες είναι πυκνομετρικές μέθοδοι (20) .

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται γενικά για τον προσδιορισμό της αλκοόλης στο τσίπουρο είναι:

- *Αλκοόμετρο*

Το αλκοόμετρο τοποθετείται σε ένα δοχείο με τσίπουρο και διαβάζεται η ένδειξη του αλκοομέτρου στην επιφάνεια του υγρού. Η ένδειξη αντιστοιχεί στην περιεκτικότητα σε αλκοόλη (σε βαθμούς).

- *Υδρομετρητής*

Μετράται η πυκνότητα του τσίπουρου με υδρομετρητή και συγκρίνεται η μέτρηση με πίνακες, για να προσδιοριστεί η περιεκτικότητα σε αλκοόλη.

- *Χημικές Μέθοδοι*

Αλυσιδωτή Μέθοδος Ενζύμων (NIR ή HPLC): Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πιο ακριβείς μετρήσεις, με ανάλυση του τσίπουρου σε εργαστήριο.

Αυτές οι μέθοδοι επιτρέπουν τον ακριβή προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε αλκοόλη και είναι ευρέως χρησιμοποιούμενες στη βιομηχανία παραγωγής ποτών.

Β) Προσδιορισμός οξύτητας

Το επίπεδο οξύτητας ενός ποτού καθορίζεται από το πόσο οξύ περιέχει από εσπεριδοειδή ή άλλα πρόσθετα. Η κλίμακα pH μετρά αυτό το χαρακτηριστικό. Το επίπεδο pH κάτω από 7,0 θεωρείται όξινο. Τα τρία πιο κοινά οξέα στα μη αλκοολούχα ποτά είναι το κιτρικό, το ανθρακικό και το όξινο οξύ. Αλκοολούχα ποτά ή οποιοδήποτε υγρό που έχει υποστεί ζύμωση, όπως μπύρα, κρασί ή αποσταγμένα οινοπνευματώδη ποτά που περιέχουν αιθυλική αλκοόλη ή αιθανόλη ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) θεωρούνται όξινο ρόφημα. Το επίπεδο pH και το επίπεδο ογκομετρικής οξύτητας (TA) είναι μέτρα οξύτητας. Συνήθως κάποια ισχυρή βάση NaOH 0,13 N δρα ως τιτλοδοτητής TA (21).

Η οξύτητα στο τσίπουρο προσδιορίζεται συνήθως με τη μέθοδο της τυπικής διάλυσης (titration). Συνήθως χρησιμοποιείται ένα ισχυρό αλκαλικό διάλυμα (όπως NaOH) για τον προσδιορισμό. Προτίθεται σταδιακά το αλκαλικό διάλυμα στο δείγμα μέχρι να επιτευχθεί ένα συγκεκριμένο pH, που συνήθως είναι γύρω από 7 (ουδέτερο) και υπολογίζεται η οξύτητα με βάση την ποσότητα του αλκαλικού διαλύματος που απαιτήθηκε.

Η οξύτητα σε ένα αλκοολούχο ποτό δίνει πληροφορίες για την:

1. Ποιότητα: Υψηλή οξύτητα μπορεί να υποδηλώνει κακή ποιότητα ή υπερβολική παρουσία ακαθαρσιών.
2. Γεύση: Η οξύτητα επηρεάζει τη γεύση του τσίπουρου, προσδίδοντας του φρεσκάδα ή πικρή γεύση.
3. Σταθερότητα: Ορισμένες οξείες ενώσεις μπορούν να επηρεάσουν τη σταθερότητα του ποτού κατά την αποθήκευση.
4. Διατήρηση: Μπορεί να υποδηλώνει και τη δυνατότητα συντήρησης του τσίπουρου για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Συνολικά, η οξύτητα είναι σημαντική για την εκτίμηση της ποιότητας και των χαρακτηριστικών του τσίπουρου.

Γ) Προσδιορισμός θειώδη ανυδρίτη

Το θειώδες είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο πρόσθετο για τη συντήρηση τροφίμων, με μεγάλη αποτελεσματικότητα στην πρόληψη της οξείδωσης και της βακτηριακής ανάπτυξης

καθώς και στον έλεγχο των ενζυματικών ή μη ενζυματικών αντιδράσεων. Παρέχοντας λειτουργίες σταθεροποίησης και ρύθμισης, βελτιώνει την εμφάνιση και διατηρεί την ποιότητα των τροφίμων ποτών. Ωστόσο, έχει τραβήξει πολύ την προσοχή λόγω της αλλεργιογόνου δράσης του. Σήμερα, πολλές χώρες έχουν ορίσει αυστηρά όρια για την υπολειμματική ποσότητα θειώδους σε διαφορετικά είδη τροφίμων. Έτσι, ευαίσθητες και αξιόπιστες μέθοδοι για τη μέτρηση των θειωδών στα τρόφιμα είναι απαραίτητες. Η απόσταση των δειγμάτων υπό όξινες συνθήκες και στη συνέχεια η τιτλοδότηση, η φωτομετρία και η χρωματογραφία ιόντων είναι οι παραδοσιακές και επίσημες μέθοδοι για τον προσδιορισμό των θειωδών στα τρόφιμα.

Ο θειωδής ανυδρίτης χρησιμοποιείται ως συντηρητικό για την αποφυγή οξείδωσης και τη διατήρηση της ποιότητας του τσίπουρου. Σε υπερβολικές ποσότητες, όμως μπορεί να επηρεάσει τη γεύση του ποτού, προκαλώντας δυσάρεστες οσμές ή γεύσεις. Η παρουσία του θειωδούς ανυδρίτη πρέπει να συμμορφώνεται με τους υγειονομικούς κανονισμούς, καθώς μπορεί να προκαλέσει αλλεργικές αντιδράσεις σε ορισμένα άτομα. Επίσης, η ποσότητα του θειωδούς ανυδρίτη μπορεί να είναι δείκτης της ποιότητας και της παραγωγικής διαδικασίας του τσίπουρου.

Συνολικά, ο προσδιορισμός της ποσότητας θειωδούς ανυδρίτη είναι κρίσιμος για την εκτίμηση της ποιότητας και της ασφάλειας του τσίπουρου.

Η ποσότητα του θειωδούς ανυδρίτη (SO_2) σε τσίπουρο μπορεί να υπολογιστεί με τη μέθοδο της τυπικής διάλυσης (titration) με τη χρήση ενός αλκαλικού διαλύματος, συνήθως NaOH . Αρχικά, γίνεται δειγματοληψία και προστίθεται σταδιακά το αλκαλικό διάλυμα στο δείγμα μέχρι να επιτευχθεί το σημείο ισοδύναμου, το οποίο μπορεί να προσδιοριστεί με τη βοήθεια δείκτη (π.χ. φαινολοφθαλείνη). Η περιεκτικότητα σε SO_2 υπολογίζεται με βάση τον όγκο του NaOH που χρησιμοποιήθηκε και τη συγκέντρωσή του.

Αέρια χρωματογραφία

Η αέρια χρωματογραφία (GC) είναι μια αναλυτική τεχνική για τον διαχωρισμό των συστατικών ενός μείγματος και την εν συνεχεία ανίχνευσή τους για επιβεβαίωση της παρουσίας ή απουσίας τους (ποιοτική ανάλυση) ή/και της ποσότητάς τους (ποσοτική ανάλυση). Για μια επιτυχή ανάλυση, τα προς ανάλυση συστατικά πρέπει να είναι πτητικά, με μοριακό βάρος $<1250 \text{ Da}$ και θερμικά σταθερά, ώστε να μην καταστρέφονται μέσα στη συσκευή. Ο διαχωρισμός γίνεται μέσα σε μια λεπτή (τριχοειδή) χρωματογραφική στήλη, όπου τα συστατικά του μείγματος συγκρατούνται σε διαφορετικούς βαθμούς από ένα προσροφητικό υλικό (στάσιμη φάση), ενώ ταυτόχρονα αναγκάζονται να κινούνται παρασυρόμενα από μια αέρια κινητή φάση

(φέρουν αέριο: He, N₂ ή H₂). Αυτό έχει αποτέλεσμα τα συστατικά του μίγματος να εξέρχονται ένα-ένα σε διαφορετικούς χρόνους κατακράτησης, και αφού ανιχνευθούν από κατάλληλους ανιχνευτές, να ταυτοποιούνται ή/και να προσδιορίζονται ποσοτικά.

Οι δυνατότητες της αέριας χρωματογραφίας αυξάνουν σημαντικά εάν χρησιμοποιηθεί ως ανιχνευτής των συστατικών που εξέρχονται από τη στήλη, ένα φασματόμετρο μάζας (mass spectrometer), οπότε μιλάμε για αέρια χρωματογραφία/φασματομετρία μάζας (GC/MS). Το φασματόμετρο μάζας προκαλεί την διάσπαση κάθε συστατικού που εξέρχεται από τη στήλη σε ιόντα, και στη συνέχεια το διαχωρισμό των ιόντων σύμφωνα με τη μάζα και το φορτίο τους. Η καταγραφή των θραυσμάτων του κάθε συστατικού που εξέρχεται από τη στήλη αποτελεί το λεγόμενο φάσμα μάζας του συστατικού και αποτελεί κατά κάποιο τρόπο το δακτυλικό του αποτύπωμα. Η σύγκριση του φάσματος μάζας κάθε συστατικού με φάσματα μάζας γνωστών ουσιών επιτρέπει την ταυτοποίηση του συστατικού (22).

Έτσι έχουμε:

Αέρια Χρωματογραφία (GC): Το δείγμα εισάγεται σε μια στήλη, όπου τα συστατικά του χωρίζονται με βάση την αλληλεπίδραση τους με τη stationary phase και τη mobile phase. Οι ενώσεις που απομακρύνονται από τη στήλη μεταφέρονται στη φασματογραφία μάζας.

Φασματογραφία Μάζας (MS): Οι απομονωμένες ενώσεις από την GC εισάγονται σε το φασματογράφο μάζας, όπου ιονίζονται. Στη συνέχεια αναλύονται με βάση τη μάζα προς φορτίο (m/z), παρέχοντας πληροφορίες για τη δομή και τη συγκέντρωση των ενώσεων.

Τα πλεονεκτήματα εφαρμογής της συγκεκριμένης ανάλυσης είναι

- Η υψηλή ευαισθησία: Η GC-MS μπορεί να ανιχνεύσει ακόμα και πολύ μικρές ποσότητες ενώσεων.
- Επιλεκτικότητα: Ικανή να διαχωρίζει και να αναγνωρίζει ενώσεις με παρόμοια χημική δομή.
- Εφαρμογές: Χρησιμοποιείται ευρέως σε τομείς όπως η περιβαλλοντική ανάλυση, η τοξικολογία, η φαρμακολογία και η ανάλυση τροφίμων.

Ωστόσο παρόλα τα θετικά υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί στη χρήση της, όπως ότι τα δείγματα πρέπει να περιέχουν πτητικές ενώσεις ή να μπορούν να γίνουν πτητικές με κατάλληλη προετοιμασία. Ακόμη, η μέθοδος μπορεί να επηρεαστεί από τη θερμοκρασία και τις συνθήκες της ανάλυσης.

Συνολικά, η GC-MS είναι ένα πολύτιμο εργαλείο για την ανάλυση και την ταυτοποίηση χημικών ενώσεων σε διάφορους τομείς της επιστήμης.

Έχει σημαντικές εφαρμογές: Στη Φαρμακολογία και Τοξικολογία, στην περιβαλλοντική ανάλυση, στην ανάλυση τροφίμων και ποτών, έχει κλινικές εφαρμογές, εφαρμογές στην φαρμακευτική βιομηχανία, στη βιοχημεία και μεταβολομική, καθώς και στη δημόσια υγεία και ασφάλεια.

2.Το τσάι (τσάι του βουνού)

Mountain Tea (*Sideritis scardica* and *S. raeseri*)



Εικόνα 5. Τυπική εικόνα του τσάι του βουνού ως φυτό, αλλά και ως ρόφημα.

2.1 Εισαγωγή

Το τσάι του βουνού είναι ένα εύκολα διαθέσιμο, χαμηλού κόστους βότανο που καταναλώνεται σε καθημερινή βάση και πιστεύεται ότι περιέχει βιοενεργά φυτοχημικά.

Στη Βαλκανική Χερσόνησο, το τσάι από βότανα του *Sideritis*, γνωστό ως τσάι του βουνού, είναι ένα από τα ιδιαίτερα προτιμώμενα αφεψήματα, λόγω της ιδιαίτερης γεύσης του και της πιθανής φαρμακολογικής του ιδιότητας (11).

Η σύνθεση του αφεψήματος είναι απαραίτητη για την αξιοποίησή του ως ρόφημα που προάγει την υγεία. Τα διάφορα είδη αφεψήματος *Sideritis* αποδείχθηκαν να έχουν σημαντική αντιμικροβιακή δράση κατά του *Staphylococcus aureus* (11). Το γένος *Sideritis* περιλαμβάνει περίπου 140 είδη που διανέμονται σε πολλές χώρες της περιοχής της Μεσογείου. Έχει αναφερθεί ότι παρουσιάζει μια σειρά από βιολογικές δραστηριότητες, συμπεριλαμβανομένων των αντιφλεγμονωδών, αντιοξειδωτικών, αντιμικροβιακών και δραστηριότητα κατά του έλκους. Είναι ενδιαφέρον ότι υδατικά εκχυλίσματα που προέρχονται από είδη Σιδερίτη έχουν προταθεί να σχηματίσουν τη βάση για το σχεδιασμό «λειτουργικών τροφίμων» για την πρόληψη της οστεοπόρωσης (12). Στη λαϊκή ιατρική έχουν γίνει σκευάσματα *S. Syriaca* που χρησιμοποιούνται ως αντιφλεγμονώδες, αντιμικροβιακό, αντιοξειδωτικό, αναλγητικό, αντιρευματικό και τονωτικό, ενώ το αφέψημα του εξακολουθεί να χρησιμοποιείται ως ανακούφιση από το κοινό κρυολόγημα. Οι φαρμακολογικές τους ιδιότητες αποδίδονται κυρίως σε флаβονοειδή, διτερπένια και αιθέρια έλαια (11).

2.2 . Παραγωγή τσαγιού

Η παραγωγή του σιδερίτη (Sideritis) περιλαμβάνει αρκετά βήματα, από τη συγκομιδή των φυτών έως τη διαδικασία επεξεργασίας. Αρχικά, γίνεται η συγκομιδή: Συνήθως γίνεται κατά την ανθοφορία του φυτού, που συμβαίνει το καλοκαίρι (Μάιος-Σεπτέμβριος). Τα φύλλα και τα άνθη συλλέγονται με το χέρι για να διασφαλιστεί η ποιότητα και να αποφευχθεί η ζημιά στα φυτά. Στη συνέχεια ακολουθεί η αποξήρανση. Μετά τη συγκομιδή, τα φυτά απλώνονται σε σκιασμένα και αεριζόμενα μέρη, ή σε ειδικούς ξηραντήρες, για να απομακρυνθεί η υγρασία. Η αποξήρανση είναι κρίσιμη για τη διατήρηση των αρωμάτων και των δραστικών συστατικών του σιδερίτη. Έπειτα, αφαιρούνται τυχόν ακαθαρσίες και ξένα σώματα. Ο σιδερίτης μπορεί να τεμαχιστεί σε μικρότερα κομμάτια για ευκολότερη χρήση και εξαγωγή των αρωμάτων κατά την παρασκευή τσαγιού. Όσον αφορά τη συσκευασία, το βότανο συσκευάζεται σε αεροστεγείς σακούλες ή δοχεία για να διατηρηθεί η φρεσκάδα του και να προστατευτεί από την υγρασία και το φως. Τέλος, ο σιδερίτης συχνά ελέγχεται για τη συγκέντρωση δραστικών συστατικών και την απουσία ρύπων. Πολλοί παραγωγοί επιδιώκουν βιολογικές πιστοποιήσεις για να διασφαλίσουν την ποιότητα και τη βιωσιμότητα της παραγωγής.

2.3. Χημική σύσταση τσαγιού

Η αντιοξειδωτική δράση του αφεψήματος οφείλεται κυρίως στην περιεκτικότητά του σε φλαβονοειδή. Είναι συνήθως πλούσιο σε βιοδραστικές ενώσεις όπως, πολυφαινόλες, καροτενοειδή, καθώς και βιταμίνη C, βιταμίνη E και χλωροφύλλες, που έχει αποδειχθεί ότι διαθέτουν ιδιότητες που προάγουν την υγεία, όπως αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντικαρκινογόνες, αντιυπερτασικές, αντιμεταλλαξιγόνες και αντιαγγειογενετικές επιδράσεις (12).

Τριάντα δύο συστατικά (15 μονοτερπένια που αντιπροσωπεύουν το 33,2-62,8 % και 17 σεσκιτερπένια που αντιπροσωπεύουν το 25,2-51,2 % του συνόλου των πτητικών) προσδιορίστηκαν ως αρωματικά συστατικά αποξηραμένου φυτικού υλικού του σιδερίτη. Τριάντα συστατικά {14 μονοτερπένια , 2 αλκοόλες και 14 σεσκιτερπένια } αναγνωρίστηκαν ως συστατικά αρώματος στα φρέσκα εναέρια μέρη του τσαγιού. Τα κυρίαρχα συστατικά ήταν το τρανσκαρυοφυλλένιο, το β-πινένιο, το α-πινένιο και η 1-οκτεν-3-όλη, τα οποία βρέθηκαν μόνο στα φρέσκα δείγματα. Στα εναέρια τμήματα του τσαγιού 43 συστατικά εντοπίστηκαν στα αποξηραμένα δείγματα {22 μονοτερπένια , 21 σεσκιτερπένια }, 29 συστατικά {15 μονοτερπένια και 14 σεσκιτερπένια } στα αντίστοιχα φρέσκα δείγματα. Τα κυρίαρχα συστατικά σε όλα τα δοκιμασμένα δείγματα ήταν τα : β-πινένιο, α-πινένιο, α-κοπαένιο, σαμπινένιο και λιμονένιο. Μόνο μικρές διαφορές υπήρχαν στην ποιοτική σύνθεση των πτητικών αρωμάτων μεταξύ του ξηρού και του φρέσκου φυτικού υλικού (13). Το προϊόν επίσης είναι ιδιαίτερα δημοφιλές ως πρόσθετο στη βιομηχανία τροφίμων για ειδικά τρόφιμα.

2.4. Βιοδράσεις τσαγιού

Ο σιδερίτης (Sideritis) έχει πολλές βιοδραστικές ιδιότητες, οι οποίες τον καθιστούν δημοφιλές φαρμακευτικό βότανο στην παραδοσιακή ιατρική. Ακολουθούν ορισμένες από τις σημαντικότερες βιοδραστικές του δράσεις:

Αντιφλεγμονώδεις Ιδιότητες: Οι φαινολικές ενώσεις και τα φλαβονοειδή του σιδερίτη μπορούν να μειώσουν τη φλεγμονή, καθιστώντας το χρήσιμο για την ανακούφιση από φλεγμονώδεις παθήσεις.

Αντιοξειδωτική Δράση: Η παρουσία αντιοξειδωτικών συστατικών προστατεύει τα κύτταρα από την οξείδωση και το οξειδωτικό στρες, το οποίο σχετίζεται με πολλές χρόνιες ασθένειες.

Ανοσοενισχυτική Δράση: Ο σιδερίτης έχει βρεθεί ότι ενισχύει την ανοσολογική απόκριση, βοηθώντας το σώμα να καταπολεμήσει μολύνσεις και ασθένειες.

Αναλγητικές Ιδιότητες: Έχει παρατηρηθεί ότι ο σιδερίτης μπορεί να έχει ήπιες αναλγητικές ιδιότητες, προσφέροντας ανακούφιση από τον πόνο.

Καταπραϋντικές Ιδιότητες: Συχνά χρησιμοποιείται για την ανακούφιση από άγχη και ήπιες καταθλιπτικές καταστάσεις, λόγω της καταπραϋντικής του δράσης.

Πεπτικές Ιδιότητες: Έχει χρησιμοποιηθεί παραδοσιακά για τη βελτίωση της πέψης και την ανακούφιση από γαστρεντερικές διαταραχές.

Αντιμικροβιακές Ιδιότητες: Έχει αναφερθεί ότι διαθέτει αντιμικροβιακή δράση, βοηθώντας στην καταπολέμηση παθογόνων μικροοργανισμών.

3. Ο κρόκος Κοζάνης (σαφράν)



Εικόνα 6. Κρόκος Κοζάνης

3.1.Εισαγωγή

Ο κρόκος είναι ένα μπαχαρικό που λαμβάνεται από τα αφυδατωμένα στίγματα του λουλουδιού *Crocus sativus* Linnaeus, μέλος της οικογένειας των Iridaceae. Είναι το αποξηραμένο μακρόστενο στίγμα του μπλε-μωβ λουλουδιού σαφράν (14). Το όνομα του σαφράν προέρχεται από την αραβική λέξη κίτρινο, ένα όνομα που αντανακλά την υψηλή συγκέντρωση καροτενοειδών που υπάρχουν σε στίγματα των ανθέων του κρόκου που συμβάλλουν περισσότερο στο χρωματικό προφίλ αυτού του μπαχαρικού. Ο κρόκος καλλιεργήθηκε για πρώτη φορά στο Ιράν, όπου σήμερα περίπου το 90% της παγκόσμιας παραγωγής προέρχεται από εκεί. Άλλες χώρες παραγωγής είναι η Ισπανία, η Ελλάδα, η Ιταλία, το Μαρόκο, η Αίγυπτος, το Ισραήλ, η Νέα Ζηλανδία, η Αυστραλία, το Πακιστάν και η Ινδία.

3.2.Παραγωγή κρόκου Κοζάνης

Το είδος κρόκου που καλλιεργείται συστηματικά σε ολόκληρο τον κόσμο είναι ο εδώδιμος ή ήμερος κρόκος ή όπως είναι γνωστός στη διεθνή επιστημονική ορολογία *Crocus sativus* Linnaeus. Αποτελείται ονομαστικά από τρία τμήματα τους βολβούς, τα άνθη, από τα οποία προκύπτουν τρία στίγματα μήκους 2,5-3 εκατοστών, και τα φύλλα (15). Τα άνθη του κρόκου εμφανίζονται μόνο μία φορά ετησίως, στα μέσα Οκτωβρίου για 20 έως 25 ημέρες (16,17). 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 στιγμάτων και των σημύων από τα πέταλα. Σε ειδικό τραπέζι και με τη βοήθεια ενός ηλεκτρικού ανεμιστήρα λαμβάνει χώρα ο διαχωρισμός αυτός (18). Το πιο σημαντικό και απαιτητικό στάδιο στην παραγωγή του κρόκου αποτελεί η ξήρανση, διεργασία που αποσκοπεί στην μείωση της υγρασίας για την αποφυγή ενζυμικής και μικροβιακής δράσης και επιμήκυνση του χρόνου ζωής του προϊόντος (19). Στην περίπτωση ορθής εφαρμογής, ο κρόκος 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 (18). 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 (18).

Οι διαφορετικοί πολιτισμοί μαζί με τα γεωκλιματικά χαρακτηριστικά της επικράτειας καθορίζουν μια διαφορετική χημική σύσταση που χαρακτηρίζει το τελικό προϊόν, καθιστώντας το ξεχωριστό από τα άλλα. Επιπλέον, αλλαγές στις διαδικασίες παραγωγής ενδέχεται να τροποποιήσουν έντονα την τελική σύνθεση των χημικών συστατικών. Το σαφράν είναι ένα από τα ακριβότερα μπαχαρικά στον κόσμο, αλλά το υψηλό κόστος οδηγεί σε υψηλό ποσοστό παραχάραξης.

Το επιστημονικό ενδιαφέρον της κοινότητας για αυτό το προϊόν, ωστόσο, δεν περιορίζεται στη διασφάλιση της αυθεντικότητάς του στον καταναλωτή. Προηγμένες φαρμακολογικές μελέτες έχουν στην πραγματικότητα τονίσει τις πολυάριθμες ευεργετικές του επιπτώσεις στην υγεία, συμπεριλαμβανομένης μιας νευροπροστατευτικής δραστηριότητας στους φωτοϋποδοχείς του αμφιβληστροειδούς που υφίστανται σε οξειδωτικό στρες (19).

Υπήρξαν ενδιαφέροντα στοιχεία που λαμβάνονται σε κλινικές δοκιμές με ασθενείς που υποφέρουν από ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας (AMD) και τα αποτελέσματα είναι πολλά υποσχόμενα.

Οι αναλύσεις χημικής σύνθεσης έχουν αποκαλύψει μια σύνθεση σαφράν με περίπου 10 % υγρασία, 12 % πρωτεΐνη, 5 % λιπαρά, 5 % μέταλλα, 5 % ακατέργαστες φυτικές ίνες και 63% σάκχαρα συμπεριλαμβανομένου του αμύλου, αναγωγικών σακχάρων, πεντοζάνες, κόμμεα, πηκτίνη και δεξτρίνες (% w/w). Ριβοφλαβίνη και βιταμίνες θειαμίνης έχουν επίσης εντοπιστεί στο σαφράν (14).

3.3 Χημική σύσταση κρόκου Κοζάνης

Η χημεία του σαφράν είναι πολύπλοκη. Αυτό το μπαχαρικό έχει πρωτογενείς μεταβολίτες, οι οποίοι είναι πανταχού παρόντες στη φύση, όπως υδατάνθρακες, μέταλλα, λίπη, βιταμίνες, αμινοξέα και πρωτεΐνες. Ένας μεγάλος αριθμός από τις ενώσεις ανήκουν σε διαφορετικές κατηγορίες δευτερογενών μεταβολιτών, προϊόντα του μεταβολισμού που δεν είναι πανταχού παρόντα, αλλά είναι σημαντικά για την ανάπτυξη ή την αναπαραγωγή του οργανισμού, όπως καροτενοειδή, μονοτερπένια, και φλαβονοειδή, συμπεριλαμβανομένων κυρίως των ανθοκυανινών .

Τα καροτενοειδή είναι τα πιο σημαντικά συστατικά του μπαχαρικού, από τα οποία προέρχεται το χρώμα του. Οι κροκίνες είναι μια οικογένεια καροτενοειδών ασυνήθιστα διαλυτά στο νερό καθώς είναι μονο- και δι-γλυκοζυλιωμένοι εστέρες του δικαρβοξυλικού οξέος κροκετίνης που αποτελούν το 3,5 % του βάρους των στιγμάτων στο φυτό.

Μεταξύ των προϊόντων οξείδωσης των καροτενοειδών, βρίσκουμε δύο ενώσεις: την πικροκροκίνη και την σαφρανάλη που ευθύνονται για την πικράδα και την αρωματική αντοχή του μπαχαρικού, αντίστοιχα (19).

3.4. Βιοδράσεις κρόκου Κοζάνης

Ο κρόκος Κοζάνης, είναι γνωστός για τις πολλές βιοδραστικές του ιδιότητες. Ακολουθούν οι κυριότερες βιοδραστικές δράσεις του κρόκου Κοζάνης:

Αντιοξειδωτική Δράση: Ο κρόκος περιέχει ισχυρές αντιοξειδωτικές ενώσεις, όπως η κροκίνη και η σαφρανάλη, οι οποίες βοηθούν στην προστασία των κυττάρων από τις ελεύθερες ρίζες και το οξειδωτικό στρες.

Αντιφλεγμονώδεις Ιδιότητες: Ο κρόκος έχει φανεί ότι μειώνει τη φλεγμονή, γεγονός που μπορεί να βοηθήσει σε παθήσεις όπως η αρθρίτιδα και άλλες φλεγμονώδεις διαταραχές.

Αντικαταθλιπτική Δράση: Μελέτες έχουν δείξει ότι ο κρόκος μπορεί να έχει ήπιες αντικαταθλιπτικές ιδιότητες, βελτιώνοντας τη διάθεση και μειώνοντας τα συμπτώματα της κατάθλιψης.

Ενίσχυση Μνήμης και Συγκέντρωσης: Ορισμένες έρευνες υποδεικνύουν ότι ο κρόκος μπορεί να βελτιώσει τη μνήμη και τη γνωστική λειτουργία, καθιστώντας τον ενδιαφέροντα για την πρόληψη της άνοιας.

Αντιμικροβιακές Ιδιότητες: Έχει αποδειχθεί ότι έχει δράση κατά ορισμένων παθογόνων μικροοργανισμών, καθιστώντας τον χρήσιμο σε ορισμένες θεραπείες.

Πεπτικές Ιδιότητες: Συχνά χρησιμοποιείται για την ανακούφιση από πεπτικές διαταραχές και την προώθηση της υγείας του πεπτικού συστήματος.

Αναλγητικές Ιδιότητες: Μπορεί να έχει ήπιες αναλγητικές δράσεις, προσφέροντας ανακούφιση από τον πόνο.

Οι βιοδραστικές αυτές ιδιότητες καθιστούν τον κρόκο Κοζάνης πολύτιμο όχι μόνο ως μπαχαρικό στη μαγειρική, αλλά και ως φυσικό φάρμακο σε παραδοσιακές θεραπείες.

4. 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. 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 (30).

5. Σκοπός

Σκοπός της μελέτης αυτής είναι η ανάπτυξη νέων προϊόντων τσίπουρου, με προσθήκη τσαγιού και κρόκου με στόχο τα προϊόντα να παρουσιάζουν αυξημένη αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση, όπως και θετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

B. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1.Αντιδραστήρια – Σκεύη – Όργανα – Προϊόντα

1.1 Αντιδραστήρια

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 ≥ 37 %, Ferric chloride 97 %, 1,10-Phenanthroline monohydrate $>99,5$ %, 4-Methyl-2-pentanol 99% (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) $\geq 99,0\%$ 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).

LOX in boron buffer 100.000n/ml $c=0,2M$, boron buffer $0,2M$ PH=9, Linoleic acid (LIN) 4,12 mm.

Παρασκευή αντιδραστηρίων:

- Διάλυμα Ca(OH)₂ 10 % w/v

Σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL φέρονται 14,8 g στερεού Ca(OH)₂ τα οποία προηγουμένως έχουν αναδευτεί με μικρή ποσότητα νερού σε ποτήρι ζέσεως με μαγνητάκι. Η φιάλη συμπληρώνεται με H₂O μέχρι τη χαραγή. Το διάλυμα διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου.

- Διάλυμα KOH 1M

Σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL προστίθενται 5,61 g στερεού ΚΟΗ. Η φιάλη συμπληρώνεται με H_2O και αναδεύεται. Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

- Διάλυμα H_2SO_4 25 %

Σε ογκομετρική φιάλη των 250 mL φέρονται αρχικά 100mL H_2O και σταδιακά με συνεχή ανάδευση με το χέρι 65,8 mL διαλύματος H_2SO_4 95 %. Η φιάλη συμπληρώνεται με H_2O . Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

- Διάλυμα αμύλου 1 % w/v

Ζυγίζονται 5g στερεού αμύλου σε ποτήρι ζέσεως και διαλύονται σε 500 mL απιονισμένου H_2O . Το μίγμα βράζει υπό μαγνητική ανάδευση για 10 min . Μετά από ψύξη, συμπληρώνεται με H_2O μέχρι ενός λίτρου. Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και πρέπει να ανανεώνεται ανά τακτά χρονικά διαστήματα .

- Διάλυμα NaOH 0,05M

Σε ποτήρι ζέσεως των 250 mL ζυγίζονται 0,2 g NaOH . Προστίθενται περίπου 75 mL απιονισμένου νερού και πραγματοποιείται έντονη ανάδευση με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα μέχρι να διαλυθεί πλήρως το NaOH. Στη συνέχεια το διάλυμα μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL. Γίνονται 2-3 εκπλύσεις του ποτηριού ζέσεως με απιονισμένο νερό, ώστε να υπάρξει ποσοτική μεταφορά και τέλος η ογκομετρική συμπληρώνεται μέχρι την χαραγή με απιονισμένο νερό. Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

- Διάλυμα δεικτών

Σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL μεταφέρονται 0,01 g ινδικοκαρμίνης και 0,01 g ερυθρού της φαινόλης. Διαλύονται σε 4 mL απιονισμένου νερού και κατόπιν η φιάλη συμπληρώνεται με αιθανόλη μέχρι τη χαραγή .

- Διάλυμα αιθανόλης 40 %

Σε ογκομετρικό κύλινδρο των 100 mL φέρονται 40 mL αιθανόλης και 60 mL απιονισμένου νερού. Η διαδικασία αυτή εκτελείται όσες φορές χρειάζεται για να παρασκευαστεί ο επιθυμητός όγκος του διαλύτη. Το διάλυμα φυλάσσεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

- Διάλυμα Na_2CO_3 20 %

Σε 100mL διαλύματος . περιέχονται 20 gr Na_2CO_3

Σε ποτήρι ζέσης ζυγίζεται η παραπάνω ποσότητα ανθρακικού νατρίου και προστίθενται περίπου 80mL απιονισμένου νερού. Το διάλυμα αναδεύεται και φέρεται με την βοήθεια γυάλινου χωνιού σε ογκομετρική φιάλη των 100mL. Το ποτήρι ζέσης εκπλένεται 2-3 φορές και συμπληρώνεται ο όγκος της ογκομετρικής φιάλης μέχρι την χαραγή. Ακολουθεί έντονη ανάδευση ώστε να διαλυθεί πλήρως το ανθρακικό νάτριο. Αφού ετοιμαστεί το διάλυμα μεταφέρεται σε γυάλινο περιέκτη των 100mL και αποθηκεύεται σε θερμοκρασία δωματίου. Μπορεί να χρειαστούν υπέρηχοι.

- Διάλυμα FeCl_3 (3mM σε 0,05M HCl)

0,0097 g FeCl_3 φέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 20mL και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι την χαραγή με HCl 0,05 M. Το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο.

- Διάλυμα TPTZ (2,4,6-τρι(2-πυριδυλ)-1,3,5-τριαζίνη) (1 mM σε 0,05 M HCl)

0,0078 g TPTZ φέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι την χαραγή με HCl 0,05M. Το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο.

- Διάλυμα HCl 0,05M σε νερό

Σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL φέρονται λίγα mL H_2O και 208 μL HCl 37%. Η φιάλη συμπληρώνεται με H_2O . Το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο.

- buffer βορικού 0,2 M $\text{pH}=9,0$

Σε χλιαρό απιονισμένο νερό διαλύονται 1,236 g βορικού οξέος 0,2M και προστίθενται 0,217 g NaOH που έχει διαλυθεί σε λίγη ποσότητα νερού. Μεταφέρω τα διαλύματα σε ογκομετρική φιάλη των 100mL και η φιάλη συμπληρώνεται με νερό. Ρυθμίζεται το pH στα 9 με NaOH 0,1N.

- LOX 100N

Σε erendorf των 1,5 mL φέρονται 990 μL buffer βορικού 0.2M $\text{pH}=9,0$ και 10 μL πυκνό LOX. Το διάλυμα διατηρείται στην κατάψυξη για 1-2 μέρες.

1.2. 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). Αλκοολόμετρο κλίμακας 0-100. Θερμόμετρο.

Σκεύη

Σφαιρική φιάλη των 500 mL. Ογκομετρικός κύλινδρος των 250 mL. Κωνική φιάλη των 250 & 500 mL. Εσφυρισμένη κωνική φιάλη των 250 mL. σωληνάκια erpendorf των 1,5 ml και των 2 mL. Στατό. Ογκομετρική φιάλη των 10, 50 και των 100 mL. Προχοΐδα των 25 mL διαβάθμισης 0,1 και προχοΐδα των 10 mL διαβάθμισης 0,1. Σιφώνια των 1,5 , 10 & 25 mL. Κάψα πορσελάνης κυλινδρικού πυθμένα. Γυάλινα διάφανα φιαλίδια χωρητικότητας 15 mL με βιδωτό πώμα. Σκουρόχρωμα φιαλίδια των 4 mL με πώμα. Αυτόματες πιπέττες των 20-200 μ L και 100-1000 μ L. Πιπέττα Παστέρ υάλινη. Πιπέττα πλαστική/Σταγονόμετρο. Κυψελίδα υάλινη οπτικής διαδρομής 10 mm. Κυψελίδα χαλαζία οπτικής διαδρομής 10 mm. Ψυκτήρας. Μαγνητάκια.

1.3.Προϊόντα

- Τσίπουρο αλκοόλης 40 %. Εσοδείας 2023, ποικιλίας *Ντεμπίνα*. ZOINOS WINERY. συσκευασία 200mL, Ηπείρου.
- Τσίπουρο αλκοόλης 40 %. Εσοδείας 2022. Τσιλιλή . συσκευασία 200 mL, Θεσσαλίας.
- Εκχύλισμα τσαγιού που λήφθηκε με διαλύτη 90:10 νερό / Αιθανόλη
- Εκχύλισμα κρόκου που λήφθηκε με διαλύτη 90:10 νερό / Αιθανόλη

2.Πειραματική πορεία

Ονομασία δειγμάτων :

T1t0: Τσίπουρο με προσθήκη τσαγιού σε μικρή συγκέντρωση σε χρόνο $t_0=0$ ημέρες.

T2t0: Τσίπουρο με προσθήκη τσαγιού σε μεγάλη συγκέντρωση σε χρόνο $t_0=0$ ημέρες.

K1t0: Τσίπουρο με προσθήκη κρόκου σε μικρή συγκέντρωση σε χρόνο $t_0=0$ ημέρες.

K2t0: Τσίπουρο με προσθήκη κρόκου σε μεγάλη συγκέντρωση σε χρόνο $t_0=0$ ημέρες.

M1t0: μάρτυρας 1 (τσίπουρο χωρίς προσθήκη) σε χρόνο $t_0=0$ ημέρες.

M2t0: μάρτυρας 2 (τσίπουρο χωρίς προσθήκη) σε χρόνο $t_0=0$ ημέρες.

2.1. Ανάπτυξη προϊόντων εμπλουτισμένου τσίπουρου

Έλαβαν χώρα αναλύσεις στο αρχικό τσίπουρο αλκοόλης 40 % vol. Για την παρασκευή των εμπλουτισμένων προϊόντων τσίπουρου πραγματοποιήθηκαν τα εξής:

Για το T1t0: Ζυγίστηκαν τα απαιτούμενα gr εκχυλίσματος και μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL. Η φιάλη συμπληρώθηκε με τσίπουρο μέχρι τη χαραγή. Στη συνέχεια έγινε έντονη ανάδευση με βορτεξ μέχρι να επιτευχθεί πλήρης ομογενοποίηση του διαλύματος. Έπειτα, το διάλυμα διαμοιράστηκε σε τέσσερα μπουκαλάκια των 15 mL (12 mL στο καθένα). Ένα για την ανάλυση σε χρόνο t_0 και άλλα 3 για μεταγενέστερους χρόνους τα οποία αποθηκεύτηκαν στον ψυχρό θάλαμο σε θερμοκρασία 15 °C .

Για το T2t0: Ζυγίστηκαν τα απαιτούμενα gr εκχυλίσματος και μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL. Η φιάλη συμπληρώθηκε με τσίπουρο μέχρι τη χαραγή. Στη συνέχεια έγινε έντονη ανάδευση με βορτεξ μέχρι να επιτευχθεί πλήρης ομογενοποίηση του διαλύματος. Έπειτα, το διάλυμα διαμοιράστηκε σε τέσσερα μπουκαλάκια των 15 mL (12 mL στο καθένα), ένα για την ανάλυση σε χρόνο t_0 και άλλα 3 για μεταγενέστερους χρόνους τα οποία αποθηκεύτηκαν στον ψυχρό θάλαμο σε θερμοκρασία 15 °C .

Για το K1t0: Ζυγίστηκαν τα απαιτούμενα gr εκχυλίσματος και μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL. Η φιάλη συμπληρώθηκε με τσίπουρο μέχρι τη χαραγή. Στη συνέχεια έγινε έντονη ανάδευση με βορτεξ μέχρι να επιτευχθεί πλήρης ομογενοποίηση του διαλύματος. Έπειτα, το διάλυμα διαμοιράστηκε σε τέσσερα μπουκαλάκια των 15 mL (12 mL στο καθένα), ένα για την ανάλυση σε χρόνο t_0 και άλλα 3 για μεταγενέστερους χρόνους τα οποία αποθηκεύτηκαν στον ψυχρό θάλαμο σε θερμοκρασία 15 °C .

Για το K2t0: Ζυγίστηκαν τα απαιτούμενα gr εκχυλίσματος και μεταφέρθηκαν σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL. Η φιάλη συμπληρώθηκε με τσίπουρο μέχρι τη χαραγή. Στη συνέχεια έγινε έντονη ανάδευση με βορτεξ μέχρι να επιτευχθεί πλήρης ομογενοποίηση του διαλύματος. Έπειτα, το διάλυμα διαμοιράστηκε σε τέσσερα μπουκαλάκια των 15 mL (12 mL στο καθένα), ένα για την ανάλυση σε χρόνο t_0 και άλλα 3 για μεταγενέστερους χρόνους τα οποία αποθηκεύτηκαν στον ψυχρό θάλαμο σε θερμοκρασία 15 °C



Εικόνα 7. Περιέκτες που περιέχουν τον μάρτυρα Ηπείρου, τον μάρτυρα ηπείρου με προσθήκη εκχυλίσματος τσαγιού σε μικρή και μεγάλη συγκέντρωση

Αριστερά φαίνεται ο μάρτυρας χωρίς κάποια προσθήκη, στη μέση ο μάρτυρας με την προσθήκη τσαγιού μικρής συγκέντρωσης, ενώ δεξιά με την προσθήκη της μεγάλης συγκέντρωσης



Εικόνα 8. Περιέκτες που περιέχουν τον μάρτυρα Θεσσαλίας, τον μάρτυρα Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μικρή και μεγάλη συγκέντρωση

Αριστερά φαίνεται ο μάρτυρας χωρίς κάποια προσθήκη, στη μέση ο μάρτυρας με την προσθήκη κρόκου μικρής συγκέντρωσης, ενώ δεξιά με την προσθήκη της μεγάλης συγκέντρωσης

3. Μέθοδοι ανάλυσης

3.1. Μέθοδοι για βασική σύσταση.

Προσδιορισμός Αλκοόλης

Σε σφαιρική φιάλη των 500 mL, μεταφέρονται 200 mL δείγματος τσίπουρου, 10 mL Ca(OH)_2 10 % (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. Ακολούθως, 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 (23).



Εικόνα 9. Διάταξη απλής απόσταξης.

Προσδιορισμός Θειώδη Ανυδρίτη

Ολικός θειώδης ανυδρίτης

Σε κωνική φιάλη των 250 mL φέρονται 25 mL δείγματος και 12,5 mL διαλύματος KOH 1 M. 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 0,01 M (σε προχοΐδα των 10 mL και διαβάθμιση 0,1mL) και δείκτη άμυλο μέχρι το χρώμα του διαλύματος να γίνει κυανό (24).

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 0,01 M (σε προχοίδα των 10 mL και διαβάθμιση 0,1 mL) και 1 mL δείκτη άμυλο, μέχρι το χρώμα του διαλύματος να γίνει κυανό .

Ο υπολογισμός του ελεύθερου θειώδους γίνεται ως εξής :

$$\text{ελεύθερος SO}_2 \text{ (mg/L)} = (V \cdot N \cdot 32 \cdot 1000) / U = 12.8 \cdot V$$

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

Ο υπολογισμός του ελεύθερου θειώδους γίνεται ως εξής :

$$\text{ολικός SO}_2 \text{ (mg/L)} = (V \cdot N \cdot 32 \cdot 1000) / U = 12.8 \cdot V$$

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 mL (24).

Προσδιορισμός Οξύτητας (Ολικής – Σταθερής – Πτητικής)

Ολική Οξύτητα

Σε κωνική φιάλη των 500 mL μεταφέρονται με σιφώνιο 25 mL δείγματος τσίπουρου (πραγματοποιείται ανακίνηση για την απομάκρυνση CO_2). Προστίθενται 200 mL απιονισμένου νερού που προηγουμένως έχει υποστεί βρασμό και ψύξη και 2-6 σταγόνες από το διάλυμα των δεικτών. Ακολουθεί ογκομέτρηση (σε προχοίδα των 10 mL και διαβάθμιση 0,1 mL) με διάλυμα NaOH 0,05 M μέχρι το κίτρινο-πράσινο χρώμα του διαλύματος να μετατραπεί σε βιολετί. 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 (25):

$$\text{Ολική οξύτητα (mg/L ως οξικό οξύ)} = 120 \times n_1 \text{, όπου } n_1 \text{ ο όγκος του διαλύματος NaOH 0,05 M που καταναλώθηκε}$$

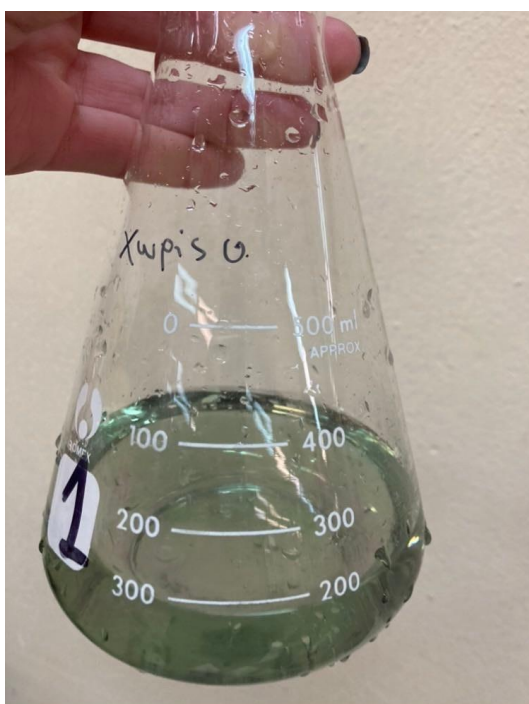
Σταθερή Οξύτητα

Σε κάψα πορσελάνης μεταφέρονται με σιφώνιο 25 mL δείγματος τσίπουρου. Ακολουθεί μεταφορά σε ζέον υδατόλουτρο και το δείγμα αφήνεται προς εξάτμιση στην επιφάνεια του υδατόλουτρου (για περίπου 45 min). Μόλις ολοκληρωθεί η εξάτμιση, το υπόλειμμα μεταφέρεται σε ξηραντήρα για ψύξη. Ακολουθώντας, το υπόλειμμα μεταφέρεται ποσοτικά με απιονισμένο νερό σε ογκομετρική φιάλη των 100mL. Το δείγμα μεταφέρεται σε κωνική φιάλη των 250 mL, προστίθενται 2-6 σταγόνες από το διάλυμα των δεικτών κι ακολουθεί ογκομέτρηση με διάλυμα NaOH 0,05 M, (σε προχοΐδα των 10 mL και διαβάθμιση 0,1 mL) 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 (25).

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 25mL). όπου n_2 ο όγκος του διαλύματος NaOH 0,05 M που καταναλώθηκε.

Πτητική Οξύτητα

Η πτητική οξύτητα προκύπτει από την αφαίρεση της σταθερής οξύτητας από την ολική οξύτητα .



Εικόνα 10. Χρώμα διαλύματος πριν (αριστερά) και μετά την ογκομέτρηση (μοβ) με διάλυμα NaOH 0.05 M στη διαδικασία προσδιορισμού της οξύτητας.

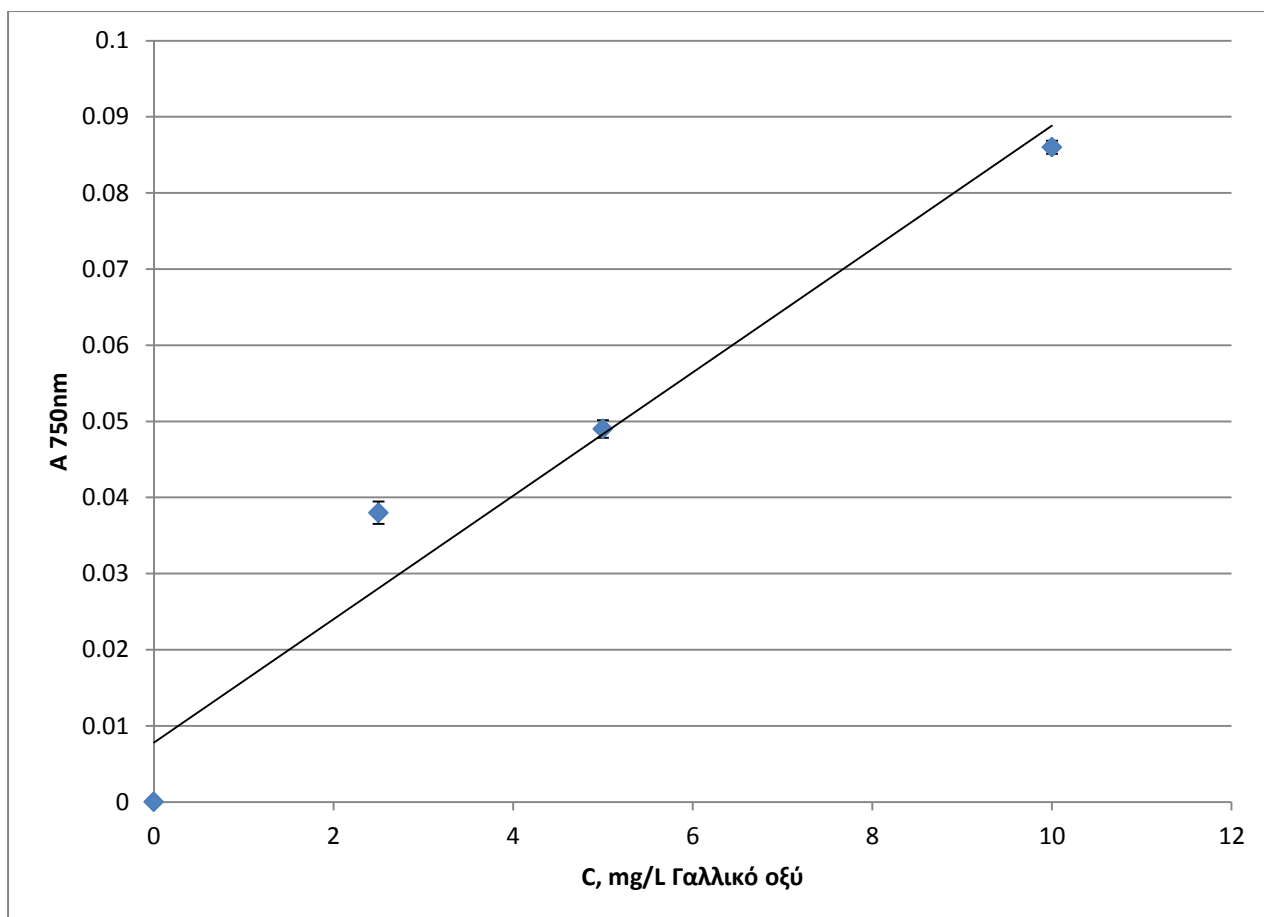
Η πτητική οξύτητα προκύπτει από την αφαίρεση της σταθερής οξύτητας από την ολική οξύτητα ως εξής :

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

3.2. Μέθοδοι προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης

Προσδιορισμός Ολικών Φαινολικών – Μέθοδος Folin

Αρχικά πριν τις μετρήσεις κατασκευάζεται μία πρότυπη καμπύλη με γαλλικό οξύ. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης παρασκευάζεται ένα αρχικό διάλυμα γαλλικού οξέος 1.000mg/L. Σε ογκομετρική φιάλη των 20 mL προστίθενται 0,0200 g γαλλικού οξέος και η φιάλη συμπληρώνεται με αιθανόλη 40 % μέχρι τη χαραγή. Στη συνέχεια χρησιμοποιώντας το αρχικό αυτό διάλυμα παρασκευάζονται διαλύματα: 1,25, 2,5, 5, 10, 25, 50, 75 και 100 mg/L με τελικό όγκο 5 mL. Αυτά χρησιμοποιούνται αντί για δείγμα και ακολουθείται η πειραματική πορεία της μεθόδου. Στη συνέχεια από τις απορροφήσεις που λαμβάνονται κατασκευάζεται το διάγραμμα συγκέντρωσης-απορρόφησης και λαμβάνεται η εξίσωση της ευθείας η οποία θα χρησιμοποιηθεί για την εύρεση της συγκέντρωσης στα δείγματα.



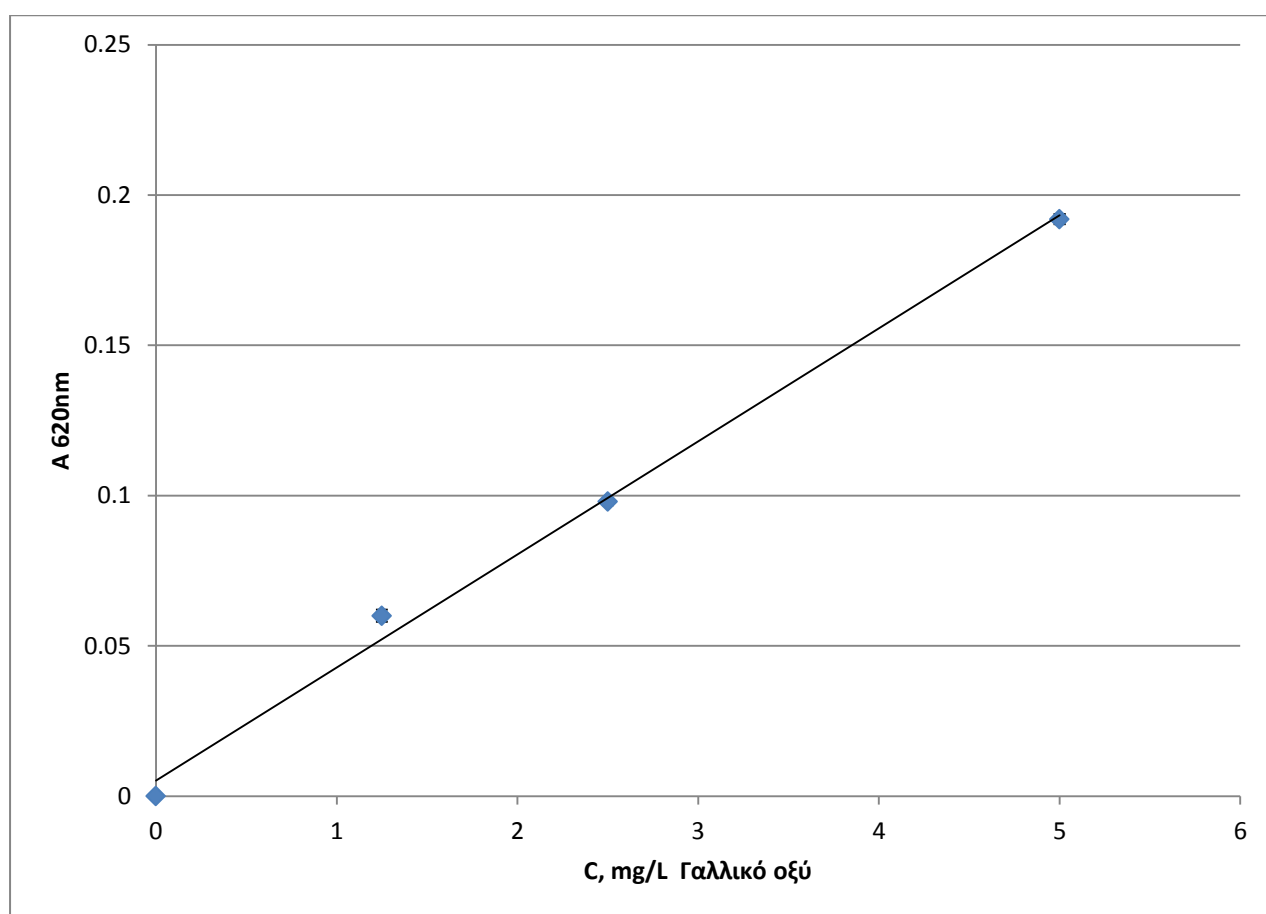
Εικόνα 11. Τυπικό διάγραμμα πρότυπης καμπύλης με τυπική απόκλιση των τριών επαναλήψεων με γαλλικό οξύ ως προς τη μέθοδο Folin με $y=0,0081x+0,0078$ και $R^2 = 0,9553$

Για τα δείγματα, σε σωλήνα Erpendorf των 1,5mL εισήχθηκαν 700 μL απιονισμένου νερού, 100 μL δείγματος τσίπουρου και 50 μL αντιδραστηρίου Folin–Ciocalteu. Ακολούθησε ανάδευση (*vortex*). Μετά από 1 min ακριβώς, προστέθηκαν 150 μL διαλύματος Na_2CO_3 20 % κι ακολούθησε ανάδευση (*vortex*). Παράλληλα, ετοιμάστηκε και το τυφλό διάλυμα το οποίο περιείχε 100 μL αιθανόλης 40 % αντί του δείγματος. Τα μείγματα αφέθηκαν στο σκοτάδι (ντουλάπι) για 60 min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και μετά το πέρας των 60 min, μετρήθηκε η απορρόφηση στα 750 nm με γυάλινη κυψελίδα του 1 cm. Ο μηδενισμός του φωτομέτρου πραγματοποιήθηκε με το τυφλό διάλυμα.

Η συγκέντρωση σε γαλλικό οξύ προκύπτει αν βάλουμε την απορρόφηση στην εξίσωση της πρότυπης και υπολογίσουμε το X .

Μέθοδος αναγωγής Fe^{3+} (FRAP)

Αρχικά πριν τις μετρήσεις κατασκευάζεται μία πρότυπη καμπύλη με γαλλικό οξύ. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης παρασκευάζεται ένα αρχικό διάλυμα γαλλικού οξέος 1.000 mg/L. Σε ογκομετρική φιάλη των 20 mL προστίθενται 0,0200 g γαλλικού οξέος και η φιάλη συμπληρώνεται με αιθανόλη 40 % μέχρι τη χαραγή. Στη συνέχεια χρησιμοποιώντας το αρχικό αυτό διάλυμα παρασκευάζονται διαλύματα: 1, 25, 2,5, 5, 10, 25, 50, 75 και 100 mg/L με τελικό όγκο 5 mL. Αυτά χρησιμοποιούνται αντί για δείγμα και ακολουθείται η πειραματική πορεία της μεθόδου. Στη συνέχεια από τις απορροφήσεις που λαμβάνονται κατασκευάζεται το διάγραμμα συγκέντρωσης-απορρόφησης και λαμβάνεται η εξίσωση της ευθείας η οποία θα χρησιμοποιηθεί για την εύρεση της συγκέντρωσης στα δείγματα.



Εικόνα 12. Τυπικό διάγραμμα πρότυπης καμπύλης με τυπική απόκλιση με γαλλικό οξύ ως προς τη μέθοδο FRAP με: $y = 0,0376x + 0,0052$ και $R^2 = 0,9953$

Για το δείγμα προστίθενται 50 μL τσίπουρου και 50 μL FeCl_3 (3 mM σε 0,05 M HCl) αναμείχθηκαν καλά σε σωλήνα Eppendorf του 1,5 mL και ακολούθησε παραμονή για 30 min σε υδατόλουτρο στους 37°C. Έπειτα, στο μείγμα προστέθηκαν 900 μL διαλύματος

1 mM TPTZ σε 0,05 M HCl κι ακολούθησε ανάδευση σε vortex. Μετά από ακριβώς 10 min σε ηρεμία στο σκοτάδι μετρήθηκε η απορρόφηση στα 620 nm σε γυάλινη κυψελίδα. Για την μέτρηση της απορρόφησης κάθε δείγματος, το όργανο μηδενίστηκε με το αντίστοιχο τυφλό. Το τυφλό ετοιμάστηκε για κάθε δείγμα με τον ίδιο τρόπο, όμως προστέθηκε διάλυμα 0,05 M HCl αντί του διαλύματος τριχλωριούχου σιδήρου. Από τις τιμές που λήφθηκαν, καθώς και στις πρότυπες καμπύλες, αφαιρείται η τιμή που λαμβάνεται όταν ως δείγμα χρησιμοποιείται αιθανόλη 40 % (μάρτυρας) (28).

Στα δείγματα με τις προσθήκες τσαγιού, καθώς και στον μάρτυρα 1 έγινε αραιώση 1:2 με αιθανόλη 40 %, επομένως για την εύρεση της συγκέντρωσης σε γαλλικό οξύ θα γίνει πολλαπλασιασμός με το 2. Στα υπόλοιπα δείγματα δεν έγινε κάποια αραιώση.

Η συγκέντρωση σε γαλλικό οξύ προκύπτει αν βάλουμε την απορρόφηση στην εξίσωση της πρότυπης και υπολογίσουμε το X.

DPPH:

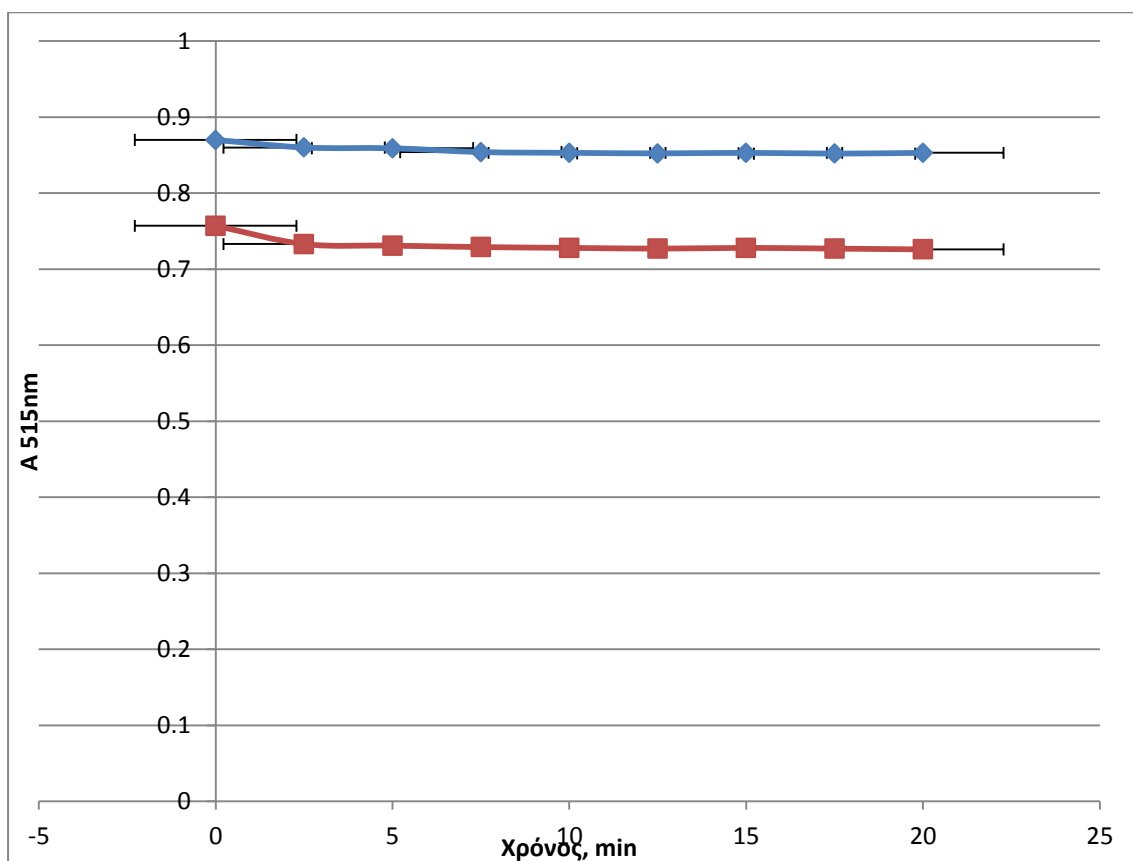
Έγινε αραιώση 1:20 στα δείγματα με τσάι και στον μάρτυρα 1 και 1:5 στα δείγματα με κρόκο και στον μάρτυρα 2 .

Σε γυάλινη κυψελίδα του 1 cm μεταφέρθηκαν 1000 μ L διαλύματος DPPH σε MeOH και 300 mL αραιωμένου δείγματος τσίπουρου. Παρακολουθήθηκε η κινητική της αντίδρασης στα 515nm για 20 min. Η μέτρηση άρχισε τη στιγμή της προσθήκης ($t=0$) του δείγματος. Ο μηδενισμός του φωτομέτρου πραγματοποιήθηκε με διάλυμα 1000 μ L μεθανόλης και 300 μ L αιθανόλης 40 %. Για το τυφλό του δείγματος (Control), αντί του δείγματος Τσίπουρου, προστέθηκαν 300 μ L αιθανόλης 40 % σε 1000 μ L μεθανολικού διαλύματος DPPH.

Η % αναστολή υπολογίζεται από τον ακόλουθο τύπο. σύμφωνα με τη σχέση που απέδειξαν οι Yen και Duh (1994):

$$\% \text{ αναστολή} = [(A_{c(0)} - A_{A(t)}) / A_{c(0)}] \times 100$$

όπου $A_{c(0)}$ είναι η απορρόφηση του τυφλού σε χρόνο $t=0$ κι $A_{A(t)}$ η απορρόφηση του δείγματος σε χρόνο t (29,30).



Εικόνα 13. Τυπικό διάγραμμα χρόνου-απορρόφησης της ρίζας, όπου φαίνεται και το τυπικό σφάλμα ανάμεσα στις τρεις επαναλήψεις για το control (μπλε) και για τυχαίο δείγμα (κόκκινο)

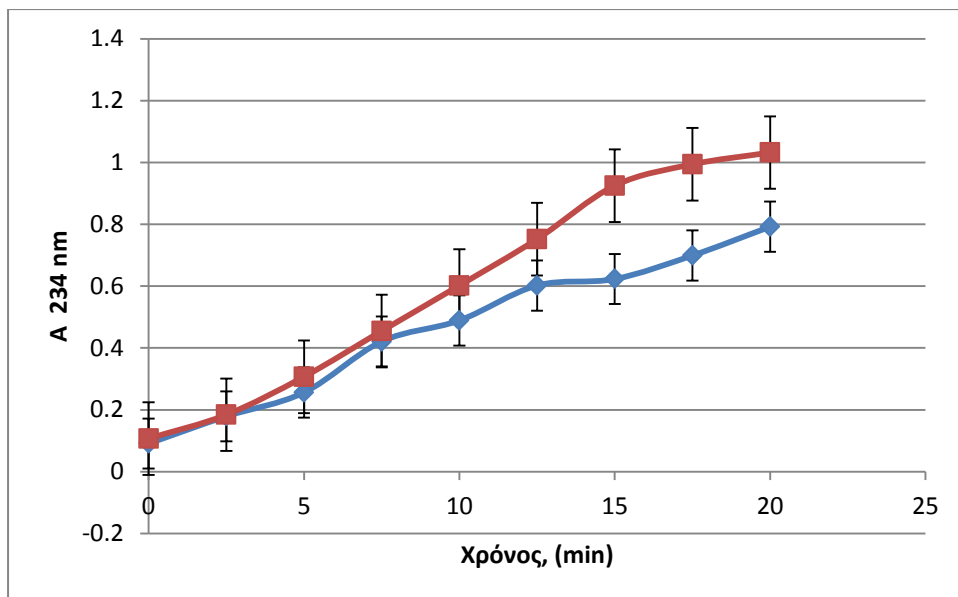
3.3. Μέθοδος προσδιορισμού αντιφλεγμονώδους δράσης

Αρχικά παρασκευάστηκε το control

Μέσα σε σωληνάκι erendorf προστέθηκαν 900 μL buffer βορικού, 100 μL αιθανόλης 40 % και 100 μL LOX. Ακολούθησε ανάδευση και παραμονή στο σκοτάδι για πέντε λεπτά. Μετά το πέρας του χρόνου προστέθηκαν 100 μL αιθανόλης 99,8 % για το τυφλό, ενώ για το δείγμα προστέθηκαν 100 μL LIN. Στη συνέχεια έγινε μέτρηση της απορρόφησης στα 234 nm για 20 λεπτά με κυψελίδα UV ώστε να παρατηρηθεί η κινητική της αντίδρασης, ενώ ο μηδενισμός έγινε με το τυφλό.

Το ίδιο ακριβώς εφαρμόστηκε και για τα δείγματα, αλλά αντί για αιθανόλη 40 %. χρησιμοποιήθηκε το αντίστοιχο δείγμα.

Η % αναστολή υπολογίζεται από τον τύπο: $(AC-AD)/AC \cdot 100\%$. όπου: AC η απορρόφηση του Control και AD η απορρόφηση του δείγματος σε συγκεκριμένο χρόνο.



Εικόνα 14. Τυπικό διάγραμμα χρόνου-απορρόφησης, όπου φαίνεται και το τυπικό σφάλμα ανάμεσα στις τρεις επαναλήψεις, με μπλε το control και με κόκκινο το τυχαίο δείγμα

3.4. Οργανοληπτικός έλεγχος

Πειραματική Πορεία:

Η οργανοληπτική αξιολόγηση έλαβε χώρα από δύο δοκιμαστές ως εξής:

Σε καλά αεριζόμενο χώρο, σε διάφανο ποτήρι μεταφέρθηκαν 5 mL δείγματος τσίπουρου και αξιολογήθηκαν όσον αφορά το άρωμα και τη γεύση από δύο δοκιμαστές, στους χρόνους 0, t1, t2 και t3.

3.5. Προσδιορισμός πτητικών ενώσεων με αέρια χρωματογραφία

Παρασκευή εσωτερικού προτύπου

Από το εμπορικό εσωτερικό πρότυπο (4-Methyl-2-pentanol 99%) μεταφέρθηκαν 4 mL σε σκουρόχρωμο μπουκαλάκι και αποθηκεύτηκαν στο ψυγείο. 94 μ L από το φιαλίδιο αυτό αραιώθηκαν με νερό σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL (προκύπτει διάλυμα 7,5g/L).

Παρασκευή του προς ανάλυση δείγματος

Σε σκουρόχρωμο μπουκαλάκι των 4 mL μεταφέρθηκαν 970 μ L από το προς ανάλυση δείγμα και 30 μ L από το εσωτερικό πρότυπο 7,5 g/L καθώς και μαγνητάκι ανάδευσης (τελική περιεκτικότητα σε εσωτερικό πρότυπο ήταν 150 mg/L (ppm)).

Ανάλυση πτητικών

Αρχικά πραγματοποιείται καθαρισμός της ίνας. Ως ίνα επιλέχθηκε η DVB/CAR/PDMS των 50/30 μ m (2cm) από την Supelco (Bellefonte, PA, USA), επειδή σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, συνδυάζει τα χαρακτηριστικά τριών διαφορετικών στατικών φάσεων που μπορούν να προσροφήσουν ένα ευρύ φάσμα πτητικών ενώσεων με διαφορετικές πολικότητες, όπως εστέρες, αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες και τερπένια.

Στη συνέχεια ακολουθεί η ανάλυση των δειγμάτων. Λαμβάνεται το εκάστοτε δείγμα από την κατάψυξη και αφήνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 15 λεπτά. Στη συνέχεια το δείγμα αφήνεται για εγκλιματισμό στους 40°C για 10 λεπτά υπό μαγνητική ανάδευση 500 rpm. Μετά το πέρας των δέκα λεπτών γίνεται εκχύλιση για 20 λεπτά και ακολούθως, μεταφέρεται στη θύρα έγχυσης του αέριου χρωματογράφου και παραμένει εκεί για 15 λεπτά ώστε να εκροφηθούν οι πτητικές ενώσεις. Οι χρωματογραφικές συνθήκες λειτουργίας που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι εξής:

Η μη πολική στήλη (DB5MS 60 m $\times$ 0,32 mm $\times$ 1 μ m) της Agilent J&W Scientific. Διατηρήθηκε αρχικά στους 40°C για 5 λεπτά, στη συνέχεια θερμαίνεται στους 200°C με ρυθμό 8°C/min, έπειτα στους 260°C με ρυθμό 15°C/min και τέλος διατηρήθηκε στους 260°C για 2 λεπτά. Χρησιμοποιήθηκε Solvent delay: 1,5 min – 4,50 min. Στη συνέχεια έγινε ανάλυση των πτητικών του δείγματος και λήφθηκε το αντίστοιχο χρωματογράφημα.

Η θερμοκρασία του ιντζέκτορα ήταν: 240 °C. Η πίεση εισόδου : 11,7 kPa, ο ρυθμός ροής στη στήλη: 1,2 mL/min, η ροή καθαρισμού 3 mL/min. Split ratio: 10:1. Η συνολική ροή : 6,6 mL/min. Το αέριο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Ήλιο (He) υψηλής καθαρότητας και η κεντρική πίεση : 600 kPa. Η θερμοκρασία της πηγής ιόντων ήταν: 230 °C και η θερμοκρασία σύζευξης: 260 °C. Τα φάσματα μάζας καταγράφηκαν στο εύρος μάζας m/z: 29-3000.

Η ταυτοποίηση των ενώσεων επιτεύχθηκε με τη χρήση του Wiley 275 και NIST 98 (Εθνικό Ινστιτούτο Προτύπων και Τεχνολογίας) φασματική βιβλιοθήκη μάζας (J. Wiley & Sons Ltd., Δυτικό Σάσεξ, Αγγλία). Μόνο οι ενώσεις που είχαν $\geq 80\%$ ομοιότητα με τη φασματική βιβλιοθήκη μάζας ταυτοποιήθηκαν.

Οι συγκεντρώσεις υπολογίστηκαν με τον ακόλουθο τύπο: $C_x = \text{Area}_x * C_i / \text{Area}_i$

όπου C_x = συγκέντρωση της άγνωστης ένωσης, C_i = συγκέντρωση του διαλύματος εσωτερικού προτύπου, Περιοχή = εμβαδόν κορυφής της άγνωστης ένωσης, και $Area_i$ = εμβαδόν κορυφής του διαλύματος εσωτερικού προτύπου). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως mg/L ή ppm.

Η ολοκλήρωση των κορυφών στο χρωματογράφημα πραγματοποιήθηκε με τις εξής παραμέτρους: το κατώφλι κλίσης (slope threshold) ορίστηκε στις 1000 μονάδες, ενώ το ελάχιστο πλάτος κορυφής (peak width) καθορίστηκε στις 3 μονάδες. Οι τιμές αυτές επιλέχθηκαν για να εξασφαλιστεί η αξιόπιστη αναγνώριση και διαχωρισμός των κορυφών, ελαχιστοποιώντας την πιθανότητα σύγχυσης μεταξύ θορύβου και πραγματικών σημάτων.

3. Επεξεργασία αποτελεσμάτων

Για όλα τα πειράματα έγιναν τρεις επαναλήψεις. 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 της εταιρίας IBM. Έγινε έλεγχος ακραίων τιμών για την επιλογή του παραμετρικού ή του μη παραμετρικού τεστ. Οι διαφορές μεταξύ των μέσων όρων εξετάστηκαν με τη μέθοδο ANOVA με τη βοήθεια του τεστ Duncan σε επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$. 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

1.1 Βασική σύσταση τσίπουρου Ηπείρου και Θεσσαλίας

Οι μάρτυρες των δύο τσίπουρων αναλύθηκαν ως προς τη βασική τους σύσταση, δηλαδή μετρήθηκε η αλκοόλη, ο θειώδης ανυδρίτης και η οξύτητα και έγινε σύγκριση μεταξύ των δύο δειγμάτων.

Πίνακας 1. Βασική σύσταση τσίπουρου Ηπείρου και τσίπουρου Θεσσαλίας.

	Ηπείρου	Θεσσαλίας
Αλκοόλη (20°C)	40 ^a ±0,0	40 ^a ±0
Ολικός θειώδης ανυδρίτης SO ₂ (mg/L)	210,8 ^b ±0,6	19,2 ^a ±0,0
Ελεύθερος θειώδης ανυδρίτης SO ₂ (mg/L)	17,9 ^b ±0,0	12,8 ^a ±0,0
Ολική οξύτητα(mg οξικού οξέος/L)	328,2 ^b ±0,9	212,4 ^a ±1,8
Σταθερή οξύτητα(mg οξικού οξέος/L)	58 ^b ±2	24 ^a ±0
Πτητική οξύτητα(mg οξικού οξέος/L)	270,2 ^b ±2,3	188,2 ^a ±1,5

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b δείχνουν την οριζόντια σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Όπως παρατηρούμε από τον πίνακα, το τσίπουρο της Ηπείρου έχει μεγαλύτερη συγκέντρωση σε θειώδη με τη διαφορά να είναι αρκετά μεγάλη κυρίως στη συγκέντρωση του ολικού θειώδη ανυδρίτη. Επίσης μεγάλη διαφορά φαίνεται να παρουσιάζουν τα δύο τσίπουρα, όσο αναφορά την οξύτητα, με το τσίπουρο της ηπείρου επίσης να έχει αρκετά μεγαλύτερες τιμές. (Αυτές οι παρατηρήσεις προκύπτουν από στατιστική επεξεργασία). Τα δύο τσίπουρα παρουσιάζουν το ίδιο ποσοστό αλκοόλης.

1.2.Αντιοξειδωτική δράση τσίπουρου Ηπείρου και Θεσσαλίας

Οι δύο μάρτυρες στη συνέχεια αναλύθηκαν, ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση και έγινε σύγκριση μεταξύ τους

Πίνακας 2: Αντιοξειδωτικής δράση τσίπουρου Ηπείρου-τσίπουρου Θεσσαλίας.

	Ηπείρου	Θεσσαλίας
Folin (mg/L ως γαλλικό οξύ)	11,19 ^b ±0,24	8,13 ^a ±0,03
FRAP(mg/L ως γαλλικό οξύ)	4,55 ^b ±0,16	0,89 ^a ±0,03
DPPH αρχική ταχύτητα δέσμευση της ρίζας (1 min)	7,28 ^a ±0,14	13,10 ^b ±0,13
DPPH ολική δέσμευση της ρίζας(20 min)	19,61 ^b ±0,05	15,90 ^a ±0,13

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b δείχνουν την οριζόντια σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Όπως παρατηρούμαι από στατιστική που έγινε στον πίνακα, το τσίπουρο της Ηπείρου παρουσιάζει αυξημένη αντιοξειδωτική δράση, από αυτό της Θεσσαλίας. Συγκεκριμένα παρουσιάζει αυξημένη ποσότητα φαινολικών και ικανότητα αναγωγής του σιδήρου, ενώ παρουσιάζει ακόμη μεγαλύτερη ικανότητα δέσμευσης της ρίζας στο χρόνο μηδέν.

1.3. Αντιφλεγμονώδης δράση τσίπουρου Ηπείρου και Θεσσαλίας

Οι δύο μάρτυρες στη συνέχεια αναλύθηκαν, ως προς την αντιφλεγμονώδη δράση και έγινε σύγκριση μεταξύ τους

Πίνακας 3. Αντιφλεγμονώδης δράση τσίπουρου Ηπείρου-τσίπουρου Θεσσαλίας.

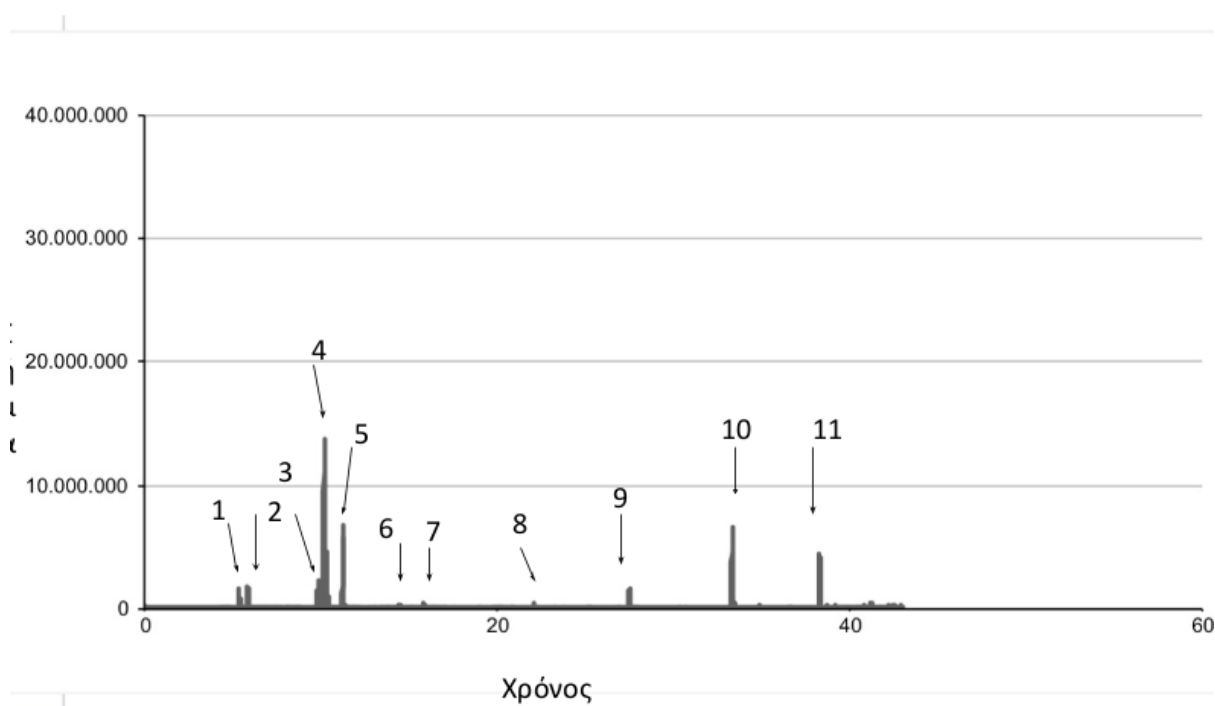
Ηπείρου	Θεσσαλίας
23,01 ^b ±0,17	10,64 ^a ±0,16

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b δείχνουν την οριζόντια σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Όπως φαίνεται από την στατιστική το τσίπουρο της Ηπείρου παρουσιάζει μεγαλύτερη αντιφλεγμονώδη δράση και μάλιστα τη διπλάσια από το Θεσσαλικό.

1.4. Πτητικές ενώσεις τσίπουρου Ηπείρου και τσίπουρου Θεσσαλίας

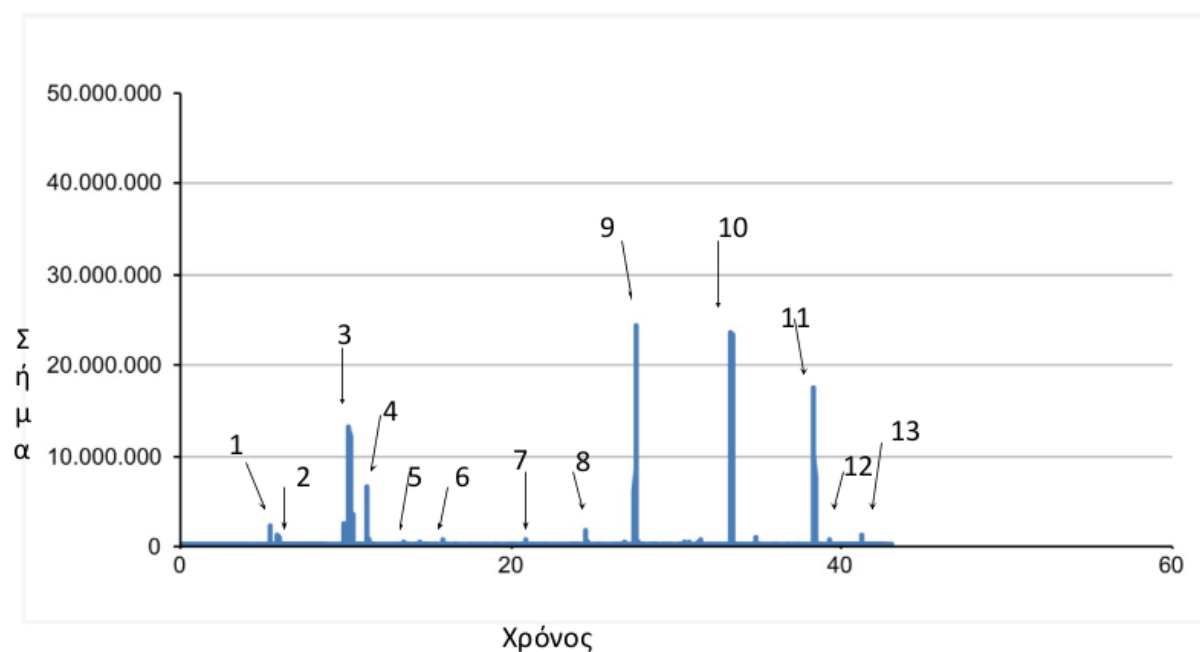
Προφίλ πτητικών ενώσεων τσίπουρο Θεσσαλίας – τσίπουρο Ηπείρου



Εικόνα 15. Χρωματογράφημα τσίπουρου Ηπείρου

Φαίνεται το χρωματογράφημα του μάρτυρα Ηπείρου.

Με βέλη σημειώνονται οι κύριες ενώσεις ,όπου: **1.** Ethyl Acetate, **2.** 1-Propanol, 2-methyl-, **3.** Ethane, 1,1-diethoxy-, **4.**1-Butanol, 3-methyl-, **5.**1-Butanol, 2-methyl-, **6.** 2-Pentanol, 4-methyl-, **7.** 1-Hexanol, **8.** Hexanoic acid, ethyl ester, **9.** Octanoic acid, ethyl ester, **10.** Decanoic acid, ethyl ester, **11.** Dodecanoic acid, ethyl ester.



Εικόνα 16. Το χρωματογράφημα του μάρτυρα Θεσσαλίας. Με βέλη σημειώνονται οι κύριες ενώσεις ,όπου: **1.** Ethyl Acetate, **2.** 1-Propanol, 2-methyl-, **3.** 1-Butanol, 3-methyl-, **4.** 1-Butanol, 2-methyl-, **5.** 2-Pentanol, 4-methyl-, **6.** Furfural, **7.** 1-Hexanol, **8.** .alpha.-Methyl-.alpha.-[4-methyl-3-pentenyl]oxiranemethanol, **9.** Octanoic acid, ethyl ester, **10.** Decanoic acid, ethyl ester, **11.** Dodecanoic acid, ethyl ester, **12.** Tetradecanoic acid, ethyl ester, **13.** Ethyl trans-4-decenoate.

Πίνακας 4. Πτητικές ενώσεις τσίπουρο Ηπείρου-τσίπουρο Θεσσαλίας

Χημική ένωση	Ηπείρου	Θεσσαλίας
Ethyl Acetate	27,16 ^a ±1,09	34,07 ^b ±1,05
1-Propanol, 2-methyl-	47,9 ^b ±1,3	30,8 ^a ±1,5
Butanal, 3-methyl-	-	2,4 ^a ±0,3

Ethane, 1,1-diethoxy-	26,8 ^a ±1,9	40,6 ^b ±1,6
1-Butanol, 3-methyl-	319,4 ^b ±2,9	305,28 ^a ±1,22
1-Butanol, 2-methyl-	1119 ^b ±2,5	85,9 ^a ±0,6
2-Pentanol, 4-methyl-	150 ^a ±0	150 ^a ±0
Hexanal	-	1,58 ^a ±0,14
Furfural	10,21 ^a ±0,09	12,9 ^b ±0,3
Propane, 1,1-diethoxy-2-methyl-	2,033 ^b ±0,25	1,9 ^a ±0,4
1-Hexanol	12,26 ^a ±1,06	12,449 ^a ±0,22
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	0,5 ^a ±0,5	-
Butane, 1,1-diethoxy-3-methyl-	1,4 ^a ±0,3	-
,beta,-Myrcene	-	1,41 ^a ±0,09
Pentane, 1-(1-ethoxyethoxy)-	0,9 ^a ±0,3	0,622 ^a ±0,113
Hexanoic acid, ethyl ester	3,8 ^a ±0,5	6,80 ^b ±0,2
o-Cymene	3,59 ^a ±0,13	5,1 ^b ±0,3
,alpha,-Methyl-,alpha,-[4-methyl-3-pentenyl]oxiranemethanol	-	2,1 ^a ±0,6
Hexane, 1,1-diethoxy-	-	2,9 ^a ±0,3
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	-	35,83 ^a ±1,09
1,7-Octadiene-3,6-diol, 2,6-dimethyl-	-	6,25 ^a ±0,28
1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl butyrate	-	1,16 ^a ±0,29
Butanedioic acid, diethyl ester	1,391 ^a ±0,11	10,1 ^b ±0,7
Octanoic acid, ethyl ester	39,1 ^a ±1,5	413,7 ^b ±11,8
,alpha,-Terpineol	-	5,7 ^a ±0,6
Citronellol	-	1,496 ^a ±0,28
Isopentyl hexanoate	-	1,9 ^a ±0,5

Nerol, methyl ether	-	1,6 ^a ±0,3
Geranyl ethyl ether 1	-	3,0 ^a ±0,5
Malonic acid, bis(2-trimethylsilylethyl ester	1,9 ^a ±0,9	1,8 ^a ±0,3
Nonanoic acid, ethyl ester	-	8,0 ^a ±0,6
Decanoic acid, ethyl ester	132,6 ^b ±1,7	10,593 ^a ±0,22
(S)-(-)-Citronellic acid, methyl ester	-	14,6 ^a ±0,4
n-Caprylic acid isobutyl ester	-	0,88 ^a ±0,24
Ethyl 9-decenoate	-	2,2 ^a ±0,4
Decanoic acid, ethyl ester	-	303,1 ^a ±16,4
Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	1,01 ^a ±0,13	24,6 ^b ±0,3
Decanoic acid, propyl ester	-	1,2 ^a ±0,3
Undecanoic acid, ethyl ester	-	1,3 ^a ±0,3
Dodecanoic acid, methyl ester	0,993 ^a ±0,104	2,42 ^b ±0,14
n-Capric acid isobutyl ester	-	1,7 ^a ±0,3
Dodecanoic acid, ethyl ester	68,2 ^a ±1,4	310 ^b ±6
Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	3,2 ^a ±0,6	12,4 ^b ±0,4
Tetradecanoic acid, ethyl ester	5,9 ^a ±0,3	-
Hexadecane	1,249 ^a ±0,124	2,8 ^b ±0,4

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Όπως παρατηρείται από τον πίνακα, σύμφωνα και με τη στατιστική που έγινε, το τσίπουρο Θεσσαλίας παρουσιάζει αυξημένες συγκεντρώσεις πτητικών στην πλειοψηφία των ενώσεων (Octanoic acid, ethyl ester, Ethyl Acetate, Ethane, 1,1-diethoxy- κ.α.) συν το γεγονός ότι παρουσιάζει πολλές επιπλέον ενώσεις που δεν υπάρχουν στο τσίπουρο της Ηπείρου (Furfural, 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, Decanoic acid, ethyl ester κ.α.). Εν

συντομία το τσίπουρο Θεσσαλίας έχει πλουσιότερο πτητικό προφίλ από το τσίπουρο της Ηπείρου.

1.5. Οργανοληπτικός έλεγχος τσίπουρο Ηπείρου - τσίπουρο Θεσσαλίας

Σύμφωνα με τους δοκιμαστές το τσίπουρο Θεσσαλίας έχει πολύ πιο έντονη μυρωδιά καθώς επίσης και γεύση από αυτό της Ηπείρου.

2. Εμπλουτισμός τσίπουρο Ηπείρου με προσθήκη εκχυλίσματος τσαγιού

Μελετήθηκε η επίδραση του εμπλουτισμού τσίπουρο Ηπείρου με προσθήκη εκχυλίσματος τσαγιού Ηπείρου στην αντιοξειδωτική δράση, στην αντιφλεγμονώδη δράση και σε πτητικές ενώσεις σε αρχικό χρόνο και κατά τη διατήρηση των προϊόντων.

2.1 Αντιοξειδωτική δράση

Η αποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης έγινε με τις μεθόδους/δοκιμές Folin, FRAP και DPPH.

Μέθοδος Folin

Πίνακας 5. Αντιοξειδωτική δράση- μέθοδος FOLIN τσίπουρο Ηπείρου και τσίπουρο εμπλουτισμένου με τσάι βουνού Ηπείρου

Χρόνος (ημέρες)	Τσίπουρο	Τσίπουρο εμπλουτισμένο με τσάι βουνού, C1	Τσίπουρο εμπλουτισμένο με τσάι βουνού, C2
0	11,19 ^{aC} ±0,24	57,8 ^{bD} ±0,3	93,8 ^{cC} ±0,3
30	10,34 ^{aC} ±0,04	56,68 ^{bC} ±0,19	92,94 ^{cC} ±0,14
75	8,09 ^{aB} ±0,13	46,65 ^{bB} ±0,24	89,23 ^{cB} ±0,07
120	5,1 ^{aA} ±0,3	37,87 ^{bA} ±0,13	71,16 ^{cA} ±0,22

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 τσαγιού 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 τσάι είναι ανάλογη της συγκέντρωσης. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με αντίστοιχο πείραμα της βιβλιογραφίας (31). Με το πέρας του χρόνου τα φαινολικά μειώνονται τόσο στον μάρτυρα, όσο και στα δείγματα που περιέχουν το πρόσθετο εκχύλισμα. Η μείωση αυτή είναι μεγαλύτερη στο μάρτυρα, μικρότερη στο δείγμα με τη μικρότερη συγκέντρωση πρόσθετου και ακόμη μικρότερη στο δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση. Σε όλους τους χρόνους το δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση τσαγιού εμφανίζει το υψηλότερο περιεχόμενο σε φαινολικά. Και στους τέσσερις χρόνους, υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα (M1) και των δειγμάτων (T1, T2), πράγμα το οποίο είναι σύμφωνο και με αντίστοιχα πειράματα της βιβλιογραφίας.

Μέθοδος Frap

Πίνακας 6. Αντιοξειδωτική δράση- μέθοδος Frap για τον μάρτυρα 1, τον μάρτυρα 1 με προσθήκη εκχυλίσματος τσαγιού σε μικρή συγκέντρωση (T1) και τον μάρτυρα 1 με προσθήκη εκχυλίσματος τσαγιού σε μεγάλη συγκέντρωση (T2) , σε τέσσερις χρόνους. M1: μάρτυρας 1 χωρίς κάποια προσθήκη, T1: Μάρτυρας 1 με προσθήκη τσαγιού σε χαμηλή συγκέντρωση ,T2: Μάρτυρας 1 με προσθήκη τσαγιού σε υψηλή συγκέντρωση.

Χρόνος (ημέρες)	M1	T1	T2
0	4,55 ^{aD} ±0,16	42,38 ^{bD} ±0,28	53,33 ^{cD} ±0,05
30	3,78 ^{aC} ±0,08	33,27 ^{bC} ±0,07	46,65 ^{cC} ±0,05
75	1,92 ^{aB} ±0,13	21,13 ^{bB} ±0,14	29,19 ^{cB} ±0,07
120	0,66 ^{aA} ±0,14	14,43 ^{bA} ±0,09	19,5 ^{cA} ±0,3

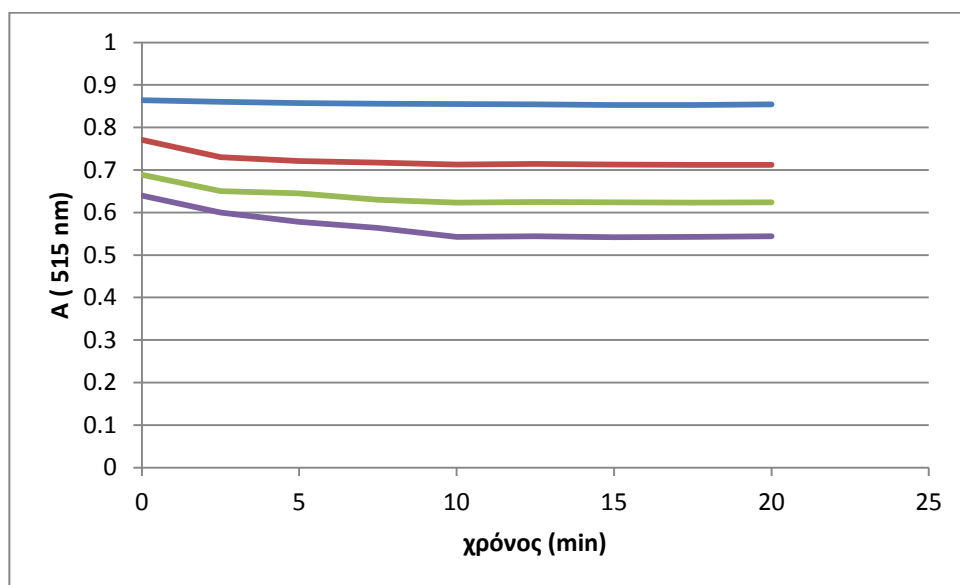
Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Με την προσθήκη του τσαγιού παρατηρείται αύξηση της αναγωγικής δράσης ήδη από την στιγμή της προσθήκης, συγκριτικά με τον μάρτυρα. Η αύξηση της αναγωγικής δράσης στα δείγματα με τσάι είναι ανάλογη της συγκέντρωσης, δηλαδή το δείγμα με την υψηλότερη

συγκέντρωση τσαγιού εμφανίζει και τη μέγιστη αναγωγική δράση, πράγμα που είναι σύμφωνο και με αντίστοιχο πείραμα της βιβλιογραφίας (31). Με την πάροδο του χρόνου, η αναγωγική δράση μειώνεται τόσο στον μάρτυρα, όσο και στα δείγματα που περιέχουν το τσάι. Ωστόσο, και στους επόμενους χρόνους ακολουθείται το ίδιο μοτίβο. Παρά τη μείωση, που είναι ανάλογη του χρόνου, το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση τσαγιού εμφανίζει τη μέγιστη αναγωγική δράση, ακολουθεί εκείνο με την μικρότερη συγκέντρωση και τέλος, ο μάρτυρας παρουσιάζει την μικρότερη αναγωγική δράση. Και στους τέσσερις χρόνους, υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα (M1) και των δειγμάτων (T1, T2).

Μέθοδος DPPH

Με τη μέθοδο DPPH αποτιμήθηκε η αρχική ταχύτητα δέσμευσης της ρίζας όπως και η ολική δέσμευση της ρίζας.



Εικόνα 16. Τυπικό διάγραμμα χρόνου-απορρόφησης της ρίζας σε χρόνο 0, όπου με μπλε το Control, με κόκκινο ο μάρτυρας, με πράσινο ο μάρτυρας με προσθήκη εκχυλίσματος μικρής συγκέντρωσης και μοβ ο μάρτυρας με προσθήκη εκχυλίσματος μεγάλης συγκέντρωσης. Στον άξονα X ο χρόνος και στον Y η απορρόφηση.

Τα αναλυτικά αποτελέσματα και όλες οι τιμές για όλους τους χρόνους, βρίσκονται στο τέλος, στο παράρτημα.

Πίνακας 11. Τιμές που προκύπτουν από τη μέθοδο Dpph για τον μάρτυρα 1, τον μάρτυρα 1 με προσθήκη τσαγιού σε μικρή συγκέντρωση (T1) και τον μάρτυρα 1 με προσθήκη τσαγιού σε μεγάλη συγκέντρωση (T2), σε τέσσερις χρόνους και δείχνουν την % αρχική ταχύτητα δέσμευσης της ρίζας DPPH (1 min).

Χρόνος (ημέρες)	M1	T1	T2
0	7,28 ^{aD} ±0,14	20,9 ^{bD} ±0,4	25,9 ^{cD} ±0,3
30	6,54 ^{aC} ±0,14	17,3 ^{bC} ±0,3	23,92 ^{cC} ±0,03
75	5,32 ^{aB} ±0,14	13,87 ^{bB} ±0,17	18,12 ^{cB} ±0,23
120	3,72 ^{aA} ±0,23	9,98 ^{bA} ±0,13	15,10 ^{cA} ±0,15

Πίνακας 12. Τιμές που προκύπτουν από τη μέθοδο DPPH για τον μάρτυρα 1, τον μάρτυρα 1 με προσθήκη τσαγιού σε μικρή συγκέντρωση (T1) και τον μάρτυρα 1 με προσθήκη τσαγιού σε μεγάλη συγκέντρωση (T2) , σε τέσσερις χρόνους και δείχνουν την % ολική δέσμευση της ρίζας DPPH (20 min).

Χρόνος (ημέρες)	M1	T1	T2
0	19,61 ^{aD} ±0,05	27,91 ^{bD} ±0,15	37,1 ^{cC} ±0,5
30	15,8 ^{aC} ±0,3	26,14 ^{bC} ±0,24	36,08 ^{cC} ±0,19
75	12,23 ^{aB} ±0,17	23,14 ^{bB} ±0,19	33,9 ^{cB} ±0,3
120	9,16 ^{aA} ±0,24	19,83 ^{bA} ±0,13	30,51 ^{cA} ±0,21

M1: μάρτυρας 1 χωρίς κάποια προσθήκη, T1: Μάρτυρας 1 με προσθήκη τσαγιού σε χαμηλή συγκέντρωση, T2: : Μάρτυρας 1 με προσθήκη τσαγιού σε υψηλή συγκέντρωση.

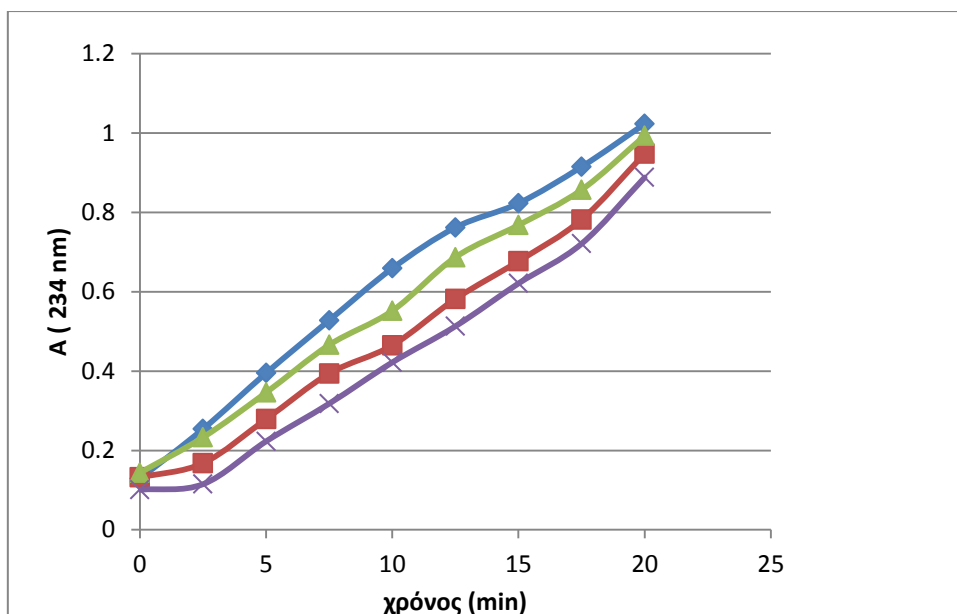
Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Τόσο η αρχική όσο και η ολική δέσμευση της ρίζας DPPH είναι αυξημένη, σε σχέση με τον μάρτυρα, στα δείγματα που περιέχουν το τσάι από την στιγμή της προσθήκης στις μηδέν ημέρες. Το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση τσαγιού παρουσιάζει το μεγαλύτερο ποσοστό δέσμευσης, ενώ εκείνο με την μικρότερη συγκέντρωση εμφανίζει ποσοστό δέσμευσης μεταξύ του μάρτυρα και της υψηλότερης συγκέντρωσης. Όλα αυτά έρχονται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία (31), όπου και εκεί τα προϊόντα παρουσιάζουν αυξημένη αντιοξειδωτική δράση. Το γεγονός αυτό είναι θετικό, καθώς έχει παρασκευαστεί ένα προϊόν με βελτιωμένες ιδιότητες. Όλες οι διαφορές μεταξύ των τριών δειγμάτων είναι στατιστικά σημαντικές.

Στους μεταγενέστερους χρόνους, τα ποσοστά δέσμευσης της ρίζας DPPH μειώνονται και στα τρία δείγματα, αναλογικά με τον χρόνο. Ωστόσο, το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση τσαγιού 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 να είναι στατιστικά σημαντικές.

Συμπερασματικά, η προσθήκη του τσαγιού οδηγεί σε αύξηση της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας DPPH.

2.2 Αντιφλεγμονώδης δράση



Εικόνα 17.Τυπικό διάγραμμα χρόνου-απορρόφησης, σε χρόνο 0 όπου με μπλε το Control, με πράσινο ο μάρτυρας, με κόκκινο ο μάρτυρας με προσθήκη εκχυλίσματος μικρής συγκέντρωσης και μοβ T2 ο μάρτυρας με προσθήκη εκχυλίσματος μεγάλης συγκέντρωσης. Στον άξονα Χ ο χρόνος και στον Υ η απορρόφηση.

Τα αναλυτικά αποτελέσματα και όλες οι τιμές για όλους τους χρόνους, βρίσκονται στο τέλος, στο παράρτημα.

Πίνακας 15. Τιμές που προκύπτουν από τη μέτρηση της αντιφλεγμονώδους δράσης, για τον μάρτυρα 1, τον μάρτυρα 1 με προσθήκη τσαγιού σε μικρή συγκέντρωση (T1) και τον μάρτυρα 1 με προσθήκη τσαγιού σε μεγάλη συγκέντρωση (T2), σε τέσσερις χρόνους.

Χρόνος (ημέρες)	M1	T1	T2
0	23,01 ^{aD} ±0,17	28,4 ^{bD} ±0,3	38,56 ^{cD} ±0,23
30	11,57 ^{aC} ±0,25	19,31 ^{bC} ±0,24	31,1 ^{cC} ±0,3
75	6,20 ^{aB} ±0,24	10,7 ^{bB} ±0,3	20,34 ^{cB} ±0,28
120	2,93 ^{aA} ±0,19	7,31 ^{bA} ±0,08	13,19 ^{cA} ±0,23

M1: μάρτυρας 1 χωρίς κάποια προσθήκη, T1: Μάρτυρας 1 με προσθήκη τσαγιού σε χαμηλή συγκέντρωση, T2: : Μάρτυρας 1 με προσθήκη τσαγιού 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 ($P < 0,05$).

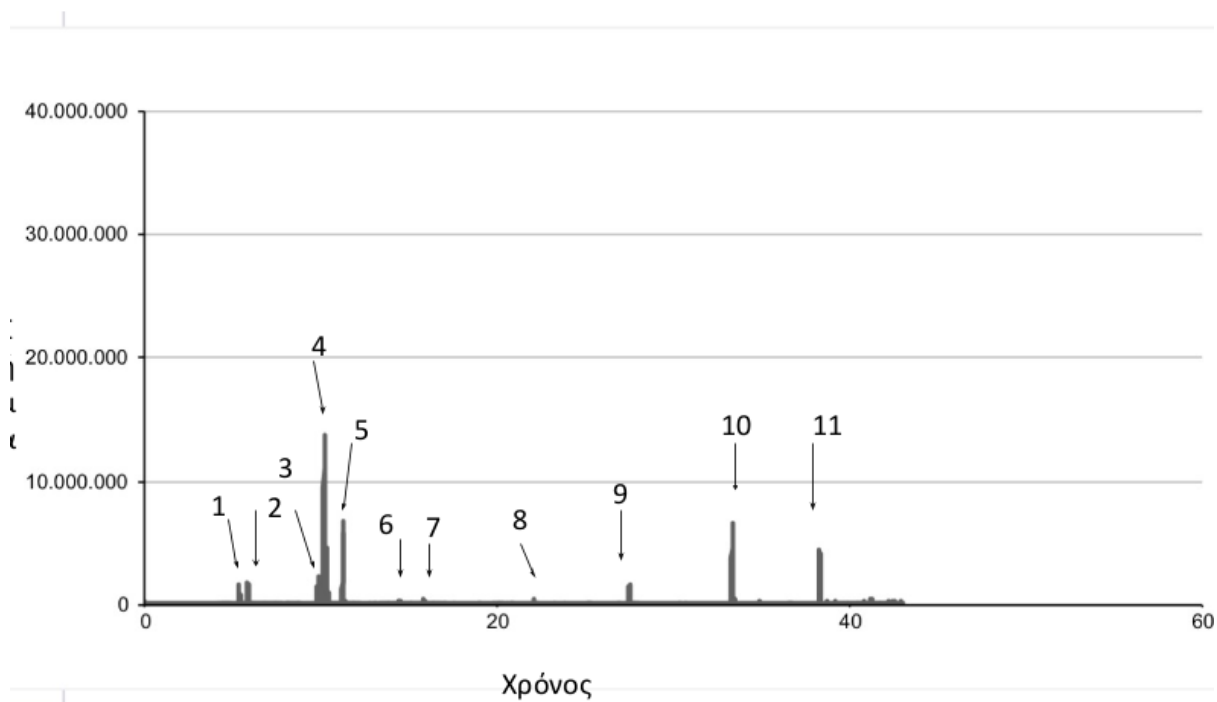
Με την προσθήκη του τσαγιού παρατηρείται αύξηση της αντιφλεγμονώδους δράσης ήδη από την χρονική στιγμή μηδέν, συγκριτικά με τον μάρτυρα, γεγονός που αποτυπώνεται στη σημαντική στατιστική διαφορά. Η αύξηση της αντιφλεγμονώδους δράσης στα δείγματα με τσάι είναι ανάλογη της συγκέντρωσης, γεγονός που συμπίπτει με αντίστοιχη βιβλιογραφία (31). Με το πέρας του χρόνου η αντιφλεγμονώδης δράση μειώνονται τόσο στον μάρτυρα, όσο και στα δείγματα που περιέχουν το πρόσθετο εκχύλισμα. Η μείωση αυτή είναι μεγαλύτερη στο μάρτυρα, μικρότερη στο δείγμα με τη μικρότερη συγκέντρωση πρόσθετου και ακόμη μικρότερη στο δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση. Σε όλους τους χρόνους το δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση τσαγιού εμφανίζει την υψηλότερη αντιφλεγμονώδη δράση. Και στους τέσσερις χρόνους, υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα (M1) και των δειγμάτων (T1, T2).

2.3. Οργανοληπτική αξιολόγηση:

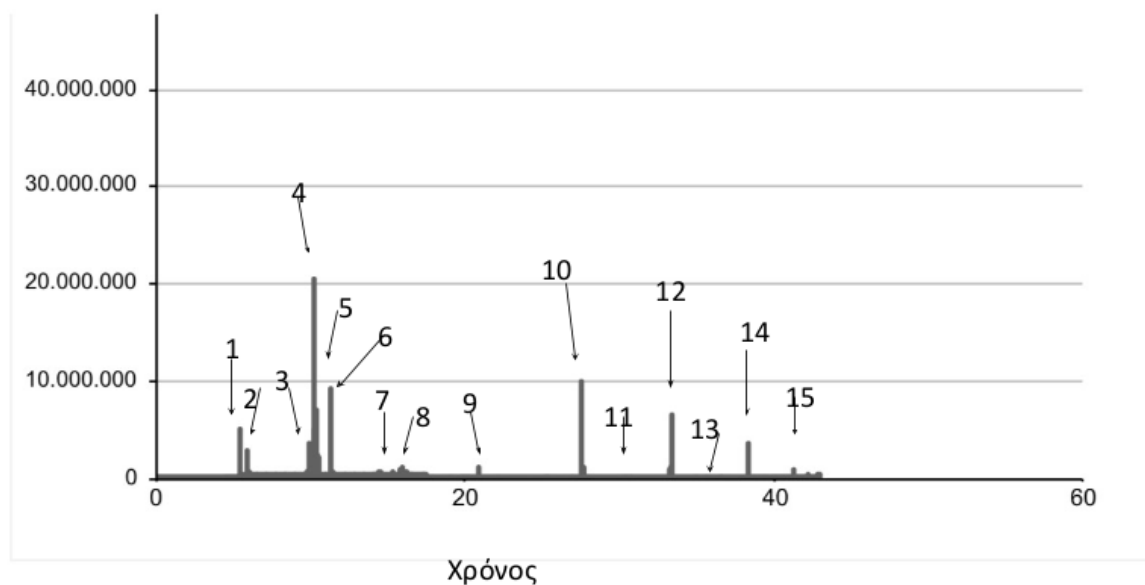
Ο μάρτυρας σε χρόνο 0 είχε σχετικά έντονο άρωμα, λιγότερο έντονο από το Θεσσαλικό τσίπουρο με αρκετά έντονη την αίσθηση της αλκοόλης. Είχε οσμή και γεύση έντονη, όπως ένα κλασικό τσίπουρο. Αυτό με την πάροδο του χρόνου εξασθένησε, έτσι ώστε στον τελικό χρόνο είχε εξασθενήσει αρκετά. Η γεύση στο χρόνο 0 ήταν επίσης έντονη με πολύ αισθητή την αλκοόλη. Και εκεί υπήρχε αντιληπτή εξασθένηση με το χρόνο, όχι όμως τόσο, όσο εξασθένηση υπήρχε στο άρωμα. Στα προϊόντα με τις προσθήκες τσαγιού σε μικρή και μεγάλη συγκέντρωση παρατηρήθηκε σχετικά ήπια, αλλά ευχάριστη μεταβολή του αρώματος δίνοντας ένα λιλιπούτιο, λουλουδένιο άρωμα που ήταν πιο έντονο, (όπως ήταν αναμενόμενο), στο προϊόν με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση. Στα προϊόντα με τις προσθήκες η γεύση του τσίπουρου ήταν εμφανώς ελαττωμένη. Όσον αφορά τη γεύση έδινε στο τσίπουρο μία πιο ελαφριά γεύση με λιγότερη αισθητή την αλκοόλη, καθώς και την αίσθηση κάποιου φυτικού συστατικού στην επίγευση. Στα προϊόντα με τις προσθήκες τόσο η εξασθένηση της γεύσης, όσο και του αρώματος ήταν πολύ λιγότερο αισθητή με την ευχάριστη γεύση και το άρωμα να παραμένουν αναλλοίωτα.

2.4. Προφίλ πτητικών ενώσεων

Αναλύθηκαν τα δείγματα ,ως προς τα πτητικά τους και παρακάτω φαίνονται τυπικά χρωματογράφημα που προέκυψαν από την ανάλυση



Εικόνα 18. Τυπικό αέριο χρωματογράφημα του τσίπουρου Ηπείρου, όπου με βέλη σημειώνονται οι κύριες ενώσεις: **1.** Ethyl Acetate, **2.** 1-Propanol, 2-methyl-, **3.** Ethane, 1,1-diethoxy-, **4.** 1-Butanol, 3-methyl-, **5.** 1-Butanol, 2-methyl-, **6.** 2-Pentanol, 4-methyl-, **7.** 1-Hexanol, **8.** Hexanoic acid, ethyl ester, **9.** Octanoic acid, ethyl ester, **10.** Decanoic acid, ethyl ester, **11.** Dodecanoic acid, ethyl ester.



Εικόνα 19. Τυπικό αέριο χρωματογράφημα του τσίπουρου Ηλείου με προσθήκη εκχυλίσματος Τσαγιού σε μεγάλη συγκέντρωση_ και με βέλη σημειώνονται οι κύριες ενώσεις: **1.** Ethyl Acetate, **2.** 1-Propanol, 2-methyl-, **3.** Ethane, 1,1-diethoxy-, **4.** 1-Butanol, 3-methyl-, **5.** 1-Butanol, 2-methyl-, **6.** 2-Pentanol, 4-methyl-, **7.** 1-Hexanol, **8.** β-ionone, **9.** Hexanoic acid, ethyl ester, **10.** Octanoic acid, ethyl ester, **11.** ionone, **12.** Decanoic acid, methyl ester, **13.** Butylated Hydroxytoluene, **14.** Dodecanoic acid, ethyl ester, **15.** Tetradecanoic acid, ethyl ester.

Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι τιμές της ανάλυσης των πτητικών ενώσεων, για το τσίπουρο Ηλείου και τα δείγματα με τις προσθήκες εκχυλίσματος τσαγιού στους χρόνους του πειράματος

Σε χρόνο 0:

Πίνακας 16. Αποτελέσματα πτητικών σε χρόνο 0 για μάρτυρα 1, μάρτυρα 1 με προσθήκη τσαγιού σε μικρή (T1) και μεγάλη (T2) συγκέντρωση .Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).

Χημική ένωση	Συγκέντρωση M1(ppm)	Συγκέντρωση T1	Συγκέντρωση T2
Ethyl Acetate	27,16 ^a ±1,09	36,4 ^b ±3,7	45,1 ^c ±1,6
1-Propanol, 2-methyl-	47,9 ^a ±1,3	52,997 ^b ±1,224	67,73 ^c ±57,3
Ethane, 1,1-diethoxy-	26,8 ^a ±1,9	32,7 ^b ±2,8	48,2 ^c ±3,9
1-Butanol, 3-methyl-	319,4 ^a ±2,9	327,1 ^a ±1,9	323,1 ^a ±2,6
1-Butanol, 2-methyl-	111 ^a ,9±2,5	123,7 ^b ±10,3	135 ^c ,3±1,04
linalool	-	0,58 ^a ±0,09	0,98 ^a ±0,17
2-Pentanol, 4-methyl-	150 ^a ±0	150 ^a ±0	150 ^a ±0
Geraniol	-	0,525 ^a ±0,017	0,95 ^b ±0,03
Furfural	10,21 ^a ±0,09	9,1 ^b ±0,6	11,398 ^c ±0,026
Propane, 1,1-diethoxy-2-methyl-	2,033 ^a ±0,25	2,2 ^a ±0,3	2,3 ^a ±0,9
β-ionone	-	0,446 ^a ±0,028	0,9 ^b ±0,5
1-Hexanol	12,26 ^a ±1,06	12,38 ^a ±1,08	12,631 ^a ±0,005
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	0,5 ^a ±0,5	3,36 ^b ±0,13	8,4 ^c ±0,4
Butane, 1,1-diethoxy-3-methyl-	1,4 ^a ±0,3	1,29 ^a ±0,26	1,64 ^a ±0,23
Guanidine, methyl-	-	-	1,23 ^a ±0,08
Pentane, 1-(1-ethoxyethoxy)-	0,9 ^a ±0,3	0,929 ^a ±0,123	0,9 ^a ±1,3
Hexanoic acid, ethyl ester	3,8 ^a ±0,5	13,6 ^b ±0,7	21,21 ^c ±0,58
Nonanal	-	0,67 ^a ±0,06	1,3 ^a ±0,9
o-Cymene	3,59 ^c ±0,13	2,2 ^b ±0,3	1,3 ^a ±0,3
Butanedioic acid, diethyl ester	1,391 ^a ±0,114	1,46 ^a ±0,24	1,3 ^a ±0,5
D-Limonene	-	0,749 ^a ±0,013	-
Octanoic acid, ethyl ester	39,1 ^a ±1,5	73,4 ^b ±0,7	180,7 ^c ±0,9

Malonic acid, bis(2-trimethylsilylethyl ester)	1,9 ^a ±0,9	0,976 ^b ±0,013	0,8 ^b ±0,2
Ionone	-	3,3 ^a ±0,8	5,2 ^b ±1,8
Decanoic acid, ethyl ester	132,6 ^a ±1,7	199,5 ^b ±1,8	185,6 ^b ±4,9
Hexadecane	1,249 ^a ±0,124	0,927 ^b ±0,103	0,8 ^b ±0,5
Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	1,01 ^a ±0,13	1,78 ^b ±0,4	1,9 ^b ±0,5
Dodecanoic acid, methyl ester	0,993 ^b ±0,104	0,65 ^a ±0,15	-
Dodecanoic acid, ethyl ester	68,2 ^a ±1,4	77,2 ^b ±3,6	93 ^c ±2
Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	3,2 ^a ±0,6	4,36 ^a ±0,24	4,12 ^a ±0,25
Methyl tetradecanoate	-	0,734 ^a ±0,215	1,1 ^b ±0,7
Tetradecanoic acid, ethyl ester	5,9 ^a ±0,3	6,4 ^a ±3,6	8,614 ^b ±0,209
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	3,2 ^b ±0,3	1,67 ^a ±0,23	1,18 ^a ±0,27

Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Με την προσθήκη του τσαγιού στο τσίπουρο παρατηρούνται αλλαγές στο πτητικό προφίλ του προϊόντος ήδη από το χρόνο 0. Υπάρχει σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης σε κάποιες ενώσεις, η οποία είναι ανάλογη με την συγκέντρωση τσαγιού. Επίσης με την προσθήκη τσαγιού εμφανίζονται και ενώσεις που δεν υπήρχαν στον μάρτυρα. Το ίδιο μοντέλο ακολουθείται και στους υπόλοιπους χρόνους.

Όπως παρατηρούμε, με την προσθήκη του τσαγιού προκύπτουν αρκετές καινούριες ενώσεις που δεν υπήρχαν στο αρχικό τσίπουρο και του προσδίδουν θετικά χαρακτηριστικά. Οι ενώσεις αυτές έχουν βρεθεί στο τσάι του βουνού, σύμφωνα και με τη βιβλιογραφία (23). Για παράδειγμα η Λιναλόλη, είναι μια φυσική ένωση που ανήκει στην κατηγορία των μονοτερπενίων. Προσφέρει αρκετά οφέλη, όπως αρωματική γεύση (συνήθως χρησιμοποιείται για να προσδώσει ευχάριστες αρωματικές και γευστικές νότες), καθώς είναι γνωστή για τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες και τις αντιφλεγμονώδεις και αντιβακτηριδιακές δράσεις της. Συνολικά, η Λιναλόλη μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα και την ασφάλεια των τροφίμων, προσφέροντας παράλληλα και γευστικά πλεονεκτήματα.

Ακόμη μία ένωση, η Ιονόνη εμφανίζεται μετά την προσθήκη του τσαγιού στο τσίπουρο και είναι μια φυσική ένωση που ανήκει στην κατηγορία των μονοτερπενίων και είναι γνωστή

για το άρωμά της, που θυμίζει το τριαντάφυλλο. Σε τρόφιμα, η Ιονόνη προσφέρει αρκετά οφέλη. Δίνει άρωμα, χρησιμοποιείται κυρίως ως αρωματική ύλη για να προσδώσει ευχάριστες γεύσεις και αρώματα σε προϊόντα όπως γλυκά, ποτά και σάλτσες, ενώ ακόμη μπορεί να συμβάλλει στη συνολική γευστική εμπειρία ενός προϊόντος, ενισχύοντας την αίσθηση γεύσης. Είναι ακόμη γνωστή για τις αντιοξειδωτικές τις ιδιότητες, για την διατήρηση της φρεσκάδας των τροφίμων στα οποία υπάρχει. Γενικά, η Ιονόνη προσφέρει πλεονεκτήματα που σχετίζονται με την αρωματική και γευστική ποιότητα των τροφίμων, καθώς και με τη δυνατότητα προστασίας από την οξείδωση.

Σε χρόνο 75 ημέρες:

Πίνακας 17. Αποτελέσματα πτητικών σε χρόνο 75 ημέρες για μάρτυρα 1, μάρτυρα 1 με προσθήκη τσαγιού σε μικρή (T1) και μεγάλη (T2) συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$).

RT	Χημική ένωση	Συγκέντρωση M1	Συγκέντρωση T1	Συγκέντρωση T2
5,355	Ethyl Acetate	19,31 ^a $\pm$ 0,24	33,5 ^b $\pm$ 0,3	38,32 ^b $\pm$ 0,05
5,869	1-Propanol, 2-methyl-	35,559 ^a $\pm$ 0,217	35,401 ^a $\pm$ 0,224	36,169 ^a $\pm$ 0,128
9,846	Ethane, 1,1-diethoxy-	18,312 ^a $\pm$ 0,225	30,50 ^b $\pm$ 0,17	48,32 ^c $\pm$ 0,06
7,241	1-Butanol	-	8,548 ^a $\pm$ 0,013	8,45 ^a $\pm$ 0,08
10,209	1-Butanol, 3-methyl-	303,8 ^a $\pm$ 0,4	320,586 ^b $\pm$ 0,227	320,3 ^b $\pm$ 0,06
10,374	1-Butanol, 2-methyl-	110,737 ^a $\pm$ 0,005	118,486 ^a $\pm$ 0,117	117,202 ^a $\pm$ 0,028
11,242	linalool	-	0,554 ^a $\pm$ 0,009	0,963 ^b $\pm$ 0,013
11,268	2-Pentanol, 4-methyl-	150 ^a $\pm$ 0	150 ^a $\pm$ 0	150 ^a $\pm$ 0
11,276	nonanal	-	-	0,882 ^a $\pm$ 0,013
12,89	Geraniol	-	0,499 ^a $\pm$ 0,018	0,92 ^b $\pm$ 0,09
14,468	Furfural	7,531 ^a $\pm$ 0,019	8,738 ^{ab} $\pm$ 0,026	11,38 ^b $\pm$ 0,06
15,331	Propane, 1,1-diethoxy-2-methyl-	2,11 ^a $\pm$ 0,07	2,49 ^a $\pm$ 0,14	2,833 ^a $\pm$ 0,014
15,401	β -ionone	-	3,1 ^a $\pm$ 1,9	4,88 ^b $\pm$ 0,03

15,846	1-Hexanol	8,464 ^a ±0,009	11,66 ^b ±0,19	11,57 ^b ±0,03
16,153	1-Butanol, 3-methyl-, acetate	0,576 ^a ±0,013	1,23 ^b ±0,23	2,301 ^c ±0,015
16,235	Guanidine, methyl-	-	-	1,00 ^a ±0,04
19,035	Butane, 1,1-diethoxy-3-methyl-	1,146 ^a ±0,023	1,257 ^a ±0,005	2,229 ^b ±0,05
19,764	Pentane, 1-(1-ethoxyethoxy)-	0,846 ^a ±0,024	0,91 ^a ±0,06	2,35 ^b ±0,03
20,834	Hexanoic acid, ethyl ester	1,693 ^a ±0,015	1,462 ^a ±0,017	1,227 ^a ±0,017
22,093	o-Cymene	2,72 ^a ±0,15	2,127 ^a ±0,025	1,977 ^a ±0,004
25,196	Butanedioic acid, diethyl ester	1,777 ^a ±0,028	1,448 ^a ±0,023	1,2 ^a ±0,9
22,279	D-Limonene	-	-	1,231 ^a ±0,076
27,517	Octanoic acid, ethyl ester	26,04 ^a ±0,04	62,984 ^b ±0,005	176,867 ^c ±0,023
30,713	Ionone	-	2,8 ^a ±0,3	5,11 ^b ±0,07
33,348	Decanoic acid, ethyl ester	84,5 ^a ±0,3	165,444 ^b ±0,009	210,198 ^c ±0,015
33,565	Hexadecane	0,713 ^a ±0,015	0,7 ^a ±0,3	0,61 ^a ±0,27
34,78	Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	0,843 ^a ±0,023	1,642 ^a ±0,006	1,9 ^a ±0,5
38,324	Dodecanoic acid, ethyl ester	53,05 ^a ±0,06	73,302 ^b ±0,023	98,556 ^c ±0,117
38,897	Dodecanoic acid, methyl ester	0,96 ^a ±0,03	0,635 ^a ±0,013	0,867 ^a ±0,007
39,249	Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	2,51 ^a ±0,18	3,5 ^{ab} ±0,6	4,031 ^b ±0,006
40,392	Methyl tetradecanoate	-	0,647 ^a ±0,006	0,548 ^a ±0,127
41,227	Tetradecanoic acid, ethyl ester	4,58 ^a ±0,07	4,462 ^a ±0,013	7,271 ^b ±0,124
20,833	Hexadecanoic acid, methyl ester	-	1,166 ^a ±0,024	3,526 ^b ±0,226

Οι εκθέτες α,β,γ δείχνουν την οριζόντια σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05)

Σε χρόνο 120 ημέρες:

Πίνακας 18. Αποτελέσματα πτητικών σε χρόνο 125 ημέρες για μάρτυρα 1, μάρτυρα 1 με προσθήκη τσαγιού σε μικρή (T1) και μεγάλη (T2) συγκέντρωση.

RT	Χημική ένωση	Συγκέντρωση M1	Συγκέντρωση T1	Συγκέντρωση T2
5,368	Ethyl Acetate	15,795 ^a ±0,115	30,35 ^b ±0,14	35,4 ^b ±0,3
5,871	1-Propanol, 2-methyl-	29,62 ^a ±0,16	34,40 ^b ±0,26	32,431 ^b ±0,23
9,85	Ethane, 1,1-diethoxy-	13,60 ^a ±0,06	28,765 ^b ±0,13	45,5 ^c ±0,4
10,2	1-Butanol, 3-methyl-	280,56 ^a ±0,04	294,46 ^a ±0,03	298,698 ^a ±0,128
10,37	1-Butanol, 2-methyl-	98,85 ^a ±0,09	115,631 ^b ±0,24	116,33 ^b ±0,15
11,242	linalool	-	0,423 ^a ±0,009	0,713 ^b ±0,029
11,265	2-Pentanol, 4-methyl-	150 ^a ±0	150 ^a ±0	150 ^a ±0
11,276	nonanal	-	-	0,83 ^a ±0,028
12,89	Geraniol	-	0,459 ^a ±0,127	0,846 ^b ±0,023
14,466	Furfural	6,75 ^a ±0,26	8,5 ^b ±0,3	9,775 ^b ±0,071
15,327	Propane, 1,1-diethoxy-2-methyl-	1,473 ^a ±0,17	1,166 ^a ±0,018	2,211 ^b ±0,113
15,401	β-ionone	-	0,422 ^a ±0,007	0,853 ^b ±0,018
15,843	1-Hexanol	5,72 ^a ±0,114	10,756 ^b ±0,114	10,47 ^b ±0,04
16,149	1-Butanol, 3-methyl-, acetate	0,563 ^a ±0,115	4,23 ^b ±0,6	5,357 ^c ±0,175
19,033	Butane, 1,1-diethoxy-3-methyl-	1,156 ^a ±0,008	1,36 ^{ab} ±0,05	1,598 ^b ±0,168
19,759	Pentane, 1-(1-ethoxyethoxy)-	0,604 ^a ±0,023	0,74 ^a ±0,05	1,23 ^b ±0,08
20,831	Hexanoic acid, ethyl ester	1,61 ^a ±0,13	5,71 ^b ±0,06	9,69 ^c ±0,13
24,695	Nonanal	-	0,473 ^a ±0,029	0,835 ^b ±0,003
22,095	o-Cymene	1,87 ^a ±0,02	1,622 ^a ±0,025	1,941 ^a ±0,018
26,901	Butanedioic acid, diethyl ester	-	1,352 ^a ±0,07	-
22,279	D-Limonene	-	0,529 ^a ±0,024	0,989 ^b ±0,124

27,516	Octanoic acid, ethyl ester	16,82 ^a ±0,28	89,80 ^b ±0,07	165,39 ^c ±0,16
30,713	Ionone	-	2,47 ^a ±0,05	4,44 ^b ±0,18
33,345	Decanoic acid, ethyl ester	72,92 ^a ±0,15	148,745 ^b ±0,16	170,38 ^c ±0,23
33,565	Hexadecane	0,745 ^a ±0,023	0,874 ^a ±0,003	0,562 ^a ±0,018
34,775	Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	0,84 ^a ±0,016	1,5 ^b ±0,6	1,745 ^b ±0,026
38,322	Dodecanoic acid, ethyl ester	46,775 ^a ±0,004	40,6 ^a ±0,3	87,64 ^b ±0,29
38,897	Dodecanoic acid, methyl ester	0,951 ^a ±0,018	0,743 ^a ±0,018	0,876 ^a ±0,227
39,249	Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	2,7 ^a ±0,113	3,028 ^a ±0,116	3,70 ^a ±0,06
40,392	Methyl tetradecanoate	-	0,552 ^a ±0,024	0,475 ^a ±0,009
41,226	Tetradecanoic acid, ethyl ester	4,57 ^a ±0,108	5,36 ^a ±0,24	6,61 ^a ±0,18

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).

Στη συνέχεια παρουσιάζεται το προφίλ πτητικών ενώσεων για το Τσίπουρο στους χρόνους του πειράματος

Πίνακας 19. Αποτελέσματα πτητικών για το μάρτυρα 1, στους τέσσερις χρόνους του πειράματος.

RT	Χημική ένωση	Συγκέντρωση M1 (ppm), 0 ημέρες	Συγκέντρωση M1(ppm), 30 ημέρες	Συγκέντρωση M1(ppm), 75 ημέρες	Συγκέντρωση M1(ppm), 120 ημέρες
5,368	Ethyl Acetate	27,16 ^c ±1,09	25,1 ^c ±0,3	19,31 ^b ±0,24	15,795 ^a ±0,115
5,871	1-Propanol, 2-methyl-	47,9 ^d ±1,3	44,889 ^c ±0,127	35,559 ^b ±0,217	29,62 ^a ±0,16
9,85	Ethane, 1,1-diethoxy-	26,8 ^c ±1,9	25,313 ^c ±0,057	18,312 ^b ±0,225	13,60 ^a ±0,06

10,2	1-Butanol, 3-methyl-	319,4 ^c ±2,9	323,9 ^c ±0,6	303,8 ^b ±0,4	280,56 ^a ±0,04
10,37	1-Butanol, 2-methyl-	111,9 ^b ±2,5	111,49 ^b ±0,04	110,737 ^b ±0,005	98,85 ^a ±0,09
11,265	2-Pentanol, 4-methyl-	150 ^a ±0	150 ^a ±0	150 ^a ±0	150 ^a ±0
14,466	Furfural	10,21 ^b ±0,09	9,221 ^b ±0,128	7,531 ^a ±0,019	6,75 ^a ±0,26
15,327	Propane, 1,1-diethoxy-2-methyl-	2,033 ^a ±0,25	3,17 ^a ±0,09	2,11 ^a ±0,07	1,473 ^a ±0,17
15,843	1-Hexanol	12,26 ^d ±1,06	10,82 ^c ±0,17	8,464 ^b ±0,009	5,72 ^a ±0,114
16,149	1-Butanol, 3-methyl-, acetate	0,5 ^a ±0,5	0,537 ^a ±0,005	0,576 ^a ±0,013	0,563 ^a ±0,115
19,033	Butane, 1,1-diethoxy-3-methyl-	1,4 ^a ±0,3	1,11 ^a ±0,03	1,146 ^a ±0,023	1,156 ^a ±0,008
19,759	Pentane, 1-(1-ethoxyethoxy)-	0,9 ^a ±0,3	0,82±0,06	0,846 ^a ±0,024	0,604 ^a ±0,023
20,831	Hexanoic acid, ethyl ester	3,8 ^b ±0,5	3,189 ^b ±0,123	1,693 ^a ±0,015	1,61 ^a ±0,13
22,095	o-Cymene	3,59 ^b ±0,13	2,929 ^b ±0,023	2,72 ^a ±0,15	1,87 ^a ±0,02
26,901	Butanedioic acid, diethyl ester	1,391 ^a ±0,114	1,85 ^a ±0,08	1,777 ^a ±0,028	
27,516	Octanoic acid, ethyl ester	39,1 ^d ±1,5	37,648 ^c ±0,213	26,04 ^b ±0,04	16,82 ^a ±0,28
33,345	Decanoic acid, ethyl ester	132,6 ^c ±1,7	114,7 ^b ±1,6	84,5 ^a ±0,3	72,92 ^a ±0,15
33,565	Hexadecane	1,249 ^b ±0,124	1,026 ^{ab} ±0,014	0,713 ^a ±0,015	0,745 ^a ±0,023
34,775	Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	1,01 ^a ±0,13	1,035 ^a ±0,009	0,843 ^a ±0,023	0,84 ^a ±0,016
36,555	Butylated Hydroxytoluene	4,1 ^b ±0,3	1,045 ^a ±0,018	1,06 ^a ±0,015	1,12 ^a ±0,05
38,322	Dodecanoic acid, methyl ester	59,293 ^b ±0,104	59,377 ^b ±0,126	53,05 ^b ±0,06	46,775 ^a ±0,004
38,897	Dodecanoic acid, ethyl ester	0,82 ^a ±1,4	0,989 ^a ±0,009	0,96 ^a ±0,03	0,951 ^a ±0,018
39,249	Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	3,2 ^b ±0,6	2,29 ^a ±0,05	2,51 ^a ±0,18	2,7 ^a ±0,113
41,226	Tetradecanoic acid, ethyl ester	5,9 ^b ±0,3	5,082 ^b ±0,119	4,58 ^a ±0,07	4,57 ^a ±0,108

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c,d δείχνουν την οριζόντια σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Με την πάροδο του χρόνου παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης των πτητικών.

Τα αποτελέσματα και όλες οι τιμές των πτητικών ενώσεων σε σύγκριση με το χρόνο για τα εμπλουτισμένα δείγματα, βρίσκονται στο παράρτημα.

3. Τσίπουρο Θεσσαλίας με προσθήκη κρόκου

3.1 Αντιοξειδωτική δράση

Η αποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης έγινε με τις μεθόδους/δοκιμές Folin, FRAP και DPPH.

Μέθοδος Folin

Πίνακας 22. Αντιοξειδωτική δράση- μέθοδος FOLIN τσίπουρου Θεσσαλίας και τσίπουρου εμπλουτισμένου εκχύλισμα κρόκου

Χρόνος (ημέρες)	M2	K1	K2
0	8,13 ^{aC} ±0,03	12,51 ^{bD} ±0,23	35,82 ^{cD} ±0,07
30	7,86 ^{aC} ±0,07	11,44 ^{bC} ±0,08	30,75 ^{cC} ±0,08
60	5,94 ^{aB} ±0,13	8,92 ^{bB} ±0,23	26,431 ^{cB} ±0,123
120	2,49 ^{aA} ±0,06	6,34 ^{bA} ±0,25	23,29 ^{cA} ±0,07

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 κρόκου 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 κρόκο είναι ανάλογη της συγκέντρωσης. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με αντίστοιχο πείραμα της βιβλιογραφίας (31). Με το πέρας του χρόνου τα φαινολικά μειώνονται τόσο στον μάρτυρα, όσο και στα δείγματα που περιέχουν το πρόσθετο εκχύλισμα. Η μείωση αυτή είναι μεγαλύτερη στο μάρτυρα, μικρότερη στο δείγμα με τη μικρότερη συγκέντρωση πρόσθετου και ακόμη

μικρότερη στο δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση. Σε όλους τους χρόνους το δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση κρόκου εμφανίζει το υψηλότερο περιεχόμενο σε φαινολικά. Και στους τέσσερις χρόνους, υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα (M2) και των δειγμάτων (K1, K2), πράγμα το οποίο είναι σύμφωνο και με αντίστοιχα πειράματα της βιβλιογραφίας.

Μέθοδος FRAP

Προσδιορίστηκε η αναγωγική δράση, με τη μέθοδο FRAP

Πίνακας 23. Τιμές που προκύπτουν από τη μέθοδο FRAP για το τσίπουρο Θεσσαλίας, το τσίπουρο Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μικρή συγκέντρωση (K1) και το τσίπουρο Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μεγάλη συγκέντρωση (K2) , σε τέσσερις χρόνους.

Χρόνος (ημέρες)	M2	K1	K2
0	0,89 ^{aC} ±0,03	4,37 ^{bD} ±0,05	11,46 ^{cD} ±0,19
30	0,62 ^{aB} ±0,03	3,79 ^{bC} ±0,04	7,52 ^{cC} ±0,03
60	0,45 ^{aB} ±0,14	2,74 ^{bB} ±0,04	4,81 ^{cB} ±0,15
120	0,23 ^{aA} ±0,07	1,83 ^{bA} ±0,05	2,78 ^{cA} ±0,14

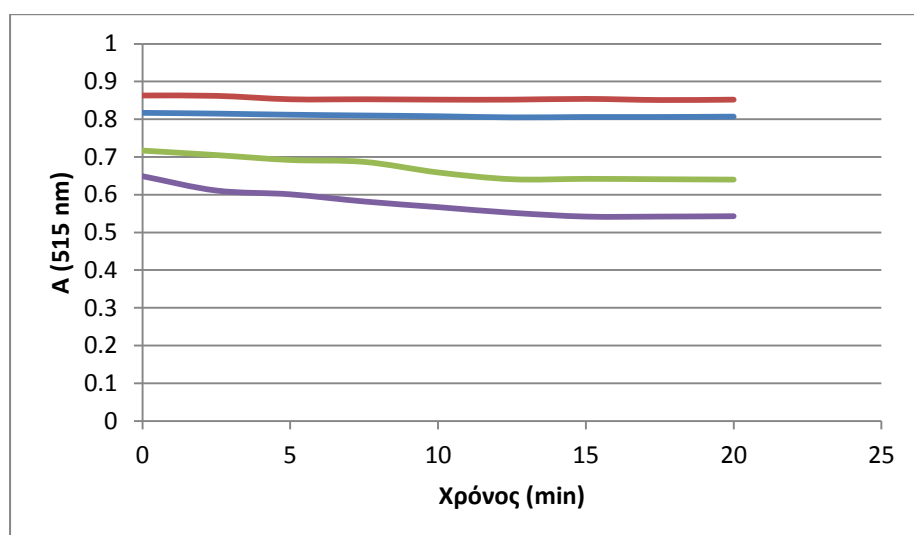
Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση και οι εκθέτες A,B,C την κάθετη σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Με την προσθήκη του κρόκου παρατηρείται αύξηση της αναγωγικής δράσης ήδη από την στιγμή της προσθήκης, συγκριτικά με τον μάρτυρα. Η αύξηση της αναγωγικής δράσης στα δείγματα με κρόκο είναι ανάλογη της συγκέντρωσης, δηλαδή το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση εμφανίζει και τη μέγιστη αναγωγική δράση, πράγμα που έρχεται σύμφωνο με ανάλογο πείραμα της βιβλιογραφίας (31). Με την πάροδο του χρόνου, η αναγωγική δράση μειώνεται τόσο στον μάρτυρα, όσο και στα δείγματα που περιέχουν τον κρόκο. Ωστόσο, και στους επόμενους χρόνους ακολουθείται το ίδιο μοτίβο. Παρά τη μείωση, που

είναι ανάλογη του χρόνου, το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση τσαγιού εμφανίζει τη μέγιστη αναγωγική δράση, ακολουθεί εκείνο με την μικρότερη συγκέντρωση και τέλος, ο μάρτυρας παρουσιάζει την μικρότερη αναγωγική δράση. Και στους τέσσερις χρόνους, υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα (M2) και των δειγμάτων (K1, K2).

Μέθοδος DPPH

Με τη μέθοδο DPPH αποτιμήθηκε η αρχική ταχύτητα δέσμευσης της ρίζας όπως και η ολική δέσμευση της ρίζας.



Εικόνα 21. Τυπικό διάγραμμα χρόνου-απορρόφησης της ρίζας σε χρόνο 0, όπου με κόκκινο το Control, με μπλε το τσάι Θεσσαλίας, με πράσινο το τσάι Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μικρή συγκέντρωση και μοβ το τσάι Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μεγάλη συγκέντρωση. Στον άξονα X ο χρόνος και στον Y η απορρόφηση.

Πίνακας 28. Τιμές που προκύπτουν από τη μέθοδο DPPH για τον μάρτυρα Θεσσαλίας, τον μάρτυρα Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μικρή συγκέντρωση (K1) και τον μάρτυρα Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μεγάλη συγκέντρωση (K2),

σε τέσσερις χρόνους και δείχνουν την % αρχική ταχύτητα δέσμευσης της ρίζας DPPH (1 min).

Χρόνος (ημέρες)	M2	K1	K2
0	13,10 ^{aD} ±0,13	31,50 ^{bD} ±0,23	44,09 ^{cD} ±0,29
30	9,39 ^{aC} ±0,09	23,99 ^{bC} ±0,09	33,91 ^{cC} ±0,05
60	6,62 ^{aB} ±0,14	16,50 ^{bB} ±0,14	24,86 ^{cB} ±0,17
120	4,182 ^{aA} ±0,125	10,92 ^{bA} ±0,14	14,98 ^{cA} ±0,09

Πίνακας 29. Τιμές που προκύπτουν από τη μέθοδο DPPH τον μάρτυρα Θεσσαλίας, τον μάρτυρα Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μικρή συγκέντρωση (K1) και τον μάρτυρα Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μεγάλη συγκέντρωση (K2), σε τέσσερις χρόνους και δείχνουν την % δέσμευση της ρίζας DPPH (20 min).

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).

Χρόνος (ημέρες)	M2	K1	K2
0	15,90 ^{aD} ±0,13	36,3 ^{bD} ±0,3	47,02 ^{cD} ±0,15
30	9,97 ^{aC} ±0,16	30,61 ^{bC} ±0,15	42,13 ^{cC} ±0,03
60	7,88 ^{aB} ±0,25	25,64 ^{bB} ±0,14	36,20 ^{cB} ±0,18
120	6,03 ^{aA} ±0,24	20,88 ^{bA} ±0,18	33,52 ^{cA} ±0,13

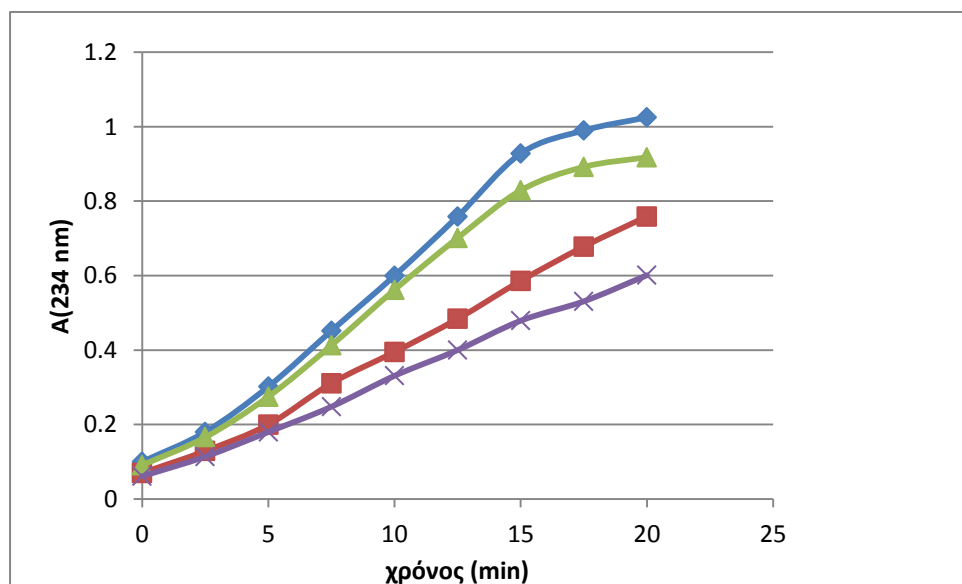
Τόσο η αρχική όσο και η ολική δέσμευση της ρίζας DPPH είναι αυξημένη, σε σχέση με τον μάρτυρα, στα δείγματα που περιέχουν τον κρόκο από την στιγμή της προσθήκης στις μηδέν ημέρες. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία (31). Το δείγμα με την υψηλότερη συγκέντρωση παρουσιάζει το μεγαλύτερο ποσοστό δέσμευσης, ενώ εκείνο με την μικρότερη συγκέντρωση εμφανίζει ποσοστό δέσμευσης μεταξύ του μάρτυρα και της υψηλότερης συγκέντρωσης. Όλες οι διαφορές μεταξύ των τριών δειγμάτων είναι στατιστικά σημαντικές.

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

Συμπερασματικά, η προσθήκη του κρόκου οδηγεί σε αύξηση της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας DPPH.

Τα αναλυτικά αποτελέσματα και όλες οι τιμές για όλους τους χρόνους, βρίσκονται στο τέλος, στο παράρτημα.

3.2 Αντιφλεγμονώδης δράση



Εικόνα 22. Τυπικό διάγραμμα χρόνου-απορρόφησης σε χρόνο 0, όπου με μπλε το Control, με πράσινο ο μάρτυρας Θεσσαλίας, με κόκκινο μάρτυρας Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μικρή συγκέντρωση και μοβ ο μάρτυρας Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μεγάλη συγκέντρωση. Στον άξονα X ο χρόνος και στον Y η απορρόφηση

Τα αναλυτικά αποτελέσματα και όλες οι τιμές για όλους τους χρόνους, βρίσκονται στο τέλος, στο παράρτημα.

Πίνακας 34. Τιμές που προκύπτουν από τη μέτρηση της αντιφλεγμονώδους δράσης, για τον μάρτυρα Θεσσαλίας, τον μάρτυρα Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μικρή συγκέντρωση (K1) και τον μάρτυρα 2 με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μεγάλη συγκέντρωση (K2), σε τέσσερις χρόνους.

Χρόνος (ημέρες)	M2	K1	K2
0	10,64 ^{aD} ±0,16	25,78 ^{bD} ±0,16	41,5 ^{cD} ±0,3
30	6,27 ^{aC} ±0,04	19,95 ^{bC} ±0,13	31,92 ^{cC} ±0,14
60	3,91 ^{aB} ±0,19	12,58 ^{bB} ±0,25	24,6 ^{cB} ±0,3
120	1,74 ^{aA} ±0,23	8,53 ^{bA} ±0,16	19,28 ^{cA} ±0,17

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 κρόκου παρατηρείται αύξηση της αντιφλεγμονώδους δράσης ήδη από την χρονική στιγμή μηδέν, συγκριτικά με τον μάρτυρα, γεγονός που αποτυπώνεται στη σημαντική στατιστική διαφορά. Το γεγονός αυτό έρχεται σύμφωνο με τη βιβλιογραφία (31). Η αύξηση της αντιφλεγμονώδους δράσης στα δείγματα με κρόκο είναι ανάλογη της συγκέντρωσης. Με το πέρασ του χρόνου η αντιφλεγμονώδης δράση μειώνονται τόσο στον μάρτυρα, όσο και στα δείγματα που περιέχουν το πρόσθετο εκχύλισμα. Η μείωση αυτή είναι μεγαλύτερη στο μάρτυρα, μικρότερη στο δείγμα με τη μικρότερη συγκέντρωση πρόσθετου και ακόμη μικρότερη στο δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση. Σε όλους τους χρόνους το δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση κρόκου εμφανίζει την υψηλότερη αντιφλεγμονώδη δράση. Και στους τέσσερις χρόνους, υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ του μάρτυρα (M2) και των δειγμάτων (K1, K2).

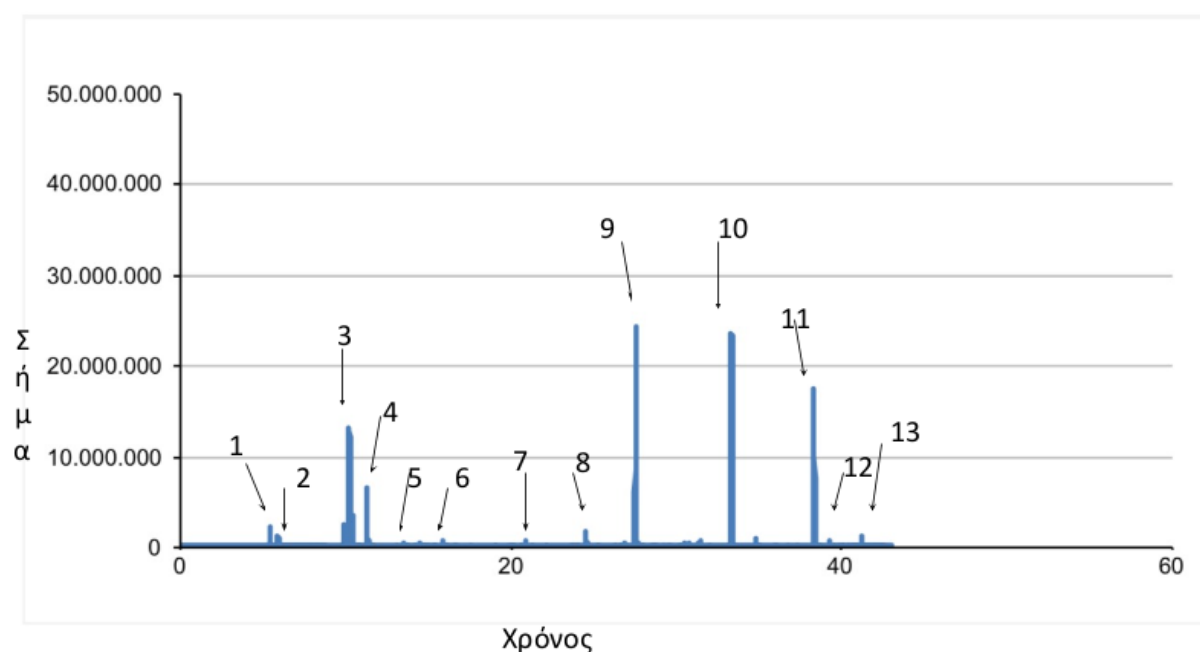
3.3. Οργανοληπτική αξιολόγηση

Ο μάρτυρας σε χρόνο 0 είχε πολύ έντονο άρωμα, πιο έντονο από το ηπειρώτικο τσίπουρο με πολύ έντονη την αίσθηση της αλκοόλης, είχε έντονη οσμή, ήταν γλυκόπιτο με επίγευση θετική. Αυτό με την πάροδο του χρόνου εξασθένησε, έτσι ώστε στον χρόνο t3

είχε εξασθενήσει αρκετά. Η γεύση στο χρόνο 0 ήταν επίσης έντονη με πολύ αισθητή την αλκοόλη. Και εκεί υπήρχε αντιληπτή εξασθένιση με το χρόνο, όχι όμως τόσο, όση εξασθένιση υπήρχε στο άρωμα. Στα προϊόντα με τις προσθήκες κρόκου σε μικρή και μεγάλη συγκέντρωση παρατηρήθηκε έντονη, αλλά ευχάριστη μεταβολή της γεύσης δίνοντας έναν πικάντικο τόνο, αλλά ταυτόχρονα και την αίσθηση ιωδίου που ήταν λίγο δυσάρεστη, ενώ η αίσθηση της αλκοόλης ήταν μειωμένη σε σχέση με τον μάρτυρα. Όλα αυτά ήταν πιο έντονα (όπως ήταν αναμενόμενο) στο προϊόν με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση. Στα προϊόντα με τις προσθήκες κρόκου τόσο η εξασθένιση της γεύσης, όσο και του αρώματος ήταν πολύ λιγότερο αισθητή με την ευχάριστη γεύση και το άρωμα να παραμένουν αναλλοίωτα.

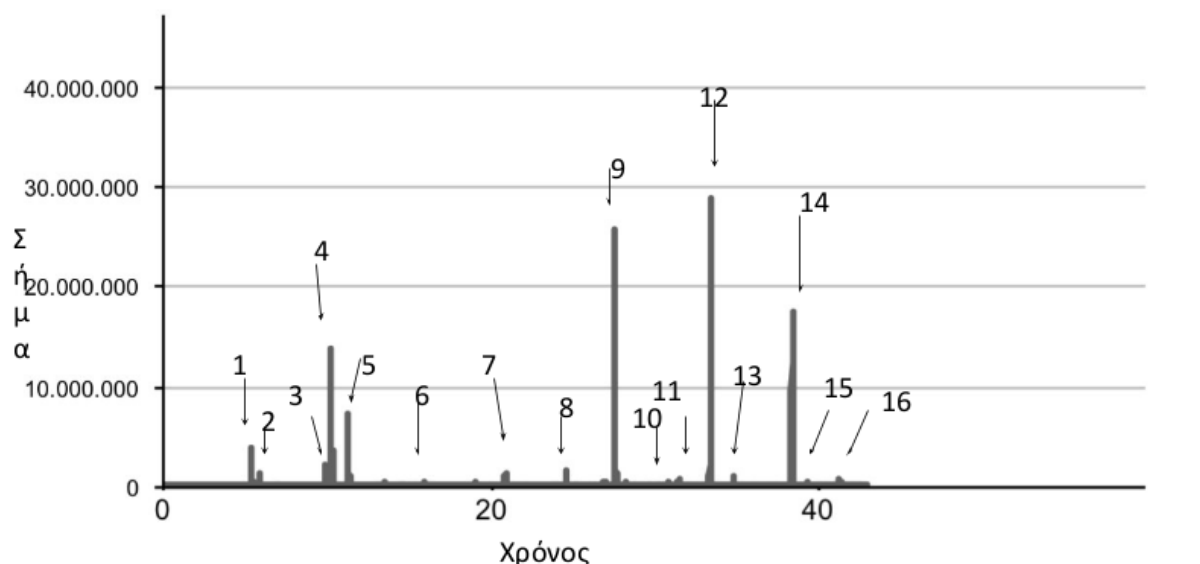
3.4. Προφίλ πτητικών ενώσεων

Από την ανάλυση προκύπτουν τα ακόλουθα χρωματογραφήματα



Εικόνα 23: Τυπικό αέριο χρωματογράφημα του μάρτυρα Θεσσαλίας και με βέλη σημειώνονται οι κύριες ενώσεις: **1.** Ethyl Acetate, **2.** 1-Propanol, 2-methyl-, **3.** 1-Butanol, 3-methyl-, **4.** 1-Butanol, 2-methyl-, **5.** 2-Pentanol, 4-methyl-, **6.** Furfural, **7.** 1-Hexanol, **8.** .alpha.-Methyl-.alpha.-[4-methyl-3-pentenyl]oxiranemethanol, **9.** Octanoic acid, ethyl

ester,**10.** Decanoic acid, ethyl ester,**11.** Dodecanoic acid, ethyl ester,**12.** Tetradecanoic acid, ethyl ester,**13.** Ethyl trans-4-decenoate.



Εικόνα 25: Τυπικό αέριο χρωματογράφημα του μάρτυρα Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μεγάλη συγκέντρωση και με βέλη σημειώνονται οι κύριες ενώσεις, όπου: **1.** Ethyl Acetate, **2.** 1-Propanol, 2-methyl-, **3.** 1-Butanol, 3-methyl-, **4.** 1-Butanol, 2-methyl-, **5.** 2-Pentanol, 4-methyl-, **6.** safranal, **7.** 1-Hexanol, **8.** .alpha.-Methyl-.alpha.-[4-methyl-3-pentenyl]oxiranemethanol, **9.** Octanoic acid, ethyl ester, **10.** Citronellol, **11.** Ionone **12.** Decanoic acid, ethyl ester, **13.** Octanoic acid, 3-methylbutyl ester, **14.** Dodecanoic acid, ethyl ester, **15.** Tetradecanoic acid, ethyl ester, **16.** Ethyl trans-4-decenoate.

Από την ανάλυση προκύπτουν οι ακόλουθες τιμές

Πίνακας 35. Αποτελέσματα πτητικών σε χρόνο 0 ημέρες για μάρτυρα Θεσσαλίας, μάρτυρα Θεσσαλίας με προσθήκη κρόκου σε μικρή (K1) και μεγάλη (K2) συγκέντρωση

Χημική ένωση	Συγκέντρωση M2(ppm)	Συγκέντρωση K1(ppm)	Συγκέντρωση K2(ppm)
Ethyl Acetate	34,07 ^a ±1,05	69,6 ^b ±0,7	72,1 ^c ±1,3
1-Propanol, 2-methyl-	30,8 ^a ±1,5	31,525 ^{ab} ±3,224	35,5 ^b ±1,6

Butanal, 3-methyl-	2,4 ^a ±0,3	2,45 ^a ±0,23	2,7 ^a ±0,6
Ethane, 1,1-diethoxy-	40,6 ^a ±1,6	42,513 ^a ±1,218	52,838 ^b ±3,117
1-Butanol, 3-methyl-	305,283 ^a ±1,223	310,74 ^b ±5,26	315,21 ^c ±3,39
1-Butanol, 2-methyl-	85,9 ^a ±0,6	84,6 ^a ±1,5	85,1 ^a ±0,5
2-Pentanol, 4-methyl-	150 ^a ±0	150 ^a ±0	150 ^a ±0
Hexanal	1,58 ^a ±0,14	2,0 ^a ±0,4	1,84 ^a ±0,09
Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester, (S)-	11,4 ^a ±0,9	11,9 ^a ±0,7	12,323 ^b ±0,3
Furfural	12,9 ^a ±0,3	14,4 ^b ±0,7	17,99 ^c ±0,27
Propane, 1,1-diethoxy-2-methyl-	1,9 ^a ±0,4	1,9 ^a ±0,4	2,3 ^b ±0,5
1-Hexanol	12,449 ^a ±0,223	12,12 ^a ±0,19	13,12 ^a ±0,25
Butane, 1,1-diethoxy-3-methyl-	-	4,0 ^a ±0,6	5,4 ^a ±0,5
,beta,-Myrcene	1,41 ^a ±0,09	1,10 ^a ±0,17	0,647 ^a ±0,113
Pentane, 1-(1-ethoxyethoxy)-	0,622 ^a ±0,113	-	1,4 ^b ±0,6
Hexanoic acid, ethyl ester	6,80 ^a ±0,2	10,3 ^b ±0,7	23,9 ^c ±0,9
o-Cymene	5,1 ^a ±0,3	5,2 ^a ±0,3	5,3 ^a ±0,3
D-Limonene	-	9,9 ^a ±0,3	11,63 ^b ±0,14
Safranal	-	5,2 ^a ±0,3	10,31 ^b ±0,16
Hexane, 1,1-diethoxy-	2,9 ^a ±0,3	2,64 ^a ±0,81	2,702 ^a ±0,113
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	35,83 ^a ±1,09	36,483 ^a ±1,213	38,1 ^b ±2,9
1,7-Octadiene-3,6-diol, 2,6-dimethyl-	6,25 ^a ±0,28	7,1 ^b ±0,7	7,4 ^b ±0,4
2H-Pyran, 3,6-dihydro-4-methyl-2-(2-methyl-1-propenyl)-	3,3 ^a ±0,5	2,9 ^a ±0,3	3,2 ^a ±0,3
1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl butyrate	1,16 ^a ±0,29	1,3 ^a ±0,4	3,2 ^b ±0,4
Butanedioic acid, diethyl ester	10,1 ^a ±0,7	10,4 ^a ±1,4	9,44 ^a ±0,13
Octanoic acid, ethyl ester	413,7 ^a ±11,8	552,6 ^b ±0,5	673,48 ^c ±1,05

,alpha,-Terpineol	5,7 ^a ±0,6	7,5 ^b ±0,5	7,1 ^b ±0,5
Citronellol	1,496 ^a ±0,28	2,8 ^b ±0,24	2,9 ^b ±0,4
Isopentyl hexanoate	1,9 ^a ±0,5	2,60 ^b ±0,05	4,8 ^c ±2,8
Nerol, methyl ether	1,6 ^a ±0,3	1,66 ^a ±0,27	2,2 ^b ±0,4
Geraniol	-	2,5 ^a ±0,3	3,8 ^b ±0,4
Geranyl ethyl ether 1	3,0 ^a ±0,5	5,0 ^b ±0,6	6,986 ^c ±1,216
Nonanoic acid, ethyl ester	8,0 ^a ±0,6	8,9 ^a ±0,4	8 ^a ±3
Ionone	-	10,4 ^a ±0,3	14,087 ^b ±0,009
Decanoic acid, methyl ester	10,593 ^a ±0,223	9,9 ^a ±0,5	10,4 ^a ±0,8
n-Caprylic acid isobutyl ester	0,88 ^a ±0,24	1,4 ^b ±0,3	1,6 ^b ±0,4
Ethyl 9-decenoate	2,2 ^a ±0,4	2,27 ^a ±0,24	2,7 ^a ±0,3
Decanoic acid, ethyl ester	303,1 ^a ±16,4	305 ^a ±4	322,022 ^b ±0,124
Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	24,6 ^a ±0,3	24,3 ^a ±0,8	29,875 ^b ±2,103
cis-,beta,-Farnesene	1,2 ^a ±0,4	1,41 ^{ab} ±0,18	1,8 ^b ±0,7
Decanoic acid, propyl ester	1,2 ^a ±0,3	1,61 ^a ±0,15	1,4 ^a ±0,3
Undecanoic acid, ethyl ester	1,3 ^a ±0,3	1,59 ^a ±0,17	1,4 ^a ±0,17
Dodecanoic acid, methyl ester	2,42 ^a ±0,14	2,4 ^a ±0,3	2,4 ^a ±0,5
,gamma,-Muurolene	-	1,4 ^a ±0,5	1,323 ^a ±0,114
n-Capric acid isobutyl ester	1,7 ^a ±0,3	2,511 ^b ±0,208	4,32 ^c ±0,15
Dodecanoic acid, ethyl ester	310 ^a ±6	327,5 ^b ±0,9	342,12 ^c ±0,13
Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	12,4 ^a ±0,4	12,993 ^a ±0,228	11,5 ^a ±1,5
Hexadecanoic acid, methyl ester	2,8 ^a ±0,4	2,432 ^a ±0,025	2,6 ^a ±0,6

Με την προσθήκη του κρόκου στο τσίπουρο παρατηρούνται αλλαγές στο πτητικό προφίλ του προϊόντος ήδη από το χρόνο 0. Υπάρχει σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης σε κάποιες ενώσεις, η οποία είναι ανάλογη με την συγκέντρωση του κρόκου. Επίσης μετά την

προσθήκη εμφανίζονται και ενώσεις που δεν υπήρχαν στον μάρτυρα. Το ίδιο μοντέλο ακολουθείται και στους υπόλοιπους χρόνους.

Όπως παρατηρούμε, με την προσθήκη του κρόκου προκύπτουν αρκετές καινούριες ενώσεις που δεν υπήρχαν στο αρχικό τσίπουρο και του προσδίδουν θετικά χαρακτηριστικά. Οι ενώσεις αυτές έχουν βρεθεί στον κρόκο, σύμφωνα και με τη βιβλιογραφία (27). Για παράδειγμα, η Σαφρανάλη, προσφέρει στα τρόφιμα, άρωμα (Χαρίζει ένα χαρακτηριστικό, πλούσιο και ζεστό άρωμα που είναι αναγνωρίσιμο και επιθυμητό σε πολλές κουζίνες), γεύση (Προσδίδει μια μοναδική γεύση, που μπορεί να είναι γλυκιά και πικάντικη, ενισχύοντας τη συνολική γευστική εμπειρία). Επιπλέον προσδίδει χρώμα, εξού και το χαρακτηριστικό πορτοκαλί χρώμα των εμπλουτισμένων με κρόκο τσίπουρου. Τέλος η Σαφρανάλη είναι γνωστή για τις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες και έχει διατροφικά οφέλη.

Επιπλέον, στο εμπλουτισμένο τσίπουρο, εντοπίζεται το Λεμονένιο, το οποίο είναι ένα μονοτερπένιο. Σε τρόφιμα, προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα: Αρχικά προσφέρει άρωμα και γεύση (προσδίδει μια φρέσκια, εσπεριδοειδής γεύση και άρωμα, κάνοντάς το δημοφιλές σε γλυκά, ποτά και σάλτσες). Επιπλέον είναι γνωστό για τις αντιοξειδωτικές του ιδιότητες, διατηρεί τη φρεσκάδα στα τρόφιμα, έχοντας αντιβακτηριακές και αντιμυκητιασικές ιδιότητες. Πέρα από αυτά το Λεμονένιο, έχει αναζωογονητική επίδραση και τονωτική δράση, ενώ θεωρείται και ένα φυσικό πρόσθετο (συχνά χρησιμοποιείται ως φυσικό αρωματικό και συντηρητικό σε βιολογικά και φυσικά προϊόντα, προσφέροντας μια πιο υγιεινή εναλλακτική στις τεχνητές γεύσεις).

Συνολικά, το λεμονένιο ενισχύει τη γεύση και το άρωμα των τροφίμων, προσφέροντας και πιθανά οφέλη για την υγεία.

Πίνακας 36. Αποτελέσματα πτητικών σε χρόνο 60 ημέρες για μάρτυρα 2, μάρτυρα 2 με προσθήκη κρόκου σε μικρή (K1) και μεγάλη (K2) συγκέντρωση.

RT	Χημική ένωση	Συγκέντρωση M2(ppm)	Συγκέντρωση K1(ppm)	Συγκέντρωση K2(ppm)
5,362	Ethyl Acetate	17,2 ^a ±0,3	33,55 ^b ±0,09	80,40 ^c ±0,03
5,865	1-Propanol, 2-methyl-	23,50 ^a ±0,29	27,5 ^b ±0,3	50,592 ^c ±0,003
6,968	Butanal, 3-methyl-	2,30 ^a ±0,14	2,4 ^a ±0,4	2,444 ^a ±0,013
9,848	Ethane, 1,1-diethoxy-	34,6 ^a ±0,3	39,3 ^b ±0,3	48,344 ^c ±0,115

10,198	1-Butanol, 3-methyl-	306,5 ^a ±0,4	305,965 ^a ±0,023	304,55 ^a ±0,17
10,367	1-Butanol, 2-methyl-	77,2 ^a ±0,5	80,397 ^b ±0,023	118,33 ^c ±0,13
11,242	linalool	-	0,692 ^a ±0,218	1,22 ^b ±0,23
11,262	2-Pentanol, 4-methyl-	150 ^a ±0	150 ^a ±0	150 ^a ±0
13,040	Hexanal	1,551 ^a ±0,025	-	2,462 ^b ±0,013
13,474	Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester, (S)-	10,5 ^a ±0,3	10,07 ^a ±0,06	9,516 ^a ±0,014
14,463	Furfural	8,67 ^a ±0,16	10,618 ^a ±0,117	10,42 ^a ±0,13
15,33	Propane, 1,1-diethoxy-2-methyl-	1,986 ^a ±0,008	1,699 ^a ±0,013	1,905 ^a ±0,023
15,401	β-ionone	-	0,441 ^a ±0,006	0,882 ^b ±0,025
15,487	Safranal	-	1,2 ^a ±0,3	2,49 ^b ±0,05
15,839	1-Hexanol	10,48 ^a ±0,06	11,29 ^a ±0,26	11,631 ^a ±0,113
19,017	Butane, 1,1-diethoxy-3-methyl-	5,4 ^a ±0,3	6,68 ^b ±0,06	7,42 ^c ±0,25
20,606	,beta,-Myrcene	1,23 ^a ±0,03	-	0,962 ^a ±0,014
19,75	Pentane, 1-(1-ethoxyethoxy)-	0,64 ^a ±0,03	0,876 ^a ±0,007	-
20,826	Hexanoic acid, ethyl ester	6,515 ^a ±0,114	13,27 ^b ±0,17	22,513 ^c ±0,007
22,090	o-Cymene	5,1 ^a ±0,6	5,14 ^a ±0,03	5,51 ^a ±0,04
23,692	,alpha,-Methyl-,alpha,-[4-methyl-3-pentenyl]oxiranemethanol	2,504 ^a ±0,215	2,11 ^a ±0,04	2,26 ^a ±0,05
22,279	D-Limonene	-	0,639 ^a ±0,025	1,53 ^b ±0,16
23,958	Hexane, 1,1-diethoxy-	2,159 ^a ±0,008	2,54 ^a ±0,23	3,18 ^b ±0,05
24,512	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	29,726 ^a ±0,104	30,18 ^a ±0,23	33,44 ^b ±0,23
24,669	1,7-Octadiene-3,6-diol, 2,6-dimethyl-	7,49 ^a ±0,25	8,3 ^{ab} ±0,5	9,35 ^b ±0,04
26,326	2H-Pyran, 3,6-dihydro-4-methyl-2-(2-methyl-1-propenyl)-	2,607 ^a ±0,025	2,56 ^a ±1,13	2,545 ^a ±0,014

26,636	1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl butyrate	1,243 ^a ±0,023	-	1,535 ^a ±0,029
26,883	Butanedioic acid, diethyl ester	8,6 ^a ±0,33	8,394 ^a ±0,005	8,934 ^a ±0,009
27,507	Octanoic acid, ethyl ester	352,3 ^a ±0,4	363,62 ^a ±0,14	512,61 ^a ±0,06
27,914	,alpha,-Terpineol	7,50 ^a ±0,18	8,23 ^{ab} ±0,004	9,327 ^b ±0,013
28,535	Citronellol	2,43 ^a ±0,29	2,34 ^a ±0,13	2,452 ^a ±0,014
29,201	Isopentyl hexanoate	1,951 ^a ±0,025	2,1 ^a ±0,5	2,162 ^a ±0,014
24,695	Nonanal	-	0,536 ^a ±0,005	1,13 ^b ±0,03
30,167	Geranyl ethyl ether 1	2,43 ^a ±0,07	3,21 ^b ±0,25	4,257 ^c ±0,028
30,512	Nonanoic acid, ethyl ester	5,629 ^a ±0,118	6,23 ^{ab} ±0,25	7,28 ^b ±0,03
30,713	Ionone	-	3,183 ^a ±0,014	8,65 ^b ±0,13
31,360	Decanoic acid, methyl ester	6,5 ^a ±0,3	7,552 ^{ab} ±0,026	9,50 ^b ±0,06
31,458	(S)-(-)-Citronellic acid, methyl ester	5,639 ^a ±0,215	8,345 ^b ±0,116	12,35 ^c ±0,15
32,025	n-Caprylic acid isobutyl ester	0,84 ^a ±0,03	0,93 ^a ±0,03	1,55 ^a ±0,28
33,125	Ethyl 9-decenoate	2,083 ^a ±0,04	2,12 ^a ±0,14	2,387 ^a ±0,009
33,32	Decanoic acid, ethyl ester	245,4 ^a ±0,3	268,582 ^b ±0,13	298,23 ^c ±0,04
34,780	Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	20,34 ^a ±0,13	21,624 ^a ±0,019	21,232 ^a ±0,006
35,907	Decanoic acid, propyl ester	1,267 ^a ±0,009	1,3 ^a ±0,23	1,436 ^a ±0,014
35,997	Undecanoic acid, ethyl ester	1,366 ^a ±0,015	1,32 ^a ±0,04	1,325 ^a ±0,005
36,783	Dodecanoic acid, methyl ester	0,22 ^a ±0,03	0,612 ^b ±0,003	1,354 ^c ±0,018
37,32	n-Capric acid isobutyl ester	1,642 ^a ±0,029	1,9 ^a ±0,3	2,068 ^a ±0,023
38,319	Dodecanoic acid, ethyl ester	232,1 ^a ±0,7	245,389 ^b ±0,126	256,59 ^b ±0,06
40,39	Methyl tetradecanoate	0,766 ^a ±0,025	0,627 ^a ±0,005	0,712 ^a ±0,009
41,224	Tetradecanoic acid, ethyl ester	5,496 ^a ±0,009	8,359 ^b ±0,013	11,523 ^c ±0,114
42,890	Hexadecanoic acid, methyl ester	1,543 ^a ±0,017	1,309 ^a ±0,028	1,859 ^a ±0,019

Πίνακας 37. Αποτελέσματα πτητικών σε χρόνο 120 ημέρες για μάρτυρα 2, μάρτυρα 2 με προσθήκη κρόκου σε μικρή (K1) και μεγάλη (K2) 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. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$).

RT	Χημική ένωση	Συγκέντρωση M2(ppm)	Συγκέντρωση K1(ppm)	Συγκέντρωση K2(ppm)
5,362	Ethyl Acetate	14,81 ^a $\pm$ 0,24	59,356 ^b $\pm$ 0,225	70,583 ^c $\pm$ 0,103
5,865	1-Propanol, 2-methyl-	18,25 ^a $\pm$ 0,15	30,26 ^b $\pm$ 0,05	29,16 ^b $\pm$ 0,05
6,968	Butanal, 3-methyl-	2,56 ^a $\pm$ 0,18	2,45 ^a $\pm$ 0,23	2,47 ^a $\pm$ 0,06
9,848	Ethane, 1,1-diethoxy-	29,27 ^a $\pm$ 0,25	41,265 ^b $\pm$ 0,119	40,70 ^b $\pm$ 0,14
10,198	1-Butanol, 3-methyl-	228,49 ^a $\pm$ 0,28	300 ^b $\pm$ 3	295,63 ^b $\pm$ 0,04
10,367	1-Butanol, 2-methyl-	63,3 ^a $\pm$ 0,4	80,23 ^b $\pm$ 0,24	78,61 ^b $\pm$ 0,08
11,262	2-Pentanol, 4-methyl-	150 ^a $\pm$ 0	150 ^a $\pm$ 0	150 ^a $\pm$ 0
13,040	Hexanal	1,51 ^a $\pm$ 0,06	1,524 ^a $\pm$ 0,003	2,24 ^b $\pm$ 0,09
13,474	Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester, (S)-	10,3 ^a $\pm$ 0,3	10,425 ^a $\pm$ 0,225	10,18 ^a $\pm$ 0,05
14,463	Furfural	8,38 ^a $\pm$ 0,05	9,563 ^a $\pm$ 0,007	11,40 ^b $\pm$ 0,25
15,328	Propane, 1,1-diethoxy-2-methyl-	1,38 ^a $\pm$ 0,16	2,155 ^a $\pm$ 0,229	2,375 ^b $\pm$ 0,004
15,487	Safranal	-	5,2 ^a $\pm$ 0,3	10,31 ^b $\pm$ 0,16
15,839	1-Hexanol	8,59 ^a $\pm$ 0,24	10,766 ^b $\pm$ 0,118	12,40 ^c $\pm$ 0,06
19,017	Butane, 1,1-diethoxy-3-methyl-	2,196 ^a $\pm$ 0,123	4,5 ^b $\pm$ 0,8	5,6 ^b $\pm$ 0,2
20,606	,beta,-Myrcene	0,64 ^a $\pm$ 0,04	0,52 ^a $\pm$ 0,05	0,84 ^b $\pm$ 0,02
	Pentane, 1-(1-ethoxyethoxy)-	0,61 ^a $\pm$ 0,05	1,265 ^b $\pm$ 0,007	-
20,826	Hexanoic acid, ethyl ester	5,4 ^a $\pm$ 0,3	8,286 ^b $\pm$ 0,007	12,85 ^c $\pm$ 0,05

22,090	o-Cymene	1,45 ^a ±0,29	1,65 ^a ±0,17	1,37 ^a ±0,05
22,28	D-Limonene	-	7,324 ^a ±0,009	9,38 ^b ±0,19
23,692	,alpha,-Methyl-,alpha,-[4-methyl-3-pentenyl]oxiranemethanol	2,02 ^a ±0,08	2,3 ^a ±0,3	2,418 ^a ±0,108
23,958	Hexane, 1,1-diethoxy-	1,71 ^a ±0,14	2,42 ^b ±0,23	2,89 ^b ±0,05
24,512	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	31,3 ^a ±0,5	36,56 ^b ±0,04	27,7 ^c ±0,4
24,669	1,7-Octadiene-3,6-diol, 2,6-dimethyl-	5,562 ^a ±0,123	5,937 ^a ±0,229	5,58 ^a ±0,27
26,326	2H-Pyran, 3,6-dihydro-4-methyl-2-(2-methyl-1-propenyl)-	2,02 ^a ±0,14	2,56 ^a ±0,29	2,934 ^a ±0,024
26,636	1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl butyrate	1,36±0,14	1,189 ^a ±0,077	1,064 ^a ±0,013
26,883	Butanedioic acid, diethyl ester	6,22 ^a ±0,08	9,62 ^b ±0,03	8,0 ^b ±0,3
27,507	Octanoic acid, ethyl ester	213,1 ^a ±0,6	420,1 ^b ±0,9	425,49 ^b ±0,06
27,914	,alpha,-Terpineol	6,6 ^a ±0,3	7,154 ^b ±0,005	7,55 ^b ±0,06
28,535	Citronellol	1,55 ^a ±0,03	2,308 ^b ±0,006	2,26 ^b ±0,09
28,67	Fumaric acid, di(cyclohex-3-enylmethyl) ester	-	0,96 ^a ±0,27	2,40 ^b ±0,04
29,201	Isopentyl hexanoate	1,80 ^a ±0,05	1,81 ^a ±0,15	1,66 ^a ±0,06
29,522	Nerol, methyl ether	1,57 ^a ±0,04	1,654 ^a ±0,226	1,372 ^a ±0,023
30,167	Geranyl ethyl ether 1	1,63 ^a ±0,09	3,67 ^b ±0,15	5,445 ^c ±0,108
30,512	Nonanoic acid, ethyl ester	1,18 ^a ±0,08	6,781 ^b ±0,228	6,402 ^b ±0,203
30,708	Ionone	-	6,254 ^a ±0,229	6,48 ^a ±0,09
31,360	Decanoic acid, methyl ester	2,43 ^a ±0,24	7,81 ^b ±0,35	7,38 ^b ±0,06
31,458	(S)-(-)-Citronellic acid, methyl ester	3,54 ^a ±0,15	10,6 ^b ±0,5	9,53 ^b ±0,05
32,025	n-Caprylic acid isobutyl ester	0,83 ^a ±0,04	1,516 ^a ±0,112	1,48 ^a ±0,03
33,125	Ethyl 9-decenoate	2,001 ^a ±0,014	1,362 ^a ±0,224	2,3 ^a ±0,3

33,321	Decanoic acid, ethyl ester	210,9 ^a ±0,7	245,451 ^b ±0,003	285,602 ^c ±0,004
34,780	Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	12,36 ^a ±0,29	19,578 ^b ±0,005	21,46 ^c ±0,16
35,052	cis-,beta,-Farnesene	1,296 ^a ±0,123	-	1,41 ^a ±0,03
35,907	Decanoic acid, propyl ester	1,28 ^a ±0,05	1,245 ^a ±0,013	1,21 ^a ±0,04
35,997	Undecanoic acid, ethyl ester	1,166 ^a ±0,009	1,235 ^a ±0,103	1,18 ^a ±0,05
36,783	Dodecanoic acid, methyl ester	0,248 ^a ±0,135	0,702 ^a ±0,106	0,936 ^b ±0,025
38,319	Dodecanoic acid, ethyl ester	110,50 ^a ±0,03	204,56 ^b ±0,24	290,39 ^c ±0,18
39,247	Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	7,44 ^a ±0,08	9,866 ^b ±0,229	8,87 ^b ±0,09
42,890	Hexadecanoic acid, methyl ester	2,31 ^b ±0,07	1,23 ^a ±0,19	1,247 ^a ±0,118

Πίνακας 38. Αποτελέσματα πτητικών για το μάρτυρα 2 χωρίς προσθήκη, στους τέσσερις χρόνους του πειράματος.

RT	Χημική ένωση	Συγκέντρωση M2(ppm), 0 ημέρες	Συγκέντρωση M2(ppm), 30 ημέρες	Συγκέντρωση M2(ppm), 60 ημέρες	Συγκέντρωση M2(ppm), 120 ημέρες
5,362	Ethyl Acetate	34,07 ^d ±1,05	30,55 ^c ±0,23	17,2 ^b ±0,3	14,81 ^a ±0,24
5,865	1-Propanol, 2-methyl-	30,8 ^d ±1,5	27,5 ^c ±0,3	23,50 ^b ±0,29	18,25 ^a ±0,15
6,968	Butanal, 3-methyl-	2,4 ^a ±0,3	2,40 ^a ±0,09	2,30 ^a ±0,14	2,56 ^a ±0,18
9,848	Ethane, 1,1-diethoxy-	40,6 ^c ±1,6	38,67 ^b ±0,09	34,6 ^b ±0,3	29,27 ^a ±0,25
10,198	1-Butanol, 3-methyl-	305,283 ^b ±1,223	298,61 ^b ±0,13	306,5 ^b ±0,4	228,49 ^a ±0,28
10,367	1-Butanol, 2-methyl-	85,9 ^c ±0,6	80,37 ^c ±0,13	77,2 ^b ±0,5	63,3 ^a ±0,4
11,262	2-Pentanol, 4-methyl-	150 ^a ±0	150 ^a ±0	150 ^a ±0	150 ^a ±0
13,04	Hexanal	1,58 ^a ±0,14	1,538 ^a ±0,009	1,551 ^a ±0,025	1,51 ^a ±0,06

13,474	Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester, (S)-	11,4 ^b ±0,9	11,418 ^b ±0,109	10,5 ^a ±0,3	10,3 ^a ±0,3
14,463	Furfural	12,9 ^b ±0,3	11,7 ^b ±0,14	8,67 ^a ±0,16	8,38 ^a ±0,05
15,328	Propane, 1,1-diethoxy-2-methyl-	1,9 ^b ±0,4	1,95 ^b ±0,03	1,986 ^b ±0,008	1,38 ^a ±0,16
15,839	1-Hexanol	12,449 ^c ±0,223	11,79 ^{bc} ±0,15	10,48 ^b ±0,06	8,59 ^a ±0,24
19,017	Butane, 1,1-diethoxy-3-methyl-	-	4,42 ^b ±0,08	5,4 ^b ±0,3	2,196 ^a ±0,123
20,606	,beta,-Myrcene	1,41 ^b ±0,09	1,422 ^b ±0,104	1,23 ^b ±0,03	0,64 ^a ±0,04
19,75	Pentane, 1-(1-ethoxyethoxy)-	0,622 ^a ±0,113	0,618 ^a ±0,014	0,64 ^a ±0,03	0,61 ^a ±0,05
20,826	Hexanoic acid, ethyl ester	6,80 ^b ±0,2	6,84 ^b ±0,03	6,515 ^b ±0,114	5,4 ^a ±0,3
22,09	o-Cymene	5,1 ^b ±0,3	5,262 ^b ±0,027	5,1 ^b ±0,6	1,45 ^a ±0,29
23,692	,alpha,-Methyl-,alpha,-[4-methyl-3-pentenyl]oxiranemethanol	2,1 ^a ±0,6	2,28 ^a ±0,29	2,504 ^a ±0,215	2,02 ^a ±0,08
23,958	Hexane, 1,1-diethoxy-	2,9 ^b ±0,3	2,39 ^b ±0,23	2,159 ^{ab} ±0,008	1,71 ^a ±0,14
24,512	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	35,83 ^b ±1,09	33,72 ^{ab} ±0,03	29,726 ^a ±0,104	31,3 ^a ±0,5
24,669	1,7-Octadiene-3,6-diol, 2,6-dimethyl-	8,25 ^b ±0,28	8,29 ^b ±0,04	7,49 ^b ±0,25	5,562 ^a ±0,123
26,326	2H-Pyran, 3,6-dihydro-4-methyl-2-(2-methyl-1-propenyl)-	3,3 ^b ±0,5	2,53 ^{ab} ±0,18	2,607 ^a ±0,025	2,02 ^a ±0,14
26,636	1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl butyrate	1,16 ^a ±0,29	1,307 ^a ±0,029	1,243 ^a ±0,023	1,36 ^a ±0,14
26,883	Butanedioic acid, diethyl ester	10,1 ^c ±0,7	9,4 ^{bc} ±0,3	8,6 ^b ±0,33	6,22 ^a ±0,08
27,507	Octanoic acid, ethyl ester	413,7 ^c ±11,8	401,21 ^c ±0,25	352,3 ^b ±0,4	213,1 ^a ±0,6
27,914	,alpha,-Terpineol	8,7 ^c ±0,6	8,42 ^c ±0,26	7,50 ^b ±0,18	6,6 ^a ±0,3
28,535	Citronellol	1,496 ^a ±0,28	2,937 ^b ±0,028	2,43 ^b ±0,29	1,55 ^a ±0,03
29,201	Isopentyl hexanoate	1,9 ^a ±0,5	1,965 ^a ±0,027	1,951 ^a ±0,025	1,80 ^a ±0,05
29,522	Nerol, methyl ether	6,6 ^c ±0,3	6,98 ^c ±0,5	3,24 ^b ±0,24	1,57 ^a ±0,04
30,167	Geranyl ethyl ether 1	3,0 ^c ±0,5	2,979 ^{bc} ±0,019	2,43 ^b ±0,07	1,63 ^a ±0,09

30,325	Malonic acid, bis(2-trimethylsilylethyl ester	1,8 ^b ±0,3	1,846 ^b ±0,024	1,726 ^b ±0,018	1,59 ^a ±0,06
30,512	Nonanoic acid, ethyl ester	8,0 ^c ±0,6	7,62 ^c ±0,19	5,629 ^b ±0,118	1,18 ^a ±0,08
31,36	Decanoic acid, methyl ester	10,593 ^d ±0,223	8,828 ^c ±0,206	6,5 ^b ±0,3	2,43 ^a ±0,24
31,458	(S)-(-)-Citronellic acid, methyl ester	14,6 ^d ±0,4	9,540,16 ^c ±0,14	5,639 ^b ±0,215	3,54 ^a ±0,15
32,025	n-Caprylic acid isobutyl ester	0,88 ^a ±0,24	0,843 ^a ±0,007	0,84 ^a ±0,03	0,83 ^a ±0,04
33,125	Ethyl 9-decenoate	2,2 ^a ±0,4	2,25 ^a ±0,006	2,083 ^a ±0,04	2,001 ^a ±0,014
33,321	Decanoic acid, ethyl ester	303,1 ^d ±16,4	286,56 ^c ±0,27	245,4 ^b ±0,3	210,9 ^a ±0,7
34,78	Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	24,6 ^c ±0,3	23,78 ^c ±0,08	20,34 ^b ±0,13	12,36 ^a ±0,29
35,052	cis-,beta,-Farnesene	1,2 ^a ±0,4	1,273 ^a ±0,023	-	1,296 ^a ±0,123
35,907	Decanoic acid, propyl ester	1,2 ^a ±0,3	1,265 ^a ±0,004	1,267 ^a ±0,009	1,28 ^a ±0,05
35,997	Undecanoic acid, ethyl ester	1,3 ^a ±0,3	1,365 ^a ±0,007	1,366 ^a ±0,015	1,166 ^a ±0,009
36,783	Dodecanoic acid, methyl ester	2,42 ^b ±0,14	2,45 ^b ±0,03	0,22 ^a ±0,03	0,248 ^a ±0,135
38,319	Dodecanoic acid, ethyl ester	310 ^d ±6	270,52 ^c ±0,25	232,1 ^b ±0,7	110,50 ^a ±0,03
39,247	Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	12,4 ^c ±0,4	10,01 ^b ±0,3	10,2 ^b ±0,6	7,44 ^a ±0,08
42,89	Hexadecanoic acid, methyl ester	2,8 ^a ±0,4	2,74 ^a ±0,03	1,943 ^a ±0,017	2,31 ^a ±0,07

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).

Πίνακας 38. Αποτελέσματα πτητικών για το μάρτυρα με προσθήκη κρόκου σε μικρή συγκέντρωση (K1), στους τρεις χρόνους του πειράματος.

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).

RT	Χημική ένωση	Συγκέντρωση K1(ppm),0 ημέρες	Συγκέντρωση K1(ppm),60 ημέρες	Συγκέντρωση K1(ppm),120 ημέρες
5,362	Ethyl Acetate	69,6 ^c ±0,7	59,55 ^b ±0,09	33,356 ^a ±0,225
5,865	1-Propanol, 2-methyl-	31,525 ^b ±3,224	30,5 ^b ±0,3	27,26 ^a ±0,05
6,968	Butanal, 3-methyl-	2,45 ^a ±0,23	2,4 ^a ±0,4	2,45 ^a ±0,23
9,848	Ethane, 1,1-diethoxy-	42,513 ^a ±1,218	39,3 ^b ±0,3	41,265 ^{ba} ±0,119
10,198	1-Butanol, 3-methyl-	310,74 ^c ±5,26	305,965 ^b ±0,023	300 ^a ±3
10,367	1-Butanol, 2-methyl-	84,6 ^b ±1,5	80,397 ^a ±0,023	80,23 ^a ±0,24
11,262	2-Pentanol, 4-methyl-	150 ^a ±0	150 ^a ±0	150 ^a ±0
13,04	Hexanal	2,0 ^b ±0,4	-	1,524 ^a ±0,003
13,474	Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester, (S)-	11,9 ^b ±0,7	10,07 ^a ±0,06	10,425 ^a ±0,225
14,463	Furfural	14,4 ^b ±0,7	10,618 ^a ±0,117	9,563 ^a ±0,007
15,33	Propane, 1,1-diethoxy-2-methyl-	1,9 ^a ±0,4	1,699 ^a ±0,013	2,155 ^a ±0,229
15,487	Safranal	-	1,2 ^a ±0,3	1,2 ^a ±0,3
15,839	1-Hexanol	12,12 ^b ±0,19	11,29 ^{ab} ±0,26	10,766 ^a ±0,118
19,017	Butane, 1,1-diethoxy-3-methyl-	7,0 ^b ±0,6	6,68 ^b ±0,06	4,5 ^b ±0,8
20,606	,beta,-Myrcene	1,10 ^b ±0,17	-	0,52 ^a ±0,05
19,75	Pentane, 1-(1-ethoxyethoxy)-	-	0,876 ^a ±0,007	1,265 ^b ±0,007
20,826	Hexanoic acid, ethyl ester	10,3 ^b ±0,7	13,27 ^b ±0,17	8,286 ^a ±0,007
22,09	o-Cymene	5,2 ^b ±0,3	5,14 ^b ±0,03	1,65 ^a ±0,17
22,279	D-Limonene	9,9 ^b ±0,3	7,639 ^a ±0,025	7,324 ^a ±0,009
23,692	,alpha,-Methyl-,alpha,-[4-methyl-3-pentenyl]oxiranemethanol	1,99 ^a ±0,18	2,11 ^a ±0,04	2,3 ^a ±0,3

23,958	Hexane, 1,1-diethoxy-	2,64 ^a ±0,81	2,54 ^a ±0,23	2,42 ^a ±0,23
24,512	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	36,483 ^b ±1,213	30,18 ^a ±0,23	36,56 ^b ±0,04
24,669	1,7-Octadiene-3,6-diol, 2,6-dimethyl-	7,1 ^b ±0,7	8,3 ^b ±0,5	5,937 ^a ±0,229
26,326	2H-Pyran, 3,6-dihydro-4-methyl-2-(2-methyl-1-propenyl)-	2,9 ^a ±0,3	2,56 ^a ±1,13	2,56 ^a ±0,29
26,636	1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl butyrate	1,3 ^a ±0,4	-	1,189 ^a ±0,077
26,883	Butanedioic acid, diethyl ester	10,4 ^a ±1,4	8,394 ^a ±0,005	9,62 ^a ±0,03
27,507	Octanoic acid, ethyl ester	552,6 ^c ±0,5	463,62 ^b ±0,14	420,1 ^a ±0,9
27,914	,alpha,-Terpineol	7,5 ^a ±0,5	8,23 ^a ±0,004	7,154 ^a ±0,005
28,535	Citronellol	2,8 ^a ±0,24	2,34 ^a ±0,13	2,308 ^a ±0,006
29,201	Isopentyl hexanoate	2,60 ^b ±0,05	2,1 ^a ±0,5	1,81 ^a ±0,15
	Nerol, methyl ether	1,66 ^a ±0,27	-	1,654 ^a ±0,226
30,167	Geranyl ethyl ether 1	5,0 ^b ±0,6	3,21 ^a ±0,25	3,67 ^a ±0,15
30,512	Nonanoic acid, ethyl ester	8,9 ^b ±0,4	6,23 ^a ±0,25	6,781 ^a ±0,228
30,713	Ionone	10,4 ^b ±0,3	6,183 ^a ±0,014	6,254 ^a ±0,229
31,36	Decanoic acid, methyl ester	9,9 ^b ±0,5	7,552 ^a ±0,026	7,81 ^a ±0,35
31,458	(S)-(-)-Citronellic acid, methyl ester	13,3 ^b ±0,6	8,345 ^a ±0,116	10,6 ^a ±0,5
32,025	n-Caprylic acid isobutyl ester	1,4 ^a ±0,3	0,93 ^a ±0,03	1,516 ^a ±0,112
33,125	Ethyl 9-decenoate	2,27 ^b ±0,24	2,12 ^b ±0,14	1,362 ^a ±0,224
33,32	Decanoic acid, ethyl ester	305 ^c ±4	268,582 ^b ±0,13	245,451 ^a ±0,003
34,78	Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	24,3 ^b ±0,8	21,624 ^{ab} ±0,019	19,578 ^a ±0,005
35,907	Decanoic acid, propyl ester	1,61 ^b ±0,15	1,3 ^a ±0,23	1,245 ^a ±0,013
35,997	Undecanoic acid, ethyl ester	1,59 ^a ±0,17	1,32 ^a ±0,04	1,235 ^a ±0,103
36,783	Dodecanoic acid, methyl ester	2,4 ^b ±0,3	0,612 ^a ±0,003	0,702 ^a ±0,106
38,319	Dodecanoic acid, ethyl ester	327,5 ^c ±0,9	245,389 ^b ±0,126	204,56 ^a ±0,24

	Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	12,993 ^b ±0,228	-	9,866 ^a ±0,229
42,89	Hexadecanoic acid, methyl ester	2,432 ^b ±0,025	1,309 ^a ±0,028	1,23 ^a ±0,19

Τα αποτελέσματα σε σύγκριση με το χρόνο για τις προσθήκες, βρίσκονται στο παράρτημα

Με την πάροδο του χρόνου παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης των πτητικών. Η μείωση αυτή είναι μικρότερη στα προϊόντα με τη μικρή προσθήκη κρόκου και ακόμη μικρότερη σε αυτά με τη μεγάλη. Επομένως η προσθήκη του σαφράν εμποδίζει σε ένα βαθμό τη μείωση του αρωματικού προφίλ στο τσίπουρο.

Δ. Συζήτηση

Αρωματικοί σπόροι ή φυτά (π.χ. γλυκάνισος, μάραθος, σαφράν, φύλλα καρυδιάς) προστίθενται από ορισμένους αμπελουργούς στο τσίπουρο, αλλά δεν έχει αναφερθεί μαζική παραγωγή μέχρι τώρα. Εκτός από τα αποστάγματα στέμφυλων, τα bitters είναι αλκοολούχα παρασκευάσματα με τη χρήση βοτάνων για την ενίσχυση της γεύσης τους, χωρίς περαιτέρω προσθήκη ζάχαρης. Αρχικά είχαν αναπτυχθεί για ιατρικούς σκοπούς λόγω της παρουσίας φυτικών συστατικών που έχουν προστατευτικές επιδράσεις στην υγεία, αλλά σήμερα καταναλώνονται για πεπτικούς σκοπούς και για αρωματισμό σε κοκτέιλ.

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. (31).

Η κύρια ιδέα της παρούσας μελέτης ήταν η παρασκευή νέων λειτουργικών αλκοολούχων ποτών με την προσθήκη επιλεγμένων βοτάνων σε ένα ελληνικό παραδοσιακό απόσταγμα στέμφυλων. Τα βότανα επιλέχθηκαν λαμβάνοντας υπόψη όχι μόνο τα ευεργετικά συστατικά τους, αλλά και τη γεύση τους. Αποστάγματα βοτάνων παρασκευάστηκαν χωρίς προσθήκη ζάχαρης και έτσι αποκαλύφθηκαν οι πραγματικές ενώσεις που μεταφέρονται από τα βότανα στα αποστάγματα.

Η μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν: Δύο γραμμάρια από κάθε βότανο προστέθηκαν σε 100 mL «τσικουδιά». Το μείγμα αφέθηκε σε ηρεμία σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες στο σκοτάδι και στη συνέχεια διηθήθηκε υπό μειωμένη πίεση.

Τα αποστάγματα βοτάνων αποθηκεύτηκαν σε κλειστές φιάλες, στο σκοτάδι, σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι περαιτέρω ανάλυση.

Δείγματα «τσικουδιάς» χωρίς την προσθήκη βοτάνων αξιολογήθηκαν ως προς το φαινολικό τους προφίλ και έδειξαν μη σημαντικά αποτελέσματα (31)

Με τις προσθήκες, το φαινολικό περιεχόμενο, καθώς και το πτητικό προφίλ 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 (31).

Χαρακτηριστικό παράδειγμα εμπλουτισμού οίνου 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 (32,33).

Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των ερευνητικών μελετών που αναφέρθηκαν παραπάνω, η προσθήκη τσαγιού και κρόκου σε απόσταγμα (τσίπουρο) αυξάνει την αντιοξειδωτική δράση και το αρωματικό προφίλ του.

Ε. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τη μελέτη προκύπτουν τα παρακάτω συμπεράσματα.

- Τσίπουρο (Ηλείου) εμπλουτισμένο με υδατοαλκοολικό εκχύλισμα τσαγιού βουνού Ηλείου παρουσιάζει τις παρακάτω μεταβολές που είναι ανάλογες της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος που προστίθεται, τόσο σε αρχικό χρόνο όσο και κατά τη συντήρηση των προϊόντων.

-- Αυξημένη αντιοξειδωτική δράση, όπως αποτιμάται με τις μεθόδους Folin, FRAP, DPPH

-- Αυξημένη αντιφλεγμονώδη δράση, όπως αποτιμάται με τη μέθοδο εύρεσης της αντιφλεγμονώδους δράσης

-- Υψηλότερες συγκεντρώσεις διάφορων πτητικών ενώσεων και εμφάνιση επιπλέον πτητικών ενώσεων, όπως προσδιορίζονται με SPME / GC-MS.

- Τσίπουρο (Θεσσαλίας) εμπλουτισμένο με υδατοαλκοολικό εκχύλισμα κρόκου Κοζάνης παρουσιάζει τις παρακάτω μεταβολές που είναι ανάλογες της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος που προστίθεται, τόσο σε αρχικό χρόνο όσο και κατά τη συντήρηση των προϊόντων.

-- Αυξημένη αντιοξειδωτική δράση, όπως αποτιμάται με τις μεθόδους Folin, FRAP, DPPH

-- Αυξημένη/υψηλότερη αντιφλεγμονώδη δράση, όπως αποτιμάται με τη μέθοδο εύρεσης της αντιφλεγμονώδους δράσης

-- Υψηλότερες συγκεντρώσεις διάφορων πτητικών ενώσεων και εμφάνιση επιπλέον πτητικών ενώσεων, όπως προσδιορίζονται με SPME / GC-MS.

- Τσίπουρο (Ηπείρου και Θεσσαλίας), και τσίπουρο εμπλουτισμένο με υδατοαλκοολικό εκχύλισμα τσαγιού Ηπείρου είτε κρόκου Κοζάνης, κατά τη συντήρησή του στους 15 οΨ για μέχρι 120 ημέρες παρουσιάζει τις παρακάτω μεταβολές.

--Μείωση της αντιοξειδωτικής δράση, όπως αποτιμάται με τις μεθόδους Folin, FRAP, DPPH

-- Μείωση της αντιφλεγμονώδους δράσης, όπως αποτιμάται με τη μέθοδο εύρεσης της αντιφλεγμονώδους δράσης.

-- Μείωση της συγκέντρωσης διάφορων πτητικών ενώσεων, όπως προσδιορίζονται με SPME / GC-MS.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. 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
2. 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
3. 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>
4. 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
5. 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>
6. 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(2), 157–164, 2005, doi: 10.1016/j.foodcont.2004.01.005.
7. Korakas D., ‘Impressive Science Teaching Experiments Presenting “Tsipouro” —The Traditional Greek Spirit in the University Laboratory’, *ER*, 7(7), 871–875, 2023, doi: 10.26855/er.2023.07.001.
8. García-Martín S., Herrero C., Peña R.M., Barciela J. Solid-phase microextraction gas chromatography–mass spectrometry (HS-SPME-GC–MS) determination of volatile compounds in orujo spirits: Multivariate chemometric characterisation, *Food Chemistry*, 118, 456–461, 2010. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.04.105
9. 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, *OENO One*, 39, 31, 2005. DOI: <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2005.39.1.907>
10. 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>

11. Goulas V., Exarchou V., Kanetis L., Gerothanassis I. P. 'Evaluation of the phytochemical content, antioxidant activity and antimicrobial properties of mountain tea (*Sideritis syriaca*) decoction', *Journal of Functional Foods*, 6, 248–258, 2014, doi: 10.1016/j.jff.2013.10.014.
 12. Vasilopoulou C. G. 'Phytochemical composition of "mountain tea" from *Sideritis clandestina* subsp. *clandestina* and evaluation of its behavioral and oxidant/antioxidant effects on adult mice', *Eur J Nutr*, 52, 1, 107–116, 2013, doi: 10.1007/s00394-011-0292-2.
 13. Qazimi B., Stefkov G., Karapandzova M., Cvetkovikj I., Kulevanova S. 'Aroma Compounds of Mountain Tea (*Sideritis scardica* and *S. raeseri*) from Western Balkan', *Natural Product Communications*, 9, 1934578X1400900, 2014, doi: 10.1177/1934578X1400900937.
 14. Melnyk J. P., Wang S., Marcone M. F. 'Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron', *Food Research International*, 43(8), 1981–1989, 2010, doi: 10.1016/j.foodres.2010.07.033.. DOI: 10.1080/10408398409527386
 15. 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
 16. 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>
 18. Maggi M. A., Bisti S., Picco C. 'Saffron: Chemical Composition and Neuroprotective Activity', *Molecules*, 25 (23), 5618, 2020, doi: 10.3390/molecules25235618.
 19. Sehwaq S., Das M., 'Antioxidant Activity: An Overview', 2013.
- V. Goulas, V. Exarchou, L. Kanetis, και I. P. Gerothanassis, 'Evaluation of the phytochemical content, antioxidant activity and antimicrobial properties of mountain tea (*Sideritis syriaca*) decoction', *Journal of Functional Foods*, τ. 6, σσ. 248–258, Ιανουαρίου 2014, doi: 10.1016/j.jff.2013.10.014.
12. C. G. Vasilopoulou κ.ά., 'Phytochemical composition of "mountain tea" from *Sideritis clandestina* subsp. *clandestina* and evaluation of its behavioral and oxidant/antioxidant effects on adult mice', *Eur J Nutr*, τ. 52, τχ. 1, σσ. 107–116, Φεβρουαρίου 2013, doi: 10.1007/s00394-011-0292-2.
 13. B. Qazimi, G. Stefkov, M. Karapandzova, I. Cvetkovikj, και S. Kulevanova, 'Aroma Compounds of Mountain Tea (*Sideritis scardica* and *S. raeseri*) from Western Balkan', *Natural Product Communications*, τ. 9, τχ. 9, σ. 1934578X1400900, Σεπτεμβρίου 2014, doi: 10.1177/1934578X1400900937.
 14. J. P. Melnyk, S. Wang, και M. F. Marcone, 'Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron', *Food Research International*, τ. 43, τχ. 8, σσ. 1981–1989, Οκτωβρίου 2010, doi: 10.1016/j.foodres.2010.07.033.. DOI: 10.1080/10408398409527386

15. 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
16. 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>
17. European Union, https://agriculture.ec.europa.eu/farming/geographicalindications-and-quality-schemes/geographical-indications-food-and-drink/krokoskozanis-pdo_el
18. M. A. Maggi, S. Bisti, και C. Picco, 'Saffron: Chemical Composition and Neuroprotective Activity', *Molecules*, τ. 25, τχ. 23, σ. 5618, Νοεμβρίου 2020, doi: 10.3390/molecules25235618.
19. S. Sehwaag και M. Das, 'Antioxidant Activity: An Overview', www.stmjournals.com ,2013, https://www.researchgate.net/publication/264368106_Antioxidant_Activity_An_Overview
20. Lamuela-Raventós R. M. 'Folin-Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity', *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity*, Ltd, 2017, 107–115, doi: 10.1002/9781119135388.ch6
21. 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: Polyphenol extraction from wooden chips in wine model' 121 (2), 207–212, *Απριλίου* 2015, doi: 10.1002/jib.212
22. 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
23. Pappas C. 'Evaluation of a Raman spectroscopic method for the determination of alcohol content in Greek spirit Tsipouro', *Curr Res Nutr Food Sci*, 4, 01–09, 2016, doi: 10.12944/CRNFSJ.4.Special-Issue-October.01
24. Akter R., Moral A. A., Bashar A., Das S. 'pH and titratable acidity levels of alcoholic and non-alcoholic beverages contrast with the threshold pH level for tooth enamel demineralization', 9 (4), 2023
25. Yang D.-S., Lei Z., Bedair M., Sumner L. W. 'An Optimized SPME-GC-MS Method for Volatile Metabolite Profiling of Different Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Tissues', *Molecules*, 26 (21), 6473, 2021, doi: 10.3390/molecules26216473
26. Andreou V., Strati 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: 10.1016/j.foodchem.2018.01.162
27. 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.

29. Compendium of international methods of analysis of spirituous beverages of vitivinicultural origin. Determination of the principal volatile substances of spirit drinks of vitivinicultural origin. Determination of the acidities of spirit drinks of vitivinicultural origin - Type II Method (OIV-MA-BS-12)
30. 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
31. 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
32. 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
33. 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
34. Alexandre-Tudo. L.J, amp 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
35. Andreou V., Strati 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: 10.1016/j.foodchem.2018.01.162
36. Liang Z., Zhang P., Zeng X.A., Fang Z. The art of flavored wine: Tradition and future. *Trends in Food Science and Technology*, 116, 130–145, 2021, DOI: 10.1016/j.tifs.2021.07.020
37. Proestos C., Bakogiannis A., Psariano s C., Koutina 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

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

DRPH για μάρτυρα Ηπείρου και προσθήκες εκχυλίσματος τσαγιού

Αναλυτικά έχουμε τα ακόλουθα αποτελέσματα

Για χρόνο 0:

Πίνακας 1. Αποτελέσματα για δέσμευση της ρίζας με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με τσάι δείγματα.

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

t	A(515nm) control	A(515nm) M1t0	A(515nm) T1t0	A(515nm) T2t0	%Αναστολή M1t0	%Αναστολή T1t0	%Αναστολή T2t0
0	0,864	0,771	0,689	0,640	7,28 ^a $\pm$ 0,14	20,9 ^b $\pm$ 0,4	25,9 ^c $\pm$ 0,3
2,5	0,860	0,730	0,650	0,600	15,50 ^a $\pm$ 0,09	24,7 ^b $\pm$ 0,5	30,55 ^c $\pm$ 0,15
5	0,857	0,721	0,645	0,578	16,55 ^a $\pm$ 0,14	25,34 ^b $\pm$ 0,08	33,10 ^c $\pm$ 0,16
7,5	0,856	0,717	0,630	0,564	17,01 ^a $\pm$ 0,23	27,08 ^b $\pm$ 0,14	34,72 ^c $\pm$ 0,23
10	0,855	0,713	0,623	0,543	17,4 ^a $\pm$ 1,4	27,89 ^b $\pm$ 0,23	37,1 ^c $\pm$ 0,4
12,5	0,854	0,714	0,625	0,544	17,361 ^a $\pm$ 0,006	27,6 ^b $\pm$ 0,6	37,03 ^c $\pm$ 0,15
15	0,853	0,713	0,624	0,542	17,47 ^a $\pm$ 0,27	27,77 ^b $\pm$ 0,14	37,26 ^c $\pm$ 0,23
17,5	0,853	0,712	0,623	0,543	17,59 ^a $\pm$ 1,08	27,894 ^b $\pm$ 0,008	37,1 ^c $\pm$ 0,9
20	0,854	0,712	0,624	0,544	19,61 ^a $\pm$ 0,05	27,91 ^b $\pm$ 0,15	37,1 ^c $\pm$ 0,5

Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής . Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$).

Για χρόνο 30 ημέρες:

Πίνακας 2. Αποτελέσματα για δέσμευση της ρίζας με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με τσάι δείγματα.

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

t	A(515nm) control	A(515nm) M1t1	A(515nm) T1t1	A(515nm) T2t1	%Αναστολή M1t1	%Αναστολή T1t1	%Αναστολή T2t1
0	0,862	0,804	0,710	0,656	6,54 ^a $\pm$ 0,14	17,3 ^b $\pm$ 0,3	23,92 ^c $\pm$ 0,03
2,5	0,860	0,778	0,687	0,594	9,74 ^a $\pm$ 0,23	20,302 ^b $\pm$ 0,024	31,090 ^c $\pm$ 0,114
5	0,857	0,754	0,663	0,588	12,52 ^a $\pm$ 0,18	23,0 ^b $\pm$ 0,7	31,78 ^c $\pm$ 0,16
7,5	0,856	0,745	0,655	0,574	13,5 ^a $\pm$ 0,27	24,01 ^b $\pm$ 1,24	33,41 ^c $\pm$ 0,24
10	0,855	0,734	0,645	0,563	14,8 ^a $\pm$ 1,4	25,17 ^b $\pm$ 1,25	34,687 ^c $\pm$ 1,125
12,5	0,854	0,725	0,637	0,552	15,893 ^a $\pm$ 0,006	26,102 ^b $\pm$ 1,113	35,96 ^c $\pm$ 0,04
15	0,853	0,724	0,639	0,553	16,009 ^a $\pm$ 0,014	25,87 ^b $\pm$ 0,24	35,847 ^c $\pm$ 0,105
17,5	0,853	0,726	0,638	0,552	15,77 ^a $\pm$ 0,24	25,98 ^b $\pm$ 0,29	35,9 ^c $\pm$ 0,3
20	0,852	0,727	0,639	0,551	15,8 ^a $\pm$ 0,3	26,14 ^b $\pm$ 0,24	36,08 ^c $\pm$ 0,19

Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$).

Για χρόνο 75 ημέρες:

Πίνακας 3. Αποτελέσματα για δέσμευση της ρίζας με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με τσάι δείγματα.

t	A(515nm) control	A(515nm) M1t2	A(515nm) T1t2	A(515nm) T2t2	%Αναστολή M1t2	%Αναστολή T1t2	%Αναστολή T2t2
0	0,863	0,804	0,719	0,647	5,32 ^a $\pm$ 0,14	13,87 ^b $\pm$ 0,17	18,12 ^c $\pm$ 0,23
2,5	0,862	0,799	0,69	0,624	7,309 ^a $\pm$ 0,023	19,95 ^b $\pm$ 0,24	27,6 ^c $\pm$ 0,3

5	0,853	0,797	0,688	0,604	7,541 ^a ±0,117	20,18 ^b ±0,17	29,93 ^c ±0,23
7,5	0,853	0,795	0,668	0,596	7,77 ^a ±1,14	22,506 ^b ±1,124	30,858 ^c ±0,106
10	0,852	0,792	0,657	0,585	8,12 ^a ±0,24	23,7 ^b ±0,4	32,1 ^c ±1,5
12,5	0,852	0,79	0,649	0,575	8,35 ^a ±0,26	24,71 ^b ±0,29	33,2 ^c ±0,8
15	0,854	0,794	0,642	0,552	7,8 ^a ±0,9	25,5 ^b ±0,9	35,963 ^c ±0,015
17,5	0,851	0,795	0,641	0,551	7,7 ^a ±0,3	25,63 ^b ±1,25	36,07 ^c ±0,13
20	0,852	0,794	0,641	0,55	12,23 ^a ±0,17	23,14 ^b ±0,19	33,9 ^c ±0,3

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Για χρόνο 120 ημέρες:

Πίνακας 4. Αποτελέσματα για δέσμευση της ρίζας με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με τσάι δείγματα.

t	A(515nm) control	A(515nm) M1t3	A(515nm) T1t3	A(515nm) T2t3	%Αναστολή M1t3	%Αναστολή T1t3	%Αναστολή T2t3
0	0,864	0,829	0,775	0,731	3,72 ^a ±0,23	9,98 ^b ±0,13	15,10 ^c ±0,15
2,5	0,860	0,802	0,764	0,701	6,961 ^a ±0,113	11,36 ^b ±0,15	18,677 ^c ±0,116
5	0,857	0,795	0,754	0,684	7,77 ^a ±0,16	12,52 ^b ±0,29	20,65 ^c ±0,26
7,5	0,856	0,790	0,739	0,669	8,3 ^a ±0,6	14,269 ^b ±0,15	22,39 ^c ±0,17
10	0,855	0,788	0,723	0,648	8,58 ^a ±0,24	16,1 ^b ±0,5	24,8 ^c ±0,8
12,5	0,854	0,785	0,701	0,621	8,93 ^a ±0,25	18,67 ^b ±1,23	27,958 ^c ±1,116
15	0,853	0,784	0,692	0,600	9,0 ^a ±0,3	19,72 ^b ±0,16	30,394 ^c ±0,008

17,5	0,853	0,784	0,690	0,600	9,049 ^a ±0,025	19,9 ^b ±0,7	30,39 ^c ±1,24
20	0,854	0,783	0,691	0,599	9,16 ^a ±0,24	19,83 ^b ±0,13	30,51 ^c ±0,21

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05)

Αντιφλεγμονώδης δράση για μάρτυρα Ηπείρου και προσθήκης εκχυλίσματος τσαγιού

Για χρόνο 0:

Πίνακας 5. Αποτελέσματα για την μέτρηση της αντιφλεγμονώδης δράσης σε χρόνο 0, όπου φαίνεται η απορρόφηση, με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με τσάι δείγματα.

t,min	Control	A(234nm) M1t0	A(234nm) T1t0	A(234nm) T2t0	%Αναστολή M1t0	% Αναστολή T1t0	% Αναστολή T2t0
0	0,129	0,104	0,102	0,119	19,38 ^a ±0,13	20,930 ^a ±0,005	19,752 ^a ±0,114
2,5	0,254	0,173	0,138	0,125	31,89 ^a ±1,24	45,669 ^b ±0,116	50,7 ^c ±0,5
5	0,395	0,296	0,229	0,210	25,0 ^a ±2,7	42,02 ^b ±0,25	46,83 ^c ±0,05
7,5	0,528	0,436	0,324	0,308	17,424 ^a ±2,227	38,6 ^b ±0,6	41,66 ^c ±0,17
10	0,659	0,492	0,425	0,39	25,341 ^a ±1,023	35,5 ^b ±1,3	40,8 ^c ±1,3
12,5	0,762	0,597	0,512	0,462	21,65 ^a ±0,13	32,80 ^b ±1,16	39,37 ^c ±0,25
15	0,823	0,618	0,517	0,500	24,9 ^a ±0,7	37,1 ^b ±1,3	39,247 ^c ±0,224
17,5	0,915	0,701	0,621	0,590	23,38 ^a ±0,08	32,131 ^b ±0,007	35,51 ^c ±0,15
20	1,023	0,789	0,732	0,630	23,01 ^a ±0,17	28,4 ^b ±0,3	38,56 ^c ±0,23

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την σύγκριση της επί της εκατό αναστολής . Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$).

Για χρόνο 30 ημέρες

Πίνακας 6. Αποτελέσματα για την μέτρηση της αντιφλεγμονώδους δράσης στις 30 ημέρες, που φαίνονται μέσω της απορρόφησης, με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με τσάι δείγματα

t,min	Control	A(234nm) M1t1	A(234nm) T1t1	A(234nm) T2t1	%Αναστολή M1t1	% Αναστολή T1t1	% Αναστολή T2t1
0	0,123	0,099	0,084	0,076	19,51 ^a $\pm$ 0,13	21,70 ^b $\pm$ 0,07	38,211 ^b $\pm$ 0,014
2,5	0,192	0,141	0,112	0,101	26,563 ^a $\pm$ 0,114	21,667 ^a $\pm$ 0,009	47,39 ^b $\pm$ 0,29
5	0,284	0,222	0,201	0,176	21,83 ^a $\pm$ 0,27	19,2 ^a $\pm$ 0,3	38,02 ^b $\pm$ 0,23
7,5	0,376	0,308	0,289	0,275	18,08 ^a $\pm$ 0,25	13,13 ^a $\pm$ 1,15	26,862 ^b $\pm$ 0,103
10	0,479	0,4	0,358	0,321	16,49 ^a $\pm$ 0,18	15,2 ^a $\pm$ 0,4	32,98 ^b $\pm$ 0,23
12,5	0,59	0,494	0,444	0,412	16,2 ^a $\pm$ 0,8	14,74 ^a $\pm$ 0,25	30,16 ^b $\pm$ 0,14
15	0,674	0,587	0,503	0,474	12,908 ^a $\pm$ 0,006	15,3 ^b $\pm$ 0,5	29,6 ^c $\pm$ 0,8
17,5	0,77	0,676	0,578	0,530	12,208 ^a $\pm$ 0,116	14,93 ^b $\pm$ 0,16	31,169 ^c $\pm$ 1,114
20	0,862	0,765	0,610	0,599	11,57 ^a $\pm$ 0,25	19,31 ^b $\pm$ 0,24	31,1 ^c $\pm$ 0,3

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$).

Για 75 ημέρες:

Πίνακας 7. Αποτελέσματα για την μέτρηση της αντιφλεγμονώδους δράσης σε χρόνο 75 ημέρες, όπου φαίνεται η απορρόφηση, με το χρόνο και η επί της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με τσάι δείγματα

t,min	Control	A(234nm) M1t2	A(234nm) T1t2	A(234nm) T2t2	%Αναστολή M1t2	% Αναστολή T1t2	% Αναστολή T2t2
0	0,140	0,133	0,101	0,112	5,000 ^a ±0,005	27,85 ^b ±0,14	20,0 ^b ±0,6
2,5	0,245	0,246	0,199	0,157	-0,4 ^a ±0,3	18,776 ^b ±0,003	35,91 ^c ±0,13
5	0,390	0,361	0,312	0,252	7,43 ^a ±0,05	20,0 ^b ±0,4	35,38 ^c ±0,25
7,5	0,596	0,531	0,462	0,356	10,906 ^a ±0,024	22,48 ^b ±0,07	40,268 ^c ±0,224
10	0,644	0,621	0,532	0,453	3,57 ^a ±0,16	17,39 ^b ±0,14	29,65 ^c ±0,14
12,5	0,698	0,667	0,621	0,571	4,44 ^a ±0,24	11,032 ^b ±0,114	18,19 ^c ±0,24
15	0,812	0,733	0,712	0,66	9,7 ^a ±0,5	12,31 ^b ±0,19	18,71 ^c ±0,04
17,5	0,926	0,879	0,824	0,713	5,0 ^a ±0,6	11,01 ^b ±0,3	23,0 ^c ±0,5
20	1,032	0,968	0,921	0,822	6,20 ^a ±0,24	10,7 ^b ±0,3	20,34 ^c ±0,28

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Για 120 ημέρες:

Πίνακας 8. Αποτελέσματα για την μέτρηση της αντιφλεγμονώδους δράσης, σε χρόνο 120 ημέρες, όπου φαίνεται η απορρόφηση, με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με τσάι δείγματα

t,min	Control	A(234nm) M1t2	A(234nm) T1t2	A(234nm) T2t2	%Αναστολή M1t2	% Αναστολή T1t2	% Αναστολή T2t2
0	0,140	0,133	0,101	0,112	5,000 ^a ±0,005	27,85 ^b ±0,14	20,0 ^b ±0,6
2,5	0,245	0,246	0,199	0,157	-0,4 ^a ±0,3	18,776 ^b ±0,003	35,91 ^c ±0,13
5	0,390	0,361	0,312	0,252	7,43 ^a ±0,05	20,0 ^b ±0,4	35,38 ^c ±0,25
7,5	0,596	0,531	0,462	0,356	10,906 ^a ±0,024	22,48 ^b ±0,07	40,268 ^c ±0,224
10	0,644	0,621	0,532	0,453	3,57 ^a ±0,16	17,39 ^b ±0,14	29,65 ^c ±0,14
12,5	0,698	0,667	0,621	0,571	4,44 ^a ±0,24	11,032 ^b ±0,114	18,19 ^c ±0,24
15	0,812	0,733	0,712	0,66	9,7 ^a ±0,5	12,31 ^b ±0,19	18,71 ^c ±0,04
17,5	0,926	0,879	0,824	0,713	5,0 ^a ±0,6	11,01 ^b ±0,3	23,0 ^c ±0,5
20	1,032	0,968	0,921	0,822	6,20 ^a ±0,24	10,7 ^b ±0,3	20,34 ^c ±0,28

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Πτητικά για τσίπουρο Ηπείρου και προσθήκες εκχυλίσματος τσαγιού

Τσίπουρο Ηπείρου με προσθήκη εκχυλίσματος τσαγιού σε μικρή συγκέντρωση στους χρόνους του πειράματος

Πίνακας 9. Αποτελέσματα πτητικών για το μάρτυρα 1 με προσθήκη τσαγιού σε μικρή συγκέντρωση (T1) και σύγκριση των πτητικών του στους τρεις χρόνους του πειράματος.

RT	Χημική ένωση	Συγκέντρωση T1(ppm), 0 ημέρες	Συγκέντρωση T1(ppm), 75 ημέρες	Συγκέντρωση T1(ppm), 120 ημέρες
5,355	Ethyl Acetate	36,4 ^b ±3,7	33,5 ^a ±0,3	30,35 ^a ±0,14
5,869	1-Propanol, 2-methyl-	52,997 ^b ±1,224	35,401 ^a ±0,224	34,40 ^a ±0,26
9,846	Ethane, 1,1-diethoxy-	32,7 ^b ±2,8	30,50 ^{ab} ±0,17	28,765 ^a ±0,13
7,241	1-Butanol, 3-methyl-	327,1 ^b ±1,9	320,586 ^b ±0,227	294,46 ^a ±0,03
10,209	1-Butanol, 2-methyl-	123,7 ^b ±10,3	120,586 ^b ±0,227	115,631 ^a ±0,24
11,242	linalool	0,58 ^a ±0,09	0,554 ^a ±0,009	0,423 ^a ±0,009
11,268	2-Pentanol, 4-methyl-	150 ^a ±0	150 ^a ±0	150 ^a ±0
12,89	Geraniol	0,525 ^b ±0,017	0,499 ^a ±0,018	0,459 ^a ±0,127
14,468	Furfural	9,1 ^b ±0,6	8,738 ^a ±0,026	8,5 ^a ±0,3
15,331	Propane, 1,1-diethoxy-2-methyl-	2,2 ^b ±0,3	2,49 ^b ±0,14	1,166 ^a ±0,018
15,401	β-ionone	0,446 ^b ±0,028	0,3 ^a ±1,9	0,422 ^b ±0,007
15,846	1-Hexanol	12,38 ^c ±1,08	11,66 ^b ±0,19	10,756 ^a ±0,114
16,153	1-Butanol, 3-methyl-, acetate	3,36 ^a ±0,13	3,23 ^a ±0,23	4,23 ^b ±0,6
19,035	Butane, 1,1-diethoxy-3-methyl-	1,29 ^a ±0,26	1,257 ^a ±0,005	1,36 ^a ±0,05
19,764	Pentane, 1-(1-ethoxyethoxy)-	0,929 ^b ±0,123	0,91 ^b ±0,06	0,74 ^a ±0,05
20,834	Hexanoic acid, ethyl ester	13,6 ^c ±0,7	10,462 ^b ±0,017	5,71 ^a ±0,06
	Nonanal	0,67 ^c ±0,06	0,56 ^b ±0,14	0,473 ^a ±0,029
22,093	o-Cymene	2,2 ^b ±0,3	2,127 ^b ±0,025	1,622 ^a ±0,025
25,196	Butanedioic acid, diethyl ester	1,46 ^a ±0,24	1,448 ^a ±0,023	1,352 ^a ±0,07

22,279	D-Limonene	0,749 ^b ±0,013	-	0,529 ^a ±0,024
27,517	Octanoic acid, ethyl ester	73,4 ^c ±0,7	62,984 ^b ±0,005	59,80 ^a ±0,07
30,713	Ionone	3,3 ^b ±0,8	2,8a ^b ±0,3	2,47 ^a ±0,05
33,348	Decanoic acid, ethyl ester	199,5 ^c ±1,8	165,444 ^b ±0,009	148,745 ^a ±0,16
33,565	Hexadecane	0,927 ^a ±0,103	0,7 ^a ±0,3	0,874 ^a ±0,003
34,78	Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	1,78 ^b ±0,4	1,642 ^{ab} ±0,006	1,5 ^a ±0,6
38,324	Dodecanoic acid, ethyl ester	77,2 ^c ±3,6	73,302 ^b ±0,023	40,6 ^a ±0,3
38,897	Dodecanoic acid, methyl ester	0,65 ^a ±0,15	0,635 ^a ±0,013	0,743 ^a ±0,018
39,249	Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	4,36 ^b ±0,24	3,5 ^{ab} ±0,6	3,028 ^a ±0,116
40,392	Methyl tetradecanoate	0,734 ^b ±0,215	0,647 ^a ±0,006	0,552 ^a ±0,024
41,227	Tetradecanoic acid, ethyl ester	6,4 ^b ±3,6	4,462 ^a ±0,013	5,36 ^a ±0,24

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c,d δείχνουν την οριζόντια σύγκριση. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Τσίπουρο Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μεγάλη συγκέντρωση στους χρόνους του πειράματος

Πίνακας 10. Αποτελέσματα πτητικών για το μάρτυρα 1 με προσθήκη τσαγιού σε μεγάλη συγκέντρωση (T2) και σύγκριση των πτητικών στους τρεις χρόνους του πειράματος

RT	Χημική ένωση	Συγκέντρωση T2(ppm), 0 ημέρες	Συγκέντρωση T2(ppm), 75 ημέρες	Συγκέντρωση T2(ppm), 175 ημέρες
5,355	Ethyl Acetate	45,1 ^c ±1,6	38,32 ^b ±0,05	35,4 ^a ±0,3
5,869	1-Propanol, 2-methyl-	67,73 ^c ±57,3	36,169 ^b ±0,128	32,431 ^a ±0,23

9,846	Ethane, 1,1-diethoxy-	48,2 ^b ±3,9	48,32 ^b ±0,06	45,5 ^a ±0,4
10,209	1-Butanol, 3-methyl-	323,1 ^b ±2,6	320,3 ^b ±0,06	298,698 ^a ±0,128
10,374	1-Butanol, 2-methyl-	135,03 ^b ±1,04	117,202 ^a ±0,028	116,33 ^a ±0,15
11,242	linalool	0,98 ^b ±0,17	0,963 ^b ±0,013	0,713 ^a ±0,029
11,268	2-Pentanol, 4-methyl-	150 ^a ±0	150 ^a ±0	150 ^a ±0
12,89	Geraniol	0,95 ^b ±0,03	0,92 ^b ±0,09	0,846 ^a ±0,023
14,468	Furfural	11,398 ^b ±0,026	11,38 ^b ±0,06	9,775 ^a ±0,071
15,331	Propane, 1,1-diethoxy-2-methyl-	2,3 ^a ±0,9	2,833 ^a ±0,014	2,211 ^a ±0,113
15,401	β-ionone	0,9 ^a ±0,5	0,88 ^a ±0,03	0,853 ^a ±0,018
15,846	1-Hexanol	12,631 ^b ±0,005	11,57 ^a ±0,03	10,47 ^a ±0,04
16,153	1-Butanol, 3-methyl-, acetate	8,4 ^b ±0,4	6,301 ^a ±0,015	5,357 ^a ±0,175
19,035	Butane, 1,1-diethoxy-3-methyl-	1,64 ^a ±0,23	2,229 ^b ±0,05	1,598 ^a ±0,168
19,764	Pentane, 1-(1-ethoxyethoxy)-	1,9 ^a ±1,3	2,35 ^b ±0,03	1,23 ^a ±0,08
20,834	Hexanoic acid, ethyl ester	21,21 ^b ±0,58	10,227 ^a ±0,017	9,69 ^a ±0,13
	Nonanal	1,3 ^b ±0,9	1,123 ^b ±0,008	0,835 ^a ±0,003
22,093	o-Cymene	1,3 ^a ±0,3	1,977 ^b ±0,004	1,941 ^b ±0,018
25,196	Butanedioic acid, diethyl ester	1,3 ^a ±0,5	1,2 ^a ±0,9	-
22,279	D-Limonene	-	1,231 ^a ±0,076	0,989 ^a ±0,124
27,517	Octanoic acid, ethyl ester	180,7 ^c ±0,9	176,867 ^b ±0,023	165,39 ^a ±0,16
30,713	Ionone	5,2 ^b ±1,8	5,11 ^b ±0,07	4,44 ^a ±0,18
33,348	Decanoic acid, ethyl ester	210,6 ^c ±4,9	185,198 ^b ±0,015	170,38 ^a ±0,23
33,565	Hexadecane	0,8 ^b ±0,5	0,61 ^a ±0,27	0,562 ^a ±0,018
34,78	Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	1,9 ^b ±0,5	1,9 ^b ±0,5	1,745 ^a ±0,026
38,324	Dodecanoic acid, methyl ester	99 ^b ±2	98,556 ^b ±0,117	87,64 ^a ±0,29

38,897	Dodecanoic acid, ethyl ester	-	0,867 ^a ±0,007	0,876 ^a ±0,227
39,249	Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	4,12 ^b ±0,25	4,031 ^b ±0,006	3,70 ^a ±0,06
40,392	Methyl tetradecanoate	1,1 ^b ±0,7	0,548 ^a ±0,127	0,475 ^a ±0,009
41,227	Tetradecanoic acid, ethyl ester	8,614 ^c ±0,209	7,271 ^b ±0,124	6,61 ^a ±0,18

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).

DRPH για μάρτυρα Θεσσαλίας και προσθήκες εκχυλίσματος κρόκου

Αναλυτικά έχουμε τα ακόλουθα αποτελέσματα

Για χρόνο 0:

Πίνακας 11. Αποτελέσματα για δέσμευση της ρίζας με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με κρόκο δείγματα.

t	A(515nm) control	A(515nm) M2t0	A(515nm) K1t0	A(515nm) K2t0	%Αναστολή M2t0	%Αναστολή K1t0	%Αναστολή K2t0
0	0,863	0,750	0,590	0,480	13,10 ^a ±0,13	31,50 ^b ±0,23	44,09 ^c ±0,29
2,5	0,862	0,736	0,560	0,471	14,716 ^a ±0,116	35,110 ^b ±0,224	45,42 ^c ±0,08
5	0,853	0,732	0,555	0,465	15,18 ^a ±2,23	35,689 ^b ±1,006	46,1 ^c ±0,7
7,5	0,853	0,730	0,549	0,459	15,41 ^a ±1,14	36,3 ^b ±0,7	46,8 ^c ±2,5
10	0,852	0,729	0,548	0,458	15,52 ^a ±0,19	36,50 ^b ±0,09	46,92 ^c ±1,16
12,5	0,852	0,728	0,547	0,459	15,64 ^a ±2,03	36,61 ^b ±1,24	46,81 ^c ±1,15
15	0,854	0,729	0,548	0,458	15,527 ^a ±0,228	36,5 ^b ±1,4	46,92 ^c ±0,27

17,5	0,851	0,728	0,548	0,458	15,64 ^a ±0,24	36 ^b ±3	46,9 ^c ±0,7
20	0,852	0,727	0,548	0,459	15,90 ^a ±0,13	36,3 ^b ±0,3	47,02 ^c ±0,15

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Για 30 ημέρες:

Πίνακας 12. Αποτελέσματα για δέσμευση της ρίζας με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με κρόκο δείγματα.

t	A(515nm) control	A(515nm) M2t1	A(515nm) K1t1	A(515nm) K2t1	%Αναστολή M2t1	%Αναστολή K1t1	%Αναστολή K2t1
0	0,863	0,850	0,657	0,570	9,39 ^a ±0,09	23,99 ^b ±0,09	33,91 ^c ±0,05
2,5	0,862	0,836	0,645	0,551	3,1 ^a ±0,5	25,26 ^b ±0,14	36,15 ^c ±0,24
5	0,853	0,812	0,633	0,520	5,9 ^a ±0,4	26,65 ^b ±0,03	39,7 ^c ±2,5
7,5	0,853	0,791	0,610	0,499	8,34 ^a ±0,15	29,316 ^b ±0,004	42,17 ^c ±0,09
10	0,852	0,789	0,598	0,498	8,5 ^a ±0,7	30,70 ^b ±0,19	42,294 ^c ±0,015
12,5	0,852	0,788	0,597	0,499	8,69 ^a ±0,09	30,8 ^b ±0,9	42,17 ^c ±1,25
15	0,854	0,789	0,598	0,498	8,57 ^a ±1,04	30,7 ^b ±2,7	42,29 ^c ±1,19
17,5	0,851	0,788	0,598	0,498	8,691 ^a ±0,113	30,7 ^b ±1,8	42,294 ^c ±1,116
20	0,852	0,788	0,597	0,499	9,97 ^a ±0,16	30,61 ^b ±0,15	42,13 ^c ±0,03

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05)

Για 60 ημέρες:

Πίνακας 13. Αποτελέσματα για δέσμευση της ρίζας με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με κρόκο δείγματα.

t	A(515nm) control	A(515nm) M2t2	A(515nm) K1t2	A(515nm) K2t2	%Αναστολή M2t2	%Αναστολή K1t2	%Αναστολή K2t2
0	0,863	0,817	0,717	0,649	6,62 ^a ±0,14	16,50 ^b ±0,14	24,86 ^c ±0,17
2,5	0,862	0,815	0,705	0,611	5,45 ^a ±0,28	18,213 ^b ±1,119	29,118 ^c ±0,115
5	0,853	0,812	0,692	0,601	5,80 ^a ±0,16	19,72 ^b ±0,27	30,2 ^c ±0,3
7,5	0,853	0,81	0,687	0,582	6,03 ^a ±1,25	20,302 ^b ±0,029	32,483 ^c ±0,117
10	0,852	0,808	0,659	0,567	6,265 ^a ±1,126	23,55 ^b ±0,17	34,2 ^c ±1,5
12,5	0,852	0,805	0,641	0,552	6,6 ^a ±0,7	25,63 ^b ±0,27	35,9 ^c ±2,6
15	0,854	0,806	0,642	0,542	6,4 ^a ±0,3	25,5 ^b ±2,3	37,12 ^c ±2,29
17,5	0,851	0,806	0,641	0,542	6,49 ^a ±0,09	25,6 ^b ±1,6	37,123 ^c ±2,219
20	0,852	0,807	0,64	0,543	7,88 ^{ab} ±0,25	25,64 ^{bb} ±0,14	36,20 ^{cb} ±0,18

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Για 120 ημέρες:

Πίνακας 14. Αποτελέσματα για δέσμευση της ρίζας με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με κρόκο δείγματα.

t	A(535nm) control	A(535nm) M2t3	A(535nm) K3t3	A(535nm) K2t3	%Αναστολή M2t3	%Αναστολή K1t3	%Αναστολή K2t3
---	---------------------	------------------	------------------	------------------	-------------------	-------------------	-------------------

0	0,863	0,825	0,767	0,732	4,182 ^a ±0,125	10,92 ^b ±0,14	14,98 ^c ±0,09
2,5	0,862	0,819	0,691	0,625	4,988 ^a ±0,015	19,8 ^b ±0,8	27,49 ^c ±1,14
5	0,853	0,814	0,687	0,605	5,56 ^a ±0,14	20,30 ^b ±1,24	29,81 ^c ±0,23
7,5	0,853	0,812	0,669	0,597	5,80 ^a ±0,27	22,3 ^b ±2,3	30,74 ^c ±1,17
30	0,852	0,81	0,655	0,586	6,03 ^a ±1,23	24,01 ^b ±1,24	32,01 ^c ±1,18
32,5	0,852	0,808	0,65	0,576	6,26 ^a ±0,23	24,59 ^b ±0,05	33,1 ^c ±1,5
35	0,854	0,808	0,643	0,553	6,26 ^a ±0,19	25,406 ^b ±1,124	35,84 ^c ±0,23
37,5	0,851	0,809	0,642	0,552	6,14a±0,24	25,52 ^b ±0,27	35,963 ^c ±0,125
20	0,852	0,81	0,682	0,573	6,03 ^a ±0,24	20,88 ^b ±0,18	33,52 ^c ±0,13

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Αντιφλεγμονώδης δράση τσίπουρου Θεσσαλίας και προσθηκών εκχυλίσματος κρόκου

Για χρόνο 0:

Πίνακας 15. Αποτελέσματα για την μέτρηση της αντιφλεγμονώδης δράσης, που φαίνονται μέσω της απορρόφησης, με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με κρόκο δείγματα.

t,min	Control	A(234nm) M2t0	A(234nm) K1t0	A(234nm) K2t0	%Αναστολή M2t0	% Αναστολή K1t0	% Αναστολή K2t0
0	0,107	0,096	0,072	0,067	10,280 ^a ±0,104	32,71 ^b ±0,07	37,383 ^c ±0,116
2,5	0,184	0,161	0,126	0,113	12,50 ^a ±0,24	31,522 ^b ±0,008	38,5 ^c ±0,9
5	0,307	0,276	0,204	0,183	10,098 ^a ±0,119	33,5 ^b ±0,5	40,3 ^c ±0,3
7,5	0,455	0,417	0,310	0,252	8,3 ^a ±0,6	31,86 ^b ±0,25	44,615 ^c ±0,118

10	0,602	0,564	0,392	0,332	6,31 ^a ±0,25	34,884 ^b ±0,007	44,85 ^c ±0,16
12,5	0,752	0,706	0,487	0,403	6,1 ^a ±1,3	35,2 ^b ±0,8	46,410 ^c ±0,015
15	0,925	0,885	0,580	0,476	4,32 ^a ±0,13	37,29 ^b ±0,24	48,5 ^c ±0,8
17,5	0,994	0,899	0,671	0,536	9,557 ^a ±0,016	32,495 ^b ±0,223	46,07 ^c ±0,15
20	1,032	0,922	0,755	0,598	10,64 ^a ±0,16	25,78 ^b ±0,16	41,5 ^c ±0,3

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Για 30 ημέρες:

Πίνακας 16. Αποτελέσματα για την μέτρηση της αντιφλεγμονώδους δράσης, που φαίνονται μέσω της απορρόφησης, με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με κρόκο δείγματα.

t,min	Control	A(234nm) M2t1	A(234nm) K1t1	A(234nm) K2t1	%Αναστολή M2t1	% Αναστολή K1t1	% Αναστολή K2t1
0	0,176	0,166	0,174	0,167	5,68 ^a ±0,28	5,1 ^a ±0,6	5,114 ^a ±0,114
2,5	0,284	0,251	0,222	0,213	11,62 ^a ±0,15	21,83 ^b ±0,27	25,00 ^b ±0,23
5	0,377	0,299	0,304	0,283	20,690 ^a ±0,024	19,363 ^a ±0,115	24,93 ^c ±1,23
7,5	0,495	0,419	0,410	0,352	15,3 ^a ±1,3	17,17 ^b ±0,24	28,889 ^c ±0,115
10	0,662	0,604	0,490	0,432	8,7 ^a ±0,6	25,98 ^b ±0,19	34,743 ^c ±0,223
12,5	0,832	0,765	0,583	0,503	8,05 ^a ±0,28	29,92 ^b ±1,15	39,54 ^c ±0,23
15	0,925	0,885	0,680	0,576	4,324 ^a ±0,224	26,4 ^b ±0,4	37,7 ^c ±0,9
17,5	0,994	0,923	0,777	0,678	7,143 ^a ±0,114	21,831 ^b ±0,123	31,791 ^c ±2,125
20	1,032	0,967	0,827	0,701	6,27 ^a ±0,04	19,95 ^b ±0,13	31,92 ^c ±0,14

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$).

Για 60 ημέρες:

Πίνακας 17. Αποτελέσματα για την μέτρηση της αντιφλεγμονώδους δράσης, που φαίνονται μέσω της απορρόφησης, με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με κρόκο δείγματα.

t,min	Control	A(234nm) M2t2	A(234nm) K1t2	A(234nm) K2t2	%Αναστολή M2t2	% Αναστολή K1t2	% Αναστολή K2t2
0	0,09	0,103	0,102	0,1	-14,44 ^a $\pm$ 0,13	-13,33 ^b $\pm$ 0,18	-11,11 ^c $\pm$ 0,25
2,5	0,155	0,154	0,123	0,159	0,645 ^a $\pm$ 0,113	2,64 ^b $\pm$ 1,18	2,58 ^b $\pm$ 0,14
5	0,295	0,293	0,264	0,253	0,678 ^a $\pm$ 0,124	10,50 ^b $\pm$ 1,27	14,237 ^c $\pm$ 1,115
7,5	0,461	0,451	0,397	0,358	2,16 ^a $\pm$ 0,17	13,88 ^b $\pm$ 0,14	22,34 ^c $\pm$ 0,25
10	0,649	0,618	0,543	0,45	4,77 ^a $\pm$ 0,19	16,333 ^b $\pm$ 0,218	30,6 ^c $\pm$ 0,4
12,5	0,804	0,764	0,7	0,576	4,9 ^a $\pm$ 0,6	12,935 ^b $\pm$ 2,113	28,3 ^c $\pm$ 0,8
15	0,978	0,917	0,817	0,68	6,2 ^a $\pm$ 1,3	16,46 ^b $\pm$ 0,29	30,47 ^c $\pm$ 0,13
17,5	1,1	1,058	0,971	0,772	3,818 ^a $\pm$ 0,118	11,727 ^b $\pm$ 0,228	29 ^c $\pm$ 3
20	1,28	1,23	1,119	0,964	3,91 ^a $\pm$ 0,19	12,58 ^b $\pm$ 0,25	24,6 ^c $\pm$ 0,3

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι $\pm$ τυπικές αποκλίσεις ($n = 3$). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά ($P < 0,05$).

Για 120 ημέρες:

Πίνακας 18. Αποτελέσματα για την μέτρηση της αντιφλεγμονώδους δράσης, που φαίνονται μέσω της απορρόφησης, με το χρόνο και η της εκατό αναστολή, για τον μάρτυρα και τα εμπλουτισμένα με κρόκο δείγματα.

t,min	Control	A(234nm) M2t3	A(234nm) K3t3	A(234nm) K2t3	%Αναστολή M2t3	% Αναστολή K1t3	% Αναστολή K2t3
0	0,14	0,139	0,112	0,113	0,714 ^a ±0,118	20,00 ^b ±0,26	19,286 ^b ±0,025
2,5	0,245	0,245	0,221	0,168	0,04 ^a ±0,03	9,796 ^b ±0,217	31,42 ^c ±0,08
5	0,39	0,383	0,324	0,263	1,7 ^a ±0,3	16,92 ^b ±0,23	32,56 ^c ±0,15
7,5	0,596	0,577	0,473	0,365	3,18 ^a ±0,16	20,63 ^b ±0,15	38,7 ^c ±2,8
30	0,644	0,632	0,541	0,464	1,863 ^a ±0,116	15,9 ^b ±1,4	27,95 ^c ±1,25
32,5	0,698	0,686	0,635	0,582	1,719 ^a ±0,015	9,02 ^b ±0,26	16,61 ^c ±0,29
35	0,812	0,786	0,723	0,671	3,2 ^a ±0,9	10,96 ^b ±0,13	17,3 ^c ±0,8
37,5	0,926	0,901	0,835	0,724	2,70 ^a ±0,16	9,8 ^b ±0,8	21,814 ^c ±0,014
20	1,032	1,014	0,944	0,833	1,74 ^a ±0,23	8,53 ^b ±0,16	19,28 ^c ±0,17

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα είναι οι μέσοι όροι ± τυπικές αποκλίσεις (n = 3). Οι εκθέτες a,b,c δείχνουν την οριζόντια σύγκριση της επί της εκατό αναστολής. Μέσοι όροι που δεν έχουν κοινό εκθέτη διαφέρουν στατιστικά (P<0,05).

Πτητικά για τσίπουρο Θεσσαλίας και προσθήκες εκχυλίσματος κρόκου

Τσίπουρο Θεσσαλίας με προσθήκη εκχυλίσματος κρόκου σε μεγάλη συγκέντρωση στους χρόνους του πειράματος

Πίνακας 19. Αποτελέσματα πτητικών για το μάρτυρα 2 με προσθήκη κρόκου σε μεγάλη συγκέντρωση (K2), στους τρεις χρόνους του πειράματος.

RT	Χημική ένωση	Συγκέντρωση	Συγκέντρωση	Συγκέντρωση
----	--------------	-------------	-------------	-------------

		K2(ppm), 0 ημέρες	K2(ppm), 60 ημέρες	K2(ppm), 120 ημέρες
5,362	Ethyl Acetate	80,1 ^b ±1,3	72,40 ^a ±0,03	70,583 ^a ±0,103
5,865	1-Propanol, 2-methyl-	50,5 ^c ±1,6	35,592 ^b ±0,003	29,16 ^a ±0,05
6,968	Butanal, 3-methyl-	2,7 ^a ±0,6	2,444 ^a ±0,013	2,47 ^a ±0,06
9,848	Ethane, 1,1-diethoxy-	52,838 ^c ±3,117	48,344 ^b ±0,115	40,70 ^a ±0,14
10,198	1-Butanol, 3-methyl-	315,21 ^c ±3,39	304,55 ^b ±0,17	295,63 ^a ±0,04
10,367	1-Butanol, 2-methyl-	85,1 ^b ±0,5	118,33 ^a ±0,13	78,61 ^b ±0,08
11,262	2-Pentanol, 4-methyl-	150 ^a ±0	150 ^a ±0	150 ^a ±0
13,04	Hexanal	1,84 ^a ±0,09	2,462 ^a ±0,013	2,24 ^a ±0,09
13,474	Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester, (S)-	12,323 ^b ±0,3	10,516 ^a ±0,014	10,18 ^a ±0,05
14,463	Furfural	17,99 ^b ±0,27	11,42 ^a ±0,13	10,40 ^a ±0,25
15,328	Propane, 1,1-diethoxy-2-methyl-	2,3 ^a ±0,5	2,905 ^a ±0,023	2,375 ^a ±0,004
15,487	Safranal	4,38 ^c ±0,04	2,49 ^b ±0,05	1,31 ^a ±0,16
15,839	1-Hexanol	13,12 ^b ±0,25	11,631 ^b ±0,113	10,40 ^a ±0,06
19,017	Butane, 1,1-diethoxy-3-methyl-	5,4 ^b ±0,5	7,42 ^a ±0,25	5,6 ^b ±0,2
20,606	,beta,-Myrcene	1,647 ^b ±0,113	0,962 ^a ±0,014	0,84 ^a ±0,02
20,826	Hexanoic acid, ethyl ester	23,9 ^b ±0,9	22,513 ^b ±0,007	12,85 ^a ±0,05
22,09	o-Cymene	5,3 ^b ±0,3	5,51 ^b ±0,04	1,37 ^a ±0,05
22,28	D-Limonene	11,63 ^b ±0,14	10,53 ^{ab} ±0,16	9,38 ^a ±0,19
23,692	,alpha,-Methyl-,alpha,-[4-methyl-3-pentenyl]oxiranemethanol	2,22 ^a ±0,03	2,26 ^a ±0,05	2,418 ^a ±0,108
23,958	Hexane, 1,1-diethoxy-	2,702 ^a ±0,113	3,18 ^b ±0,05	2,89 ^b ±0,05
24,512	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	38,1 ^b ±2,9	33,44 ^b ±0,23	27,7 ^c ±0,4
24,669	1,7-Octadiene-3,6-diol, 2,6-dimethyl-	8,4 ^b ±0,4	9,35 ^b ±0,04	5,58 ^a ±0,27

26,326	2H-Pyran, 3,6-dihydro-4-methyl-2-(2-methyl-1-propenyl)-	3,2 ^b ±0,3	2,545 ^a ±0,014	2,934 ^a ±0,024
26,636	1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl butyrate	3,2 ^c ±0,4	1,535 ^b ±0,029	1,064 ^a ±0,013
26,883	Butanedioic acid, diethyl ester	9,44 ^b ±0,13	8,934 ^{ab} ±0,009	8,0 ^a ±0,3
27,507	Octanoic acid, ethyl ester	673,48 ^c ±1,05	512,61 ^b ±0,06	425,49 ^a ±0,06
27,914	,alpha,-Terpineol	7,1 ^b ±0,5	9,327 ^a ±0,013	7,55 ^b ±0,06
28,535	Citronellol	2,9 ^a ±0,4	2,452 ^a ±0,014	2,26 ^a ±0,09
28,67	Fumaric acid, di(cyclohex-3-enylmethyl) ester	2,74 ^a ±0,06	-	2,40b ^a ±0,04
29,201	Isopentyl hexanoate	4,8 ^c ±2,8	2,162 ^b ±0,014	1,66 ^a ±0,06
29,522	Nerol, methyl ether	2,2 ^b ±0,4	-	1,372 ^a ±0,023
30,167	Geranyl ethyl ether 1	6,986 ^b ±1,216	5,257 ^a ±0,028	5,44 ^a ±0,108
30,325	Malonic acid, bis(2-trimethylsilylethyl ester	2,9 ^a ±0,3	2,63 ^a ±0,017	2,53 ^a ±0,07
30,512	Nonanoic acid, ethyl ester	8 ^c ±3	7,28 ^b ±0,03	6,402 ^a ±0,203
30,708	Ionone	14,087 ^c ±0,009	8,65 ^b ±0,13	6,48 ^a ±0,09
31,36	Decanoic acid, methyl ester	10,4 ^c ±0,8	9,50 ^b ±0,06	7,38 ^a ±0,06
31,458	(S)-(-)-Citronellic acid, methyl ester	14,2 ^c ±0,9	12,35 ^b ±0,15	9,53 ^a ±0,05
32,025	n-Caprylic acid isobutyl ester	1,6 ^a ±0,4	1,55 ^a ±0,28	1,48 ^a ±0,03
33,125	Ethyl 9-decenoate	2,7 ^a ±0,3	2,387 ^a ±0,009	2,3 ^a ±0,3
33,321	Decanoic acid, ethyl ester	322,022 ^c ±0,124	298,23 ^b ±0,04	285,602 ^a ±0,004
34,78	Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	29,875 ^b ±2,103	21,232 ^a ±0,006	21,46 ^a ±0,16
35,052	cis-,beta,-Farnesene	1,8 ^b ±0,7	-	1,41 ^a ±0,03
35,907	Decanoic acid, propyl ester	1,3 ^a ±0,4	1,436 ^a ±0,014	1,21 ^a ±0,04
35,997	Undecanoic acid, ethyl ester	1,55 ^b ±0,05	1,325 ^{ab} ±0,005	1,18 ^a ±0,05
36,783	Dodecanoic acid, methyl ester	1,8 ^b ±0,3	1,354 ^b ±0,018	0,936 ^a ±0,025

38,319	Dodecanoic acid, ethyl ester	321,24 ^b ±0,09	296,59 ^a ±0,06	290,39 ^a ±0,18
42,226	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	-	1,385 ^a ±0,005	1,372 ^a ±0,116
42,89	Hexadecanoic acid, methyl ester	2,34 ^b ±0,24	1,859 ^{ab} ±0,019	1,247 ^a ±0,118

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).