



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Εμπλουτισμός φυσικού μεταλλικού νερού με φυτικά εκχυλίσματα: Μελέτη συντηρησιμότητας, φυσικοχημικών παραμέτρων και βιολειτουργικών ιδιοτήτων με ενόργανες μεθόδους ανάλυσης

Enrichment of natural mineral water with plant extracts: Study of shelf life, physicochemical parameters and biofunctional properties by instrumental methods of analysis

ΠΑΧΝΗ ΕΛΕΝΗ – ΓΕΣΘΗΜΑΝΗ ΑΜ: 2819018

ΚΡΕΜΜΥΔΑ ΖΩΗ ΑΜ: 2819069

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΧΑΤΖΗΜΗΤΑΚΟΣ ΘΕΟΔΩΡΟΣ

ΚΑΡΔΙΤΣΑ 2024

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το νερό και η ενυδάτωση είναι ζωτικής σημασίας για τον άνθρωπο ως προς την υγεία και την ευεξία του. Κρίνεται από τα πιο σημαντικά θρεπτικά συστατικά που προσλαμβάνει καθημερινά ο ανθρώπινος οργανισμός. Η μειωμένη πρόσληψη του έχει συσχετιστεί με αρκετά προβλήματα, αφού το νερό είναι απαραίτητο για πολλές λειτουργίες του οργανισμού. Στην συγκεκριμένη εργασία, πραγματοποιήθηκε εμπλουτισμός του φυσικού μεταλλικού νερού με φυτικά εκχυλίσματα (πορτοκάλι, λεμόνι, κάνναβη, δυόσμος, μέντα, λάβδανο). Αρχικά, παρασκευάστηκε διάλυμα β-κυκλοδεξτρίνης το οποίο έχει την ιδιότητα να εγκλωβίζει διάφορα μόρια του εκχυλίσματος και να τα αποδεσμεύσει με αργό ρυθμό. Δημιουργήθηκαν έξι δείγματα τα οποία εκχυλίστηκαν με το διάλυμα β-κυκλοδεξτρίνης. Στην συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις ολικών πολυφαινόλων και DPPH στα εκχυλισμένα δείγματα. Αφού υπολογίστηκαν οι παραπάνω μέθοδοι, ακολουθήθηκε ο εμπλουτισμός του νερού με τα εκχυλίσματα υποπροϊόντων βιομηχανίας τροφίμων αλλά και αρωματικά, φαρμακευτικά φυτά. Πραγματοποιήθηκε οργανοληπτικός έλεγχος για τον υπολογισμό της ποσότητας του κάθε εκχυλίσματος που θα εμπλουτίσει τα νερά. Τα εμπλουτισμένα νερά μελετήθηκαν σε διάστημα 45 ημερών ως προς τις βιολογικές τους ιδιότητες (αντιοξειδωτική δράση), φυσικοχημικές παραμέτρους (άρωμα, χρώμα, γεύση) και την διατηρησιμότητα (pH, πολυφαινόλες) τους. Συμπερασματικά, τα εμπλουτισμένα νερά ήταν πλούσια σε πολυφαινόλες και είχαν υψηλή αντιοξειδωτική δράση, ενώ με την πάροδο του χρόνου παρατηρήθηκε μείωση σε όλα τα δείγματα. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε εγκλωβισμένο οξυγόνο, στην έκθεση του φωτός και στην θερμοκρασία.

ABSTRACT

Water and hydration are vital to human health and well-being. It is judged by the most important nutrients it takes in the human body every day. Its reduced intake has been associated with several problems, since water is necessary for many functions of the body. In this particular work, enrichment of the natural mineral was carried out of water with plant extracts (orange, lemon, hemp, mint, mint, labdanum). Initially, a β -cyclodextrin solution was prepared which has the property to locks in various molecules of the extract and releases them at a slow rate. Six samples were generated and extracted with the β -cyclodextrin solution. In then, measurements of total polyphenols and DPPH in the extracted were carried out samples. After the above methods were calculated, its enrichment followed of water with the extracts of food industry by-products but also aromatics, medicinal plants. An organoleptic test was performed to calculate it quantity of each extract that will enrich the waters. The enriched waters were studied over a period of 45 days for their biofunctional properties (antioxidant activity), physicochemical parameters (aroma, color, taste) and the their shelf life (pH, polyphenols). In conclusion, the enriched waters were rich in polyphenols and had high antioxidant activity, while over time time a decrease was observed in all samples. This may be due to trapped oxygen, light exposure and temperature.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	2
ABSTRACT	3
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	6
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
1.1 Νερό	6
1.2. Εμπλουτισμένα ποτά	8
1.2.1. Συμβατικές τεχνικές εκχύλισης (CET)	8
1.2.2. Προηγμένες τεχνικές εκχύλισης (ΑΕΤ)	8
1.3. Πηγές εκχυλισμάτων για εμπλουτισμό ποτών	9
1.3.1. Φυτικά εκχυλίσματα	9
1.3.2. Φαρμακευτικά φυτά και αιθέρια έλαια	9
1.3.3. Πρεβιοτικά και προβιοτικά συστατικά	10
1.3.4. Υποπροϊόντα της βιομηχανίας φρούτων και τροφίμων	11
1.4. Αποδοχή των λειτουργικών ποτών και νερών από τους καταναλωτές	11
1.5. Βιολειτουργικές ιδιότητες των φυτικών εκχυλισμάτων	13
1.6. Λειτουργικά ποτά και διαβητικό δυναμικό βάσει in vivo και in vitro μελετών	16
1.7. Περιγραφή φυτών που χρησιμοποιήθηκαν	18
1.7.1. Πορτοκάλι	18
1.7.2. Δυόσμος	19
1.7.3. Κάνναβη	19
1.7.4. Λεμόνι	20
1.7.5. Μέντα	22
1.7.6. Λάβδανο	22
1.8 Σκοπός	24
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	25
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	25
2.1. Εξοπλισμός και χημικά αντιδραστήρια	25
2.2. Πειραματική πορεία	26
2.2.1. Δημιουργία διαλύματος β-κυκλοδεξτρίνης	26
2.2.2. Εκχύλιση δειγμάτων	26
2.2.3. Μέτρηση ολικών πολυφαινόλων	27
2.2.4. Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας (μέσω δέσμευσης ρίζας DPPH)	27
2.2.5. Μέτρηση απόδοσης	27
2.2.6. Εμπλουτισμός του νερού με τα εκχυλίσματα	27
2.2.7. Μέτρηση pH στο εμπλουτισμένο νερό	27
2.2.8. Μέτρηση ολικών πολυφαινόλων και DPPH στο εμπλουτισμένο νερό	27

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	29
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ	29
3.7 Νερό Σέλι.....	30
3.1 Νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα πορτοκαλιού	31
3.2 Νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα λεμονιού	36
3.3 Νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα δυόσμου.....	40
3.4 Νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα μέντας	44
3.5 Νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα λάβδανου	48
3.6 Νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα κάνναβης	52
3.8. Συμπεράσματα.....	56
Βιβλιογραφία	57

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Νερό

Το φυσικό μεταλλικό νερό ορίζεται ως: «το μικροβιολογικά υγιεινό νερό, κατά την έννοια του άρθρου 5, που προέρχεται από ένα υπόγειο υδροφόρο ορίζοντα ή ένα υπόγειο στρώμα και αναβλύζει από πηγή που υπόκειται σε εκμετάλλευση μια ή περισσότερες φυσικές ή τεχνικές, μετά από γεώτρηση, εξόδους μιας πηγής. Το φυσικό μεταλλικό νερό διακρίνεται σαφώς από το σύννηθες πόσιμο νερό:

A) Από την φυσιολογική του σύσταση, που χαρακτηρίζεται από την περιεκτικότητα του σε ανόργανα άλατα, ιχνοστοιχεία ή άλλα συστατικά και σε μερικές περιπτώσεις από ορισμένα αποτελέσματα.

B) από την φυσική καθαρότητα του,

Χαρακτηριστικά που και τα δύο έχουν διατηρηθεί ανέπαφα λόγω της υπόγειας προέλευσης αυτού του νερού, το οποίο είναι προστατευμένο από κάθε κίνδυνο ρυπάνσεως» [1].

Το φυσικό μεταλλικό νερό περιέχει μια ποικιλία μετάλλων και ιχνοστοιχείων που δίνουν στο νερό τις χαρακτηριστικές του ιδιότητες. Ανάλογα την πηγή διαφέρει και η σύσταση του. Τα πιο συνηθισμένα μέταλλα και ιχνοστοιχεία που περιέχονται στο φυσικό μεταλλικό νερό αναγράφονται στον Πίνακα 1 μαζί με τα ευεργετικά οφέλη στην υγεία του ανθρώπου [2–4].

Πίνακας 1. Μέταλλα και ιχνοστοιχεία που υπάρχουν στα φυσικά μεταλλικά νερά και οι ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία.

Ασβέστιο	Σημαντικό για την υγεία των οστών και του καρδιαγγειακού συστήματος.
Χλώριο	Συμβολή στην διαδικασία της πέψης.
Φώσφορος	Δομική μονάδα του DNA και των κυτταρικών μεμβρανών
Μαγνήσιο	Συμβολή στην λειτουργία των μυών και του νευρικού συστήματος.
Κάλιο	Απαραίτητο για την ρύθμιση καρδιακής δραστηριότητας και βιοχημικών διεργασιών. Ικανότητα κατακράτησης νερού και ωσμωτική πίεση.
Νάτριο	Διατήρηση ισορροπίας υγρών στο σώμα.
Θείο	Συμμετοχή στην σύνθεση πρωτεϊνών, προσφέρει αντιοξειδωτική προστασία καθώς και συμβάλει στην ενδυνάμωση του ανοσοποιητικού συστήματος.

Μαγγάνιο	Ομαλή λειτουργία του μυϊκού συστήματος και παραγωγή ενζύμων που παίρνουν μέρος στο μεταβολισμό πρωτεϊνών και σακχάρων.
Σελήνιο	Αντιοξειδωτικό, συμμετέχει στην διατήρηση της ολότητας της μυϊκής μεμβράνης.
Χαλκός	Παραγωγή κολλαγόνου καθώς συμβάλλει και στην λειτουργικότητα των ενζύμων τόσο στο αίμα όσο και στους μύες.

Το νερό και η ενυδάτωση είναι ζωτικής σημασίας για τον άνθρωπο ως προς την υγεία και την ευεξία του. Η κατανάλωση νερού έχει ως αποτέλεσμα την αποφυγή αφυδάτωσης. Το νερό δεν προσλαμβάνεται μόνο ως ρόφημα αλλά νερό περιέχουν τα φρούτα και τα λαχανικά σε διάφορες ποσότητες το καθένα. Από νερό αποτελείται το 75% του σωματικού βάρους στα βρέφη έως 55% στους ηλικιωμένους και είναι απαραίτητο για την κυτταρική ομοίωση και την ζωή. Η ποσότητα νερού που πρέπει να λαμβάνεται εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως την ηλικία, το φύλο, την σωματική δραστηριότητα καθώς και τις κλιματικές συνθήκες. Το νερό είναι από τα πιο σημαντικά θρεπτικά συστατικά που προσλαμβάνει καθημερινά ο ανθρώπινος οργανισμός. Η μειωμένη πρόσληψη νερού έχει συσχετιστεί με πολλά προβλήματα, αφού το νερό, δεν συντελεί μόνο στην ενυδάτωση αλλά είναι ύψιστης σημασίας για πολλές λειτουργίες του οργανισμού [5].

Η επιλογή του νερού βρύσης ή εμφιαλωμένου νερού εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες. Πιο συγκεκριμένα, αυτοί είναι, η ποιότητα νερού της περιοχής, οι προτιμήσεις στις γεύσεις των καταναλωτών καθώς και οι απαιτήσεις του κάθε ανθρώπου ως προς την ασφάλεια και την ποιότητα. Το νερό βρύσης είναι προσβάσιμο και οικονομικό συγκριτικά με το εμφιαλωμένο νερό. Σε πολλές χώρες, το νερό βρύσης, υπόκειται σε αυστηρούς κανονισμούς υγιεινής και ασφάλειας. Ωστόσο, ο τρόπος επεξεργασίας του νερού μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της γεύσης του. Το νερό βρύσης συμβάλλει στην μείωση παραγωγής αποβλήτων καθώς μετριάζεται η χρήση πλαστικών μπουκαλιών που χρησιμοποιούνται για το εμφιαλωμένο νερό. Από την άλλη πλευρά, το εμφιαλωμένο νερό περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις σε μέταλλα που δεν ανευρίσκονται στο νερό βρύσης. Επιπλέον, παρέχει βεβαιότητα ποιότητας λόγω των αυστηρών διαδικασιών επεξεργασίας και ελέγχου. Επίσης παρέχει πρακτικότητα στον καταναλωτή διότι καθίσταται εύκολη η μεταφορά του σε κινητήριες δραστηριότητες. Το εμφιαλωμένο νερό, σύμφωνα με μελέτες, χρησιμοποιείται ως κύρια πηγή πόσιμου νερού. Η χρήση του εμφιαλωμένου νερού είναι συνηθέστερη από του νερού βρύσης λόγω ευκολίας, ευχάριστης γεύσης και καθαρότητας που προσφέρει. Εν

κατακλείδι, η ποιότητα του νερού βρύσης ποικίλει ανάλογα με την περιοχή και το σύστημα υδροδότησης. Ωστόσο, ο καταναλωτής δεν έχει επίγνωση της ποιότητας του νερού βρύσης ή της ανάγκης για περαιτέρω επεξεργασία ή φιλτράρισμα και έτσι επιλέγει το εμφιαλωμένο που του προσφέρει ασφάλεια και ποιότητα [6–8].

1.2. *Εμπλουτισμένα ποτά*

Διαφορετικές μέθοδοι και τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την ενσωμάτωση φυτικών εκχυλισμάτων στο νερό. Τα εμπλουτισμένα τρόφιμα και ποτά τα οποία είναι γνωστά και ως λειτουργικά τρόφιμα ή συμπληρώματα διατροφής, δηλαδή τρόφιμα ή ποτά εμπλουτισμένα με φυτικά εκχυλίσματα ή και άλλες ουσίες συνέλαβαν στην καλύτερη εμφάνιση του προϊόντος, στην σταθερότητα, στην διατροφική αξία και σχετίζονται άμεσα με την βελτίωση της κατάστασης της υγείας και τον μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης διαφόρων ασθενειών [9]. Πιο συγκεκριμένα, τα λειτουργικά ποτά περιέχουν θρεπτικά συστατικά και βιοενεργά μόρια (βιταμίνες, αμινοξέα, μέταλλα, φυτικές ίνες, πρεβιοτικά-προβιοτικά και λιπαρά οξέα) αλλά και πηκτικές και μη πηκτικές ουσίες που βρίσκονται στα φύλλα, στον φλοιό, στις ρίζες και στους σπόρους και αποτελούνται από φαινολικά συστατικά (φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή, ταννίνες, ανθοκυανίνες), αιθέρια έλαια, τερπενοειδή και φυτοστερόλες. Τα λειτουργικά ποτά διακρίνονται σε sport drinks, διατροφικά ποτά, ενεργειακά ποτά και εμπλουτισμένα ποτά με βάση το μεταλλικό νερό [10–12]. Η ενσωμάτωση των φυτικών εκχυλισμάτων, αιθέριων ελαίων και άλλων συστατικών μπορεί να γίνει με ποικίλους τρόπους. Αρχικά, κρίζεται αναγκαία η απομόνωση των φαινολικών συστατικών που διαθέτουν τα εκχυλίσματα, πριν την ενσωμάτωση τους στο εμπλουτισμένο νερό. Κάθε τεχνική έχει πλεονεκτήματα, μειονεκτήματα και διαφορετικές απαιτήσεις [13–15].

1.2.1. Συμβατικές τεχνικές εκχύλισης (CET).

Οι CET χρησιμοποιούνται για την παραγωγή φυτικών εκχυλισμάτων και στηρίζεται στην εφαρμογή θερμότητας ή ανάμιξης υπό ατμοσφαιρική πίεση και στην εκχυλιστική ισχύ του διαλύτη. Τα στάδια στα οποία αποτελείται είναι η διαβροχή, η διήθηση, η έγχυση, το αφέψημα και η πέψη. Η τεχνική αυτή είναι χρονοβόρα και απαιτεί μεγάλη ποσότητα οργανικών διαλυτών οι οποίοι οδηγούν σε αυξημένο κόστος και περιβαλλοντικά προβλήματα.

1.2.2. Προηγμένες τεχνικές εκχύλισης (AET).

Η τεχνική AET είναι μια πιο φιλική προς το περιβάλλον διαδικασία παραγωγής φυτικών εκχυλισμάτων εφόσον απαιτεί μειωμένο αριθμό οργανικών διαλυτών και το εκχύλισμα που προκύπτει έχει καλή ποιότητα.

1.3. Πηγές εκχυλισμάτων για εμπλουτισμό ποτών

1.3.1. Φυτικά εκχυλίσματα

Ο εμπλουτισμός νερού και άλλων ποτών μπορεί να γίνει με φυτικά εκχυλίσματα τα οποία δρουν ως συντηρητικά, αρωματικές ουσίες και φαρμακευτικοί παράγοντες [16]. Τα φυτικά αυτά εκχυλίσματα μπορεί να είναι φρούτα όπως, μήλο, πορτοκάλι, σταφύλι, φράουλα, κεράσι, ροδάκινο, τα οποία χρησιμοποιούνται για την παραγωγή εμπλουτισμένου νερού και ποτών (χυμοί, ενεργειακά ποτά), είναι πλούσια σε πολυφαινολικά συστατικά, ανθοκυανίνες φυτοστερόλες και βιταμίνες και δίνουν καλύτερη εμφάνιση στο προϊόν, μεγαλύτερη διάρκεια ζωής και είναι ωφέλιμα για την υγεία. Σε πρόσφατη έρευνα για την παραγωγή εμπλουτισμένων ποτών με φυτικά εκχυλίσματα πλούσια σε φαινολικά, όπως οι χυμοί πορτοκαλιού συνέβαλλαν στην ανάπτυξη του γένους *Lactobacillus* ώστε να δημιουργηθεί λειτουργικό ποτό για άτομα σε δυσανεξία στα γαλακτοκομικά προϊόντα [17]. Τα φυτικά αυτά εκχυλίσματα μπορούν επίσης να απομονωθούν από υποπροϊόντα της βιομηχανίας τροφίμων όπως φύλλα ελιάς, οργανικά απόβλητα κρασιού, φυτικό νερό ελιάς τα οποία είναι και αυτά πλούσια σε πολυφαινόλες. Αξίζει να σημειωθεί πως τα φυτικά εκχυλίσματα που ενσωματώνονται στο νερό βοηθούν στην απολύμανση του νερού το οποίο είναι κατάλληλο υπόστρωμα για πολλούς μικροοργανισμούς. Πιο συγκεκριμένα, 38 γένη και 22 οικογένειες φυτών συμβάλουν στην απολύμανση του νερού όπως η *Moringa oleifera* η οποία είναι το πιο αποτελεσματικό πηκτικό για την παραγωγή εμπλουτισμένου νερού αλλά και άλλα είδη όπως *Aloe vera*, *Jatropha curcas*, Guar gum κ.α. Τέτοιου είδους φυτικά εκχυλίσματα συμβάλλουν στην μείωση της θολερότητας και στην απομάκρυνση βαρέων μετάλλων. Οι σπόροι από *Moringa oleifera* χρησιμοποιήθηκαν για την απομάκρυνση θολερότητας του νερού με επιτυχία. Άλλα τέτοια πηκτικά με απολυμαντικές ιδιότητες είναι το *Opuntia ficus indica*, Dwari και Mishra [18–21].

1.3.2. Φαρμακευτικά φυτά και αιθέρια έλαια

Ένας άλλος τρόπος δημιουργίας εμπλουτισμένου νερού και ποτών είναι η ενσωμάτωση φαρμακευτικών φυτών και αιθέριων ελαίων. Τα αιθέρια έλαια μπορεί να είναι έλαιο πορτοκαλιού, λεμονιού, λεβάντας και διαθέτουν πολλά θρεπτικά συστατικά και βιοενεργά μόρια τα οποία είναι πλούσια σε βιταμίνες, φαινολικά οξέα, ανθοκυανίνες και έχουν αρωματική, αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή και αντιφλεγμονώδη δράση. Αυτά τα έλαια προέρχονται κυρίως από ρίζες, σπόρους, άνθη, ριζώματα, φλοιό και φρούτα. Για παράδειγμα, το λιμονένιο, η κιτράλη το οποίο είναι κύριο τερπένιο και βρίσκεται στην φλούδα εσπεριδοειδών, η μενθόλη ως αρωματική ένωση της μέντας και η θυμόλη είναι συστατικά των αιθέριων ελαίων τα οποία είναι αρωματικές ύλες αναγνωρισμένες από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή. Επίσης, συστατικά αιθέρων ελαίων όπως η καρβακρόλη και θυμόλη έχουν

αντιμικροβιακή δράση στην οικογένεια Lamiaceae, σε πολλά Gram θετικά και αρνητικά βακτήρια, ζυμομύκητες και μούχλες. Τα αιθέρια έλαια είναι σημαντικό να ενσωματώνονται σε μεσαία ποσότητα ώστε να μην δημιουργούνται αρνητικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και να επιτυγχάνεται η βελτίωση της γεύσης η οποία αυξάνει την όρεξη των καταναλωτών. Αξίζει να σημειωθεί πως τα αιθέρια έλαια χρησιμοποιούνται ως ενθυλακωμένα βρώσιμα και βιοδιασπώμενα πολυμερή. Η διαδικασία ενθυλάκωσης στην παραγωγή λειτουργικών ποτών έχει συμβάλλει στην επέκταση της διάρκειας ζωής τους, με καλύτερη απορρόφηση και αντιμικροβιακή δράση. Η αποτελεσματικότητα των αιθέριων ελαίων στην ενίσχυση της διάρκειας ζωής εξαρτάται από το είδος του ελαίου, την ποσότητα και την χημική σύσταση [22–24].

1.3.3. Πρεβιοτικά και προβιοτικά συστατικά:

Τα πρεβιοτικά ορίστηκαν ως μη εύπεπτα συστατικά τροφίμων που επηρεάζουν ευεργετικά τον ξενιστή διεγείροντας επιλεκτικά την ανάπτυξη ή τη δραστηριότητα ενός ή περιορισμένου αριθμού βακτηριακών ειδών που κατοικούν στο παχύ έντερο και έτσι βελτιώνουν την υγεία του ξενιστή. Η πρόσληψη πρεβιοτικών μπορεί να ρυθμίσει τη μικροχλωρίδα του εντέρου αυξάνοντας τον αριθμό συγκεκριμένων βακτηρίων και αλλάζοντας έτσι τη σύνθεσή της. Στην κατηγορία αυτή λοιπόν, ανήκουν ουσίες όπως λακτιτόλη, ινουλίνη, β-γλυκάνη, φρουκτοολιγοσακχαρίτες (FOS), η λακτουλόζη κ.α. Στην παραγωγή λειτουργικών ποτών και νερού έχουν διαδραματίσει μεγάλη επιτυχία. Η χρήση αυτών των διαιτητικών ινών συμβάλλει στην αύξηση του ιξώδους του γαστρεντερικού σωλήνα, το οποίο βελτιώνει την απορρόφηση θρεπτικών συστατικών. Η κατηγορία των FOS, κινεί περισσότερο ενδιαφέρον στην παραγωγή λειτουργικών ποτών εξαιτίας της γλυκιάς γεύσης που προσδίδει και την συμβολή της στην υγεία. Πιο συγκεκριμένα, τα FOS έχουν διάφορες λειτουργίες όπως μείωση της ολικής χοληστερόλης και λιπιδίων του ορού, βελτίωση της δυσκοιλιότητας και ανάπτυξη του *Bifidobacterium* spp. στο πεπτικό σύστημα. Ο συνδυασμός πρεβιοτικών και προβιοτικών ονομάζεται συνβιοτικά, μια κατηγορία προϊόντων που παρουσιάζει νέες προκλήσεις στην παραγωγή λειτουργικών ροφημάτων. Σε προηγούμενη μελέτη σχεδιάστηκε ένα λειτουργικό χυμό καρότου μέσω της διαδικασίας της ζύμωσης. Η ζύμωση έγινε με την βοήθεια *L. rhamnosus* DSM 20711 και *L. bulgaricus* ATCC 11842 συμπληρωμένο με ινουλίνη και FOS. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα λειτουργικά ροφήματα με χυμούς φρούτων, ενισχύονται επιτυχώς με FOS διάρκεια ζωής 4 με 6 μήνες υπό ψύξη ή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους να παραμείνουν αμετάβλητα [25–28].

1.3.4. Υποπροϊόντα της βιομηχανίας φρούτων και τροφίμων

Η χρήση υποπροϊόντων ως πηγή δραστικών συστατικών, δίνει ένα πολλά υποσχόμενο μέλλον στην παραγωγή λειτουργικών ποτών. Τα απόβλητα επεξεργασίας τροφίμων θεωρούνται από καιρό ως θέμα επεξεργασίας, ελαχιστοποίησης και πρόληψης λόγω των περιβαλλοντικών επιπτώσεων που προκαλούνται από τη διάθεσή του. Σε μια μελέτη που διεξάχθηκε, οι φλούδες δαμάσκηνου που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή χυμού δαμάσκηνου αποτέλεσαν απόβλητο πλούσιο σε πολυφαινόλες, οι οποίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την δημιουργία εμπλουτισμένων ποτών με αυξημένη συγκέντρωση πολυφαινολικών συστατικών και αντιοξειδωτική δράση. Τα εκχυλίσματα που προέκυψαν από την φλούδα του δαμάσκηνου μπορούν να χρησιμοποιηθούν όχι μόνο για την παραγωγή χυμού δαμάσκηνου αλλά και για άλλα ροφήματα όπως αρωματισμένα παγωμένα τσάγια και ποτά με βάση χυμούς φρούτων. Το μόνο μειονέκτημα αυτών των εκχυλισμάτων είναι η πικρή και στυπτική γεύση που προσδίδουν στο ρόφημα το οποίο μπορεί να μην γίνει τόσο αποδεκτό από τους καταναλωτές. Όμως η αρνητική αυτή επίπτωση μπορεί να διορθωθεί μέσω της προσθήκης γλυκών ουσιών και αλάτων τα οποία θα μειώσουν σημαντικά την πικρή γεύση και θα ενισχύσουν το αισθητηριακό προφίλ του προϊόντος. Επιπρόσθετα, σε μία άλλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιήθηκαν υποπροϊόντα από ροδοπέταλα για την παραγωγή και βελτίωση των χυμών φρούτων που είναι ασταθείς στο χρώμα. Τα υποπροϊόντα αυτά, είναι πλούσια σε πολυφαινολικές χρωστικές, οι οποίες βοηθούν στην σταθερότητα του χρώματος, στην βελτίωση της ποιότητας και προάγουν την υγεία με αντιοξειδωτικές επιδράσεις. Τέλος, ο ορός γάλακτος είναι ένα υποπροϊόν κατά την παρασκευή τυριού, που περιέχει νερό (93%) και σχεδόν το 50% των συνολικών στερεών που υπάρχουν στο αρχικό γάλα, κυρίως λακτόζη. Μια πιθανή εφαρμογή στην παραγωγή ποτών φρούτων με βάση τον ορό γάλακτος προτάθηκε από ερευνητές, οι οποίοι οι πρότειναν τον εμπλουτισμό των ποτών ορού γάλακτος με φρούτα μάνγκο ως πηγή βιταμινών και άλλων θρεπτικών συστατικών, όπως αντιοξειδωτικές χρωστικές ουσίες (καροτενοειδή, όπως η ένωση προβιταμίνης Α, β-καροτένιο και α-καροτένιο). Αυτά τα λειτουργικά ροφήματα είναι εξαιρετικά πλούσια σε θερμίδες και τα καθιστούν χρήσιμα σε περιοχές όπου η επισιτιστική ανεπάρκεια είναι προβληματική και μπορούν να παρέχουν ευεργετικά αποτελέσματα σε άτομα που πάσχουν από γαστρεντερικές διαταραχές [29].

1.4. *Αποδοχή των λειτουργικών ποτών και νερών από τους καταναλωτές.*

Οι ανησυχίες και το ενδιαφέρον των καταναλωτών για την διατροφή και την υγεία αυξάνεται ραγδαία. Η πλειοψηφία των καταναλωτών προτιμάει κυρίως τρόφιμα και ποτά τα οποία έχουν επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (ελκυστική γεύση, οσμή, χρώμα) και είναι ωφέλιμα για την υγεία. Η τάση αυτή οδήγησε την αύξηση αγοράς λειτουργικών ποτών

την τελευταία δεκαετία παγκοσμίως. Τα εμπλουτισμένα αυτά ποτά διαθέτουν λειτουργικά συστατικά που έχουν τεράστια σημασία στην υγεία και βοηθούν στην καταπολέμηση πολλών ασθενειών. Η λουτεΐνη ανήκει στην κατηγορία αυτών των λειτουργικών συστατικών, διαθέτει αντιοξειδωτική δράση και συμβάλλει στην υγεία των ματιών. Πιο συγκεκριμένα, και έπειτα από μελέτες, η κατανάλωση λουτεΐνης βοηθάει στην προστασία από ηλιακή εκφύλιση της ωχρας κηλίδας η οποία είναι κύριο αίτιο τύφλωσης στην 3^η ηλικία. Έτσι λοιπόν, η προσθήκη αυτού του λειτουργικού συστατικού σε χυμούς φρούτων τα οποία έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες μπορεί να προσελκύσει τους καταναλωτές που αναζητούν συγκεκριμένα οφέλη για την υγεία, εφόσον παρέχει αντιοξειδωτική δράση και προστασία της υγείας των ματιών. Εκτός από τα επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά ενός λειτουργικού ποτού, υπάρχουν και άλλοι σημαντικοί παράγοντες που βοηθούν στην επιλογή των ποτών αυτών από τους καταναλωτές. Αυτοί οι παράγοντες είναι: το εμπορικό σήμα, η συσκευασία, η επισήμανση, οι διατροφικές πληροφορίες ή/και οι ισχυρισμοί υγείας, διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στο κατά πόσον αρέσουν στους καταναλωτές τα τρόφιμα. Στην περίπτωση λειτουργικών προϊόντων, η συσκευασία και η επισήμανση με ισχυρισμούς για συγκεκριμένα οφέλη για την υγεία δημιουργούν πολλές προσδοκίες στους καταναλωτές πριν από την κατανάλωση των εν λόγω προϊόντων. Συνεπώς, η επιλογή των καταναλωτών και η αγοραστική συμπεριφορά μπορεί να οδηγήσει τους καταναλωτές σε διάφορες σκέψεις όσον αφορά τα λειτουργικά τρόφιμα εκτός από τη γεύση. Η κατανόηση λοιπόν, του τρόπου με τον οποίο συγκεκριμένοι ισχυρισμοί υγείας στις ετικέτες των προϊόντων επηρεάζουν τις προτιμήσεις των καταναλωτών και τις προθέσεις αγοράς τους αποτελεί αναγκαιότητα στην περίπτωση των λειτουργικών τροφίμων [11,30,31].

Πραγματοποιήθηκε μια μελέτη στην οποία παρασκευάστηκαν 2 λειτουργικά ποτά βατόμουρου τα οποία το ένα είχε διπλάσια ποσότητα πηκτίνης από το άλλο και προκαλούσε μια πιο παχιά αίσθηση στο στόμα κατά την κατανάλωση του. Ο στόχος αυτής της μελέτης ήταν να διερευνήσει τον αντίκτυπο της λειτουργικής επισήμανσης στην αποδοχή των καταναλωτών και στις προθέσεις αγοράς λειτουργικών ποτών βατόμουρου. Διεξάχθηκε λοιπόν, μια δοκιμή αποδοχής καταναλωτών 2 ημερών ανεξάρτητα με λειτουργικές πληροφορίες και χωρίς καμία πληροφορία. Συνεπώς, οι λειτουργικές πληροφορίες επηρέασαν θετικά την αντίληψη των καταναλωτών για τις αντιλήψεις που σχετίζονται με την υγεία που σχετίζονται με τα BFB, όπως η «υποβοήθηση της βελτίωσης της υγείας των ματιών» και η «ανακούφιση από την κόπωση των ματιών» [32,33].

1.5. Βιολειτουργικές ιδιότητες των φυτικών εκχυλισμάτων

Οι καταναλωτές αναζητούν καθημερινά τρόφιμα και ποτά τα οποία συνεισφέρουν τεράστια οφέλη στην υγεία, ενισχύουν την πρόληψη διαφόρων ασθενειών και την θεραπεία αυτών. Επομένως, η ανάγκη για παραγωγή ποτών και τροφίμων με τέτοιες ιδιότητες αποτελεί μεγάλη σημασία στην βιομηχανία τροφίμων. Επίσης, η επιλογή ενός προϊόντος εξαρτάται από την εμφάνιση, η παραγωγή ελκυστικών τροφίμων λόγω του χρώματος, της υφής, της εμφάνισης και των αισθητηριακών χαρακτηριστικών τους είναι μια ακόμα πιο μεγάλη πρόκληση στην αγορά. Η δυνατότητα συγκέντρωσης υγιεινών και ελκυστικών αντικειμένων σε ένα μόνο τρόφιμο είναι μια ακόμη μεγαλύτερη πρόκληση. Οι ωφέλιμες αυτές ιδιότητες τους που συνδέονται με τις φαινολικές ενώσεις, όπως οι αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιγηραντικές ιδιότητες, μεταξύ άλλων, δικαιολογεί πλήρως τη χρήση τους στον εμπλουτισμό διαφόρων προϊόντων διατροφής [34–37].

Σύμφωνα με προηγούμενη μελέτη, ερευνήθηκε η χρήση των φαινολικών συστατικών και τα οφέλη που μπορεί να φέρει με τον εμπλουτισμός τους σε λειτουργικά ποτά. Οι φαινολικές ενώσεις ταξινομούνται ως πρωτογενή αντιοξειδωτικά και προέρχονται από μία από τις κύριες κατηγορίες δευτερογενών μεταβολιτών στα φυτά. Έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες μέσω διαφόρων μηχανισμών:

- (i) την ικανότητα να απομακρύνουν τις ελεύθερες ρίζες και να αναστέλλουν το σχηματισμό αντιδραστικών ειδών κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής πορείας του μεταβολισμού.
- (ii) πρόληψη της βλάβης των λιπιδίων, των πρωτεϊνών και των νουκλεϊνικών οξέων
- (iii) πρόληψη επακόλουθης κυτταρικής βλάβης και θανάτου.

Έτσι, συνδέονται συνήθως με την πρόληψη της ανάπτυξης καρδιαγγειακών παθήσεων, αυτοάνοσων νοσημάτων, διαβήτη και καρκίνου [38,39].

Γενικά, τα αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται σε τρόφιμα και ποτά προορίζονται να αποτρέψουν την αλλοίωση τους και να αυξήσουν τη διάρκεια ζωής τους. Ωστόσο, η εμφάνιση και τα χαρακτηριστικά κάθε τρόφιμου ή ποτού, όπως το χρώμα και οι αισθητηριακές ιδιότητες, πρέπει να διατηρούνται αμετάβλητα. Επιπλέον, πρέπει να είναι εύκολο στην εφαρμογή και οικονομικό. Η ασφάλεια των προσθέτων τροφίμων επαληθεύεται μέσω της εφαρμογής τυποποιημένων μεθοδολογιών από τις ρυθμιστικές αρχές. Τα αντιοξειδωτικά χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, στα φυσικά και στα τεχνητά ανάλογα με την προέλευση τους. Τα φυσικά

αντιοξειδωτικά λοιπόν, προέρχονται από φυτά (φρούτα, όσπρια και λαχανικά), μανιτάρια και φύκια και ταξινομούνται ως φαινολικές ενώσεις, βιταμίνες και καροτενοειδή. Τα τελευταία χρόνια, υπάρχει μια αυξανόμενη προτίμηση για φυσικά φαινολικά αντιοξειδωτικά έναντι τεχνητών, κυρίως λόγω της αυξανόμενης ζήτησης από τους καταναλωτές για λειτουργικά τρόφιμα και ποτά με την προσθήκη φυσικών προσθέτων, τα οποία διατηρούν τις θρεπτικές ιδιότητες και τη γεύση τους. Αξίζει να σημειωθεί πως τα στιλβένια τα οποία ανήκουν στην ομάδα των φαινολικών ενώσεων και με πιο αναγνωρισμένο στιλβένιο την *trans*-ρεσβερατρόλη η οποία βρίσκεται κυρίως σε γλυκοζυλιωμένες μορφές. Το κόκκινο κρασί, καθώς και τα κόκκινα σταφύλια που προέρχονται από αυτό το ποτό που έχει υποστεί ζύμωση, είναι πλούσια σε ρεσβερατρόλη. Αρκετές μελέτες δείχνουν ότι η μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού οδηγεί σε μείωση της ανάπτυξης καρδιαγγειακών παθήσεων και αθηρωματικών πλακών και παρέχει νευροπροστατευτική, αντιδιαβητική, αντιφλεγμονώδη, αντιοξειδωτική, αντικαρκινογόνο και αντιική δράση. Κατά την ανάλυση διαφορετικών τύπων κρασιών, δηλαδή λευκών, ροζέ και κόκκινων, ερευνητές απέδειξαν ότι το κόκκινο κρασί είχε σημαντικά υψηλότερα φαινολικά επίπεδα από τα ροζέ και λευκά κρασιά και κατά συνέπεια παρουσίασε την υψηλότερη αντιοξειδωτική δύναμη. Επίσης, η υψηλότερη συγκέντρωση ρεσβερατρόλης εντοπίστηκε στο κόκκινο κρασί από ό,τι στο λευκό κρασί, επειδή υπάρχει στη φλούδα και τους σπόρους των σταφυλιών. Έτσι, η διαφορετική φαινολική περιεκτικότητα των οίνων σχετίζεται με την ποικιλία σταφυλιών, καθώς και με τις κλιματικές συνθήκες της περιοχής όπου παράγονται τα σταφύλια, τις καλλιεργητικές διεργασίες, το στάδιο ωρίμανσης, τις ζύμες που χρησιμοποιούνται στη διαδικασία οινοποίησης και οι συνθήκες που επικράτησαν κατά την οινοποίηση. Επιπρόσθετα, τα αφεψήματα βοτάνων και αυτά που είναι πλούσια σε φυσικά αντιοξειδωτικά, κυρίως φλαβονοειδή: θεαφλαβίνες, δις-φλαβανόλες και φουλβικά οξέα. Η κατανάλωσή τους έχει αυξηθεί λόγω των αντιμικροβιακών και αντικαρκινικών ιδιοτήτων. Οι ιδιότητες αυτές μελετήθηκαν και συγκρίθηκαν με τεχνητά αντιοξειδωτικά και την βιταμίνη Ε, ενσωματώνοντάς τα στο χοιρινό κρέας. Οι κατεχίνες που υπάρχουν στο τσάι αποδείχθηκαν πιο αποτελεσματικές όσον αφορά την αντιοξειδωτική τους δύναμη, σε σύγκριση με τη βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA) και το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT) [16,40–42].

Αντίθετα, τα συνθετικά φαινολικά αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται ευρέως σε βιομηχανία τροφίμων και ποτών, αλλά λίγα μπορούν νόμιμα να προστεθούν σε τρόφιμα. Έτσι, η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA), το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT), ο γαλλικός προπυλεστέρας (PG) και η τριτοταγής βουτυλοϋδροκινόνη (TBHQ)

χρησιμοποιούνται συνήθως ως αντιοξειδωτικά τροφίμων, ενώ τα ΒΗΑ και ΒΗΤ χρησιμοποιούνται περισσότερο ως πρόσθετα στα τρόφιμα. Η αστάθεια που εμφανίζουν τα φυσικά αντιοξειδωτικά, οδήγησαν στην αύξηση των τεχνητών τα οποία συμβάλλουν στην πρόληψη και στην καθυστέρηση των αντιδράσεων οξείδωσης των λιπιδίων, επεκτείνοντας τη διάρκεια ζωής των προϊόντων και αποτρέποντας το σχηματισμό ξένων γεύσεων και ανεπιθύμητων χημικών ενώσεων, όπως αλδεΐδες, κετόνες και οργανικά οξέα [43].

Οι αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες λοιπόν που έχουν τα φυσικά και τεχνητά φαινολικά συστατικά, οδηγούν στην άμεση σχέση των φαινολικών αντιοξειδωτικών με την υγεία. Οι φαινολικές ενώσεις παρουσιάζουν αντικαρκινική δράση *in vitro* και *in vivo* και μέσω μελετών απέδειξαν πως ποικίλα λειτουργικά τρόφιμα πλούσια σε φαινόλες προσδίδουν οφέλη στην ανθρώπινη υγεία. Τέτοιου είδους λειτουργικά ποτά είναι το πράσινο τσάι, ο καφές, ροφήματα σοκολάτας (κακάο), κόκκινο κρασί και χυμοί εσπεριδοειδών. Αρχικά, το πράσινο τσάι το οποίο είναι το πιο αρχαίο λειτουργικό ποτό εκτός του νερού, προέρχεται από το *Camellia sinensis* και αποτελείται κυρίως από κατεχίνη, επικατεχίνη και φαινολικά, συμβάλλει στην πρόληψη και στην θεραπεία του καρκίνου, καταστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και στην μείωση κινδύνου της νόσου Parkinson. Οι χυμοί εσπεριδοειδών, περιέχουν μεγάλη περιεκτικότητα βιταμινών, μετάλλων και τριτερπενοειδή και συγκεκριμένα το ανολικό οξύ το οποίο δρα ως αντιοξειδωτικό. Χάρης αυτές τις ουσίες, η κατανάλωση τέτοιων χυμών φρούτων βοηθάει στην μείωση συχνότητας εμφάνισης εκφυλιστικών ασθενειών όπως ο καρκίνος, η αρθρίτιδα, η αρτηριοσκλήρωση, οι καρδιακές παθήσεις, η φλεγμονή, η δυσλειτουργία του εγκεφάλου και η επιτάχυνση της διαδικασίας γήρανση. Επίσης, η κατανάλωση καφέ ο οποίος αποτελείται από κατεχόλη και χλωρογενικό οξύ, συμβάλλει στην μείωση της αρτηριακής πίεσης, στη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, την οξείδωση χοληστερόλης λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας. Άλλο ένα λειτουργικό ποτό αποτελεί το κακάο το οποίο διαθέτει επικαχετίνη, φαινολικά και ανθοκυανίνες και η κατανάλωση του βοηθάει στην αντιμετώπιση καρδιαγγειακών παθήσεων. Μεγάλη είναι και η συμβολή των φαινολικών ενώσεων από τα οποία αποτελούνται τα λειτουργικά ποτά στην αντιμετώπιση του διαβήτη, εφόσον έχουν την ικανότητα να προάγουν τη μείωση της υπεργλυκαιμίας, να βελτιώνουν την οξεία έκκριση ινσουλίνης και την ευαισθησία στην ινσουλίνη [44–47].

Η συμβολή των φυτικών εκχυλισμάτων στην πέψη και στην λειτουργία του ανοσοποιητικού. Οι πολυφαινόλες βρίσκονται στα ποτά κυρίως με την μορφή μεγάλων πολυμερών (εστέρες, γλυκοσίδες) τα οποία δεν μπορούν να απορροφηθούν εύκολα με αυτή την

μορφή και πρέπει να πραγματοποιηθεί η υδρόλυση τους από πεπτικά ένζυμα ή εντερική μικροχλωρίδα. Το 5-10% των φαινολικών ενώσεων που προέρχεται από διαφορετικούς καρπούς είναι προσβάσιμες στο λεπτό έντερο, ενώ το 90% των φαινολικών ενώσεων φτάνουν μέχρι και στο παχύ έντερο, όπου μπορούν να καταβολιαστούν από τη μικροχλωρίδα του εντέρου. Στην συνέχεια, η μικροχλωρίδα του εντέρου μετατρέπει τις πολύπλοκες πολυφαινόλες σε ενώσεις μικρού μοριακού βάρους που μπορούν να απορροφηθούν ευκολότερα και έτσι οι πολυφαινόλες είναι ευεργετικές κατά την κατανάλωση τους. Επιπλέον, πολλές κλινικές μελέτες δείχνουν ότι οι πολυφαινολικές ενώσεις διαθέτουν προβιοτικές ιδιότητες, μέσω της ρύθμισης της ανάπτυξης ευεργετικών βακτηρίων όπως το *Bifidobacterium* και το *Lactobacillus*. Πολλά νέα προϊόντα που περιέχουν προβιοτικά στελέχη και πολυφαινολικές ενώσεις ως αντιοξειδωτικά έχουν κυκλοφορήσει στην αγορά, ιδιαίτερα με την μορφή λειτουργικών ποτών που έχουν ως βάση φρούτα, λαχανικά, δημητριακά και σόγια. Πιο συγκεκριμένα, τα ποτά με βάση τα φρούτα αποτελούν εξαιρετική πηγή για την δημιουργία προβιοτικών στελεχών εφόσον διαθέτουν μεγάλη περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά τα οποία συμβάλλουν στην ανάπτυξη ευεργετικών μικροβίων του εντέρου. Τα προβιοτικά αυτά ποτά που έχουν υποστεί ζύμωση, αποτελούν μη γαλακτοκομικές πηγές προβιοτικών στελεχών και έχουν μεγάλες ποσότητες βακτηρίων τα οποία είναι ευεργετικά για την πέψη. Η κατανάλωση τους έχει ιδιαίτερη σημασία στα άτομα με δυσανεξία στην λακτόζη τα οποία προτιμούν τέτοιου είδους ποτά ως εναλλακτικές λύσεις. Επιπλέον, τα φρούτα ως ευεργετικά προβιοτικά, διαθέτουν ιδιότητες όπως ρυθμιστική ικανότητα, φυτικές ίνες, ινουλίνη και αντιθρεπτικούς παράγοντες. Με βάση διάφορων μελετών, μελετήθηκαν οι προβιοτικές επιδράσεις των εκχυλισμάτων φλούδας μήλου και λάιμ με την χρήση βακτηρίων (*L. casei*, *L. rhamnosus* και *L. Plantarum*). Η φλούδα μήλου είχε μεγάλο ποσοστό προβιοτικών στο στέλεχος *L. Plantarum*, ενώ η φλούδα λάιμ στο *L. Rhamnosus*. Συμπερασματικά, και τα δύο εκχυλίσματα ενίσχυσαν την ανάπτυξη προβιοτικών στελεχών και απέδειξαν πως τα φρούτα είναι εξαιρετική πηγή θρεπτικών συστατικών τα οποία συμβάλλουν στην μικροβιακή ανάπτυξη [48–51].

1.6. Λειτουργικά ποτά και διαβητικό δυναμικό βάση *in vivo* και *in vitro* μελετών:

Ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί μια χρόνια ασθένεια που οφείλεται κυρίως από κακές διατροφικές συνήθειες, γενετικούς παράγοντες και παχυσαρκία. Η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών συμβάλλει ευεργετικά στη θεραπεία του διαβήτη εφόσον αποτελούνται από πολλές βιοδραστικές ενώσεις. Οι βιοδραστικές αυτές ενώσεις είναι οι πολυφαινόλες, τα φλαβονοειδή, τα φαινολικά οξέα και οι ανθοκυανίνες. Σύμφωνα με πολλούς ερευνητές, διαπιστώθηκε πως τα λειτουργικά αυτά ποτά συμβάλλουν στην αναστολή της της δράσης των ενζύμων α-

γλυκοσιδάσης και α-αμυλάσης, τα οποία διασπούν τους πολυσακχαρίτες σε γλυκόζη. Το ένζυμο α-αμυλάση του λεπτού εντέρου βοηθά στη διάσπαση του αμύλου σε γλυκόζη και μαλτόζη, αυξάνοντας τη μεταγευματική γλυκόζη, ενώ η α-γλυκοσιδάση είναι ένα ένζυμο που καταλύει το τελικό βήμα στη διαδικασία της πέψης των υδατανθράκων και καθυστερεί την πέψη των ολιγοσακχαριτών και των δισακχαριτών σε μονοσακχαρίτες, μειώνοντας την απορρόφηση γλυκόζης και κατ' επέκταση την μείωση της μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας. Πιο συγκεκριμένα, τα φαινολικά και φλαβονοειδή τα οποία περιέχουν τα λειτουργικά ποτά έχουν ανασταλτική επίδραση σε αυτά τα ένζυμα. Οι πολυφαινολικές ενώσεις μπορεί να συνδέονται ομοιοπολικά στην α-αμυλάση και μεταβάλλουν τη δράση της. Συνεπώς, η κατανάλωση τέτοιου είδους ποτών αποτελεί μια βιώσιμη στρατηγική για τη θεραπεία του διαβήτη μέσω της αναστολής της α-αμυλάσης και α-γλυκοσιδάσης. Ομάδα ερευνητών μελέτησαν τα smoothie με βάση το φυτό ιπποφάες, το οποίο περιέχει πολυμερή προκυανίδια στον καρπό του τα οποία ευθύνονται για την αναστολή της παγκρεατικής λιπάσης. Η παγκρεατική λιπάση είναι ένα ένζυμο που διασπά τα τριγλυκερίδια σε λιπαρά οξέα και μόρια μονογλυκεριδίου/γλυκερόλης. Επομένως, η αναστολή του είναι υπεύθυνη για τη μείωση της ενεργειακής πρόσληψης, η οποία μπορεί να διευκολύνει τον έλεγχο του διαβήτη [46,52–55].

Σε διάφορες κλινικές μελέτες, αξιολογήθηκε η επίδραση του λειτουργικού ποτού σε διαβητικούς ασθενείς. Οι ασθενείς ύστερα από κατανάλωση λειτουργικού ποτού ροδιού εμφάνισαν μειωμένη γλυκόζη στο αίμα και βελτίωση της λειτουργίας των β-κυττάρων. Το ρόφημα αυτό περιέχει αγλυκόνες και άλλα φαινολικά τα οποία έχουν αντιδιαβητική δράση. Σε άλλη μελέτη, Σε μία άλλη έρευνα των Devaki και Premavalli, οι ασθενείς κατανάλωσαν 45ml ροφήματος από πικρή κολοκύθα το οποίο έχει υποστεί ζύμωση. Η πικρή κολοκύθα διαθέτει την λεκτίνη και πολυπεπτίδιο-P τα οποία έχουν παρόμοια δράση με της ινσουλίνης. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν πως με την κατανάλωση του ροφήματος αυτού, έγινε μείωση της γλυκόζης στο πλάσμα, της γλυκόζης νηστείας ενώ το λιπιδικό προφίλ του αίματος παρέμεινε σταθερό. Σε μια άλλη κλινική δοκιμή με την καθημερινή κατανάλωση ενός ροφήματος εμπλουτισμένου πολυφαινόλες από cranberry και φράουλα, υπήρξε βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη. Ωστόσο, το ρόφημα δεν επηρέασε το λιπιδικό προφίλ ή τους δείκτες για το οξειδωτικό στρες και τη φλεγμονή [47,56].

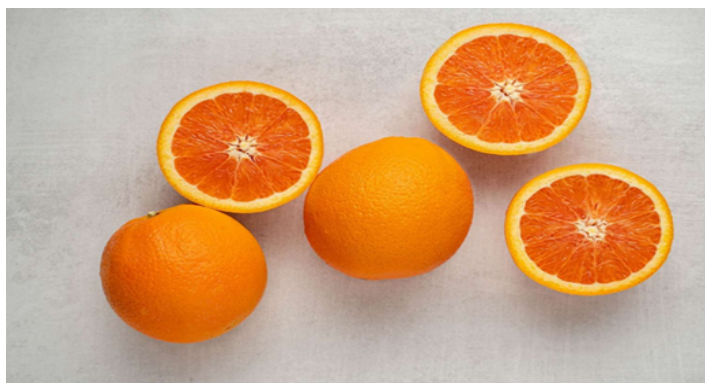
Συμπερασματικά, τα λειτουργικά ποτά όπως οι χυμοί και τα smoothies είναι ένας προσίτος και ευχάριστος τρόπος να υιοθετηθεί στη διατροφή των ατόμων εφόσον έχουν βιοδραστικές ενώσεις, όπως πολυφαινόλες που ενισχύουν την υγεία. Μέσα από τις παραπάνω

in vitro και in vivo μελέτες, διαπιστώθηκε πως τα λειτουργικά ποτά δρουν ως αντιδιαβητικά μέσα.

1.7. Περιγραφή φυτών που χρησιμοποιήθηκαν

1.7.1. Πορτοκάλι

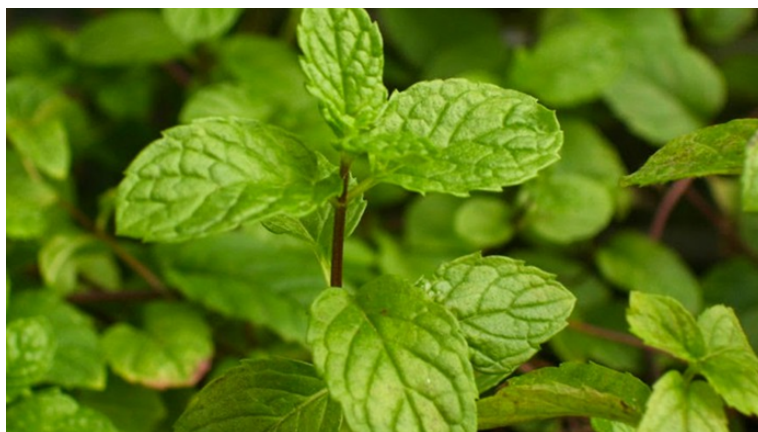
Το πορτοκάλι είναι φρούτο και ανήκει στην οικογένεια εσπεριδοειδών. Περιέχει φυτικές ίνες, σάκχαρα, πρωτεΐνες, βιταμίνη Α, βιταμίνη C, ασβέστιο, κάλιο και υδατάνθρακες. Υπάρχουν πολλές διαφορετικές ποικιλίες πορτοκαλιών. Κάποια πορτοκάλια είναι γλυκά και άλλα ξινά. Οι συνήθεις τύποι περιλαμβάνουν: Navel, Mandarin, Cara Cara, Blood oranges, Valencia, Seville και Jaffa. Το πορτοκάλι έχει θετική επίδραση στην υγεία. Η βιταμίνη C που διαθέτει βοηθάει στην προστασία των κυττάρων, στην παραγωγή κολλαγόνου το οποίο βοηθάει στην επούλωση πληγών, στην καλύτερη απορρόφηση σιδήρου για καταπολέμηση της αναιμίας, στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος και στην άμυνα του οργανισμού απέναντι σε μικρόβια και στη καταπολέμηση των ελεύθερων ριζών οι οποίες είναι γνωστές για την εμφάνιση καρκίνου. Επίσης, μέσω των φυτικών ινών που περιέχει, βοηθάει στην διατήρηση της υγείας του εντερικού συστήματος, καλού επιπέδου χοληστερόλης και μειώνει τον κίνδυνο καρδιακών παθήσεων στομαχικού έλκους. Οι φυτικές ίνες επιβραδύνουν επίσης τον τρόπο που ο οργανισμός απορροφά τη ζάχαρη το οποίο είναι πολύ σημαντικό για τα άτομα που πάσχουν από διαβήτη. Επιπρόσθετα, το ασβέστιο που διαθέτει, συμβάλλει στην διατήρηση των οστών και των οργάνων, το φυλλικό οξύ (βιταμίνη B9) έχει ιδιαίτερη αξία για την ανάπτυξη του εμβρύου κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και δρα προληπτικά ενάντια στο εγκεφαλικό, ενώ το κάλιο είναι ωφέλιμο για τον έλεγχο της πίεσης στους υπερτασικούς και μειώνει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Άλλα εξίσου σημαντικά βιοενεργά συστατικά του πορτοκαλιού με οφέλη για την υγεία είναι τα καροτενοειδή και οι φαινολικές ενώσεις. Και οι δύο αυτές κατηγορίες συστατικών δρουν ως αντιοξειδωτικά στον ανθρώπινο οργανισμό [57,57–60].



Εικόνα 1. Απεικόνιση τεμαχισμένου πορτοκαλιού

1.7.2. Δυόσμος

Ο δυόσμος είναι ένα ποώδες φυτό που τα φρέσκα και αποξηραμένα φύλλα του αλλά και τα αιθέρια έλαια του χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών. Επίσης, διαθέτει επίσης αρκετές βιολογικές δραστηριότητες και χρησιμοποιείται στη ιατρική ως αντισπασμωδικό, διουρητικό, αντιβακτηριδιακό και αντιοξειδωτικό. Περιλαμβάνει αρκετά μικροθρεπτικά συστατικά, απαραίτητα για τον οργανισμό όπως κάλιο, ασβέστιο, μαγγάνιο, σίδηρο και μαγνήσιο. Ιδιαίτερη σημαντική είναι και η περιεκτικότητά του σε πολλές αντιοξειδωτικές βιταμίνες, συμπεριλαμβανομένης της βιταμίνης Α, της β-καροτίνης, της βιταμίνης C, της βιταμίνης B6, της ριβοφλαβίνης και της θειαμίνης. Ο δυόσμος έχει πολλά οφέλη στην υγεία. Χαρακτηρίζεται από μεγάλη αντιοξειδωτική δράση λόγω των φαινολών που περιέχει όπως καρβόνη (67%), λιμονένιο 1(4,3%) και το μυρσένιο (2,1%). Χάρης τις πολυφαινόλες αυτές, διαθέτει επίσης αντικαρκινική δράση διότι τα αντιοξειδωτικά του δυόσμου βοηθούν στην προστασία του οργανισμού από την επίδραση των ελεύθερων ριζών οι οποίες είναι υπεύθυνες για τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου. Τα συστατικά του δυόσμου έχουν θετική επίδραση στο αναπνευστικό σύστημα εφόσον βοηθάει στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων από λοιμώξεις του αναπνευστικού (πνευμονία, βρογχίτιδα, άσθμα, καταρροή) και στο γαστρεντερικό σύστημα εφόσον διευκολύνει την πέψη και ανακουφίζει τους έντονους γαστρικούς πόνους και τα συμπτώματα γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης. Επιπρόσθετα, έχει έντονη αντιμικροβιακή δράση, συμβάλλοντας σημαντικά στην προστασία της στοματικής υγιεινής καθώς και του ερεθισμένου λαιμού μέσω της καταπραϋντικής και αντιφλεγμονώδους δράσης της [61–63].



Εικόνα 2. Απεικόνιση φύλλων δυόσμου

1.7.3. Κάνναβη

Η κάνναβη είναι φυτό το οποίο ταξινομείται σε κάνναβη την ήμερη (*Cannabis sativa*), ινδική κάνναβη (*Cannabis indica*) και *Cannabis ruderalis*. Οι σπόροι κάνναβης αποτελούν ένα

τρόφιμο πλούσιο σε πολλά θρεπτικά συστατικά και με μεγάλη διατροφική αξία. Είναι ιδιαίτερα πλούσιοι σε πρωτεΐνη και απαραίτητα αμινοξέα. Επιπλέον αποτελούν πηγή των απαραίτητων $\omega 3$ και $\omega 6$ λιπαρών οξέων, ενώ παράλληλα έχουν πολύ χαμηλή περιεκτικότητα σε κορεσμένο λίπος. Ακόμη αποτελούν μία καλή πηγή αδιάλυτων φυτικών ινών, βιταμινών (βιταμίνη E, C, B1, B6) και ιχνοστοιχείων (φώσφορο, κάλιο, μαγνήσιο, ασβέστιο, σίδηρο, ψευδάργυρο). Όσον αφορά τον τομέα της υγείας, διαθέτει πολλά οφέλη. Η υψηλή περιεκτικότητα των σπόρων κάνναβης στο αμινοξύ αργινίνη το καθιστούν ένα τρόφιμο με προστατευτική δράση για την λειτουργία του καρδιαγγειακού συστήματος. Η αργινίνη μέσω του νιτρικού οξέος που παράγεται από αυτή βοηθά στη μείωση της αρτηριακής πίεσης και της ομαλής λειτουργίας της καρδιάς. Μία ακόμη ευεργετική ιδιότητα του φυτού κάνναβης είναι υγεία του δέρματος. Οι σπόροι κάνναβης αποτελούν ένα ιδιαίτερα λιπαρό τρόφιμο, το οποίο όμως είναι πλούσιο στα «καλά» πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Με τον τρόπο αυτό φαίνεται ότι ενισχύει την υγεία του δέρματος ενώ πιθανώς να βελτιώνει τα συμπτώματα σε περιπτώσεις εκζέματος και άλλων δερματικών παθήσεων. Τέλος, αποτελεί πλούσια πηγή πρωτεΐνης εφόσον 25% των θερμίδων των σπόρων προέρχονται από πρωτεΐνη. Είναι αξιοσημείωτο ότι δίνουν περισσότερη πρωτεΐνη ακόμη και από ένα κομμάτι κρέατος ίδιας ποσότητας [64–66].



Εικόνα 3. Απεικόνιση φύλλων κάνναβης

1.7.4. Λεμόνι

Το λεμόνι ανήκει στην οικογένεια των Ρουτιδών-Εσπεριδοειδών. Είναι ο καρπός του δέντρου της λεμονιάς, ενώ ο χυμός του αποτελείται από 5% κιτρικό οξύ, το οποίο προσδίδει την ξινή γεύση στο ρόφημα. Τα λεμόνια έχουν μεγάλη ποικιλία καθώς και κλίμακα χρωμάτων που κυμαίνεται από πρασινωπό κίτρινο έως βαθύ κίτρινο. Ως, εσπεριδοειδές φυτό περιέχει φλαβονοειδή τα οποία είναι γνωστά για τις αντικαρκινικές, αντιαρτηριακές, φαρμακευτικές, αντιμυκητιακές τους ιδιότητες. Η ιδιότητα αυτή περιορίζει τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων, ρυθμίζοντας τις ενζυμικές δραστηριότητες του φυτού. Από την αρχαιότητα, η χρήση του λεμονιού, ήταν γνωστή για την μείωση της αρτηριακής πίεσης. Γενικότερα, ο χυμός

του λεμονιού είναι πλούσιος σε βιταμίνη C ή αλλιώς ασκορβικό οξύ. Το λεμόνι αποτελείται από δευτερογενείς μεταβολίτες καθώς και άλλες ενώσεις που το καθιστούν σημαντικό τόσο στην βιομηχανία τροφίμων όσο και στην παραγωγή καλλυντικών. Ανάμεσα σε όλα τα εσπεριδοειδή το λεμόνι διακρίνεται για την υψηλή συγκέντρωση του σε εριοκιτρίνη, η οποία είναι φλαβόνη. Ωστόσο, υπάρχουν φλαβανοειδή από ανιχνεύονται και διακρίνονται στο λεμόνι όπως η εσπεριδίνη, η ναργινίνη και η νεοεσπεριδίνη. Πολυφαινόλες υπάρχουν τόσο στο χυμό του λεμονιού όσο και στο καρπό του. Όσο αναφορά την βιομηχανία τροφίμων, τα φρέσκα φρούτα του λεμονιού έχουν την ικανότητα συντήρησης για παρατεταμένο χρονικό διάστημα διατηρώντας την ακεραιότητα των βιολογικών χαρακτηριστικών του. Η περιεκτικότητα σε βιταμίνη C ελαττώνεται με την πάροδο του χρόνου λόγω εξωγενών παραγόντων. Για την πρόληψη της αντιοξειδωτικής ικανότητας και την διατήρηση του ασκορβικού οξέος σε σταθερή συγκέντρωση συνίσταται η αποθήκευσή τους σε θερμοκρασίες 0-5°C, η ιδανική συσκευασία καθώς και η αυξημένη παρουσία υδρατμών στην ατμόσφαιρα κατά την διανομή τους. Η φλούδα του λεμονιού χρησιμοποιείται ως πηκτικό μέσο στην βιομηχανία τροφίμων λόγω της πηκτικής που περιέχει. Από την άλλη πλευρά ο χυμός λεμονιού προστίθεται σε ροφήματα ή στα τρόφιμα είτε για να προσδώσει άρωμα είτε για να δώσει όξινη γεύση. Το αιθέριο έλαιο που δημιουργείται από εκχύλισμα λεμονιού ενδείκνυται η χρήση του για την επέκταση της συντηρησιμότητας θαλασσινών και ορισμένων τυριών. Αυτό συμβαίνει διότι οι ιδιότητες του ελαίου του λεμονιού δεν επιτρέπουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών και κυρίως των εντεροβακτηρίων. Όπως προαναφέρθηκε το εκχύλισμα λεμονιού βρίσκει εφαρμογές και στην βιομηχανία καλλυντικών. Τα προϊόντα που παρασκευάζονται με την προσθήκη λεμονιού μπορούν να αντιμετωπίσουν την γήρανση, την ακμή καθώς και την τριχόπτωση. Έτσι υπάρχει μεγάλη ποικιλία προϊόντων με προσθήκη εκχυλίσματος λεμονιού. Λόγω της περιεκτικότητας σε βιταμίνη C το λεμόνι συντελεί στην παραγωγή συγκεκριμένων δερμοκαλλυντικών που διατηρούν το δέρμα σε καλή κατάσταση και παράγουν κολλαγόνο καθώς και ενισχύουν αρωματικά το προϊόν. Εν κατακλείδι, το λεμόνι αποτελεί σημαντική πρώτη ύλη που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ποικιλοτρόπως και σε όλες τις μορφές του δίνοντας ευεργετικά αποτελέσματα [67–70].



Εικόνα 4. Απεικόνιση λεμονιού

1.7.5. Μέντα

Η μέντα, επιστημονικά γνωστή ως *Mentha*, ανήκει στην οικογένεια των *Lamiaceae* και είναι ένα φυτό με πλούσιο ιστορικό χρήσης στη διατροφή, τη φαρμακευτική και την αιθέρια έλαιο. Ενδημική στη Μεσογειακή περιοχή, η μέντα παρουσιάζει ποικιλία ειδών, συμπεριλαμβανομένης της *M. spicata*, *M. piperita* και *M. arvensis*. Οι φύλλα της μέντας περιέχουν ποικιλία βιολογικών ενώσεων με ευεργετικές ιδιότητες. Σημαντική είναι η περιεκτικότητά τους σε μενθόλη, η οποία χαρίζει τη δροσιά και την ευωδία που την καθιστούν δημοφιλή ως φαρμακευτικό φυτό και συστατικό σε καλλυντικά και γαστρονομικά προϊόντα. Επίσης, περιέχουν φλαβονοειδή και πολυφαινόλες, που έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες και προάγουν τη γενική υγεία. Η χρήση της μέντας στη διατροφή είναι πολυμορφική. Τα φύλλα της μπορούν να χρησιμοποιηθούν φρέσκα ή ξηρά ως αρωματικό σε σαλάτες, γαρνιτούρες και αρτοσκευάσματα. Επιπλέον, το αιθέριο έλαιο της μέντας είναι κοινό συστατικό σε ποικίλα γλυκά και αναψυκτικά. Ως φαρμακευτικό φυτό, η μέντα έχει ευρεία εφαρμογή στην παραδοσιακή ιατρική. Το αιθέριο έλαιο της χρησιμοποιείται για την ανακούφιση από

προβλήματα πέψης, ναυτίας και κεφαλαλγίας. Επιπλέον, η μέντα έχει επίσης αντιμικροβιακές ιδιότητες και μπορεί να βοηθήσει στην ανακούφιση από αναπνευστικά προβλήματα. Τέλος, η μέντα είναι επίσης δημοφιλής στην καλλυντική βιομηχανία. Το αιθέριο έλαιο της μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε προϊόντα περιποίησης του δέρματος και των μαλλιών λόγω των αντιβακτηριδιακών του ιδιοτήτων και του ευχάριστου άρωμάτος του. Συνολικά, η μέντα αποτελεί ένα πολύπλευρο φυτό με ευρεία εφαρμογή στη διατροφή, τη φαρμακευτική και την καλλυντική βιομηχανία, χαρίζοντας ευεργετικά αποτελέσματα στην υγεία και την ευεξία [61,63,71–73].



Εικόνα 5. Απεικόνιση φύλλων μέντας

1.7.6. Λάβδανο

Το λάβδανο, επιστημονικά γνωστός ως *Cistus* spp., ανήκει στην οικογένεια των Cistaceae και είναι ένα δημοφιλές φυτό στις Μεσογειακές περιοχές και άλλες περιοχές με θερμό κλίμα. Το λάβδανο χρησιμοποιείται ευρέως στην παραδοσιακή ιατρική για τις αντιφλεγμονώδεις, αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές του ιδιότητες. Το φυτό αυτό είναι γνωστό για την αντιμετώπιση αναπνευστικών προβλημάτων και την ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος. Επιπλέον, το λάβδανο έχει ευρεία εφαρμογή στη φαρμακευτική βιομηχανία, όπου χρησιμοποιείται σε παρασκευάσματα για την αντιμετώπιση δερματικών προβλημάτων όπως ακμή, έκζεμα και ερεθισμούς. Το αιθέριο έλαιο του λαβδάνου χρησιμοποιείται επίσης σε

αρωματοθεραπεία για την ανακούφιση από το άγχος και την καταπράυνση του νευρικού συστήματος. Επιπλέον, το λάβδανο έχει παρατηρηθεί ότι προσφέρει ευεργετικές ιδιότητες για το δέρμα, καθώς προστατεύει από την ελεύθερη ριζοειδή δράση και συμβάλλει στη διατήρηση της υγείας του. Συνολικά, το λάβδανο αποτελεί ένα φυτό με πολλαπλές εφαρμογές στη διατροφή, τη φαρμακευτική και την καλλυντική βιομηχανία, προσφέροντας ευεργετικές ιδιότητες για την υγεία και την ευεξία [74,75].



Εικόνα 6. Απεικόνιση λάβδανου

1.8 Σκοπός

Η παρούσα έρευνα έχει ως κύριο στόχο τον εμπλουτισμό φυσικών μεταλλικών νερών με φυτικά εκχυλίσματα υποπροϊόντων βιομηχανίας τροφίμων, με έμφαση στη χρήση φλούδας λεμονιού, πορτοκαλιού και άλλων φαρμακευτικών/αρωματικών φυτών, όπως η κάνναβη, ο δυόσμος, η μέντα και το λάβδανο. Ο εμπλουτισμός αυτός σκοπεύει να βελτιώσει τα χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των νερών. Παράλληλα, στοχεύει στην ανάδειξη των βιολειτουργικών ιδιοτήτων τους, ιδίως στον τομέα της αντιοξειδωτικής δράσης. Η αντιοξειδωτική δράση θα πηγάζει από τις πολυφαινόλες που περιέχονται στα εκχυλίσματα, οι οποίες δραστηριοποιούνται ως φυσικοί αντιοξειδωτικοί παράγοντες. Ένας σημαντικός παράγοντας που πρέπει να ληφθεί υπόψη είναι η σταθερότητα των παρασκευασμένων εμπλουτισμένων νερών. Η παρουσία φυτικών εκχυλισμάτων μπορεί να επηρεάσει τη συντηρησιμότητα τους, είτε θετικά είτε αρνητικά. Επομένως, απαιτείται περαιτέρω μελέτη για την αξιολόγηση της μακροπρόθεσμης σταθερότητας των εμπλουτισμένων προϊόντων και την ανάπτυξη κατάλληλων μεθόδων συντήρησης. Η μελέτη των παραπάνω αποτελεί επίσης σκοπό της παρούσας μελέτης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Εξοπλισμός και χημικά αντιδραστήρια

Σκεύη

- Duran των 250ml
- Falcon tubes 15 και 50 mL
- Ογκομετρικές φιάλες
- Ελαιόλουτρα
- Υδατόλουτρα
- Ουροσυλλέκτες
- Eppendorf 1,5 mL

Όργανα

- Αναλυτικός ζυγός με ακρίβεια τέταρτου δεκαδικού ψηφίου (KERN ABS, d=0,1mg, Max 220gr)
- Πιπέτες των 20μL, 100μL και 1000μL
- Μηχάνημα vortex (VELP SCIENTIFICA, 0-40Hertz)
- Φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού (SHIMADZU, UV-1700 PharmaSpec)
- Μηχάνημα κοσκινίσματος (FRITSCH, analyssete 3)
- Φυγόκεντρος (NEYA XS)
- Θερμαντική πλάκα (Heidolph, MR Hei-Standard)
- Λουτρό υπερήχων Elmasonic P machine (Elma Schmidbauer GmbH)
- Πεχάμετρο (BENCH METER PC 60 Violab x5)
- HPLC ή Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (SHIMADZU, UFLC)

Η ανάλυση διεξάχθηκε, χρησιμοποιώντας έναν Shimadzu CBM-20A υγρό χρωματογράφο και έναν ανιχνευτή συστοιχίας διόδων Shimadzu SPD-M20A (και τα δύο παρέχονται από Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany). Οι ενώσεις διαχωρίστηκαν χρησιμοποιώντας ένα Phenomenex Luna C18 στήλη από Phenomenex Inc. στο Torrance, Καλιφόρνια το οποίο διατηρήθηκε στους 40 °C (100 Å, 5 μm, 4,6 × 250 mm). Η κινητή φάση αποτελούνταν από 0,5% υδατικό μυρμηκικό οξύ (A) και ένα μίγμα 0,5% μυρμηκικού οξέος σε αιθανοτρίλιο/νερό (6:4) (B). Το πρόγραμμα διαβάθμισης που χρησιμοποιήθηκε ήταν ως εξής: 0% B έως 40% B, μετά σε 50% B σε 10 λεπτά, σε 70% B σε άλλα 10 λεπτά και στη συνέχεια

διατηρήθηκε σταθερό για 10 λεπτά. Ο ρυθμός ροής της κινητής φάσης ήταν 1 mL/min. Ο χρόνος κατακράτησης και το φάσμα απορρόφησης συγκρίθηκαν με εκείνα των καθαρών χημικών προτύπων για τον εντοπισμό των ενώσεων και στη συνέχεια ποσοτικοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας καμπύλες βαθμονόμησης (0–50 µg/mL).

Αντιδραστήρια

- β-κυκλοδεξτρίνη (PANREAC)
- Folin-Ciocalteu (Penta)
- DPPH (SIGMA)
- Μεθανόλη (PANREAC)
- Ανθρακικό νάτριο (PENTA)

Για τα δείγματα κάνναβης, μέντας, δυόσμου και λάβданου, πριν την εκχύλιση ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία. Αρχικά, τα δείγματα αλέσθηκαν και στην συνέχεια κοσκινίστηκαν ώστε να πάρουν την μορφή σκόνης. Έπειτα, ζυγίστηκε η κατάλληλη ποσότητα και προστέθηκε στο Duran με το διάλυμα κυκλοδεξτρίνης και στην συνέχεια εκχυλίστηκε. Για τα δείγματα λεμόνι και πορτοκάλι, πάρθηκε μέρος της φλούδας η οποία αποξηράθηκε και στην συνέχεια ακολουθήθηκε η ίδια ακριβώς διαδικασία με τα προηγούμενα δείγματα έως την εκχύλιση τους.

2.2. Πειραματική πορεία

2.2.1. Δημιουργία διαλύματος β-κυκλοδεξτρίνης.

Αναλυτικότερα δημιουργήθηκε ένα διάλυμα Β-κυκλοδεξτρίνης το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την δημιουργία δειγμάτων προς εκχύλιση λόγω των ιδιοτήτων της. Σε αναλυτικό ζυγό μετρήθηκε 0,29252g Β-κυκλοδεξτρίνης με 97% καθαρότητα και τοποθετήθηκε σε Duran με προσθήκη 250 mL απιονισμένου νερού. Έπειτα ακολουθήσε ανάδευση για 5-10 λεπτά.

2.2.2. Εκχύλιση δειγμάτων

Στην συνέχεια σε ένα Duran τοποθετήθηκαν 5g δείγματος και 50ml διαλύματος Β-κυκλοδεξτρίνης. Το Duran τοποθετήθηκε σε ελαιόλουτρο στους 80°C πάνω σε θερμαντικές πλάκες με 500rpm ανάδευση και έγινε εκχύλιση 2 ωρών. Το εκχύλισμα διηθήθηκε και φυγοκεντρήθηκε 2 φορές στις 10.000rpm για 10 λεπτά. Κρατήθηκε μία ποσότητα σε erpedorf και το υπόλοιπο δείγμα καταψύχθηκε με σκοπό την αποξήρανση του κάθε δείγματος.

2.2.3. Μέτρηση ολικών πολυφαινολών

Για την μέτρηση ολικών πολυφαινολών στα Folin- Ciocalteu, αφού τα *erpedorf* ήρθαν σε θερμοκρασία δωματίου φυγοκεντρήθηκαν για 10 λεπτά στις 10.000 rpm. Για την δημιουργία του τυφλού δείγματος χρησιμοποιήθηκαν: 100μL απιονισμένο νερό, 100μL Folin, 100μL ανθρακικό νάτριο. Στο κάθε δείγμα έγινε διαφορετική αραίωση ωστόσο όλα τα δείγματα προς εξέταση είχαν την ίδια σύσταση: 100μL αραιωμένο δείγμα, 100μL Folin, 800μL ανθρακικό νάτριο. Τα *erpedorf* που δημιουργήθηκαν τοποθετήθηκαν στο υδατόλουτρο στους 40°C για 20 λεπτά και στην συνέχεια μετρήθηκαν στο φασματοφωτόμετρο στα 740nm όπου μετρήθηκαν 3 απορροφήσεις για κάθε δείγμα.

2.2.4. Μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας (μέσω δέσμευσης ρίζας DPPH)

Για την μέτρηση DPPH δημιουργήθηκε ένα αραιό διάλυμα DPPH όπου μετρήθηκε η απορρόφηση του στα 515nm. Από την μέτρηση προέκυψαν οι 3 αρχικές απορροφήσεις της DPPH. Στην πορεία μέσα σε *erpedorf* τοποθετήθηκαν 25 μL δείγμα το οποίο είχε αραιωθεί και 975 μL DPPH. Αφού δημιουργήθηκαν τριπλέτες για κάθε δείγμα αφέθηκαν σε σκιερό μέρος για μισή ώρα. Στην συνέχεια μετρήθηκαν οι τιμές της DPPH στο φασματοφωτόμετρο.

2.2.5. Μέτρηση απόδοσης

Μετά την εκχύλιση ένα μέρος του εκχυλίσματος τοποθετήθηκε σε κεσεδάκι και καταψύχθηκε. Μετά την απόψυξη του ζυγίστηκε η μάζα του. Με βάση την αρχική μάζα που προστέθηκε στην εκχύλιση και με την μέθοδο των τριών υπολογίστηκε η απόδοση στα 100g δείγματος.

2.2.6. Εμπλουτισμός του νερού με τα εκχυλίσματα

Για την δημιουργία εμπλουτισμένου νερού ζυγίστηκε η ποσότητα του φυτικού εκχυλίσματος σε ογκομετρική φιάλη 500ml. Στην συνέχεια έως την χαραγή προστέθηκε το μεταλλικό νερό. Η ογκομετρική τοποθετήθηκε για υπερήχους για 10 λεπτά σε χαμηλή θερμοκρασία. Η ποσότητα της ογκομετρικής προστέθηκε στο πλαστικό μπουκάλι και μετά ξανατοποθετείτε για υπερήχους για αποφυγή διαρροής.

2.2.7. Μέτρηση pH στο εμπλουτισμένο νερό

Για την μέτρηση pH χρησιμοποιήθηκε το πεχάμετρο. Αφού το έγινε καλιμπράρισμα με ρυθμιστικά διαλύματα με pH 7 και pH 4.

2.2.8. Μέτρηση ολικών πολυφαινολών και DPPH στο εμπλουτισμένο νερό

Πριν τον εμπλουτισμό, έγινε οργανοληπτικός έλεγχος για τον υπολογισμό της ποσότητας του κάθε εκχυλίσματος που θα εμπλουτιστεί στα νερά. Το χρώμα, η οσμή και η γεύση αποτέλεσαν κριτήριο επιλογή της ποσότητας. Η δοκιμή έγινε σε 50 ml νερό όπου

προστέθηκαν 0,05 gr δείγματος, δηλαδή 0,1% w/w. Στην συγκεκριμένη ποσότητα η μυρωδιά, η γεύση και το χρώμα ήταν πολύ έντονα, δημιουργώντας μια δυσάρεστη γεύση και μη ελκυστική εμφάνιση. Στην συνέχεια, προστέθηκε σε 50ml νερό 0,005 gr δείγματος, δηλαδή 0,01% w/w. Η οσμή, η γεύση και το χρώμα για τα δείγματα πορτοκάλι, λεμόνι, λάβδανο και κάνναβη ήταν ευχάριστη, σε αντίθεση με την μέντα και το δυόσμο των οποίων τα χαρακτηριστικά παρέμεναν πολύ έντονα ώστε να προοριστούν για κατανάλωση. Σε αυτά τα δείγματα χρησιμοποιήθηκε λιγότερη ποσότητα. Πιο συγκεκριμένα, στα 50 ml προστέθηκαν 0,0575 gr δείγματος και έτσι δημιουργήθηκαν τα κατάλληλα εμπλουτισμένα νερά, έχοντας επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Στο τελικό προϊόν, για τα δείγματα πορτοκάλι, λεμόνι, λάβδανο και κάνναβη, στα 500ml προστέθηκαν 0,05 gr εκχυλίσματος, ενώ στον δυόσμο και στην μέντα προστέθηκαν 0,025 gr εκχυλίσματος.

Στα εμπλουτισμένα νερά που δημιουργήθηκαν έγιναν οι μετρήσεις ολικών πολυφαινολών και DPPH με τον ίδιο τρόπο όπως προαναφέρθηκε έχοντας δείγμα το εμπλουτισμένο νερό. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για το μεταλλικό νερό. Οι μετρήσεις ολικών πολυφαινολών, DPPH, pH έγιναν στα εμπλουτισμένα νερά για κάθε 15 μέρες έως την 60^η ημέρα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Το πρώτο βήμα της μελέτης ήταν η παρασκευή βιολειτουργικών νερών τα οποία θα έχουν αρεστές οργανοληπτικές ιδιότητες για τους καταναλωτές. Συνεπώς, πραγματοποιήθηκε οργανοληπτική αξιολόγηση των αισθητηριακών χαρακτηριστικών των νερών που εμπλουτίστηκαν με τα διάφορα εκχυλίσματα. Τα υπό εξέταση εκχυλίσματα περιλάμβαναν λάβδανο, κάνναβη, λεμόνι, πορτοκάλι, μέντα και δυόσμο. Για τον εμπλουτισμό των νερών, προστέθηκαν 0,1 g εκχυλίσματος ανά 100 mL νερού για όλα τα υπό μελέτη εκχυλίσματα. Ωστόσο, τα αποτελέσματα που ελήφθησαν έδειξαν ότι η γεύση, το άρωμα και το χρώμα ήταν υπερβολικά έντονα, με αποτέλεσμα μια συνολικά μη αποδεκτή αίσθηση κατά την κατανάλωση των εμπλουτισμένων νερών. Ως αποτέλεσμα, έγιναν προσαρμογές στην χρησιμοποιούμενη συγκέντρωση προκειμένου να επιτευχθεί η βέλτιστη συγκέντρωση για κάθε εκχύλισμα. Για τη μέντα και το δυόσμο, μια χαμηλότερη συγκέντρωση 0,005 g ανά 100 mL νερού βρέθηκε να είναι πιο κατάλληλη, καθώς τα εμπλουτισμένα νερά είχαν μια ισορροπημένη και αναζωογονητική γεύση χωρίς να γίνεται υπερβολική και δυσάρεστη. Από την άλλη πλευρά, τα υπόλοιπα εκχυλίσματα (λάβδανο, κάνναβη, λεμόνι και πορτοκάλι) βρέθηκε ότι σε συγκέντρωση 0,01 g ανά 100 mL νερού, παρασκευαζόταν ένα εμπλουτισμένο νερό το οποίο εξασφάλιζε μια ολοκληρωμένη και απολαυστική γευστική εμπειρία διατηρώντας τα ξεχωριστά χαρακτηριστικά κάθε εκχυλίσματος. Η χρήση αυτών των συγκεντρώσεων παρείχε μια αρμονική ισορροπία γεύσεων, αρωμάτων και χρωμάτων, ενισχύοντας τις συνολικές οργανοληπτικές ιδιότητες των ενισχυμένων νερών. Παρόλα αυτά, στην περίπτωση του εκχυλίσματος λαβδάνου, έγινε μια επιπλέον παρατήρηση κατά την αξιολόγηση με το πέρασμα των ημερών. Μετά από 30 ημέρες, παρατηρήθηκε καθίζηση στο εμπλουτισμένο νερό, υποδεικνύοντας ότι η συγκέντρωση των 0,01 g ανά 100 mL είναι μεγάλη. Η εμφάνιση καθίζησης υποδηλώνει ότι θα μπορούσε να είχε χρησιμοποιηθεί χαμηλότερη συγκέντρωση για την αποτροπή αυτού του προβλήματος και την διατήρηση μιας πιο ελκυστικής οπτικά εμφάνισης καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του ενισχυμένου νερού. Μελλοντικά πειράματα ή σκευάσματα με εκχύλισμα λαβδάνου μπορούν να εστιάσουν στη διερεύνηση ακόμη χαμηλότερων συγκεντρώσεων για την επίτευξη καλύτερης ισορροπίας μεταξύ της έντασης της γεύσης και την αποφυγή καθίζησης.

Η οργανοληπτική αξιολόγηση αποκάλυψε διακριτά και ποικίλα αποτελέσματα με βάση το εκχύλισμα που χρησιμοποιήθηκε. Το νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα λαβδάνου παρουσίαζε ένα λεπτό λουλουδένιο άρωμα με ελαφρώς γήινο τόνο, προσφέροντας μια

μοναδική και ευχάριστη εμπειρία κατανάλωσης. Το νερό που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα κάνναβης, από την άλλη πλευρά, παρουσίαζε ένα συναρπαστικό άρωμα βοτάνων, δημιουργώντας ένα χαρακτηριστικό προφίλ γεύσης που μπορεί να αρέσει σε όσους αναζητούν μια πιο αντισυμβατική γεύση. Το εκχύλισμα λεμονιού προσέδωσε ένα αναζωογονητικό και ζωντανό άρωμα, και την ευχάριστη γεύση του εσπεριδοειδούς, ενώ το εκχύλισμα πορτοκαλιού προσέδωσε μια πιο γλυκιά και έντονη γεύση πορτοκαλιού, που θυμίζει φρεσκοστυμμένο χυμό. Το εκχύλισμα μέντας έδωσε μια δροσερή και αναζωογονητική αίσθηση με το χαρακτηριστικό άρωμα μέντας, παρέχοντας μια αναζωογονητική και τονωτική γεύση στο νερό. Τέλος, το εκχύλισμα δυόσμου πρόσφερε ένα δυνατό άρωμα, ελαφρώς πιο έντονο από την κανονική μέντα, που επιτύχανε μια αναζωογονητική και δροσιστική γεύση στον ουρανίσκο. Συμπερασματικά, η οργανοληπτική αξιολόγηση ανέδειξε τις ποικίλες αισθητηριακές ιδιότητες των νερών που είναι ενισχυμένα με διαφορετικά εκχυλίσματα, παρέχοντας μια σειρά από γεύσεις που ταιριάζουν σε διάφορες προτιμήσεις και προσφέροντας μια απολαυστική και αναζωογονητική εμπειρία κατανάλωσης.

3.7 Νερό Σέλι

Το νερό που χρησιμοποιήθηκε για την δημιουργία εμπλουτισμένων νερών μελετήθηκε και αυτό ως προς τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά και τις βιολογικές του ιδιότητες. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του νερού με βάση την ετικέτα του ήταν pH 7,20, αγωγιμότητα 168 $\mu\text{S}/\text{cm}$, και σκληρότητα 104 $\text{mg CaCO}_3/\text{L}$. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων που διενεργήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Τιμές pH, περιεκτικότητα σε ολικά πολυφαινολικά συστατικά (TPC) και ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών DPPH του νερού που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή ενισχυμένων νερών.

		Ημέρα				
	Εκχύλισμα	0	15	30	45	60
pH	-	7,20	7,27	7,60	7,83	7,61
TPC (mg/L)	-	0,73±	1,07±	0,32±	0,32±	0,32±
		0,15	1,02	0,02	0,03	0,01
DPPH (μmol	-	0,27±	0,82±	0,04±	5,26±	0,036±
DPPH/g dw)		0,04	0,24	0,01	0,59	0,01

Το νερό Σέλι έχει ενδεικτική τιμή pH ίσο με 7,7 στην αναγραφή του προϊόντος. Ωστόσο όπως παρατηρείται από τον παραπάνω πίνακα κατά την αποθήκευση του παρατηρήθηκαν

μεταβολές στην τιμή του pH. Αυτό πιθανών οφείλεται σε εξωτερικούς παράγοντες όπως το φως, η θερμοκρασία και το οξυγόνο.

3.1 Νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα πορτοκαλιού

Το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα πορτοκαλιού μελετήθηκε ως προς τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά και τις βιολογικές του ιδιότητες προκειμένου να διερευνηθεί η συντηρησιμότητά τους. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη μικροοργανισμών ή η ύπαρξη οσμής που να οφείλεται σε μικροβιακή αλλοίωση κατά την συντήρηση του εμπλουτισμένου νερού, γεγονός που μπορεί να οφείλεται, ως ένα βαθμό και στις εγγενείς αντιμικροβιακές ιδιότητες του πορτοκαλιού. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων που διενεργήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Τιμές pH, περιεκτικότητα σε ολικά πολυφαινολικά συστατικά (TPC) και ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών DPPH των παρασκευασμένων εμπλουτισμένων νερών με εκχύλισμα πορτοκαλιού.

	Εκχύλισμα	Ημέρα				
		0	15	30	45	60
pH	-	7,41	6,71	6,81	6,71	6,51
TPC (mg/L)	14,25 ±	0,05 ±	0,04 ±	1,05 ±	1,38 ±	0,16 ±
	0,55	0,02	0,02	0,07	0,25	0,01
DPPH (μmol DPPH/g dw)	1663 ± 176	0,11 ±	0,16 ±	0,18 ±	0,05 ±	0,01 ±
		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

Η αλλαγή του pH στο νερό που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα πορτοκαλιού παρακολουθήθηκε σε μια περίοδο 60 ημερών και ελήφθησαν τα ακόλουθα αποτελέσματα. Την πρώτη ημέρα, το pH του ενισχυμένου νερού μετρήθηκε στο 7,41, υποδεικνύοντας μια ελαφρώς αλκαλική τιμή. Καθώς προχωρούσαν οι μέρες, παρατηρήθηκε σταδιακή μείωση του pH. Την 15η ημέρα, το pH έπεσε στο 6,71, υποδηλώνοντας μια ελαφρά μετατόπιση προς ένα πιο ουδέτερο pH. Ωστόσο, μέχρι την 30ή ημέρα, παρατηρήθηκε μια ελαφρά αύξηση, με το pH να μετράτε στο 6,81. Αυτή η διακύμανση έδειξε μια πιθανή σταθεροποίηση ή ρυθμιστικό αποτέλεσμα εντός του ενισχυμένου νερού. Την 45η ημέρα, το pH επέστρεψε στο 6,71, υποδηλώνοντας ότι η αρχική πτώση του pH δεν ήταν μια προσωρινή διακύμανση αλλά μάλλον ένα σταθερό χαρακτηριστικό του ενισχυμένου νερού. Τέλος, την 60η ημέρα, το pH μειώθηκε περαιτέρω στο 6,51, υποδεικνύοντας μια συνεχιζόμενη ήπια οξύτητα. Συνολικά, οι αλλαγές του pH που παρατηρήθηκαν στο νερό ενισχυμένο με εκχύλισμα πορτοκαλιού έδειξαν μια

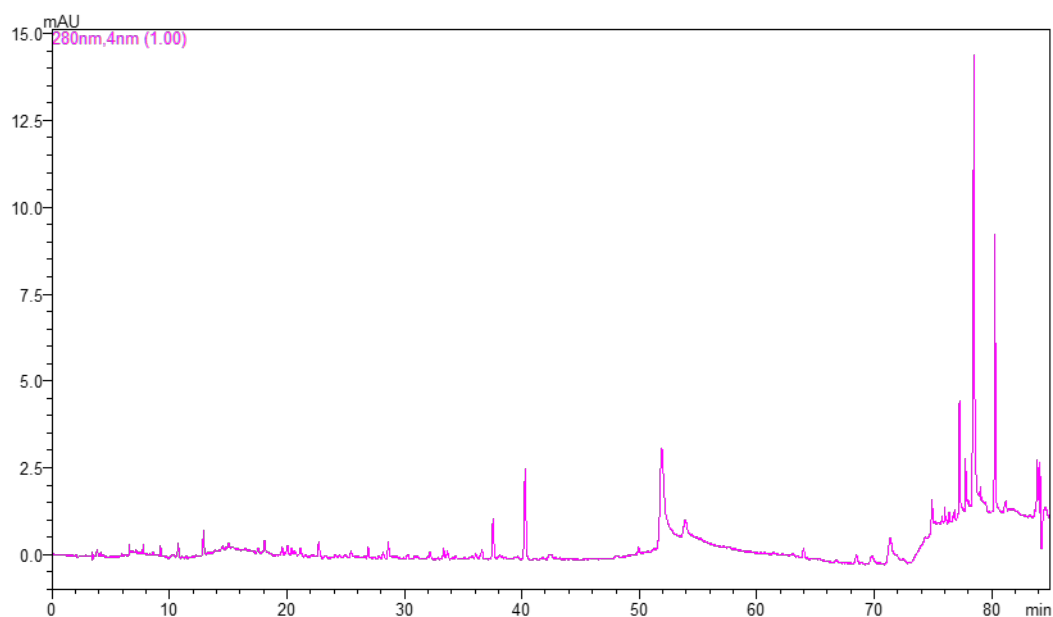
σχετικά σταθερή και ελαφρώς όξινη φύση κατά τη διάρκεια της περιόδου αξιολόγησης των 60 ημερών.

Η συνολική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες (TPC) στο νερό που είναι ενισχυμένο με εκχύλισμα πορτοκαλιού αναλύθηκε σε περίοδο 60 ημερών και ελήφθησαν τα ακόλουθα αποτελέσματα. Την πρώτη ημέρα, η TPC βρέθηκε ίση με 0,049 mg/L, υποδεικνύοντας ένα χαμηλό επίπεδο πολυφαινολών στο ενισχυμένο νερό. Μετά από 15 ημέρες, παρατηρήθηκε ελαφρά μείωση της TPC, με τη μέτρηση να φτάνει στο 0,043 mg/L. Αυτή η μείωση θα μπορούσε να αποδοθεί σε διάφορους παράγοντες, όπως η αποδόμηση ή η αλληλεπίδραση των πολυφαινολών με άλλα συστατικά του νερού. Ωστόσο, την 30ή ημέρα καταγράφηκε σημαντική αύξηση της TPC, με την συγκέντρωση να ανέρχεται στο 1,055 mg/L. Αυτή η αξιοσημείωτη αύξηση θα μπορούσε να είναι ενδεικτική της απελευθέρωσης πολυφαινολών από το εκχύλισμα πορτοκαλιού, με αποτέλεσμα υψηλότερη συγκέντρωση στο εμπλουτισμένο νερό. Κατά τη 45η ημέρα παρατηρήθηκε περαιτέρω αύξηση στη TPC, με τη συγκέντρωση να φτάνει στο 1,38 mg/L. Αυτή η αύξηση της περιεκτικότητας σε πολυφαινόλες μπορεί να υποδηλώνει συνεχή εκχύλιση ή απελευθέρωση πολυφαινολών από το εκχύλισμα πορτοκαλιού κατά τη διαδικασία αποθήκευσης. Ωστόσο, την 60ή ημέρα, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση, με το TPC να πέφτει στο 0,16 mg/L. Αυτή η μείωση θα μπορούσε να αποδοθεί σε υποβάθμιση ή άλλους παράγοντες που επηρέασαν τη σταθερότητα ή τη διατήρηση των πολυφαινολών στο εμπλουτισμένο νερό με την πάροδο του χρόνου. Συνολικά, τα αποτελέσματα έδειξαν ποικίλες αλλαγές στη TPC του νερού που είναι εμπλουτισμένο με εκχύλισμα πορτοκαλιού, τονίζοντας τις πολύπλοκες διακυμάνσεις στην περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες στο εμπλουτισμένο νερό.

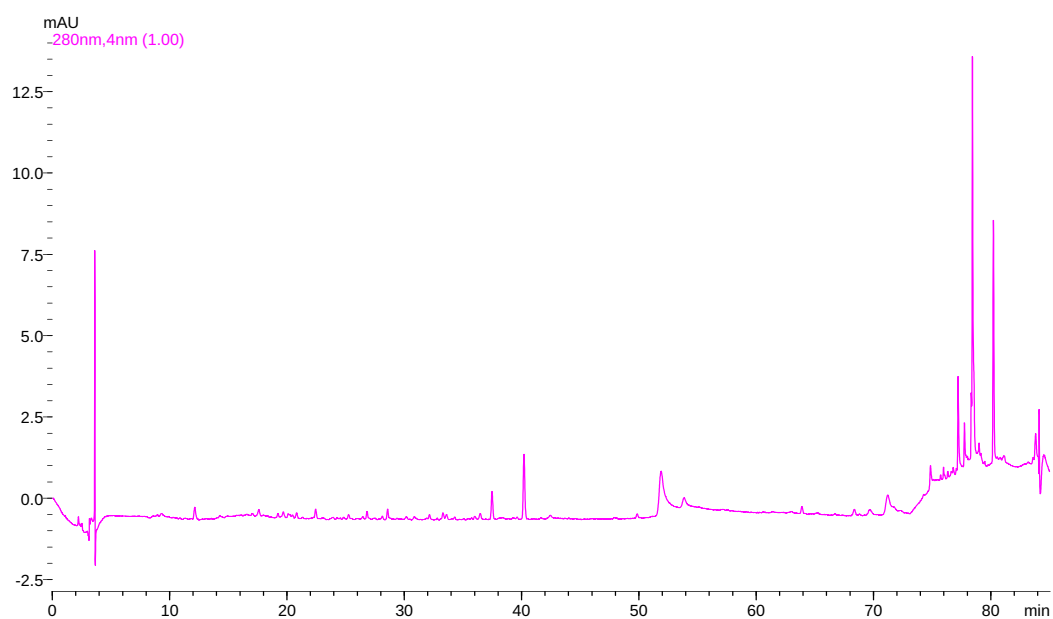
Η ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών DPPH, η οποία μετρά την αντιοξειδωτική ικανότητα του εμπλουτισμένου νερού με εκχύλισμα πορτοκαλιού, αξιολογήθηκε σε περίοδο 60 ημερών, δίνοντας τα ακόλουθα αποτελέσματα. Την πρώτη ημέρα, η ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών υπολογίστηκε και βρέθηκε ίση με 0,11 μmol DPPH/g dw, υποδεικνύοντας ένα μέτριο επίπεδο αντιοξειδωτικής δράσης. Μετά από 15 ημέρες, υπήρξε μια μικρή αύξηση (περίπου 6.6%) στην ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών. Αυτή η αύξηση οδηγεί σε καλύτερες αντιοξειδωτικές ιδιότητες του εμπλουτισμένου νερού, πιθανώς λόγω της απελευθέρωσης αντιοξειδωτικών ενώσεων από το εκχύλισμα πορτοκαλιού. Το γεγονός όμως ότι κατά την 15^η μέρα παρατηρήθηκε μείωση στη συνολική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες οδηγεί στο συμπέρασμα σε μια δυναμική ισορροπία στο εμπλουτισμένο νερό, όπου κατά την αποθήκευση του, οι πολυφαινόλες διασπώνται, οδηγώντας σε μείωση της συγκέντρωσής τους, ενώ ταυτόχρονα απελευθερώνονται συνεχώς και άλλες από

το εκχύλισμα (όπως φάνηκε και στην ημέρα 30 και 45 κατά τη μέτρηση της συνολικής περιεκτικότητας σε πολυφαινόλες). Ωστόσο, οι πολυφαινόλες που απελευθερώνονται εμφανίζουν διαφορετική αντιοξειδωτική ικανότητα, με αποτέλεσμα να υπάρχει μια δυναμική ισορροπία στο δείγμα, όπου συνεχώς αποδομούνται και απελευθερώνονται πολυφαινόλες, μεταβάλλοντας την αντιοξειδωτική ικανότητα του νερού. Κατά την ημέρα 30, η ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών αυξήθηκε περαιτέρω στο 0,18 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$, υποδηλώνοντας συνεχή ενίσχυση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του νερού. Ωστόσο, την 45η ημέρα, παρατηρήθηκε σημαντική πτώση, με την ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών να πέφτει στο 0,05 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Αυτή η μείωση μπορεί να αποδοθεί σε διάφορους παράγοντες, όπως η αποδόμηση ή η αλληλεπίδραση των αντιοξειδωτικών με άλλα συστατικά στο εμπλουτισμένο νερό. Επιπλέον, την 60η ημέρα, σημειώθηκε ακόμη πιο σημαντική μείωση, με την ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών να είναι μόλις 0,01 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Αυτή η ελάχιστη ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών έδειξε σημαντική μείωση των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του εμπλουτισμένου νερού. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι το ίδιο το εκχύλισμα πορτοκαλιού εμφάνισε σχετικά υψηλή τιμή 1663 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$, υποδεικνύοντας την ισχυρή αντιοξειδωτική του ικανότητα. Οι παρατηρούμενες αλλαγές στην ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών DPPH του εμπλουτισμένου νερού υποδηλώνουν ότι η σταθερότητα και η διατήρηση των αντιοξειδωτικών ενώσεων μπορεί να έχουν επηρεαστεί κατά τη διάρκεια της περιόδου αξιολόγησης των 60 ημερών, με αποτέλεσμα τη μείωση της συνολικής αντιοξειδωτικής δραστηριότητας.

Επιπροσθέτως, το εμπλουτισμένο νερό που παρασκευάστηκε μελετήθηκε με την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας συζευγμένης με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων, κατά την ημέρα παρασκευής τους και μετά από 45 ημέρες αποθήκευσης. Ενδεικτικά χρωματογραφήματα παρουσιάζονται στις Εικόνες 7 και 8, ενώ τα αποτελέσματα από τις ταυτοποιημένες πολυφαινολικές ενώσεις και οι συγκεντρώσεις τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.



Εικόνα 7. Ενδεικτικό χρωματογράφημα στα 280 nm από το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα πορτοκαλιού την ημέρα παρασκευής τους (ημέρα 0)



Εικόνα 8. Ενδεικτικό χρωματογράφημα στα 280 nm από το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα πορτοκαλιού μετά από 45 ημέρες αποθήκευσης.

Πίνακας 4. Πολυφαινολικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στο νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα πορτοκαλιού και οι συγκεντρώσεις τους την ημέρα 1 και 45.

Πολυφαινολικές ενώσεις	Ημέρα 0 (mg/L)	Ημέρα 45 (mg/L)
------------------------	----------------	-----------------

Καφεϊκό οξύ	0,92	0,90
Φερουλικό οξύ	0,88	0,87
Ναριουτίνη	0,01	0,01
Εσπεριδίνη	0,63	0,45
Νεοχλωρογενικό οξύ	0,01	0,01
Χλωρογενικό οξύ	0,46	0,41
Κορυφή 1 ως γλυκοζίτης της 7-λουτεολίνης	1,19	1,16
Κορυφή 2 ως γλυκοζίτης της 7-λουτεολίνης	1,10	1,10
Κορυφή 3 ως γλυκοζίτης της 7-λουτεολίνης	1,19	1,16
Κορυφή 4 ως γλυκοζίτης της 7-λουτεολίνης	1,13	1,10

Τα επίπεδα συγκέντρωσης του καφεϊκού οξέος και του φερουλικού οξέος παρέμειναν σχετικά σταθερά μεταξύ της ημέρας 1 και της ημέρας 45, με μικρές μόνο διακυμάνσεις υποδεικνύοντας τη σχετική σταθερότητά τους με την πάροδο του χρόνου. Αυτό υποδηλώνει ότι αυτές οι ενώσεις διατηρήθηκαν καλά στο εμπλουτισμένο νερό, διατηρώντας τις πιθανές βιοδραστικές τους ιδιότητες.

Η ναριουτίνη και το νεοχλωρογενικό οξύ παρουσίασαν σταθερές συγκεντρώσεις σε όλη την περίοδο αξιολόγησης. Αυτό υποδηλώνει ότι αυτές οι ενώσεις ήταν ανθεκτικές στην αποικοδόμηση ή σε άλλους παράγοντες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη σταθερότητά τους. Τα σταθερά τους επίπεδα συμβάλλουν περαιτέρω στο συνολικό βιοδραστικό προφίλ του εμπλουτισμένου νερού. Η εσπεριδίνη εμφάνισε μια αξιοσημείωτη μείωση στη συγκέντρωση από 0,63 mg/L την ημέρα 1 σε 0,45 mg/L την ημέρα 45. Αυτή η μείωση μπορεί να υποδεικνύει πιθανή αποικοδόμηση ή απώλεια της εσπεριδίνης κατά την περίοδο των 45 ημερών. Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να προσδιοριστεί η αιτία αυτής της πτώσης και να εκτιμηθεί η σταθερότητα της εσπεριδίνης στο ενισχυμένο νερό. Το χλωρογενικό οξύ παρουσίασε μια ελαφρά μείωση στη συγκέντρωση από 0,46 mg/L σε 0,41 mg/L. Αν και η αλλαγή ήταν σχετικά μικρή, υποδηλώνει ότι το χλωρογενικό οξύ μπορεί να έχει υποστεί κάποιο βαθμό αποικοδόμησης ή μετασχηματισμού με την πάροδο του χρόνου. Η κατανόηση των παραγόντων που επηρεάζουν τη σταθερότητα του χλωρογενικού οξέος μπορεί να προσφέρει πληροφορίες για τη βελτιστοποίηση της σύνθεσης και των συνθηκών αποθήκευσης του ενισχυμένου νερού. Οι κορυφές που προσδιορίστηκαν ως luteolin-7-glucoside (κορυφές 1, 2, 3 και 4) διατήρησαν σταθερά επίπεδα συγκέντρωσης καθ' όλη την περίοδο αξιολόγησης. Αυτό υποδηλώνει τη σταθερότητα και τη διατήρησή τους μέσα στο εμπλουτισμένο νερό, συμβάλλοντας στο συνολικό αντιοξειδωτικό και βιοδραστικό προφίλ του προϊόντος.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το νερό που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα πορτοκαλιού διατήρησε μια ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων. Ενώ ορισμένες ενώσεις παρέμειναν σταθερές ή παρουσίασαν ελάχιστες αλλαγές, όπως το καφεϊκό οξύ, το φερουλικό οξύ, η ναριουτίνη, το νεοχλωρογενικό οξύ και οι κορυφές λουτεολίνης-7-γλυκοσίδης, άλλες, όπως η εσπεριδίνη και το χλωρογενικό οξύ, παρουσίασαν ελαφρές μειώσεις στη συγκέντρωση. Αυτά τα ευρήματα παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με τη σταθερότητα και την πιθανή διάρκεια ζωής του ενισχυμένου νερού και μπορούν να οδηγήσουν σε περαιτέρω βελτιστοποίηση της σύνθεσης για τη διατήρηση των βιοδραστικών ενώσεων για εκτεταμένες περιόδους.

3.2 Νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα λεμονιού

Το νερό που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα λεμονιού μελετήθηκε ως προς τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά και τις βιολειτουργικές του ιδιότητες ώστε να μελετηθεί η συντηρησιμότητά τους. Ούτε στο λεμόνι δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη μικροοργανισμών ή ύπαρξη οσμής που να οφείλεται σε μικροβιακή αλλοίωση κατά την συντήρηση του. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων που διενεργήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5. Τιμές pH, περιεκτικότητα σε ολικά πολυφαινολικά συστατικά (TPC) και ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών DPPH των παρασκευασμένων εμπλουτισμένων νερών με εκχύλισμα λεμονιού.

		Ημέρα				
	Εκχύλισμα	0	15	30	45	60
pH	-	7,13	6,60	7,16	7,30	6,86
TPC (mg/L)	6,16±	0,01±	0,02±	0,74±	0,79±	0,16±
	0,0	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
DPPH (μmol DPPH/g dw)	65 ±	0,01±	0,04±	0,02±	0,02±	0,01±
	4	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01

Η αλλαγή του pH στο νερό που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα λεμονιού παρακολουθήθηκε σε μια περίοδο 60 ημερών και ελήφθησαν τα ακόλουθα αποτελέσματα. Την πρώτη μέρα το pH του ενισχυμένου νερού μετρήθηκε στο 7,13 υποδεικνύοντας μια αλκαλική τιμή. Μετά το πέρας των 15 ημερών το pH σημείωσε μείωση στο 6,60 υποδηλώνοντας έτσι μια μετατόπιση σε πιο ουδέτερο pH. Στην συνέχεια την μέρα 30 παρατηρήθηκε αύξηση pH με τιμή 7,16, η οποία συνεχίστηκε έως την μέρα 45 όπου το pH έφτασε την τιμή 7,30. Ωστόσο την μέρα 60 σημειώθηκε πτώση του pH στο 6,86 υποδεικνύοντας πως η αρχική πτώση του pH δεν ήταν

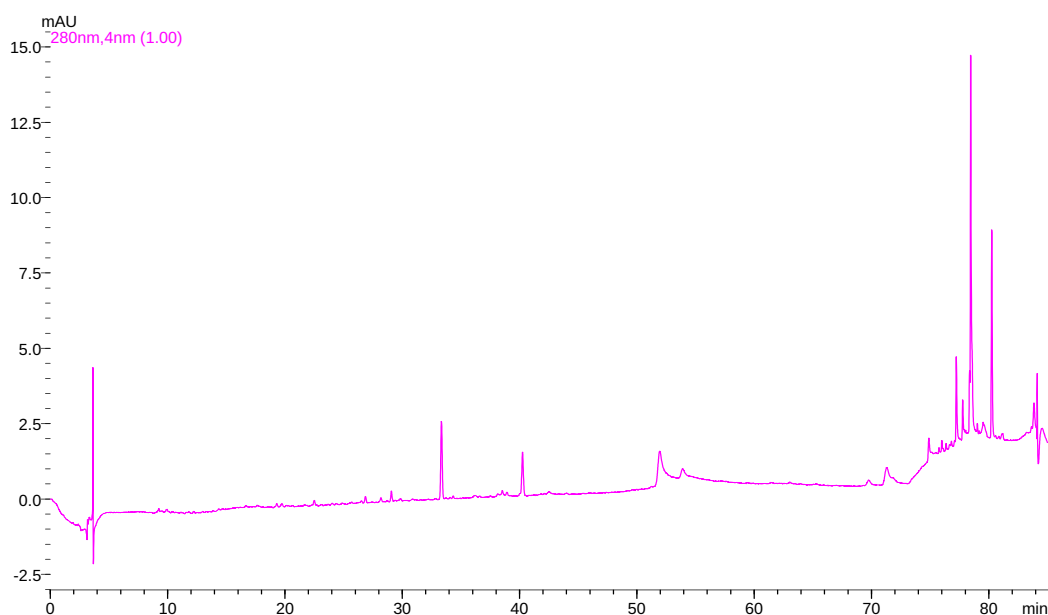
μια προσωρινή διακύμανση αλλά ένα σταθερό χαρακτηριστικό του νερού. Συνολικά, οι αλλαγές του pH που παρατηρήθηκαν στο νερό ενισχυμένο με εκχύλισμα λεμονιού έδειξαν μια ουδέτερη και ήπια όξινη φύση κατά την διάρκεια της περιόδου αξιολόγησης των 60 ημερών.

Η συνολική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες (TPC) στο νερό που είναι ενισχυμένο με λεμόνι αναλύθηκε σε περίοδο 60 ημερών και ελήφθησαν τα ακόλουθα αποτελέσματα. Την πρώτη μέρα, η TPC βρέθηκε ίση με 0,01mg/L υποδεικνύοντας ένα πολύ χαμηλό επίπεδο πολυφαινολών στο ενισχυμένο νερό. Μετά από 15 μέρες, παρατηρήθηκε ελαφρά αύξηση της TPC, με την μέτρηση της να φτάνει στο 0,023mg/L η αύξηση αυτή θα μπορούσε να ήταν ενδεικτική μιας αρχικής απελευθέρωσης πολυφαινολών. Στην μέρα 30 παρατηρείται αξιοσημείωτη αύξηση της TPC, με την συγκέντρωση της να φτάνει τα 0,74mg/L. Αυτή η αύξηση σε πολυφαινόλες μπορεί να υποδηλώνει συνεχή εκχύλιση ή απελευθέρωση πολυφαινολών από το εκχύλισμα λεμονιού κατά την διαδικασία αποθήκευσης. Η αύξηση αυτή συνεχίστηκε έως την μέρα 45 όπου η τιμή της TPC παρατηρήθηκε ελαφριά αύξηση, με την μέτρηση της συγκέντρωσης να είναι 0,79 mg/L. Ωστόσο, την μέρα 60 παρατηρείται σημαντική μείωση με το TPC να έχει τιμή 0,16 mg/L. Αυτή η μείωση θα μπορούσε να αποδοθεί σε υποβάθμιση ή άλλους παράγοντες που επηρέασαν τη σταθερότητα ή την διατήρηση των πολυφαινολών στο εμπλουτισμένο νερό με την πάροδο του χρόνου. Τελικά, τα αποτελέσματα έδειξαν ποικίλες αλλαγές στην TPC του νερού που είναι εμπλουτισμένο με εκχύλισμα λεμονιού.

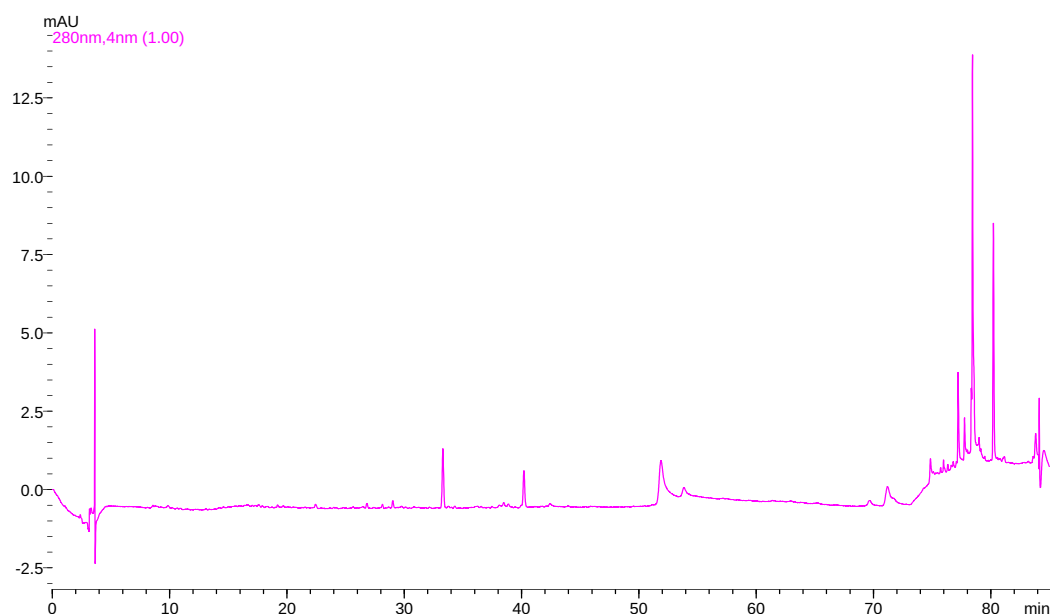
Η ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών (DPPH), η οποία μετρά την αντιοξειδωτική ικανότητα του εμπλουτισμένου νερού με εκχύλισμα λεμονιού, αξιολογήθηκε σε περίοδο 60 ημερών δίνοντας τα κάτωθι αποτελέσματα. Την πρώτη μέρα, η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών υπολογίστηκε και βρέθηκε ίση με 0,0054 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$, δείχνοντας έτσι ένα πολύ χαμηλό επίπεδο σε αντιοξειδωτική δράση. Μετά από 15 μέρες παρατηρήθηκε μια αύξηση με την τιμή της DPPH, να είναι 0,039 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Αυτή η αύξηση οδηγεί σε καλύτερες αντιοξειδωτικές ικανότητες του εμπλουτισμένου νερού, λόγω απελευθέρωσης αντιοξειδωτικών ενώσεων από το εκχύλισμα λεμονιού. Κατά την μέρα 30 παρατηρείται μείωση της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών με την τιμή να πέφτει 0,02 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Η μείωση συνεχίστηκε και την 45 και την 60 μέρα με την ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών να παίρνει τιμές 0,018 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$ και 0,00015 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$ αντίστοιχα. Αυτή η σημαντική μείωση μπορεί να αποδοθεί σε διάφορους παράγοντες όπως η αποδόμηση ή η αλληλεπίδραση των αντιοξειδωτικών με άλλα συστατικά στο εμπλουτισμένο νερό. Η ελάχιστη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών είχε ως

αποτέλεσμα την μείωση των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του εμπλουτισμένου νερού με λεμόνι. Ωστόσο κατά την εκκύλιση έγινε ήδη αντιληπτό ότι το λεμόνι δεν έχει υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα εφόσον είχε χαμηλή τιμή 65 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Οι παρατηρούμενες αλλαγές στην ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών υποδηλώνουν ότι η σταθερότητα και η διατήρηση των αντιοξειδωτικών ενώσεων μπορεί να έχουν επηρεαστεί κατά την διάρκεια της περιόδου αξιολόγησης των 60 ημερών, με αποτέλεσμα την μείωση της συνολικής αντιοξειδωτικής δραστηριότητας.

Το εμπλουτισμένο νερό που παρασκευάστηκε μελετήθηκε με την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας συζευγμένης με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων, κατά την ημέρα παρασκευής τους και μετά από 45 μέρες αποθήκευσης. Ενδεικτικά χρωματογραφήματα παρουσιάζονται στις εικόνες 9 και 10, ενώ τα αποτελέσματα από τις ταυτοποιημένες πολυφαινολικές ενώσεις και οι συγκεντρώσεις τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.



Εικόνα 9. Ενδεικτικό χρωματογράφημα στα 280 nm από το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα λεμονιού την ημέρα παρασκευής τους (ημέρα 0)



Εικόνα 10. Ενδεικτικό χρωματογράφημα στα 280 nm από το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα λεμονιού μετά από 45 μέρες αποθήκευσης

Πίνακας 6. Πολυφαινολικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στο εμπλουτισμένο νερό με εκχύλισμα λεμονιού και οι συγκεντρώσεις τους την ημέρα 1 και 45.

Πολυφαινολικές ενώσεις	Ημέρα 1 (mg/L)	Ημέρα 45 (mg/L)
Εριοικτρίνη	0,62	0,40
Εσπεριδίνη	0,27	0,19
Νεοχλωρογενικό οξύ	0,01	0,01
Χλωρογενικό οξύ	0,36	0,35
Γλυκοζίτης της 7-λουτεολίνης	1,10	1,09
Γλυκοζίτης της 3-καμπφερόλης	0,09	0,08
Ρουτινοσίδη της 3-καμπφερόλης	0,68	0,67

Τα επίπεδα συγκέντρωσης του εριοικτρίνης εμφάνισαν μεγάλη μείωση με την τιμή από 0,62mg/L την μέρα 1 σε 0,450mg/L την μέρα 45. Αυτή η μείωση μπορεί να αποδεικνύει κάποιο βαθμό αποικοδόμησης ή μετασχηματισμού κατά την πάροδο των 45 ημερών. Η εσπεριδίνη εμφάνισε και αυτή μια μείωση από 0,27mg/L την μέρα 1 σε 0,19mg/L την μέρα 45. Η πτώση αυτή μπορεί να οφείλετε σε αποικοδόμηση ή απώλεια της εσπεριδίνης. Ωστόσο ο προσδιορισμός της πτώσης της απαιτεί περαιτέρω έρευνα ώστε να εκτιμηθεί η σταθερότητα της εσπεριδίνης στο εμπλουτισμένο νερό. Το νεοχλωρογενικό οξύ είχε σταθερή συγκέντρωση

σε όλη την διάρκεια αξιολόγησης. Αυτό αποδεικνύει πως η ένωση αυτή ήταν ανθεκτική στην αποικοδόμηση ή σε άλλους παράγοντες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την σταθερότητα της. Το χλωρογενικό οξύ παρουσίασε μία πολύ ελάχιστη μείωση από 0,36mg/L την 1 μέρα σε 0,35mg/L την 45 μέρα, υποδηλώνει ότι το χλωρογενικό οξύ μπορεί να υποστεί κάποιο βαθμό αποικοδόμησης ή μετασχηματισμού με την πάροδο του χρόνου. Εν κατακλείδι, τα αποτελέσματα καθιστούν αντιληπτό ότι το νερό που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα λεμονιού διατήρησε μια ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων. Ορισμένες κορυφές όπως η λουτεονίνη-7-γλυκοσίδη, καεμπφερόλη-7-γλυκοσίδη και καεμπφερόλη-7-ρουτινοσίδη παρουσίασαν πολύ ελαφριές μειώσεις της τάξης 0,01. Αυτό υποδηλώνει ότι οι ενώσεις διατηρήθηκαν καλά διατηρώντας τις βιοδραστικές τους ιδιότητες καθώς παρέχουν και πληροφορίες για την διάρκεια ζωής του ενισχυμένου νερού και οδηγούν σε περαιτέρω βελτιστοποίηση της σύνθεσης για την διατήρηση των βιοδραστικών ενώσεων για μεγάλες περιόδους.

3.3 Νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα δυόσμου

Το νερό που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα δυόσμου μελετήθηκε ως προς τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά και τις βιολειτουργικές του ιδιότητες. Ούτε στο συγκεκριμένο εμπλουτισμένο νερό παρατηρήθηκε ανάπτυξη μικροοργανισμών ή ύπαρξη οσμής που να οφείλεται σε μικροβιακή αλλοίωση κατά την συντήρηση του. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων που έγιναν παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.

Πίνακας 7. Τιμές pH, περιεκτικότητα σε ολικά πολυφαινολικά συστατικά (TPC) και ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών DPPH των παρασκευασμένων εμπλουτισμένων νερών με εκχύλισμα δυόσμου.

	Εκχύλισμα	Ημέρα				
		0	15	30	45	60
pH	-	7,37	7	7,55	7,91	7,67
TPC (mg/L)	28,43±	0,07±	0,08±	0,52±	0,16±	0,16±
	1,69	0,01	0,02	0,07	0,01	0,01
DPPH (μmol	3.157±	0,27±	0,05±	0,01±	0,01±	0,01±
DPPH/g dw)	23	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

Η αλλαγή στο pH που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα δυόσμου παρακολουθήθηκε σε μια περίοδο 60 ημερών και ελήφθησαν τα ακόλουθα αποτελέσματα. Την πρώτη μέρα το pH του ενισχυμένου νερού μετρήθηκε 7,37 υποδεικνύοντας έτσι μια αλκαλική τιμή. Την 15^η μέρα το pH εμφάνισε μια μείωση με τιμή 7 υποδηλώνοντας μια πιο ουδέτερη φύση του ενισχυμένου

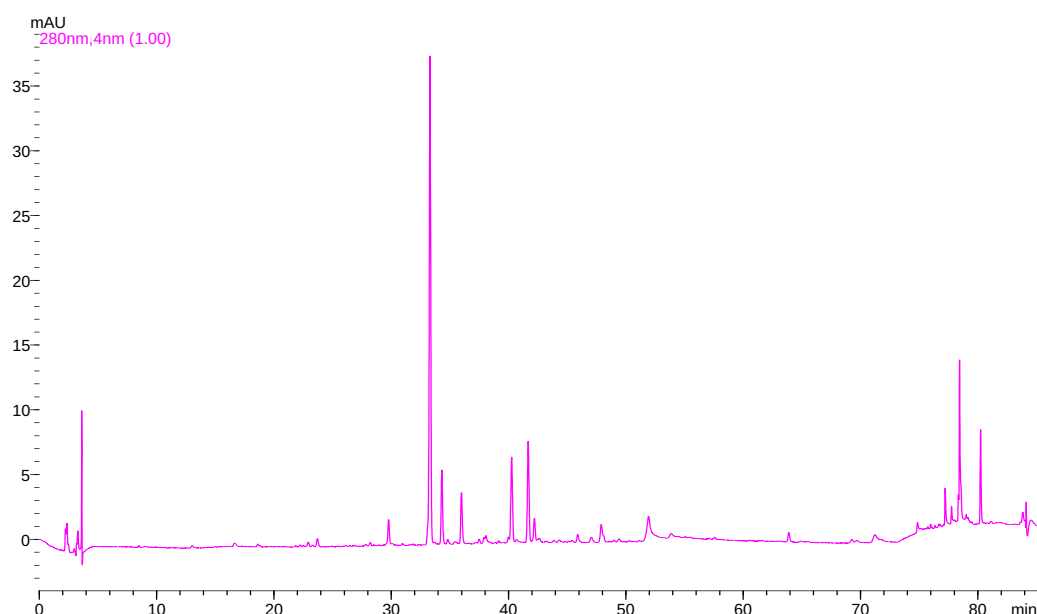
νερού. Ωστόσο την μέρα 30, το pH αυξήθηκε στο 7,55 δίνοντας μια πιο αλκαλική τιμή. Την μέρα 45 το pH αυξήθηκε και άλλο έχοντας τιμή 7,91 υποδηλώνοντας έτσι ότι η αύξηση του pH δεν ήταν μια προσωρινή διακύμανση, αλλά ένα σταθερό χαρακτηριστικό του ενισχυμένου νερού με δυόσμο. Τέλος, την μέρα 60 το pH μειώθηκε στο 7,67 διατηρώντας ωστόσο την αλκαλική φύση του εμπλουτισμένου νερού. Συνοπτικά, οι αλλαγές στο pH που παρατηρήθηκαν έδειξαν μια αλκαλική φύση κατά την αξιολόγηση των 60 ημερών.

Η συνολική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες (TPC) στο ενισχυμένο νερό με εκχύλισμα δυόσμου μετρήθηκε και αναλύθηκε σε μια περίοδο 60 ημερών δίνοντας τα ακόλουθα αποτελέσματα. Την πρώτη μέρα η TPC βρέθηκε ίση με 0,079mg/L υποδεικνύοντας έτσι ένα πολύ χαμηλό επίπεδο πολυφαινολών στο ενισχυμένο νερό. Την μέρα 15 παρατηρήθηκε μείωση της TPC, με την μέτρηση της να φτάνει στην τιμή 0,0079 mg/L. Αυτή η μείωση μπορεί να αποδοθεί στην αποδόμηση ή αλληλεπίδραση των πολυφαινολών με άλλα συστατικά του νερού. Ωστόσο, την μέρα 30 παρατηρείται αύξηση της TPC, έχοντας τιμή 0,521 mg/L. Αυτή η αύξηση θα μπορούσε να ήταν ενδεικτική της απελευθέρωσης πολυφαινολών από το εκχύλισμα δυόσμου, με αποτέλεσμα υψηλότερη συγκέντρωση στο εμπλουτισμένο νερό. Με την πάροδο των ημερών και την μέρα 45 παρατηρήθηκε περαιτέρω αύξηση στη TPC, με την συγκέντρωση να φτάνει 0,16mg/L. Η περαιτέρω αύξηση μπορεί να δηλώνει συνεχή εκχύλιση ή απελευθέρωση πολυφαινολών από το εκχύλισμα δυόσμου κατά την διάρκεια της αποθήκευσης. Ωστόσο, έως την μέρα 60 η τιμή της TPC διατηρήθηκε σταθερή χωρίς να εμφανίζει κάποια υποβάθμιση ή αποικοδόμηση των πολυφαινολών με την πάροδο του χρόνου. Συνολικά, τα αποτελέσματα της TPC του νερού που είναι εμπλουτισμένο με εκχύλισμα δυόσμου, έδειξαν αρχικά μια μείωση αλλά έως την μέρα που μελετήθηκαν διατήρησαν μια αυξητική και σταθερή πορεία.

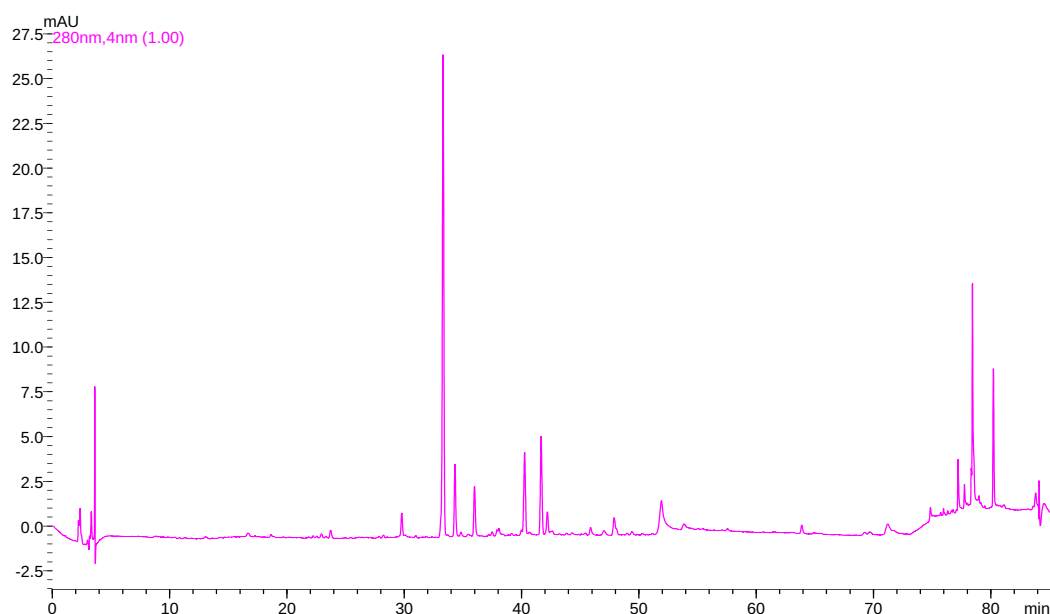
Η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών DPPH, η οποία μετρά την αντιοξειδωτική ικανότητα του εμπλουτισμένου νερού με εκχύλισμα δυόσμου, αξιολογήθηκε σε περίοδο 60 ημερών, δίνοντας τα ακόλουθα αποτελέσματα. Την πρώτη μέρα η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών βρέθηκε ίση με 0,27 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$ υποδεικνύοντας ένα μέτριο επίπεδο αντιοξειδωτικής δράσης. Μετά το πέρας των 15 ημερών η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών μειώθηκε σημαντικά έχοντας την τιμή 0,055 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Αυτή η μείωση μπορεί να αποδοθεί σε διάφορους παράγοντες όπως η αποδόμηση ή η αλληλεπίδραση των αντιοξειδωτικών με άλλα συστατικά στο εμπλουτισμένο νερό. Την μέρα 30 παρατηρήθηκε περαιτέρω μείωση με την ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών να έχει την τιμή 0,012 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Η μείωση αυτή συνεχίστηκε έως την μέρα 45, όπου η ικανότητα δέσμευσης

ελεύθερων ριζών είχε τιμή 0,0006 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Αυτή η ελάχιστη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών έδειξε σημαντική μείωση των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του εμπλουτισμένου νερού. Ωστόσο την μέρα 60, η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών είχε μια ελαφριά αύξηση με την τιμή της να ανεβαίνει στο 0,0013 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$, πιθανών απελευθερώθηκαν αντιοξειδωτικές ενώσεις από το εκχύλισμα του δυόσμου, αμελητέες όμως ώστε να χαρακτηριστεί ένα ικανοποιητικό επίπεδο αντιοξειδωτικής δράσης. Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως κατά την εκχύλιση, ο δυόσμος, είχε πολύ υψηλή τιμή κατά την μέτρηση της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών με τιμή 3.157,49 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$ υποδεικνύοντας την ισχυρή αντιοξειδωτική του ικανότητα. Οι παρατηρούμενες αλλαγές στην ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών κατά την διάρκεια αξιολόγησης 60 ημερών, δείχνουν μείωση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας.

Το εμπλουτισμένο νερό με δυόσμο μελετήθηκε με την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας συζευγμένης με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων, κατά την ημέρα παρασκευής τους και μετά από 45 μέρες αποθήκευσης. Στις Εικόνες 11 και 12 παρουσιάζονται ενδεικτικά χρωματογράφημα, ενώ στον Πίνακα 8 βρίσκονται τα αποτελέσματα από τις ταυτοποιημένες πολυφαινολικές ενώσεις και οι συγκεντρώσεις τους.



Εικόνα 11. Ενδεικτικό χρωματογράφημα στα 280 nm από το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα δυόσμου την ημέρα παρασκευής τους (ημέρα 0)



Εικόνα 12. Ενδεικτικό χρωματογράφημα στα 280 nm από το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα δυόσμου μετά από 45 μέρες αποθήκευσης

Πίνακας 8. Πολυφαινολικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στο νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα δυόσμου και οι συγκεντρώσεις τους την μέρα 1 και την μέρα 45.

Compound	Ημέρα 1 (mg/L)	Ημέρα 45 (mg/L)
Καφεϊκό οξύ	1,06	0,00
Ροσμαρινικό οξύ	2,21	0,00
Εσπεριδίνη	0,04	0,00
Γλυκοζίτης της 7-λουτεολίνης	1,79	0,00
Εριοκιτρίνη	0,83	0,00
Άγνωστη κορυφή ως ρουτίνη	0,33	0,00

Όλες οι βιοδραστικές ενώσεις οι οποίες ανιχνεύτηκαν στο δυόσμο μηδενίστηκαν με την πάροδο των 45 ημερών. Υποδεικνύοντας έτσι ότι δεν είχαν καμία σταθερότητα και πως δεν συνέβαλαν στο συνολικό αντιοξειδωτικό και βιοδραστικό προφίλ του προϊόντος. Οι βιοδραστικές ενώσεις δεν κρίθηκαν ανθεκτικές στο εμπλουτισμένο νερό, αλλά αποικοδομήθηκαν πλήρως. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα δείχνουν πως το νερό που εμπλουτίστηκε με δυόσμο ενώ είχε αρχικά μια ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων με την πάροδο του χρόνου δεν διατηρήθηκαν μέσα στο εμπλουτισμένο νερό.

3.4 Νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα μέντας

Το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα μέντας μελετήθηκε ως προς τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά και τις βιολογικές του ιδιότητες προκειμένου να διερευνηθεί η συντηρησιμότητά τους. Ούτε σε αυτό το ενισχυμένο νερό παρατηρήθηκε ανάπτυξη μικροοργανισμών ή ύπαρξη οσμής που να οφείλεται σε μικροβιακή αλλοίωση κατά την συντήρησή του. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων που διενεργήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 9.

Πίνακας 9. Τιμές pH, περιεκτικότητα σε ολικά πολυφαινολικά συστατικά (TPC) και ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών DPPH των παρασκευασμένων εμπλουτισμένων νερών με εκχύλισμα μέντας.

	Εκχύλισμα	Ημέρα				
		0	15	30	45	60
pH	-	7,18	7,32	7,66	6,79	7,6
TPC (mg/L)	52,72±	0,01±	0,01±	0,77±	0,32±	2,09±
	2,43	0,01	0,01	0,07	0,03	0,02
DPPH (μmol DPPH/g dw)	6.220 ±	0,03±	0,03±	0,01±	0,01±	0,01±
	197	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01

Η αλλαγή του pH στο νερό που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα μέντας μελετήθηκε σε μία περίοδο 60 ημερών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα την πρώτη μέρα το pH του ενισχυμένου νερού μετρήθηκε στο 7,18 υποδεικνύοντας μια ελαφρώς αλκαλική τιμή. Την 15^η μέρα το pH παρουσίασε μια μικρή αύξηση με τιμή 7,32 και στην συνέχεια την μέρα 30 να φτάνει την τιμή 7,66. Αυτή η συνεχόμενη αύξηση υποδηλώνει μια πιθανή σταθεροποίηση ή ένα ρυθμιστικό αποτέλεσμα εντός του ενισχυμένου νερού. Ωστόσο, την 45 η μέρα το pH μετρήθηκε στο 6,79 υποδηλώνοντας μια μετατόπιση προς ήπια οξύτητα. Την 60 η μέρα το pH αυξήθηκε ξανά με τιμή 7,6 υποδηλώνοντας έτσι ότι η αρχική αύξηση δεν ήταν μια προσωρινή διακύμανση αλλά ένα σταθερό χαρακτηριστικό του εμπλουτισμένου νερού. Συμπερασματικά, οι αλλαγές στο pH που παρατηρήθηκαν στο ενισχυμένο νερό με εκχύλισμα μέντας έδειξαν μια αλκαλική φύση του προϊόντος κατά την διάρκεια της περιόδου αξιολόγησης των 60 ημερών.

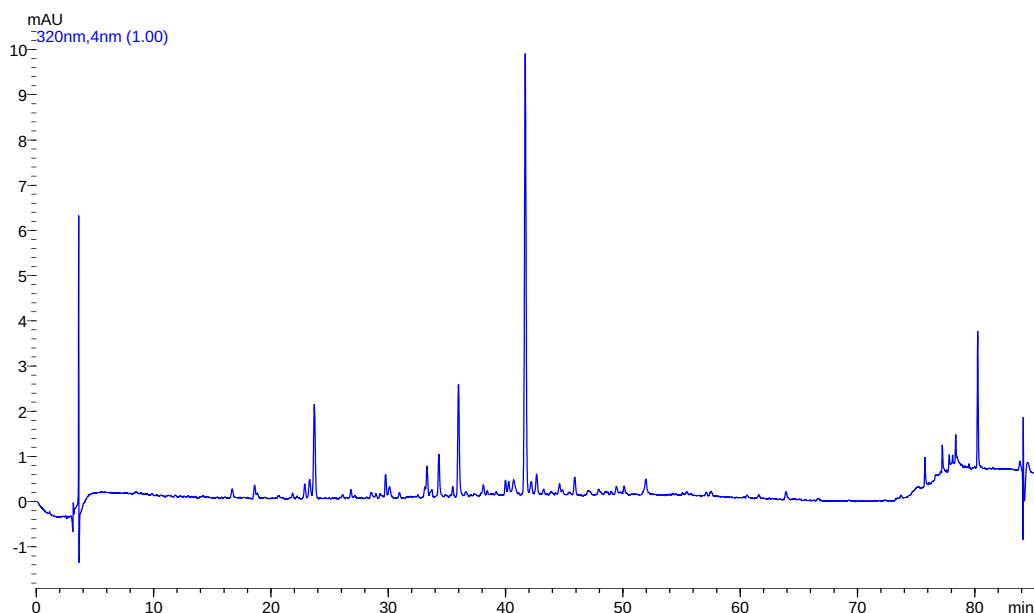
Η συνολική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες (TPC) στο νερό που εμπλουτίστηκε με μέντα αναλύθηκε σε περίοδο 60 ημερών και ελήφθησαν τα ακόλουθα αποτελέσματα. Την πρώτη μέρα η TPC βρέθηκε ίση με 0,0076mg/L υποδεικνύοντας ένα πολύ χαμηλό επίπεδο πολυφαινολών στο ενισχυμένο νερό. Μετά από 15 μέρες παρατηρήθηκε μια ελαφριά αύξηση

της TPC, με την μέτρηση της να φτάνει στο 0,008mg/L, η μικρή αυτή αύξηση θα μπορούσε να ήταν μια αρχική απελευθέρωση πολυφαινολών. Την μέρα 30 παρατηρείται σημαντική αύξηση με την τιμή της TPC να φτάνει το 0,774mg/L αυτή η αύξηση μπορεί να υποδηλώνει συνεχή εκχύλιση ή απελευθέρωση πολυφαινολών από το εκχύλισμα. Την μέρα 45 παρατηρείται μια μείωση, με το TPC, να πέφτει στο 0,3178mg/L. Αυτή η μείωση μπορεί να αποδοθεί σε υποβάθμιση ή άλλους παράγοντες οι οποίοι επηρέασαν την σταθερότητα και την διατήρηση πολυφαινολών στο εμπλουτισμένο νερό. Ωστόσο, την μέρα 60, παρατηρείται μια αξιοσημείωτη αύξηση με την TPC να φτάνει στο 2,09mg/L. Αυτή η αξιοσημείωτη αύξηση μπορεί να είναι αποτέλεσμα ενδεικτικής απελευθέρωσης πολυφαινολών από το εκχύλισμα μέντας, με αποτέλεσμα υψηλότερη συγκέντρωση στο εμπλουτισμένο νερό.

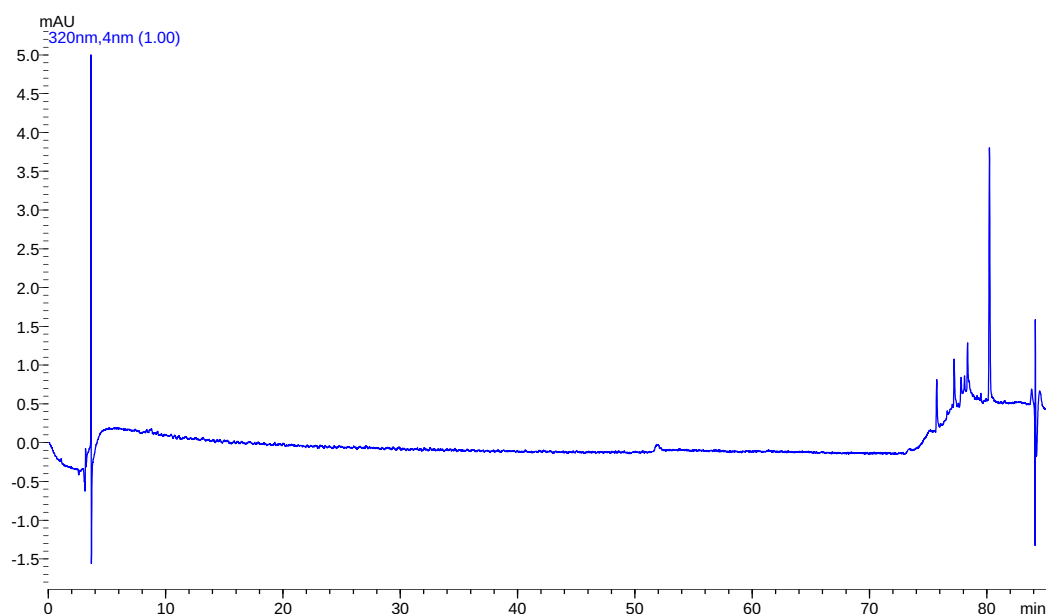
Η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών DPPH, η οποία μετράει την αντιοξειδωτική ικανότητα του εμπλουτισμένου νερού με εκχύλισμα μέντας μετρήθηκε σε διάστημα 60 ημερών, δίνοντας τα ακόλουθα αποτελέσματα. Την πρώτη μέρα, η ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών βρέθηκε ίση με 0,0026 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$, υποδεικνύοντας ένα πολύ χαμηλό επίπεδο αντιοξειδωτικής δράσης. Μετά από 15 μέρες, παρατηρήθηκε μια ελαφριά αύξηση, με την τιμή της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών να είναι 0,0286 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Αυτή η αύξηση οδηγεί σε καλύτερες αντιοξειδωτικές ιδιότητες του εμπλουτισμένου νερού, πιθανώς λόγω απελευθέρωσης αντιοξειδωτικών ενώσεων από το εκχύλισμα της μέντας. Το γεγονός ότι την 15^η μέρα παρατηρήθηκε μείωση στην συνολική περιεκτικότητα των πολυφαινολών οδηγεί στο συμπέρασμα ότι υπάρχει δυναμική ισορροπία στο εμπλουτισμένο νερό όπου κατά την αποθήκευσή του οι πολυφαινόλες διασπώνται, οδηγώντας σε μείωση της συγκέντρωσής τους, ενώ ταυτόχρονα απελευθερώνονται συνεχώς άλλες από το εκχύλισμα. Ωστόσο, οι πολυφαινόλες που απελευθερώνονται εμφανίζουν διαφορετική αντιοξειδωτική ικανότητα, με αποτέλεσμα να υπάρχει μια δυναμική ισορροπία στο δείγμα, όπου συνεχώς αποδομούνται και απελευθερώνονται πολυφαινόλες, μεταβάλλοντας την αντιοξειδωτική ικανότητα του νερού. Την μέρα 30 παρατηρείται μείωση της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών στο 0,0116 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Αυτή η μείωση μπορεί να αποδοθεί σε διάφορους παράγοντες όπως η αποδόμηση ή η αλληλεπίδραση των αντιοξειδωτικών με άλλη ουσία. Την μέρα 45 και την μέρα 60 παρατηρείται περαιτέρω μείωση με την ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών να φτάνει στις τιμές 0,00065 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$ και 0,00013 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$ αντίστοιχα. Αυτή η μεγάλη μείωση έδειξε σημαντική μείωση των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του εμπλουτισμένου νερού με εκχύλισμα μέντας. Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως η μέντα κατά την εκχύλιση είχε την δεύτερη υψηλότερη τιμή από τα δείγματα που μελετήθηκαν ως προς την ικανότητα δέσμευσης

ελεύθερων ριζών με την τιμή της να είναι 6.220,15 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Οι παρατηρούμενες αλλαγές στην την ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών DPPH του εμπλουτισμένου νερού με μέντα υποδηλώνουν ότι η σταθερότητα και η διατήρηση των αντιοξειδωτικών ενώσεων μπορεί να έχουν επηρεαστεί κατά τη διάρκεια της περιόδου αξιολόγησης των 60 ημερών, με αποτέλεσμα τη μείωση της συνολικής αντιοξειδωτικής δραστηριότητας.

Επιπλέον, το εμπλουτισμένο νερό που παρασκευάστηκε μελετήθηκε και αυτό με την μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας συζευγμένης με ανιχνευτή αντιστοιχίας διόδων, κατά την ημέρα παρασκευής τους και μετά από 45 μέρες αποθήκευσης. Ενδεικτικά χρωματογραφήματα παρουσιάζονται στις Εικόνες 13 και 14, ενώ τα αποτελέσματα από τις ταυτοποιημένες πολυφαινολικές ενώσεις παρουσιάζονται στον Πίνακα 10.



Εικόνα 13. Ενδεικτικό χρωματογράφημα στα 320 nm από το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα μέντας την ημέρα παρασκευής τους (ημέρα 0)



Εικόνα 14. Ενδεικτικό χρωματογράφημα στα 320 nm από το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα μέντας μετά από 45 μέρες αποθήκευσης.

Πίνακας 10. Πολυφαινολικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στο νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα μέντας και οι συγκεντρώσεις τους την ημέρα 1 και 45.

Πολυφαινολικές ενώσεις	Day 1 Concentration (mg/L)	Day 45 Concentration (mg/L)
Καφεϊκό οξύ	0,97	0,95
Ρουτινοσίδη της λουτελίνης	3,10	2,49
Ροσμαρινικό οξύ	2,71	2,00
Εσπεριδίνη	1,76	1,20
Λουτεολίνη	1,28	1,21
Γλυκουρονίδη της λουτεολίνης	2,67	2,19
Εριοκιτρίνη	13,37	9,36
Ναριρουτίνη	0,00	0,00
Άγνωστη κορυφή ως λουτεολίνη	1,70	1,51
Άγνωστη κορυφή ως ρουτίνη	0,49	0,42

Τα επίπεδα συγκέντρωσης του καφεϊκού οξέος παραμένουν σχετικά σταθερά μεταξύ της ημέρας 1 και της ημέρας 45, με μικρή διακύμανση υποδεικνύοντας την σχετική σταθερότητα με την πάροδο του χρόνου. Αυτό υποδηλώνει ότι η ένωση αυτή είναι ανθεκτική στο εμπλουτισμένο νερό διατηρώντας τις βιοδραστικές της ιδιότητες. Η ρουτινοσίδη της

λουτεολίνης και το ροσμαρινικό οξύ παρουσιάζουν μείωση από την πρώτη έως την 45 ημέρα. Αυτή η μείωση μπορεί να αποδοθεί σε αποικοδόμηση ή απώλεια των βιοδραστικών ενώσεων κατά την διάρκεια των 45 ημερών. Η εσπεριδίνη εμφάνισε μια σημαντική μείωση από 1,76mg/L σε 1,20mg/L. Η μείωση αυτή μπορεί να οφείλετε στην αποικοδόμηση ή την απώλεια εσπεριδίνης κατά την διάρκεια των 45 ημερών, ωστόσο για τα ακριβή αίτια της πτώσης της απαιτείται περαιτέρω έρευνα. Όλες οι υπόλοιπες βιοδραστικές ενώσεις οι οποίες ταυτοποιήθηκαν παρουσιάζουν μια μείωση. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα δείχνουν πως το νερό που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα μέντας διατήρησε μια ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων. Υπήρχε μείωση στην συγκέντρωση των βιοδραστικών ενώσεων, αλλά υπήρχε συμβολή των ενώσεων στο συνολικό αντιοξειδωτικό και βιοδραστικό προφίλ του προϊόντος. Αυτά τα ευρήματα παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την σταθερότητα και την πιθανή διάρκεια ζωής του ενισχυμένου νερού και μπορούν να οδηγήσουν σε περαιτέρω βελτιστοποίηση της σύνθεσης για την διατήρηση των βιοδραστικών ενώσεων για μεγάλες περιόδους.

3.5 Νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα λάβδανου

Το νερό που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα λάβδανου μελετήθηκε ως προς τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά και τις βιολειτουργικές του ιδιότητες προκειμένου να διερευνηθεί η συντηρησιμότητά τους. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι στο συγκεκριμένο δείγμα υπήρξε ανάπτυξης ιζήματος από την 15^η ημέρα το οποίο συνεχίστηκε να μεγαλώνει έως την 60^η μέρα. Ο σχηματισμός ιζήματος στο εμπλουτισμένο νερό με λάβδανο δημιουργήθηκε λόγω της αυξημένης ποσότητας που προστέθηκε. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων που διενεργήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.

Πίνακας 11. Τιμές pH, περιεκτικότητα σε ολικά πολυφαινολικά συστατικά (TPC) και ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών DPPH των παρασκευασμένων εμπλουτισμένων νερών με εκχύλισμα λάβδανου.

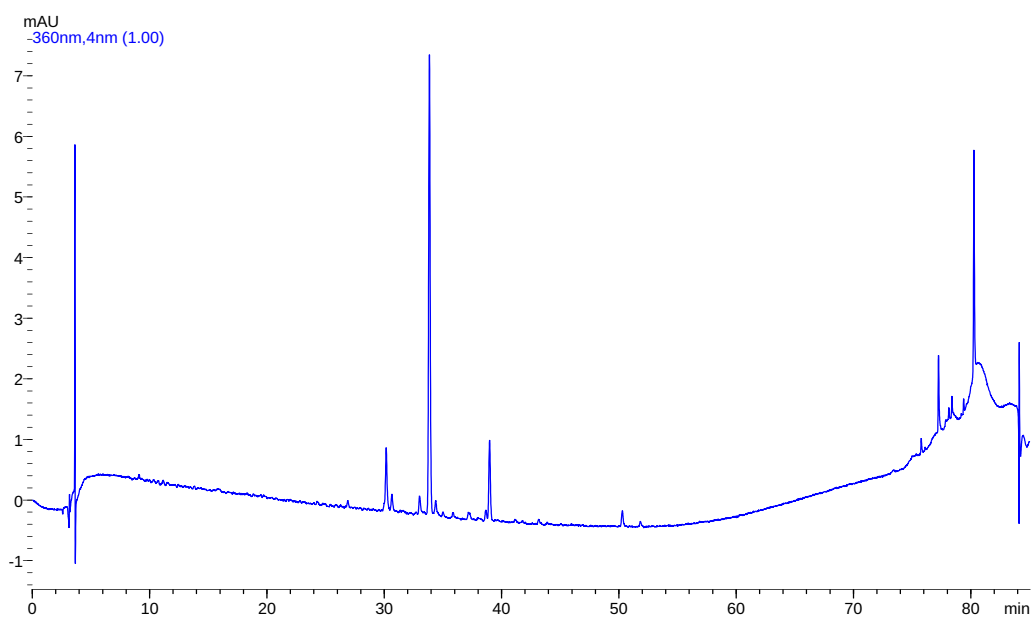
	Εκχύλισμα	Ημέρα				
		0	15	30	45	60
pH	-	7,15	6,72	6,77	7,24	7,25
TPC (mg/L)	104,48±	0,21±	0,07±	6,87±	9,76±	0,64±
	3,62	0,01	0,03	0,38	0,12	0,01
DPPH (μmol DPPH/g dw)	7.368 ±	2,06±	0,25±	0,39±	0,16±	0,01±
	220	0,06	0,01	0,01	0,01	0,01

Η αλλαγή του pH που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα λάβданου παρακολουθήθηκε σε μια περίοδο 60 ημερών και πάρθηκαν τα ακόλουθα αποτελέσματα. Την πρώτη μέρα το pH του ενισχυμένου νερού μετρήθηκε στο 7,15, υποδεικνύοντας έτσι μια ελαφρώς αλκαλική τιμή. Με πέρασ των 15 ημερών το pH σημείωσε μείωση με την τιμή του να φτάνει στο 6,72 υποδηλώνοντας μια ελαφριά μετατόπιση προς ένα πιο ουδέτερο pH. Την 30^η μέρα το pH σημείωσε μια μικρή αύξηση με τιμή 6,77, η διακύμανση αυτή έδειξε μια πιθανή σταθεροποίηση ή ρυθμιστικό αποτέλεσμα του ενισχυμένου νερού. Την 45^η μέρα το pH αυξήθηκε στο 7,25 και στην συνέχεια την 60^η μέρα είχε τιμή 7,25, υποδεικνύοντας έτσι την αλκαλική φύση του εμπλουτισμένου νερού. Η διακύμανση που παρατηρήθηκε δεν ήταν μια αλλά ένα σταθερό χαρακτηριστικό του ενισχυμένου νερού με λάβδανο. Να σημειωθεί πως η αύξηση του pH οφείλεται και στην ύπαρξη ιζήματος. Συνολικά, οι αλλαγές του pH που παρατηρήθηκαν απέδειξαν την αλκαλική φύση του προϊόντος κατά την διάρκεια της περιόδου αξιολόγησης των 60 ημερών.

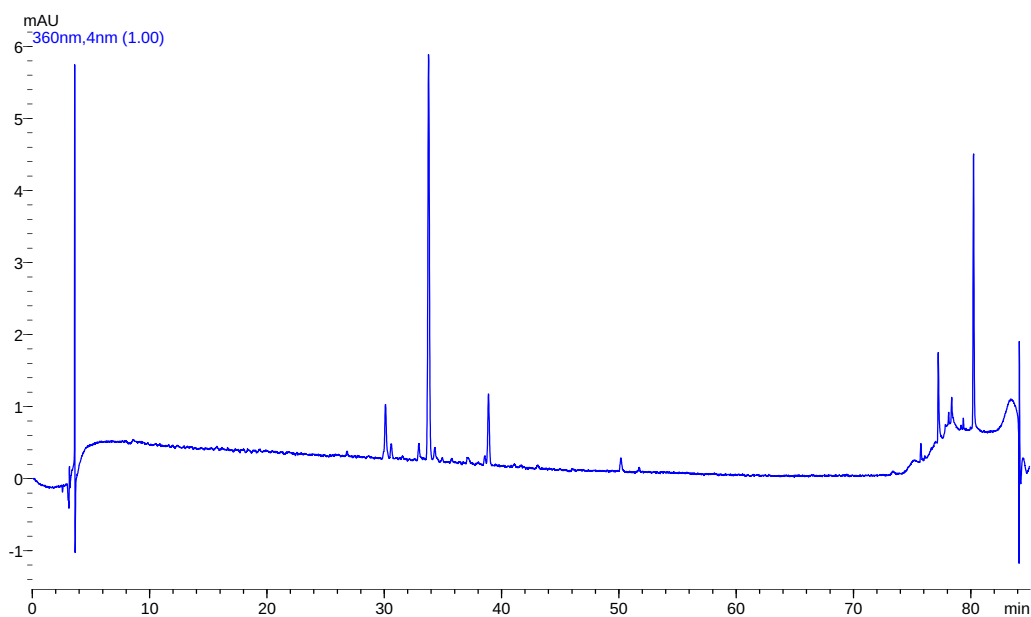
Η συνολική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες (TPC) στο νερό που είναι ενισχυμένο με εκχύλισμα λάβданου αναλύθηκε σε περίοδο 60 ημερών και ελήφθησαν τα κάτωθι αποτελέσματα. Την πρώτη μέρα, η TPC βρέθηκε ίση με 0,2mg/L, υποδεικνύοντας έτσι ένα χαμηλό επίπεδο πολυφαινολών στο ενισχυμένο νερό. Μετά από 15 μέρες σημειώθηκε μεγάλη μείωση με την τιμή της TPC να πέφτει στο 0,069mg/L. Αυτή η μείωση θα μπορούσε να αποδοθεί σε διάφορους παράγοντες, όπως η αποδόμηση ή η αλληλεπίδραση των πολυφαινολών με άλλα συστατικά του νερού. Ωστόσο την 30 η μέρα παρατηρήθηκε μεγάλη αύξηση στην τιμή της TPC φτάνοντας στο 6,87. Αυτή η αξιοσημείωτη αύξηση θα μπορούσε να αποδοθεί σε απελευθέρωση των πολυφαινολών από το εκχύλισμα του λαβδάνου, με αποτέλεσμα την υψηλότερη συγκέντρωση στο εμπλουτισμένο νερό. Κατά την 45 η ημέρα παρατηρήθηκε περαιτέρω αύξηση στην τιμή της TPC, με την συγκέντρωση να φτάνει στο 9,76mg/L. Αυτή η αύξηση στις πολυφαινόλες μπορεί να υποδηλώνει συνεχή εκχύλιση ή απελευθέρωση των πολυφαινολών από το εκχύλισμα λαβδάνου κατά την διαδικασία της αποθήκευσης. Παρ' όλα αυτά την 60^η ημέρα παρατηρήθηκε σημαντική μείωση με την τιμή της TPC να πέφτει στο 0,64mg/L. Αυτή η μείωση θα μπορούσε να ερμηνευτεί σε υποβάθμιση ή άλλους παράγοντες που επηρέασαν τη σταθερότητα ή την διατήρηση των πολυφαινολών στο εμπλουτισμένο νερό με την πάροδο του χρόνου. Συνεπώς, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ποικίλες αλλαγές στην TPC του νερού που είναι εμπλουτισμένο με εκχύλισμα λάβданου, τονίζοντας ωστόσο τις πολύπλοκες διακυμάνσεις στην περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες στο εμπλουτισμένο νερό.

Η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών DPPH, η οποία μετρά την αντιοξειδωτική ικανότητα του εμπλουτισμένου νερού με εκχύλισμα λάβδανου μετρήθηκε και αξιολογήθηκε σε διάστημα 60 ημερών. Την πρώτη μέρα η ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών υπολογίστηκε 2,065 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$, υποδεικνύοντας έτσι ένα μέτριο επίπεδο αντιοξειδωτικής δράσης. Μετά από 15 μέρες υπήρξε μείωση στην ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών και πτώση στο 0,25 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Αυτή η μείωση μπορεί να αποδοθεί σε αποδόμηση ή αλληλεπίδραση των αντιοξειδωτικών με άλλα συστατικά στο εμπλουτισμένο νερό. Ωστόσο την μέρα 30 παρατηρείται μια ελαφριά αύξηση της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών στο 0,39 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Αυτή η αύξηση μπορεί να οφείλεται σε απελευθέρωση αντιοξειδωτικών ενώσεων από το εκχύλισμα του λάβδανου. Όμως από την 45^η μέρα έως και την 60^η παρατηρείται μείωση με τις τιμές της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών να πέφτουν στο 0,16 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$ και 0,00022 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$ αντίστοιχα. Αυτή η μείωση παρουσίασε την ελάχιστη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών καθώς και την μείωση των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του εμπλουτισμένου νερού. Είναι άξιο σημασίας να αναφερθεί ότι το λάβδανο κατά την εκχύλιση είχε την υψηλότερη ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών από όλα τα δείγματα με τιμή 7.368,77 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$, υποδεικνύοντας έτσι την ισχυρή αντιοξειδωτική της ικανότητα. Οι παρατηρούμενες αλλαγές στην ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών DPPH του εμπλουτισμένου νερού υποδηλώνουν ότι η σταθερότητα και η διατήρηση των αντιοξειδωτικών ενώσεων μπορεί να έχουν επηρεαστεί κατά τη διάρκεια της περιόδου αξιολόγησης των 60 ημερών, με αποτέλεσμα τη μείωση της συνολικής αντιοξειδωτικής δραστηριότητας.

Το νερό που εμπλουτίστηκε με λάβδανο μελετήθηκε με την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας συζευγμένης με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων, κατά την ημέρα παρασκευής τους και μετά από 45 μέρες. Ενδεικτικά χρωματογραφήματα παρουσιάζονται στις Εικόνες 15 και 16, ενώ τα αποτελέσματα από τις ταυτοποιημένες πολυφαινολικές ενώσεις και οι συγκεντρώσεις τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 12.



Εικόνα 15. Ενδεικτικό χρωματογράφημα στα 360 nm από το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα λαβδάνου την ημέρα παρασκευής τους (ημέρα 0)



Εικόνα 16. Ενδεικτικό χρωματογράφημα στα 360 nm από το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα λαβδάνου μετά από 45 μέρες αποθήκευσης.

Πίνακας 12. Πολυφαινολικά συστατικά που ανιχνεύτηκαν στο νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα λάβδανου και οι συγκεντρώσεις τους την ημέρα 1 και 45.

Πολυφαινολικές ενώσεις	Ημέρα 1 (mg/L)	Ημέρα 45 (mg/L)
------------------------	----------------	-----------------

Γλυκοζίτης της <i>p</i> -κουμαρόυλ-λουτεολίνης	1,14	1,12
Γλυκοζίτης της 1-μυρκετίνης	0,95	0,90
Ραμνοσίδη της μυρκετίνης	2,14	1,78
Παράγωγο του γλυκοζίτη της 1-κερκετίνης	0,11	0,10
Ρουτίνη	0,26	0,25
Παράγωγο του γλυκοζίτη της 2-κερκετίνης	0,10	0,10
Παράγωγο της ραμνοσίδης της κερκετίνης	0,43	0,34
Γλυκοζίτης της 2-μυρκετίνης	0,76	0,76

Τα επίπεδα συγκέντρωσης της λουτεολίνης της γλυκοσίδης, 1-γλυκοσίδης μυρκετίνης, της 1-παράγωγο γλυκοζίτη της κερκετίνης και της ρουτίνης παρέμειναν σχετικά σταθερά μεταξύ της ημέρας 1 και της ημέρας 45, με μικρές μόνο διακυμάνσεις υποδεικνύοντας την σχετική σταθερότητά τους με την πάροδο του χρόνου. Αυτό υποδηλώνει ότι αυτές οι ενώσεις διατηρήθηκαν καλά στο εμπλουτισμένο νερό διατηρώντας τις βιοδραστικές του ιδιότητες σχεδόν σταθερές. Οι 2-παράγωγο γλυκοζίτη της κερκετίνης και η 2-γλυκοσίδη της μυρκετίνης παρέμειναν σταθερές οι συγκεντρώσεις τους σε όλη την περίοδο αξιολόγησης. Αυτό απέδειξε πως οι ενώσεις αυτές είναι ανθεκτικές στην αποικοδόμηση ή σε άλλους παράγοντες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την σταθερότητά τους. Η ραμνοσίδη της μυρκετίνης καθώς και το παράγωγο ραμνοσίδης της κερκετίνης παρουσίασαν αξιοσημείωτη μείωση. Η μείωση αυτή οφείλεται σε πιθανή αποικοδόμηση ή μετασχηματισμό των βιοδραστικών ενώσεων με την πάροδο του χρόνου. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα αποδεικνύουν ότι το νερό που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα λάβданου διατήρησε μια ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων. Όπως προαναφέρθηκε υπήρχαν ενώσεις που παρέμειναν σταθερές οι συγκεντρώσεις και ουσίες που μειώθηκε η συγκέντρωση με την πάροδο του χρόνου. Αυτά τα αποτελέσματα αποτελούν πηγή πληροφοριών για την διάρκεια ζωής του νερού καθώς και την σταθερότητά του καθώς και μπορούν να γίνουν πρότυπα για την βελτιστοποίηση της σύνθεσης για την διατήρηση των βιοδραστικών ενώσεων για περαιτέρω χρονικό διάστημα.

3.6 Νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα κάνναβης

Το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα κάνναβης μελετήθηκε ως προς τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά και τις βιολογικές του ιδιότητες προκειμένου να διερευνηθεί η συντηρησιμότητά τους. Ούτε σε αυτό το ενισχυμένο νερό παρατηρήθηκε ανάπτυξη μικροοργανισμών ή ύπαρξη οσμής που να οφείλεται σε μικροβιακή αλλοίωση κατά την συντήρησή του. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων που διενεργήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 13.

Πίνακας 13. Τιμές pH, περιεκτικότητα σε ολικά πολυφαινολικά συστατικά (TPC) και ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών DPPH των παρασκευασμένων εμπλουτισμένων νερών με εκχύλισμα κάνναβης.

	Εκχύλισμα	Ημέρα				
		0	15	30	45	60
pH	-	7,24	7,40	7,36	7,11	7,13
TPC (mg/L)	1,83±	0,04±	0,04±	0,29±	0,34±	0,33±
	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01
DPPH (μmol DPPH/g dw)	29,47±	0,09±	0,24±	0,13±	0,08±	0,01
	0,08	0,01	0,14	0,08	0,02	0,01

Η αλλαγή του pH στο νερό που εμπλουτίστηκε με εκχύλισμα κάνναβης παρακολουθήθηκε σε μια περίοδο 60 ημερών και ελήφθησαν τα ακόλουθα αποτελέσματα. Την πρώτη μέρα το pH του ενισχυμένου νερού μετρήθηκε στο 7,24 υποδεικνύοντας έτσι μια ελαφρώς ουδέτερη τιμή. Την 15η μέρα το pH μετρήθηκε στο 7,40 δείχνοντας έτσι μια ελαφρώς αλκαλική τιμή. Ωστόσο την 30η μέρα το pH μειώθηκε στο 7,36. Αυτή η μείωση έδειξε μια πιθανή σταθεροποίηση ή ρυθμιστικό αποτέλεσμα εντός του ενισχυμένου νερού. Την 45η μέρα η τιμή του pH μειώθηκε περεταίρω στο 7,11 αποδεικνύοντας ότι η αρχική αύξηση ήταν ένα προσωρινό αποτέλεσμα και όχι χαρακτηριστικό του εμπλουτισμένου νερού. Τέλος την 60 μέρα παρατηρήθηκε πολύ μικρή αύξηση του pH στο 7,13. Εν κατακλείδι, οι αλλαγές του pH που παρατηρήθηκαν στο ενισχυμένο νερό με κάνναβη έδειξαν μια σχετικά σταθερή και ελαφρώς ουδέτερη φύση κατά την διάρκεια της περιόδου αξιολόγησης των 60 ημερών.

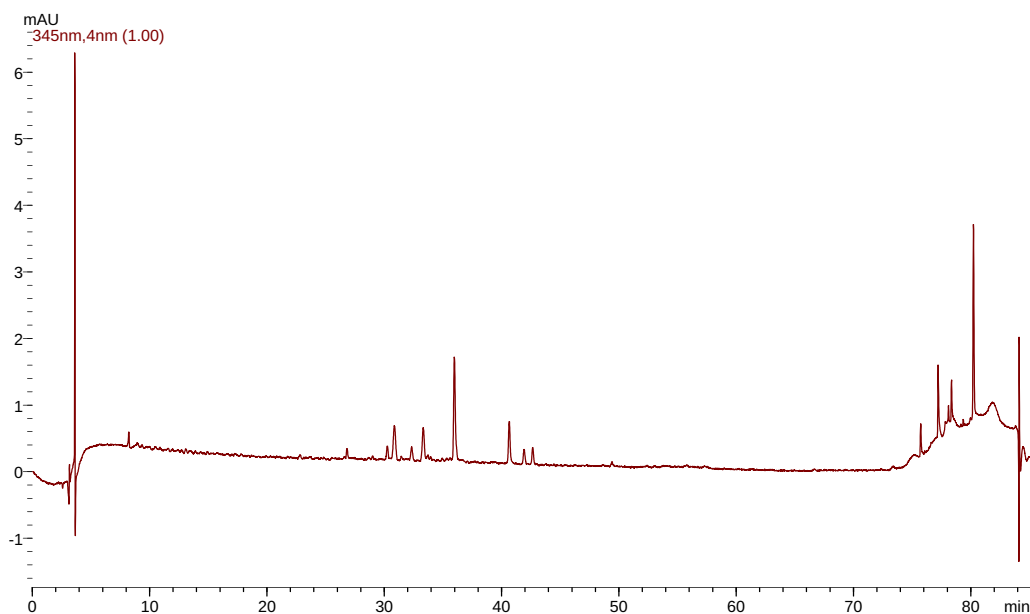
Η συνολική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες (TPC) στο νερό που είναι ενισχυμένο με εκχύλισμα κάνναβης μετρήθηκε και αξιολογήθηκε σε περίοδο 60 ημερών. Την πρώτη μέρα, η TPC, βρέθηκε ίση με 0,044 mg/L, δείχνοντας έτσι ένα πολύ χαμηλό επίπεδο πολυφαινολών στο ενισχυμένο νερό. Την 15η μέρα τα αποτελέσματα ήταν ακριβώς τα ίδια, αυτό πιθανό οφείλεται στην σταθερότητα του ενισχυμένου νερού με το εκχύλισμα. Ωστόσο, την 30η μέρα παρατηρείται αξιοσημείωτη αύξηση με την τιμή της TPC να ανέρχεται στο 0,293mg/L. Αυτή η αύξηση μπορεί να είναι αποτέλεσμα της απελευθέρωσης των πολυφαινολών από το εκχύλισμα της κάνναβης, με αποτέλεσμα την υψηλότερη συγκέντρωση στο εμπλουτισμένο νερό. Την 45η μέρα η τιμή της TPC παρουσίασε ελαφριά αύξηση με την τιμή της να είναι 0,3472mg/L. Αυτή η αύξηση σε περιεκτικότητα πολυφαινολών μπορεί να οφείλεται σε συνεχή εκχύλιση ή απελευθέρωση πολυφαινολών από το εκχύλισμα κατά της διαδικασία της

αποθήκευσης. Όμως, την 60η μέρα παρατηρήθηκε μικρή μείωση, με το TPC, να πέφτει στο 0,33. Αυτή η μείωση θα μπορούσε να αποδοθεί σε αποδόμηση ή αλληλεπίδραση των πολυφαινόλων με άλλα συστατικά του νερού. Συνολικά, τα αποτελέσματα από το ενισχυμένο νερό με εκχύλισμα λαβδάνου δεν έδειξαν ποικίλες αλλαγές, το νερό αρχικά είχε πολύ χαμηλή περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες όμως με το πέρασ του χρόνου το εκχύλισμα της κάνναβης απελευθέρωσε πολυφαινόλες στο εμπλουτισμένο νερό.

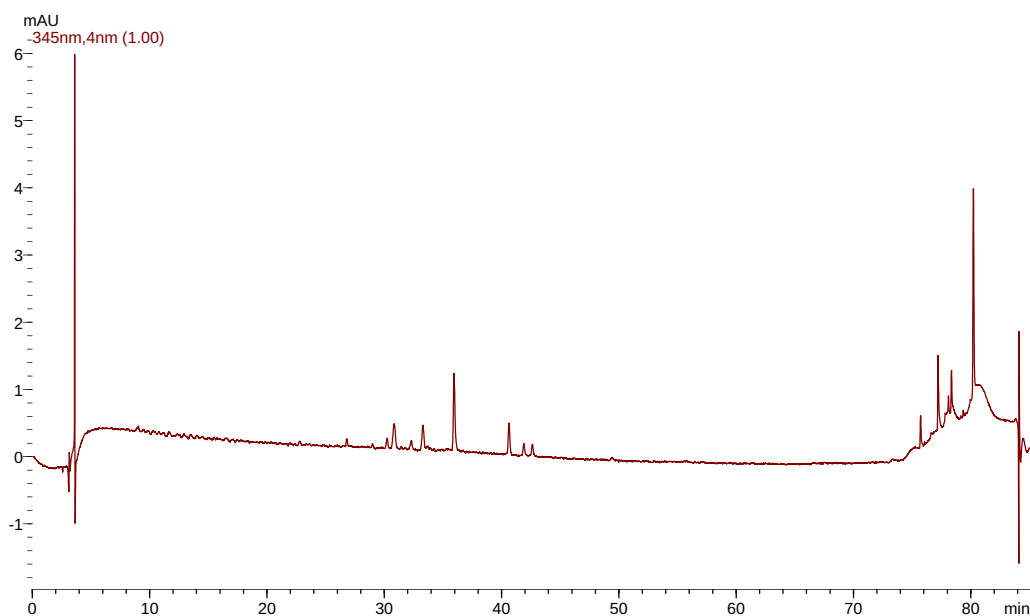
Η ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών DPPH, η οποία μετράει την αντιοξειδωτική ικανότητα του εμπλουτισμένου νερού με εκχύλισμα κάνναβης μετρήθηκε και αξιολογήθηκε σε περίοδο 60 ημερών. Την πρώτη μέρα, η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών υπολογίστηκε και βρέθηκε ίση με 0,0892 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$, υποδεικνύοντας ένα χαμηλό επίπεδο αντιοξειδωτικής δράσης. Μετά από 15 μέρες η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών αυξήθηκε και ήταν ίση με 0,239 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Αυτή η αύξηση πιθανόν να συνέβη λόγω απελευθέρωσης αντιοξειδωτικών ενώσεων από το εκχύλισμα της κάνναβης. Την ημέρα 30 παρατηρήθηκε μικρή μείωση στην ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών με τιμή 0,136 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Ωστόσο, την ίδια χρονική διάρκεια οι πολυφαινόλες που απελευθερώνονται εμφανίζουν διαφορετική αντιοξειδωτική ικανότητα, με αποτέλεσμα να υπάρχει μια δυναμική ισορροπία στο δείγμα, όπου συνεχώς αποδομούνται και απελευθερώνονται πολυφαινόλες, μεταβάλλοντας την αντιοξειδωτική ικανότητα του νερού. Κατά την μέρα 45 η ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών παρουσιάζει αξιοσημείωτη μείωση με τιμή 0,08 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Αυτή η μείωση μπορεί να αποδοθεί σε διάφορους παράγοντες, όπως η αποδόμηση, ή η αλληλεπίδραση των αντιοξειδωτικών με τα άλλα συστατικά στο εμπλουτισμένο νερό. Την 60^η μέρα παρατηρήθηκε ακόμα μεγαλύτερη μείωση με την τιμή της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών να πέφτει στο 0,00021 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$. Αυτή η ελάχιστη ικανότητα δέσμευσης των ελευθέρων ριζών έδειξε σημαντική μείωση των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του εμπλουτισμένου νερού. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι κατά την εκχύλιση η κάνναβη είχε από τις χαμηλότερες τιμές συγκριτικά με τα υπόλοιπα δείγματα με την τιμή της να είναι 29,478 $\mu\text{mol DPPH/g dw}$, υποδεικνύοντας έτσι την χαμηλή αντιοξειδωτική της ικανότητα. Οι αλλαγές στην ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών DPPH του εμπλουτισμένου νερού με εκχύλισμα κάνναβης υποδηλώνουν ότι η σταθερότητα και η διατήρηση των αντιοξειδωτικών ενώσεων έχουν επηρεαστεί κατά την διάρκεια αξιολόγησης και έχουν ως αποτέλεσμα την μείωση της συνολικής αντιοξειδωτικής δραστηριότητας.

Το νερό που εμπλουτίστηκε με κάνναβη μελετήθηκε με την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας συζευγμένης με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων, κατά την ημέρα παρασκευής

τους και μετά από 45 μέρες. Ενδεικτικά χρωματογράφημα παρουσιάζονται στις Εικόνες 17 και 18, ενώ τα αποτελέσματα από τις ταυτοποιημένες πολυφαινολικές ενώσεις και οι συγκεντρώσεις τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 14.



Εικόνα 17. Ενδεικτικό χρωματογράφημα στα 345 nm από το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα κάνναβης την ημέρα παρασκευής τους (ημέρα 0)



Εικόνα 18. Ενδεικτικό χρωματογράφημα στα 345 nm από το νερό που εμπλουτίστηκε με το εκχύλισμα κάνναβης μετά από 45 μέρες αποθήκευσης.

Πίνακας 14. Πολυφαινολικά συστατικά που ανιχνεύτηκαν στο νερό εμπλουτισμένο με εκχύλισμα κάνναβης και οι συγκεντρώσεις τους την ημέρα 1 και 45.

Πολυφαινολικές ενώσεις	Ημέρα 1 (mg/L)	Ημέρα 45 Concentration (mg/L)
Γλυκοζίτης της 7-λουτεολίνης	1.39	1.31

Η μόνη βιοδραστική ένωση η οποία ανιχνεύτηκε στο εμπλουτισμένο νερό με εκχύλισμα κάνναβης ήταν η λουτεολίνη-7-γλυκοσίδη της οποίας η συγκέντρωση εμφάνισε μία ελαφριά μείωση από την μέρα 1 έως την μέρα 45. Η συγκέντρωση από 1,39mg/L που ήταν την 1 ημέρα μειώθηκε στο 1,31mg/L την 45 ημέρα. Αυτή η μείωση πιθανόν οφείλεται σε κάποιο βαθμό αποικοδόμησης ή μετασχηματισμού της ένωσης αυτής. Συμπερασματικά, το ενισχυμένο νερό με εκχύλισμα κάνναβης δεν αποτελούνταν από μια ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων όπως τα υπόλοιπα ενισχυμένα νερά, αλλά υπήρχε μόνο 1 ένωση η οποία με την πάροδο του χρόνου μειώθηκε.

3.8. Συμπεράσματα

Με την προσθήκη σκόνης υποπροϊόντων τροφίμων και αρωματικών, φαρμακευτικών φυτών, πραγματοποιήθηκε έντονη αύξηση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του νερού με παράλληλη αύξηση της χαμηλής αντιοξειδωτικής δράσης του νερού και των πολυφαινολών του. Αρκετός πληθυσμός αμελεί την καθημερινή ανάγκη του οργανισμού του για την επαρκή πρόσληψη νερού. Το εμπλουτισμένο νερό προσδίδει ευχάριστη γεύση και θελκτικότερη εικόνα από τα συμβατικά νερά λόγω του έντονου χρώματος και αρώματος που θα προσφέρουν τα φυτικά εκχυλίσματα χωρίς να αλλοιώνεται ή να παραποιούν την γεύση. Με αυτό τον τρόπο, τα εμπλουτισμένα νερά είναι πιο ελκυστικά στον καταναλωτή, κάνοντας τον να το αντικαταστήσει από το συμβατικό νερό και ενισχύοντας έτσι τον οργανισμό του με αντιοξειδωτικές ουσίες όπως οι πολυφαινόλες. Η κατανάλωση του νερού αυτού έχει θετικό αντίκτυπο στην υγεία του ανθρώπου. Με βάση διάφορες μελέτες, το κάθε φυτικό εκχύλισμα έχει διαφορετική δράση ως προς την υγεία δίνοντας ευεργετικά αποτελέσματα και συμβάλλει στην πρόληψη πολλών ασθενειών. Μετά την εκχύλιση, υπολογίστηκε η απόδοση του κάθε δείγματος. Το πορτοκάλι είχε την μεγαλύτερη απόδοση μετά την εκχύλιση και πριν τον εμπλουτισμό, ενώ την μικρότερη την έχει ο δυόσμος. Λόγω του εμπλουτισμού είχαμε αύξηση των πολυφαινολών και της αντιοξειδωτικής δράσης με βάση τα διαγράμματα και τους πίνακες που υπάρχουν από την μέρα 1 έως την μέρα 45. Η κάνναβη κρίθηκε το πιο αδύναμο δείγμα ενώ στο λάβδανο παρατηρήθηκε ίζημα από τις αρχικές μέρες του εμπλουτισμού του και αυτό δείχνει ότι θα έπρεπε να προστεθεί μικρότερη ποσότητα δείγματος εξ αρχής. Η εκχύλιση των νερών αυτών έγινε με την χρήση διαλύτη β-κυκλοδεξτρίνης ο οποίος είναι ευρέως καταναλωμένος και οικονομικός. Η μέθοδος της εκχύλισης καθίσταται μια οικονομική διαδικασία, δεν απαιτεί μεγάλο εξοπλισμό και έχει

εύκολη εφαρμογή. Για αυτούς τους λόγους, η παρασκευή τέτοιων νερών αξίζει να είναι πιο διαδεδομένη στην βιομηχανία τροφίμων και ποτών. Η βιομηχανία για να μειώσει το κόστος της περαιτέρω παραγωγικής διαδικασίας, οφείλει να χρησιμοποιεί πλαστική συσκευασία, ασηπτικές συνθήκες και συνδυασμό δύο εκχυλισμάτων (π.χ μέντα-λεμόνι).

Βιβλιογραφία

1. Οδηγία - 2009/54 - EN - EUR-Lex Available online: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/?uri=celex%3A32009L0054> (accessed on Feb 16, 2024).
2. Pop, M.S.; Cheregi, D.C.; Onose, G.; Munteanu, C.; Popescu, C.; Rotariu, M.; Turnea, M.A.; Dogaru, G.; Ionescu, E.V.; Oprea, D.; et al. Exploring the Potential Benefits of Natural Calcium-Rich Mineral Waters for Health and Wellness: A Systematic Review. *Nutrients* 2023, 15.
3. Kekes, T.; Tzia, C.; Kolliopoulos, G. Drinking and Natural Mineral Water: Treatment and Quality–Safety Assurance. *Water (Switzerland)* 2023, 15.
4. Quattrini, S.; Pampaloni, B.; Brandi, M.L. Natural mineral waters: Chemical characteristics and health effects. *Clin. Cases Miner. Bone Metab.* 2016, 13, 173–180.
5. Migala, J. Functions of Water: 7 Health Benefits. *Everyday Heal.* 2020.
6. Li, P.; Wu, J. Drinking Water Quality and Public Health. *Expo. Heal.* 2019, 11, 73–79, doi:10.1007/s12403-019-00299-8.
7. Tosun, J.; Scherer, U.; Schaub, S.; Horn, H. Making Europe go from bottles to the tap: Political and societal attempts to induce behavioral change. *Wiley Interdiscip. Rev. Water* 2020, 7, doi:10.1002/WAT2.1435.
8. Graydon, R.C.; Gonzalez, P.A.; Laureano-Rosario, A.E.; Pradieu, G.R. Bottled water versus tap water: Risk perceptions and drinking water choices at the University of South Florida. *Int. J. Sustain. High. Educ.* 2019, 20, 654–674, doi:10.1108/IJSHE-01-2019-0003.
9. Benjamin, M.; Ash, D.M. Drinking to their health: Social analysis of a micronutrient-fortified beverage field trial. *Food Nutr. Bull.* 2003, 24, doi:10.1177/15648265030244s111.
10. Orrù, S.; Imperlini, E.; Nigro, E.; Alfieri, A.; Cevenini, A.; Polito, R.; Daniele, A.; Buono, P.; Mancini, A. Role of functional beverages on sport performance and

recovery. *Nutrients* 2018, *10*.

11. Gupta, A.; Sanwal, N.; Bareen, M.A.; Barua, S.; Sharma, N.; Joshua Olatunji, O.; Prakash Nirmal, N.; Sahu, J.K. Trends in functional beverages: Functional ingredients, processing technologies, stability, health benefits, and consumer perspective. *Food Res. Int.* 2023, *170*.
12. Sugajski, M.; Buszewska-Forajta, M.; Buszewski, B. Functional Beverages in the 21st Century. *Beverages* 2023, *9*.
13. Danlami, J.M.; Arsad, A.; Zaini, M.A.A.; Sulaiman, H. A comparative study of various oil extraction techniques from plants. *Rev. Chem. Eng.* 2014, *30*, 605–626.
14. Bitwell, C.; Indra, S. Sen; Luke, C.; Kakoma, M.K. A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Sci. African* 2023, *19*.
15. Azmir, J.; Zaidul, I.S.M.; Rahman, M.M.; Sharif, K.M.; Mohamed, A.; Sahena, F.; Jahurul, M.H.A.; Ghafoor, K.; Norulaini, N.A.N.; Omar, A.K.M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J. Food Eng.* **2013**, *117*, 426–436, doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014.
16. Plaskova, A.; Mlcek, J. New insights of the application of water or ethanol-water plant extract rich in active compounds in food. *Front. Nutr.* 2023, *10*.
17. Sengun, I.Y.; Kirmizigul, A.; Atlama, K.; Yilmaz, B. The viability of *Lactobacillus rhamnosus* in orange juice fortified with nettle (*Urtica dioica* L.) and bioactive properties of the juice during storage. *Lwt* **2020**, *118*, doi:10.1016/j.lwt.2019.108707.
18. Craig, W.J.; Fresán, U. International analysis of the nutritional content and a review of health benefits of non-dairy plant-based beverages. *Nutrients* **2021**, *13*, 1–14, doi:10.3390/nu13030842.
19. Osaloni, A.R.; Arijeniwa, C.O.; Bada, S.O.; Seyifunmi, E.O. Quality assessment of tiger nut milk fortified with *Moringa oleifera* seed powder. *Ovidius Univ. Ann. Chem.* **2019**, *30*, 108–112, doi:10.2478/auoc-2019-0019.
20. Artés-Hernández, F.; Castillejo, N.; Martínez-Zamora, L.; Martínez-Hernández, G.B. Phytochemical fortification in fruit and vegetable beverages with green technologies. *Foods* **2021**, *10*, doi:10.3390/foods10112534.

21. Ghoshal, G.; Kansal, S.K. The emerging trends in functional and medicinal beverage research and its health implication. In *Functional and Medicinal Beverages: Volume 11: The Science of Beverages*; 2019; pp. 41–71 ISBN 9780128163979.
22. Boroski, M.; Giroux, H.J.; Sabik, H.; Petit, H. V.; Visentainer, J. V.; Matumoto-Pintro, P.T.; Britten, M. Use of oregano extract and oregano essential oil as antioxidants in functional dairy beverage formulations. *Lwt* **2012**, *47*, 167–174, doi:10.1016/j.lwt.2011.12.018.
23. Tomova, T.; Petelkov, I.; Shopska, V.; Denkova-Kostova, R.; Kostov, G.; Denkova, Z. Production of Probiotic Wort-based Beverages with Grapefruit (citrus Paradisi L.) or Tangerine (citrus Reticulata L.) Zest Essential Oil Addition. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* **2021**, *20*, 237–245, doi:10.17306/J.AFS.2021.0902.
24. Romuga, G.C.P.; Lizardo, R.C.M. Efficacy of Lemon Grass (Cymbopogon Citratus Stapf.) Essential Oil as a Natural Preservative In Ready-To-Drink Moringa (Moringa Oleifera Lam.) Beverage. *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.* **2020**, *10*, 28–32, doi:10.15414/jmbfs.2020.10.1.28-32.
25. Aidoo, K.E.; Robert Nout, M.J. Functional Yeasts and Molds in Fermented Foods and Beverages. In *Fermented Foods and Beverages of the World*; 2010; pp. 127–148 ISBN 9781420094961.
26. Dinkçi, N.; Akdeniz, V.; Akalin, A.S. Probiotic Whey-Based Beverages from Cow, Sheep and Goat Milk: Antioxidant Activity, Culture Viability, Amino Acid Contents. *Foods* **2023**, *12*, doi:10.3390/foods12030610.
27. Turkmen, N.; Akal, C.; Özer, B. Probiotic dairy-based beverages: A review. *J. Funct. Foods* **2019**, *53*, 62–75, doi:10.1016/j.jff.2018.12.004.
28. Prado, F.C.; Parada, J.L.; Pandey, A.; Soccol, C.R. Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Res. Int.* 2008, *41*, 111–123.
29. Dina, E.; Vontzalidou, A.; Cheilari, A.; Bagatzounis, P.; Agapidou, E.; Giannenas, I.; Grigoriadou, K.; Aligiannis, N. Sustainable Use of Greek Herbs By-Products, as an Alternative Source of Biologically Active Ingredients for Innovative Products. *Front. Nutr.* **2022**, *9*, doi:10.3389/fnut.2022.867666.
30. Skąpska, S.; Marszałek, K.; Woźniak, Ł.; Szczepańska, J.; Danielczuk, J.; Zawada, K.

- The development and consumer acceptance of functional fruit-herbal beverages. *Foods* **2020**, *9*, doi:10.3390/foods9121819.
31. Chang, H.P.; Ma, C.C.; Chen, H.S. The impacts of young consumers' health values on functional beverages purchase intentions. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, doi:10.3390/ijerph17103479.
 32. Cong, L.; Bremer, P.; Miroso, M. Functional beverages in selected countries of asia pacific region: A review. *Beverages* **2020**, *6*, 1–17.
 33. Kim, M.K.; Kwak, H.S. Influence of functional information on consumer liking and consumer perception related to health claims for blueberry functional beverages. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2015**, *50*, 70–76, doi:10.1111/ijfs.12627.
 34. Porras, G.; Chassagne, F.; Lyles, J.T.; Marquez, L.; Dettweiler, M.; Salam, A.M.; Samarakoon, T.; Shabih, S.; Farrokhi, D.R.; Quave, C.L. Ethnobotany and the Role of Plant Natural Products in Antibiotic Drug Discovery. *Chem. Rev.* **2021**, *121*, 3495–3560.
 35. Alshehri, M.M.; Quispe, C.; Herrera-Bravo, J.; Sharifi-Rad, J.; Tutuncu, S.; Aydar, E.F.; Topkaya, C.; Mertdinc, Z.; Ozcelik, B.; Aital, M.; et al. A Review of Recent Studies on the Antioxidant and Anti-Infectious Properties of Senna Plants. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2022**, *2022*.
 36. Dixit, S.; Ali, H. Anticancer activity of Medicinal plant extract-A review. *J. Chem. Cheml. Sci.* **2010**, *1*, 79–85.
 37. Šernaitė, L. Plant extracts: antimicrobial and antifungal activity and appliance in plant protection (Review). *Sodininkystės ir daržininkystė* **2017**, *36*, 58–68.
 38. Lang, Y.; Gao, N.; Zang, Z.; Meng, X.; Lin, Y.; Yang, S.; Yang, Y.; Jin, Z.; Li, B. Classification and antioxidant assays of polyphenols: a review. *J. Futur. Foods* **2024**, *4*, 193–204.
 39. Perron, N.R.; Brumaghim, J.L. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochem. Biophys.* **2009**, *53*, 75–100, doi:10.1007/s12013-009-9043-x.
 40. Rana, A.; Samtiya, M.; Dhewa, T.; Mishra, V.; Aluko, R.E. Health benefits of polyphenols: A concise review. *J. Food Biochem.* **2022**, *46*.

41. Ebrahimi, P.; Lante, A. Polyphenols: A Comprehensive Review of their Nutritional Properties. *Open Biotechnol. J.* **2021**, *15*, 164–172, doi:10.2174/1874070702115010164.
42. Buljeta, I.; Pichler, A.; Šimunović, J.; Kopjar, M. Beneficial Effects of Red Wine Polyphenols on Human Health: Comprehensive Review. *Curr. Issues Mol. Biol.* **2023**, *45*, 782–798.
43. Yehye, W.A.; Rahman, N.A.; Ariffin, A.; Abd Hamid, S.B.; Alhadi, A.A.; Kadir, F.A.; Yaeghoobi, M. Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *101*, 295–312.
44. Bhosale, P.B.; Ha, S.E.; Vetrivel, P.; Kim, H.H.; Kim, S.M.; Kim, G.S. Functions of polyphenols and its anticancer properties in biomedical research: A narrative review. *Transl. Cancer Res.* **2020**, *9*, 7619–7631.
45. Mitra, S.; Tareq, A.M.; Das, R.; Emran, T. Bin; Nainu, F.; Chakraborty, A.J.; Ahmad, I.; Tallei, T.E.; Idris, A.M.; Simal-Gandara, J. Polyphenols: A first evidence in the synergism and bioactivities. *Food Rev. Int.* **2023**, *39*, 4419–4441.
46. de Paulo Farias, D.; de Araújo, F.F.; Neri-Numa, I.A.; Pastore, G.M. Antidiabetic potential of dietary polyphenols: A mechanistic review. *Food Res. Int.* **2021**, *145*.
47. Sun, C.; Zhao, C.; Guven, E.C.; Paoli, P.; Simal-Gandara, J.; Ramkumar, K.M.; Wang, S.; Buleu, F.; Pah, A.; Turi, V.; et al. Dietary polyphenols as antidiabetic agents: Advances and opportunities. *Food Front.* **2020**, *1*, 18–44.
48. Deng, N.; Deng, Z.; Tang, C.; Liu, C.; Luo, S.; Chen, T.; Hu, X. Formation, structure and properties of the starch-polyphenol inclusion complex: A review. *Trends Food Sci. Technol.* **2021**, *112*, 667–675.
49. Bandyopadhyay, P.; Ghosh, A.K.; Ghosh, C. Recent developments on polyphenol-protein interactions: Effects on tea and coffee taste, antioxidant properties and the digestive system. *Food Funct.* **2012**, *3*, 592–605.
50. Sun, L.; Miao, M. Dietary polyphenols modulate starch digestion and glycaemic level: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2020**, *60*, 541–555.
51. Perez-hernandez, L.M.; Nugraheni, K.; Benohoud, M.; Sun, W.; Hernández-álvarez, A.J.; Morgan, M.R.A.; Boesch, C.; Orfila, C. Starch digestion enhances

- bioaccessibility of anti-inflammatory polyphenols from borlotti beans (*Phaseolus vulgaris*). *Nutrients* **2020**, *12*, doi:10.3390/nu12020295.
52. Fernandes, I.; Oliveira, J.; Pinho, A.; Carvalho, E. The Role of Nutraceutical Containing Polyphenols in Diabetes Prevention. *Metabolites* **2022**, *12*.
 53. Rasouli, H.; Farzaei, M.H.; Khodarahmi, R. Polyphenols and their benefits: A review. *Int. J. Food Prop.* **2017**, *20*, 1700–1741.
 54. Malik, F.; Iqbal, A.; Zia, S.; Ranjha, M.M.A.N.; Khalid, W.; Nadeem, M.; Selim, S.; Hadidi, M.; Moreno, A.; Manzoor, M.F.; et al. Role and mechanism of fruit waste polyphenols in diabetes management. *Open Chem.* **2023**, *21*.
 55. Xiao, J.B.; Hogger, P. Dietary Polyphenols and Type 2 Diabetes: Current Insights and Future Perspectives. *Curr. Med. Chem.* **2014**, *22*, 23–38, doi:10.2174/0929867321666140706130807.
 56. Cao, H.; Ou, J.; Chen, L.; Zhang, Y.; Szkudelski, T.; Delmas, D.; Daglia, M.; Xiao, J. Dietary polyphenols and type 2 diabetes: Human Study and Clinical Trial. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2019**, *59*, 3371–3379.
 57. Etebu, E.; Nwauzoma, A.B. A review on sweet orange (*Citrus Sinensis* L Osbeck): health, diseases and management. *Am. J. Res. Commun.* **2014**, *2*, 33–70.
 58. Dosoky, N.S.; Setzer, W.N. Biological activities and safety of citrus spp. Essential oils. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*.
 59. Khandla, S.N.; Vala, M.S.; Maitreya, B.B. A review: phytochemical constituents, medicinal uses and economical value of orange peels (*citrus sinensis* l osbeck). *Int. J. Creat. Res. Thoughts* **2020**, *8*, 2320–2882.
 60. Chand, P.; Rana, S.; Singh, A. A Review on citrus: Medicinal activity of *Citrus X sinensis* (orange). *Int. J. Sci. Dev. Res.* **2020**, *5*, 438–442.
 61. Mahendran, G.; Verma, S.K.; Rahman, L.U. The traditional uses, phytochemistry and pharmacology of spearmint (*Mentha spicata* L.): A review. *J. Ethnopharmacol.* **2021**, *278*.
 62. Adli, D.E.; Brahmi, M.; Ziani, K.; Brahmi, K.; Kahloula, K.; Slimani, M. Chemical Composition, in vitro Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Mentha*

- spicata Essential Oil: A Review. *Phytotherapie* **2022**, *20*, 320–327, doi:10.3166/phyto-2022-0311.
63. Eftekhari, A.; Khusro, A.; Ahmadian, E.; Dizaj, S.M.; Dinparast, L.; Bahadori, M.B.; Hasanzadeh, A.; Cucchiarini, M. Phytochemical and nutra-pharmaceutical attributes of *Mentha* spp.: A comprehensive review. *Arab. J. Chem.* 2021, *14*.
 64. Odieka, A.E.; Obuzor, G.U.; Oyedeji, O.O.; Gondwe, M.; Hosu, Y.S.; Oyedeji, A.O. The Medicinal Natural Products of *Cannabis sativa* Linn.: A Review. *Molecules* 2022, *27*.
 65. Chaachouay, N.; Azeroual, A.; Bencharki, B.; Douira, A.; Zidane, L. *Cannabis sativa* L.: A Review on Traditional Uses, Botany, Phytochemistry, and Pharmacological Aspects. *Tradit. Integr. Med.* 2023, *8*, 97–116.
 66. Hourfane, S.; Mechqoq, H.; Bekkali, A.Y.; Rocha, J.M.; El Aouad, N. A Comprehensive Review on *Cannabis sativa* Ethnobotany, Phytochemistry, Molecular Docking and Biological Activities. *Plants* 2023, *12*.
 67. Sania, R.; Syeda Mona, H.; Shahzad Sharif, M.; Syed Khurram, H.; Nageena, S.; Sumaira, P.; Maryam, M.; Muhammad, F. Biological attributes of lemon: A review. *J. Addict. Med. Ther. Sci.* **2020**, *6*, 030–034, doi:10.17352/2455-3484.000034.
 68. Klimek-szczykutowicz, M.; Szopa, A.; Ekiert, H. Citrus limon (Lemon) phenomenon –a review of the chemistry, pharmacological properties, applications in the modern pharmaceutical, food, and cosmetics industries, and biotechnological studies. *Plants* 2020, *9*.
 69. Magalhães, D.; Vilas-Boas, A.A.; Teixeira, P.; Pintado, M. Functional Ingredients and Additives from Lemon by-Products and Their Applications in Food Preservation: A Review. *Foods* 2023, *12*.
 70. Hartati R; Insanu M; Mudrika S. N.; Fidrianny I Phytochemical compounds and pharmacological activities of lemon (*Citrus limon* L.) – Update Review. *Int. J. Res. Pharm. Sci.* **2021**, *12*, 1496–1505, doi:10.26452/ijrps.v12i2.4727.
 71. Wani, S.A.; Naik, H.R.; Wagay, J.A.; Ganie, N.A.; Mulla, M.Z.; Dar, B.N. *Mentha*: A review on its bioactive compounds and potential health benefits. *Qual. Assur. Saf. Crop. Foods* 2022, *14*, 154–168.

72. Singh, P.; Pandey, A.K. Prospective of essential oils of the genus mentha as biopesticides: a review. *Front. Plant Sci.* 2018, *9*.
73. Mahendran, G.; Rahman, L.U. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on Peppermint (*Mentha × piperita* L.)—A review. *Phyther. Res.* 2020, *34*, 2088–2139.
74. Zalegh, I.; Akssira, M.; Bourhia, M.; Mellouki, F.; Rhallabi, N.; Salamatullah, A.M.; Alkaltham, M.S.; Khalil Alyahya, H.; Mhand, R.A. A review on cistus sp.: Phytochemical and antimicrobial activities. *Plants* 2021, *10*.
75. Tomou, E.M.; Lytra, K.; Rallis, S.; Tzakos, A.G.; Skaltsa, H. An updated review of genus *Cistus* L. since 2014: traditional uses, phytochemistry, and pharmacological properties. *Phytochem. Rev.* 2022, *21*, 2049–2087.