

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Π.Μ.Σ. ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ

με κατεύθυνση

ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΥΔΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΗΜΟΣΙΑ

ΥΓΕΙΑ

**ΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ
ΤΟΥ ΔΕΝΤΡΟΛΙΒΑΝΟΥ ΣΤΟ ΚΡΕΑΣ ΚΑΙ ΤΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΤΟΥ**

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Δ. ΜΑΥΡΙΚΟΣ

Τεχνολόγος Γεωπόνος, ΤΕΙ ΔΥΤΙΚΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ

Λάρισα 2014

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Π.Μ.Σ. ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΙΕΙΝΗ

με κατεύθυνση

ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΥΔΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΗΜΟΣΙΑ

ΥΓΕΙΑ

**ΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ
ΤΟΥ ΔΕΝΤΡΟΛΙΒΑΝΟΥ ΣΤΟ ΚΡΕΑΣ ΚΑΙ ΤΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΤΟΥ**

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Δ. ΜΑΥΡΙΚΟΣ

Τεχνολόγος Γεωπόνος, ΤΕΙ ΔΥΤΙΚΗΣ ΜΑΚΕΔΟΝΙΑΣ

Λάρισα 2014

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Α. Γκόβαρης, Αναπληρωτής Καθηγητής Επιβλέπων
Εργαστήριο Υγιεινής των Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, Τμήμα Κτηνιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Δ. Φλετούρης, Αναπληρωτής Καθηγητής Μέλος Συμβουλευτικής Επιτροπής
Εργαστήριο Υγιεινής και Τεχνολογίας Τροφίμων Ζωικής Προελεύσεως , Τμήμα
Κτηνιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Ν. Σολωμάκος, Επίκουρος καθηγητής Μέλος Συμβουλευτικής Επιτροπής
Εργαστήριο Υγιεινής των Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, Τμήμα Κτηνιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια η χρήση των χημικών συντηρητικών στα τρόφιμα έχει αμφισβητηθεί εξαιτίας των τοξικών και καρκινογόνων επιδράσεων που μπορεί να προκαλέσουν στην ανθρώπινη υγεία. Ταυτόχρονα, η επιθυμία των καταναλωτών για όλο και λιγότερο επεξεργασμένα τρόφιμα έχει οδηγήσει τη βιομηχανία των τροφίμων και τους ερευνητές στην αναζήτηση εναλλακτικών για τη χρήση τους ως αντιοξειδωτικά και αντιμικροβιακά πρόσθετα στο κρέας και τα κρεατοσκευάσματα, όπως τα αιθέρια έλαια. Τα αιθέρια έλαια είναι οι αρωματικές πτητικές ουσίες, οι οποίες είναι διαλυτές στην αλκοόλη, λιγότερο διαλυτές στο νερό και αποτελούνται από μίγμα εστέρων, αλδευδών, κετονών και τερπενίων. Λαμβάνονται κυρίως από φυτικές πρώτες ύλες μετά από απόσταξη με υδρατμούς.

Το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου χρησιμοποιείται εδώ και αιώνες στο κρέας και τα κρεατοσκευάσματα ως αντιοξειδωτικό και ως βελτιωτικό της γεύσης. Αποτελεί μια πηγή πολυφαινολικών ενώσεων και φαινολικών διτερπενίων με κύριες πτητικές ενώσεις όπως η καμφορά, η 1,8-κινεόλη, η βορνεόλη, η βερβενόνη, το α-πινένιο και το καμφενίο. Οι αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες του δεντρολίβανου έχουν διαπιστωθεί τόσο σε *in vitro* όσο και σε *in vivo* μελέτες. Οι μελέτες αυτές έχουν δείξει την ικανότητα του αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου να αναστέλλει ή να επιβραδύνει τη διαδικασία της λιπιδικής υπεροξειδωσης, να επιμηκύνει τον χρόνο συντήρησης των τροφίμων και την ισχυρή αντιμικροβιακή δράση έναντι σημαντικών τροφιμογενών παθογόνων, όπως *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Bacillus cereus* κ.α. Επίσης, σημαντικά αποτελέσματα έχουν καταγραφεί από μελέτες συνδυασμού του αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου με άλλες μεθόδους επεξεργασίας των τροφίμων στα πλαίσια της «τεχνολογίας των εμποδίων». Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας για τη χρήση του αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου ως αντιμικροβιακό και αντιοξειδωτικό πρόσθετο στο κρέας και τα κρεατοσκευάσματα.

ABSTRACT

Currently, chemical antimicrobials are mainly used as food additives. The preference of consumers for products free from synthetic preservatives coupled with the unease about their carcinogenic potential has turned the research interest to new methods of food preservation. Great attention has been attracted on the utilization of spices, plants and their essential oils (EO) as natural antioxidant and antimicrobial agents. Essential oils are volatile liquids obtained from edible herbs, spices and various plants, something that minimises questions about their safe use in foods. They are obtained from plant materials like seeds, leaves, flowers, bulbs, fruits etc by several methods, mainly by steam distillation.

Rosemary essential oil (REO) has been traditionally used in meat and meat products as a flavouring and antioxidant additive. REO is a source of polyphenolic compounds and phenolic diterpenes in main volatile compounds such as camphor, 1,8-cineol, borneol, the verbenone, the α -pinene and camphene.

Many recent studies have shown its strong antioxidant and antimicrobial activity both *in vitro* and *in vivo*. In these studies, it has been found the ability of REO to inhibit lipid oxidation, to lengthen the time of food storage and to inhibit various foodborne pathogens such as *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Bacillus cereus* etc. Promising results have been also reported from the use of REO in combination to existing technologies within the “hurdle concept”, which involves multiple preservation methods.

Aim of this work is to review published data for the use of REO as a natural antioxidant and antimicrobial additive in meat and meat products.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες	i
Κατάσταση πινάκων.....	ii
Κεφάλαιο 1^ο Εισαγωγή	1
1.1.Αιθέρια έλαια	2
1.1.1.Ιστορικά στοιχεία	2
1.1.2.Σύγχρονες χρήσεις	3
1.1.3.Σύνθεση των αιθέριων ελαίων.....	4
1.1.3.1.Τα τερπένια.....	4
1.1.3.2.Αρωματικές ενώσεις.....	7
1.1.4. Εμπορική σημασία.....	7
1.5.Νομοθετικά στοιχεία	9
1.2.Δεντρολίβανο	9
1.2.1.Ενεργά συστατικά.....	10
1.2.2.Προσδιορισμός των ενεργών συστατικών του δεντρολίβανου	14
1.2.3.Ο προσδιορισμός του καρνοσικού οξέος και της καρνοσόλης	16
1.2.3.1.Ανάλυση μέσω της ανεστραμμένης φάση υψηλής απόδοσης, μέθοδος υγρής χρωματογραφίας (HPLC)	16
1.2.3.2.Ανάλυση μέσω της LC-MS υγρή χρωματογραφία- ανίχνευση φασματομετρίας μαζών.....	16
2.3.3.Ανάλυση μέσω της SFE μεθόδου.....	18
1.3.Οι χρήσεις του δεντρολίβανου	19
1.3.1.Η χρήση του δεντρολίβανου στην διατροφή των ζώων	19
1.3.2.Αντιφλεγμονώδης δράση.....	20
1.3.3.Αντιδιαβητική δράση.....	21
1.3.4.Αντιπαρασιτική δράση	22
1.3.5.Αντιμυκητιακή δράση.....	22
1.3.6.Άλλες δράσεις.....	23
Κεφάλαιο 2^οΟι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του δεντρολίβανου	24
2.1.Εισαγωγή	25
2.2.Η αντιοξειδωτική δράση του δεντρολίβανου	26
Κεφάλαιο 3^ο Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες του δεντρολίβανου	34
3.1.Εισαγωγή	35
3.1.2.Αντιμικροβιακή δράση του δεντρολίβανου σε <i>in vitro</i> μελέτες.....	37
3.1.3.Αντιμικροβιακή δράση του δεντρολίβανου σε <i>in vivo</i> μελέτες.....	43
3.1.4.Αντιμικροβιακή δράση του δεντρολίβανου κατά της <i>Listeria monocytogenes</i> 44	
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	50

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες προς τον επιβλέποντα της διπλωματικής μου εργασίας, Καθηγητή κ. Αλέξανδρο Γκόβαρη για την δυνατότητα που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα, τη καθοδήγηση του και την συνεχή επίβλεψη του.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τα μέλη της Τριμελούς μου Επιτροπής, τον Επικ. Καθηγητή κ. Νικόλαο Σολωμάκο για την άριστη συνεργασία, την συνεχή υποστηριξή του και την πολύπλευρη βοήθεια του και τον Καθηγητή κ. Δημήτριο Φλετούρη για τις εποικοδομητικές οδηγίες και συμβουλές του.

Κατάσταση πινάκων

Πίνακας 1. Όγκος συναλλαγών της αγοράς των αιθέριων ελαίων σε παγκόσμια κλίμακα.....	Σελ.8
Πίνακας 2. Παγκόσμια παραγωγή αιθέριων ελαίων.....	Σελ.8
Πίνακας 3. Οι συγκεντρώσεις του ροσμαρινικού οξέος, της καρνοσόλης και του καρνοσικού οξέος σε νωπά φύλλα δεντρολίβανου.....	Σελ.12
Πίνακας 4. Η περιεκτικότητα καρνοσικού οξέος και καρνοσόλης (mg/g) σε εκχύλισμα δεντρολίβανου.....	Σελ.16
Πίνακας 5. Οι δείκτες σταθερότητας εκχυλισμάτων δεντρολίβανου.....	Σελ.27
Πίνακας 6. Περίληψη των μελετών ως προς τον έλεγχο της αντιοξειδωτικής δράσης του αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου στο κρέας και στα προϊόντα κρέατος.....	Σελ.32
Πίνακας 7. Κοινές αλλοιώσεις & παθογόνοι μικροοργανισμοί που συνδέονται με το νωπό κρέας και τα προϊόντα του.....	Σελ.36
Πίνακας 8. Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα (που εκφράζεται σε τιμές MIC) σαν μία συνάρτηση του χρόνου εκχύλισης για εκχύλισμα φύλλων του δενδρολίβανου που λαμβάνονται με SFE στους 300 bar/40 ° C.....	Σελ.41
Πίνακας 9. Η επίδραση αναστολής των φυσικών εκχυλισμάτων του δεντρολίβανου που δοκιμάστηκαν έναντι 11 βακτηρίων αλλοίωσης.....	Σελ.42
Πίνακας 10. Οι τιμές MIC των εκχυλισμάτων δεντρολίβανου που προσδιορίστηκαν με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ.....	Σελ.46
Πίνακας 11. Περίληψη των μελετών της αντιμικροβιακής δράσης του αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου η των συστατικών του σε κρέας και προϊόντα κρέατος.....	Σελ.46

Κεφάλαιο 1^ο

Εισαγωγή

1.1.Αιθέρια έλαια

Σήμερα υπολογίζεται πως περίπου 3000 αιθέρια έλαια είναι γνωστά, και 300 από αυτά θεωρούνται εμπορικώς σημαντικά και προορίζονται ως βελτιωτικά γεύσης στην βιομηχανία τροφίμων, στην βιομηχανία φαρμάκων, καλλυντικών και αρωμάτων. Συγχρόνως στην βιομηχανία κρέατος έχει επέλθει η αντικατάσταση των ακατέργαστων μπαχαρικών με απομονωμένα αιθέρια έλαια και ελαιορητίνες, λόγω του ότι τα αιθέρια έλαια έχουν, σε σύγκριση με τα αποξηραμένα υλικά μπαχαρικών, καλύτερη σταθερότητα κατά την αποθήκευση, μειωμένες απαιτήσεις ως προς τις συνθήκες του χώρου αποθήκευσης, ευκολία χειρισμού και ασφαλής τυποποίηση ως προς τις μικροβιακές επιμολύνσεις (Van de Braak et al. 1999).

Ο όρος «αιθέριο έλαιο» επινοήθηκε τον 16^ο αιώνα από τον Ελβετό μεταρρυθμιστή της ιατρικής, Paracelsus von Hohenheim, όπου ονόμασε το δραστικό συστατικό ενός φαρμάκου Quinta Essentia (Guenther et al.1948). Τα αιθέρια έλαια η αλλιώς αιθοξύλια είναι αρωματικά ελαιώδη υγρά που προέρχονται από φυτικό υλικό (ανθοί, σπόροι, φύλλα, κλαδιά, φλοιοί, βότανα, ξύλο, καρποί και οι ρίζες) είναι διαλυτά στην αλκοόλη και λιγότερο διαλυτά στο νερό και τα κύρια συστατικά τους είναι οι αλδεΐδες, οι κετόνες, τα τερπένια και οι εστέρες (Guenther et al. 1948).

1.1.1.Ιστορικά στοιχεία

Από τον 13^ο αιώνα τα αιθέρια έλαια παρασκευάζονταν στα φαρμακεία και οι φαρμακολογικές δράσεις τους περιγράφονταν στις φαρμακοποιίες. Η χρήση τους δεν φαίνεται να ήταν ευρέως διαδεδομένη στην Ευρώπη μέχρι τον 16^ο αιώνα (Bauer et al. 2001). Τον 16^ο αιώνα υπάρχουν δύο ξεχωριστές αναφορές για την απόσταξη και τη χρήση των αιθέριων ελαίων, από δύο φυσικούς τους Brunschwig και Reiff.

Σε κείμενα τους αναφέρεται ένας σχετικά μικρός αριθμός των ελαίων μεταξύ αυτών του τερεβινθέλαιου το οποίο έχει αναφερθεί από την ελληνική και ρωμαϊκή ιστορία, του ξύλο αρκεύθου, του δενδρολίβανου, της λεβάντας, του γαρύφαλλου, του μοσχοκάρυδου, του γλυκάνισου και της κανέλας (Guenther et al. 1948).

Στα μέσα του 17^{ου} αιώνα, σύμφωνα με τον Γάλλο φυσικό Du Chesne (Quercetanus), η μεθοδολογία παρασκευής και προετοιμασίας των αιθέριων ελαίων ήταν διαδεδομένη και τα φαρμακεία της εποχής ήταν εφοδιασμένα με 15 έως 20 διαφορετικά είδη ελαίων (Guenther et al. 1948). Η πρώτη πειραματική μέτρηση των

αντιμικροβιακών ιδιοτήτων των αιθέριων ελαίων λέγεται ότι έχει πραγματοποιηθεί από το De la Croix το 1881 (Boyle et al. 1955).

Κατά τη διάρκεια του 19^{ου} και 20^{ου} αιώνα η χρήση των αιθέριων ελαίων στην ιατρική υποβαθμίστηκε, εν αντιθέσει με τις βιομηχανίες τροφίμων όπου χρησιμοποιούνταν ως βελτιωτικά γεύσης, όπως και στην αρωματοποιία για τις αρωματικές ιδιότητες που παρουσίαζαν (Guenther et al. 1948).

Η πρώτη μέθοδος παραγωγής αιθέριων ελαίων ήταν η απόσταξη και χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στην Ανατολή (Αίγυπτος, Ινδία και Περσία), πριν από 2000 χρόνια και βελτιώθηκε τον 9^ο αιώνα μ.Χ. Η πρώτη αυθεντική γραπτή αναφορά απόσταξης αιθέριου ελαίου αποδίδεται στο φυσικό Villanova, περίπου το 1235-1311 μ.Χ. (Bauer et al. 2001).

Σήμερα, τα αιθέρια έλαια μπορούν να ληφθούν μέσω της ζύμωσης, της απορρόφησης ή της εκχύλισης. Η μέθοδος της απόσταξης με υδρατμούς είναι η πιο συχνή που χρησιμοποιείται για την εμπορική παραγωγή των αιθέριων ελαίων (Van de Braak et al. 1999).

1.1.2. Σύγχρονες χρήσεις

Οι κυριότερες χρήσεις των αιθέριων ελαίων στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΕΕ) είναι στη βιομηχανία των τροφίμων ως βελτιωτικά της γεύσης, στη φαρμακοβιομηχανία λόγω των λειτουργικών τους ιδιοτήτων και στην αρωματοποιία για τις αρωματικές ιδιότητες που παρουσιάζουν (Bauer et al. 1985, Van Welie et al. 1997, Van de Braak et al. 1999). Επιπλέον, οι ιδιότητες των αιθέριων ελαίων και των επιμέρων συστατικών τους έχουν αξιοποιηθεί σε διάφορα εμπορικά προϊόντα, όπως στην οδοντιατρική ως οδοντιατρικά σφραγιστικά και συμπληρώματα διατροφής για παραγωγικά ζώα, όπως χοιρομητέρες και απογαλακτισμένα χοιρίδια (Van Krimpen et al. 2001, Psley et al. 2002). Σε μικρότερο βαθμό αξιοποιούνται ως αντισηπτικά και εντομοαπωθητικά (Bauer et al. 1985, Manabe et al. 1987, Cox et al. 2000).

Παρά τις βελτιώσεις των μεθόδων παραγωγής στη βιομηχανία τροφίμων, η ασφάλεια των τροφίμων συνεχίζει να αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά ζητήματα για τη δημόσια υγεία. Έχει υπολογιστεί ότι περίπου το 30% των ανθρώπων στις αναπτυγμένες χώρες νοσούν από τροφιμογενείς ασθένειες κάθε χρόνο και το 2000 τουλάχιστον δύο εκατομμύρια άνθρωποι πέθαναν από διαρροϊκές ασθένειες σε παγκόσμιο επίπεδο (WHO 2002). Συνεπώς, υπάρχει ακόμη η ανάγκη ανεύρεσης νέων

μεθόδων για τη μείωση ή την εξάλειψη των παθογόνων μικροοργανισμών από τα τρόφιμα ή σε συνδυασμό με τις υπάρχουσες μεθόδους (Leistner et al. 1978).

Την ίδια στιγμή, στις αναπτυγμένες χώρες παρατηρείται μία αυξανόμενη τάση για λιγότερο επεξεργασμένα τρόφιμα και παράλληλα για τον περιορισμό της χρήσης των χημικών προσθέτων από τη βιομηχανία τροφίμων (Tuley de Silva et al. 1996, Smid et al. 1999).

Η πρόσφατη απόφαση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO) για τη μείωση της κατανάλωσης αλατιού προκειμένου να μειωθεί η συχνότητα των καρδιαγγειακών παθήσεων, αποτελεί επιπλέον λόγο για τη χρήση και άλλων συντηρητικών ουσιών στη βιομηχανία τροφίμων, όπως των φυσικών προσθέτων.

1.1.3. Σύνθεση των αιθέριων ελαίων

Πολυάριθμες δημοσιεύσεις έχουν παρουσιάσει στοιχεία σχετικά με τη σύνθεση των αιθέριων ελαίων. Τα αιθέρια έλαια είναι πολύπλοκα φυσικά μείγματα που μπορεί να περιέχουν περίπου 20 έως 60 συστατικά σε ποικίλες συγκεντρώσεις. Χαρακτηρίζονται από δύο ή τρία βασικά συστατικά σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις (20-70%) σε σύγκριση με άλλα συστατικά που υπάρχουν σε πολύ μικρότερες ποσότητες. Για παράδειγμα, η καρβακρόλη (30%) και η θυμόλη (27%) είναι τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου *Compositum origanum*, η λιναλόλη (68%) του αιθέριου ελαίου *Coriandrum sativum*, η θουζόνη (57%) και η καμφορά (24%) του αιθέριου ελαίου *Artemisia herba-alba*, και 1,8-κινεόλη (50%) του ελαίου *Cinnamomum camphora*, το α-φαιλανδρένιο (36%) και το λιμονένιο (31%) του αιθέριου ελαίου από φύλλα *Anethum graveolens*, μινθόλη (59%) και η μενθόνη (19%) του αιθέριου ελαίου από *Mentha piperita* (= *Mentha piperita*). Η μία βασική ομάδα αποτελείται από τα τερπένια και τα τερπενοειδή και η άλλη από τα αρωματικά και τα αλειφατικά συστατικά, χαρακτηριζόμενα ως χαμηλού μοριακού βάρους (Σχήμα. 1).

1.1.3.1. Τα τερπένια

Τα τερπένια σχηματίζουν δομικές και ποικίλες λειτουργικές κατηγορίες. Είναι κατασκευασμένα από συνδυασμούς διαφόρων μονάδων (C₅) και ονομάζονται ισοπρένια. Η βιοσύνθεση των τερπενίων αποτελείται από τη σύνθεση της ισοπεντενυλδιφωσφορικής (IPP), επανειλημμένης προσθήκης IPPs για τον σχηματισμό του διφωσφορικού πρενυλίου, πρόδρομο των διαφόρων κατηγοριών των τερπενίων,

τροποποίηση του πρενύλιου δισφωσφατάσης με τερπένιο ειδικών συνθετάσεων για τον σχηματισμό του σκελετού του τερπενίου και τέλος, την δευτερεύουσα ενζυματική τροποποίηση (οξειδοαναγωγική αντίδραση) προκειμένου να αποδοθούν οι λειτουργικές ιδιότητες στα διάφορα τερπένια. Τα κύρια τερπένια είναι τα μονοτερπένια (C10) και τερπένια (C15), τα ημιτερπένια (C5), τα διτερπένια (C20), τα τριτερπένια (C30) και τα τετρατερπένια (C40).

Τα μονοτερπένια είναι τα πιο αντιπροσωπευτικά μόρια και αποτελούν το 90% των αιθέριων ελαίων επιτρέποντας το σχηματισμό μιας μεγάλης ποικιλίας δομών, αποτελούμενα από διάφορες λειτουργίες, όπως :

Καρβίδια:

Ακυκλων: μυρκένιο, οκιμενίου, μονοκυκλικό: τερπινένια, ρ-cimene, φελλανδρένιο, δικυκλικό: πινένια, 3-καρένιο, καμφένιο, σαβινένιο.

Αλκοόλες: άκυκλων: γερανιόλη, λιναλόλη, citronellol, lavandulol, νερόλη, μονοκυκλικών: μενθόλη, ένα-τερπινεόλη, καρβεόλη. Δικυκλικό: βορνεόλη, φενχόλη κ.λπ. αλδεΐδες: άκυκλων: γερανιάλη, κιτρονελλάλη, κ.λπ.

Κετόνες:

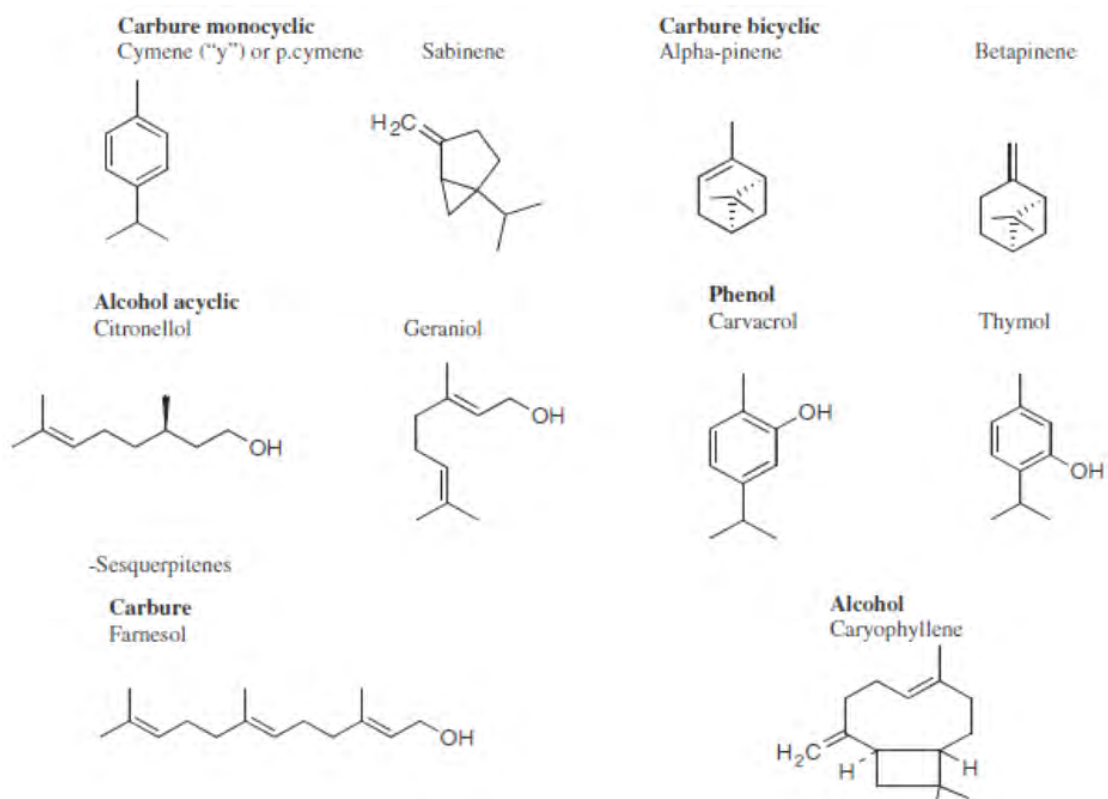
Ακυκλων: tegetone, μονοκυκλικών: menthones, καρβόνης, πουλεγόνη, πιπεριτόνης, δικυκλικό: καμφορά, φενχόνη, Θυϊόνη, ombellulone, pinocamphone, pinocarvone.

Εστέρες: ακυκλικοί: οξικός λιναλυλεστέρας ή προπιονικό, οξικός κιτρονελλυλεστέρας, μονοκυκλικά: μενθύλ ή-τερπίνυλο οξικό.

Δικυκλικό: οξικό ισοβορνύλιο, αιθέρες: 1,8-κινεόλη. Φαινόλες: θυμόλη, καρβακρόλη.

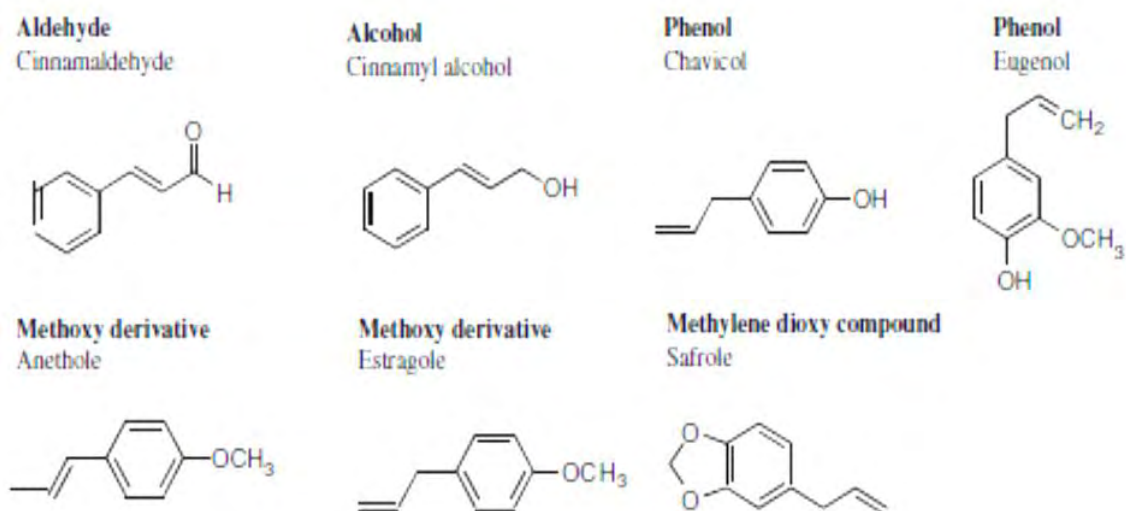
Τερπενοειδή

Μονοτερπένια:

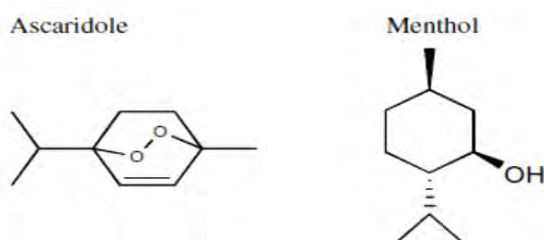


Σχήμα 1. Χημικές δομές επιλεγμένων συστατικών των αιθέριων ελαίων (Bakkali 2008)

Αρωματικές ενώσεις:



Τερπενοειδή (Ισοπρενοειδή):



Σχήμα 2. Χημικές δομές επιλεγμένων συστατικών των αιθέριων ελαίων (Bakkali 2008)

1.1.3.2.Αρωματικές ενώσεις

Οι αρωματικές ενώσεις προέρχονται από το φαινυλπροπάνιο και συναντώνται με μικρότερη συχνότητα από ότι τα τερπένια. Οι Αρωματικές ενώσεις περιλαμβάνουν:

Αλδεΐδες: κινναμωμαλδεΐδη. Αλκοόλες: κινναμωμική αλκοόλη. Φαινόλες: καβικόλη, ευγενόλη. Μεθοξυ-παράγωγα: ανηθόλη, εστραγκόλη, μεθυλευγενόλη. Ενώσεις μεθυλενοδιοξυ: απιόλη, μυριστικήνη, σαφρόλη.

Οι κύριες πηγές των φυτών για αυτές τις αρωματικές ενώσεις είναι ο γλυκάνισος, η κανέλα, το γαρίφαλο, ο μάραθος, το μοσχοκάρυδο, ο μαϊντανός, το εστραγκόν, και μερικές βοτανικές οικογένειες, όπως οι *Ariaceae*, οι *Lamiaceae*, οι *Myrtaceae*, και οι *Rutaceae*.

1.1.4.Εμπορική σημασία

Η παγκόσμια αγορά των αιθέριων ελαίων παρουσιάζει μια συνεχόμενη άνοδο, η οποία δεν δύναται να προσδιοριστεί δεδομένου του ότι τα εκχυλίσματα και δη των φυτικής προέλευσης, είναι επιμέρους συστατικά διαφορετικών προϊόντων. Όπως παρουσιάζεται και στον πίνακα 1 η ανάπτυξη της διεθνής αγοράς των αιθέριων ελαίων εστιάζεται από το 1968 έως το 1998, με τις Η.Π.Α και την Ευρωπαϊκή ένωση να αποτελούν τους βασικούς εξαγωγείς αιθέριων ελαίων.

Πίνακας 1. Όγκος συναλλαγών της αγοράς των αιθέριων ελαίων σε παγκόσμια κλίμακα

	1986	1990	1994	1998
Όγκος συναλλαγών (Αξία σε εκατομμύρια δολάρια)	2.149	4.122	5.051	7.435

(Ο.Η.Ε. 1999) (τροποποιημένο από Σολωμάκο 2008)

Το αιθέριο έλαιο που κατέχει τα μεγαλύτερα ποσοστά παραγωγής παγκοσμίως είναι αυτό του πορτοκαλιού, ακολουθούμενο από τα αιθέρια έλαια του ευκαλύπτου, της κιτρονέλλας, της μέντας και του λεμονιού (Ο.Η.Ε.1999). Στον πίνακα που ακολουθεί, δίνονται στοιχεία για την διεθνή παραγωγή των κυρίως αιθέριων ελαίων.

Πίνακας 2. Παγκόσμια παραγωγή αιθέριων ελαίων (Ο.Η.Ε. 1999)

Αιθέριο έλαιο	Παραγωγή σε τόνους	Αξία (εκατομμύρια δολάρια)
<i>Πορτοκάλι</i>	26.000	58,5
<i>Ευκάλυπτος</i>	3.728	29,8
<i>Κιτρονέλλα</i>	2.830	10,8
<i>Μέντα</i>	2.367	28,4
<i>Λεμόνι</i>	2.158	21,6
<i>Δενδρολίβανο</i>	295	3,5
<i>Βασιλικός</i>	43	2,8
<i>Ρίγανη</i>	62	1,2
<i>Θυμάρι</i>	29	1

Η καλλιέργεια των αρωματικών φυτών στην Ελλάδα εμφανίζει μία σημαντική ανάπτυξη, εξαιτίας των κλιματολογικών συνθηκών που επικρατούν ως αποτέλεσμα να καθιστούν ικανή την ανάπτυξη τους.

1.5. Νομοθετικά στοιχεία

Μια σειρά από συστατικά αιθέριων ελαίων έχουν καταγραφεί και εγκριθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση για την χρήση τους ως βελτιωτικά γεύσης στα τρόφιμα. Οι καταγεγραμμένες αρωματικές ουσίες θεωρούνται μη τοξικές ενώσεις και ως εκ τούτου είναι περισσότερο αποδεκτές από τους καταναλωτές λόγω του ότι δεν παρουσιάζουν κάποιο κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία. Τα κυριότερα συστατικά που περιλαμβάνουν τα αιθέρια έλαια είναι: καρβακρόλη, καρβόνη, κινναμαλδεύδη, κιτράλη, π-κυμένιο, ευγενόλη, λιμονένιο, μενθόλη και θυμόλη.

Ο οργανισμός τροφίμων και φαρμάκων των Η.Π.Α. FDA (Food and Drug Administration) έχει κατατάξει τις προαναφερόμενες αρωματικές ουσίες, ως ευρέως αναγνωρισμένες ως ασφαλείς ουσίες (GRAS). Εν αντίθεση, σε άλλες χώρες οι ενώσεις αυτές αντιμετωπίζονται ως νέα πρόσθετα τροφίμων, αλλά η έγκριση νέων ουσιών σε αυτή την κατηγορία θα απαιτούσε πλήρεις τοξικολογικές και φαρμακολογικές μελέτες, διαδικασίες ιδιαίτερες χρονοβόρες και δαπανηρές.

Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει απαγορεύσει τη χρήση του TBHQ (Tertiary butylhydroquinone) και NDGA (Nordihydroguaiaretic acid) στα τρόφιμα, σαν αντιοξειδωτικά, λόγω των τοξικολογικών ιδιοτήτων που παρουσιάζουν. Οι απαγορεύσεις αυτές οδήγησαν τόσο την βιομηχανία τροφίμων όσο και τους καταναλωτές να στραφούν σε προϊόντα με φυσικά πρόσθετα. Στο πλαίσιο αυτό, πολλοί επιστήμονες διεξάγουν μελέτες στο κρέας και αναζητούν φυσικά πρόσθετα τροφίμων με ένα ευρύ φάσμα αντιοξειδωτικής δράσης, με σκοπό την βελτίωση της ποιότητας και την επιμήκυνση του χρόνου συντήρησης του κρέατος και των προϊόντων του.

1.2. Δεντρολίβανο

Το δενδρολίβανο (*Rosmarinus officinalis L.*) είναι ένας αρωματικός πολυετής αειθαλής θάμνος ο οποίος ανήκει στο γένος *Rosmarinus* και στην οικογένεια των χειλανθών, είναι αυτόφυτος σε πολλά μέρη της Ελλάδας και γενικότερα στις χώρες της Μεσογείου. Προτιμά τα ξηρά και χέρσα εδάφη, και αποτελεί πολύτιμη πηγή τροφής για τις μέλισσες. Το δενδρολίβανο είναι γνωστό και ως αρισμαρί, στην Κύπρο και περιλαμβάνει, εκτός του γνωστού *R. officinalis* που αναφέρεται και ως λιβανωτίς και ως δενδρολίβανον το φαρμακευτικόν και άλλα είδη, μεταξύ των οποίων και τα ακόλουθα: Ροσμαρίνος ο εριοκάλυξ (*R. eriocalyx*) και Ροσμαρίνος ο γναφαλώδης (*R. tomentosus*).

Το όνομα του δεντρολίβανου προέρχεται από τις λατινικές λέξεις « *ros + marinus* » που σημαίνουν « δροσιά της θάλασσας », γιατί θεωρούνταν ότι το φυτό μπορεί να αναπτυχθεί χωρίς πότισμα, αρκούμενο μόνο στην υγρασία που έρχεται από τη θάλασσα. Το δεντρολίβανο τα αρχαία χρόνια, αποτελούσε σύμβολο ομορφιάς και ευφορίας και το ελιξίριο της νεότητας για τις χώρες της Μεσογείου. Οι αρχαίοι Έλληνες το θεωρούσαν δώρο της θεάς Αφροδίτης στους ανθρώπους και οι Ρωμαίοι, κατά τη διάρκεια θρησκευτικών τελετών, κρατούσαν πάντα ένα κλαδί δεντρολίβανο, διότι θεωρούσαν ότι εξασφαλίζουν ευλογημένη ζωή και ειρήνη μετά το θάνατο. Τέλος για τον Χριστιανισμό, αποτέλεσε το ιερό φυτό με το οποίο εκτελούνται οι αγιασμοί των υδάτων.

Μορφολογικά, ο βλαστός του δεντρολίβανου είναι ορθόκλαδος, τετραγωνικός, πολύκλαδος και πυκνόφυλλος. Το ύψος του φτάνει τα 0,5-1,2m. Τα φύλλα του είναι δερματώδη, μικρά, γραμμοειδή και άμισχα. Τα άνθη είναι λευκά ρόδινα η ελαφρώς γαλαζωπά και φύονται πολλά μαζί στις μασχάλες των φύλλων και ανθίζουν κυρίως τον Απρίλιο με Μάιο. Πολλαπλασιάζεται με σπόρους αλλά πιο εύκολα με μοσχεύματα.

Οι βλαστοί έχουν ένα ευχάριστο άρωμα που μοιάζει με αυτό του τσαγιού και η γεύση τους είναι ελαφρώς πικρή και λίγο καυτερή. Σημαντικό είναι επίσης ότι η συγκέντρωση αιθέριου ελαίου στα φύλλα του είναι υψηλότερη από ότι στα άνθη του (Del Bano et al. 2003).

Συναντάται αυτοφυές και ημιαυτοφυές σε ξηρές και πετρώδεις περιοχές της Ν. Ελλάδας Προτιμά τα θερμά και ξηρά κλίματα και είναι ανθεκτικό στη ζέστη και στους ανέμους. Καλλιεργείται ευρέως στην Ελλάδα και στην Ισπανία, την Τυνησία και το Μαρόκο. Το αιθέριο έλαιο του δεντρολίβανου παράγεται κυρίως στις προαναφερόμενες χώρες, εν αντιθέσει οι Η.Π.Α, η Ιαπωνία και η Ευρωπαϊκή Ένωση είναι οι κύριοι εισαγωγείς του αιθέριου ελαίου του δεντρολίβανου.

1.2.1.Ενεργά συστατικά

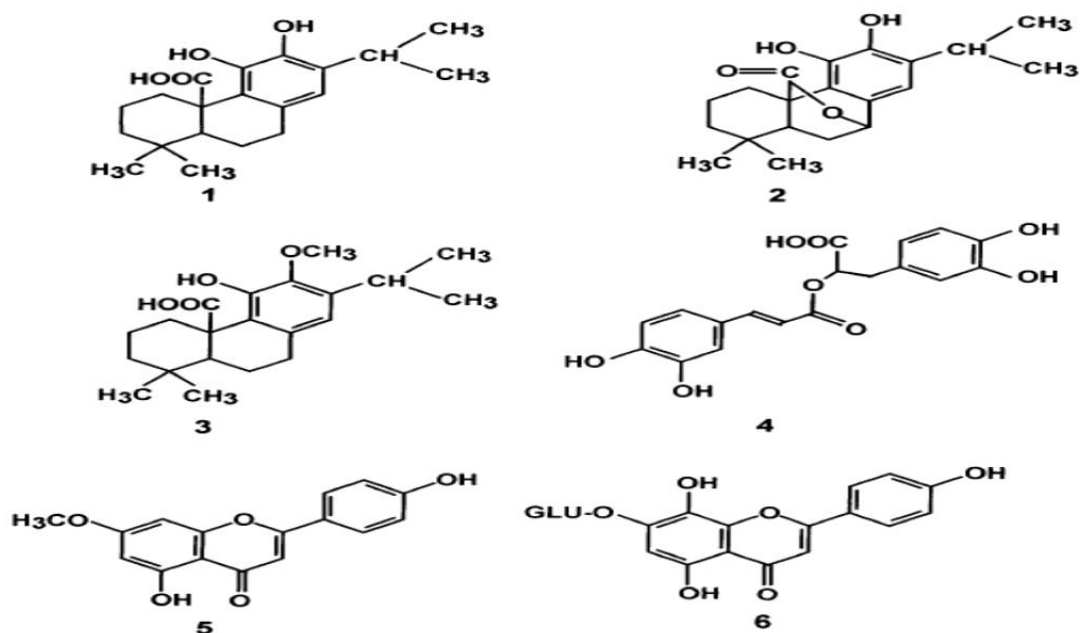
Ένας μεγάλος αριθμός πολυφαινολικών ενώσεων με αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δραστηριότητα και παρουσία φαινολικών διτερπενίων έχουν εντοπιστεί στα φύλλα, στα άνθη και στις ρίζες του δεντρολίβανου (Balasundram et al. 2006). Τα ενεργά συστατικά του δεντρολίβανου είναι τα: α-πινένιο ($C_{10}H_{16}$), 1,8 κινεόλη ($C_{10}H_{18}O$), καμφορά, ροσμανόλη, ισοροσμανόλη, ροσμαρινικό οξύ, καρνοσόλη ($C_{20}H_{26}O_4$), καρνοσικό οξύ ($C_{20}H_{28}O_8$), βορνεόλη και α-τερπινεόλη (Daferera et al. 2000, Pintore et al. 2002, Sotomayor et al. 2009).

Η 1,8 κινεόλη είναι η ένωση που βρίσκεται σε μεγαλύτερα ποσοστά μέχρι και σε ποσοστό 88,9 % στο αιθέριο έλαιο του δεντρολίβανου που φύεται στην Ελλάδα (Daferera et al. 2000). Αναλυτικότερα, το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου αποτελείται κυρίως από τα μονοτερπένια και παράγωγα μονοτερπενίου 95-98%, ενώ το υπόλοιπο 2-5% αποτελείται από ημιτερπένια. Οι κύριες πτητικές ενώσεις του είναι η καμφορά και η 1,8-κινεόλη, ακολουθεί η βορνεόλη, η βερβενόνη, α-πινένιο και το καμφένιο, ενώ δεν περιέχει καρβακρόλη ή θυμόλη.

Οι Ozcan et al. (2008) εντόπισαν στην σύνθεση ελαίου δεντρολίβανου που φύεται στην Τουρκία 20 ενώσεις με p-κυμένιο (44%), λιναλοόλη (21%), γ-τερπινένιο (17%), β-πινένιο (3,6%), α-πινένιο (2,8%), 1,8-κινεόλη (2,6%), θυμόλη (1,8%) να αποτελούν τα κύρια συστατικά. Σύμφωνα με τους Bozin et al. (2007) οι πτητικές ενώσεις του δεντρολίβανου μπορούν να ομαδοποιηθούν στις ακόλουθες χημικές ομάδες, μονοτερπένια, που αντιπροσωπεύουν το 49,8% της συνολικής συγκέντρωσης των πτητικών ενώσεων, τα μονοτερπενία 38,2%, αλκοόλες 5,8%, ημιτερπένια 3,8%, και άλλα μη-ταυτοποιήσιμα 3,0%, κατά αυτό τον τρόπο, τα μονοτερπένια και τα μονοτερπενοειδή αντιπροσωπεύουν το 88,0% των συνολικών πτητικών ενώσεων.

Οι Atti-Santos et al. (2005) βρήκαν πως τα κυριότερα συστατικά του δεντρολίβανου που φύεται στην Βραζιλία είναι το πινένιο με συγκεντρώσεις από 40.55% έως 45.10%, η 1,8-κινεόλη από 17,40 % έως 19,35%, το καμφένιο από 4,73% έως 6,06% και η βερβενόνη από 2,32 % έως 3,86% αντίστοιχα.

Πολλοί ερευνητές έχουν εστιάσει στο ροζμαρινικό και καφεϊκό οξύ, έναντι των υπολοίπων προαναφερόμενων συστατικών, λόγω του ότι παρουσιάζουν δυνητικούς θεραπευτικούς παράγοντες. Το καρνοσικό με την ιδιότητα που κατέχει, ως προς την αποδόμηση σε πολικούς διαλύτες, φαίνεται πως μπορεί να οξειδωθεί και σε άλλες φαινολικές ενώσεις όπως την καρνοσόλη, την ροσμανόλη, την επιροσμανόλη, την 7-μεθυλοεπιροσμανόλη, και σε καρνοσικό μεθυλεστέρα, όπως απεικονίζεται στο σχήμα 2 (Sokmen et al. 2003, Deba et al. 2008).



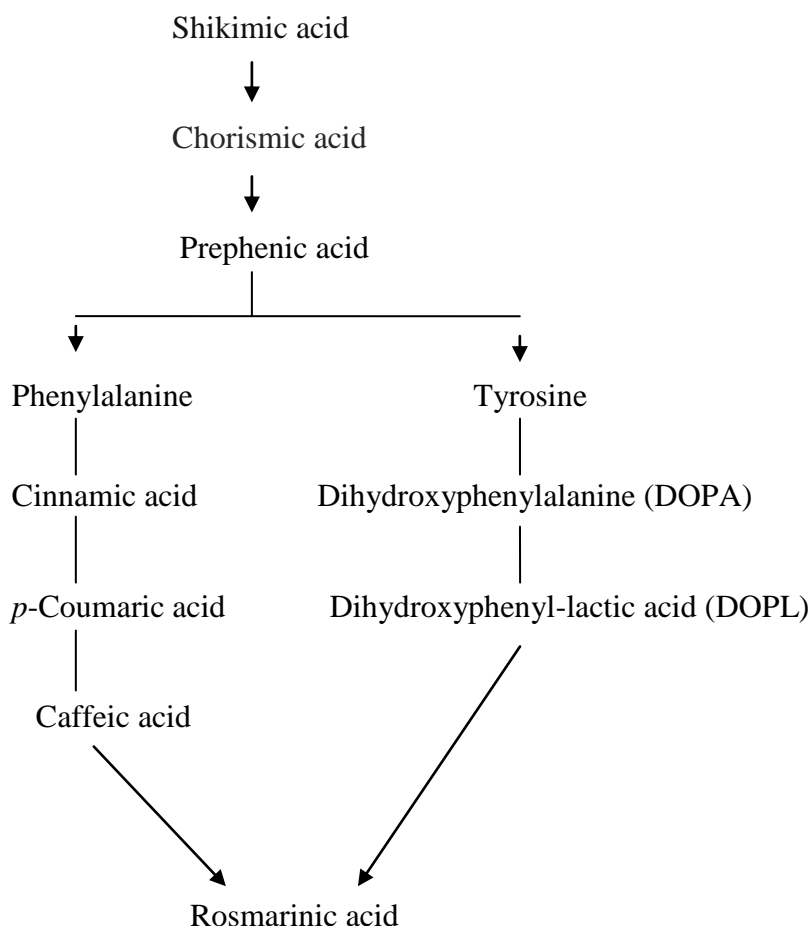
Σχήμα 2. Η αποδόμηση του καρνοσικού οξέος σε : καρνοσικό οξύ (1), καρνοσόλη (2), 12-Ο-μεθυλοκαρσονικό οξύ (3), ροσμαρινικό οξύ (4), arigenin 7-μεθυλο αιθέρας (5) και ισοσκουτελαρεΐνη 7-Ο-γλυκοσίδη (Del Bano et al. 2003).

Σύμφωνα με τους Hernandez et al. (2009) από τα νωπά φύλλα δεντρολίβανου, μπορούν να ληφθούν, το ροζμαρινικό οξύ, η καρνοσόλη και το καρνοσικό οξύ. Οι συγκεντρώσεις τους παρουσιάζονται στο Πίνακα 3 ανά mg/mg εκχυλίσματος δεντρολίβανου

Πίνακας 3. Οι συγκεντρώσεις του ροσμαρινικού οξέος, της καρνοσόλης και του καρνοσικού οξέος σε νωπά φύλλα του δεντρολίβανου (τροποποιημένο από Hernandez 2009).

Εκχύλισμα	Ροσμαρινικό οξύ	Καρνοσόλη	Καρνοσικό οξύ
Νωπά φύλλα δεντρολίβανου	0.0141 ± 0.018	0.0882 ± 0.0305	0.2634 ± 0.196

Στο σχήμα 3 που παρατίθεται, απεικονίζεται η βιοσυνθετική διαδικασία του καφεϊκού οξέως (CA), των διυδροξυφαινυλο-λακτικών οξέων (DOPL) και του ροζμαρινικού οξέος. Όπως παρουσιάζεται, το σιμικικό οξύ δίνει τα αρωματικά αμινοξέα, όπως την φαινυλαλανίνη και την τυροσίνη. Το ροζμαρινικό οξύ προέρχεται από το καφεϊκό οξύ (CA) και από τα διυδροξυφαινυλο-λακτικά οξέα (DOPL), (AI-Sereiti et al. 1999).



Σχήμα 3. Η βιοσυνθετική διαδικασία του καφεϊκού οξέως (CA), των διυδροξυφαινυλο-λακτικών οξέων (DOPL) και του ροζμαρινικού οξέος (τροποποιημένο από AI-Sereiti 1999).

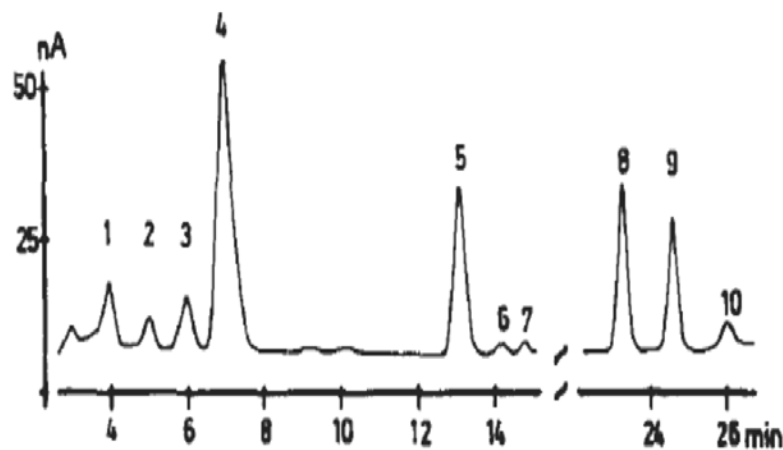
Οι Del Bano et al. (2003) αναφέρουν πως τα προϊόντα του δεντρολίβανου (αιθέριο έλαιο και αποσταγμένα εκχυλίσματα των φύλλων του) παρουσιάζουν διαφορές ως προς την περιεκτικότητά τους σε πολυφαινόλες και αυτό οφείλεται στην υπάρχουσα ποικιλομορφία, στις κλιματικές συνθήκες και στο χρόνο συγκομιδής τους. Ως προς την διανομή και την βιοσύνθεση των πολυφαινολικών ενώσεων, τρεις διαφορετικοί σκελετοί πολυφαινολών λαμβάνουν δράση και συγκεκριμένα, τα φαινολικά διτερπένια, τα παράγωγα του ροζμαρινικού οξέος και τα φλαβονοειδή, όπου παρουσιάζουν μια

χαρακτηριστική συμπεριφορά και διανομή κατά τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου, με υψηλότερο ποσοστό συσσώρευσης, που σχετίζεται με τα πρώιμα στάδια ανάπτυξης του δεντρολίβανου.

Η περιεκτικότητα του δεντρολίβανου σε πολυφαινόλες καθορίζεται από τις επικρατούσες κλιματικές και εδαφολογικές συνθήκες, από το στάδιο της βλαστικής περιόδου και από τον εκάστοτε μηχανικό διαχωρισμό που εφαρμόζεται. Επιπλέον υπάρχει η δυνατότητα διαφορετικά εκχυλίσματα των πολυφαινόλων, να ληφθούν από τη διαδοχική εκχύλιση των αποσταγμένων φύλλων του δεντρολίβανου με μεθανόλη, ή ακετόνη.

1.2.2. Προσδιορισμός των ενεργών συστατικών του δεντρολίβανου

Σύμφωνα με τους Schwarz et al. (1992) η αρκετά χαμηλή σταθερότητα των φαινολικών διτερπενίων, απαιτεί γρήγορη επεξεργασία των εκχυλισμάτων του δεντρολίβανου και των λιπών με προσθήκη εκχυλισμάτων δεντρολίβανου. Γενικώς τα εκχυλίσματα που διατίθενται στο εμπόριο μπορούν να διαλυθούν σε μεθανόλη και να αναλυθούν άμεσα χωρίς προηγούμενη επεξεργασία των φαινολικών διτερπενίων σε λίπος. Στο Σχήμα 4 που παρατίθεται, απεικονίζεται το χρωματογράφημα ενός τυπικού εμπορικού εκχυλίσματος δεντρολίβανου μεταξύ ενός φυσικού μείγματος τοκοφερόλης.

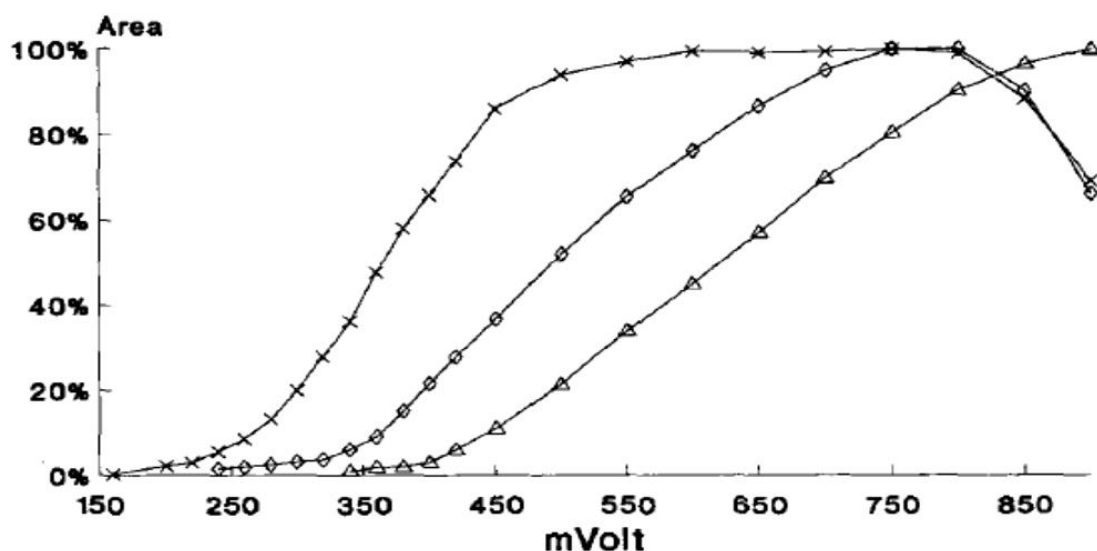


Σχήμα 4. Χρωματογράφημα εκχυλίσματος δεντρολίβανου μεταξύ ενός φυσικού μείγματος τοκοφερόλης (Schwarz et al. 1992).

Για τον προσδιορισμό των φλαβονοειδών και άλλων πολικών φαινολικών ουσιών έχουν εφαρμοσθεί ποικίλες μέθοδοι, όπως η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και η Υπεριώδης ακτινοβολία ή διαφορετικά Φθορομετρική ανίχνευση. Τα φαινολικά διτερπένια μέχρι στιγμής είναι τα πιο γνωστά συστατικά που

θα μπορούσαν να ανιχνευθούν από το δεντρολίβανο σύμφωνα με τους Schwarz et al. (1992). Οι Schwarz et al. (1992) αναφέρουν επίσης ότι ένας αξιόπιστος προσδιορισμός των επιμέρους συστατικών του εκχυλίσματος του δεντρολίβανου είναι εφικτός, ακόμη και στα εδάδια λίπη που χρησιμοποιούνται κάτω από θερμικές συνθήκες με τα εκχυλίσματα του δεντρολίβανου να προστίθενται ως αντιοξειδωτικά. Στα προϊόντα της θερμικής αποσύνθεσης των λιπών και στο εκχύλισμα του δεντρολίβανου συνήθως δεν εφαρμόζεται η ηλεκτροχημική ανίχνευση, λαμβάνοντας υπόψη ότι με τη χρήση ανίχνευσης υπεριώδους ακτινοβολίας (230 nm^2) οι κορυφές των συστατικών του εκχυλίσματος αλληλεπικαλύπτονται με τις κορυφές των καταλοίπων της θερμικής αποσύνθεσης. Επομένως, οι συνθήκες εκχύλισης χρήζουν σημασίας μιας και μπορούν να οδηγούν σε ταχεία αποδόμηση της καρνοσόλης και του ανθρακικού οξέος.

Στο σχήμα 5 που παρατίθεται, απεικονίζεται η επίδραση της δυναμικής τάσης στην περιοχή του σήματος που μετρήθηκε. Το σχήμα της σιγμοειδούς καμπύλης δείχνει ότι το μέγιστο δυναμικό τάσης για την ανίχνευση είναι στα + 800 mV. Τα αντίστοιχα δυναμικά μισού κύματος για τις ουσίες της ροσμανόλης, επί της ροσμανόλης, καρνοσόλης και 7-μεθυλ-ροσμανόλης κυμαίνονται μεταξύ 365 mV έως + 670 mV. Το χαμηλό δυναμικό μισού κύματος του καρνοσικού οξέος υποδεικνύει την υψηλή οξειδωτική αστάθεια της ένωσης σύμφωνα με τους Schwarz et al. (1992).



Σχήμα 5. Η επίδραση του δυναμικού τάσης (mV), στην περιοχή του σήματος που μετρήθηκε (Schwarz et al. 1992).

1.2.3.Ο προσδιορισμός του καρνοσικού οξέος και της καρνοσόλης

Ο προσδιορισμός του καρνοσικού οξέος και της καρνοσόλης, των δύο σημαντικότερων συστατικών του εκχυλίσματος δεντρολίβανου γίνεται με τις εξής μεθόδους :

1.2.3.1.Ανάλυση μέσω της ανεστραμμένης φάση υψηλής απόδοσης, μέθοδος υγρής χρωματογραφίας (HPLC)

Οι Nobuyuki et al. (1994) βρήκαν ότι το καρνοσικό οξύ είναι το κύριο συστατικό που ευθύνεται για την αντιοξειδωτική δραστηριότητα του δεντρολίβανου, μέσω της μεθόδου της υγρής χρωματογραφίας (HPLC). Όπως φαίνεται στον Πίνακα 4 που παρατίθεται, το καρνοσικό οξύ αντιπροσωπεύει ένα από τα βασικά συστατικά του εκχυλίσματος των φύλλων με συγκεντρώσεις από 1.24-4.21%. Παρόλο που το καρνοσικό οξύ και η καρνοσόλη δεν παρατηρούνται στο εκχύλισμα των ριζών, η κρυπτοτανσινόνη, ένα αβιετανίου τύπου διτερπένιο, υπήρχε ως κύριο συστατικό αντί αυτών των ενώσεων.

Πίνακας 4. Η περιεκτικότητα καρνοσικού οξέος και καρνοσόλης (mg/g) σε εκχύλισμα δεντρολίβανου (τροποποιημένο από Nobuyuki 1994).

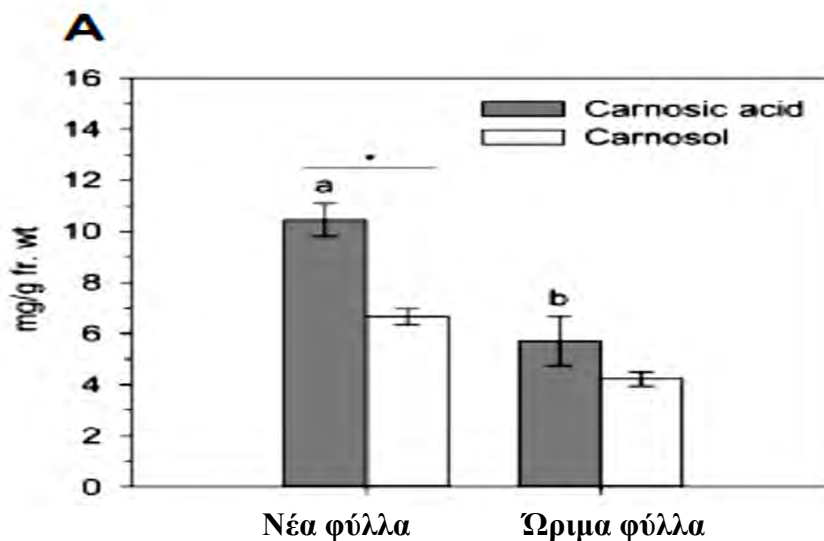
Δεντρολίβανο	Καρνοσικό Οξύ	Καρνοσόλη
<i>Ξερά Φύλλα</i>	42.05 ± 0.19	3.87 ± 0.10
<i>Νωπά Φύλλα</i>	22.79 ± 0.40	2.38 ± 2 0.04
<i>Νωπά Στελέχη</i>	0.13 ± 0.01	0.10 ± 0.01
<i>Νωπές Ρίζες</i>	Δεν ανιχνεύθηκε	Δεν ανιχνεύθηκε

1.2.3.2.Ανάλυση μέσω της LC-MS υγρή χρωματογραφία- ανίχνευση φασματομετρίας μαζών

Οι Bruckner et al. (2014) βρήκαν μέσω της LC-MS (υγρή χρωματογραφία-ανίχνευση φασματομετρίας μαζών), πως το καρνοσικό οξύ και η καρνοσόλη παράγονται στα φύλλα του δενδρολίβανου και συσσωρεύονται στα εσωτερικά τοιχώματα των φύλλων. Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 6 που παρατίθεται πιο κάτω, το

καρνοσικό οξύ και η καρνοσόλη εντοπίζεται σε άφθονες ποσότητες στα νεαρά φύλλα με τιμές της τάξεως των 10,5 mg / g ανά κ.β. και 6,7 mg / g ανά κ.β, αντίστοιχα. Η καρσονόλη εμφανίζεται μειωμένη σε γηραιότερα φύλλα, στα τριχώματα φαίνεται να συσσωρεύεται το καρνοσικό οξύ σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, σε σύγκριση με τους άλλους ιστούς των φύλλων.

Το 12-Ο-μεθυλ-καρνοσικό οξύ ανιχνεύθηκε τόσο στα φύλλα όσο και στα τριχώματα. Επίσης βρέθηκε ότι το καρνοσικό οξύ αποθηκεύεται στα αδενικά τριχώματα των νέων φύλλων, ενώ η καρνοσόλη αποθηκεύεται και σε άλλα κύτταρα, όπως και στα νέα φύλλα.



Σχήμα 6. Τα επίπεδα συγκέντρωσης του καρνοσικού οξέος και της καρνοσόλης σε νέα και ώριμα φύλλα δεντρολίβανου (Bruckner et al.2014).

Σύμφωνα με τους Kathleen Bruckner et al. (2014) το καρνοσικό οξύ μπορεί να οδηγήσει σε καρνοσόλη μετά από ενζυματική αφυδρογόνωση, γεγονός που υποδηλώνει ότι η καρνοσόλη μπορεί να συντεθεί στα τριχώματα του φυτού και στη συνέχεια να μεταφέρεται εντός του εσωτερικού των φύλλων, ή εναλλακτικά το καρνοσικό οξύ να μεταφέρεται στο φύλλωμα του φυτού και στη συνέχεια να μετατρέπεται σε καρνοσόλη. Τα αδενικά τριχώματα είναι πιθανό να είναι τα κύρια όργανα που συμβάλλουν στην βιοσύνθεση του καρνοσικού οξέος.

2.3.3. Ανάλυση μέσω της SFE μεθόδου

Οι Raul et al. (2005) αναφέρουν ότι τα εκχυλίσματα δεντρολίβανου που λαμβάνονται μέσω της SFE μεθόδου (υπερκρίσιμης εκχύλισης) παρουσιάζουν πλούσιες ποσότητες συστατικών με αντιοξειδωτικές δραστηριότητες, εν αντίθεση με αυτών του πτητικού ελαίου.

1.2.4. Η δραστηριότητα του δεντρολίβανου

Το εκχύλισμα του δεντρολίβανου είναι οργανοληπτικά αποδεκτό σε συγκεντρώσεις 0,1-0,4%, και εμφανίζει αντιμικροβιακή δράση σε συγκεντρώσεις >0,4% (Jay et al. 1987, Genena et al. 2008). Η επιτυχής δράση του εξαρτάται από τις γονοτυπικές και περιβαλλοντικές διαφορές ανάμεσα στα είδη, από τον χρόνο εκχύλισης του δείγματος και από την τεχνική της εκχύλισης που χρησιμοποιείται για να ληφθεί το εκχύλισμα δεντρολίβανου.

Ένα άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό που διαπιστώθηκε σύμφωνα με τους Denyer et al. (1991), Sikkema et al. (1994) για το αιθέριο έλαιο του δεντρολίβανου είναι η υδροφοβικότητα του, η οποία του επιτρέπει να διεισδύει στα λιπιδικά συστατικά της βακτηριακής κυτταρικής μεμβράνης και στα μιτοχόνδρια, διαταράσσοντας την κυτταρική τους δομή και καθιστώντας τα πιο διαπερατά, με αποτέλεσμα την διαρροή των κρίσιμων μορίων από το εσωτερικό του κυττάρου και τελικά σε θάνατο των βακτηριακών κυττάρων.

Σύμφωνα με τους Faixona et al. (2008) τα οξυγονωμένα μονοτερπένια, εκχυλίσματος δεντρολίβανου φαίνεται να παρουσιάζουν ποικίλου βαθμού κυτταροτοξικότητα. Τα οξυγονωμένα μονοτερπένια, ως τυπικά λιπόφιλες ουσίες, περνούν διαμέσου του κυτταρικού τοιχώματος στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των βακτηρίων με αποτέλεσμα να διαταράσσουν τη δομή τους. Στα βακτήρια, η βλάβη της μεμβράνης είναι αυτή που σχετίζεται με την απώλεια των ιόντων, την μείωση του δυναμικού της μεμβράνης, την κατάρρευση της αντλίας πρωτονίων και την ATP εξάντληση.

Δεδομένου των παραπάνω, η δράση του εκχυλίσματος δεντρολίβανου αποδεικνύεται ως η πιο αποτελεσματική τόσο για την ανάσχεση παθογόνων μικροοργανισμών και βακτηρίων που προκαλούν αλλοιώσεις, σε έτοιμα προς χρήση προϊόντα που περιέχουν ένα υψηλό επίπεδο πρωτεΐνης, όξινου pH, και χαμηλά επίπεδα σε λίπη ή υδατάνθρακες, όσο για την διατήρηση των γεωργικών προϊόντων και των

προϊόντων της θάλασσας, με αντιμικροβιακή αποτελεσματικότητα η οποία καθορίζεται από την εκάστοτε σύνθεση των τροφίμων.

1.3. Οι χρήσεις του δεντρολίβανου

Ιστορικά, το δεντρολίβανο έχει χρησιμοποιηθεί για να θεραπεύσει τον κολικό νεφρού και την δυσμηνόρροια. Στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, γαλλικά νοσοκομεία χρησιμοποιούσαν το δεντρολίβανο ως αντισηπτικό. Σήμερα, θεωρείται ένας αποτελεσματικός χημειοπροληπτικός παράγοντας και ένα ισχυρό αντιμεταλλαξιογόνο (Minnunni et al. 1992). Ενισχύει την γνωστική λειτουργία λόγω του ότι μπορεί να ενεργοποιήσει το συμπαθητικό νευρικό σύστημα, βελτιώνοντας την ποιότητα μνήμης, την ικανότητα συγκέντρωσης αλλά και της διάθεσης των ατόμων (Kosaka et al. 2003).

Αναφέρεται ότι μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της γλυκόζης και τα επίπεδα χοληστερόλης στο αίμα και βοηθάει στον έλεγχο του βάρους. Συμβάλλει στην βελτίωση της κυκλοφορίας του αίματος και στα αποφρακτικά αρτηριακά σύνδρομα (AI-Sereiti et al. 1999). Χρησιμοποιείται στη μαγειρική ως άρτυμα, για την παραγωγή αφεψημάτων, στην βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών, όπως και στον κλάδο της αρωματοθεραπείας (Lemonica et al. 1996).

Σε διάφορες *in vitro* και *in vivo* μελέτες, το δεντρολίβανο χρησιμοποιείται ευρέως για τις αντιμικροβιακές ιδιότητες που παρουσιάζει, καθώς έχει διαπιστωθεί ότι το αιθέριο έλαιο του έχει υψηλή δραστηριότητα έναντι βακτηριακών στελεχών, όπως θετικών κατά Gram βακτηρίων (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* και *Bacillus subtilis*), και Gram αρνητικών βακτηρίων (*Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Escherichia coli*). Έχει αποδειχθεί ότι εκχυλίσματα δεντρολίβανου που περιείχαν επίπεδα καρνοσικού οξέος της τάξεως των 40.49%, είχαν ισχυρή αντιμικροβιακή δραστηριότητα έναντι διαφόρων στελεχών της *Listeria monocytogenes*. Πέραν των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων το αιθέριο έλαιο του δεντρολίβανου παρουσιάζει και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Περαιτέρω ανάλυση των αντιμικροβιακών και αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του δεντρολίβανου θα γίνει στο κεφάλαιο που ακολουθεί.

1.3.1. Η χρήση του δεντρολίβανου στην διατροφή των ζώων

Οι Hidalgo et al. (1998), Luis et al. (2005) και Sotomayor et al. (2009) βρήκαν ότι το δεντρολίβανο είναι μια πηγή πολυφαινόλων στη διατροφή των ζώων, όπου έχει

αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση στην παραγωγή του κρέατος και των προϊόντων του. Οι Monino et al. (2008) βρήκαν ότι τα πιο πλούσια εκχυλίσματα σε καρνοσικό οξύ και καρνοσόλη, ενδείκνυνται για την διατροφή των προβάτων, λόγω του ότι τα φαινολικά διτερπένια είναι βιοδιαθέσιμα μόρια τα οποία μπορούν να καταναμηθούν στον μυ του προβάτου και σε επαρκή υψηλά επίπεδα να δράσουν ως ενδογενή συντηρητικά.

Οι Nieto et al. (2010) βρήκαν πως η χρήση εκχυλισμάτων δεντρολίβανου στο σιτηρέσιο των προβάτων παρατείνουν την διάρκεια του χρόνου συντήρησης και αποθήκευσης τόσο σε ωμό όσο και σε μαγειρεμένο κρέας, αναστέλλει την οξειδωση των λιπιδίων, την τάγγιση και κατά συνέπεια ενισχύει τις οργανοληπτικές ιδιότητες του πρόβειου κρέατος.

Οι Caputi-Jambrenghi et al. (2005) αναφέρουν πως τα εκχυλίσματα του δεντρολίβανου μπορούν να δοθούν σε προβατίνες κατά τη διάρκεια της κύησης, της γαλουχίας και σε αμνούς. Οι κυμαινόμενες δόσεις εκχυλισμάτων δεντρολίβανου που έχουν χρησιμοποιηθεί σε αμνούς (περίπου 90 ημερών) είναι από 0,5 έως 1,2 g ανά kg τροφής.

Σύμφωνα με τους Ortuno et al. (2013) η χρήση αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου στην διατροφή αμνών κατά το στάδιο της πάχυνσης σε συγκεντρώσεις 400 mg με αναλογία καρνοσικού οξέος και καρνοσόλης 1:1 (w:w), βρέθηκε ότι λειτουργεί προστατευτικά έναντι της ανάπτυξης μικροοργανισμών και της οξειδωσης. Επιπλέον, μπορεί να επιμηκύνει τον χρόνο συντήρησης του συσκευασμένου κρέατος υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα από 9 έως 13 ημέρες.

1.3.2. Αντιφλεγμονώδης δράση

Οι Gianmario et al. (2007) αναφέρουν ισχυρή τοπική αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα για το εκχύλισμα του δεντρολίβανου που λαμβάνεται μέσω της διαβροχής των φύλλων και με δραστηριότητα παρόμοια με εκείνη της ινδομεθακίνης. Επιπλέον, η αντιφλογιστική δράση των εκχυλισμάτων του δεντρολίβανου φαίνεται να σχετίζεται με την αντιφλεγμονώδη δράση του συνόλου του φυτού.

Οι Gianmario et al. (2007) βρήκαν πως η βιοδοκιμασία της προσανατολισμένης κλασμάτωσης του εκχυλίσματος δεντρολίβανου, σχετίζεται με τα συστατικά του τριτερπενίου, δεδομένου ότι ένα εμπλουτισμένο με τριτερπένιο κλάσμα παρουσίασε αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα παρόμοια με εκείνη του μητρικού εκχυλίσματος. Η αντιφλεγμονώδης επίδραση αποδίδεται στην αναστολή των διαφόρων φλεγμονωδών

αντιδράσεων, όπως την απελευθέρωση της ισταμίνης και της κυκλοοξυγενάσης. Η δραστηριότητα της ελαστάσης, συμπληρώνει τον μηχανισμό για την παραγωγή του νιτρικού οξειδίου με την τοπική αντιφλογιστική δράση.

Παρά το γεγονός ότι περισσότερο οι λιπόφιλες ουσίες απορροφούνται σε μεγαλύτερο βαθμό, το μικρομερικό οξύ και ο μεθυλεστέρας είναι λιγότερο δραστικοί από ότι το ελεύθερο οξύ, υποδεικνύοντας ένα σημαντικό ρόλο της ελεύθερης καρβοξυλικής ομάδας στην αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα αυτών των ενώσεων. Τέλος η μέθοδος της απόσταξης με υδρατμούς θα μπορούσε να αποτελεί μια οικονομικά συμφέρουσα επιλογή για να ληφθούν τα κλάσματα ή οι ενώσεις εκχύλισματος δεντρολίβανου με τις τοπικές αντιφλεγμονώδη ιδιότητες (Gianmario et al. 2007).

1.3.3. Αντιδιαβητική δράση

Οι Tulay Bakirel et al. (2008) κατέγραψαν τις αντιοξειδωτικές και αντιδιαβητικές ιδιότητες του δεντρολίβανου σε διαβητικούς κονίκλους κατόπιν προσθήκης μονοϋδρικής αλλοζάνης, προκειμένου να αυξήσουν τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα τους. Τα αποτελέσματα τους έδειξαν ότι το εκχύλισμα δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις των 200 mg/kg μείωσε τα επίπεδα της γλυκόζης του αίματος από 19,9% σε 12,4% .

Οι Erenmemis et al. (1997) βρήκαν ότι το εκχύλισμα του δεντρολίβανου παρουσιάζει υπογλυκαιμική δράση, ενώ τα πτητικά έλαια του εμφανίζουν υπεργλυκαιμικές δράσεις.

Οι Eddouks et al. (2003) , Tulay Bakirel et al. (2008) αναφέρουν ότι το εκχύλισμα του δεντρολίβανου θα μπορούσε να παράγει υπογλυκαιμική δράση, μέσω ενός μηχανισμού ανεξάρτητου από την έκκριση της ινσουλίνης, π.χ. από την αναστολή της ενδογενούς παραγωγή γλυκόζης και την αναστολή της εντερικής απορρόφησης της γλυκόζης σύμφωνα με τους Platel et al. (1997).

Εν κατακλείδι, αποδείχτηκε ότι το εκχύλισμα του δεντρολίβανου ασκεί αξιοσημείωτη υπογλυκαιμική και αντιυπεργλυκαιμική δράση, λόγω των πιθανών πολλαπλών επιδράσεων συσχετιζόμενων με τους μηχανισμούς του παγκρέατος και του έξω-παγκρέατος. Διαθέτει την ικανότητα να αναστείλει την υπεροξειδωση των λιπιδίων και να ενεργοποιήσει τα αντιοξειδωτικά ένζυμα (SOD και CAT) στο σακχαρώδη διαβήτη, αποδεικνύοντας πως οι παρατηρούμενες αντιοξειδωτικές ιδιότητες του

εκχύλισματος δεντρολίβανου μπορεί να ευθύνονται εν μέρει για τις αντιδιαβητικό-γενετικές ιδιότητες του.

1.3.4. Αντιπαρασιτική δράση

Οι Miresmailli et al. (2006) βρήκαν πως το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου είναι αποτελεσματικό έναντι εντόμων και ακάρεων. Έχει αποδειχθεί ότι οι υδρατμοί του δεντρολίβανου έχουν ωοκτόνο και λαρβοκτόνο δράση και λειτουργεί ως μέσο υποκαπνισμού ως προς το αραχνοειδές ακάρι. Το εκχύλισμα δεντρολίβανου μπορεί να έχει υποθανατηφόρες ιδιότητες, καθώς ενεργεί ως αποθητική ουσία για τους θρίπους-αραχνών του κρεμμυδιού, με αποτέλεσμα να χαρακτηρίζεται και ως ένα ισχυρό ακαρεοκτόνο.

Οι Miresmailli et al. (2006) αναφέρουν πως το κεντρικό νευρικό σύστημα θεωρείται ότι είναι το σημείο δράσης του αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου στην αμερικανική κατσαρίδα. Το εκχύλισμα δεντρολίβανου έχει περισσότερες από μία θέση δράσης, δεδομένου ότι είναι πολύπλοκο μίγμα. Ως προς την συνέργεια μεταξύ των συστατικών του, παρατηρήθηκε ότι τα επιμέρους συστατικά του διαφέρουν ως προς την τοξικότητα στα δύο στελέχη ξενιστών των ακάρεων και φαίνεται να είναι πιο τοξικό για τα ακάρεα που τρέφονται με ντομάτα από ότι σε εκείνα που τρέφονται με φυτά φασολιού.

1.3.5. Αντιμυκητιακή δράση

Σύμφωνα με τους Hitokoto et al. (1980) το εκχύλισμα δεντρολίβανου κατάφερε να αναστείλει την ανάπτυξη *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus* και *Aspergillus versicolor*, όπως και την παραγωγή τοξινών από αυτούς. Οι Genena et al. (2008) βρήκαν πως το εκχύλισμα δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 5 g αναστέλλει τον μύκητα *Candida albicans* με τιμές MIC των 0,5 mg.mL⁻¹ στους 40 °C για 120-240 λεπτά.

Οι Daferera et al. (2000) αναφέρουν ότι το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου σε συγκέντρωση 1000 µg/ml, κατάφερε να αναστείλει σε ποσοστό 24% την ανάπτυξη του μύκητα *Penicillium digitatum*.

Οι AI-Sereiti et al. (1999) βρήκαν πως το εκχύλισμα δεντρολίβανου αναμιγνυόμενο σε νερό και σε αναλογία (1:10) αναστέλλει την ανάπτυξη του *Candida albicans*, μετά από εφαρμογή πέντε χορηγήσεων ημερησίως, σε ασθενείς με διάφορους

τύπους καρκίνου οι οποίοι δεν ανταποκρίνονταν στην θεραπεία με τη νυστατίνη. Το εκχύλισμα δεντρολίβανου κατάφερε την πλήρη ανάρρωση του *C. albicans* σε 2-4 ημέρες.

1.3.6. Άλλες δράσεις

Οι Ohno et al. (2003) ερευνήσαν την αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου του δεντρολίβανου ενάντια στο *Helicobacter pylori*, έναν μικροοργανισμό ο οποίος ευθύνεται για τις παθήσεις του γαστρεντερικού συστήματος. Το έλαιο του δεντρολίβανου σε συγκέντρωση 0,1% έδειξε πως μπορεί να εμποδίσει πλήρως τον προαναφερόμενο μικροοργανισμό σε θρεπτικό ζωμό (BHI).

Μία επιπλέον ιδιότητα του αιθέριου ελαίου του δεντρολίβανου είναι η ενίσχυση της γνωστικής λειτουργίας. Ανακαλύφθηκε ότι μπορεί να ενεργοποιήσει το συμπαθητικό νευρικό σύστημα, βελτιώνοντας την ποιότητα μνήμης, την ικανότητα συγκέντρωσης αλλά και της διάθεσης των ατόμων (Kosaka et al. 2003). Σύμφωνα με τους AI-Sereiti et al. (1999) το εκχύλισμα δεντρολίβανου βρέθηκε ότι διεγείρει το κεντρικό νευρικό σύστημα τόσο όταν εισπνέεται όσο και όταν χορηγείται μέσω της στοματικής οδού σε ποντικούς, υποδηλώνοντας μια άμεση δράση ενός ή περισσότερων από τα συστατικά του.

Αλκοολούχο εκχύλισμα του δεντρολίβανου έδειξε αντικαταθλιπτική δράση στην καταναγκαστική κολύμβηση που προκλήθηκε στα πλαίσια δοκιμασίας όπου συμμετείχαν 34 ποντίκια σε πλήρη ακινησία (AI-Sereiti et al. 1999). Τέλος, εκχύλισμα δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 1% (w/w) σε θηλυκούς αρουραίους μείωσε σημαντικά την πιθανότητα εμφάνισης νεοπλασμάτων του μαστού κατά 47% και ανέστειλε την *in vivo* δέσμευση του ανθρακένιου (DMBA) στα επιθηλιακά κύτταρα του μαστού κατά 42% (AI-Sereiti et al. 1999).

Κεφάλαιο 2^ο

Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του δεντρολίβανου

2.1.Εισαγωγή

Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, όπως η γεύση, η υφή, η εμφάνιση (χρώμα) και η οσμή ενέχουν μεγάλη σημασία για την επιλογή των τροφίμων από τους καταναλωτές. Το κρέας και τα προϊόντα του κρέατος κατηγοριοποιούνται στα ευπαθή τρόφιμα και ως εκ τούτου, απαιτούν την κατάλληλη προστασία έναντι της οξειδωτικής και μικροβιακής αλλοίωσης κατά τη διάρκεια της παρασκευής, της αποθήκευσης και της διανομής τους.

Ένα ευρύ φάσμα συνθετικών αντιοξειδωτικών, όπως το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT), η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA), ο γαλλικός προπυλεστέρας (PG), η τριτοταγή και η υδροκινόνη (TBHQ), έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως από τη βιομηχανία κρέατος τα τελευταία χρόνια για τον έλεγχο του φαινομένου της οξείδωσης των τροφίμων. Ο τρόπος δράσης των συνθετικών αντιοξειδωτικών βασίζεται στην σάρωση ριζών και στην μείωση του σχηματισμού της έναρξης λιπιδίων, επεκτείνοντας κατά αυτόν τον τρόπο τον χρόνο συντήρησης (π.χ βαθιάς ψύξης) και αποθήκευσης του νωπού κρέατος και των προϊόντων του.

Ωστόσο, η χρήση ορισμένων εξ αυτών των συνθετικών αντιοξειδωτικών στα προϊόντα έχει αμφισβητηθεί αφενός λόγω της αστάθειας που παρουσιάζουν και αφετέρου εξαιτίας των τοξικών και καρκινογόνων επιδράσεων που μπορεί να προκαλέσουν στην ανθρώπινη υγεία. Το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT) έχει αποδειχθεί πως παρουσιάζει μεταλλαξιογόνο δράση, η οποία αποδίδεται στις ετεροκυκλικές αμίνες. Επιπλέον, τα 1-O-εξυλ-2,3,5-τριμεθυλυδροκινόνη (HTHQ), (BHT) και γαλλικός προπυλεστέρας (PG) βρέθηκε ότι προκαλούν ηπατικά προβλήματα σε πείραμα που είχε διενεργηθεί σε ποντικούς. Σήμερα, αρκετές χώρες έχουν ήδη περιορίσει ή ακόμη και απαγορεύσει την χρήση των συνθετικών αντιοξειδωτικών που είναι δυνητικά επιβλαβή για την ανθρώπινη υγεία. Έτσι, το ενδιαφέρον των ερευνητών και των καταναλωτών έχει προκαλέσει η αντικατάστασή τους με φυσικά πρόσθετα, κυρίως φυτικής προέλευσης.

Συγχρόνως, η αποτελεσματικότητα ενός ευρέος φάσματος αιθέριων ελαίων έναντι της οξείδωσης των τροφίμων έχει αποδειχθεί από πολλούς ερευνητές στην προσπάθεια τους να μελετήσουν τις επιδράσεις των αιθέριων ελαίων μεταξύ των οποίων και του δεντρολίβανου. Στις μελέτες αυτές, το αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου έχει εξεταστεί μόνο του ή σε συνδυασμό με άλλα έλαια ή και με άλλους μεθόδους επεξεργασίας των τροφίμων με σκοπό την διατήρηση, την βελτίωση των

οργανοληπτικών ιδιοτήτων και την επιμήκυνση της συντήρησης του κρέατος και των προϊόντων του.

Τα αιθέρια έλαια μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τρεις κυρίως τρόπους στη βιομηχανία κρέατος και συγκεκριμένα με την προσθήκη αιθέριων ελαίων στη διατροφή των αγροτικών ζώων, σε προϊόντα με βάση το κρέας κατά το στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας και στα εδώδιμα υμένα.

2.2. Η αντιοξειδωτική δράση του δεντρολίβανου

Η αντιοξειδωτική δράση του δεντρολίβανου έχει αποδοθεί κυρίως σε συστατικά του, όπως τα φλαβονοειδή, το ασκορβικό οξύ, το καρνοσικό και το ροσμαρινικό οξύ. Όλες οι προαναφερθείσες πολυφαινολικές ενώσεις έχουν την ικανότητα να δρουν ως αντιοξειδωτικά μέσα από μία σύνθετη διαδικασία (Carvalho et al. 2005, Tavassoli et al. 2011, Bubonja et al. 2011, Dilas et al. 2012). Οι Balasundram et al. (2006) βρήκαν πως η αντιοξειδωτική δράση των φαινολών οφείλεται στην ικανότητα να παγιδεύουν τις ελεύθερες ρίζες και να προσφέρουν άτομα υδρογόνου ή ηλεκτρονίων ή χηλικών μεταλλικών κατιόντων.

Οι Del Bano et al. (2003) αναφέρουν πως στα συστήματα λιπιδίων, τα εκχυλίσματα με υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις διτερπενίου είναι πιο αποτελεσματικά, ενώ σε υδατικά συστήματα, το ροσμαρινικό οξύ υποδεικνύει την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση.

Οι Ardestani et al. (2007) αναφέρουν πως ο σχηματισμός των ελεύθερων λιπαρών οξέων ενδέχεται να αποτελεί ένα σημαντικό δείκτη για την οξείδωση των τροφίμων. Οι Naser et al. (2007) αναφέρουν ότι τα εκχυλίσματα από δεντρολίβανο, μπορούν να παρέχουν την αναστολή της οξειδωτικής τάγγισης και να επιβραδύνουν την ανάπτυξη της γεύσης «καμμένου» σε ορισμένα προϊόντα.

Οι Gordon et al. (1990) βρήκαν ότι η σταθερότητα των φαινολικών ριζών μειώνει τον ρυθμό πολλαπλασιασμού και περαιτέρω τις αντιδράσεις και επομένως αυξάνει την οξειδωτική σταθερότητα των λιπιδίων η οποία πιθανολογείται πως είναι υπεύθυνη για την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση του δεντρολίβανου.

Οι Jiang et al. (2006) αναφέρουν πως το συνθετικό αντιοξειδωτικό η υδροκινόνη ή tert-butylhydroquinone (TBHQ), το οποίο αποτελείται από δύο ομάδες υδροξυλίων καθιστά ικανές τις φαινόλες να προσφέρουν πιο εύκολα άτομα υδρογόνου στις ενεργές ελεύθερες ρίζες και να διακόπτουν την αλυσιδωτή τους αντίδραση.

Η χρήση των πολυφαινολών μειώνει το επίπεδο των ενώσεων της οξείδωσης κατά τη διάρκεια της αυτο-οξείδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (λινολεϊκό οξύ). Τα φλαβοβοειδή και ο 7-O-γλυκοζίτης, εμφανίζουν την υψηλότερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα από τις υπόλοιπες ενώσεις του δενδrolίβανου. Ενώ η παρουσία των φλαβόνων στο εκχύλισμα του δενδrolίβανου υποδηλώνει την πιθανή συνεργική συμπεριφορά στην ικανότητα δέσμησης των ριζών (Del Bano et al. 2003).

Οι Fernandez-Lopez et al. (2005) ερεύνησαν την αντιοξειδωτική δράση εκχυλίσματος δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0.10% ως εκχύλισμα ελαίου (OR), 0.15% ως υδατό-αναμίξιμο (WR) και 0.25% ως αναμιγνυόμενο εκχύλισμα με έλαιο και νερό w/w (OWR). Οι αντιοξειδωτικές δραστηριότητες του εκχυλίσματος του δεντρολίβανου εκφράστηκαν σε δείκτη σταθερότητας (SI) και περιγράφονται στον Πίνακα 5 που ακολουθεί.

Πίνακας 5. Οι δείκτες σταθερότητας εκχυλισμάτων δεντρολίβανου (τροποποιημένο από Fernandez-Lopez 2005).

	Εκχύλισμα	Δείκτης σταθερότητας ^x
Υδατό-αναμίξιμο εκχύλισμα δεντρολίβανου (WR)	Duralox ^x (WR)	1.82 ^b
Εκχύλισμα ελαίου δεντρολίβανου (OR)	Herbalox ^x Type HT-0 (OR)	1.78 ^b
Εκχύλισμα δεντρολίβανου με νερό και έλαιο (OWR)	Herbalox ^x Type W (OWR)	1.46 ^c

- Όπου *a-f* : είναι σημαντική διαφορετικότητα (P <0,05)
- Όπου ^x : Δείκτης σταθερότητας : Ο χρόνος επαγωγής (καμπύλες αγωγιμότητας) του χρόνου δειγματοληψίας ως προς την επαγωγή του ελέγχου

Σύμφωνα με τους Elangovan et al. (1994), Del Campo et al. (2000), Martin et al. (2002) τα φαινολικά δι-τερπενοειδή, κύριες ενώσεις του μη-πολικού κλάσματος των εκχυλισμάτων δεντρολίβανου, το ασκορβικό οξύ (γνωστό φυσικό αντιοξειδωτικό) σε συνδυασμό με τα φυσικά φλαβονοειδή φαίνεται να προσελκύουν όλο και περισσότερο την προσοχή όχι μόνο λόγω των αντιοξειδωτικών τους ιδιοτήτων, αλλά και για τις αντικαρκινογόνες και αντι-φλεγμονώδεις ιδιότητες λόγω τις αντι-υπεροξειδωσις των λιπιδίων.

Οι Fernandez et al. (2009) βρήκαν ότι η χρήση εκχυλίσματος δεντρολίβανου και φυτικών ινών πορτοκαλιού σε συγκεντρώσεις 0,02% και 1% αντίστοιχα, καθυστέρησαν την οξείδωση ($P < 0,05$) μορταδέλας σε συνθήκες συντήρησης στους 4 °C για 24 ημέρες.

Οι Han (2005) αναφέρουν πως η προσθήκη αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου σε αίγιο και μοσχαρίσιο κρέας σε συγκεντρώσεις της τάξης των: 0,05, 0,10 και 0,25% παρουσίασε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση σε δείγματα που συντηρήθηκαν στους 4 °C σε διάστημα 6 ημερών. Παρόμοια αντιοξειδωτική δράση παρατηρήθηκε, στα προαναφερθέντα δείγματα κρέατος όταν προστέθηκε χλωριούχο νάτριο (NaCl) σε συγκέντρωση 2 %.

Οι Sanchez Escalante (2001) απέδειξαν ότι το εκχύλισμα δεντρολίβανου σε σκόνη και σε συγκεντρώσεις 1000 ppm παρεμπόδισε την οξείδωση μπιφτεκιών από μοσχαρίσιο κρέας, που συσκευάστηκαν υπό συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας και συντηρήθηκαν σε θερμοκρασία των 2 ± 1 °C για 20 ημέρες .

Οι Govaris et al. (2007) αναφέρουν ότι η χρήση δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0,5 και 1,0 g /100g με την τροφή σε γαλοπούλες ανέστειλαν την οξείδωση του κρέατος τους κατά το στάδιο συντήρησης στους 4 °C σε διάστημα 12 ημερών.

Μοσχαρίσιες μπιριζόλες συσκευάστηκαν σε συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας και συντηρήθηκαν σε θερμοκρασία 1 ± 1 °C για 29 ημέρες σε συνδυασμό με τη βιταμίνη C (500 ppm). Ο παραπάνω συνδυασμός ήταν ιδιαίτερα δραστικός σύμφωνα με τους Djehane et al. (2002).

Οι Korczak et al. (1988) & Lindberg et al. (1996), αναφέρουν πως το εκχύλισμα δεντρολίβανου επιβραδύνει τον ρυθμό της οξειδωτικής διαδικασίας σε ψημένο χοιρινό κρέας και σε μπιφτέκια χοιρινού.

Οι M. Karpinska et al. (2000) βρήκαν ότι το εκχύλισμα δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 1% και 1,5%, διατήρησε τα βέλτιστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά σε

κρέας υπό μορφή κιμά έπειτα από θερμική επεξεργασία, τα οποία παρέμειναν αποδεκτά και μετά από 5 μήνες συντήρησης στους -18 °C.

Οι Mielnik et al. (2002) αναφέρουν ότι η προσθήκη εκχυλίσματος δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις από 0,8 έως 2,4 g/kg σε κρέας γαλοπούλας, καθυστέρησαν την οξείδωση του κρέατος κατά την διάρκεια της συντήρησης στους -25 °C από 2 έως 7 μήνες.

Οι Seydim et al. (2006) βρήκαν ότι η προσθήκη εκχυλίσματος δεντρολίβανου σε περιεκτικότητα 0,2% σε συσκευασμένο κιμά στρουθοκαμήλου οδήγησε στην παράταση του χρόνου συντήρησης και ανέστειλε την οξείδωση των λιπιδίων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης σε 3 ± 1 °C, ($P < 0,05$). Επίσης διαπιστώθηκε ότι το εκχύλισμα δεντρολίβανου είχε προστατευτική δράση στο χρώμα του προϊόντος.

Οι Estevez et al. (2005) αναφέρουν πως η προσθήκη του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου σε επίπεδα 300 και 600 ppm ενίσχυσαν την σταθερότητα των πρωτεϊνών έναντι του φαινομένου της οξείδωσης και μείωσε σημαντικά την απελευθέρωση του σιδήρου από το μόριο της αίμης, σε λουκάνικα τύπου *Frankfurters*. Επιπλέον βελτίωσε τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της ποιότητας των λουκάνικων, αναστέλλοντας τον αποχρωματισμό και την φθορά της υφής τους κατά την συντήρησή τους στους 4 °C για 60 ημέρες.

Οι Escalante et al. (2003) βρήκαν πως το εκχύλισμα δεντρολίβανου ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματικό στην αναστολή της οξείδωσης των λιπιδίων σε μπιφτέκια από βόειο κρέας συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και αποθηκευμένα στους 2 ± 1 °C. Το δεντρολίβανο κατάφερε να αναστείλει το σχηματισμό σχεδόν εντελώς της λιπιδικής υπεροξειδωσης για 16 ημέρες, σε μία περίοδο αποθήκευσης 24 ημερών και παρέτεινε τον χρόνο συντήρησής τους, σε 12 από 8 ημέρες.

Οι Martinez et al. (2007) αναφέρουν ότι η προσθήκη εκχυλίσματος δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 1000 ppm και ασκορβικού οξέος σε 500 ppm, καθυστέρησαν τον αποχρωματισμό λουκάνικων χοιρινού κρέατος που φωτίζονται με φίλτρο UV, και παρέτειναν τον χρόνο συντήρησής τους από 8 σε 12 ημέρες.

Οι Georgantelis et al. (2007) βρήκαν ότι το εκχύλισμα δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 200 (mg/kg) συνδυασμό με την χιτοζάνη 10 (g/kg), επιβράδυναν το ρυθμό οξείδωσης των λιπιδίων ($P \leq 0.05$) και συνέβαλαν στην σταθερότητα της διατήρησης του χρώματος σε κατεψυγμένα μπιφτέκια από μοσχαρίσιο κρέας, σε συνθήκες συντήρησης στους 18 °C σε διάστημα 180 ημερών.

Οι Waszkowiak et al. (2007) αναφέρουν πως η αντιοξειδωτική δράση του δενδρολίβανου, ενισχύεται μέσω της χρήσης ινών κολλαγόνου, σε λουκάνικα χοιρινού κρέατος κατά το στάδιο συντήρησης τους στους 4 °C.

Οι O'Grady et al. (2006) ερεύνησαν την επίδραση του εκχυλίσματος δεντρολίβανου σαν συμπλήρωμα διατροφής σε βοοειδή σε συγκεντρώσεις 1000 mg ζώο / ημέρα, για 103 ημέρες πριν από τη σφαγή, και κατέληξαν σε οξειδωτική σταθερότητα. Συγκεκριμένα η προσθήκη εκχυλίσματος δεντρολίβανου (1000 ppm) βελτίωσε σημαντικά το χρώμα και την σταθερότητα των λιπιδίων στο μυ *M. longissimus dorsi* (LD) ($P < 0,05$) σε συνθήκες αποθήκευσης 80% O₂: 20% CO₂ για 8 ημέρες στους 4 °C.

Οι Cadun et al. (2008), Seabra et al. (2011) αναφέρουν ότι η προσθήκη εκχυλίσματος δεντρολίβανου μπορεί να βελτιώσει τις φυσικοχημικές και οργανοληπτικές ιδιότητες των αποφλοιωμένων γαρίδων *vannamei* L. κάτω υπό συνθήκες αποθήκευσης -28.3 ± 3.8 °C για 180 ημέρες, κατά συνέπεια μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτική μέθοδος για να διατηρηθεί η ποιότητα και να μειώσει την υποβάθμιση του κρέατος γαρίδας, πχ. του φαινομένου της τάγγισης.

Οι Hoyle et al. (2011) αξιολόγησαν τις επιδράσεις εκχυλίσματος δεντρολίβανου σε συγκέντρωση 1,000 mg/kg σε συνδυασμό με οξυγαλακτικά βακτήρια 4 στελεχών (*Lactobacillus acidophilus* NP51, *Lactobacillus crispatus* NP 35, *Pediococcus acidilactici* και *Lactococcus lactis* ssp.) για την επιμήκυνση του χρόνου συντήρησης μοσχαρίσιου κιμά κάτω υπό συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας και σε συνθήκες ψύξης 10 °C για 36 ώρες. Τα αποτελέσματα τους δείχνουν πως ο προαναφερόμενος συνδυασμός, παρουσίασε τις μικρότερες τιμές ($P < 0,0001$) θειοβαρβιτουρικού οξέος στα εξεταζόμενα δείγματα.

Οι Schwarz et al. (1992) βρήκαν ότι τα υδατικά εκχυλίσματα που προέρχονται από φύλλα δενδρολίβανου, επιβραδύναν τη λιπιδική υπεροξειδωση σε κρέας βουβάλου καθώς και επιμήκυναν τη διάρκεια συντήρησης τους σε σχέση με τους μάρτυρες κατά τη συντήρησή τους στην ψύξη.

Οι Ahn et al. (2003) αναφέρουν πως το εκχύλισμα δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 1% καθυστέρησε την οξείδωση νωπού κρέατος από μοσχάρι σε συνθήκες συντήρησης του στους 4 °C για 9 ημέρες.

Οι Sagir et al. (2012) βρήκαν πως το εκχύλισμα δενδρολίβανου σε συγκέντρωση 0,4% κατάφερε να επιβραδύνει την τη λιπιδική υπεροξειδωση σε βόειο κρέας, σε αερόβιες συνθήκες συντήρησης στους 4 °C για 180 ημέρες.

Οι Manzoor et al. (2014) αναφέρουν ότι το εκχύλισμα δεντρολίβανου σε συγκέντρωση 200 ppm, ανέστειλε τη λιπιδική υπεροξειδωση σε προμαγειρευμένα και συσκευασμένα μπιφτέκια χοιρινού κρέατος, σε συνθήκες συντήρησης 4.5 ± 0.5 °C για 10 ημέρες.

Οι Nieto et al. (2013) ερεύνησαν την οξειδωτική σταθερότητα των πρωτεϊνών σε μπιφτέκια χοιρινού αποθηκευμένα υπό συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας στους 4 °C για 9 ημέρες και βρέθηκε ότι το εκχύλισμα δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0.05% επιβράδυνε την απώλεια των θειολών του κρέατος, και κατά συνέπεια συνέβαλε στην διατήρηση της σταθερότητας των πρωτεϊνών του.

Οι Balentine et al. (2006) αναφέρουν πως το εκχύλισμα δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις των 3000 ppm, κατάφερε να αναστείλει τη λιπιδική υπεροξειδωση, ($P < 0.05$) να διατηρήσει το χρώμα και να αναστείλει την ανάπτυξη την *Escherichia coli* από 10^7 CFU/g σε 5 CFU/g σε βοειο κρέας και σε συνθήκες συντήρησης στους 4 °C για 144 ώρες.

Σύμφωνα με τους Bozin et al. (2007), το εκχύλισμα δεντρολίβανου ανέστειλε την υπεροξειδωση των λιπιδίων, σε ένα εύρος αναστολής από 17,65% έως 32,35% , σε Fe^{2+}/H_2O_2 σύστημα επαγωγής.

Οι McBride et al. (2006) αναφέρουν πως η συγκέντρωση εκχυλίσματος δεντρολίβανου 0,1% w/w σε συσκευασμένο βόειο κρέας κάτω υπό αναερόβιες συνθήκες στους 4 °C, ήταν αποτελεσματική ως προς τον έλεγχο και την καθυστέρηση της οξειδωσης των λιπιδίων. Επιπλέον συνέβαλε και στην διατήρηση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων του κρέατος και ειδικότερα αυτών του χρώματος.

Οι Han et al. (2005) βρήκαν πως οι συγκεντρώσεις εκχυλίσματος δεντρολίβανου κατάφεραν να παρεμπόδισαν την προ-οξειδωτική επίδραση των 2% NaCl σε ωμά και μαγειρευμένα μπιφτέκια από βοδινό ήταν οι 0,25%, 0,10% και 0,05%.

Οι Murphy et al. (1997) αναφέρουν πως το εκχύλισμα δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0,05% και 0,1% μαζί με αλάτι και φωσφορικό άλας είχε ισχυρή ευεργετική επίδραση στην γεύση σε προτηγανισμένες φέτες μοσχαρίσιου κρέατος τόσο στους 3 °C όσο και στους -20 °C. Επίσης παρουσίασε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση μειώνοντας τις τιμές του θειοβαρβιτουρικού οξέος υπό συνθήκες συντήρησης στους 3 °C για 8 ημέρες και στους -20 °C για 6 μήνες.

Πίνακας 6. Περίληψη των μελετών ως προς τον έλεγχο της αντιοξειδωτικής δράσης του αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου στο κρέας και στα προϊόντα κρέατος.

Είδος κρέατος ή προϊόν κρέατος	Συγκέντρωση ελαίου	Παρατηρήσεις	Αναφορές
Μπιφτέκια βοδινού	0,25%, 0,10% και 0,05%. εκχύλισμα δεντρολίβανου	Αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης σε νωπά και μαγειρεμένα μπιφτέκια.	Han J. & Rhee K.S. (2005)
Βόειο κρέας	0,1% w/w εκχύλισμα δεντρολίβανου	Επιβράδυνση της λιπιδικής υπεροξειδωσης σε συσκευασμένο βόειο κρέας στους 4 °C.	McBride et al.(2006)
Βόειο κρέας	Εκχύλισμα δεντρολίβανου 3000 ppm	Αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης, ($P<0.05$), αναστολή ανάπτυξης της <i>Escherichia coli</i> (10^7 CFU/g) σε βοειο κρέας, στους 4 °C για 144 ώρες.	Balentine et al. (2006)
Μπιφτέκια χοιρινού κρέατος	Εκχύλισμα δεντρολίβανου 0.05%	Επιβράδυνση της λιπιδικής υπεροξειδωσης σε μπιφτέκια χοιρινού στους 4 °C για 9 ημέρες.	Gema et al. (2013)
Μπιφτέκια χοιρινού κρέατος	Εκχύλισμα δεντρολίβανου 200 ppm	Επιβράδυνση της λιπιδικής υπεροξειδωσης σε μπιφτέκια χοιρινού κρέατος , σε συνθήκες συντήρησης 4.5 ± 0.5 ° C για 10 ημέρες. Μείωση τιμών του θειοβαρβιτουρικού οξέος από 30,0 $\mu\text{mol MDA / kg TBARS}$ σε 9,3 $\mu\text{mol MDA / kg}$.	Manzoor et al. (2014)
Μοσχαρίσιο	1% εκχύλισμα δεντρολίβανου	Αναστολή οξειδωσης κρέατος από	Ahn et al.

κρέας		μοσχάρι σε συνθήκες συντήρησης στους 4 °C για 9 ημέρες.	(2003)
Βόειο κρέας	Δεντρολίβανο ως συμπλήρωμα διατροφής ανα 1000 mg ζώο / ημέρα	Προσθήκη εκχυλίσματος δεντρολίβανου (1000 ppm) στο σιτηρέσιο βοειδών επιβράδυνε την οξειδωτική διαδικασία σε μυ <i>M. longissimus dorsi</i> (LD) ($P < 0,05$) σε συνθήκες αποθήκευσης 80% O ₂ : 20% CO ₂ για 8 ημέρες στους 4 ° C.	Grady M.N.O'et al. (2006)
Μπιφτέκια μοσχαρίσιου κρέατος	Εκχύλισμα δεντρολίβανου 200 (mg/kg), χιτοζάνη 10 (g/kg)	Επιβράδυνση της οξείδωσης των λιπιδίων και σταθεροποίηση του χρώματος σε μπιφτέκια από μοσχαρίσιο κρέας, σε συνθήκες συντήρησης στους 18 °C για 180 ημέρες.	Georgantelis et al. (2007)
Κρέας γαλοπούλας	0,8 έως 2,4 g/kg εκχύλισμα δεντρολίβανου	Αναστολή οξείδωσης σε κρέας γαλοπούλας, σε συνθήκες συντήρησης στους -25 °C από 2 έως 7 μήνες.	Mielnik et al. (2002)

Κεφάλαιο 3^ο

Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες του δεντρολίβανου

3.1.Εισαγωγή

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί αποτελούν την βασική αιτία εμφάνισης ασθενειών τροφιμογενούς προέλευσης, παγκοσμίως. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, έχει υπολογιστεί ότι παθογόνοι μικροοργανισμοί τροφιμογενούς προέλευσης ευθύνονται για 9,4 εκατομμύρια περιπτώσεις τροφιμογενών ασθενειών (Scallan et al. 2011). Τα δεδομένα που συλλέγονται από το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής (CDC), και το PulseNet, μέσω του Συστήματος Επιτήρησης νοσημάτων τροφιμογενών επιδημιών, αποκάλυψαν ότι το 2008, συνολικά 1034 ασθένειες τροφιμογενούς προέλευσης αναφέρθηκαν και οδήγησαν σε 23.152 κρούσματα, σε 1276 νοσηλείες και 22 θανάτους (CDC 2011).

Το 2009 στα κράτη μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης, αναφέρθηκαν συνολικά 5550 κρούσματα τροφικής προέλευσης, προκαλώντας 48.964 κρούσματα σε ανθρώπους, 4356 νοσηλείες και 46 θανάτους (EFSA 2011). Οι προαναφερόμενοι αριθμοί δείχνουν ότι η ασφάλεια των τροφίμων εξακολουθεί να είναι ένα ζήτημα ύψιστης σημασίας για τις αναπτυσσόμενες και βιομηχανικές χώρες (Devlieghere et al. 2004, Manas et al. 2004).

Σύμφωνα με το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των Ηνωμένων Πολιτειών (CDC) και το (PulseNet), το 60-70% των κρουσμάτων και των 40-50% των περιπτώσεων που καταγράφονται είναι τροφιμογενείς ασθένειες. Τα κρούσματα αποδίδονται κυρίως σε παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως *Escherichia coli O157: H7*, *Listeria monocytogenes*, *Camylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*.

Πίνακας 7. Κοινός αλλοιογόνος και παθογόνος μικροοργανισμός που συνδέεται με το νερό κρέας και τα προϊόντα του (τροποποιημένο από Dinesh 2013).

Μικροοργανισμοί	Γένη / Είδη
Αλλοιογόνος μικροοργανισμός	
<i>Βακτήρια</i>	<i>Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Brochothrix thermosphacta</i> <i>Moraxella</i> <i>Enterobacter</i> <i>Lactobacillus spp.</i> <i>Leuconostoc spp.</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Klebsiella</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Alcaligenes</i>
<i>Ζύμες/Μύκητες</i>	<i>Candida</i> <i>Torulopsis</i> <i>Rhizopus</i> <i>Sporotrichum</i> <i>Fusarium</i> <i>Monilia</i> <i>Aspergillus</i>
Παθογόνος μικροοργανισμός	<i>Salmonella spp.</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium botulinum</i> <i>Escherichia coli</i> O157:H7 <i>Enterohemorrhagic E. coli</i> <i>(EHEC)</i> <i>Campylobacter spp.</i> <i>Aeromonas hydrophilla</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Arcobacter butzleri</i>

Η διαρκής ανάγκη για βελτίωση της ασφάλειας του κρέατος και των προϊόντων του έχει οδηγήσει στην διεξαγωγή πολυάριθμων μελετών που αφορούν στην προστασία και στην συντήρηση του κρέατος και των προϊόντων του με μεθόδους συντήρησης, όπως την θερμική επεξεργασία, την ακτινοβολία, την ψύξη και την προσθήκη συντηρητικών.

Τα φυσικά συντηρητικά προερχόμενα από εκχυλίσματα φυτών, που έχουν μελετηθεί έναντι παθογόνων μικροοργανισμών, είναι τα εξής: γαρίφαλο, δεντρολίβανο, φασκόμηλο, σκόρδο, λυκίσκος, θυμάρι, κόλιανδρος, ρίγανη κ.α. Οι ενώσεις που είναι υπεύθυνες για την αντιμικροβιακή δράση των φυσικών εκχυλισμάτων είναι ως επί το πλείστον τα πολυφαινολικά συστατικά, τα φλαβονοειδή και οι φαινολικές ενώσεις.

Πολυάριθμες δημοσιεύσεις έχουν τεκμηριώσει την αντιμικροβιακή δράση εκχυλισμάτων φυτικής προέλευσης, συμπεριλαμβανομένης και αυτών του δεντρολίβανου, σε *in vitro* και *in vivo* μελέτες, οι οποίες αναλύονται παρακάτω.

3.1.2. Αντιμικροβιακή δράση του δεντρολίβανου σε *in vitro* μελέτες

Οι Hammer et al. (1999) αναφέρουν ότι οι συγκεντρώσεις εκχυλίσματος δεντρολίβανου που κατάφεραν να αναστείλουν την ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών *Aeromonas sobria*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa* ήταν 0,5, 1>2, 1 και 2%, αντίστοιχα.

Οι Quattara et al. (1997) βρήκαν πως το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου εμφάνισε υψηλή ανασταλτική επίδραση σε αραιώση 1/100 έναντι έξι αλλοιογόνων μικροοργανισμών του κρέατος και των προϊόντων του (*Brochothrix thermoshacta*, *Pseudomonas fluoresceus*, *Serratia liquefaciens*, *Carnobacterium piscicola*, *Lactobacillus curvatus* και *Lactobacillus saki*).

Η συγκέντρωση των 200 ppm εκχυλίσματος δεντρολίβανου βρέθηκε ότι ήταν ικανή να αναστείλει την ανάπτυξη των σπόρων του *Bacillus cereus* (Chaib et al. 1997). Στην ίδια μελέτη αναφέρεται ότι η δράση του δεντρολίβανου κατά των σπόρων του *B. cereus* οφείλεται κυρίως στην δράση που παρουσιάζει το εκχύλισμα του δεντρολίβανου στην λύση των σπόρων.

Οι Govaris et al. (2007) βρήκαν πως η προσθήκη αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου μέσω της τροφής σε γαλοπούλες σε συγκεντρώσεις 0.5 και 1.0 g/100g,

παρουσίασε στατιστικά σημαντικά χαμηλότερους πληθυσμούς της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (O.M.X.), των οξυγαλακτικών και ψυχρόφιλων βακτηρίων όπως και των εντεροβακτηρίων σε σχέση με τους μάρτυρες, σε φιλέτα στήθους από τα σφάγια των πτηνών, κατά τη συντήρησή τους στην ψύξη για χρονικό διάστημα 12 ημερών.

Οι Bozin et al. (2007) αναφέρουν πως αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 1.18% σε θρεπτικό ζωμό Mueller-Hinton στους 4 °C, εμφάνισε υψηλή αντιμικροβιακή δράση έναντι των *Escherichia coli*, *Shigella sonnei* και *Salmonella Typhimurium*.

Οι Angioni et al. (2004) ερεύνησαν την αντιμικροβιακή δράση αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου έναντι των *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Candida albicans* σε θρεπτικό ζωμό PDA στους 37 °C. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου παρουσίασε αντιμικροβιακή δράση έναντι των προαναφερόμενων, σε συγκεντρώσεις 1.75% και 0.48% (v/w).

Οι Moreno et al. (2006) βρήκαν ότι το εκχύλισμα δεντρολίβανου είναι πλούσιο σε πηγές φαινολικών ενώσεων με ισχυρή αντιμικροβιακή δράση έναντι τόσο των Gram-θετικών όσο και των Gram-αρνητικών βακτηρίων. Το υψηλό ποσοστό της αντιμικροβιακής δράσης αποδόθηκε στο καρνοσικό οξύ και στην καρνοσόλη.

Οι Marino et al. (2001) αναφέρουν πως το εκχύλισμα δεντρολίβανου παρουσίασε έντονη βακτηριοστατική δράση τόσο των Gram-θετικών όσο και των Gram-αρνητικών βακτηρίων που μελετήθηκαν. Οι περισσότεροι ευαίσθητοι μικροοργανισμοί στη δράση του ελαίου ήταν η *Escherichia coli* και η *Listeria innocua*, ακόμη και στις χαμηλότερες συγκεντρώσεις ελαίου. Η χαμηλότερη ανασταλτική συγκέντρωση στην οποία αναστάλθηκε η βακτηριακή ανάπτυξη ήταν στο 50% ± 5% για τον *Staphylococcus aureus* και 15% ± 4% για την *Escherichia coli* με συγκεντρώσεις εκχυλίσματος δεντρολίβανου από 1 έως 1000 μg / ml.

Οι Klancik et al. (2009) ερεύνησαν την αντιμικροβιακή δράση αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου έναντι των τροφιμογενών παθογόνων βακτηρίων *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni* και *Salmonella Infantis*. Τα αποτελέσματα τους έδειξαν ότι οι θετικοί κατά Gram μικροοργανισμοί ήταν περισσότερο ευαίσθητοι σε σχέση με τους αρνητικούς κατά Gram, στη δράση του δεντρολίβανου.

Οι Tsai et al. (2008) αναφέρουν ότι το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις των 4 mg / ml παρουσίασε βακτηριοκτόνο δράση κατά του *Streptococcus mutans*.

Οι Seydim et al. (2006) ερεύνησαν την αντιμικροβιακή δράση βρώσιμων φιλμ με την προσθήκη αιθέριων ελαίων, έναντι της *Escherichia coli* O157:H7, του *Staphylococcus aureus*, της *Salmonella enteritidis*, της *Listeria monocytogenes* και του *Lactobacillus plantarum*. Αναλυτικότερα, οι προαναφερόμενες μεμβράνες διέθεταν αναλογίες 1.0-4.0% φυσικών εκχυλισμάτων, όπως δεντρολίβανου, ρίγανης και σκόρδου. Το φιλμ που περιέχει αιθέριο έλαιο ρίγανης αποδείχθηκε πιο αποτελεσματικό έναντι αυτών των βακτηρίων στο επίπεδο 2% από εκείνες που περιέχουν εκχυλίσματα δεντρολίβανου και σκόρδου. Τα βρώσιμα φιλμ με την προσθήκη του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου παρουσίασαν ασθενή αντιμικροβιακή δράση κατά των παθογόνων μικροοργανισμών στους πειραματισμούς που πραγματοποιήθηκαν.

Οι Prabuseenivasan et al. (2006) αναφέρουν πως το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 1:1, 1:5, 1:10, παρουσίασε ισχυρή αντιμικροβιακή δράση έναντι του *Staphylococcus aureus* με ζώνες αναστολής 12.5 ± 1 mm, 10.6 ± 1.0 mm, 8.6 ± 0.2 mm αντίστοιχα. Στις ίδιες συγκεντρώσεις ως προς τον *Bacillus subtilis* οι ζώνες αναστολής που καταγράφηκαν ήταν 14.7 ± 1 mm, 12.8 ± 0.5 mm, 11.2 ± 0.5 mm, 8.9 ± 0.2 mm, αντίστοιχα.

Οι Tavassoli et al. (2011) βρήκαν πως οι συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου για την ανάσχεση ανάπτυξης των μικροοργανισμών *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus delbruekii*, *Saccharomyces cerevisia* και *Candida krusei* ήταν 0.024 ± 0.005 (mg/ml). Τα αποτελέσματα τους έδειξαν ότι μεταξύ των εξεταζόμενων μικροοργανισμών, το αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου εμφάνισε ένα ισχυρό ανασταλτικό αποτέλεσμα κυρίως κατά των *Leuconostoc mesenteroides* και *Lactobacillus delbruekii*.

Οι Jordan et al. (2013) ερεύνησαν την αντιμικροβιακή δράση αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου έναντι δύο Gram αρνητικών και δύο κατά Gram θετικών, παθογόνων μικροοργανισμών τροφιμογενής προέλευσης *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* και *Staphylococcus aureus*. Η ελάχιστη τιμή βακτηριοστατικής συγκέντρωσης αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου που προέκυψε ήταν 0,5 ml / ml, έναντι όλων των εξεταζόμενων μικροοργανισμών.

Οι Hac-Szymanczuk et al. (2011) αναφέρουν πως η χρήση αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 1.5-2.5% σε ζωμό κρέατος ανέστειλε την ανάπτυξη

των κολοβακτηριδίων και των εντερόκοκκων σε διάστημα 7 ημερών και σε συνθήκες συντήρησης στους 4-6 °C.

Οι Smith-Palmer et al. (1998) βρήκαν πως το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου παρουσίασε βακτηριοστατική δράση σε θρεπτικό ζωμό TSB στους 4 °C κατά των παθογόνων *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* και *Escherichia coli* σε συγκεντρώσεις 0.5 , 0.02, >1, 0.04 και >1%, αντίστοιχα.

Οι Yano et al. (2006) αναφέρουν ότι το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου κατάφερε να αναστείλει την ανάπτυξη του παθογόνου μικροοργανισμού *Vibrio parahaemolyticus* σε ζωμό TCBS στους 5 °C και στους 30 °C. Οι συγκεντρώσεις του αιθέριου ελαίου που ανέστειλαν την ανάπτυξη του παθογόνου ήταν 0.5 % και 0.25% για τους 5 °C και τους 30 °C, αντίστοιχα.

Οι Romano et al. (2009) ερεύνησαν *in vitro* την αντιβακτηριακή δράση τεσσάρων υδατοδιαλυτών εκχυλισμάτων του δεντρολίβανου σε συνδυασμό με την υδροξυανισόλη (BHA), έναντι των παθογόνων *Escherichia coli* και του *Staphylococcus aureus* σε ζωμό Mueller Hinton στους 37 °C. Το εκχύλισμα δεντρολίβανου σε συγκέντρωση 18.5 lg/ml με 5 lg/ml (BHA) κατάφερε να αναστείλει την ανάπτυξη του *Staphylococcus aureus* και 43 lg/ml δεντρολίβανου με 5 lg/ml (BHA) την ανάπτυξη της *Escherichia coli*.

Ο Selim (2011) αναφέρει ότι το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου σε θρεπτικό ζωμό (BHI) στους 7 °C παρουσίασε βακτηριοστατική και βακτηριοκτόνο δράση έναντι ανθεκτικών στη βανκομυκίνη εντεροκόκκων (VRE) σε συγκεντρώσεις 0.5% και 1%, αντίστοιχα. Στην ίδια μελέτη αναφέρεται ότι αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου παρουσίασε βακτηριοστατική και βακτηριοκτόνο δράση κατά της *Escherichia coli* σε συγκεντρώσεις 0.25 - 0.5% (vol/vol), αντίστοιχα.

Η αντιμικροβιακή δράση του δεντρολίβανου ερευνήθηκε από τους Santoyo et al. (2005) σε θρεπτικό ζωμό Mueller-Hinton στους 4 °C έναντι των *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* και *Aspergillus niger*. Το έλαιο δεντρολίβανου έδειξε αντιμικροβιακή δραστηριότητα έναντι των προαναφερόμενων μικροοργανισμών και μυκήτων, με ζώνες αναστολής και ελάχιστες βακτηριοκτόνες και μυκητοκτόνες τιμές συγκέντρωσης από 17 σε 33 mm και 2,25 με 0,25 mg / ml. Ο *Staphylococcus aureus* βρέθηκε να είναι από τα πιο ευαίσθητα βακτήρια, σε αντίθεση με τον *Aspergillus niger*.

Οι Panizzi et al. (1993), Gachkar et al. (2007), Celiktas et al. (2007), Aziza Genena et al. (2008) ερεύνησαν τις αντιβακτηριακές και αντιμυκητιακές δράσεις αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου σε συνθήκες επώασης στους 40 °C. Τα αποτελέσματα τους παρατίθενται στον πίνακα 8, όπου είναι εμφανής η ισχυρή αντιβακτηριακή δράση που παρουσίασε το αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου, κυρίως έναντι των κατά Gram-θετικών (*S. aureus* και *B. cereus*) αλλά και των Gram-αρνητικών βακτηρίων (*E. coli* και *P. aeruginosa*).

Πίνακας 8. Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα (που εκφράζεται σε τιμές MIC) σαν μία συνάρτηση του χρόνου εκχύλισης για εκχύλισμα φύλλων του δενδρολίβανου που λαμβάνονται με SFE στους 300 bar/40 °C (τροποποιημένο από Genena 2008).

Χρόνος (λεπτά)	MIC(mg.mL ⁻¹)				
	Αντιβακτηριακή δράση			Αντιμυκητιακή δράση	
	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>	<i>B.cereus</i>	<i>C.albicans</i>
0-60	1.0	1.0	0.5	0.062	>2.0
60-120	1.0	1.0	0.25	0.125	1.0
120-240	1.0	1.0	0.25	0.125	0.5

Οι Jiang et al. (2011) ερεύνησαν την αντιμικροβιακή ικανότητα των συστατικών του δεντρολίβανου έναντι των *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* και *Aspergillus niger*. Το αιθέριο έλαιο του δενδρολίβανου βρέθηκε να είναι το πιο δραστικό εναντίον όλων των βακτηριακών στελεχών όπου έγινε χρήση το 97.41% των συστατικών του δεντρολίβανου. Οι ελάχιστες τιμές ανάσχεσης της για όλους τους μικροοργανισμούς που συμμετείχαν στην δοκιμή βρέθηκε ότι για το α-πινένιο κυμαίνονταν από 0,3% έως 4,0% (v/v) και για την 1,8-κινεόλη από 0,3% έως 0,4% (v/v). Οι Jiang et al. (2011) βρήκαν μία δοσοεξαρτώμενη δράση του εκχυλίσματος δεντρολίβανου και οφείλεται στην βλάβη του κυτταρικού τοιχώματος και της μεμβράνης του βακτηρίου. Επίσης, αποδίδουν την αντιμικροβιακή δράση του δεντρολίβανου σε ένα ή περισσότερα ενεργά συστατικά, λόγω του ότι το εκχύλισμα εμφανίζει διαφορές ως προς την περιεκτικότητα των χημικών του ενώσεων που διαθέτει.

Οι Fernandez-Lopez et al. (2005) ερεύνησαν την αντιμικροβιακή δράση εκχυλίσματος δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0.10% ως εκχύλισμα ελαίου (OR),

0.15% ως υδατό-αναμίξιμο (WR) και 0.25% ως αναμιγνυόμενο εκχύλισμα με έλαιο και νερό w/w (OWR), έναντι των *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*, *Leuconostoc carnosum*, *Lactobacillus curvatus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Brochothrix thermosphacta*, *Brochothrix thermosphacta*, και *Lactococcus lactis*. Τα αποτελεσματα τους έδειξαν ανάσχεση ανάπτυξης των περισσοτέρων μικροοργανισμών όπως παρουσιάζονται στον πίνακα 9, και παράταση του χρόνου συντήρησης ψημένου κρέατος, στους 8 ± 1 °C για 12 ημέρες.

Πίνακας 9. Η επίδραση αναστολής των φυσικών εκχυλισμάτων του *δεντρολίβανου* που δοκιμάστηκαν έναντι 11 βακτηρίων αλλοίωσης (τροποποιημένο από Fernandez-Lopez . 2005).

Βακτηριακά στελέχη	Διάμετρος των ζωνών αναστολής σε mm (6mm)		
	OR	WR	OWR
<i>Br. thermosphacta</i> CRA 788	28.1	19.5	23.8
<i>Br. thermosphacta</i> CRA 7884	25.5	19.5	23.8
<i>Br. thermosphacta</i> CRA 3235	26.4	24	25.1
<i>L. innocua</i> 4202	20.5	17.4	14.2
<i>L. monocytogenes</i> 5105	25	19.5	15.4
<i>Lb. sake</i> 550	21.4	13.4	11.19
<i>Lc. mesenteroides subsp mesenteroides</i> 824	21	16.6	13.8
<i>Lc. mesenteroides subsp dextranicum</i> 882	21	15.4	14.2

<i>Lb. carnosum</i> 558	26.2	23	14.3
<i>Lb. curvatus</i> 860	23.1	16.2	15.4
<i>Lb. lactis</i> FMRD 492	21.8	18.2	13

3.1.3. Αντιμικροβιακή δράση του δεντρολίβανου σε *in vivo* μελέτες

Οι Nam et al. (2006) αναφέρουν ότι η προσθήκη συνδυασμού εκχυλίσματος δεντρολίβανου και τοκοφερόλης, σε συγκεντρώσεις 0.05% και 0.02%, αντίστοιχα σε φιλέτα από χοιρινό κρέας τα οποία έχουν υποστεί ακτινοβόληση έπειτα από 20 ημέρες συντήρησης στους 4 °C, κατάφερε να μειώσει τον μικροβιακό πληθυσμό της *Salmonella typhimurium* από 8.47 σε 2.24 CFU/cm².

Οι Gomes et al. (2012) αναφέρουν πως το εκχύλισμα δεντρολίβανου σε θρεπτικό ζωμό κρέατος παρουσίασε τιμές (MIC) βακτηριοστατική δράση κατά της *Pseudomonas aeruginosa* σε συγκέντρωση 40 µL/mL.

Οι Ahn et al. (2003) αναφέρουν πως το εκχύλισμα δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 1% βρέθηκε να αναστέλλει την ανάπτυξη των *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* και *Salmonella Typhimurium* με αρχικούς πληθυσμούς 3.97 ± 0.11 CFU/g, 4.04 ± 0.16 CFU/g, και 3.64 ± 0.13 CFU/g αντίστοιχα, σε νωπό κρέας από μοσχάρι και σε συνθήκες συντήρησης των 4 °C για 9 ημέρες.

Οι Vasilatos et al. (2013) βρήκαν πως η προσθήκη αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου σε συγκεντρώσεις 0.25% v/w σε συνδυασμό με χιτοζάνη 1.5% σε κρέας γαλοπούλας που συσκευάστηκε υπό κενό και αποθηκεύτηκε στους 2° C, για 21 ημέρες παρουσίασε στατιστικά σημαντικά ($P < 0.05$) χαμηλότερους πληθυσμούς οξυγαλακτικών βακτηρίων σε σχέση με τους μάρτυρες την 12 και 18 ημέρα αποθήκευσης.

Οι Ntzimani et al. (2010) αναφέρουν πως η συγκέντρωση 0.20% αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου κατάφερε να αναστείλει την ανάπτυξη των *Pseudomonas spp.*, *Brochothrix thermosphacta*, *Enterobacteriaceae* και των οξυγαλακτικών βακτηρίων, σε φιλέτα κοτόπουλου στους 4 °C για 25 ημέρες και παρέτεινε τον χρόνο συντήρησης στις ίδιες συνθήκες από 7 έως 8 ημέρες.

Οι Viuda-Martos et al. (2010) βρήκαν πως η προσθήκη αιθέριου έλαιου δεντρολίβανου σε συνδυασμό με φυτικές ίνες πορτοκαλιού σε συγκεντρώσεις 0.02% και 1% αντίστοιχα, εμφάνισε στατιστικά σημαντικά χαμηλότερους πληθυσμούς OMX και οξυγαλακτικών βακτηρίων σε σχέση με τους μάρτυρες, σε συνθήκες συντήρησης στους 4 °C για 24 ημέρες, σε μορταδέλα και σε λουκάνικα τύπου μπολόνια.

Οι Nowak et al. (2012) ερεύνησαν την αντιμικροβιακή δράση συστατικών του αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου, με αναλογίες 27,6% 1,8-κινεόλης, 13,5% λιμονένιο, 13,0% β-πινένιο έναντι του *Brochothrix thermosphacta* σε βόειο κρέας συσκευασμένο σε συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας, κατά τη διάρκεια συντήρησης του υπό συνθήκες ψύξης. Η ελάχιστη βακτηριοστατική συγκέντρωση συστατικών του αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου έναντι του *B.thermosphacta* ήταν 0,5%.

3.1.4. Αντιμικροβιακή δράση του δεντρολίβανου κατά της *Listeria monocytogenes*

Η *Listeria monocytogenes* είναι ένας παθογόνος μικροοργανισμός που είναι ευρέως διαδεδομένος στη φύση και εξαιρετικά σημαντικός για τη βιομηχανία των τροφίμων λόγω της ικανότητας του να αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες ψύξης. Είναι ένα Gram-θετικό βακτήριο, προαιρετικά αναερόβιο με ικανότητά να αναπτύσσεται σε χαμηλό pH (Farber et al. 1991).

Μόνο δύο από τα έξι τα είδη του γένους σήμερα αναγνωρίζονται ως παθογόνα, *Listeria monocytogenes* και *Listeria ivanovii*. Μπορεί να προκαλέσει λοίμωξη στους ανθρώπους και στα ζώα με σοβαρές κλινικές εκδηλώσεις όπως μηνιγγοεγκεφαλίτιδα, αποβολές και σηψαιμία (Vazquez et al. 2001).

Ανθρώπινα κρούσματα από *Listeria ivanovii* είναι σπάνια (Gandhi et al. 2007, Zhang et al. 2007), ενώ είναι παθογόνο κυρίως για τα μηρυκαστικά (Vazquez et al. 2001). Η *Listeria monocytogenes* έχει αναγνωριστεί ως ανθρώπινο τροφιμογενές παθογόνο από το 1929 (Painter et al. 2007, Zhang et al. 2007).

Οι Ruiz et al. (2009) ερεύνησαν τις αντιμικροβιακές ιδιότητες της νισίνης, του δεντρολίβανου και του EDTA κατά της *Listeria monocytogenes* σε έτοιμους προς κατανάλωση κύβους από ζαμπόν γαλοπούλας σε συσκευασία υπό κενό. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως οι συγκεντρώσεις 0.5% νισίνης, νισίνη 0.5% σε συνδυασμό με 1% δενδρολίβανο, νισίνη 0.5% σε συνδυασμό με EDTA 20 mM και νισίνη 0.5% σε συνδυασμό με δενδρολίβανο 1% και 20 mM EDTA ήταν οι αποτελεσματικότεροι συνδυασμοί στην αναστολή ανάπτυξης της *L. monocytogenes*.

Σύμφωνα με τους Pandit et al. (1994) βρέθηκε πως το εκχύλισμα δενδρολίβανου έχει βακτηριοκτόνο δράση κατά της *Listeria monocytogenes* σε υπόστρωμα BHI μετά από επώαση στους 35 °C για 49 ώρες. Η βακτηριοκτόνος δράση του δενδρολίβανου αποδόθηκε στα τέσσερα κύρια συστατικά (κινεόλη, βορνεόλη, α-πινένιο και καμφορά). Τέλος, η προσθήκη εκχυλίσματος δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 1% σε λουκάνικο από χοιρινό συκώτι, επέφερε την αναστολή της ανάπτυξης της *L. monocytogenes* σε συνθήκες συντήρησης υπό ψύξη.

Οι De Oliveira et al. (2013) ερεύνησαν την δράση εκχυλίσματος δενδρολίβανου σε συγκεντρώσεις 2% (v/v) σε βόειο κρέας έναντι της *Listeria monocytogenes* μετά από 48 και 96 ώρες συντήρησης στους 7 °C. Η υψηλότερη αντιμικροβιακή δράση του δενδρολίβανου παρατηρήθηκε κατά την διάρκεια της των 48 ωρών με μείωση των πληθυσμών της *L. monocytogenes* σε τιμές $4.15 \pm 0.16 \text{ Log CFU g}^{-1}$ από $8 \text{ Log CFU.mL}^{-1}$.

Οι Rocourt et al. (2007) ερεύνησαν την αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου ως προς 11 στελέχη της *Listeria monocytogenes* με την χρήση δύο εμπορικών εκχυλισμάτων δενδρολίβανου, Vinox 20 και 40 Vinox, που περιείχαν καρνοσικό οξύ σε συγκεντρώσεις 22.04% και 40.49%, αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα που παρατίθενται στον πίνακα 10, έδειξαν ότι το εκχύλισμα δενδρολίβανου με την υψηλότερη συγκέντρωση καρνοσικού οξέος παρουσίασε ισχυρή αντιμικροβιακή δράση έναντι και των 11 στελεχών της *L. monocytogenes*.

Πίνακας 10. Οι τιμές MIC των εκχυλισμάτων δενδρολίβανου που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο διάχυσης σε άγαρ (Τροποποιημένο από Rozman et al. 2009).

Στελέχη	MICs (mg/ml)	
	VivOX 20	VivOX 40
<i>L. monocytogenes</i> ZM51	2500	625
<i>L. monocytogenes</i> ZM52	2500	1250
<i>L. monocytogenes</i> ZM53	1250	625
<i>L. monocytogenes</i> ZM58	2500	1250
<i>L. monocytogenes</i> ZM80	2500	1250
<i>L. monocytogenes</i> ZM92	625	625
<i>L. monocytogenes</i> ZM108	2500	2500
<i>L. monocytogenes</i> ZM115	1250	312.5
<i>L. ivanovii</i> ZM65	1250	1250
<i>L. grayi</i> ZM66	5000	1250
<i>L. innocua</i> ZM68	2500	1250

Πίνακας 11. Περίληψη των μελετών της αντιμικροβιακής δράσης του αιθέριου ελαίου δεντρολίβανου ή των συστατικών του σε κρέας και προϊόντα κρέατος.

Είδος	Συγκέντρωση ελαίου	Είδη / ομάδα μικροοργανισμών	Παρατηρήσεις	Αναφορές
Λουκάνικα μπολωνίας & μορταδέλλα	Εκχύλισμα δεντρολίβανου 0.02% , φυτικές ίνες πορτοκαλιού 1%	OMX και οξυγαλακτικά βακτήρια	Σημαντικά χαμηλότεροι πληθυσμοί OMX και οξυγαλακτικών βακτηρίων σε σχέση με τους μάρτυρες, σε συνθήκες συντήρησης 4 °C για 24 ημέρες.	Viuda-Martos et al. (2010)
Φιλέτα	0.20% εκχύλισμα	<i>Pseudomonas spp.</i> , <i>Brochothrix</i>	Σημαντικά	Ntzimani et al.

κοτόπουλου	δεντρολίβανου	<i>thermosphacta</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> και οξυγαλακτικά βακτήρια	χαμηλότεροι πληθυσμοί <i>Pseudomonas spp.</i> , <i>B. thermosphacta</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> και οξυγαλακτικών βακτηρίων, σε φιλέτα κοτόπουλου στους 4 °C για 25 ημέρες, παρατείνοντας τον χρόνο συντήρησης από 7 έως 8 ημέρες.	(2010)
Χοιρινό κρέας	Εκχύλισμα δεντρολίβανου 0.05 και τοκοφερόλη 0.02%	<i>Salmonella Typhimurium</i>	Μείωση των αρχικών πληθυσμών της <i>Salmonella</i> <i>Typhimurium</i> μετά από δέκα ημέρες συντήρησης στην ψύξη.	Nam et al. (2006)
Κρέας γαλοπούλας	Εκχύλισμα δεντρολίβανου 0.25% v/w και χιτοζάνη 1.5%	Οξυγαλακτικά βακτήρια	Σημαντικά χαμηλότεροι πληθυσμοί των οξυγαλακτικών βακτηρίων στους 2 °C.	Vasilatos et al. (2013)
Κρέας από μοσχάρι	Εκχύλισμα δεντρολίβανου	<i>E. coli O157:H7</i> , <i>L.</i> <i>monocytogenes</i> , και	Αναστολή ανάπτυξης των <i>E.</i>	Ahn et al. (2003)

1.00% *Salmonella Typhimurium* *coli O157:H7, L. monocytogenes,* και *Salmonella Typhimurium* με αρχικούς πληθυσμούς, 3.97 ± 0.11 , 4.04 ± 0.16 , $3.64 \pm 0.13 \log$ CFU/g \pm SD, αντίστοιχα στους 4 °C για 9 ημέρες.

Κρέας γαλοπούλας	0.5 και 1.0 g/100g εκχύλισμα δεντρολίβανου	Ολική μεσόφιλη χλωρίδα, οξυγαλακτικά βακτήρια, ψυχρόφιλα βακτήρια, Εντεροβακτηρία	Σημαντικά χαμηλότεροι πληθυσμοί OMX, οξυγαλακτικών και ψυχρόφιλων βακτηρίων όπως και των εντεροβακτηρίων σε σχέση με τους μάρτυρες σε φιλέτα στήθους γαλοπούλας, σε συνθήκες συντήρησης ψύξης για 12 ημέρες.	Οι Govaris et al. (2007)
------------------	--	---	--	--------------------------

Κρέας γαλοπούλας	1% εκχύλισμα δεντρολίβανου, 0.5% και 1% νισίνης, 20 mM EDTA	<i>Listeria monocytogenes</i>	Προσθήκη των συνδυασμών 1% δεντρολίβανου, 0.5% και 1%	Ruiz et al. (2009)
------------------	---	-------------------------------	---	--------------------

			<p>νισίνη, 20 mM EDTA ανέστειλαν την ανάπτυξη της <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> σε ζαμπόν γαλοπούλας.</p>	
Λουκάνικο από χοιρινό συκώτι	1% εκχύλισμα δενδρολίβανου	<i>Listeria monocytogenes</i>	<p>Αναστολή ανάπτυξης της <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> σε λουκάνικο χοιρινού κρέατος στους 35⁰ C για 49 ώρες.</p>	Pandit et al. (1994)
Βόειο κρέας	2% (v/v) εκχύλισμα δεντρολίβανου	<i>Listeria monocytogenes</i>	<p>Αναστολή ανάπτυξης της <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> σε βόειο κρέας στους 7 °C για 48 ώρες</p>	Oliveira et al.(2013)

BIBΛIOΓΡΑΦΙΑ

- Abramovic H., Terpin P., Generalic I., Skroza D., Klancnik A., Katalinic V., Mozina S.** (2012). *Antioxidant and antimicrobial activity of extracts obtained from rosemary (Rosmarinus officinalis) and vine (Vitis vinifera) leaves.* **Croatian Journal of food science technology**, 4 (1), 1-8.
- Agnieszka N., Kalembe D., Krala L., Piotrowska M., Czyzowska A.** (2012). *The effects of thyme (Thymus vulgaris) and rosemary (Rosmarinus officinalis) essential oils on Brochothrix thermosphacta and on the shelf life of beef packaged in high-oxygen modified atmosphere.* **Food Microbiology**, 32, 212- 216.
- Ahn J., Grun I., Mustapha A.** (2004). *Antimicrobial and Antioxidant Activities of Natural Extracts In Vitro and in Ground Beef.* **Journal of Food Protection**, 67, 148-155.
- Akarpat A., Turhan S., Ustun N.** (2008). *Effects of hot-water extracts from myrtle, rosemary, nettle and lemon balm leaves on lipid oxidation and color of beef patties during frozen storage.* **Journal of Food Processing and Preservation**, 32 , 117-132.
- AI-Sereiti M., Abu-Amer K., Sen P.** (1999). *Pharmacology of rosemary (Rosmarinus oifcinalis Linn.) and its therapeutic potentials.* **Indian Journal of Experimental Biology**, 37,124-130.
- Albu S., Joyce E., Paniwnyk L., Lorimer J., Mason T.J.** (2004). *Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from Rosmarinus officinalis for the food and pharmaceutical industry.* **Ultrasonics Sonochemistry** 11, 261–265.
- Angioni A., Barra A., Cereti E., Barile D., Coisson J., Arlorio M., Dessi S., Coroneo V., Cabras P.** (2004). *Chemical Composition, Plant Genetic Differences, Antimicrobial and Antifungal Activity Investigation of the Essential Oil of Rosmarinus officinalis L.* **Journal of Agriculture Food Chemistry**, 52, 3530-3535.
- Anton M., Salgues C., Gatellier P., Renerre M.** (1993). *Etude des relations oxydatives entre les lipides membranaires et la myoglobine in vitro.* **Science des aliments**, 13, 261-274.
- Aouadi D., Luciano G., Vasta V., Nasri S., Brogna D., Abidi S., Priolo A., Ben S.** (2014). *The antioxidant status and oxidative stability of muscle from lambs receiving oral administration of Artemisia herba alba and Rosmarinus officinalis essential oils.* **Meat Science**, 97, 237-243.
- Atti-Santos A., Rossato M., Fernandes P., Duarte R., Ciro R., Regina P., Agostini, F., Atti Se., Moyna P.** (2005). *Physico-chemical Evaluation of Rosmarinus officinalis L. Essential Oils.* **Braz. arch. biol. technol.** vol.48 no.6: pp. 1035-1039,ISSN 1516-8913.
- Aureli P., Costantini A., Zolea S.** (1992). *Antimicrobial activity of some plant essential oils against Listeria monocytogenes.* **Journal of Food Protection**, 55, 344–348.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M.** (2008). *Biological effects of essential oils – A review.* **Food and Chemical Toxicology**, 46 ,446-475.

- Bakirel T., Bakirel U., Keles O., Gunes S., Ulgen., Yardibi H.** (2008). *In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus officinalis) in alloxan-diabetic rabbits.* **Journal of Ethnopharmacology**, 116, 64 -73.
- Balasundram N., Sundram K., Saman S.** (2006). *Phenolic compound in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses.* **Food Chemistry**, 99, 191–203.
- Balentine C., Crandall P., O’Bryan C., Duong D., Pohlman F.** (2006). *The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef.* **Meat Science**, 73 ,413-421.
- Barbut S., Josephson David., Maurer A.** (1985). *Antioxidant Properties of Rosemary Oleoresin in Turkey Sausage.* **Journal of Food Science**, 50, 1356-1359.
- Bauer K., Garbe D., Surburg H.** (2001). *Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses.* Wiley-VCH, Weinheim, p. 293.
- Betts T.** (2001). *Chemical characterisation of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases.* **Journal of Chromatography**, 936, 33–46.
- Bhat Z and Bhat H** (2011). *Fibre-based functional meat products.* **Asian Journal of Food Ag-Industry**, 4(04), 261-273.
- Bicchi C., Binello A., Rubiolo P.** (2000). *Determination of Phenolic Diterpene Antioxidants in Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) with Different Methods of Extraction and Analysis.* **Phytochemical Analysis**, 11, 236–242.
- Bragagnolo N., Danielsen B., Skibsted L.** (2005). *Effect of rosemary on lipid oxidation in pressure-processed, minced chicken breast during refrigerated storage and subsequent heat treatment.* **European Food Research and Technology**, 221,610-615.
- Boyle W** (1955) *Spices and essential oils as preservatives.* **American Perfum and Essential Oil Review**, 66, 25– 28.
- Bowles E** (2003). *Chemistry of Aromatherapeutic Oils.* Allen & Unwin, ISBN 174114051X.
- Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Jovin E.** (2007). *Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rosemary and Sage (Rosmarinus officinalis L. and Salvia officinalis L., Lamiaceae) Essential Oils.* **Journal of Agriculture of Food Chemistry**, 55, 7885-7879.
- Bruckner K., Bozic D., Manzano D., Papaefthimiou D., Pateraki I., Scheler U., Ferrer A., De Vos R., Kanellis A., Tissier A.** (2014). *Characterization of two genes for the biosynthesis of abietane-type diterpenes in rosemary (Rosmarinus officinalis) glandular trichomes.* **Phytochemistry**, 1-12.
- Bubonja-Sonje M., Giacometti J., Abram M.** (2011). *Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols.* **Food Chemistr**, 127,1821-1827.

- Burt S** (2004). *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review*. **International Journal of Food Microbiology**, 94 ,223- 253.
- Byun M., Lee W., Yook S., Lee H., Kim K.** (1999). *The improvement of color and shelf life of ham by gamma irradiation*. **Journal of Food Protection**, 62, 1162–1166.
- Cadun A., Kisla D., Cakli S.** (2008). *Marination of deep-water pink shrimp with rosemary extract and the determination of its shelf-life*. **Food Chemistry**, 109, 81–87
- Caputi-Jambrenghi A., Colonna M., Giannico F., Favia R., Minuti F., Scafizzari M., Vonghia G.** (2005). *Dietary supplementation of garlic and rosemary: effects on colour stability and lipid oxidation in lamb meat*. **Italian Journal of Animal Science**, 4 (2), 366–368.
- Carvalho P., Calafatti M., Contesini F., Bizaco R.** (2005). *Potencial de biocatálise enantioselectiva de lipases microbianas*. **Quimica Nova Journal**, 28, 614-621.
- Carvalho R., Moura L., Rosa P., Meireles A.** (2005). *Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity*. **Journal of Supercritical Fluids**, 35 ,197–204.
- CDC.**(2011). *Foodborne Illness Acquired in the United States-Major Pathogens*. Volume 17, Number 1-January 2011.
- Chaibi A., Ababouch L., Belasri K., Boucetta S., Busta F.** (1997). *Inhibition of germination and vegetative growth of *Bacillus cereus* T and *Clostridium botulinum* 62A spores by essential oils*. **Food Microbiology**, 14, 161-174.
- Chastain M., Huffman D., Hsieh W., Cordray J.** (1982). *Antioxidants in restructured beef/pork steaks*. **Journal of Food Science**, 47, 1779–1782.
- Chen C., Pearson A., Gray J., Fooladi M., Ku P.** (1984). *Some factors influencing the nonheme iron content of meat and its implications in oxidation*. **Journal of Food Science**, 49, 581–584.
- Chen H., Muramoto K., Yamauchi F., Huang C.** (1996). *Natural antioxidants from rosemary and sage*. **Journal of Food Science**, 42, 1102–1104.
- Chen X., Zhang Y., Zu Y., Lei Y., Lu Q., Wang W.** (2014). *Antioxidant effects of rosemary extracts on sunflower oil compared with synthetic antioxidants*. **International Journal of Food Science and Technology**, 49, 385–391.
- Collins M and Charles H** (1987). *Antimicrobial activity of Carnosol and Ursolic acid: two anti-oxidant constituents of *Rosmarinus officinalis* L.* **Food Microbiology**, 4, 311-315.
- Conto L., Porto O., Pereira M., Chang Y., Steel C.** (2012). *Effects of the addition of microencapsulated omega-3 and rosemary extract on the technological and sensory quality of white pan bread*. **LWT. Food Science and Technology**, 45, 103–109.

- Cosentino S., Tuberoso C., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E., Palmas F.** (1999). *In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils.* **Letters in Applied Microbiology**, 29, 130–135.
- Cox S., Mann C., Markham J., Bell H., Gustafson J., Warmington J., Wyllie S.** (2000). *The mode of antimicrobial action of essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil).* **Journal of Applied Microbiology**, 88, 170–175.
- Crosthwaite D** (1998). *UK trade within the flavour and fragrance industry.* International Federation of Essential Oils and Aroma Trades-21st International Conference on Essential Oils and Aroma's. IFEAT, London, pp. 6–12.
- Croteau R., Kutchan T., Lewis N.** (2000). *Natural products (secondary metabolites).* In: Buchanan B., Gruissem W., Jones R. (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants.* American Society of Plant Physiologists.
- Cuvelier M., Richard H., Berset C.** (1996). *Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary.* **Journal of the American Oil Chemists Society**, 73, 645–652.
- Dean S and Svoboda K** (1989). *Antimicrobial activity of summer savory (Satureja hortensis L.) essential oil and its constituents.* **Journal of Horticultural Science**, 64, 205–210
- Decker E., Crum A., Shantha N., Morrissey P.** (1993). *Catalysis of lipid oxidation by iron from an insoluble fraction of beef diaphragm muscle.* **Journal of Food Science**, 58, 233–6.
- Del Bano., Lorente J., Castillo J., Benavente-Garcia O., Del Riao J., Ortun A., Karl-Werner Q., Dieter G.** (2003). *Phenolic Diterpenes, Flavones, and Rosmarinic Acid Distribution during the Development of Leaves, Flowers, Stems, and Roots of Rosmarinus officinalis.* **Journal Agriculture of Food Chemistry**, 51, 4247–4253.
- Denyer S and Hugo W** (1991). *Biocide-induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane.* In: Denyer, S.P., Hugo, W.B. (Eds.), *Mechanisms of Action of Chemical Biocides.* The Society for Applied Bacteriology, Technical Series No 27. Oxford Blackwell Scientific Publication, Oxford, pp. 171–188.
- Devlieghere F., Vermeiren L., Debevere J.** (2004). *New preservation technologies: possibilities and limitations.* **International Dairy Journal**, 14:273–285.
- Dilas S., Zeljko K., Cetojevi D., C-Simin V.** (2012). *In vitro antioxidant and antiproliferative activity off three rosemary (officinalis L.) extract formulations.* **International Journal of Food Science & Technology**, 47, 2052–2062.
- Dzudie T., Kouebou P., Essia-Ngang J., Mbofung C.** (2004). *Lipid sources and essential oils effects on quality and stability of beef patties.* **Journal of Food Engineering**, 65, 67–72.
- Eddouks M., Jouad H., Maghrani M., Lemhadri A., Burcelin R.** (2003). *Inhibition of endogenous glucose production accounts for hypoglycemic effect of Spergularia purpurea in streptozotocin mice.* **Phytomedicine**, 6-7, 594–599.

- Elangovan V., Sekar N., Govindasamy S.** (1994). *Chemoprotective potential of dietary bipoflavonoids against 20-methylcholanthrene- induced tumorigenesis.* **Cancer Letters**, 87: 107-113.
- Erenmemis A., Saraymen R., Ustun H.** (1997). *Effect of Rosmarinus officinalis leaves extract on plasma glucose levels in normoglycaemic and diabetic mice.* **Pharmazie**, 52, 645–646.
- Hernandez-Hernandez E., Ponce-Alquicira E., Jaramillo-Flores M., Legarreta G.** (2009). *Antioxidant effect rosemary (Rosmarinus officinalis L.) and oregano (Origanum vulgare L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters.* **Meat Science**, 81, 410-417.
- Estevez M., Ventanas S., Cava R.** (2005). *Protein Oxidation in Frankfurters with Increasing Levels of Added Rosemary Essential Oil: Effect on Color and Texture Deterioration.* **Journal Of Food Science**, 70,7,427-432.
- Eva I., Tokár M., Mocko K., Bojňanska T., Mareček J., Mendelova A.** (2013). *Antioxidant activity of selected plant products.* **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, 1692-1703.
- Farag S., Daw Z., Hewedi F., El-Baroty G.** (1989). *Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils.* **Journal of Food Protection**, 52, 665–667.
- Farber J and Peterkin P** (1991). *Listeria monocytogenes, a Food-Borne Pathogen.* **Microbiological Reviews**, p. 476-511 .
- Faixova Z and Faix S** (2008). *Biological effects of rosemary(Rosmarinus officinalis L.) Essential Oil,(A Review).* **Folia Veterinaria**, 52,135-139.
- Fernandez K., Aspe E., Roeckel M.** (2009). *Shelf-life extension on fillets of Atlantic Salmon (Salmo salar) using natural additives, superchilling and modified atmosphere packaging.* **Food Control**, 20,1036–1042.
- Fernandez-Lopez J., Sevilla L., Sayas-Barbera E., Navarro C., Marin F., Perez-Alvarez J.** (2003). *Evaluation of the Antioxidant Potential of Hyssop (Hyssopus officinalis L.) and Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) Extracts in Cooked Pork Meat.* **Journal of Food Science**, 68, 2.
- Fernandez-Lopez J., Zhi N., Aleson-Carbonell L., Perez-Alvarez J., Kuri V.** (2005). *Antioxidant and antibacterial activities of naturalextracts: application in beef meatballs.***Meat Science**, 69,371-380.
- Fishedick J., Standiford M., Johnson D., Johnson J.** (2013). *Structure activity relationship of phenolic diterpenes from Salvia officinalis as activators of the nuclear factor E2-related factor 2 pathway.* **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 21, 2618–2622.
- Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M., Taghizadeh M., Astaneh S., Rasooli I.** (2007). *Chemical and biological characteristics of Cuminum cyminum and Rosmarinus officinalis essential oils.* **Food Chemistry**, 102: 898-904.

- Gandhi M., Chikindas M.** (2007). *Listeria: A foodborne pathogen that knows how to survive*. **International Journal of Food Microbiology** 113,1,1-15.
- Genena A., Hense H., Smania J., De Souza S.** (2008). *Rosemary (Rosmarinus officinalis) – a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide*. **Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas**, 28(2): 463-469.
- Genot C., Borel M., Metro B., Gandemer G., Renerre M.** (1991). *Enhancement of myoglobin autoxidation induced by phospholipids extracted from beef muscles of various metabolic types*. **In Proceedings of the 37th International Congress of Meat Science and Technology** , 356–359.
- Georgantelis D., Blekas G., Katikou P., Ambrosiadis I., Fletouris D.** (2007). *Effect of rosemary extract, chitosan and a-tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers*. **Meat Science** 75,256-264.
- Gomes N., Da Silva Luz I., Goncalves H., Da Conceicao M., De Souza E.** (2012). *Pseudomonas aeruginosa cells adapted to Rosmarinus officinalis L. essential oil and 1,8-cineole acquire no direct and cross protection in a meat-based broth*. **Food Research International**, 49, 143–146.
- Grubman M and Barry B** (2004). *Foot-and-Mouth Disease*. **Clin. Microbiol. Rev.** 2004, 17(2):465. DOI:10.1128/CMR.17.2.465-493.2004.
- Gordon M** (1990). *The Mechanisms of Antioxidant Action In vitro*. London: Elsevier Applied Science. Pp. 1–8.
- Guenther E** (1948). *The Essential Oils*. D. Van Nostrand, New York.
- Hac-Szymanczuk E., Lipinska E., Stasiuk M.,** (2011). *The effect of rosemary preparations on the microbial quality and tbars value of model pork batters*. **Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.** 10(2), 165-174.
- Hammer K., Carson C., Riley T.** (1999). *Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts*. **Journal of Applied Microbiology** 86, 985–990.
- Han J and Rhee K** (2005). *Antioxidant properties of selected Oriental non-culinary/nutraceutical herb extracts as evaluated in raw and cooked meat*. **Meat Science**, 70,25-33.
- Hidalgo P., Ubera J., Tena M., Valcarcel M.** (1998). *Determination of the carnosic acid content in wild and cultivated Rosmarinus officinalis*. **Journal of Agriculture of Food Chemistry**,46, 2624-2627.
- Hirose M., Takahashi S., Ogawa K., Futakuchi M., Shirai T.** (1999). *Phenolics: blocking agents for heterocyclic amine-induced carcinogenesis*. **Food and Chemical Toxicology**, 37,7(9-10):985-92.

- Hitokoto H., Morozumi S., Wauke T., Sakai S., Kurata H.** (1980). *Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi.* **Applied & Environmental Microbiology**, 39, 818-822.
- Hoyle P., Brashears M., Woerner M., Martin J., Thompson L., Brooks J.** (2012). *Spoilage characteristics of ground beef with added lactic acid bacteria and rosemary.* **Journal of Animal Science**, 90: 2054-2060.
- Javier Herrera** (2005). *Flower Size Variation in Rosmarinus officinalis: Individuals, Populations and Habitats.* **Annals of Botany** 95: 431–437.
- Jayasena D and Jo C** (2013). *Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review.* **Trends in Food Science & Technology**, 34,96-108.
- Jayasena D and Jo C** (2014). *Potential Application of Essential Oils as Natural Antioxidants in Meat and Meat Products:A Review.* **Food Reviews International**, 30:71-90.
- Jianga Y., Wua N., Fua Y., Wanga W., Luoa M., Zhaoa C., Zua Y., Liu X.** (2011). *Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary.* **Environmental toxicology and pharmacology**, 32 , 63-68.
- Jiang A and Wang C** (2006). *Antioxidant properties of natural components from Salvia plebeia on oxidative stability of ascidian oil.* **Process Biochemistry**, 41, 1111-1116.
- Jo C** (1999). *Lipid oxidation and production of off-odor in irradiated meat.* Ph.D. Thesis, Iowa State University, Iowa.
- Jordan M., Lax V., Rota M., Loran S., Sotomayor J.** (2013) . *Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of Rosmarinus officinalis L.* **Food Control**, 30, 463-468.
- Juven B., Kanner J., Schved F., Weisslowicz H.** (1994). *Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents.* **Journal of Applied Bacteriology**,76, 626-631.
- Kanatt S., Paul P., D'Souza S., Thomas P.** (1998). *Lipid peroxidation in chicken meat during chilled storage as affected by antioxidants combined with low-dose gamma irradiation.* **Journal of Food Science**, 63, 386-389.
- Karpinska M., Borowski J., Oziewicz D.** (2000). *Antioxidative activity of rosemary extract in lipid fraction of minced meat balls during storage in a freezer.* **Journal of Biotechnology** 44,Nr. 1, S. 38-41.
- Karre L., Lopez K., Getty K.** (2013). *Natural antioxidants in meat and poultry products.* **Meat Science** 94,220-227.
- Kathirvel P and Rupasinghe H** (2011). *Plant-derived antioxidants as potential omega-3 PUFA stabilizers. In: Fish oil: Production, consumption and health benefits.* (edited by M.V. Dijk & J. Vitek). Pp. 158–185. Hauppauge, NY, USA: Nova Science Publishers, Inc.

- Kim H., Cadwallader K., Kido H., Watanabe Y.** (2013). *Effect of addition of commercial rosemary extracts on potent odorants in cooked beef.* **Meat Science**, 94, 170–176.
- Klancnik A., Guzej B., Kolar M., Abramovic H., Mozina S.** (2009). *In Vitro Antimicrobial and Antioxidant Activity of Commercial Rosemary Extract Formulations.* **Journal of Food Protection**, 72, 1744-1752.
- Klis K., Radosevic J., Gudic S., Katalinic V.** (2000). *Aqueous extract of Rosmarinus officinalis L. as inhibitor of Al-Mg alloy corrosion in chloride solution.* **Journal of Applied Electrochemistry**, 30: 823-830.
- Kosaka K and Yokoi T** (2003). *Carnosic Acid, a Component of Rosemary (Rosmarinus officinalis L.), Promotes Synthesis of Nerve Growth Factor in T98G Human Glioblastoma Cells.* **Biological and pharmaceutical bulletin**, 26, 1620-1622.
- Loliger J** (1991). *The use of antioxidants in foods.* In I. O. Aruoma & B. Halliwell (Eds.), *Free radical and food additives* (pp. 121–131). London: Taylor & Francis.
- Manas P and Mackey B** (2004). *Morphological and physiological changes induced by high hydrostatic pressure in exponential- and stationary-phase cells of Escherichia coli: relationship with cell death.* **Applied environmental microbiology journal**, 70, 1545-1554.
- Ilseley S., Miller H., Greathead H., Kamel C.** (2002). *Herbal sow diets boost pre-weaning growth.* **Pig Progress**, 18, 8 -10.
- Van K and Binnendijk G** (2001). *Ropadiar as alternative for antimicrobial growth promoter in diets of weanling pigs.* Lelystad, Praktijkonderzoek Veehouderij,. ISSN 0169-3689, p. 14.
- Lado B and Yousef A** (2007). *Characteristics of Listeria monocytogenes important to food processors.* In E. T. Ryser, & E. H. Marth (Eds.), *Listeria, listeriosis, and food safety* (pp. 157e213). New York: Marcel Dekker.
- Lai S., Gray J., Smith D., Booren A., Crackel R., Buckley D.** (1991). *Effects of Oleoresin Rosemary, Tertiary butylhydroquinone, and Sodium tripolyphosphate on the Development of Oxidative Rancidity in Restructured Chicken Nuggets.* **Journal of Food Science**, 56. No. 3.616-620.
- Lawrence T., Dikeman M., Hunt M., Kastner C., Johnson D.** (2004). *Effects of enhancing beef longissimus with phosphate plus salt, or calcium lactate plus non-phosphate water binders plus rosemary extract.* **Meat Science**, 67, 129–137.
- Leea Ju., Park K., Kim J., Oh S., Lee You-Seok., Kim Jang., Byun M.** (2005). *Combined effects of gamma irradiation and rosemary extract on the shelf-life of a ready-to-eat hamburger steak.* **Radiation Physics and Chemistry**, 72, 49–56.
- Leistner L** (1978). *Hurdle effect and energy saving.* In: Downey, W.K. (Ed.), *Food Quality and Nutrition.* Applied Science Publ.London, p. 553.

- Lemonica I., Damasceno D., Di-Stasi L.** (1996). *Study of the embryotoxic effects of an extract of rosemary (Rosmarinus officinalis L.).* **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 29, 223-227.
- Lis-Balchin M and Deans S** (1997). *Bioactivity of selected plant essential oils against Listeria monocytogenes.* **Journal of Applied Microbiology**, 82,759-762.
- Lis-Balchin M., Buchbauer G., Hirtenlehner T., Resch M.** (1998). *Antimicrobial activity of Pelargonium essential oils added to a quiche filling as a model food system.* **Letters in Applied Microbiology**, 27, 207–210.
- Luis J and Johnson C** (2005). *Seasonal variations of rosmarinic and carnosic acids in rosemary extracts. Analysis of their in vitro antirad-ical activity.* **Spanish Journal of agricultural research**, 1, 106–112.
- Luo H., Lin S., Ren F., Wu L., Chen L., Sun Yan.** (2007). *Antioxidant and Antimicrobial Capacity of Chinese Medicinal Herb Extracts in Raw Sheep Meat.* **Journal of Food Protection**,70,1440-1445.
- Manabe A., Nakayama S., Sakamoto K.** (1987). *Effects of essential oils on erythrocytes and hepatocytes from rats and dipalitoyl phophatidylcholine-liposomes.* **Japan Journal of Pharmacology**, 44, 77–84.
- Mangena T and Muyima N.Y.O** (1999). *Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of Artemisia afra, Pteronia incana and rosmarinus offisinalis on selected bacteria and yeast strains.* **Letters in Applied Micribiology**, 28, 291-296.
- Manzoor A., Sowriappan J., Shabir A.** (2014). *Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products.* **Meat Science** 98, 21–33.
- Marino M., Bersani C., Comi G.** (2001). *Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae.* **International Journal of Food Microbiology** 67,187–195.
- Martin F., Frutos M., Perez-Alvarez J., Martinez-Sanchez F., Del Rio J.** (2002). *Flavonoids as nutraceuticals: structural related antioxidant properties and their role on ascorbic acid preservation.* **Studies in natural products chemistry**, 26,324–389.
- Martinez L., Cilla I., Beltran J., Roncales P.** (2007). *Effect of illumination on the display life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. Influence of the addition of rosemary, ascorbic acid and black pepper.* **Meat Science**, 75, 443-450.
- McBride N., Hogan S., Kerry J.** (2006). *Comparative addition of rosemary extract and additives on sensory and antioxidant properties of retail packaged beef.* **International Journal of Food Science and Technology**, 42, 1201-1207.
- Mielnik M., Aaby K., Skrede G.** (2003). *Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat.* **Meat Science**, 65,1147-1155.

- Miresmaili S., Bradbury R., Isman M.** (2006). *Comparative toxicity of Rosmarinus officinalis L. essential oil and blends of its major constituents against Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host Plants.* **Pest Management Science journal**, 62, 366-371.
- Minnunni M., Wolleb U., Mueller O., Pfeifer A., Aeschbacher H.** (1992). **Mutation Research**, 269, 193-200.
- Mohamed H.** (2011). *Antioxidant synergy effect of rosemary aqueous extract and green tea flavanol-rich concentrate for superior protection of buffalo meatloaves.* Universitatea de Stiinte Agricole si Medicina Veterinara Iasi.
- Monino M., Martínez C., Sotomayor J., Lafuente A., Jordán M.** (2008). *Polyphenolic transmission to Segureño lamb meat from ewe diet supplemented with the distillate from rosemary (Rosmarinus officinalis) leaves.* **Journal of Agriculture Food Chemistry**, 56, 3363-3367.
- Moreno S., Scheyer T., Romano C., Vojnov A.** (2006). *Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition.* **Free Radical Research**, 40, 223-231.
- Murphy A., Kerry J., Buckley J., Gray I.** (1997). *The antioxidative properties of rosemary oleoresin and inhibition of op-flavours in precooked roast beef slice.* **Journal of Science Food Agriculture**, 77, 235-243.
- Munne-Bosch S and Alegre L** (2000). *Changes in carotenoids, tocopherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in Rosmarinus officinalis plants.* **Planta**, 210, 925-931.
- Munne-Bosch, S and Alegre L** (2001). *Subcellular compartmentation of the diterpene carnosic acid and its derivatives in the leaves of rosemary.* **Plant physiology and biochemistry Journal** 125, 1094–1102.
- Nam K., Ko K., Min B., Ismail H., Lee E., Cordray J., Ahn D.** (2006). *Influence of rosemary-tocopherol/packaging combination on meat quality and the survival of pathogens in restructured irradiated pork loins.* **Meat Science**, 74 380–387.
- Naser A and Al Wabel** (2007). *Antimicrobial and antioxidant properties of spices.* **Bulletin of Pharmaceutical Sciences Journal**, 30,81-87.
- Nascimento G., Locatelli J., Freitas Paulo C., Silva G.** (2000). *Antibacterial Activity Of Plant Extracts And Phytochemicals On Antibioticresistant Bacteria.* **Brazilian Journal of Microbiology**, 31, 247-256.
- Naser J., Awni A., Kamel A.** (2010). *Antibacterial activity of Rosmarinus officinalis L. alone and in combination with cefuroxime against methicillin-resistant Staphylococcus aureus.* **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine** ,121-123.

- Nieto G., Jongberg S., Andersen M., Skibsted L.** (2013). *Thiol oxidation and protein cross-link formation during chill storage of pork patties added essential oil of oregano, rosemary, or garlic.* **Meat Science** 95, 177–184.
- Nieto G., Diaz P., Banón S., Garrido M.** (2010). *Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis*L.): influence on lamb meat quality.* **Meat Science**, 84, 23–29.
- Nissen H., Holo H., Axelsson L., Blom H.** (2001). *Characterization and growth of *Bacillus* spp. in heat-treated cream with or without nisin.* **Journal of Applied Microbiology**, 90, 530-534.
- Ntzimani A., Giatrakou V., Savvaidis I.** (2010). *Combined natural antimicrobial treatments (EDTA, lysozyme, rosemary and oregano oil) on semi cooked coated chicken meat stored in vacuum packages at 4 C: microbiological and sensory evaluation.* **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 11, 187-96.
- O’Grady M., Maher M., Troy D., Moloney A., Kerry J.** (2006). *An assessment of dietary supplementation with tea catechins and rosemary extract on the quality of fresh beef.* **Meat Science** 73, 132–143.
- O.H.E.** (1999) United Nations International Trade Yearbook 1999.
- Ohno T., Kita M., Yamaoka Y., Imamura S., Yamamoto T., Mitsufuji S.** (2003). *Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*.* **Helicobacter**, 8, 207–215
- Oiye S., Konyole S., Ngala S.** (2012). *Effects of Rosemary Spice (*Rosmarinus Officinalis* L.) and Nitrite Picking Salt Combination on Keeping and Organoleptic Quality of Beef Sausages.* **Journal of Basic Applied Science Research**, 2(4), 4008-4015.
- Okoh O., Sadimenko A., Afolayan A.** (2010). *Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods.* **Food Chemistry**, 120, 308–312.
- Oliver D., Serovich J., Mason T.** (2005). *Constraints and opportunities with interview transcription: Towards reflection in qualitative research.* **Social Forces**, 84, 1273-1289.
- Oliveira M., Brugnera D., Piccoli R.** (2013). *Essential oils of thyme and Rosemary in the control of *Listeria monocytogenes* in raw beef.* **Brazilian Journal of Microbiology** 44, 1181-1188.
- Oluwatuyi M., Kaatz Glenn W., Gibbons S.** (2004). *Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus Officinalis*.* **Phytochemistry**, 65, 3249 –3254.
- Ortuno J., Serrano R., Jose J., Banona S.** (2014). *Shelf life of meat from lambs given essential oil-free rosemary extract containing carnosic acid plus carnosol at 200 or 400 mg kg⁻¹.* **Meat Science**, 96, 1452–1459.

- Quattaraa B., Simard R., Holley R., Piettea G., Begin A.** (1997). *Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms.* **International Journal of Food Microbiology**, 37,155–162.
- Ozcan M., Chalchat J.** (2008). *Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey.* **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 59, 691–698.
- Packiyasothy E and Kyle S** (2002). *Antimicrobial properties of some herb essential oils.* **Food Australia**, 54, 384–387.
- Painter J and Slutsker L** (2007). *Listeriosis in humans.* In E. T. Ryser, & E. H. Marth (Eds.), *Listeria, listeriosis, and food safety* (pp. 85-109). New York: Marcel Dekker.
- Pandit V and Shelef L** (1993). *Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.).* **Food Microbiology**, 11, 57-63.
- Platel K and Srinivasan K** (1997). *Plant foods in the management of diabetes mellitus: vegetables as potential hypoglycaemic agents.* **Nahrung**, 2, 68-74.
- Prabuseenivasan S., Jayakumar M., Ignacimuthu S.** (2006). *In vitro antibacterial activity of some plant essential oils.* **BMC Complementary and Alternative Medicine**,1-8.
- Pichersky E., Noel J., Dudareva N.** (2006). *Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity.* **Science**, 311, 808–811.
- Quintavalla S and Vicini L.** (2002). *Antimicrobial food packaging in meat industry.* **Meat Science**, 62, 373–380.
- Racanicci A., Danielsen B., Menten J., Regitano-Darce M., Skibsted L.** (2004). *Antioxidant effect of dittany (*Origanum dictamnus*) in pre-cooked chicken meat balls during chill-storage in comparison to rosemary (*Rosmarinus officinalis*).* **European Food Research Technology**, 218:521-524.
- Rasooli I., Fakoor M., Yadegarinia D., Gachkar Latif., Allameh A., Rezaei M.** (2008). *Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils.* **International Journal of Food Microbiology**, 122 ,135–139.
- Renerre M., Anton M., Gatellier P.** (1992). *Autoxidation of purified myoglobin from two bovine muscles.* **Meat Science**, 32, 331–342.
- Rocourt J and Buchrieser C** (2007). *The genus listeria and listeria monocytogenes: phylogenic position, taxonomy and identification.* In E. T. Ryser, &E. H. Marth (Eds.), *Listeria, listeriosis, and food safety* (pp. 1-20). New York: Marcel Dekker.
- Rojas M and Brewer M** (2007). *Effect of Natural Antioxidants on Oxidative Stability of Cooked, Refrigerated Beef and Pork.* **Journal of Food Science**, 72, 282-288.
- Romano C., Abadi K., Repetto V., Vojnov A., Moreno S.** (2009). *Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives.* **Food Chemistry**, 115, 456-461.

- Rozman T and Jersek B** (2009). *Antimicrobial activity of rosemary extracts (Rosmarinus officinalis L.) against different species of Listeria*. **Acta agriculturae Slovenica**, 93, 51-58.
- Ruiz A., Djeri N., Hinton J., Rodrick G.** (2009). *Nisin, rosemary, and ethylenediaminetetraacetic acid affect the growth of Listeria monocytogenes on ready-to-eat turkey ham stored at four degrees Celsius for sixty-three days*. **Poultry Science**, 88, 1765-1772.
- Sagir I and Turhan S** (2013). *The Effect of Ethanol Extracts from Nettle, Rosemary and Myrtle Leaves on Lipid Oxidation and Microbial Growth of Kavurma during Refrigerated Storage*. **Food Science Technology Research**, 19(2),173 – 180.
- Saber A and Hawazen A** (2012). *Protective Effect of Rosemary (Rosmarinus Officinalis) Leaves Extract on Carbon Tetrachloride - Induced Nephrotoxicity in Albino Rats*. **Life Science Journal**, 9(1),779-785.
- Sanchez-escalante A., Djenane D., Torrescano G., Beltran J., Roncales P.** (2003). *Antioxidant Action of Borage, Rosemary, Oregano, and Ascorbic Acid in Beef Patties Packaged in Modified Atmosphere*. **Journal Of Food Science**, 68, 339-344.
- Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibanez I., Senorans F., Reglero G.** (2005). *Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Rosmarinus officinalis L. Essential Oil Obtained via Supercritical Fluid Extraction*. **Journal of Food Protection**, 68, 790-795.
- Schwarz K and Ternes W** (1992). *Antioxidative constituents of Rosmarinus officinalis and Salvia officinalis*. **Z Lebensm Unters Forsch** 195:95-98.
- Seabra L., Damasceno K., Andrade S., Dantas M., Soares N., Pedrosa L.** (2011). *Effect of rosemary on the quality characteristics of white shrimp (Litopenaeus vannamei)*. **Journal of Food Quality**, 34, 363-369.
- Shelef L** (1983). *Antimicrobial effects of spices*. **Journal of Food Safety**, 6, 29–44.
- Selim S** (2011). *Antimicrobial activity of essential oils against vancomycin-resistant enterococci (VRE) and escherichia coli O157:H7 in feta soft cheese and minced beef meat*. **Brazilian Journal of Microbiology**, 42, 1517-8382.
- Serrano R., Jordan M., Sancho B.** (2014). *Use of dietary rosemary extract in ewe and lamb to extend the shelf life of raw and cooked meat*. **Small Ruminant Research**, 116 144-152.
- Seydim A and Sarikus G** (2006). *Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils*. **Food Research International**, 39, 639–644.
- Seydim A., Zeynep B., Guzel-Seydim J., Dawson P.** (2006). *Effects of Rosemary Extract and Sodium Lactate on Quality of Vacuum-packaged Ground Ostrich Meat*. **Journal of Food Science**, 71, 71-76.

- Sikkema J., De Bont J., Poolman B.** (1994). *Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes.* **Journal of Biology and Chemistry**, 269, 8022–8028.
- Silva N., Alves S., Gonçalves A., Amaral J., Poeta P.** (2013). *Antimicrobial activity of essential oils from Mediterranean aromatic plants against several foodborne and spoilage bacteria.* **Food Science and Technology International**, 19, 503.
- Singh G., Marimuthu P., Murali H., Bawa A.** (2005). *Antioxidative and antibacterial potentials of essential oils and extracts isolated from various spice materials.* **Journal of Food Safety**, 25, 130–145.
- Singh M** (2013). *Influence of organic mulching and nitrogen application on essential oil yield and nitrogen use efficiency of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.).* **Archives of Agronomy and Soil Science**, 59, 273–279.
- Singha A., Singh R., Bhunia A., Singh N.** (2003). *Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs.* **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, 36, 787–794.
- Smid E and Gorris L** (1999). *Natural antimicrobials for food preservation.* In: *Handbook of Food Preservation.* (Ed. Rahman, M.S.) Marcel Dekker, New York, pp. 285–308.
- Smith-Palmer A** (1999). *The antimicrobial properties of plant essential oils against foodborne pathogens.* PhD thesis, Queen Margaret University College, Edinburgh, UK.
- Sofos J** (2008). *Challenges to meat safety in the 21st century.* **Meat Science**, 78, 3–13
- Solomakos N., Govaris A., Koidis P., Botsoglou N.** (2008). *The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef during refrigerated storage.* **Meat Science**, 80, 159-166.
- Sotomayor J., Martínez C., Monino I., Lax V., Quílez M., Jordán M.** (2009). *Effect of altitude on *Rosmarinus officinalis* essential oil in Murcia (Spain).* **Acta Horticult**, 826, 309-316.
- Tassou C., Drosinos E., Nychas G.** (1999). *Inhibition of resident microbial flora and pathogen inocula on cold fresh fish fillets in olive oil, oregano, and lemon juice under modified atmosphere or air.* **Journal of Food Protection**, 59, 31-34.
- Tavassoli S and Djomeh E** (2011). *Total Phenols, Antioxidant Potential and Antimicrobial Activity of Methanol Extract of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)* **Global Veterinaria** 7 (4): 337-341.
- Tironi V., Tomas M., Anon M.** (2010). *Quality loss during the frozen storage of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*) Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract.* **Food Science and Technology**, 43, 263–272.

- Tsai Tzung-Hsun, Tsai Tsung-Hsien, Chien You-Chia, Lee Chi-Wei, Tsai Po-Jung.**(2008). *In vitro antimicrobial activities against cariogenic streptococci and their antioxidant capacities: A comparative study of green tea versus different herbs.* **Food Chemistry**, 110, 859–864.
- Tuley de Silva K** (1996). *A Manual on the Essential Oil Industry.* United Nations Industrial Development Organization, Vienna.
- Van de Braak S and Leijten G** (1999). *Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union.* CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam, p. 116.
- Van Welie R** (1997). *Alle cosmetica ingredienten en hun functies.* Nederlandse Cosmetica Vereniging, Nieuwegein, p. 126.
- Vareltzis K., Koufidis D., Gavriilidou E., Papavergou E., Vasiliadou S.** (1997). *Effectiveness of a natural Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage.* **Z Lebensm Unters Forsch A**, 205: 93-96.
- Vasilatos G and Savvaidis I** (2013). *Chitosan or rosemary oil treatments, singly or combined to increase turkey meat shelf-life.* **International Journal of Food Microbiology**, 166 54–58.
- Vasta V., Aouadi D., Brogna D., Scerra M., Priolo G., Salem H.** (2013). *Effect of the dietary supplementation of essential oils from rosemary and artemisia on muscle fatty acids and volatile compound profiles in Barbarine lambs.* **Meat Science** 95 , 235-241.
- Vazquez-Boland J., Kuhn M., Berche P., Chakraborty T., Domínguez-Bernal G., Goebel W., González-Zorn B., Wehland J., Kreft J.** (2001). *Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants.* **Clinical Microbiological Reviews**, 4: 584–640.
- Vitaglione P and Fogliano V** (2004) .*Use of antioxidants to minimize the human health risk associated to mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in food.* **Journal of Chromatography B**, 802 189–199.
- Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-Lopez J., Perez-Alvarez J.** (2010a). *Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf-life of mortadella.* **Meat Science**, 85, 568-576.
- Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez J.** (2010b). *Effect of orange dietary fibre, oregano essential oil and packaging conditions on shelf-life of bologna sausages.* **Food Control**, 21, 436-443.
- Wada S and Fang X** (1992). *The synergistic antioxidant effect of rosemary extract and α-tocopherol in sardine oil model system and frozen-crushed fish meat.* **Journal of Food Processing and Preservation** 16, 263-274.
- Wang W., Wu N., Zu Y.G., Fu Y.** (2008). *Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components.* **Food Chemistry** 108, 1019–1022.

- Waszkowiak K and Dolata W** (2007). *The application of collagen preparations as carriers of rosemary extract in the production of processed meat.* **Meat Science**, 75,178–183.
- WHO** (2002) *In World health Organization Fact sheet.* Food safety and food borne illness. World Health Organization: Geneva, Switzerland, pp 237.
- WHO** Global Salm-Surv (2004) WHO Global Salm-Surv Progress Report. p:25.
- WHO/FAO** (2004) Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. INTERPRETATIVE SUMMARY. pp: 8.
- Yano Y., Satomi M., Oikawa H.** (2006). *Antimicrobial activity of spices and herbs on Vibrio parahaemolyticus.* International Journal of Food Microbiology. 111, 6-11.
- Yin M and Faustman C** (1993). *The influence of temperature, pH and phospholipid composition upon the stability of myoglobin and phospholipid: A liposome model.* **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 41, 853 -7.
- Zhang Y., Yeha E., Hallb G., Cripeb J., Bhagwatc A., Menget J.** (2007). *Characterization of Listeria monocytogenes isolated from retail foods.* International **Journal of Food Microbiology**, 113, 47–53.

