



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ»

***ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΙΚΤΟΥ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΟΣ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΗΣ ΕΛΙΑΣ***

***ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΑΣΧΕΣΗ ΤΗΣ***

***ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ LDL ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ***

***DEVELOPMENT OF A COMPOUND MIXTURE OF OLIVE POLYPHENOL  
AND THE STUDY OF SUPRESSING THE ACIDATIVE PROPERTIES OF LDL  
CHOLESTEROL***

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΛΑΖΑΡΙΔΟΥ ΜΑΡΙΑ**

**2017**

## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	6
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ABSTRACT	8
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	
1.1 Καλλιέργεια της ελιάς	9
1.2 Η σημασία της για την Ελλάδα	10
1.3 Χαρακτηριστικά Ελαιολάδου	12
1.4 Απόβλητα ελαιοτριβείων	13
1.5 Μέθοδοι επεξεργασίας	14
ΕΝΟΤΗΤΑ 2: ΒΑΣΙΚΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ	
2.1 Πολυφαινόλες	16
2.1.1 Φυσιολογικές Δράσεις	17
2.1.2 Ορός WBSSH	17
2.1.3 Οξύτητα	18
2.2 Πολυφαινόλες ελαιολάδου και υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου	18
2.3 Επιδράσεις στην Υγεία του ανθρώπου	22
ΕΝΟΤΗΤΑ 3: ΕΝΘΥΛΑΚΩΣΗ	
3.1 Ορισμός	24
3.2 Σκοπός Ενθυλάκωσης	24
ΕΝΟΤΗΤΑ 4: ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ	
4.1 Ορισμός και Κατηγορίες	25

4.1.1 Προσδιορισμός ολικής χοληστερόλης	26
4.1.2 Φυσιολογικά επίπεδα ολικής χοληστερόλης	27
4.1.3 Αθηρωματικός δείκτης	28
4.2 Προσδιορισμός και επίπεδα LDL χοληστερόλης	29
4.3 Οξειδωτική τροποποίηση του σωματιδίου της LDL και προϊόντα οξειδωσης	31
<b>ΕΝΟΤΗΤΑ 5: ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ</b>	
5.1 Ελεύθερες ρίζες	33
5.1.1 Δημιουργία ελευθέρων ριζών στον οργανισμό	33
5.2 Οξειδωτικό στρες	35
<b>ΕΝΟΤΗΤΑ 6: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
6.1 Επεξεργασία υγρών αποβλήτων ελαιολιπιδίου	37
6.2 Εκτίμηση της αντιοξειδωτικότητας μέσω αλληλεπίδρασης με την ρίζα DPPH	38
6.2.1 Αρχή Μεθόδου	38
6.2.2 Πειραματική Διαδικασία	39
6.2.3 Υπολογισμός της αντιοξειδωτικής Ικανότητας-Στατιστική Ανάλυση	40
6.3 Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής Ικανότητας μέσω αλληλεπίδρασης με την ρίζα DPPH	41
6.4 Κρυοξήρανση – Ενθυλάκωση με FreezeDrying	43
6.4.1 Γενικά	43
6.4.2 Αρχή λειτουργίας	44
6.5 Μελέτη της αντιοξειδωτικής Ικανότητας εχνίνοσε απομονωμένες λιποπρωτείνες χαμηλής πυκνότητας	45

6.5.1 Υλικά	45
6.5.2 Απομόνωση καθαρισμός και οξείδωση της LDL	46
6.5.3 Αποτελέσματα	47
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	51
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	54
ΠΗΓΕΣ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟΥ	57

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Κων/νος Πετρωτός (επιβλέπων):** Επίκουρος Καθηγητής του Τμήματος Μηχανικής Βιοσυστημάτων του ΤΕΙ/Λάρισας.

**Δημήτριος Κουρέτας:** Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών - Τοξικολογίας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

**Δημήτριος Στάγκος:** Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών - Τοξικολογίας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Η παρούσα διπλωματική εργασία, εκπονήθηκε υπό την επίβλεψη του Αν. Καθηγητή Δρ. Πετρωτού Κωνσταντίνου, του τμήματος Τεχνολόγων Γεωπονίας στο εργαστήριο Μηχανικής Τροφίμων – Βιοσυστημάτων του ΤΕΙ Θεσσαλίας. Θα ήθελα να τον ευχαριστήσω θερμά για την ευκαιρία που μου έδωσε και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε να εκπονήσω αυτή την εργασία στο εργαστήριό του, όπως επίσης και για τις πολύτιμες συμβουλές του.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης, τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Δημήτριο Στάγκο, για τη συνεχή και ουσιαστική υποστήριξή του, τόσο στα εργαστηριακά πειράματα όσο και στην συγγραφή αυτής της εργασίας. Ευχαριστώ επίσης ιδιαίτερα, την Επ. καθηγήτρια Μακέδου Καλή, για την πολύτιμη βοήθειά της να φέρω εις πέρας και να τελειοποιήσω την πειραματική διαδικασία, μέρος της οποίας τελέσθηκε στο εργαστήριο κλινικής βιοχημείας της ιατρικής σχολής του πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

Τέλος, ευχαριστώ τον Αλέξανδρο Ντόντο, μεταπτυχιακό φοιτητή του προγράμματος Ποιότητα διατροφής και Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για τη βοήθειά του κατά τη διαδικασία της ενθυλάκωσης καθώς και την οικογένεια και τους φίλους μου, για την εμπύχωση και υποστήριξη καθ' όλη τη διάρκεια αυτής της προσπάθειάς μου.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Από την αρχαιότητα, είναι γνωστή η διατροφική αξία του ελαιολάδου και ο σημαντικός ρόλος που κατέχει στη διατροφή μας. Η σύγχρονη ιατρική, συστήνει την ευρεία χρήση του ελαιολάδου στην καθημερινή διατροφή ενηλίκων και παιδιών, υγιών και ασθενών, χάρη στα πολύτιμα συστατικά του. Πρόσφατα οι ευεργετικές ιδιότητες του ελαιολάδου, έχουν αποδοθεί σε επιμέρους συστατικά του, τις φυτικές πολυφαινόλες. Αυτές οι ενώσεις συναντώνται επίσης και στα υγρά απόβλητα που παράγονται κατά την διαδικασία παραγωγής του ελαιολάδου και τα μετατρέπουν σε έναν “πολύτιμο” ρύπο.

Η αποτελεσματικότητα των πολυφαινολών, εξαρτάται από τη διατήρηση της σταθερότητας τους, της βιοδραστικότητας, καθώς και από τη ενίσχυση της βιοδιαθεσιμότητάς τους. Στη συγκεκριμένη εργασία, εφαρμόσθηκε η τεχνολογία της ενθυλάκωσης που χρησιμοποιείται για τον εγκλεισμό ευαίσθητων συστατικών μέσα σε προστατευμένα πλέγματα από άλλα υλικά. Στη δεδομένη περίπτωση, ευαίσθητα συστατικά στην οξείδωση, μπορούν να προστατευθούν μέσω της ενθυλάκωσης. Σημαντικό επίσης ρόλο παίζει το μέσο στο οποίο θα προστατευθεί το ευαίσθητο υλικό, το οποίο στην περίπτωση μας είναι η μαλτοδεξτρίνη παρουσία γλυκομαννάνης. Μέσα από αυτή τη διαδικασία μπορεί να ελεγχθεί ο χρόνος απελευθέρωσής του, ώστε να προκύψει το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα.

Στην παρούσα εργασία, δημιουργήσαμε ένα μεικτό σκεύασμα πολυφαινόλης ελιάς, σε μορφή σκόνης υψηλής προστιθέμενης αξίας. Εκτελέσθηκε ενθυλάκωση του πολυφαινολικού υγρού, με τη χρήση της συσκευής FreezeDryer, προκειμένου να μελετηθεί η επίδρασή του στην ανάσχεση της οξειδωτικής LDL χοληστερόλης. Για το λόγο αυτό, χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις μειγμάτων πολυφαινολών, οι οποίες με επιτυχία προκάλεσαν την ανάσχεση της LDL χοληστερόλης.

## ABSTRACT

It is known, since the ancient times, the nutritional value and the significant role which olive oil plays in our diet. Modern medicine suggests the use of olive oil in the daily diet of adults and children, healthy or ill, because of its valuable ingredients. Recently, the beneficial properties of olive oil have been attributed to its individual substances such as the herbal polyphenols. These compounds are also found in the liquid wastes which are produced during the production of olive oil, which makes it a very “valuable” waste.

The effectiveness of the polyphenols depends mainly on their stability maintenance, bioactivity, as well as the enhancement of their bioavailability. In this project, the encapsulation technique was applied, which is used for the detainment of sensitive ingredients within protective nets made of other materials. In this particular case, sensitive ingredients in oxidation can be protected through encapsulation. A very important role in this process plays the medium in which the sensitive ingredient will be protected, in our case it is maltodextrin with the presence of glucomannan. Through this process its release time can be controlled so that the best possible result can be achieved.

In this project we have created a mixed formula of olive polyphenols in the form of powder with high additional value. Encapsulation of the polyphenolic liquid was performed, with the use of a Freeze Dryer in order to study the effect in the suspension of the oxidative LDL cholesterol. For that purpose, two mixtures with different concentrations of polyphenols were used, which successfully caused the suspension of LDL cholesterol.



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ

Η ιστορία της ελιάς είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τη ζωή των ανθρώπων της Μεσογείου. Οι ιστορικοί καθιστούν το λεκανοπέδιο της Μεσογείου σαν το μέρος όπου πρωτοεμφανίστηκαν τα ελαιόδένδρα. Η πρώτη καλλιέργεια ελαιοδένδρων στον κόσμο, έγινε στην Ελλάδα και συγκεκριμένα στην Κρήτη. Το ελαιόδένδρο (*Olea europaea*) αποτελούσε ανέκαθεν σύμβολο αγώνων, ευημερίας, ειρήνης, γονιμότητας και ευφορίας.

Η εξέταση των αρχαιολογικών στοιχείων που αφορούν τη χρήση και τη σημασία της ελιάς στην αρχαιότητα επιβεβαιώνει ότι αυτή αποτελούσε ένα από τα χρησιμότερα και πιο αγαπητά δέντρα των Ελλήνων, λόγω της ιερότητός της, της οικονομικής σημασίας της και των ποικίλων χρήσεων των προϊόντων της στην καθημερινή και στη θρησκευτική ζωή. Πολλά ελληνικά γραπτά αναφέρονται στην ελιά και τον ευεργετικό της ρόλο. Η καλλιέργεια της ελιάς υπολογίζεται ότι ξεκίνησε πριν από 7.000 χρόνια. Την περίοδο εκείνη τα ελαιόδέντρα υπήρχαν ως μια πρωτόγονη μορφή του φυτού, συγκριτικά με αυτή που γνωρίζουμε σήμερα. Μετά το 3.000 π.Χ. η καλλιέργεια των ελαιοδένδρων στην Κρήτη έγινε συστηματική και ξεκίνησε να παίζει σημαντικό ρόλο για την οικονομία του νησιού. Οι Κρητικοί έγιναν οι πρώτοι εξαγωγείς λαδιού στην ιστορία, τόσο στην ενδοχώρα της Ελλάδας όσο και στην Αφρική και τη Μέση Ανατολή.

Υπολογίζεται ότι σήμερα υπάρχουν γύρω στα 800 εκατομμύρια ελαιόδένδρα στον κόσμο, με τη συντριπτική πλειοψηφία τους στις μεσογειακές χώρες. Η φυσιολογική διάρκεια ζωής ενός ελαιοδένδρου ανέρχεται σε 300 έως 600 χρόνια. Υπάρχουν και ελιές με ηλικία που ξεπερνά τα 1000 χρόνια και περισσότερες από 70 ποικιλίες ελαιοδένδρων στον κόσμο.

Το λάδι χρησιμοποιούνταν στην αρχαιότητα και για τις θεραπευτικές ιδιότητές του. Στον Ιπποκράτειο Κώδικα αναφέρονται περισσότερες από 60 φαρμακευτικές χρήσεις του, με τον ίδιο να έχει χαρακτηρίσει την ελιά ως «το μέγα φάρμακο».

Σήμερα, οι περισσότερες εμπειριστατωμένες έρευνες και μελέτες έχουν αναδείξει το ελαιόλαδο ως ένα από τα σημαντικότερα προϊόντα υγιεινής διατροφής. Θεωρείται ότι συμβάλλει στη μείωση των καρδιακών νοσημάτων,

της χοληστερόλης και παρεμποδίζει την εμφάνιση καρκίνου, ενώ οι πολυφαινόλες του ελαιολάδου, οι οποίες αποτελούν φυσικά αντιοξειδωτικά επιδρούν ευεργετικά στην πρόληψη ή και θεραπεία πολλών άλλων νοσημάτων (VisioliF., Galli, C. 1998, Owenetal. 2000, Andrikopoulos et al. 2002).

## 1.2 Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

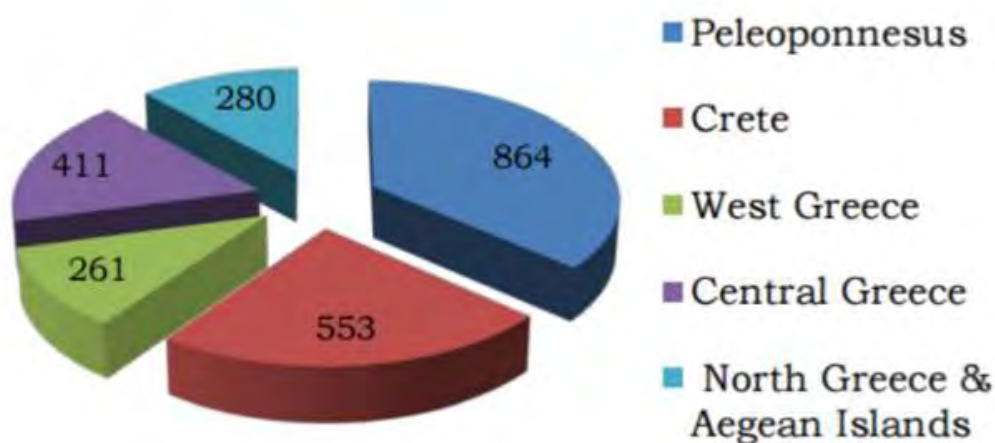
Από τότε που πρωτοεμφανίστηκε στην Ελλάδα η γραφή, συναντάμε αναφορές στο λάδι. Η σημασία της ελαιοπαραγωγής στην Ελλάδα είναι τεράστια, ιδίως όμως για την οικονομία των νησιών της, καθώς η αιθαλής ελιά μπορεί να καλλιεργηθεί σε εδάφη ακατάλληλα για τα δημητριακά. Έτσι, τα αρκετά περιορισμένα καλλιεργήσιμα εδάφη των νησιών μπόρεσαν να αυξηθούν, φτάνοντας σε σημείο που η ελιά να είναι πολύ πιο σημαντικό φυτό σε παραγωγή από τα δημητριακά. Το αποτέλεσμα ήταν η αύξηση πληθυσμού των νησιών, η βελτίωση της διατροφής, καθώς και η δημιουργία προϊόντων για το εμπόριο. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι τεχνικές καλλιέργειας της ελιάς και της παραγωγής του λαδιού, που είχαν διαμορφωθεί από την ελληνιστική εποχή, δεν υπέστησαν αλλαγές με το πέρασμα του χρόνου και διατηρήθηκαν οι ίδιες στον Ελλαδικό χώρο έως τα μέσα του 19<sup>ου</sup> αιώνα.

Η ελιά διαδραματίζει εξίσου πολύτιμο ρόλο και στη διατήρηση του περιβάλλοντος, διότι προσφέρεται καλύτερα για αξιοποίηση των εδαφών που εξαρτώνται μόνο από βροχοπτώσεις. Σε τέτοιες «ευαίσθητες» περιοχές η εγκατάσταση άλλων καλλιεργειών, εκτός της ελιάς, εκθέτει τα εδάφη στον κίνδυνο διαβρώσεων, ενώ η ελαιοκαλλιέργεια, σε συνδυασμό καλλιέργειας με χειμερινά είδη σιτηρών, όπως το κριθάρι ή ψυχανθή, προσφέρεται για τη συντήρηση των προβληματικών αυτών εδαφών.

Επιπλέον, η καλλιέργεια της ελιάς στις περισσότερες περιοχές της Ελλάδας έχει τη μορφή μονοκαλλιέργειας και το λάδι της ελιάς αποτελεί το αποκλειστικό εισόδημα των κατοίκων αυτών των περιοχών. Επίσης, στις περιοχές, όπου ο τουρισμός απασχολεί ένα σημαντικό μέρος του πληθυσμού κατά την καλοκαιρινή περίοδο, π.χ. Χαλκιδική, Κέρκυρα, Θάσος, η ελαιοκαλλιέργεια απασχολεί κατά τους χειμερινούς μήνες το εργατικό

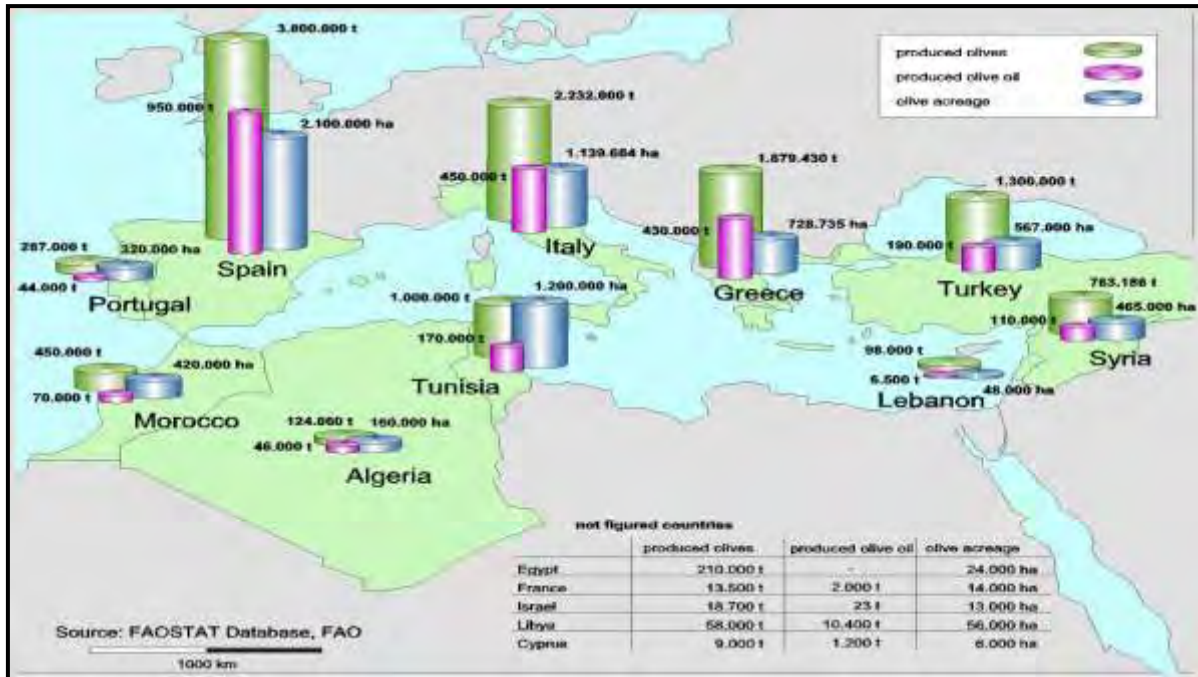
δυναμικό, κυρίως στη συγκομιδή του ελαιοκάρπου. Έτσι η ελαιοκαλλιέργεια συμπληρώνει το εισόδημα των κατοίκων των περιοχών αυτών, που έχουν στραφεί στον τουρισμό. (<http://www.hecucenter.ru/gr/greece>)

Ο αριθμός των ελαιοδένδρων που καλλιεργούνται κάθε χρόνο παγκοσμίως είναι περίπου 750 εκατομμύρια, τα οποία καλύπτουν επιφάνεια επτά εκατομμυρίων εκταρίων. Ένα δένδρο ελιάς παράγει 15 έως 40 κιλά ελαιοκάρπου το χρόνο. Το 97% της παγκόσμιας παραγωγής ελαιόλαδου παράγεται από τις χώρες της Μεσογείου. Συγκεκριμένα η Ελλάδα είναι η τρίτη ελαιοπαραγωγός χώρα στον κόσμο, μετά την Ισπανία και την Ιταλία με ετήσια παραγωγή να κυμαίνεται από 300.000 έως 400.000 τόνους ελαιόλαδο.



Εικόνα 1: Γεωγραφική κατανομή ελαιοτριβείων στην Ελλάδα

Πηγή: [www.prosodol.gr](http://www.prosodol.gr)



Εικόνα 2: Παραγωγή Ελιάς - Ελαιολάδου - Καλλιεργούμενες Εκτάσεις

Πηγή: <http://www.fiw.rwth-aachen.de/cms/index.php?id=349>

### 1.3 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ

α. Οξύτητα. Υψηλή οξύτητα συνήθως σημαίνει ότι το ελαιόλαδο προέρχεται από ταλαιπωρημένο ελαιόκαρπο ή ακατάλληλες συνθήκες ελαιοποίησης.

β. Υπεροξειδία. Τα υψηλά υπεροξειδία υποδηλώνουν ότι το ελαιόλαδο έχει υποστεί οξειδωτικές ή άλλες αλλοιώσεις.

γ. Κήροι (Ένδειξη παρουσίας πυρηνελαίου)

δ. Κορεσμένα Λιπαρά Οξέα στη Θέση 2. (Παρουσία εστεροποιημένων «συνθετικών» ελαίων)

ε. Στιγμασταδιένια. (Ένδειξη παρουσίας ραφινέ ελαίων σε παρθένα ελαιόλαδα).

στ. ΔECN 42 (Ένδειξη παρουσίας σπορέλαιων)

ζ. Κ 232 (Δείκτης αρχικών σταδίων οξειδωσης)

η. Κ 270 (Δείκτης προχωρημένου σταδίου οξειδωσης)

θ. ΔΚ (Μαθηματική σχέση υπολογισμού συντελεστών απορρόφησης υπεριώδους ακτινοβολίας)

ι. Οργανοληπτική Αξιολόγηση. (Στατιστική μέθοδος προσδιορισμού οργανοληπτικών χαρακτηριστικών)

ια. Μυριστικό, Λινολενικό, Αραχιδικό, Εικοσενικό, Βεχενικό, Λιγνοκηρικό οξύ. (Περιεκτικότητες μεγαλύτερες των ποσοστών των επιτρεπτών ορίων, υποδηλώνουν αντίστοιχα την παρουσία κάποιου σπορέλαιου)

ιβ. Trans Ισομερή Λιπαρά Οξέα. (Ένδειξη παρουσίας ραφινέ ελαίων σε παρθένα ελαιόλαδα)

ιγ. Χοληστερόλη. (Πιθανή ένδειξη παρουσίας ζωικού λίπους)

ιδ. Βρασικαστερόλη. (Πιθανή ένδειξη παρουσίας σπορέλαιου)

ιε. Καμπεστερόλη. (Πιθανή ένδειξη παρουσίας σπορέλαιου)

ιστ. Στιγμαστερόλη. (Πιθανή ένδειξη παρουσίας σπορέλαιου)

ιζ. Συνολική β-Σιτοστερόλη. (Πιθανή ένδειξη παρουσίας σπορέλαιου)

ιη. δ7-Στιγμαστερόλη. (Πιθανή ένδειξη παρουσίας σπορέλαιου)

ιθ. Συνολικές Στερόλες. (Πιθανή ένδειξη παρουσίας σπορέλαιων)

κ. Ερυθροδιόλη και Ουβαόλη. (Πιθανή ένδειξη παρουσίας πυρηνελαίου)

κα. Αλογονωμένοι Διαλύτες. (Επιμόλυνση του ελαιολάδου με διάφορα τοξικά)

Πηγή: [http://www.gge.gr/up/files/elaiol\\_typo.pdf](http://www.gge.gr/up/files/elaiol_typo.pdf)

#### 1.4 ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΩΝ

Κατά την κατεργασία του ελαιοκάρπου στα ελαιουργεία, παράλληλα με το ελαιόλαδο, παράγεται και μία σειρά παραπροϊόντων. Αυτά είναι:

α. Ο ελαιοπυρήνας, που αποτελείται από τα αλεσμένα στερεά συστατικά του καρπού (κυρίως από το κουκούτσι),

β. Τα ελαιόφυλλα, που έχουν μεταφερθεί με τον ελαιόκαρπο και

γ. Μία σημαντική σε όγκο και οργανικό φορτίο ποσότητα υγρών αποβλήτων, που είναι γνωστά ως "λιοζούμι", "κατσίγαρος" ή "μούργα". Ο κατσίγαρος συνίσταται από το υδατικό κλάσμα του χυμού του ελαιοκάρπου και από το νερό που χρησιμοποιείται στις διάφορες φάσεις παραγωγής του λαδιού στο ελαιουργείο.

Ουσιαστικά, πρόκειται για ένα υδατικό φυτικό εκχύλισμα, που περιέχει μία σειρά από ουσίες όπως σάκχαρα, αζωτούχες ενώσεις, οργανικά οξέα, πολυαλκοόλες, πολυφαινόλες και υπολείμματα ελαίου. Η άμεση επίπτωση

του κατσίγαρου στο περιβάλλον είναι η αισθητική υποβάθμιση που προκαλεί και η οποία οφείλεται στην έντονη οσμή του και στο σκούρο χρώμα του.

Παράλληλα, εξαιτίας του υψηλού οργανικού φορτίου που περιέχει, είναι πιθανόν να δημιουργήσει ευτροφικά φαινόμενα σε περιπτώσεις που καταλήγει σε αποδέκτες με μικρή ανακυκλοφορία νερών (κλειστούς θαλάσσιους κόλπους, λίμνες κ.τ.λ.).

## **1.5 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ**

Για την επεξεργασία και διάθεση του κατσίγαρου έχουν δοκιμαστεί διάφορες μέθοδοι σε εργαστηριακή και πραγματική κλίμακα. Παρόλα αυτά, μέχρι σήμερα δεν έχει προταθεί μία ολοκληρωμένη λύση, αλλά έχουν εφαρμοστεί διάφορες τεχνικές, οι οποίες παρουσιάζουν ορισμένα μειονεκτήματα τεχνικής ή οικονομικής φύσης κατά περίπτωση και έτσι δεν έχουν επιλύσει ικανοποιητικά το πρόβλημα. Πολλοί επιστήμονες εργάζονται πάνω στην εύρεση αποδοτικών και εναλλακτικών μεθόδων διαχείρισης των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων. Για να επιτευχθεί κάτι τέτοιο διάφορες μέθοδοι, αλλά και συνδυασμοί αυτών, έχουν εφαρμοστεί, συμπεριλαμβανομένου χημικών, μηχανικών, φυσικών, βιολογικών και θερμικών μεθόδων. Παρακάτω παρατίθεται ένας συγκεντρωτικός πίνακας των μεθόδων αυτών.

Πίνακας 1: Μέθοδοι διαχείρισης ΥΑΕ.

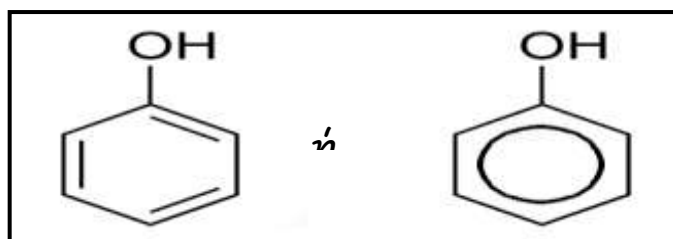
<b>Μηχανική Επεξεργασία</b>	<b>Φυσικοχημική επεξεργασία</b>	<b>Βιολογικά επεξεργασία</b>
Διήθηση	Διαχωρισμός με μεμβράνες	Λίμνες εξάτμισης
Επίπλευση	Αποτέφρωση	Μέθοδος ενεργού ιλύος
Καθίζηση	Εξάτμιση	Αναερόβια επεξεργασία
Απολίπωση	Απόσταξη	
	Συσσωμάτωση	
	Προσρόφηση	
	Ηλεκτρόλυση	

## ΕΝΟΤΗΤΑ 2:

### ΒΑΣΙΚΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ

#### 2.1 ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ – (POLYPHENOLS)

Ο όρος πολυφαινόλη, χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1894. Είναι σύνθετο ουσιαστικό, που σχηματίζεται από την λέξη (πολύ) και την λέξη (φαινόλη), η οποία αναφέρεται σε μία χημική δομή ενός βενζοϊκού δακτυλίου (αρωματικός υδρογονάνθρακας) και μίας υδροξυλικής ομάδας (-OH), που βρίσκονται σε δεσμό μεταξύ τους. Είναι δηλαδή, μόρια όπου έχουν μία υδροξυλική ομάδα, σε δεσμό με το άτομο του άνθρακα του αρωματικού δακτυλίου. Ο χημικός τύπος της φαινόλης (Φαινικό οξύ) είναι  $C_6H_5OH$ , το απλούστερο των φαινολών.



**Εικόνα 3.** Φαινολικό (Φαινικό οξύ): Η απλούστερη φαινόλη.

Οι πολυφαινόλες είναι μια δομική κατηγορία που αποτελείται κυρίως από φυσικές αλλά επίσης και συνθετικές ή ημισυνθετικές, οργανικές χημικές ουσίες, οι οποίες χαρακτηρίζονται από την παρουσία μεγάλων πολλαπλάσιων των δομικών μονάδων της φαινόλης (Quideau, S., et al., 2011). Είναι μία μεγάλη και ετερογενής κατηγορία χημικών ενώσεων που παράγονται ως δευτερογενείς μεταβολίτες από τα φυτά (Bravo 1998). Επιπλέον, βρίσκονται και στα τρόφιμα όπου τα προστατεύουν από εξωτερικούς παράγοντες όπως η υπεριώδης ακτινοβολία και οι μικροβιακές εισβολές, ενισχύοντας τη φυσική τους άμυνα. Στα τρόφιμα, οι πολυφαινόλες μπορούν να συμβάλλουν στην πικρή γεύση, στυφότητα, στο χρώμα, στη γεύση, στην οσμή και στην οξειδωτική σταθερότητα. Η κύρια πηγή για τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά



είναι η διατροφή, μιας και οι πολυφαινόλες βρίσκονται σε ποικιλίες τροφίμων που περιέχουν φυτοθρεπτικά συστατικά.

Τα τελευταία χρόνια έχει αναπτυχθεί ολοένα και αυξανόμενο ενδιαφέρον για τις φυτικές πολυφαινόλες, που οφείλεται κυρίως στην αναγνώριση των αντιοξειδωτικών τους ιδιοτήτων καθώς και της πιθανής χημειοπροστατευτικής τους επίδρασης στην ανθρώπινη υγεία (Dew et. al., 2005).

### **2.1.1 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ**

Οι πολυφαινόλες είναι χαμηλού μοριακού βάρους. Συνήθως σε υγρή μορφή ή σε στερεή με χαμηλό σημείο τήξεως. Λόγω των δεσμών υδρογόνου, οι φαινόλες μικρού μοριακού βάρους, είναι υδατοδιαλυτές. Τείνουν να έχουν υψηλότερα σημεία βρασμού, από τις αλκοόλες ίδιου μοριακού βάρους, λόγω του ισχυροτέρου δεσμού υδρογόνου που έχουν.

Εκτός από τις ιδιότητες που προσδίδουν στα τρόφιμα, οι πολυφαινόλες είναι ιδιαίτερα ωφέλιμες για τον ανθρώπινο οργανισμό, αφού παρέχουν προστασία έναντι των καρδιοπαθειών και ορισμένων μορφών καρκίνου (Hertog., M., et al., 1995).

Επίσης, οι πολυφαινόλες παίζουν σημαντικό ρόλο και στα φυτά καθώς μπορεί να έχουν αρκετές επιπτώσεις στους φυτικούς ιστούς όπως είναι η καταστολή αυξητικών ορμονών, η προστασία από την UV ακτινοβολία, η προσθήκη χρώματος, η πρόληψη μικροβιακών μολύνσεων και η συμμετοχή σε διαδικασίες ανάπτυξης (Huber., B., et al., 2003). Επιπλέον, σε ορισμένα είδη φυτών οι πολυφαινόλες μπορούν να παρέχουν προφύλαξη έναντι της σήψης (John Hart., H., et al., 1974).

### **2.1.2 ΟΡΟΣ WBSSH**

Ο πλέον χημικά αναγνωρισμένος ορισμός του όρου πολυφαινόλη (Haslam, E.; Cai, Y. 1994), δίδεται από τους White–Bate-Smith–Swain–Haslam και αναφέρεται ως όρος (WBSSH), που περιγράφει τις πολυφαινόλες ως:

- Γενικά μέτρια υδατοδιαλυτές ενώσεις.

- Μοριακό βάρος 500–4000 Da.
- >12 υδροξυλικές ομάδες.
- Με 5–7 αρωματικούς δακτυλίους ανά 1000 Da.

### 2.1.3 ΟΞΥΤΗΤΑ

Εμφανίζουν υψηλή οξύτητα ( $pK_a = -\log_{10}K_a = 8-10$ ). Όπου  $K_a = \frac{[A^-][H^+]}{[HA]}$ . HA = το αρχικό οξύ που διασπάται σε A<sup>-</sup> (συζευγμένη βάση του οξέως) και σε ένα (υδρογόνιο ή πρωτόνιο) H<sup>+</sup>.

Το pKa μας βοηθά να κατανοούμε την φύση ενός οξέος ή μιας βάσης σαν το pH:

- $pK_a < 2$  --strong acid.
- $pK_a > 2$  but  $< 7$  -- weak acid.
- $pK_a > 7$  but  $< 10$  -- weak base.
- $pK_a > 10$  --strong base.

Λόγω της υψηλής οξύτητας, οι φαινόλες συχνά ονομάζονται και καρβολικά οξέα (carbolic acids). Το μόριο της φαινόλης έχει υψηλή οξύτητα, διότι έχει μερικώς θετικό φορτίο στο άτομο του οξυγόνου, λόγω συντονισμού και το ανιόν το οποίο σχηματίζεται από την απώλεια ενός υδρογόνου, σταθεροποιείται και αυτό με το συντονισμό.

## 2.2 ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟΥ ΚΑΙ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΟΥ

Οι πολυφαινόλες στο ελαιόδεντρο υπάρχουν στα φύλλα και στον ελαιόκαρπο. Η συγκέντρωσή τους στο ελαιόλαδο επηρεάζεται από:

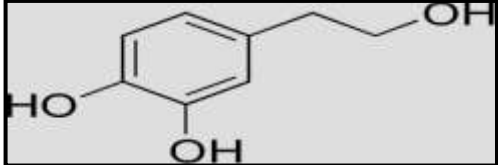
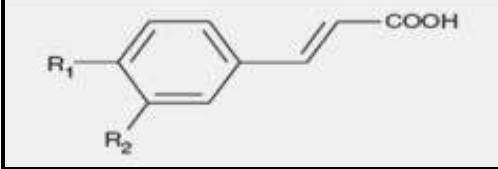
- την ωριμότητα του ελαιόκαρπου,
- τον τρόπο και τον χρόνο αποθήκευσης,
- τον τύπο ελαιοτριβείου,
- τις κλιματολογικές συνθήκες κάθε περιοχής.

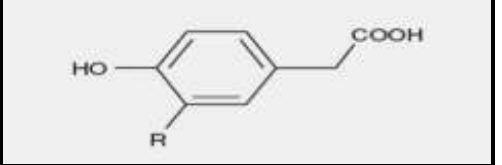
(Ryan, D and Robards K. 1998).

Κατά την διάρκεια της αποθήκευσης του ελαιοκάρπου μειώνεται η συγκέντρωση πολυφαινολών λόγω οξειδωτικών και υδρολυτικών διαδικασιών. Η υδατοδιαλυτότητα των πρωτεϊνών και των πολυσακχαριτών, κατά την παραγωγή ελαιόλαδου, επηρεάζει τις φαινολικές ενώσεις με μερική διάλυση, όπου στη συνέχεια απομακρύνονται με τα απόβραστα. (Tsimidou, M., et al., 1992).

Η Τυροσόλη και η Υδροξυτυροσόλη, είναι τα κύρια φαινολικά συστατικά που βρίσκονται στο ελαιόλαδο. Υπάρχουν και άλλα φαινολικά συστατικά που βρίσκονται στο ελαιόλαδο όπως ελαιουροπαΐνη, καφεϊκό οξύ, βανιλλικό οξύ, συριγγικό οξύ, κουμαρικό οξύ, φερουλικό οξύ, σιναπικό οξύ, p-υδροξυβενζοϊκό οξύ, πρωτοκατεχικό οξύ, γαλλικό οξύ, γεντιστικό οξύ, σικιμικό οξύ, p-φαινολοξικό και οι ενώσεις θυμόλη, καρβακρόλη και οι φλαβονοειδείς ενώσεις καμφερόλη, απιγενίνη και κερκετίνη. Η ελαιουρωπεΐνη και τα επιμέρους συστατικά της παίζουν σημαντικό ρόλο καθώς έχουν προστατευτική δράση, κυρίως αντιοξειδωτική (Βαλαβανίδης, et al., 2007). Αυτή η αντιοξειδωτική και βακτηριοκτόνος δράση, όπως και άλλες βιταμίνες και ιχνοστοιχεία είναι εξαιρετικά ευεργετικές για την υγεία του ανθρώπου. Άλλα συστατικά του ελαιόλαδου είναι τα οξέα καφεϊκό, βανιλλικό, συριγγικό και κουμαρικό. Επίσης, άλλες αντιοξειδωτικές ενώσεις που υπάρχουν στο ελαιόλαδο είναι διάφορα φλαβονοειδή και οι ανθοκυανίνες (Paradopoulos, GK., et al., 1991).

Πίνακας 2: Κυριότερες Πολυφαινόλες στα ΥΑΕ

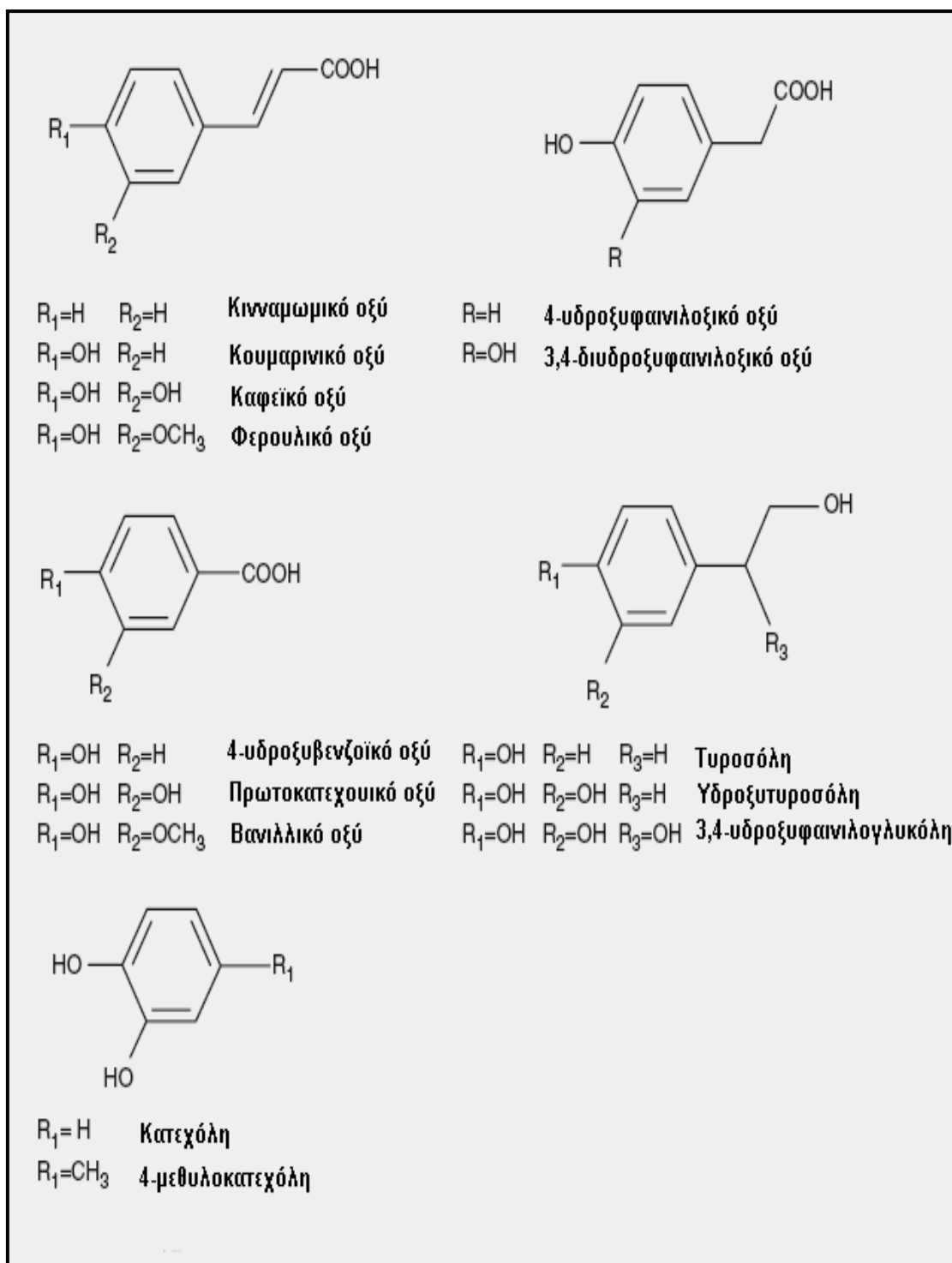
α/α	Κατηγορία	Πολυφαινόλες	Χημικοί Τύποι
1	Υ.Α.Ε.	Υδροξυτυροσόλη	
		Καφεϊκό Οξύ	

		Υδροξυφαινολικ ό Οξύ	
--	--	-------------------------	--

Η τοξικότητα και η ισχυρή αντιοξειδωτική δράση των αποβλήτων, αφορά στη συγκέντρωση των φαινολών, συστατικά που προκαλούν δύσκολη αποικοδόμηση (Mekki A. et.al., 2007).

Ιδιαίτερα για τις πολυφαινόλες οι οποίες βρίσκονται στο ελαιόλαδο και κατ'επέκταση στα υγρά απόβλητα ελαιοτριβείου (Υ.Α.Ε.), διάφορες έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ζώα, έχουν δείξει ότι τα πολυφαινολικά συστατικά του ελαιόλαδου έχουν σημαντικές βιολογικές δραστηριότητες που μπορούν να μειώσουν αποτελέσματα που σχετίζονται με την ανάπτυξη χρόνιων εκφυλιστικών ασθενειών.

Μελέτες, (ανθρώπου και ζώων, *in vivo* και *in vitro*) απέδειξαν ότι, οι πολυφαινόλες στο ελαιόλαδο και συνεπώς στα Υ.Α.Ε., έχουν θετικές επιδράσεις σε ορισμένες φυσιολογικές παραμέτρους, όπως είναι οι λιποπρωτείνες πλάσματος, η οξειδωτική βλάβη, οι δείκτες φλεγμονής, η κυτταρική λειτουργία, η αντιμικροβιακή δραστηριότητα και η υγεία των οστών. (Cicereale, S., et al., 2010)



Εικόνα 4: Κυριότερες Φαινολικές Ενώσεις που Συναντώνται στα Απόβλητα Ελαιοτριβείων. (Niaounakis & Halvadakis, 2006).

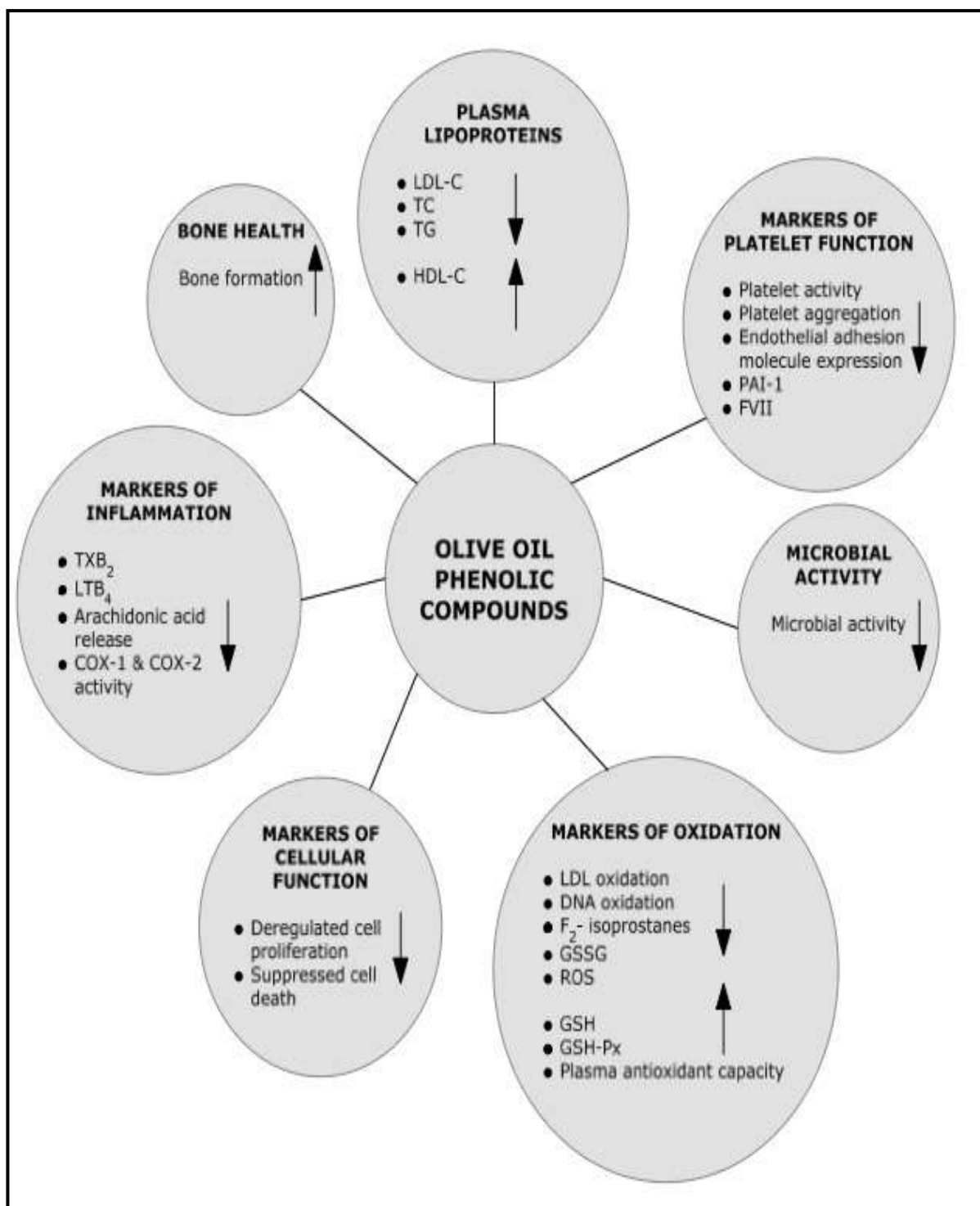
## 2.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά έχουν την ικανότητα να εξολοθρεύουν τις ελεύθερες ρίζες και να ανάγουν ορισμένες χημικές αντιδράσεις: τα δραστικά ιόντα που περιέχουν οξυγόνο (ελεύθερες ρίζες) πρέπει να αφαιρούνται από τα κύτταρα συνεχώς για να διατηρηθεί ο σωστός μεταβολισμός. Η ύπαρξη μιας πληθώρας από πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά, βάσει μελετών μπορούν:

- Να μειώσουν τις φλεγμονώδεις επιδράσεις, όπως της στεφανιαίας νόσου, και να βελτιώσουν την υγεία των ενδοθηλίων, περιορίζοντας την οξείδωση της χαμηλής-πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL).
- Να συμβάλλουν στην πρόληψη του καρκίνου – οι πολυφαινόλες που αναφέρονται για την πρόληψη του καρκίνου είναι η κατεχίνη επιγαλλοκατεχίνη γαλλικού εστέρα.
- Να καθυστερήσουν την διαδικασία της γήρανσης.
- Να προστατεύσουν τις μεμβράνες των κυττάρων, τις πρωτεΐνες και το DNA.

Η κύρια πηγή για τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά είναι η διατροφή, μιας και οι πολυφαινόλες βρίσκονται σε ποικιλίες τροφίμων που περιέχουν φυτοθρεπτικά συστατικά.

Ένα πολυφαινολικό αντιοξειδωτικό, είναι ένας τύπος αντιοξειδωτικού που περιέχει μία πολυφαινολική δομή. Σε σχέση με την ανθρώπινη υγεία αυτές οι ενώσεις, που απαριθμούν πάνω από 8.000 διαφορετικά είδη, θεωρούνται σημαντικές για την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες, παθολογικών καταστάσεων, που είναι η αιτία για νευροεκφυλιστικές ασθένειες, καρδιοπάθειες αλλά και τον καρκίνο.



Εικόνα 5: Βιολογικές λειτουργίες πολυφαινολικών συστατικών ελαιολάδου (Cicerale et.al., 2010)

## **ΕΝΟΤΗΤΑ 3:**

### **ΕΝΘΥΛΑΚΩΣΗ**

#### **3.1 ΟΡΙΣΜΟΣ**

Η Ενθυλάκωση είναι η τεχνολογία που χρησιμοποιείται για εγκλεισμό ευαίσθητων συστατικών ( βιοενεργά συστατικά, βιταμίνες, αρώματα κλπ) μέσα σε προστατευτικά πλέγματα από άλλα υλικά ( υδατάνθρακες, μαλτοδεξτρίνες, κολλοειδή κλπ) ώστε να προστατευθούν από δυσμενείς επιδράσεις του περιβάλλοντος το οποίο βρίσκονται ή κατά την εφαρμογή επεξεργασιών το οποίο υφίστανται. Ευαίσθητα συστατικά στη θερμότητα ή στην οξειδωση μπορούν να προστατευτούν με εφαρμογή αυτής της τεχνολογίας. Κατά την ενθυλάκωση έχουμε από τη μία την ουσία η οποία πρόκειται να ενθυλακωθεί (load) και από την άλλη έναν αμφίφιλο φορέα ενθυλάκωσης (carrier). Αυτές οι δύο ουσίες ομογενοποιούνται σε νερό και κατόπιν το εναιώρημα που προκύπτει διοχετεύεται σε ειδικά μηχανήματα που πραγματοποιούν την ενθυλάκωση.

Επίσης, με την κατάλληλη επιλογή του μέσου μέσα στο οποίο θα προστατευθεί το ευαίσθητο υλικό, μπορεί να ελεγχθεί και ο χρόνος απελευθέρωσης του ώστε να προκύψει το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα.

#### **3.2 ΣΚΟΠΟΣ ΕΝΘΥΛΑΚΩΣΗΣ**

Η συνηθέστερη μέθοδος ενθυλάκωσης που χρησιμοποιείται είναι το spray drying και το μηχάνημα ονομάζεται spray dryer. Το spray dryer, στο οποίο επικρατούν υψηλές θερμοκρασίες (>100°C) λαμβάνει το υγρό εναιώρημα, το οποίο καθώς εισέρχεται στο μηχάνημα μετατρέπεται σε μικρά σταγονίδια (atomization). Το μικρό μέγεθος των σταγονιδίων έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μίας μεγάλης επιφάνειας η οποία είναι διαθέσιμη προς ξήρανση. Έτσι, λόγω του μεγέθους των σταγονιδίων και των υψηλών θερμοκρασιών που επικρατούν, το νερό που περιέχεται εξατμίζεται ταχέως και ο εκάστοτε φορέας ενθυλάκωσης δημιουργεί έναν τύπο κελύφους γύρω από την ουσία (load) (Kumar, 2009). Με αυτόν τον τρόπο καταλήγουμε να έχουμε από τα σταγονίδια (υγρό) -> σωματίδια (στερεό).



Σκοπός της ενθουλάκωσης στην παρούσα μελέτη, είναι να αυξηθεί η απορροφητικότητα χρησιμοποιώντας ως ενθουλακωτικό μέσο τη μαλτοδεξτρίνη παρουσία γλυκομαννάνης.

## **ΕΝΟΤΗΤΑ 4:**

### **ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ**

#### **4.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ**

Η χοληστερίνη ή χοληστερόλη είναι κηρώδης στερόλη που βρίσκεται στη μεμβράνη των κυττάρων όλων των ιστών του σώματος, και στο πλάσμα του αίματος όλων των ζώων. Μικρότερες ποσότητες χοληστερίνης συναντώνται στις μεμβράνες των φυτών. Ουσιαστικά πρόκειται για μια λιπαρή ουσία, απαραίτητη για τη λειτουργία των κυττάρων, όπως και για την παραγωγή και τον μεταβολισμό των ορμονών. Η χοληστερόλη που υπάρχει στον οργανισμό μας προέρχεται από δύο πηγές: την τροφή και το συκώτι, το οποίο παράγει την απαραίτητη ποσότητα χοληστερόλης που χρειαζόμαστε.

Ένα μεγάλο τμήμα των λιπιδίων είναι πρακτικά αδιάλυτο στο νερό. Για να μπορούν να μεταφερθούν λοιπόν διά του αίματος έως το σημείο όπου θα χρησιμοποιηθούν, θα πρέπει να αποκτήσουν μία διαλυτή μεταφερόμενη μορφή. Τη μορφή αυτή αποκτούν τα λιπίδια όταν ενωθούν με ειδικά πρωτεϊνικά μόρια, τις απολιποπρωτεΐνες, με τις οποίες σχηματίζουν μακρομοριακές σύμπλοκες ενώσεις. Οι μορφές μεταφοράς είναι ποικίλες. Οι μεν έχουν μοριακά μεγέθη – λιποπρωτεΐνες και οι δε είναι μικροσκοπικά ορατά σωματίδια – χυλομικρά. Οι λιποπρωτεΐνες βρίσκονται είτε στο πλάσμα του αίματος, ή είναι συστατικά της μεμβράνης των κυττάρων. Η ταξινόμηση των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος, βασίζεται κύρια στην πυκνότητά τους. Έχει αποδειχθεί ότι οι λιποπρωτεΐνες είναι σφαιρικά σωματίδια, στο εσωτερικό των οποίων βρίσκονται υδρόφοβα λιπίδια, όπως οι τριακυλογλυκερόλες, οι εστέρες της γλυκερόλης και στο εξωτερικό τμήμα το οποίο βρίσκεται σε επαφή με το πλάσμα, περιέχονται αμφίφιλα λιπίδια, όπως: η φωσφατιδυλοχολίνη. Τα υδρόφοβα τμήματα της πρωτεϊνικής σύστασης, είναι τοποθετημένα κύρια στο εσωτερικό τμήμα, ενώ τα υδρόφιλα κύρια στην επιφάνεια των σωματιδίων.

Στις μεταφερόμενες λιποπρωτεΐνες, έχουν βρεθεί 5 είδη απολιποπρωτεϊνών: A, B, C, D και E. και τα 5 είδη παράγονται στο ήπαρ. Η απολιποπρωτεΐνη B παράγεται επίσης και στο έντερο.

Η σύνδεση των λιποπρωτεϊνών και των λιπιδίων δε γίνεται με ομοιοπολικούς δεσμούς, όπως γίνεται στις γλυκοπρωτεΐνες, μεταξύ της πρωτεΐνης και του υδατανθρακικού τμήματος, αλλά με μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις – υδρόφοβους δεσμούς (όπως και στη δημιουργία των μεμβρανών).

Με βάση την πυκνότητά τους ταξινομούνται σε λιποπρωτεΐνες:

- Χυλομικρά (CM)
- Πολύχαμηλής πυκνότητας (Very Low Density Lipoproteins – VLDL)
- Ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (IDL)
- Χαμηλής πυκνότητας (Low Density Lipoproteins – LDL)
- Υψηλής πυκνότητας (High Density Lipoproteins – HDL)

(Παπαϊωάννου Α., Πλαγεράς Π. 2012)

#### **4.1.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΗΣ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ**

Η χοληστερόλη βρίσκεται ως ποσοστό από 25% έως 40% σε μορφή μη εστεροποιημένης χοληστερόλης και σε ποσοστό από 60% έως 75% σε μορφή εστεροποιημένης χοληστερόλης. Στην καθημερινή διαγνωστική πρακτική συνήθως η χοληστερόλη εξετάζεται ως σύνολο των δύο μορφών της, ως ολική χοληστερόλη.

Η χοληστερόλη, λόγω της μικρής διαλυτότητάς της, βρίσκεται αποκλειστικά συνδεδεμένη με από-λιποπρωτεΐνες. Βασικό ποσοστό της χοληστερόλης βρίσκεται συνδεδεμένο με λιπίδια χαμηλής πυκνότητας (LDL), ενώ το υπόλοιπο ποσοστό αυτής βρίσκεται συνδεδεμένο με λιπίδια υψηλής πυκνότητας (HDL) και πολύ χαμηλής πυκνότητας (VLDL) και ένα πολύ μικρό ποσοστό στα χυλομικρά (CM).

Πίνακας 3: Συγκεντρώσεις ολικής χοληστερόλης (ορού) και πιθανότητα ανάπτυξης αθηρωμάτωσης.

Συγκεντρώσεις ολικής χοληστερόλης (ορού) και πιθανότητα ανάπτυξης αθηρωμάτωσης		
Πιθανότητες	mg/dl	mmol/l*
Μικρή	<200	5.17
Οριακά υψηλή	200-239	5.170-06.18
Υψηλή	>240	6.20
Αρκετά υψηλή	240-289	6.20-7.45
*μετατροπή συγκεντρώσεων: mg/dl 0.0258 = mmol/l		

Οι μέθοδοι για προσδιορισμό της χοληστερόλης ποικίλλουν. Διακρίνονται σε χρωματομετρικές, ενζυμικές, χρωματογραφίας και φασματοφωτομετρίας μαζών. Η χοληστερόλη μπορεί να προσδιοριστεί σε ορό ή πλάσμα.

#### 4.1.2 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΛΙΚΗΣ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ

Επίπεδα χοληστερόλης (σύμφωνα με το Αμερικανικό Ινστιτούτο Υγείας)

Για ενήλικες:

Πίνακας 4: Επίπεδα χοληστερόλης σε ενήλικες, σύμφωνα με το Αμερικανικό Ινστιτούτο Υγείας

Επίπεδα χοληστερόλης	
Επιθυμητά τιμές μικρότερες από	200mg/dl Ολική χοληστερόλη 130mg/dl LDL χοληστερόλη
Οριακά τιμές ανάμεσα σε	200-239mg/dl Ολική χοληστερόλη 130-159mg/dl LDL χοληστερόλη
Υψηλά τιμές ίσες ή μεγαλύτερες από	240mg/dl Ολική χοληστερόλη 160mg/dl LDL χοληστερόλη

Για παιδιά:

Πίνακας 5: Αποτελέσματα εξετάσεων επιπέδων λιπιδίων σε παιδιά, σύμφωνα με το Αμερικανικό Ινστιτούτο Υγείας

Εξέταση Επίπεδα λιπιδίων (mg/dl)			
	Φυσιολογικά	Οριακά	Παθολογικά
Ολική χοληστερόλη	χαμηλότερα από 170	170-200	ψηλότερα από 200
HDL	Ψηλότερη από 35	-	Χαμηλότερο από 35
LDL	Χαμηλότερη από 110	110-130	Ψηλότερα από 130

#### 4.1.3 ΑΘΗΡΩΜΑΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ

Οι ερευνητές πρότειναν έναν δείκτη που ονόμασαν αθηρωματικό δείκτη και δείχνει τον κίνδυνο για καρδιακή προσβολή, καλύτερα από την απλή μέτρηση της ολικής χοληστερόλης. Αυτός ο δείκτης, είναι μια απλή διαίρεση. Είναι το πηλίκο τις ολικής χοληστερόλης, προς την HDL. Όσο μικρότερο είναι το αποτέλεσμα αυτής της διαίρεσης, τόσο μικρότερος είναι και ο κίνδυνος για καρδιακή προσβολή. Ουσιαστικά ο αθηρωματικός δείκτης, λαμβάνει υπόψη την επίδραση της HDL χοληστερόλης. Μια επιθυμητή τιμή για τον αθηρωματικό δείκτη είναι  $\leq 4$ .

Ορισμένοι ερευνητές, χρησιμοποιούν ένα διαφορετικό αθηρωματικό δείκτη. Αντί να διαιρέσουν την ολική χοληστερόλη με την HDL, διαιρούν την LDL με την HDL. Δεν υπάρχει όμως σημαντική διαφορά των δύο αθηρωματικών δεικτών. Και οι δύο δείχνουν τον πραγματικό κίνδυνο για καρδιακό πρόβλημα και σύμφωνα με τις στατιστικές αναλύσεις, είναι πιο αξιόπιστοι από την απλή μέτρηση της συνολικής ή της LDL χοληστερόλης.

(πηγή: [www.healthyliving.gr](http://www.healthyliving.gr))

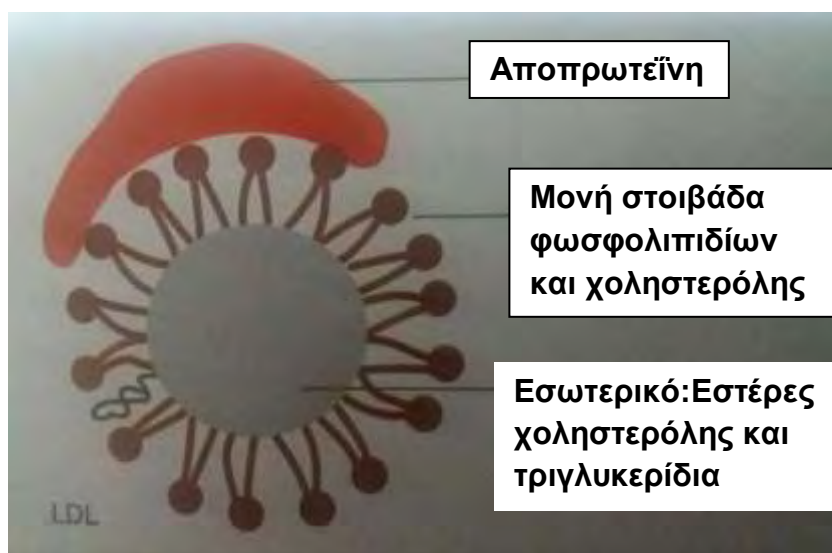
## 4.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ LDL ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ

Οι χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες αποτελούν την τελική μορφή αποικοδόμησης των VLDL. Περιέχουν κυρίως χοληστερόλη την οποία μεταφέρουν στους ιστούς και την εναποθέτουν ως επί το πλείστον στα κύτταρα που φέρουν ειδικούς υποδοχείς LDL. Τέτοιους υποδοχείς διαθέτουν τα ηπατικά κύτταρα αλλά και κύτταρα εκτός ηπατικών ιστών όπως τα λεμφοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι λείες μυϊκές ίνες, οι ινοβλάστες, ο φλοιός των επινεφριδίων, κ.τ.λ.

Οι περισσότεροι ερευνητές διακρίνουν περίπου 5 βασικά υποκλάσματα ή υποκατηγορίες LDL. Πρόκειται για ετερογενή μεταξύ τους σωματίδια που έχουν διαφορές:

- α) στη χημική τους σύσταση (πυρήνας & επιφάνεια)
- β) στις φυσικοχημικές τους ιδιότητες (μέγεθος, πυκνότητα)

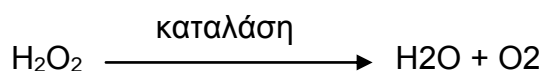
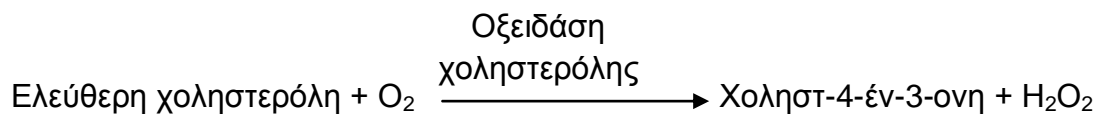
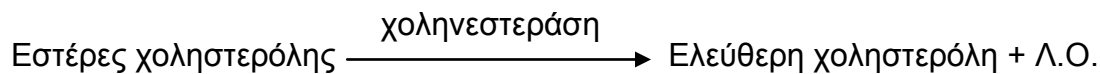
Ο προσδιορισμός της LDL – χοληστερόλης πραγματοποιείται με ενζυμική μέθοδο δύο σταδίων.



Εικόνα 6: Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (LDL)

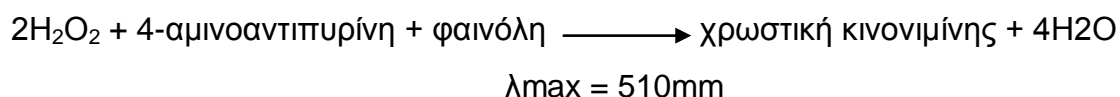
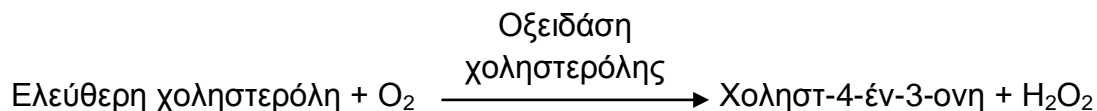
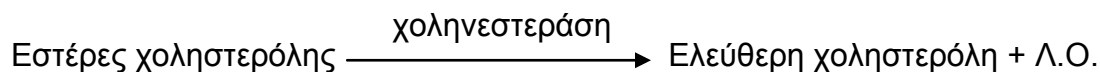
### Στάδιο πρώτο

Αρχικά πραγματοποιείται η διάσπαση των HDL, VLDL και των χυλομικρών:



### Στάδιο δεύτερο

Πραγματοποιείται η διάσπαση των LDL:



Η ποσότητα της κινονιμίνης είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της χοληστερόλης που περιέχεται στις LDL .

Πίνακας 6: Συγκεντρώσεις ολικής χοληστερόλης και LDL και σχετική πιθανότητα για καρδιακή προσβολή

Συγκεντρώσεις ολικής χοληστερόλης και LDL και σχετική πιθανότητα για καρδιακή προσβολή					
Πιθανότητες	Ολική χοληστερόλη		LDL		Σχετική πιθανότητα
Πιθανότητες	mg/dl	mmol/l*	mg/dl	mmol/l*	
Μικρή	< 200	5.17	< 130	< 3.4	< 10
Οριακά υψηλή	200 - 239	5.17 – 6.18	130 - 159	3.4 – 4.1	1.0– 2.0
Υψηλή	>240	6.20	>160	4.1	>2.0
Αρκετά υψηλή	240 - 289	6.20 – 7.45	160 - 209	4.1 – 5.14	2.0 – 4.0

\*Μετατροπή συγκέντρωσης: mg/dl 0.0258 = mmol/l

### 4.3 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΣΩΜΑΤΙΔΙΟΥ ΤΗΣ LDL ΚΑΙ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ

Κατά την οξειδωτική τροποποίηση του σωματιδίου της LDL πραγματοποιούνται αλλαγές στις φυσικές ιδιότητες της LDL, και αλλαγή του επιφανειακού ηλεκτρικού φορτίου, με επακόλουθη αύξηση της ηλεκτροφορητικής κινητικότητας της τροποποιημένης LDL.

Επιπλέον, κατά την οξείδωση της LDL, τροποποιείται σημαντικά η χημική σύσταση του σωματιδίου της λιποπρωτεΐνης, με μετατροπή κάποιων συστατικών σε άλλα. Μελέτες έχουν δείξει, ότι η πρωιμότερη αλλαγή είναι η κατανάλωση της βιταμίνης E, που περιέχεται στην εξωτερική μονοστιβάδα των LDL και η οποία έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Άλλα αντιοξειδωτικά (γ-τοκοφερόλη, β-καροτένιο, λυκοπένιο, και ρετινοϊκοί εστέρες) που περιέχονται επίσης στις LDL, σε μικρότερες βέβαια ποσότητες, εξαφανίζονται, επίσης, κατά την οξείδωση των LDL. Η φάση αυτή, κατά την οποία καταναλώνονται τα αντιοξειδωτικά, είναι η φάση της έναρξης. Στη φάση αυτή παρατηρείται ένας χρόνος αναστολής ή καθυστέρησης (lagtime, lagperiod) στην οξείδωση των λιπαρών οξέων. Η επόμενη φάση, είναι η φάση της διάδοσης, κατά την οποία γίνεται ταχεία οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων που περιέχονται

στην LDL καθώς και υδρόλυση της φωσφατιδυλοχολίνης σε λυσοφωσφατιδυλοχολίνη, σε ποσοστό περίπου 40% χωρίς αυτή να είναι απαραίτητη για την οξειδωση της LDL.

Κατά την τρίτη φάση, την φάση του τερματισμού, τα λιπίδια μετατρέπονται σε διάφορα άλλα προϊόντα, όπως παράγωγα του υδροξυπεροξειδίου (ROOH) τα οποία στη συνέχεια διασπώνται και δίνουν τελικά προϊόντα, όπως MDA, προπάνιο, βουτάνιο, πεντάνιο. Έτσι, η οξειδωση της LDL συνοδεύεται και από αύξηση των ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ, όπως η MDA.

Κατά την οξειδωτική τροποποίηση του σωματιδίου της LDL, αλλαγές υφίσταται και η αποπρωτεΐνη B-100. Πραγματοποιείται λοιπόν, γρήγορη αποδόμηση της αποπρωτεΐνης B-100 (apoB-100), με πλήρη εξαφάνισή της μετά από 4 ώρες. Η χημική τροποποίηση (ακετυλίωση) της LDL συμπεριλαμβάνει επομένως, τη διάσπαση του μορίου της apoB-100 και την τροποποίηση των αμινοξέων της, που είναι το αποτέλεσμα της αντίδρασης των προϊόντων της λιπιδικής υπεροξειδωσης με τη λυσίνη του μορίου της apoB-100. Η δομική τροποποίηση της apoB-100 κατά την οξειδωση της LDL γίνεται φανερή μέσα από μια τροποποιημένη ανοσοαντίδραση. Για παράδειγμα, η ανοσοαπάντηση σε τρεις διαφορετικούς επιτόπους της apoB-100 ελαττώνεται κατά την οξειδωση της LDL με Cu, ενώ η ανοσοαπάντηση ενός άλλου επιτόπου του μορίου της apoB-100 αυξάνει τις έξι πρώτες ώρες της οξειδωσης και στη συνέχεια ελαττώνεται. (Μακέδου Κ, 2005).



## **ΕΝΟΤΗΤΑ 5:**

### **ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ**

#### **5.1 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ**

Ένα άτομο ή μόριο με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια και ανεξάρτητη παρουσία, λέγεται ελεύθερη ρίζα και συμμετέχει πολύ εύκολα σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής με γειτονικά μόρια. Ασύζευκτο ηλεκτρόνιο καλείται αυτό που καταλαμβάνει μόνο του ένα ατομικό ή μοριακό τροχιακό (Halliwell, B., et al., 2007). Οι ελεύθερες ρίζες παράγονται είτε από οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, είτε από διάσπαση ομοιοπολικών ή ετεροπολικών δεσμών. Κατά τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, όχι μόνο μεταβάλλονται σημαντικά τα γειτονικά μόρια στόχοι, αλλά μερικές φορές μεταβιβάζονται τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια από στόχο σε στόχο, δημιουργώντας έτσι μία δεύτερη, τρίτη κ.ο.κ. ελεύθερη ρίζα υπό μορφή αλυσιδωτής αντίδρασης (Halliwell, B., et al., 1990). Αποτελούν προϊόντα του φυσικού κυτταρικού μεταβολισμού και έχουν διπλό ρόλο αφού ανάλογα με το ρυθμό παραγωγής τους μπορεί να είναι είτε ευεργετικές είτε επιβλαβείς.

##### **5.1.1 ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ**

Οι ελεύθερες ρίζες δημιουργούνται στον οργανισμό μας, είτε από φυσιολογικές διαδικασίες του είτε από εξωτερικές πηγές. Οι κυριότερες από τις φυσιολογικές διαδικασίες παραγωγής ελευθέρων ριζών περιλαμβάνουν:

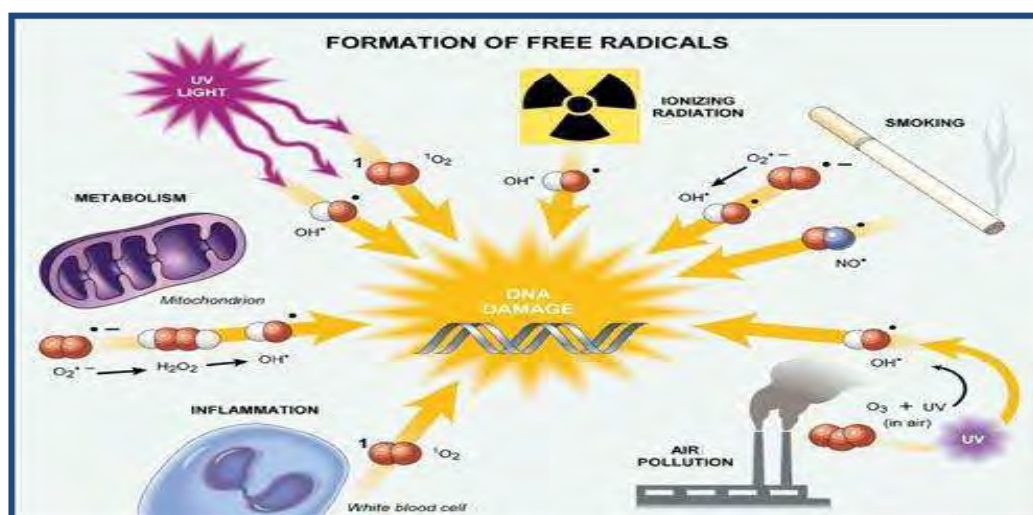
(Α) Την παραγωγή ελευθέρων ριζών σουπεροξειδίου, ως παραπροϊόν ή «χημικό ατύχημα» κατά τη λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων των κυττάρων. Κατά τη διαδικασία αυτή ορισμένα ηλεκτρόνια ξεφεύγουν από τα μόρια που μεταφέρουν τα ηλεκτρόνια στην αναπνευστική αλυσίδα και περνούν στο οξυγόνο, ανάγοντάς το σε σουπεροξείδιο.

(Β) Τη φυσιολογική δράση οξειδωτικών ενζύμων όπως, οι λιποξυγονάσες, οι κυκλοοξυγονάσες, οι υπεροξειδάσες και οι αφυδρογονάσες όπου παράγονται ελεύθερες ρίζες ως παραπροϊόντα των ενζυμικών αντιδράσεων.

(Γ) Την παραγωγή ελευθέρων ριζών υδροξυλίου, οι οποίες είναι και οι

πλέον δραστικές, με χημικές αντιδράσεις παρουσία μεταλλικών ιόντων.

(Δ) Την παραγωγή ελευθέρων ριζών ως μέρος της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος. Ορισμένα από τα κύτταρα του συστήματος αυτού παράγουν ελεύθερες ρίζες για να εξουδετερώσουν βακτήρια εισβολείς. Σε περιπτώσεις που η διαδικασία αυτή είναι εκτός ελέγχου, όπως συμβαίνει με τις αυτοάνοσες ασθένειες, μερικές ελεύθερες ρίζες που παράγονται προκαλούν βλάβες στα ίδια μας τα κύτταρα. Ένας αριθμός παραγόντων που βρίσκεται εκτός του σώματος μας μπορεί επίσης να αποτελέσει πηγή παραγωγής ελευθέρων ριζών από τη στιγμή που θα έρθει σε επαφή με το σώμα μας. Μερικά παραδείγματα τέτοιων πηγών αποτελούν ο καπνός του τσιγάρου, οι ακτίνες-Χ, η υπεριώδης ακτινοβολία, διάφορες χημικές ενώσεις και φάρμακα καθώς επίσης το νέφος της ατμοσφαιρικής ρύπανσης (όζον, νιτροξειδία).



Εικόνα 6 :Τρόποι Σχηματισμού των Ελευθέρων Ριζών.

Οι βασικότερες πηγές ελευθέρων ριζών είναι οι εξής:

- Ενζυμικά συστήματα όπως είναι το κυτόχρωμα P450, η οξειδάση του NAD(P)H, η λιποοξυγονάση, η κυκλοοξυγονάση και η οξειδάση της ξανθίνης αποτελούν τις κυριότερες ενζυμικές πηγές παραγωγής ελευθέρων ριζών.
- Ιόντα μετάλλων τα οποία αποτελούν σημαντικούς ενζυμικούς συμπαράγοντες. Στην ελεύθερη μορφή τους, τα ιόντα αυτά μπορούν, μέσα σε βιολογικά συστήματα, να προκαλέσουν τη μεταφορά

ηλεκτρονίων σε ευπαθή μακρομόρια όπως οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια και το DNA προκαλώντας έτσι καταστροφές.

- Φαγοκύτταρα. Τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα παρουσιάζουν αυξημένη κατανάλωση οξυγόνου που συνοδεύεται από παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων ελευθέρων ριζών.
- Μιτοχονδριακό σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Η σειρά αλυσιδωτών αντιδράσεων της αναπνευστικής αλυσίδας έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ελευθέρων ριζών. Η κυριότερη πηγή δραστικών μορφών οξυγόνου στον άνθρωπο, είναι η διαρροή ενεργοποιημένου οξυγόνου από τα μιτοχόνδρια, το οποίο φυσιολογικά εμφανίζεται ως ενδιάμεσο κατά τη διάρκεια της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και η τελική του τύχη είναι ο σχηματισμός μορίων νερού (Valko, M., et al., 2007).

Επίσης, όπως προαναφέρθηκε, υπάρχουν και αρκετοί εξωγενείς παράγοντες οι οποίοι συμβάλλουν στη δημιουργία ελευθέρων ριζών. Αυτοί οι παράγοντες είναι τα συστατικά του καπνίσματος, η περιβαλλοντική ρύπανση, ο μεταβολισμός συγκεκριμένων διαλυτών, φαρμάκων, παρασιτοκτόνων καθώς και μέσω της έκθεσης στην ραδιενέργεια – ακτινοβολία.

## 5.2 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Ο όρος οξειδωτικό στρες περιγράφει την κατάσταση ανισορροπίας, ανάμεσα στις συγκεντρώσεις των δραστικών μορφών οξυγόνου Reactive Oxygen Species - (ROS) και των αντιοξειδωτικών αμυντικών μηχανισμών ενός οργανισμού (Halliwell & Gutteridge, 1990; Dotan, et.al., 2004). Το οξειδωτικό στρες συμμετέχει σε πολλές παθολογικές καταστάσεις όπως είναι η αθηροσκλήρυνση, νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως Parkinson και Alzheimer, ο καρκίνος και η διαδικασία της γήρανσης (Vera, D., et al., 2013).

Πιο συγκεκριμένα η περίσσεια ελευθέρων ριζών μπορεί να οδηγήσει σε αλλοίωση των κυτταρικών μεμβρανών (διακοπή της διακυτταρικής επικοινωνίας), των νουκλεϊκών οξέων (αυξημένος κίνδυνος καρκινογένεσης), των μιτοχονδρίων (αποσύζευξη ενεργειακής παραγωγής) και των πρωτεϊνών. Οι ασθένειες οι οποίες συνδέονται με τη ζημιά λόγω ελευθέρων ριζών είναι καρδιακές παθήσεις, νευρολογικές παθήσεις, αναπνευστικά προβλήματα,

δερματικές παθήσεις, περιβαλλοντική ευαισθησία, φλεγμονώδης ασθένεια του εντέρου, χρόνια σύνδρομο κόπωσης καθώς και AIDS ή παρεμφερείς ασθένειες (Poljsak, B., et al., 2011).

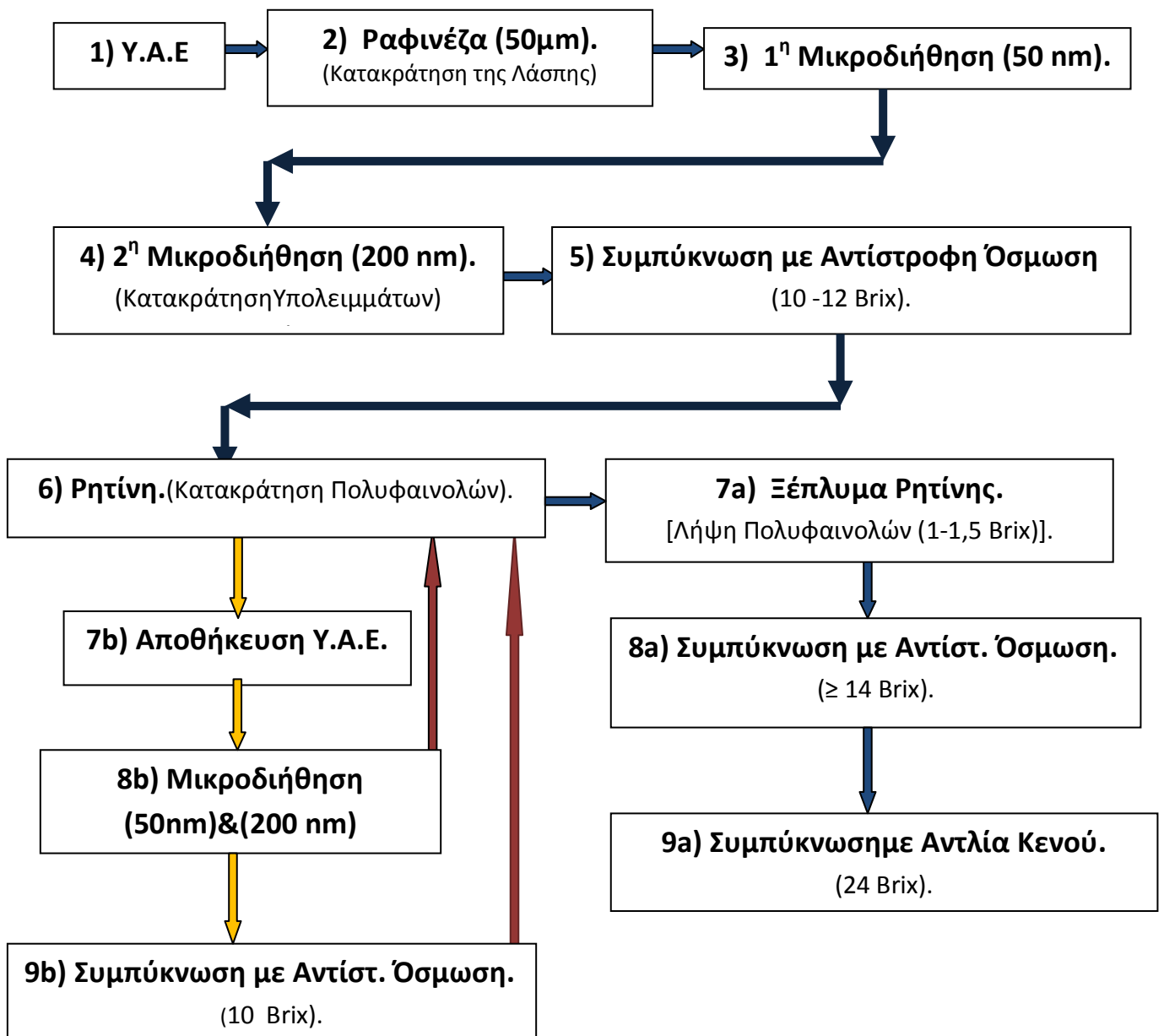
Το οξειδωτικό στρες προκαλείται συνήθως από:

1. Μειωμένη δράση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Αυτό μπορεί να συμβεί είτε εξαιτίας μεταλλάξεων ή τοξικών παραγόντων που επηρεάζουν τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων είτε από τη μείωση των διατροφικών αντιοξειδωτικών ουσιών.
2. Αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών (ROS). Αυτό συμβαίνει είτε λόγω της έκθεσης των κυττάρων σε υψηλά επίπεδα ROS, λόγω της ύπαρξης παραγόντων που οδηγούν στην αυξημένη παραγωγή σε ROS.

## ΕΝΟΤΗΤΑ 6: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 6.1 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΟΥ

Παρουσιάζεται διαγραμματικά η πατενταρισμένη διαδικασία επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων, από την εταιρεία Polyhealth, με έδρα την Λάρισα, για την λήψη πολυφαινολικού υγρού.



Γράφημα 1: Επεξεργασία Υγρών Αποβλήτων

## ΓΕΝΙΚΑ

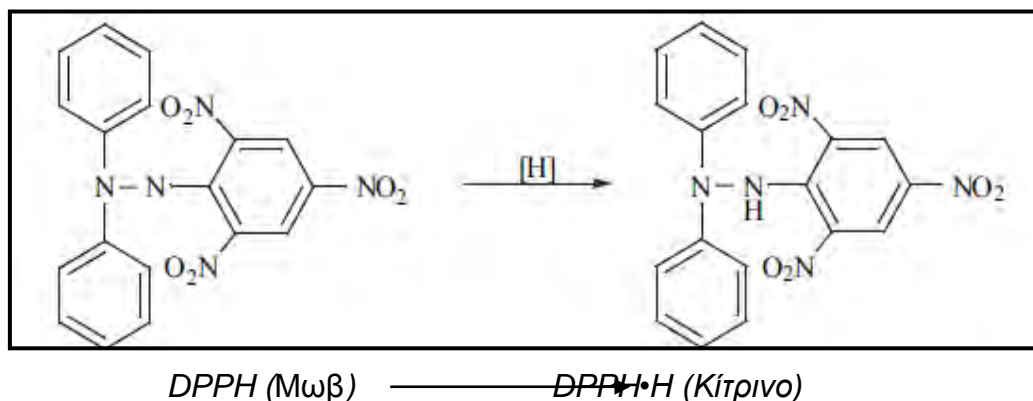
Για την εκτίμηση της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (*TotalAntioxidantActivity*) των εκχυλισμάτων, εφαρμόστηκε κάποια από τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους. Πρόκειται, κατά βάση για ποιοτική *invitro* μεθόδους (DPPH), η οποία ανιχνεύει την αντιοξειδωτική ή μη ικανότητα ενός συγκεκριμένου συστατικού. Η μέθοδος αυτή βασίζεται, στον προσδιορισμό της ικανότητας των αντιοξειδωτικών ουσιών να εξουδετερώνουν ρίζες όπως η 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο ή DPPH<sup>•</sup> (Brand-Williamset.al.,1995). Η ποσοτικοποίηση της αντιοξειδωτικής δράσης του συστατικού επιτεύχθηκε με τον προσδιορισμό του IC<sub>50</sub>, της συγκέντρωσης δηλαδή στην οποία οι εξεταζόμενες ουσίες προκαλούν την εξουδετέρωση της ρίζας DPPH<sup>•</sup> κατά 50% (Kauretal, 2006; Prioretal., 2005; Molyneux, 2004).

## 6.2ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΜΕΣΩ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΤΗ ΡΙΖΑ DPPH<sup>•</sup>

### 6.2.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η μέθοδος παρουσιάστηκε το 1995 από τους Brand-Williamsetal. Ανήκει στις ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυτικών δειγμάτων (Brand-Williamsetal, 1995). Η μέθοδος χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, βασιζόμενη στην ικανότητα αλληλεπίδρασης των αντιοξειδωτικών μορίων με την σταθερή αζωτούχα ρίζα 1,1 διφαινυλ-2πικρυλυδραζύλιο (DPPH). Η ρίζα DPPH<sup>•</sup> μπορεί να αδρανοποιηθεί, είτε μέσω προσθήκης ενός ηλεκτρονίου (*singleelectrontransfer*, SET) είτε μέσω προσθήκης ενός ατόμου υδρογόνου (*hydrogen atom transfer*, HAT) (Prioretal., 2005). Η 1,1 διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH<sup>•</sup>) είναι μία σταθερή ρίζα, φέρει μωβ χρώμα και απορροφά στα 517nm. Όταν προστεθεί μια ουσία με αντιοξειδωτική δράση τότε η ρίζα 1,1 διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH<sup>•</sup>) ανάγεται, και μετατρέπεται σε 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη (DPPH:H), όπως φαίνεται παρακάτω (Εικόνα 17). Η αναγωγή της ρίζας έχει σαν αποτέλεσμα, την μεταβολή του χρώματος του διαλύματος, από μωβ σε κίτρινο, μεταβολή, που είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της αντιοξειδωτικής ουσίας και την

αντίστοιχη μείωση της οπτικής απορρόφησης στα 517nm. Η μεταβολή της απορρόφησης προσδιορίζεται φωτομετρικά.



Εικόνα 7: Η Αναγωγή του  $DPPH^{\bullet}$  σε  $DPPH:H$

## 6.2.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Αρχικά προετοιμάζεται το διάλυμα  $DPPH^{\bullet}$  την ημέρα του πειράματος και καλύπτεται με αλουμινόχαρτο γιατί είναι φωτοευαίσθητο (1000 μl μεθανόλης στο οποίο εμπεριέχονται 100 μM ρίζας  $DPPH^{\bullet}$ ) και ακολουθεί η προετοιμασία των διαλυμάτων των εξεταζόμενων εκχυλισμάτων σε διάφορες συγκεντρώσεις (πχ. 50, 100, 250, 500, 1000 μg/ml). Ο συνολικός όγκος της αντίδρασης είναι 1000 μl. Πρώτα προστίθενται τα διαλύματα της εξεταζόμενης ουσίας, μετά η μεθανόλη και τέλος το διάλυμα της ρίζας, με σταθερό γρήγορο ρυθμό, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 11).

Ακολουθεί ανάδευση και επώαση των δειγμάτων στο σκοτάδι για 20 min, σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά την επώαση, ακολουθεί μέτρηση της απορρόφησης στα 517nm. Η φασματοφωτομέτρηση έγινε με συσκευή HitachiU-1500 σε πλαστικές κυψελίδες του 1ml. Ο μηδενισμός του φασματοφωτόμετρου γίνεται με 1 mL μεθανόλης (τυφλό). Τα δείγματα που περιείχαν μόνο μεθανόλη και  $DPPH$  αποτελούσαν τους θετικούς μάρτυρες.

Επειδή υπάρχει πιθανότητα η ίδια η εξεταζόμενη ουσία να απορροφά στα 517nm, μετράται και η απορρόφηση της κάθε εξεταζόμενης συγκέντρωσης σε μεθανόλη (Πίνακας 12). Όλα τα δείγματα εξετάζονται εις τριπλούν, με τουλάχιστον δύο πειράματα για το κάθε φυτικό εκχύλισμα, ενώ το διάλυμα της ρίζας  $DPPH^{\bullet}$  σε μεθανόλη χρησιμοποιείται σαν δείγμα ελέγχου (control).

Πίνακας 6: Διαδοχική Σειρά Προσθήκης και οι Ποσότητες των Αντιδραστηρίων

	Τυφλό	Control	C1	C2	C3	C4	C5
Εκχύλισμα	-	-	50μl	50μl	50μl	50μl	50μl
Μεθανόλη	1000μl	950μl	900μl	900μl	900μl	950μl	950μl
DPPH'	-	50μl	50μl	50μl	50μl	50μl	50μl
V τελ	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml

Πίνακας 7: Έλεγχος Απορρόφησης της Εξεταζόμενης Ουσίας, σε Μεθανόλη.

	C1	C2	C3	C4	C5
Εκχύλισμα	50μl	50μl	50μl	50μl	50μl
Μεθανόλη	950μl	950μl	950μl	950μl	950μl
V τελ	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml

### 6.2.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ-ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων υπολογίστηκε η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση των τιμών της απορρόφησης για κάθε δείγμα στα 517nm. Η αντιοξειδωτική ικανότητα κάθε εξεταζόμενης ουσίας υπολογίστηκε ως το ποσοστό αναστολής της δράσης της ρίζας DPPH και εκφράστηκε σαν το ποσοστό εξουδετέρωσης αυτής σύμφωνα με τον τύπο:

$$\% \text{ εξουδετέρωση της ρίζας DPPH} = [(A_0 - A_5) / A_0] \times 100$$

όπου:

**A<sub>0</sub>**: Μέση τιμή της οπτικής απορρόφησης του δείγματος ελέγχου.

**A<sub>5</sub>**: Μέση τιμή της οπτικής απορρόφησης του δείγματος (φυτικό εκχύλισμα).

Για να προσδιοριστεί αν υπήρχαν στατιστικά σημαντικά διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος one-wayANOVA (οι υπολογισμοί έγιναν με το πρόγραμμα Minitab 17.0).

Επιπλέον, προσδιορίστηκε το IC<sub>50</sub>, δηλαδή η συγκέντρωση των εξεταζόμενων ουσιών στην οποία προκαλούσαν μείωση των ριζών του DPPH κατά 50%, από τις γραφικές παραστάσεις της μεταβολής της % εξουδετέρωσης σε συνάρτηση με τις συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων. Όσο



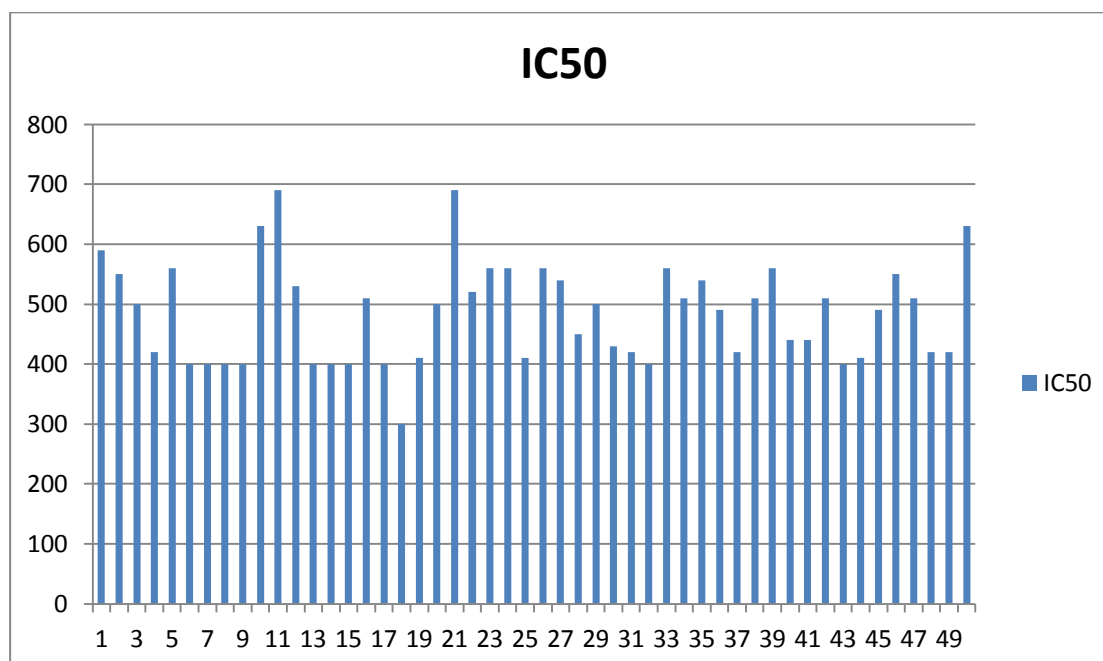
μικρότερη είναι η τιμή του IC<sub>50</sub> ,τόσο ισχυρότερη είναι η αντιοξειδωτική δράση του εκχυλίσματος.

### **6.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΜΕΣΩ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΤΗ ΡΙΖΑ DRRH'**

Εκτελέστηκαν πενήντα (50), δειγματοληψίες, στον παρακάτω πίνακα αναγράφονται: ο αριθμός δείγματος, η ημερομηνία παραγωγής, τα Brix του κάθε δείγματος, η τιμή της ρίζας και το IC 50 του κάθε εκχυλίσματος.

Πίνακας 6: Συγκεντρωτικά αποτελέσματα.

α/α	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ	BRIX	PIZA	IC50
1	27/11/2015	23,3	1,243	590
2	28/11/2015	24,1	1,243	550
3	29/11/2015	24	1,030	500
4	30/11/2015	24	1,027	420
5	1/12/2015	24,3	1,032	560
6	2/12/2015	24,2	1,432	400
7	3/12/2015	24	1,432	400
8	4/12/2015	24,1	1,432	400
9	5/12/2015	24,1	1,018	400
10	6/12/2015	24,1	0,894	630
11	6/12/2015	24,2	1,061	690
12	6/12/2015	24	1,147	530
13	7/12/2015	24	0,991	400
14	8/12/2015	24	0,991	400
15	9/12/2015	24	0,991	400
16	12/12/2015	24,3	1,143	510
17	13/12/2015	24	0,991	400
18	11/12/2015	24	1,142	300
19	15/12/2015	24	1,027	410
20	15/12/2015	24	1,263	500
21	16/12/2015	24,1	1,195	690
22	17/12/2015	24	1,370	520
23	17/12/2015	24	1,666	560
24	18/12/2015	24	1,666	560
25	20/12/2015	24	1,082	410
26	21/12/2015	24	1,666	560
27	22/12/2015	24	1,666	540
28	7/1/2016	24	1,638	450
29	8/1/2016	24	1,638	500
30	9/1/2016	24	1,638	430
31	10/1/2016	24	1,638	420
32	10/1/2016	24	1,223	400
33	11/1/2016	24	1,440	560
34	12/1/2016	24	1,440	510
35	13/1/2016	24	1,211	540
36	14/1/2016	24	1,211	490
37	14/1/2016	24	1,223	420
38	15/1/2016	24	1,211	510
39	16/1/2016	24	1,211	560
40	16/1/2016	24	1,223	440
41	17/1/2016	24	1,223	440
42	17/1/2016	24	1,249	510
43	18/1/2016	24	1,249	400
44	19/1/2016	24	1,249	410
45	20/1/2016	24	1,249	490
46	21/1/2016	24	1,088	550
47	21/1/2016	24	1,190	510
48	22/1/2016	24	1,088	420
49	23/1/2016	24	1,088	420
50	23/1/2016	24	1,190	630



Γράφημα 2: Απεικόνιση των IC50 των εκχυλισμάτων δειγμάτων από απόβλητα ελαιολιτριβείου σχετικά με την αλληλεπίδρασή τους με τη ρίζα DPPH.

Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν, επιλέχθηκαν τα δείγματα με τη χαμηλότερη τιμή IC50 για τη δημιουργία σκόνης. Αυτά ήταν τα δείγματα με αριθμό: 6,7,8,9,13,14,15,17,18 και 32.

## 6.4 ΚΡΥΟΞΗΡΑΝΣΗ – ΕΝΘΥΛΑΚΩΣΗ ΜΕ FREEZEDRYING.

### 6.4.1 ΓΕΝΙΚΑ

Η κρυοξήρανση ή λυοφιλοποίηση είναι μία μέθοδος αφυδάτωσης, που χρησιμοποιείται συνήθως για την διατήρηση ευαίσθητων υλικών ή να τα καταστήσει ικανά, για πιο ασφαλή μεταφορά. (JenningsA., 1999). Χρησιμοποιήθηκε για τη διατήρηση του πλάσματος του αίματος, χωρίς την ανάγκη ψύξης και την παραγωγή στιγμιαίου καφέ.

Από τότε, η τεχνική αυτή έχει εφαρμοστεί για τη διατήρηση εκατοντάδων διαφορετικών ειδών τροφίμων και φαρμάκων. Τα λυοφιλιωμένα προϊόντα έχουν μακρά διάρκεια ζωής: σε σφραγισμένη συσκευασία που προστατεύονται από την υγρασία, το φως και το οξυγόνο, μπορούν να αποθηκευτούν σε θερμοκρασία δωματίου για πολλά χρόνια. Η ξήρανση των

διαλυμάτων και η λήψη των δειγμάτων, σε μορφή σκόνης, για τον έλεγχο της αντιοξειδωτικής ικανότητας, εκτελέστηκε στην συσκευή *FreezeDryer*, *CoolSafe*, με κατασκευάστρια εταιρεία την *SCANVAC*, από την Δανία.



Εικόνα 8: Η Συσκευή *FreezeDryer* που Χρησιμοποιήθηκε, για την Παρασκευή των Δειγμάτων.

#### 6.4.2 ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

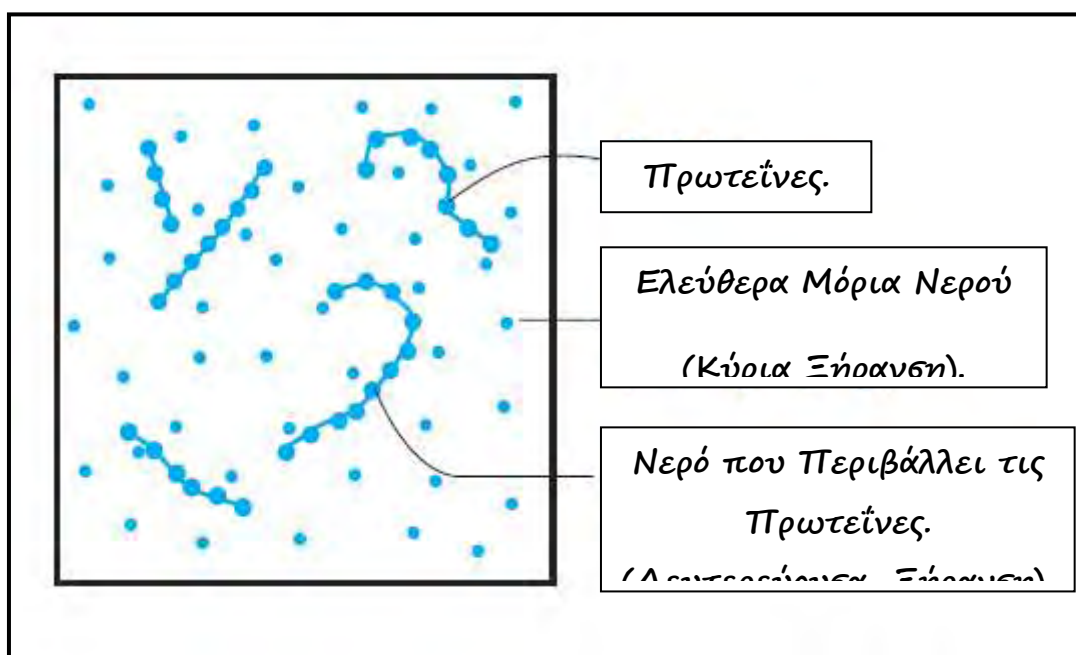
Η λειτουργία περιγράφεται ως εξής: Κατεβάζοντας σε μεγάλο βαθμό την θερμοκρασία ( $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) και ελαττώνοντας την πίεση που περιβάλλει το υλικό, με την βοήθεια αντλίας, το νερό που βρίσκεται στο υλικό, από την στερεά φάση, μεταβαίνει στην αέρια φάση. Η λυοφιλίωση μπορεί να οδηγήσει σε εξαιρετικά χαμηλή περιεκτικότητα σε υγρασία, της τάξεως του 1-4%, προλαμβάνοντας την ανάπτυξη βακτηρίων και μούχλας, αλλά και τη δράση των ενζύμων από το να προκαλέσουν χημικές αντιδράσεις αλλοίωσης στο προς ξήρανση υλικό. Ο κατασκευαστής περιγράφει τέσσερα (4) στάδια στο *FreezeDrying*.

α) Πριν την Ξήρανση. (*Pre – Freezestep*).

β) Δημιουργία Κενού. (*Vacuumstep*). Εδώ, αφαιρείται ο αέρας και έτσι μειώνεται η πίεση στο σύστημα.

γ)ΚύριαΞήρανση. (*Primary Drying step*). Το νερό μετακινείται από το προϊόν, σε χαμηλή θερμοκρασία και πίεση, ρέοντας στο σύστημα σαν ατμός (εξάχνωση), προς τον συμπυκνωτή.

δ) ΔευτερεύουσαΞήρανση. (*Secontary Drying step*). Αφαιρείται και το νερό που περιβάλλει τις πρωτεΐνες.



Εικόνα 9: Αφαίρεση Νερού από το FreezeDryer.

## 6.5 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΕΧΝΙΒΟ ΣΕ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΕΣ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΧΑΜΗΛΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ

### 6.5.1 ΥΛΙΚΑ

#### **Απομόνωση LDL**

Πλάσμα EDTA από 10 τυχαίους δότες

KBr 0,325 g / ml πλάσματος

Διάλυμα EDTA σε PBS συγκέντρωσης 1 mg/ml

Φίλτρα 0,22μm

#### **Για την οξείδωση**

Απομονωμένες LDL

Στήληχρωματογραφίας Econo-Pack 10DG της Bio-Rad

Διάλυμα  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , με συγκέντρωση 5μM στην κυψελίδα  
Φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV-2101PC  
Κιτ για τον προσδιορισμό της χοληστερόλης της εταιρείας Ζαφειρόπουλος  
Αντιοξειδωτικό

## 6.5.2 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΤΗΣ LDL

### ΜΕΘΟΔΟΣ

Μετά από δοκιμές καταλήξαμε ότι οι συγκεντρώσεις του αντιοξειδωτικού στην κυψελίδα που δίνουν κάποιο αποτέλεσμα οξείδωσης στις συνθήκες των πειραμάτων μας είναι οι εξής: 0,4 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,1 mg/ml, που προέκυψαν από ένα μητρικό διάλυμα 0,004g /5ml (συγκέντρωση 0,8mg/ml).

Τα δείγματα που δοκιμάστηκαν ήταν 3 συνολικά.

Δείγμα 1: γλυκομαννάνη

Δείγμα 2: γλυκομαννάνη 40%, πολυφαινόλη 3% και μαλτοδεξτρίνη 57%

Δείγμα 3: γλυκομαννάνη 40%, πολυφαινόλη 6% και μαλτοδεξτρίνη 54%

### ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ LDL

Για το σκοπό χρησιμοποιήθηκαν δείγματα ολικού αίματος (20ml) σε EDTA, τα οποία φυγοκεντρήθηκαν στις 4.000 στροφές/μίν επί 10 λεπτά στους 4 °C και στη συνέχεια απομονώθηκαν περίπου 10ml πλάσμα. Η απομόνωση της LDL πραγματοποιήθηκε ύστερα από ανάμιξη του πλάσματος με την κατάλληλη ποσότητα KBr και αφού τοποθετήθηκε κάτω από διάλυμα EDTA σε PBS φυγοκεντρήθηκε στις 50.000 στροφές/μίν επί 3 ώρες. Στη συνέχεια απομονώθηκε η στιβάδα των LDL, διαβιβάστηκε το διάλυμα μέσα από φίλτρο 0,2 μm και διατηρείται στους 4 °C μέχρι την επόμενη μέρα. Οι λιποπρωτεΐνες διατηρούνται προστατευμένες από την οξείδωση χάρη στο EDTA.

## ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ LDL

Για τον καθαρισμό των LDL από το EDTA προκειμένου να οξειδωθούν στη συνέχεια με χαλκό, το διάλυμα των λιποπρωτεϊνών διαβιβάστηκε σε χρωματογραφική στήλη. Συνολικά, διαβιβάστηκαν 3ml διαλύματος και εκλούστηκαν 6ml με PBS ως κινητή φάση. Η οξείδωση πραγματοποιήθηκε μέσα σε μια ώρα από την έκλυση.

## ΟΞΕΙΔΩΣΗ LDL

Το δείγμα υποβλήθηκε σε οξείδωση με την προσθήκη διαλύματος  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , στους  $37^\circ\text{C}$  παρουσία διαφόρων συγκεντρώσεων των εξεταζόμενων ουσιών. Η οξείδωση της LDL παρακολούθηθηκε φασματοφωτομετρικά στα 234nm, μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης για τα συζευγμένα διένια, για 5 ώρες. Όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν για επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων.

### 6.5.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

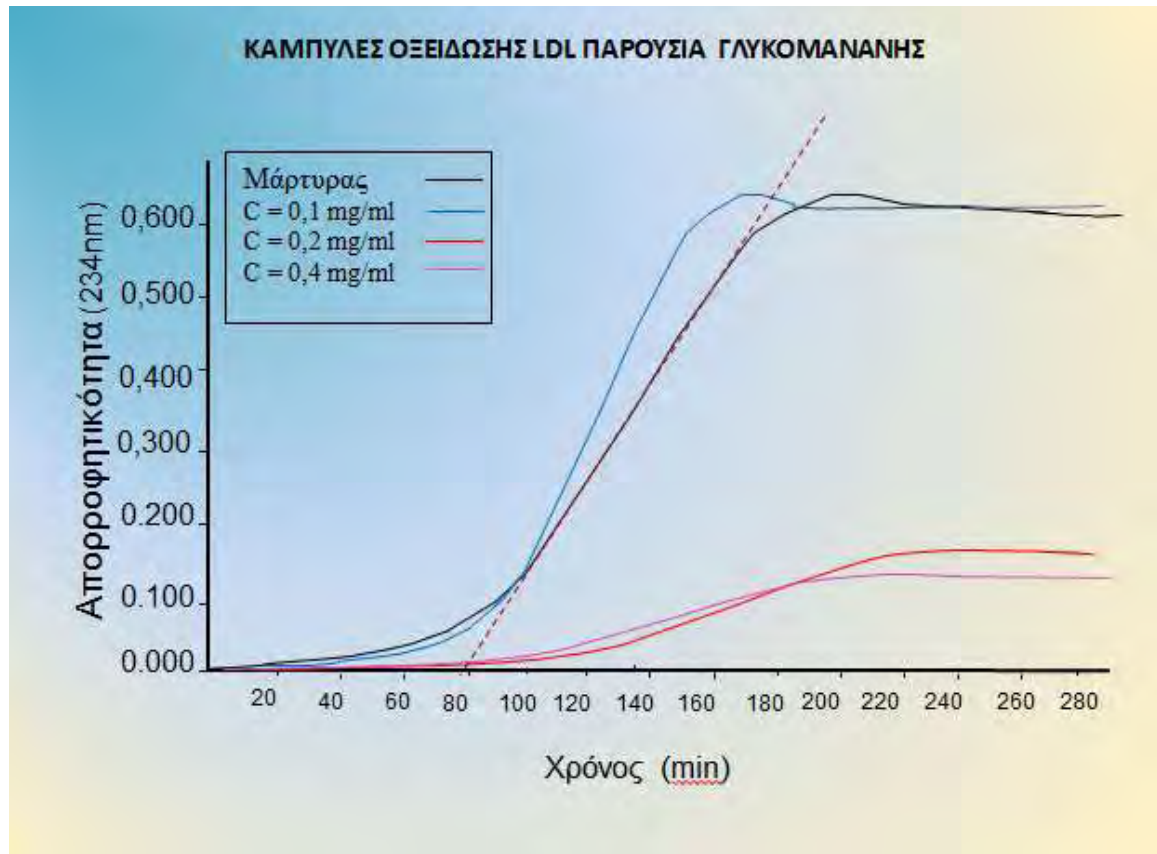
Τα αποτελέσματα των πειραμάτων φαίνονται στον Πίνακα που ακολουθεί:

Πίνακας 7: Αποτελέσματα lagtime σε δείγμα 1,2,3

Συγκεντρώσεις (mg/ml)	lag time (min)		
	Δείγμα 1	Δείγμα 2	Δείγμα 3
0 (Μάρτυρας)	80	90	60
0,1	85	> 300	> 300
0,2	Ήπια οξείδωση	> 300	> 300
0,4	Ήπια οξείδωση	> 300	> 300

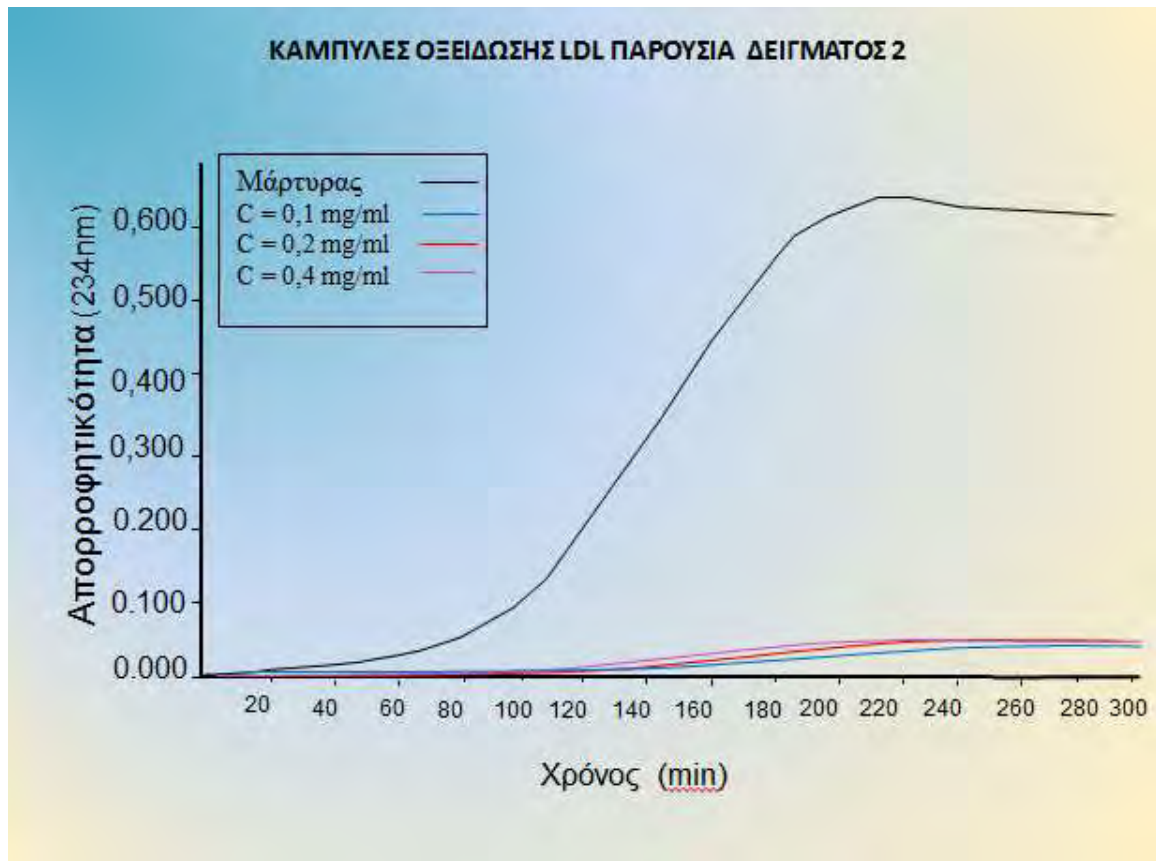
Δείκτης της ευαισθησίας στην οξείδωση είναι ο χρόνος καθυστέρησης της οξείδωσης (lag time) εκφρασμένος σε λεπτά, που υπολογίζεται γραφικά από την καμπύλη οξείδωσης των LDL. Συγκεκριμένα, είναι το σημείο τομής ανάμεσα στον άξονα του χρόνου (άξονα χ) και της ευθείας, της εφαιπτόμενης στην οξεία ανοδική φάση της οξείδωσης. Όσο μεγαλύτερος ο χρόνος

καθυστέρησης της οξείδωσης, τόσο πιο ανθεκτικές είναι οι λιποπρωτεΐνες στην οξείδωση.

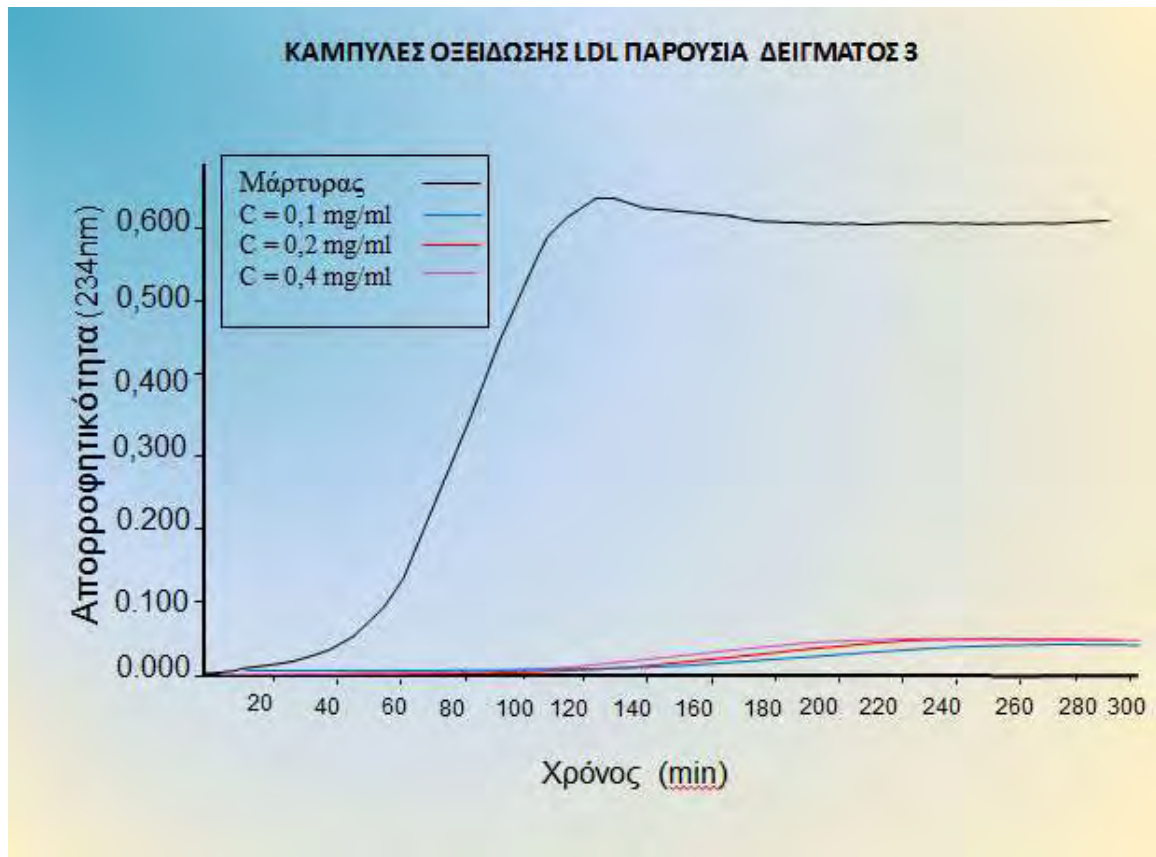


Σχήμα 1: Οξείδωση απομονωμένων LDL με χαλκό παρουσία γλυκομαννάνης σε διάφορες συγκεντρώσεις. Με διακεκομμένη γραμμή σημειώνεται η εφαιπτομένη στην καμπύλη ευθεία για τον υπολογισμό του lagtime.





**Σχήμα 2.** Οξείδωση απομονωμένων LDL με χαλκό παρουσία δείγματος 2 σε διάφορες συγκεντρώσεις



**Σχήμα 3.** Οξείδωση απομονωμένων LDL με χαλκό παρουσία δείγματος 3 σε διάφορες συγκεντρώσεις

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι πολυφαινόλες, τόσο στο Δείγμα 2 σε περιεκτικότητα 3%, όσο και στο Δείγμα 3 σε περιεκτικότητα 6%, παρουσιάζουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και παρεμποδίζουν την οξείδωση των LDL για το χρονικό διάστημα της φασματοφωτομετρικής παρακολούθησης των πειραμάτων μας. Φαίνεται ότι και η γλυκομαννάνη σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις μπορεί να συμβάλει σε αυτή την αντιοξειδωτική προστασία όταν οι πολυφαινόλες είναι ενθυλακωμένες με μαλτοδεξτρίνη παρουσία γλυκομαννάνης.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια, έχει παρατηρηθεί ραγδαία αύξηση στην παραγωγή προϊόντων φυτικής προέλευσης. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο πλούσιο πολυφαινολικό τους περιεχόμενο το οποίο είναι ευεργετικό για την υγεία. Πληθώρα μελετών έχουν συσχετιστεί με τις πολυφαινόλες, συγκεκριμένα την αντιοξειδωτική τους δράση, τις αντικαρκινικές ιδιότητες και γενικότερα την πρόληψη ασθενειών που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες. Τόσο τα φυτά όσο και τα προϊόντα τους, αποτελούν αντικείμενο εκτεταμένης μελέτης στα πλαίσια αναζήτησης νέων χημειοπροστατευτικών παραγόντων. Καθώς είναι μια ιδιαίτερα πλούσια πηγή βιοδραστικών μορίων.

Μείζον θέμα στην επιστημονική κοινότητα, είναι το ελαιόλαδο. Έχει αποδεχθεί πως φέρει πλούσιο πολυφαινολικό περιεχόμενο τόσο το ίδιο το ελαιόλαδο όσο και τα απόβλητα που προκύπτουν από τα ελαιοτριβεία. Έτσι, αρκετοί επιστήμονες επέλεξαν να στρέψουν το ενδιαφέρον τους σ' αυτά τα απόβλητα, επιτυγχάνοντας όχι μόνο μείωση της περιβαλλοντικής ρύπανσης η οποία μπορεί να επιτευχθεί με την επεξεργασία και τη χρήση των αποβλήτων, αλλά και η ανάκτηση των αντιοξειδωτικών συστατικών τους με σκοπό την εφαρμογή τους στην καθημερινή ζωή.

Σκοπός της παρούσας μελέτης, ήταν η εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης ενός πολυφαινολικού εκχυλίσματος από υγρά απόβλητα ελαιοτριβείου, το οποίο ενθυλακώθηκε σε μαλτοδεξτρίνη, παρουσία γλυκομαννάνης, ουσιαστικά δημιουργήθηκε μεικτός κρύσταλλος. Έπειτα, εξετάστηκε η επίδρασή του στην ανάσχεση της οξειδωτικής LDL χοληστερόλης.

Αρχικά, εκτελέστηκαν μέθοδοι απομόνωσης των πολυφαινολών από το υπόλοιπο φορτίο των υγρών αποβλήτων. Κατά τη διάρκεια της πατενταρισμένης παραγωγικής διαδικασίας, της εταιρείας Polyhealth, που εδρεύει στη Λάρισα. Η εκτίμηση της αντιοξειδωτικότητας έγινε μέσω της αλληλεπίδρασης με τη ρίζα DPPH. Προσδιορίστηκε το IC50, σε 50 δείγματα που προήλθαν από την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου. Συγκεκριμένα, από το ντεκάντερ του ελαιοτριβείου. Προσδιορίστηκε ουσιαστικά η συγκέντρωση των εξεταζόμενων ουσιών η οποία προκαλούσε

μείωση – εξουδετέρωση της ρίζας DPPH που χρησιμοποιήθηκε κατά 50%. Όσο μικρότερη είναι η τιμή του IC50 τόσο ισχυρότερη είναι η αντιοξειδωτική δράση του εκχυλίσματος. Κατόπιν, επιλέχθηκαν τα δείγματα με τη χαμηλότερη τιμή IC50. Αυτά ήταν τα δείγματα με αριθμό: 6,7,8,9,13,14,15,17,18 και 32.

Στη συνέχεια, έγινε ενθυλάκωση των πολυφαινολών από τα επεξεργασμένα υγρά απόβλητα του ελαιοτριβείου (από τα παραπάνω επιλεγμένα δείγματα), με χρήση της τεχνικής FreezeDrying. Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την ενθυλάκωση, εκτός του επεξεργασμένου υγρού ήταν η μαλτοδεξτρίνη και η γλυκομαννάνη. Δημιουργήθηκαν τελικά δείγματα:

Δείγμα 1: γλυκομαννάνη,

Δείγμα 2: γλυκομαννάνη 40%, πολυφαινόλη 3% και μαλτοδεξτρίνη 57%,

Δείγμα 3: γλυκομαννάνη 40%, πολυφαινόλη 6% και μαλτοδεξτρίνη 54%

Στο τελευταίο στάδιο που περιλάμβανε την απομόνωση, τον καθαρισμό και την οξείδωση της LDL. Ξεκινήσαμε με αρκετές δοκιμές και καταλήξαμε ότι οι συγκεντρώσεις του αντιοξειδωτικού στην κυψελίδα που δίνουν αποτέλεσμα οξείδωσης στις συνθήκες των πειραμάτων μας είναι ο εξής:

0,4 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,1 mg/ml που προέκυψαν από ένα μητρικό διάλυμα 0,004g/5ml (συγκέντρωση 0,8 mg/ml).

Από όλα τα παραπάνω, συμπεραίνεται ότι τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, για την ανάπτυξη μικτού σκευάσματος πολυφαινόλης ελιάς και τη μελέτη της επίδρασής του στην ανασχεση της οξειδωτικής LDL χοληστερόλης, είναι θετικά και ιδιαίτερος ενθαρρυντικά. Το συγκεκριμένο μικτό σκεύασμα πολυφαινόλης, μπορεί να γίνει βιομηχανικά εκμεταλλεύσιμο, ώστε με την κατάλληλη προσθήκη αυτού σε τρόφιμο, ρόφημα ή φαρμακευτικό σκεύασμα, να επιτυγχάνεται ανασχεση της LDL χοληστερόλης.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- *Andrikopoulos, N.K., Kalogeropoulos, N., Falirea, A., Barbagianni, M.N* “Performance of virgin olive oil and vegetable shortening during domestic deep-frying and pan-frying of potatoes”. 2002. *International Journal of Food Science and Technology* 37 (2) , pp. 177-190.
- *B. Poljsak. Strategies for Reducing or Preventing the Generation of Oxidative Stress, 2011.*
- *Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C, “Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity”, 1995. Food Science and Technology, 28, 25–30.*
- *Bravo L, “Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance”, Nutr Rev, 56, (11): 317-33, 1998*
- *Cicerale, S., Lucas L., Russell, K. “Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil”. 2010. International Journal of Molecular Sciences, 11, pp. 458-479*
- *Dew T., Day A., Morgan M. 2005. Xanthine Oxidase Activity in Vitro: Effects of Food Extracts and Components. Department of Food Science, University of Leeds*
- *Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk. “Lipid peroxidation cannot be used as universal criterion of oxidative stress”. 2004. Progr. LipidRes, 43: 200-227*
- *Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. “Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview”. 1990. Methods in Enzymology 186 , pp. 1-85*
- *Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress, Biochem Soc Trans, 2007.*

- Haslam, E., Cai, Y. "Plant polyphenols (vegetable tannins): Gallic acid metabolism". 1994. *Natural Product Reports* 11 (1), pp. 41-66
- Hertog MG, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F, Giampaoli S, Jansen A, Menotti A, Nedeljkovic S, et al, *Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study*, 1995
- Huber B, Eberl L, Feucht W, Polster J., *Naturforsch*, 2003
- John H Hart. Hillis W.E., *Inhibition of wood-rotting fungi by stilbenes and other polyphenols in eucalyptus sideroxylon*, 1974
- Kaur C, Kapoor HC, "Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables". 2002. *International Journal of Food Science and Technology*, 37
- Mekki, A., Dhouib, A., Sayadi, S. "Polyphenols dynamics and phytotoxicity in a soil amended by olive mill wastewaters" 2007 *Journal of Environmental Management* 84 (2) , pp.134-140
- Molyneux P. "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity". 2004. *J. Sci. Technol.*, 26(2): 211-219
- Niaounakis, M., Halvadakis C.P., "Olive Processing Waste Management". 2006. *Literature Review and Patent Survey, Second Edition*, Elsevier
- Owen, R.W., Giacosa, A., Hull, W.E., Haubner, R., Spiegelhalder, B., Bartsch, H. "The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil". 2000. *European Journal of Cancer* 36 (10) , pp. 1235-1247
- Papadopoulos GK, Boskou D: "Antioxidant effect of natural phenols on olive oil", *J. Am. Oil Chemistry*, 1991

- *Prior R, Xianli W, Schaich K, “Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements”. 2005. J. Agric. Food Chem. 53 (6) : 1841-1856*
- *Quideau, S. P.; Deffieux, D.; Douat-Casassus, C. L.; Pouységu, L., Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis, 2011*
- *Ryan, D., Robards, K. “Phenolic compounds in olives”. 1998. Analyst 123 (5) , pp. 31R-44R*
- *Tsimidou, M., Papadopoulos, G., Boskou, D. “Phenolic compounds and stability of virgin olive oil”. 1992 Food Chemistry 45 (2) , pp. 141-144*
- *Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J., Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J of Biochem & Cell Biol, 2007*
- *Vera Dias. The Role of Oxidative Stress in Parkinson’s Disease, 2013*
- *Visioli, F., Galli, C. “Olive Oil Phenols and Their Potential Effects on Human Health”. 1998. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46 (10), pp. 4292-4296*

## **ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- *Βαλαβανίδης, Αναπληρωτής Καθηγητής - Ευσταθίου, Καθηγητής. Η χημική ένωση του μήνα. University of Athens Department of Chemistry, 2007*
- *Δρ. Άγγελος Παπαϊωάννου Αναπληρωτής Καθηγητής – Δρ. Παναγιώτης Πλαγεράς, Ειδικά Θέματα Βιοχημείας, Π.Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, 2012*



- *Ερευνητικό πρόγραμμα «ΑΡΧΙΜΗΔΗΣ III – Ενίσχυση Ερευνητικών Ομάδων ΤΕΙ Λάρισας». Υποέργο 8 «Ανάπτυξη μεθόδου ολικής αξιοποίησης αποβλήτων ελαιοτριβείου για παραγωγή βιο-δραστικών ουσιών υψηλής προστιθέμενης αξίας και αγρο-υλικών».Επιστημονικός Υπεύθυνος: Πετρωτός Κωνσταντίνος. Λάρισα, 2015*
- *Κ. Μακέδου. Διερεύνηση της επίδρασης οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων στην οξείδωση των LDL λιποπρωτεϊνών σε οικογένειες υψηλού κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο. Διδακτορική Διατριβή. Θεσσαλονίκη, 2005*

## **ΠΗΓΕΣ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟΥ**

- [www.healthyliving.gr](http://www.healthyliving.gr)
- [www.hecucenter.ru/gr/greece](http://www.hecucenter.ru/gr/greece)
- [www.prosodol.gr](http://www.prosodol.gr)
- [www.fiw.rwth-aachen.de](http://www.fiw.rwth-aachen.de)
- [www.gge.gr/up/files/elaiol\\_typo.pdf](http://www.gge.gr/up/files/elaiol_typo.pdf)