



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ &  
ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**“ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ  
ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΕΙΔΩΝ ΡΥΖΙΟΥ, ΖΥΜΑΡΙΚΩΝ ΚΑΙ  
ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ”**



Όνοματεπώνυμο φοιτήτριας: Γεωργία Γαυγίδα

Πατρώνυμο: Αλκιβιάδης

ΛΑΡΙΣΑ 2020

**“ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ  
ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΕΙΔΩΝ ΡΥΖΙΟΥ, ΖΥΜΑΡΙΚΩΝ ΚΑΙ  
ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ”**

**ASSESSMENT OF ANTIOXIDANT CAPACITY  
OF DIFFERENT KIND OF RICE, PASTA AND YOGHURT**

*Δεν έχει σημασία πόσο ωραία είναι η θεωρία σου ή πόσο έξυπνος είσαι.*

*Αν δεν επαληθεύεται πειραματικά, είναι λάθος.*

Richard Feynman, 1918-1988, Αμερικανός φυσικός

## Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή εργασία, εκπονήθηκε στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Από τη θέση αυτή, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τα μέλη της τριμελούς Επιτροπής: τον Καθηγητή κ. Κουρέτα Δημήτριο, τον Καθηγητή κ. Τζιαμούρτα Αθανάσιο και τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Βεσκούκη Αριστείδη, οι οποίοι μου συμπαραστάθηκαν και με καθοδήγησαν στη διεξαγωγή αυτής της εργασίας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στον επιβλέποντα καθηγητή κ. Κουρέτα Δημήτριο για το αδιάλειπτο ενδιαφέρον του και για τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσε σε όλες τις φάσεις της έρευνας, παρέχοντάς μου εύστοχες συμβουλές και υποδείξεις.

Ευχαριστίες ανήκουν ακόμη και στο σύνολο των μελών ΔΕΠ, ΕΔΙΠ και Πανεπιστημιακών Υποτρόφων του Τμήματος οι οποίοι μου προσέφεραν τις απαιτούμενες γνώσεις για την επιστημονική και ακαδημαϊκή κατάρτισή μου. Από αυτή τη θέση, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την κ. Πατούνα Αναστασία η οποία στάθηκε δίπλα μου σε όλες τις φάσεις της έρευνας και συνέβαλε σημαντικά στην εξαγωγή των αποτελεσμάτων. Θερμές ευχαριστίες και στην κ. Μακρή Σωτηρία της οποία τα σχόλια ήταν ιδιαίτερα βοηθητικά.

Οφείλω, ακόμη, να ευχαριστήσω θερμά τα μέλη της οικογένειάς μου τα οποία στάθηκαν αρωγοί σε όλη την προσπάθεια των σπουδών μου.

## **Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή**

**Κουρέτας Δημήτριος** (επιβλέπων), Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών και Τοξικολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Τζιαμούρτας Αθανάσιος**, Καθηγητής Βιοχημείας της Άσκησης στο ΤΕΦΑΑ του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Βεσκούκης Αριστείδης**, Επίκουρος Καθηγητής στην Οξειδοαναγωγική Βιολογία της Διατροφής και της Άσκησης του Τμήματος Διαιτολογίας και Διατροφολογίας της Σχολής Επιστημών Φυσικής Αγωγής, Αθλητισμού και Διαιτολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## Περιεχόμενα

<b>ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....</b>	<b>4</b>
<b>ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ.....</b>	<b>5</b>
<b>ΠΙΝΑΚΑΣ ΡΑΒΔΟΓΡΑΜΜΑΤΩΝ .....</b>	<b>9</b>
<b>ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....</b>	<b>10</b>
<b>ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....</b>	<b>10</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>11</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>13</b>
<b>1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....</b>	<b>14</b>
<b>1.1. Ελεύθερες ρίζες.....</b>	<b>14</b>
1.1.1.Παραγωγή ελεύθερων ριζών .....	15
1.1.2.Βιολογική δράση ελεύθερων ριζών .....	17
<b>1.2. Οξειδωτικό στρες .....</b>	<b>19</b>
1.2.1. Αντιοξειδωτικά .....	20
<b>2. ΤΡΟΦΙΜΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ .....</b>	<b>25</b>
<b>2.1.Ρύζι.....</b>	<b>25</b>
2.1.1. Ιστορική αναδρομή και γενικά χαρακτηριστικά του ρυζιού .....	25
2.1.2.Οφέλη του ρυζιού για την υγεία και άλλες χρήσεις .....	26
2.1.3.Χημική σύσταση του ρυζιού .....	27
2.1.4.Ρύζι και αντιοξειδωτικά .....	28
<b>2. 2. Ζυμαρικά.....</b>	<b>29</b>
2.2.1.Η πρώτη ύλη των ζυμαρικών, ο σκληρός σίτος.....	29
2.2.2. Ιστορική αναδρομή .....	30
2.2.3. Παρασκευή ζυμαρικών .....	30
2.2.4. Χημική σύσταση και διατροφικές ιδιότητες των ζυμαρικών.....	31
2.2.5. Ζυμαρικά και αντιοξειδωτικά .....	32

2.3. Γιαούρτι .....	33
2.3.1. Ιστορική αναδρομή .....	33
2.3.2. Παραγωγή του γιαουρτιού .....	34
2.3.3. Τα οφέλη του γιαουρτιού για την υγεία .....	35
2.3.4. Σύγκριση γιαουρτιού διαφορετικών ειδών γάλακτος .....	36
2.3.5. Χημική σύσταση γιαουρτιού .....	36
2.3.6. Αντιοξειδωτικές ιδιότητες γάλακτος και γιαουρτιού .....	37
3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ.....	38
4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	39
4.1 Δείγματα.....	39
4.1.1 Διαχείριση δειγμάτων ρυζιού και ζυμαρικών .....	40
4.1.2 Διαχείριση δειγμάτων γιαουρτιού.....	40
4.2 Μέθοδοι.....	41
4.2.1. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης μέσω της ικανότητας των προϊόντων να εξουδετερώνουν τη ρίζα DPPH <sup>•</sup> .....	41
4.2.1.1. Πειραματικό πρωτόκολλο DPPH.....	42
4.2.2. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης μέσω της ικανότητας των προϊόντων να εξουδετερώνουν τη ρίζα ABTS <sup>•+</sup> .....	43
4.2.2.1. Πειραματικό πρωτόκολλο ABTS <sup>•+</sup> .....	44
4.2.3. Εκτίμηση της αναγωγικής ικανότητας μέσω της μεθόδου Reducing Power <sup>45</sup>	
4.2.3.1. Πειραματικό πρωτόκολλο μεθόδου προσδιορισμού αναγωγικής ικανότητας .....	46
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	48
5.1. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας διαφόρων ειδών ρυζιού, ζυμαρικών και γιαουρτιού μέσω της μεθόδου DPPH .....	48
5.2. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας διαφόρων ειδών ρυζιού, ζυμαρικών και γιαουρτιού μέσω της μεθόδου ABTS .....	51
5.3. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας διαφόρων ειδών ρυζιού, ζυμαρικών και γιαουρτιού μέσω της μεθόδου προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος (reducing power assay) .....	55
6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	59

**7.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ..... 67**



## Πίνακας ραβδόγραμμάτων

<b>Ραβδόγραμμα 1:</b> Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων ρυζιού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH•. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $IC_{50} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.....	48
<b>Ραβδόγραμμα 2:</b> Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων ζυμαρικών μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH•. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $IC_{50} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.....	49
<b>Ραβδόγραμμα 3:</b> Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων γιαουρτιού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH•. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $IC_{50} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.....	50
<b>Ραβδόγραμμα 4:</b> Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων ρυζιού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS•+. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $IC_{50} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.....	52
<b>Ραβδόγραμμα 5:</b> Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων ζυμαρικών μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS•+. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $IC_{50} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.....	53
<b>Ραβδόγραμμα 6:</b> Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων γιαουρτιού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS•+. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $IC_{50} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.....	54
<b>Ραβδόγραμμα 7:</b> Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων ρυζιού μέσω της μεθόδου προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος (reducing power assay). Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $AU_{0,5} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.....	56
<b>Ραβδόγραμμα 8:</b> Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων ζυμαρικών μέσω της μεθόδου προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος (reducing power assay). Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $AU_{0,5} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.....	57
<b>Ραβδόγραμμα 9:</b> Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων γιαουρτιού μέσω της μεθόδου προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος (reducing power assay). Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $RP_{0.5} AU_{0,5} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.....	58

## Πίνακας εικόνων

<b>Εικόνα 1:</b> Η μείωση της ενέργειας των ηλεκτρονίων κατά τη μεταφορά κατά μήκος της μιτοχονδριακής αλυσίδας. ....	15
<b>Εικόνα 2:</b> Ενδογενείς και εξωγενείς πηγές ελευθέρων ριζών .....	17
<b>Εικόνα 3:</b> Ο διπλός ρόλος των ελευθέρων ριζών .....	18
<b>Εικόνα 4:</b> Οξειδωτικό στρες και ανθρώπινη υγεία.....	20
<b>Εικόνα 5:</b> Ρόλοι των αντιοξειδωτικών.....	21
<b>Εικόνα 6:</b> Ο κύκλος οξειδοαναγωγής της γλουταθειόνης .....	22
<b>Εικόνα 7:</b> Τα βασικά τμήματα του κόκκου του ρυζιού: φλοιός (hull), πίτουρο (bran), λευκό ρύζι (white rice) και ενδοσπέρμιο (germ).....	26
<b>Εικόνα 8:</b> Οφέλη του ρυζιού για την υγεία.....	27
<b>Εικόνα 9:</b> Τα κύρια συστατικά της γ-ορυζανόλης .....	28
<b>Εικόνα 10:</b> Αρχή της μεθόδου [50] .....	41
<b>Εικόνα 11:</b> Δημιουργία της ρίζας ABTS .....	44
<b>Εικόνα 12:</b> Αναγωγή των ιόντων τρισθενούς σιδήρου σε δισθενή από το ασκορβικό οξύ .....	46

## Πίνακας πινάκων

<b>Πίνακας 1:</b> Δείγματα τροφίμων που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη. ....	40
<b>Πίνακας 2:</b> Συνολικός πίνακας αποτελεσμάτων.....	59

## Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει μία στροφή τόσο στις επιστημονικές έρευνες όσο και στον τρόπο διατροφής των καταναλωτών προς τα τρόφιμα τα οποία διαθέτουν αντιοξειδωτικές ικανότητες. Αυτό συμβαίνει διότι είναι πλέον επιβεβαιωμένο ότι οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες το οποίο εμπλέκεται στην παθολογία ασθενειών. Τα αντιοξειδωτικά τα οποία προέρχονται και από τη διατροφή μπορούν να συμβάλλουν στην ενίσχυση της υγείας και να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισης ασθενειών εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες.

Στην παρούσα εργασία διερευνάται η αντιοξειδωτική ικανότητα διαφόρων ειδών ρυζιού, ζυμαρικών και γιαουρτιού. Τα παραπάνω τρόφιμα αποτελούν συστατικά της καθημερινής διατροφής και καταλαμβάνουν υψηλή θέση στις προτιμήσεις του καταναλωτικού κοινού.

Για την εκτίμηση της πιθανής αντιοξειδωτικής ικανότητας των ανωτέρω τροφίμων έγινε χρήση των μεθόδων DPPH, ABTS και της Αναγωγικής Ικανότητας διότι είναι συμπληρωματικές. Η μέθοδος DPPH ανιχνεύει τις λιποδιαλυτές αντιοξειδωτικές ουσίες, ενώ μέσω της μεθόδου ABTS ανιχνεύονται και οι λιποδιαλυτές, αλλά και οι υδατοδιαλυτές αντιοξειδωτικές ουσίες. Μέσω της μεθόδου Reducing Power εκτιμάται η ικανότητα μιας ουσίας να ανάγει τα ιόντα τρισθενούς σιδήρου ( $Fe^{3+}$ ) σε ιόντα δισθενούς σιδήρου ( $Fe^{2+}$ ) και κατά συνέπεια, η αντιοξειδωτική της ικανότητα. Επομένως, η συνδυαστική χρήση των τριών παραπάνω μεθόδων συμβάλλει στον ακριβέστερο προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας μιας ουσίας.

Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι μεταξύ των διαφόρων ειδών ρυζιού, το ρύζι *bonnet* αποτελεί το δραστικότερο είδος ρυζιού, ενώ το ρύζι *basmati* έχει τη μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα συγκριτικά με τα υπόλοιπα είδη ρυζιού. Μεταξύ των διαφόρων ειδών ζυμαρικών διαπιστώνεται μια ευρεία διακύμανση των αποτελεσμάτων ανάλογα με τη μέθοδο. Τέλος, τα προϊόντα αγελαδινού γιαουρτιού διαθέτουν παρόμοια αντιοξειδωτική δράση μεταξύ τους και το πλήρες κατσικίσιο γιαούρτι αποτελεί ένα προϊόν μέτριας αντιοξειδωτικής ικανότητας, σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη γιαουρτιού. Τα ευρήματα της παρούσας έρευνας έχουν συσχετιστεί με τα

αντίστοιχα μελετών, οι οποίες έχουν δείξει ότι η άλεση των κόκκων σίτου και ρυζιού οδήγησε στη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας αυτών των δημητριακών. Επίσης, από την υπάρχουσα βιβλιογραφία προέκυψε πως τα διάφορα είδη γιαουρτιού διαθέτουν διαφορετική αντιοξειδωτική ικανότητα πιθανόν λόγω διαφορετικής περιεκτικότητας σε θρεπτικά συστατικά των ειδών γάλακτος, από τα οποία παρασκευάζονται.

## Abstract

In recent years there has been a shift in both scientific research and the consumers diet to food that have antioxidant properties. This is because it is now confirmed that free radicals can induce oxidative stress which is involved in disease pathology. Dietary antioxidants can contribute to boosting health and significantly reducing the risk of disease by eliminating free radicals.

In the present work we investigate the antioxidant capacity of different types of rice, pasta and yoghurt. Those foods are components of the daily diet and occupy a high place in the preferences of the consumer public.

DPPH, ABTS and Reducing Power assays were used to assess the potential antioxidant capacity of the food samples. DPPH method detects lipid-soluble antioxidants, while the ABTS method detects both lipid-soluble and water-soluble antioxidants. The reducing power assay evaluates the ability of a substance to reduce trivalent iron ions ( $\text{Fe}^{3+}$ ) to divalent iron ions ( $\text{Fe}^{2+}$ ) and, consequently, its antioxidant capacity. Therefore, the combined use of the three methods above contributes to the more accurate determination of the antioxidant capacity of a substance.

The results of the research showed that among the various types of rice, bonnet rice is the most reactive type them, while basmati rice has the lowest antioxidant activity compared to other types of rice. There is a wide variation in the results between the different types of pasta depending on the assay. Finally, cow yogurt products have a similar antioxidant effect to each other, whole goat yogurt is a product of moderate antioxidant capacity, compared to other types of yogurt. The findings of the present study have been correlated with the corresponding studies, which have shown that milling of wheat and rice grains has led to a reduction in the antioxidant capacity of these cereals. Also, based on research that has been conducted, yogurt products are expected to have different antioxidant capacity, due to the different nutrient content of the kind of milk from which they are made.

# 1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1. Ελεύθερες ρίζες

Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται κάθε άτομο ή μόριο ικανό για ανεξάρτητη ύπαρξη (εξ' ου και ο όρος «ελεύθερη»), το οποίο περιέχει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια, τα οποία περιστρέφονται στην εξωτερική στοιβάδα γύρω από τον πυρήνα. Η απλούστερη ελεύθερη ρίζα είναι ένα άτομο του στοιχείου του υδρογόνου, με ένα πρωτόνιο και ένα μόνο ηλεκτρόνιο [1]. Η παρουσία ενός ασύζευκτου ηλεκτρονίου προσδίδει ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά στις περισσότερες ελεύθερες ρίζες. Τα χαρακτηριστικά αυτά είναι η αστάθεια και η υψηλή δραστηριότητα [2]. Οι ελεύθερες ρίζες, οι οποίες έχουν ως κεντρικό άτομο το οξυγόνο, ονομάζονται δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS, Reactive Oxygen Species) και προκαλούν βλάβες σε άλλα μόρια, αποσπώντας ηλεκτρόνια από αυτά, προκειμένου να αποκτήσουν σταθερότητα. Όταν το οξυγόνο παγιδεύει ένα μόνο ηλεκτρόνιο, καθίσταται ασταθές και οδηγεί στη δημιουργία επιβλαβών αλυσιδωτών αντιδράσεων εναντίον διαφόρων βιολογικών μακρομορίων, όπως τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες και το DNA [3]. Αξίζει να σημειωθεί, επίσης, ότι η εντατική έρευνα σχετικά με το μονοξείδιο του αζώτου (NO) και τους μεταβολίτες του δημιούργησε έναν νέο όρο, τις «δραστικές μορφές αζώτου» (Reactive Nitrogen Species, RNS), στη βιβλιογραφία της Βιολογίας. Οι δραστικές μορφές αζώτου περιλαμβάνουν ένα μεγάλο εύρος ενώσεων, με μοναδικό ενοποιητικό χαρακτηριστικό την παραγωγή τους από το NO. Όπως και οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), οι RNS προέρχονται από τις αλληλεπιδράσεις βιολογικών ελευθέρων ριζών για να σχηματίσουν πιο ανθεκτικά είδη, έχοντας ως αποτέλεσμα ποικίλλες βιολογικές επιδράσεις [4]. Στις ελεύθερες ρίζες ανήκουν το μοριακό οξυγόνο, το σουπεροξειδίο ( $O_2^{\cdot-}$ ), η ρίζα του οξυγόνου ( $O_2^{\cdot\cdot}$ ), η ρίζα του υδροξυλίου ( $OH^{\cdot}$ ), η αλκοξυλική ρίζα, ( $RO^{\cdot}$ ), η υπεροξυλική ρίζα ( $ROO^{\cdot}$ ), η ρίζα του μονοξειδίου του αζώτου ( $NO^{\cdot}$ ) και το διοξειδίο του αζώτου ( $NO_2^{\cdot}$ ).

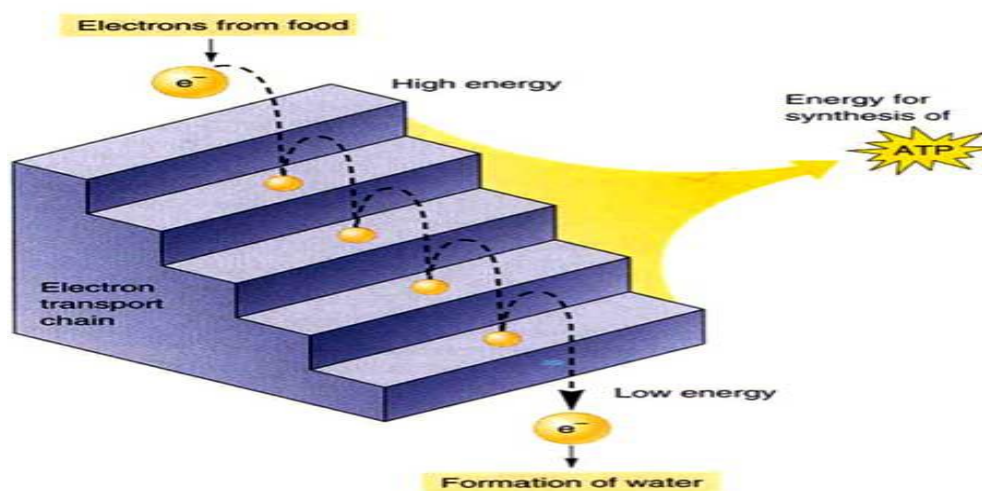
Ωστόσο, εκτός από τις ελεύθερες ρίζες, στις δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου περιλαμβάνεται και μια άλλη κατηγορία ενώσεων, οι μη ρίζες, στην οποία περιλαμβάνονται ενώσεις, όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και ο υπεροξυνιτρίτης ( $ONOOH$ ). Οι ενώσεις αυτές δεν αποτελούν από μόνες τους ελεύθερες

ρίζες, αλλά μπορούν εύκολα να οδηγήσουν σε αντιδράσεις ελεύθερων ριζών σε ζωντανούς οργανισμούς [5].

### 1.1.1. Παραγωγή ελεύθερων ριζών

Με βάση την προέλευσή τους οι πηγές παραγωγής των ελευθέρων ριζών διακρίνονται σε ενδογενείς και εξωγενείς. Μερικές από τις πιο χαρακτηριστικές ενδογενείς πηγές είναι οι εξής:

1. Μιτοχόνδρια: είναι υπεύθυνα για την παραγωγή ενέργειας στα κύτταρα και την κυτταρική αναπνοή. Επιτελούν αυτό το έργο μέσω ενός μηχανισμού που ονομάζεται «αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων» [6]. Η μιτοχονδριακή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων είναι η κύρια πηγή τριφωσφορικής αδενοσίνης (adenosine triphosphate, ATP) στα κύτταρα των θηλαστικών [7]. Το ATP αποτελεί το κύριο μόριο για την αποθήκευση και τη μεταφορά ενέργειας στα κύτταρα. Τα ηλεκτρόνια ξεκινούν με πολύ υψηλή ενέργεια και σταδιακά τη χάνουν καθώς μεταφέρονται κατά μήκος της αλυσίδας (Εικόνα 1) διαδοχικά από τον δέκτη στον δότη [8]. Ένας μικρός αριθμός ηλεκτρονίων «διαρρέει» στο οξυγόνο πρόωρα, σχηματίζοντας την ελεύθερη ρίζα του σουπεροξειδίου.



*Εικόνα 1: Η μείωση της ενέργειας των ηλεκτρονίων κατά τη μεταφορά κατά μήκος της μιτοχονδριακής αλυσίδας.*

2. Η οξείδωση της ξανθίνης και η αφυδρογονάση της ξανθίνης: είναι μετατρέψιμες μορφές του ίδιου ενζύμου, γνωστές ως οξειδοαναγωγή της ξανθίνης (XOR). Στον καταβολισμό των πουρινών, η XOR καταλύει την οξειδωτική υδροξυλίωση

της υποξανθίνης σε ξανθίνη και στη συνέχεια της ξανθίνης σε ουρικό οξύ. Το ουρικό οξύ έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και την ικανότητα εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών. Και με τις δύο μορφές του ενζύμου, αλλά ιδιαίτερα με τη μορφή της οξειδάσης της ξανθίνης, συντίθενται πολλές ROS και RNS. Έτσι, η σύνθεση τόσο ενός αντιοξειδωτικού (ουρικού οξέος) όσο και πολλών ελεύθερων ριζών (ROS και RNS) καθιστά την οξειδοαναγωγή της ξανθίνης σημαντικό προστατευτικό ρυθμιστή του κυτταρικού οξειδοαναγωγικού δυναμικού [9].

3. Τα υπεροξυσώματα: είναι γνωστό ότι παράγουν  $H_2O_2$ , αλλά όχι  $O_2\cdot^-$  υπό φυσιολογικές συνθήκες. Είναι σημαντικοί τόποι κατανάλωσης οξυγόνου στα κύτταρα και συμμετέχουν σε διάφορες μεταβολικές λειτουργίες, οι οποίες χρησιμοποιούν οξυγόνο. Η κατανάλωση οξυγόνου στα υπεροξυσώματα οδηγεί στην παραγωγή  $H_2O_2$ , το οποίο στη συνέχεια χρησιμοποιείται για την οξείδωση μιας ποικιλίας μορίων. Το οργανίδιο περιέχει επίσης καταλάση, η οποία διασπά το υπεροξειδίο του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο, και προλαμβάνει πιθανώς τη συσσώρευση αυτής της τοξικής ένωσης [7].

4. Οξειδάσες του NADPH: είναι μια ομάδα ενζύμων, τα οποία είναι συνδεδεμένα με την πλασματική μεμβράνη. Η πιο μελετημένη από αυτές είναι η λευκοκυτταρική NADPH οξειδάση (E.C.1.23.45.3), η οποία βρίσκεται στα φαγοκύτταρα και στα Β-λεμφοκύτταρα. Εάν ένα φαγοκυτταρικό κύτταρο, όπως το ουδετερόφιλο, εκτεθεί σε ένα ερέθισμα, έχει την ικανότητα να αναγνωρίζει το ξένο σωματίδιο και να υποβάλλεται σε μια σειρά αντιδράσεων που ονομάζεται *αναπνευστική έκρηξη*. Η αναπνευστική ή οξειδωτική έκρηξη χαρακτηρίζεται από μαζική παραγωγή ROS σε ένα φλεγμονώδες περιβάλλον και παίζει βασικό ρόλο στην άμυνα ενάντια στα περιβαλλοντικά παθογόνα. Όταν ενεργοποιείται η οξειδάση NAD(P)H, παίρνει το NAD(P)H από το κυτταρόπλασμα και μεταφέρει ηλεκτρόνια στο σουπεροξειδίο εντός της πλασματικής μεμβράνης ή στην εξωτερική της επιφάνεια, σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση [6]:

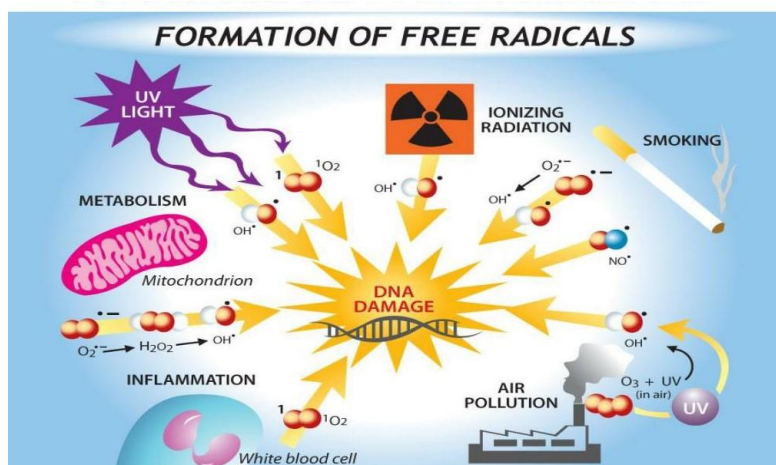


Μερικές από τις κυριότερες εξωγενείς πηγές ελευθέρων ριζών είναι αυτές οι οποίες περιγράφονται παρακάτω:

1. Καπνός τσιγάρου: Ο καπνός του τσιγάρου περιέχει πολλά οξειδωτικά, οργανικές ενώσεις και ελεύθερες ρίζες όπως το σουπεροξειδίο και το νιτρικό οξείδιο.
2. Έκθεση στο όζον ( $O_3$ ): Η έκθεση στο όζον μπορεί να προκαλέσει υπεροξείδωση των λιπιδίων και να προκαλέσει εισροή ουδετερόφιλων στο επιθήλιο των αεραγωγών.



3. Υπεροξία: Η υπεροξία αναφέρεται σε συνθήκες υψηλότερων επιπέδων οξυγόνου από την κανονική μερική πίεση οξυγόνου στους πνεύμονες ή σε άλλους ιστούς του σώματος. Οδηγεί σε μεγαλύτερη παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου και αζώτου.
4. Ιονίζουσα ακτινοβολία: Η ιονίζουσα ακτινοβολία, παρουσία  $O_2$ , μετατρέπει τη ρίζα του υδροξυλίου, το σουπεροξειδίο και οργανικές ρίζες σε υπεροξειδίο του υδρογόνου και οργανικά υδροϋπεροξειδία.
5. Ορισμένα είδη βαρέων μετάλλων: Τα ιόντα βαρέων μετάλλων, όπως σίδηρος, χαλκός, κάδμιο, υδράργυρος, νικέλιο, μόλυβδος και αρσενικό, μπορούν να προκαλέσουν τη δημιουργία αντιδραστικών ριζών και να προκαλέσουν κυτταρική βλάβη, εξαλείφοντας τις ενζυμικές δραστηριότητες μέσω της υπεροξειδωσίας των λιπιδίων και της αντίδρασης με πυρηνικές πρωτεΐνες και το DNA [10].

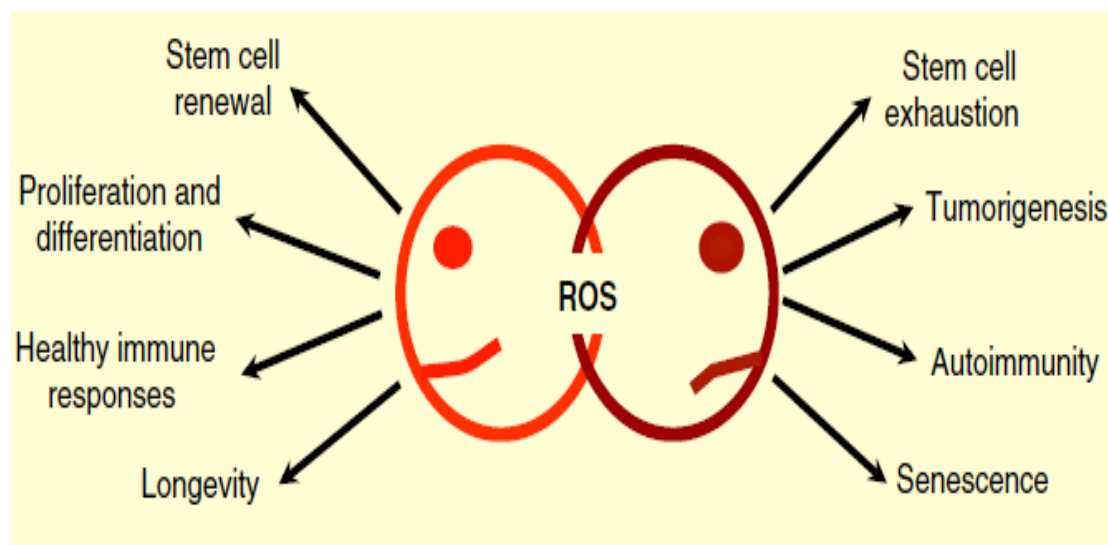


Εικόνα 2: Ενδογενείς και εξωγενείς πηγές ελευθέρων ριζών

### 1.1.2.Βιολογική δράση ελεύθερων ριζών

Οι ελεύθερες ρίζες κατέχουν διπλό ρόλο καθώς μπορούν να δράσουν ως μόρια σηματοδότησης στη διατήρηση φυσιολογικών λειτουργιών, το οποίο αποδίδεται με τον όρο redox biology (βιολογία της οξειδοαναγωγής), αλλά και να συμβάλλουν στη δημιουργία παθολογικών καταστάσεων. Επίσης, οι ελεύθερες ρίζες έχουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική διαφοροποίηση, την αναγέννηση των ιστών και την πρόληψη της γήρανσης ενώ συμμετέχουν ενεργά στη ρύθμιση οδών σηματοδότησης που ελέγχουν διάφορες καταστάσεις ασθένειας, συμπεριλαμβανομένης της ογκογένεσης, της αυτοανοσίας και της απώλειας αναγέννησης ιστών με την ηλικία, δηλαδή της γήρανσης

(Εικόνα 3) [11]. Άλλες δράσεις των ελευθέρων ριζών που αξίζει να αναφερθούν είναι η συμβολή στη γονιδιακή έκφραση, την απόπτωση [12] και την άμυνα του οργανισμού [13].



Εικόνα 3: Ο διπλός ρόλος των ελευθέρων ριζών

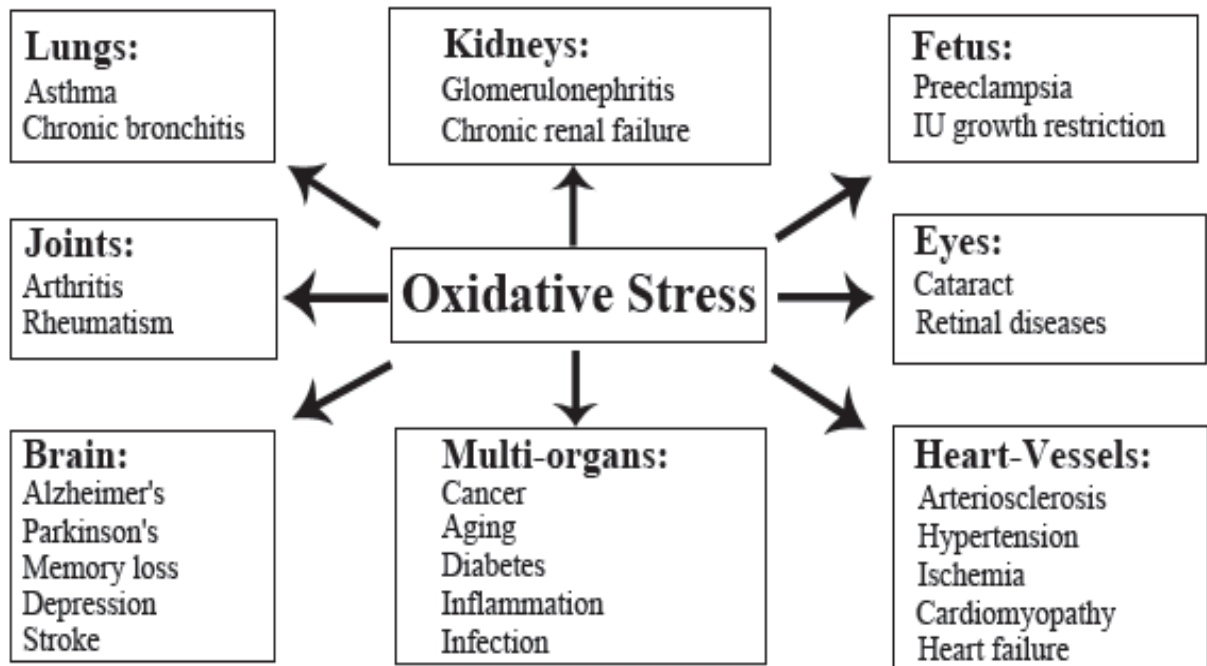
Οι επιβλαβείς επιδράσεις των ελευθέρων ριζών στα βιολογικά μακρομόρια μπορούν να προκαλέσουν:

1. Υπεροξείδωση των λιπιδίων και να διαταράξουν τη διάταξη της διπλής στιβάδας των λιπιδικών μεμβρανών, οδηγώντας στην απενεργοποίηση των μεμβρανικών υποδοχέων και ενζύμων και στην αύξηση της διαπερατότητας των ιστών [14]. Ένα γνωστό προϊόν της λιπιδικής υπεροξείδωσης, η μαλονδιαλδεύδη (MDA), έχει πολλαπλές δράσεις, μεταξύ των οποίων η απενεργοποίηση, ο πολυμερισμός ενζύμων και η αναστολή των νουκλεϊκών οξέων (DNA και RNA) και της πρωτεϊνοσύνθεσης [15].
2. Κατακερματισμό των πεπτιδικών αλυσίδων, αλλοίωση του ηλεκτρικού φορτίου των πρωτεϊνών, διασύνδεση των πρωτεϊνών και οξείδωση συγκεκριμένων αμινοξέων. Κατά συνέπεια, αυτές οι τροποποιήσεις καθιστούν τις πρωτεΐνες ιδιαίτερα ευαίσθητες στην πρωτεόλυση με αποικοδόμηση από συγκεκριμένες πρωτεάσες. Ειδικότερα, τα κατάλοιπα κυστεΐνης και μεθειονίνης στις πρωτεΐνες είναι πιο ευαίσθητα στην οξείδωση, λόγω των σουλφυδρυλικών ομάδων τους [16].

3. Τη τροποποίηση του DNA με διάφορους τρόπους. Σε αυτούς περιλαμβάνονται η αποικοδόμηση των βάσεων, μονόκλωνες ή δίκλωνες θραύσεις του DNA, οι τροποποιήσεις πουρινών, πυριμιδινών και δεοξυριβόζης, μεταλλάξεις, απαλοιφές ή μετατοπίσεις και οι διασυνδέσεις με πρωτεΐνες. Μια κοινή και εκτενώς μελετημένη τροποποίηση DNA αποτελεί η προσθήκη  $\text{OH}^\bullet$  στη θέση C-8 της γουανίνης, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό της 8-οξοδεοξυγουανοσίνης (8-oxodG) [17].

## 1.2. Οξειδωτικό στρες

Το 1985, ο Helmut Sies εισήγαγε τον επικρατέστερο ορισμό για το οξειδωτικό στρες ως «την ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών υπέρ των πρώτων». Ανα τα χρόνια έχουν διατυπωθεί διάφοροι ορισμοί για το οξειδωτικό στρες με επικρατέστερο τον εξής: «μια ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών υπέρ των οξειδωτικών, η οποία οδηγεί σε διαταραχή της σηματοδότησης και του ελέγχου της οξειδοαναγωγής και/ή μοριακή βλάβη» [18]. Τα οξειδωτικά σχηματίζονται ως φυσιολογικό προϊόν αερόβιου μεταβολισμού αλλά μπορούν να παραχθούν σε αυξημένους ρυθμούς υπό παθοφυσιολογικές συνθήκες [19]. Οι πρωτεΐνες μπορεί να υποστούν βλάβες από τις ελεύθερες ρίζες, έχοντας ως συνέπεια δομικές αλλαγές και απώλεια της ενζυμικής δραστηριότητας.



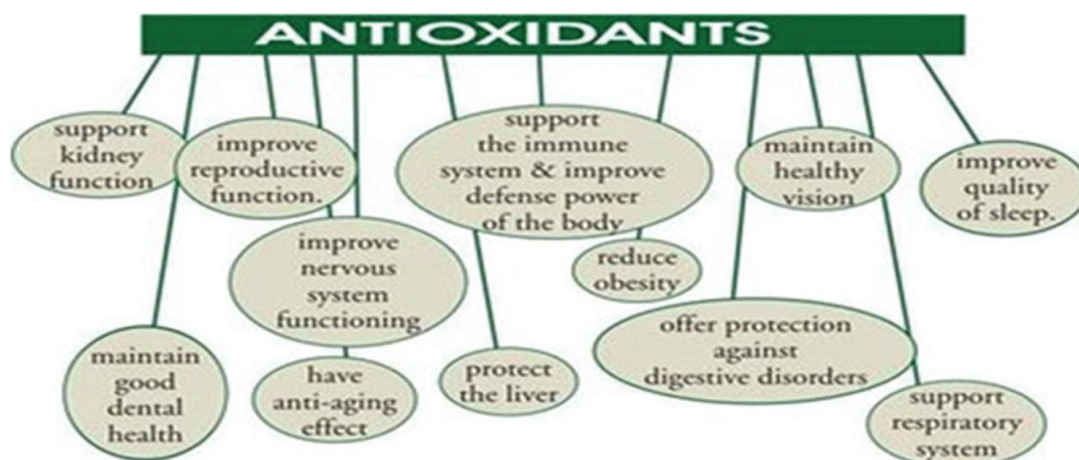
*Εικόνα 4: Οξειδωτικό στρες και ανθρώπινη υγεία*

Η οξειδωτική βλάβη στο DNA οδηγεί στη δημιουργία μεταλλάξεων. Το οξειδωτικό στρες μπορεί να οδηγήσει στην εκδήλωση μεικτοας πλειάδας ασθενειών, στις οποίες περιλαμβάνονται ο καρκίνος, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Parkinson, Alzheimer), οι πνευμονοπάθειες, οι νεφροπάθειες, οι οφθαλμολογικές παθήσεις, καθώς και η προεκλαμψία στις εγκύους (Εικόνα 4) [13].

### 1.2.1. Αντιοξειδωτικά

Ως αντιοξειδωτικό ορίζεται μια ουσία η οποία βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε σύγκριση με το υπόστρωμα που οξειδώνεται και καθυστερεί σημαντικά ή αποτρέπει την οξείδωση του υποστρώματος. Τα αντιοξειδωτικά είναι μόρια, τα οποία χαρακτηρίζονται από την ικανότητα αναγωγής και εξουδετέρωσης των ελευθέρων ριζών και βρίσκονται τόσο στους φυτικούς όσο και στους ζωικούς οργανισμούς. Τα αντιοξειδωτικά διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ζωής, καθώς συμβάλλουν στην προστασία συστημάτων, όπως το νευρικό, το αναπαραγωγικό, το ανοσοποιητικό και το αναπνευστικό. Επίσης, βοηθούν στην ομαλή λειτουργία οργάνων, όπως το ήπαρ και οι νεφροί. Επιπλέον μεταξύ άλλων συμβάλλουν

στην καθυστέρηση της γήρανσης, τη βελτίωση του ύπνου, τη διατήρηση της υγείας των δοντιών και τη διατήρηση υγιούς όρασης.



Εικόνα 5: Ρόλοι των αντιοξειδωτικών

Η επίδραση ενός αντιοξειδωτικού στην υγεία εξαρτάται από τη συστηματική βιοδιαθεσιμότητα, τη συγκέντρωση της ένωσης από την οποία εξαρτάται η αποτελεσματικότητά του. Ωστόσο, είναι απαραίτητη η περαιτέρω ενίσχυση των ενδογενών αντιοξειδωτικών μηχανισμών για την αποτελεσματικότερη καταπολέμηση των ελευθέρων ριζών. Γι' αυτό το λόγο, τα τελευταία χρόνια, η επιστημονική έρευνα έχει στραφεί στη μελέτη φυσικών αντιοξειδωτικών, τα οποία λαμβάνονται μέσω της διατροφής [20].

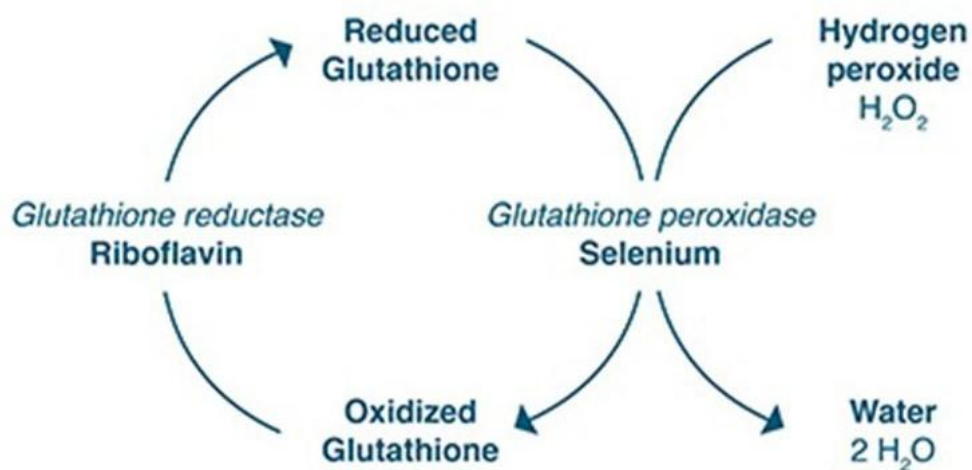
Ανάλογα με την προέλευσή τους, τη διαλυτότητά τους και τη χημική τους φύση τα αντιοξειδωτικά διακρίνονται σε: ενδογενή και εξωγενή, υδατοδιαλυτά και λιποδιαλυτά, ενζυμικά και μη ενζυμικά.

Τα ενδογενή αντιοξειδωτικά παράγονται φυσικά από τον οργανισμό, ενώ τα εξωγενή αντιοξειδωτικά λαμβάνονται μέσω της διατροφής. Οι ενδογενείς αντιοξειδωτικές ενώσεις μπορούν να ταξινομηθούν σε ενζυμικές και μη ενζυμικές.

Ενδογενή αντιοξειδωτικά	
Ενζυμικά	Μη ενζυμικά
δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD)	γλουταθειόνη (GSH)
καταλάση (CAT)	ουρικό οξύ
υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx)	χολερυθρίνη
αναγωγάση της γλουταθειόνης (GRx)	χηλικές πρωτεΐνες μετάλλων

Πίνακας 1: Ενδογενή αντιοξειδωτικά

Η δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD) μετατρέπει τη ρίζα του ανιόντος σουπεροξειδίου ( $O_2^{\bullet-}$ ) σε υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) με αναγωγή. Το  $H_2O_2$  μετατρέπεται σε νερό και οξυγόνο ( $O_2$ ) μέσω της καταλάσης ή της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης. Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) χρησιμοποιεί το  $H_2O_2$  για να οξειδώσει την ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH) στην οξειδωμένη μορφή της (GSSG). Η αναγωγάση της γλουταθειόνης (GR) ανάγει τη GSSG σε GSH χρησιμοποιώντας το NADPH ως πηγή αναγωγικής ισχύος [21].



Εικόνα 6: Ο κύκλος οξειδοαναγωγής της γλουταθειόνης

Στα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά ανήκουν η γλουταθειόνη (GSH), το ουρικό οξύ, η χολερυθρίνη και οι χηλικές πρωτεΐνες μετάλλων. Ορισμένα εκ των μη ενζυμικών

αντιοξειδωτικών λαμβάνονται μέσω της διατροφής. Σε αυτά ανήκουν η βιταμίνη E, η βιταμίνη C, τα καροτενοειδή, το σελήνιο, τα ωμέγα-3 και ωμέγα-6 λιπαρά οξέα και οι πολυφαινόλες [22]. Ορισμένα αναλύονται παρακάτω:

### **Βιταμίνη E**

Η βιταμίνη E είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη, η οποία χαρακτηρίζεται από υψηλή αντιοξειδωτική ισχύ. Είναι μια ένωση με οκτώ στερεοϊσομερή την α-, β-, γ- και δ-τοκοφερόλη και την α-, β-, γ- και δ-τοκοτριενόλη. Η α-τοκοφερόλη είναι η πιο βιοδραστική μορφή της βιταμίνης E στον άνθρωπο [23] και λόγω της λιποδιαλυτότητάς της, προστατεύει τις κυτταρικές μεμβράνες από την υπεροξείδωση των λιπιδίων, η οποία προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες. Οι διατροφικές πηγές της βιταμίνης E είναι τα φυτικά έλαια, το έλαιο του φύτρου του σίτου, τα δημητριακά ολικής αλέσεως, οι ξηροί καρποί, τα φρούτα, τα αυγά, τα πουλερικά και το κρέας [24].

### **Βιταμίνη C**

Η βιταμίνη C, γνωστή και ως ασκορβικό οξύ, είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη. Είναι απαραίτητη για τη βιοσύνθεση του κολλαγόνου και νευροδιαβιβαστών. Η βιταμίνη C δρα σε συνεργεία με τη βιταμίνη E για να αδρανοποιήσει τις ελεύθερες ρίζες και είναι υπεύθυνη για την αναγέννηση της ανηγμένης μορφή της βιταμίνης E. Οι φυσικές πηγές της βιταμίνης C είναι τα όξινα φρούτα, τα πράσινα λαχανικά και οι ντομάτες [25].

### **β-καροτένιο**

Το β-καροτένιο είναι μία λιποδιαλυτή ένωση της χημικής ομάδας των καροτενοειδών, τα οποία θεωρούνται ως προβιταμίνες επειδή μπορούν να μετατραπούν σε ενεργή βιταμίνη A. Το β-καροτένιο μετατρέπεται σε ρετινόλη, η οποία είναι απαραίτητη για την όραση. Είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό και εξουδετερώνει τη ρίζα του απλού οξυγόνου. Οι φυσικές πηγές β-καροτενίου είναι τα φρούτα, τα δημητριακά, το λάδι και λαχανικά, όπως τα καρότα και το σπανάκι [26].

### **Σελήνιο (Se)**

Το Se είναι ένα ιχνοστοιχείο, το οποίο συναντάται στο έδαφος, το νερό, τα λαχανικά (σκόρδο, κρεμμύδι, σπόροι κ.ά.), τα θαλασσινά και το κρέας [22]. Σχηματίζει το ενεργό

κέντρο πολλών αντιοξειδωτικών ενζύμων, συμπεριλαμβανομένης της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης [27].

### **Ωμέγα-3 και ωμέγα-6 λιπαρά οξέα**

Είναι απαραίτητα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας, τα οποία δε βιοσυντίθενται φυσιολογικά από το ανθρώπινο σώμα. Τα λιπαρά οξέα ωμέγα-3 μπορούν να βρεθούν στα λιπαρά ψάρια, τα καρύδια και το λιναρόσπορο. Υπάρχουν τρεις κύριοι διαιτητικοί τύποι ωμέγα-3 λιπαρών οξέων, το εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA), το δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA) και το α-λινολενικό οξύ (ALA). Οι διατροφικές πηγές ωμέγα-6 λιπαρών οξέων (λιγνελαιϊκό οξύ) περιλαμβάνουν τα φυτικά έλαια, τους ξηρούς καρπούς, τα δημητριακά, τα αυγά και τα πουλερικά. Η ισορροπία των ωμέγα-3 και των ωμέγα-6 στη διατροφή είναι απαραίτητη, καθώς αυτές οι δύο ουσίες συνεργάζονται για την πρόωση της υγείας [28,29].

### **Πολυφαινόλες**

Οι πολυφαινόλες είναι μια ομάδα χημικών ουσιών, οι οποίες συναντώνται στα φυτά και χαρακτηρίζονται από την παρουσία δύο ή περισσότερων φαινολικών δακτυλίων ανά μόριο. Βρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες στα φρούτα, τα λαχανικά και σε διάφορα ροφήματα και ποτά, όπως ο καφές, το τσάι και το κρασί. Επίσης, οι πολυφαινόλες επηρεάζουν πολλά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων διατροφής φυτικής προέλευσης, όπως η γεύση, το άρωμα και το χρώμα. Τα τελευταία χρόνια, το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στις φαινολικές ενώσεις λόγω των αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών, καρδιοπροστατευτικών, αντικαρκινικών και νευροπροστατευτικών ιδιοτήτων τους.

Με βάση τον αριθμό των φαινολικών δακτυλίων που περιέχουν και τα δομικά στοιχεία που συνδέουν αυτούς τους δακτυλίους μεταξύ τους, οι πολυφαινόλες ταξινομούνται σε 4 κύριες κατηγορίες. Η μεγαλύτερη κατηγορία πολυφαινολών είναι τα φλαβονοειδή, τα οποία βρίσκονται συχνότερα συζευγμένα με τη μορφή γλυκοζιτών. Τα φλαβονοειδή έχουν μια βασική δομή που αποτελείται από δύο δακτυλίους βενζολίου συνδεδεμένους μέσω ενός ετεροκυκλικού ανθρακικού δακτυλίου πυρόνης. Πάνω από 4000 χημικώς μοναδικά φλαβονοειδή έχουν εντοπιστεί σε φρούτα, λαχανικά, ξηρούς καρπούς, σπόρους και λουλούδια, καθώς και σε διάφορα ροφήματα. Οι πολυφαινόλες των τροφίμων



συμβάλλουν στον περιορισμό της οξειδωτικής βλάβης, αφού είτε δρουν απευθείας σε δραστικές μορφές οξυγόνου είτε διεγείρουν ενδογενή αμυντικά συστήματα. Οι φαινολικές ομάδες μπορούν να δεχτούν ένα ηλεκτρόνιο, με αποτέλεσμα το σχηματισμό σχετικά σταθερών ριζών φαινοξυλίου, διαταράσσοντας έτσι τις αντιδράσεις οξείδωσης της αλυσίδας στα κυτταρικά συστατικά [30].

Εκτός των φλαβονοειδών, οι υπόλοιπες τάξεις πολυφαινολών περιλαμβάνουν τα φαινολικά οξέα, τα στυλβένια και τις λιγνάνες. Αναλυτικότερα:

- Φαινολικά οξέα: Βρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες στα τρόφιμα και εντάσσονται σε δύο κατηγορίες, τα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος και τα παράγωγα του κινναμικού οξέος. Η περιεκτικότητα σε υδροξυβενζοϊκό οξύ των βρώσιμων φυτών είναι γενικά χαμηλή, με εξαίρεση ορισμένα κόκκινα φρούτα, το μαύρο ραπανάκι και τα κρεμμύδια. Τα υδροξυκινναμικά οξέα είναι πιο κοινά από τα υδροξυβενζοϊκά οξέα.
- Στυλβένια: Τα στυλβένια περιέχουν δύο τμήματα φαινυλίου, τα οποία συνδέονται με μια γέφυρα μεθυλενίου δύο ατόμων άνθρακα. Τα περισσότερα στυλβένια στα φυτά συντίθενται με τη μορφή φυτοαλεξινών, οι οποίες είναι ενώσεις που συμβάλλουν στην άμυνα του φυτικού οργανισμού. Ο κύριος εκπρόσωπος αυτής της κατηγορίας ενώσεων είναι η ρεσβερατρόλη (3,4',5-τριυδροξυστυλβένιο), η οποία βρίσκεται στα σταφύλια.
- Λιγνάνες: Οι λιγνάνες είναι διφαινολικές ενώσεις που περιέχουν δομή 2,3-διβενζυλοβουτανίου που σχηματίζεται από τον διμερισμό δύο καταλοίπων κινναμικού οξέος. Βρίσκονται σε αφθονία στο λιναρόσπορο [31].

## 2. ΤΡΟΦΙΜΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

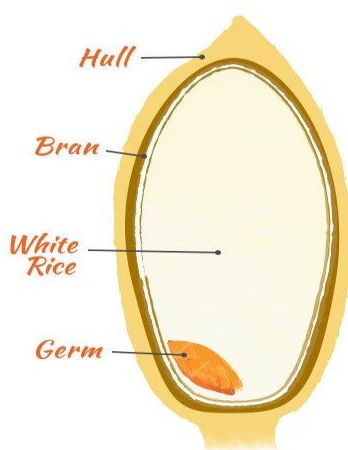
### 2.1. Ρύζι

#### 2.1.1. Ιστορική αναδρομή και γενικά χαρακτηριστικά του ρυζιού

Η καλλιέργεια ρυζιού χρονολογείται από την προϊστορική εποχή στην Κίνα και την Ινδία. Υπήρχε στη Μεσοποταμία τον 4<sup>ο</sup> αιώνα π.Χ., στη συνέχεια διαδόθηκε στη Βόρεια Αφρική και την Ιαπωνία τους πρώτους αιώνες μ.Χ. ενώ εισήχθη στην Ευρώπη περίπου τον 6<sup>ο</sup> αιώνα μ.Χ. από τους Άραβες. Γενικότερα, το ρύζι ευδοκimeί σε τροπικά, υποτροπικά και εύκρατα κλίματα. Γι' αυτό το λόγο, οι κύριες περιοχές-παραγωγοί

βρίσκονται στην Ινδία, την Κίνα, την Ινδοκίνα, την Ινδονησία, την Ιαπωνία, την Κορέα, τις Φιλιππίνες, το Πακιστάν, τις ΗΠΑ, τη Βραζιλία, την Αίγυπτο και την Ιταλία.

Το ρύζι συνιστά την κύρια βασική τροφή για το περισσότερο από το μισό του παγκόσμιου πληθυσμού. Το προϊόν της συγκομιδής είναι ο σπόρος του *Oryza sativa*, ενός όρθιου γρασιδιού με κοίλα εσωτερικά ενδύματα, το οποίο φτάνει σε ύψος 1-2 μέτρα. Το φυτό έχει ινώδεις ρίζες και φύλλα θήκης με μακριά ωτία. Τα άνθη σχηματίζουν τερματικά συμπλέγματα ανθέων με χαλαρή διακλάδωση σε πυραμιδικό σχήμα, τα οποία κρέμονται όταν ωριμάσουν και αποτελούνται από ερμαφρόδιτες, μονοανθικές ακάνθους. Ο καρπός είναι μια ελλειπτική καρύωση, ή ένας κόκκος, που περιβάλλεται από φολιδωτά μικρά φύλλα, τα οποία σχηματίζουν έναν ξηρό φλοιό γύρω από το σπόρο (Εικόνα 5)



*Εικόνα 7: Τα βασικά τμήματα του κόκκου του ρυζιού: φλοιός (hull), πίτουρο (bran), λευκό ρύζι (white rice) και ενδοσπέρμιο (germ)*

Το φυτό *Oryza sativa* περιλαμβάνει ορισμένα υποείδη και διαφορετικές ποικιλίες. Η γεωγραφική προέλευση και ο χρόνος εξημέρωσης, δηλαδή η χρονική περίοδος κατά την οποία το ρύζι καλλιεργήθηκε για πρώτη φορά από τον άνθρωπο, τίθενται υπό συζήτηση. Μέσω μιας ανάλυσης των πολυμορφισμών νουκλεοτιδίων του DNA οργανιδίων, έχει προταθεί ότι η Νότια Κίνα πιθανόν είναι η κύρια περιοχή εξημέρωσης του ρυζιού [32].

### **2.1.2.Οφέλη του ρυζιού για την υγεία και άλλες χρήσεις**

Το ρύζι χρησιμοποιείται ευρέως ως παραδοσιακό φάρμακο κατά της φλεγμονής, των γαστρεντερικών παθήσεων, της διάρροιας, της υπερχοληστερολαιμίας, του

σακχαρώδους διαβήτη και των δερματικών παθήσεων [32]. Τα επιμέρους συστατικά του ρυζιού πιθανώς δρουν κατά του καρκίνου και των όγκων, προάγοντας την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων [33]. Επίσης, παράγωγα του πίτουρου ρυζιού και άλλα προϊόντα χρησιμοποιούνται στον κλάδο της δερματολογίας και της κοσμητολογίας. Ενώσεις με φαρμακολογικό ενδιαφέρον θα μπορούσαν να εξαχθούν από παραπροϊόντα ρυζιού, προάγοντας, με αυτό τον τρόπο, οικονομικά την καλλιέργεια και την επεξεργασία του ρυζιού [32].



Εικόνα 8: Οφέλη του ρυζιού για την υγεία

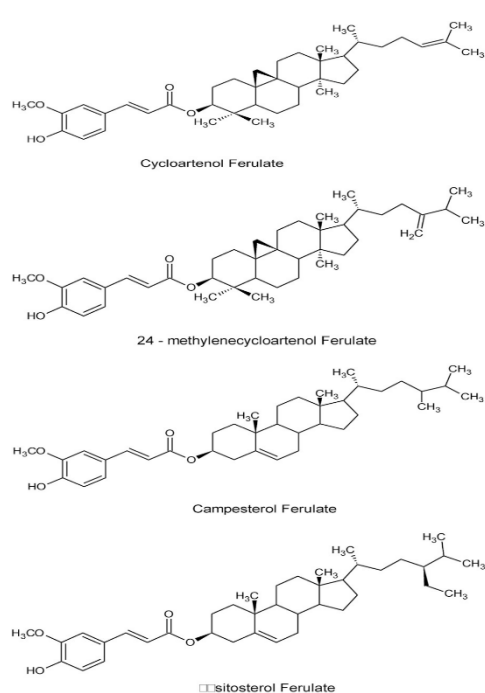
### 2.1.3.Χημική σύσταση του ρυζιού

Το ρύζι συνιστά μια σημαντική πηγή φυτικών ινών, ενέργειας, ανόργανων συστατικών, πρωτεϊνών, βιταμινών, αντιοξειδωτικών και άλλων βιομορίων, τα οποία μπορούν να δράσουν συνδυαστικά και να ασκήσουν ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία. Οι διαιτητικές ίνες, οι οποίες περιέχονται στο ρύζι, διακρίνονται στις διαλυτές, όπως οι αραβινοξυλάνες και οι β-d-γλυκάνες, και αδιάλυτες, όπως η ημικυτταρίνη και η κυτταρίνη. Το άμυλο είναι ένα πολυμερές γλυκόζης, το οποίο συντίθεται από δύο τύπους

α-γλυκανών, την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη και αποτελεί τον κύριο υδατάνθρακα του ρυζιού. Στο ρύζι περιέχονται διαφορετικά είδη λιπιδίων, μεταξύ των οποίων είναι το ελαιικό και το λινελαϊκό οξύ, ενώ οι κύριες πρωτεΐνες είναι οι προλαμίνες, οι γλουτελίνες, οι σφαιρίνες και οι λευκωματίνες. Στις βιταμίνες που περιέχονται στο ρύζι περιλαμβάνονται οι τοκοφερόλες και οι τοκοτριενόλες (βιταμίνη E) και βιταμίνες του συμπλέγματος B, όπως η θειαμίνη, η ριβοφλαβίνη και η νιασίνη. Η σύσταση του ρυζιού σε μέταλλα περιλαμβάνει κυρίως κάλιο, νάτριο, μαγνήσιο, ψευδάργυρο, μαγγάνιο, σίδηρο και χαλκό [32].

### 2.1.4. Ρύζι και αντιοξειδωτικά

Το ρύζι είναι πλούσιο σε αντιοξειδωτικά μόρια, όπως η βιταμίνη E, η γ-



ορυζανόλη, οι φαινόλες, τα καροτενοειδή και οι φυτοστερόλες [33]. Οι τοκοφερόλες είναι τα κύρια αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στο στρώμα πίτουρου των κόκκων ρυζιού. Οι τοκοφερόλες προστατεύουν το έλαιο ρυζιού από την οξείδωση και αναστέλλουν την υπεροξείδωση των λιπιδίων, η οποία μπορεί να προκληθεί από το σίδηρο και την υπεριώδη ακτινοβολία [34]. Η γ-ορυζανόλη είναι ένα μείγμα εστέρων trans-φερουλικού οξέος τριτερπενικών αλκοολών και στερολών, εκ των οποίων οι πιο άφθονες είναι η κυκλοαρτενόλη, η 24-μεθυλενο κυκλοαρτενόλη, η β-συτοστερόλη και η καμπεστερόλη (Εικόνα 9) [32].

**Εικόνα 9:** Τα κύρια συστατικά της γ-ορυζανόλης

Οι φαινόλες, που βρίσκονται στο περικάρπιο, το εξωτερικό στρώμα του πίτουρου, περιλαμβάνουν φλαβονοειδή, όπως η τρικίνη και η τρικινίνη, και διάφορα φαινολικά οξέα, όπως το φερουλικό, το κουμαρικό, το σιναπικό, το πρωτοκατεχουικό, το χλωρογενικό, το υδροξυβενζοϊκό, το βανιλικό, το συριγγικό, το καφεϊκό και το γαλλικό

οξύ [32]. Στο ρύζι, επίσης, περιέχονται η ζεαξανθίνη, η λουτεΐνη και το β-καροτένιο, τα οποία εντάσσονται στην κατηγορία των καροτενοειδών [33].

## **2. 2. Ζυμαρικά**

### **2.2.1. Η πρώτη ύλη των ζυμαρικών, ο σκληρός σίτος**

Ο σκληρός σίτος (*Triticum durum*) χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή ζυμαρικών και η ποιότητα του τελικού προϊόντος σχετίζεται με τα χαρακτηριστικά του σκληρού κόκκου, τα οποία, με τη σειρά τους, καθορίζονται κυρίως όχι μόνο από τον γονότυπο, αλλά και από το περιβάλλον (καιρός και τροφή) και τη διαχείριση των καλλιεργειών. Ο σκληρός σίτος θεωρείται ότι έχει τον σκληρότερο πυρήνα μεταξύ των σίτων. Έχει πορτοκαλί χρώμα και υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες. Ο σπόρος του σίτου απαρτίζεται από τρία διαφορετικά μέρη, το ενδοσπέρμιο, το πίτουρο και τη φύτρα. Το ενδοσπέρμιο αποτελεί περίπου το 80-85% του βάρους του πυρήνα. Στο εσωτερικό, περιέχονται πρωτεΐνες και άμυλο και σε μικρότερο βαθμό ίνες, βιταμίνες και μέταλλα. Το ενδοσπέρμιο είναι πλούσιο σε πρωτεΐνες και ένζυμα. Οι γλιαδίνες, οι γλουτενίνες, οι λευκωματίνες και οι σφαιρίνες είναι οι κύριες πρωτεΐνες που υπάρχουν. Οι γλουτενίνες και οι γλιαδίνες σχηματίζουν το σύμπλεγμα γλουτένης, υπεύθυνο για τις ρεολογικές ιδιότητες της ζύμης. Επιπλέον, το ενδοσπέρμιο περιέχει αμινοξέα, όπως γλουταμίνη, προλίνη και λευκίνη. Το αλεύρι που παράγεται από το ενδοσπέρμιο περιέχει περίπου 82% άμυλο, το οποίο εμφανίζεται με τη μορφή κοκκίων. Το άμυλο είναι ο κύριος υδατάνθρακας που υπάρχει στα κύτταρα του ενδοσπερμίου. Τα χημικά χαρακτηριστικά του πίτουρου αποδίδονται στα μέταλλα, τις πρωτεΐνες και τη συγκέντρωση ινών, ιδίως αδιάλυτων (κυτταρίνη και ημικυτταρίνη). Η φύτρα του σίτου είναι πλούσια σε λίπη, τα οποία μπορούν εύκολα να οξειδωθούν. Τα λιπίδια, οι πολυσακχαρίτες εκτός του αμύλου, τα ένζυμα, οι βιταμίνες, οι χρωστικές ουσίες και τα ανόργανα άλατα υπάρχουν σε μικρή ποσότητα στο σιτάρι. Τέλος, οι σπόροι σκληρού σίτου περιέχουν αδιάλυτες ίνες, συγκεκριμένα κυτταρίνη (2,7% του ξηρού βάρους), γλυκάνες (1%), πεπτίδια αραβινογαλακτάνης και αραβινοξυλάνες (7,6%). Στη σύστασή τους περιλαμβάνονται βιταμίνες, (B<sub>12</sub>, B<sub>16</sub>, C, E) και ανόργανα άλατα [35].

### 2.2.2. Ιστορική αναδρομή

Τα ζυμαρικά είναι ένα τροφίμο με αρχαίες καταβολές, το οποίο καταναλώνεται ευρέως στον κόσμο και αντιπροσωπεύει ένα από τα βασικά τρόφιμα της μεσογειακής διατροφής. Υπάρχουν πολλές θεωρίες σχετικά με την προέλευσή τους. Σύμφωνα με τον Αμερικανό ιστορικό Charles Perry, η πρώτη σαφής δυτική αναφορά στις βραστές χυλοπίτες βρίσκεται γραμμένη στα Αραμαϊκά στο Ταλμούδ της Ιερουσαλήμ του 5ου αιώνα μ.Χ. με την ονομασία «itriyah». Άλλοι ερευνητές τοποθετούν την προέλευσή τους τον δέκατο τρίτο αιώνα, όταν ο Μάρκο Πόλο εισήγαγε τα ζυμαρικά στην Ιταλία, επιστρέφοντας από ένα ταξίδι του στην Κίνα το 1271. Ωστόσο, τα ζυμαρικά χρονολογούνται πολλούς αιώνες πριν, ίσως στους αρχαίους Ετρούσκους, οι οποίοι παρασκεύαζαν ζυμαρικά αλέθοντας δημητριακά και σπόρους και αναμειγνύοντας τα συστατικά με νερό. Αργότερα, μαγείρευαν το μείγμα, παράγοντας ένα νόστιμο και θρεπτικό φαγητό. Ο όρος «μακαρόνια», ο οποίος σήμερα αναφέρεται σε ένα μακρύ είδος ζυμαρικών, βρίσκεται στα έγγραφα Ρωμαίων συγγραφέων από τους πρώτους αιώνες μ.Χ. [36].

### 2.2.3. Παρασκευή ζυμαρικών

Τα ζυμαρικά παράγονται κυρίως με αλεύρι σίτου και νερό. Αυγά ή και άλλα προαιρετικά συστατικά μπορούν επίσης να προστεθούν. Οι κατασκευαστές ζυμαρικών συνήθως χρησιμοποιούν αλεσμένο σκληρό σιτάρι (σιμιγδάλι). Ολόκληροι κόκκοι σίτου και άλλων δημητριακών, όπως το ρύζι, το κριθάρι, η βρώμη, η κινόα και το καλαμπόκι χρησιμοποιούνται επίσης μερικές φορές για την παρασκευή ζυμαρικών. Ωστόσο, τα καλύτερα ζυμαρικά παράγονται από σιμιγδάλι σκληρού σίτου, λόγω των εξαιρετικών ρεολογικών ιδιοτήτων της ζύμης, του χρώματος των ζυμαρικών, της ποιότητας μαγειρέματος και της αποδοχής των καταναλωτών.

Η επεξεργασία ζυμαρικών περιλαμβάνει τρία κύρια βήματα: ανάμιξη του σιμιγδαλιού με το νερό με σκοπό τη δημιουργία ζύμης, όπου σχηματίζεται το δίκτυο γλουτένης, τη μορφοποίηση της ζύμης μέσω εξώθησης και τη σταθεροποίηση του σχήματος των ζυμαρικών, η οποία γίνεται συνήθως με ξήρανση. Αυτή η ακολουθία εργασιών αναπτύσσεται σε βιομηχανική αυτοματοποιημένη κλίμακα. Η διαδικασία ανάμιξης και ζύμωσης παράγει μια ομοιογενή ενυδατωμένη ζύμη, η οποία είναι

απαραίτητη για την παραγωγή ζυμαρικών υψηλής ποιότητας. Αφού αναμιχθεί η ζύμη, μεταφέρεται στον εξωθητή για να λάβει ένα συγκεκριμένο σχήμα. Αυτή η διαδικασία διευκολύνει τη συντήρηση της δομής των ζυμαρικών κατά το μαγείρεμα. Η ξήρανση είναι το πιο δύσκολο και κρίσιμο βήμα για τον έλεγχο στη διαδικασία παραγωγής ζυμαρικών. Συνίσταται στη διέλευση ροής καυτού ή ζεστού αέρα πάνω από τα ζυμαρικά, έτσι ώστε οι θερμοϋδρομετρικές ιδιότητες του αέρα να μειώνουν σταδιακά την περιεκτικότητα των ζυμαρικών σε υγρασία [36].

#### **2.2.4. Χημική σύσταση και διατροφικές ιδιότητες των ζυμαρικών**

Το άμυλο είναι η πιο άφθονη θρεπτική ουσία στα ζυμαρικά και η πηγή γλυκόζης που απελευθερώνεται γρήγορα κατά την πέψη, ανεξάρτητα από τον τύπο των δημητριακών που χρησιμοποιούνται. Το άμυλο των ζυμαρικών περιέχει δύο κύρια πολυμερή γλυκόζης, την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη. Συγκεκριμένα, το ενδοσπέρμιο του σίτου περιέχει 75-80% άμυλο ως αμυλοπηκτίνη και 20-25% ως αμυλόζη. Η αμυλόζη είναι ένα γραμμικό μόριο με αλυσίδες γλυκόζης συνδεδεμένες μέσω  $\alpha$ -1,4 δεσμών, ενώ η αμυλοπηκτίνη είναι ένα πολύπλοκο και πολύ διακλαδισμένο μόριο, στο οποίο οι μονάδες γλυκόζης συνδέονται γραμμικά με  $\alpha$ -1,4 δεσμούς και η διακλάδωση πραγματοποιείται με δεσμούς  $\alpha$ -1,6 που εμφανίζονται κάθε 24-30 μονάδες γλυκόζης.

Τα ζυμαρικά είναι ένα βασικό συστατικό της παραδοσιακής μεσογειακής διατροφής, ένα διατροφικό πρότυπο, το οποίο παρέχει σημαντικά οφέλη για την υγεία σε σύγκριση με τα σημερινά δυτικά πρότυπα διατροφής. Αποτελούν μια σημαντική πηγή υδατανθράκων, ειδικά του αμύλου. Μία μερίδα 100 g μη βρασμένων ζυμαρικών περιέχει περίπου 68,1 g άμυλο, 4,2 g διαλυτών σακχάρων, 2,7 g ινών, 10,9 g πρωτεΐνης και 1,4 g λίπους, αποδίδοντας περίπου 353 θερμίδες (kcal). Τα ζυμαρικά περιέχουν επίσης βιταμίνες B<sub>1</sub> και B<sub>2</sub>, καθώς και ορισμένα μέταλλα. Το μαγείρεμα των ζυμαρικών οδηγεί στην απώλεια μερικών θρεπτικών συστατικών είτε στο νερό είτε λόγω της θερμότητας, ειδικότερα αμύλου, πρωτεϊνών, φωσφόρου και βιταμίνης B<sub>1</sub>. Η βιολογική αξία των πρωτεϊνών στα ζυμαρικά σίτου δεν είναι ιδιαίτερα αυξημένη δεδομένης της χαμηλής περιεκτικότητάς τους σε βασικά αμινοξέα. Ωστόσο, τα ζυμαρικά καταναλώνονται συνήθως με άλλα τρόφιμα με διαφορετικό περιεχόμενο πρωτεΐνης, όπως τα προϊόντα ζωικής προέλευσης, τα οποία βελτιώνουν τη θρεπτική αξία του πιάτου. Η προσθήκη αυγού στα βασικά συστατικά αυξάνει την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και τη βιολογική αξία των πρωτεϊνών, αλλά αυξάνει επίσης την περιεκτικότητα των ζυμαρικών σε λιπαρά.

Η συνήθης κατανάλωση τροφών ολικής αλέσεως συνδέεται σταθερά με μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης παχυσαρκίας, διαβήτη τύπου 2 και καρδιαγγειακών παθήσεων. Τα ζυμαρικά από αλεύρι ολικής αλέσεως είναι πλούσια σε ολιγοσακχαρίτες, μέταλλα, βιταμίνες και αντιοξειδωτικά συστατικά, τα οποία μπορεί να έχουν επιπρόσθετη ευεργετική επίδραση σε πολλές βιολογικές λειτουργίες. Επίσης, είναι πλουσιότερα σε φυτικές ίνες και θρεπτικά συστατικά από τα αντίστοιχα επεξεργασμένα, καθώς η επεξεργασία οδηγεί σε περίπου 60% απώλεια του κόκκου του σίτου, ενός τμήματος που περιλαμβάνει τα πιο θρεπτικά συστατικά του, το πίτουρο και τη φύτρα. Κατά συνέπεια, το επεξεργασμένο σιτάρι περιέχει λιγότερο από το ήμισυ της ποσότητας βιταμινών Β, ανόργανων συστατικών και ινών, από ό,τι τα δημητριακά ολικής αλέσεως.

Επιστημονικά στοιχεία υποστηρίζουν τα οφέλη για την υγεία της τακτικής πρόσληψης ζυμαρικών, ιδίως εάν καταναλώνονται στο πλαίσιο μιας ισορροπημένης διατροφής, σύμφωνα με το μεσογειακό διατροφικό πρότυπο. Τα ζυμαρικά, λόγω του χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη, αντιπροσωπεύουν μια ιδανική πηγή υδατανθράκων στη διατροφή υγιών ατόμων, παχύσαρκων ατόμων και διαβητικών ασθενών [36].

### **2.2.5. Ζυμαρικά και αντιοξειδωτικά**

Οι φαινολικές ενώσεις συγκεντρώνονται στα εξωτερικά στρώματα του κόκκου του σίτου, δηλαδή στο πίτουρο. Οι κόκκοι των δημητριακών περιέχουν φαινολικά οξέα, σαπωνίνες και φυτοοιστρογόνα, καθώς και μικρές ποσότητες φλαβονοειδών. Τα φαινολικά οξέα, τα οποία περιέχονται στα δημητριακά, ανήκουν στις οικογένειες του βενζοϊκού και του κινναμικού οξέος. Τα μέλη της οικογένειας του κινναμικού οξέος θεωρούνται τα πιο κοινά φαινολικά οξέα και μπορούν να δράσουν ως αντιοξειδωτικά. Στους κόκκους δημητριακών, τα ομοιοπολικά δεσμευμένα φαινολικά οξέα συγκεντρώνονται στα κυτταρικά τοιχώματα των διαφόρων ιστών των κόκκων, ειδικά της αλευρόνης και του περιβλήματος του σπόρου, του περικαρπίου, όπου εστεροποιούνται στις πλευρικές ομάδες αραβινόζης των αραβινοξυλανών. Οι Hatcher and Kruger (1997) ανέφεραν έξι φαινολικά οξέα στο σίτο, τα οποία ήταν το σιναπικό, το φερούλικό, το βανιλικό, το συριγγικό, το καφεϊκό και το p-κουμαρικό οξύ [37].

Οι Liyana-Pathiranaa και Shahidi (2007), αφού εξέτασαν διάφορα κλάσματα της άλεσης των ποικιλιών σίτου Canada Western Amber Durum (CWAD) και Canada Western Red Spring (CWRS), διαπίστωσαν ότι το πίτουρο παρουσίασε την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση, ενώ το ενδοσπέρμιο είχε τη χαμηλότερη στις δύο ποικιλίες.



Συγκεκριμένα, το κλάσμα του πίτουρου είχε την υψηλότερη ικανότητα απορρόφησης ριζών οξυγόνου (oxygen radical absorbance capacity, ORAC), ενώ τα κλάσματα αλευριού και σιμιγδαλιού είχαν τη χαμηλότερη. Συμπεράναν, λοιπόν, ότι η επεξεργασία των κόκκων σίτου μειώνει δραστικά τη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών τους [38].

Οι Hirawan et al. (2010) μελέτησαν τις επιδράσεις του μαγειρέματος στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των ζυμαρικών. Τα αντιοξειδωτικά των τροφίμων χάνονται σε σημαντικές ποσότητες ως αποτέλεσμα της επεξεργασίας, της αποθήκευσης, της οικιακής διαχείρισης και του μαγειρέματος. Επίσης, δεδομένου ότι η γενετική και περιβαλλοντική διακύμανση της περιεκτικότητας σε φερουλικό οξύ αναγνωρίζεται μεταξύ των ποικιλιών σίτου, είναι πιθανό ότι τα προϊόντα ζυμαρικών σκληρού σίτου θα ποικίλλουν σε φαινολική σύνθεση. Επιπλέον, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι ορισμένα αντιοξειδωτικά που σχηματίζονται κατά την επεξεργασία συμβάλλουν στη συνολική αντιοξειδωτική δράση των προϊόντων σιτηρών. Οι μη ενζυμικές αντιδράσεις αμαύρωσης, όπως οι αντιδράσεις Maillard, μπορούν να παράγουν ορισμένα προϊόντα, τα οποία εμφανίζουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες, όπως οι μελανοϊδίνες [39].

## 2.3. Γιαούρτι

### 2.3.1. Ιστορική αναδρομή

Η λέξη «ζύμωση» (fermentation) προήλθε από τη λατινική λέξη «*fervere*» (βράζω) και αργότερα ορίστηκε από τον Louis Pasteur ως «η ζωή χωρίς αέρα». Η ζύμωση είναι μια μεταβολική διαδικασία που εξάγει ενέργεια από τις οργανικές ενώσεις χωρίς τη συμμετοχή εξωγενών παραγόντων. Το γιαούρτι, ένα προϊόν γάλακτος που έχει υποστεί ζύμωση, ορίζεται ως «ένα προϊόν που προκύπτει από το γάλα με ζύμωση με μικτή καλλιέργεια εκκίνησης, η οποία αποτελείται από τους μικροοργανισμούς *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* του υποείδους *bulgaricus*». Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν χρησιμοποιηθεί πολλά άλλα συμπληρωματικά βακτήρια επιπλέον αυτών για την παραγωγή γιαουρτιού, όπως ο *Lactobacillus helveticus*, ο *Lactobacillus casei*, ο *Lactobacillus jugurti* και διάφορα είδη *Bifidobacterium*. Η λέξη «γιαούρτι» πιστεύεται ότι χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τους Τούρκους τον 8ο αιώνα και εμφανίστηκε ως «*yoghurt*». Θεωρείται, επομένως, ότι οι Τούρκοι νομάδες στην Ασία παρασκεύαζαν γιαούρτι. Ένας άλλος μύθος, ωστόσο, αναφέρει ότι το γιαούρτι παρασκευάστηκε για πρώτη φορά από τους λαούς των Βαλκανίων. Επιπλέον, πιστεύεται ότι η εισβολή των

Μογγόλων, των Ταρτάρων και άλλων Ασιατών ηγεμόνων στη Ρωσία και την Ευρώπη συνέβαλε επίσης στη διάδοση του γιαουρτιού σε άλλα μέρη του κόσμου. Το γιαούρτι είναι πλέον ένα πολύ δημοφιλές προϊόν και ένα σημαντικό μέρος της διατροφής σε πολλά μέρη του κόσμου και παράγεται στο εμπόριο στις περισσότερες μεγάλες χώρες [40].

### 2.3.2. Παραγωγή του γιαουρτιού

Η εμπορική παραγωγή γιαουρτιού περιλαμβάνει θερμική επεξεργασία του γάλακτος που περιέχει επιπλέον μη λιπαρά στερεά του και άλλα πρόσθετα στους 85 °C για 30 λεπτά, ψύξη στους 43 °C και εμβολιασμό με 2% καλλιέργεια εκκίνησης (*S. thermophilus* και *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*). Το γάλα, το οποίο εμβολιάζεται με καλλιέργεια των μικροοργανισμών *S. thermophilus* και *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, αφήνεται να ζυμωθεί και να πήξει με επώαση στους 42 °C για περίπου 4 ώρες έως ότου επιτευχθεί οξύτητα 0,9%. Η ζυμωμένη βάση του γιαουρτιού ψύχεται στους 4 °C για να σταματήσει την περαιτέρω ανάπτυξη της καλλιέργειας και την περαιτέρω ανάπτυξη οξέος. Με την ανακάλυψη των προβιοτικών οργανισμών, η προσθήκη τους στο γιαούρτι έγινε επίσης δημοφιλής. Τα προβιοτικά βακτήρια, όπως το *Lactobacillus acidophilus* και τα βακτήρια του γένους *Bifidobacterium*, περιλαμβάνονται συνήθως στο προβιοτικό γιαούρτι για να ενισχύσουν τα οφέλη του γιαουρτιού για την υγεία.

Η παραδοσιακή παραγωγή γιαουρτιού από νομάδες πραγματοποιήθηκε σε μικρούς σάκους από δέρμα ζώων. Το δέρμα επιτρέπει την ενισχυμένη απομάκρυνση του ορού γάλακτος, καθιστώντας έτσι το γιαούρτι πολύ παχύ και υψηλής περιεκτικότητας σε στερεά και γαλακτικό οξύ. Αυτό το είδος γιαουρτιού χαρακτηρίζεται ως συμπυκνωμένο γιαούρτι και διαθέτει σχετικά χαμηλές ποσότητες ορού γάλακτος. Ένα άλλο είδος συμπυκνωμένου γιαουρτιού είναι το γιαούρτι ελληνικού τύπου ή ελληνικό γιαούρτι. Το ελληνικό γιαούρτι είναι ιδιαίτερα δημοφιλές, λόγω της υψηλής του περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες, η οποία είναι 2-2,5 φορές μεγαλύτερη σε σχέση με το απλό γιαούρτι [40]. Το ελληνικό γιαούρτι παρασκευάζεται συμβατικά με τη στράγγιση του ζυμωμένου ψυχραμένου τυροπήγματος του γιαουρτιού για την αφαίρεση του ορού γάλακτος χρησιμοποιώντας έναν πάνινο σάκο, έως ότου να επιτευχθεί ένα επιθυμητό επίπεδο στερεών. Μερικές φορές μια κρούστα στην επιφάνεια του δοχείου χαρακτηρίζει το παραδοσιακό ελληνικό γιαούρτι, η οποία συνήθως αποτελείται από λίπος και πρωτεΐνες

του ορού. Για εμπορικούς σκοπούς, η φυσική καταπόνηση αντικαταστάθηκε από τη χρήση φυγοκέντρησης και διήθησης.

Το ελληνικό και το στραγγιστό γιαούρτι έχουν πιο παχύρρευστη σύσταση από το μη στραγγισμένο γιαούρτι. Το ελληνικό γιαούρτι παράγεται συχνά από γάλα που έχει εμπλουτιστεί με πρωτεΐνη με διήθηση μεμβράνης (υπερδιήθηση) γάλακτος ή με προσθήκη συμπυκνώματος πρωτεΐνης γάλακτος σε σκόνη. Η διαδικασία καταπόνησης για την απομάκρυνση του ορού γάλακτος ποικίλλει από κατασκευαστή σε κατασκευαστή.

### 2.3.3. Τα οφέλη του γιαουρτιού για την υγεία

Η πεποίθηση ότι το γιαούρτι μπορεί να είναι ευεργετικό για την υγεία έχει τις καταβολές της πολλούς αιώνες πριν. Σύμφωνα με την περσική παράδοση, ο Αβραάμ χρωστούσε τη γονιμότητα και τη μακροζωία του στην τακτική κατανάλωση γιαουρτιού [41]. Όμως, το επιστημονικό ενδιαφέρον για τα οφέλη του γιαουρτιού για την υγεία προκάλεσε για πρώτη φορά στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα ο βραβευμένος με Νόμπελ Πια Metchnikoff στο Ινστιτούτο Pasteur στο Παρίσι. Στο άρθρο του με τίτλο «The Prolongation of Life» από τη χρήση βακτηρίων του γιαουρτιού, υπέθεσε ότι οι *S. thermophilus* και *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* ελέγχουν τις λοιμώξεις, οι οποίες προκαλούνται από εντερικά παθογόνα, και ρυθμίζουν την τοξαιμία, δύο παθήσεις, οι οποίες παίζουν σημαντικό ρόλο στη γήρανση και τη θνησιμότητα. Επίσης, συσχετίζει τη μακροζωία και την καλή υγεία των Βουλγάρων αγροτών με την υψηλή κατανάλωση γιαουρτιού και άλλων γαλακτοκομικών προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση. Αργότερα ανακαλύφθηκε ότι τα κοινά βακτήρια γιαουρτιού *S. thermophilus* και *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* δεν μπορούν να εμφυτευθούν στο έντερο. Αυτή η παρατήρηση έδωσε μεγάλη ώθηση στην παραγωγή και κατανάλωση γιαουρτιού [40].

Η δημοτικότητα του γιαουρτιού οφείλεται κυρίως στα ποικίλα οφέλη για την υγεία του. Συγκεκριμένα, το γιαούρτι μπορεί να συμβάλει στην αύξηση της ανοχής στη λακτόζη, δρα κατά των μικροβίων και των γαστρεντερικών λοιμώξεων, μειώνει τα επίπεδα της χοληστερόλης στον ορό και ενισχύει την άμυνα του οργανισμού. Επίσης, το γάλα και κατ' επέκταση το γιαούρτι συμβάλλουν στην ανάπτυξη ισχυρών οστών και κατά συνέπεια στην πρόληψη της οστεοπόρωσης στη μετέπειτα ενήλικη ζωή. Τόσο το ασβέστιο όσο και ο φώσφορος βοηθούν στην ανάπτυξη και τη διατήρηση υγιών δοντιών. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι η χορήγηση προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση με

βακτήρια του γαλακτικού οξέος (*lactic acid bacteria*, LAB), συμπεριλαμβανομένου του γιαουρτιού, ασκεί ευεργετικά αποτελέσματα κατά του καρκίνου. Έρευνες έχουν δείξει ότι η υψηλή κατανάλωση γιαουρτιού συσχετίστηκε με χαμηλότερο κίνδυνο παχυσαρκίας και παρουσίασε αρνητική συσχέτιση με τη μέση ετήσια αύξηση βάρους [42].

#### **2.3.4. Σύγκριση γιαουρτιού διαφορετικών ειδών γάλακτος**

Το πρόβειο γιαούρτι έχει ισχυρή γέλη με ελάχιστη συρρίκνωση και ανώτερες οργανοληπτικές ιδιότητες, ενώ το κατσικίσιο έχει ασθενές σώμα, ασθενέστερη δομή γέλης, κατώτερη υφή και είναι λιγότερο γευστικό. Αυτές οι διαφορές θα μπορούσαν να προκύψουν από τη διαφορετική χημική σύνθεση του κάθε γάλακτος, ιδιαίτερα από την αναλογία των τεσσάρων κύριων καζεϊνών ( $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  και  $\kappa$ ). Το κατσικίσιο γάλα έχει υψηλότερη περιεκτικότητα σε μη πρωτεϊνικό άζωτο, χαμηλότερη συγκέντρωση καζεΐνης και σημαντικά χαμηλότερη ποσότητα  $\alpha_{s1}$ -καζεΐνης σε σύγκριση με το αγελαδινό γάλα. Από την άλλη, το πρόβειο γάλα παρουσιάζει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (4,8%), σε σχέση με το αγελαδινό και το κατσικίσιο (4,1%). Επίσης, υπερτερεί σε ασβέστιο, λίπος και βιταμίνες, συγκριτικά με το αγελαδινό και το κατσικίσιο γάλα [43].

#### **2.3.5. Χημική σύσταση γιαουρτιού**

Το γιαούρτι είναι ένα τρόφιμο πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά, ιδιαίτερα εύπεπτο και περιέχει βακτήρια του γαλακτικού οξέος, τα οποία μπορεί να επηρεάσουν το μικροβίωμα του εντέρου. Περιέχει πρωτεΐνες (πρωτεΐνη ορού γάλακτος και καζεΐνη σε αναλογία 20:80), κορεσμένα, μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και λακτόζη, τα οποία έχουν ιδιαίτερα υψηλή θρεπτική αξία και βιοδραστικότητα. Παρά το γεγονός ότι το γάλα και το γιαούρτι είναι παρόμοια στη θρεπτική τους σύνθεση, οι παραπάνω ιδιότητες μπορεί να παρέχουν επιπλέον οφέλη για την υγεία. Το θρεπτικό περιεχόμενο του γιαουρτιού ποικίλλει ανάλογα με τη μέθοδο επεξεργασίας και τα συστατικά που χρησιμοποιούνται. Το γιαούρτι διαφέρει από άλλα κοινά φρέσκα γαλακτοκομικά προϊόντα, καθώς είναι υποπροϊόν της ζύμωσης του γάλακτος και περιέχει ζωντανά και ενεργά βακτήρια. Σε σύγκριση με το γάλα, το απλό γιαούρτι περιέχει μεγαλύτερες ποσότητες συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών, όπως ασβέστιο, κάλιο και πρωτεΐνες,

ως αποτέλεσμα της παρασκευής και της ζύμωσης, οι οποίες παράγουν ένα πιο συμπυκνωμένο γαλακτοκομικό προϊόν [44].

### 2.3.6. Αντιοξειδωτικές ιδιότητες γάλακτος και γιαουρτιού

Η αντιοξειδωτική ικανότητα του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων οφείλεται κυρίως σε θειούχα αμινοξέα, όπως η κυστεΐνη, τα φωσφορικά άλατα, στις βιταμίνες A, C και E, στα καροτενοειδή, στον ψευδάργυρο, στο σελήνιο, στη δισμουτάση του σουπεροξειδίου, στην καταλάση και στην υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα τα οποία έχουν υποστεί ζύμωση, στα οποία περιλαμβάνεται και το γιαούρτι, έχει αποδειχθεί ότι διαθέτουν υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σύγκριση με τα μη ζυμωθέντα γαλακτοκομικά προϊόντα.

Οι καζεΐνες είναι οι κύριες πρωτεΐνες του βόειου και του αιγοπρόβειου γάλακτος και συναντώνται με τη μορφή μακρομοριακών συσσωματωμάτων. Η πρωταγής δομή των μορίων καζεΐνης έχει την ικανότητα να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες [45].

Τα βακτήρια εκκίνησης της παρασκευής του γιαουρτιού, *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* και *Streptococcus thermophiles* ανέστειλαν τη λιπιδική υπεροξειδωση απομακρύνοντας δραστικές μορφές οξυγόνου, όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου και η υπεροξυλική ρίζα. Τα βιοδραστικά πεπτίδια που απελευθερώνονται από την α-λακταλβουμίνη, τη β-λακτοσφαιρίνη και την α-καζεΐνη προσδίδουν στα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα αντιοξειδωτικές ιδιότητες [45]. Αυτά τα πεπτίδια είναι μικρές αλληλουχίες αμινοξέων των πρωτεϊνών του γάλακτος, οι οποίες αποτελούνται από 2 έως 50 κατάλοιπα αμινοξέων και απελευθερώνονται έπειτα από ζύμωση του γάλακτος με βακτήρια του γαλακτικού οξέος ή με υδρολυτικά ένζυμα κατά τη γαστρεντερική πέψη. Ορισμένα από αυτά εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες ή παρεμποδίζουν τη δημιουργία τους και επηρεάζουν τη λιπιδική υπεροξειδωση [46].

Ο ορός γάλακτος είναι ένα σύμπλεγμα πρωτεϊνών του ζωικού γάλακτος με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, καθώς ενισχύει την αντιοξειδωτική άμυνα, προστατεύει τα μακρομόρια από τις ελεύθερες ρίζες και παρέχει πιθανή προστασία εναντίον πολλών ασθενειών. Τα συστατικά της πρωτεΐνης ορού του αιγοπρόβειου γάλακτος είναι η β-λακτοσφαιρίνη, η α-λακταλβουμίνη, τα γλυκομακροπεπτίδια και η ορολευκωματίνη [47].

### 3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας τριών (3) κατηγοριών τροφίμων. Οι κατηγορίες αυτές είναι το ρύζι, το γιαούρτι και τα ζυμαρικά. Οι κατηγορίες αυτές επιλέχθηκαν καθώς αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της διατροφής μαγέλης μερίδας ανθρώπων ανα το κόσμο. Η αξιολόγηση των τροφίμων πραγματοποιήθηκε μέσω *in vitro* τεχνικών που είναι ικανές για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής και αναγωγικής ικανότητάς τους.

## 4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 4.1 Δείγματα

Τα προϊόντα, των οποίων η αντιοξειδωτική ικανότητα μελετήθηκε, αγοράστηκαν από τοπική υπεραγορά στη Λάρισα τον Ιούλιο του 2020 και κατόπιν μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών και Τοξικολογίας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Συνολικά, ο αριθμός των προϊόντων ήταν 21. Συγκεκριμένα, παραλήφθηκαν 5 είδη ρυζιού, 8 είδη ζυμαρικών και 8 είδη γιαουρτιού.

Κατηγορία Τροφίμου	Τρόφιμο
Ρύζι	Νυχάκι Bonnet Καρολίνα Basmati Μακρυκοκκο (προβρασμένο)
Ζυμαρικά	Βίδες ρεβυθιού Τραχανάς ξινός Χυλοπίτες Κριθαράκι Σπαγγέτι Σπαγγετίνη Σπαγγέτι
Γιαούρτι Πρόβειο	Πλήρες (6,7%) Πλήρες (6,7%) Ημιαποβουτυρωμένο (2%) Πλήρες (6,7%)
Γιαούρτι Αγελάδος	Πλήρες (3,9%) Πλήρες (3,5%)
Γιαούρτι Κατσικίσιο	Πλήρες (4,5%)

	Πλήρες (4,5%)
--	---------------

*Πίνακας 2: Δείγματα τροφίμων που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη.*

#### **4.1.1 Διαχείριση δειγμάτων ρυζιού και ζυμαρικών**

Μετά την παραλαβή τους τα προϊόντα ρυζιού και ζυμαρικών τοποθετήθηκαν σε falcon των 50 ml. Για την παρασκευή των δειγμάτων ρυζιού, ζυγίστηκε μια ποσότητα (περίπου 3g) από το κάθε τρόφιμο στην οποία προστέθηκε απιονισμένο νερό (dH<sub>2</sub>O) σε αναλογία 1:4. Στη συνέχεια, τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν (ομογενοποιητής: IKA ULTRA-TURRAX T18) και τα ομογενοποιημένα φυγοκεντρήθηκαν στις 10.000 στροφές για 15 λεπτά στους 5°C. Με το πέρας της φυγοκέντρησης, συλλέχθηκε το υπερκείμενο, χωρίστηκε σε πλαστικά erpendorf 1.5 ml (aliquots) και αποθηκεύθηκε στους -20 °C για περαιτέρω ανάλυση. Καθόλη τη διάρκεια της διαδικασίας τα δείγματα διατηρήθηκαν σε πάγο.

#### **4.1.2 Διαχείριση δειγμάτων γιαουρτιού**

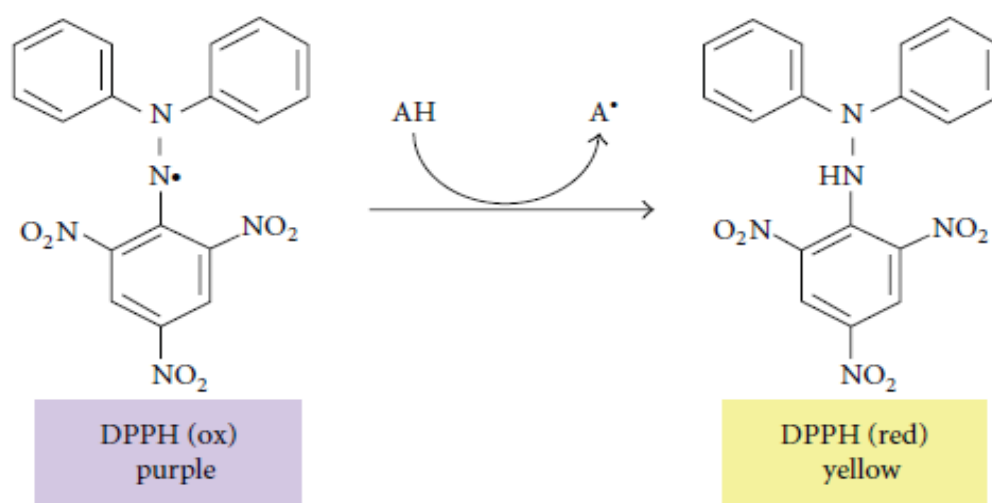
Για την επεξεργασία των δειγμάτων γιαουρτιού ζυγίστηκε μια ποσότητα (περίπου 7g) από κάθε προϊόν γιαουρτιού στο οποίο προστέθηκε απιονισμένο νερό (dH<sub>2</sub>O) σε αναλογία 1:1 και ακολούθησε έντονη ανάδευση ώσπου το δείγμα να γίνει ομοιογενές. Τα δείγματα αφού χωρίστηκαν σε πλαστικά erpendorf 1.5 ml (aliquots) αποθηκεύθηκαν στους -20 °C για περαιτέρω ανάλυση.



## 4.2 Μέθοδοι

### 4.2.1. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης μέσω της ικανότητας των προϊόντων να εξουδετερώνουν τη ρίζα DPPH<sup>•</sup>

Η μέθοδος DPPH χρησιμοποιείται ευρέως για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης διαφόρων ουσιών, καθώς είναι μια εύκολη, οικονομική και γρήγορη μέθοδος. Το 2,2-διφαινυλ-1-πικρυλυδραζύλιο (DPPH) είναι μια σταθερή ελεύθερη ρίζα με ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο, το οποίο μετατοπίζεται σε ολόκληρο το μόριο. Το διάλυμα αυτής της ρίζας έχει μωβ χρώμα και η απορρόφηση προσδιορίζεται φασματοφωτομετρικά στα 517 nm. Η ανάλυση DPPH βασίζεται σε αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων (Single Electron Transfer, SET) και μεταφοράς ατόμων υδρογόνου (Hydrogen Atom Transfer, HAT) [48]. Με την προσθήκη μιας αντιοξειδωτικής ουσίας, η οποία λειτουργεί ως δότης υδρογόνου (ή ηλεκτρονίων), η ρίζα DPPH<sup>•</sup> ανάγεται στην αντίστοιχη υδραζίνη (2,2-διφαινυλ-1-πικρυλυδραζίνη), με αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό του διαλύματος της ρίζας από μωβ σε κίτρινο και την ελάττωση της οπτικής απορρόφησης (εικόνα 10) [49]. Ο βαθμός της μείωσης της απορρόφησης της ρίζας DPPH είναι ανάλογος με τη συγκέντρωση των ελευθέρων ριζών που εξουδετερώνονται [48].



Εικόνα 10: Αρχή της μεθόδου [50]

#### 4.2.1.1. Πειραματικό πρωτόκολλο DPPH

Για την παρασκευή διαλύματος DPPH (stock 2mM) προστέθηκαν 20mg DPPH σε μορφή σκόνης σε 25,4 ml μεθανόλης. Η αντίδραση έχει συνολικό όγκο 1ml. Στο τυφλό δείγμα (blank) προστέθηκε 1ml μεθανόλης. Στους θετικούς μάρτυρες (positive controls) προστέθηκαν 950 μl μεθανόλης και 50 μl της ρίζας DPPH. Στα δείγματα προστέθηκαν πρώτα 50 μl εκχυλίσματος από το κάθε προϊόν, 900 μl μεθανόλης και 50 μl διαλύματος DPPH. Στους αρνητικούς μάρτυρες (negative controls) προστέθηκαν 50 μl εκχυλίσματος και 950 μl μεθανόλης. Ακολούθησε ανάδευση με vortex και οι επώαση για 20' σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι, καθώς η ρίζα DPPH είναι φωτοευαίσθητη. Με τη λήξη της επώασης, το φωτόμετρο μηδενίστηκε με το τυφλό δείγμα και πραγματοποιήθηκε φωτομέτρηση στα 517 nm. Μετρήθηκε επίσης η απορρόφηση κάθε εκχυλίσματος σε όλες τις συγκεντρώσεις, ώστε να διαπιστωθεί αν το εκχύλισμα απορροφά στα 517 nm. Κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν και έγιναν τουλάχιστον 2 επαναλήψεις. Η % αναστολή σχηματισμού (δηλαδή η εξουδετέρωση) της ρίζας DPPH υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\% \text{ αναστολή} = (A_0 - A_8) / A_0 \times 100$$

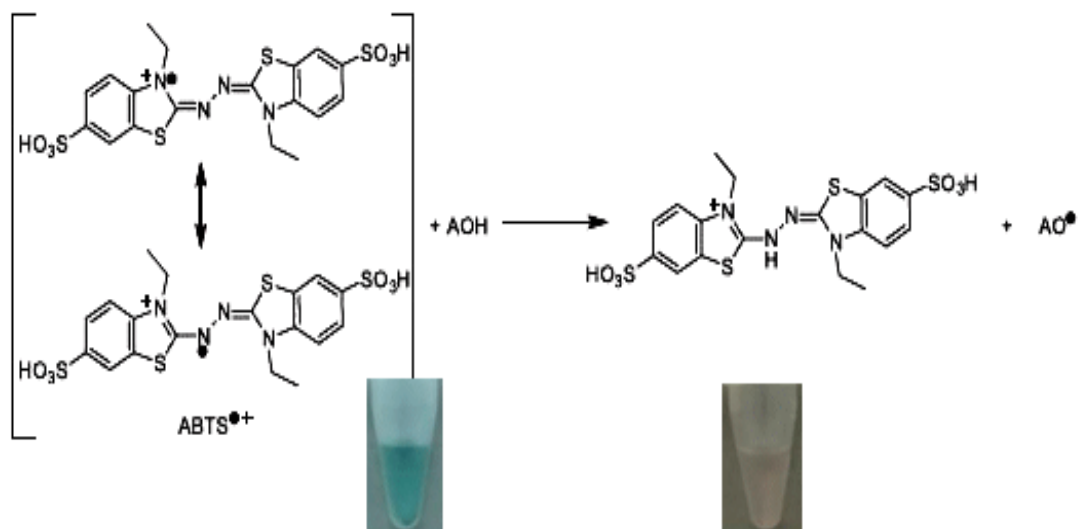
$A_0$ : η οπτική απορρόφηση του θετικού μάρτυρα στα 517nm

$A_8$ : η οπτική απορρόφηση του δείγματος στα 517nm

Επίσης, προσδιορίστηκε η τιμή  $IC_{50}$  (Inhibitory Concentration), η οποία ορίζεται ως η συγκέντρωση του δείγματος, η οποία έχει την ικανότητα να αναστείλει το 50% της ρίζας DPPH. Χαμηλότερη τιμή  $IC_{50}$  αντιστοιχεί σε μεγαλύτερη ικανότητα αναστολής της ρίζας, αρά σε μεγαλύτερη δραστικότητα της εξεταζόμενης ουσίας.

#### 4.2.2. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης μέσω της ικανότητας των προϊόντων να εξουδετερώνουν τη ρίζα ABTS<sup>•+</sup>

Η δημιουργία του κατιόντος της ρίζας ABTS<sup>•+</sup> [2,2'-azinobis- (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] αποτελεί τη βάση μιας από τις φασματοφωτομετρικές μεθόδους που έχουν εφαρμοστεί για τη μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής δράσης διαλυμάτων καθαρών ουσιών, υδατικών μειγμάτων και ποτών και τη μελέτη τόσο υδατοδιαλυτών όσο και λιποδιαλυτών αντιοξειδωτικών ουσιών. Βασική προϋπόθεση αυτής της μεθόδου αποτελεί η δημιουργία της ρίζας απευθείας σε σταθερή μορφή πριν από την αντίδραση με πιθανά αντιοξειδωτικά [51]. Η ρίζα του ABTS<sup>•+</sup> παράγεται από την οξείδωση του 2,2'-Azino-bis-(3-ethyl-benzthiazoline-sulphonic acid) (ABTS) μέσω δράσης μιας περοξειδάσης (Horseradish Peroxidase, HRP) παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Μετά το σχηματισμό της ρίζας, προστίθεται η προς εξέταση ουσία και ακολουθεί η επώαση της ρίζας με την ουσία. Η ρίζα του ABTS<sup>•+</sup> είναι μια ουσία η οποία φέρει πράσινο χρώμα και απορροφά στα 730 nm. Όταν στο διάλυμα προστεθεί μια ουσία με αντιοξειδωτική δράση τότε η ρίζα του ABTS<sup>•+</sup> ανάγεται με την προσθήκη ενός ατόμου υδρογόνου (ή ενός ηλεκτρονίου), με αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό του διαλύματος της ρίζας και την ελάττωση της οπτικής απορρόφησης στα 730 nm (εικόνα ) [52].



Εικόνα 11: Δημιουργία της ρίζας ABTS

#### 4.2.2.1. Πειραματικό πρωτόκολλο ABTS<sup>•+</sup>

Για την παρασκευή 10 mL διαλύματος ABTS τελικής συγκέντρωσης 1 mM ζυγίζονται 10.97 mg σκόνης ABTS, το οποίο στη συνέχεια διαλύεται σε 10 mL απιονισμένου νερού (dH<sub>2</sub>O). Το διάλυμα της ρίζας ABTS<sup>•+</sup> προετοιμάστηκε την ημέρα του πειράματος και διατηρήθηκε στον πάγο.

Για την παρασκευή διαλύματος H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> τελικής συγκέντρωσης 30 μM σε τελικό όγκο αντίδρασης 1 mL (50 μL) φτιάχνουμε διάλυμα συγκέντρωσης 600 μM. Από το διάλυμα stock H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% 8.8 M, έγινε αραιώση 1/100, όπου 10 μl διαλύματος προστέθηκαν σε 990 μl dH<sub>2</sub>O (αραιώση 1/100). Ακολούθησε ανάδευση με vortex και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε μια δεύτερη αραιώση, όπου 68 μl από την πρώτη, αραιώθηκαν σε 9860 μl dH<sub>2</sub>O (αραιώση 1/146).

Για την παρασκευή 10 ml διαλύματος του ενζύμου περοξειδάση (HRP) τελικής συγκέντρωσης 5 μg/ml σε τελικό όγκο αντίδρασης 1 ml (50 μl) πραγματοποιήθηκε αραιώση 1/20.

Η πειραματική διαδικασία είχε ως εξής: στο τυφλό δείγμα (blank) και στους αρνητικούς μάρτυρες (negative controls) προστέθηκαν 450 μl H<sub>2</sub>O, 500 μl ABTS και 50 μl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Στους θετικούς μάρτυρες (positive controls) και στα δείγματα προστέθηκαν 400 μl H<sub>2</sub>O, 500 μl ABTS, 50 μl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και 50 μl HRP. Ο τελικός όγκος της αντίδρασης είναι

1ml. Ακολούθησε ανάδευση με vortex και οι αντιδράσεις επώαστηκαν για 45' σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι, καθώς η ρίζα ABTS<sup>·+</sup> είναι φωτοευαίσθητη. Με τη λήξη της επώασης, προστέθηκε το εξεταζόμενο εκχύλισμα σε διάφορες συγκεντρώσεις και πραγματοποιήθηκε φωτομέτρηση στα 730 nm.. Κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν και έγιναν τουλάχιστον 2 επαναλήψεις. Η % αναστολή σχηματισμού (δηλαδή η εξουδετέρωση) της ρίζας ABTS<sup>·+</sup> υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\% \text{ αναστολή} = (A_0 - A_8) / A_0 \times 100$$

A<sub>0</sub>: η οπτική απορρόφηση του θετικού μάρτυρα στα 730 nm

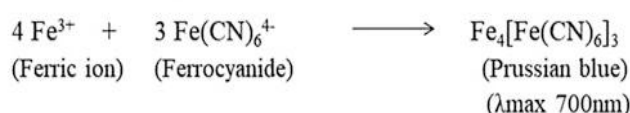
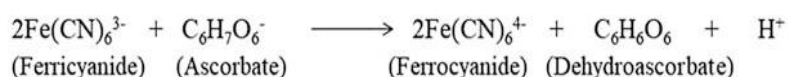
A<sub>8</sub>: η οπτική απορρόφηση του δείγματος (εκχυλίσματος προϊόντος) στα 730 nm.

Επίσης, προσδιορίστηκε η τιμή IC<sub>50</sub> (Inhibitory Concentration), η οποία ορίζεται ως η συγκέντρωση του δείγματος, η οποία έχει την ικανότητα να αναστείλει το 50% της ρίζας ABTS<sup>·+</sup>. Μια χαμηλότερη τιμή IC<sub>50</sub> αντιστοιχεί σε μεγαλύτερη δραστηριότητα της εξεταζόμενης ουσίας.

### 4.2.3. Εκτίμηση της αναγωγικής ικανότητας μέσω της μεθόδου Reducing Power

Η αξιολόγηση της αναγωγικής ικανότητας μιας ένωσης παρακολουθείται μέσω της ανάλυσης αναγωγικής ισχύος (Reducing Power assay), η οποία εξετάζει την ικανότητα της ένωσης αυτής να ανάγει τα ιόντα τρισθενούς σιδήρου (Fe<sup>3+</sup>) σε ιόντα δισθενούς σιδήρου (Fe<sup>2+</sup>), κάτι το οποίο υποδεικνύει ότι είναι ένας ισχυρός δότης ηλεκτρονίων και, ως εκ τούτου, ένας αναγωγικός παράγοντας ικανός να προστατεύει τα κύτταρα από διαταραχές της οξειδοαναγωγικής κατάστασης [53]. Μια ένωση, η οποία διαθέτει τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά, έχει την ικανότητα να ανάγει τα οξειδωμένα ενδιάμεσα παράγωγα των διεργασιών της λιπιδικής υπεροξειδωσης, δρώντας με αυτόν τον τρόπο ως πρωτογενές και δευτερογενές αντιοξειδωτικό [54]. Η βασική αρχή στην οποία βασίζεται ο προσδιορισμός της αναγωγικής ισχύος είναι ότι ουσίες με αναγωγικό δυναμικό αντιδρούν με το σιδηροκυανιούχο κάλιο (potassium ferricyanide), το οποίο δίνει ιόντα τρισθενούς σιδήρου (Fe<sup>3+</sup>) για να σχηματίσουν την ένωση potassium ferrocyanide, η οποία διαθέτει δισθενή σίδηρο (Fe<sup>2+</sup>) και στη συνέχεια αντιδρά με χλωριούχο σίδηρο (ferric chloride) για να σχηματίσει σύμπλοκα σιδηρούχου σιδήρου, τα

οποία απορροφούν στα 700 nm. μετατροπή του κίτρινου χρώματος του μίγματος της αντίδρασης σε γαλαζοπράσινο κατά τη διάρκεια της ανάλυσης σημαίνει μείωση της δράσης της ένωσης και η ένταση του παραγόμενου χρώματος εξαρτάται περαιτέρω από την ικανότητα αναγωγής της δοκιμαστικής ένωσης (εικόνα 12). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ευρέως για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας φυσικών τροφίμων, λαχανικών και εκχυλισμάτων φυτών, τα οποία παρουσιάζουν σημαντική αναγωγική ισχύ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, με ένα δόσοεξαρτώμενο τρόπο [55].



*Εικόνα 12: Αναγωγή των ιόντων τρισθενούς σιδήρου σε δισθενή από το ασκορβικό οξύ*

#### 4.2.3.1. Πειραματικό πρωτόκολλο μεθόδου προσδιορισμού αναγωγικής ικανότητας

Για την παρασκευή phosphate buffer pH 6.6 τελικής συγκέντρωσης 0.2 M προετοιμάστηκαν τα διαλύματα monobasic stock 0.2 M και dibasic stock 0.2M. Για το διάλυμα monobasic stock 0.2 M διαλύθηκαν 13.90g sodium phosphate monobasic (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) σε 500 ml απιονισμένου νερού. Για το διάλυμα dibasic stock 0.2M διαλύθηκαν 26,825 g sodium phosphate dibasic heptahydrate σε 500 ml απιονισμένου νερού. Στη συνέχεια προστέθηκαν 62,50 ml monobasic stock 0.2M και 37.50 ml dibasic stock 0.2M σε 200 ml απιονισμένου νερού. Το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε στα 6.6.

Για την παρασκευή 10 mL διαλύματος potassium ferricyanide περιεκτικότητας 1% w/v ζυγίζονται 0,1 g potassium ferricyanide σε μορφή σκόνης, το οποίο στη συνέχεια διαλύεται σε 10 mL dH<sub>2</sub>O.

Για την παρασκευή 10 mL διαλύματος ferric chloride περιεκτικότητας 0.1% w/v ζυγίζονται 0,01 g ferric chloride και διαλύονται σε 10 ml dH<sub>2</sub>O.

Για την παρασκευή του διαλύματος trichloroacetic acid (TCA) περιεκτικότητας 10 % w/v διαλύθηκαν 10 g της σκόνης σε 100 ml απιονισμένου νερού.

Ο συνολικός όγκος της αντίδρασης είναι 1 ml. Στο τυφλό δείγμα (blank) προστέθηκαν 500 μl phosphate buffer. Στους θετικούς μάρτυρες (positive controls) προστέθηκαν 250 μl phosphate buffer και 250 μl διαλύματος potassium ferricyanide. Στα δείγματα προστέθηκαν 50 μl δείγματος, 200 μl phosphate buffer και 250 μl potassium ferricyanide. Στους αρνητικούς μάρτυρες (negative controls) προστέθηκαν 50 μl δείγματος και 450 μl potassium ferricyanide. Ακολούθησε ανάδευση και επώαση στους 50 °C για 20'. Με τη λήξη της επώασης, προστέθηκαν 250 μl διαλύματος TCA 10%. Έπειτα, πραγματοποιήθηκε φυγοκέντριση στις 3000 στροφές για 10'. Με το πέρας της φυγοκέντρισης, συλλέχθηκαν 700 μl υπερκείμενου και μεταφέρθηκαν σε νέα eppendorf όπου προστέθηκαν 250 μl απιονισμένου νερού και 50 μl διαλύματος ferric chloride. Ακολούθησε ανάδευση και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι για 10'. Τέλος, έγινε φωτομέτρηση στα 700 nm. Κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν και έγιναν τουλάχιστον 2 επαναλήψεις.

Για την αξιολόγηση της αναγωγικής ισχύος των εξεταζόμενων εκχυλισμάτων προσδιορίστηκε το AU<sub>0,5</sub>, η συγκέντρωση δηλαδή που η τιμή της απορρόφησης είναι 0,5 στα 700 nm.

## 5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

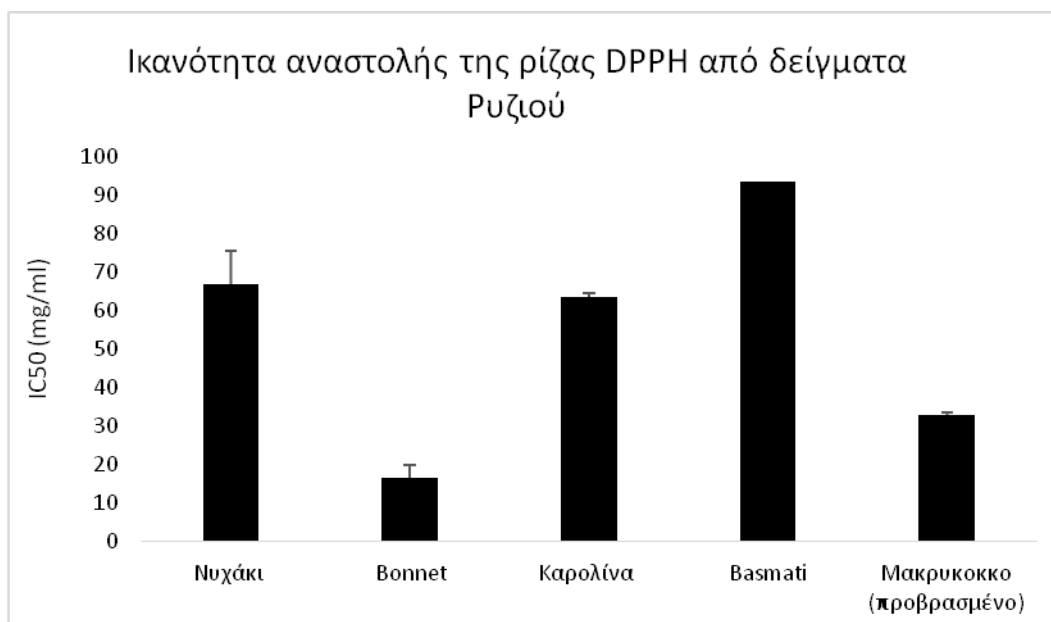
### 5.1. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας διαφόρων ειδών ρυζιού, ζυμαρικών και γιαουρτιού μέσω της μεθόδου DPPH

Η αντιοξειδωτική δράση των διαφόρων ειδών ρυζιού, ζυμαρικών και γιαουρτιού έγινε μέσω της ικανότητάς τους να εξουδετερώνουν τη ρίζα DPPH<sup>•</sup>. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε IC<sub>50</sub>, η οποία είναι η συγκέντρωση του εξεταζόμενου δείγματος που μπορεί να αναστείλει τη ρίζα DPPH<sup>•</sup> κατά 50%. Οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων των τριών κατηγοριών τροφίμων εκφράστηκαν σε mg/ml. Όσο μικρότερη είναι η τιμή IC<sub>50</sub>, τόσο υψηλότερη είναι η αντιοξειδωτική δράση της εξεταζόμενης ουσίας. Τα αποτελέσματα αφορούν 5 δείγματα ρυζιού, 7 δείγματα ζυμαρικών και 8 δείγματα γιαουρτιού. Για τη μέθοδο DPPH χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω αραιώσεις:

i) 37.5, 25, 12.5, 6.25, 3.125 και 1.56 mg/ml για τα προϊόντα ρυζιού και ζυμαρικών

ii) 75, 50, 25, 12.5 mg/ml για τα προϊόντα γιαουρτιού.

Τα αποτελέσματα για τα δείγματα ρυζιού απεικονίζονται στο παρακάτω ραβδόγραμμα:

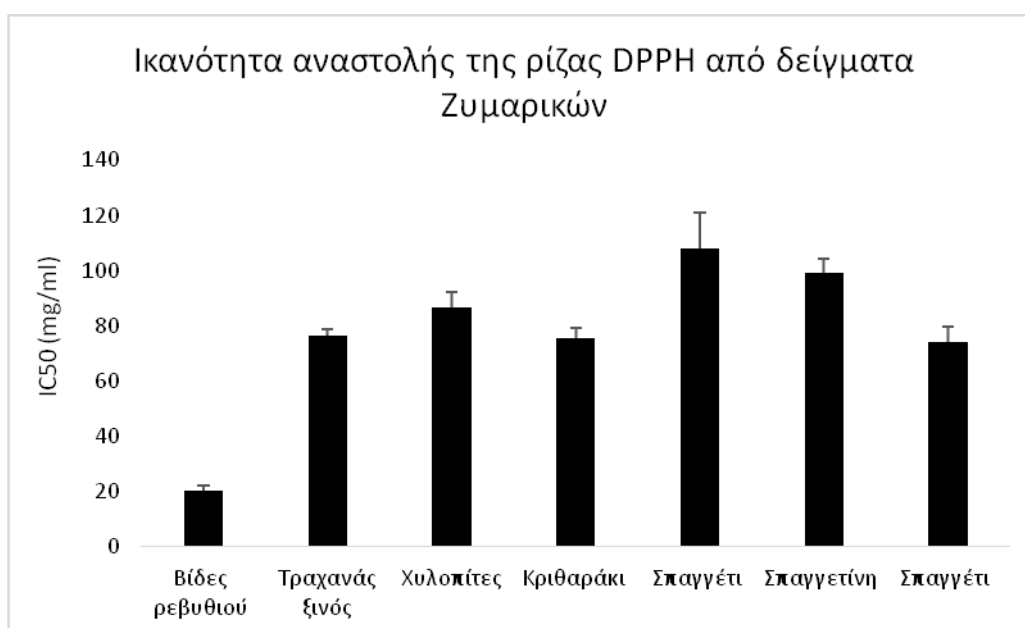


*Ραβδόγραμμα 1: Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων ρυζιού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH<sup>•</sup>. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC<sub>50</sub> ±SD. Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.*



Στο ραβδόγραμμα 1 απεικονίζονται οι τιμές  $IC_{50}$ , οι οποίες αντιστοιχούν στην ικανότητα αναστολής της ρίζας DPPH\* από 5 δείγματα ρυζιού. Παρατηρείται ότι το ρύζι bonnet παρουσιάζει τη χαμηλότερη τιμή  $IC_{50}$  συνεπώς το ρύζι bonnet έχει την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Το ρύζι Basmati εμφανίζει την υψηλότερη τιμή  $IC_{50}$  σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη ρυζιού, με αποτέλεσμα να διαθέτει τη μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

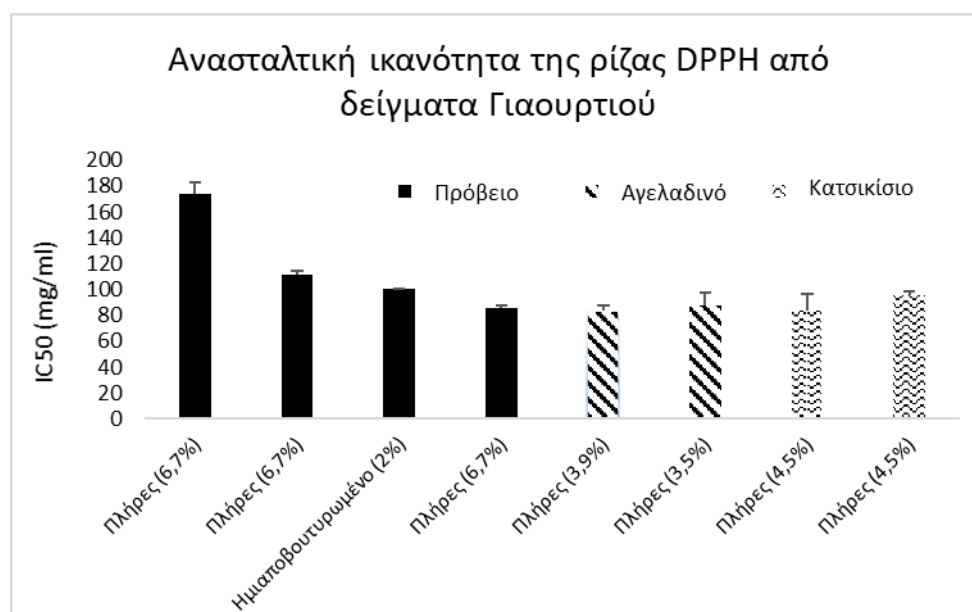
Τα αποτελέσματα για τα δείγματα ζυμαρικών απεικονίζονται στο ραβδόγραμμα 2 στο οποίο οι τιμές  $IC_{50}$  αντιστοιχούν στην ικανότητα αναστολής της ρίζας DPPH\* από τα 7 δείγματα ζυμαρικών.



**Ραβδόγραμμα 2:** Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων ζυμαρικών μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH\*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.

Τα δείγματα αυτά αντιστοιχούν σε 7 είδη ζυμαρικών. Παρατηρείται ότι οι βίδες ρεβυθιού παρουσιάζουν τη μικρότερη τιμή  $IC_{50}$ , δηλαδή την ισχυρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σύγκριση με όλα τα δείγματα ζυμαρικών. Αντίθετα, το ένα είδος σπαγγέτι παρουσιάζει την υψηλότερη τιμή  $IC_{50}$  και αποτελεί το λιγότερο ικανό δείγμα να εξουδετερώσει τη ρίζα DPPH\*.

Τα αποτελέσματα για τα δείγματα γιαουρτιού απεικονίζονται στο ραβδόγραμμα 3 στο οποίο τιμές  $IC_{50}$  αντιστοιχούν στην ικανότητα αναστολής της ρίζας DPPH\* από τα 8 δείγματα γιαουρτιού.



**Ραβδόγραμμα 3:** Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων γιαουρτιού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH\*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.

Τα δείγματα αυτά αντιστοιχούν σε 8 είδη γιαουρτιού, εκ των οποίων τα 4 πρώτα έχουν παρασκευαστεί από πρόβειο γάλα, τα 2 έχουν παρασκευαστεί από αγελαδινό και τα υπόλοιπα 2 από κατσικίσιο. Οι μαύρες ράβδοι που απεικονίζονται στο ραβδόγραμμα αντιστοιχούν στα δείγματα γιαουρτιού από πρόβειο γάλα, οι ασπρόμαυρες ράβδοι με έντονες γραμμές στα δείγματα γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα και οι ασπρόμαυρες ράβδοι με λεπτές γραμμές στα δείγματα γιαουρτιού από κατσικίσιο γάλα. Σε αυτό το ραβδόγραμμα, είναι εμφανές ότι το πρώτο πλήρες πρόβειο γιαούρτι 6,7% παρουσιάζει την υψηλότερη τιμή  $IC_{50}$ , άρα διαθέτει τη μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σύγκριση με όλα τα είδη γιαουρτιού. Το πρώτο πλήρες κατσικίσιο γιαούρτι παρουσιάζει τη χαμηλότερη τιμή  $IC_{50}$ , δηλαδή την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

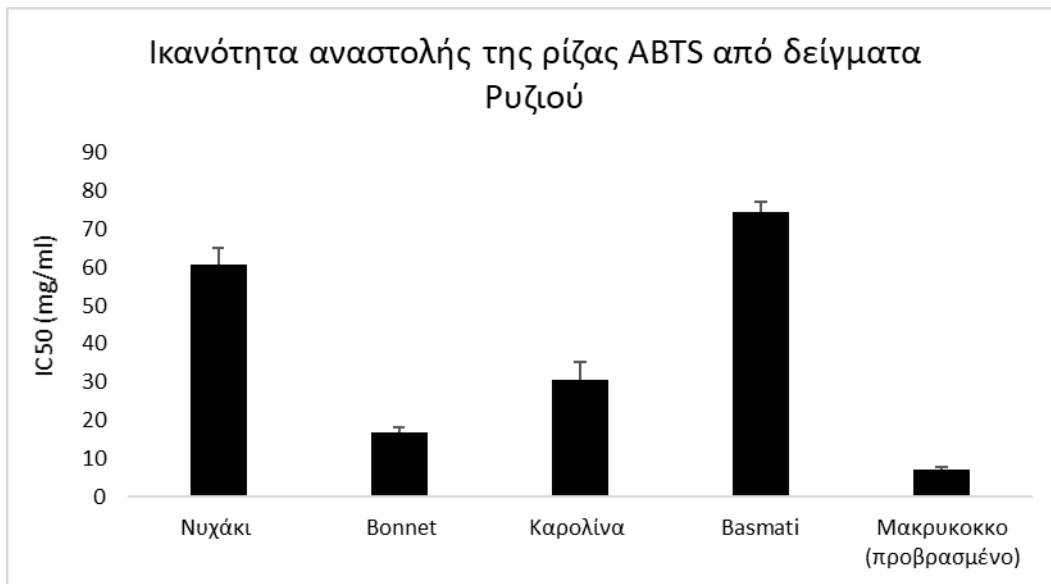
## 5.2. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας διαφόρων ειδών ρυζιού, ζυμαρικών και γιαουρτιού μέσω της μεθόδου ABTS

Η αντιοξειδωτική δράση των διαφόρων ειδών ρυζιού, ζυμαρικών και γιαουρτιού εκτιμήθηκε μέσω της ικανότητάς τους να εξουδετερώνουν τη ρίζα ABTS<sup>•+</sup>. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε IC<sub>50</sub>, η οποία είναι η συγκέντρωση της εξεταζόμενης ουσίας που μπορεί να αναστείλει τη ρίζα ABTS<sup>•+</sup> κατά 50%. Οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων των τριών κατηγοριών τροφίμων εκφράστηκαν σε mg/ml. Όσο μικρότερη είναι η τιμή IC<sub>50</sub>, τόσο υψηλότερη είναι η αντιοξειδωτική δράση του εξεταζόμενου δείγματος. Τα αποτελέσματα αφορούν 5 δείγματα ρυζιού, 7 δείγματα ζυμαρικών και 8 δείγματα γιαουρτιού.

Για τη μέθοδο ABTS χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω αραιώσεις, όσον αφορά τις τρεις κατηγορίες τροφίμων:

- i) 37.5, 25, 12.5, 6.25, 3.125 και 1.56 mg/ml για τα προϊόντα ρυζιού
- ii) 37.5, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56 και 0.78 mg/ml για τα προϊόντα ζυμαρικών
- iii) 12.5, 6.25, 3.125 και 1.56 mg/ml για τα προϊόντα γιαουρτιού

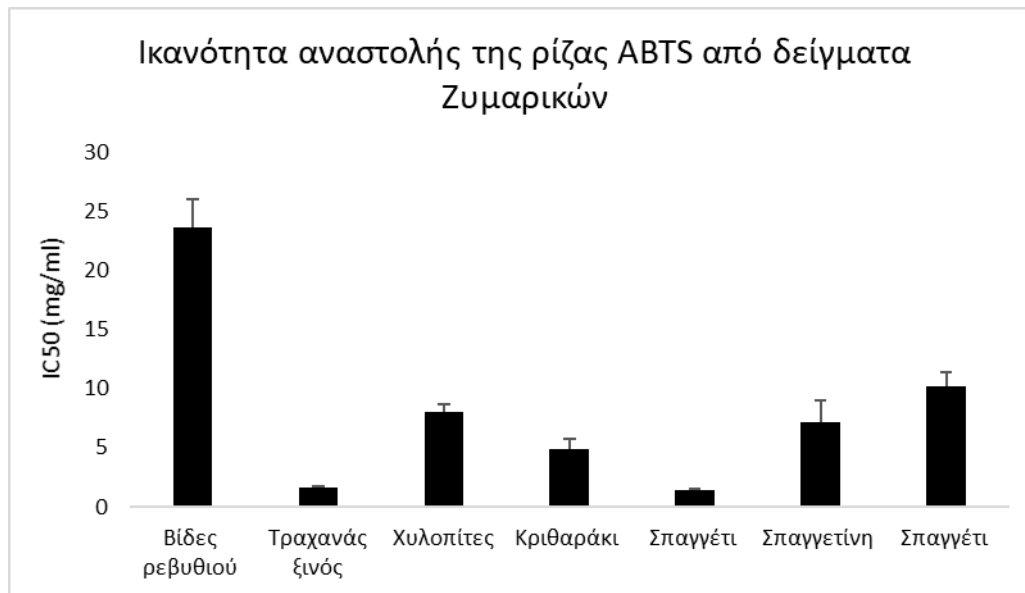
Τα αποτελέσματα για τα δείγματα ρυζιού απεικονίζονται στο ραβδόγραμμα 4 στο οποίο οι τιμές IC<sub>50</sub> αντιστοιχούν στην ικανότητα αναστολής της ρίζας ABTS<sup>•+</sup> των 5 δειγμάτων ρυζιού.



**Ραβδόγραμμα 4:** Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων ρυζιού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS<sup>•+</sup>. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC<sub>50</sub>±SD. Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.

Τα δείγματα αυτά αντιστοιχούν σε 5 διαφορετικές ποικιλίες ρυζιού. Παρατηρείται ότι το μακρύκοκκο προβρασμένο ρύζι εμφανίζει τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Το ρύζι Basmati εμφανίζει την υψηλότερη τιμή IC<sub>50</sub> σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη ρυζιού, με αποτέλεσμα να διαθέτει τη μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

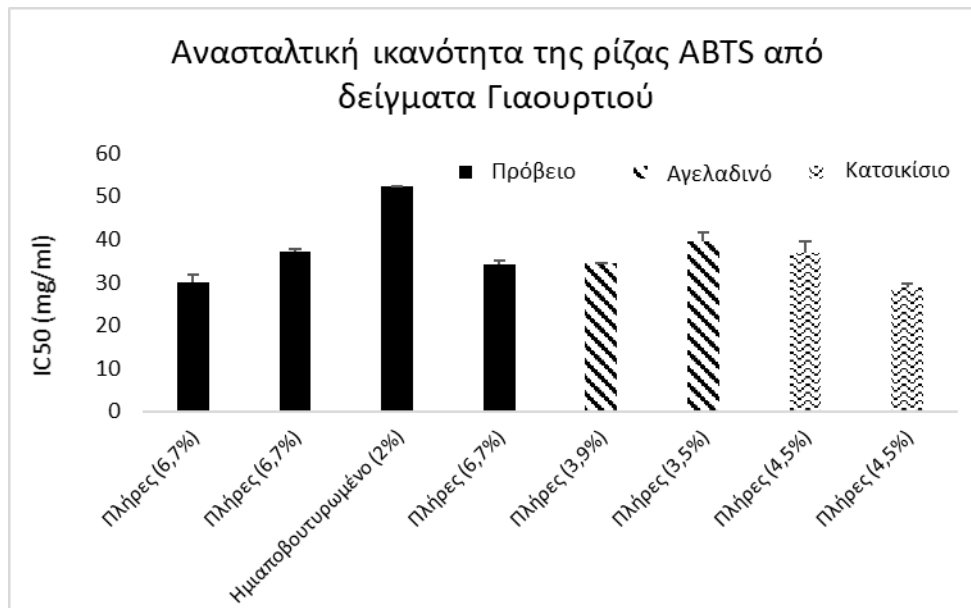
Τα αποτελέσματα για τα δείγματα ζυμαρικών απεικονίζονται στο ραβδόγραμμα 5 στο οποίο οι τιμές IC<sub>50</sub> αντιστοιχούν στην ικανότητα αναστολής της ρίζας ABTS<sup>•+</sup> από 7 δείγματα ζυμαρικών.



***Ραβδόγραμμα 5:** Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων ζυμαρικών μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS<sup>•+</sup>. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC<sub>50</sub>±SD. Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν*

Τα δείγματα αυτά αντιστοιχούν σε 7 διαφορετικές ποικιλίες ζυμαρικών. Παρατηρείται ότι το ένα είδος σπαγγέτι διαθέτει την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σύγκριση με όλα τα είδη ζυμαρικών που μετρήθηκαν. Βάσει της τιμής IC<sub>50</sub> που παρουσιάζουν οι βίδες ρεβυθιού, διαπιστώνεται ότι είναι το είδος ζυμαρικών με τη μικρότερη ικανότητα αναστολής της ρίζας ABTS<sup>•+</sup>.

Τα αποτελέσματα για τα δείγματα γιαουρτιού απεικονίζονται στο ραβδόγραμμα 6 στο οποίο οι τιμές IC<sub>50</sub> αντιστοιχούν στην ικανότητα αναστολής της ρίζας ABTS<sup>•+</sup> από 8 δείγματα γιαουρτιού.



**Ραβδόγραμμα 6:** Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων γιαουρτιού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS<sup>•+</sup>. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC<sub>50</sub>±SD. Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.

Τα δείγματα αυτά αντιστοιχούν σε 8 είδη γιαουρτιού, εκ των οποίων τα 4 πρώτα έχουν παρασκευαστεί από πρόβειο γάλα, τα 2 έχουν παρασκευαστεί από αγελαδινό και τα υπόλοιπα 2 από κατσικίσιο. Οι μαύρες ράβδοι που απεικονίζονται στο ραβδόγραμμα αντιστοιχούν στα δείγματα γιαουρτιού από πρόβειο γάλα, οι ασπρόμαυρες ράβδοι με έντονες γραμμές στα δείγματα γιαουρτιού από αγελαδινό γάλα και οι ασπρόμαυρες ράβδοι με λεπτές γραμμές στα δείγματα γιαουρτιού από κατσικίσιο γάλα. Σε αυτό το ραβδόγραμμα, είναι εμφανές ότι το ημιαποβουτυρωμένο πρόβειο γιαούρτι 2% διαθέτει τη μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σύγκριση με όλα τα είδη γιαουρτιού, καθώς παρουσιάζει την υψηλότερη τιμή IC<sub>50</sub>. Το δεύτερο κατσικίσιο γιαούρτι εμφανίζει την υψηλότερη ικανότητα εξουδετέρωσης της ρίζας ABTS<sup>•+</sup> σε σχέση με όλα τα είδη γιαουρτιού αφού διαθέτει την υψηλότερη τιμή IC<sub>50</sub>.

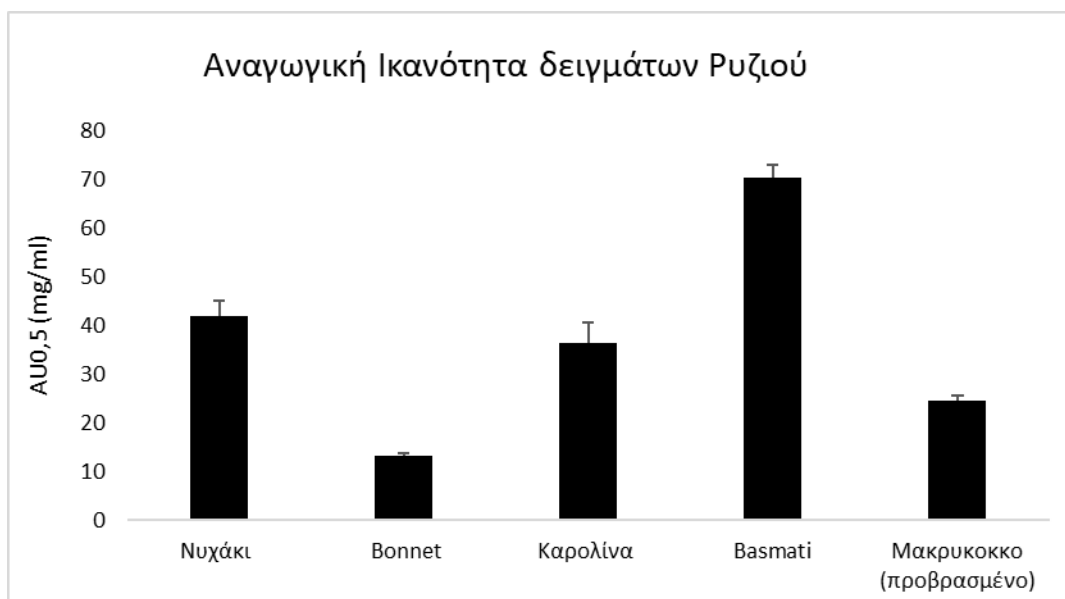
### 5.3. Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας διαφόρων ειδών ρυζιού, ζυμαρικών και γιαουρτιού μέσω της μεθόδου προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος (reducing power assay)

Μέσω της ανάλυσης αναγωγικής ισχύος εξετάστηκε η ικανότητα των δειγμάτων ρυζιού, ζυμαρικών και γιαουρτιού να ανάγουν τα ιόντα τρισθενούς σιδήρου ( $\text{Fe}^{3+}$ ) σε ιόντα δισθενούς σιδήρου ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε  $\text{AU}_{0,5}$ , το οποίο αποτελεί τη συγκέντρωση που είναι ικανή να έχει απορρόφηση ίση με 0,5 στα 700 nm. Οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων των τριών κατηγοριών τροφίμων εκφράστηκαν σε mg/ml. Όσο χαμηλότερη είναι η τιμή  $\text{AU}_{0,5}$  τόσο δραστικότερο είναι το δείγμα. Τα αποτελέσματα αφορούν 5 δείγματα ρυζιού, 7 δείγματα ζυμαρικών και 8 δείγματα γιαουρτιού.

Για τη μέθοδο προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω αραιώσεις, όσον αφορά τις τρεις κατηγορίες τροφίμων:

- i) 12.5, 6.25, 3.125 και 1.56 mg/ml για τα προϊόντα ρυζιού
- ii) 12.5, 6.25, 3.125, 1.56 και 0.78 mg/ml για τα προϊόντα ζυμαρικών
- iii) 75, 50, 25 και 12.5 mg/ml για τα προϊόντα γιαουρτιού

Τα αποτελέσματα για τα δείγματα ρυζιού απεικονίζονται στο ραβδόγραμμα 7 στο οποίο οι τιμές  $\text{AU}_{0,5}$  αντιστοιχούν στην αναγωγική ικανότητα των 5 δειγμάτων ρυζιού.



**Ραβδόγραμμα 7:** Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων ρυζιού μέσω της μεθόδου προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος (*reducing power assay*). Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $AU_{0,5} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.

Τα δείγματα αυτά αντιστοιχούν σε 5 διαφορετικές ποικιλίες ρυζιού. Παρατηρείται ότι το ρύζι bonnet παρουσιάζει τη χαμηλότερη τιμή  $AU_{0,5}$  και κατά συνέπεια την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σύγκριση με όλα τα είδη ρυζιού. Το ρύζι Basmati διαθέτει τη χαμηλότερη αναγωγική ικανότητα, καθώς απαιτείται πολύ μεγάλη συγκέντρωση του δείγματος, προκειμένου να αναχθεί ο τρισθενής σίδηρος σε δισθενή.

Τα αποτελέσματα για τα δείγματα ζυμαρικών απεικονίζονται στο ραβδόγραμμα 8 στο οποίο οι τιμές  $AU_{0,5}$  αντιστοιχούν στην αναγωγική ικανότητα των 7 δειγμάτων ζυμαρικών.

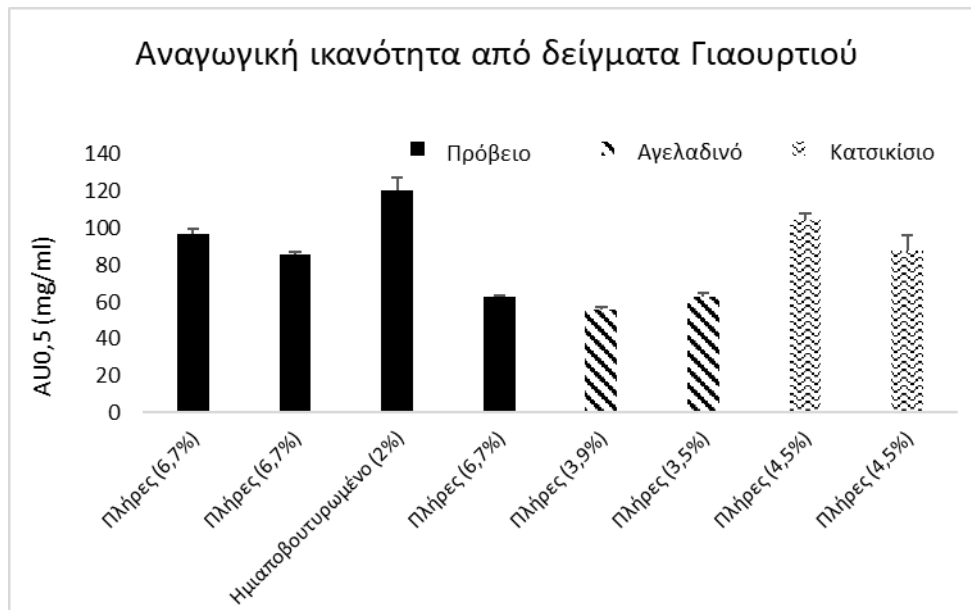




**Ραβδόγραμμα 8:** Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων ζυμαρικών μέσω της μεθόδου προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος (*reducing power assay*). Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $AU_{0,5} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.

Τα δείγματα αυτά αντιστοιχούν σε 7 διαφορετικές ποικιλίες ζυμαρικών. Σε αυτό το διάγραμμα είναι εμφανές ότι οι βίδες ρεβυθιού αποτελούν το είδος ζυμαρικών με την υψηλότερη αναγωγική ικανότητα. Τα λιγότερο δραστικά είδη ζυμαρικών αποτελούν το σπαγγετίνι και η δεύτερη ποικιλία σπαγγέτι, καθώς απαιτούνται πολύ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις των αντίστοιχων δειγμάτων για την αναγωγή των ιόντων δισθενούς σιδήρου σε τρισθενή.

Τα αποτελέσματα για τα δείγματα γιαουρτιού απεικονίζονται στο ραβδόγραμμα 9 στο οποίο οι τιμές  $AU_{0,5}$  αντιστοιχούν στην αναγωγική ικανότητα των 8 δειγμάτων γιαουρτιού.



**Ραβδόγραμμα 9:** Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων γιαουρτιού μέσω της μεθόδου προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος (*reducing power assay*). Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $RP_{0.5} AU_{0,5} \pm SD$ . Το κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τριπλούν.

Τα δείγματα αυτά αντιστοιχούν σε 8 διαφορετικές ποικιλίες γιαουρτιού. Διαπιστώνεται ότι το πλήρες αγελαδινό γιαούρτι με περιεκτικότητα σε λιπαρά 3,9% αποτελεί τον ικανότερο τύπο γιαουρτιού για την αναγωγή των ιόντων δισθενούς σιδήρου σε τρισθενή. Το λιγότερο δραστικό είδος γιαουρτιού, βάσει των τιμών  $AU_{0,5}$  είναι το ημιαποβουτυρωμένο πρόβειο γιαούρτι 2%.

## 6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Κατηγορία Τροφίμου	Τρόφιμο	DPPH (IC50 mg/ml)	ABTS (IC50 mg/ml)	Reducing Power (AU0.5 mg/ml)
Ρύζι	Νυχάκι	66,98±8,56	60,74±4,33	0,43±0,005
	Bonnet	16,58±13,32	16,84±1,31	0,004±0,001
	Καρολίνα	63,51±1,13	30,62±4,72	0,12±0,021
	Basmati	93,55±0,004	74,49±2,64	1,59±0,166
	Μακρόκοκκο (προβρασμένο)	33±0,57	7,19±0,67	0,81±0,398
Ζυμαρικό	Βίδες Ρεβυθιού	20,44±2,36	23,66±2,36	12,67±0,78
	Τραχανάς Ξινός	76,17±2,52	1,66±0,05	17,33±1,52
	Χυλοπίτες	86,37±5,67	8±0,7	27,69±0,27
	Κριθαράκι	75,39±3,74	4,93±0,77	20,08±0,79
	Σπαγγέτι	107,89±12,81	1,43±0,08	30,32±2,36
	Σπαγγετίνη	99,08±4,96	7,15±1,83	37,51±2,5
	Σπαγγέτι	79,92±5,75	10,18±1,22	39,37±4,62
Γιαούρτι Πρόβειο	Πλήρες 6,7%	173,65±9,02	30,02±1,73	97,11±2,47
	Πλήρες 6,7%	111,45±12,95	37,07±0,78	85,34±1,48
	Ημιαποβουτυρω-μένο (2%)	100,81±0,02	52,22±0,2	120,18±6,82
	Πλήρες (6,7%)	85,99±1,21	34,1±0,88	62,63±1,02
Γιαούρτι Αγελάδος	Πλήρες (3,9%)	84,05±3,27	34,56±0,02	55,6±1,66
	Πλήρες (3,5%)	87,96±9,52	39,61±1,99	62,49±2,28
Γιαούρτι Κατσικίσιο	Πλήρες (4,5%)	83,34±12,8	36,77±2,7	104,64±3,16
	Πλήρες (4,5%)	95,52±2,63	28,73±0,79	87,43±8,96

Πίνακας 3: Συνολικός πίνακας αποτελεσμάτων.

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία μελετήθηκαν τρεις κατηγορίες τροφίμων· ρύζι, ζυμαρικά και γιαούρτι με την κάθε κατηγορία να αποτελείται από πέντε, οκτώ και οκτώ προϊόντα αντίστοιχα. Ο σκοπός διεξαγωγής της συγκεκριμένης μελέτης ήταν η ανίχνευση πιθανής αντιοξειδωτικής δράσης των παραπάνω προϊόντων. Με τον όρο αντιοξειδωτική ικανότητα εννοούμε την ικανότητα των αντιοξειδωτικών ενώσεων να αναστείλουν τις ελεύθερες ρίζες [56].

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν είναι τρεις για κάθε κατηγορία και είδος τρόφιμου. Πιο συγκεκριμένα, οι χρωματομετρικές μέθοδοι DPPH και ABTS επιλέχθηκαν γιατί συγκαταλέγονται στις πιο δημοφιλείς και ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους εκτίμησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας διαφόρων προϊόντων, λόγω της ευκολίας, της ταχύτητας και της ευαισθησίας. Σε αυτές τις μεθόδους, η αντιοξειδωτική δράση ενός εξεταζόμενου δείγματος προσδιορίζεται βάσει των αλλαγών των τιμών απορρόφησης των ριζών DPPH<sup>•</sup> και ABTS<sup>•+</sup> [56]. Επίσης, και στις δύο μεθόδους, η αντιοξειδωτική ικανότητα του εξεταζόμενου δείγματος προσδιορίζεται μέσω της παραμέτρου IC<sub>50</sub>, η οποία είναι η συγκέντρωση του δείγματος που είναι ικανή να αναστείλει το 50% της ρίζας. Όσο μικρότερη είναι η τιμή IC<sub>50</sub>, τόσο υψηλότερη είναι η αντιοξειδωτική δράση του δείγματος. Οι μέθοδοι DPPH και ABTS λειτουργούν συμπληρωματικά η μία της άλλης, καθώς η πρώτη κρίνεται καταλληλότερη για την αξιολόγηση δειγμάτων, τα οποία περιέχουν λιπόφιλα αντιοξειδωτικά ή έχουν υψηλό λιπιδικό περιεχόμενο [57], ενώ η δεύτερη είναι ικανή να προσδιορίσει τις ιδιότητες των λιπόφιλων και υδρόφιλων αντιοξειδωτικών στο εξεταζόμενο δείγμα [58]. Εκτός από τη ικανότητα αναστολής των ριζών DPPH<sup>•</sup> και ABTS<sup>•+</sup>, εξετάστηκε επίσης η αναγωγική ικανότητα των δειγμάτων. Η αναγωγική ικανότητα μιας ουσίας σχετίζεται με την αντιοξειδωτική της δράση, καθώς υποδεικνύει ότι οι εξεταζόμενες ουσίες λειτουργούν ως δότες ηλεκτρονίων και μπορούν να ανάγουν τα οξειδωμένα ενδιάμεσα της λιπιδικής υπεροξείδωσης, δρώντας με αυτό τον τρόπο ως πρωτογενή και δευτερογενή αντιοξειδωτικά. Για τον προσδιορισμό της αναγωγικής ισχύος των εξεταζόμενων δειγμάτων τροφίμων προσδιορίστηκε η τιμή AU<sub>0,5</sub>, δηλαδή η συγκέντρωση του δείγματος της οποίας η τιμή της απορρόφησης είναι ίση με 0,5 στα 700 nm [54].

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα για την αντιοξειδωτική ικανότητα διαφόρων ειδών ρυζιού, όπως αυτά περιγράφηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο (βλ. Κεφ 5, Ενότητες 5.1, 5.2, 5.3 και τα ραβδογράμματα 1, 4 και 7), συμπεραίνουμε ότι το ρύζι basmati έχει τη

χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα συγκριτικά με τα υπόλοιπα είδη ρυζιού. Σε αυτή την παρατήρηση οδηγούν οι τιμές  $IC_{50}$  και  $AU_{0,5}$  που εμφανίζει το συγκεκριμένο δείγμα, οι οποίες είναι πολύ υψηλές και στις τρεις μεθόδους. Αντίθετα, παρατηρήθηκε ότι το ρύζι bonnet αποτελεί το δραστικότερο είδος ρυζιού, λαμβάνοντας υπόψη τα ραβδόγραμματα 1 και 7 που αφορούν στις μεθόδους DPPH και της αναγωγικής ισχύος, ενώ το μακρύκοκκο προβρασμένο ρύζι παρουσιάζει την υψηλότερη ικανότητα εξουδετέρωσης της ρίζας ABTS (βλ. Ραβδόγραμμα 4). Το τελευταίο αποτελεί το δείγμα ρυζιού με τη δεύτερη μέγιστη ικανότητα αναστολής της ρίζας DPPH και τη δεύτερη μέγιστη αναγωγική ικανότητα. Τα είδη ρυζιού νυχάκι και καρολίνα παρουσιάζουν παραπλήσια αντιοξειδωτική δράση, με εξαίρεση μία σημαντική αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ρυζιού καρολίνα, όπως αυτή παρατηρείται στη μέθοδο ABTS (βλ. ραβδόγραμμα 4).

Τα προαναφερθέντα πειραματικά αποτελέσματα συμβαδίζουν με κάποιες γενικές πληροφορίες και ευρήματα ερευνών που αφορούν το ρύζι bonnet και το μακρύκοκκο προβρασμένο ρύζι. Πιο συγκεκριμένα, το ρύζι bonnet υποβάλλεται σε βρασμό μαζί με το κέλυφός του, ούτως ώστε να διατηρήσει όλα τα θρεπτικά συστατικά του και στη συνέχεια ο κόκκος του ρυζιού στεγνώνεται και αποφλοιώνεται. Με αυτό τον τρόπο, το συγκεκριμένο ρύζι αποκτά το χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα [59]. Σε μία έρευνα, η οποία διεξήχθη σε Πανεπιστήμιο της Βραζιλίας και στην οποία εκτιμήθηκε η διαθεσιμότητα των ελεύθερων και των δεσμευμένων φαινολικών ενώσεων στο ρύζι μετά από υδροθερμική επεξεργασία, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων των ελεύθερων φαινολικών ενώσεων και του συνολικού περιεχομένου φαινολικών στο προβρασμένο ρύζι, σε σχέση με τους ολόκληρους κόκκους ρυζιού και το λευκό ρύζι που υπέστη στίλβωση. Αυτό φαίνεται να συμβαίνει, διότι κατά τη διαδικασία του μερικού βρασμού του ρυζιού, οι ελεύθερες φαινόλες μεταναστεύουν στο άμυλο, το οποίο βρίσκεται σε μια ζελατινοποιημένη μορφή και δεσμεύονται στις αλυσίδες αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης, οι οποίες αποτελούν τις δομικές μονάδες του αμύλου. Οι χαμηλότερες τιμές φαινολικών ενώσεων και συνολικού φαινολικού περιεχομένου βρέθηκαν σε δείγματα λευκού ρυζιού, καθώς κατά τη διαδικασία στίλβωσης, η περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά εκτός του αμύλου μειώνεται, με αποτέλεσμα οι φαινολικές ενώσεις σε αυτόν τον τύπο ρυζιού να είναι χαμηλότερες από εκείνες στους ολόκληρους κόκκους ρυζιού, οι οποίοι παρουσίασαν τις υψηλότερες τιμές [60]. Μία άλλη έρευνα, η οποία επίσης πραγματοποιήθηκε σε Πανεπιστήμιο της Βραζιλίας, έδειξε ότι η κατανάλωση προβρασμένου ρυζιού από διαβητικούς ποντικούς οδήγησε σε αυξημένη προστασία

έναντι του οξειδωτικού στρες στο νεφρικό ιστό, σε σχέση με τους ποντικούς που καταναλώναν λευκό ρύζι. Ένα δεύτερο πόρισμα που προέκυψε από την ίδια έρευνα ήταν ότι τα δείγματα προβρασμένου ρυζιού περιείχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις ολικών φαινολικών ενώσεων, πιθανόν επειδή οι κόκκοι προβρασμένου ρυζιού εμφανίζουν αυξημένη αντίσταση στην αφαίρεση του περικαρπίου κατά τη στίλβωση, το οποίο είναι πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά, μεταξύ των οποίων είναι οι πολυφαινόλες [61].

Το ρύζι Basmati, όπως προαναφέρθηκε, εμφάνισε τη χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σύγκριση με όλες τις ποικιλίες ρυζιού. Αυτό το αποτέλεσμα θα μπορούσε να αιτιολογηθεί βάσει προηγούμενων ερευνών, όπως παρουσιάζονται ακολούθως. Αυτός ο τύπος ρυζιού αποτελείται από μακριούς λεπτούς κόκκους [62]. Μία ομάδα ερευνητών σε Ερευνητικό Ίδρυμα της Κίνας συσχέτισε την αντιοξειδωτική ικανότητα και τη συνολική συγκέντρωση σε φαινολικές ενώσεις στους κόκκους ρυζιού με το χρώμα, το βάρος και το μέγεθος των κόκκων. Παρατήρησαν ότι το λευκό ρύζι διαθέτει τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις φαινολών σε σύγκριση με το κόκκινο και το μαύρο ρύζι. Επίσης, λήφθηκε υπόψη η ύπαρξη χημικών ενώσεων στο ρύζι ακόμα και μετά την άλεση, κατά την οποία αφαιρείται το πίτυρο που περιέχει τα περισσότερα θρεπτικά συστατικά. Επιπλέον, δεδομένου ότι σε ένα συγκεκριμένο βάρος ρυζιού, το μέγεθος των κόκκων είναι αντιστρόφως ανάλογο με την επιφάνειά τους ανά βάρος, υπέθεσαν ότι η μικρότερη επιφάνεια πιθανόν περιέχει λιγότερες χημικές ενώσεις στα στρώματα πίτυρου. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα του ρυζιού συσχετίστηκε αρνητικά με το μήκος των κόκκων, το λόγο μήκους/πλάτους και το βάρος 100 κόκκων ρυζιού [63].

Με βάση όσα προαναφέρθηκαν για το λευκό ρύζι, συμπεραίνουμε ότι η χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα των ειδών ρυζιού νυχάκι και καρλίνα, μπορεί να αποδοθεί στην επεξεργασία, η οποία οδήγησε στην απώλεια του πίτυρου του κόκκου ρυζιού και συνεπώς των πολυφαινολών, οι οποίες περιέχονταν σε αυτόν. Τη συγκεκριμένη παρατήρηση επιβεβαιώνει μια κινεζική μελέτη, στην οποία εξετάστηκε η επίδραση του βαθμού άλεσης (degree of milling, DOM) στα φαινολικά προφίλ και στην κυτταρική αντιοξειδωτική δραστηριότητα δύο ποικιλιών καστανού ρυζιού. Το κύριο συμπέρασμα που εξήχθη από αυτή την έρευνα ήταν ότι όσο αυξανόταν ο βαθμός άλεσης, τόσο μειωνόταν το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο και η αντιοξειδωτική δραστηριότητα των κόκκων ρυζιού. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση στα επίπεδα των συζευγμένων φαινολικών ενώσεων και των φλαβονοειδών, καθώς ο βαθμός άλεσης αυξανόταν. Τα

μειωμένα επίπεδα δεσμευμένων φαινολικών ενώσεων οφείλονται κυρίως στην απομάκρυνση του πίτουρου ρυζιού, όπου βρίσκονται σε σημαντικές ποσότητες [64].

Μέσω των ίδιων μεθόδων αξιολογήθηκε και η αντιοξειδωτική ικανότητα των διαφόρων δειγμάτων ζυμαρικών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα τα οποία παρουσιάστηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο (βλ. Κεφ 5, Ενότητες 5.1, 5.2, 5.3 και τα ραβδογράμματα 2, 5 και 8) διαπιστώνεται μια ευρεία διακύμανση των αποτελεσμάτων, καθώς βάσει της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH και της αναγωγικής ισχύος, το πρώτο είδος σπαγγέτι χαρακτηρίζεται από πολύ χαμηλή δραστικότητα, ενώ μέσω της μεθόδου ABTS διαπιστώνεται ότι είναι το δραστικότερο είδος ζυμαρικών, ενώ τα αντίστροφα αποτελέσματα εμφανίζουν οι βίδες ρεβυθιού. Επιπλέον, έντονη είναι η διακύμανση των τιμών που παρουσιάζει ο ξινός τραχανάς με βάση τις τρεις μεθόδους, με αποτέλεσμα η ικανότητα αυτού του ζυμαρικού να αναστέλλει τη ρίζα DPPH να βρίσκεται σε ασυμφωνία με την ικανότητα αναστολής της ρίζας ABTS και την αναγωγική ικανότητα αυτού του τύπου ζυμαρικών. Οι χυλοπίτες και το χονδρό κριθαράκι ακολουθούν το ίδιο μοτίβο όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα και στις τρεις μεθόδους. Το είδος ζυμαρικών σπαγγετίνι χαρακτηρίζεται από πολύ χαμηλή ικανότητα να αναστέλλει τη ρίζα DPPH και να ανάγει τα ιόντα δισθενούς σιδήρου σε τρισθενή, ενώ παρουσιάζει χαμηλή έως μέτρια δραστικότητα εναντίον της ρίζας ABTS. Τέλος, βάσει των τριών διαγραμμάτων, φαίνεται ότι το δεύτερο είδος σπαγγέτι εμφανίζει μέτρια έως πολύ χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα.

Όλα τα προϊόντα ζυμαρικών, τα οποία εξετάστηκαν, πλην των βιδών ρεβυθιού, δηλαδή ο ξινός τραχανάς, οι χυλοπίτες, το κριθαράκι, τα σπαγγέτι και τα σπαγγετίνι είναι παρασκευασμένα από σιμιγδάλι σκληρού σίτου, επομένως αναμένεται να έχουν κάποια κοινά χαρακτηριστικά, ειδικότερα όσον αφορά την αντιοξειδωτική τους ικανότητα αφού παράγονται από την ίδια πρώτη ύλη, δηλαδή το σιτάρι. Πράγματι, σύμφωνα με τα αποτελέσματα (βλ. Κεφ. 5, Ενότητες 5.2, 5.3) γίνεται αντιληπτή μία σχετική ομοιομορφία όσον αφορά την ικανότητα αυτών των δειγμάτων να αναστέλλουν τη ρίζα DPPH και να ανάγουν τα ιόντα δισθενούς σιδήρου σε τρισθενή. Οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων των προϊόντων από σιμιγδάλι, οι οποίες απαιτούνται για την εξουδετέρωση της ρίζας DPPH είναι ιδιαίτερα υψηλές. Αυτά τα αποτελέσματα μπορούν να ερμηνευτούν βάσει ερευνών στις οποίες φάνηκε ότι κατά την επεξεργασία των κόκκων σκληρού σίτου με σκοπό τη μετατροπή του σε σιμιγδάλι, αφαιρείται το πίτυρο, το οποίο είναι πλούσιο σε φαινολικές

ενώσεις [36]. Η επεξεργασία του σιταριού, το οποίο αποτελεί την πρώτη ύλη για την παρασκευή των ζυμαρικών, έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της αντιοξειδωτικής του ικανότητας και συνεπώς της αντιοξειδωτικής δράσης των ζυμαρικών. Η μείωση της αντιοξειδωτικής δράσης του σίτου που προκαλείται λόγω της επεξεργασίας επιβεβαιώθηκε και από την έρευνα των Liyana-Pathiranaa και Shahidi (2007). Οι συγκεκριμένοι ερευνητές, εξετάζοντας κλάσματα της άλεσης δύο ποικιλιών σίτου, συμπέραναν ότι το πίτυρο εμφάνισε την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση και το ενδοσπέρμιο τη χαμηλότερη και ότι το αλεύρι και το σμιγδάλι εμφάνισαν τη χαμηλότερη ικανότητα απορρόφησης ριζών οξυγόνου [38]. Καλό είναι να ληφθεί υπόψη ότι η επεξεργασία, η αποθήκευση, η διαχείριση και το μαγείρεμα των τροφίμων μπορούν να οδηγήσουν σε σημαντικές απώλειες της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας. Επιπροσθέτως, οι διάφορες ποικιλίες σίτου μπορεί να διαφέρουν μεταξύ τους όσον αφορά τη σύνθεση σε φαινολικές ενώσεις και αυτό να έχει αντίκτυπο στην αντιοξειδωτική ικανότητα των ζυμαρικών [39]. Με αυτό τον τρόπο, θα μπορούσε να εξηγηθεί η διαφορετική ικανότητα των ζυμαρικών από σμιγδάλι να αναστέλλουν τη ρίζα ABTS (βλ. ραβδόγραμμα 5).

Οι βίδες ρεβυθιού που εξετάστηκαν στην παρούσα πτυχιακή εργασία παρασκευάστηκαν από βιολογικό αλεύρι ρεβυθιού και παρουσίασαν την υψηλότερη ικανότητα εξουδετέρωσης της ρίζας DPPH και την υψηλότερη αναγωγική ικανότητα σε σχέση με όλα τα είδη ζυμαρικών. Η υψηλή αντιοξειδωτική δραστηριότητα αυτού του τύπου ζυμαρικών θα μπορούσε να αποδοθεί στην υψηλή περιεκτικότητα των ρεβυθιών σε πολυφαινόλες. Μία ομάδα ερευνητριών από Πανεπιστήμια της Ισπανίας ταυτοποίησε 24 φαινολικές ενώσεις στο ωμό και επεξεργασμένο αλεύρι από δύο ποικιλίες ρεβυθιών μέσω ανάλυσης χρωματογραφίας [65]. Οι κύριες πολυφαινόλες στις δύο ποικιλίες ρεβυθιών ήταν οι ισοφλαβόνες.

Οι τρεις προαναφερθείσες μέθοδοι (DPPH, ABTS και αναγωγική ισχύς) χρησιμοποιήθηκαν και για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του γιαουρτιού, της τρίτης και τελευταίας κατηγορίας τροφίμων που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα για την αντιοξειδωτική ικανότητα διαφόρων ειδών γιαουρτιού, όπως αυτά περιεγράφηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο (βλ. Κεφ 5, Ενότητες 5.1, 5.2, 5.3 και τα ραβδογράμματα 3, 6 και 9), διαπιστώνεται ότι τα προϊόντα αγελαδινού γιαουρτιού διαθέτουν παρόμοια αντιοξειδωτική δράση, διότι οι τιμές που εμφανίζουν στα διαγράμματα και των τριών μεθόδων έχουν διαφορά λίγων μόνο μονάδων mg/ml.



Αντίθετα, το πρόβειο γιαούρτι δεν ακολουθεί το ίδιο μοτίβο όσον αφορά την αντιοξειδωτική δράση και στις τρεις μεθόδους. Συγκεκριμένα, το ημιαποβουτυρωμένο πρόβειο γιαούρτι 2% παρουσιάζει τη χαμηλότερη ανασταλτική ικανότητα της ρίζας ABTS και τη χαμηλότερη αναγωγική ικανότητα συγκριτικά με όλα τα είδη γιαουρτιού, ενώ φαίνεται να έχει μεγαλύτερη δραστηριότητα εναντίον της ρίζας DPPH σε σχέση με το πρώτο και το δεύτερο πλήρες πρόβειο γιαούρτι. Τα τρία πλήρη πρόβεια γιαούρτια ακολουθούν το ίδιο μοτίβο, με εξαίρεση αυτό που παρατηρήθηκε στη μέθοδο ABTS (βλ. ραβδόγραμμα 6), στην οποία το πρώτο πλήρες γιαούρτι φαίνεται να έχει τη μεγαλύτερη ικανότητα αναστολής της ρίζας ABTS. Τέλος, με βάση τις τρεις μεθόδους, διαπιστώνεται ότι το πλήρες κατσικίσιο γιαούρτι αποτελεί ένα προϊόν μέτριας αντιοξειδωτικής ικανότητας, σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη γιαουρτιού.

Παρατηρώντας τα διαγράμματα, τα οποία απεικονίζουν τα αποτελέσματα που αφορούν την ικανότητα των δειγμάτων γιαουρτιού να αναστέλλουν τις ρίζες DPPH και ABTS, είναι εύκολο να διαπιστωθεί ότι δεν ακολουθείται το ίδιο μοτίβο για τις τιμές  $IC_{50}$  και  $AU_{0,5}$  μεταξύ των διαφορετικών ειδών γιαουρτιού. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι η σύνθεση του γάλακτος, το οποίο είναι η πρώτη ύλη παρασκευής του γιαουρτιού, ποικίλλει ως προς το θηλαστικό από το οποίο προέρχεται, τη φυλή των ζώων, την περίοδο γαλουχίας, καθώς και τις συνθήκες διατροφής, κατοικίας και βοσκής. Γενικά, το πρόβειο γάλα περιέχει μικρότερα σφαιρίδια λίπους, μεγαλύτερη περιεκτικότητα πρωτεϊνών και υψηλότερα επίπεδα λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας σε σχέση με το αγελαδινό. Επίσης, παρόλο που το πρόβειο γάλα υπερτερεί σε αντιοξειδωτικά ένζυμα έναντι του αγελαδινού γάλακτος [66], φαίνεται ότι κάτι αντίστοιχο δεν βρέθηκε στην παρούσα έρευνα για το γιαούρτι (βλ. ραβδογράμματα 3, 6 και 9). Αυτό πιθανά ερμηνεύεται από το γεγονός ότι το γιαούρτι αποτελεί ένα ζυμωθέν προϊόν του γάλακτος και αναμένεται να παρουσιάζει υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Συγκεκριμένα, σε γενικές γραμμές παρατηρείται ότι τα δείγματα αγελαδινού γιαουρτιού εμφανίζουν υψηλότερη ικανότητα αναστολής της ρίζας DPPH και υψηλότερη αναγωγική ικανότητα σε σχέση με τα δείγματα πρόβειου γιαουρτιού, ενώ η ικανότητα των δύο ειδών γιαουρτιού να εξουδετερώνουν τη ρίζα ABTS είναι παραπλήσια. Τα αποτελέσματα της παρούσας πτυχιακής εργασίας έδειξαν, επίσης, ότι το κατσικίσιο γιαούρτι διαθέτει παρόμοια ικανότητα αναστολής των ριζών DPPH και ABTS με το αγελαδινό πλήρες γιαούρτι, ενώ υπολείπεται σε αναγωγική ικανότητα σε σχέση με το αγελαδινό. Οι Balakrishnan και Agrawal (2012) μελέτησαν την επίδραση που είχε στην αντιοξειδωτική ικανότητα του αγελαδινού γάλακτος, του κατσικίσιου γάλακτος και του γάλακτος

καμήλας η ζύμωση με τον μικροοργανισμό *Pediococcus pentosaceus*. Η αντιοξειδωτική δραστηριότητα των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων προσδιορίστηκε με τη χρήση της μεθόδου DPPH. Το ζυμωμένο κατσικίσιο γάλα παρουσίασε την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα, ακολούθησε το γάλα καμήλας και τελευταίο το αγελαδινό γάλα [67]. Το αποτέλεσμα αυτής της έρευνας συμβαδίζει ως ένα βαθμό με αυτά της παρούσας εργασίας, καθώς το ένα πλήρες κατσικίσιο γιαούρτι παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ικανότητα να αναστέλλει τη ρίζα DPPH από όλα τα δείγματα γιαουρτιού.

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία, εκτιμήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα δειγμάτων ρυζιού, ζυμαρικών και γιαουρτιού με τη χρήση των μεθόδων DPPH, ABTS και τη μέθοδο προσδιορισμού της Αναγωγικής Ισχύος (reducing power assay). Αυτό το οποίο διαφοροποιεί τη συγκεκριμένη μελέτη σε σχέση με άλλες είναι η επιλογή και η διαχείριση των δειγμάτων ρυζιού και ζυμαρικών, καθώς όλα σχεδόν τα δείγματα αντιστοιχούσαν σε επεξεργασμένα προϊόντα, τα οποία αναμείχθηκαν με απιονισμένο νερό και ομογενοποιήθηκαν, χωρίς να υποβληθούν σε άλλου είδους επεξεργασία, όπως είναι ο βρασμός. Επιπλέον, όσον αφορά τα δείγματα γιαουρτιού, αναμείχθηκαν επίσης με απιονισμένο νερό και δεν προηγήθηκε ο εμπλουτισμός τους με κάποιο φυτικό εκχύλισμα ή κάποια χρωστική ουσία πριν γίνει η αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας.

Τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα που προκύπτουν από τη συγκεκριμένη εργασία θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για να καταστήσουν ενήμερους τους καταναλωτές σχετικά με τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των προϊόντων ρυζιού, ζυμαρικών και γιαουρτιού, ώστε να κάνουν περισσότερο ευσυνείδητες επιλογές όσον αφορά τη διατροφή τους, αλλά και για να εμπνεύσουν τους παραγωγούς να δημιουργήσουν νέες προοπτικές και τεχνικές για τη βελτιστοποίηση της αντιοξειδωτικής δράσης των συγκεκριμένων προϊόντων.

## 7.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. B. Halliwell Free Radicals and Other Reactive Species in Disease. Encyclopedia of Life Sciences 2005, John Wiley & Sons p.1-7
2. V. Lobo, A. Patil, A. Phatak, N. Chandra Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Review article. Pharmacognosy Reviews Jul-Dec 2010 Vol. 4 Issue 8: 118-126
3. S. Chanda, R. Dave In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. African Journal of Microbiology Research Dec 2009 Vol. 3(13): 981-996
4. R.P. Patel, J. McAndrew, H. Sellak, C. Roger White, H. Jo, B.A. Freeman, V. M. Darley-Usmar Biological aspects of reactive nitrogen species. Review. Biochimica et Biophysica Acta 1999 1411: 385-400
5. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. Indian J Clin Biochem. 2015 Jan;30(1):11–26.
6. Marian Valko, Mario Izakovic, Milan Mazur, Christopher J. Rhodes and Joshua Telser Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. Molecular and Cellular Biochemistry 266: 37–56, 2004. Kluwer Academic Publishers.
7. Marian Valko, Dieter Leibfritz, Jan Moncola, Mark T.D. Cronin, Milan Mazur, Joshua Telser Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Review. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 39: 44–84 (2007)
8. Peter Kovacic, Robert S. Pozos, Ratnasamy Somanathan, Nandita Shangari and Peter J. O'Brien Mechanism of Mitochondrial Uncouplers, Inhibitors, and Toxins: Focus on Electron Transfer, Free Radicals, and Structure-Activity Relationships. Current Medicinal Chemistry 12: 2601-2623 (2005)
9. Claudia Vorbach, Roger Harrison and Mario R. Capecchi Xanthine oxidoreductase is central to the evolution and function of the innate immune system. Review. TRENDS in Immunology 2003 Sep Vol.24 No.9: 512-517
10. Esra Birben, Umit Murat Sahiner, Cansin Sackesen, Serpil Erzurum and Omer Kalayci Oxidative Stress and Antioxidant Defense. Review Article. World Allergy Organization Journal 2012 Jan (5): 9–19

11. M. Schieber and NS. Chandel ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. Review Current Biology May 2014 (24): 453–462
12. N. Goutzourelas, M. Orfanou, I. Charizanis, G. Leon, DA. Spandidos and D. Kouretas GSH levels affect weight loss in individuals with metabolic syndrome and obesity following dietary therapy Experimental and Therapeutic Medicine. 2018 Aug 16(2): 635–642
13. LA Pham-Huy, H. He, C. Pham-Huy Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. Review Article. International Journal of Biomedical Science 4 (2): 89-96 (2008)
14. AW. Girotti Mechanisms of lipid peroxidation Journal of Free Radicals in Biology and Medicine (1): 87-95 1985
15. G.M. Siu, H.H. Draper Metabolism of Malonaldehyde in vivo and in vitro Lipids 17 (5): 349-355 1982
16. FJ. Kelly and IS. Mudway Protein oxidation at the air-lung interface. Review Article. Amino Acids 2003 (25): 375–396
17. R. Ghosh and DL. Mitchell Effect of oxidative DNA damage in promoter elements on transcription factor binding Nucleic Acids Research, 1999, Vol. 27, No. 15 3213–3218
18. Helmut Sies Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine Redox Biology 4 180–183 (2015)
19. Helmut Sies Oxidative Stress: Oxidants and antioxidants. Experimental Physiology (82), 291-295 (2017)
20. CS. Yang, CT Ho, J. Zhang, X. Wan, K. Zhang, and J. Lim Antioxidants: Differing Meanings in Food Science and Health Science (2018)
21. IS Young, JV Woodside Antioxidants in health and disease (2001)
22. JK. Willcox , SL. Ash & GL. Catignani Antioxidants and Prevention of Chronic Disease (2004)
23. Nguyen LA, He H, Pham-Huy C. Chiral drugs. An overview. Int. J. Biomed. Sci. (IJBS). 2006; 2: 85-100.
24. Mayo Clinic Medical Information. Drugs and supplements. Vitamin E. 2005,  
[http://www.mayoclinic.com/health/vitamin-e/NS\\_patientvitamin-e](http://www.mayoclinic.com/health/vitamin-e/NS_patientvitamin-e).

25. Naidu AK. Vitamin C in human health and disease is still a mystery ? An overview. *Nutr. J.* 2003; 2: 1-10.
26. Mayo Clinic Medical Information. Drugs and supplements. Betacarotene. 2005, [http://www.mayoclinic.com/health/beta-carotene/NS\\_patient-betacarotene](http://www.mayoclinic.com/health/beta-carotene/NS_patient-betacarotene)
27. Pham-Huy C, Nguyen P, Marchand V, et al. Selenium and tobacco smoke tars: In vitro effects on different immunocompetent cells. *Toxicology* 2001;164:111-2. Presented in International Congress of Toxicology XI, Brisbane (Australia). 7-12 July 2001.
28. University of Maryland Medical Center . Omega-3 fatty acids. Overview. 2007. <http://www.umm.edu/altmed/articles/omega-3-000316.htm>.
29. Logan AC. Omega-3 fatty acids and major depression: A primer for the mental health professional. Review. *Lipids Health Dis.* 2004; 3: 25-33.
30. J. M. Landete Updated Knowledge about Polyphenols: Functions, Bioavailability, Metabolism, and Health 2012
31. KB Pandey, SI Rizvi Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, 2009
32. B. Burlando, L. Cornara Therapeutic properties of rice constituents and derivatives (*Oryza sativa* L.): a review update. (2014)
33. S. Sen, R. Chakraborty, P. Kalita Rice - not just a staple food: A comprehensive review on its phytochemicals and therapeutic potential. (2020)
34. M. Kaur, B. Asthir, G. Mahajan Variation in Antioxidants, Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity in Germinated and Ungerminated Grains of Ten Rice Cultivars (2017)
35. B De Cindio and N Baldino Pasta: Manufacture and Composition. *Encyclopedia of Food and Health* (2016) 235-241
36. R Giacco, M Vitale, G Riccardi Pasta: Role in Diet. *Encyclopedia of Food and Health* (2016): 242-245
37. Hatcher, D.W., Kruger, J.E., Simple phenolic acids in flours prepared from Canadian wheat: relationship to ash content, color, and polyphenol oxidase activity. *Cereal Chemistry* (74): 337–343, 1997
38. CM Liyana-Pathiranaa, F. Shahidi The antioxidant potential of milling fractions from breadwheat and durum *Journal of Cereal Science* (45): 238–247, 2007

39. R. Hirawan, WY Ser, SD Arntfield, T. Beta Antioxidant properties of commercial, regular- and whole-wheat spaghetti. *Food Chemistry* (119): 258–264, 2010
40. RC. Chandan, A. Gandhi, NP. Shah Yogurt: Historical background, health benefits, and global trade. *Yogurt in Health and Disease Prevention* (2017): 3-29
41. Judy Van de Water, Carl L. Keen and M. Eric Gershwin The Influence of Chronic Yogurt Consumption on Immunity. *J. Nutr.* 129: 1492–1495 (1999)
42. M.A. Martinez-Gonzalez, C. Sayon-Orea, M. Ruiz-Canela, C. de la Fuente, A. Gea, M. Bes-Rastrollo Yogurt consumption, weight change and risk of overweight / obesity: The SUN cohort study. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* (2014) Vol.24 Issue 11 1189-1196
43. HT.H Nguyen, S. Afsar, L. Day Differences in the microstructure and rheological properties of low-fat yoghurts from goat, sheep and cow milk. *Food Research International* Jun 2018 Volume 108: 423-429
44. S Panahi, MA Fernandez, A Marette and A Tremblay Yogurt, diet quality and lifestyle factors. Review. *European Journal of Clinical Nutrition* 2017 (71): 573–579
45. IT Khan, M. Nadeem, M. Imran, R. Ullah, M. Ajmal and MH Jaspal Antioxidant properties of Milk and dairy products: a comprehensive review of the current knowledge. *Lipids in Health and Disease* 18:41, 2019
46. H. Punia, J. Tokas, A. Malik, S. Sangwan, S. Baloda, N. Singh, S. Singh, A. Bhuker, P. Singh, S.Yashveer, S. Agarwal, VS Mor: Identification and Detection of Bioactive Peptides in Milk and Dairy Products: Remarks about Agro-Foods. Review. *Molecules* (25): 1-35, 2020
47. E. Kerasioti, A. Veskokis, C. Virgiliou, G. Theodoridis, I. Taitzoglou, D. Kouretas The Strong Antioxidant Sheep/Goat Whey Protein Protects Against mTOR Overactivation in Rats: A Mode of Action Mimicking Fasting. *Antioxidants* 2019, 8, 71: 1-15
48. N. Liang, DD. Kitts Antioxidant Property of Coffee Components: Assessment of Methods that Define Mechanisms of Action. Review. *Molecules* (19): 19180-19208, 2014
49. S. Dontha A review on antioxidant methods Vol 9, Suppl. 2: 14-32, 2016

50. J. Teixeira, A. Gaspar, E. M. Garrido, J. Garrido, F. Borges Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. Review Article. BioMed Research International Volume 2013, p.1-11
51. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay Free Radical Biology & Medicine, Vol. 26, Nos. 9/10: 1231–1237, 1999
52. A. Priftis, D. Stagos, K. Konstantinopoulos, C. Tsitsimpikou, D. A. Spandidos, A. M. Tsatsakis, M. N. Tzatzarakis, D. Kouretas Comparison of antioxidant activity between green and roasted coffee beans using molecular methods. Molecular Medicine Reports (12): 7293-7302, 2015
53. A. Veskoukis, E. Kerasioti, A. Priftis, P. Kouka, Y. Spanidis, S. Makri, D. Kouretas A battery of translational biomarkers for the assessment of the in vitro and in vivo antioxidant action of plant polyphenolic compounds: The biomarker issue. Current Opinion in Toxicology 2019 (13): 99–109
54. E. Kerasioti, D. Stagos, A. Priftis, S. Aivazidis, A. M. Tsatsakis, A. Wallace Hayes, D. Kouretas Antioxidant effects of whey protein on muscle C2C12 cells. Food Chemistry (155): 271–278, 2014
55. R. Kumar, A. Gupta, R. Ganguly, A. K. Pandey In-vitro Models to Assess Antioxidant Potential. Phytochemistry: An in-silico and in-vitro update. Advances in Phytochemical Research. Shashank Kumar Chukwuebuka Egbuna Chapter 12: 237-250, 2019
56. M. Olszowy, AL. Dawidowicz Is it possible to use the DPPH and ABTS methods for reliable estimation of antioxidant power of colored compounds? Chem. Pap. (2018) 72:393–400
57. M. Ozgen, R. N. Reese, A. Z. Tulio JR., J.C. Scheerens, A. R. Miller. Modified 2,2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid (ABTS) Method to Measure Antioxidant Capacity of Selected Small Fruits and Comparison to Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Methods. J. Agric. Food Chem. 2006, 54, 1151-1157
58. Arnao MB, Cano A, Acosta M. The hydrophylic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chem 2001; 73: 239–244.
59. <http://www.agrimon.gr/product/65/49/bonnet-rice.html?language=en>

60. PT Scaglioni, T. Denardi de Souza, C. Gauterio Schmidt, E. Badiale-Furlong  
Availability of free and bound phenolic compounds in rice after hydrothermal treatment.  
*Journal of Cereal Science* xxx (2014): 1-7
61. IA. Finamor, E. M.H. Saccol, D. Gabriel, GM. Ourique, A. P.K. Riffel, SP. Konrad,  
A. Bello'-Klein, W. Partata, B. Baldisserotto, SF. Llesuy and MA. Pavanato Effects of  
Parboiled Rice Diet on Oxidative Stress Parameters in Kidney of Rats with  
Streptozotocin-Induced Diabetes. *J Med Food* 15 (7) 2012, 598–604
62. S. C. Ahuja, D. V. S. Panwar, U. Ahuja, K. R. Gupta. Basmati Rice-The Scented  
Pearl. Directorate of Publications Haryana Agricultural University Hisar, India, 1995
63. Y. Shen, L. Jin, P. Xiao, Y. Lu, J. Bao. Total phenolics, flavonoids, antioxidant  
capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. *Journal of Cereal  
Science* 49 (2009): 106–111
64. L. Liu, J. Guo, R. Zhang, Z. Wei, Y. Deng, J. Guo, M. Zhang. Effect of degree of  
milling on phenolic profiles and cellular antioxidant activity of whole brown rice. *Food  
Chemistry* 185 (2015): 318–325
65. Y. Aguilera, M. Dueñas, I. Estrella, T. Hernández, V. Benitez, RM Esteban & M.A.  
Martín-Cabrejas. Phenolic Profile and Antioxidant Capacity of Chickpeas (*Cicer  
arietinum* L.) as Affected by a Dehydration Process. *Plant Foods Hum Nutr* (2011)  
66:187–195
66. AS Veskoukis, E. Kerasioti, K. Sidiropoulos, I. Maragou, Z. Skaperda and D.  
Kouretas: Nutritional habits and free grazing regimen of productive animals along with  
specific ingredients are influential factors for the antioxidant properties of milk: From  
farm to market. *Biomedical Reports* (13): 31-36, 2020
67. G. Balakrishnan, R. Agrawal Antioxidant activity and fatty acid profile of fermented  
milk prepared by *Pediococcus pentosaceus*. *J Food Sci Technol* (December 2014)  
51(12):4138–4142