

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

του

ΓΚΕΚΑ ΣΤΑΥΡΟΥ

ΜΕΡΣΙΝΙ ΡΙΚΑΡΝΤΟ

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Σχολή Περιβάλλοντος

ΙΟΝΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ



Αργοστόλι Κεφαλληνίας

Οκτώβριος 2023

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ ΜΗΛΟΥ ΣΤΗΝ
ΑΝΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ

Η πτυχιακή εργασία εγκρίθηκε από:

Το όνομα του επιβλέποντος εδώ

Το όνομα του μέλους της επιτροπής εδώ

Το όνομα του μέλους της επιτροπής εδώ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία εξετάστηκε η επίδραση της προσθήκης μήλου στην αντιοξειδωτική δράση γιαουρτιού. Τα αντιοξειδωτικά είναι μια φυσική ουσία τα οποία είτε περιέχονται φυσικά στα τρόφιμα και έχουν ως στόχο να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες από τον ανθρώπινο οργανισμό, είτε είναι πρόσθετα των τροφίμων και έχουν ως σκοπό την συντήρησή τους. Κύριος σκοπός των αντιοξειδωτικών είναι να προστατεύσουν τον ανθρώπινο οργανισμό από οξειδωτική βλάβη και πολλά χρόνια προβλήματα υγείας που δημιουργούν οι ελεύθερες ρίζες. Μερικές από τις μεθόδους ανάλυσης των αντιοξειδωτικών είναι το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC), ο αποχρωματισμός σταθερών ελεύθερων ριζών (FRSA) και η αναγωγή των μετάλλων σε υψηλότερο οξειδωτικό σθένος (FRAP, CUPRAC). Η ανάλυση των αντιοξειδωτικών πραγματοποιήθηκε σε δύο πολύ συχνά καταναλώσιμα τρόφιμα, το γιαούρτι με μήλο και σε ποικιλίες μήλων. Αρχικά έγινε ανάλυση των ποικιλιών μήλου ώστε να επιλεγθεί το καλύτερο, στην συνέχεια παρασκευάστηκε γιαούρτι εμπλουτισμένο με πούλπα μήλου με διαφορετικές συγκεντρώσεις. Τέλος, μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης μήλου στην αντιοξειδωτική δράση του γιαουρτιού.

Λέξεις- κλειδιά : αντιοξειδωτικά, γιαούρτι, μήλο, ελεύθερες ρίζες, οξειδωτική βλάβη.

ABSTRACT

In this thesis the effect of apple addition on the antioxidant activity of yoghurt was investigated. Antioxidants are a natural substance which are either naturally contained in food and aim to bind free radicals from the human body, or they are food additives and aim to preserve them. The main purpose of antioxidants is to protect the human body from oxidative damage and many chronic health problems caused by free radicals. Some of the methods of analysis of antioxidants are total phenolic content (TPC), fixed free radical scavenging (FRSA) and reduction of metals to higher oxidative potencies (FRAP, CUPRAC). Antioxidant analysis was performed on two very commonly consumed foods, apple yoghurt and apple varieties. Initially, apple varieties were analyzed to select the best one, then yoghurt enriched with apple pulp was prepared with different concentrations. Finally, the effect of apple addition on the antioxidant activity of yoghurt was studied.

Keywords : antioxidants, yoghurt, apple, free radicals, oxidative damage.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Κεφάλαιο

Σελίδα

1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

I. ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΑ..... 1

1.1.ΕΝΝΟΙΕΣ ΚΑΙ ΟΡΙΣΜΟΙ..... 1

1.1.1 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ..... 1

1.1.2 ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΑ..... 1

1.1.3 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ..... 1

1.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ..... 1

1.3 ΟΦΕΛΗ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΔΙΑΤΡΟΦΗ..... 1

1.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ..... 1

1.4.1 ΜΕ ΑΠΟΧΡΩΜΑΤΙΣΜΟ ΣΤΑΘΕΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ..... 1

1.4.2 ΜΕ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΟΛΙΚΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ

ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ..... 1

1.4.3 ΜΕ ΑΝΑΓΩΓΗ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΜΕ ΥΨΗΛΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΘΕΝΟΣ.... 1

II. ΓΙΑΟΥΡΤΗ..... 1

2.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ..... 1

2.2 ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΤΥΠΟΙ ΓΙΑΟΥΡΤΗΣ..... 1

2.3 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΙΑΟΥΡΤΗΣ..... 1

2.4 ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ..... 1

2.5 ΕΚΚΙΝΗΤΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ..... 1

2.5.1 LACTOBACILLUS BULGARICUS..... 1

2.5.2 STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS..... 1

2.5.3 ΣΥΜΒΙΩΣΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ..... 1

III. ΜΗΛΟ..... 1

3.1 ΟΡΙΣΜΟΣ..... 21

3.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΜΗΛΩΝ..... 21

3.2.1 ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΜΗΛΩΝ..... 1

3.3 ΟΦΕΛΗ ΚΑΙ ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ..... 21

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 ΥΛΙΚΑ – ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΗΜΑΤΑ.....	31
2.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	41
2.3 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ.....	41
2.4 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΠΟΥΛΠΑΣ ΜΗΛΟΥ.....	31
2.5 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΓΙΑΟΥΡΤΗΣ.....	41
2.6 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΓΙΑΟΥΡΤΗΣ ΜΕ ΠΟΥΛΠΑ ΜΗΛΟΥ...41	
2.7 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ.....	41
2.7.1 ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ.....	1
2.7.2 ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ.....	1
2.7.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΜΕΙΩΣΗΣ ΣΙΔΗΡΟΥ.....	1
2.7.4 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΜΕΙΩΣΗΣ ΙΟΝΤΩΝ ΧΑΛΚΟΥ.....	1
 IV. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	 31
 V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	 31
 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	 41
 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	 41

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας	Σελίδα
Πίνακας 1.1. Τίτλος πίνακα όπως εμφανίζεται στο κείμενο.....	3
Πίνακας 1.2. Τίτλος πίνακα όπως εμφανίζεται στο κείμενο.....	7
Πίνακας 2.1. Τίτλος πίνακα όπως εμφανίζεται στο κείμενο.....	11
Πίνακας 2.2. Τίτλος πίνακα όπως εμφανίζεται στο κείμενο.....	19

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα	Σελίδα
Γράφημα 1.1. Τίτλος γραφήματος όπως παρουσιάζεται στο κείμενο.....	1
Γράφημα 1.2. Τίτλος γραφήματος όπως παρουσιάζεται στο κείμενο.....	5
Γράφημα 2.1. Τίτλος γραφήματος όπως παρουσιάζεται στο κείμενο.....	10
Γράφημα 2.2. Τίτλος γραφήματος όπως παρουσιάζεται στο κείμενο.....	15

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

1.1. ΕΝΝΟΙΕΣ ΚΑΙ ΟΡΙΣΜΟΙ

ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται, κάθε άτομο ή μόριο που διαθέτει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στιβάδα. Τα άτομα ή μόρια είναι εξαιρετικά ασταθή και ευαίσθητα σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής. Οι ελεύθερες ρίζες έχουν την ιδιότητα να αποσπούν ηλεκτρόνια από άλλες ενώσεις και να αντιδρούν με άτομα ή μόρια. Οι ελεύθερες ρίζες είναι εξαιρετικά επικίνδυνες για τα θρεπτικά συστατικά όπως είναι πρωτεΐνες, λιπίδια, υδατάνθρακες και στο DNA, διότι αλλάζουν την δομή τους. Στον ανθρώπινο οργανισμό, δημιουργούνται από εσωτερικούς ή από εξωτερικούς παράγοντες (Oroian et al, 2015).

Από τους εσωτερικούς παράγοντες διακρίνονται οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS- Reactive Oxygen Species) (Aqil et al, 2012; Weisburger, 2001; Vainio et al, 1999; Steven , 2020), οι δραστικές μορφές αζώτου (RNS-Reactive Nitrogen Species) (Shalady et al, 2013), οι δραστικές μορφές θείου (RSS-Reactive Sulfur Species), οι δραστικές μορφές καρβονυλίου (RCS- Reactive Carbonyl Species) και

τέλος διάφορες μορφές μεταβολικά δημιουργούμενων αλδεϋδών και ηλεκτρονικά διεγερμένων καρβονυλίων (DeLeon et al, 2016).

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Γενικά, ως αντιοξειδωτική ουσία, χαρακτηρίζεται κάθε ουσία η οποία βρίσκεται σε μικρές συγκεντρώσεις, σε σύγκριση με το υπόστρωμα που οξειδώνεται και η οποία καθυστερεί σημαντικά ή αποτρέπει την οξείδωση του υποστρώματος αυτού.

Οι τρόποι με τους οποίους τα αντιοξειδωτικά αντιμετωπίζουν τις ελεύθερες ρίζες είναι η παρεμπόδιση δημιουργίας ελεύθερων ριζών και η διακοπή της διάδοσης των ελεύθερων ριζών στο να δημιουργούν αλυσιδωτές αντιδράσεις (Aviram et al, 2001).

ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Ο ανθρώπινος οργανισμός περιέχει από μόνος του αντιοξειδωτικά, αλλά μπορεί ταυτόχρονα να τα λάβει και από την τροφή του. Οι ελεύθερες ρίζες, όταν περιέχονται σε φυσιολογικές ποσότητες είναι ευεργετικές για τον ανθρώπινο οργανισμό. Όταν αυξηθούν σημαντικά και τα αντιοξειδωτικά δεν φτάνουν να καταπολεμήσουν τις ελεύθερες ρίζες στις διάφορες μορφές που υπάρχουν, τότε δημιουργείται το οξειδωτικό στρες. Σύμφωνα με τον ορισμό οξειδωτικό στρες, ονομάζεται “η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών με την υπεροχή του πρώτου” (Pinchuk et al, 2012).

1.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

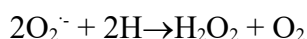
Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να ταξινομηθούν με διάφορα κριτήρια όπως:

- i. Προέλευση όπου χωρίζονται σε ενδογενή (ενζυμικά και μη ενζυμικά) και σε εξωγενή (φυσικά και συνθετικά)
- ii. Διαλυτότητα στο νερό ή σε λιπίδια σε υδατοδιαλυτά και λιποδιαλυτά
- iii. Μοριακό βάρος μορίων σε αντιοξειδωτικά μικρού μοριακού μορίου και αντιοξειδωτικά μεγάλου μορίου (Κοντολαΐμη et al, 2022).

Ανάλογα με την προέλευση των αντιοξειδωτικών, τα ενδογενή αντιοξειδωτικά είναι εκείνα όπου περιέχει από μόνος του ο ανθρώπινος οργανισμός ενώ τα εξωγενή είναι εκείνα όπου πρέπει να λαμβάνει από τη διατροφή. Τα ενδογενή χωρίζονται στα ενζυμικά όπου είναι:

Υπεροξειδική δισμουτάση (SOD):

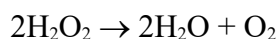
Είναι η αρχή του ενζυμικού μηχανισμού όπου το ένζυμο εξουδετερώνει τις δραστικές ρίζες και τις μετατρέπει σε πιο ήπια μορφή του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και σε μοριακό οξυγόνο (O_2). Το ένζυμο υπεροξειδίου της δισμουτάσης βρίσκεται στα μιτοχόνδρια και στο κυτταρόπλασμα.



Καταλάση (CAT):

Το ένζυμο καταλάση είναι η συνέχεια της αντίδρασης όπου μετά την μετατροπή των δραστικών ριζών σε υπεροξειδίου του υδρογόνου το ένζυμο της καταλάσης το μετατρέπει σε νερό και μοριακό οξυγόνο. Το ένζυμο καταλάση βρίσκεται σε αερόβια

βακτήρια, ζωικά και φυτικά κύτταρα, ήπαρ, κυτταρόπλασμα (Oberley et al, 1997; Valko et al, 2006).



Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (CPX):

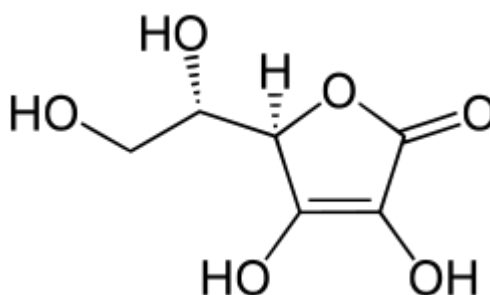
Το ένζυμο υπεροξειδάση της γλουταθειόνης έχει ως κύριο σκοπό την μετατροπή των οργανικών υπεροξειδίων προς σταθερές αλκοόλες και νερό. Οι αλκοόλες δημιουργούνται από την αναγωγή του υποστρώματος των υπεροξειδίων προς αυτές με σκοπό να μην δημιουργηθούν ελεύθερες ρίζες. Η κύρια αποστολή της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης μαζί με την οικογένεια των διάφορων ενζύμων είναι να προστατεύσουν τον οργανισμό από τον πολλαπλασιασμό των ελεύθερων ριζών και κατά επέκταση από το οξειδωτικό στρες (Regina Brigelius-Flohé et al, 2013; Rahal et al, 2014; Γιαννακοπούλου, 2009). Άλλα ένζυμα τα οποία είναι εξίσου σημαντικά είναι η οξυγενάση της αίμης (OH-1) και ένζυμα τα οποία ανήκουν στην οικογένεια της υπεροξειδάση της γλουταθειόνης όπως είναι η αναγωγάση της γλουταθειόνης (GR), συνθετάση της γλουταθειόνης (GCL) και τρανσφεράση της γλουταθειόνης (GST) (Valko et al, 2006).

Εκτός από τα ενζυμικά υπάρχουν και τα μη ενζυμικά όπου είναι σε συνδυασμό μαζί με τα εξωγενή αντιοξειδωτικά ένα μεγάλο μέρος της κατηγοριοποίηση τους.

Αναλυτικότερα υπάρχουν τα:

Ασκορβικό οξύ ή αλλιώς Βιταμίνη C είναι μια υδατοδιαλυτή ένωση η οποία είναι παρόμοια με ενώσεις με υδατάνθρακες. Η ένωση είναι εξαιρετικά πολική οπότε είναι

διαλυτή σε υδατικό διάλυμα και αδιάλυτη σε λιγότερο υδατικούς διαλύτες. Ανήκει στην ομάδα των φυσικών αντιοξειδωτικών (Damodaran et al, 2017) και πρέπει να το λαμβάνουμε από την τροφή διότι ο ανθρώπινος οργανισμός δεν μπορεί να το παράγει. Το ασκορβικό οξύ είναι αναγωγικός παράγοντας και μπορεί να ανάγει, και άρα να εξουδετερώσει, ελεύθερες ρίζες όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου (Hamid et al, 2010). Το ασκορβικό οξύ είναι ευαίσθητο στην οξείδωση από μέταλλα όπως του δισθενή χαλκού Cu^{2+} και του τρισθενή σιδήρου Fe^{3+} . Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την οξείδωση της βιταμίνης είναι η θερμοκρασία, το φως, η συγκέντρωση του οξυγόνου και η δραστικότητα του νερού a_w (Damodaran et al, 2017).

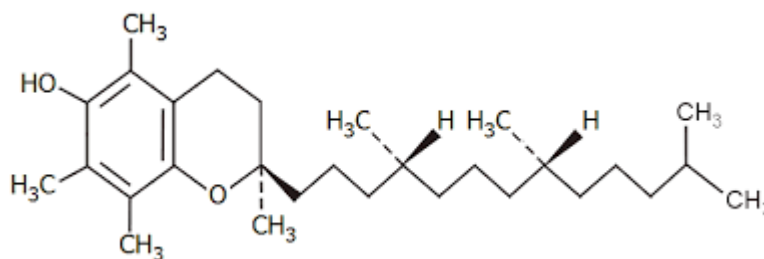


Εικόνα 1.1 Ασκορβικό οξύ

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e7/L-Ascorbic_acid.svg/250px-L-Ascorbic_acid.svg.png

Η βιταμίνη Ε είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό με υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα και ένας από τους ρόλους της είναι να αναστέλλει την υπεροξείδωση των λιπιδίων η οποία είναι υπεύθυνη για την καταστροφή των κυτταρικών μεμβρανών, πρωτεϊνών αλλά και τη βλάβη που προκαλεί στο ανθρώπινο DNA. Η βιταμίνη Ε είναι μια ένωση

με οκτώ στερεοϊσομερή όπου είναι α, β, γ, δ-, τοκοφερόλη και α, β, γ, δ-, τοκοτριενόλη. Από αυτές ξεχωρίζουν η α- τοκοφερόλη που έχει την υψηλότερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα, ενώ η γ- τοκοφερόλη είναι ικανή να δεσμεύει αντιδραστικά είδη αζώτου που προκαλούν οξειδωτικό στρες. Ένας σημαντικός ακόμη ρόλος της βιταμίνης E είναι η προστασία των ερυθρών αιμοσφαιρίων από την αιμόλυση που δημιουργούν οι ελεύθερες ρίζες, αλλά και η κυτταρική αναπνοή μέσω της ηλεκτρονικής αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, επειδή σταθεροποιεί το συνένζυμο Q10 (Rychter et al, 2022).

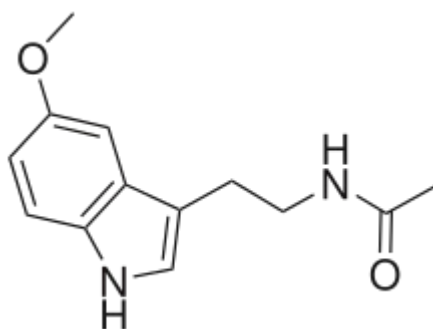


Εικόνα 1.2 Βιταμίνη E

<http://195.134.76.37/chemicals/images/toc/toc.gif>

Η Μελατονίνη ή αλλιώς με την χημική της ονομασία N-ακετυλο-5-μεθοξυτρυπταμίνη είναι μια ορμόνη που βρίσκεται και παράγεται κυρίως από ζώα, φυτά και μικρόβια (Lobo et al, 2010). Εκτός από ορμόνη είναι και ισχυρό αντιοξειδωτικό το οποίο μπορεί εύκολα να διασχίσει τις κυτταρικές μεμβράνες. Ακόμη, έχει ικανότητα απορρόφησης κατά των ελεύθερων ριζών, όπως είναι οι αντιδραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου. Μια ιδιότητα της μελατονίνης είναι η δυνατότητα της οξειδοαναγωγής δηλαδή να δράσει προ-οξειδωτικά και να προάγει τον σχηματισμό των ελεύθερων ριζών. Η μελατονίνη αν οξειδωθεί δεν μπορεί να ξανά αναχθεί και να

επιστρέφει στην προηγούμενη της μορφή και αυτό συμβαίνει διότι δημιουργεί σταθερά τελικά προϊόντα όταν αντιδράει με τις ελεύθερες ρίζες (Hamid et al, 2010). Τέλος, η μελατονίνη συνεργάζεται και με άλλα αντιοξειδωτικά βελτιώνοντας την συνολική αποτελεσματικότητα και δύο από αυτά είναι το ασκορβικό οξύ και η γλουταθειόνη (Hernández-Ruiz et al, 2006).

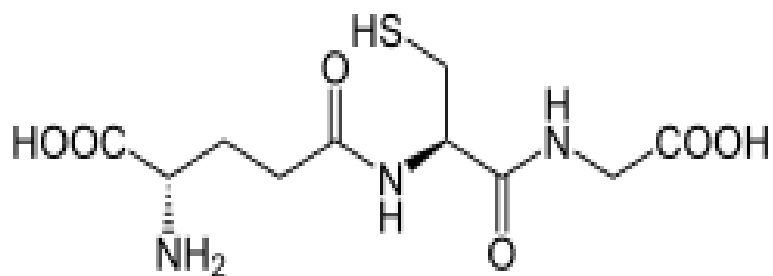


Εικόνα 1.3 Μελατονίνη

<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/7/74/Melatonin.svg/220px-Melatonin.svg.png>

Η γλουταθειόνη (GSH) είναι ένα δραστικό υδατοδιαλυτό αντιοξειδωτικό που αποτελείται από τρία διαφορετικά μόρια αμινοξέων. Τα αμινοξέα αυτά είναι το γλουταμινικό οξύ, η κυστεΐνη (όπου περιέχει και το άτομο του θείου) και η γλυκίνη. Η γλουταθειόνη παράγεται από τα κύτταρα του ίδιου του οργανισμού και η δημιουργία της πραγματοποιείται στο κυτταρόπλασμα και συγκεκριμένα στο ήπαρ. Η γλουταθειόνη μέσα στον οργανισμό μπορεί να υπάρχει σε δύο καταστάσεις, η μια είναι η αναγμένη (GSH) και η άλλη είναι η οξειδωμένη μορφή (GSSG). Ο ρόλος της είναι να δίνει ένα ηλεκτρόνιο για να δημιουργήσει αδρανείς τις παραγόμενες ελεύθερες ρίζες και με αυτό τον τρόπο σχηματίζει την οξειδωμένη της μορφή. Όταν

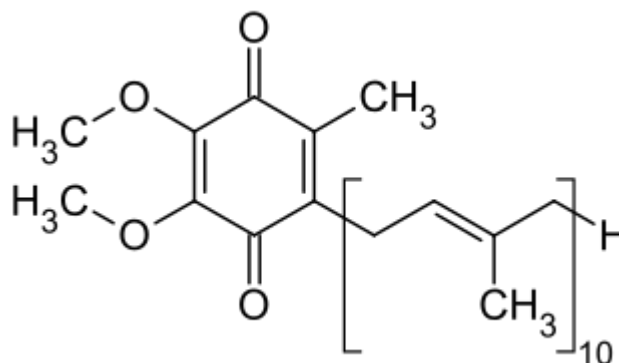
στον οργανισμό διοχετεύεται αυξημένο οξειδωτικό στρες τότε τα περισσότερα κύτταρα βρίσκονται σε οξειδωμένη μορφή γλουταθειόνης. Αντίθετα για την επαναφορά του στην αναγμένη μορφή παρεμβαίνει το ένζυμο αναγωγή της γλουταθειόνης. Επίσης, προστατεύει από επιβλαβείς ουσίες, βοηθάει στην αποτοξίνωση από βλαστικές ελεύθερες ρίζες και συμβάλει στη διατήρηση και ανανέωση της βιταμίνης C και E (Pastore et al, 2003).



Εικόνα 1.4 Γλουταθειόνη

<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/a9/Glutathion.svg/255px-Glutathion.svg.png>

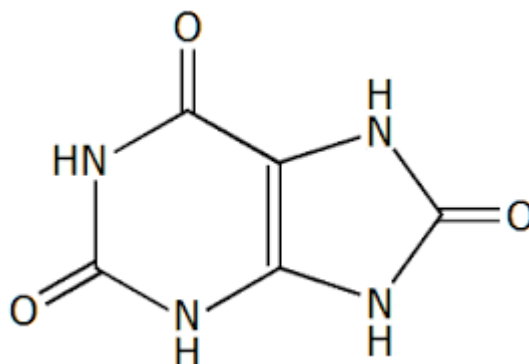
Το συνένζυμο Q10 είναι ένα εξίσου σημαντικό αντιοξειδωτικό το οποίο έχει λιπιδική δομή και έχει ιδιότητες βιταμίνης. Βρίσκεται φυσικά στα ανθρώπινα κύτταρα και υπάρχουν διάφορες μορφές του συνένζυμου Q10 όπως αυτό της ουβικινόνης και της ουμπικινόλης. Ο ρόλος του συνένζυμου Q10 ως αντιοξειδωτικό είναι να δεσμεύει τις ελεύθερες ρίζες, να επαναφέρει τη βιταμίνη E στην ενεργή μορφή της μετά από κάποια αντίδραση με τις ελεύθερες ρίζες, αλλά λειτουργεί και ως φορέας μεταφοράς ηλεκτρονίων για τον σχηματισμό ενέργειας και συγκεκριμένα της ATP (Halliwell et al, 2015).



Εικόνα 1.5 Συνένζυμο Q10

<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/b/bf/CoenzymeQ10.svg/330px-CoenzymeQ10.svg.png>

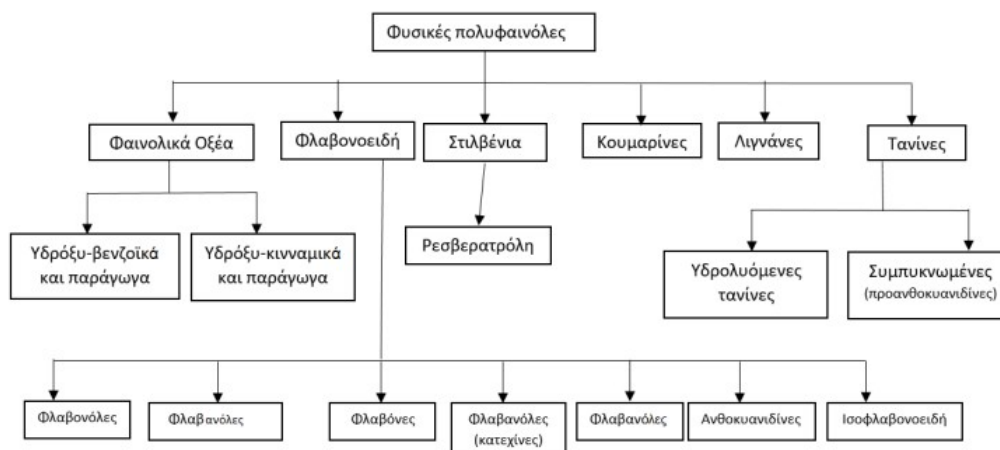
Το ουρικό οξύ (Uric acid) είναι μια οργανική ένωση η οποία προέρχεται από την αδερίνη και ενώσεις πουρίνης με βάση την γουανίνη. Το ένζυμο που είναι υπεύθυνο για τη δημιουργία του ουρικού οξέος είναι η οξειδοαναγωγή της ξανθίνης (Becker et al, 1993). Το ουρικό οξύ παράγεται ενδογενώς και σχηματίζεται από το ήπαρ και αποβάλλεται από τα νεφρά και το έντερο. Λόγω των διπλών δεσμών που περιέχει το καθιστά ένα ικανοποιητικό αντιοξειδωτικό το οποίο ευθύνεται για ένα μεγάλο ποσοστό της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος (Prado de Oliveira et al, 2012).



Εικόνα 1.6 Ουρικό οξύ

<http://195.134.76.37/chemicals/images/uricacid/Urlicacid.gif>

Οι φυτικές πολυφαινόλες είναι μια μεγάλη κατηγορία χημικών ενώσεων που παράγονται ως δευτερογενείς μεταβολίτες από τα φυτά. Κύριο χαρακτηριστικό των πολυφαινολών είναι ο αρωματικός δακτύλιος του βενζολίου στον οποίο συνδέονται μία ή περισσότερες υδροξυλικές ομάδες. Ανάλογα με τον αριθμό των αρωματικών δακτυλίων που περιέχουν και τις ομάδες που είναι συνδεδεμένες σε αυτούς χωρίζονται σε διάφορες κατηγορίες. (Rizvi et al, 2009). Από την πλευρά της αντιοξειδωτικής ικανότητας είναι αρκετά ισχυρές και λειτουργούν σαν εκκαθαριστές ελεύθερων ριζών, ισχυρών προοξειδωτικών παραγόντων και μειώνουν την δημιουργία υπεροξειδίων και ελεύθερων ριζών μέσω της αναστολής του ενζύμου λιποοξυγονάση. Οι κυριότερες κατηγορίες φυσικών πολυφαινολών είναι φαινολικές ενώσεις, φλαβονοειδή, στυλβένια, κουμαρίνες, λιγνάνες και ταννίνες με την κάθε μια να χωρίζεται σε υποκατηγορίες (Galaris et al, 2008).



Εικόνα 1.7 Ομάδες Ταξινόμησης Φαινολικών Ενώσεων (Fereidoon Shahidi et al, 2015)

Τα καροτενοειδή είναι φυσικές χρωστικές ουσίες τα οποία περιέχουν περισσότερες από 600 διαφορετικές ενώσεις με εκείνη που ξεχωρίζει να είναι το β-καροτένιο. Με βάση τη δομή τους τα καροτενοειδή καθορίζουν τις βιολογικές λειτουργίες και δράσεις τους. Χωρίζονται σε 2 κατηγορίες τα καροτένια και τις ξανθοφύλλες. Ο ρόλος των καροτενοειδών στην αντιοξειδωτική δράση είναι να απομακρύνει το μονήρες ηλεκτρόνιο και τις ρίζες υπεροξυλίου, ακόμη είναι δραστικοί στην απενεργοποίηση των ηλεκτρικά διεγερμένων μορίων τα οποία είναι υπεύθυνα για τη δημιουργία ριζών και μονήρους οξυγόνου. Τέλος, τα καροτενοειδή έχουν παρόμοια δράση με τη βιταμίνη A (Stahl et al, 2000)

Τα συνθετικά αντιοξειδωτικά είναι καθαρές ενώσεις που προστίθενται στα τρόφιμα έναντι των φυσικών αντιοξειδωτικών, ώστε να μπορέσουν να αντέχουν σε διάφορες επεξεργασίες και συνθήκες αλλά και να αυξηθεί η διάρκεια ζωής του προϊόντος. Τα σημαντικότερα συνθετικά αντιοξειδωτικά είναι η βουτυλιωμένη υδροξυνιασόλη (BHA), το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT), ο γαλλικός προπυλεστέρας (PG), η διτριτοταγήςβουτυλο-υδροκινόνη (TBHQ), το νορδιϋδρο-γουαϊαρετικό οξύ (NDGA) και ο παράγοντας χηλίωσης μετάλλων (EDTA). Ωστόσο μερικά συνθετικά αντιοξειδωτικά σύμφωνα με την ευρωπαϊκή αρχή ασφάλειας τροφίμων επαναξιολογήθηκαν και πρέπει να λαμβάνονται σε αποδεκτές ημερήσιες προσλήψεις για την υγεία των καταναλωτών (Carocho et al, 2013; Hamid et al, 2010).

1.3 ΟΦΕΛΗ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Η διαταραχή της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας των κυττάρων, οδηγεί στην κατάσταση του οξειδωτικού στρες και έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση διάφορων ασθενειών. Τα αντιοξειδωτικά έχουν ως βασικό ρόλο να προστατεύουν το ανθρώπινο σώμα από την οξειδωτική βλάβη, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε καρδιαγγειακά, καρκινογενετικά, νευρολογικά και άλλα χρόνια προβλήματα υγείας.. Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών ουσιών, αποτρέπει την παραγωγή ελεύθερων ριζών και κατά συνέπεια, την μη επίτευξη των βιολογικών τους στόχων. Από την άλλη πλευρά, η ανεπάρκεια των αντιοξειδωτικών, δημιουργεί περισσότερες ελεύθερες ρίζες, προκαλώντας βλάβες, όπως στο DNA των κυττάρων. Όταν το γενετικό υλικό καταστρέφεται στο εσωτερικό του, τότε όλα τα κύτταρα αντιγράφονται από το κύτταρο που έχει υποστεί την ίδια γενετική βλάβη. Ενδεικτικές ασθένειες που

προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες είναι ο καρκίνος, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, οι οφθαλμικές και οι καρδιακές παθήσεις, η νόσος αλτσχάιμερ και η νόσος πάρκινσον. Τα άτομα που λαμβάνουν ανεπαρκή ποσότητα αντιοξειδωτικών έχουν μεγαλύτερες πιθανότητες εμφάνισης ασθενειών. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα άτομα που καταναλώνουν μεγάλη ποσότητα αλκοόλ, εκείνα που εκτίθενται περισσότερο στο καπνό και οι ηλικιωμένοι, εφόσον ο οργανισμός τους παράγει λιγότερα αντιοξειδωτικά.

Ο ανθρώπινος οργανισμός, αντιμετωπίζει τις ελεύθερες ρίζες μέσω της διατροφής που περιλαμβάνει αντιοξειδωτικά. Τα αντιοξειδωτικά, έχουν καλύτερα αποτελέσματα, όταν τα λαμβάνει ο οργανισμός από μη επεξεργασμένα τρόφιμα. Αυτό είναι σημαντικό διότι, δεν πρέπει να λαμβάνετε περισσότερη ποσότητα αντιοξειδωτικών από την συνιστώμενη ημερήσια δόση, γιατί αυξάνει τις πιθανότητες εμφάνισης ορισμένων ασθενειών που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Μια ισορροπημένη διατροφή για την πρόσληψη όλων των αντιοξειδωτικών, πρέπει να περιέχει μεγάλες ποσότητες τροφίμων φυτικής προέλευσης όπως φρούτα, λαχανικά και δημητριακά ολικής αλέσεως (Ashadevi et al, 2015).

1.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ

Η μέθοδος με την οποία γίνεται ο διαχωρισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας είναι η οξειδοαναγωγή. Οι οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, διαχωρίζονται σε αυτές όπου υπάρχει μεταφορά υδρογόνου και προκύπτουν από μέτρηση της ανταγωνιστικής κινητικότητας και ποσοτικοποίηση από τις κινητικές καμπύλες και στις αντιδράσεις που βασίζονται στην μεταφορά ηλεκτρονίου. Σε αυτές περιλαμβάνονται οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις στις οποίες το οξειδωτικό αποτελεί το δείκτη για την καταγραφή της κινητικής αντίδρασης. Ο ρόλος των μεθόδων, είναι να δεσμεύει ελεύθερες ρίζες ή να παρεμποδίσει μια οξειδωτική αντίδραση. Η ταξινόμηση χωρίζεται σε τέσσερις κατηγορίες: στην κατανάλωση σταθερής ρίζας μετά από προσθήκη του εξεταζόμενου δείγματος, στην καταγραφή της κινητικής της οξείδωσης, στον προσδιορισμό ποσοτικής κατανάλωσης του υποστρώματος της οξείδωσης και τέλος, στον ποσοτικό προσδιορισμό των προϊόντων οξείδωσης. Σε όλα αυτά σημαντικό ρόλο παίζει ο χρόνος, η ποσότητα του αντιοξειδωτικού και το ποσοστό παρεμπόδισης της οξείδωσης (Concepción Sánchez-Moreno et al, 1999).

ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΟΛΙΚΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ

Η μέθοδος είναι φωτομετρική και στηρίζεται στην οξείδωση των φαινολικών

ενώσεων από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Το αντιδραστήριο διάλυμα είναι κίτρινο και σχηματίζεται από φωσφομολυβδαινικά και φωσφοβολφραιμικά σύμπλοκα ιόντων τα οποία αντιδρούν με ενεργοποιημένους αρωματικούς πυρήνες υπό αλκαλικές συνθήκες. Κατά την οξείδωση των φαινολικών ενώσεων το αντιδραστήριο ανάγεται προς μείγμα κυανών οξειδίου του βολφραμίου και του μολυβδαινίου. Αναλόγως την συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων σχηματίζεται το κυανό χρώμα το οποίο παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση στα 750nm. Η μέθοδος χρειάζεται αλκαλικό περιβάλλον και ρυθμίζεται με διάλυμα Na_2CO_3 . Οι μέθοδος TPC με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu εκφράζεται συνήθως ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Arnous et al, 2002).

ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΑΠΟΧΡΩΜΑΤΙΣΜΟ ΣΤΑΘΕΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Η μέθοδος στηρίζεται στην υψηλή μοριακή απορρόφηση και σταθερότητα των ελεύθερων ριζών, όπου αντιδρούν με τα αντιοξειδωτικά και μετατρέπονται σε ουδέτερες οργανικές ενώσεις με ταυτόχρονο αποχρωματισμό του διαλύματος.

Ρίζα του DPPH:

Η ρίζα του 2,2-διφαινυλο-1'-πικρυλο-υδραζιδίου (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH•) είναι μια από της σημαντικότερες μεθόδους εκτίμησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας του δείγματος. Έχει μέγιστη

απορρόφηση στα 515nm και η μείωσή της, παρουσία αντιοξειδωτικών ουσιών, στο δείγμα είναι απόδειξη της αντιοξειδωτικής της δράσης. Η μέθοδος περιέχει δύο εκδοχές, την δυναμική και τη στατική. Στην δυναμική, μετράται ο ρυθμός μείωσης της συγκέντρωσης της ρίζας DPPH μετά την προσθήκη του αντιοξειδωτικού. Στην στατική, μετράται η ποσότητα της ρίζας που έχει δεσμευτεί από το εξεταζόμενο δείγμα, εκφράζοντας έτσι την συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού, η οποία απαιτείται ώστε να μειωθεί η συγκέντρωση της ρίζας στο ήμισυ (EC50). Η ρίζα DPPH, έχει βαθύ μωβ χρώμα και όταν αντιδράσει σε περιβάλλον με οργανικούς διαλύτες, αποχρωματίζεται, καθότι είναι υδρόφοβη. Η ρίζα DPPH είναι εξαιρετικά ευαίσθητη στο οξυγόνο, φως και ύπαρξη νερού (Concepción Sánchez-Moreno et al, 1999).

ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΑΝΑΓΩΓΗ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΜΕ ΥΨΗΛΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΘΕΝΟΣ

α) FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT POWER – FRAP

Η μέθοδος FRAP, είναι μια άμεση και γρήγορη φασματοφωτομετρική μέθοδος, για την εκτίμηση της αναγωγικής ικανότητας των αντιοξειδωτικών δειγμάτων. Η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή του συμπλόκου Fe^{+3} - τριπυρίδυλο- τριαζίνη (Fe^{+3} -TPTZ) σε δισθενή μορφή (Fe^{+2} -TPTZ). Η αντίδραση πραγματοποιείται υπό όξινες συνθήκες σε pH=3.6, για την παραμονή του σιδήρου στον διαλύτη, με αποτέλεσμα τον χρωματισμό του

διαλύματος σε έντονο μπλε χρώμα, με απορρόφηση στα 593nm (Pulido et al, 2000).

β) CUPRIC IRON REDUCING ANTIOXIDANT CAPACITY – CUPRAC

Η μέθοδος CUPRAC, χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της αναγωγικής ικανότητας του συμπλόκου δισθενούς χαλκού με την νεοκουπρόνη (Nc). Τα αντιοξειδωτικά διασπούν τις αλυσίδες του δισθενούς χαλκού με την νεοκουπρόνη (Cu(II)-Nc), μετατρέποντάς τον σε μονοσθενή χαλκό με νεοκουπρόνη (Cu(I)-Nc) και μετράται η απορρόφηση της αντίδρασης αυτής στα 450nm (Özyürek et al, 2011).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ II

ΓΙΑΟΥΡΤΗ

2.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Ως γιαούρτη, κατά την ελληνική νομοθεσία, χαρακτηρίζεται το προϊόν “το οποίο προκύπτει μετά από πήξη, αποκλειστικά και μόνο, νωπού γάλακτος της αντίστοιχης προς την ονομασία φύσης και προέλευσης, με την επίδραση καλλιέργειας ζύμης που προκαλεί ειδική ζύμωση”.

Σύμφωνα με τον Codex Alimentarius (1977) η γιαούρτη ορίζεται ως “πηγμένο γαλακτοκομικό προϊόν που παράγεται με γαλακτική ζύμωση του γάλακτος, με τη δράση του *Lactobacillus bulgaricus* και του *Streptococcus thermophilus*. Οι μικροοργανισμοί αυτοί πρέπει να είναι στο τελικό προϊόν άφθονοι και ζωντανοί” (Codex Alimentarius., 2010).

Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (ΚΤΠ) «Γιαούρτι» χαρακτηρίζεται το γαλακτοκομικό προϊόν το οποίο παράγεται από τη ζύμωση και πήξη του γάλακτος, με τη χρήση υποχρεωτικά των καλλιεργειών - εκκινητών *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, ώστε το τελικό ζυμωμένο προϊόν να περιέχει τουλάχιστον 10cfu/g προϊόντος μέχρι την ημερομηνία ανάλωσής του (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, Άρθρο 82, 2011).

Το γιαούρτι, παρασκευαζόταν από τα παλαιότερα χρόνια, όταν η μέθοδος της ζύμωσης χρησιμοποιούταν για την συντήρηση του γάλακτος. Η προέλευση των

ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων θεωρείται ότι προέρχεται από την μέση ανατολή. Συγκεκριμένα, στην Αίγυπτο η κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων χρονολογείται γύρω στο 7000 π.Χ. όπου καταλάωναν το laban rayed και το laban khab. Σε περιοχές της Ινδίας αναφέρουν το dadhi που μοιάζει με το σημερινό γιαούρτι και χρονολογείται γύρω στο 5000 π.Χ. Η λέξη "γιαούρτι" πιστεύεται ότι χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τους Τούρκους νομάδες στην Ασία τον 8ο αιώνα και παρουσιάστηκε ως "yoghurut". Ακόμη, ένας άλλος μύθος αναφέρει ότι η εισβολή των Μογγόλων, των Ταρτάρων και άλλων Ασιατών στην Ρωσία και την Ευρώπη οδήγησε στην εξάπλωση του γιαουρτιού και των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων σε άλλα μέρη του κόσμου. Οι περιοχές της Νότιας Ασίας και της νοτιοδυτικής Ασίας (Ιράν, Βαλκάνια, Τουρκία, Συρία, Ινδία, Πακιστάν, Μπαγκλαντές) είναι από τους μεγαλύτερους παραγωγούς και καταναλωτές γαλακτοκομικών προϊόντων. Το γιαούρτι προήλθε από την λατινική λέξη "fervere" που σημαίνει βράζω και μετέπειτα ορίστηκε από τον Louis Pasteur ως "η ζωή χωρίς αέρα" (Shah., 2003).

2.2 ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΤΥΠΟΙ ΓΙΑΟΥΡΤΗΣ

Το γιαούρτι είναι ένα πλούσιο, θρεπτικό και εύπεπτο γαλακτοκομικό προϊόν, το οποίο αποτελείται από θρεπτικά συστατικά, αναγκαία για τον ανθρώπινο οργανισμό. Το γιαούρτι μπορεί να διαφοροποιείται ανάλογα με τον τύπο του γάλακτος, το είδος του ζώου που προέρχεται το γάλα, την προσθήκη φρούτων και άλλων συστατικών. Το γιαούρτι περιέχει σημαντικές πηγές πρωτεϊνών, ασβεστίου, φωσφόρου, ριβοφλαβίνης (βιταμίνης B2), θειαμίνης (βιταμίνης B1) και βιταμίνης B12, καθώς και πολύτιμη πηγή φυλλικού οξέος, νιασίνης, μαγνησίου και ψευδάργυρου (McKinley, 2005).

Θρεπτικά συστατικά	Πλήρες γάλα, σκέτο (150 g)	Πλήρες γάλα, φρούτα (150 g)	Χαμηλής περιεκτικ ότητας σε λιπαρά, σκέτο (150 g)	Χαμηλά λιπαρά, φρούτα (150 g)	Σχεδόν χωρίς λιπαρά, φρούτα (150 g)	Ελληνικό στυλ, απλό (150 g)	Twinpot (175 g)	Πόσιμο γιαούρτι (200 g)
Πρωτεΐνη (g)	8.6	6.0	7.2	6.3	7.2	8.6	7.2	6.2
Φυλλικό οξύ (μg)	27	15	27	24	12	9	23	24
Νιασίνη (mg)	2.3	1.3	1.7	1.7	1.7	2.5	2.0	1.6
Ριβοφλαβίνη (mg)	0.40	0.24	0.33	0.32	0.44	0.20	0.33	0.32
Θειαμίνη (mg)	0.09	0.18	0.18	0.18	0.06	0.18	0.11	0.06
Βιταμίνη B12 (μg)	0.3	0.5	0.5	0.5	0.3	0.3	0	0.4
Ασβέστιο (mg)	300	183	243	210	195	189	228	200
Μαγνήσιο (mg)	29	20	24	23	20	20	23	22
Φώσφορος (mg)	255	144	215	180	165	207	186	162
Ψευδάργυρος (mg)	1.1	0.6	0.9	0.8	0.6	0.8	0.7	0.6

Εικόνα 2.1 Διατροφική Σύνθεση Κοινών Ποικιλιών Γιαουρτιού (ανά κιλό) (Michelle C. McKinley., 2005)

Οι πρωτεΐνες που ανιχνεύονται στο γιαούρτι έχουν σημαντική βιολογική αξία και εμπλουτίζουν το προϊόν με όλα τα απαραίτητα αμινοξέα. Συγκεκριμένα, το γιαούρτι έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε αμινοξέα, προλίνη και γλυκίνη από ότι το πλήρες γάλα (McKinley, 2005). Οι βιταμίνες

κυρίως μετά την θέρμανση του γάλακτος, παρουσιάζουν μεταβολές στην θρεπτική τους αξία. Ειδικότερα, οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες B₁, B₆, B₁₂, C και το φολικό οξύ μειώνονται σε ποσοστό 20-60%. Η λακτόζη ως υδατάνθρακας, μετά την διαδικασία της ζύμωσης, εμφανίζει πτώση έως και 30%. Αυτό συμβαίνει διότι, μετατρέπεται σε απλές μορφές γλυκόζης και γαλακτόζης. Από την άλλη πλευρά, αυξάνεται το γαλακτικό οξύ, η γαλακτόζη, η γλυκόζη, τα ελεύθερα αμινοξέα, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, διάφορα πεπτίδια και ορισμένες βιταμίνες. Τέλος, παράγονται ακεταλδεΐδη, ακετοΐνη, διακετύλιο (Δημητρέλλου, 2022).

Με βάση την αντίστοιχη περιεκτικότητα σε λιπαρά, τα γιαούρτια χωρίζονται σε: πλήρες γιαούρτι (Λίπος: 3,0% w/w), Ημιάπαχο γιαούρτι (Λίπος: <3,0% w/w) και Άπαχο γάλα (Λίπος: <0,5% w/w) (Codex Alimentarius., 2010).

Ανάλογα με το είδος του γάλακτος που χρησιμοποιείται στην Ελλάδα, το γιαούρτι χωρίζεται σε αγελαδινό, κατσικίσιο, και πρόβειο. Ανάλογα με το είδος του γάλακτος, παρατηρείται και διαφορετική αναλογία των υπόλοιπων συστατικών και ως εκ τούτου αλλάζει και η γεύση, το άρωμα και η σύσταση του προϊόντος. Κύρια συστατικά του γάλακτος θεωρούνται επίσης οι πρωτεΐνες, η λακτόζη, τα λιπαρά, τα μέταλλα και τα ιχνοστοιχεία (ΕΚ, 2006).

Ανάλογα με τον τρόπο παρασκευής το γιαούρτι χωρίζεται στις παρακάτω κατηγορίες:

Το παραδοσιακό γιαούρτι, που σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία, είναι το γιαούρτι που πληρεί τις εξής προδιαγραφές: α) Παρασκευάζεται με την παραδοσιακή μέθοδο ώστε να φέρει υμένα (πέτσα) στην επιφάνειά του.

β) Προκύπτει από την πήξη αποκλειστικά νωπού ή παστεριωμένου γάλακτος που δεν έχει υποστεί τροποποίηση της φυσικής του σύνθεσης με μόνη εξαίρεση τη ρύθμιση της λιποπεριεκτικότητας, έως του σημείου που είναι τεχνικά επιτεύξιμη η δημιουργία υμένα (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, 2016).

Το συνεκτικό γιαούρτι όπου το γάλα αφού επεξεργαστεί, εμβολιάζεται και διανέμεται σε κατάλληλους περιέκτες. Εκεί επωάζεται για να προκύψει το λεγόμενο φυσικό ή επεξεργασμένο γιαούρτι (προσθήκη φρούτων). Το συνεκτικό γιαούρτι έχει υποστεί ομογενοποίηση και δεν σχηματίζει τον υμένα (πέτσα) του παραδοσιακού γιαουρτιού (Μάντης, 2000).

Η αναμιγμένη γιαούρτη (stirred), όπου το γάλα επωάζεται σε δεξαμενές, το πήγμα θραύεται, ψύχεται, αναμιγνύεται ή όχι με φρούτα, και συσκευάζεται σε ερμητικά κλειστούς περιέκτες.

Η στραγγισμένη γιαούρτη, σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία, «χαρακτηρίζεται το προϊόν, που λαμβάνεται από το γιαούρτι μετά από αποστράγγιση μέρους του ορού, μετά την πήξη και έχει κατ' ελάχιστο 5,6%

πρωτεΐνες για το αγελαδινό ή γίδινο γάλα και 8% για το πρόβειο γάλα» (Κώδικας Τροφίμων και Ποτών, 2016). Το γιαούρτι διαχωρίζεται ανάλογα με τον τρόπο στράγγισης του σε α) στραγγισμένο γιαούρτι με φυγοκέντρωση, β) συμπυκνωμένη με υπερδιήθηση, γ) στραγγισμένη σακούλας.

Η γιαούρτη με προβιοτικά βακτήρια, εκτός από τα βακτήρια που περιέχει ήδη για την παραγωγή της, έχουν χρησιμοποιηθεί και επιπρόσθετα βακτήρια, τα οποία χαρακτηρίζονται ως προβιοτικά λόγω των ευεργετικών τους επιδράσεων στην υγεία του ανθρώπου.

Η αφυδατωμένη γιαούρτη, προκύπτει εφόσον έχει στραγγιστεί, μορφοποιηθεί σε μικρές μπάλες και αφυδατωθεί στον ήλιο. Με αυτόν τον τρόπο το προϊόν συντηρείται για αρκετούς μήνες και καταναλώνεται αφού έχει διαβραχεί με νερό. Η αφυδάτωση γίνεται είτε με την τεχνική της εκνέφωσης είτε με την λυοφιλίωση και το τελικό προϊόν είναι σε λεπτόκοκκη σκόνη.

Η ρευστή γιαούρτη, είναι ένα γαλακτοκομικό προϊόν το οποίο παρασκευάζεται εφόσον έχει γίνει ανάμιξη του γιαουρτιού με ίση ποσότητα νερού. (π.χ. αριάνη)

Η αεριούχος γιαούρτη, ομογενοποιείται και ενσωματώνεται σε αυτό CO₂ (Δημητρέλλου, 2022).

Η κατεψυγμένη γιαούρτη (frozen yogurt), προκύπτει από την ανάμιξη του γιαουρτιού με ένα μίγμα παγωτού, το οποίο παρασκευάζεται από άπαχο γάλα, και η περιεκτικότητα του γιαουρτιού είναι της αναλογίας 10-20% (Μάντης, 2000).

2.3 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΙΑΟΥΡΤΗΣ

Η διαδικασία παραγωγής γιαούρτης, ακολουθείται από τα στάδια: Επιλογή πρώτης ύλης, καθαρισμός γάλακτος, ομογενοποίηση, παστερίωση, εμβολιασμός, ζύμωση και τέλος ψύξη.

1. Επιλογή Πρώτων Υλών

Για την Παρασκευή γιαουρτιού έχουν χρησιμοποιηθεί γάλατα από διάφορα είδη θηλαστικών. Ανάλογα με το γάλα που θα χρησιμοποιηθεί θα υπάρχει και η αντίστοιχη παρασκευή γιαουρτιού, το πλήρες γάλα χρησιμοποιείται για κανονικό γιαούρτι, το μερικώς αποκορυφωμένο γάλα χρησιμοποιείται για γιαούρτι με χαμηλά λιπαρά και το αποκορυφωμένο γάλα για γιαούρτι χωρίς λιπαρά. Για να αυξηθεί το ολικό στερεό χρησιμοποιείται αποβουτυρωμένο γάλα σε σκόνη και συμπύκνωμα πρωτεΐνης ορού γάλακτος. Για να αλλάξει η περιεκτικότητα σε λιπαρές ουσίες χρησιμοποιείται το λίπος κρέμας ή βουτύρου. Τέλος, οι σταθεροποιητές χρησιμοποιούνται για να αυξηθεί στο μείγμα το σώμα και υφή.

2. Καθαρισμός Γάλακτος

Το γάλα μετά την άλμεξη είναι εκτεθειμένο σε μολύνσεις που μπορεί να προέλθουν από άχυρα, σκόνες, χώμα και απροσεξίες του παραγωγού. Με την μέθοδο της διήθησης γίνεται ο καθαρισμός του γάλακτος, ωστόσο έχει μερικούς περιορισμούς διότι ανάλογα το φίλτρο διήθησης μπορεί να διαπεράσουν το φίλτρο συγκεκριμένα μεγέθους υπολείμματα (Tamine et al, 1999).

3. Ομογενοποίηση

Η ομογενοποίηση είναι η διαδικασία της μηχανικής διάσπασης των σφαιριδίων του λίπους του γάλακτος σε μικρότερα μεγέθη, δημιουργώντας έτσι μια ομοιόμορφη κατανομή στο τρόφιμο. Συγκεκριμένα, επειδή τα λιπίδια έχουν διάμετρο 1-15mm και είναι ελαφρύτερα από τα υπόλοιπα συστατικά διαχωρίζονται. Για τον λόγο αυτό κρίνεται απαραίτητη η διαδικασία της ομογενοποίησης του γάλακτος (Shah., 2003). Το τελικό μέγεθος των σφαιριδίων του λίπους είναι τα 1-2 mm. Σε αυτό το μέγεθος δεν προκύπτει ξεχωριστό κρεμώδες στρώμα στην επιφάνεια, και το γιαούρτι παρουσιάζει μια ομοιόμορφη κατανομή (Shah., 2003).

4. Θέρμανση Γάλακτος

Η θερμική επεξεργασία του γάλακτος είναι μια διαδικασία όπου το γάλα θερμαίνεται σε σχετικά υψηλή θερμοκρασία και παραμένει για προκαθορισμένη χρονική περίοδο. Οι χρόνοι θέρμανσης που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή εμπορικού γιαουρτιού είναι 85°C για 30

λεπτά και 90-95°C για 5 λεπτά (Tamine et al, 1999).

Συστατικό Γάλακτος	Είδος Μεταβολής	Επίδραση στην ποιότητα του γιαουρτιού
Πρωτεΐνες ορού γάλακτος	Μετουσίωση Απενεργοποίηση ανοσοσφαιρινών Παραγωγή σουδφιδικών ομάδων (-SH)	Μείωση ικανότητας σχηματισμού κρέμας Σχηματισμός αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων
Καζεΐνη	Μερική υδρόλυση και παραγωγή γλυκοπεπτιδίων από την κ- καζεΐνη Αποφωσφορλίωση	Ελαχιστοποίηση συναίρεσης Αύξηση μεγέθους μικκυλίων Σταθεροποίηση πήγματος
Ένζυμα	Απενεργοποίηση	Ελαχιστοποίηση πικρής γεύσης
Λακτόζη	Αποσύνθεση και σχηματισμός οργανικών οξέων, φουρφοράλης και υδροξυφουρφοράλης Αντιδράσεις με αμινοξέα	Μείωση pH Παραγωγή μυρμηκικού οξέος, που επηρεάζει την ανάπτυξη της αρχικής καλλιέργειας Συμβολή στη γεύση
Λιπαρά	Σχηματισμός λακτονών, μεθυλοκετονών και άλλων πτητικών κετονών	Συμβολή στη γεύση
Βιταμίνες	Καταστροφή μερικών υδατοδιαλυτών βιταμινών	Μείωση της θρεπτικής αξίας του γιαουρτιού
Μέταλλα	Ανακατανομή Ca, P και Mg μεταξύ διαλυτής και κολλοειδούς μορφής	Μείωση pH Μείωση χρόνου πήξης
Μικροοργανισμοί	Καταστροφή	Εξασφάλιση ασφάλειας Ελαχιστοποίηση Ελαττωμάτων ποιότητας
Αέρια	Μείωση της περιεκτικότητας σε διαλυμένο O ₂ , N ₂ και CO ₂	Εξασφάλιση ασφάλειας Ελαχιστοποίηση Ελαττωμάτων ποιότητας

Εικόνα 2.2 Φυσικοχημικές αλλαγές της θερμικής κατεργασίας και συσχετίσή τους με την παραγωγή γιαουρτιού (Tamine et al, 1999)

5. Εμβολιασμός & Ζύμωση

Το μείγμα του γιαουρτιού έπειτα από την θερμική επεξεργασία ψύχεται γύρω στους 45°C και μετά εμβολιάζεται με καλλιέργεια οξυγαλακτικών βακτηρίων (Shah, 2003). Η συγκέντρωση της καλλιέργειας είναι περίπου 2% v/v (Chandan et al, 2013) και η συνήθης καλλιέργεια γιαουρτιού είναι *S. thermophilus* και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* σε αναλογία 1:1 (Tamine et al, 1999). Η ταυτόχρονη δράση των δυο βακτηρίων βοηθάει στην γρήγορη μετατροπή του γάλακτος σε γιαούρτι (Shah., 2013). Η θερμοκρασία επώασης διατηρείται και ελέγχεται σε όλη στην διαδικασία της ζύμωσης (2-3ώρες). Όταν το pH (4.5-4,6) και η οξύτητα φτάσουν στα επιθυμητά επίπεδα τότε το γιαούρτι αποκτά την χαρακτηριστική γεύση και άρωμα.(Tamine et al, 1999).

6. Ψύξη

Όταν το προϊόν φτάσει στα επιθυμητά επίπεδα pH ψύχεται και διατηρείται σε θερμοκρασία κάτω των 10°C (Shah., 2003).

2.4 ΕΥΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ

Τα οφέλη του γιαουρτιού στην υγεία συμβάλλουν στην πρόληψη και θεραπεία ασθενειών, τόσο για τον άνθρωπο όσο και για τα ζώα. Η κατανάλωσή του από τον άνθρωπο βοηθά στην αντιμετώπιση γαστρεντερικών διαταραχών, όπως η διάρροια και η δυσκοιλιότητα.

Οι μικροοργανισμοί του γιαουρτιού παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση των διαφόρων ασθενειών. Συγκεκριμένα, ο *L. bulgaricus* είναι ανθεκτικός και μπορεί να επιβιώσει στο γαστρεντερικό σύστημα και να αναστείλει την εντερική σήψη στον γαστρεντερικό σωλήνα. Επιπλέον, ευεργετικά αποτελέσματα από την κατανάλωση γιαουρτιού παρατηρούνται και στην παιδική διάρροια. Επίσης, έχει αναφερθεί η ύπαρξη φυσιολογικής και λειτουργικής χλωρίδας στο έντερο λόγω των εύπεπτων θρεπτικών συστατικών του γιαουρτιού.

Το γιαούρτι λόγω του περιορισμένου ποσοστού λακτόζης, δίνει την δυνατότητα να καταναλωθεί από άτομα με δυσανεξία στην λακτόζη. Ακόμη, το γιαούρτι ως πηγή ασβεστίου είναι ιδιαίτερα χρήσιμο σε γυναίκες μέσης ηλικίας που αντιμετωπίζουν συχνά προβλήματα οστικής δυσμορφίας κατά την εμμηνόπαυση.

Η στεφανιαία νόσος είναι μια από τις ασθένειες που μπορεί να προληφθεί με τη βοήθεια της σωστής διατροφής. Σε αυτό συμβάλλει η κατανάλωση γιαουρτιού.

Το γιαούρτι περιέχει υδροξυλ-μεθυλ-γλουταμικό οξύ, το οποίο εμποδίζει την μετατροπή του οξικού οξέος σε χοληστερόλη. Ο *L. Bulgaricus*, λόγω της μεγάλης ποσότητας κυττάρων που υπάρχει στο γιαούρτι, προκαλεί αποσυγκόλληση των χολικών αλάτων στο λεπτό έντερο, με συνέπεια την αποβολή των χολικών οξέων

από τα κόπρανα. Αυτό έχει ως συνέπεια τη μείωση της συγκέντρωσης στερόλης στον οργανισμό.

Η μειωμένη αλλεργιογένεση των περιεχόμενων πρωτεϊνών, καθιστά το γιαούρτι χρήσιμο για άτομα με αλλεργίες σε πρωτεΐνες του γάλακτος. Τέλος, μία εξίσου σημαντική θεραπευτική ιδιότητα του γιαουρτιού είναι η θεραπεία της μη ειδικής κολπικής έκκρισης και η ανασταλτική επίδρασή του στον πολλαπλασιασμό ορισμένων καρκινικών κυττάρων (Deeth et al, 1981).

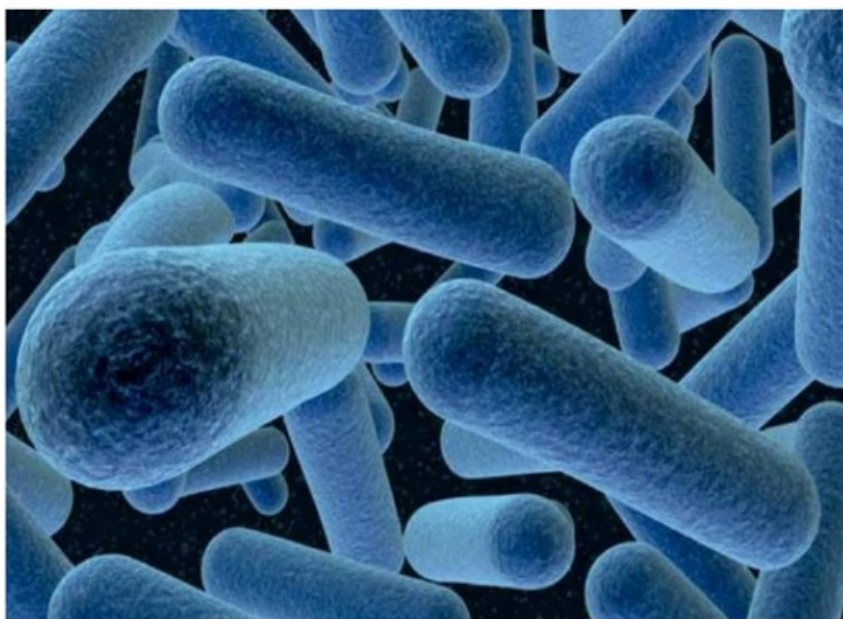
Τα γαλακτοκομικά προϊόντα θεωρούνται αναπόσπαστο κομμάτι της διατροφής του ανθρώπου. Τα γαλακτοκομικά, είναι προϊόντα με αυξημένη θρεπτική αξία και ιδιαίτερα σημαντικά για τις φυσιολογικές και βιοχημικές λειτουργίες του ανθρώπινου οργανισμού. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων οφείλεται στο θείο που περιέχουν τα αμινοξέα, όπως η κυστεΐνη. Άλλα αντιοξειδωτικά του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων είναι, οι βιταμίνες A, E, τα καροτενοειδή, ο ψευδάργυρος, το σελήνιο, οι ολιγοσακχαρίτες του γάλακτος και τα πεπτίδια που παράγονται κατά τη ζύμωση και την ωρίμανση. Ακόμη, τα γαλακτοκομικά προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση περιέχουν υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα, σε σύγκριση με τα μη ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα. Η καλλιέργεια εκκίνησης του γιαουρτιού, *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* και *Streptococcus thermophiles*, διακόπτει την λιπιδική υπεροξειδωσία, απομακρύνοντας δραστικές μορφές οξυγόνου, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου και η υπεροξυλική ρίζα. Τα βιοδραστικά πεπτίδια πρωτεϊνών που απελευθερώνονται από την α-λακταλβουμίνη, τη β-λακτοσφαιρίνη και την α-

καζεΐνηη, παρέχουν στα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Khan et al, 2019).

2.5 ΕΚΚΙΝΗΤΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Lactobacillus bulgaricus

Ο *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* (*L. bulgaricus*) προέρχεται από το γένος *Lactobacillus* με 64 είδη που έχουν μεγάλη ποικιλομορφία ως προς το σχήμα. Είναι θετικό κατά Gram θερμόφιλο βακτήριο, με ραβδοειδή μορφή. Έχει μέγιστη θερμοκρασία ανάπτυξης 30°C - 40°C, είναι ανθεκτικός στα οξέα (pH<4.5). Παρουσιάζει βέλτιστη ανάπτυξη σε pH (5.0-7.0), ενώ στα αλκαλικά pH ο ρυθμός ανάπτυξης μειώνεται σημαντικά..



Εικόνα 2.3 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Παπαϊωάννου, 2022)

Streptococcus thermophilus

Ο *Streptococcus thermophilus* προέρχεται από το γένος *Streptococcus* και χρησιμοποιείται για οξυγαλακτικές καλλιέργειες. Είναι θετικό κατά Gram βακτήριο, με μορφή κόκκου, προαιρετικά αναερόβιο και έχει βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης που κυμαίνεται από 35 - 42 °C. Δεν αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες μικρότερες των 10 °C. Ο *S. thermophilus* συνεργάζεται καλά με τον *L. bulgaricus* για την παραγωγή γιαουρτιού. Αξίζει όμως να σημειωθεί ότι ο πρώτος είναι πιο ευαίσθητος σε όξινο περιβάλλον σε σχέση με τον *L. Bulgaricus*. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να αδρανοποιηθεί ή να τραυματιστεί από την παρατεταμένη αποθήκευση του γιαουρτιού. Τέλος, ο *Streptococcus thermophilus* είναι πολύ ευαίσθητος στα αντιβιοτικά.

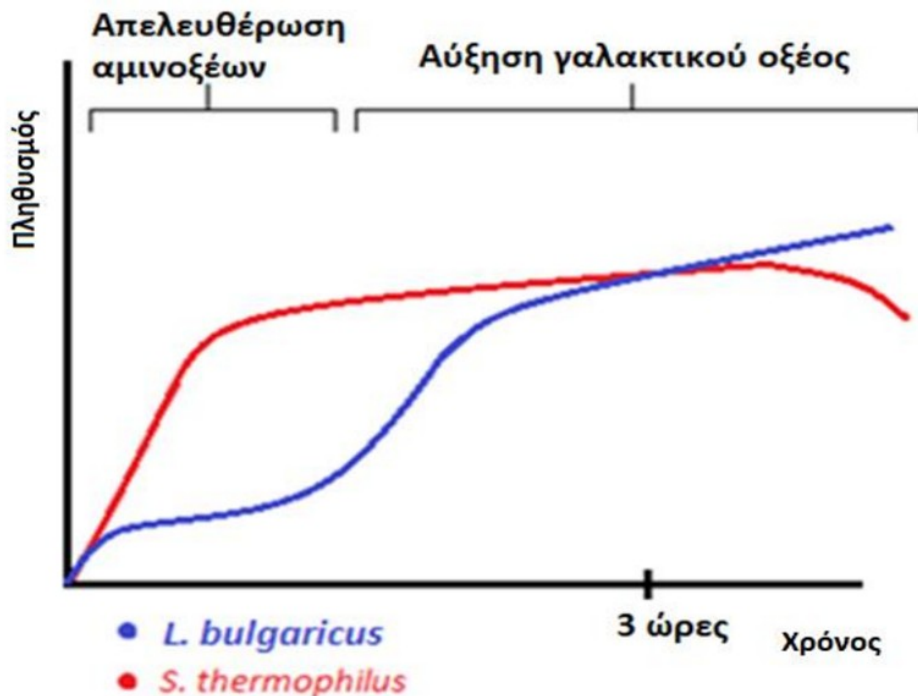


Εικόνα 2.4 *Streptococcus thermophilus* (Παπαϊωάννου, 2022)

ΣΥΜΒΙΩΣΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Οι εμπορικές καλλιέργειες εκκίνησης που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή γιαουρτιού, είναι συνήθως ο *S. thermophilus* και ο *L. delbruecki ssp. bulgaricus*, διότι η συμβίωση αυτών των δύο μικροοργανισμών, δίνει πιο γρήγορο ρυθμό ανάπτυξης κυττάρων για την πήξη του γάλακτος. Η συμβιωτική ανάπτυξη των δύο μικροοργανισμών έχει ως αποτέλεσμα την μεγαλύτερη παραγωγή οξέος και την απόδοση καλύτερης γεύσης στο τελικό προϊόν, σε σύγκριση με την χρήση ενός μόνο μικροοργανισμού.

Για να επιτευχθεί αναλογία 1:1 και να διατηρηθεί και στο τελικό προϊόν, πρέπει να ελεγχθεί η ποσότητα εμβολισμού, καθώς και ο χρόνος και η θερμοκρασία επώασης. Συγκεκριμένα, πρέπει η θερμοκρασία να διατηρηθεί στους 45 °C, ο χρόνος επώασης να είναι περίπου 3 ώρες και το τελικό pH να είναι 4.2.



Εικόνα 2.5 Πληθυσμοί μικροοργανισμών *L. bulgaricus* και *S. thermophilus*, συναρτήσει του χρόνου σε κοινή καλλιέργεια (Παπαϊωάννου, 2022)

Από το παραπάνω διάγραμμα φαίνεται ότι η αναλογία των δύο μικροοργανισμών αλλάζει συνεχώς. Αρχικά ο *S. thermophilus* αυξάνεται πιο γρήγορα λόγω της περίσσειας οξυγόνου και της έλλειψης γαλακτικού οξέος, παράγοντας CO₂ και μυρμηκικό οξύ. Στην συνέχεια, ο ρυθμός ανάπτυξης του *S. thermophilus* μειώνεται λόγω της παραγωγής γαλακτικού οξέος και αυξάνεται το πλήθος των βακτηρίων του *L. Bulgaricus*, εξαιτίας του παραγόμενου CO₂ και του μυρμηκικού οξέος. Παρόλες τις μεταβολές διατηρείται τελικά η αρχική αναλογία 1:1 των μικροοργανισμών (Παπαϊωάννου, 2022).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ

ΜΗΛΟ

3.1 ΟΡΙΣΜΟΣ

Το μήλο είναι φρούτο, ανήκει στην οικογένεια των Ροδοειδών (Rosaceae) και είναι καρπός του δέντρου της μηλιάς (Στα λατινικά είναι *Malus domestica*). Το δέντρο καλλιεργείται από την αρχαιότητα στην Ασία και στην Ευρώπη. Η καταγωγή της μηλιάς είναι από την περιοχή νότια του Καυκάσου. Είναι φυλλοβόλο δέντρο, ανθίζει την άνοιξη και τα φρούτα ωριμάζουν το φθινόπωρο. Η Μηλέα η ήμερος (*Malus domestica*) προήλθε από το είδος Μηλέα η χαμηλή, ή Μηλέα η νανοφυής (*Malus pumila*) και με την εξέλιξή της δημιουργήθηκε το είδος Μηλέα η δασική (*Malus sylvestris*) καθώς και άλλα είδη. Σήμερα υπολογίζονται περίπου 7,5 χιλιάδες ποικιλίες μήλων (Elzebroek et al, 2008).

Η μηλιά είναι δέντρο μεγάλου μεγέθους, πλαγιόκλαδο ή ορθόκλαδο, μακρόβιο και το βρώσιμο τμήμα της είναι ο καρπός. (Βασιλακάκης, 1990).

3.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΜΗΛΩΝ

Οι πιο γνωστές παγκοσμίως ποικιλίες μήλων είναι οι ακόλουθες:

- a) Καλοκαιρινές : Summered, Jersey mac, Vista Bella, Ratitan, Akane, Ozark Gold, Φιρίκι πρώιμο, Prima, Priscilla, Gala.
- b) Φθινοπωρινές: Jonagold, Rome Beauty Cooper 1, Rome Fantastic, Nero Red Rome, Granny Smith, Jerseyred, Delicious (Συνώνυμα: Red Delicious, Stark

Delicious), Imperial, Starkrimson (Συνώνυμα: Starkrimson Delicious, Bisbee Red Delicious), Richared, Crispin (Συνώνυμο: Mutsu), Reinette du Canada, Φιρίκι όψιμο, Fuji, Golden Delicious (Ποντίκης, 1994).

Στην Ελλάδα καλλιεργούνται οι νεζής ποικιλίες (Ταγκαλάκη, 2012):

- Πρώιμες ποικιλίες σε πεδινές περιοχές είναι η Gala με κλώνους Gala Schniga, Anaglo, Brookfield.
- Όψιμες ποικιλίες σε πεδινές περιοχές είναι η Fuji με κλώνους Fuji Kiku 8, Fuji Zhen Aztec και Granny Smith.
- Από Red Delicious για ορεινές και ημιορεινές περιοχές με κλώνους Red Chief, Superchief, Red Kan, Scarlet Spur, Red Cap.
- Από Golden Delicious με κλώνους Golden Reinders, Golden Smoothee και Golden B.
- Τριπλοειδείς ποικιλίες σε ημιορεινές και ορεινές περιοχές είναι οι Red Jonaprince, Jonagold και Jonagored.
- Προστατευμένες ποικιλίες είναι οι Modi®, Goldrush®, Forlady®, Gold Chief-Gold Pink®, Gala Buckeye®, Fuji Fujiko®, Super Chief®, Jeromine®, Superchief Sandidge®.

Στην παρούσα πτυχιική εργασία μελετήθηκαν και αναλύθηκαν οι παρακάτω ποικιλίες μήλων:

I. Fuji

Δημιουργήθηκε στην Ιαπωνία το 1939, μετά από διασταύρωση Ralls Janel x Red

Delicious, είναι σφαιρικός καρπός μεσαίου μεγέθους με κόκκινο επίχρωμα. Πολύ γλυκός, χυμώδης, δροσιστικός και ελαφρός υπόξινος. Συντηρείται και εντός και εκτός ψυγείου.

II. Gala

Δημιουργήθηκε στην Νέα Ζηλανδία το 1934, μετά από διασταύρωση Kidd's Orange Red x Golden Delicious, είναι κωνικός καρπός μετρίου μεγέθους με κοκκινοπορτοκαλί επίχρωμα. Η σάρκα είναι κιτρινωπή-λευκή, χυμώδης, αρωματική και εύγεστη. Συντηρείται εντός ψυγείου για 3-4 μήνες.

III. Jonagold

Δημιουργήθηκε στο New York's Geneva Experimental Station το 1968, μετά από διασταύρωση της Jonathan x Golden Delicious. Είναι καρπός μεγάλου μεγέθους με ροζ ή με έντονο κόκκινο επίχρωμα. Η σάρκα είναι κίτρινη γλυκιά, ζουμερή, υπόξινη και πολύ αρωματική και εύγεστη. Συντηρείται εντός ψυγείου.

IV. Granny Smith

Προήλθε από την Αυστραλία και στην Ελλάδα διαδόθηκε το 1970, ο καρπός είναι σφαιρικός-κωνικός, μεγάλου μεγέθους. Διαθέτει πράσινο επίχρωμα με μικρά φακίδια. Η σάρκα είναι λευκή, ζουμερή, συνεκτική, αρκετά ξινή αλλά με την ωρίμανση γίνεται πιο γλυκιά. Συντηρείται για αρκετούς μήνες στο ψυγείο.

V. Golden Delicious

Δημιουργήθηκε στη Βιρτζίνια των Η.Π.Α το 1916, ο καρπός είναι σφαιρικός-κωνικός, μεσαίου-μεγάλου μεγέθους. Κίτρινο χρώμα με λεπτή και ευάλωτη σε μωλωπισμούς επιδερμίδα. Η σάρκα είναι ζουμερή, γλυκιά, αρωματική, λίγο υπόξινη και τραγανή. Συντηρείται στο ψυγείο για 150-200.

VI. Red Delicious

Δημιουργήθηκε στην κομητεία Madison της Αϊόβα από τον Hesse Hiatt το 1872, ο καρπός είναι κωνικός-επίμηκες (μασουράτο), μεσαίου-μεγάλου μεγέθους, κόκκινο επίχρωμα με ραβδωτές αποχρώσεις. Η σάρκα είναι λευκοκίτρινη, ζουμερή, γλυκιά και αρωματική(Τσιπουρίδης, 2000).

3.3 ΟΦΕΛΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΩΤΙΚΕΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΜΗΛΩΝ

Τα μήλα εμπεριέχουν ένα αξιοσημείωτο συνδυασμό θρεπτικών συστατικών τα οποία είναι σημαντικά για την υγεία του ανθρώπου. Ένα μήλο περιέχει σημαντικές ποσότητες φυτικών ινών, βιταμίνης C, καλίου και φλαβονοειδών.

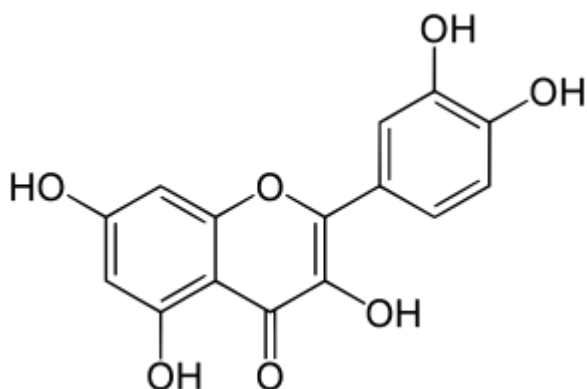
Μερικά από τα οφέλη των μήλων είναι η καλύτερη λειτουργία του εντερικού συστήματος, η ελάττωση της δυσκοιλιότητας, η πρόληψη του καρκίνου του παχέος εντέρου, η μείωση της "κακής" χοληστερόλης στο αίμα και, η βελτίωση της υγείας της καρδιάς. Θεωρείται ότι μειώνει την εμφάνιση καρκίνου του πνεύμονα, και τον κίνδυνο καρδιοαγγειακών νοσημάτων. Συμβάλλει στη μείωση του σωματικού βάρους και της εμφάνισης διαβήτη. Βελτιώνει την υγεία των πνευμόνων και του άσθματος. Έχει αντιφλεγμονώδη δράση και παρεμπόδιζει τη συσσώρευση αιμοπεταλίων. Τέλος, ρυθμίζει την αρτηριακή πίεση (Boyer et al, 2004, Σωτηρόπουλος, 2014).

Τα μήλα εμφανίζουν εξαιρετική αντιοξειδωτική ικανότητα, ενώ σημαντική είναι η συνεισφορά τους σε φλαβονοειδή και άλλες κατηγορίες φυτοχημικών ουσιών. Ακόμη, η συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών στη φλούδα διαφέρει από τη σάρκα του μήλου. Οι κυριότερες αντιοξειδωτικές ενώσεις που συναντώνται

στα μήλα είναι η κερκετίνη-3-γαλακτοσίδη, η κερκετίνη-3-γλυκοσίδη, η κερκετίνη-3-ραμνοσίδη, η κυανιδίνη-3-γαλακτοσίδη, η κατεχίνη, η επικατεχίνη, η προκυανιδίνη, το κουμαρικό οξύ, το χλωρογενικό οξύ, το γαλλικό οξύ και η φλοριζίνη. Οι ενώσεις που περιέχονται στην φλούδα είναι οι προκυανιδίνες, η κατεχίνη, η επικατεχίνη, το χλωρογενικό οξύ, η πλωριδίνη και τα συζεύγματα της κερκετίνης. Ενώ, η σάρκα του μήλου εμπεριέχει τις ενώσεις κατεχίνη, προκυανιδίνη, επικατεχίνη και φλοριζίνη σε μικρότερες συγκεντρώσεις σε σχέση με την φλούδα. Η μοναδική ένωση με μεγαλύτερη συγκέντρωση στη σάρκα σε σχέση με τη φλούδα είναι το χλωρογενικό οξύ. Τέλος, η βιταμίνη C στα μήλα έχει μικρότερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με τις προηγούμενες ενώσεις (Boyer et al, 2003).

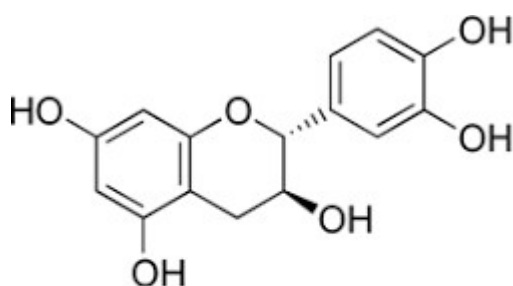
Κυριότερες αντιοξειδωτικές ενώσεις μήλου	Φλούδα μήλου	Σάρκα μήλου
Προκυανιδίνη	Προκυανιδίνες	Κατεχίνη
Κατεχίνη	Κατεχίνη	Προκυανιδίνη
Επικατεχίνη	Επικατεχίνη	Επικατεχίνη
Χλωρογενικό οξύ	Χλωρογενικό οξύ	Φλοριζίνη
Φλοριζίνη	Πλωριδίνη	Χλωρογενικό οξύ
Γαλλικό οξύ	Συζεύγματα κερκετίνης	
Κουμαρικό οξύ		
Συζεύγματα κερκετίνης= κερκετίνη-3-γαλακτοσίδη, κερκετίνη-3-γλυκοσίδη, κερκετίνη-3-ραμνοσίδη, κυανιδίνη-3-γαλακτοσίδη		

Πίνακας 3.1 Αντιοξειδωτικές ενώσεις μήλου



Εικόνα 3.1 Κερκετίνη

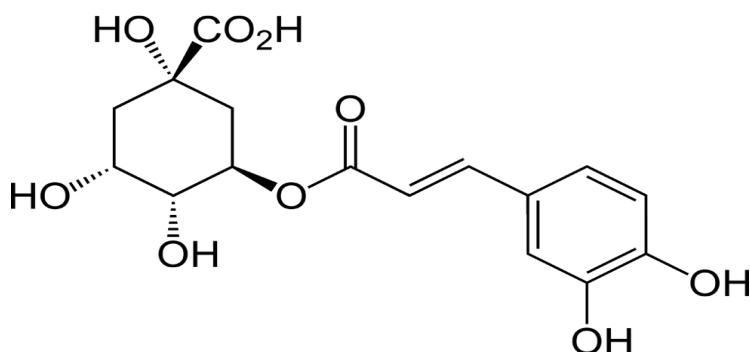
<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/8/81/Quercetin.svg/300px-Quercetin.svg.png>



Κατεχίνη

Εικόνα 3.2 Κατεχίνη [https://www.google.com/url?](https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fcourses.chemeng.ntua.gr%2Fdownload%2F5088&psig=AOvVaw1zmjTpAKYIKYnH6 JDz K9&ust=1700839219338000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBEQjRxqFwoTCKiDjf612oIDFQAAAAAdAAAAABAE)

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fcourses.chemeng.ntua.gr%2Fdownload%2F5088&psig=AOvVaw1zmjTpAKYIKYnH6 JDz K9&ust=1700839219338000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBEQjRxqFwoTCKiDjf612oIDFQAAAAAdAAAAABAE>



Εικόνα 3.3 Χλωρογενικό οξύ

https://lipodialites.gr/wp-content/uploads/2013/08/benefits_of_chlorogenic_acid.png

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΥΛΙΚΑ – ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΗΜΑΤΑ

- Παστεριωμένο ομογενοποιημένο φρέσκο ελληνικό γάλα
- Σκόνη αποβουτυρωμένου γάλακτος (Regilait)
- Καλλιέργεια εκκίνησης (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*)
- Μήλα: Starkin, Golden, Gala, Smith, Fuji 1, Fuji 2, Jonas golden
- Ποτήρια ζέσης των 25mL, 50mL, 100mL, 250mL, 2000mL
- Ογκομετρικές φιάλες των 10mL, 25mL, 50mL, 100mL
- Φιάλη Buchner, Χωνί διήθησης πορσελάνης Buchner
- Σιφόνια μέτρησης των 10mL, 20mL
- Πιπέττα πλήρωσης, Αυτόματες Πιπέτες και Tips
- Φίλτρα Whatman No1
- Μπλέντερ
- Μαχαίρι κοπής, Σπάτουλα, Μεταλλικό κουτάλι
- Πλαστικά πιατάκια ζύγισης
- Ουροσυλλέκτης 100mL
- Αλουμινόχαρτο
- Θερμόμετρο
- Γκαζάκι

- Βαζάκια αποθήκευσης γιαουρτιού
- Σωληνάρια φυγοκέντρου τύπου falcon με βιδωτό πώμα των 15mL, 50mL
- Μεταλλικό στατώ σωληναρίων φυγόκεντρου
- Πιπέτες Pasteur
- Αντλία κενού (Phoenix instrument)
- Φασματοφωτόμετρο (Thermo Helios Omega UV-VIS)
- Κυψελίδες πλαστικές Φασματοφωτόμετρου 4 mL
- Φυγόκεντρος (Hettich Zentrifugen)
- Ζυγός ακριβείας (Mettler-Toledo AB104-S)
- pH meter (Hanna instruments) και Digital pH meter (Parkside)
- Υδατόλουτρο (Memmert)
- Αναδευτήρας Vortex

2.2 ANTIΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Νερό Ultra pure
- Μεθανόλη 99,8% καθαρή
- Αιθανόλη 99,8% καθαρή
- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu
- Ανθρακικό Νάτριο 20%, Sodium carbonate (Na_2CO_3)
- DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
- Sodium acetate.3aq ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)
- Acetic acid (CH_3COOH)
- 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine

- Υδροχλώριο (HCl) 6N
- Iron (III) chloride hexahydrate ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
- Copper (II) chloride ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Neocuproine hemihydrate
- Ammonium acetate (NH_4Ac (pH=7))
- Trolox
- Gallic acid (GA)
- Θευκός σίδηρος FeSO_4

2.3 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

- ✓ Παρασκευή Μεθανόλης 80%: 80mL καθαρή μεθανόλη 99,8% μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 100mL και γίνεται προσθήκη νερού Ultra pure μέχρι την χαραγή και ανάδευση.
- ✓ Παρασκευή ανθρακικού νατρίου 20%: 2g ανθρακικού νατρίου μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 10mL και συμπληρώνεται νερό μέχρι την χαραγή.
- ✓ Παρασκευή DPPH: Ζυγίζονται 0,0197g από DPPH και προστίθενται μεθανόλη 99,8% μέχρι την χαραγή σε μια ογκομετρική φιάλη των 50mL. Στη συνέχεια λαμβάνονται από το πυκνό διάλυμα DPPH των 50mL με τη βοήθεια ενός σιφωνιού 10mL διαλύματος και τοποθετούνται σε ογκομετρική φιάλη των 100mL και συμπληρώνεται με μεθανόλη μέχρι την χαραγή.

- ✓ Παρασκευή TPTZ: Ζυγίζονται 0,078g TPTZ και τοποθετούνται σε μια ογκομετρική φιάλη των 25mL και συμπληρώνεται η ογκομετρική φιάλη των 25mL με διάλυμα HCl 0,04M ως τη χαραγή.
- ✓ Παρασκευή ένυδρου οξικού νατρίου: Ζυγίζονται 0,31g ένυδρου οξικού νατρίου και μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 100mL και συμπληρώνεται με νερό. Αφού γίνει ανάδευση, το διάλυμα μεταφέρεται σε ένα περιέκτη όπου με τη βοήθεια του οξικού οξέος ρυθμίζεται το pH (Digital pH meter) του διαλύματος στο 3,6.
- ✓ Παρασκευή εξάνυδρου χλωριούχου σιδήρου: Ζυγίζονται 0,1351g και μεταφέρονται σε μια ογκομετρική φιάλη των 25mL και συμπληρώνεται με νερό μέχρι τη χαραγή.
- ✓ Παρασκευή χλωριούχου χαλκού: Ζυγίζονται 0,033g και μεταφέρονται σε μια ογκομετρική φιάλη των 25mL και συμπληρώνεται νερό μέχρι τη χαραγή.
- ✓ Παρασκευή Neocuproine: Ζυγίζονται 0,039g και μεταφέρονται σε μια ογκομετρική φιάλη των 25mL και συμπληρώνεται με καθαρή αιθανόλη μέχρι τη χαραγή.
- ✓ Παρασκευή οξικού αμμωνίου: Ζυγίζονται 1,927g και μεταφέρονται σε μια ογκομετρική φιάλη των 25mL και συμπληρώνεται νερό μέχρι τη χαραγή.
- ✓ Παρασκευή γαλλικού οξέος: Ζυγίζονται 0,01g και μεταφέρονται σε μια ογκομετρική φιάλη των 10mL και συμπληρώνεται με καθαρή αιθανόλη μέχρι τη χαραγή.
- ✓ Παρασκευή Trolox: Ζυγίζονται 0,025g και μεταφέρονται σε μια ογκομετρική φιάλη των 100mL και συμπληρώνεται με καθαρή αιθανόλη μέχρι τη χαραγή.

- ✓ Παρασκευή θειικού σιδήρου: Ζυγίζονται 0,0278g και μεταφέρονται σε μια ογκομετρική φιάλη των 100mL και συμπληρώνεται νερό μέχρι τη χαραγή.

2.4 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΠΟΥΛΠΑΣ ΜΗΛΟΥ

Αρχικά τοποθετείται ποσότητα νερού σε ποτήρι ζέσης των 250mL και μεταφέρεται στο υδατόλουτρο στους 45°C. Ακολουθεί προσεκτική έκπλυση του μήλου με το θερμό νερό και με μαχαίρι απομακρύνεται ο φλοιός και τα σπόρια. Στη συνέχεια με το blender δημιουργείται η πούλπα του μήλου και τοποθετήθηκε ξανά στο υδατόλουτρο στους 79°C για 69 δευτερόλεπτα. Μετά εις διπλούν, ζυγίζονται 5g πούλπα σε ουροσυλλέκτη, συμπληρώνονται με 50ml μεθανόλης 80%, γίνεται ανάμιξη για 3 λεπτά και παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 24 ώρες. Τέλος αφού περάσουν 24 ώρες γίνεται διήθηση του διαλύματος πούλπας με τη βοήθεια αντλίας κενού, φίλτρου Whatman No1, χωνιού και φιάλης Buchner για να ληφθεί το τελικό διήθημα το οποίο αποθηκεύεται στους -20°C.

2.5 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΓΙΑΟΥΡΤΗΣ

Σε υδατόλουτρο 80°C τοποθετείται ποτήρι ζέσεως των 2000mL στο οποίο έχει μεταφερθεί 1L αγελαδινού φρέσκου γάλακτος που περιέχει 30g σκόνη αποβουτυρωμένου γάλακτος. Μετά από 30 λεπτά στο υδατόλουτρο, το γάλα απομακρύνεται και ψύχεται στους 42°C. Στη συνέχεια με τη βοήθεια ζυγού τοποθετούνται 150g γάλακτος σε κάθε βαζάκι και πούλπα μήλου σε διάφορες αναλογίες (5%, 10%, 15%) καθώς και δείγμα control (χωρίς πούλπα). Τα δείγματα τοποθετούνται σε υδατόλουτρο στους 42°C.

Σε αποστειρωμένο σωληνάριο falcon που περιέχει 10mL γάλα μεταφέρεται υπό άσηπτες συνθήκες κατάλληλη ποσότητα καλλιέργειας εκκινητή και μετά από διάλυση αυτής, ακολουθεί η προσθήκη του περιεχομένου του falcon αναλογικά (1,5mL) σε κάθε βαζάκι. Όταν το pH φτάσει την τιμή 4,6-4,65 τότε τα δείγματα απομακρύνονται από το υδατόλουτρο και αποθηκεύονται στο ψυγείο στους 4°C.

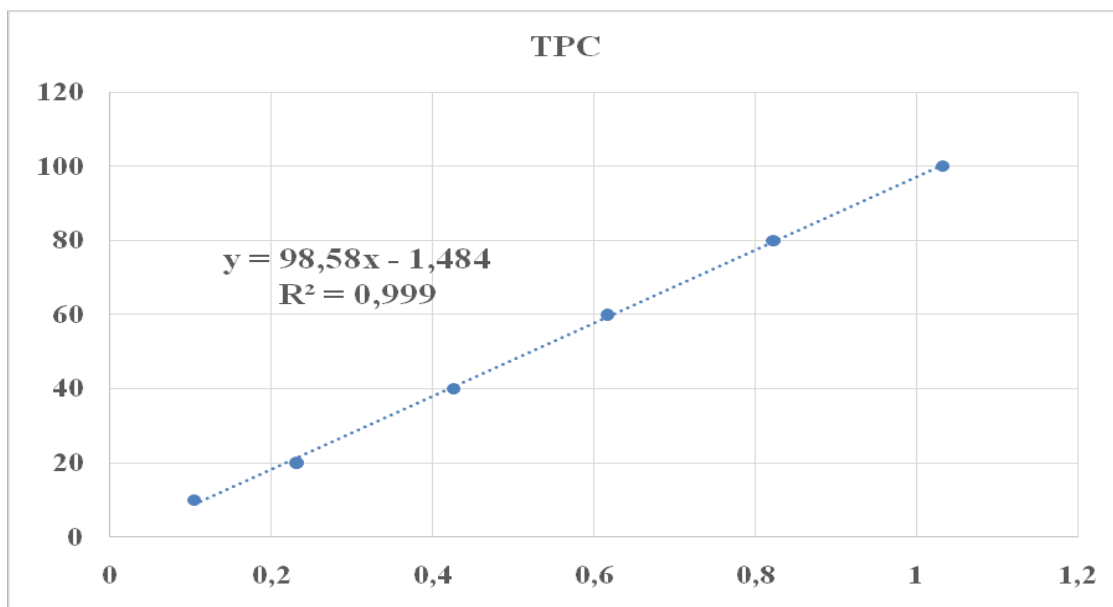
2.6 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΓΙΑΟΥΡΤΗΣ ΜΕ ΠΟΥΛΠΑ ΜΗΛΟΥ

Ο προσδιορισμός των αντιοξειδωτικών στα παραγόμενα δείγματα γιαουρτιού πραγματοποιήθηκε εβδομαδιαίως. Ποσότητα γιαουρτιού αραιώθηκε με απεσταγμένο νερό σε αναλογία 1:0,25 και ομογενοποιήθηκε. Στη συνέχεια, το pH του διαλύματος γιαουρτιού ρυθμίστηκε στην τιμή 4,0 με HCl 1N ώστε να ελαττωθεί η διαλυτότητα της καζεΐνης στο γάλα. Στη συνέχεια το διάλυμα γιαουρτιού τοποθετήθηκε σε falcon και επώαστηκε σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 45°C για 10 λεπτά. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 5000 στροφές ανά λεπτό για 10 λεπτά στους 4°C για να απομακρυνθούν οι κατακρημνισμένες πρωτεΐνες γάλακτος. Αφού παραλήφθηκε το υπερκείμενο υγρό προστέθηκε NaOH 0,5N για την εξουδετέρωση του υγρού μέχρι την τιμή pH 7,0 και ακολούθησε δεύτερη φυγοκέντρηση στις ίδιες συνθήκες για να κατακρημνιστούν και οι υπόλοιπες πρωτεΐνες και άλατα. Τέλος, το υπερκείμενο υγρό από τη δεύτερη φυγοκέντρηση χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των αντιοξειδωτικών (Dimitrellou, 2020).

2.7 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

2.7.1 ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ

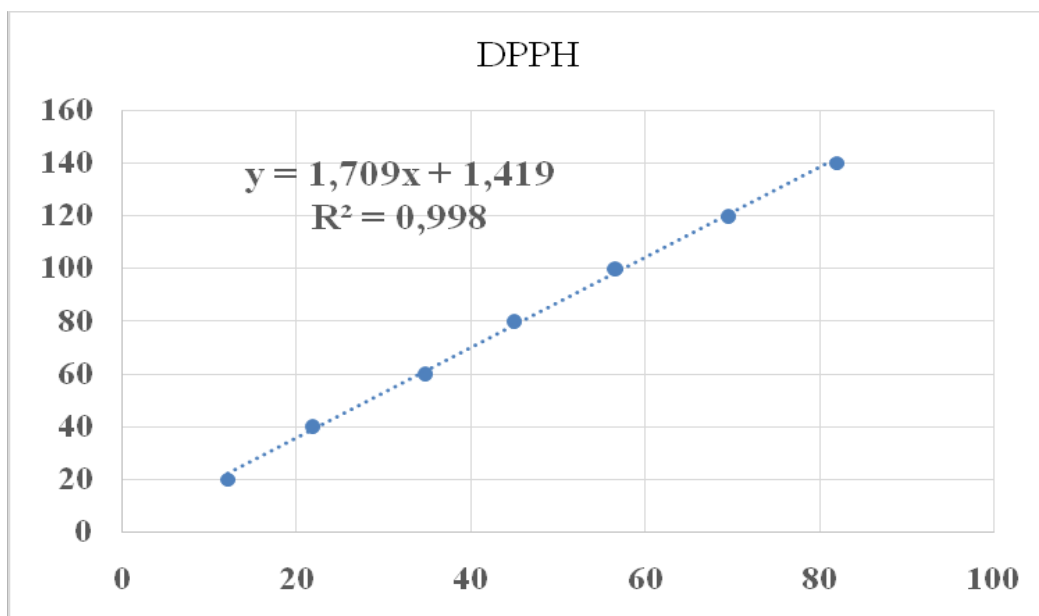
Το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu μετά από κάποιες αλλαγές. Αρχικά, σε falcon των 15mL τοποθετήθηκε εκχύλισμα γιαουρτιού-μήλο (Yogurt extraction) (προηγήθηκε αραιώση 1:1 εκχυλίσματος γιαουρτιού-απεσταγμένου νερού) και αραιώθηκε με απεσταγμένο νερό σε συνολικό όγκο 1mL, προστέθηκαν 3mL απεσταγμένου νερού και 0,25mL αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu και έγινε ανάδευση με vortex. Έπειτα από 1 λεπτό προστέθηκαν 0.75mL ανθρακικού νατρίου 20% (Sodium carbonate), αναδεύτηκε ξανά στο vortex και τοποθετήθηκε στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου για 120 λεπτά. Το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο μετρήθηκε σε φασματοφωτόμετρο UV/Vis σε μήκος κύματος τα 750nm και ποσοτικοποιήθηκε με πρότυπο γαλλικού οξέος (Dimitrellou, 2020).



Διάγραμμα 2.1 Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος από 10-100μg/mL

2.7.2 ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Η μέθοδος της απορρόφησης ελεύθερων ριζών DPPH (2,2 διφαινυλο-1-πικρυλ-υδραζύλιο) προσδιορίστηκε με κάποιες αλλαγές. Αρχικά, σε falcon των 15mL τοποθετήθηκε εκχύλισμα γιαουρτιού-μήλου (Yogurt extraction), αραιώθηκε με απεσταγμένο νερό σε συνολικό όγκο 1,25mL, προστέθηκε 3,75mL διαλύματος αραιού DPPH, έγινε ανάδευση με vortex και τοποθετήθηκε στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά. Η απορρόφηση των ελεύθερων ριζών μετρήθηκε σε φασματοφωτόμετρο UV/Vis σε μήκος κύματος 515nm και ποσοτικοποιήθηκε με πρότυπο Trolox (Dimitrellou, 2020)

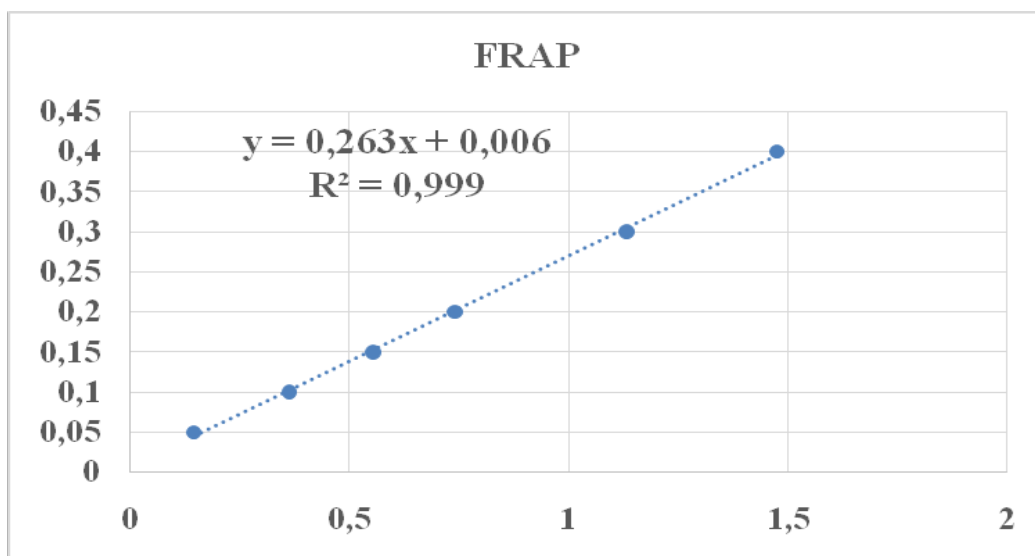


Διάγραμμα 2.2 Πρότυπη καμπύλη Trolox από 20-140 μM

2.7.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΜΕΙΩΣΗΣ ΣΙΔΗΡΟΥ

Η μέθοδος FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) προσδιορίστηκε με κάποιες αλλαγές. Αρχικά, σε falcon των 50mL τοποθετήθηκαν 3mL $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 0,3mL TPTZ, 0,3mL $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ και μεταφέρθηκε σε υδατόλουτρο στους 37°C για 4 λεπτά. Σε falcon των 15mL τοποθετήθηκε 0,4mL εκχύλισμα γιαούρτι-μήλο (Yogurt extraction) και

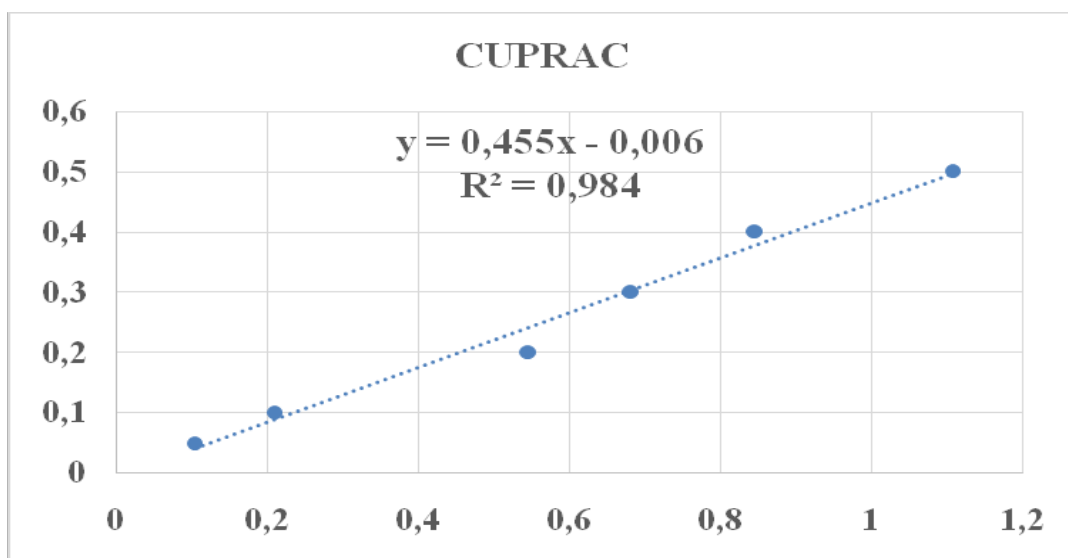
3,6mL από το διάλυμα FRAP, έγινε ανάδευση με vortex και ξανά τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο στους 37°C για 10 λεπτά. Η απορρόφηση μετρήθηκε σε φασματοφωτόμετρο UV/Vis σε μήκος κύματος 593nm και ποσοτικοποιήθηκε με πρότυπο Trolox και $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.



Διάγραμμα 2.3 Πρότυπη καμπύλη Trolox από 0,05-0,4 mM

2.7.4 ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΜΕΙΩΣΗΣ ΙΟΝΤΩΝ ΧΑΛΚΟΥ

Η μέθοδος CUPRAC (Cupric iron reducing antioxidant capacity) προσδιορίστηκε με κάποιες αλλαγές. Αρχικά, σε falcon των 15mL τοποθετήθηκε εκχύλισμα γιαούρτι-μήλο (Yogurt extraction), προστέθηκαν 1mL $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1mL Neocuproine, 1mL NH_4Ac και αραιώθηκε με απεσταγμένο νερό μέχρι συνολικό όγκο τα 4,1mL και παραμονή στο σκοτάδι για 30 λεπτά. Η απορρόφηση μετρήθηκε σε φασματοφωτόμετρο UV/Vis σε μήκος κύματος τα 450nm και ποσοτικοποιήθηκε με πρότυπο Trolox (Βαρδακαστάνη, 2022).

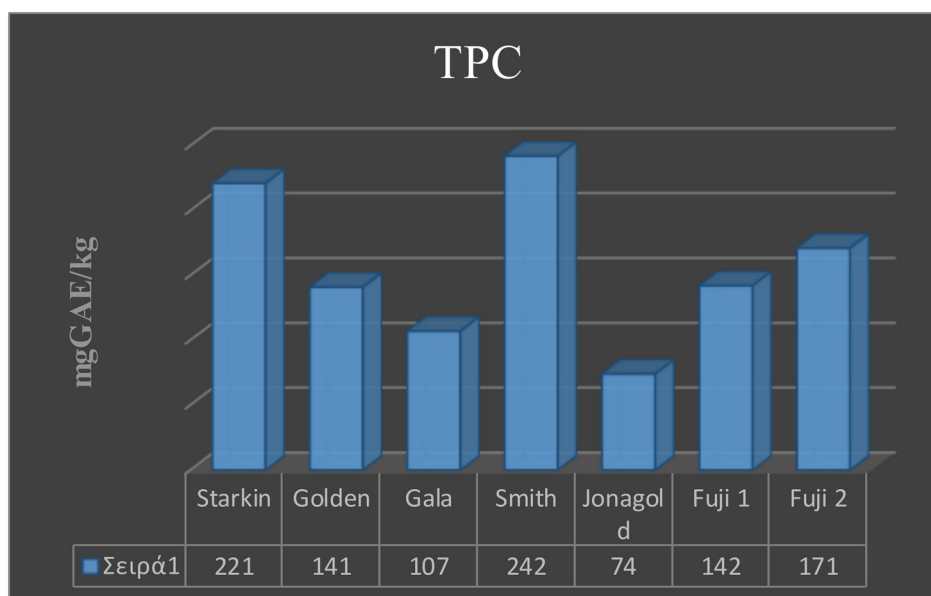


Διάγραμμα 2.4 Πρότυπη καμπύλη Trolox από 0,05-0,5 mM

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

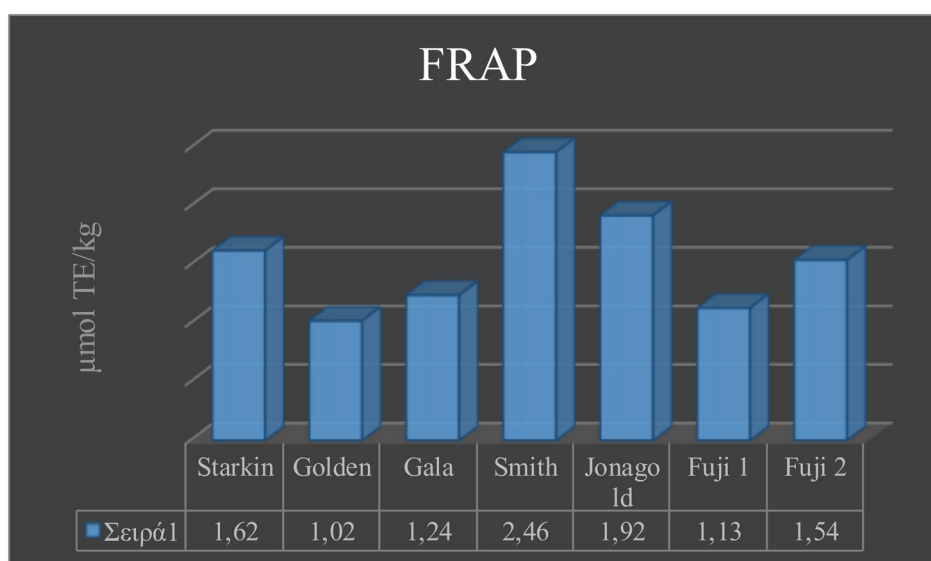
Στην παρακάτω ενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν μετά από την ανάλυση και επεξεργασία των δειγμάτων. Αρχικά, έγινε σύγκριση μεταξύ των διαφορετικών ποικιλιών μήλων ώστε να επιλεγθεί η καλύτερη ποικιλία σε σχέση με την αντιοξειδωτική δράση. Στην συνέχεια έγινε σύγκριση ανάμεσα στα διαφορετικά ποσοστά πούλπας μήλου που προστέθηκε στα γιαούρτια και στο δείγμα ελέγχου (control). Οι ανάλυση των γιαουρτιών έγιναν την 1,7,14,21 και 28 ημέρα αποθήκευσης. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση των δειγμάτων είναι το TPC, FRSA (DPPH), FRAP και CUPRAC.

Με βάση το διάγραμμα 1 (TPC) η ποικιλία με το μεγαλύτερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο είναι το Granny Smith και ακολουθεί με μικρή διαφορά η ποικιλία Starking. Αντίθετα, η ποικιλία με το μικρότερο TPC είναι η Jonagold, οι ποικιλίες Fuji και Golden παρουσίασαν παρόμοιες τιμές.



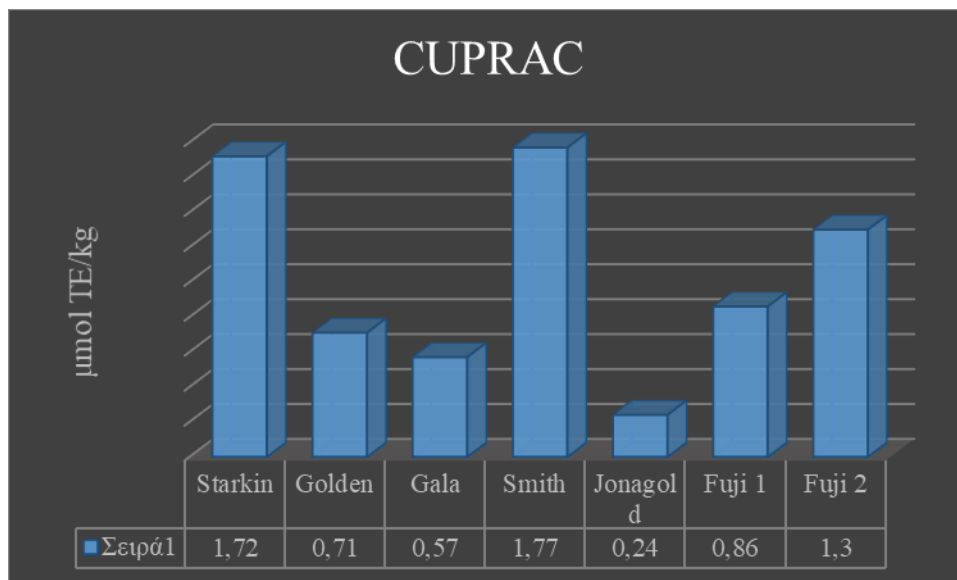
Διάγραμμα 4.1 Ανάλυση ποικιλιών μήλων με την μέθοδο TPC

Με βάση το διάγραμμα 2 (FRAP) η ποικιλία με την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση είναι η Granny Smith και ακολουθεί με μικρή διαφορά η Jonagold. Οι ποικιλίες με την μικρότερη αντιοξειδωτική δράση είναι η Golden και ακολουθεί Fuji 1 και Gala. Οι ποικιλίες με μέτρια αντιοξειδωτική δράση είναι η Fuji 2 και Starking.



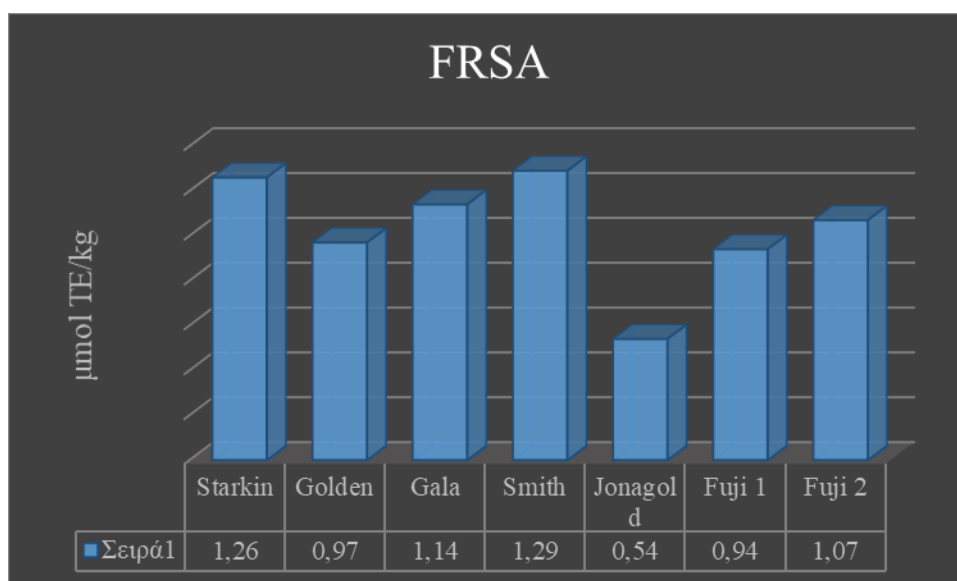
Διάγραμμα 4.2 Ανάλυση ποικιλιών μήλων με την μέθοδο FRAP

Με βάση το διάγραμμα 3 (CUPRAC) η ποικιλία με την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση είναι η Granny Smith και ακολουθεί με πολύ μικρή διαφορά η Starking. Οι ποικιλίες με την μικρότερη αντιοξειδωτική δράση είναι η Jonagold ακολουθούμενη από Gala και Golden.



Διάγραμμα 4.3 Ανάλυση ποικιλιών μήλων με την μέθοδο CUPRAC

Με βάση το διάγραμμα 4 (FRSA) η ποικιλία με την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση είναι η Granny Smith και ακολουθεί η Starking με πολύ μικρή διαφορά. Αντίθετα, η ποικιλία με την μικρότερη αντιοξειδωτική δράση είναι η Jonagold. Ακόμη, η ποικιλίες με μέτριες και πολύ παρόμοιες τιμές στην αντιοξειδωτική δράση είναι οι Golden με Fuji 1 και οι Fuji 2 με Gala .



Διάγραμμα 4.4 Ανάλυση ποικιλιών μήλων με την μέθοδο FRSA

Από τα παραπάνω τα διαγράμματα διαπιστώθηκε ότι και στις 4 μεθόδους ανάλυσης η ποικιλία με τα περισσότερα ολικά φαινολικά αλλά και αντιοξειδωτική δράση είναι η Granny Smith. Στις τρεις από τις τέσσερις μεθόδους ανάλυσης ακολουθεί η ποικιλία Starking ενώ η ποικιλία με τα λιγότερο αντιοξειδωτικά βάση τιμών είναι η Jonagold. Στις ενδιάμεσες τιμές είναι οι ποικιλίες Golden, Gala, Fuji 1 και Fuji 2. Οι ποικιλία που επιλέχθηκε όπως είναι αναμενόμενο είναι η Granny Smith, όπου θα ενσωματωθεί μέσα στα γιαούρτια σε διαφορετικά ποσοστά.

Ο πίνακας 1 (DPPH) παρουσιάζει την αντιοξειδωτική δραστηριότητα (δραστηριότητα απορρόφησης ριζών^{DPPH}) των γιαουρτιών που περιέχουν διαφορετικά ποσοστά πούλπας μήλου. Η χρήση διαφορετικών ποσοστών πούλπας μήλου μέσα στο γιαούρτι επηρέασε σημαντικά την δραστηριότητα απορρόφησης ριζών. Πιο συγκεκριμένα το control από την 1 ημέρα μέχρι την 28 ημέρα παρουσίασε αυξημένη αντιοξειδωτική δραστηριότητα. Αντίστοιχα στα γιαούρτια με πούλπα μήλου από YA5-YA15 είχανε και αυτά μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση την 28 ημέρα σε σχέση με την 1 ημέρα. Τώρα ανάμεσα στα ποσοστά πούλπας και του control, το γιαούρτι YA15 παρουσίασε την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα και ακολούθησαν το YA10, YA5 και τελευταίο το control όπως ήτανε αναμενόμενο.

μmol Trolox/kg		DPPH			
HMEPΣ	CONTROL	YA5	YA10	YA15	
1	23,0±1,0	25,0±1,2	28,4±0,8	31,1±1,3	
7	25,0±1,5	26,5±1,0	28,8±0,9	32,6±1,2	
14	26,0±2,0	28,2±1,3	32,0±1,2	34,7±1,0	
21	25,5±1,4	29,6±2,1	34,9±0,6	37,5±0,8	
28	28.2±1.2	32.6±1.6	35,8±1.6	38,3±1,2	

Ο πίνακας 2 (FRAP) παρουσιάζει την αντιοξειδωτική δράση των γιαουρτιών που περιέχουν διαφορετικά ποσοστά πούλπας μήλου. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και εδώ όπως την δραστηριότητα απορρόφησης ριζών ^{DPPH}. Συγκεκριμένα, ανάμεσα στις ημέρες τα γιαούρτια παρουσίασαν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση την 28 ημέρα σε σχέση με την 1 ημέρα και ανάμεσα στα ποσοστά πούλπας μήλου μέσα στα γιαούρτια το YA15 είχε την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση με ακόλουθα εκείνα του YA10, YA5 και τελευταίο το control. Η αντιοξειδωτική δραστηριότητα και στις δύο μεθόδους εκφράστηκε ως $\mu\text{mol Trolox/kg}$.

$\mu\text{mol Trolox/kg}$	FRAP			
HMEPEΣ	CONTROL	YA5	YA10	YA15
1	150,5±9,6	159,4±15,7	170,0±6,2	168,8±2,3
7	157,2±1,1	178,5±5,3	172,8±0,6	163,5±2,9
14	163,0±11,0	177,4±0,7	171,7±3,1	176,1±1,7
21	153,9±1,9	169,1±5,2	215,4±4,0	215,7±9,6
28	153,7±10,6	193,0±9,4	224,2±7,8	274,9±8,3

Ο πίνακας 3 (TPC) παρουσιάζει το ολικό φαινολικό περιεχόμενο. Όπως και στις δύο προηγούμενες μεθόδους ανάλυσης της αντιοξειδωτικής ικανότητας, τα αποτελέσματα είναι παρόμοια. Συγκεκριμένα, ανάμεσα στις ημέρες τα γιαούρτια παρουσίασαν μεγαλύτερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο την 28 ημέρα σε σχέση με την 1 ημέρα. Αντίστοιχα, ανάμεσα στα διαφορετικά ποσοστά πούλπας μήλου που περιέχουν μέσα τα γιαούρτια το YA15 έχει το μεγαλύτερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο και

ακολουθούν τα YA10, YA5 και τελευταίο το control. Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκφράζεται ως mg/100g

mg/kg	TPC			
HMEPEΣ	CONTROL	YA5	YA10	YA15
1	19,8±2,3	21,1±2,7	22,9±2,4	23,2±2,3
7	18,1±2,1	21,1±2,2	23,1±1,0	23,1±1,0
14	24,2±2,7	25,1±2,0	25,7±2,6	27,6±0,5
21	24,8±1,6	26,1±1,1	26,9±2,7	28,5±0,9
28	26,9±1,4	30,3±2,7	31,7±1,7	32,6±2,1

Οι Jisoo kim, Moonsook kim and Iisook choi (2023) μελέτησαν την αντιοξειδωτική ικανότητα του γιαουρτιού ενσωματωμένο με σιρόπι από πυρήνα μήλου σε διαφορετικά ποσοστά. Συγκεκριμένα το γιαούρτι με το μεγαλύτερο ποσοστό σιροπιού μήλου είχε τα περισσότερα ολικά φαινολικά και την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση και ακολουθούν τα υπόλοιπα ποσοστά με μικρότερο εκείνο του control. Αντίστοιχα αποτελέσματα είχε η παρούσα ερευνητική εργασία (Kim, 2023).

Άλλη μία έρευνα εξίσου σημαντική είναι από τους Xinya, Eleana, Gisele (2020) που μελέτησαν την προσθήκη πυρήνα μήλου σε γιαούρτι. Παρόμοια αποτελέσματα παρουσίασαν οι δύο ερευνητικές εργασίες, καθώς το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) είναι μεγαλύτερο την 28 ήμερα σε σχέση με την 1 ημέρα αλλά και ανάμεσα στα ποσοστά (control, 1%, 2% και 3%), εκείνο με το μεγαλύτερο ποσοστό πυρήνας μήλου είχε τα περισσότερα ολικά φαινολικά, όπως ακριβώς και η παρούσα ερευνητική εργασία (Wang, 2020).

Οι Arjmand et al. μελέτησαν γιαούρτι με χυμό ροδιού Αυστραλίας ενσωματωμένο σε διάφορες συγκεντρώσεις (9, 13, 17, 20%). Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC)

ήτανε υψηλότερο στα γιαούρτια με χυμό ροδιού σε σχέση με το control, όπως και στην τρέχουσα μελέτη με την πούλπα μήλου (Qureshi, 2017).

Οι Tatiana και Viorica (2020) μελέτησαν την αντιοξειδωτική ικανότητα του γιαουρτιού με διάφορα φρούτα. Συγκεκριμένα χρησιμοποίησε τα φρούτα αρώνια, ροδάκινο, μούρα, φράουλες και μήλου. Το μεγαλύτερο φαινολικό περιεχόμενο το είχε το γιαούρτι με φρούτα από αρώνια (μετρούμενο με ισοδύναμα γαλλικού οξέος) και ακολουθούν εκείνα με το ροδάκινο, του μήλου, της φράουλας, των μούρων και τέλος του control. Σε σύγκριση με την τρέχουσα μελέτη το φρούτο αρώνια έχει μεγαλύτερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με το μήλο, όμως η διαφορά τους είναι πολύ μικρή, ακόμη τα γιαούρτια που περιείχαν φρούτα είτε μήλου, είτε αρώνια είχαν υψηλότερο ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με το control (Cuşmenco, 2020).

Οι Zainoldin και Baba μελέτησαν την αντιοξειδωτική δράση (DPPH) γιαουρτιού με φρούτα δράκου. Τα φρούτα δράκου (λευκά και κόκκινα) εμπλουτίστηκαν στα γιαούρτια σε διάφορες συγκεντρώσεις (10, 20, 30%). Η αντιοξειδωτική δράση (DPPH) των γιαουρτιών με φρούτα δράκου ήταν μεγαλύτερη από το control. Αντίστοιχα στην τρέχουσα εργασία τα γιαούρτια μήλου είχαν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με το control (Qureshi, 2017).

Οι Amal et al μελέτησαν την αντιοξειδωτική δράση και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο γιαουρτιών που περιέχουν τα φρούτα παπάγια και κάκτο αχλαδιού. Τα φρούτα εμπλουτίστηκαν στα γιαούρτια σε διάφορες συγκεντρώσεις (5, 10, 15%). Η αντιοξειδωτική δράση αλλά και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των γιαουρτιών παπάγια και κάκτου αχλαδιού ήτανε μεγαλύτερο σε σχέση με το control. Ακόμη, τα γιαούρτια που περιείχαν 15% είχανε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα και ολικά

φαινολικά σε σχέση με το 10% και 5%. Αντίστοιχα αποτελέσματα είχε και η τρέχουσα εργασία όπου τα γιαούρτια με το 15% είχαν την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα και ολικά φαινολικά αλλά και τα γιαούρτια που περιείχαν πούλπα μήλου ήταν υψηλότερα σε σχέση με το control (Amal, 2016).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αντιοξειδωτικά μετρήθηκαν με 4 μεθόδους ανάλυσης οι οποίες είναι η TPC, FRSA, FRAP και CUPRAC. Αρχικά, λαμβάνοντας το εκχύλισμα των 6 διαφορετικών ποικιλιών μήλου συγκρίθηκαν για να αξιολογηθεί πια ποικιλία έχει τα περισσότερα αντιοξειδωτικά. Βάση διαγραμμάτων διαπιστώθηκε ότι η Granny Smith έχει τα περισσότερα αντιοξειδωτικά εφόσον και στις 4 μεθόδους ανάλυσης ήταν αυτό που είχε την μεγαλύτερη τιμή. Οι ποικιλίες που ακολούθησαν με μικρή διαφορά είναι η Starking και η Gala. Εφόσον επιλέχθηκε η καλύτερη ποικιλία κατά την παραγωγή γιαουρτιού δημιουργήθηκαν γιαούρτια τα οποία περιείχαν διαφορετικά ποσοστά πούλπα μήλου. Οι συγκεντρώσεις ήταν 0% (control), YA5%, YA10%, YA15% και αναλύθηκαν την 1,7,14,21,28 ημέρα. Το γιαούρτι με ποσοστό YA15% είχε τις μεγαλύτερες τιμές και στις 4 μεθόδους ανάλυσης και ακολουθούσαν τα YA10%, YA5% και τελευταίο το control. Επίσης, όλα τα γιαούρτια είχαν περισσότερα αντιοξειδωτικά την 28 ημέρα σε σχέση με την 1 ημέρα. Ο συνδυασμός πούλπα μήλου με γιαούρτι για την βελτίωση της αντιοξειδωτικής δράσης και γενικότερα των λειτουργικών χαρακτηριστικών πραγματοποιήθηκε με επιτυχία, ωστόσο απαιτείται περισσότερη έρευνα για την αξιολόγηση της επίδρασης στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού και την αποδοχή του από τους καταναλωτές.

ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Amal, A. M. (2016, Μαΐος). Fruit Flavored Yoghurt: Chemical, Functional and Rheological Properties. *International Journal of Environmental & Agriculture Research*.
- Anu Rahal, A. K. (2014, Ιανουάριος 23). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed Research International*.
- Aqil F, G. A. (2012). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Anthocyanin/Ellagitannin-Enriched Extracts From *Syzygium cumini* L. (Jamun, the Indian Blackberry). *Nutrition and Cancer*, σσ. 428-438.
- Arnous Anis, D. P. (2002, Δεκέμβριος). Correlation of Pigment and Flavanol Content with Antioxidant Properties in Selected Aged Regional Wines from Greece. *Journal of food composition and analysis*, σσ. 655-665.
- Ashadevi Dolas, S. G. (2015). The health benefits and risks of Antioxidants. *Pharmacophore*.
- Aviram, J. V. (2001). Nutritional Antioxidants Mechanisms of Action, Analyses of Activities and Medical Applications. *Current Medicinal Chemistry - Immunology, Endocrine & Metabolic Agents*.
- Becker, B. F. (1993). Towards the physiological function of uric acid. *Free Radical Biology & Medicine*, σσ. 615-631.
- Boyer J., R. H. (2003). Antioxidants of Apples. *New York Fruit Quarterly* , 11-15.
- Boyer J., R. H. (2004, Μάιος 12). Apple Phytochemicals and their health benefits . *Nutrition Journal* .
- Brigelius-Flohé Regina, M. M. (2013). Glutathione peroxidases. *Biochimica et Biophysica Acta*, σσ. 3289-3303.
- Carocho Márcio, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, σσ. 15-25.
- Clinton Steven K, G. E. (2020, Απρίλιος). The World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research Third Expert Report on Diet, Nutrition, Physical Activity, and Cancer: Impact and Future Directions. *The Journal of Nutrition*, σσ. 663-671.
- Codex Alimentarius. (2010). Standard for Fermented Milks.
- Concepción Sánchez-Moreno, J. A.-C. (1999, Μάρτιος 26). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, σσ. 270-276.
- Cuşmenco Tatiana, V. B. (2020, Μάρτιος 30). Quality characteristics and antioxidant activity of goat milk yogurt with fruits. *Food Technology*, σ. 13.
- Dairy Consultant. (2013). Dairy Science Information.
- Damodaran Srinivasan, K. L. (2017). *Fennema's Food Chemistry*. CRC Press.
- Deeth H.C., A. T. (1981). Yogurt: Nutritive and Therapeutic Aspects. *Journal of Food Protection*, σσ. 78-86.
- DeLeon Eric R, Y. G. (2016). A case of mistaken identity: are reactive oxygen species actually reactivexulfide species? *America Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*.
- Dimitrellou Dimitra, S. N. (2020, Αύγουστος 21). Yogurts Supplemented with Juices from Grapes and berries. *foods*, σ. 9.

- Elzebroek, A., & Wind, K. (2008). *Guide to Cultivated Plants*.
- Fereidoon Shahidi, P. A. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects. *Journal of functional foods*, σσ. 820-897.
- Galaris Dimitrios, K. P. (2008, Οκτώμβριος 10). Oxidative Stress and Iron Homeostasis: Mechanistic and Health Aspects. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, σσ. 1-23.
- Halliwell Barry, J. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.
- Hamid A.A, O. A. (2010, Αύγουστος). Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, σσ. 142-151.
- Hernández-Ruiz, M. B. (2006, Μάρτιος 15). The Physiological Function of Melatonin in Plants. *Plant Signaling & Behavior* 2006, σσ. 89-95.
- Khan, I. N. (2019, Φεβρουάριος 4). Antioxidants properties of Milk and dairy products: a comprehensive review of the current knowledge. *Lipids Health Dis.*
- Kim Jisoo, M. K. (2023, Απρίλιος 29). Physicochemical Characteristics, Antioxidant Properties and consumer acceptance of greek yogurt fortified with apple pomace syrup. *Foods*.
- Lee. W. J., a. J. (2010, Σεπτέμβριος). Formation and Physical Properties of Yoghurt. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, σσ. 1127-1136.
- Lobo v., A. P. (2010, Οκτώμβριος). Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health. *Pharmacognosy Reviews*, σσ. 118-126.
- McKinley Michelle, C. (2005). The nutrition and health benefits of yoghurt. *The Dairy Council*.
- Oberley, T. O. (1997). Antioxidant enzyme levels in cancer. *Στο Histology and Histopathology* (σσ. 525-535).
- Oroian, M. &. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, σσ. 10-36.
- Özyürek Mustafa, K. G. (2011). The main and modified Cuprac methods of antioxidant measurement. *Στο TrAC Trends in Analytical Chemistry* (σσ. 652-664).
- Pastore Anna, G. F. (2003, Ιούλιος 1). Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clinica Chimica Acta*, σσ. 19-39.
- Pinchuk I., H. S. (2012). Evaluation of antioxidants: Scope, limitations and relevance of assays. *Στο Chemistry and Physics of Lipids*.
- Prado de Oliveira Erick, R. C. (2012, Απρίλιος 4). High plasma uric acid concentration: causes and consequences. *Diabetology & Metabolic Syndrome*.
- Pulido Raquel, L. B.-C. (2000, Ιούλιος 15). Antioxidant Activity of Dietary Polyphenols As Determined by a Modified Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay. *Journal of agricultural and food chemistry*, σσ. 3396-3402.
- Qureshi Tahir Mahmood, M. N.-u.-R. (2017). Antioxidant potential of natural fruit flavored yogurt. *Journal of Agricultural Research*, σσ. 85-99.
- Ramesh C. Chandan, A. K. (2013). *Manufacturing Yoghurt and Fermented Milks*. Willey Blackwell Publishers.
- Rizvi, K. B. (2009, Ιούλιος 13). Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- Rychter Anna Maria, S. H.-K. (2022). Antioxidant effects of vitamin E and risk of cardiovascular disease in women with obesity - A narrative review. *Clinical Nutrition*, σσ. 1557-1565.

- Shah. Nagendra P. (2003). The Product and its Manufacture. Στο Nagendra P. Shah., *Encyclopedia of Food Science and Nutrition* (σσ. 6252-6259). Λονδίνο: Academic Press.
- Shah. Nagendra P. (2013). Health Benefits of Yoghurt and Fermented Milks. Στο Nagendra P. Shah., *Manufacturing Yoghurt and Fermented Milks*. Blackwell Publishing.
- Shalady, E. A. (2013). Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*.
- Tamine A. Y., a. R. (1999). *Yoghurt, Science and Technology*. Woodhead Publishing Limited.
- Vainio, H. (1999, Σεπτέμβριος 1). Chemoprevention of cancer: a controversial and instructive story. *British medical bulletin*, σσ. 593-599.
- Valko M., C. R. (2006, March 10). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, σσ. 1-40.
- Wang Xinya, E. K. (2020, Μάρτιος). Adding apple pomace as a functional ingredient in stirred-type yogurt and yogurt drinks. *Food Hydrocolloids*.
- Weisburger, J. H. (2001, Οκτώμβριος). Chemopreventive Effects of Cocoa Polyphenols on Chronic Diseases. *Experimental Biology and Medicine*, σσ. 891-897.
- Wilhelm Stahl, H. S. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. Στο H. S. Stahl Wilhelm, *Molecular Aspects of Medicine* (σσ. 345-351).

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Βασιλακάκης Μ., Θ. Ι. (1990). *Μαθήματα ειδικής δένδροκομίας: Φυλλοβόλα οπωροφόρα δένδρα*. Θεσσαλονίκη: Αϊβαζής.
- Γιαννακοπούλου, Ε. (2009). Οξειδωτικό stress – αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί Κλινική σημασία. *Αρχεία ελληνικής ιατρικής*, σσ. 23-35.
- Δημητρέλλου Δήμητρα. (2022). Σημειώσεις μαθήματος - Επιστήμη και Τεχνολογία Γάλακτος. *Ιόνιο Πανεπιστήμιο - Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων*. Κεφαλονιά.
- ΕΚ. (2006). Κανονισμός (ΕΚ) ΑΡΙΘ. 1824/2006 του ευρωπαϊκού κανονισμού και του συμβουλίου σχετικά με τους ισχυρισμούς διατροφής και υγείας που διατυπώνονται στα τρόφιμα. *Επίσημη εφημερίδα της ευρωπαϊκής ένωσης*.
- Κοντολαΐμη Αντρη, Χ. Μ. (2022). Πτυχιακή εργασία. *Αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα και τρόπος επίδρασης στον ανθρώπινο οργανισμό*, σσ. 30-32.
- Κώδικας Τροφίμων και Ποτών. (2011). Άρθρο 82. *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης*.
- Κώδικας Τροφίμων και Ποτών. (2016). Μέρος Α', Τρόφιμα και Ποτά.
- Μάντης Αντώνιος Ι. (2000). *Υγιεινή και Τεχνολογία του Γάλακτος και των Προϊόντων του*. Αφοί Κυριακίδη.
- Παπαϊωάννου Γεωργία Μ. (2022). Επίδραση Καλλιεργειών στα Ποιοτικά Χαρακτηριστικά Αγελαδινού και Γιδινού Επιδορπίου Γιαουρτιού. *Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων - Τμήμα Χημείας*, σσ. 65-67.
- Ποντίκης, Κ. (1994). *Ειδική δένδροκομία, Μηλοδειδή*. Σταμούλης Α.Ε.
- Σωτηρόπουλος, Θ. (2014). Στο Σ. Έργο, *Μηλωειδή*. ΑγροΤυπος.
- Ταγκαλάκη, Ε. (2012). Μήλο: Δίνει σχήμα στο μέλλον - Η κόκκινη επανάσταση . *Agrenda*, 34-35.
- Τσιπουρίδης Κ., Α. Μ. (2000). *Τεχνική Έκθεση Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας - Ι.Φ.Δ. Πρόγραμμα FAIR 3898 και της Γ.Γ.ΕΤ. Καλαμάτα*.