

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΦΥΣΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΜΕ ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙ
ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΑΜΑΥΡΩΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

NATURAL ENZYMATIC BROWNING INHIBITORS FOR FOOD PRODUCTS

ΕΥΕΛΘΩΝ ΜΙΧΑΗΛ

**Επιβλέπων καθηγητής:
Δρ. Παναγιώτης Ζουμπουλάκης**

Αθήνα 2021

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος ΕΥΕΛΘΩΝ ΜΙΧΑΗΛ του ΜΙΧΑΛΑΚΗ, με αριθμό μητρώου ft15122 φοιτητής του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο Δηλών



Ευέλθων Μιχαήλ



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

«ΦΥΣΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΜΕ ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΕΝΖΥΜΙΚΗΣ ΑΜΑΥΡΩΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ»

"NATURAL ENZYMATIC BROWNING INHIBITORS FOR FOOD PRODUCTS"

Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής συμπεριλαμβανομένου και του Εισηγητή:

Η πτυχιακή/διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι εξεταστική επιτροπή:

Όνοματεπώνυμο	Ιδιότητα	Υπογραφή
Δρ. Παναγιώτης Ζουμπουλάκης	Αναπληρωτής Καθηγητής	
Δρ. Βασιλεία Σινάνογλου	Καθηγήτρια	
Δρ. Ειρήνη Στρατή	Επίκουρη Καθηγήτρια	

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική μελέτη εκπονήθηκε στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής ως πτυχιακή εργασία για στο Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων κατά την διάρκεια του ακαδημαϊκού έτους 2020-2021.

Για την ολοκλήρωση της θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Παναγιώτη Ζουμπουλάκη που μου εμπιστεύθηκε την ανάθεση της πτυχιακής εργασίας, την άψογη συνεργασία και την πολύτιμη καθοδήγηση και βοήθεια που μου πρόσφερε καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησης αυτής της εργασίας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές που πλαισιώνουν την τριμελή επιτροπή, την καθηγήτρια Δρ. Βασιλεία Σινάνογλου και την επίκουρο καθηγήτρια Δρ. Ειρήνη Στρατή, για τον χρόνο που αφιέρωσαν στην ανάγνωση και παρουσίαση της διπλωματικής μου εργασίας.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου και όλους όσους με στήριξαν και μου πρόσφεραν ψυχολογική στήριξη κατά την διάρκεια της συγγραφής αυτής της πτυχιακής εργασίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Βασικό αντικείμενο της μελέτης της παρακάτω εργασίας είναι η χρήση φυσικών συστατικών για τον έλεγχο και περιορισμό της ενζυμικής αμαύρωσης σε τρόφιμα. Ο σκοπός της εργασίας είναι να αναζητηθούν από την βιβλιογραφία φυσικά συστατικά, απομονωμένα ή εκχυλίσματα, που έχουν ανασταλτική δράση έναντι της αμαύρωσης των τροφίμων. Αρχικά παρατίθενται γενικές πληροφορίες για να κατανοήσει ο αναγνώστης τι είναι η ενζυμική αμαύρωση, ποιος είναι ο μηχανισμός που οδηγεί στην εμφάνιση της και ποια συστατικά του τροφίμου λαμβάνουν μέρος στην ολοκλήρωση της ενζυμικής αμαύρωσης. Στην συνέχεια περιγράφονται οι διάφορες μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί για τον έλεγχο και περιορισμό της ενζυμικής αμαύρωσης και ποιο νομοθετικό πλαίσιο καθορίζει την χρήση των διαφόρων ουσιών που είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν. Επιπλέον γίνεται αναφορά στις επικρατούσες τάσεις κατά της ενζυμικής αμαύρωσης με την χρήση φυσικών συστατικών και τους λόγους που οδήγησαν σε αυτές τις τάσεις. Έπειτα παρατίθενται αναλυτικά τα αποτελέσματα της έρευνας που έγινε στην βιβλιογραφία για την χρήση των φυσικών συστατικών ως αναστολείς των ενζύμων που εμπλέκονται στην ενζυμική αμαύρωση. Έχουν εντοπιστεί μελέτες πάνω σε είκοσι τρεις διαφορετικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν ως τέτοιοι αναστολείς. Ακολούθως έγινε ταξινόμηση των αποτελεσμάτων των φυσικών συστατικών, περιγράφοντας τον τρόπο δράσης τους, τις φυσικές ουσίες που περιέχουν και το τρόφιμο πάνω στο οποίο έγινε η μελέτη. Τέλος γίνεται διάκριση των φυσικών συστατικών ανά κατηγορία, δομή και ανασταλτική δράση.

ABSTRACT

The main object of study of the following work is the use of natural inhibitors to control and reduce the enzymatic browning in food. The purpose of this work is to search from the literature for natural ingredients, isolated or extracts, which have an inhibitory effect against the enzymatic browning of food. Initially general information is provided for the reader to understand what enzymatic browning is, what is the mechanism that leads to its appearance and which food substances take part in the completion of enzymatic browning. Next the various methods developed to control and reduce enzyme browning are described as well as the legal framework governing the use of the various substances that may be used. In addition, reference is made to the prevailing trends against enzymatic browning with the use of natural inhibitors and the reasons that led to these trends. Then the results of the research done in the literature on the use of natural ingredients as inhibitors of enzymes involved in enzymatic browning are presented in detail. Studies have identified twenty-three different substances used as such inhibitors. Furthermore the results of the natural ingredients were classified, describing how they work, the natural substances they contain and the food on which the study was performed. Finally, the natural components are classified by category, structure and inhibitory action.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες	4
Περίληψη	5
Abstract	6
Κατάλογος Σχημάτων / Κατάλογος Πινάκων	13
1. Εισαγωγή	14
1.1 Ορολογία	14
2. Αμαύρωση τροφίμων	15
2.1 Μη ενζυμική αμαύρωση	16
2.1.1 Αντιδράσεις Maillard	16
2.1.2 Καραμελοποίηση των σακχάρων	16
2.1.3 Οξείδωση του ασκορβικού οξέως	17
2.2 Ενζυμική αμαύρωση	17
3. Πολυφαινόλες τροφίμων	17
3.1 Τι είναι φαινολικές ενώσεις	17
3.2 Δράση πολυφαινολικής οξειδάσης	22
3.3 Μηχανισμός ενζυμικής αμαύρωσης	24
3.4 Χημικές αντιδράσεις τυροσινάσης	26
4. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της ενζυμικής αμαύρωσης	28
5. Έλεγχος και περιορισμός ενζυμικής αμαύρωσης	29
5.1 Αναστολή της δραστηριότητας της τυροσινάσης	30

5.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την ενζυμική αμαύρωση	31
6. Μέθοδοι περιορισμού της ενζυμικής αμαύρωσης	31
6.1 Φυσικές μέθοδοι	32
6.1.1 Θέρμανση/ζεμάτισμα	32
6.1.2 Ψύξη, κατάψυξη	33
6.1.3 Αποκλεισμός του οξυγόνου	33
6.1.4 Ακτινοβόληση	33
6.1.5 Υπέρηχοι, μικροκύματα	34
6.2 Χημικές μέθοδοι	34
6.2.1 Χρήση διοξειδίου του θείου και θειωδών αλάτων	35
6.2.2 Χηλικοί παράγοντες	36
6.2.3 Χρήση οξέων και δημιουργία όξινου περιβάλλοντος	36
6.2.4 Αντιοξειδωτικοί παράγοντες	36
6.2.5 Τροποποίηση του υποστρώματος (μεθυλίωση)	37
6.3 Άλλες μέθοδοι	37
6.3.1 Γενετικές μεταλλάξεις	37
6.3.2 Χρήση φυσικών συστατικών με ανασταλτική δράση	37
6.3.3 Χρήση εξειδικευμένων αναστολέων	38
6.3.4 Υπερ-ψηλή πίεση (high pressure treatment HPT)	39
7. Δείκτης αμαύρωσης	39
8. Νομοθετικό πλαίσιο	40

9. Επικρατούσες τάσεις στην ανάπτυξη παραγόντων κατά της ενζυμικής αμαύρωσης	41
10. Φυσικά συστατικά ως αναστολείς των ενζύμων που εμπλέκονται στην ενζυμική αμαύρωση	42
10.1 Κρεμμύδι	43
10.1.1 Εκχύλισμα κρεμμυδιού θερμικά επεξεργασμένο	43
10.1.2 Επίδραση εκχυλίσματος κρεμμυδιού στην ενζυμική αμαύρωση ζεσταμένου χυμού μήλου	44
10.1.3 Υπολείμματα κρεμμυδιού ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης.....	44
10.1.4 Επίδραση θερμαινόμενου κρεμμυδιού στην ενζυμική αμαύρωση της κολοκασίας (ταρό)	45
10.1.5 Επίδραση θερμαινόμενου κρεμμυδιού στην ενζυμική αμαύρωση της μπανάνας	45
10.1.6 Επίδραση θερμαινόμενου κρεμμυδιού στην ενζυμική αμαύρωση του αχλαδιού	46
10.1.7 Επίδραση θερμαινόμενου και φρέσκου κρεμμυδιού στην ενζυμική αμαύρωση της πιπερόριζας	46
10.1.8 Επίδραση θερμαινόμενου εκχυλίσματος κρεμμυδιού, κόκκινης πιπεριάς και ανανά στην ενζυμική αμαύρωση της πιπερόριζας	46
10.1.9 Επίδραση κρεμμυδιού, μήλου και μανταρινιού στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου	47
10.1.10 Επίδραση μελιού, ανανά, κόκκινης πιπεριάς και κρεμμυδιού στην ενζυμική αμαύρωση γλυκοπατάτων	48
10.2 Το μέλι ως αναστολέας της ενζυμικής αμαύρωσης	48

10.2.1	Επίδραση του μελιού στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου και χυμού σταφυλιού	49
10.2.2	Ο ρόλος της προέλευσης του μελιού στην ανασταλτική δράση έναντι της αμαύρωσης	50
10.2.3	Επίδραση του μελιού στην ενζυμική αμαύρωση των σταφίδων	51
10.2.4	Επίδραση του μελιού στην ενζυμική αμαύρωση χυμού μήλου	51
10.2.5	Επίδραση του μελιού στην ενζυμική αμαύρωση μανιταριών	51
10.3	Εκχυλίσματα φράουλας ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης	51
10.4	Ο ανανάς ως αναστολέας της ενζυμικής αμαύρωσης	52
10.4.1	Επίδραση χυμού ανανά στην ενζυμική αμαύρωση μπανάνας	52
10.4.2	Επίδραση χυμού ανανά στην ενζυμική αμαύρωση μήλου	53
10.4.3	Επίδραση εκχυλίσματος ανανά στην ενζυμική αμαύρωση μήλων... ..	53
10.4.4	Επίδραση χυμού ανανά στην ενζυμική αμαύρωση φρέσκων και αποξηραμένων μήλων	53
10.4.5	Επίδραση εκχυλίσματος στελέχους ανανά έναντι της αμαύρωσης... ..	54
10.4.6	Επίδραση χυμού λεμονιού και ανανά στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου	54
10.4.7	Επίδραση χυμού ανανά, εκχυλίσματος φλοιού ανανά και πίτουρου ρυζιού σε τεμάχια και πολτό μπανάνας	54
10.5	Χυμοί εσπεριδοειδών ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης	55
10.5.1	Επίδραση εκχυλίσματος φλούδας εσπεριδοειδών στην ενζυμική αμαύρωση μήλων	55
10.6	Επίδραση πιπερόριζας και φλοιού κανέλας στην ενζυμική αμαύρωση εξωτικών	

φρούτων	56
10.7 Εκχύλισμα γκουάβα ως αναστολέας της ενζυμικής αμαύρωσης	56
10.8 Επίδραση εκχυλισμάτων φυσικού λαχάνου και κολοκασίας στην ενζυμική αμαύρωση μήλων.....	57
10.9 Εκχυλίσματα φύλλων τσαγιού ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης	58
10.10 Χυμός μοσχολέμονου (lime), πιπερόριζα, γιαούρτι (curd) – επίδραση σε χυμό ζαχαροκάλαμου	60
10.11 Το πίτουρο ρυζιού ως αναστολέας της ενζυμικής αμαύρωσης	60
10.11.1 Επίδραση εκχυλίσματος πίτουρου ρυζιού στην ενζυμική αμαύρωση πουρέ πατάτας	60
10.11.2 Επίδραση εκχυλίσματος πρωτεϊνών πίτουρου ρυζιού στην ενζυμική αμαύρωση πολτού πατάτας	61
10.11.3 Ο ρόλος της περιεκτικότητας σε λιπαρά εκχυλίσματος πίτουρου ρυζιού στην ενζυμική αμαύρωση πατατών και μήλου	61
10.11.4 Επίδραση εκχυλίσματος πίτουρου ρυζιού στην δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης σε πατάτες και μπανάνες	62
10.12 Επίδραση εκχυλισμάτων πικάντικων βοτάνων στην ενζυμική αμαύρωση σε λαχανάκια	62
10.13 Το σταφύλι και τα υποπροϊόντα του ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης	63
10.13.1 Επίδραση εκχυλίσματος σπόρων σταφυλιού στην δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης σε φρέσκο κομμένο μαρούλι	63
10.13.2 Επίδραση εκχυλίσματος φύλλων σταφυλιού στην αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης σε μαρούλι	63

10.13.3 Τα άγουρα σταφύλια ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης....	64
10.14 Επίδραση φύλλων βασιλικού και εκχυλίσματος πίτουρου σίτου στην ενζυμική αμαύρωση μαρουλιού	64
10.15 Βότανα και μπαχαρικά ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης	65
10.16 Μελέτη επιλεγμένων φυτικών εκχυλισμάτων στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου	65
10.17 Επίδραση 60 φυτικών εκχυλισμάτων στην ενζυμική αμαύρωση σε πατάτες και μανιτάρια	68
10.18 Μελέτη της αναστολής της δραστηριότητας της τυροσινάσης από εκχυλίσματα μίσχου ρόδου και περικάρπιου ροδιού	72
10.19 Επίδραση εκχυλίσματος φιστικιού (Αιγίνης) στην ενζυμική αμαύρωση μανιταριών	72
10.20 Επίδραση φλούδας ντομάτας στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου.....	73
10.21 Θερμαινόμενα φυσικά συστατικά	73
10.21.1 Θερμαινόμενα φυτικά εκχυλίσματα ως φυσικοί αναστολείς – περίπτωση αντίδρασης Maillard	74
10.21.2 Επίδραση θέρμανσης σε ζεσταμένο χυμό μήλου στην ενζυμική αμαύρωση	74
10.22 Φυσικές ενώσεις που περιέχουν θείο	74
10.23 Αναστολείς μεικτού τύπου	75
11. Ταξινόμηση αποτελεσμάτων	75
12. Αναλύσεις – συμπεράσματα	76
13. Διάκριση φυσικών συστατικών ανά κατηγορία, δομή και ανασταλτική δράση	81
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	84

Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 1: Κατηγορίες φαινολικών ουσιών που απαντώνται σε φρούτα και λαχανικά	19
Σχήμα 2: Αντιδράσεις που καταλύονται από την φαινολική οξειδάση	22
Σχήμα 3: Πρώτο στάδιο ενζυμικής αμαύρωσης, η υδροξυλίωση μονοφαινόλης σε διφαινόλη	25
Σχήμα 4: Δεύτερο στάδιο ενζυμικής αμαύρωσης, οξειδωση της διφαινόλης σε κινόνες....	25
Σχήμα 5: Διάγραμμα ενζυμικής αμαύρωσης χρησιμοποιώντας την τυροσίνη ως υπόστρωμα για το ένζυμο φαινολοξειδάση	27
Σχήμα 6: Τα βήματα παραγωγής μελανίνης με υπόστρωμα το αμινοξύ τυροσίνη	28
Σχήμα 7: Μείωση της καταλυτικής δράσης των ενζύμων με την χρήση συναγωνιστικού αναστολέα	38
Σχήμα 8: Περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες για 16 είδη μελιού	49
Σχήμα 9: Η απλοποιημένη διαδικασία της ενζυμικής αμαύρωσης και των μηχανισμών αναστολής των φυσικών συστατικών που αναστέλλουν την ενζυμική αμαύρωση	83

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1: Φαινολικά συστατικά	22
Πίνακας 2: Επίδραση εκχυλισμάτων λαχάνου και κολοκασίας στην αναστολή της δράσης των ενζύμων που οδηγούν στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου	57
Πίνακας 3: Κατηγορίες επιλεγμένων φυτικών εκχυλισμάτων	66
Πίνακας 4: Επίδραση 60 φυτικών εκχυλισμάτων στην δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης σε πατάτα και της τυροσινάσης σε μανιτάρια	69
Πίνακας 5: Ταξινόμηση αποτελεσμάτων	76
Πίνακας 6: Διάκριση φυσικών συστατικών ανά κατηγορία, δομή, ανασταλτική δράση....	82

1. Εισαγωγή

Οι ενζυμικοί αναστολείς είναι ουσίες που επιβραδύνουν την καταλυτική δράση των ενζύμων. Παρόλο ότι τα ένζυμα βρίσκουν πάρα πολλές εφαρμογές στην βιομηχανία, τα αποτελέσματά τους στα τρόφιμα δεν είναι πάντα επιθυμητά. Επομένως ο έλεγχος της δράσης τους και ειδικότερα των ανεπιθύμητων ενεργειών τους είναι χρήσιμος και σε ορισμένες περιπτώσεις απαραίτητος. Οι ενζυμικοί αναστολείς είναι γενικά ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους και ταξινομούνται σε φυσικές ή ενδογενείς και σε χημικές ή τεχνηκές [1]. Επειδή οι φυσικοί αναστολείς απαντώνται σε ζωντανούς οργανισμούς, αναμένεται ότι η χρήση τους είναι πιο ευρέως αποδεκτή από τους καταναλωτές σε σχέση με τους αντίστοιχους χημικούς ή συνθετικούς αναστολείς.

1.1 Ορολογία

Ένζυμο: Βιομόριο, πρωτεΐνη ή RNA το οποίο καταλύει μια ειδική χημική αντίδραση. Δεν επηρεάζει την ισορροπία της αντίδρασης αλλά αυξάνει την ταχύτητα της παρέχοντας μια οδό αντίδρασης με χαμηλότερη ενέργεια ενεργοποίησης.

Ενζυμική Αμαύρωση: Η αλλαγή του χρώματος της επιφάνειας των φυτικών ιστών σε σκούρο χρώμα η οποία οφείλεται στην ενζυμική οξειδωση των φαινολικών ενώσεων των ιστών αυτών

Αναστολέας: Κάθε χημική ένωση που παρεμποδίζει την καταλυτική δράση των ενζύμων ελαττώνοντας την ταχύτητα της βιοχημικής αντίδρασης

Ανασταλτική δράση: Η δράση του αναστολέα επί του ενζύμου διακρίνεται σε:

Αντιστρεπτή: Η συναγωνιστική δράση του αναστολέα με το υπόστρωμα για το ενεργό κέντρο του ενζύμου. Κατά την αντιστρεπτή αναστολή της ενζυμικής δραστηριότητας οι αντιστρεπτοί αναστολείς προσδένονται στο ένζυμο μη δεσμικά ή δια μέσου ασθενών δεσμών.

Μη αντιστρεπτή: Η καταστροφή μιας λειτουργικής ομάδας ενός ενζύμου η οποία είναι απαραίτητη για την ενζυμική του ενεργότητα. Κατά την μη αντιστρεπτή

αναστολή της ενζυμικής δραστηριότητας οι αναστολείς προσδένονται στο ένζυμο σχηματίζοντας ισχυρούς δεσμούς και εμποδίζοντας την εκδήλωση της ενζυμικής δραστηριότητας για παρατεταμένη χρονική περίοδο.

Πολυφαινολική οξειδάση: Πρόκειται για ένζυμο τα οποία περιέχουν χαλκό και ανήκουν στην κατηγορία των οξειδοοξειδοκτασών. Περιλαμβάνει μεγάλο αριθμό ενζύμων που περιέχουν χαλκό. Έχουν την ικανότητα να επιδρούν επί των φαινολικών ενώσεων στην παρουσία οξυγόνου και να δημιουργούν σκουρόχρωμα σημεία στην επιφάνεια τεμαχισμένων ή κατεστραμμένες επιφάνειες φρούτων και λαχανικών. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται ενζυμική αμαύρωση.

Υπόστρωμα: Κάθε ουσία που με την δράση του ενζύμου μετασχηματίζεται καταλυτικά σε προϊόν.

Φαινολικές ενώσεις: Αρωματικές οργανικές ενώσεις οι οποίες αποτελούνται από ένα βενζολικό δακτύλιο ενωμένο με μια τουλάχιστον υδροξυλομάδα. Απαντώνται μεταξύ άλλων σε φρούτα, λαχανικά και ορισμένα θαλασσινά.

Φαινολικό υπόστρωμα: Το φυσικό υπόστρωμα του ενζύμου πολυφαινολική οξειδάση το οποίο αποτελείται από φαινολικές ενώσεις.

Φυσικό συστατικό: Συστατικό το οποίο παράγεται ή απαντάται στην φύση. Πρόκειται για χημική ένωση ή σύνολο χημικών ενώσεων που παράγονται από ένα ζωντανό οργανισμό. Περιλαμβάνονται τα εκχυλίσματα και οι χημικές ουσίες οι οποίες μπορούν να απομονωθούν από αυτά.

2. Αμαύρωση τροφίμων

Ένα φαινόμενο το οποίο απαντάται στα τρόφιμα και χρήζει ιδιαίτερης προσοχής και περιλαμβάνει την εμφάνιση κηλίδων ή περιοχών με σκούρο χρώμα – αμαύρωση - κατά την διάρκεια της επεξεργασίας τους ή της αποθήκευσης τους. Η εμφάνιση αυτού του χρώματος έχει διάφορες επιδράσεις στο τρόφιμο κυρίως στην εμφάνιση, στο άρωμα, στην γεύση, στην θρεπτική αξία και στην εμπορική εκμετάλλευση του τροφίμου. Μερικές φορές

η εμφάνιση αυτού του χρώματος είναι επιθυμητή, σε άλλες περιπτώσεις όμως είναι ανεπιθύμητη. Σε περιπτώσεις όπως η παρασκευή αρτοκατασκευασμάτων, καραμέλας και κόκκων κακάο ή καφέ, η αμαύρωση αυτή είναι επιθυμητή αφού προσδίδει στο προϊόν ελκυστική εμφάνιση, γεύση, υφή και άρωμα και το καθιστά προτιμητέο από τους καταναλωτές. Σε άλλες περιπτώσεις όμως όπως η αμαύρωση φρέσκων φρούτων και λαχανικών η αμαύρωση είναι ανεπιθύμητη και οδηγεί στην υποβάθμιση του προϊόντος.

Η αμαύρωση των τροφίμων διακρίνεται κυρίως σε δύο κύριες κατηγορίες [2].

- Μη ενζυμική αμαύρωση
- Ενζυμική αμαύρωση

2.1 Μη ενζυμική αμαύρωση

Η μη ενζυμική αμαύρωση αφορά τις περιπτώσεις αμαύρωσης τροφίμων στις οποίες δεν λαμβάνουν μέρος ένζυμα. Οι περιπτώσεις αυτές γίνονται στην παρουσία σακχάρων και ανάλογα με τον μηχανισμό της αντίδρασης που οδηγεί σε αμαύρωση, διακρίνονται στις πιο κάτω κατηγορίες [3]:

2.1.1 Αντιδράσεις Maillard

Ανακαλύφθηκαν το 1910 από τον Louis Camille Maillard και αφορούν αντιδράσεις μεταξύ ενός αμινοξέως και ενός σακχάρου στην παρουσία θερμότητας. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα μεταξύ ελεύθερων αμινομάδων από τα αμινοξέα, πεπτιδίων ή πρωτεϊνών και της καρβονυλομάδας αναγωγικών σακχάρων. Οι αντιδράσεις αυτές είναι υπεύθυνες για το χρώμα, το άρωμα, την γεύση και την οσμή των αρτοκατασκευασμάτων, του τσιγαρισμένου κρέατος, του καβουρδισμένου καφέ και των πλείστων φρυγανισμένων ή καβουρδισμένων τροφίμων. Επιταχύνεται σε μαγειρεμένα τρόφιμα και κατά την αντίδραση παρουσιάζονται κάποιες απώλειες σε αμινοξέα όπως η λυσίνη. Είναι επιθυμητή αντίδραση στην παρασκευή άρτου, σοκολάτας, κρέατος και καφέ, ενώ είναι ανεπιθύμητη αντίδραση στο μαγείρεμα των πατατών και στην σκόνη γάλακτος.

2.1.2 Καραμελοποίηση των σακχάρων

Η καραμελοποίηση απαντάται στα σάκχαρα όταν εκτεθούν σε ψηλές θερμοκρασίες, οπότε τα σάκχαρα συμπυκνώνονται, ισομεριώνονται και αφυδατώνονται και καταλήγουν στην αποικοδόμηση των σακχάρων στην απουσία αμινοξέων και πρωτεϊνών με αποτέλεσμα την αλλαγή στην γεύση οσμή και χρωματισμό του προϊόντος. Κατά την καραμελοποίηση σχηματίζονται ενεδιόλες και δικαρβονύλια. Το κύριο μειονέκτημα της καραμελοποίησης είναι εμφάνιση δυσάρεστης γεύσης καμένου ή πικρής γεύσης, ιδιαίτερα όταν η αντίδραση συνεχιστεί κάτω από μη ελεγχόμενες συνθήκες. Η αντίδραση επιδιώκεται όταν σαν αποτέλεσμα έχουμε την χαρακτηριστική γεύση και άρωμα της καραμέλας και βρίσκει εφαρμογή στην ζαχαροπλαστική.

2.1.3 Οξειδωση του ασκορβικού οξέος

Αφορά την αμαύρωση των χυμών και πολτών φρούτων που επιταχύνεται στην παρουσία αμινοξέων και με την αύξηση του pH. Το ασκορβικό οξύ αποσυντίθεται όταν εκτεθεί στον αέρα ή κάτω από συνθήκες οξειδωσης και δημιουργούνται ενδιάμεσα προϊόντα όπως διϋδροασκορβικό οξύ, 2,3-δικετογουλονικό οξύ ή 2-φουροϊκό οξύ με αποτέλεσμα την εμφάνιση καστανού χρώματος.

2.2 Ενζυμική αμαύρωση

Η ενζυμική αμαύρωση αφορά την αλλαγή του χρώματος της επιφάνειας των φυτικών ιστών σε σκούρο χρώμα όταν οι ιστοί αυτοί υποστούν κάποια αλλοίωση, όταν κοπούν, ξεφλουδιστούν, καταπονηθούν, παγώσουν ή πληγωθούν και ταυτόχρονα εκτεθούν στον αέρα. Η αλλοίωση αυτή πραγματοποιείται στην παρουσία οξυγόνου ή χαλκού και οφείλονται στην μετατροπή των φαινολικών ενώσεων των τροφίμων σε μελανίνες (σκουρόχρωμες πολυμερείς ενώσεις). Η αντίδραση υποβοηθείται από ένζυμα, τις φαινολάσες που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων φυτικών ιστών και που δρουν στο ανάλογο φαινολικό υπόστρωμα που βρίσκεται στο τρόφιμο [4], [5].

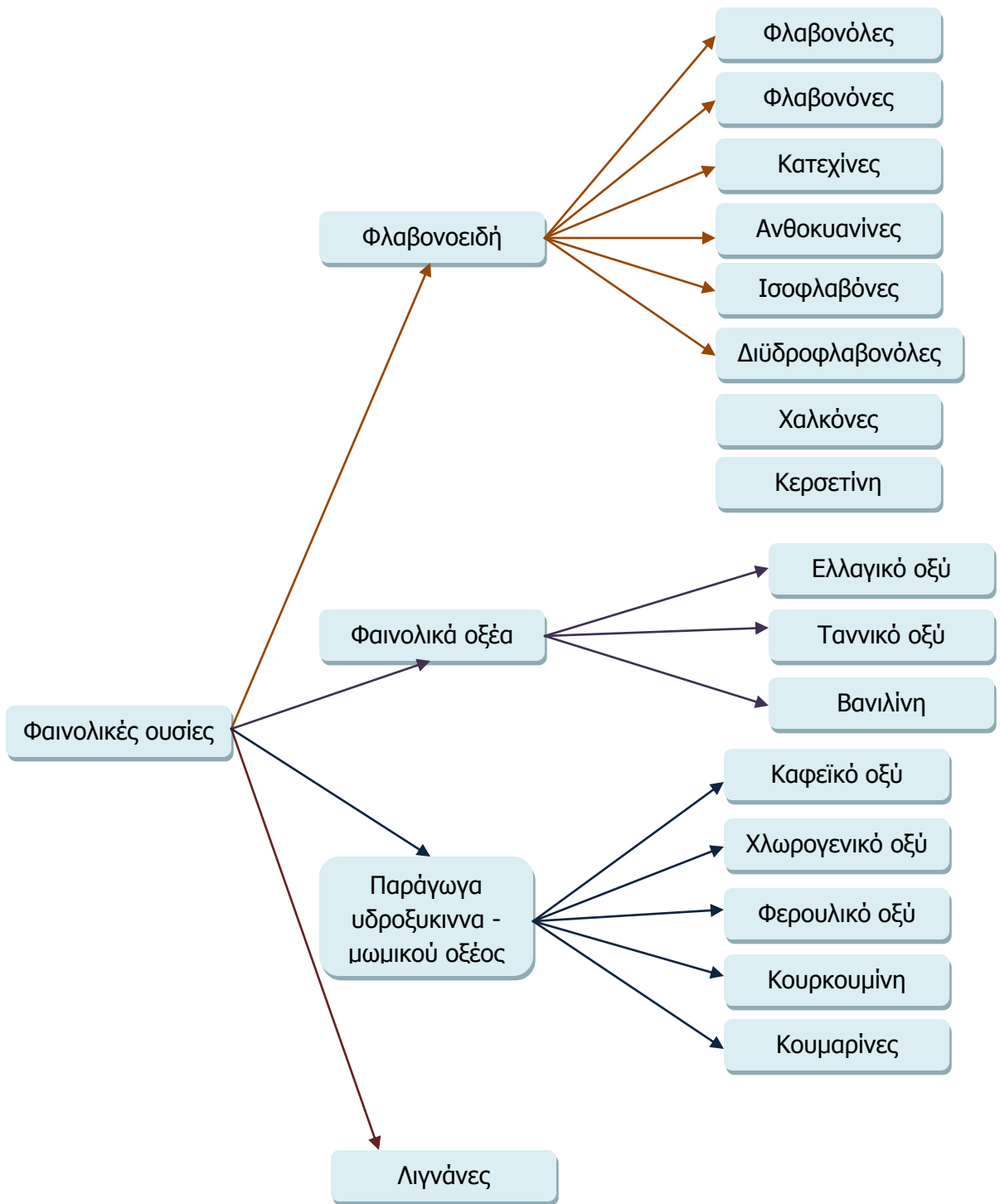
3. Πολυφαινόλες τροφίμων

3.1 Τι είναι οι φαινολικές ενώσεις

Οι φαινόλες είναι μια μεγάλη ομάδα οργανικών χημικών ενώσεων οι οποίες είναι ευρέως διαδεδομένες στην φύση. Πρόκειται για οργανικές αρωματικές ενώσεις οι οποίες αποτελούνται από ένα αρωματικό (βενζολικό) δακτύλιο στον οποίο συνδέεται άμεσα τουλάχιστον μια υδροξυλομάδα. Ο χημικός τύπος της φαινόλης είναι C_6H_6O ή C_6H_5OH . Οι φαινόλες αποτελούν την μεγαλύτερη ομάδα δευτερογενών μεταβολιτών στα φυτά, είναι δηλαδή χημικές ενώσεις με μικρό μοριακό βάρος οι οποίες παράγονται από τους οργανισμούς (κυρίως τα φυτά) χωρίς όμως να συμμετέχουν στην ανάπτυξη ή στην αναπαραγωγή του οργανισμού. Στην περίπτωση των φυτικών κυττάρων οι φαινολικές ενώσεις εντοπίζονται κυρίως στα χυμοτόπια.

Όταν έχουμε ένωση διαφόρων δομικών μονάδων φαινόλης, έχουμε τον σχηματισμό πολυφαινολών. Έχουν υψηλή διατροφική αξία [6] διότι συμβάλλουν στην αντιοξειδωτική ικανότητα του ανθρώπινου οργανισμού.

Οι πολυφαινόλες είναι χημικές ενώσεις των οποίων οι ιδιότητες εξαρτώνται από τον αριθμό και την δομή των φαινολικών μονάδων που τις αποτελούν και ως εκ τούτου διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες όπως φαίνεται στο σχήμα 1 [7]:



Σχήμα 1: Κατηγορίες φαινολικών ουσιών που απαντώνται σε φρούτα και λαχανικά [7]

Φλαβονοειδή: Διακρίνονται για τις αντιφλεγμονικές, αντιοξειδωτικές και αντικαρκινικές τους ιδιότητες και μειώνει τον κίνδυνο ζαχαρώδη διαβήτη. Τα φλαβονοειδή αποτελούν την πλειοψηφία των φαινολικών ουσιών σε ένα οργανισμό και απαντώνται στα φρούτα, λαχανικά, τσάι, καφέ, κακάο, και ελαιόλαδο. Οι κύριες κατηγορίες φλαβονοειδών που απαντώνται σε τροφές είναι [6] [7]:

- Φλαβονόλες: Κρεμμύδι, μπρόκολο, μήλο, κεράσι, μούρα, ροδάκινα, τσάι, κόκκινο κρασί, λάχανο, σταφύλια, πατάτες, ντομάτες, μαρούλι
- Φλαβονόνες: Εσπεριδοειδή (λεμόνια, μοσχολέμονα, πορτοκάλια, γκρέιπφρουτ)
- Κατεχίνες: Μήλο, τσάι
- Ισοφλαβόνες: Σόγια, όσπρια
- Ανθοκυανίνες: Πρόκειται για χρωστικές ουσίες οι οποίες απαντώνται στα φρούτα και σε αυτές οφείλεται το ερυθρό χρώμα στα ρόδια, σταφύλια, φράουλες, κεράσια και μούρα. Δίνουν τα διάφερα χρώματα στα άνθη, φρούτα και φύλλα και είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά.
- Χαλκόνες: Πρόκειται για κίτρινες χρωστικές ουσίες που απαντώνται σε βότανα και φυτά όπως γλυκόριζα, λυκίσκος, ντάλια
- Κερσετίνη: Ισχυρή αντιοξειδωτική ουσία που απαντάται σε πιπεριές, σπαράγγια, κεράσια, κόκκινα μήλα, ντομάτες, σταφύλι, λάχανο, μαρούλι, μούρα, τσάι.

Φαινολικά οξέα: Παρουσιάζουν αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή και αντικαρκινική δράση. Τα βρίσκουμε σε μήλα, κεράσια, ακτινίδια, φράουλες, κρεμμύδια, τσάι, καφέ, κόκκινο κρασί και δημητριακά. Τα φαινολικά οξέα διακρίνονται σε ελλαγικά οξέα, ταννίνες και βανιλίνες. Στα φαινολικά οξέα περιλαμβάνονται η τυροσίνη και η εστραδιόλη.

Παράγωγα του υδροξυκινναμωμικού οξέως: Διακρίνονται σε καφεϊκό οξύ, χλωρογενικό οξύ, φερούλικό οξύ, κουρκουμίνη και κουμαρίνες.

Λιγνάνες: Απαντώνται στα λάχανα, καρότα, πιπεριές, τσάι, ελαιόσπορους και δημητριακά.

Οι πολυφαινόλες είναι ουσίες οι οποίες απαντώνται σε μεγάλο αριθμό τροφίμων όπως τα λαχανικά, τα φρούτα, το τσάι, ο καφές, η σοκολάτα, τα δημητριακά και τα θαλασσινά. Οι έρευνες για τις διατροφική αξία των πολυφαινολών εντάθηκαν κατά τα τελευταία τριάντα χρόνια αφού είναι τα πιο ισχυρά αντιοξειδωτικά στην διατροφή και η πρόσληψη τους είναι πολύ ψηλότερη από τα άλλα είδη αντιοξειδωτικών ουσιών όπως η βιταμίνη C, η βιταμίνη E και τα καροτενοειδή τα οποία θεωρούνταν ως οι πλέον γνωστές αντιοξειδωτικές ουσίες μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του 1990. Πρόσφατες έρευνες απέδειξαν ότι η συμβολή της κατανάλωσης πολυφαινολών είναι πολύ σημαντική στην πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων, του καρκίνου, της οστεοπόρωσης, των νευροεκφυλιστικών ασθενειών (νόσος Αλτσχάϊμερ, Πάρκινσον, μυϊκή ατροφία) και του σακχαρώδη διαβήτη, αν και η πλήρης διερεύνηση των επιπτώσεων των πολυφαινολών στην υγεία αντιμετωπίζει κάποιες δυσκολίες λόγω του πολύ μεγάλου αριθμού φαινολικών ενώσεων που εντοπίζονται στα τρόφιμα [5], [8].

Στον πίνακα 1 γίνεται αναφορά στα φαινολικά συστατικά και το είδος του φυτικού υποστρώματος στο οποίο απαντώνται [9].

ΠΙΝΑΚΑΣ 1

ΠΗΓΗ	ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ
Αβοκάτο	4-μεθυλ κατεχόλη, Ντοπαμίνη, Πυρογαλόλη, Κατεχόλη, Χλωρογενικό οξύ, Καφεϊκό οξύ, DOPA
Αχλάδια	Χλωρογενικό οξύ, Πυρογαλόλη, 4-μεθυλ κατεχόλη, Κατεχόλη, Καφεϊκό οξύ, Γαλλικό οξύ, Κατεχίνη, Ντοπαμίνη
Αστακός	Τυροσίνη
Βερύκοκο	Ισοχλωρογενικό οξύ, καφεϊκό οξύ, 4-μεθυλ-κατεχόλη, Χλωρογενικό οξύ, Κατεχίνη, Επικατεχίνη, Πυρογαλόλη, Κατεχόλη, p-κουμαρικό οξύ
Γαρίδες	Τυροσίνη
Γλυκοπατάτες	Χλωρογενικό οξύ, Καφεϊκό οξύ
Δαμάσκηνο	Χλωρογενικό οξύ, Κατεχίνη, Καφεϊκό οξύ, Κατεχίνη, DOPA
Κακάο	Κατεχίνη, Λευκοανθοκυανιδίνη, Ανθοκυανίνη, σύμπλοκα ταννίνων
Κόκκοι καφέ	Χλωρογενικό οξύ, Καφεϊκό οξύ
Μάγκο	Ντοπαμίνη-HCl, 4-μεθυλ-κατεχόλη, Καφεϊκό οξύ, Κατεχόλη, Κατεχίνη, Χλωρογενικό οξύ, Τυροσίνη, DOPA
Μανιτάρια	Τυροσίνη, Κατεχόλη, DOPA, Ντοπαμίνη, Αδρεναλίνη
Μαρούλι	Τυροσινάση, Καφεϊκό οξύ, Παράγωγα Χλωρογενικού οξέως
Μελιντζάνες	Χλωρογενικό οξύ, Καφεϊκό οξύ, Κουμαρικό οξύ, παράγωγα κινναμικού οξέως
Μήλο	Χλωρογενικό οξύ, Κατεχόλη, Κατεχίνη, Καφεϊκό οξύ, DOPA, λευκοκυανιδίνη, 3,4 διϋδροξυ-βενζοϊκό οξύ, P-κουμαρικό οξύ
Μπανάνα	Ντοπαμίνη, Λευκοδελφινιδίνη, Λευκοκυανιδίνη
Πατάτα	Χλωρογενικό οξύ, Καφεϊκό οξύ, Κατεχόλη, DOPA, p-υδροξυφενυλ-προπιονικό οξύ, p-υδροξυφενυλ-πυρουβικό οξύ
Σταφύλι	Κατεχίνη, Χλωρογενικό οξύ, Κατεχόλη, Καφεϊκό οξύ, DOPA, ταννίνες, φλαβονόλες, Πρωτοκουχικό οξύ, Ρεσορσινόλη, Υδροκινόνη,
Τσάι	Φλαβανόλη, Κατεχίνη, Ταννίνες, Παράγωγα κινναμικού οξέως

3.2 Δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης (πολυφαινολάση)

Υπεύθυνη για την ενζυμική αμαύρωση είναι η πολυφαινολική οξειδάση ή φαινολάση (Polyphenol oxidase – PPO) η οποία εντοπίζεται στα φρούτα και λαχανικά καθώς επίσης και σε ορισμένα θαλασσινά, όπως τις γαρίδες, αστακούς και καρκινοειδή. Στην περίπτωση των φυτικών οργανισμών η πολυφαινολική οξειδάση εντοπίζεται στα πλασμίδια των

κυττάρων, κυρίως στους χλωροπλάστες. Επιπλέον εκτός από την πολυφαινολική οξειδάση, η υπεροξειδάση (POD), ένα παρόμοιο οξειδωτικό ένζυμο είναι δυνατόν να προκαλέσει ενζυμική αμαύρωση [10].

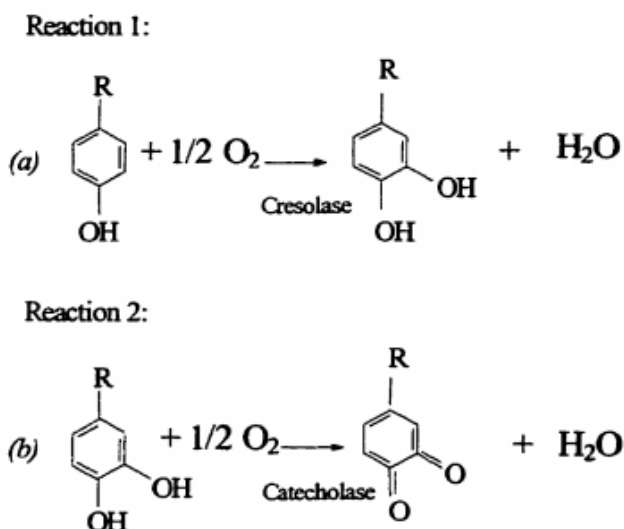
Οι πολυφαινολικές οξειδάσες είναι ένζυμα τα οποία είναι ευρέως διαδεδομένα σε διάφορους οργανισμούς και ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά στα μανιτάρια. Αν και στους φυτικούς οργανισμούς απαντώνται στους χλωροπλάστες, υπάρχουν και σε ελεύθερη μορφή στο κυτταρόπλασμα και θεωρείται ότι βοηθούν και ενισχύουν την ανθεκτικότητα των φυτικών οργανισμών σε διάφορες ασθένειες, στην υπεριώδη ακτινοβολία ή σε ακραίες κλιματολογικές συνθήκες [11]. Επίσης οι πολυφαινολοξειδάσες απαντώνται σε κάποιους ζωικούς οργανισμούς όπου φαίνεται ότι ενισχύουν την ανθεκτικότητα του οργανισμού σε ασθένειες.

Η πολυφαινολική οξειδάση είναι ένα μεταλλοένζυμο που περιέχει χαλκό και μπορεί να υποστεί αναστρέψιμη οξείδωση και αναγωγή κατά την διάρκεια της υδροξυλίωσης και της οξείδωσης. Κατά την υδροξυλίωση, μονοσθενή ιόντα χαλκού Cu^+ οξειδώνονται σε δισθενή Cu^{2+} , ενώ κατά την αναγωγή τα δισθενή ιόντα Cu^{2+} ανάγονται σε μονοσθενή Cu^+ . Το ένζυμο αυτό καταλύει δύο αντιδράσεις όπως φαίνεται στο σχήμα 2, την υδροξυλίωση των μονοφαινόλων στα αντίστοιχα ορθοδιϋδροξυ- παράγωγα, μια αντίδραση που καταλύεται από την κρεζολάση (οξειδοαναγωγή της ορθοφαινόλης) και την οξείδωση των ορθοδιϋδροξυφαινόλων σε ορθο-κινόνες μια αντίδραση που καταλύεται από την κατεχολάση (πολυφαινόλη της μονοαμινοξειδάσης) [12]. Οι δράσεις αυτές των πολυφαινολασών φαίνονται παραστατικά στο σχήμα 2 [13]. Οι ορθοκινόνες είναι ενώσεις που χαρακτηρίζονται από υψηλή δραστηριότητα και πολυμερίζονται εύκολα, μετά την μετατροπή τους σε υδροξυκινόνες που όπως θα εξηγηθεί πιο κάτω, οδηγούνται στον σχηματισμό σκούρων κηλίδων [14].

Οι πολυφαινολικές οξειδάσες υποδιαιρούνται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με το ειδικό υπόστρωμα και τον μηχανισμό με τον οποίο δρουν:

- Τυροσινάσες: Παρουσιάζουν δράση τόσο σαν κρεζολάσες όσο και σαν κατεχολάσες.

- Κατεχολικές οξειδάσες: Είναι επίσης γνωστές ως ορθο-διφαινολικές οξειδάσες και καταλύουν την αντίδραση των ορθο-διφαινόλων σε ορθο-κινόνες.
- Λακκάσες: Έχουν την ικανότητα να οξειδώνουν ένα ευρύ φάσμα αρωματικών ενώσεων.



Σχήμα 2: Αντιδράσεις που καταλύονται από την πολυφαινολική οξειδάση

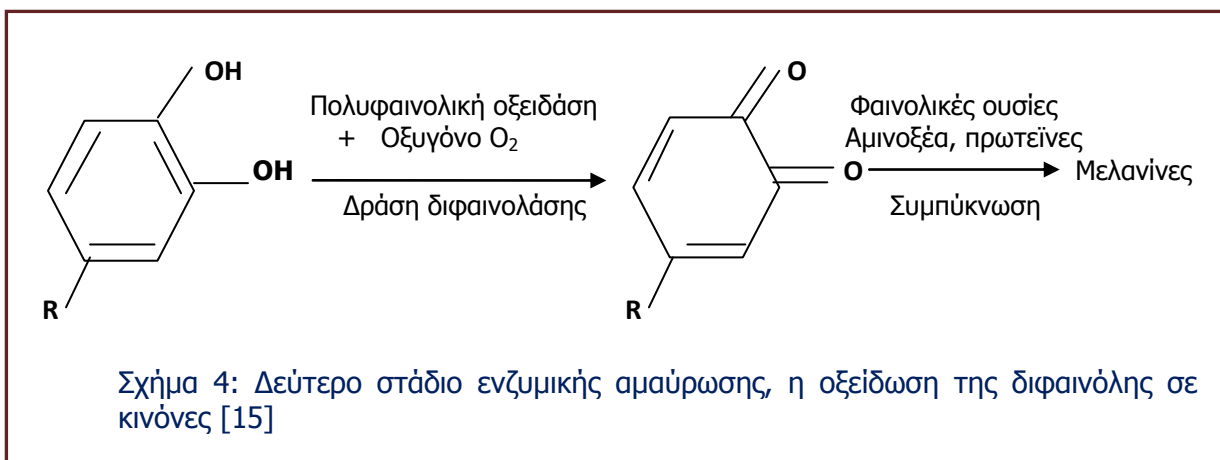
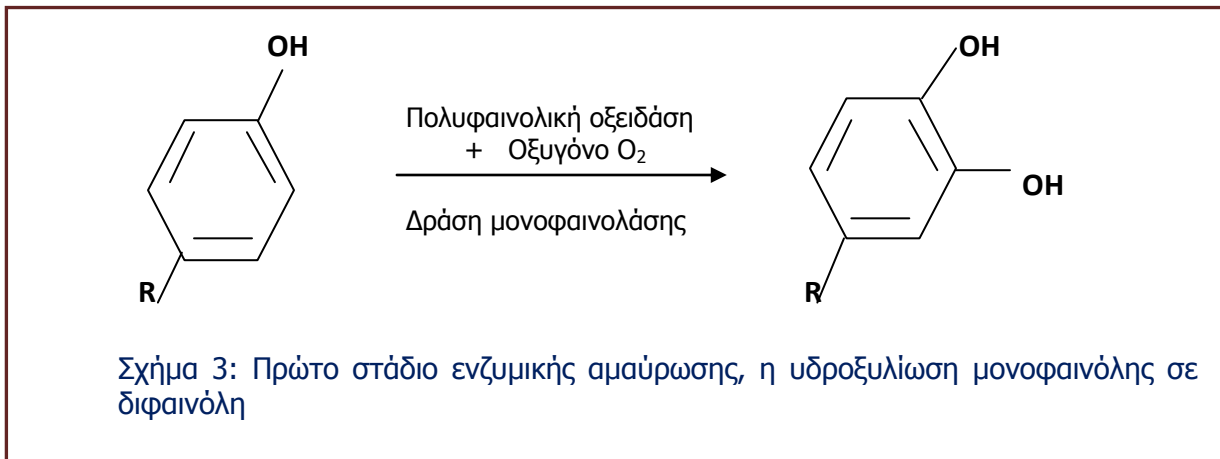
(α) Υδροξυλίωση μονοφαινόλων σε ορθο-διφαινόλες

(β) Αφυδρογόνωση ορθο-διφαινόλων σε ορθο-κινόνες

3.3 Μηχανισμός ενζυμικής αμαύρωσης

Ο μηχανισμός της ενζυμικής αμαύρωσης αποτελείται από μια σειρά από αντιδράσεις όπου οι πολυφαινολικές ενώσεις των τροφίμων παράγουν σκουρόχρωμες πολυμερείς ενώσεις, τις μελανίνες που προσδίδουν το μαύρο χρώμα στα τρόφιμα. Η έναρξη της αντίδρασης υποβοηθείται από τα ένζυμα φαινολάσες και για να γίνει εφικτή η παραγωγή μελανίνης είναι απαραίτητη η παρουσία οξυγόνου ή χαλκού. Η παρουσία οξυγόνου επεξηγεί το γεγονός που αναφέρθηκε αρχικά ότι η ενζυμική αμαύρωση παρατηρείται κατά την επεξεργασία (κοπή, ξεφλούδισμα, κτύπημα, τεμαχισμό, πλήγωμα) ή κατά την αποθήκευση του τροφίμου. Στην περίπτωση της επεξεργασίας του τροφίμου λόγω του ότι

καταστρέφονται οι φυτικοί ιστοί, απελευθερώνονται οι φαινολικές ουσίες μαζί με τα ένζυμα. Το ένζυμο ερχόμενο σε επαφή με το φαινολικό υπόστρωμα ενεργοποιείται, και με την χρήση οξυγόνου από την ατμόσφαιρα μετασχηματίζουν τις φαινολικές ενώσεις σε κινόνες οι οποίες στην συνέχεια πολυμερίζονται προς έγχρωμα παράγωγα. Ως εκ τούτου η πρώτη αντίδραση που παρατηρείται είναι η υδροξυλίωση των πολυφαινολικών ενώσεων με την δράση της υδροξυλάσης της φαινόλης (πολυφαινολική οξειδάση) όπου παράγονται ορθο-διφαινόλες, μια αντίδραση που είναι σχετικά αργή και της οποίας το προϊόν είναι άχρωμο (Σχήμα 3). Η αντίδραση αυτή είναι γνωστή ως δράση της μονοφαινολάσης ή της υδροξυλάσης ή κρεζολάσης.

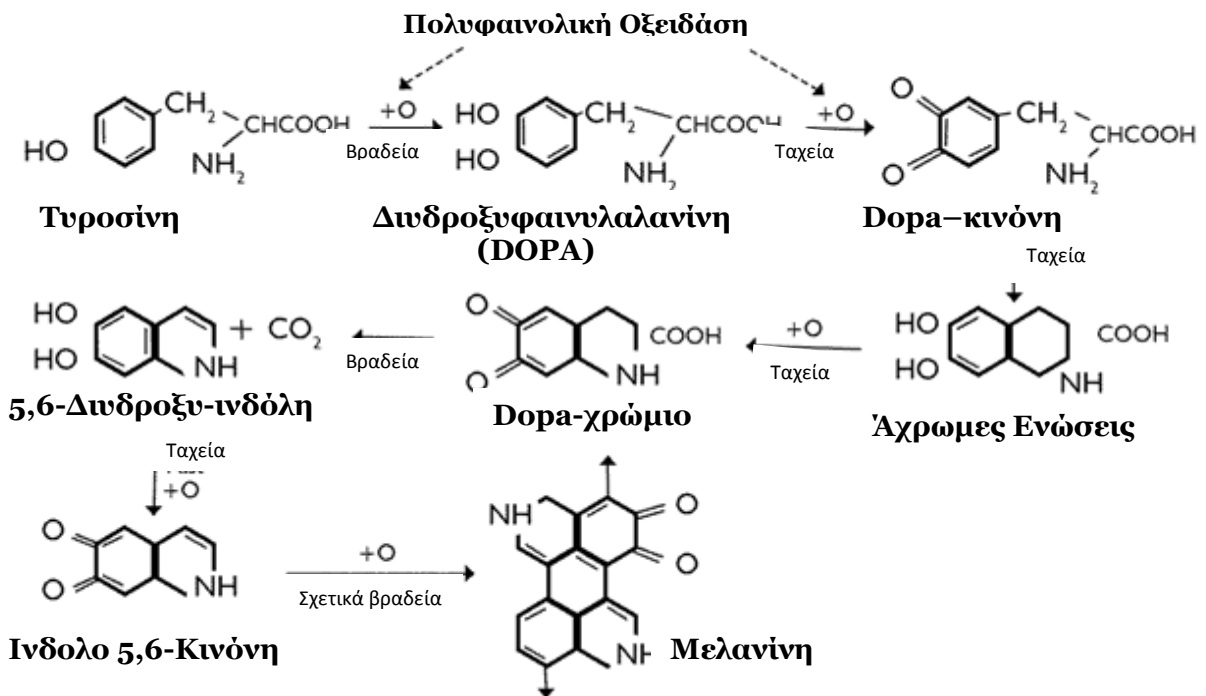


Στην συνέχεια οι ορθο-διφαινόλες οξειδώνονται σε ορθο-κινόνες, μια γρηγορότερη αντίδραση που καταλήγει σε έγχρωμα προϊόντα [16]. Η αντίδραση υποβοηθείται όπως και

προηγούμενως από την πολυφαινολική οξειδάση στην παρουσία οξυγόνου και είναι γνωστή ως δράση της διφαινολάσης ή της κατεχολάσης (σχήμα 4). Αντίθετα σε άθικτους φυτικούς ιστούς δεν παρατηρείται ενζυμική αμαύρωση καθότι προφανώς το ένζυμο δεν έρχεται σε επαφή με το φαινολικό υπόστρωμα αλλά διατηρούνται χωριστά, με αποτέλεσμα να μην καθίσταται ενεργό [17].

3.4 Χημικές αντιδράσεις τυροσινάσης

Ο μηχανισμός της ενζυμικής αμαύρωσης διαφέρει για κάθε τρόφιμο ανάλογα με το είδος των πολυφαινόλων που περιέχει. Στο σχήμα 5 [18] και [19] φαίνεται παραστατικά η αλληλουχία των αντιδράσεων για την παραγωγή μελανίνης από μια φαινολική ένωση που είναι από τις πλέον διαδεδομένες στα τρόφιμα, το αμινοξύ της τυροσίνης. Η ενζυμική αμαύρωση σε αυτή την περίπτωση υποβοηθείται από το ένζυμο τυροσινάση που είναι ένα ένζυμο με συμπάροντα χαλκού με πολλαπλή δραστικότητα αυτήν της μονοοξυγενάσης και της κατεχολικής οξειδάσης. Τα υποστρώματα της τυροσινάσης είναι είτε φαινόλες που μέσω του μηχανισμού μονοοξυγενάσης δίνουν ορθο-κινόνες είτε κατεχόλες που μέσω του μηχανισμού της κατεχολικής οξειδάσης δίνουν επίσης ορθο-κινόνες [20]. Όπως σε όλες τις αντιδράσεις ενζυμικής αμαύρωσης, η τυροσινάση (ένζυμο) υποβοηθά την φαινολική ένωση που σχηματίζει το υπόστρωμα, την τυροσίνη να οξειδωθεί αρχικά σε κινόνη. Ακολουθεί μια σειρά αντιδράσεων με τις οποίες οι κινόνες πολυμερίζονται με τελικό αποτέλεσμα τον σχηματισμό σκούρων χρωστικών στην επιφάνεια των τροφών. Στο σχήμα 5 φαίνεται παραστατικά η κατάλυση του ενζύμου στις δύο πρώτες αντιδράσεις για την παρασκευή κινόνων, σημείο όπου σταματά η δράση του ενζύμου. Οι αντιδράσεις συνεχίζονται μέχρι την παρασκευή μελανίνης, χωρίς όμως να υπεισέρχεται το ένζυμο σε κάποια αντίδραση.



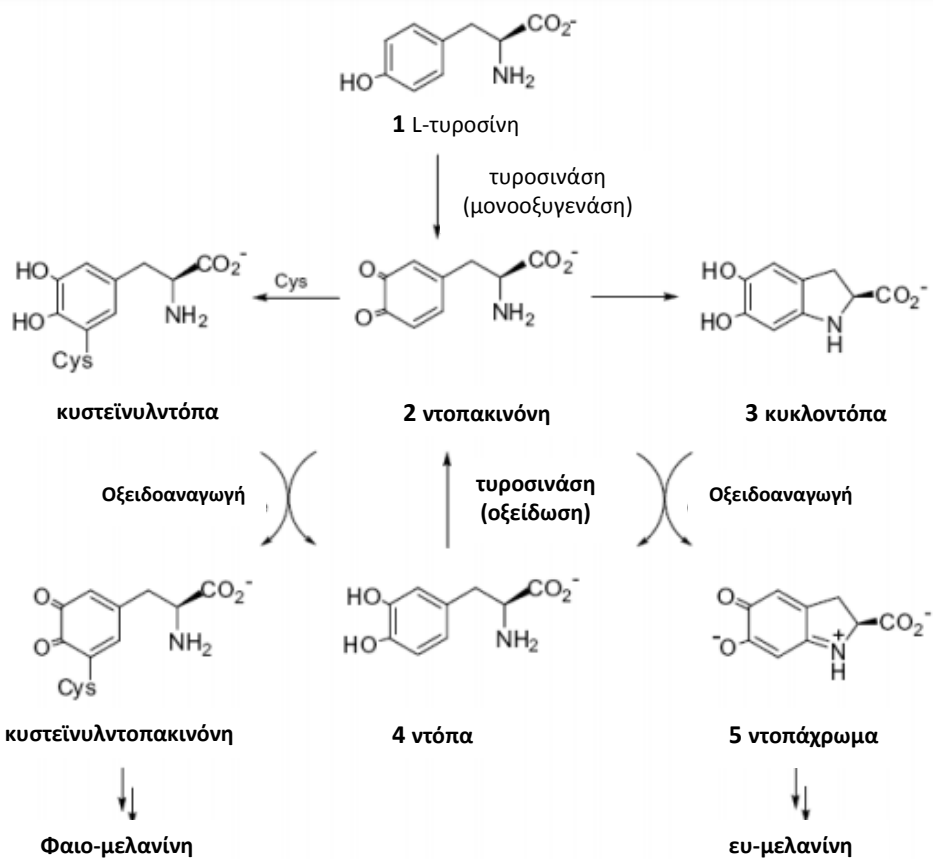
Σχήμα 5: Διάγραμμα ενζυμικής αμαύρωσης χρησιμοποιώντας την τυροσίνη ως υπόστρωμα για το ένζυμο φαινολοξειδάση [19]

Η ρύθμιση της έναρξης της μελανογένεσης είναι εν μέρει συνέπεια της μεταφοράς της τυροσινάσης στα προμελανοσώματα και της πρόσβασης του υποστρώματος στο εσωτερικό του οργανιδίου. Ελέγχεται επίσης από παράγοντες που καθορίζουν την οξειδοαναγωγική κατάσταση του χαλκού ή από τη μεταβολή του pH στο εσωτερικό του οργανιδίου που επηρεάζει τον μηχανισμό της περιόδου υστέρησης. Έτσι μεταβολές στο pH του οργανιδίου μπορούν να ρυθμίσουν την έναρξη παραγωγής μελανίνης.

Συνοψίζοντας, για την ολοκλήρωση του σχηματισμού αμαύρωσης στο τρόφιμο, λαμβάνει χώρα αρχικά μια αντίδραση η οποία υποβοηθείται από την τυροσινάση ακολουθούμενη από μια σειρά αυτοματοποιημένων αντιδράσεων που δεν ελέγχονται ενζυμικά: [20]

1. Η τυροσίνη {1} στην παρουσία της τυροσινάσης και με την βοήθεια οξυγόνου οξειδώνεται σε ντοπακινόνη (dopaquinone) {2}, αφού πρώτα οξειδωθεί σε 3,4-διυδροξυφαινυλαλανίνη (DOPA) {4}.

2. Η ντοπακινόνη (είδος ορθο-κινόνης) υδροξυλιώνεται μετατρεπόμενη σε κυκλοντόπα (cyclodopa) {3}.
3. Η δράση της τυροσινάσης σταματά μετά το πέρας των δύο πρώτων αντιδράσεων με τον σχηματισμό ορθοκινόνης
4. Η κυκλοντόπα οξειδώνεται σε ντοπάχρωμα.
5. Ακολουθεί μια σειρά αντιδράσεων όπου οι ορθο-κινόνες πολυμερίζονται μετατρεπόμενες σταδιακά σε ευ-μελανίνες (καφέ-μαύρο) και φαιο-μελανίνες (κόκκινο-κίτρινο)



Σχήμα 6: Τα βήματα παραγωγής μελανίνης όταν το υπόστρωμα είναι το αμινοξύ τυροσίνη

4. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της ενζυμικής αμαύρωσης

Η ενζυμική αμαύρωση παρουσιάζεται σε ένα αριθμό οργανισμών όπως αναφέρθηκε στον πίνακα 1 στους οποίους μεταβάλλει τα εξωτερικά χαρακτηριστικά, την γευστικότητα, την

διατροφική αξία, την διατηρησιμότητα και τον χρόνο αποθήκευσης τους. Στα φρούτα και τα λαχανικά που παρουσιάζουν έντονα το φαινόμενο της ενζυμικής οξειδωσης που καταλήγει σε αμαύρωση και το φαινόμενο αυτό είναι ανεπιθύμητο για τους πιο κάτω λόγους:

- Ελαττώνεται η ωφέλιμη διάρκεια ζωής του τροφίμου και ο χρόνος αποθήκευσης του. Για παράδειγμα στην ενζυμική αμαύρωση οφείλεται η μείωση κατά 50% των ζημιών κατά την παραγωγή και διάθεση των φρούτων και λαχανικών.
- Επηρεάζονται αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου
- Μειώνεται η διατροφική αξία και η ποιότητα του τροφίμου λόγω της οξειδωσης των φαινολικών ενώσεων που περιέχει.
- Στην παραγωγή κρασιού, η ενζυμική αμαύρωση λόγω της οξειδωσης των φαινολικών ενώσεων του σταφυλιού είναι δυνατόν να οδηγήσει σε υποβάθμιση του χρώματος και των άλλων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του κρασιού [21]
- Το κόστος αποθήκευσης και διαχείρισης των τροφίμων είναι αυξημένο
- Το τρόφιμο δεν είναι ελκυστικό στον καταναλωτή
- Η ενζυμική αμαύρωση είναι ανεπιθύμητη σε προϊόντα όπως τα μήλα, οι μπανάνες, οι πατάτες και τα μανιτάρια.

Η ενζυμική αμαύρωση είναι επιθυμητή σε ορισμένες περιπτώσεις για τους πιο κάτω λόγους:

- Το τελικό παράγωγο, η σχηματιζόμενη μελανίνη έχει αντιμικροβιακές ιδιότητες που εμποδίζουν επιμολύνσεις ή ασθένειες στα φυτά και στους καρπούς τους.
- Η ενζυμική αμαύρωση είναι επιθυμητή στην επεξεργασία κάποιων καρπών για την ανάπτυξη γεύσης και χρώματος, όπως τα αποξηραμένα φρούτα, δαμάσκηνα, σταφίδες και παστά σύκα, καθώς επίσης στο τσάι, τον καφέ και το κακάο.
- Η μελανίνη επίσης θεωρείται ότι έχει αντικαρκινικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες.

5. Έλεγχος και περιορισμός της ενζυμικής αμαύρωσης

Λόγω της υποβάθμισης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, της μείωσης της διατηρησιμότητας και των θρεπτικών συστατικών ο περιορισμός της ενζυμικής αμαύρωσης

υπήρξε πάντα μια πρόκληση για την τεχνολογία τροφίμων. Αναπτύχθηκαν πολλές εμπειρικές ή τεχνολογικές μέθοδοι για τον έλεγχο της αλλά αρκετές από αυτές είχαν αντιμετωπιστεί αρνητικά από του καταναλωτές οι οποίοι ενδιαφέρονται για την προμήθεια υγιεινών και φυσικά διατηρημένων τροφίμων ως σημαντικό μέρος της διατροφής τους. Γίνεται πλέον εύκολα αντιληπτό ότι η μη ορθή αντιμετώπιση της ενζυμικής αμαύρωσης κοστίζει στους παραγωγούς, τους προμηθευτές και τις βιομηχανίες τεράστια ποσά λόγω της αποστροφής των καταναλωτών σε προϊόντα που έχουν υποστεί ενζυμική αμαύρωση.

Για να σταματήσουν ή να παρεμποδιστούν οι αντιδράσεις που οδηγούν στην ενζυμική αμαύρωση θα πρέπει είτε:

(α) να παρεμποδιστεί η δράση της φαινολοξειδάσης σε μια από τις δύο πρώτες αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στο φαινολικό υπόστρωμα για να παρεμποδιστεί ο σχηματισμός ορθο-κινόνης, είτε

(β) να διακοπεί η παροχή οξυγόνου

5.1 Αναστολή της δραστηριότητας της τυροσινάσης

Η δραστηριότητα των ενζύμων που συμμετέχουν στην ενζυμική αμαύρωση είναι δυνατό να ανασταλεί με διάφορες χημικές ενώσεις που περιέχουν θείο, οξέα, βάσεις ή άλλες φαινολικές ενώσεις οι οποίες επιδρούν σε κάποιο στάδιο της διαδικασίας της ενζυμικής αμαύρωσης με αποτέλεσμα τον περιορισμό της ή την διακοπή της. Χαρακτηριστική είναι η αναστολή της δράσης της τυροσινάσης με τις ακόλουθες ομάδες ενώσεων [20].

1. Παράγοντες που προκαλούν χημική αναγωγή της ντοπακινόνης όπως το ασκορβικό οξύ το οποίο αντιδρά με την L-ντοπακινόνη σχηματίζοντας ντόπα και αποφεύγεται ο σχηματισμός ντοπαχρώματος και μελανίνης.
2. Δεσμευτές ντοπακινόνης όπως οι περισσότερες ενώσεις που περιέχουν θείο που αντιδρούν με την ντοπακινόνη και σχηματίζουν άχρωμα προϊόντα
3. Φαινολικές ενώσεις οι οποίες απορροφούν σε ένα φασματικό εύρος διαφορετικό από εκείνο του ντοπαχρώματος με αποτέλεσμα να αποτρέπεται ο σχηματισμός του.
4. Οξέα ή βάσεις που μετουσιώνουν το ένζυμο αναστέλλοντας την δράση του.

5. Αναστολείς οι οποίοι καταλύονται από την τυροσινάση και σχηματίζουν ομοιοπολικό δεσμό με το ένζυμο, το οποίο αδρανοποιείται μη αντιστρεπτά.
6. Εξειδικευμένους αναστολείς της τυροσινάσης που συνδέονται μεταξύ τους αντιστρεπτά και μειώνουν την καταλυτική ικανότητα της.

Η μελέτη των παραγόντων που αναστέλλουν την ενζυμική αμαύρωση είναι χρήσιμη αφού μπορούν να εντοπιστούν φυσικές ουσίες οι οποίες περιέχουν τις χημικές ενώσεις που προκαλούν την αναστολή για να χρησιμοποιηθούν ως φυσικοί τρόποι αντιμετώπισης της ενζυμικής αμαύρωσης.

5.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την ενζυμική αμαύρωση.

Η τάση του φυτικού ιστού προς αμαύρωση ποικίλει ανάλογα με:

- Συγκέντρωση ενζύμων
- Συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων
- Παρουσία οξυγόνου
- Παρουσία μεταλλικών ιόντων

Η ψηλή περιεκτικότητα πολυφαινόλων και σακχάρου, μέτρια ως χαμηλή οξύτητα (pH 5,0-5,5) και η ψηλή δραστηριότητα πολυφαινολικής οξειδάσης, ευνοούν την εμφάνιση ενζυμικής αμαύρωσης.

Η εμφάνιση της ενζυμικής αμαύρωσης περιορίζεται όταν η περιεκτικότητα των φαινολικών ενώσεων είναι μικρή, όταν ανακοπεί η δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης, όταν δημιουργηθούν χημικά σύμπλοκα με τα μεταλλικά ιόντα του ενζύμου ή όταν διακοπεί η παροχή οξυγόνου.

Τα υποστρώματα της αντίδρασης μπορεί να είναι απλές φαινόλες, παράγωγα κινναμικού οξέως ή φλαβονοειδείς ουσίες [22].

6. Μέθοδοι περιορισμού της ενζυμικής αμαύρωσης

Στις προηγούμενες παραγράφους περιγράφηκε η σημασία της διατήρησης της ποιότητας των τροφίμων που παρουσιάζουν ενζυμική αμαύρωση για διατήρησή τους για όσο το δυνατόν μεγαλύτερο διάστημα μετά την συγκομιδή, την παραγωγή ή την αλίευση. Η σωστή διατήρηση είναι σημαντική τόσο για την μεγαλύτερη οικονομική εκμετάλλευση των τροφίμων, όσο και για την διατήρηση της εμφάνισης, των οργανοληπτικών ιδιοτήτων, της διατροφικής αξίας, των βιταμινών, των αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών ιδιοτήτων τους. Επομένως η συντήρηση και η προφύλαξη των τροφίμων από την ενζυμική αμαύρωση και την οξείδωση κατά την επεξεργασία και την αποθήκευση τους έχει αναδειχθεί σε κύρια προτεραιότητα της βιομηχανίας τροφίμων.

Η ενζυμική αμαύρωση είναι η δεύτερη σημαντικότερη αιτία υποβάθμισης των φρούτων και λαχανικών έχουν γίνει πάρα πολλές έρευνες για την αντιμετώπιση της. Για να αποφευχθούν τα φαινόμενα που υποβαθμίζουν το τρόφιμο μετά την επεξεργασία, έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι για τον έλεγχο και την παρεμπόδιση της ενζυμικής αμαύρωσης, οι οποίες χωρίζονται σε τρεις κύριες κατηγορίες [23]:

6.1 Φυσικές μέθοδοι

6.1.1 Θέρμανση/ζεμάτισμα

Με την θέρμανση επιτυγχάνεται η μετουσίωση των πολυφαινολασών. Ο πιο συνήθης τρόπος είναι το ζεμάτισμα των φρούτων και λαχανικών σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 60-100°C με σκοπό την αδρανοποίηση ή την καταστροφή των ενζύμων ανάλογα με την θερμοανθεκτικότητα του κάθε ενζύμου και την βελτίωση της εμπορεύσιμης ζωής του προϊόντος. Η αδρανοποίηση της φαινολοξειδάσης γίνεται σε θερμοκρασίες και χρόνους που εξαρτώνται από την περιεκτικότητα του τροφίμου και την επιθυμητή μείωση σε περιεκτικότητα στο ένζυμο. Εξαρτάται επίσης από την τεχνική που χρησιμοποιείται για το ζεμάτισμα, αν δηλαδή γίνεται με ζεστό νερό, ατμό ή με μικροκύματα. Στην περίπτωση ζεματίσματος με ατμό στους 94°C, θεωρείται ότι η φαινολοξειδάση αδρανοποιείται στα 7 λεπτά ενώ η υπεροξειδάση στα 5 λεπτά [24].

Τα μειονεκτήματα του ζεματίσματος είναι ότι καταστρέφονται κάποιες θερμοευαίσθητες βιταμίνες, έχουμε απώλεια υδατοδιαλυτών στοιχείων, απώλεια βάρους και αλλοίωση της υφής του προϊόντος [25] [26].

6.1.2 Ψύξη, κατάψυξη

Με την κατάψυξη περιορίζεται το νερό που είναι διαθέσιμο για ενζυμική αμαύρωση, καθώς επίσης και η ενεργότητα ύδατος. Με την κατάψυξη του προϊόντος επιτυγχάνεται η μείωση του διαθέσιμου νερού για ενζυμική αμαύρωση. Έχει εντοπιστεί ότι στην περίπτωση κάποιων τροφίμων όπως το μήλο, αν μειωθεί η ενεργότητα ύδατος σε επίπεδο μεταξύ 0,11 και 0,32 π.χ. με κατάψυξη στους -24°C , τότε η πολυφαινολική οξειδάση αδρανοποιείται πλήρως και το τρόφιμο δεν υπόκειται σε ενζυμική αμαύρωση. Όταν η ενεργότητα ύδατος βρίσκεται μεταξύ 0,32 και 0,56 τότε παρατηρήθηκε η αρχική δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης και τα πρώτα σημάδια της ενζυμικής αμαύρωσης [27].

Με την κατάψυξη αυξάνεται η διατηρησιμότητα του τροφίμου, όμως υφίσταται μη αντιστρεπτές αλλαγές στην ποιότητα που γίνονται αισθητές με την απόψυξή του όπως η απώλεια υφής και σταθερότητας. Έτσι η κατάψυξη χρησιμοποιείται σε τρόφιμα που δεν χρειάζεται να αποψυχθούν, καθότι με την απόψυξη η ενζυμική αμαύρωση επανέρχεται στο προϊόν με γοργούς ρυθμούς. Με την απλή ψύξη σε θερμοκρασίες ψυγείου διατηρούνται τα οργανοληπτικά και γευστικά χαρακτηριστικά του προϊόντος, επιμηκύνεται η διάρκεια ζωής του αλλά δεν επιτυγχάνεται η αδρανοποίηση των ενζύμων και κατά συνέπεια η αποφυγή της ενζυμικής αμαύρωσης.

6.1.3 Αποκλεισμός του οξυγόνου

Η ενζυμική αμαύρωση είναι μια αντίδραση οξειδωσης των πολυφαινολικών ουσιών, ως εκ τούτου είναι δυνατόν να ανασταλεί ή να καθυστερήσει εάν αποκλειστεί το οξυγόνο από την εκτεθειμένη επιφάνεια του τροφίμου. Ο αποκλεισμός του οξυγόνου είναι εφικτός με εμβάπτιση του τροφίμου σε σιρόπι, σε αποξυγονωμένο νερό, με χρήση επικαλύψεων ή μεμβρανών, ή με την κατάλληλη συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, είτε σε κενό είτε με μεμβράνες που δεν είναι διαπερατές στο οξυγόνο [26],[28]. Με την εφαρμογή της συσκευασίας σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα επιτυγχάνεται η αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης χωρίς να επηρεάζεται ουσιαστικά η ποιότητα του προϊόντος [29].

6.1.4 Ακτινοβόληση

Η ακτινοβόληση των τροφίμων με μη θερμικές ακτινοβολίες (όπως η υπεριώδης ακτινοβολία UV-A, UV-C και ακτίνες-γ) έχουν ανασταλτική δράση στην ενζυμική αμαύρωση των τροφίμων, ενώ βελτιώνουν την ποιότητα και την διάρκεια ζωής των φρέσκων φρούτων και λαχανικών [30] [31] [32]. Έχει διαπιστωθεί ότι οι τεχνολογίες αυτές αναστέλλουν την δράση της πολυφαινολική οξειδάσης με ρυθμούς που εξαρτώνται από την ένταση και τον χρόνο της ακτινοβολίας. Η ακτινοβόληση είναι μια φθηνή και εύκολη διαδικασία με λίγους κινδύνους στην ανθρώπινη υγεία και είναι μια νέα εναλλακτική διαδικασία σε σύγκριση με τους παραδοσιακούς τρόπους αντιμετώπισης της ενζυμικής αμαύρωσης, ενώ δεν παρουσιάζει επιπτώσεις στην ποιότητα των τροφίμων [33].

6.1.5 Υπέρηχοι και μικροκύματα

Σε μια προσπάθεια να μειωθεί η εξάρτηση της ενζυμικής αμαύρωσης από χημικές διαδικασίες, έγιναν μελέτες με την χρήση υπερήχων και μικροκυμάτων που αποτελούν σχετικά πρόσφατες μεθόδους. Πλέον εφαρμόζονται νέες προσεγγίσεις για την παράταση της διάρκειας αποθήκευσης των φρούτων και λαχανικών με την χρήση υπερήχων χωρίς κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία. Οι υπέρηχοι μειώνουν την δραστικότητα της πολυφαινολικής οξειδάσης και της υπεροξειδάσης ιδιαίτερα στα αρχικά στάδια της αποθήκευσης και αναστέλλουν την εμφάνιση ενζυμικής αμαύρωσης [34]. Οι φούρνοι μικροκυμάτων έχουν χρησιμοποιηθεί για την λεύκανση (ζεμάτισμα) των λαχανικών και διαπιστώθηκε ότι μειώνουν την δραστικότητα της υπεροξειδάσης χωρίς να παρουσιάζεται απώλεια των θρεπτικών συστατικών του προϊόντος [35].

6.2 Χημικές μέθοδοι

Στο παρελθόν η χρήση χημικών ουσιών για τον έλεγχο της ενζυμικής αμαύρωσης ήταν πολύ διαδεδομένη κύρια με τη χρήση μη τοξικών ουσιών που δεν επηρεάζουν την γεύση και την οσμή του προϊόντος. Γενικά οι χημικές ουσίες παρεμποδίζουν την δράση του ενζύμου είτε δεσμεύοντας την καταλυτική του θέση είτε αλληλεπιδρώντας με τον χαλκό [13].

Για την αποφυγή της ενζυμικής αμαύρωσης χρησιμοποιούνταν ευρέως διάφοροι αναγωγικοί παράγοντες όπως ασκορβικό οξύ,θειώδεις ενώσεις ή αμινοξέα οι οποίες εμποδίζουν τον ενζυμικό σχηματισμό ορθο-κινονών, διατηρώντας τις πολυφαινόλες που

είναι άχρωμες ενώσεις. Η δραστικότητα των αναγωγικών παραγόντων μειώνεται με την έναρξη της ενζυμικής αμαύρωσης, ενώ είναι πιο δραστικοί αν χρησιμοποιηθούν σε αρχικά στάδια.

Το ασκορβικό οξύ σε ψηλές συγκεντρώσεις αναστέλλει την δημιουργία κινόνων, η κυστεΐνη αντιδρά με τις κινόνες και δημιουργεί άχρωμες ουσίες, ενώ σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις των δύο πιο πάνω ουσιών όπως και του κιτρικού οξέος, δρουν ως μη ανταγωνιστικοί αναστολείς αναστέλλοντας την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης. Ισχυροί αναστολείς θεωρούνται η L-κυστεΐνη, το κινναμικό οξύ και το ασκορβικό οξύ [36].

6.2.1 Χρήση διοξειδίου του θείου και θειωδών αλάτων

Η χρήση διοξειδίου του θείου και θειωδών αλάτων γίνεται για τη δέσμευση των φαινολικών υποστρωμάτων του ενζύμου. Οι θειώδες ενώσεις θεωρούνται πολύ αποτελεσματικές στην αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης αλλά η χρήση τους υπόκειται σε κάποιους περιορισμούς λόγω παραγόντων που σχετίζονται με την υγεία των καταναλωτών. Τα θειικά παράγωγα όπως το διοξείδιο του θείου, θειώδες νάτριο, το δισουλφίδιο του νατρίου και του καλίου νιτρικό και οι μεταδιθειώδεις ενώσεις χρησιμοποιούνταν από την αρχαιότητα για την καταπολέμηση της ενζυμικής αμαύρωσης. Οι ενώσεις του θείου χρησιμοποιούνται ως αναστολείς της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης και αντιδρούν με τα ενδιάμεσα παράγωγα της ενζυμικής αμαύρωσης εμποδίζοντας την δημιουργία μαύρων κηλίδων. Κατά την δράση τους παρατηρείται αναστολή υδροξυλίωσης της φαινολικής ουσίας σε διϋδροξυφαινολαλανίνη με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η μετατροπή των φαινολών σε κινόνες [4]. Η επεξεργασία τροφίμων με θειώδεις ουσίες ποικίλλει ανάλογα με την εφαρμογή. Έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στην αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης σε πατάτες, μανιτάρια, μήλα, αχλάδια και μπανάνες.

Ισχυροί χημικοί αναστολείς οφείλουν την δράση τους στην περιεκτικότητα τους σε ομάδες του θείου, όπως είναι η L-κυστεΐνη που περιέχει υδροθειομάδα (η χαρακτηριστική ομάδα του σουλφυδρυλίου –SH) και η γλουταθειόνη η οποία είναι η πιο ισχυρή αντιοξειδωτική ουσία που παράγει ο οργανισμός και η οποία περιέχει ένα μόριο κυστεΐνης.

Όπως αναφέρεται στο κεφάλαιο 8, οι διεθνείς οργανισμοί τροφίμων όπως η Οργανισμός τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών και ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. θέτουν περιορισμούς στην χρήση τους για την προστασία της δημόσιας υγείας.

6.2.2 Χηλικοί παράγοντες

Οι χηλικοί παράγοντες είναι ουσίες που έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν μεταλλικά ιόντα τα οποία είναι απαραίτητα για να παραμείνουν τα ένζυμα ενεργά και να δημιουργούν αδρανή σύμπλοκα. Περιλαμβάνουν ουσίες όπως φωσφορικά άλατα, EDTA (Αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ), κιτρικό οξύ, κοτζικό οξύ, οξαλικό οξύ, καφεϊκό οξύ, χλωρογενικό οξύ, κουμαρικό οξύ, γαλλικό οξύ, μηλικό οξύ και καρβοξυλικά οξέα, οι οποίες δεσμεύουν τα δισθενή κατιόντα χαλκού που βρίσκονται στην πολυφαινολική οξειδάση, αφού η δράση της απαιτεί τα ιόντα χαλκού να παραμένουν ενεργά. Έτσι εμποδίζεται η δράση του ενζύμου και καταστέλλεται η ενζυμική αμαύρωση, χωρίς όμως να αναστέλλεται πλήρως [13], [37].

6.2.3 Χρήση οξέων και δημιουργία όξινου περιβάλλοντος

Η πολυφαινολική οξειδάση είναι ένζυμο ευαίσθητο στις μεταβολές του pH. Αν και οι καρποί και τα φρούτα θεωρούνται ότι αποτελούν φυσικό όξινο περιβάλλον, επιπρόσθετη μείωση του pH είναι δυνατό να μειώσει την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης, ή να την αναστείλει πλήρως σε περιβάλλον pH κάτω από 3. Κύριοι παράγοντες μείωσης του pH είναι το οξικό οξύ, κιτρικό οξύ, ασκορβικό οξύ, μηλικό οξύ και φωσφορικό οξύ. Πρόκειται για ισχυρά οργανικά οξέα τα οποία κατεβάζουν το pH κάτω από το 3 και αδρανοποιούν μη αντιστρεπτά το ένζυμο [38]. Τα διάφορα τρόφιμα έχουν διαφορετική ευαισθησία στην οξείδωση από τους παράγοντες οξίνισης ανάλογα με την δομή και την σύνθεση τους, την θερμοκρασία, την συσκευασία και την περιεκτικότητα σε οξυγόνο κατά τις συνθήκες αποθήκευσης τους [39].

6.2.4 Αντιοξειδωτικοί παράγοντες

Οι αντιοξειδωτικές ουσίες αντιδρούν με το οξυγόνο αντί με τα φαινολικά παράγωγα καταστέλλοντας την έναρξη της ενζυμικής αμαύρωσης. Αντιδρούν επίσης με τα ενδιάμεσα προϊόντα, διακόπτοντας με αυτό τον τρόπο την αλυσίδα αντιδράσεων που καταλήγουν

στον σχηματισμό μελανίνης. Οι αντι-αμαυρωτικές ιδιότητες των αντιοξειδωτικών ουσιών βασίζονται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες που περιλαμβάνουν την θερμοκρασία, το pH, το φως, την σύσταση της ατμόσφαιρας και την ενεργότητα ύδατος. Αντιοξειδωτικοί παράγοντες που έχουν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν περιλαμβάνουν το ασκορβικό οξύ, ερυθροβικό οξύ, N-ακετυλο-κυστεΐνη, 4-εξαλρεσορσινόλη και γλουταθειόνη. Το ασκορβικό οξύ αποτελεί τον πλέον παραδοσιακό παράγοντα ελέγχου της ενζυμικής αμαύρωσης στην βιομηχανία τροφίμων [23].

6.2.5 Τροποποίηση του υποστρώματος (μεθυλίωση)

Η ενζυμική μεθυλίωση του υποστρώματος είναι δυνατή με την χρήση ο-μεθυλοτρανσφεράσης η οποία είναι ένζυμο που απαντάται σε φυτικούς ιστούς. Με αυτό τον τρόπο γίνεται μεταφορά μιας μεθυλομάδας από την S-αδενοσυλ μεθειονίνη στην ο-διφαινόλη καταστέλλοντας την πρώτη κατά σειρά αντίδραση που οδηγεί στον σχηματισμό μελανίνης και αφορά τον σχηματισμό διϋδροξυ-ενώσεων από φαινολικές ενώσεις όπως φαίνεται στο σχήμα 1 όπου η τυροσίνη μετατρέπεται σε 3,4-διϋδροξυφαινιλαλανίνη [18].

6.3 Άλλες μέθοδοι

6.3.1 Γενετικές μεταλλάξεις (Αρκτικά μήλα)

Η μοριακή βιολογία μέσω του γονιδιακού χειρισμού έχει χρησιμοποιηθεί για την αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης. Πρόσφατα έχει δημιουργηθεί μια νέα ποικιλία μήλων, τα Αρκτικά μήλα. Πρόκειται για μήλα τα οποία είναι γενετικά τροποποιημένα και στα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί γονίδια που βρέθηκαν σε μήλα τα οποία ελέγχουν την παραγωγή της πολυφαινολικής οξειδάσης [40]. Αν και τα τροποποιημένα αυτά μήλα θεωρούνται ασφαλή, δεν έχουν γίνει ακόμα πλήρως αποδεκτά από του καταναλωτές.

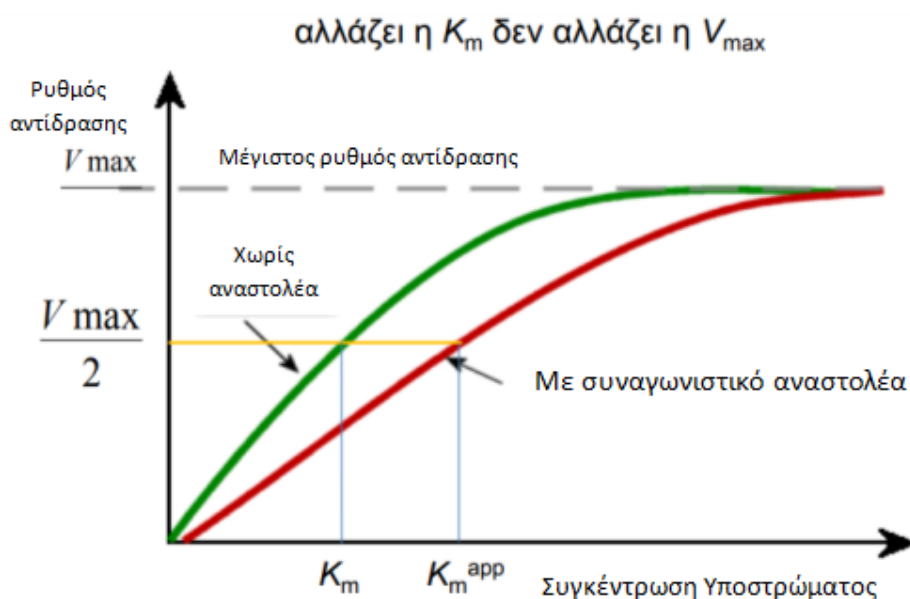
6.3.2 Χρήση φυσικών συστατικών με ανασταλτική δράση

Μεταξύ των διαφόρων συστατικών που έχουν χρησιμοποιηθεί για την αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης είναι και τα φυσικά προϊόντα. Τα συστατικά αυτά είναι αποδεκτά στους καταναλωτές, απαντώνται ευρέως στην φύση και η χρήση τους είναι οικονομική, μειώνοντας το κόστος αναστολής της ενζυμικής αμαύρωσης. Η χρησιμότητα των

συστατικών αυτών στην αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης είναι το θέμα με το οποίο καταπιάνεται η παρούσα εργασία.

6.3.3 Χρήση εξειδικευμένων αναστολέων

Κάποιες ουσίες όπως το παρα-υδροξυβενζοϊκό οξύ (para-hydroxybenzoic acid ή PHBA) δρουν ως συναγωνιστικοί αναστολείς του ενζύμου στο υπόστρωμα με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η καταλυτική του δράση, ελαττώνοντας την ταχύτητα της βιοχημικής αντίδρασης. Με αυτό τον τρόπο καθυστερεί ο σχηματισμός ορθοκινονών και η εμφάνιση μελανίνων. Ως συναγωνιστικοί αναστολείς ακολουθούν της εξίσωση Michaelis-Menten και αυξάνουν την σταθερά διάσπασης του συμπλόκου ενζύμου-υποστρώματος K_m κάτι που σημαίνει ότι η τάση σύνδεσης του ενζύμου με το υπόστρωμα ελαττώνεται. Η μέγιστη ταχύτητα αντιδράσεως V_{max} παραμένει η ίδια και οι συναγωνιστικοί αναστολείς επιβραδύνουν την ταχύτητα ανάπτυξης της ενζυμικής αμαύρωσης, χωρίς όμως να την αναστέλλουν πλήρως [41].



Σχήμα 7: Μείωση της καταλυτικής δράσης των ενζύμων με την χρήση συναγωνιστικού αναστολέα [11]

6.3.4 Υπερ-ψηλή πίεση - High Pressure Treatment (HPT)

Με την εξάσκηση υψηλών πιέσεων στα τρόφιμα - 400 – 600 MPa επιτυγχάνεται ενζυμική και μικροβιακή αδρανοποίηση [42]. Δεν επηρεάζονται η εμφάνιση, υφή και διατροφικά χαρακτηριστικά του τροφίμου αλλά πρόκειται για δαπανηρή μέθοδο [43]. Σε ορισμένες περιπτώσεις όπως στα δαμάσκηνα, η άσκηση υπέρ-ψηλης πίεσης μέχρι 900 MPa δεν ήταν από μόνη της αρκετή για να αναστείλει την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης και απαιτείται επίσης να συνδυάζεται με αύξηση της θερμοκρασίας [44].

Σε έρευνα που έγινε σε χυμό κυδώνι διαπιστώθηκε ότι συνδυασμός καινοτόμων τεχνολογιών όπως η ψηλή πίεση με διοξείδιο του Άνθρακα (High Pressure CO₂ - HPCD) ή η ψηλή υδροστατική πίεση είναι πιο αποτελεσματικές μέθοδοι στην αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης από τις παραδοσιακές μεθόδους όπως η θερμική επεξεργασία [45].

7. Δείκτης Αμαύρωσης (Browning Index)

Για τον προσδιορισμό του και για την ομοιόμορφη μέτρηση του χρώματος της ενζυμικής αμαύρωσης έχουν προταθεί κάποιες μετρήσεις οι οποίες επιτρέπουν την σύγκριση του βαθμού αμαύρωσης μεταξύ διαφόρων τροφίμων. Η εκτίμηση της αμαύρωσης γίνεται μέσω της μέτρησης με χρωματόμετρο των τριών παραμέτρων, της φωτεινότητας L*, του βαθμού χρώματος των αντιθέτων χρωμάτων κόκκινο προς πράσινο a* και του βαθμού των αντιθέτων χρωμάτων κίτρινο προς μπλε b*:

L*: Η τιμή αυτή δείχνει την φωτεινότητα του χρώματος και λαμβάνει τιμές από το 0 (σκούρο χρώμα) μέχρι το 100 (λευκό χρώμα).

a*: Θετικές τιμές υποδεικνύουν κόκκινο χρώμα, ενώ αρνητικές τιμές υποδεικνύουν πράσινο χρώμα.

b*: Θετικές τιμές υποδεικνύουν κίτρινο χρώμα, ενώ αρνητικές τιμές υποδεικνύουν μπλε χρώμα.

Η εκτίμηση της ενζυμικής αμαύρωσης μπορεί να γίνει με τον υπολογισμό του Δείκτη Αμαύρωσης (Browning Index) σύμφωνα με την εξίσωση [46]:

$$\text{Browning Index (BI)} = [100 (w - 0,31)] / 0,17$$

Όπου $w = (a^* + 1,75L^*) / (5.645L^* + a^* - 0,3012b^*)$

Μια άλλη εκτίμηση της μείωσης της ενζυμικής αμαύρωσης είναι η μέθοδος της παθητικής απόχρωσης (passive staining) [47] που χρησιμοποιείται στην περίπτωση όπου οι αναστολείς είναι φυτικά εκχυλίσματα. Αντί της εξίσωσης που χρησιμοποιείται πιο πάνω για τον δείκτη αμαύρωσης, η συνολική μεταβολή στον χρωματισμό του προϊόντος υπολογίζεται βάσει της εξίσωσης:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

Όπου ΔΕ είναι η τιμή της παθητικής αποχρώσεως.

8. Νομοθετικό πλαίσιο

Αρκετές χημικές ουσίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν στα τρόφιμα αλλά δεν επιτρέπονται όλες για ανθρώπινη κατανάλωση. Τα χημικά συντηρητικά τροφίμων είναι εκείνες οι ουσίες οι οποίες προστίθενται σε πολύ μικρές ποσότητες (μέχρι 0,2%) και δεν επηρεάζουν ή επηρεάζουν πολύ λίγο τις οργανοληπτικές ή φυσικο-χημικές ιδιότητες των τροφών. Ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) του Οργανισμού Ηνωμένων Εθνών καθορίζει ποιες ουσίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συντηρητικά στα διάφορα τρόφιμα και σε ποια επίπεδα [48]. Αναφορικά με τις ουσίες που προκαλούν την εμφάνιση της ενζυμικής αμαύρωσης σε φρούτα και λαχανικά, έχει διαπιστωθεί ότι υπάρχουν κάποιες χημικές ουσίες οι οποίες αναστέλλουν ή περιορίζουν την εμφάνιση της όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 6.2. Οι ουσίες αυτές αφορούν κυρίως οξειδωτικά και συντηρητικά τα οποία

χρησιμοποιούνται ή προστίθενται σε φρούτα και λαχανικά και σύμφωνα με τον FAO έχουν ως εξής:

Γαλακτικό οξύ, Οξικό οξύ, Κιτρικό οξύ: Η χρήση τους θεωρείται ασφαλής και δεν υπάρχουν περιορισμοί στα αποδεκτά ημερήσια όρια πρόσληψης.

Βενζοϊκό νάτριο, προπιονικό νάτριο, σορβικό κάλιο, νιτρώδεις ουσίες: Η χρήση τους περιορίζεται και καθορίζονται αυστηρά πλαίσια για τις μέγιστες ημερήσιες προσλήψεις, καθώς επίσης καθορίζονται και τα είδη των τροφίμων στα οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί κάθε συντηρητική ουσία.

Διοξειδίο του θείου και θειώδη άλατα: Οι θειώδεις ουσίες χρησιμοποιούνται σαν συντηρητικά για να περιορίσουν την αμαύρωση και τον αποχρωματισμό σε τρόφιμα και ποτά. Κάποιες ποσότητες διοξειδίου του θείου SO_2 ή των θειικών ριζών HSO_3^- αντιδρούν με αλδεΐδες και κετόνες και έτσι η αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης επιτυγχάνεται με την χρήση αερίου SO_2 ή με την χρήση διαλυμάτων θειωδών αλάτων [18]. Οι θειώδεις ουσίες που χρησιμοποιούνται είναι το διοξειδίο του θείου, θειώδες νάτριο, διθειώδες νάτριο και κάλιο και μεταδισουλφιδικές ενώσεις.

Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA – Food and Drug Administration) εισηγείται κάποια μέγιστη περιεκτικότητα στα επίπεδα περιεκτικότητας διοξειδίου του θείου στους χυμούς φρούτων, αποξηραμένα φρούτα και άλλα επεξεργασμένα τρόφιμα. Ορισμένες θειώδεις ουσίες οι οποίες προκαλούν ασθματικές αντιδράσεις έχουν απαγορευτεί πλήρως για χρήση σε φρούτα και λαχανικά που διατίθενται φρέσκα στους καταναλωτές [49]. Αν και οι θειικές ενώσεις δεν θεωρούνται μολυσματικές ή καρκινογόνες, ένα ποσοστό του πληθυσμού είναι ευαίσθητο και είναι δυνατό να παρουσιάσει οξεία αλλεργική αντίδραση. Ως εκ τούτου έχουν τεθεί περιορισμοί στην χρήση τους σε τρόφιμα ενώ έχουν αποσυρθεί από τις αποδεκτές μορφές επεξεργασίας ή συντήρησης των τροφίμων [50].

9. Επικρατούσες τάσεις στην ανάπτυξη παραγόντων κατά της ενζυμικής αμαύρωσης

Οι φυσικοί αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης συγκρίνονται ευνοϊκά με συνθετικούς αναστολείς που ταξινομούνται κατά σειρά: L-κυστεΐνη > L-ασκορβικό οξύ > χλωριούχο νάτριο. Μεταξύ των τριών η L-κυστεΐνη είναι η πιο αποτελεσματική αφού είναι δυνατόν να μειώσει την δραστηριότητα της πολυφαινολικής οξειδάσης μέχρι 70,4%. Διαπιστώθηκε ότι οι φυσικοί αναστολείς που εξάγονται από κοινά είδη διατροφής είναι σε θέση να ελέγχουν την ενζυμική αμαύρωση σε ικανοποιητικό βαθμό. Αυτά τα εκχυλίσματα φυσικών αναστολέων είναι ασφαλή για τον άνθρωπο και θα μπορούσαν να αντικαταστήσουν τους χημικούς αναστολείς για την συντήρηση φρούτων και λαχανικών. Ο εντοπισμός κατάλληλων και αποδεκτών φυσικών αναστολέων είναι σημαντικός προκειμένου να αποφευχθεί η αμαύρωση και να επιτευχθεί η εμπορευσιμότητα των τροφίμων αλλά και η ανάπτυξη φυσικών πρόσθετων τροφίμων κατά της αμαύρωσης [51]. Σκοπός είναι η χρήση αποτελεσματικών, φυσικών μη τοξικών αντιαμαυρωτικών παραγόντων που είναι σε θέση να αναστείλουν την δράση του ενζύμου πολυφαινολικής οξειδάσης προστατεύοντας την ουσία και τα θρεπτικά οφέλη των φρούτων και λαχανικών, αφού αρκετοί συνθετικοί και χημικοί αναστολείς που χρησιμοποιούνται είναι τοξικά μόρια τα οποία αντιδρούν με κυτταρικά συστατικά προκαλώντας τοξικότητα [52].

10. Φυσικά συστατικά ως αναστολείς των ενζύμων που εμπλέκονται στην ενζυμική αμαύρωση

Για την αναστολή της ανεπιθύμητης ενζυμικής αμαύρωσης, έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες μέθοδοι και διάφορα πρόσθετα τροφίμων, ορισμένα εκ των οποίων εγκυμονούν κινδύνους για τους καταναλωτές. Ως εκ τούτου αρκετές μελέτες επικεντρώνονται στην ανεύρεση φυσικών ουσιών που αναστέλλουν την ενζυμική αμαύρωση τα οποία θεωρούνται πιο ασφαλή και ελκυστικά με λιγότερους κινδύνους και πιο αποδεκτά από τους καταναλωτές. Σε τέτοιου είδους έρευνες είναι σημαντικό να γίνει διάκριση των δράσεων των αναστολέων που λαμβάνουν χώρα κατά την διάρκεια των τριών σταδίων παραγωγής μελανίνης μεταξύ:

- i. Των πραγματικών αναστολέων της πολυφαινολικής οξειδάσης που παρεμποδίζουν τον σχηματισμό ορθο-κινονών (o-quinones)

- ii. Ενώσεις οι οποίες ανάγουν τις ορθο-κινόνες σε ορθο-διφαινολικές ενώσεις
- iii. Ενώσεις οι οποίες αντιδρούν με τις ορθο-κινόνες και σχηματίζουν άχρωμα προϊόντα [53].

10.1 Κρεμμύδι

Το κρεμμύδι είναι πλούσιο σε φαινόλες, φλαβονοειδή και πολυανθοκυανίνες και έχει ψηλή αντιοξειδωτική δράση. Οι κύριες πολυφαινολικές ουσίες που διαθέτει είναι το γαλλικό οξύ, το φερουλικό οξύ και η κερσετίνη, ενώ οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες οφείλονται στις φλαβονοειδείς ουσίες [54]. Η αντιοξειδωτική ικανότητα εξαρτάται από την περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή και φαινολικές ουσίες. Για να διαπιστωθεί η ανασταλτική ικανότητα του κρεμμυδιού, χρησιμοποιήθηκε διάλυμα ενζύμου πολυφαινολικής οξειδάσης με 400mL εκχυλισμάτων κρεμμυδιού με διάφορους διαλύτες (οξικό αιθυλεστέρα, ν-εξάνιο, χλωροφόρμιο και νερό). Τα καλύτερα αποτελέσματα εμφανίστηκαν όταν χρησιμοποιήθηκε εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα με υπόστρωμα από L-Dopa (σχήμα 1). Η μελέτη έδειξε ότι επρόκειτο για συναγωνιστική αναστολή, ενώ παράλληλα ο συνδυασμός αυτός δημιουργεί χηλική ένωση με τα ιόντα χαλκού (Cu^{++}) όπως επεξηγήθηκε στην παράγραφο 6.2.2, με αποτέλεσμα την ουσιαστική μείωση της εμφάνισης σκουρόχρωμων επιφανειών. Όταν χρησιμοποιήθηκε ο συνδυασμός αυτός σε ακτινίδια, διαπιστώθηκε ότι η αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης ανήλθε σε 89,71%, ενώ η αναστολή του ενζύμου σε μελιτζάνες ανήλθε σε 54,2%.

10.1.1 Εκχύλισμα κρεμμυδιού θερμικά επεξεργασμένο

Το ανασταλτικό αποτέλεσμα του εκχυλίσματος κρεμμυδιού στην πατάτα εξαρτάται από την θερμοκρασία στην οποία θερμαίνεται το εκχύλισμα, και αυξάνεται όσο αυξάνεται η θερμοκρασία. Η ανασταλτική δράση αυξάνεται αν προστεθεί στο θερμασμένο εκχύλισμα κρεμμυδιού, γλυκίνη ή γλυκόζη και όταν χρησιμοποιηθεί η κατεχόλη ως υπόστρωμα. Σε περίπτωση που χρησιμοποιηθεί φρέσκο εκχύλισμα κρεμμυδιού η αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης της πατάτας ανήλθε σε 55,6%, ενώ αν θερμανθεί το εκχύλισμα στους 100°C για 10 λεπτά η αναστολή της αμαύρωσης ανέρχεται σε 65,2%, περισσότερο από όσο διαπιστώθηκε ότι ήταν η αναστολή του ασκορβικού οξέος που ανήλθε σε 43,3%. Εκτιμάται ότι η μη ενζυμική αμαύρωση που δημιουργείται κατά την θέρμανση παρουσιάζει

ανασταλτική δράση κατά της ενζυμικής αμαύρωσης [55]. Έχει επίσης διαπιστωθεί ότι η μη ενζυμική αμαύρωση που παρουσιάζεται σε τεμάχια μήλου κατά την θέρμανση λόγω της αντίδρασης Maillard, έχει ανασταλτική δράση στην ενζυμική αμαύρωση που είναι πιο έντονη, όσο πιο ψηλή είναι η θερμοκρασία επεξεργασίας, ενώ παράλληλα εξαρτάται από το είδος του αμινοξέως που υπεισέρχεται στην αντίδραση. Κατά σειρά δραστηριότητας είναι Αργινίνη = Ιστιδίνη > Κυστεΐνη > Λισίνη. Τα προϊόντα αντίδρασης Maillard όμως που συντίθενται από γλουταμικό οξύ ή από το αμινοξύ βαλίνη υποβοηθούν παρά εμποδίζουν την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης [56].

10.1.2 Επίδραση εκχύλισματος κρεμμυδιού στην ενζυμική αμαύρωση ζεσταμένου χυμού μήλου

Όπως έχει ήδη αναφερθεί το εκχύλισμα κρεμμυδιού είναι ένας ισχυρός φυσικός ανασταλτικός παράγοντας κατά της ενζυμικής αμαύρωσης. Προηγούμενες έρευνες έγιναν με θερμαινόμενο εκχύλισμα κρεμμυδιού, όμως ακολούθησαν επιπλέον έρευνες που αντί να θερμανθεί το εκχύλισμα, θερμάνθηκε το προϊόν. Έτσι έρευνες που έγιναν για να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητα του εκχυλίσματος κρεμμυδιού σε θερμαινόμενο χυμού μήλου σε σύγκριση με μη θερμαινόμενο χυμό, διαπιστώθηκε ότι αν προστεθεί εκχύλισμα κρεμμυδιού σε μη θερμαινόμενο χυμό μήλου, παρουσιάζει μειωμένη αμαύρωση και αυξημένη συνολική συγκέντρωση φαινολικών ουσιών, μειωμένες χηλικές αντιδράσεις με ιόντα χαλκού, χωρίς μεταβολή στην συγκέντρωση φλαβονοειδών. Η χρήση όμως θερμαινόμενου χυμού μήλου με εκχύλισμα κρεμμυδιού, όχι μόνο έδειξε βελτιωμένα αποτελέσματα σε σύγκριση με τα πιο πάνω αλλά και σημαντικά αυξημένη συγκέντρωση φλαβονοειδών. Επομένως η χρήση εκχυλίσματος κρεμμυδιού με ταυτόχρονη θέρμανση προϊόντος, βελτιώνει σημαντικά την ποιότητα του χυμού μήλου [57], [58].

10.1.3 Υπολείμματα κρεμμυδιού ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης

Οι προηγούμενες μελέτες που έγιναν όσο αφορά την χρήση υπολειμμάτων και πλεονασμάτων κρεμμυδιών ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης, θα μπορούσε να λύσει το πρόβλημα διάθεσης ή αποθήκευσης των απορριμμάτων αυτών. Μια επιπλέον χρησιμότητα των υπολειμμάτων είναι η μετατροπή τους σε υποπροϊόντα κρεμμυδιού όπως πάστα και χυμός, τα οποία έχουν τύχει θερμικής επεξεργασίας – ψύξη, παστερίωση και

αποστείρωση, τα οποία έχουν ελεγχθεί για την επίδραση τους στην βιοδραστική σύνθεση, την αντιοξειδωτική δράση και την ικανότητα αναστολής της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης. Από τα διάφορα είδη επεξεργασίας των υποπροϊόντων κρεμμυδιού που αξιολογήθηκαν, διαπιστώθηκε ότι η πάστα από υπολείμματα κρεμμυδιών "recas" αφού υποστεί μια ήπια παστερίωση, έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα όσο αφορά την αντιοξειδωτική δράση και την αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης [59].

10.1.4 Επίδραση θερμαινόμενου κρεμμυδιού στην ενζυμική αμαύρωση της κολοκασίας (ταρό)

Η δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης και η ενζυμική αμαύρωση της κολοκασίας (ταρό) εμποδίζεται από αναγωγικούς παράγοντες όπως το L-ασκορβικό οξύ, η L-κυστεΐνη, η γλουταθειόνη και το πυροσουλφικό νάτριο. Σε διερεύνηση που έγινε στην ανασταλτική επίδραση του εκχυλίσματος κρεμμυδιού στην πολυφαινολική οξειδάση και ενζυμική αμαύρωση της κολοκασίας (ταρό) βρέθηκε ότι η δράση του ενζύμου περιορίζεται με την προσθήκη εκχυλίσματος κρεμμυδιού και σε περίπτωση που το εκχύλισμα θερμανθεί στους 100°C για 10 λεπτά, τότε η ανασταλτική δράση είναι ακόμα ισχυρότερη από το φρέσκο μη θερμαινόμενο εκχύλισμα, ενώ η δράση εξαρτάται από την θερμοκρασία και τον χρόνο θέρμανσης. Η προσθήκη γλυκόζης ή γλυκίνης διεγείρει την ανασταλτική δράση, υποδηλώνοντας ότι τα μη ενζυμικά προϊόντα που παράγονται κατά την θέρμανση (προϊόντα αντίδρασης Maillard) ενδέχεται να είναι υπεύθυνα για την ισχυρότερη ανασταλτική δράση του θερμαινόμενου εκχυλίσματος κρεμμυδιού [60].

10.1.5 Επίδραση θερμαινόμενου κρεμμυδιού στην ενζυμική αμαύρωση της μπανάνας

Η ανασταλτική επίδραση του εκχυλίσματος κρεμμυδιού στην δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης της μπανάνας όταν αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 10 μέρες έδειξε ότι όταν το εκχύλισμα θερμανθεί στους 100°C για 10 λεπτά, αυξάνεται σημαντικά σε σχέση με την δράση το εκχύλισμα φρέσκου κρεμμυδιού. Το θερμικά επεξεργασμένο εκχύλισμα κρεμμυδιού λόγω του ότι παρουσιάζει την εμφάνιση προϊόντων που οφείλονται στην αντίδραση Maillard το οποίο αποτελείται από αργινίνης, κυστεΐνης, ιστιδίνης και

λυσίνης που περιέχονται στο κρεμμύδι, αναστέλλει την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης μη ανταγωνιστικά [61].

10.1.6 Επίδραση θερμαινόμενου κρεμμυδιού στην ενζυμική αμαύρωση του αχλαδιού

Για το εκχύλισμα κρεμμυδιού σε νερό ελέγχθηκαν οι επιδράσεις του στην πολυφαινολική οξειδάση και την ενζυμική αμαύρωση αχλαδιού. Το εκχύλισμα εμποδίζει τόσο την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης όσο και την ενζυμική αμαύρωση, ενώ η παρεμπόδιση αυξάνεται όσο αυξάνεται η θερμοκρασία του εκχυλίσματος και ο χρόνος θέρμανσης, ενώ η αναστολή της δράσης του εκχυλίσματος γίνεται μη ανταγωνιστικά. Επομένως με την θέρμανση του εκχυλίσματος κρεμμυδιού επιτυγχάνεται η αύξηση της αποτελεσματικότητας της αναστολής της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης και της ενζυμικής αμαύρωσης, συμπεριλαμβανομένης της συγκέντρωσης των πολυφαινόλων, της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας και της χηλικής ικανότητας [62].

10.1.7 Επίδραση θερμαινόμενου και φρέσκου κρεμμυδιού στην ενζυμική αμαύρωση της πιπερόριζας

Η ανασταλτική δράση του κρεμμυδιού σε πιπερόριζα μελετήθηκε κυρίως από τα υπολείμματα κρεμμυδιού. Όπως ήδη αναφέρθηκε το θερμαινόμενο κρεμμύδι παρουσιάζει καλύτερη ανασταλτική δράση από το μη θερμαινόμενο που σημαίνει ότι τα θερμαινόμενα εκχυλίσματα έχουν μεγαλύτερη ικανότητα δέσμευσης του ενζύμου στο υπόστρωμα από τα μη θερμαινόμενα αν και στις δύο περιπτώσεις η αναστολή ήταν μικτού τύπου. Τα κρεμμύδια έχουν ομάδες θείου ή σουλφιδρυλίου οι οποίες επιδρούν με την πολυφαινολική οξειδάση δεσμεύοντας χαλκό στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Η δράση ενισχύεται από την παρουσία φλαβονοειδών. Η θέρμανση αυξάνει την συγκέντρωση των πολυφαινόλων, την δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών και την χηλική ικανότητα των μετάλλων [63].

10.1.8 Επίδραση θερμαινόμενου εκχυλίσματος κρεμμυδιού, κόκκινης πιπεριάς και ανανά στην ενζυμική αμαύρωση της πιπερόριζας

Η προσθήκη θερμαινόμενου εκχυλίσματος κρεμμυδιού, κόκκινης πιπεριάς και ανανά απέδειξε ότι έχει καλύτερα αποτελέσματα στην αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης και

της δράσης της πολυφαινολοξειδάσης σε πιπερόριζα, από τα αποτελέσματα που έχουν τα μη θερμαινόμενα εκχυλίσματα. Το θερμαινόμενο εκχύλισμα κόκκινης πιπεριάς έδειξε ότι έχει το καλύτερο αποτέλεσμα στην αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης ή οποία φθάνει μέχρι και το 48%. Τα θερμαινόμενα εκχυλίσματα μειώνουν την ικανότητα σύνδεσης του ενζύμου με το υπόστρωμα περισσότερο από τα φρέσκα εκχυλίσματα και αυτό οφείλεται στην εμφάνιση μη ενζυμικής αμαύρωσης Maillard στα θερμαινόμενα εκχυλίσματα. Τα προϊόντα της αντίδρασης Maillard έχουν βρεθεί ότι έχουν καλύτερες αντιοξειδωτικές ιδιότητες και μπορούν να ελέγξουν την πορεία της ενζυμικής αμαύρωσης στα τρόφιμα [64]. Τα θερμαινόμενα προϊόντα κόκκινης πιπεριάς έχουν την μεγαλύτερη επίδραση στην μείωση της αμαύρωσης επειδή έχουν αυξημένη περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή και φαινόλες και κατά συνέπεια καλύτερες αντιοξειδωτικές και ανασταλτικές ιδιότητες όσο αφορά την ενζυμική αμαύρωση [65]. Η ανασταλτική του δράση βρέθηκε μεταξύ 23-48% ανάλογα με το υπόστρωμα, σε σύγκριση με τα εκχυλίσματα κρεμμυδιού και ανανά. Οι ουσίες αυτές περιέχουν μεταδιθειώδες νάτριο (metabisulfite συγκέντρωσης 5mM) που είναι καλύτερος αναστολέας σε σύγκριση με την L-κυστεΐνη και το χλωριούχο νάτριο (sodium chloride), αφού σε μελέτες που έγιναν σε δείγματα πιπερόριζας, επιτεύχθηκε αναστολή της αμαύρωσης κατά 55%. Τα θειώδη άλατα είναι αναγωγικοί παράγοντες που μπορεί να αντιδράσουν με την ο-κινόνη και να σχηματίσουν διφαινόλες που βοηθούν στην πρόληψη του πολυμερισμού της ο-κινόνης σε έγχρωμες ουσίες που καταλήγουν σε μελανίνες [5]. Πανόμοια δράση εναντίον της εμφάνισης ενζυμικής αμαύρωσης του εκχυλίσματος κόκκινης πιπεριάς βρέθηκε και στην πατάτα όπου η αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης ανήλθε σε 44% [66].

10.1.9 Επίδραση κρεμμυδιού, μήλου και μανταρινιού στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου

Σε έρευνα που έγινε για να διερευνηθούν οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες διαφόρων εκχυλισμάτων και τις επιπτώσεις τους στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου πάχους 1,5 cm χρησιμοποιήθηκαν εκχυλίσματα κρεμμυδιού, μήλου και φλούδας μανταρινιού σε διαλύματα 1% νερού και 80% αιθανόλης. Τα τεμάχια μήλου εμβαπτίστηκαν για 1 λεπτό και διαπιστώθηκε ότι το εκχύλισμα κρεμμυδιού σε νερό είχε την ψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινόλες (94,35 mg/g) και την ψηλότερη αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής

οξειδάσης (74,0%). Ακολούθως μετρήθηκαν οι τιμές ΔΕ (παθητική απόχρωση) διαλύματος εκχυλίσματος μανταρινιού σε νερό και βρέθηκε 2,37, ενώ η τιμή ΔΕ διαλύματος εκχυλίσματος μήλου σε νερό βρέθηκε 12,12. Επομένως η πιο ισχυρή δράση κατά της ενζυμικής αμαύρωσης εντοπίζεται κατά σειρά στο εκχύλισμα κρεμμυδιού και ακολούθως στα εκχυλίσματα μανταρινιού και μήλου [67].

10.1.10 Επίδραση μελιού, ανανά, κόκκινης πιπεριάς και κρεμμυδιού στην ενζυμική αμαύρωση γλυκοπατάτων

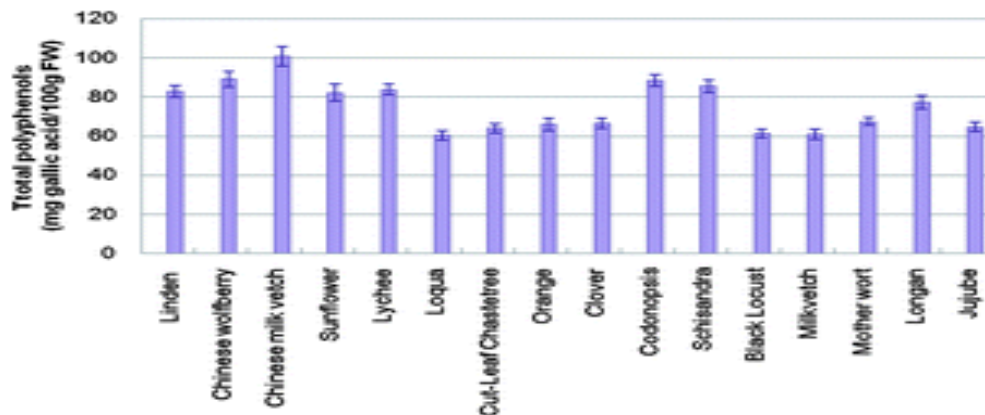
Τα αποτελέσματα έρευνας που έγιναν με εκχυλίσματα μελιού, ανανά, κόκκινης πιπεριάς και κρεμμυδιού σε γλυκοπατάτες, έδειξαν ότι το μεγαλύτερο ανασταλτικό αποτέλεσμα εντοπίζεται στο μέλι και ανέρχεται σε 41,4% – 48,0%. Το αποτέλεσμα αυτό συγκρίνεται ευνοϊκά με την δράση του L-ασκορβικού οξέως που παρουσιάζει παρόμοια αποτελέσματα. Ακολουθεί το θερμαινόμενο εκχύλισμα κρεμμυδιού που αυξάνει την αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης κατά 2,5 φορές σε υπόστρωμα 4-μεθυλ-κατεχόλης. Το ποσοστά αναστολής μειώνεται δραστικά σε 7,4% – 19,7% όταν χρησιμοποιηθεί θερμαινόμενο εκχύλισμα ανανά. Το εκχύλισμα φρέσκιας κόκκινης πιπεριάς έχει μεγαλύτερη αναστολή (46%) από αυτή του θερμαινόμενου εκχυλίσματος [51].

10.2 Το μέλι ως αναστολέας της ενζυμικής αμαύρωσης

Το μέλι είναι ένα πολύπλοκο φυσικό γλυκό προϊόν και καταναλώνεται σε όλες σχεδόν τις χώρες. Η δημοτικότητα του μελιού έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια λόγω της ωφέλειας του στην υγεία, ενώ έχει προστεθεί ως ένα επιθυμητό φυσικό συστατικό σε διάφορα είδη διατροφής ως ένα φυσικό αντιοξειδωτικό τόσο στην διατροφή όσο και στην ιατρική. Το μέλι περιέχει αρκετές ενώσεις όπως οργανικά οξέα, πρωτεΐνες, αμινοξέα, μέταλλα, φλαβονοειδή, πολυφαινόλες, βιταμίνες (ασκορβικό οξύ) και αρωματικές ενώσεις [68].

Λόγω της διατροφικής σημασίας του μελιού, μελετήθηκαν οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες 16 ειδών μελιού από διαφορετικές φυτικές πηγές. Η συνολική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες διέφερε μεταξύ των 16 ειδών (σχήμα 8), όμως διαπιστώθηκε ότι η περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες συσχετιζόταν με την αντιοξειδωτική ικανότητα κάθε

είδους. Όλα όμως τα είδη που δοκιμάστηκαν παρουσίασαν ισχυρή αναστολή στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου, με το μεγαλύτερο ποσοστό αναστολής να ανέρχεται στο 85% [69].



Σχήμα 8: Περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες για 16 είδη μελιού [69]

10.2.1 Επίδραση του μελιού στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου και χυμού σταφυλιού

Για να διαπιστωθεί η ανασταλτική ικανότητα του μελιού στην δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης, τεμάχια μήλου βυθίστηκαν εξολοκλήρου σε διάλυμα μελιού. Επιπλέον σε χυμό σταφυλιού προστέθηκε μέλι και παρατηρήθηκε λιγότερη ενζυμική αμαύρωση από τον χυμό χωρίς επιπλέον μέλι, ενώ παράλληλα διαπιστώθηκε ότι διατήρησε μεγαλύτερη συγκέντρωση πολυφαινόλων. Η πρόσθεση μελιού παρατηρήθηκε ότι μείωνε την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης με τον χρόνο, ενώ ο ρυθμός αμαύρωσης είναι αντιστρόφως ανάλογος με την αύξηση της συγκέντρωσης του μελιού. Επιπλέον μελέτες έδειξαν ότι το μέλι δρα ως μη ανταγωνιστικός αναστολέας της επικατεχίνης, μιας φαινολικής ένωσης που απαντάται τόσο στο μήλο όσο και στο σταφύλι [70]. Σε μελέτη που έγινε για τις φυσικοχημικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες δεκαέξι ειδών Ινδικού μελιού, όλα τα δείγματα εμφάνισαν σημαντικές διακυμάνσεις σε σχέση με το συνολικό περιεχόμενό τους σε φαινόλες, πρωτεΐνες, αντιοξειδωτικό ισοδύναμο ασκορβικού οξέως και διαπιστώθηκε ότι

στην συνολική αντιοξειδωτική δράση φαίνεται ότι συμβάλλει η περιεκτικότητα σε φαινόλες, προλίνες και χρωστικές ουσίες [71].

Το μέλι έχει επίσης έχει πολλές βιολογικές ιδιότητες όπως αντιβακτηριακές, αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιμικροβιακές και αντιϊκές ιδιότητες, όπως και τα παράγωγα του η πρόπολη και ο βασιλικός πολτός. Η ανασταλτική δράση του μελιού στην ενζυμική αμαύρωση αποδίδεται στην περιεκτικότητα του μελιού σε φαινολικές ενώσεις, φλαβονοειδή, ασκορβικό οξύ, α-τοκοφερόλη, μικροπεπίδια και ένζυμα όπως καταλάση και υπεροξειδάση. Επιπλέον τα φλαβονοειδή αναστέλλουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων, την συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων και την δραστικότητα των ενζυματικών συστημάτων που περιλαμβάνουν κυκλο-οξυγονάση και λιποξυγενάση [72].

10.2.2 Ο ρόλος της προέλευσης του μελιού στην ανασταλτική δράση έναντι της αμαύρωσης

Το μέλι προέρχεται από διάφορες φυτικές πηγές και η ικανότητα του να αναστέλλει την ενζυμική αμαύρωση σε φρούτα και λαχανικά εξαρτάται από το είδος των αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχει οι οποίες ποικίλλουν ανάλογα με την φυτική προέλευση τους μελιού. Τα διάφορα είδη μελιού που εξετάστηκαν για την μείωση της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης έδωσαν ένα μεγάλο εύρος τιμών από 2% μέχρι 45% με αντίστοιχη μείωση στον δείκτη αμαύρωσης κατά 2,5 – 12 μονάδες. Το μέλι σόγιας ήταν πιο αποτελεσματικό από το μέλι από τριφύλλι το οποίο περιέχει παρόμοια σύσταση σε αντιοξειδωτικές ουσίες. Συνδυασμός και των δύο αυξάνει την δράση του μεταδιθειώδους και του ασκορβικού οξέως με καλύτερα ανασταλτικά αποτελέσματα, αν και η ανασταλτική δράση του μελιού είναι λιγότερο δραστική από τους χημικούς ή άλλους αναστολείς. Η επίδραση εξαρτάται από το είδος του μελιού, την πηγή της πολυφαινολικής οξειδάσης και το είδος του υποστρώματος. Αν και το αποτέλεσμα αποδεικνύει ότι το μέλι είναι αναστολέας της ενζυμικής αμαύρωσης, το ακριβές αποτέλεσμα της αναστολής δεν είναι σαφές [73].

10.2.3 Επίδραση του μελιού στην ενζυμική αμαύρωση των σταφίδων

Για την αξιολόγηση διαφόρων ειδών διεργασίας για παραγωγή σταφίδων χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι επεξεργασίας με διαλύματα θειωδών, διάλυμα μελιού, διάλυμα ερυθροβικού / κιτρικού οξέος / χλωριούχου ασβεστίου και ζεμάτισμα. Μετά την μέτρηση

των παραγόντων L^* , a^* και b^* διαπιστώθηκε ότι η επεξεργασία σταφίδων με διάλυμα μελιού παρήγαγαν πιο ανοικτόχρωμες και κιτρινόχρωμες σταφίδες με το λιγότερο σκούρο χρώμα, κάτι που οφείλεται στην ανασταλτική δράση του μελιού στην ενζυμική αμαύρωση [74].

10.2.4 Επίδραση του μελιού στην ενζυμική αμαύρωση χυμού μήλου

Η αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης του χυμού μήλου και της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης συγκρίθηκε μεταξύ του εκχυλίσματος μελιού ανθέων (Palo Fierro) και τριών άλλων μη-φυσικών αναστολέων, του φαιλυνεστέρα καφεϊκού οξέως, της L-κυστεΐνης και της 4-εξυλορεσορκινόλης. Επιτεύχθηκε μείωση της ενζυμικής αμαύρωσης και αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης όταν χρησιμοποιήθηκε το εκχύλισμα μελιού, η L-κυστεΐνη και η 4-εξυλορεσορκινόλης, κάτι που δείχνει ότι το εκχύλισμα μελιού θεωρείται μια αποτελεσματική φυσική ένωση για την μείωση της αμαύρωσης του χυμού μήλου. Επιπρόσθετη μελέτη έδειξε ότι το εκχύλισμα του μελιού που χρησιμοποιήθηκε ενήργησε ως μη ανταγωνιστικός αναστολέας της πολυφαινολικής οξειδάσης του μήλου [75]. Τα κινητικά πειράματα που χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της ανασταλτικής δράσης του μελιού σε χυμό μήλου, επιβεβαίωσαν ότι το μέλι είναι μη ανταγωνιστικός αναστολέας της πολυφαινολικής οξειδάσης με $K_m = 3,33mM$ ενώ η αντιοξειδωτικές ιδιότητες και η αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης είναι ανάλογα με την συγκέντρωση του μελιού [76].

10.2.5 Επίδραση του μελιού στην ενζυμική αμαύρωση μανιταριών

Το μέλι παρεμποδίζει την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης των μανιταριών και δρα ως μη ανταγωνιστικός αναστολέας της κατεχόλης που καταλύεται με οξείδωση από την πολυφαινολική οξειδάση [77].

10.3 Εκχυλίσματα φράουλας ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης

Μια μελέτη περιελάβανε υποπροϊόντα και υπολείμματα διαφόρων εκχυλισμάτων από διάφορα φυτά μεταξύ των οποίων φύλλα και μίσχοι φράουλας τα οποία ελέχθησαν κατά πόσο μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδραστικές ενώσεις για τις πιθανές ανασταλτικές τους δράσεις στην ενζυμική αμαύρωση. Η επεξεργασία τους αρχικά περιλάμβανε

διαχωρισμό, ξήρανση σε φούρνο και διατήρηση τα μεν φύλλα υπό ψύξη στους -20°C οι δε μίσχοι σε θερμοκρασία δωματίου και ακολούθως άλεση σε σκόνη. Διαπιστώθηκε ότι τα εκχυλίσματα είχαν πιο δραστική αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης όσο αφορά την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης έναντι της υπεροξειδάσης. Η αυξημένη αυτή δράση των εκχυλισμάτων φύλλων και μίσχων φράουλας οφειλόταν στην μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ουσίες, κυρίως γαλλικό οξύ, φλαβονοειδή, κυρίως κερσετίνη και σε λιγότερο βαθμό σε ταννίνες και ανθοκυανίνες [78], έναντι των άλλων εκχυλισμάτων που εξετάστηκαν και περιελάμβαναν εκχυλίσματα από υπολείμματα διαφόρων μερών μήλου, αχλαδιού, ελαίας, πατάτας και σταφυλιού τα οποία λήφθηκαν από την βιομηχανική επεξεργασία των τροφίμων αυτών. Τα δείγματα των εκχυλισμάτων φράουλας χρησιμοποιήθηκαν σε τεμάχια αχλαδιού όπου διαπιστώθηκε μεγαλύτερη δραστικότητα των φύλλων φυτού φράουλας από ότι στους μίσχους φράουλας, αφού υπερτερούν σε περιεκτικότητα φαινολικών ουσιών και έχουν καλύτερες αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Αξιοσημείωτη όμως μείωση της αμαύρωσης παρατηρήθηκε κατά την χρήση υπολειμμάτων μήλου που ήταν η αμέσως επόμενη ουσία σε περιεκτικότητα φαινολικών ενώσεων αν και υπολείπονταν σημαντικά της φράουλας, υπερτερούσαν όμως σε αποτέλεσμα έναντι όλων των άλλων εκχυλισμάτων που αναφέρθηκαν [79]. Η αυξημένη περιεκτικότητα σε φαινολικές ουσίες έχει επίσης αυξημένες αντιοξειδωτικές ικανότητες [80].

10.4 Ο ανανάς ως αναστολέας της ενζυμικής αμαύρωσης

10.4.1 Επίδραση χυμού ανανά στην ενζυμική αμαύρωση μπανάνας

Ο ανανάς είναι ένα δημοφιλές φρούτο το οποίο καταναλώνεται ευρέως είτε φρέσκο είτε σε επεξεργασμένη μορφή, ενώ ο χυμός ανανά είναι δημοφιλής μεταξύ άλλων για το ευχάριστο άρωμα και την γεύση του. Σε έρευνα που έγινε με σκοπό να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητα στην αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης του χυμού ανανά στην επιφάνεια τεμαχίων μπανάνας διαπιστώθηκε ότι μετά την αποθήκευση των τεμαχίων μπανάνας στους 15°C για 3 μέρες, ο χυμός ανανά έδειξε παρόμοια αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης σε παρόμοια έκταση όπως 8mM ασκορβικού οξέως αλλά λιγότερη από 4mM

μεταδιθειώδες νάτριο. Κατά την κλασμάτωση του χυμού ανανά, το άμεσα εκλουόμενο κλάσμα αναστέλλει την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης κατά 100% σε σύγκριση με τον αρχικό χυμό. Περαιτέρω ανάλυση του εκλουόμενου δείγματος έδειξε ότι το μηλικό και το κιτρικό οξύ είναι οι κύριες ουσίες που περιέχονται οι οποίες αναστέλλουν την ενζυμική αμαύρωση της μπανάνας [81]. Επιπλέον ο χυμός ανανά περιέχει κατεχίνες, επικατεχίνες και φερουλικό οξύ τα οποία δρουν ως συναγωνιστικοί αναστολείς της πολυφαινολικής οξειδάσης. Αντίθετα, σε άλλη έρευνα που έγινε σε φρέσκα τεμάχια μπανάνας που έτυχαν επεξεργασίας με χυμό ανανά, σάκχαρα, ισοαρκορβικό οξύ, κιτρικό οξύ, n-ακετυλοκουστεϊΐνη και 4-εξυλρεσορσκινόλη, βρέθηκε ότι ο χυμός ανανά είχε μόνο παροδική ή καθόλου επίδραση στην αμαύρωση της μπανάνας, αντίθετα από τις επεξεργασίες με μείγμα 0,05M n-ακετυλοκουστεϊΐνη και 0,5M κιτρικό οξύ που ήταν πιο αποτελεσματικό [82].

10.4.2 Επίδραση χυμού ανανά στην ενζυμική αμαύρωση μήλου

Κύβοι τεμαχίων μήλου πράσινου (granny smith) και κόκκινου (pink lady) υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με χυμό ανανά και με άσκηση υψηλής πίεσης 600MPa για 1-5 λεπτά στους 22°C και ακολούθως συσκευάστηκαν και διατηρήθηκαν στους 4°C για 4 εβδομάδες, χωρίς να παρατηρηθούν κατά την διάρκεια της περιόδου φύλαξης ορατά σημεία ενζυμικής αμαύρωσης, κάτι που δείχνει ότι ο συνδυασμός χρήσης χυμού ανανά και υψηλής πίεσης αναστέλλει ουσιαστικά την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης [83].

10.4.3 Επίδραση εκχυλίσματος ανανά στην ενζυμική αμαύρωση μήλων

Το εκχύλισμα ανανά ελέγχθηκε σε μήλα χρώματος ροζ. Τα τεμάχια μήλου έτυχαν επεξεργασίας με εκχυλίσματα φλούδας και πυρήνα με συγκεντρώσεις που ποικίλλουν από 1:1 μέχρι 1:5 εκχυλίσματος ανανά με αποσταγμένο νερό. Η λιγότερη αμαύρωση βρέθηκε όταν χρησιμοποιήθηκε εκχύλισμα πυρήνα ανανά με συγκέντρωση διαλύματος 1:1 [84].

10.4.4 Επίδραση Χυμού ανανά στην ενζυμική αμαύρωση φρέσκων και αποξηραμένων μήλων

Για να συγκριθεί η αποτελεσματικότητα του χυμού ανανά, χρησιμοποιήθηκαν τεμάχια μήλου που έτυχαν επεξεργασίας με νερό, κονσερβοποιημένο χυμό ανανά, κατεψυγμένο χυμό ανανά, αποχρωματισμένο χυμό ανανά με την μέθοδο ανταλλαγής ιόντων,

κατεψυγμένο χυμό πορτοκαλιού, ασκορβικό οξύ και παρασκεύασμα θειώδους νατρίου. Διαπιστώθηκε ότι όλα τα κλάσματα του χυμού ανανά ανέστειλαν την ενζυμική αμαύρωση τόσο των φρέσκων όσο και των αποξηραμένων μήλων τουλάχιστο κατά 26% [85].

10.4.5 Επίδραση εκχυλίσματος στελέχους ανανά δράση έναντι της αμαύρωσης

Το εκχύλισμα του στελέχους του ανανά περιέχει ένζυμο με την ονομασία βρομελίνη που αναφέρεται σε δύο ένζυμα πρωτεάσης ή σε συνδυασμό τους με άλλες ουσίες που παράγονται από το εκχύλισμα. Το εκχύλισμα βρομελίνης, ως μείγμα πρωτεολιτικών ενζύμων (πρωτεασών), χρησιμοποιείται στην φαρμακευτική βιομηχανία λόγω της αντιφλεγμονώδους ιδιότητας της. Ως εκ τούτου ελέγχθηκε για τυχόν ανασταλτική συμπεριφορά της ενζυμικής αμαύρωσης, χωρίς όμως αξιοσημείωτα αποτελέσματα ιδιαίτερα συγκρινόμενα με τα αποτελέσματα της L-κυστεΐνης και του ασκορβικού οξέως [86].

10.4.6 Επίδραση χυμού λεμονιού και ανανά στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου

Η επικάλυψη τεμαχίων μήλου με χυμούς λεμονιού ή ανανά, που και οι δύο περιέχουν φυσικά αντιοξειδωτικά τα οποία επιβραδύνουν την ενζυμική αμαύρωση. Επιπλέον και τα δύο είδη χυμών περιέχουν οξέα και η μείωση στο pH που προκαλούν, επηρεάζει την πολυφαινολική οξειδάση καθιστώντας την λιγότερο ενεργή [87].

10.4.7 Επίδραση χυμού ανανά, εκχυλίσματος φλοιού ανανά και πίτουρου ρυζιού σε τεμάχια και πολτό μπανάνας

Είναι ενδιαφέρον να γίνει σύγκριση της επίδρασης στην ενζυμική αμαύρωση των διαφόρων εκχυλισμάτων όπως του χυμού ανανά, του εκχυλίσματος φλοιού ανανά και του εκχυλίσματος πίτουρου ρυζιού σε σύγκριση με παραδοσιακές μεθόδους με την χρήση χημικών ουσιών όπως το διάλυμα κιτρικού οξέως ή αποσταγμένο νερό. Αποτελέσματα που λήφθηκαν σχετικά με τον δείκτη αμαύρωσης αφού τα δείγματα μπανάνας υπό παρόμοιες συνθήκες αφού εμποτίστηκαν για 5 λεπτά και αποθηκεύτηκαν στους 25°C για 6 ώρες. Οι τιμές αμαύρωσης L^* , a^* και b^* έδειξαν ότι το εκχύλισμα πίτουρο ρυζιού είχε σημαντικά πιο μειωμένες τιμές αμαύρωσης των δειγμάτων μπανάνας από αυτά όπου έτυχαν επεξεργασίας με διάλυμα κιτρικού οξέως (pH 3,8), αποσταγμένου νερού, χυμού ανανά ή εκχυλίσματος

φλοιού ανανά. Οι τιμές αμαύρωσης για το εκχύλισμα πίτουρου ρυζιού, εκχύλισμα φλοιού ανανά, χυμού ανανά, διαλύματος κιτρικού οξέως και αποσταγμένου νερού ήταν 5,82, 6,85, 8,11, 13,89 και 14,01 αντίστοιχα. Παρόμοια αποτελέσματα εντοπίστηκαν για μεγαλύτερους χρόνους αποθήκευσης αποδεικνύοντας την δυνατότητα χρήσης του εκχυλίσματος πίτουρου ρυζιού στην αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης της μπανάνας [88].

Η αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης θεωρείται ότι οφείλεται στις φαινολικές ουσίες που περιέχει το πίτουρο ρυζιού, όπως φερουλικό οξύ, σιναπικό, και p-κουμαρικό οξύ [89]. Επίσης περιέχει πρωτοκατεχικό οξύ το οποίο αναστέλλει την δράση της τυροσινάσης [90].

Η φλούδα ανανά έχει ψηλότερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα (86,7%) σε σύγκριση με τις ίνες φλούδας πορτοκαλιού (34,6%) ενώ το λεμόνι και το μήλο έδειξαν ακόμα πιο χαμηλή δραστηριότητα. Η κύρια πολυφαινολική ουσία που εντοπίστηκε στην φλούδα ανανά και που ευθύνεται για την ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα του ήταν η μυρικετίνη [91].

10.5 Χυμοί εσπεριδοειδών ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης

Διάφοροι χυμοί εσπεριδοειδών μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να αναστείλουν την ενζυμική αμαύρωση των φρούτων, ειδικά οι χυμοί που είναι πλούσιοι σε ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) όπως το πορτοκάλι, λεμόνι, ανανάς, σταφύλι και μούρα. Η αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης με ουσίες που περιέχουν ασκορβικό οξύ έχουν καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, αφού βοηθά στην διατήρηση του φυσικού χρώματος των φρούτων και λαχανικών, όμως δεν διατηρεί την αντιοξειδωτική του ικανότητα αν θερμανθεί ή αν χρησιμοποιηθεί σε κονσερβοποιημένα τρόφιμα. Επιπλέον τα εσπεριδοειδή περιέχουν κιτρικό οξύ το οποίο είναι επίσης αντιοξειδωτικό και είναι χηλικός παράγοντας, περιέχεται σε ικανοποιητικές ποσότητες, είναι πιο ευρέως διαδεδομένο λόγω του χαμηλότερου του κόστους. Το κιτρικό οξύ μειώνει επίσης το pH του τροφίμου, δεν είναι όμως τόσο αποτελεσματικό όσο το ασκορβικό οξύ, ούτε βοηθά στην διατήρηση του φυσικού χρώματος στον ίδιο βαθμό [36].

10.5.1 Επίδραση εκχυλίσματος φλούδας εσπεριδοειδών στην ενζυμική αμαύρωση μήλων

Σε έρευνα που έγινε για να διαπιστωθεί η ανασταλτική δράση των εσπεριδοειδών σε τεμάχια μήλου, χρησιμοποιήθηκαν υδατικά εκχυλίσματα 0,1% από φλούδα πορτοκαλιού, μανταρινιού, λεμονιού και γκρέιπφρουτ. Τα τεμάχια μήλου που εμβαπτιστήκαν σε διάλυμα εκχυλίσματος φλούδας λεμονιού βρέθηκε να έχουν την μεγαλύτερη αναστολή σε ενζυμική αμαύρωση από όλα τα άλλα εκχυλίσματα και το αποτέλεσμα όσο αφορά τις τιμές L* (φωτεινότητα) και ΔΕ (παθητική απόχρωση) ήταν παρόμοιες με τις τιμές που λήφθηκαν όταν τα τεμάχια μήλου εμβαπτίστηκαν σε ασκορβικό οξύ. Περαιτέρω μελέτη έδειξε ότι το εκχύλισμα φλούδας λεμονιού είχε την ψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις, σε φλαβονοειδή, σε δραστηριότητα σάρωσης ριζών DPPH και χηλική δράση έναντι των ιόντων χαλκού [92].

10.6 Επίδραση πιπερόριζας και φλοιού κανέλας στην ενζυμική αμαύρωση εξωτικών φρούτων

Η ανασταλτική δράση εκχυλισμάτων πιπερόριζας και αιθέριου ελαίου φλοιού κανέλας σε εξωτικά φρούτα που παρουσιάζουν ταχεία ενζυμική αμαύρωση όπως η γουανάμπανα (*Annona Muricata*) και η Ινδική μπανάνα (*Musa Acuminata*) τα οποία χρησιμοποιούνται εκτεταμένα για βρώση από τους κατοίκους των τροπικών περιοχών της Αφρικής και της Ασίας λόγω της θρεπτικής τους αξίας. Το έλαιο φλοιού κανέλας 0,0035 g/mL είχε ανασταλτική δραστηριότητα 52,0% στην δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης της γουανάμπανα και 49,5% μείωση στην Ινδική μπανάνα. Το υδατικό εκχύλισμα πιπερόριζας 0,091 g/mL είχε αντίστοιχα 60,9% μείωση στην αμαύρωση της γουανάμπανα και 48,1% μείωση στην Ινδική μπανάνα, κάτι που δείχνει ότι τα εκχυλίσματα φλοιού κανέλας και πιπερόριζας μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φυσικοί αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης. Η ανασταλτική δράση αποδίδεται στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες που οφείλονται στην παρουσία φαινολικών και πολυφαινολικών ουσιών. Η πιπερόριζα είναι ουσία που περιέχει μεταξύ άλλων ασκορβικό οξύ, καφεϊκό οξύ, β-καροτένιο, κουρκουμίνη και β-σιτοστερόλη που είναι ουσίες που αναστέλλουν την αμαύρωση [52].

10.7 Εκχύλισμα γκουάβα ως αναστολέας της ενζυμικής αμαύρωσης

Ακόμα ένα εξωτικό φρούτο ενδιαφέροντος για την αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης είναι η γκουάβα της οποίας το εκχύλισμα ελέγχθηκε σχετικά με την αναστολή της

ενζυμικής αμαύρωση σε πολτό μήλου και πατάτας. Διαπιστώθηκε ότι η συγκέντρωση του εκχυλίσματος επηρεάζει τον βαθμό ενζυμικής αμαύρωσης και η αναστολή αυξάνεται όταν αυξάνεται η συγκέντρωση. Σε 100% συγκέντρωση του εκχυλίσματος γκουάβας η αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης είναι 74,53% όσο αφορά το μήλο και 64,62% όσο αφορά την πατάτα, ενώ για 50% συγκέντρωση οι αντίστοιχες αναστολές είναι 31,78% και 21,50%. Το εκχύλισμα γκουάβας θεωρείται ένας σημαντικός αναστολέας ενζυμικής αμαύρωσης, με καλύτερα ή τουλάχιστον παρόμοια αποτελέσματα από την ανασταλτική δράση αραιών διαλυμάτων 0,02% w/v κιτρικού οξέως και ασκορβικού οξέως [93]. Διάφορες έρευνες έδειξαν ότι το φρούτο γκουάβα περιέχει φερουλικό οξύ, κινναμικό οξύ, βανιλικό οξύ, γαλλικό οξύ και ασκορβικό οξύ που διαθέτουν ιδιότητες κατά της ενζυμικής αμαύρωσης. Η ανασταλτική δράση οφείλεται στην αναγωγή κινόνων σε διφαινόλες που οδηγούν στον σχηματισμό άχρωμων ενώσεων [94]. Οι φαινολικές ενώσεις και το ασκορβικό οξύ της γκουάβα είναι οι ουσίες που βοηθούν στην αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης.

10.8 Επίδραση εκχυλισμάτων φυσικού λάχανου και κολοκασίας στην ενζυμική αμαύρωση μήλων

Η επίδραση των εκχυλισμάτων φυσικού λάχανου και κολοκασίας (ταρό) στην δραστηριότητα των οξειδωτικών ενζύμων των κατεψυγμένων και αποξηραμένων προϊόντων μήλου (πολτού και τεμαχίων) μελετήθηκε αφού εξετάστηκε ξεχωριστά στην δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης, της υπεροξειδάσης και της καταλάσης. Τα αποτελέσματα καταγράφονται στον πίνακα 2.

Όπως αναμενόταν η αναστολή της αμαύρωσης εξαρτάται από την συγκέντρωση των εκχυλισμάτων λάχανου και κολοκασίας (ταρό), με τα πιο καλά αποτελέσματα αναστολής της δράσης οξειδωτικών ενζύμων επί του κατεψυγμένου πολτού και των αποξηραμένων τεμαχίων μήλου να εντοπίζεται σε συγκεντρώσεις 15%.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2

Επίδραση εκχυλισμάτων λάχανου και κολοκασίας στην αναστολή της δράσης των ενζύμων που οδηγούν στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου

Κατεψυγμένος πολτός μήλου

Εκχύλισμα	Αναστολή (%) πολυφαινολικής οξειδάσης	Αναστολή % υπεροξειδάσης	Αναστολή (%) καταλάσης
Λάχανο	46,4	66,5	34,2
Πολτός κολοκασίας	62,2	65,4	28,7
Φλούδα κολοκασίας	57,8	46,4	23,2

Αποξηραμένα τεμάχια μήλου

Εκχύλισμα	Αναστολή (%) πολυφαινολικής οξειδάσης	Αναστολή % υπεροξειδάσης	Αναστολή (%) καταλάσης
Λάχανο	43,9	44,4	71,7
Πολτός κολοκασίας	44,8	46,7	80,4
Φλούδα κολοκασίας	44,5	42,2	75,9

Η αναστολή ανήλθε σε 62,2% επί της πολυφαινολικής οξειδάσης, 65,4% επί της υπεροξειδάσης και 28,8% επί της καταλάσης όταν χρησιμοποιήθηκε σε κατεψυγμένο πολτό μήλου, ενώ η αναστολή ανήλθε σε 44,7% επί της πολυφαινολικής οξειδάσης, 46,7% επί της υπεροξειδάσης και 80,4% επί της καταλάσης όταν χρησιμοποιήθηκαν αποξηραμένα τεμάχια μήλου. Τα καλύτερα αποτελέσματα εντοπίζονται στις περιπτώσεις όπου χρησιμοποιήθηκε εκχύλισμα πολτού κολοκασίας αντί για εκχύλισμα φλούδας κολοκασίας ή λάχανου. Με την επεξεργασία όμως με εκχυλίσματα πολτού κολοκασίας ή λάχανου επιτυγχάνεται μια καλύτερη ποιότητα του προϊόντος, ψηλότερη συνολική περιεκτικότητα σε φαινόλες, διατήρηση καλύτερου χρώματος και αποφυγή της ενζυμικής αμαύρωσης [95].

10.9 Εκχυλίσματα φύλλων τσαγιού ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης

Το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού είτε με είτε με χωρίς αφαίρεση της χλωροφύλλης έδειξε μεγαλύτερη ανασταλτική δράση κατά της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης από άλλα

είδη τσαγιού. Οι γαρίδες που έτυχαν επεξεργασίας κατά την διάρκεια της αποθήκευσης τους υπό ψύξη με εκχύλισμα αιθανολικού πράσινου τσαγιού στο οποίο δεν αφαιρέθηκε η χλωροφύλλη, έδειξαν καθυστερημένα σημεία μελάνωσης και περιορίστηκε η αμαύρωση σε επίπεδο που συγκρίνεται με την αμαύρωση γαρίδων που έτυχαν επεξεργασίας με μεταθειώδες νάτριο [96].

Εκτιμάται ότι οι κατεχίνες που περιέχει το εκχύλισμα τσαγιού δρουν ως συναγωνιστικός αναστολέας της πολυφαινολικής οξειδάσης δεδομένου ότι έχουν παρόμοια δομή με το υπόστρωμα της πολυφαινολικής οξειδάσης και αποτελούν περίπου το 90% της συνολικής περιεκτικότητας του τσαγιού σε φαινολικές ουσίες [97].

Το εκχύλισμα τσαγιού έχει χρησιμοποιηθεί για την αναστολή της δραστηριότητας της πολυφαινολικής οξειδάσης κατά 75% σε χυμό μήλου. Τα εκχυλίσματα πέντε διαφορετικών ειδών πράσινου τσαγιού αναστέλλουν την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης σε βαθμό που εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις τους. Η δραστηριότητα της πολυφαινολικής οξειδάσης μειώθηκε κατά 7% μετά από 48 ώρες ενώ με πρόσθεση εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού 1g/L, 2g/L και 3 g/L μειώθηκε κατά 48%, 60% και 86% αντίστοιχα. Τα εκχυλίσματα πράσινου τσαγιού θεωρούνται αποτελεσματικοί παράγοντες αναστολής της ενζυμικής αμαύρωσης στην αποθήκευση για βραχύ χρόνο του χυμού μήλου [98].

Έρευνες που έγιναν για την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης μήλου η οποία απομονώθηκε από τον καρπό, έδειξε ότι η δραστηριότητα της περιορίστηκε όταν έγινε επεξεργασία με εκχύλισμα πράσινου τσαγιού και ο βαθμός ανασταλτικότητας αυξάνεται ανάλογα με την αύξηση της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος. Διαπιστώθηκε ότι η δραστηριότητα της πολυφαινολικής οξειδάσης μειώθηκε κατά 42% όταν προστέθηκε εκχύλισμα 30 mg/mL, ενώ αν εμβάπτιστούν τα τεμάχια μήλου σε εκχύλισμα πράσινου τσαγιού, τότε η ενζυμική αμαύρωση επιβραδύνεται αποτελεσματικά [99].

Οι ανασταλτικές ιδιότητες του τσαγιού δοκιμάστηκαν επίσης σε ακόμα ένα φρούτο εξωτικής προέλευσης, το λίτσι (litchi) το οποίο παρουσιάζει έντονα σημεία αμαύρωσης λόγω της ταχείας αποδόμησης των χρωστικών ανθοκυανίνων που περιέχει [100]. Όταν χρησιμοποιήθηκαν εκχυλίσματα φύλλων τσαγιού που περιέχουν πολυφαινόλες για την επεξεργασία καρπών λίτσι μετά την συγκομιδή και πριν την αποθήκευση, διαπιστώθηκε ότι

η ενζυμική αμαύρωση καθυστερεί σημαντικά. Οι πολυφαινόλες τσαγιού είναι μη τοξική ουσία και είναι πλούσιες σε κατεχίνες και με αντιοξειδωτικές ιδιότητες που οφείλονται στην αναστολή της δράσης της υπεροξειδάσης (POD) [101]. Επίσης μετά το πέρας της αποθήκευσης των καρπών λίτσι υπό ψύξη για 30 μέρες, διαπιστώθηκε ότι η περιεκτικότητα τους σε φαινολικές ουσίες κυρίως κατεχίνες και επικατεχίνες ήταν πολύ μεγαλύτερη όταν γινόταν επεξεργασία του καρπού με εκχύλισμα φύλλων τσαγιού σε σύγκριση με καρπούς που δεν έτυχαν επεξεργασίας, καθιστώντας τις κατεχίνες τσαγιού ένα χρήσιμο και αποδεκτό τρόπο διατήρησης των φρούτων λίτσι μετά την συγκομιδή τους [102].

10.10 Χυμός μοσχολέμονου (lime), πιπερόριζα, γιαούρτι (curd) – επίδραση σε χυμό ζαχαροκάλαμου

Ο χυμός ζαχαροκάλαμου είναι πολύ δημοφιλής για κατανάλωση στην Ινδία και άλλες τροπικές και υποτροπικές χώρες, λόγω της γλυκιάς του γεύσης και της ψηλής περιεκτικότητας του σε βιταμίνες, ανόργανα άλατα, οργανικά οξέα και αμινοξέα. Ο φρέσκος χυμός όμως αλλοιώνεται σύντομα μετά την παρασκευή του λόγω της ψηλής περιεκτικότητας του σε φαινολικές ουσίες και σάκχαρα και λόγω του χαμηλού pH και της δραστηριότητας της πολυφαινολικής οξειδάσης παρουσιάζει αμαύρωση. Η μικροβιακή ζύμωση του χυμού μετατρέπει την γεύση του σε ξινή και έτσι καθίσταται ακατάλληλος για κατανάλωση. Ο χυμός λεμονιού, η πιπερόριζα και το γιαούρτι περιορίζουν βραχυπρόθεσμα την ενζυμική αμαύρωση, λόγω της περιεκτικότητάς τους σε ασκορβικό οξύ το οποίο αποτρέπει την οξείδωση των διφαινόλων σε κινόνες και του κιτρικού οξέως που μειώνει το pH και δημιουργεί χηλικά σύμπλοκα με τα ιόντα χαλκού προσφέροντας διπλή ανασταλτική δράση κατά του ενζύμου [103].

10.11 Το πίτουρο ρυζιού ως αναστολέας της ενζυμικής αμαύρωσης

Ένα φυσικό συστατικό που έτυχε ευρείας έρευνας ιδιαίτερα σε χώρες της ανατολικής Ασίας είναι το ρύζι, τα υποπροϊόντα του και τα παράγωγα του, αφού παράγεται άφθονο και αποτελεί βασικό προϊόν διατροφής.

10.11.1 Επίδραση εκχυλίσματος πίτουρου ρυζιού στην ενζυμική αμαύρωση πουρέ πατάτας

Το πίτουρο ρυζιού είναι υποπροϊόν της βιομηχανίας άλεσης ρυζιού και περιέχει φυσικά αντιοξειδωτικά και φαινολικά οξέα. Το εκχύλισμα πίτουρου ρυζιού, αποξηράθηκε με ψεκασμό για να ληφθεί το πίτουρο σε σκόνη και το διάλυμα της σκόνης χρησιμοποιήθηκε σε πολτό πατάτας για να ελεγχθεί η επίδραση του στην αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης. Μετρήθηκαν οι τιμές L*, a* και b* μετά από 6 ώρες από την επεξεργασία, χρησιμοποιώντας την κατεχόλη ως υπόστρωμα και διαπιστώθηκε ότι παρουσίασε υψηλή τιμή αναστολής της δραστηριότητας της πολυφαινολικής οξειδάσης που ανέρχεται σε 66,12% [104].

10.11.2 Επίδραση εκχυλίσματος πρωτεϊνών πίτουρου ρυζιού στην ενζυμική αμαύρωση πολτού πατάτας

Παρόμοια έρευνα για το εκχύλισμα πρωτεΐνης πίτουρου ρυζιού σε πολτό πατάτας έδειξε ότι η αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης είναι πιο υψηλή όταν το pH είναι 4 ή 5 από ότι όταν το pH είναι 3, 6 ή 7. Το εκχύλισμα το οποίο θερμάνθηκε στους 40-60°C έδειξε παρόμοια αποτελέσματα για την ενζυμική αμαύρωση με το μη θερμαινόμενο εκχύλισμα. Η αναστολή της αμαύρωσης και το ποσοστό αναστολής της πολυφαινολικής οξειδάσης μειώθηκε όταν το εκχύλισμα θερμάνθηκε στους 80°C. Η μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η αποτελεσματικότητα της αναστολής της αμαύρωσης με εκχύλισμα πίτουρου ρυζιού ήταν πιο δραστηρική από ότι όταν χρησιμοποιήθηκε 5, 10 και 20 mM ασκορβικού οξέος ή 5 και 10mM κιτρικού οξέως, κάτι που καθιστά το διάλυμα αυτό ισχυρό ανασταλτικό παράγοντα της ενζυμικής αμαύρωσης [105].

10.11.3 Ο ρόλος της περιεκτικότητας σε λιπαρά εκχυλίσματος πίτουρου ρυζιού στην ενζυμική αμαύρωση πατατών και μήλου

Η ανασταλτικότητα διαφόρων ειδών ρυζιού σε πατάτες και μήλα αξιολογήθηκε περαιτέρω συγκρίνοντας τα αποτελέσματα εκχυλίσματος πίτουρου ρυζιού πλήρη σε λιπαρά και χωρίς λιπαρά. Την καλύτερη ανασταλτική δράση την έδειξε το εκχύλισμα που περιείχε πλήρη λιπαρά. Η ενζυμική αμαύρωση μειώθηκε μετά από αποθήκευση για έξι μέρες κατά 40% και 23% στον πολτό μήλου και πατάτας αντίστοιχα. Περαιτέρω έρευνα έδειξε ότι όλες τις φαινολικές ενώσεις που περιέχει το εκχύλισμα, την μεγαλύτερη ανασταλτική δράση την είχαν το p-κουμαρικό οξύ και το φερουλικό οξύ, σε σύγκριση με το πρωτοκατεχικό οξύ, το

βανιλικό οξύ και το σιναπικό οξύ που απαντώνται στο εκχύλισμα πίτουρου ρυζιού με πλήρη λιπαρά. Η ανασταλτική δράση των πιο πάνω φαινολικών ενώσεων, διαπιστώθηκε ότι ήταν πιο έντονη από την δράση 100ppm κιτρικού οξέος [106].

10.11.4 Επίδραση εκχυλίσματος πίτουρου ρυζιού στην δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης σε πατάτες και μπανάνες.

Το εκχύλισμα του πίτουρου ρυζιού με νερό 0,3g/mL έδειξε αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης κατά 69,31% σε πατάτες και 47,63% σε μπανάνα. Η ανασταλτική του δράση εξαρτάται από την συγκέντρωση του εκχυλίσματος. Για εκχύλισμα 0,3 g/mL η ανασταλτική δράση του εκχυλίσματος πίτουρου ρυζιού σε πατάτα ήταν πιο ψηλή από το ασκορβικό οξύ, το κιτρικό οξύ, το NaCl και το EDTA. Η επίδραση του στην μπανάνα ήταν πιο ψηλή από το κιτρικό οξύ, το NaCl και το EDTA. Η κινητική μελέτη της αναστολής στην πολυφαινολική οξειδάση των δύο τροφίμων είναι μικτού τύπου, αν και το εκχύλισμα δρα άμεσα στην δομή του ενζύμου παρά στην δομή του υποστρώματος [107].

10.12 Επίδραση εκχυλισμάτων πικάντικων βοτάνων στην ενζυμική αμαύρωση σε λαχανάκια

Η ποιότητα και η διάρκεια ζωής για τα λαχανάκια τα οποία έτυχαν επεξεργασίας με εκχυλίσματα βοτάνων, μαντζουράνας, ρίγανης, βασιλικού και θυμαριού, βρέθηκε να βελτιώνεται. Η επεξεργασία με τα εκχυλίσματα αυτά αυξάνουν το συνολικό ποσοστό σε φαινολικές ουσίες και κατά συνέπεια της αντιοξειδωτικές ιδιότητες και τα καλύτερα αποτελέσματα εντοπίστηκαν όταν χρησιμοποιήθηκε εκχύλισμα θυμαριού. Η δράση τους βρέθηκε μέχρι και 60 φορές πιο αποτελεσματική από την επεξεργασία με κιτρικό οξύ ενώ βρέθηκε πιο αποτελεσματική από το ασκορβικό ή το κοτζικό οξύ. Τα εκχυλίσματα μαντζουράνας και ρίγανης βρέθηκαν να έχουν τα καλύτερα αποτελέσματα όσο αφορά την αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης αλλά κυρίως της υπεροξειδάσης στην δράση της οποίας οφείλεται κυρίως η ενζυμική αμαύρωση στα λαχανάκια. Δεν εντοπίστηκε οποιαδήποτε αρνητική επίδραση όσο αφορά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και την θρεπτική αξία στα λαχανάκια. Τα εκχυλίσματα των βοτάνων αυτών είναι πλούσια σε φλαβονοειδή και φαινολικά οξέα και προσφέρουν αντιοξειδωτική, αντικαρκινική, ανοσοποιητική και καρδιαγγειακή προστασία στον οργανισμό. Πρόκειται για σχετικά

φθηνές ουσίες που μπορούν να εξαχθούν από μέρη βοτάνων που δεν χρησιμοποιούνται αλλού π.χ. τους μίσχους [46].

10.13 Το σταφύλι και τα υποπροϊόντα του ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης

10.13.1 Επίδραση εκχυλίσματος σπόρων σταφυλιού στην δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης σε φρέσκο κομμένο μαρούλι (λάχανο)

Μελέτη που αποσκοπούσε στην αξιολόγηση της επίδρασης του εκχυλίσματος σπόρων σταφυλιού (grape seed extract) σε φρέσκο τεμαχισμένο μαρούλι έδειξε ότι κατά την διάρκεια της αποθήκευσης παρατηρείται αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης και φαινολικών ενώσεων, ενώ μειώθηκε η απώλεια χρωματισμού. Σύμφωνα με την έρευνα το μαρούλι περιέχει πρωτοκατεχικό οξύ, χλωρογενικό οξύ, φερουλικό οξύ και κουμαρικό οξύ, ενώ η πολυφαινολική οξειδάση χρησιμοποιεί την κατεχίνη, κατεχόλη, χλωρογενικό οξύ, καφεϊκό οξύ και γαλλικό οξύ ως υποστρώματα τα οποία είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε ορισμένους αναστολείς κυρίως την κυστειΐνη και το ασκορβικό οξύ [108]. Η ανασταλτική δράση αυξάνεται όταν το εκχύλισμα σπόρων σταφυλιού συνδυαστεί με ασκορβικό οξύ. Η αποτελεσματικότητα της χρήσης του έδειξε ότι το εκχύλισμα σπόρων σταφυλιού μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν ένας ικανοποιητικός αναστολέας λόγω των αποτελεσμάτων του, της ευρείας παραγωγής του και του μειωμένου κόστους παραγωγής του [109]. Επιπλέον το εκχύλισμα σπόρων σταφυλιού όπως έδειξε άλλη έρευνα δεν επηρεάζει το χρώμα, την εμφάνιση, την υφή και την γεύση του λάχανου, ούτε του καρότου και του σπανακιού [110].

10.13.2 Επίδραση εκχυλίσματος φύλλων σταφυλιού στην αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης σε μαρούλι

Παρόμοια μελέτη με την πιο πάνω ερεύνησε την αποτελεσματικότητα στην αναστολή της πολυφαινολικής οξειδάσης του εκχυλίσματος φύλλων σταφυλιών. Τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια με την ανασταλτική δράση του εκχυλίσματος σπόρων σταφυλιών, όμως διαπιστώθηκε ότι η ανασταλτική δράση αυξάνεται σημαντικά όταν το εκχύλισμα θερμανθεί στους 100°C για 15 λεπτά οπότε η δράση του είναι πολύ πιο δραστική από ότι το φρέσκο εκχύλισμα [111]. Ο χυμός σταφυλιού περιέχει διάφορες πολυφαινόλες, αλλά έχει

περιορισμένη ανασταλτική ικανότητα στην ενζυμική αμαύρωση ανεξάρτητα από την συγκέντρωση των πολυφαινόλων.

10.13.3 Τα άγουρα σταφύλια ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης

Τα σταφύλια περιέχουν σημαντικές ποσότητες πολυφαινόλων, το ποσοστό των οποίων εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως οι κλιματικές συνθήκες και το στάδιο ωρίμανσης. Λόγω των μεγάλων ποσοτήτων παραγωγής τόσο το προϊόν όσο και τα περισσεύματα της επεξεργασίας τους έτυχαν έρευνας για πιθανές χρήσεις τους. Διαπιστώθηκε ότι το σταφύλι όταν ακόμα είναι άγουρο προτού ωριμάσει περιέχει μεγαλύτερες ποσότητες πολυφαινόλων από το ώριμο σταφύλι, ενώ τα ευεργετικά αποτελέσματα του άγουρου σταφυλιού αποδίδονται στα φλαβονοειδή (κατεχίνη, επικατεχίνη, εστέρες γαλλικού οξέως) και τα φαινολικά οξέα (καφεϊκό, χλωρογενικό και γαλλικό οξύ). Ο χυμός άγουρων σταφυλιών έδειξε ότι διαθέτει αντι-αμαυρωτικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες, ενώ προκαλεί πιο λευκό χρώμα στο προϊόν [112]. Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι το καφταρικό οξύ που εντοπίζεται στον χυμό από άγουρα σταφύλια ανέστειλε την δράση της τυροσινάσης ανταγωνιστικά και η ανασταλτική επίδραση ήταν ισχυρότερη από το καφεϊκό ή το χλωρογενικό οξύ, κάτι που καθιστά το άγουρο σταφύλι μια καλή βιοδραστική ένωση με υγιεινά οφέλη κατά της ενζυμικής αμαύρωσης [113].

10.14 Επίδραση φύλλων βασιλικού και εκχυλίσματος πίτουρου σίτου στην ενζυμική αμαύρωση μαρουλιού

Μελετήθηκε η επίδραση διαφόρων διαλυμάτων από εγχύσεις από λαχανάκια ραδικιών, φύλλα βασιλικού, πίτουρο σίτου και υδρολάσης (hydrolysate) πρωτεΐνης φακής, στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων από μαρούλι (λάχανο). Διαπιστώθηκε ότι μετά από 8 μέρες αποθήκευσης η πιο μεγάλη αναστολή στην δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης επιτεύχθηκε με διάλυμα 10% πίτουρου σίτου όπου παρατηρήθηκε μείωση κατά 97%. Η μείωση στο ποσοστό ενζυμικής αμαύρωσης ανήλθε σε 91% και 88% όταν έγινε επεξεργασία των τεμαχίων μαρουλιού με 1% διαλύματος που περιέχει φύλλα βασιλικού και πίτουρου σίτου αντίστοιχα, όπου διαπιστώθηκε ότι τα δύο αυτά διαλύματα έδρασαν ως συναγωνιστικοί αναστολείς της πολυφαινολικής οξειδάσης, ενώ καταγράφηκε μεικτή αναστολή στην δράση της υπεροξειδάσης [114].

10.15 Βότανα και μπαχαρικά ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης

Τα βότανα και μπαχαρικά όπως η κανέλα, το γαρύφαλλο, το σκόρδο, η μουστάρδα, το κρεμμύδι και η ρίγανη χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο για να παρατείνουν την διάρκεια ζωής των μη επεξεργασμένων τροφίμων, λόγω των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων τους αν και σε πολλές περιπτώσεις χρησιμοποιούνται τα αιθέρια έλαια τους [115]. Η δράση της κανέλας οφείλεται στην περιεκτικότητάς της σε φαινολικά οξέα, κινναμικό, κουμαρικό, καφεϊκό και φερουλικό, το γαρύφαλλο περιέχει φλαβονοειδείς ουσίες, το σκόρδο και η μουστάρδα περιέχουν διάφορες θειικές ενώσεις, ενώ το κρεμμύδι ερευνήθηκε ευρέως λόγω των φαινολικών ουσιών που περιέχει. Η χρήση τους όμως περιορίζεται από το πολύ έντονο άρωμα τους που σε αρκετές περιπτώσεις δεν είναι αποδεκτό από τους καταναλωτές στο επεξεργασμένο προϊόν.

10.16 Μελέτη επιλεγμένων φυτικών εκχυλισμάτων στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου [47]

Πρόσφατες μελέτες επικεντρώθηκαν στην αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης χρησιμοποιώντας εκχυλίσματα από επιλεγμένα βότανα, φαρμακευτικά φυτά και φρούτα τα οποία συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα, τα οποία διαθέτουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες, περιέχουν βιοδραστικές ουσίες ωφέλιμες στην υγεία που είναι ευρέως αποδεκτές από τους καταναλωτές. Ειδικότερα τα κατάλληλα βότανα και τα φαρμακευτικά φυτά αποτελούν ένα ελκυστικό αναστολέα της ενζυμικής αμαύρωσης. Μεταξύ άλλων μελετών, αξιολογήθηκε η ανασταλτική δράση αριθμού επιλεγμένων φυτικών εκχυλισμάτων επί της ενζυμικής αμαύρωσης σε τεμάχια μήλου, αφού πρώτα χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες: (α) Φρούτα, λαχανικά και σπόροι ελαίου τα οποία είναι πλούσια σε πολυφαινόλες, καροτενοειδή και άλλες δευτερογενείς αντιοξειδωτικές ουσίες (β) βότανα και φυτά τσαγιού τα οποία θεωρούνται ότι περιέχουν σημαντικές ποσότητες φλαβονοειδών (γ) φαρμακευτικά φυτά που περιέχουν φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή και ταννίνες οι οποίες αναστέλλουν την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης δεσμεύοντας τον χαλκό (πίνακας 3). Τα τεμάχια μήλου εμβαπτίστηκαν σε 1% διαλύματα των εκχυλισμάτων για 4 ώρες και μετρήθηκαν οι τιμές L^* , a^* , b^* όπως περιγράφεται στην παράγραφο 10 για να διαπιστωθεί η έκταση της αμαύρωσης. Σε μελέτη που έγινε σε 36 διαφορετικά φυτικά εκχυλίσματα που ανήκουν στις τρεις πιο πάνω κατηγορίες, ερευνήθηκε η περιεκτικότητά τους σε πολυφαινόλες και η

αντιοξειδωτική τους ικανότητα για να διευκρινιστεί κατά πόσο μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αναστολείς της ενζυμικής αμαύρωσης. Η σύγκριση της μείωσης της ενζυμικής αμαύρωσης στηρίχθηκε στην μέτρηση της συνολικής αλλαγής στο χρώμα των τεμαχίων μήλου καθώς και στην μέτρηση του pH το οποίο επίσης επηρεάζει την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης. Τα αποτελέσματα σε κάθε μια από τις πιο πάνω τρεις κατηγορίες έχουν ταξινομηθεί στον πίνακα 3. Στην μελέτη χρησιμοποιήθηκαν φυτά που απαντώνται σε εξωτικές χώρες τα οποία σπάνια εντοπίζονται στην Ελλάδα και έτσι πιο κάτω ταξινομούνται κατά σειρά δραστηριότητας μείωσης της ενζυμικής αμαύρωσης για τα πιο αποτελέσματα σε εκχυλίσματα φυτών που απαντώνται και στην Ελλάδα. Ως μέτρο σύγκρισης χρησιμοποιήθηκε η διαφορά στην φωτεινότητα ΔL που καταμετρήθηκε με χρωμόμετρο μετά από 4 ώρες.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3

Κατηγορίες επιλεγμένων φυτικών εκχυλισμάτων

	Φρούτα, λαχανικά ελαιόσποροι	Βότανα, Φυτά τσαγιού	Φαρμακευτικά φυτά
1	Σπόρος κολοκύθας	Άνθος Ιβίσκου	Ρίζα γερανιού
2	Βολβός σκόρδου	Φύλλα πράσινου τσαγιού	Βότανο βρώμης
3	Υποκοτύλιο Σόγιας	Καθαριστικό ροζ βότανο	Vitex agnus-cactus (chasteberry)
4	Καρπός Cranberry	Φύλλα τσουκνίδας	Φύλλα βατόμουρου (bearberry)
5	Σπόρος μπρόκολο	Φύλλα φασκόμηλο	Βότανο ευφρασίας (eyebright herb)
6	Καρπός γκρέιπφρουτ	Άνθος χαμομήλι	Κόκκινα φύλλα αμπέλου
7	Καρπός φράουλας	Βότανο ρίγανης	Βότανο λουλουδιού passion
8	Ρίζα χρένου	Φύλλα δενδρολίβανου	Φλοιός από ιτιά
9	Σπόρος σταφυλιού	Βότανο μελισσόχορτου	Φύλλα τσαγιού java
10	Φύλλα αγκινάρας	Φύλλα ελιάς	Φύλλα κισσού

Από την πρώτη κατηγορία (φρούτα, λαχανικά, ελαιόσποροι) την πλέον σημαντική μείωση στην ενζυμική αμαύρωση είχαν οι σπόροι κολοκύθας, βολβός σκόρδου και υποκοτύλιο

σόγιας τα οποία παρουσίασαν μια πολύ μικρή αμαύρωση μετά την περίοδο των 4 ωρών και χαρακτηρίζονται ως μια ισχυρή υποομάδα αναστολέων. Το pH τους είχε τιμές από 5,3 μέχρι 6 και σε σύγκριση με τα εκχυλίσματα που είχαν χαμηλότερο pH (το κράνμπερου είχε pH 3,6) δεν επηρέαζε σημαντικά την ανασταλτική τους δράση και δεν εντοπίστηκε συσχετισμός μεταξύ του pH των δειγμάτων και της ενζυμικής αμαύρωσης. Η μελέτη εισηγείται ότι η αντιοξειδωτική δράση οφείλεται στα φυτοοιστρογόνα που τα δύο πρώτα περιέχουν σε λιγνάνες ενώ το τρίτο εκχύλισμα περιέχει ισοφλαβόνες και λιγνάνες. Τα φυτοοιστρογόνα παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση, ενώ οι ισοφλαβόνες δρουν ως αναστολείς της δράσης της τυροσινάσης [47]. Παράλληλα η σόγια παρουσιάζει την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση λόγω την υψηλής περιεκτικότητας σε φαινολικές ουσίες.

Από την δεύτερη κατηγορία, τα βότανα, το εκχύλισμα από άνθος ιβίσκου έδειξε ισχυρή δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί για την αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης. Η μελέτη αναφέρει ότι οι αντιοξειδωτικές ικανότητες του εκχυλίσματος αυτού οφείλονται στην περιεκτικότητα του σε φλαβονοειδή (κερσετίνη, ιβισκριτρίνη) και σε ανθοκυανίνες. Όμως η περιεκτικότητα σε φαινόλες και η αντιοξειδωτική ικανότητα ήταν από τα πλέον χαμηλά από τα υπόλοιπα εκχυλίσματα του δείγματος, επομένως η αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης δεν επεξηγείται από την περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες ή την αντιοξειδωτική δράση, αλλά υποβοηθείται από το χαμηλό pH του εκχυλίσματος που είναι 2,8. Ένας τρίτος λόγος είναι ότι το χαμηλό pH οφείλεται στην παρουσία οργανικών οξέων όπως το κιτρικό, μηλικό, ταρταρικό και οξαλικό οξύ, τα οποία εκτός από την μείωση που προκαλούν στο pH, έχουν την δυνατότητα να σχηματίζουν σύμπλοκα με τον χαλκό και έτσι να επηρεάζουν την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης.

Εκτός από το εκχύλισμα από άνθος ιβίσκου, αναστολή στην ενζυμική αμαύρωση έδειξε και το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού το οποίο είχε τις πιο ψηλές τιμές σε περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες και στην αντιοξειδωτική ικανότητα. Η ικανότητα αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι είναι πλούσιο σε φλαβονοειδή, κυρίως κατεχίνες, που διαθέτουν υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα και υψηλό ποσοστό σε συνολική περιεκτικότητα σε φαινόλες [99]. Εκτός από την δράση τους ως αναγωγικοί παράγοντες, οι κατεχίνες του εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού θεωρούνται ότι δρουν ως χηλικοί παράγοντες που χαλκού, αλλά και ως συναγωνιστικοί αναστολείς της δράσης της τυροσινάσης [47].

Τα εκχυλίσματα από φαρμακευτικά φυτά είχαν pH 4,4 μέχρι 5,6 που είναι πολύ κοντά στο pH 5,5 της πολυφαινολικής οξειδάσης [99]. Η μεγαλύτερη αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης εντοπίστηκε στο εκχύλισμα ρίζας γερανίου, βότανο βρώμης και *Vitex agnus-cactus* τα οποία έχουν τις πιο ψηλές συγκεντρώσεις σε πολυφαινόλες (φλαβονοειδή, ταννίνες και κουραρίνες), οι οποίες έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες, αλλά ανατέλλουν την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης λόγω των συμπλόκων που είναι δυνατόν να δημιουργήσουν με τον χαλκό. Στο φυτό *Vitex agnus-cactus* έχουν επίσης εντοπιστεί λιγνάνες. Επίσης η παρουσία κάποιων μεταλλικών στοιχείων όπως το ασβέστιο στο βότανο βρώμης μειώνουν την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης [116].

10.17 Επίδραση 60 φυτικών εκχυλισμάτων στην ενζυμική αμαύρωση σε πατάτες και μανιτάρια

Επειδή τα διάφορα φυτικά συστατικά επηρεάζουν με διαφορετικό τρόπο την ενζυμική αμαύρωση των διαφόρων τροφίμων, κάθε είδος πολυφαινολικής οξειδάσης, γίνεται ξεχωριστή έρευνα σε κάθε περίπτωση για να διαπιστωθεί κατά πόσο η ανασταλτική δράση κάποιου φυσικού συστατικού μπορεί να θεωρηθεί ότι αναστέλλει την ενζυμική αμαύρωση άλλων τροφίμων. Μια αρκετά συνηθισμένη πολυφαινολική οξειδάση που χρησιμοποιείται, είναι η τυροσινάση που εντοπίζεται στα μανιτάρια η οποία χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση της αναστολής της ενζυμικής αμαύρωσης, σε συνδυασμό με πολυφαινολική οξειδάση που απομονώθηκε από κονδύλους πατάτας. Σε μελέτη που έγινε για την επίδραση 60 φυτικών εκχυλισμάτων για τη μετατροπή DOPA σε DOPA-χρώμιο όπως φαίνεται στο σχήμα 1, από την πολυφαινολική οξειδάση που απομονώθηκε από κονδύλους πατάτας και από την τυροσινάση των μανιταριών, το αποτέλεσμα της επίδρασης εκφράστηκε από τον ρυθμό σχηματισμού Dopa-χρώματος σε κάθε περίπτωση. Από τα αποτελέσματα διαπιστώθηκε ότι η αναστολή της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης στην περίπτωση της πατάτας ήταν πιο περιορισμένη από την αναστολή στα μανιτάρια. Επιπλέον κάποια από τα εκχυλίσματα ανέστειλαν την ενζυμική αμαύρωση και στις δύο πολυφαινολοξειδάσες, κάποια ανέστειλαν την δράση μόνο της μίας ενώ κάποια άλλα φαίνεται ότι ανέστειλαν την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης στις πατάτες αλλά διέγειραν την δράση της τυροσινάσης των μανιταριών.

Τα αποτελέσματα της μελέτης καταγράφηκαν σε πίνακα όπου εύκολα μπορεί να γίνει διάκριση της επίδρασης κάθε εκχυλίσματος στον ρυθμό σχηματισμού δορα-χρώματος ανάλογα με το είδος της πολυφαινολοξειδάσης που απαντάται στην πατάτα και τα μανιτάρια. Ο πίνακας αναπαράγεται πιο κάτω ως πίνακας 4 αφού τα αποτελέσματα είναι ενδιαφέροντα και εύκολα μπορεί να διαπιστωθούν τα πιο πάνω συμπεράσματα. Όπως φαίνεται στον πίνακα, το εκχύλισμα φύλλων πράσινου τσαγιού *mate* αναστέλλει την δράση της τυροσινάσης στα μανιτάρια αλλά ενεργοποιεί την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης στις πατάτες. Αντιθέτως ο χυμός εχινάκειας έχει πολύ μικρή ανασταλτική δράση και για τις δύο πολυφαινολοξειδάσες, ενώ το εκχύλισμα από ρίζες γλυκόριζας έχει την πιο ισχυρή ανασταλτική δράση και στις δύο περιπτώσεις.

Μια πιθανή εξήγηση στην αναστολή στον σχηματισμό χρώματος είναι η παρουσία αναγωγικών ενώσεων στα φυτικά εκχυλίσματα τα οποία μπορούν να αναγάγουν τις ορθοκινόνες που σχηματίζονται κατά την ενζυμική αμαύρωση πίσω στις αντίστοιχες ορθοδιφαινόλες ή να ενωθούν με τις ορθοκινόνες για την παραγωγή νέων άχρωμων ενώσεων. Ο σχηματισμός ενισχυμένου σκούρου χρώματος οφείλεται στην παρουσία κατάλληλων υποστρωμάτων που βοηθούν την ενζυμική αμαύρωση μέσα στο φυτικό εκχύλισμα.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4

Επίδραση 60 φυτικών εκχυλισμάτων στην δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης σε πατάτα και της τυροσινάσης σε μανιτάρια [53]

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΣΤΟΝ ΡΥΘΜΟ ΣΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΝΤΟΠΑΧΡΩΜΙΟΥ (DOPACHROME)			
	ΕΙΔΟΣ ΦΥΤΟΥ	ΣΧΕΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΤΥΡΟΣΙΝΑΣΗ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ	ΣΧΕΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΟΞΕΙΔΑΣΗ ΠΑΤΑΤΑΣ
1	Φύλλα πράσινου τσαγιού mate	27 ± 1,0	354 ± 41,5
2	Βότανο βρώμης	73 ± 1,8	88 ± 10,6
3	Φύλλα ελιάς	85 ± 3,2	224 ± 2,3
4	Ξηρός πιεσμένος χυμός εχινάκειας	104 ± 3,7	105 ± 6,7
5	Ρίζα Εχινάκειας purpurea	91 ± 2,2	102 ± 7,3
6	Σπόροι κολοκύθας	85 ± 1,6	61 ± 1,9
7	Φύλλα πράσινου τσαγιού	22 ± 1,1	102 ± 3,7
8	Φύλλα τσουκνίδας	84 ± 2,7	106 ± 3,8
9	Βότανο μελισσόχορτου	30 ± 2,9	216 ± 9,9
10	Φύλλα φασκόμηλου	31 ± 2,6	181 ± 4,1
11	Ραβέντι	50 ± 1,1	85 ± 3,4
12	Φύλλα κόκκινης αμπέλου	63 ± 7,2	89 ± 0,8
13	Φύλλα φυτού μέντας	44 ± 3,3	126 ± 13,6
14	Βότανο και καρπός πικραλίδας	79 ± 8,6	100 ± 8,4
15	Βότανο θυμαριού	37 ± 1,8	156 ± 0,2
16	Ροζ βότανο cistus	37 ± 2,1	70 ± 1,5
17	Βότανο άνθους Passion fruit	67 ± 3,5	95 ± 4,3
18	Φύλλα φυτού νταμιάνα	75 ± 3,3	93 ± 10,7
19	Βότανο goldenrod	43 ± 0,2	189 ± 11,2
20	Φύλλα αγκινάρας	63 ± 2,2	102 ± 25,4
21	Τσάι java	34 ± 0,2	107 ± 0,13
22	Βότανο Ευφρασίας	42 ± 2,7	146 ± 3,9
23	Φύλλα κισσού	53 ± 3,8	123 ± 1,4
24	Ρίζα Αλθαίας (marshmallow)	99 ± 2,7	96 ± 1,4
25	Φύλλα μούρων bearberry	36 ± 6,6	61 ± 0,9
26	Καρπός σχισάνδρας	88 ± 5,7	92 ± 2,2
27	Ρίζα licorice (γλυκόριζας)	4 ± 1,8	15 ± 1,1
28	Λιγαριά	51 ± 12,8	115 ± 0,4
29	Καρπός αρκεύθου	84 ± 3,2	96 ± 1,3
30	Φύλλα δενδρολίβανου	29 ± 3,4	160 ± 0,0
31	Ρίζα devil's claw	41 ± 1,5	117 ± 1,6

32	Ρίζα πελαργονίου	25 ± 1,0	44 ± 9,6
33	Άνθος χαμομιλιού	33 ± 0,2	102 ± 1,9
34	Σπόροι κίμινο	56 ± 1,0	97 ± 2,4
35	Άνθος γλυστρίδας	62 ± 3,3	86 ± 8,7
36	Αγριοτριανταφυλιά	98 ± 0,5	84 ± 13,0
37	Φίτρο σόγιας soyLife 40	48 ± 0,5	103 ± 17,0
38	LinumLife extra	82 ± 2,9	103 ± 9,4
39	Γλυκοραφανίνη 10% βροκαραφίνη	118 ± 11,5	80 ± 12,7
40	Βιοκουρκουμίνη	-	-
41	Romactiv AGE	44 ± 2,7	90 ± 5,8
42	Μούρα 6000	37 ± 8,0	78 ± 3,7
43	Ασάι euterpe oleracea	94 ± 5,5	82 ± 10,2
44	Μείγμα 7 μούρων	11 ± 10,3	90 ± 18,1
45	Ρίγανη και μελισσόχορτο	31 ± 2,4	213 ± 3,0
46	Ρίγανη	44 ± 2,1	125 ± 3,0
47	Μούρα Cranberry	176 ± 4,5	90 ± 1,6
48	Σπόροι σταφυλιού ActiVin	18 ± 0,4	67 ± 0,7
49	Διϋδροχαλκόνη νεοεσπεριδίνης (NADC)	19 ± 0,8	73 ± 2,3
50	Νεοεσπεριδίνη εσπεριδοειδών	40 ± 4,9	97 ± 4,0
51	Εσπεριδίνη	45 ± 5,1	99 ± 1,3
52	Μέλαν σκόρδο	109 ± 3,0	95 ± 0,6
53	Χρένο	110 ± 1,2	86 ± 12,9
54	Ιβίσκος	114 ± 12,3	54 ± 15,0
55	Baobab	107 ± 0,1	94 ± 1,5
56	Κόλιανδρος	79 ± 4,5	105 ± 2,4
57	Κανέλα	69 ± 5,6	91 ± 4,3
58	Κανέλα 2	104 ± 40,4	95 ± 4,0
59	Romactiv HFV	48 ± 1,8	107 ± 13,7
60	Romactiv Shape	40 ± 2,4	183 ± 4,6

Πέντε εκχυλίσματα τα οποία είχαν μεγάλη διαφορά στο αποτέλεσμα μεταξύ πολυφαινολικής οξειδάσης και τυροσινάσης των μανιταριών, η ρίζα licorice (γλυκόριζα) (27), η ρίζα πελαργονίου (32), η βιοκουρκουμίνη (40), οι σπόροι σταφυλιού ActiVin (39) και NHDC (40), ερευνήθηκαν περαιτέρω για να διαπιστωθεί κατά πόσο η αλλαγή του χρώματος οφειλόταν σε ενζυμική αμαύρωση λόγω της παρουσίας κατάλληλων υποστρωμάτων. Μόνο η ρίζα licorice ανέστειλε αποτελεσματικά την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης και στις δύο περιπτώσεις, το οποίο δείχνει ότι το εκχύλισμα

αυτό περιέχει αναστολείς με ευρύ πεδίο εφαρμογών. Η μείωση στην αλλαγή του χρώματος με την χρήση των υπολοίπων εκχυλισμάτων οφείλεται στην αναγωγή διαφόρων ενώσεων που περιορίζουν την παρουσία σκούρων χρωμάτων αλλά δεν περιορίζουν την ενζυμική αμαύρωση.

10.18 Μελέτη της αναστολής της δραστηριότητας της τυροσινάσης από εκχυλίσματα μίσχου ρόδου και περικάρπιου ροδιού.

Σε μελέτες που έγιναν για να ερευνηθεί η αναστολή της δραστηριότητας της τυροσινάσης και της πολυφαινολικής οξειδάσης σε αγκινάρες, μανιτάρια και χυμό αχλαδιού από εκχυλίσματα μίσχου τριαντάφυλλου (ρόδου) dog rose και περικάρπιο ροδιού αποδείχθηκε ότι το εκχύλισμα μίσχου τριαντάφυλλου ήταν πιο αποτελεσματικό από το εκχύλισμα ροδιού. Περαιτέρω ανάλυση υγρής χρωματογραφίας έδειξε ότι και τα δύο εκχυλίσματα περιέχουν αρκετά συστατικά που αναστέλλουν την πολυφαινολική οξειδάση και την τυροσινάση. Το εκχύλισμα μίσχου ρόδου σε συνδυασμό με ασκορβικό οξύ μείωσε την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης στον χυμό αχλαδιού κατά 98,5%, διπλάσια επίδοση από ότι το ασκορβικό οξύ μόνο του. Ο χυμός ροδιού είχε λιγότερο καλά αποτελέσματα αφού μειώθηκε η δράση της τυροσινάσης κατά 27,6% [117]. Στην περίπτωση της αγκινάρας τα δύο δείγματα μείωσαν την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης κατά 19,6% και 57,6% αντίστοιχα. Τα εκχυλίσματα του ρόδου dog rose (του είδους rosaceae) περιέχουν κατά σειρά κιτρικό, μηλικό, ασκορβικό και γαλακτικό οξύ, ενώ ο χυμός ροδιού είναι πλούσιος σε κιτρικό, μηλικό, γαλακτικό και οξαλικό οξύ. Τα οργανικά αυτά οξέα προκαλούν αναγωγή των ορθο-κινόνων σε ορθο-φαινόλες, πτώση του pH ενώ το κιτρικό οξύ δρα και ως χηλικός παράγοντας επιδρώντας στον χαλκό.

10.19 Επίδραση εκχυλίσματος φιστικιού (Αιγίνης) στην ενζυμική αμαύρωση μανιταριών

Η διάρκεια ζωής του μανιταριού είναι ένα σοβαρό πρόβλημα κατά την συγκομιδή και διανομή του αφού παρουσιάζει σημάδια ενζυμικής αμαύρωσης λόγω της δράσης της τυροσινάσης. Σε κάποιες χώρες κυρίως της Μέσης Ανατολής όπου υπάρχει μεγάλη παραγωγή φιστικιού Αιγίνης (pistachio), υπάρχουν επίσης μεγάλες ποσότητες αποβλήτων του επικαρπίου του φιστικιού μετά την επεξεργασία του. Έτσι η ανασταλτική

δραστικότητα διαφορετικών συγκεντρώσεων εκχυλίσματος του φιστικιού συγκρίθηκε με την ανασταλτική δραστηριότητα του μεταθειώδους νατρίου και του ασκορβικού οξέως στην δράση της τυροσινάσης των μανιταριών. Μετά από 10 μέρες βρέθηκε ότι τα μανιτάρια που έτυχαν επεξεργασίας με εκχύλισμα επικαρπίου του φιστικιού είχαν ψηλότερη φαινολική περιεκτικότητα (10,4%), χαμηλότερο δείκτη ενζυμικής αμαύρωσης και μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση κατά 4,5%. Τα κύρια συστατικά του εκχυλίσματος του φιστικιού ήταν η φλορογλουκινόλη, το γαλλικό οξύ, η ναριγκίνη, το βανιλλικό οξύ, η κατεχίνη και το πρωτοκουχικό οξύ, ενώ η ανασταλτική δράση της τυροσινάσης ήταν για την φλορογλουκινόλη 43,6%, για το γαλλικό οξύ 24,4% και του μείγματος τους 42,5%. Επομένως ο συνδυασμός των ενώσεων αυτών έχει συνεργιστικό αποτέλεσμα που σε συγκέντρωση 0,05% παρουσιάζει ιδιότητες παρόμοιες με το ασκορβικό οξύ μετά από 10 μέρες αποθήκευσης και το επικάρπιο του φιστικιού είναι ένας φυσικός αναστολέας που εμποδίζει την ενζυμική αμαύρωση στα μανιτάρια [118].

10.20 Επίδραση φλούδας ντομάτας στην ενζυμική αμαύρωση τεμαχίων μήλου

Η φλούδα ντομάτας είναι ένα μέρος του καρπού ντομάτας το οποίο αφαιρείται και αποβάλλεται κατά την επεξεργασία της ντομάτας ειδικότερα όταν συσκευάζεται ξεφλουδισμένη. Έχει πολύ ψηλό περιεχόμενο σε λικοπένιο (7,3g/kg) το οποίο είναι μέχρι 14 φορές περισσότερο από ότι στους εσωτερικούς ιστούς της ντομάτας, είναι όμως μια ουσία που ανήκει στην κατηγορία των καροτενοειδών η οποία είναι ασταθής και διασπάται σε ψηλές θερμοκρασίες και στην παρουσία οξυγόνου. Μετά από έρευνα διαπιστώθηκε ότι το εκχύλισμα λικοπενίου έχει ψηλή αντιοξειδωτική ιδιότητα (ιδιαίτερα τα cis-ισομερή του), αναστέλλει την ενζυμική αμαύρωση και αυξάνει την διατροφική ποιότητα των φρέσκων τεμαχίων μήλου. Η ιδιότητες αυτές ανταγωνίζονται αυτές του ασκορβικού οξέως και μετά από αποθήκευση 9 ημερών ο δείκτης αμαύρωσης ήταν 43,8. Επιπλέον η φυσικοχημική και η μικροβιακή ποιότητα των δειγμάτων δεν επηρεάστηκαν, ενώ αυξημένη ήταν η περιεκτικότητα σε χλωρογενικό οξύ, ένα κύριο φαινολικό οξύ το οποίο βρέθηκε αυξημένο κατά 56% μετά το τέλος της αποθήκευσης [119].

10.21 Θερμαινόμενα φυσικά συστατικά

10.21.1 Θερμαινόμενα φυτικά εκχυλίσματα ως φυσικοί αναστολείς – περίπτωση αντίδρασης Maillard

Μεταξύ των φυσικών αντιοξειδωτικών, τα προϊόντα αντίδρασης Maillard έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά. Τα προϊόντα αντίδρασης Maillard δημιουργήθηκαν μέσω θερμαινόμενων φυσικών εκχυλισμάτων. Τα φυτικά εκχυλίσματα τείνουν να μεταφέρουν την φυσική τους γεύση στο προϊόν, ενώ η θέρμανση αυτών των εκχυλισμάτων και η δημιουργία αντίδρασης Maillard, θεωρείται ότι δεν μεταφέρει τυχόν φυτικές γεύσεις και οσμές που μεταφέρουν τα μη θερμαινόμενα φυτικά εκχυλίσματα [120].

10.21.2 Επίδραση θέρμανσης σε ζεσταμένο χυμό μήλου στην ενζυμική αμαύρωση

Ανεξάρτητα από το είδος της διαδικασίας που ακολουθείται για την αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης, χυμοί από διάφορα είδη μήλων έτυχαν επεξεργασίες σε ψηλές θερμοκρασίες 60 -90°C για βραχεία χρονικά διαστήματα 20 -100s (High Temperature Short Time – HTST) για να διαπιστωθεί η επίδραση της HTST στην ενζυμική αμαύρωση, την σταθερότητα και την σταθερότητα του χυμού. Διαπιστώθηκε ότι η θέρμανση στους 80°C για 20s απενεργοποίησε την πολυφαινολική οξειδάση [121].

10.22 Φυσικές ενώσεις που περιέχουν θείο

Οι φυσικές ενώσεις που περιέχουν θείο είναι σε θέση να αναστέλλουν την ενζυμική αμαύρωση και να ανταγωνίζονται τις ουσίες που περιέχουν ασκορβικό οξύ. Οι ουσίες εξα-ρεσορσινολόλη, n-ακετυλοκουστεΐνη και γλουταθειόνη που περιέχουν θείο και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο της ενζυμικής αμαύρωσης όμως υπάρχει σκεπτικισμός στην χρήση τους καθότι χρησιμοποιούνται σε κάποια φαρμακευτικά σκευάσματα [122]. Η αναστολή μετάδοσης της αμαύρωσης σε γαρίδες μελετήθηκε σε διαφορετικές χρονικές περιόδους, αφού σε αρκετές περιπτώσεις μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα από την περισυλλογή των γαρίδων μέχρι την διάθεσή τους, που είναι αρκετό για να προκαλέσει ενζυμική αμαύρωση. Η χρήση 4- εξα-ρεσορσινολόλης αποδείχθηκε αποτελεσματική στην παράταση της διάρκειας ζωής σε σχέση με τις γαρίδες που δεν υποβλήθηκαν σε επεξεργασία. Ο συνδυασμός όμως της 4- εξα-ρεσορσινολόλης με άλλους αναστολείς όπως το κιτρικό οξύ, το ασκορβικό οξύ ή το οξικό οξύ δεν βελτίωσε την έκταση της αναστολής

της ενζυμικής αμαύρωσης, αλλά βελτίωσε αισθητά την εμφάνιση των γαρίδων. Βελτίωση στην αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης παρατηρήθηκε μόνο όταν στον αναστολέα προστέθηκε EDTA [123].

10.23 Αναστολείς μεικτού τύπου

Στην παράγραφο 6.2 έγινε αναφορά σε διάφορες χημικές ενώσεις οι οποίες αναστέλλουν την ενζυμική αμαύρωση ανάλογα με τον τρόπο που δρουν στο φαινολικό υπόστρωμα αναστέλλοντας την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης, είτε ως αντιοξειδωτικοί, αναγωγικοί ή χηλικοί παράγοντες ή ως οξειδωτικά μέσα ή τροποποιώντας το υπόστρωμα ή ως αναστολείς μικτού τύπου. Οι διάφορες φυσικές ουσίες που έχουν δοκιμαστεί για την αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης αποτελούνται από ένα συνδυασμό διαφόρων ενώσεων, κυρίως οξέων που δρουν με διαφορετικό τρόπο στο υπόστρωμα του τροφίμου και αναστέλλουν την αμαύρωση με ένα ή περισσότερες λειτουργίες ταυτόχρονα. Επίσης κάποιοι οξειδωτικοί παράγοντες εξασκούν πολλαπλές λειτουργίες για την αναστολή της αμαύρωσης. Για παράδειγμα το κιτρικό, το μαλονικό και το οξικό οξύ διαθέτουν διπλές ιδιότητες για την αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης διαθέτοντας τόσο χηλικές όσο και οξειδωτικές ιδιότητες, ενώ το ασκορβικό οξύ είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό με οξειδωτικά χαρακτηριστικά. Επομένως τα φυσικά συστατικά που έτυχαν έρευνας για την αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης είναι δυνατόν να δρουν ως αναστολείς μικτού τύπου λόγω του ότι αποτελούνται από διάφορους συνδυασμούς χημικών ενώσεων που αναστέλλουν ξεχωριστά την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης [38].

11. Ταξινόμηση αποτελεσμάτων

Όπως έχει γίνει αντιληπτό έχουν γίνει αρκετές έρευνες για να διαπιστωθεί ο τρόπος που ενεργούν διάφορα φυσικά συστατικά στον περιορισμό της ενζυμικής αμαύρωσης και την μείωση της δράσης της πολυφαινολικής οξειδάσης στα διάφορα προϊόντα. Στον πίνακα 5 έχει γίνει μια ταξινόμηση των αποτελεσμάτων που εντοπίστηκαν και αφορούν τα φυσικά συστατικά, τα προϊόντα στα οποία έχει γίνει η έρευνα, οι ουσίες των φυσικών συστατικών που περιορίζουν την ενζυμική αμαύρωση ή την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης και τον τρόπο δράσης των φυσικών ουσιών.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5
Ταξινόμηση αποτελεσμάτων

ΦΥΣΙΚΟ ΣΥΣΤΑΤΙΚΟ	ΤΡΟΦΙΜΟ	ΦΥΣΙΚΗ ΟΥΣΙΑ	ΔΡΑΣΗ
Κρεμμύδι φρέσκο	Ακτινίδιο Μελιντζάνες	Φαινολικές ουσίες: γαλλικό και φερουλικό οξύ. Φλαβονοειδή: κερσετίνη. Χηλική δράση με κλάσμα οξικού μεθυλεστέρα	Περιορισμός δράσης της PPO κατά 89,71% (ακτινίδια) και 54,2% (μελιντζάνες)
Κρεμμύδι θερμικά επεξεργασμένο	Πατάτα Μήλο	Φαινολικές ουσίες. Αντίδραση Maillard	Περιορισμός E.A. κατά 65,2% μέσω συναγωνιστικής αναστολής της δράσης της PPO
	Θερμαινόμενος χυμός μήλου	Φλαβονοειδή	Μείωση E.A. με αναστολή δράσης PPO
	Αχλάδι Μπανάνα	Πολυφαινόλες, αντιοξειδωτικά, χηλική δράση	Μη ανταγωνιστική αναστολή δράσης της PPO
Κρεμμύδι υπολείμματα και υποπροϊόντα (χυμός, πάστα)	Κολοकाσία (ταρώ)	L-ασκορβικό, L-κυστεΐνη, γλουταθειόνη, πυροσουλφικό νάτριο	Το αποτέλεσμα της μείωσης της E.A. εξαρτάται από τον χρόνο θέρμανσης
Φράουλα φύλλα και μίσχος	Αχλάδι	Φαινολικές ουσίες: γαλλικό οξύ. Φλαβονοειδή: κερσετίνη. Ταννίνες και Ανθοκυανίνες	Δραστική αναστολή δράσης PPO έναντι της POD
Κόκκινη πιπεριά θερμαινόμενη	Πιπερόριζα (55%) Πατάτα (44%)	Φλαβονοειδή και φαινόλες	Αναστολή E.A. στην πατάτα κατά 48% σε πιπερόριζα και 44% σε πατάτα
Μέλι	Χυμός σταφυλιού	Ασκορβικό οξύ, μεταθειώδεις ουσίες	Μη ανταγωνιστικός αναστολέας επικατεχίνης.
	Σταφίδες	Ερυθροβικό οξύ, κιτρικό οξύ (χηλική δράση)	Δημιουργείται χηλικό σύμπλοκο με τον χαλκό και παράγονται ανοικτόχρωμες και κιτρινόχρωμες σταφίδες
	Μανιτάρια	Κατεχόλη καταλύεται με οξειδωση από PPO	Δρα ως μη ανταγωνιστικός αναστολέας της κατεχόλης
	Τεμάχια και χυμός μήλου	Φαινολικές ενώσεις, φλαβονοειδή, ασκορβικό οξύ, α-τοκοφερόλη	Μη ανταγωνιστικός αναστολέας PPO του μήλου
Ανανάς Χυμός Εκχύλισμα φλοιού	Μπανάνα Φρέσκα και αποξηραμένα μήλα	Μηλικό οξύ (αντιοξειδωτικό) και κιτρικό οξύ (χηλική δράση)	Περιορισμός E.A. αποξηραμένων τεμαχίων μήλου κατά 26%. Αποτελεσματική μείωση E.A. σε μπανάνα
Εσπεριδοειδή Λεμόνι, πορτοκάλι μανταρίνι, γρέιπφρουτ	Μήλο Χυμός ζαχαροκάλαμου	Ασκορβικό οξύ (αντιοξειδωτικό) Κιτρικό οξύ (Χηλική δράση), μείωση pH	Περιορισμός E.A. μέσω μείωσης του pH και μεταλλικών χηλικών χαρακτηριστικών

ΦΥΣΙΚΟ ΣΥΣΤΑΤΙΚΟ	ΤΡΟΦΙΜΟ	ΦΥΣΙΚΗ ΟΥΣΙΑ	ΔΡΑΣΗ
Πιπερόριζα	Εξωτικά φρούτα (γουαναμπάνα) Μπανάνα Χυμός ζαχαροκάλαμου	Ασκορβικό οξύ, καφεϊκό οξύ, β-καροτένιο, κουρκουμίνη, β-σιτοστερόλη	Μείωση της Ε.Α. γουαναμπάμα κατά 60,9% και 48,1% σε μπανάνα
Γκουάβα	Μήλο Πατάτα	Φερουλικό, κινναμικό, βανιλικό, γαλλικό, ασκορβικό οξύ	Μείωση δράσης της ΡΡΟ κατά 74,53% σε μήλα και 64,62% σε πατάτες
Τσάι	Μήλο/Λίτσι	Κατεχίνες - συναγωνιστικός αναστολέας πολυφαινολικής οξειδάσης	Μείωση εμφάνισης Ε.Α. σε γαρίδες. Οι κατεχίνες δρουν ως συναγωνιστικός αναστολέας της ΡΡΟ. Η δράση εξαρτάται από την συγκέντρωση του εκχυλίσματος. Για 3g/l η μείωση ήταν 86%
Φυσικό λάχανο και κολοकाσία (ταρώ)	Μήλο Πολτός και τεμάχια	Λάχανο: Φλαβονοειδή (καμφερόλη, κουερσετίνη) β-καροτένιο. Κολοκασία: Ασκορβικό και οξαλικό οξύ	Περιορισμός δράσης της ΡΡΟ κατά 62,2% σε πολτό μήλου και 28,8% σε τεμάχια μήλου. Ο περιορισμός δράσης της ΡΡΟ ήταν 65,4% και 46,7% αντίστοιχα
Πίτουρο ρυζιού	Μπανάνα Πατάτα	Φαινολικές ουσίες: Φερουλικό, σινναπικό, p-κουμαρικό. Πρωτοκατεχικό οξύ (αναστέλλει δράση τυροσινάσης)	Αναστολή δράσης ΡΡΟ κατά 69,31% σε πατάτες και 47,63% σε μπανάνα
	Πουρέ πατάτας Πουρέ μήλου Μπανάνα	p-κουμαρικό, φερουλικό Πρωτοκουχικό, βανιλικό, σινναπικό - ενεργούν ως μη ανταγωνιστικός αναστολέας	Αναστολή δράσης της ΡΡΟ σε πουρέ πατάτας κατά 66,12%. Σε πολτό πατάτας εξαρτάται από το pH και περιεκτικότητα σε λιπαρά
Σταφύλι σπόροι και φύλλα Άγουρα σταφύλια	Μαρούλι (λάχανο)	Πρωτοκατοχικό, χλωρογενικό, φερουλικό και κουμαρικό οξύ (πολυφαινόλες). Φλαβονοειδή: Κατεχίνη, επικατεχίνη, εστέρες γαλλικού οξέως Φαινολικά οξέα: Καφεϊκό, χλωρογενικό, γαλλικό, καφταρικό	Αναστέλλεται η δράση της ΡΡΟ και μειώνεται η απώλεια χρωματισμού. Η δράση αυξάνεται όταν το εκχύλισμα θερμανθεί. Το προϊόν αποκτά λευκότερο χρώμα
Φυτικά εκχυλίσματα: Κολοκύθα, σκόρδο, σόγια, κράνμπερρυ	Μήλο	Πολυφαινόλες, καροτενοειδή, φυτοοιστρογόνα, λιγνάνες (αντιοξειδωτικά) ισοφλαβόνες (τυροσινάση), Φαινολικές ουσίες (σόγια)	Περιορισμός δράσης ΡΡΟ λόγω της περιεκτικότητας σε φυτοοιστρογόνα, ισοφλαβόνες και λιγνάνες

ΦΥΣΙΚΟ ΣΥΣΤΑΤΙΚΟ	ΤΡΟΦΙΜΟ	ΦΥΣΙΚΗ ΟΥΣΙΑ	ΔΡΑΣΗ
Βότανα: Πράσινο τσάι, τσουκνίδα, φασκόμηλο, χαμομήλι, ρίγανη, δενδρολίβανο	Μήλο	Φλαβονοειδή: κερσετίνη, ιβισκριντρίνη (μείωση pH, χηλική δράση), μαλικό, ταρταρικό, οξαλικό οξύ	Αναστολή δράσης PPO λόγω της παρουσίας οργανικών οξέων που μειώνουν το pH και σχηματίζουν χηλικά σύμπλοκα με τον χαλκό
Φαρμακευτικά φυτά: Γεράνι, βρώμη, βατόμουρο, ευφρασία	Μήλο	Φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή, ταννίνες (χηλική δράση) Φλαβονοειδή: κατεχίνες	Αναστέλλουν την δράση της PPO δεσμεύοντας χαλκό. Χηλική δράση
Φυτικά εκχυλίσματα: Πράσινο τσάι, φύλλα ελιάς, εχινάκεια, τσουκνίδα, μελισσόχορτο, μέντα, κισσός, λιγαριά, δενδρολίβανο, ρίγανη, κόλιανδρος	Πατάτες (πολυφαινολική οξειδάση)	Παρεκτικότητα σε αναγωγικές ενώσεις	Αναγωγή ορθοκινόνων πίσω σε ορθο-διφαινόλες ή οι αναγωγικές ενώσεις ενώνονται με ορθοκινόνες για την παραγωγή άχρωμων ενώσεων.
Φυτικά εκχυλίσματα: Εχινάκεια, ιβίσκος, κανέλλα, κολοκύθα, αγριοτριανταφυλιά, σκόρδο, χρένο	Μανιτάρια (τυροσινάση)	Μεγαλύτερη αναστολή δράσης της τυροσινάσης	Αναγωγή ορθοκινόνων σε ορθο- διφαινόλες από αναγωγικές ενώσεις. Μεγαλύτερη αναστολή δράσης της τυροσινάσης παρά της PPO
Τριαντάφυλλο (εκχύλισμα μίσχου)	Αγκινάρες, χυμός αχλαδιού	Οργανικά οξέα: Τριαντάφυλλο: Κιτρικό, μηλικό, ασκορβικό, γαλακτικό	Αναστολή δράσης PPO σε αγκινάρες κατά 19,6% και κατά 98,5% σε χυμό αχλαδιού σε συνδυασμό με ασκορβικό οξύ
Ρόδι (εκχύλισμα περικάρπιου)	Αγκινάρες μανιτάρια	Οργανικά οξέα: Ρόδι: κιτρικό, μαλικό, γαλακτικό, οξαλικό οξύ. Αναγωγή ορθοκινόνων σε ορθοφαινόλες	Αναστολή δράσης PPO σε αγκινάρες κατά 57,6% και της τυροσινάσης κατά 27,6%
Φυστίκι Αιγίνης (pistachio)	Μανιτάρια	Φλορογλουκινόλη, γαλλικό, βανιλλικό, πρωτοκουχικό οξύ, κατεχίνες, ναριγκίνη	Αναστολή δράσης της τυροσινάσης κατά 42,5%
Ντομάτα	Μήλο	Λικοπένιο (αντιοξειδωτικό), χλωρογενικό και φαινολικό οξύ	Αναστολή E.A. και αυξάνεται η διατροφική ποιότητα

Σημείωση:

E.A.: Ενζυμική αμαύρωση
PPO: Πολυφαινολική Οξειδάση
POD: Υπεροξειδάση

12. Αναλύσεις – Συμπεράσματα

- Η αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης είναι πιο αποτελεσματική όσο μεγαλύτερη είναι η περιεκτικότητα σε φαινολικές ουσίες και κυρίως φλαβονοειδή.
- Οι ανασταλτικές ιδιότητες των φυσικών συστατικών κατά της ενζυμικής αμαύρωσης έχουν άμεση σχέση με τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των ουσιών που περιέχουν.
- Η αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης επιτυγχάνεται ανάλογα με τις ουσίες που περιέχονται σε κάθε φυσικό συστατικό. Έτσι είναι δυνατό η αναστολή που προκαλείται στην ενζυμική αμαύρωση από κάποια φυσική ουσία να οφείλεται στις αντιοξειδωτικές, αναγωγικές, χηλικές ή ανταγωνιστικές προς το ένζυμο/υπόστρωμα ιδιότητες των συστατικών της ουσίας.
- Κάποια φυσικά συστατικά περιέχουν συνδυασμό ουσιών που αναστέλλουν την ενζυμική αμαύρωση και ως εκ τούτου η δράση τους είναι πολλαπλή π.χ. δρουν ως αντιοξειδωτικοί και χηλικοί παράγοντες ταυτόχρονα.
- Δεν είναι ξεκάθαρο ποιά από τις ουσίες των φυσικών συστατικών υπερτερεί στον περιορισμό της ενζυμικής αμαύρωσης ή αν απαιτείται ο συνδυασμός όλων. Επίσης δεν γίνεται συνήθως αναφορά στην πιθανή δράση της κάθε μιας σε διάφορα φαινολικά υποστρώματα αφού η εξέταση γίνεται πάνω σε περιορισμένο αριθμό προϊόντων (ένα ή δύο συνήθως) και όχι σε διαφορετικά φαινολικά υποστρώματα.
- Λόγω της παρουσίας διαφόρων χημικών ενώσεων στα φυσικά συστατικά, αρκετά από αυτά αναστέλλουν πιο δραστικά την ενζυμική αμαύρωση από ότι οι μεμονωμένες χημικές ουσίες που περιέχουν.
- Τα φυσικά συστατικά δεν έχουν όλα την ίδια επίδραση στην αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης επί διαφορετικών τροφίμων. Έτσι υπάρχει ένας διαφορετικός

συνδυασμός φυσικού συστατικού/τροφίμου σε κάθε περίπτωση που δίνει βέλτιστα αποτελέσματα αναστολής της ενζυμικής αμαύρωσης

- Η αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης εξαρτάται από την συγκέντρωση του εκχυλίσματος
- Η απόδοση της αναστολής της ενζυμικής αμαύρωσης εξαρτάται από το είδος του υποστρώματος που καθορίζει και την σχέση αναστολέα/υποστρώματος
- Το επίπεδο της πολυφαινολικής οξειδάσης εξαρτάται από τις συνθήκες καλλιέργειας και την ωριμότητα του φρούτου
- Ορισμένα θερμαινόμενα φυσικά συστατικά και τα εκχυλίσματά τους έχουν καλύτερα αποτελέσματα από τα μη θερμαινόμενα. Όσα φυσικά συστατικά υποστούν μη ενζυμική αμαύρωση Maillard αναστέλλουν ακόμα πιο αποτελεσματικά την αμαύρωση.
- Η ανασταλτική δράση θερμαινόμενων συστατικών εξαρτάται από την θερμοκρασία και τον χρόνο θέρμανσης.
- Τα εκχυλίσματα φρούτων, λαχανικών και ελαιόσπορων είναι πλούσια σε πολυφαινόλες, καροτενοειδή και άλλες αντιοξειδωτικές δευτερογενείς φυτικές ενώσεις.
- Πολλά βότανα και φυτά τσαγιού περιέχουν σημαντικές ποσότητες δευτερογενών μεταβολιτών φυτών, όπως φλαβονοειδή που έχουν ισχυρές αντιοξειδωτικές ικανότητες.
- Τα φαρμακευτικά φυτά περιέχουν σημαντικές ποσότητες φαινολικών οξέων και φλαβονοειδών, ιδιαίτερα υδρολυμένων και συμπυκνωμένων τανινών, οι οποίες

έχουν την ικανότητα να απενεργοποιούν την πολυφαινολική οξειδάση δεσμεύοντας τον χαλκό ή πρωτεΐνες.

- Πολύ λίγη βιβλιογραφία και έρευνα έχει εντοπιστεί στην δράση των φυσικών συστατικών επί της ενζυμικής αμαύρωσης σε γαρίδες και θαλασσινά. Έχει εντοπιστεί μόνο περιορισμένη έρευνα με την χρήση εκχυλισμάτων τσαγιού. Για την αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης στα θαλασσινά φαίνεται να επικρατεί η κατάψυξη του προϊόντος η οποία έχει γίνει αποδεκτή από τους καταναλωτές.

13. Διάκριση των φυσικών συστατικών ανά κατηγορία, δομή και ανασταλτική δράση

Κάθε έρευνα που διεκπεραιώνεται για να διαπιστωθεί κατά πόσο το φυσικό συστατικό περιορίζει την ενζυμική αμαύρωση ή την δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης, προχωρεί σε ανάλυση των ουσιών των φυσικών συστατικών και τον τρόπο δράσης των διαφόρων ουσιών.

Έχουν εντοπιστεί τέσσερις κυρίως κατηγορίες που μπορούν να ταξινομηθούν τα φυσικά συστατικά ανάλογα με τις ουσίες από τις οποίες αποτελούνται και τον τρόπο δράσης τους. Έτσι διακρίνονται σε φυσικά συστατικά τα οποία περιέχουν ουσίες οι οποίες δρουν ως:

- Αντιοξειδωτικά – αναγωγικοί παράγοντες
- Συναγωνιστικοί αναστολείς
- Χηλικοί παράγοντες
- Οξειδωτικά τα οποία μειώνουν το pH

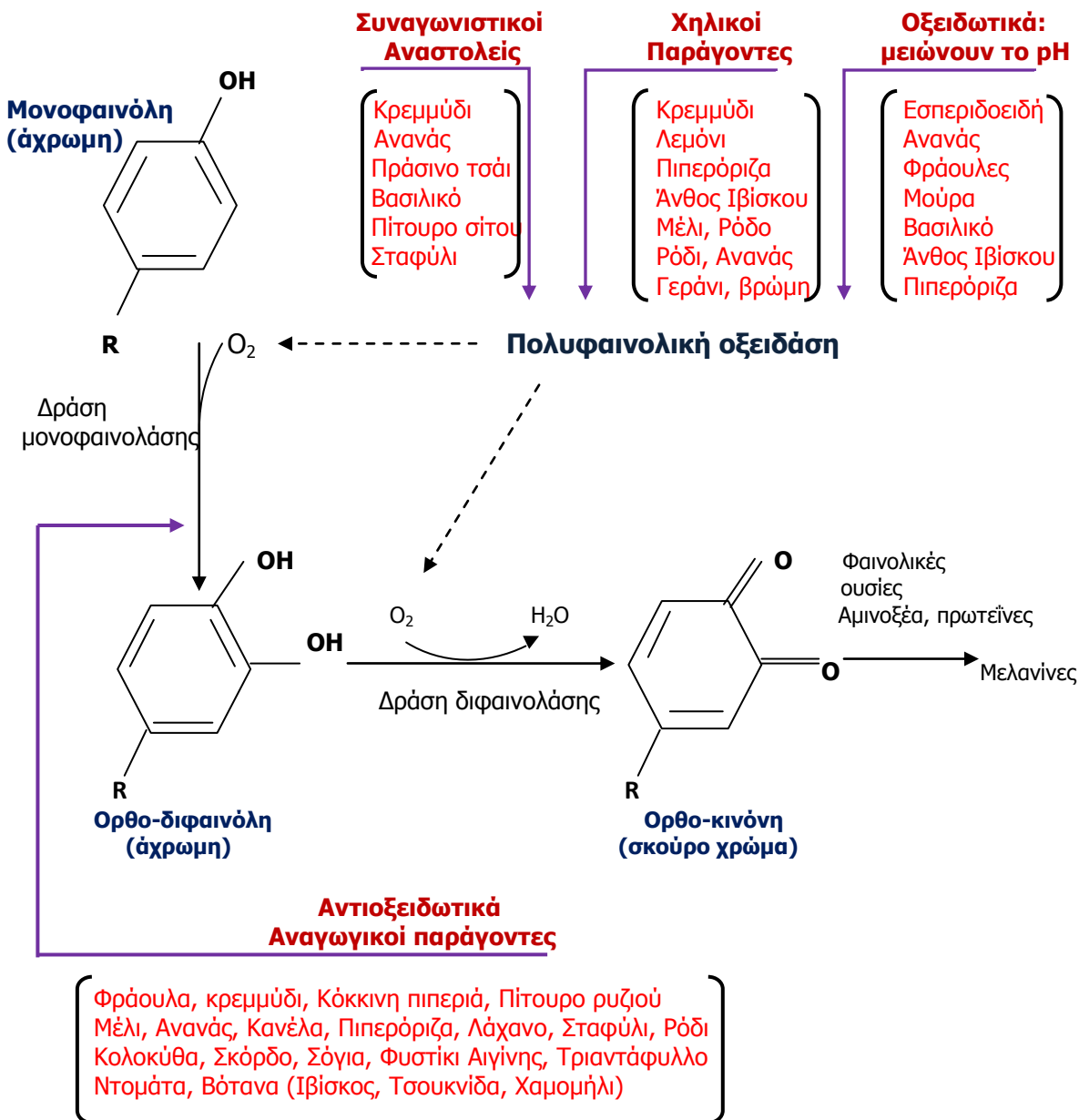
Στον πίνακα 6 έχει γίνει ένας διαχωρισμός των φυσικών συστατικών βάσει των ευρημάτων. Τα φυσικά συστατικά έχουν ταξινομηθεί ανάλογα με την δομή των ουσιών που περιέχουν και οι οποίες αναστέλλουν την ενζυμική αμαύρωση και ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6
ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΑΝΑ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ, ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Διάκριση των φυσικών συστατικών ανά κατηγορία, δομή και ανασταλτική δράση		
ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	ΔΟΜΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ	ΦΥΣΙΚΟ ΣΥΣΤΑΤΙΚΟ
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΑΝΑΓΩΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	Φαινολικά οξέα: Γαλλικό, φερουλικό, ασκορβικό, μηλικό, γαλακτικό, καφεϊκό, κινναμικό, κουμαρικό, βανιλικό, σινναμικό, χλωρογενικό Πρωτοκετεχικό (τυροσινάση) Φλαβονοειδή: Κερσετίνη Κυστεΐνη Γλουταθειόνη Πυροσουλφικό νάτριο α-τοκοφερόλη Καροτενοειδή - λιγνάνες Λικοπένιο	Κρεμμύδι, φράουλα, μέλι, ανανάς, πιπερόριζα, σταφύλι, γκουάβα, πίτουρο ρυζιού, κόκκινη πιπεριά, τριαντάφυλλο, ρόδι, φυτικά εκχυλίσματα, κολοκασία, λάχανο, ντομάτα, κανέλα, κολοκύθα, σκόρδο, σόγια, φυστίκι Αιγίνης, βότανα (ιβίσκος, τσουκνίδα, χαμομήλι)
ΧΗΛΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	Φαινολικά οξέα: Κιτρικό, οξαλικό, καφεϊκό, γαλακτικό, μηλικό, κουμαρικό Φλαβονοειδή: Ιβισκριτίνη Ταννίνες	Μέλι, Κρεμμύδι, ανανάς, Λεμόνι, πιπερόριζα, λάχανο, τριαντάφυλλο, ρόδι, φαρμακευτικά φυτά (ιβίσκος), βότανα
ΣΥΝΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ	Κατεχίνες, επικατεχίνες Γαλλικό, φερουλικό οξύ Καφταρικό οξύ (τυροσινάση)	Τσάι, βασιλικό, πίτουρο σίτου, κρεμμύδι, ανανάς, σταφύλι
ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ - ΜΕΙΩΣΗ pH	Φαινολικά οξέα: Ασκορβικό, κιτρικό, μηλικό	Εσπεριδοειδή, ανανάς, σκόρδο, φράουλες, βασιλικός

Όπως έχει ήδη αναφερθεί τα φυσικά συστατικά που έχουν εξεταστεί αποτελούνται από διάφορες ουσίες η κάθε μια από τις οποίες πιθανόν να έχει διαφορετικό τρόπο δράσης από τις άλλες ουσίες που περιέχονται με αποτέλεσμα να υπάρχει πέραν του ενός τρόπου επίδρασης στον περιορισμό της ενζυμικής αμαύρωσης. Για παράδειγμα ο ανανάς περιέχει μηλικό οξύ το οποίο δρα ως αντιοξειδωτικό αλλά περιέχει και κιτρικό οξύ το οποίο δρα επί του χαλκού σχηματίζοντας χηλικά σύμπλοκα. Έτσι είναι δυνατό ένα φυσικό συστατικό να περιλαμβάνεται σε περισσότερες από μια ομάδα.

Στο σχήμα 9 έχουν ταξινομηθεί τα φυσικά συστατικά ανάλογα με τον μηχανισμό δράσης των ουσιών που περιέχουν επί της ενζυμικής αμαύρωσης των τροφίμων τα οποία έχουν εξεταστεί.



Σχήμα 9: Η απλοποιημένη διαδικασία της ενζυμικής αμαύρωσης και των μηχανισμών αναστολής των φυσικών συστατικών που αναστέλλουν την ενζυμική αμαύρωση. Με κόκκινα γράμματα φαίνονται τα φυσικά συστατικά και ο τρόπος δράσης τους κατά την αναστολή της ενζυμικής αμαύρωσης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Akkaah-Gyazi , N.A. & Zhang, Y., & Simpson, B.K. (2015). Enzymes Inhibitors: Food and Non-Food Impacts. *Advances in Food Biotechnology*. Ravishankar Rai V. <https://doi.org/10.1002/9781118864463.ch11>
2. Βαφοπούλου-Μαστρογιαννάκη, Α. (2003). Μη Ενζυμική Αμαύρωση. *Βιοχημεία Τροφίμων*. Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις ΖΗΤΗ. <https://ziti.gr/wp-content/uploads/2020/01/vafopoyloy-mastrogiannaki-anna-vioximeia-trofimon.pdf>
3. Corzo-Martinez, M., Corzo, N., Villamiel, M. & del Castillo, M.D. (2012). Browning Reactions. *Food Biochemistry and Food Processing, Second Edition* (σ. 56-83). Καναδάς: Benjamin K. Simpson. <https://doi.org/10.1002/9781118308035.ch4>
4. Ενζυμική αμαύρωση. *Βιοχημεία τροφίμων*. Χαροκόπειο πανεπιστήμιο. Ανακτήθηκε από <https://eclass.hua.gr/modules/document/file.php/DIET200/amavrosi.pdf>
5. Lim, W.Y. & Wong, C.W. (2018). Inhibitory effect of chemical and natural anti-browning agents on polyphenol oxidase from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Journal of Food Science technology*, 55(8): 3001-3007. doi: [10.1007/s13197-018-3218-7](https://doi.org/10.1007/s13197-018-3218-7)
6. Γκακνή Δέσποινα (2017). Πολυφαινόλες. *Med Nutrition*. Ανακτήθηκε από: <https://www.mednutrition.gr/portal/efarmoges/leksiko-diatrofis/15352-polyfainoles> 27 Μαρτίου 2021
7. Κουσίσης Σταμάτης, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Σημειώσεις Χημείας τροφίμων ΙΙ, Ενζυμα και τρόφιμα, κεφάλαιο 3, Ενδογενής δράση των ενζύμων σε φυτικούς ιστούς, διαφάνειες 55-58
8. Scalbert, A., Johnson, I.T. & Saltmarch, M. (2005). Polyphenols: Antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1): 215S-217S. doi.org/10.1093/ajcn/81.1.215S
9. Food-info.net. Enzymatic Browning. Wageningen University, the Netherlands. Ανακτήθηκε από: <http://www.food-info.net/uk/colour/enzymaticbrowning.htm>

10. Jiang, Y., Duan, X., Qu, H. & Zheng, S (2016). *Browning: Enzymatic Browning*. Encyclopedia of Food and Health (σ. 508-514). Elsevier Ltd <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00090-8>
11. Whitaker, J.R. & Lee, C.Y. (1995). Recent Advances in Chemistry of Enzymatic Browning: An Overview. *American Chemical Society (ACS) Publication, ACS Symposium Series, V. 600:2-7*. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bk-1995-0600.ch001>
12. Macheix, J.J. , Fleuriet, A. & Billot, J (1990). *Fruit Phenols*. CRC Press Inc., Boca Raton, FL. USA
13. Crumiere, F. (2000). *Inhibition of enzymatic browning in food products using bio-ingredients*. (Μεταπτυχιακή εργασία). Ανακτήθηκε από: https://www.collectionscanada.gc.ca/obj/s4/f2/dsk1/tape2/PQDD_0034/MQ64338.pdf
14. Othman, O.C. (2012). Polyphenoloxidase and Peroxidase activity during open air ripening storage of pineapple (*Ananas Comosus L.*), Mango (*Mangifer Indica*) and Papaya (*Corica Papaya*) Fruits grown in Dar-Es-Salam, Tanzania. *Tanzania Journal of Science, 38(3)(σ. 84-94)*. Ανακτήθηκε από: <https://www.ajol.info/index.php/tjs/issue/view/10830>
15. Mishra, B.B. & Gautam, S. (2016): Polyphenol Oxidases: Biochemistry and Molecular Characterisation, Distribution, Role and its Control. *Enzyme Engineering, 5(1):1-4*. DOI: [10.4172/2329-6674.1000141](https://doi.org/10.4172/2329-6674.1000141)
16. Taranto, F., Pasqualone, A., Mangini, G., Tripodi, P., Miazzi, M.M., Paran, S. & Montemurro, C. (2017). Polyphenol oxidases in Crops: Biochemical, Physiological and Genetic Aspects. *International Journal of Molecular Sciences, 18(2):377*. doi.org/10.3390/ijms18020377
17. Food Crumbles (2017). *What is Enzymatic Browning and how can you prevent it?* Ανακτήθηκε από <https://foodcrumbles.com/enzymatic-browning-bananas/>
18. Βλάχης, Α. Ενζυμική Αμαύρωση. *Βιοχημεία Τροφίμων*. Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Χημείας. Ανακτήθηκε από: <https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/CHEM2023/7%20%CE%95%CE%BD%CE%B6%CF%85%CE%BC%CE%B9%CE%BA%CE%AE%20%CE%B1%CE%BC%CE%B1%CF%8D%CF%81%CF%89%CF%83%CE%B7.pdf>
19. ScienceStruck. Enzymatic Browning. Science Struck & Buzzle.com, Inc. Ανακτήθηκε από <https://sciencestruck.com/enzymatic-browning>

20. Καλεμκερή Ό. (2014). Μοριακή πρόσδεση ενώσεων με δράση το ένζυμο της τυροσινάσης με χρήση *in silico* τεχνικών υπολογιστικής χημείας (Μη δημοσιευμένη διδακτορική διατριβή). *Εθνικό Μετσόβειο Πολυτεχνείο*
21. Macheix, J.J., Sapis, J.C., Fleuriet, A. & Lee, C.Y. (1991). Phenolic Compounds and Polyphenoloxidase in Relation to Browning in Grapes and Wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 30(4):441-486.
<https://doi.org/10.1080/10408399109527552>
22. Τσακαλίδου Έφη, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Βιοχημεία Τροφίμων Ι, σημειώσεις κεφάλαιο 13, η Αμαύρωση των Τροφίμων. Ανακτήθηκε από:
https://mediasrv.uaa.gr/eclass/modules/document/file.php/ETDA133/%CE%94%CE%99%CE%91%CE%9B%CE%95%CE%9E%CE%95%CE%99%CE%A3/%CE%92%CE%B9%CE%BF%CF%87%CE%B7%CE%BC%CE%B5%CE%AF%CE%B1%20%CE%A4%CF%81%CE%BF%CF%86%CE%AF%CE%BC%CF%89%CE%BD_%CE%95%CE%BD%CF%8C%CF%84%CE%B7%CF%84%CE%B1%2013.pdf
23. Ioannou, I. & Ghoul, M. (2013). Prevention of Enzymatic Browning in Fruits and Vegetables. *European Scientific Journal*, 9(30):1857-7881. Ανακτήθηκε από:
<https://core.ac.uk/download/pdf/236407761.pdf>
24. Banidele, O.P., Fasogbon, M.B., Adebowale, O.J. & Adeyanju, A.A. (2017). Effect of Blanching time on Total Phenolic, Antioxidant Activities and Mineral Content of Selected green Leafy Vegetables. *Current Journal of Applied Science and Technology*, 24(4):1-8. DOI:[10.9734/CJAST/2017/34808](https://doi.org/10.9734/CJAST/2017/34808)
25. Ζεμάτισμα. Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου, Επεξεργασία Τροφίμων Ι, κεφ. 3.
Ανακτήθηκε από:
<http://vclass.uop.gr/modules/document/file.php/AFOTEC210/Chapter%203%20%CE%96%CE%95%CE%9C%CE%91%CE%A4%CE%99%CE%A3%CE%9C%CE%91.pdf>
26. Γιαννακούρου Μαρία, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Επεξεργασία τροφίμων Ι, Σημειώσεις θερμικής επεξεργασίας
27. Lavelli, V. & Caronni, P. (2010). Polyphenol oxidase activity and Implications on the quality of intermediate moisture and dried apples. *European Food Research and Technology*. 231(1):93-100. DOI:[10.1007/s00217-010-1256-0](https://doi.org/10.1007/s00217-010-1256-0)

28. Tien, C.L., Vachon, C., Mateescu, M.A. & Lacroix, M. (2006). Milk Protein Coatings Prevent Oxidative Browning of Apples and Potatoes. *Journal of Food Science*, 66(4): 512-516. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04594.x
29. Effect of grinding at modified atmosphere or vacuum on Browning, Antioxidant Capacities and Oxidative Enzyme Activities of Apple. *Journal of Food Science*, 83(1):84-92. doi.org/10.1111/1750-3841.14013
30. Lante, A., Tinello, F. & Nicoletto, M. (2016). UV-A Light treatment for controlling enzymatic browning of fresh-cut fruits. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 34 (σ.141-147) doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.029
31. Gomez, P.L., Alzamora S.M., Castro, M.A. & Salvatori, D.M. (2010). Effect of ultraviolet-C light dose on quality of cut-apple: Microorganism, colour and compression behavior. *Journal of Food Engineering* 98(1):60-70. : doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.12.008
32. Fan, X. & Thayer, D.W. (2002). γ -radiation influences browning, anti-oxidant activity and malondialdehyde level of apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(4):710-715 doi.org/10.1021/jf0107048
33. Zhan, L., Li, Y., Hu, J., Pang, L. & Fan, H. (2012). Browning inhibition and quality preservation of fresh-cut romaine lettuce exposed to high intensity light. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 14 (σ. 70-76). doi.org/10.1016/j.ifset.2012.02.004
34. Chen, Y., Jiang, Y., Yang, S., Yang, E., Yang, B. & Prasad K.N. (2011). Effects of ultrasonic treatment on pericarp browning of postharvest lichi fruit. *Journal of Food Biochemistry*, 36(5): 613-620 doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00573.x
35. Ramesh, M.N., Wolf, W., Tevini, D. & Bogнар, A. (2006) Microwave blanching of vegetables. *Journal of food Science* 67(1): 390-398. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11416.x
36. Ali, H., El-Gizawy, A.M., El-Bassiouny, R.E. & Saleh, M. (2015). Browning inhibition mechanisms by cysteine, ascorbic acid and citric acid and identifying PPO –catechol-cysteine reaction products. *Journal of food science and technology* 52(6):3651-3659. doi: [10.1007/s13197-014-1437-0](https://doi.org/10.1007/s13197-014-1437-0)

37. Enzymatic Browning. AgEdLibrary.com. Ανακτήθηκε από:
http://agriculturewithmrsskien.weebly.com/uploads/2/1/3/2/21329554/enzymatic_browning.pdf
38. Moon, K.M., Kwon, E.B., Lee, B. & Kim, C.Y. (2020). Recent Trends in controlling the enzymatic browning of fruit and vegetable products. *Molecules, MDPI Journals (Multidisciplinary Digital Publishing Institute) 25(12):2754*.
doi.org/10.3390/molecules25122754
39. Bieganska-Marecik, R. & Czapski, J. (2007). The effect of selected compounds as inhibitors of enzymatic browning and softening of minimally processed apples. *ACTA Scientiarum Polonorum 6(3):37-49*. Ανακτήθηκε από
https://www.food.actapol.net/pub/4_3_2007.pdf
40. Baker, A. (2018). Arctic apples: A fresh new take on genetic engineering. *Harvard University blog*. Ανακτήθηκε από <https://sitn.hms.harvard.edu/flash/2018/arctic-apples-fresh-new-take-genetic-engineering/>
41. Nelson, D., Cox, M.M. Lehninger's βασικές Αρχές Βιοχημείας (2017) 7^η έκδοση. 2^η Ελληνική έκδοση. Κεφ. 6 Ένζυμα, σελ. 171-192. *Broken Hill Publishers Ltd*
42. Wang, R., Wang, T., Zheng, Q., Hu, X., Zhang, Y. & Liao, X. (2012). Effect of high hydrostatic pressure on colour of spinach purée and related properties. *Journal of the Science of food and agriculture 92(7): 1417-1423*. doi.org/10.1002/jsfa.4719
43. Tijani, A.S. Enzymatic Browning. Ανακτήθηκε από:
<http://bowenstaff.bowen.edu.ng/lectureslides/1589210594.pdf>
44. Weemaes, C., Loudikhoyze, L., Van Der Broek, I. & Hendrickx, M. (2007). High pressure inactivation of polyphenoloxidases. *Journal of Food Science. 63(5): 873-877*.
doi.org/10.1111/j.1365-2621.1998.tb17917.x
45. Iqbal, A., Murtaza, A., Muhammad, Z., Elkhedir, A., Tao, M. & Xu, X. (2018). Inactivation, Aggregation and Conformational Changes of Polyphenol Oxidase from Quince (*Cydonia Oblonga* Miller) Juice subjected to Thermal and High-Pressure Carbon Dioxide Treatment. *Molecules, MDPI Journals (Multidisciplinary Digital Publishing Institute) 23(7):1743*. doi.org/10.3390/molecules23071743
46. Sikor, M., Zlotek, U., Kordowska-Wiater, M. & Swieca, M. (2021). Spicy herb extracts as a potential improver of the antioxidant properties and inhibitor of enzymatic browning and endogenous microbiota growth in stored mung bean sprouts.

Antioxidants, MDPI Journals (Multidisciplinary Digital Publishing Institute) 10(3):425.
doi.org/10.3390/antiox10030425

47. Wessels, B., Damm, S., Kunz, B. & Schulze-Kaysers, N. (2014). Effect of selected plant extracts on the inhibition of enzymatic browning in fresh-cut apple. *Journal of applied Botany and Food Quality*. 87: 16-23. doi.org/10.5073/JABFQ.2014.087.003
48. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. 5.3. Chemical preservation. Ανακτήθηκε από <http://www.fao.org/3/v5030E/V5030E0d.htm>
49. Washburn, C. & Jensen, C. (2017). *Pretreatments to prevent darkening of fruits prior to canning or dehydrating*. Utah State University, Digital Commons, paper 1763. Ανακτήθηκε από: https://digitalcommons.usu.edu/extension_curall/1763/
50. Ozdemir, M. (1997). Foods browning and its control. *Okyanus*. Ανακτήθηκε από <https://www.okyanusbilgiambari.com/bilgiambari/Bilimsel.Makale/Okyanus-BrowningInFoods.pdf>
51. Lim, W.Y., Cheun, C.F. & Wong, C.W. (2019). Inhibition of enzymatic browning in sweet potato (*Ipomoea batata* L.) with chemical and natural anti-browning agents. *Journal of food processing and preservation* 43(11) e14195 doi.org/10.1111/jfpp.14195
52. Weerawardana, M.B.S., Thiripuranathar, G. & Paranagama, P.A. (2020). Natural anti-browning agents against polyphenol oxidase activity in *Annona muricata* and *Musa acuminata*. *Journal of Chemistry*, Article ID1904798. doi.org/10.1155/2020/1904798
53. Kuipers, T.F.M. (2013). *Inhibition of tyrosinase-induced enzymatic browning by sulfite and natural alternatives. Chapter 5: Potato and mushroom polyphenol oxidase activities are differently modulated by natural plant extracts* (Διδακτορική διατριβή). Ανακτήθηκε από: <https://edepot.wur.nl/278627>
54. Cheng, A., Chen, X., Jin, Q., Wang, W., Shi, J. & Liu, Y. (2013). Comparison of phenolic content and anti-oxidant capacity of red and yellow onions. *Czech Journal of Food Science*. 31(5):501-508. Ανακτήθηκε από: <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/100652.pdf>
55. Lee, M.K., Kim, Y.M., Kim, N.Y., Kim, G.N., Kim, S.H., Bang, K.S. & Park, I. (2002). Prevention of browning in potato with a heat-treated onion extract. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 66(4): 856-858. Taylor and Francis doi.org/10.1271/bbb.66.856

56. Tan, B.K. & Harris, N.D. (1995). Maillard reaction products inhibit apple polyphenoloxidase. *Food Chemistry*, volume 53(3):267-273. Elsevier Ltd [doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)93932-H](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)93932-H)
57. Lee, B., Seo, J.D., Rhee, J.K. & Kim, C.Y. (2016). Heated apple juice supplemented with onion has greatly improved nutritional quality and browning index. *National Library of Chemistry. Food Chemistry* 201:315-319 doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.092
58. Yuniarti, T., Sukarno, Yuliana, N.D. & Budijanto, S. (2019). Inhibition of enzymatic browning by onion (*Allium cepa* L.): Investigation on inhibitory mechanism and identification of active compounds. *Current research in nutrition and food science Journal*. 6(3): 770-780. DOI:[10.12944/CRNFSJ.6.3.19](https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.6.3.19)
59. Roldán, E., Sánchez-Moreno, C., da Anos, B. & Cano, M.P. (2008). Characterisation of Onion (*Allium Cepa* L.) by-products as food ingredients with antioxidant and antibrowning properties. *National Library of Chemistry. Journal of Food Chemistry* 108(3): 907-916. DOI: [10.1016/j.foodchem.2007.11.058](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.058)
60. Lee, M.Y., Lee, M.K. & Park, I. (2007). Inhibitory effect of onion extract on polyphenol oxidase and enzymatic browning of taro (*Colocasia antiquorum* var. *esculenta*). *Journal of Food Chemistry*. 105(2): 528-532. doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.010
61. Lee M.K. (2006). Inhibitory effect of banana polyphenol oxidase during ripening of banana by onion extract and Maillard reaction products. *Journal of Food Chemistry* 102(1):146-149. DOI:[10.1016/j.foodchem.2006.05.012](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.012)
62. Kim, M.J., Kim, C.Y. & Park, I. (2005). Prevention of enzymatic browning of pear by onion extract. *Journal of Food Chemistry* 89(2): 181-184. doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.018
63. Al-abbasy, O. Y., Ali, W.I. & Al-lehebe, N.I. (2021). Inhibition of enzymatic browning in fruit and vegetable, review. *Samarra Journal of Pure and Applied Science*. 3(1): 56-73. Ανακτήθηκε από <https://www.iasj.net/iasj/download/39087d1d36941ce3>
64. Phisut, N. & Jiraporn, B. (2013). Characteristics and Antioxidant activity of maillard reaction products derived from chitosan-sugar solution. *International Food Research Journal*. 20(3):1077-1085. Ανακτήθηκε από: [http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20\(03\)%202013/6%20IFRJ%2020%20\(03\)%202013%20Phisut%20\(321\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20(03)%202013/6%20IFRJ%2020%20(03)%202013%20Phisut%20(321).pdf)

65. Shaimaa, G.A., Mahmoud, M.S., Mohamed, M.R. & Emam A.A. (2016). Effect of heat treatment on phenolic and flavonoid compounds and antioxidant activities of some Egyptian sweet and chilli pepper. *Natural Products Chemistry and Research* 04(03). DOI: [10.4172/2329-6836.1000218](https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000218)
66. Mercimek, H.A., Guzeldog, G., Ucan, F., Guler, K.M., Karaman, M. & Karayilan, R. (2015). Inhibition of polyphenol oxidase purified from potato. *Romanian Biological Letters*, Vol. 20, No.6. Ανακτήθηκε από: <https://www.rombio.eu/rbl6vol20/7.%20Mercimek.pdf>
67. Chang, M.S., An, S.J., Jeong, M.C., Kim, D.M. & Kim, G.H. (2011). Effects of antioxidative activities and antibrowning of extracts from onion, apple and mandarin orange peel as natural anti browning agents. *The Korean Journal of food and nutrition*. 24(3): 406-413. <https://doi.org/10.9799/ksfan.2011.24.3.406>
68. Ozan, M.M. & Juhaimi, F.A. (2014). Honey as a source of natural anti-oxidants. *Journal of Agricultural research*, 54(3): 145-154. doi.org/10.1080/00218839.2016.1144976
69. Chang, X., Wang, J, Yang, S., Chen, S. & Song, Y. (2011). Antioxidative, antibrowning and antibacterial activities of sixteen floral honeys. *Journal of Food and Function*, Issue 9. DOI: [10.1039/c1fo10072f](https://doi.org/10.1039/c1fo10072f)
70. Oszmianski, J. & Lee, C.Y. (1990). Inhibition of polyphenol oxidase activity and browning by honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38(10): 1982-1985. doi.org/10.1021/jf00100a002
71. Saxena, S., Gaytam, S. Sharma, A. (2010). Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Journal of Food Chemistry*. 118(2): 391-397. doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.001
72. Viuda-Martos, M., Ruiz-Marajas, Y., Fernandez-Lopez, J. & Perez-Alvarez, J.A. (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of Food Science*. 73(9). R117-R124. doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00966.x
73. Chen, L., Mehta, A., Berenbaum, M., Zengeri, A.R. & Engeseth, N.J. (2000). Honeys from different floral sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit and vegetable homogenates. *National Library of Medicine. Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(10): 4997-5000. DOI: [10.1021/jf000373j](https://doi.org/10.1021/jf000373j)

74. McLellan, M.R., Kime, C.Y. & Long, T.M. (1995). Effect of honey as an antibrowning agent in light raisin processing. *Journal of Food processing and preservation*. 19(1): 1-8. doi.org/10.1111/j.1745-4549.1995.tb00273.x
75. De La Rosa L.A., Alvarez-Parilla, E., Moyers-Montoya, E.M., Villegas- Ochoa, M., Ayala-Zavala, J.F., Hernandez, J., Ruiz-Cruz, S. & Gonzalez-Aguilar. G.A (2011). Mechanism for the inhibition of apple juice enzymatic browning by Palo-Fierro (desert ironwood) honey extract and other natural compounds. *LWT Food Science and Technology* 44(1): 269-276. doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.030
76. Gacche, R.N., Shinde, B.T., Dhole, N.A., Pund, M.M. & Jadvav, A.D. (2009). Evaluation of floral honey for inhibition of polyphenol oxidase-mediated browning, antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Food Biochemistry*. 33(5). 693-706. doi.org/10.1111/j.1745-4514.2009.00245.x
77. Ates, S., Pekyardimci, S. & Cokmus, C. (2007). Partial characterization of a peptide from honey that inhibits mushroom polyphenol oxidase. *Journal of Food Biochemistry*. 25(2). 127-137. doi.org/10.1111/j.1745-4514.2001.tb00729.x
78. Tavares, L., Fortalezas, S., Carrilho, C., McDougall, G.J., Stewart, D., Ferreira, R.B. & Santos, S.N. (2010). Antioxidant and antiproliferative properties of strawberry tree tissues. *Journal of berry research*1(1): 3-12. DOI: [10.3233/BR-2010-001](https://doi.org/10.3233/BR-2010-001)
79. Dias, C., Fonseca, A.M.M., Amaro, A.L., Vilas-Boas, A., Oliveira, A., Santos, S.A., Silvestre, A.J.D., Rocha, S.M., Isidoro, N. & Pintado, M. (2020). Natural-based antioxidant extracts as potential mitigators of food browning. *Antioxidants, MDPI Journals (Multidisciplinary Digital Publishing Institute)* 9(8):715. doi.org/10.3390/antiox9080715
80. Mokrani, A., Krisa, S., Cluzet, S., DaCosta, G., Tamsamani, H., Renouf, E., Mérillon, J.M., Madani, K., Mesnil, M., Monvoisin, A. & Richard, T. (2010). Phenolic contents and bioactive potential of peach fruit extracts. *Food Chemistry, Volume 202 (σ. 212-220)*. Elsevier Ltd. doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.026
81. Chaisakdanugull, C., Theerekulkait, C. & Wrolstad, R.E. (2007). Pineapple juice and its fractions in enzymatic browning inhibition of banana [Musa (AAA group) Gos Michel]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(10): 4252-4257. ACS Publications. DOI: [10.1021/jf0705724](https://doi.org/10.1021/jf0705724)

82. Moline, H.E., Bata, J.G. & Newman, I.M. (2007). Prevention of browning of banana slices using natural products and their derivatives. *Journal of Food Quality*. 22(5): 499-511. doi.org/10.1111/j.1745-4557.1999.tb00181.x
83. Perera, N., Gamage, T.V., Wakeling, L., Gamlath, G.G.S. & Versteeg, C. (2010). Colour and Texture of apples high pressure processed in pineapple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 11(1):39-46. Elsevier Ltd. doi.org/10.1016/j.ifset.2009.08.003
84. Supapvanich, S., Prothaam, P. & Tepson, R. (2012). Browning inhibition in fresh-cut rose apple fruit cv. Taaptimjaan using konjac glucomannan coating incorporated with pineapple fruit extract. *Postharvest Biology and Technology*, vol. 73, σ.46-49. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.05.013
85. Lozano-De-Gonzalez, P., Barrett, D.M., Wrolstad, R.E. & Durst, R.W. (1993). Enzymatic Browning inhibited in fresh and dried apple rings by pineapple juice. *Journal of Food Science*. 58(2), 399-404. doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb04284.x
86. Tochi, B.N., Wang, Z., Xu, S.Y. & Zhang, W. (2009). Effect of stem bromelain on the browning of apple juice. *American Journal of Food Technology* 4(4). DOI:[10.3923/ajft.2009.146.153](https://doi.org/10.3923/ajft.2009.146.153)
87. Scientific American (2007). Why do apple slices turn brown after being cut? Ανακτήθηκε από <https://www.scientificamerican.com/article/experts-why-cut-apples-turn-brown/>
88. Theerakulkait, C. & Sukhonthasa, S. (2008). Effect of pineapple juice, pineapple shell extract and rice bran extract on browning prevention in banana [musa AAA Group] Gos Michel] slices and puree. *Agricultural and Natural Resources*. 42(5). 150-155. Ανακτήθηκε από: <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/anres/article/view/244583>
89. Kim, S.R., Ahn, J.Y., Lee, H.Y. & Ha T.Y. (2004). Various properties and phenolic acid contents of rices and rice brans with different milling fractions. *Korean Journal of food science technology* 36(6) 930-936. Ανακτήθηκε από: <https://www.koreascience.or.kr/article/JAKO200404637346771.pdf>
90. Miyazawa, M., Oshiwa, T., Kocshio, K., Itsuzaki, Y. & Anzai, J. (2003). Tyrosinase inhibitor from black rice bran. *National Library of Medicine. Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(24). 6953-6966. ACS Publications. DOI: [10.1021/jf030388s](https://doi.org/10.1021/jf030388s)

91. Lallauri, J.A., Rupérez, P. & Calixto, F.S. (1997). Pineapple shell as a source of dietary fiber with associated polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45(10):4028-4031. ACS Publications. doi.org/10.1021/jf970450j. Ανακτήθηκε από: <https://www.essentialnutrition.com.br/media/artigos/pineapplewhey/22.pdf>
92. Park, M. & Gun-Hee, K. (2013). The antioxidative and antibrowning effects of citrus peel extracts on fresh-cut apples. *Korean Journal of Food and Science technology*. 45(5): 598-604. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2013.45.5.598>
93. Thipnate, P. & Sukhonthara, S. (2015). Control of enzymatic browning in apple and potato purees by using guava extract. *Silpacorn University, Science ant Technology Journal*, 9(2). Ανακτήθηκε από: <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/sehs/article/view/39506>
94. Zabitech, A.A., Kong, K.W. & Amin, I. (2011). Antioxidant properties of tropical juices and their effects on in vitro hemoglobin and low density lipoprotein (LDL) oxidation. *International Food research Journal* 18(2): 549-556. Ανακτήθηκε από: https://www.researchgate.net/publication/233893178_Antioxidant_properties_of_tropical_juices_and_their_effects_on_in_vitro_hemoglobin_and_low_density_lipoprotein_LDL_oxidations
95. Eisa , H.A., Saad, S.M., Abd El-Aleen, I.M., Ibrahim, W.A.M., Abd Elmanien, G.M. & Helmy, A.M. (2010). Effect of natural cabbage and taro extracts on oxidative enzymes activity of frozen and dried apple products. *Journal of Food and Dairy Sciences, Article* 7, 34(12):11131-11146. DOI: [10.21608/JFDS.2009.115827](https://doi.org/10.21608/JFDS.2009.115827)
96. Nirmal, N.P.& Benjakul, S. (2011). Use of tea extracts for inhibition of polyphenol oxidase and retardation of quality loss of pacific white shrimp during iced storage. *LWT Food Science and Technology* 44(4) 924-932. Elsevier Ltd. doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.007
97. Cisneros-Yupanqui, M. & Lante, A. (2020). Tea from the food science perspective: an overview. *The Open Biotechnology Journal*, volume 14: 78-83. **DOI:** [10.2174/1874070702014010078](https://doi.org/10.2174/1874070702014010078)
98. Klimczak, I. & Gliszczynska-Swiglo, A. (2016). Green tea extracts as an anti-browning agent for cloudy apple juice. *Journal of the science of Food and Agriculture*, 97(5):1420-1426. doi.org/10.1002/jsfa.7880

99. Soysal, C. (2009). Effects of green tea extract on "Golden Delicious" apple polyphenoloxidase and its browning. *Journal of Food Biochemistry* 33(1): 134-138. doi.org/10.1111/j.1745-4514.2008.00201.x
100. Jiang, Y.M., Duan, X.W., Joyce, D., Zhang, Z.Q. & Li, J.R. (2004). Advances in understanding of enzymatic browning in harvested litchi fruits. *Journal of Food Chemistry*, 88(3): 443-446. Elsevier Ltd. doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.004
101. Higdon, J.V., Frei, B. (2003). Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism and antioxidant functions. *Critical Reviews in Science and Nutrition*. 43(1): 89-143. doi.org/10.1080/10408690390826464
102. Chen, W., Zhang, Z., Shen, Y., Duan, X. & Jiang, Y. (2014). Effect of tea polyphenols on lipid peroxidation and antioxidant activity of Litchi (*Litchi Chinensis* Soon.) fruit during cold storage. *Molecules, MDPI Journals (Multidisciplinary Digital Publishing Institute)* 19(10):16837-16850. doi.org/10.3390/molecules191016837
103. Nishad, J. (2018). Anti-browning agents in the valorization of sugarcane juice. *New Food Magazine.com*. Ανακτήθηκε από: <https://www.newfoodmagazine.com/article/76050/anti-browning-agents-in-the-valorisation-of-sugarcane-juice/>
104. Threranukool, S., Kubglomsong, S. & Theerakilkait, C. (2016). Effect of spray-dried rice bran extract on inhibition of enzymatic browning in potato puree. *Journal of Food Science and Agricultural Technology*, Vol. 4:111-115. Ανακτήθηκε από: <http://rs.mfu.ac.th/ojs/index.php/jfat/article/view/202>
105. Kubglomsong, S. & Theerakilkait, C. (2013). Effect of rice bran protein extract on enzymatic browning inhibition in potato puree. *International Journal of Food Science and Technology* 49(2): 551-557. doi.org/10.1111/ijfs.12336
106. Sukhonthara, S., Kaewka, K. & Theerakulkait, C (2016). Inhibitory effect of rice bran extracts and its phenolic compounds on polyphenol oxidase activity and browning in potato and apple puree. *Food Chemistry* 190:922-927. doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.016
107. Sukhonthara, S. & Theerakulkait, C. (2011). Inhibitory effect of rice bran extract on polyphenol oxidase of potato and banana. *International Journal of Food Science and Technology*. 47(3): 482-487. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02867.x

108. Altunkaya, A. & Gokmen, V. (2008). Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Journal of Food Chemistry* 107(3): 1173-1179. doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.046
109. Altunkaya, A. & Gokmen, V. (2011). Effect of grape seed extract on phenolic profile and browning of fresh-cut lettuce (*L. sativa*). *Journal of Food Biochemistry* 36(3): 268-274. doi.org/10.1111/j.1745-4514.2010.00534.x
110. Hollis, F.H., Denney, S., Halfacre, J., Jackson, T., Link, A., & Orr, D.N. (2019). Human perception of fresh produce treated with grape seed extract: A preliminary study. *Journal of Sensory Studies* 35(2):e12554. doi.org/10.1111/joss.12554
111. Altunkaya, A. (2012). Effect of grape leaf extract on phenolic profile and browning of fresh-cut lettuce (*Lactuca sativa*). *Journal of Food Processing and Preservation*. 38(1): 527-534. doi.org/10.1111/j.1745-4549.2012.00803.x
112. Tinello, F. & Lante, A. (2017). Evaluation of antibrowning and antioxidant activities in unripe grapes recovered during bunch thinning. *Australian Journal of grape and wine research*. 23(1):33-41. doi.org/10.1111/ajgw.12256
113. Honish, C, Osto, A, Dupas de Matos, A., Vincenzi, S. & Ruzza, P. (2020). Isolation of a tyrosinase inhibitor from unripe grapes juice: A spectrophotometric study. *Food Chemistry*, 305. 125506. doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125506
114. Sikora, M. Zlotek, U. & Swieca, M. (2019). Effect of basil leaves and wheat bran water extracts on enzymatic browning of shredded storage iceberg lettuce. *International Journal of Food Science and Technology*. 55(3):1318-1325. doi.org/10.1111/ijfs.14406
115. Ceylan, E. & Fung, D.Y.C. (2007). Antimicrobial activity of spices. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*. 12(1): 1-55. doi.org/10.1111/j.1745-4581.2004.tb00046.x
116. Ayaz, F.A., Demira, O., Torun, H., Colcuoglu, Y. & Colak, A. (2008). Characterisation of polyphenoloxidase (PPO) and total phenolic contents in medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit during ripening and over ripening. *Journal of Food Chemistry*, 103(1): 291-298. doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.096

117. Zocca, F., Lomolino, G. & Lante, A. (2011). Dog rose and pomegranate extracts as agents to control enzymatic browning. *Food research international*. 44(4). 957-963. doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.010
118. Fattahifar, E., Barzegar, M., Garlighi, H.A. & Sahari, M.A. (2018). Evaluation of the inhibitory effect of pistachio (*Pistacia vera* L.) green hull aqueous extract on mushroom tyrosinase activity and its application as button mushroom post harvest anti-browning agent. *Postharvest Biology and Technology*. 145: 157-165. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.07.005
119. Martinez-Hernandez, G.B., Castillejo, N. & Artés-Hernández, F. (2019). Effect of fresh-cut apples fortification with lycopene microspheres, revalorized from tomato by-products, during shelf life. *Journal of postharvest biology and technology*, 156. DOI:[10.1016/j.postharvbio.2019.05.026](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.05.026)
120. Vlangani, L.N. & Wyk, J.V. (2021). Heated plant extracts as natural inhibitors of enzymatic browning: A case of the Maillard reaction. *Journal of Food Biochemistry*. 45(2):e13611. doi.org/10.1111/jfbc.13611
121. Krapfenbauer, G., Kinner, M., Gössinger, M., Schönlechner, R. & Berghofer, E. (2006): Effect of thermal treatment on the quality of cloudy apple juice. *Journal of agricultural and food chemistry*. 54(15): 5455-5460. doi.org/10.1021/jf0606858
122. Daniells, S. (2008). Natural anti-browning agents give fresh-cut fruit potential. *Food Navigator.com*. Ανακτήθηκε από: <https://www.foodnavigator.com/Article/2008/06/03/Natural-anti-browning-agents-give-fresh-cut-fruit-potential>
123. Montero, P., Martinez-Alvarez, O. & Gomez-Guillén, M.C. (2006). Effectiveness of onboard application of 4-hexylresorcinol in inhibiting melanosis in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). *Journal of Food Science* 36(8): C643-C647. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09913.x