



ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

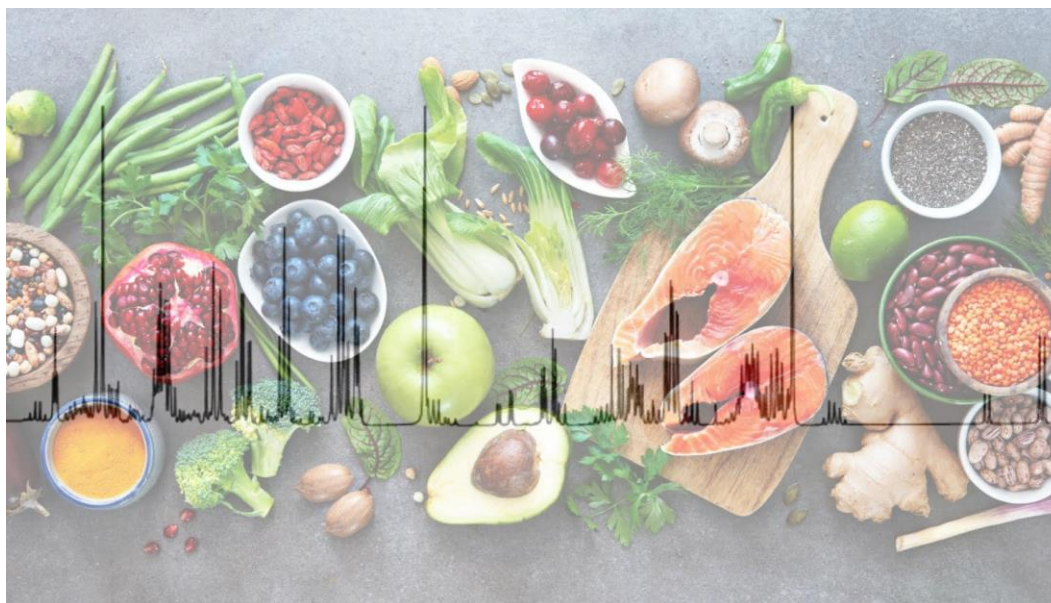
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η χρησιμότητα των μεταβολομικών μελετών στην τεχνολογία τροφίμων

English Title

The utility of metabolomic analysis in food technology



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑΣ/NAME OF STUDENT

ΠΑΣΧΑΛΙΔΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ AM 19684138

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΣΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

ΣΩΤΗΡΙΟΣ ΜΠΡΑΤΑΚΟΣ



ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Τίτλος πτυχιακής: «Η χρησιμότητα των μεταβολομικών μελετών στην τεχνολογία τροφίμων»

Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής συμπεριλαμβανομένου και του Εισηγητή

Η πτυχιακή εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

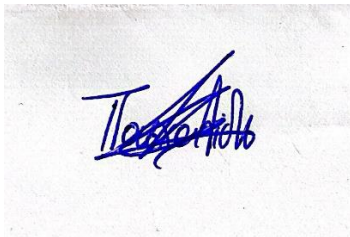
A/α	ΟΝΟΜΑ ΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΔΑ/ ΙΔΙΟΤΗΤΑ	ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ
1	Σωτήριος Μπρατάκος	Εργαστηριακό Διδακτικό Προσωπικό / Επιβλέπων	
2	Ευτυχία Κρίτση	Επίκουρη Καθηγήτρια / Μέλος	
3	Θάλεια Τσιάκα	Επίκουρη Καθηγήτρια / Μέλος	

Δήλωση περί λογοκλοπής/Copyright

Έχοντας πλήρη επίγνωση των συνεπειών του νόμου περί πνευματικής ιδιοκτησίας, δηλώνω ότι είμαι αποκλειστική συγγραφέας της παρούσας διπλωματικής εργασίας. 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.

Πασχαλίδη Αικατερίνη



Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέπων καθηγητή κ. Σωτήριο Μπρατάκο για την αμέριστη υποστήριξη, τις πολύτιμες συμβουλές και την καθοδήγησή του σε κάθε στάδιο της εργασίας μου. Οι συμβουλές και οι γνώσεις του υπήρξαν καθοριστικές για την ολοκλήρωση αυτής της προσπάθειας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, που στάθηκε δίπλα μου με υπομονή, αγάπη και στήριξη σε κάθε βήμα αυτής της διαδρομής. Η συναισθηματική και πρακτική τους υποστήριξη ήταν ανεκτίμητη καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου και της συγγραφής αυτής της εργασίας.

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	1
Abstract	3
Κεφάλαιο 1 : Εισαγωγή	5
1.1 Σύντομη περιγραφή.....	5
1.2 Σκοπός της μελέτης.....	6
Κεφάλαιο 2: Μεταβολομικές μελέτες	8
2.1 Επισκόπηση των μεταβολομικών αναλύσεων.....	8
2.2 Διαδικασία Μεταβολομικής ανάλυσης.....	10
2.3 Μεθοδολογίες και τεχνικές.....	13
2.3.1 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance – NMR).....	13
2.3.2 Φασματομετρία Μάζας (Mass Spectrometry – MS).....	16
2.3.3 Υγρή χρωματογραφία – Φασματομετρία Μάζας (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry - LC-MS).....	18
2.3.4 Αέρια χρωματογραφία - φασματομετρία μάζας (Gas chromatography-mass spectrometry – GC-MS).....	20
2.3.5 Τριχοειδής ηλεκτροφόρηση-φασματομετρία μάζας (Capillary electrophoresis-mass spectrometry – CE-MS).....	21

2.3.6 Κινητικότητα ιόντων-φασματομετρία μάζας (Ion mobility-mass spectrometry – IMS-MS).....	22
2.3.7 Φασματομετρία δονησης (Vibrational Spectrometry -VS)	23
Κεφάλαιο 3 : Εφαρμογές των μεταβολομικών αναλύσεων στην επιστήμη τροφίμων	25
3.1 Μεταβολομικές αναλύσεις για τη διασφάλιση ποιότητας τροφίμων.....	26
3.2 Μεταβολομική στη νοθεία των τροφίμων και συμμόρφωση σε κανονισμούς	29
3.3 Χρήση μεταβολομικών αναλύσεων για την δημιουργία «δακτυλικών αποτυπωμάτων» .	31
Κεφάλαιο 4: Η χρήση μεταβολομικών αναλύσεων στην δημιουργία διατροφικών προφίλ..	35
4.1 Η συμβολή των μεταβολομικών αναλύσεων στην κατανόηση της διατροφικής σύνθεσης των τροφίμων.....	35
4.2 Μελέτες όπου οι μεταβολομικές αναλύσεις βοηθούν στην ανάπτυξη λειτουργικών τροφών και εξατομικευμένων προγραμμάτων διατροφής	36
Κεφάλαιο 5 : Προκλήσεις και μελλοντικές προοπτικές.....	39
Κεφάλαιο 6 : Συμπεράσματα.....	41
Βιβλιογραφικές αναφορές	43

Πίνακας περιεχομένων εικόνων

Εικόνα 1 Γενική ταξινόμηση μεταβολομικών μελετών (Cevallos-Cevallos et al. 2009)	10
Εικόνα 2 Διαδικασία μεταβολομικής ανάλυσης (Cevallos-Cevallos et al. 2009)	12
Εικόνα 3 Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας της φασματοσκοπίας πυρινικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) - (Argal 2022b)	15
Εικόνα 4 Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας της φασματομετρίας μάζας (MS) - (Argal 2022a).....	17
Εικόνα 5 Τρισδιάστατη απεικόνιση χρωματογραφήματος με φασματομετρία μάζας διαχωρισμένων κορυφών - (Wikipedia 2024).....	19

Περίληψη

Η παρούσα διπλωματική εργασία στοχεύει να διερευνήσει τη χρησιμότητα των μεταβολομικών αναλύσεων στην επιστήμη των τροφίμων, εστιάζοντας στις μεθοδολογίες, τις εφαρμογές και τις μελλοντικές προοπτικές της.

Η μεταβολομική είναι ένας ταχέως εξελισσόμενος κλάδος που περιλαμβάνει την ολοκληρωμένη μελέτη μικρών μορίων, γνωστών ως μεταβολιτών, εντός των βιολογικών συστημάτων. Τα τελευταία χρόνια, η μεταβολομική ανάλυση έχει κερδίσει σημαντική προσοχή στον τομέα της επιστήμης των τροφίμων λόγω της δυνατότητας της να παρέχει πολύτιμες γνώσεις για τη σύνθεση, την ποιότητα, την ασφάλεια και τα θρεπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων.

Μεταξύ των πιο διαδεδομένων μεθοδολογιών που χρησιμοποιούνται στη μεταβολομική ανάλυση στην επιστήμη των τροφίμων συμπεριλαμβάνονται η Φασματομετρία Μάζας (MS), και η Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR). Αυτές οι προηγμένες τεχνικές μπορούν να παρέχουν αναλυτικές πληροφορίες για τη σύνθεση και τη δομή των μεταβολιτών των τροφίμων διαμορφώνοντας ένα «δακτυλικό αποτύπωμα» ξεχωριστό για το κάθε τρόφιμο. Επιπλέον, ο συνδυασμός της Φασματομετρίας μάζας με χρωματογραφικές τεχνικές επιτρέπει με μεγαλύτερη ακρίβεια την ανίχνευση συστατικών όπως λιπίδια, πρωτεΐνες και υδατάνθρακες.

Με την χρήση των τεχνικών αυτών, είναι δυνατή η ανίχνευση μικροβιακών επιμολύνσεων και η βελτιστοποίηση των διαδικασιών επεξεργασίας, συμβάλλοντας στην παραγωγή ασφαλών και υψηλής ποιότητας τροφίμων. Παράλληλα, η μεταβολομική συμβάλλει σημαντικά στην ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων και στην ανίχνευση υπερτροφών, τα οποία όχι μόνο προσφέρουν θρεπτική αξία, αλλά επιπλέον ενισχύουν την υγεία μέσω της στοχευμένης δράσης τους σε συγκεκριμένες μεταβολικές οδούς.

Ωστόσο, η απουσία καθιερωμένων προτύπων μεθοδολογίας και οι ελλείψεις βάσεις δεδομένων για σύγκριση και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων αποτελούν τροχοπέδη για την ευρεία εφαρμογή της μεταβολομικής. Παρ' όλες τις προκλήσεις, οι προοπτικές για την ενσωμάτωση της μεταβολομικής στην επιστήμη των τροφίμων παραμένουν εξαιρετικά ελπιδοφόρες. Με την περαιτέρω ανάπτυξη και σε συνδυασμό της μεταβολομικής με άλλες τεχνολογίες , αναμένεται να επιτευχθεί μια πιο ολοκληρωμένη κατανόηση των βιολογικών συστημάτων, οδηγώντας σε καινοτόμους τρόπους για την διασφάλιση της ποιότητας και τη δημιουργία λειτουργικών τροφίμων.

Λέξεις κλειδιά: Μεταβολομική, Μεταβολίτες, Ασφάλεια τροφίμων, Λειτουργικά τρόφιμα, Δακτυλικό αποτύπωμα τροφίμων, Βάσεις δεδομένων

Abstract

This thesis aims to explore the utility of metabolomic analysis in food science, focusing on methodologies, applications, and future prospects.

Metabolomics is a rapidly evolving field that involves the comprehensive study of small molecules, known as metabolites, within biological systems. In recent years, metabolomic analysis has gained significant attention in the field of food science due to its ability to provide valuable insights into the composition, quality, safety, and nutritional characteristics of food.

Among the most widely used methodologies in metabolomic analysis in food science are Mass Spectrometry (MS) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR). These advanced techniques can provide analytical information on the composition and structure of food metabolites, forming a "fingerprint" unique to each food profile. Additionally, the combination of mass spectrometry with chromatographic techniques allows for more accurate detection of components such as lipids, proteins, and carbohydrates.

Through the use of these techniques, it is possible to detect microbial contaminants and optimize processing procedures, contributing to the production of safe and high-quality foods. At the same time, metabolomics plays a significant role in the development of functional foods and the detection of superfoods, which not only offer nutritional value but also enhance health through their targeted action on specific metabolic pathways.

However, the lack of established methodological standards and the insufficient databases for comparison and evaluation of results pose challenges to the widespread application of metabolomics. Despite these challenges, the prospects for integrating metabolomics into food science remain highly promising. With further development and the combination of metabolomics with other technologies, a more comprehensive understanding of biological systems is expected, leading to innovative approaches for ensuring quality and creating functional foods.

Key words: Metabolomics, Metabolites, Food safety, Functional foods, Food fingerprinting, Databases

Κεφάλαιο 1 : Εισαγωγή

1.1 Σύντομη περιγραφή

Η επιστήμη των τροφίμων έχει σημειώσει σημαντική πρόοδο τις τελευταίες δεκαετίες, με στόχο την εξασφάλιση της ποιότητας, της ασφάλειας και της αυθεντικότητας των τροφίμων. Για την επίτευξη των σκοπών αυτών, ο ευρύτερος επιστημονικός κλάδος έχει στραφεί στην οικογένεια των ομικών επιστημών και πρωτίστως στις μεταβολομικές αναλύσεις.

Οι ομικές επιστήμες περιλαμβάνουν τη μελέτη διαφορετικών μορίων που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και συντήρηση ενός ζωντανού οργανισμού. Μερικές τεχνολογίες που υπόκεινται στην οικογένεια των ομικών τεχνολογιών είναι η γονιδιωματική που μελετά τη δομή, την λειτουργία και την εξέλιξη των γονιδιωμάτων, η πρωτεϊνωματική που εστιάζει στην μελέτη των πρωτεϊνών αλλά και η μεταβολομική που μελετά την δομή και την αλληλεπίδραση των μεταβολιτών (Utrott et al. 2022a). Η μεταβολομική, ως η νεότερη μέθοδος της οικογένειας των "ομικών" επιστημών, έχει αναδειχθεί ως ένα σημαντικό εργαλείο στην κατανόηση και τη βελτίωση των τροφίμων (Utrott et al. 2022b). Η μεταβολομικές αναλύσεις πρωτοεμφανίστηκαν το 1999 από τον Jeremy Nicholson και αρχικά προτάθηκαν ως εργαλείο για την ολοκληρωμένη ανάλυση και ταυτοποίηση όσο το δυνατόν περισσότερων μεταβολιτών σε ένα βιολογικό σύστημα (Utrott et al. 2022a). Από τότε έως και σήμερα η συμβολή της στον ιατρικό κλάδο είναι αξιοσημείωτη, σημειώνοντας πρόοδο σε αμέτρητους τομείς μέσω της δημιουργίας μιας βάσης δεδομένων των μεταβολιτών του ανθρώπινου συστήματος αλλά και πολλών άλλων συνεισφορών (Cevallos-Cevallos et al. 2009).

Η μεταβολομική είναι ένας τομέας της επιστήμης που εστιάζει στην μελέτη των χημικών διεργασιών των μεταβολιτών, επιτρέποντας έτσι τη βαθύτερη κατανόηση των βιοχημικών δραστηριοτήτων των ζωντανών οργανισμών. Οι μεταβολίτες είναι τα ενδιάμεσα ή τελικά προϊόντα του μεταβολισμού και περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα ενώσεων, όπως νουκλεοτίδια, αμινοξέα, σάκχαρα, λιπίδια και οργανικά οξέα. Στο παρελθόν, στον τομέα της

επιστήμης τροφίμων, έχει γίνει χρήση της μεταβολομικής με στόχο τον καθορισμό του μεγέθους των δειγμάτων και προφυλάξεων κατά την δειγματοληψία αλλά και τη μεταφορά και την αποθήκευση δειγμάτων (Cevallos-Cevallos et al. 2009). Οι πιο πρόσφατες μεταβολομικές μελέτες επικεντρώνονται κυρίως στην εξέλιξη της ποιότητας, της επεξεργασίας, της τοξικολογίας και της μικροβιολογίας των τροφών (Cevallos-Cevallos and Reyes-De-Corcuera 2012). Παραδείγματος χάριν, για πολλές βιομηχανίες παραγωγής τροφίμων που πρώτη ύλη είναι τα φρούτα και τα λαχανικά, είναι επιτακτική ανάγκη ο εντοπισμός υπολειμμάτων χημικών ουσιών στα στάδια της επεξεργασίας. Μέσω των μεταβολομικών ερευνών είναι πλέον δυνατός ο εντοπισμός υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων και επιφανειοδραστικών ουσιών με μια απλή και γρήγορη διαδικασία (Cevallos-Cevallos and Reyes-De-Corcuera 2012)

Σήμερα, η χρησιμότητα των μεταβολομικών ερευνών έχει αυξηθεί εκθετικά ανταποκρινόμενη στις ανάγκες για έλεγχο της ποιότητας, της επεξεργασίας και της ασφάλειας τόσο των πρώτων υλών όσο και των τελικών προϊόντων (Cevallos-Cevallos et al. 2009). Συγκεκριμένα, μέσω της μεταβολομικής μπορούν να ανιχνευθούν εύκολα και γρήγορα πιθανές επιμολύνσεις του προϊόντος εξασφαλίζοντας την ποιότητα του αλλά και την ασφάλεια του καταναλωτή. Ταυτόχρονα, αξιοσημείωτη κρίνεται και η συμβολή της μεταβολομικής στην κατανόηση της διατροφικής σύνθεσης των τροφίμων αλλά και στην δημιουργία εξατομικευμένων προγραμμάτων διατροφής για τις ανάγκες του καθε ατόμου.

1.2 Σκοπός της μελέτης

Στην παρούσα εργασία θα αναλυθούν οι βασικές αρχές και οι πρόσφατες εξελίξεις των μεταβολομικών αναλύσεων στην επιστήμη των τροφίμων. Μέσα από αυτή την μελέτη, θα αναδειχθεί η αξία της μεταβολομικής ως εργαλείο για την βελτίωση της ποιότητας και της ασφάλειας των τροφίμων, παρέχοντας πολύτιμες πληροφορίες για τους βιοχημικούς μηχανισμούς που διαμορφώνουν την τελική σύσταση και τις ιδιότητες των τροφίμων.

Με την αυξανόμενη ζήτηση για υγιεινά, ασφαλή και ποιοτικά τρόφιμα, η μεταβολομική προσφέρει νέες προοπτικές για την ανάπτυξη και την αξιολόγηση τροφίμων με υψηλή διατροφική αξία και λειτουργικότητα. Ακόμη, η μεταβολομική μπορεί να βοηθήσει στην κατανόηση των επιδράσεων της διατροφής στην υγεία, συμβάλλοντας στη δημιουργία εξατομικευμένων πλάνων διατροφής και στην προώθηση της υγιεινής διατροφής (Fraga-Corral et al. 2022).

Οι μεταβολομικές έρευνες είναι ιδιαίτερα σημαντικές στον τομέα της επιστήμης τροφίμων καθώς καθιστούν δυνατή τη ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των συστατικών των τροφίμων, τη κατανόηση των αλληλεπιδράσεων τους και η εκτίμηση της επίδρασης των εξωτερικών παραγόντων στην τελική ποιότητα του προϊόντος (Fraga-Corral et al. 2022). Επιπροσθέτως, μέσω των αναλύσεων αυτών είναι δυνατή η διασφάλιση της αυθεντικότητας των τροφίμων, η ανίχνευση της νοθείας και η επιβεβαίωση της προέλευσης των προϊόντων.

Κεφάλαιο 2: Μεταβολομικές μελέτες

2.1 Επισκόπηση των μεταβολομικών αναλύσεων

Η μεταβολομική, είναι ένα διεπιστημονικό πεδίο που συνδυάζει αναλυτική χημεία, τεχνολογία και πρωτόκολλα εξαγωγής και ανάλυσης δεδομένων για τη μελέτη μικρών μορίων σε ένα βιολογικό σύστημα (Fraga-Corral et al. 2022). Η μεταβολομική έχει οριστεί ως η έρευνα για τον χαρακτηρισμό, ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των μικρών μορίων (με μοριακό βάρος κάτω από 2 kilodaltons) σε βιολογικά συστήματα (Johanningsmeier, Harris, and Kleborn 2016). Η εφαρμογή της μεταβολομικής σε όλες τις διαδικασίες του συστήματος τροφίμων, από την παραγωγή έως ότου φτάσει στον καταναλωτή, ονομάζεται foodomics. Στον τομέα της τεχνολογίας τροφίμων, η μεταβολομική συμβάλλει σημαντικά στη μελέτη των μεταβολικών αλλαγών που υφίστανται τα τρόφιμα κατά τη συγκομιδή, την επεξεργασία και την αποθήκευση, επηρεάζοντας τη διατροφική ποιότητα, την ασφάλεια και την αισθητηριακή αποδοχή. Αυτές οι αλλαγές προκαλούνται από εξωγενείς παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, η υγρασία, οι διακυμάνσεις της πίεσης και η παρουσία οξυγόνου, καθώς και από ενδογενείς παράγοντες, όπως το pH και η ενεργότητα του νερού (a_w).

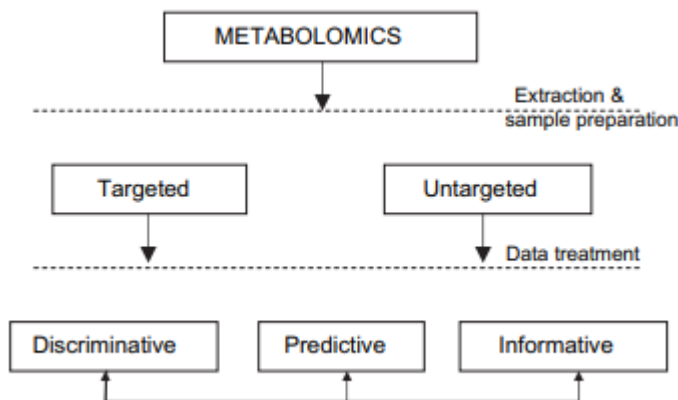
Η μεταβολομική διαθέτει πολλά πλεονεκτήματα που την καθιστούν σημαντική στην επιστήμη των τροφίμων. Έχει την ικανότητα να διαχωρίζει ενώσεις με υψηλή απόδοση και ανάλυση, παρέχοντας αξιόπιστα αποτελέσματα σε σύντομο χρόνο. Επιπλέον, μπορεί να ανιχνεύσει χιλιάδες χαρακτηριστικά από δείγματα υψηλής πολυπλοκότητας και να εντοπίσει άγνωστους μεταβολίτες, κάτι που είναι κρίσιμο για την κατηγοριοποίηση και την ανάλυση της ποιότητας των τροφίμων. Παρολ'αυτά, τα αρχεία των προφίλ των μεταβολιτών στις βάσεις δεδομένων δεν είναι πλήρη, γεγονός που μπορεί να δυσχεράνει την ταυτοποίηση ορισμένων ενώσεων, ενώ ακόμη, απαιτείται η χρήση εσωτερικών προτύπων για την εξασφάλιση της ακρίβειας των αποτελεσμάτων. Επιπροσθέτως, η μέθοδος αυτή θεωρείται δαπανηρή, τόσο λόγω εξοπλισμού και των απαιτούμενων αντιδραστηρίων όσο και απαιτήσης είδικα καταρτισμένου προσωπικού για τον χειρισμό του (Utpott et al. 2022b).

Η μεταβολομική χωρίζεται σε δύο βασικές κατηγορίες την στοχευμένη (targeted) και τη μη-στοχευμένη (untargeted). Αναλυτικότερα, οι μη-στοχευμένες αναλύσεις αποσκοπούν στην αξιολόγηση του συνολικού προφίλ των μεταβολιτών του συστήματος χωρίς να είναι γνωστό από την αρχή ποιες κατηγορίες ενώσεων είναι υπεύθυνες για τις αλλαγές στο βιολογικό σύστημα. Στόχος είναι η ανίχνευση όσο το δυνατόν περισσότερων μεταβολιτών για την δημιουργία προφίλ ή «δακτυλικών αποτυπωμάτων», καθιστώντας δυνατή τη κατηγοριοποίηση (classification) των τροφίμων (Cevallos-Cevallos and Reyes-De-Corcuera 2012). Η δημιουργία δακτυλικών αποτυπωμάτων επικεντρώνεται στην ανάλυση του μεγαλύτερου δυνατού αριθμού ενώσεων, ενώ η δημιουργία προφίλ εστιάζει σε μια κατηγορία μεταβολιτών. Παραδείγματος χάριν, το 2012 διεξήχθη έρευνα με τη χρήση μη στοχευμένης μεταβολομικής ανάλυσης και συγκεκριμένα με την τεχνική πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), όπου έγινε δυνατή η διάκριση και η κατηγοριοποίηση πέντε διαφορετικών ποικιλιών μανγκο (Koda et al. 2012). Αντιθέτως, η στοχευμένη είναι εκ των προτέρων επικεντρωμένη σε συγκεκριμένες ομάδες μεταβολιτών στις οποίες αναμένεται να ανταποκριθούν οι μεταβλητές που πρόκειται να μελετηθούν. Συνήθως απαιτείται υψηλότερο επίπεδο καθαρισμού και επιλεκτική εκχύλιση μεταβολιτών (Cevallos-Cevallos et al. 2009). Ως εκ τούτου, με στόχο τον προσδιορισμό των μεταβολιτών που θα στηριχθούν οι υποθέσεις μιας στοχευμένης μεταβολομικής μελέτης πρέπει να έχει ήδη προηγηθεί μια μη-στοχευμένη, ώστε να έχουν αντληθεί τα απαραίτητα στοιχεία.

Περαιτέρω διάκριση των μεταβολομικών μελετών μπορεί να γίνει σε διακριτικές, ενημερωτικές και προγνωστικές αναλύσεις. Η διακριτική μεταβολομική αναζητά διαφορές μεταξύ πληθυσμών δειγμάτων χωρίς απαραίτητα να δημιουργεί στατιστικά μοντέλα. Η διάκριση επιτυγχάνεται συνήθως με τεχνικές ανάλυσης πολυμεταβλητών δεδομένων (MVDA), με την ανάλυση κύριων συστατικών (PCA) να είναι το πιο χρησιμοποιούμενο εργαλείο. Ένα παράδειγμα είναι η ταξινόμηση του κρασιού ανά ποικιλία σταφυλιών και περιοχή παραγωγής με μεταβολομικές τεχνικές. Η ενημερωτική μεταβολομική εστιάζει στον εντοπισμό και την ποσοτικοποίηση στοχευμένων ή μη στοχευμένων μεταβολιτών για τη λήψη πληροφοριών για

το δείγμα. Χρησιμοποιείται στην ανάπτυξη και συνεχή ενημέρωση των βάσεων δεδομένων μεταβολιτών αλλά και στην ανακάλυψη νέων βιοδραστικών ενώσεων και βιοδεικτών. Τέλος, η προγνωστική μεταβολομική δημιουργεί στατιστικά μοντέλα βασισμένα στο προφίλ των μεταβολιτών και στην αφθονία τους με στόχο τη πρόβλεψη μιας μεταβλητής που είναι δύσκολο να ποσοτικοποιηθεί με άλλα μέσα (Cevallos-Cevallos et al. 2009).

Η μεταβολομική είναι ένα αποτελεσματικό εργαλείο για την αντιμετώπιση μελλοντικών αναγκών στη γεωργία και την ανθρώπινη διατροφή, συμβάλλοντας στην ανάλυση της ποιότητας, της διατροφής και των συστατικών των τροφίμων. Οι διακριτικές, ενημερωτικές και προγνωστικές μεταβολομικές μελέτες έχουν πρόσφατα χρησιμοποιηθεί στην ανάλυση της ποιότητας των τροφίμων, της ασφάλειας, της συμμόρφωσης σε κανονισμούς και τον έλεγχο της νοθείας.



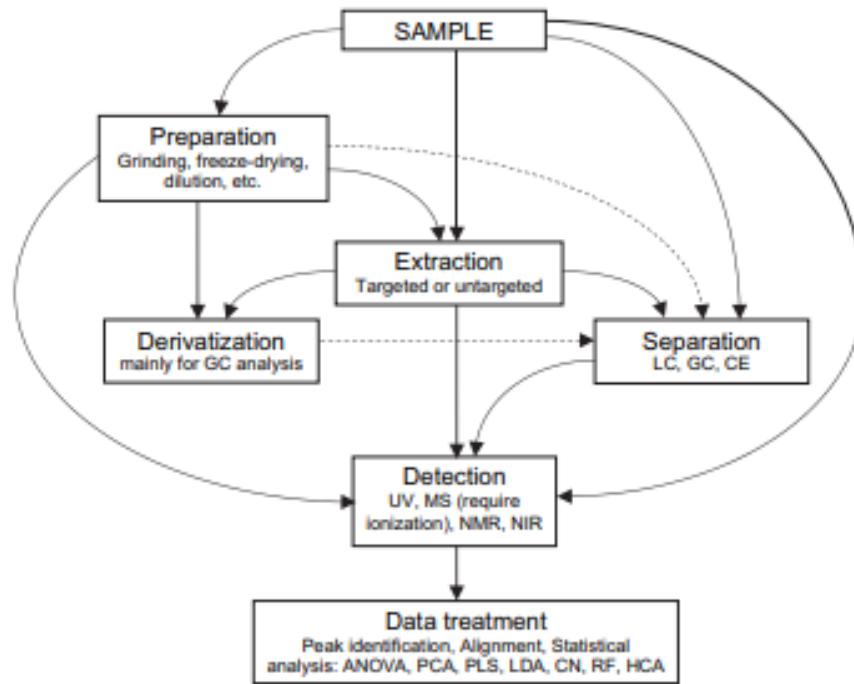
Εικόνα 1 Γενική ταξινόμηση μεταβολομικών μελετών (Cevallos-Cevallos et al. 2009)

2.2 Διαδικασία Μεταβολομικής ανάλυσης

Η μεταβολομική ανάλυση είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που περιλαμβάνει διάφορα στάδια, όπως την προετοιμασία του δείγματος, την εξαγωγή των μεταβολιτών, την παραγωγή, τον διαχωρισμό τους, την ανίχνευση και την επεξεργασία των δεδομένων. Τα βήματα αυτά

μπορούν να προσαρμοστούν ανάλογα με τον τύπο της μελέτης σε στοχευμένη ή μη στοχευμένη, αλλά και το είδος του δείγματος σε στερεά ή υγρά. Παρόλο που δεν είναι πάντα απαραίτητα όλα τα βήματα, η ανίχνευση και η ανάλυση δεδομένων αποτελούν ουσιώδη μέρη κάθε μεταβολομικής μελέτης.

Η σωστή προετοιμασία του δείγματος είναι κρίσιμη για την επιτυχία της μεταβολομικής ανάλυσης. Σε στερεά δείγματα, όπως τα φρούτα και τα λαχανικά, απαιτείται άλεση για την ενίσχυση της απελευθέρωσης των μεταβολιτών κατά την εκχύλιση, ενώ σε συμπυκνωμένα υγρά δείγματα, όπως το μέλι, μπορεί να απαιτείται αραίωση. Ακολουθεί η διαδικασία εκχύλισης, που στοχεύει στη μεγιστοποίηση της ποσότητας και της συγκέντρωσης των ενώσεων που θα μελετηθούν. Για μη στοχευμένες αναλύσεις, όπου οι ενώσεις που μας ενδιαφέρουν είναι άγνωστες, χρησιμοποιούνται γενικές μέθοδοι εκχύλισης που καλύπτουν ευρύ φάσμα μεταβολιτών. Στη συνέχεια ακολουθεί η παραγωγοποίηση του δείγματος, δηλαδή η χημική τροποποίηση των μεταβολιτών για την ενίσχυση της ανιχνευσιμότητάς τους κατά τον διαχωρισμό και την ανάλυση. Η παραγωγή είναι συχνά απαραίτητη πριν από την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία (GC) για την αύξηση της πιπτικότητας των αναλυτών. Για τον διαχωρισμό των μεταβολιτών από το εκχύλισμα του δείγματος συχνά χρησιμοποιούνται τεχνικές όπως η υγρή χρωματογραφία (LC) ή η αέρια χρωματογραφία (GC). Ακολουθεί η ανίχνευση των μεταβολιτών με τη χρήση τεχνικών όπως η φασματομετρία μάζας (MS) ή η Πυρηνικός μαγνητικός Συντονισμός (NMR) (Cevallos-Cevallos et al. 2009). Αυτές οι τεχνικές παρέχουν πληροφορίες για τη μάζα και τη δομή των μεταβολιτών, επιτρέποντας την ταυτοποίηση και την ποσοτικοποίησή τους με υψηλή ακρίβεια. Τα δεδομένα που συλλέγονται από τις αναλυτικές τεχνικές και επεξεργάζονται με τη χρήση στατιστικών και βιοπληροφορικών εργαλείων. Η επεξεργασία δεδομένων στη μεταβολομική ανάλυση περιλαμβάνει την ταυτοποίηση των ενώσεων και την πολυμεταβλητή ανάλυση δεδομένων (MVDA). Χρησιμοποιούνται τεχνικές όπως η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) και η μερική ελαχίστων τετραγώνων (PLS) για την κατηγοριοποίηση των δειγμάτων και την πρόβλεψη των ιδιοτήτων τους.



Εικόνα 2 Διαδικασία μεταβολομικής ανάλυσης (Cevallos-Cevallos et al. 2009)

2.3 Μεθοδολογίες και τεχνικές

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως στον χώρο της επιστήμης τροφίμων οι μεταβολομικές μελέτες αποσκοπούν στη κατανόηση των βιοχημικών διεργασιών των τροφίμων κατά τη επεξεργασία και την αποθήκευσή τους. Με την πάροδο του χρόνου όλο και περισσότερες μέθοδοι εμφανίζονται για να καταστήσουν την μεταβολομική ανάλυση στα τρόφιμα πιο απλή, γρήγορη και με μικρότερο κόστος. Οι κυριότερες τεχνικές που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία σήμερα είναι η Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance – NMR), Φασματομετρία Μάζας (Mass Spectrometry – MS) και οι Χρωματογραφικές μέθοδοι (Chromatographic methods) σε συνδυασμό με τη Φασματομετρία μάζας. Παρακάτω, θα αναλυθεί η μεθοδολογία, τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της κάθε τεχνικής.

2.3.1 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance – NMR)

Η **Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)** είναι μια από τις πιο κοινές φασματοσκοπικές αναλυτικές τεχνικές και χρησιμοποιείται για τη μελέτη της δομής, της δυναμικής και των αλληλεπιδράσεων των μορίων. Η τεχνική αυτή βασίζεται στην αρχή του πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, όπου οι πυρήνες των ατόμων τοποθετούνται σε ένα ισχυρό μαγνητικό πεδίο και εκτίθενται σε ραδιοσυχνότητες. Οι σημαντικότεροι ενεργοί πυρήνες στην οργανική χημεία είναι οι ^1H , ^{13}C και ^{15}N . Οι πυρήνες απορροφούν ενέργεια και την επανεκπέμπουν με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά. Τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα των διεγερμένων πυρήνων που επιστρέφουν στην θεμελιώδη τους κατάσταση καταγράφονται και αναλύονται για να προσδιοριστούν οι δομές των μορίων. Οι θεμελιώδεις παράμετροι που χαρακτηρίζουν τη γραμμή (συχνότητα, διάσπαση, πλάτος γραμμής και εύρος) μπορούν να

χρησιμοποιηθούν για την ανάλυση της μοριακής δομής, της διαμόρφωσης και της δυναμικής του μορίου (Fraga-Corral et al. 2022).

Η NMR χρησιμοποιείται ευρέως στη μη στοχευμένη μεταβολομική ανάλυση καθώς μπορεί και παρέχει πληροφορίες για την ταυτοποίηση και την ποσοτικοποίηση διαφορετικών οργανικών ενώσεων στον ίδιο χρόνο , για την αξιολόγηση δομών αγνώστων δειγμάτων αλλά και για τη διευκρίνιση μεταβολικών οδών και αλληλεπιδράσεων (Fraga-Corral et al. 2022). Η NMR χρησιμοποιείται ευρέως για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση διαφορετικών οργανικών ενώσεων, την ταυτοποίηση ενώσεων με παρόμοια μάζα, την αξιολόγηση δομών άγνωστων ενώσεων και την αποσαφήνιση μεταβολικών οδών και αλληλεπιδράσεων.

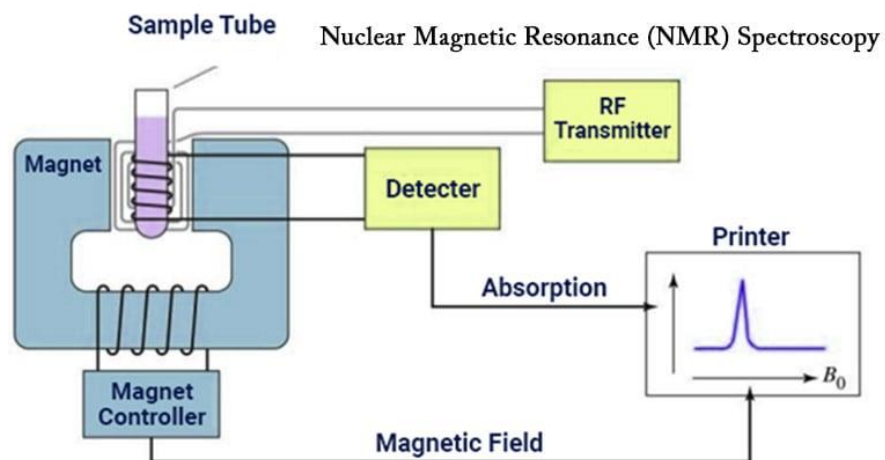
Η NMR προσφέρει υψηλή αναπαραγωγικότητα και ακρίβεια, επιτρέποντας την ανίχνευση και την ανάλυση των μεταβολιτών σε πολύπλοκα μείγματα χωρίς την ανάγκη προηγούμενου διαχωρισμού. Η μη επεμβατική και μη καταστροφική φύση της τεχνικής επιτρέπει την περαιτέρω ανάλυση των δειγμάτων εάν χρειαστεί. Ωστόσο, η τεχνική αυτή έχει σχετικά μικρότερη ευαισθησία σε σχέση με την MS . Αυτό την καθιστά ακατάλληλη για δείγματα όπου οι ενώσεις που θα μελετηθούν είναι σε χαμηλές συγκεντρώσεις (κάτω από τα όρια ανίχνευσης) , εφόσον λόγω της χαμηλότερης ευαισθησίας απαιτούνται μεγαλύτερες ποσότητες δειγμάτων. Επιπροσθέτως, ένα σημαντικό μειονέκτημα είναι το υψηλό κόστος του εξοπλισμού και της συντήρησης του καθώς και ο απαραίτητος χειρισμός αυτού αλλά και η ερμηνία των αποτελεσμάτων μπορεί να γίνει μόνο από εξειδικευμένο προσωπικό.

Στο παρελθόν η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού είχε πολυάριθμες εφαρμογές σε κλινικές μελέτες, όπως η χρήση της NMR για τη μελέτη των μεταβολικών αλλαγών που σχετίζονται με τον διαβήτη με στοχο την δημιουργία εξατομικευμένων θεραπειών (Fraga-Corral et al. 2022). Ομοίως, σε μελέτες καρκίνου , επιστήμονες έχουν χρησιμοποιήσει την τεχνική NMR για να κατανοήσουν τις μεταβολικές αλλαγές της ανάπτυξης του όγκου, να αναγνωρίσουν βιοδείκτες για τον προσδιορισμό της παρουσίας καρκινικών

κυττάρων σε ασθενείς, να δώσουν έγκαιρη διάγνωση και να αξιολογήσουν την αποτελεσματικότητα των παρεμβάσεων και των θεραπειών του καρκίνου.

Σήμερα, το NMR έχει εφαρμοστεί και σε άλλους επιστημονικούς τομείς. Για παράδειγμα, στις φυτικές επιστήμες, η μεταβολομική με βάση το NMR έχει αποδειχθεί χρήσιμη σε εφαρμογές όπως τη λειτουργική γονιδιωματική, τη παρακολούθηση των μεταβολικών αλλαγών κατά την απόκριση του φυτού στο στρες αλλά και τον προσδιορισμό της προέλευσης των φυτών. Αυτή η τεχνική μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της χημικής σύνθεσης των φαρμακευτικών φυτών και την τυποποίηση των παραγόμενων φυτικών προϊόντων τους, για να διασφαλιστεί ο ποιοτικός έλεγχος και τα φαρμακολογικά αποτελέσματα (Fraga-Corral et al. 2022).

Στον τομέα της επιστήμης τροφίμων, η NMR έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς στην ανάλυση δειγμάτων τροφίμων για τη διαφοροποίηση και τον χαρακτηρισμό τους. Παραδείγματος χάριν, η τεχνική NMR έχει χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη του μεταβολικού προφίλ του βοείου γάλακτος. Με αυτόν τον τρόπο μπορεί να αξιολογηθεί το προφίλ του γάλακτος ως προς τις θρεπτικές και ποιοτικές του ιδιότητες, να μελετηθεί η επίδραση των γονιδίων στη σύνθεση του γάλακτος, και να εντοπιστούν λοιμώξεις και ασθένειες στα ζώα (Fraga-Corral et al. 2022).



Εικόνα 3 Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) - (Argal 2022b)

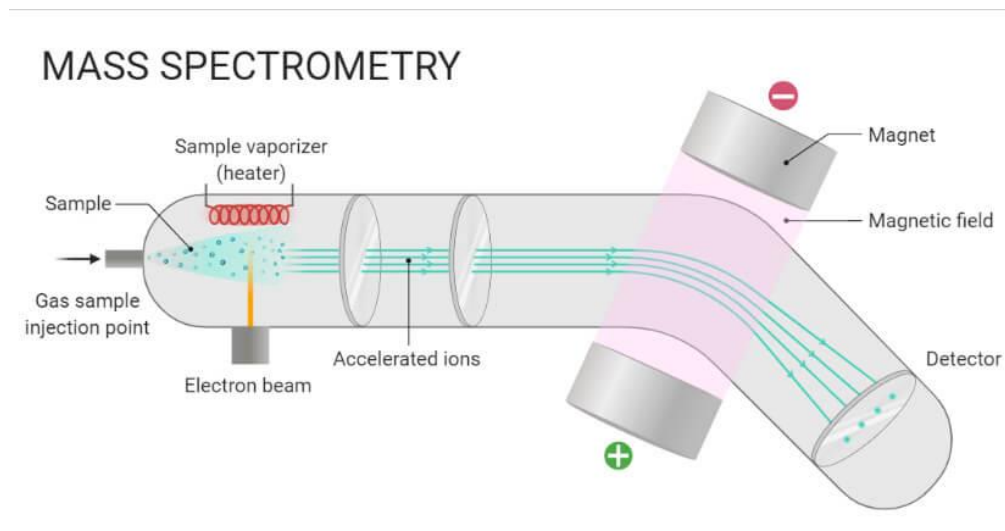
2.3.2 Φασματομετρία Μάζας (Mass Spectrometry – MS)

Η Φασματομετρία Μάζας (MS) είναι μια από τις πιο συνηθισμένες τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τις μεταβολομικές αναλύσεις, μαζί με την τεχνική του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR). Η ικανότητα της MS να ταυτοποιεί και να ποσοτικοποιεί γνωστούς και άγνωστους μεταβολίτες , την κάνει ιδιαίτερα χρήσιμη για στοχευμένες και μη στοχευμένες αναλύσεις. Η τεχνική αυτή προσφέρει υψηλή εκλεκτικότητα και ευαισθησία, ενώ παρέχει την δυνατότητα πολλαπλής ανίχνευσης, δηλαδή την αναγνώριση και μελέτη εκατοντάδων ενώσεων με μία μόνο μέτρηση. Δεδομένης της πολυπλοκότητας και της ποικιλίας των διαφόρων δειγμάτων , απαιτείται προηγούμενος διαχωρισμός, και μάλιστα να μεσολαβεί χρονική διάσταση ανάμεσα σε αυτόν και την ανάλυση. Με αυτόν τον τρόπο, μειώνεται η πολυπλοκότητα των φασμάτων μάζας και σε συνδυασμό με τις βάσεις δεδομένων και τα πακέτα λογισμικού, επιτρέπεται η αποτελεσματική ανίχνευση και ποσοτικοποίηση παρόμοιων και αγνώστων μεταβολιτών.

Πρώτο και κυριότερο βήμα για τη διεξαγωγή μιας μεταβολομικής ανάλυσης με τη χρήση της φασματομετρίας μάζας, είναι ο ιονισμός των μορίων του δείγματος. Ο ιονισμός είναι απαραίτητος για την MS, καθώς τα μόρια του δείγματος εξατμίζονται και ιονίζονται σε δέσμη φορτισμένων σωματιδίων, γεγονός που δυσκολεύει τον επιλεκτικό διαχωρισμό και την ταυτοποίησή τους με βάση την αναλογία μάζας προς φορτίο (m/z). Οι πιο κοινές και ευρέως χρησιμοποιούμενες πηγές ιονισμού είναι μέσω ηλεκτροψεκασμού (Electrospray Ionization - ESI) , κρούσης ηλεκτρονίων (Electron Impact Ionization – EI) ή με χημική αντίδραση (Chemical Ionization – CI). Στη συνέχεια, ακολουθεί διαχωρισμός των ιόντων με βάση τον λόγο μάζας προς φορτίο (m/z) σε μαγνητικό ή ηλεκτρικό πεδίο, η ανίχνευση και επιλογή των ιόντων. Τα επιλεγμένα ιόντα υποβάλλονται σε κατακερματισμό μέσω σύγκρουσης με αέριο και τα θραύσματα αναλύονται σε δεύτερο στάδιο. Τέλος, ερμηνεύονται τα παραγόμενα φασματογραμματα (Fraga-Corral et al. 2022). Ανάλογα με τις ανάγκες του ερευνητή η ανάλυση μπορεί να γίνει με υγρή χρωματογραφία (LC), αέρια χρωματογραφία (GC), τριχοειδική ηλεκτροφόρηση (CE) και φασματομετρία κινητικότητας ιόντων (IMS).

Η υψηλή ευαισθησία και ειδικευση επιτρέπει την ανίχνευση και ταυτοποίηση ουσιών σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις ενώ ο κατακερματισμός των μορίων παρέχει πολύτιμες πληροφορίες για τη δομή των μορίων. Παρολ' αυτά, η συνθετη μεθοδολογία για την διεξαγωγή της τεχνικής απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό για τη σωστη λειτουργία και ανάλυση των αποτελεσμάτων ενώ το υψηλό κόστος για τον εξοπλισμό και τη συντήρηση του την καθιστά λιγότερο ελκυστική σε σύγκριση με άλλες τεχνικές.

Στην κλινική ιατρική, η φασματομετρία μάζας (MS) έχει χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη μεταβολικών προφίλ και την ανακάλυψη βιοδεικτών απο βιολογικά δείγματα, συμβάλλοντας στην έγκαιρη διάγνωση και την αποτελεσματική θεραπεία ασθενειών. Επιπλέον, στις φυτικές επιστήμες η MS έχει αποδειχθεί χρήσιμη για την παρακολούθηση μεταβολικών αλλαγών σε φυτά και τη διάκριση μεταξύ άγριων και διαγονιδιακών φυτών (Cevallos-Cevallos and Reyes-De-Corcuera 2012).



Εικόνα 4 Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας της φασματομετρίας μάζας (MS) - (Aryal 2022a)

2.3.3 Υγρή χρωματογραφία – Φασματομετρία Μάζας (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry - LC-MS)

Η **Υγρή χρωματογραφία** σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας (LC-MS) χρησιμοποιώντας ηλεκτροψεκασμό ESI ως πηγή ιονισμού έχει γίνει ίσως το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο εργαλείο για την διεξαγωγή μεταβολικών μελετών. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται για την ανάλυση πτητικών και μη πτητικών ενώσεων ενώ επιτρέπει την ταυτόχρονη ανίχνευση πολλαπλών βιομορίων με μια μόνο ανάλυση.

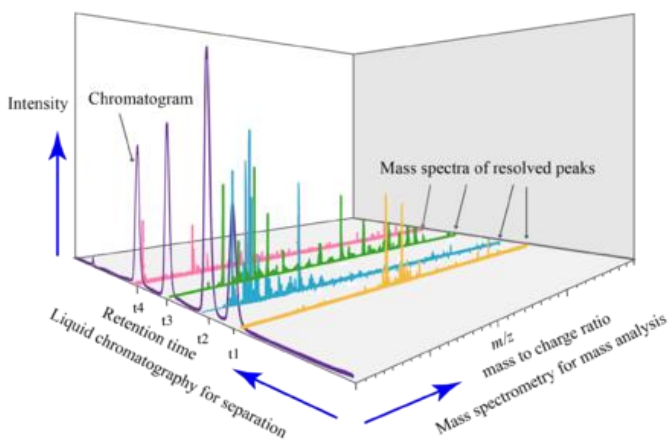
Οι μεταβολίτες διαχωρίζονται χρωματογραφικά καθώς ρέουν μέσα από μια στήλη που προωθείται από κινητές φάσεις. Υπάρχουν διάφοροι τύποι μονοδιάστατων τεχνικών χρωματογραφίας που βασίζονται στον τύπο της τεχνολογίας στήλης, όπως η Υγρή Χρωματογραφία Ανάστροφης Φάσης (RPLC), η Χρωματογραφία Υδρόφιλης Αλληλεπίδρασης (Hydrophilic Interaction Chromatography - HILIC) και η Χρωματογραφία Υπερκρίσιμου Υγρού (Supercritical Fluid Chromatography - SFC). Οι μέθοδοι HILIC, SFC και RPLC έχουν αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμα εργαλεία για την ανάλυση πολύ υδρόφιλων, λιπόφιλων και μη πολικών ενώσεων, αντίστοιχα (Fraga-Corral et al. 2022).

Η τροποποίηση παραμέτρων όπως η θερμοκρασία στήλης, η βαθμίδα και η σύνθεση της κινητής φάσης μπορεί να βελτιώσει τον διαχωρισμό των μορίων και την ανάλυση κορυφής. Ωστόσο, εάν αυτές οι τροποποιήσεις δεν ενισχύουν την ανάλυση κορυφής, συνιστάται η χρήση στηλών υγρής χρωματογραφίας υπερ-απόδοσης (Ultra-performance Liquid Chromatography - UPLC), με μέγεθος σωματιδίων 1,7 μm. Η UPLC παρέχει συνήθως στενότερες κορυφές, καλύτερη ευαισθησία και μικρότερο χρόνο ανάλυσης (Fraga-Corral et al. 2022).

Ο ιονισμός των μορίων είναι ένα κρίσιμο βήμα για την ανάλυση με LC-MS. Ο ιονισμός γίνεται με διάφορες πηγές, όπως ο χημικός ιονισμός ατμοσφαιρικής πίεσης (Atmospheric Pressure Chemical Ionization - APCI), ο φωτοϊονισμός ατμοσφαιρικής πίεσης (Atmospheric Pressure Photo Ionization - APPI) και η εκρόφηση/ιονισμός λέιζερ υποβοηθούμενη από μήτρα (Matrix-

Assisted Laser Desorption/Ionization - MALDI). Ωστόσο, οι πιο κοινές και ευρέως χρησιμοποιούμενες πηγές ιονισμού είναι ο Ιονισμός Ηλεκτροψεκασμού (Electrospray Ionization – ESI) και η Πρόσκρουση ηλεκτρονίων (Electron Impact - EI). Ο ιονισμός ESI καθίσταται ιδανικός για τεχνικές υγρής χρωματογραφίας LC καθώς αυτός ο τρόπος ήπιου ιονισμού αποτρέπει τον μοριακό κατακερματισμό. Αντιθέτως, η πρόσκρουση ηλεκτρονίων EI χρησιμοποιείται συνήθως για αέρια χρωματογραφία (Gas chromatography - GC) και είναι ένας τύπος σκληρού ιονισμού που κατακερματίζει τους μεταβολίτες και επιτρέπει την ανίχνευσή τους μειώνοντας τη συν-έκλυση που δημιουργεί παρεμβολές στη μήτρα (Fraga-Corral et al. 2022).

Επομένως, η υγρή χρωματογραφία φασματομετρίας μάζας με ηλεκτροψεκασμό ιόντων (LC-MS-ESI) έχει ιδιαίτερη σημασία για τις μεταβολομικές αναλύσεις, καθώς αυτός ο τρόπος ήπιου ιονισμού επιτρέπει την εκτέλεση πολλαπλής ανίχνευσης βιομορίων με μια μόνο ανάλυση. Ειδικότερα, είναι δυνατή η ανάλυση έως και 200 δειγμάτων ανα ένεση σε πειραματικό χρόνο κοντά στη μία ώρα . Το LC-MS-ESI έχει εφαρμοστεί ευρέως στο πεδίο της μεταβολομικής για διάφορες μελέτες, όπως η μελέτη της επίδρασης της συστηματικής χορήγησης φαρμάκων ή τοξινών αλλά και η ικανότητας της ως ένα προληπτικά διαγνωστικό εργαλείο.



Εικόνα 5 Τρισδιάστατη απεικόνιση χρωματογραφήματος με φασματομετρία μάζας διαχωρισμένων κορυφών - (Wikipedia 2024)

2.3.4 Αέρια χρωματογραφία - φασματομετρία μάζας (Gas chromatography-mass spectrometry – GC-MS)

Η **Αέρια Χρωματογραφία – Φασματομετρίας μάζας GC-MS** συνδυάζει την ικανότητα διαχωρισμού των ενώσεων της GC με την ακρίβεια και την επαναληψιμότητα της MS. Αναλυτικότερα, αποτελεί μια τεχνική υψηλής ευαισθησίας και αναπαραγωγισιμότητας ενώ μπορεί να αναγνωρίζει άγνωστους μεταβολίτες αποφεύγοντας τα ζητήματα καταστολής ιόντων που είναι συνηθισμένα στις LC-MS (Fraga-Corral et al. 2022). Τα συγκεκριμένα μοτίβα κατακερματισμού που παρέχονται καθιστούν δυνατή την σύγκριση δεδομένων της GC-MS και κατ' επέκταση τη δημιουργία μιας κοινής βάσης δεδομένων.

Για να είναι κατάλληλα τα δείγματα για ανάλυση με GC, είναι αναγκαίο να πληρούν ορισμένες προϋποθέσεις όπως η πτητικότητα, η θερμική σταθερότητα και η επαρκής τάση ατμών. Συγκεκριμένα, η μέθοδος αυτή είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική για την ανάλυση πτητικών και ημι-πτητικών ενώσεων αλλά απαιτείται ένα χρονοβόρο βήμα παραγωγίσης για τη ρύθμιση της απαιτούμενης πτητικότητας (Fraga-Corral et al. 2022).

Η GC-MS έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς για τη μελέτη διαφόρων συστηματικών ασθενειών όπως οι οργανικές οξειδαιμίες αλλά και για τη διάγνωση καρκίνου μέσω ανάλυσης των μεταβολικών προφίλ διαφόρων βιολογικών δειγμάτων. Συγκεκριμένα, υπάρχουν μελέτες που αποδεικνύουν την ικανότητα της τεχνικής αυτής να διακρίνει σθεναρά τον καρκίνο του μαστού σε σύγκριση με υγιείς ασθενείς, ενώ ακόμη ίσως να μπορούσε να είναι ένα προγνωστικό εργαλείο για την επανεμφάνιση του. Στον χώρο της επιστήμης τροφίμων η GC-MS μπορεί να χρησιμοποιηθεί για γρήγορο και αξιόπιστο εντοπισμό παθογόνων μικροοργανισμών όπως η *Escherichia coli* O157:H7 αλλά και για την ανίχνευση υπολειμμάτων χημικών υπολειμμάτων όπως φυτοφαρμάκων και τασιενεργών στα τρόφιμα (Fraga-Corral et al. 2022).

2.3.5 Τριχοειδής ηλεκτροφόρηση-φασματομετρία μάζας (Capillary electrophoresis-mass spectrometry – CE-MS)

Η Τριχοειδής ηλεκτροφόρηση – φασματομετρία μάζας (CE-MS) είναι μια αναλυτική τεχνική που εκτελείται σε τριχοειδή πυρίτια τα οποία διαχωρίζουν πολικές και φορτισμένες ενώσεις. Η μικρή χωρητικότητα των τριχοειδών (της τάξης των νανολίτρων) απαιτεί τη χρήση πολύ μικρών όγκων δείγματος. Η CE-MS είναι μία μέθοδος χρονικά και οικονομικά αποδοτική , καθώς δεν έχει μακρά προτόκολλα προετοιμασίας των δειγμάτων, χρησιμοποιεί πολύ μικρές ποσότητες οργανικών διαλυτών ή άλλων αντιδραστηρίων και οι τριχοειδείς σωλήνες από τηγμένη πυρίτια είναι πολύ φθηνότεροι από τις στήλες LC-MS (Fraga-Corral et al. 2022).

Η CE-MS συνδυάζεται συχνά με πηγές ηλεκτροψεκασμού (ESI), επιτρέποντας την πολλαπλή ανίχνευση βιομορίων με μία μόνο ανάλυση. Ειδικότερα, η ανάλυση του δείγματος μπορεί να γίνει είτε με ένα υγρό περίβλημα, το οποίο λειτουργεί ως αγωγός τάσης και συγχωνεύεται με το δείγμα που προέρχεται από την έξοδο του τριχοειδούς, είτε χωρίς αυτή τη «θήκη» χρησιμοποιώντας έναν αγωγίμο μεταλλικό ή πολυμερικό ψεκαστήρα. Αλλα συστήματα ανίχνευσης, εκτός από τη φασματομετρία μάζας (MS), που μπορούν να συνδεθούν με την CE περιλαμβάνουν την υπεριώδη ακρινοβολία (UV) και τον ανιχνευτή διάταξης φωτοδιόδου (DAD).

Δυστυχώς, η ευαισθησία της ανάλυσης CE θεωρείται κακή, εξαιτίας του περιορισμένου όγκου δείγματος που επιτρέπεται να εγχυθεί. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό όταν χρησιμοποιείται απορρόφηση UV λόγω του μικρού μήκους της οπτικής διαδρομής (Fraga-Corral et al. 2022). Παρολ'αυτά, όταν το CE συνδέεται με το MS, οι ενώσεις διαχωρίζονται με βάση την αναλογία μάζας προς φορτίο (m/z), επιτρέποντας την ενίσχυση της ευαισθησίας και παρέχοντας επιπλέον δομικές πληροφορίες για τις αναλυόμενες ουσίες. Αρκετές άλλες προσεγγίσεις έχουν αναπτυχθεί με βάση αυτή την μέθοδο, όπως ο συνδυασμός ενός υγρού χρωματογραφικού συστήματος συζευγμένου με CE-MS, που ονομάζεται τριχοειδής ηλεκτροχρωματογραφία (CEC). Η τεχνική αυτή χρησιμοποιεί ηλεκτροσωματική ροή μέσω τριχοειδών στηλών συσκευασμένων

με LC-στάσιμες φάσεις, οδηγώντας σε υψηλή ανάλυση και στενές κορυφές. Αυτή η μέθοδος έχει εφαρμοστεί στην ανάλυση φωσφορικών, πεπτιδίων, αμινοξέων και σακχαριτών. Ανάλογα με τη φύση της αναλυόμενης ουσίας, μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικές προσεγγίσεις διαχωρισμού για την επίτευξη ολοκληρωμένης κάλυψης του μεταβολικού προφίλ.

Στην βιβλιογραφία βρίσκονται πολυάριθμες εφαρμογές της CE-MS στην αναλυτική χημεία και συγκεκριμένα στην ανάλυση βιολογικών δειγμάτων για αξιολόγηση διαφόρων μεταβολικών διαταραχών, όπως το νευροβλάστωμα, η προπριονική οξυαιμία και το σύνδρομο Zellweger.

2.3.6 Κινητικότητα ιόντων-φασματομετρία μάζας (Ion mobility-mass spectrometry – IMS-MS)

Η **Φασματομετρία κινητικότητας ιόντων (IMS-MS)** είναι μια υβριδική τεχνική που συνδυάζει τις αρχές της φασματομετρίας μάζας (MS) με αυτές της φασματομετρίας κινητικότητας ιόντων (IMS). Η IMS διαχωρίζει τα ιόντα στην αέρια φάση με βάση τα δομικά τους χαρακτηριστικά (μάζα, μέγεθος, σχήμα) και το φορτίο τους. Όταν συνδυάζεται με τη φασματομετρία μάζας (MS), η IMS-MS επιτρέπει τον διαχωρισμό ισομερών, ισοβαρών και μορφομερών, προσφέροντας μια πολυδιάστατη προσέγγιση στη μαζική ανάλυση (Fraga-Corral et al. 2022).

Υπάρχουν τέσσερις κύριες μέθοδοι που βασίζονται στο IMS-MS: η φασματομετρία κινητικότητας ιόντων με σωλήνα μετατόπισης (DTIMS), η φασματομετρία κινητικότητας ιόντων αναρρόφησης (AIMS), η φασματομετρία κινητικότητας ιόντων ασύμμετρης κυματομορφής πεδίου (FAIMS) και η φασματομετρία κινητικότητας ιόντων διακινούμενου κύματος (TWIMS). Αναλυτικότερα, η DTIMS είναι μια απλή και ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική που επιτρέπει τον διαχωρισμό ιόντων με βάση τον χρόνο παραμονής τους στον παρασυρόμενο σωλήνα, ενώ η AIMS επιτρέπει τη μέτρηση της κινητικότητας των ιόντων με την εφαρμογή ενός αναρροφητικού πεδίου. Ακόμη, η FAIMS χρησιμοποιεί ασύμμετρες κυματομορφές για να διαχωρίσει τα ιόντα με βάση τη διαφορά στην κινητικότητά τους και η TWIMS χρησιμοποιεί

διακινούμενα κύματα για να διαχωρίσει τα ιόντα με βάση την κινητικότητά τους (Fraga-Corral et al. 2022).

Παρόλο που μέσα στα πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι η υψηλή ευαισθησία και η γρήγορη ανάλυση, η ευαισθησία αυτή μπορεί να επηρεαστεί από την παρουσία υγρασίας ή άλλων προσμίξεων στον αέρα. Η παρουσία αυτών των παραγόντων μπορεί να επηρεάσει την κινητικότητα των ιόντων και, κατά συνέπεια, την ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Επιπροσθέτως, εάν υπάρχουν πολλές ενώσεις με παρόμοια κινητικότητα ιόντων, η ανάλυση μπορεί να γίνει περίπλοκη. Η τεχνική μπορεί να δυσκολευτεί να διαχωρίσει αποτελεσματικά αυτές τις ενώσεις, καθιστώντας δύσκολη την ταυτοποίηση και τον διαχωρισμό τους. Ακόμη, απαιτείται περαιτέρω βελτίωση του λογισμικού για την αποτελεσματική λήψη πολυδιάστατων δεδομένων και τη δημιουργία αξιόπιστων τιμών διατομής σύγκρουσης (Collision Cross Section - CCS) (Fraga-Corral et al. 2022).

2.3.7 Φασματομετρία δόνησης (Vibrational Spectrometry -VS)

Η **Φασματομετρία Δόνησης (VS)** περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση της υπέρυθρης ακτινοβολίας του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος (μεγαλύτερου μήκους κύματος και χαμηλότερης συχνότητας από το ορατό φως) με την ύλη. Η VS χειρίζεται τις μεταβάσεις που συμβαίνουν λόγω απορρόφησης ή εκπομπής ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας.

Τα μόρια έχουν χημικούς δεσμούς που μπορούν να δονούνται με διάφορους τρόπους. Οι κυριότεροι δονητικοί τρόποι είναι η κάμψη (bending), όπου παρατηρείται αλλαγή στις γωνίες του δεσμού που σχηματίζουν τα άτομα μεταξύ τους, και ο τέντωμα (stretching), όπου παρατηρείται αύξηση ή μείωση των διατομικών αποστάσεων κατά μήκος του άξονα του δεσμού μεταξύ των ατόμων. Αυτές οι δονήσεις επηρεάζουν τα παραγόμενα ηλεκτρομαγνητικά φάσματα, και η Φασματομετρία Δόνησης (VS) μετρά αυτές τις δονήσεις για την ανάλυση και αναγνώριση των μεταβολιτών στο δείγμα.

Μερικά πλεονεκτήματα αυτής της τεχνικής είναι ο μικρός χρόνος ανάλυσης, η μικρότερη ποσότητα δείγματος και η «πράσινη» φύση της ανάλυσης όπου δεν απαιτείται η χρήση οργανικών διαλυτών και αντιδραστηρίων. Επιπλέον, η VS ίσως να έχει προβάδισμα σε σχέση με άλλες μεθόδους λόγω του μη επεμβατικού και μη καταστροφικού χαρακτήρα της, καθώς και των υψηλών δυνατοτήτων όταν συνδέονται με άλλες πλατφόρμες.(Fraga-Corral et al. 2022)

Αυτή η τεχνική έχει εφαρμοστεί στη μελέτη μεγάλης ποικιλίας δειγμάτων και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για απλές δοκιμές ταυτοποίησης, εις βάθος δοκιμές ταυτοποίησης, ποιοτική και ποσοτική ανάλυση δειγμάτων (Fraga-Corral et al. 2022).

Κεφάλαιο 3 : Εφαρμογές των μεταβολομικών αναλύσεων στην επιστήμη τροφίμων

Η μεταβολομική, ως η ολοκληρωμένη ανάλυση μεταβολιτών σε ένα βιολογικό σύστημα, αποτελεί έναν ταχέως αναπτυσσόμενο τομέα με ευρείες εφαρμογές στην τεχνολογία τροφίμων, τη γεωργία, την ιατρική, την περιβαλλοντική επιστήμη και την τοξικολογία. Με την εξέλιξη των τεχνολογιών ανάλυσης, η μεταβολομική προσφέρει πολύτιμες πληροφορίες για τη βελτίωση των καλλιεργειών, την ασφάλεια και την ποιότητα των τροφίμων, καθώς και την κατανόηση και τη θεραπεία ανθρώπινων ασθενειών.

Στην ιατρική, η μεταβολομική χρησιμοποιείται για τη μελέτη ανθρώπινων ασθενειών, την αποσαφήνιση παθολογικών μηχανισμών, την ανάπτυξη νέων φαρμάκων και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητάς τους. Η κατανόηση, η διάγνωση και η θεραπεία διαταραχών όπως οι ενδοκρινικές παθήσεις και ο καρκίνος ωφελούνται σε μεγάλο ποσοστό σε μεταβολικές προσεγγίσεις. Συγκεκριμένα, οι μεταβολομικές αναλύσεις βοηθούν στην ανακάλυψη βιοδεικτών, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρόληψη, τη διάγνωση και τον προσδιορισμό της κατάστασης της νόσου.

Στην τοξικολογία, η μεταβολομική χρησιμοποιείται για τη μελέτη των δόσεων, των επιδράσεων και της τοξικότητας διαφόρων ουσιών. Οι μεταβολικές προσεγγίσεις βοηθούν στην αποσαφήνιση των μηχανισμών δράσης των τοξικών ουσιών και στην αξιολόγηση των κινδύνων που έχουν στην υγεία.

Στη γεωργία, η μεταβολομική χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη φυτοφαρμάκων, τη βελτίωση καλλιεργειών και την έρευνα διαγονιδιακών φυτών. Οι μεταβολικές μελέτες βοηθούν στην κατανόηση των βιοχημικών και μεταβολικών οδών που σχετίζονται με συγκεκριμένους φαινοτύπους φυτών και τις περιβαλλοντικές τους αλληλεπιδράσεις. Ένα παράδειγμα είναι η εφαρμογή της μεταβολομικής για τη μελέτη της παραγωγής μεταβολιτών υπό συνθήκες στρες, συμβάλλοντας έτσι στη δημιουργία ανθεκτικών καλλιεργειών. Μία ακόμη εφαρμογή των

αναλύσεων αυτών είναι η μελέτη των φαινοτύπων που προκύπτουν από γενετικούς χειρισμούς, όπως η εισαγωγή ή διαγραφή γονιδίων στο φυτικό γονιδίωμα, και η αξιολόγηση του κινδύνου των καλλιεργούμενων γενετικά τροποποιημένων φυτών.

Στην επιστήμη των τροφίμων, η μεταβολομική είναι χρήσιμη για την αξιολόγηση της ποιότητας, της ασφάλειας και της ιχνηλασιμότητας των προϊόντων. Παράγοντες όπως η γενετική προέλευση, το περιβάλλον και οι διαδικασίες επεξεργασίας επηρεάζουν τη σύνθεση των τροφίμων. Η μεταβολομική βοηθά στην κατανόηση αυτών των επιδράσεων. Επιπλέον, η μελέτη αυτή συμβάλλει στον εντοπισμό οδών παραγωγής μεταβολιτών που μπορούν να βελτιώσουν τη διατροφή και την υγεία του ανθρώπου.

3.1 Μεταβολομικές αναλύσεις για τη διασφάλιση ποιότητας τροφίμων

Η βελτίωση της ποιότητας των τροφίμων αποτελεί κρίσιμο παράγοντα για την ασφάλεια και την ικανοποίηση των καταναλωτών. Οι μεταβολομικές αναλύσεις παρέχουν ένα ισχυρό εργαλείο για την αξιολόγηση και την παρακολούθηση της ποιότητας των τροφίμων τόσο πριν όσο και μετά τη συγκομιδή. Οι μελέτες αυτές έχουν στόχο την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των μεταβολιτών που επηρεάζουν την θρεπτική αξία των τροφίμων και τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά (εμφάνιση, γεύση, οσμή κ.α). Συνήθως, οι παράμετροι ποιότητας αξιολογούνται μεμονωμένα μέσω περίπλοκων και δαπανηρών πρωτοκόλλων. Η μεταβολομική προσφέρει τη δυνατότητα αξιολόγησης πολλών παραμέτρων με μία μόνο ανάλυση, καθιστώντας τη διαδικασία οικονομικά αποδοτική και λιγότερο χρονοβόρα.

Με την στοχευμένη μεταβολομική είναι δυνατή η αξιολόγηση ζητημάτων που μπορεί να επηρεάσουν την ποιότητα πριν από τη συγκομιδή. Η μεταβολομική ανάλυση πριν τη συγκομιδή συμβάλλει στη λήψη προληπτικών μέτρων που διασφαλίζουν την υψηλή ποιότητα των προϊόντων. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η μέθοδος αυτή έχει εφαρμοστεί για την εύρεση και αντιμετώπιση μυκητιασικών ασθενειών σε ποικιλίες μάνγκο και κρεμμυδιών. Μετά τη

συγκομιδή, η μεταβολομική είναι εξίσου σημαντική για την ανίχνευση και την κατανόηση της αλλοίωσης των τροφίμων. Ταυτόχρονα, μέσω της μεταβολομικής επιτρέπεται η ποσοτικοποίηση των θρεπτικών συστατικών, βιταμινών και αμινοξέων διασφαλίζοντας τη διατροφική αξία του τροφίμου. Για παράδειγμα, στην περίπτωση των ιχθυηρών, η παρακολούθηση των επιπέδων ω-3 λιπαρών οξέων μπορεί να αναδείξει ένα πιθανό πρόβλημα στην διατροφή των ψαριών. Επιπλέον, η ενημερωτική και προγνωστική μεταβολομική σε φρέσκα ωμά ψάρια παρέχει πληροφορίες για πιθανή μόλυνση του νερού και τις συνθήκες διαχείρισης των ιχθυηρών τη στιγμή της αλίευσης, όπως το στρες (Cevallos-Cevallos et al. 2009).

Τα επεξεργασμένα τρόφιμα έχουν συνήθως πιο περίπλοκο βιοχημικό προφίλ σε σύγκριση με τα φρέσκα τρόφιμα λόγω της προσθήκης συστατικών για τη βελτίωση της εμφάνισης, της οσμής, της γεύσης και της σταθερότητας τους και λόγω των αλλαγών που προκαλούν οι επεξεργασίες (Utrott et al. 2022b). Παρόλ'αυτά, η ανάπτυξη νέων τεχνικών μεταβολομικής, όπως η Φασματομετρία κινητικότητας ιόντων (IMS), επέτρεψε την παρακολούθηση των ποιοτικών χαρακτηριστικών κατά την επεξεργασία των τροφίμων. Για παράδειγμα, το στοχευμένο IMS έχει χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση ενώσεων διακετυλίου και 2,3-πενταδιόνης στη μπύρα, επιτρέποντας τον προσδιορισμό του τελικού σημείου της ζύμωσης (Cevallos-Cevallos et al. 2009). Επιπροσθέτως, μέσω της παρακολούθησης των αλλαγών των μεταβολίτων κατά την επεξεργασία αλλά και την αποθήκευση των τροφίμων είναι δυνατό να προβλεφθεί ακριβέστερα η αναμενόμενη διάρκεια ζωής τους, σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους. Με αυτόν τον τρόπο, επιτρέπεται η καλύτερη διαχείριση των αποθεμάτων σε βελτιστες συνθήκες αποθήκευσης για την μεγιστοποίηση της διάρκειας ζωής και μείωση της σπατάλης τροφίμων (Johanningsmeier et al. 2016). Συγκεκριμένα, στην περίπτωση των φρέσκων φρούτων και λαχανικών, η μεταβολομική μπορεί να ανιχνεύσει και να παρακολουθήσει τις χημικές αλλαγές που συμβαίνουν κατά την αποθήκευσή τους, παρέχοντας ένα οδηγό για τη βελτιστοποίηση των συνθηκών θερμοκρασίας και υγρασίας για τη διατήρηση της φρεσκάδας. Μια ακόμη χρήση της μεταβολομικής στο στάδιο της επεξεργασίας είναι η

ανάλυση και σύγκριση της καταλληλότητας ποικιλιών για μία συγκεκριμένη μορφή επεξεργασίας. Για τον σκοπό της μελέτης, ερευνητές μελέτησαν διάφορες ποικιλίες πατάτας και τις αξιολόγησαν με βάση την καταλληλότητα τους για τηγάνισμα με τη χρήση τεχνικών MS και συγκεκριμένα με Ιονισμό Ηλεκτροψεκασμού (ESI) για την ανάλυση και ταυτοποίηση των ενώσεων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ποικιλίες Salara και Agria, όπου βρέθηκαν χαμηλές σε τυροσίνη είναι ιδανικές για τεμαχισμό και τηγάνισμα, ενώ ποικιλίες όπως Granola, που είναι υψηλές σε τυροσίνη είναι καταλληλότερες για ψήσιμο (Cevallos-Cevallos et al. 2009).

Όσον αφορά τον προσδιορισμό της αποδοχής της ποιότητας, το προφίλ των μεταβολιτών ενός προϊόντος που πληρεί τα ελάχιστα πρότυπα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βάση για την αποδοχή της ποιότητας. Δείγματα μιας παρτίδας μπορούν να λαμβάνονται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και να συγκρίνονται μέσω τεχνικών Πολλαπλών Μεταβλητών Δεδομένων Ανάλυσης (Multivariate Data analysis - MVDA) για τον προσδιορισμό της αποδοχής της παρτίδας που παράγεται. Επιπλέον, η τυχαία αλλοίωση της ποιότητας, όπως η επιμόλυνση με αλλεργιογόνα ή η μικροβιακή επιμόλυνση, μπορεί να ανιχνευθεί μέσω της εμφάνισης ασυνήθιστων κορυφών στο μεταβολικό προφίλ του δείγματος. Οι μεταβολομικές μελέτες μπορούν να ανιχνεύσουν τοξίνες, βακτηριακές και μυκητιακές επιμολύνσεις καθώς και υπολείμματα φυτοφαρμάκων, εγγυώντας έτσι ότι τα προϊόντα που πρόκειται να βγούν στην αγορά πληρούν τα πρότυπα ασφαλείας (Cevallos-Cevallos et al. 2009). Η τεχνική MS με εκχύλιση με Ηλεκτροψεκασμό Ουδέτερης Εκρόφησης (EESI-MS) έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στην ανίχνευση παθογόνων μικροοργανισμών. Συγκεκριμένα, ερευνητές χρησιμοποίησαν την EESI-MS για να διακρίνουν το μολυσμένο με *Escherichia coli* σπανάκι μέσω της παρουσίας αγνώστων κορυφών υψηλού μοριακού βάρους. Αν και δεν έχει προσδιοριστεί ακόμη το όριο ανίχνευσης της *E.coli*, η τεχνική δείχνει ξεκάθαρα τη δυνατότητα για ταχεία ανίχνευση παθογόνων στα τρόφιμα. Η ίδια τεχνική έχει χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση χαλασμένων ψαριών μέσω της εύρεσης παρουσίας πουτρεσίνης, κανταβερίνης, πτωματίνης και ισταμίνης.

Τέλος, η προγνωστική μεταβολομική έχει τη δυνατότητα να εντοπίζει ενώσεις που υποδεικνύουν τις γευστικές προτιμήσεις των καταναλωτών. Οι προτιμήσεις των καταναλωτών μπορούν να ληφθούν από πάνελ γεύσεων, ενώ οι διακριτές ενώσεις μπορούν να αναγνωριστούν με τεχνικές μεταβολομικής. Αυτή η διαδικασία επιτρέπει την προσαρμογή των προϊόντων στις ανάγκες και τις προτιμήσεις των καταναλωτών, βελτιώνοντας έτσι την αποδοχή τους στην αγορά.

Εν κατακλείδι, η εφαρμογή των μεταβολομικών μελετών στην τεχνολογία τροφίμων προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα στη βελτίωση της ποιότητας, την ανίχνευση της αλλοίωσης και την προσαρμογή των προϊόντων στις προτιμήσεις των καταναλωτών. Η δυνατότητα αξιολόγησης πολλών παραμέτρων με μία μόνο ανάλυση καθιστά τη μεταβολομική μια πολύτιμη και οικονομικά αποδοτική προσέγγιση για τη βιομηχανία τροφίμων. Μέσω της δημιουργίας και της παρακολούθησης των μεταβολικών προφίλ των τροφίμων, επιτρέπεται η συνεχής βελτιστοποίηση της επεξεργασίας, διασφαλίζοντας έτσι ότι τα παραγόμενα προϊόντα πληρούν πάντα τα υψηλότερα πρότυπα ποιότητας. Ο συνεχής έλεγχος των μεταβολιτών σε όλη τη διαδικασία παραγωγής επιτρέπει την έγκαιρη ανίχνευση προβλημάτων και λήψη διορθωτικών μέτρων.

3.2 Μεταβολομική στη νοθεία των τροφίμων και συμμόρφωση σε κανονισμούς

Η νοθεία των τροφίμων είναι ένα σημαντικό πρόβλημα που επηρεάζει τόσο την εμπιστοσύνη των καταναλωτών όσο και την ασφάλεια των τροφίμων. Η μεταβολομική ανάλυση προσφέρει μια σύγχρονη προσέγγιση για την ανίχνευση της νοθείας μέσω της ταυτοποίησης και της ανάλυσης των μεταβολικών προφίλ. Οι διαφορές στα προφίλ των μεταβολιτών μπορεί να οφείλονται στον γονότυπο και στις συνθήκες ανάπτυξης, όπως το κλίμα, η σύνθεση του εδάφους, το λίπασμα και η άρδευση. Σημαντικός είναι ο καθορισμός περιφερειακής και

ποικιλιακής μεταβλητότητας στα προφίλ των μεταβολιτών, που μπορεί να παρέχει πληροφορίες σχετικά με την προέλευση και την αυθεντικότητα του τροφίμου.

Στην Ελλάδα, το ελαιόλαδο αποτελεί ίσως τον συνηθέστερο στόχο νοθείας, αφού το παρθένο ελαιόλαδο είναι ένα προϊόν υψηλής αξίας. Μια από τις πιο κοινές πρακτικές νοθείας του ελαιολάδου είναι η ανάμειξη του με άλλα ελαιόλαδα χαμηλότερης ποιότητας ή άλλα φθηνότερα φυτικά έλαια, όπως το ηλιέλαιο ή το σογιέλαιο. Μέσω της μεταβολομικής είναι δυνατή η ανίχνευση διαφορών στις πτητικές και μη πτητικές ενώσεις που είναι χαρακτηριστικές για τα γνήσια παρθένα ελαιόλαδα (Cevallos-Cevallos et al. 2009). Συγκεκριμένα, η χρήση της υγρής χρωματογραφίας σε συνδυασμό με τη φασματομετρία μάζας (LC-MS) επιτρέπει την ανάλυση των μη πτητικών συστατικών, όπως οι φαινολικές ενώσεις και τα τριγλυκερίδια για την ευκολότερη ανίχνευση της πιθανής ανάμειξης άλλων ελαίων με παρθένο ελαιόλαδο. Ένα ακόμη προϊόν-στόχος της νοθείας στην ελληνική αγορά είναι το μέλι. Η πιο κοινή μορφή νοθείας στο μέλι είναι η προσθήκη σιροπιών ζάχαρης ή άλλων γλυκαντικών ουσιών, όπως το σιρόπι καλαμποκιού, η φρουκτόζη και η γλυκόζη. Με τη χρήση της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) επιτρέπεται η ανάλυση της χημικής σύνθεσης του δείγματος του μελιού σε μοριακό επίπεδο, αποκαλύπτοντας τις προσθήκες ξένων ουσιών. Επίσης, η νοθεία στο μέλι μπορεί να γίνει και με ανάμειξη μελιών διαφορετικής βοτανικής ή και γεωγραφικής προέλευσης. Αν και η ανάμειξη μελιών διαφορετικής βοτανικής προέλευσης δεν είναι παράνομη, το τελικό προϊόν θα πρέπει να φέρει σήμανση ως πολυποικιλιακό, μεικτής βοτανικής προέλευσης ή μεικτής ανθοφορίας. Για τον έλεγχο της συμμόρφωσης στους κανονισμούς, η μεταβολομική μπορεί να αποτελέσει ένα αξιόπιστο και γρήγορο εργαλείο συγκρίνοντας το προφίλ του δείγματος, με τα μεταβολικά προφίλ των διαφορετικών ποικιλιών.

Συγχρόνως, η μεταβολομική διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη διασφάλιση της συμμόρφωσης με κανονισμούς, η οποία είναι απαραίτητη για την προστασία της δημόσιας υγείας, τη διατήρηση της εμπιστοσύνης των καταναλωτών και την προστασία των επιχειρήσεων από νομικές κυρώσεις και οικονομικές απώλειες. Εκτός από τους κανονισμούς

γύρω από την ασφάλεια καταναλωτών, ορισμένες χώρες διαθέτουν κανονισμούς για τη χρήση γενετικά τροποποιημένων τροφίμων. Τα γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα (GMO), είναι τρόφιμα που έχουν υποστεί αλλαγές στο γενετικό τους υλικό, χρησιμοποιώντας τις μεθόδους της γενετικής μηχανικής. Αυτή η τεχνολογία επιτρέπει την εισαγωγή, την αφαίρεση ή την τροποποίηση επιλεγμένων γονιδίων σε ένα οργανισμό, με σκοπό τη βελτίωση συγκεκριμένων χαρακτηριστικών. Τα GMO παρατηρούνται κυρίως στη γεωργία για τη δημιουργία φυτών που είναι ανθεκτικά σε ασθένειες, έντομα, ή αντίξοες κλιματικές συνθήκες, καθώς και για την αύξηση της παραγωγικότητας και της θρεπτικής αξίας των προϊόντων (Querci et al. 2010). Οι συνηθισμένες τεχνικές για την ανίχνευσή τους είναι δαπανηρές και περίπλοκες, ωστόσο η μεταβολομική προσφέρει μια ισχυρή προσέγγιση για την ανίχνευση των GMO μέσω της ταυτοποίησης των μεταβολικών αλλαγών που προκύπτουν από τη γενετική τροποποίηση. Στη βιβλιογραφία, η μεταβολομική έχει χρησιμοποιηθεί για ανάλυση και διαφοροποίηση γενετικά τροποποιημένων προϊόντων σε δείγματα αραβόσιτου, σόγιας, πατάτας και σιταριού με τη χρήση τεχνικών MS και NMR (Cevallos-Cevallos et al. 2009).

Η ικανότητα της μεταβολομικής να παρέχει ακριβείς και αξιόπιστες πληροφορίες σε μοριακό επίπεδο την καθιστά απαραίτητο εργαλείο για την προστασία της ασφάλειας των τροφίμων και την ενίσχυση της εμπιστοσύνης των καταναλωτών. Καθώς οι τεχνικές αυτές εξελίσσονται, αναμένεται να διαδραματίσουν ακόμα μεγαλύτερο ρόλο στην ανίχνευση της νοθείας και στη συμμόρφωση με κανονισμούς, διασφαλίζοντας ότι τα προϊόντα που φτάνουν στα ράφια των καταστημάτων πληρούν τα υψηλότερα πρότυπα ποιότητας και αυθεντικότητας.

3.3 Χρήση μεταβολομικών αναλύσεων για την δημιουργία «δακτυλικών αποτυπωμάτων»

Κάθε τόφιμο έχει ένα μοναδικό μεταβολικό προφίλ που διαφέρει από τα άλλα του ίδιου είδους αλλά διαφορετικής ποικιλίας και προέλευσης. Αυτό το προφίλ λειτουργεί σαν ένα δακτυλικό αποτύπωμα ικανό να ανιχνεύσει μοναδικούς γεωγραφικούς και ποικιλιακούς

παράγοντες για το κάθε τρόφιμο. Γεωγραφικοί παράγοντες όπως το κλίμα, το έδαφος και οι πρακτικές καλλιέργειας επηρεάζουν την χημική σύνθεση των τροφίμων. Συγκεκριμένα, η χρήση των αναλύσεων αυτών είναι ιδιαίτερα σημαντική για την εξασφάλιση της αυθεντικότητας προϊόντων που προστατεύονται από γεωγραφικές ενδείξεις, όπως τα ΠΟΠ (Προστατευόμενο Ονομασία Προέλευσης) και ΠΓΕ (Προστατευόμενη Γεωγραφική Ένδειξη). Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η ταυτοποίηση της γεωγραφικής προέλευσης του μελιού, όπου η μεταβολομική ανάλυση μπορεί να ανιχνεύσει συγκεκριμένους μεταβολίτες που είναι χαρακτηριστικοί της τοπικής χλωρίδας, επιβεβαιώνοντας την αυθεντικότητα του προϊόντος.

Η εφαρμογή της μεταβολομικής στον τομέα των τροφίμων επιτρέπει τη λεπτομερή ανάλυση των μεταβολιτών, επιτρέποντας την ευκολή ανίχνευση διαφορών στην ποιότητα των τροφίμων. Μέσω της ανάλυσης και της σύγκρισης των μεταβολικών προφίλ των τροφίμων με πρότυπα από εξειδικευμένες βάσεις δεδομένων, οι ερευνητές μπορούν να εντοπίσουν έγκαιρα επιμολύνσεις ή αλλοιώσεις που ενδέχεται να προκύψουν κατά την επεξεργασία, αποθήκευση ή μεταφορά των προϊόντων. Η αποθήκευση των δεδομένων σε μία κεντρική μονάδα επιτρέπει τη συλλογή και την πρόσβαση σε μεγάλο όγκο πληροφοριών, διευκολύνοντας έτσι την ανάλυση και τη σύγκριση δεδομένων από διάφορες μελέτες. Επιπλέον, η ύπαρξη λεπτομερών και καλά τεκμηριωμένων αρχείων επιτρέπει την επικύρωση των ευρημάτων από άλλους ερευνητές, γεγονός που εξασφαλίζει την αξιοπιστία και την αναπαραγωγικότητα της έρευνας.

Στην ιατρική και τις βιοεπιστήμες, οι βάσεις δεδομένων HMDB (Human Metabolome Database) και KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη μελέτη των ανθρώπινων μεταβολιτών. Η HMDB περιέχει εκτενείς πληροφορίες για μικρομοριακούς μεταβολίτες, συνδέοντας χημικά, κλινικά και ενζυμικά δεδομένα. Επιτρέπει αναζητήσεις κειμένου, ακολουθίας, χημικής δομής και προσφέρει δυνατότητες ταυτοποίησης μεταβολιτών από πειραματικά δεδομένα MS, LC-MS και NMR. Διαθέτει περισσότερες από 220.945 καταχωρήσεις μεταβολιτών, ενώ πολλά από τα δεδομένα της συνδέονται υπερσυνδεδεμένα με άλλες βάσεις δεδομένων, όπως οι KEGG, PubChem, και GenBank, και

προσφέρει άμεση σύνδεση με βάσεις δεδομένων όπως οι DrugBank, T3DB, και FooDB (Wishart et al. 2007, 2009, 2013, 2018, 2022).

Η FooDB είναι η μεγαλύτερη και πιο ολοκληρωμένη πηγή για τα συστατικά των τροφίμων. Περιέχει πληροφορίες τόσο για μικροθρεπτικά όσο και για μακροθρεπτικά συστατικά συμπεριλαμβανομένων πολλών που δίνουν στα τρόφιμα γευση, χρώμα, υφή και άρωμα. Το FooDB περιέχει ισοδύναμες πληροφορίες για 70.000 συστατικά τροφίμων και πρόσθετα τροφίμων. Κάθε καταχώρηση περιέχει περισσότερα από 100 ξεχωριστά πεδία δεδομένων που καλύπτουν λεπτομερείς πληροφορίες ονοματολογίας, σύνθεσης, στερεοδιάταξης και βιοχημείας. Ακόμη, για την κάθε ένωση αναφέρεται η πιθανή επίπτωση στην υγεία και συγκεντρώσεις που βρίσκεται σε τρόφιμα (FooDB database)

Η Toxin and Toxin Target Database (T3DB) γνωστή και ως Toxic Exposome Database (TEDB) συνδυάζει λεπτομερή δεδομένα τοξινών με πληροφορίες για τους στόχους τοξινών, ενώ παρέχει πληροφορίες για περισσότερες από 3.600 τοξίνες με 41.000 συνώνυμα, συμπεριλαμβανομένων ρύπων, φυτοφαρμάκων, φαρμάκων. Η T3DB μπορεί να εφαρμοστεί για την πρόβλεψη μεταβολισμού των τοξινών, την κατανόηση των αλληλεπιδράσεων τοξινών-φαρμάκων και την ευαισθητοποίηση του κοινού σχετικά με τους κινδύνους από τις τοξίνες καθώς είναι μια πλατφόρμα προσβάσιμη τόσο για τον προχωρημένο ερευνητή όσο και τον απλό χρήστη (Lim et al. 2010; Wishart et al. 2015).

Μια ακόμη βάση δεδομένων με ιδιαίτερη σημασία στη επιστήμη τροφίμων είναι η Phenol-Explorer, που παρέχει πληροφορίες για τις πολυφαινόλες στα τρόφιμα. Διαθέτει 35000 τιμές δεδομένων για 500 διαφορετικές πολυφαινόλες από 400 τρόφιμα. Η νεότερη έκδοση, η Phenol-Explorer 3.6, είναι εμπλουτισμένη με δεδομένα που αφορούν τις επιπτώσεις της επεξεργασίας των τροφίμων, διευκολύνοντας την εκτίμηση της σύνθεσης των επεξεργασμένων προϊόντων όταν λείπουν οι απαραίτητες εργαστηριακές μετρήσεις. Ένα παράδειγμα εφαρμογής της, είναι η σύγκριση περιεκτικότητας πολυφαινολών σε δείγματα πράσινου και μαύρου τσαγιού (Neveu et al. 2010; Rothwell et al. 2012, 2013).

Επιπροσθέτως, μερικές ακόμη βάσεις δεδομένων με μοναδική σημασία για την επιστήμη των τροφών, με πιο ειδικό περιεχόμενο είναι η YMDB, η MCDB και η BMDB . Συγκεκριμένα, η Yeast Metabolome Database (YMDB) περιλαμβάνει μεταβολίτες που προκύπτουν από τον φυσιολογικό μεταβολισμό του *Saccharomyces cerevisiae* υπό καθορισμένες εργαστηριακές συνθήκες, αλλά και κατά την θερμική επεξεργασία, για την παραγωγή κρασιών, μπίρας και οينوπνευματώδων ποτών. Αυτή η βάση δεδομένων παρέχει πολύτιμες πληροφορίες για τη βιοχημεία της ζύμης και τις μεταβολικές οδούς που επηρεάζουν την ποιότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων αυτών (Jewison et al. 2012; Ramirez-Gaona et al. 2017). Η βάση δεδομένων σύνθεσης γάλακτος (Milk Composition Database-MCDB) προσφέρει λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με μικρομοριακούς μεταβολίτες που βρίσκονται στο αγελαδινό γάλα. Αυτή η βάση δεδομένων είναι εξαιρετικά χρήσιμη για την κατανόηση της σύνθεσης του γάλακτος, την ανάλυση των θρεπτικών του στοιχείων, και την παρακολούθηση των αλλαγών στη σύσταση κατά την επεξεργασία του. Τέλος, η βάση δεδομένων μεταβολισμού των βοοειδών (Bovine Metabolome Database-BMDB) διαθέτει χρήσιμες πληροφορίες για τους μεταβολίτες που εντοπίζονται στο βοείο κρέας και στα είδη της γαλακτοπαραγωγής του. Προορίζεται να χρησιμοποιηθεί για την περαιτέρω κατανόηση της βιολογίας των βοοειδών και των μικροθρεπτικών συστατικών στους ιστούς τους αλλά και για την βελτίωση της κτηνιατρικής φροντίδας των βοοειδών (Wishart webpage).

Επομένως, από τις γενικότερες βάσεις δεδομένων, όπως η HMDB και η FoodDB μέχρι και τις πιο ειδικές, όπως η YMDB, η MCDB και η BMDB η πρόσβαση σε λεπτομερείς δεδομένα για τους μεταβολίτες των τροφών επιτρέπει την εις βάθος μελέτη των μεταβολικών οδών και την ανίχνευση διαφορών στην ποιότητα μεταξύ διαφορετικών γεωγραφικών περιοχών και ποικιλιών. Η διαρκής ενημέρωση και η επέκταση των βάσεων δεδομένων με νέα δεδομένα συμβάλλει σημαντικά στην προώθηση της επιστημονικής γνώσης και την κατανόηση της μεταβολικής ποικιλότητας των τροφίμων (Kim et al. 2016).

Κεφάλαιο 4: Η χρήση μεταβολομικών αναλύσεων στην δημιουργία διατροφικών προφίλ

Στον τομέα της επιστήμης τροφίμων και διατροφής, η μεταβολομική έχει σημειώσει σημαντική πρόοδο χάρη στην ικανότητα της να αναλύει λεπτομερώς τις χημικές ενώσεις που υπάρχουν στα τρόφιμα, παρέχοντας έτσι έναν μοναδικό τρόπο για την κατανόηση της διατροφικής τους σύνθεσης. Μέσω της ανάλυσης και της μελέτης των μεταβολιτών είναι δυνατή η διαμόρφωση διατροφικών προφίλ που αντικατοπτρίζουν τις ανάγκες και την κατάσταση της υγείας του κάθε ατόμου.

4.1 Η συμβολή των μεταβολομικών αναλύσεων στην κατανόηση της διατροφικής σύνθεσης των τροφίμων

Τα τρόφιμα αποτελούν πολυπλοκές δομές χιλιάδων συστατικών. Οι φυσικές και χημικές αλληλεπιδράσεις όλων αυτών των ενώσεων καθορίζουν τα τελικά χαρακτηριστικά του προϊόντος όπως την ποιότητα, την ασφάλεια και τη διάρκεια ζωής. Η αναγνώριση των συστατικών των τροφίμων και των αλληλεπιδράσεων που επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά τους είναι κρίσιμα για τη βελτίωση της ποιότητας και της ασφάλειας. Μέσω της μεταβολομικής επιτρέπεται η ταυτόχρονη ανίχνευση και ποσοτικοποίηση ενός μεγάλου αριθμού μεταβολιτών, όπως βιταμίνες, αμινοξέα, λιπαρά οξέα και σάκχαρα. Με αυτόν τον τρόπο παρέχεται μια πιο λεπτομερής και πιο ακριβής εικόνα της διατροφικής σύνθεσης των τροφίμων σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους ανάλυσης.

Παράλληλα, η χρήση των μεταβολομικών μελετών συμβάλλει στην κατανόηση της βιοδιαθεσιμότητας των θρεπτικών συστατικών. Μέσω της ανάλυσης των μεταβολιτών είναι δυνατή η κατανόηση της πραγματικής διατροφικής αξίας των τροφίμων, δηλαδή με ποιόν τρόπο απορροφώνται και μεταβολίζονται τα θρεπτικά συστατικά από τον ανθρώπινο οργανισμό.

Οι μεταβολομικές αναλύσεις επιτρέπουν τη μελέτη των μεταβολών που υφίσταται η χημική δομή, και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, της συσκευασίας, της διανομής και της αποθήκευσης. Με αυτόν τον τρόπο παρατηρείται ο τρόπος που οι ενδογενείς και οι εξωγενείς παράγοντες επηρεάζουν τις θρεπτικές ιδιότητες των τροφίμων.

Συνεπώς, η ολοκληρωμένη εικόνα της χημικής σύνθεσης των τροφίμων που προσφέρει η μεταβολομική ενισχύει την κατανόηση της διατροφικής τους αξίας και της επίδρασής τους στην υγεία του οργανισμού. Με τη λεπτομερή ανάλυση των μεταβολιτών, είναι δυνατόν να προσδιοριστούν με ακρίβεια τα χημικά συστατικά που καθορίζουν τη θρεπτική ποιότητα των τροφίμων με σκοπό την ενίσχυση της επιστημονικής βάσης για την διατροφή και την υγεία.

4.2 Μελέτες όπου οι μεταβολομικές αναλύσεις βοηθούν στην ανάπτυξη λειτουργικών τροφών και εξατομικευμένων προγραμμάτων διατροφής

Με τη χρήση των μεταβολομικών αναλύσεων επιτρέπεται η ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των μεταβολιτών σε βιολογικά δείγματα όπως το αίμα, τα ούρα και οι ιστοί. Με αυτόν τον τρόπο παρέχεται μια ολοκληρωμένη εικόνα του μεταβολικού προφίλ του ατόμου, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη εξατομικευμένων διατροφικών προγραμμάτων. Παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο, ο τρόπος ζωής, η υγεία του εντέρου, καθώς και περιβαλλοντικοί παράγοντες, επηρεάζουν τις διατροφικές ανάγκες ενός οργανισμού.

Συγκεκριμένα, η μεταβολομική μπορεί να βοηθήσει στον εντοπισμό ελλείψεων σε απαραίτητα θρεπτικά συστατικά, όπως βιταμίνες και μέταλλα, επιτρέποντας έτσι τη διαμόρφωση εξατομικευμένων διατροφικών συστάσεων για την βελτίωση της υγείας του ατόμου. Ατομα με διαβήτη και καρδιαγγειακές παθήσεις μπορούν επίσης να επωφεληθούν από εξατομικευμένες διατροφικές συστάσεις που λαμβάνουν υπόψη τη μοναδική μεταβολική τους κατάσταση, με στόχο την βελτίωση της υγείας και της ποιότητας ζωής τους. Στην περίπτωση των αθλητών, η

κατανόηση των ενεργειακών απαιτήσεων και του ρυθμού της μυϊκής αποκατάστασης μέσω των μεταβολικών προφίλ μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία διατροφικών πλάνων που ενισχύουν την απόδοση και επιταχύνουν την ανάκαμψη. Ομοίως, η παρακολούθηση των μεταβολιτών κατά την εγκυμοσύνη και η προσαρμογή της διατροφής της εγκυμονούσας μπορεί να καλύψει στοχευμένα τις αυξανόμενες διατροφικές ανάγκες στα διαφορετικά στάδια της ανάπτυξης του βρέφους.

Η μεταβολομική ανάλυση παρέχει μια λεπτομερή εικόνα των μεταβολιτών που περιέχονται στα τρόφιμα, επιτρέποντας την ανάπτυξη εξατομικευμένων διατροφικών προγραμμάτων για τον άνθρωπο. Αυτή η ανάλυση βοηθά στην ταυτοποίηση των βιοδραστικών ενώσεων που είναι υπεύθυνες για τα λειτουργικά οφέλη των τροφίμων, όπως αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι πολυφαινόλες που συναντώνται στο ελαιόλαδο και στο κρασί και έχουν συσχετιστεί με την μείωση του κινδύνου καρδιαγγειακών παθήσεων. Μέσω τεχνικών LC-MS είναι δυνατή η παρατήρηση και αξιολόγηση της συνεισφοράς των πολυφαινολών παρατηρώντας την αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση τους. Αντιστοίχα, τα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα που βρίσκονται σε λιπαρά ψάρια όπως ο σολομός και οι σαρδέλες, έχουν συσχετιστεί με την μείωση του κινδύνου καρδιαγγειακών παθήσεων και τη βελτίωση της εγκεφαλικής λειτουργίας. Μέσω της παρακολούθησης των μεταβολικών αλλαγών που προκαλούνται από την συστηματική κατανάλωση ωμέγα-3 λιπαρών οξέων είναι δυνατόν να αποδειχθεί η συμβολή τους της βελτίωση της υγείας, παρακολουθώντας τις αντιφλεγμονώδεις και νευροπροστατευτικές τους δράσεις (Proestos 2018).

Η ανάπτυξη λειτουργικών τροφών αποτελεί έναν από τους κύριους τομείς εφαρμογής των μεταβολομικών αναλύσεων στη βιομηχανία τροφίμων. Τα λειτουργικά τρόφιμα έχουν σχεδιαστεί για να παρέχουν ειδικά οφέλη για την υγεία πέρα από τη βασική τους θρεπτική αξία. Μερικά παραδείγματα επεξεργασμένων λειτουργικών τροφίμων είναι το γάλα με προσθήκη ασβεστίου, οι χυμοί εμπλουτισμένοι με ωμέγα-3 λιπαρά οξέα, το γιαουρτι με προβιοτικά και οι μαργαρίνες εμπλουτισμένες με φυτοστερόλες. Η καθημερινή κατανάλωση

αυτών των τροφίμων να συμβάλλει στην πρόληψη χρόνιων ασθενειών όπως καρδιαγγειακές παθήσεις και διαβήτη, ενώ μπορεί να συμβάλει στην βελτίωση της εντερικής χλωρίδας και στην πρόληψη του καρκίνου (Proestos 2018).

Μια νεότερη προσέγγιση των μεταβολομικών αναλύσεων για τη διατροφή είναι η χρήση της για τον εντοπισμό και την αξιολόγηση των υπερτροφών. Οι υπερτροφές (superfoods) είναι φυσικά ή ελάχιστα επεξεργασμένα τρόφιμα με υψηλή διατροφική αξία, χάρη στην αυξημένη τους περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά. Μερικά παραδείγματα γνωστών υπερτροφών περιλαμβάνουν φρούτα όπως το ρόδι, τα μούρα, οι φράουλες και το ιπποφάες, ξηρούς καρπούς όπως τα αμύγδαλα και τα καρύδια, λαχανικά όπως το μπρόκολο και το σπανάκι, καθώς και προϊόντα μέλισσας, όπως το μέλι και ο βασιλικός πολτός. Τα superfoods αποτελούν πλούσιες πηγές θρεπτικών συστατικών και βιοδραστικών ενώσεων που προάγουν την υγεία και ευεξία. Τα κυριότερα βιοενεργά συστατικά των υπερτροφών τα οποία έχουν αποδειχθεί ευεργετικά για τον ανθρώπινο οργανισμό είναι τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (ω -3, ω -6), βιταμίνες, μέταλλα, προβιοτικοί μικροοργανισμοί, αντιοξειδωτικά, απαραίτητα αμινοξέα και πολυσακχαρίτες (Proestos 2018). Μέσω της μεταβολομικής ανάλυσης, καθίσταται δυνατή η ακριβής ανίχνευση και ποσοτικοποίηση αυτών των ενώσεων, ενισχύοντας την επιστημονική βάση με στόχο την ένταξη τους σε εξατομικευμένα διατροφικά προγράμματα.

Κεφάλαιο 5 : Προκλήσεις και μελλοντικές προοπτικές

Η μεταβολομική προσφέρει τεράστιες δυνατότητες στην διασφάλιση της ποιότητας και την κατανόηση της διατροφικής συνθεσης των τροφίμων αλλά η εφαρμογή της αντιμετωπίζει σημαντικές προκλήσεις. Η ανάγκη για ειδικό εργαστηριακό εξοπλισμό και εκπαιδευμένο προσωπικό περιορίζει την ευρεία εφαρμογή των μεταβολομικών τεχνικών ενώ το υψηλό κόστος συντήρησης των μηχανημάτων την καθιστά μια δαπανηρή μέθοδο ανάλυσης. Ωστόσο, ίσως η μεγαλύτερη προκλήση της μεταβολομικής σήμερα είναι η έλλειψη τυποποίησης. Η σύγκριση των δεδομένων που προέρχονται από διαφορετικά εργαστήρια και τεχνολογικές πλατφόρμες είναι δύσκολη, λόγω των διαφορών στις τεχνολογικές μεθόδους και στα πρωτόκολλα ανάλυσης. Αυτή η έλλειψη συνέπειας μπορεί να επηρεάσει την αξιοπιστία των συμπερασμάτων και να περιορίσει τη δυνατότητα συνεργασίας μεταξύ των ερευνητών (Fraga-Corral et al. 2022).

Ένας ακόμα σημαντικός τομέας που απαιτεί προσοχή στο μέλλον είναι η ανάπτυξη και ο εμπλουτισμός των βάσεων δεδομένων που χρησιμοποιούνται στις μεταβολομικές αναλύσεις. Οι βάσεις δεδομένων αποτελούν ένα ανεκτίμητο εργαλείο για την ερμηνεία και την ανάλυση των αποτελεσμάτων των μεταβολομικών τεχνικών, καθώς επιτρέπουν τη σύγκριση των αποτελεσμάτων με ήδη καταγεγραμμένους μεταβολίτες. Ωστόσο, η τρέχουσα κατάσταση των υπάρχουσών βάσεων δεδομένων παρουσιάζει περιορισμούς, ιδιαίτερα στη διαφοροποίηση μεταξύ προϊόντων που υπόκεινται σε διαφορετικές μεθόδους επεξεργασίας, όπως για παράδειγμα στην περίπτωση των παστών τροφίμων και των αλλαντικών.

Επομένως, με στόχο την πλήρη αξιοποίηση της μεταβολομικής στην επιστήμη των τροφίμων, είναι αναγκαία η περαιτέρω επέκταση και η συνεχής ενημέρωση των υφιστάμενων βάσεων δεδομένων, ενσωματώνοντας ένα ευρύτερο φάσμα τροφίμων και μεθόδων επεξεργασίας. Αυτό περιλαμβάνει την καταγραφή νέων μεταβολιτών που παράγονται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και αποθήκευσης, καθώς και την ανάπτυξη εξειδικευμένων βάσεων δεδομένων

για συγκεκριμένες κατηγορίες τροφίμων, όπως τα προϊόντα απο κατσικίσιο γαλα, και τα vegan γαλακτοκομικά προϊόντα απο γαλα σόγιας, αμυγδάλου και βρώμης.

Τέλος, η ενσωμάτωση της ρομποτικής και της αυτοματοποίησης στις μεταβολομικές τεχνικές αναμένεται να μειώσει τον χρόνο προετοιμασίας των δειγμάτων και να επιταχύνει τους χρωματογραφικούς διαχωρισμούς , σε τεχνικές LC-MS και GC-MS, βελτιώνοντας την αποδοτικότητα και την ακρίβεια των αναλύσεων. Αυτές οι προοπτικές ανοίγουν νέους ορίζοντες για την ανάπτυξη της μεταβολομικής ως ένα κεντρικό εργαλείο στην επιστήμη τροφίμων αλλά είναι απαραίτητη η συνεχής εξέλιξη και η διεπιστημονική συνεργασία για την πλήρη αξιοποίηση των δυνατοτήτων της μεταβολομικής στην επιστήμη των τροφίμων (Fraga-Corral et al. 2022).

Κεφάλαιο 6 : Συμπεράσματα

Εν κατακλείδι, η μεταβολομική αποτελεί έναν από τους πλέον καινοτόμους και ανερχόμενους τομείς στην επιστήμη των τροφίμων, με την ικανότητα να επαναπροσδιορίσει τις πρακτικές και τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται μέχρι και σήμερα. Στην παρούσα εργασία εξετάζονται αναλυτικά οι μεθοδολογίες, οι τεχνικές και οι εφαρμογές των μεταβολομικών αναλύσεων, καθώς και οι προκλήσεις και οι μελλοντικές προοπτικές που προκύπτουν από τη χρήση αυτής της τεχνολογίας.

Η μεταβολομική διαθέτει την ικανότητα να ανιχνεύει μικροβιακές επιμολύνσεις, να επιβεβαιώνει την αυθεντικότητα και την προέλευση των τροφίμων, και να βελτιστοποιεί τις διαδικασίες επεξεργασίας, ανοίγοντας έτσι νέους δρόμους για την παραγωγή ασφαλών και υψηλής ποιότητας προϊόντων. Με την δημιουργία των μεταβολικών προφίλ, γνωστα και ως «δακτυλικά αποτυπώματα», είναι δυνατή η βαθύτερη κατανόηση της διατροφικής σύνθεσης των τροφίμων και κατ'επέκταση την ανάπτυξη λειτουργικών τροφών που προάγουν την υγεία των καταναλωτών.

Οι μεταβολομικές αναλύσεις προσφέρουν τη δυνατότητα λεπτομερούς ανάλυσης των μικρών μορίων που συνθέτουν τα τρόφιμα, επιτρέποντας έτσι τον ακριβή προσδιορισμό της χημικής τους σύστασης. Τεχνικές όπως η Φασματομετρία Μάζας (MS) και η Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) συναντώνται συχνότερα καθώς συνδυάζουν υψηλή αναπαραγωγισιμότητα και ακρίβεια ενώ επιτρέπουν την ανίχνευση πολλαπλών μεταβολιτών σε μία μόνο ανάλυση. Παρολ'αυτα, η ανάπτυξη ταχέων τεχνολογιών όπως CE, IMS, EESI και VS έχει συμβάλλει σημαντικά στην καθημερινή ενσωμάτωση της μεταβολομικής στην επιστήμη των τροφίμων.

Ωστόσο, μια τόσο καινούρια μέθοδος αντιμετωπίζει πληθώρα προκλήσεων. Η έλλειψη τυποποίησης των μεθοδολογιών και οι ελλειψεις βάσεις δεδομένων καθιστούν δύσκολη τη σύγκριση των αποτελεσμάτων που προέρχονται από διαφορετικά εργαστήρια, περιορίζοντας

έτσι την αξιοπιστία και την εφαρμοσιμότητα των ευρημάτων σε ευρύτερη κλίμακα. Επιπλέον, το κόστος του εξοπλισμού και της συντήρησης του και η ανάγκη εκπαιδευμένου προσωπικού για τον χειρισμό του, περιορίζουν τη διάδοση της μεταβολομικής σε βιομηχανίες και ερευνητικά κέντρα με περιορισμένους πόρους.

Παρα τις προκλήσεις αυτές, οι προοπτικές της μεταβολομικής στην επιστήμη τροφίμων είναι αξιοσημείωτες. Με την συνεχή πρόοδο και τον συνδυασμό των μεταβολομικών αναλύσεων με άλλες ομικές τεχνολογίες, όπως η πρωτεομική και η γονιδιωματική, αναμένεται να σχηματιστεί μία πιο ολοκληρωμένη εικόνα των βιολογικών συστημάτων, βελτιώνοντας την κατανόηση της αλληλεπίδρασης των μεταβολικών οδών και τη συσχέτιση τους με την υγεία των καταναλωτών. Επιπλέον, η ενίσχυση και ο εμπλουτισμός των υφιστάμενων βάσεων δεδομένων, καθώς και η δημιουργία νέων εξειδικευμένων βάσεων, όπως για την παραγωγή αλλαντικών, θα προσφέρει καλύτερες δυνατότητες για την εφαρμογή της μεταβολομικής στη σύγχρονη βιομηχανία τροφίμων.

Βιβλιογραφικές αναφορές

- Aryal, Sagar. 2022a. "Mass Spectrometry (MS)- Principle, Working, Parts, Steps, Uses." Retrieved August 30, 2024 (<https://microbenotes.com/mass-spectrometry-ms-principle-working-instrumentation-steps-applications/>).
- Aryal, Sagar. 2022b. "NMR Spectroscopy- Definition, Principle, Steps, Parts, Uses." Retrieved August 30, 2024 (<https://microbenotes.com/nuclear-magnetic-resonance-nmr-spectroscopy/>).
- Cevallos-Cevallos, Juan M., José I. Reyes-De-Corcuera, Edgardo Etxeberria, Michelle D. Danyluk, and Gary E. Rodrick. 2009. "Metabolomic Analysis in Food Science: A Review." *Trends in Food Science & Technology* 20(11–12):557–66. doi: 10.1016/j.tifs.2009.07.002.
- Cevallos-Cevallos, Juan Manuel, and José Ignacio Reyes-De-Corcuera. 2012. "Metabolomics in Food Science." Pp. 1–24 in *Advances in Food and Nutrition Research*. Vol. 67. Elsevier.
- Food Fraud, NZ. n.d. "Food Fraud - Consumer NZ." Retrieved August 30, 2024 (<https://www.consumer.org.nz/articles/food-fraud>).
- FoodDB. database. "FoodDB." Retrieved August 25, 2024 (<https://foodb.ca/>).
- Fraga-Corral, M., M. Carpena, P. Garcia-Oliveira, A. G. Pereira, M. A. Prieto, and J. Simal-Gandara. 2022. "Analytical Metabolomics and Applications in Health, Environmental and Food Science." *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 52(4):712–34. doi: 10.1080/10408347.2020.1823811.
- Jewison, Timothy, Craig Knox, Vanessa Neveu, Yannick Djoumbou, An Chi Guo, Jacqueline Lee, Philip Liu, Rupasri Mandal, Ram Krishnamurthy, Igor Sinelnikov, Michael Wilson, and David S. Wishart. 2012. "YMDB: The Yeast Metabolome Database." *Nucleic Acids Research* 40(Database issue):D815–820. doi: 10.1093/nar/gkr916.
- Johanningsmeier, Suzanne D., G. Keith Harris, and Claire M. Klevorn. 2016. "Metabolomic Technologies for Improving the Quality of Food: Practice and Promise." *Annual Review of Food Science and Technology* 7(1):413–38. doi: 10.1146/annurev-food-022814-015721.
- Kim, Sooah, Jungyeon Kim, Eun Ju Yun, and Kyoung Heon Kim. 2016. "Food Metabolomics: From Farm to Human." *Current Opinion in Biotechnology* 37:16–23. doi: 10.1016/j.copbio.2015.09.004.
- Koda, Masanori, Kazuo Furihata, Feifei Wei, Takuya Miyakawa, and Masaru Tanokura. 2012. "Metabolic Discrimination of Mango Juice from Various Cultivars by Band-Selective NMR

- Spectroscopy." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(5):1158–66. doi: 10.1021/jf2041438.
- Lim, Emilia, Allison Pon, Yannick Djoumbou, Craig Knox, Savita Shrivastava, An Chi Guo, Vanessa Neveu, and David S. Wishart. 2010. "T3DB: A Comprehensively Annotated Database of Common Toxins and Their Targets." *Nucleic Acids Research* 38(Database issue):D781-786. doi: 10.1093/nar/gkp934.
- Neveu, V., J. Perez-Jiménez, F. Vos, V. Crespy, L. du Chaffaut, L. Mennen, C. Knox, R. Eisner, J. Cruz, D. Wishart, and A. Scalbert. 2010. "Phenol-Explorer: An Online Comprehensive Database on Polyphenol Contents in Foods." *Database* 2010:bap024. doi: 10.1093/database/bap024.
- Proestos, Charalampos. 2018. "Superfoods: Recent Data on Their Role in the Prevention of Diseases." *Current Research in Nutrition and Food Science Journal* 6(3):576–93. doi: 10.12944/CRNFSJ.6.3.02.
- Querci, Maddalena, Marc Van Den Bulcke, Jana Žel, Guy Van Den Eede, and Hermann Broll. 2010. "New Approaches in GMO Detection." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396(6):1991–2002. doi: 10.1007/s00216-009-3237-3.
- Ramirez-Gaona, Miguel, Ana Marcu, Allison Pon, An Chi Guo, Tanvir Sajed, Noah A. Wishart, Naama Karu, Yannick Djoumbou Feunang, David Arndt, and David S. Wishart. 2017. "YMDB 2.0: A Significantly Expanded Version of the Yeast Metabolome Database." *Nucleic Acids Research* 45(D1):D440–45. doi: 10.1093/nar/gkw1058.
- Rothwell, Joseph A., Jara Perez-Jimenez, Vanessa Neveu, Alexander Medina-Remón, Nouha M'Hiri, Paula García-Lobato, Claudine Manach, Craig Knox, Roman Eisner, David S. Wishart, and Augustin Scalbert. 2013. "Phenol-Explorer 3.0: A Major Update of the Phenol-Explorer Database to Incorporate Data on the Effects of Food Processing on Polyphenol Content." *Database* 2013:bat070. doi: 10.1093/database/bat070.
- Rothwell, Joseph A., Mireia Urpi-Sarda, Maria Boto-Ordoñez, Craig Knox, Rafael Llorach, Roman Eisner, Joseph Cruz, Vanessa Neveu, David Wishart, Claudine Manach, Cristina Andres-Lacueva, and Augustin Scalbert. 2012. "Phenol-Explorer 2.0: A Major Update of the Phenol-Explorer Database Integrating Data on Polyphenol Metabolism and Pharmacokinetics in Humans and Experimental Animals." *Database* 2012:bas031. doi: 10.1093/database/bas031.
- Utpott, Michele, Eliseu Rodrigues, Alessandro De Oliveira Rios, Giovana Domeneghini Mercali, and Simone Hickmann Flôres. 2022a. "Metabolomics: An Analytical Technique for Food Processing Evaluation." *Food Chemistry* 366:130685. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130685.

Utpott, Michele, Eliseu Rodrigues, Alessandro De Oliveira Rios, Giovana Domeneghini Mercali, and Simone Hickmann Flôres. 2022b. "Metabolomics: An Analytical Technique for Food Processing Evaluation." *Food Chemistry* 366:130685. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130685.

Wikipedia. 2024. "Liquid Chromatography–Mass Spectrometry." *Wikipedia*.

Wishart. webpage. "Wishart Node of the Metabolomics Innovation Center." Retrieved August 25, 2024 (<https://www.tmicwishartnode.ca/databases/>).

Wishart, David, David Arndt, Allison Pon, Tanvir Sajed, An Chi Guo, Yannick Djoumbou, Craig Knox, Michael Wilson, Yongjie Liang, Jason Grant, Yifeng Liu, Seyed Ali Goldansaz, and Stephen M. Rappaport. 2015. "T3DB: The Toxic Exposome Database." *Nucleic Acids Research* 43(Database issue):D928-934. doi: 10.1093/nar/gku1004.

Wishart, David S., Yannick Djoumbou Feunang, Ana Marcu, An Chi Guo, Kevin Liang, Rosa Vázquez-Fresno, Tanvir Sajed, Daniel Johnson, Carin Li, Naama Karu, Zinat Sayeeda, Elvis Lo, Nazanin Assempour, Mark Berjanskii, Sandeep Singhal, David Arndt, Yonjie Liang, Hasan Badran, Jason Grant, Arnau Serra-Cayuela, Yifeng Liu, Rupa Mandal, Vanessa Neveu, Allison Pon, Craig Knox, Michael Wilson, Claudine Manach, and Augustin Scalbert. 2018. "HMDB 4.0: The Human Metabolome Database for 2018." *Nucleic Acids Research* 46(D1):D608–17. doi: 10.1093/nar/gkx1089.

Wishart, David S., AnChi Guo, Eponine Oler, Fei Wang, Afia Anjum, Harrison Peters, Raynard Dizon, Zinat Sayeeda, Siyang Tian, Brian L. Lee, Mark Berjanskii, Robert Mah, Mai Yamamoto, Juan Jovel, Claudia Torres-Calzada, Mickel Hiebert-Giesbrecht, Vicki W. Lui, Dorna Varshavi, Dorsa Varshavi, Dana Allen, David Arndt, Nitya Khetarpal, Aadhavya Sivakumaran, Karxena Harford, Selena Sanford, Kristen Yee, Xuan Cao, Zachary Budinski, Jaanus Liigand, Lun Zhang, Jiamin Zheng, Rupasri Mandal, Naama Karu, Maija Dambrova, Helgi B. Schiöth, Russell Greiner, and Vasuk Gautam. 2022. "HMDB 5.0: The Human Metabolome Database for 2022." *Nucleic Acids Research* 50(D1):D622–31. doi: 10.1093/nar/gkab1062.

Wishart, David S., Timothy Jewison, An Chi Guo, Michael Wilson, Craig Knox, Yifeng Liu, Yannick Djoumbou, Rupasri Mandal, Farid Aziat, Edison Dong, Souhaila Bouatra, Igor Sinelnikov, David Arndt, Jianguo Xia, Philip Liu, Faizath Yallou, Trent Bjorndahl, Rolando Perez-Pineiro, Roman Eisner, Felicity Allen, Vanessa Neveu, Russ Greiner, and Augustin Scalbert. 2013. "HMDB 3.0--The Human Metabolome Database in 2013." *Nucleic Acids Research* 41(Database issue):D801-807. doi: 10.1093/nar/gks1065.

Wishart, David S., Craig Knox, An Chi Guo, Roman Eisner, Nelson Young, Bijaya Gautam, David D. Hau, Nick Psychogios, Edison Dong, Souhaila Bouatra, Rupasri Mandal, Igor Sinelnikov, Jianguo Xia, Leslie Jia, Joseph A. Cruz, Emilia Lim, Constance A. Sobsey, Savita

Shrivastava, Paul Huang, Philip Liu, Lydia Fang, Jun Peng, Ryan Fradette, Dean Cheng, Dan Tzur, Melisa Clements, Avalyn Lewis, Andrea De Souza, Azaret Zuniga, Margot Dawe, Yeping Xiong, Derrick Clive, Russ Greiner, Alsu Nazyrova, Rustem Shaykhutdinov, Liang Li, Hans J. Vogel, and Ian Forsythe. 2009. "HMDB: A Knowledgebase for the Human Metabolome." *Nucleic Acids Research* 37(Database issue):D603-610. doi: 10.1093/nar/gkn810.

Wishart, David S., Dan Tzur, Craig Knox, Roman Eisner, An Chi Guo, David Arndt, Chris Fung, Lisa Nikolai, Mike Lewis, Marie-Aude Coutouly, Ian Forsythe, Peter Tang, Savita Shrivastava, Kevin Jeroncic, Paul Stothard, Godwin Amegbey, David Block, David D. Hau, James Wagner, Jessica Miniaci, Melisa Clements, Mulu Gebremedhin, Natalie Guo, Ying Zhang, Gavin E. Duggan, Glen D. Macinnis, Alim M. Weljie, Reza Dowlatabadi, Fiona Bamforth, Derrick Clive, Russ Greiner, Liang Li, Tom Marrie, Brian D. Sykes, Hans J. Vogel, and Lori Querengesser. 2007. "HMDB: The Human Metabolome Database." *Nucleic Acids Research* 35(Database issue):D521-526. doi: 10.1093/nar/gkl923.