



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

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

***ΤΑ TRANS- ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ ΣΤΑ ΕΔΩΔΙΜΑ ΛΙΠΗ ΚΑΙ
ΕΛΑΙΑ***

**ΚΛΕΑΝΘΗ ΡΟΥΚΗ
ΧΡΥΣΟΥΛΑ ΣΦΗΝΙΑ**

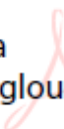
Επιβλέπων Καθηγητής: Βασιλεία Σινάνογλου

ΑΘΗΝΑ, ΜΑΡΤΙΟΣ 2021

Επιβλέπων Καθηγητής

Βασιλεία Σινάνογλου

Vasileia
Sinanoglou



Digitally signed by
Vasileia Sinanoglou
Date: 2021.03.29
15:57:33 +03'00'

Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής

Ειρήνη Στρατή

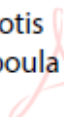
Παναγιώτης Ζουμπουλάκης

EIRINI
STRATI



Digitally signed
by EIRINI STRATI
Date: 2021.03.29
16:13:05 +03'00'

Panagiotis
Zoumpoulakis



Digitally signed by
Panagiotis
Zoumpoulakis
Date: 2021.03.29
17:57:10 +03'00'

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ/ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένοι Σφηνιά Χρυσούλα του Στυλιανού, με αριθμό μητρώου 71616127 και η Ρούκη Κλεάνθη του Κωνσταντίνου με αριθμό μητρώου 71616128, φοιτήτριες του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τρόφιμων, δηλώνουν υπεύθυνα ότι:

«Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε 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, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος.

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

Η Δηλούσα

Σφηνιά Χρυσούλα

Ρούκη Κλεάνθη

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
ABSTRACT	7
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
Κεφάλαιο 1: Τα <i>trans</i> - λιπαρά οξέα στην καθημερινότητα μας.....	10
1.1 Τα <i>trans</i> - λιπαρά οξέα.....	10
1.2 Πηγές των <i>trans</i> - λιπαρών οξέων	12
1.2.1 Τα <i>trans</i> - λιπαρά οξέα στην φύση.....	12
1.2.2 Τα τεχνητά <i>trans</i> - λιπαρά οξέα	15
Κεφάλαιο 2: Οι επιπτώσεις των <i>trans</i> - λιπαρών οξέων στην υγεία των ανθρώπων	23
2.1 <i>Trans</i> - λιπαρά οξέα και καρδιαγγειακές παθήσεις	24
2.2 <i>Trans</i> - λιπαρά οξέα και λιποπρωτεΐνες.....	26
2.3 <i>Trans</i> - λιπαρά οξέα και καρκίνος.....	28
2.4 <i>Trans</i> - λιπαρά οξέα και εμβρυική ανάπτυξη.....	32
2.5 <i>Trans</i> - λιπαρά οξέα και διαβήτης.....	35
2.6 <i>Trans</i> - λιπαρά οξέα και άλλες επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία	36
Κεφάλαιο 3: Η επισήμανση των προϊόντων που περιέχουν <i>trans</i> - λιπαρά οξέα και η ανάγκη για καινοτόμες μεθόδους ανίχνευσης.....	39
3.1 Επισήμανση των <i>trans</i> - λιπαρών οξέων	39
3.2 Μέθοδος προσδιορισμού <i>trans</i> - λιπαρών οξέων – Αέρια Χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC).....	42
3.3 Μέθοδος προσδιορισμού <i>trans</i> - λιπαρών οξέων – Φασματοσκοπία Υπερύθρου – (Infrared spectroscopy, IR).....	47
3.3.1 Υπέρυθρη φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier (Fourier- <i>trans</i> -form infrared spectroscopy, FTIR)	49
3.3.2 Φασματοσκοπία Υπερύθρου με την τεχνική της Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης (Attenuated Total Reflection, ATR).....	51
3.3.3 Fourier <i>Trans</i> -form-Near Infrared Spectroscopy FT-NIR.....	55
3.4 Σύγκριση GC/ATR-FTIR/FT-NIR	57
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Η νομοθεσία για την κατανάλωση των <i>trans</i> - λιπαρών, η παρουσία τους στην ετικέτα και οι τρόποι μείωσής τους.....	65
4.1 Τρόποι μείωσης της συγκέντρωσης <i>trans</i> - λιπαρών στα προϊόντα	65
4.2 Επιλογές καταναλωτών.....	70
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	72
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	74

ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

<i>Εικόνα 1 : α) Κορεσμένος δεσμός λιπαρού οξέος, β) Cis- ακόρεστος δεσμός λιπαρού οξέος και γ) Trans- ακόρεστος δεσμός λιπαρού οξέος.....</i>	<i>10</i>
<i>Εικόνα 2 : Η τρισδιάστατη 'V' δομή του cis-ελαϊκού οξέος και η γραμμική διαμόρφωση του trans-ελαϊκού οξέος (Żbikowska, 2010).</i>	<i>11</i>
<i>Εικόνα 3 : Βιοϋδρογόνωση του λινελαϊκού και του α λινολενικού οξέος προς σχηματισμό του εμβολικού οξέος.....</i>	<i>12</i>
<i>Εικόνα 4 : Κυριότερα trans- λιπαρά οξέα και πηγές που προέρχονται (Żbikowska, 2010).....</i>	<i>14</i>
<i>Εικόνα 5 : Μηχανισμός Γεωμετρικού ισομερισμού των ακόρεστων λιπαρών οξέων κατά την βιομηχανική υδρογόνωση (Martin et al., 2007).</i>	<i>17</i>
<i>Εικόνα 6 : Trans- λιπαρά οξέα σε μερικώς υδρογονωμένα φυτικά έλαια (Żbikowska, 2010).....</i>	<i>18</i>
<i>Εικόνα 7 : Σχηματισμός MTFA κατά το τηγάνισμα (Martin et al., 2007).....</i>	<i>21</i>
<i>Εικόνα 8 : Στην ετικέτα αναγράφεται πρώτα η ποσότητα των συνολικών λιπαρών, στην συνέχεια ακολουθούν τα κορεσμένα και στο τέλος τα trans- λιπαρά οξέα.....</i>	<i>41</i>
<i>Εικόνα 9 : Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας της αέριας χρωματογραφίας (McNair et al., 2019).....</i>	<i>43</i>
<i>Εικόνα 10 : Χρωματογράφημα της αέριας χρωματογραφίας (McNair et al., 2019)</i>	<i>43</i>
<i>Εικόνα 11 : Κορυφή των trans- λιπαρών οξέων στα 966 cm⁻¹ (10,3 μm) (Juaneda et al., 2007).....</i>	<i>48</i>
<i>Εικόνα 12 : Κρύσταλλος ATR-ανάκλαση ακτινοβολίας</i>	<i>52</i>
<i>Εικόνα 13 : Φάσμα δεύτερου παραγώγου FT-NIR του σογιέλαιου και εκχυλισμένο λάδι από σάλτσα σαλάτας (Azizian, H. et al 2004).....</i>	<i>56</i>
<i>Εικόνα 14 : Σύγκριση της χαμηλής συγκέντρωσης (<1% του συνολικού λίπους) trans- λιπαρών οξέων για τα έξι ελαιόλαδα ψυχρής πίεσης που καθορίζονται από την GC, FT-NIR και ATR-FTIR (βλ. πίνακα 1) (Mossoba et al., 2013)</i>	<i>60</i>
<i>Εικόνα 15 : Διάγραμμα διασποράς που δείχνει μια σύγκριση της συνολικής περιεκτικότητας trans- FA (ως ποσοστό του συνολικού λίπους) που προσδιορίζεται από τα FT-NIR και GC και για τα 30 προϊόντα που αναλύθηκαν (βλ. Πίνακα 1) (Mossoba et al., 2013).....</i>	<i>60</i>
<i>Πίνακας 1 : Δηλωμένες τιμές ετικέτας για συνολική περιεκτικότητα trans- λιπαρών οξέων 30 βρώσιμων λιπών και ελαίων και οι τιμές που καθορίζονται από GC, FT-NIR και ATR-FTIR (Mossoba et al., 2013).....</i>	<i>59</i>
<i>Πίνακας 2 : Αλλαγές στην τιμή του ιωδίου και στα ποσοστά trans- λιπαρών οξέων και κορεσμένων λιπαρών οξέων με προοδευτική υδρογόνωση του σογιέλαιου</i>	<i>69</i>

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια, υπάρχει μια αυξανόμενη ανησυχία από τον τομέα της χημείας τροφίμων και της ασφάλειας των προϊόντων για την παρουσία *trans*- λιπαρών οξέων στα τρόφιμα εξαιτίας των επιβλαβών επιπτώσεων που παρατηρούνται στην ανθρώπινη υγεία κατά την κατανάλωση τους. Αυτά τα λιπαρά οξέα παράγονται από λιπαρές ύλες είτε ζωικής είτε φυτικής προέλευσης. Το μεγαλύτερο ποσοστό *trans*- λιπαρών οξέων παράγεται κατά την μερική υδρογόνωση, μία διαδικασία που πραγματοποιείται κατά την παρασκευή στερεών λιπών καθώς και προϊόντων με βελτιωμένα χαρακτηριστικά. Πρόσφατα δεδομένα μελετών για τα *trans*- λιπαρά οξέα, τα ενοχοποιούν για τις τοξικές τους δράσεις, συμβάλλοντας σε προβλήματα όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, η συστηματική φλεγμονή, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, ο καρκίνος, ο διαβήτης κ.ά.

Ο συνεχής προβληματισμός για την παρουσία των *trans*- λιπαρών οξέων στα τρόφιμα, ώθησε τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας να προετοιμάσει υποχρεωτικούς ισχυρισμούς για *trans*- λιπαρά οξέα σε βρώσιμα λίπη και έλαια. Με αυτόν τον τρόπο, έγινε επιτακτική η ανάγκη για την εύρεση νέων εναλλακτικών λύσεων για την ελαχιστοποίησή τους. Ως εκ τούτου, απαιτείται ανασκόπηση που έχει ως στόχο να προσδιορίσει πλήρως την παραγωγή των *trans*- λιπαρών οξέων, την ανίχνευση, την ποσοτικοποίηση καθώς και προτάσεις για την ελαχιστοποίησή τους από τα τρόφιμα. Η παρούσα ανασκόπηση επικεντρώνεται γενικά στον σχηματισμό των *trans*- λιπαρών οξέων, στις κύριες πηγές τους στην ανθρώπινη διατροφή, στις χημικές και βιολογικές τους ιδιότητες που επηρεάζουν την ανθρώπινη υγεία, στις μεθόδους ανίχνευσης των λιπαρών αυτών οξέων καθώς και στη ρυθμιστική προσέγγιση για τον έλεγχο του περιεχομένου των *trans*- λιπαρών οξέων στα τρόφιμα.

Λέξεις κλειδιά: *trans*- λιπαρά οξέα, καρδιαγγειακές παθήσεις, αέρια χρωματογραφία, φασματοσκοπία υπερύθρου, επισήμανση.

ABSTRACT

In recent years, there has been a growing concern in the field of food chemistry and product safety about the presence of trans fatty acids in food due to the harmful effects on human health when consumed. These fatty acids are produced from fats of either animal or vegetable origin. Most of trans fatty acids are produced during partial hydrogenation, a process that takes place in the preparation of solid fats as well as products with improved characteristics. Recent studies of trans fatty acids blame them for their toxic effects, contributing to problems such as cardiovascular disease, systemic inflammation, endothelial dysfunction, cancer, diabetes and more.

Continued concerns about the presence of trans fatty acids in food have prompted the World Health Organization to prepare mandatory claims for trans fatty acids in edible fats and oils. In this way, the need to find new alternatives to minimize them because imperative. Therefore, a review is needed to fully identify trans fatty acid production, detection, quantification and food minimization suggestions. This review focuses on the formation of trans fatty acids, their main sources in the human diet, their chemical and biological properties that affect human health, the methods for detecting these fatty acids and the regulatory approach to content control of trans fatty acids in food.

Keywords: trans fatty acids, cardiovascular diseases, gas chromatography, infrared spectroscopy, labeling

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αλλαγή των διατροφικών συνηθειών με την πάροδο του χρόνου σε συνδυασμό με την εξέλιξη των μεθόδων επεξεργασίας των τροφίμων έχει επηρεάσει δυσμενώς την υγεία των ανθρώπων. Ένα από τα βασικά συστατικά των τροφίμων είναι τα λιπίδια τα οποία αποτελούν την πλέον πιο συμπυκνωμένη πηγή ενέργειας με 9 Kcal/g λίπους που είναι περισσότερη από τη διπλάσια ενέργεια που μπορούν να παρέχουν τα υπόλοιπα συστατικά των τροφίμων (πρωτεΐνες, υδατάνθρακες). Τα λίπη ή έλαια, φυσικής ή ζωικής προέλευσης που προσλαμβάνει ο άνθρωπος από την διατροφή του, του παρέχουν και διάφορα λιπαρά οξέα. (Dhaka et al., 2011 ; Martin et al., 2007) Ανάλογα με το είδος των διπλών δεσμών που περιέχουν στο μόριο τους τα λιπαρά οξέα χωρίζονται σε κορεσμένα και ακόρεστα (*cis*- και *trans*-) (Dutton et al 1979 ; Gashaw et al., 2018).

Τις τελευταίες δεκαετίες, η έρευνα που ασχολείται με τα *trans*- λιπαρά οξέα (TFAs) έχει εντατικοποιηθεί και τώρα περιλαμβάνει μια μεγάλη ποικιλία διεπιστημονικών πεδίων που επηρεάζουν την επιστήμη και την τεχνολογία τροφίμων, την τοξικολογία και την αναλυτική χημεία (Dutton et al., 1979 ; Żbikowska, 2010). Συγγραφείς υπογραμμίζουν τους κινδύνους για την υγεία και τα οφέλη των *trans*- λιπαρών οξέων, συμπεριλαμβανομένων των συζευγμένων λιπαρών οξέων στα τρόφιμα. Οι επιστήμονες και οι τεχνολόγοι συζητούν για την αναθεώρηση του κανονισμού για τη διατροφική επισήμανση. Η επίδραση της επεξεργασίας στην παραγωγή *trans*- λιπαρών οξέων στα τρόφιμα και το επίπεδο κατανάλωσης αποτελούν αντικείμενο πολλών ερευνητικών ομάδων σε πολλές χώρες (Żbikowska, 2010).

Τα *trans*- λιπαρά οξέα βρίσκονται σε μικρές ποσότητες στο σωματικό λίπος των μηρυκαστικών ζώων αλλά και στο γάλα καθώς και στα προϊόντα του όπως το βούτυρο (Albuquerque et al., 2011 ; Dhaka et al., 2011 ; Żbikowska, 2010 ; Galvín et al. 2016 ; Hunter et al., 2005 ; Larque, 2001 ; Mossoba et al., 2003). Όμως, η κύρια πηγή πρόσληψης *trans*- λιπαρών οξέων είναι τα μερικώς υδρογονωμένα φυτικά έλαια τα οποία χρησιμοποιούνται για την παρασκευή των περισσότερων τροφίμων (Albuquerque et al., 2011; Dhaka et al., 2011; Galvín, et al. 2016 ; Gashaw et al., 2018). Η μερική υδρογόνωση ναι μεν προσδίδει σταθερότητα στα προϊόντα αλλά επιφέρει και αρνητικές συνέπειες στην ανθρώπινη υγεία εξαιτίας

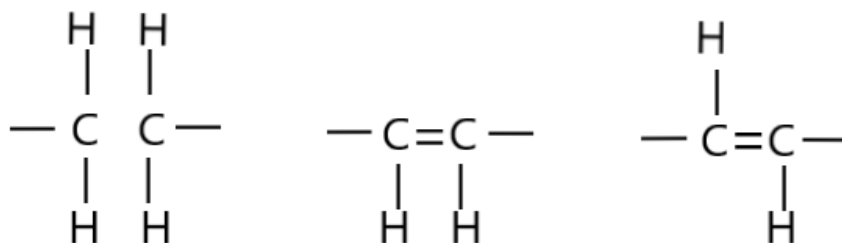
των *trans*- λιπαρών οξέων που σχηματίζονται κατά την διαδικασία αυτή (Albuquerque et al., 2011 ; Hunter, 2005 ; Perwaiz, 2014).

Από την κατανάλωση *trans*- λιπαρών οξέων προκύπτουν αρνητικές επιπτώσεις οι οποίες οδήγησαν τους επιστήμονες σε έρευνες για να διαπιστώσουν κατά πόσο και πως επηρεάζουν αυτά τα λιπαρά οξέα τον ανθρώπινο οργανισμό (Gashaw et al., 2018). Για να προσδιορίσουν την περιεκτικότητα των *trans*- λιπαρών οξέων που υπάρχει στα τρόφιμα χρησιμοποίησαν μεθόδους όπως την Αέρια Χρωματογραφία και την Φασματοσκοπία Υπερύθρου. Το αποτέλεσμα των ερευνών αυτών, δείχνει ότι η κατανάλωση τους προκαλεί αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία των καταναλωτών, όπως στεφανιαία και καρδιαγγειακή νόσο, εγκεφαλικά επεισόδια, αύξηση της αρτηριακής πίεσης, καρκίνος του μαστού, διαβήτη, προβλήματα στα έμβρυα και παχυσαρκία (da Costa Filho et al., 2014 ; Gashaw et al., 2018 ; Jasti et al., 2010 ; Vartolaş et al., 2019). Λαμβάνοντας υπόψιν τις συνέπειες από την κατανάλωση των *trans*-λιπαρών οξέων στην ανθρώπινη υγεία, ο Παγκόσμιος Οργανισμός υγείας συνέστησε, το 2003, να περιοριστεί η πρόσληψη τους σε ποσοστό <1% της συνολικής κατανάλωσης ενέργειας (da Costa Filho, 2014 ; Dhaka et al., 2011 ; Żbikowska, 2010 ; Goyal et al., 2009). Αυτό ευαισθητοποίησε το καταναλωτικό κοινό το οποίο πλέον θα πρέπει να ενημερώνεται από τις ετικέτες των προϊόντων για την περιεκτικότητά τους σε *trans*-λιπαρά οξέα . Ωστόσο, έχουν προταθεί τρόποι μείωσης των *trans*-λιπαρών οξέων από πολλούς κατασκευαστές τροφίμων ώστε να προφυλαχθούμε από τις αρνητικές συνέπειες που προκαλούν τα λιπαρά αυτά (Hunter et al 2005).

Κεφάλαιο 1: Τα *trans*- λιπαρά οξέα στην καθημερινότητα μας

1.1 Τα *trans*- λιπαρά οξέα

Τα λίπη και τα έλαια αποτελούν ένα από τα κύρια θρεπτικά συστατικά στη διατροφή του ανθρώπου για τη διατήρηση της υγείας παρέχοντας ενέργεια στο σώμα και απαραίτητα λιπαρά οξέα (Liu et al., 2007). Τα λίπη φυτικής ή ζωικής προέλευσης αποτελούνται κυρίως από τριγλυκερίδια, δηλαδή εστέρες γλυκερόλης με ανώτερα μονοκαρβονικά οξέα ευθείας αλυσίδας, τα οποία έχουν συνήθως άρτιο αριθμό ανθράκων, και μπορεί να είναι μονοακόρεστα, πολυακόρεστα ή κορεσμένα λιπαρά οξέα (Dhaka et al., 2011 ; Martin et al., 2007). Όπως φαίνεται στην Εικόνα 1, το μόριο του ακόρεστου λιπαρού οξέος μπορεί να υπάρχει σε διαμόρφωση *cis*- και *trans*- ανάλογα με τη διάταξη των δύο ατόμων υδρογόνου του διπλού δεσμού (Dutton, 1979 ; Gashaw et al., 2018). Όταν τα άτομα H⁺ του διπλού δεσμού βρίσκονται στην ίδια πλευρά του επιπέδου του διπλού δεσμού τότε το λιπαρό οξύ είναι στην μορφή *cis*-, ενώ στη μορφή *trans*- βρίσκονται σε διαφορετική πλευρά του επιπέδου (Dutton, 1979 ; Perwaiz, 2014).

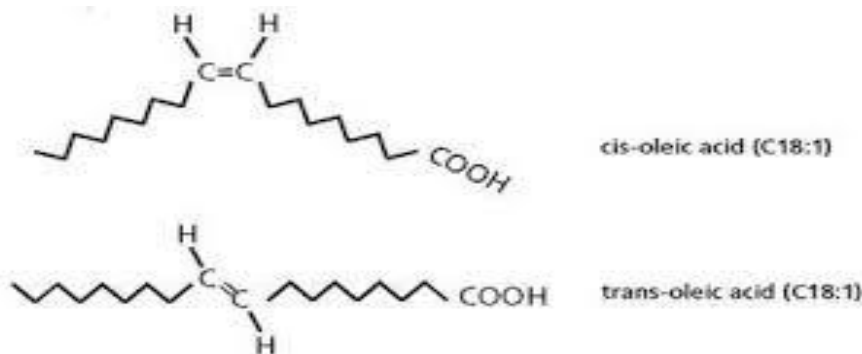


Εικόνα 1 : α) Κορεσμένος δεσμός λιπαρού οξέος, β) *Cis*- ακόρεστος δεσμός λιπαρού οξέος και γ) *Trans*- ακόρεστος δεσμός λιπαρού οξέος

Γενικά, *trans*- λιπαρά οξέα (TFA-*Trans*- Fatty Acids) χαρακτηρίζονται όλα τα ακόρεστα λιπαρά οξέα που περιέχουν έναν ή περισσότερους απομονωμένους, μη συζευγμένους, διπλούς δεσμούς σε *trans*- γεωμετρική διαμόρφωση (Albuquerque et al., 2011 ; Galvin et al., 2016). Σε αυτήν την τάξη ανήκουν επίσης μονοακόρεστα *trans*- λιπαρά οξέα (MUFAs- Monounsaturated fatty acids), μια ομάδα λιπαρών οξέων που έχουν μόνο έναν διπλό δεσμό, ο οποίος πρέπει να είναι σε *trans*- μορφή

ώστε να ανήκει στην τάξη των *trans*- λιπαρών οξέων καθώς και τα πολυακόρεστα *trans*- λιπαρά οξέα (PUFAs-Polyunsaturated fatty acids), που έχουν δύο ή περισσότερους διπλούς δεσμούς, είτε σε *trans*- μορφή είτε όχι (Dutton, 1979).

Τόσο οι θρεπτικές όσο και οι τεχνολογικές ιδιότητες των λιπαρών οξέων εξαρτώνται τόσο από τη δομή όσο και από τη θέση των περιεχόμενων λιπαρών οξέων σε μόρια τριακυλογλυκερολών (Gashaw et al., 2018). Επίσης, αυτές οι διαμορφώσεις τροποποιούν σημαντικά τις βιολογικές ιδιότητες των λιπαρών οξέων όταν καταναλώνονται (Larqué et al., 2011 ; Mozaffarian et al., 2006 ; Somerfield, 1983). Η τριδιάστατη δομή του *trans*- λιπαρού οξέος μοιάζει περισσότερο με τα κορεσμένα με τον ίδιο αριθμό ανθράκων παρά με τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, τα οποία έχουν διπλό δεσμό στη διαμόρφωση του *cis*- (Gashaw et al., 2018 ; Larqué et al., 2011). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μεταβάλλονται οι φυσικές ιδιότητες του *trans*- λιπαρού οξέος, εμφανίζοντας υψηλότερο σημείο τήξης όπως τα κορεσμένα λιπαρά οξέα τα οποία είναι στερεά στην συνήθη θερμοκρασία (Gashaw et al., 2018). Όσον αφορά τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, αυτά που βρίσκονται σε διαμόρφωση *trans*- έχουν σημαντικά υψηλότερα σημεία τήξης από τα αντίστοιχα *cis*- ισομερή. Για παράδειγμα, το σημείο τήξης του *cis*- ελαιϊκού οξέος είναι 14 ° C, και αντίστοιχα εκείνο του *trans*- ελαιϊκού οξέος είναι 45 ° C (Żbikowska, A. 2010). Έτσι, το μόριο των *trans*- λιπαρών οξέων, όπως απεικονίζεται στην Εικόνα 2, λαμβάνει μία σχεδόν γραμμική διαμόρφωση παρόμοια με αυτήν των κορεσμένων λιπαρών οξέων σε αντίθεση με τα φυσικώς υπάρχον λιπαρά οξέα που έχουν συνήθως διαμόρφωση *cis*- και έχουν σχήμα «V» (Hunter, 2005 ; Żbikowska, 2010).



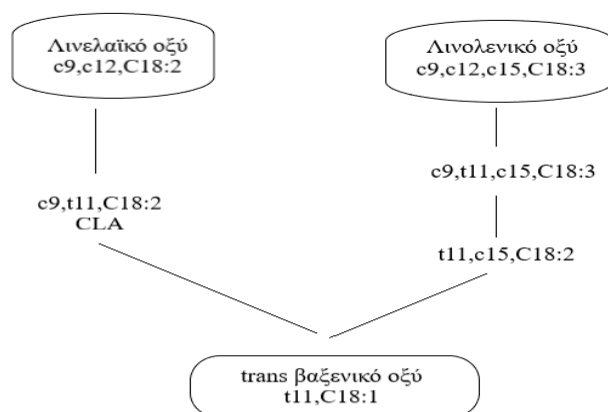
Εικόνα 2 : Η τριδιάστατη 'V' δομή του *cis*-ελαιϊκού οξέος και η γραμμική διαμόρφωση του *trans*-ελαιϊκού οξέος (Żbikowska, 2010).

1.2 Πηγές των *trans*- λιπαρών οξέων

1.2.1 Τα *trans*- λιπαρά οξέα στην φύση

Στην φύση κυρίως συναντάμε *trans*- λιπαρά οξέα σε πολύ μικρές ποσότητες (3-8% του συνολικού λίπους) (Albuquerque et al., 2011 ; Dhaka et al., 2011 ; Żbikowska, 2010 ; Galvín et al., 2016 ; Hunter, 2005 ; Larque, 2001 ; Mossoba et al., 2003). Αυτά τα *trans*- λιπαρά οξέα βρίσκονται στο ενδομυϊκό λίπος των μηρυκαστικών ζώων αλλά και στο γάλα, καθώς και στα προϊόντα του πχ. Βούτυρο (Albuquerque et al., 2011 ; Ashraful et al., 2019 ; Bhardwaj et al., 2011 ; Hunter, 2005 ; Mozaffarian et al., 2006). Στο γάλα των μηρυκαστικών βρίσκονται κυρίως το λινελαϊκό (C18:2 *cis*-9-*cis*-12) και το α-λινολενικό (C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15), καθώς και μικρότερα ποσοστά των ισομερών τους (Bhardwaj et al., 2011).

Με την είσοδο των λιπαρών οξέων στη μεγάλη κοιλία των ζώων, τα λιπίδια υπόκεινται στη διαδικασία της λιπόλυσης και έπειτα της βιοϋδρογόνωσης (Mozaffarian et al., 2006). Κατά την βιοϋδρογόνωση συμβαίνει η μετατροπή των *cis*- ακόρεστων λιπαρών οξέων σε *trans*- με την βοήθεια βακτηρίων που υπάρχουν φυσιολογικά στο στομάχι των μηρυκαστικών ζώων (Bauman et al., 2006 ; Mozaffarian et al., 2006 ; Perwaiz, 2014).



Εικόνα 3 : Βιοϋδρογόνωση του λινελαϊκού και του α λινολενικού οξέος προς σχηματισμό του εμβολικού οξέος

Το αρχικό βήμα αυτής της διαδικασίας, όπως φαίνεται στην Εικόνα 3, είναι η μετατροπή του *cis*-12 δεσμού του λινελαϊκού οξέος (C18:2 c9,c12) σε διαμόρφωση *trans*-11, σχηματίζοντας έτσι το ρουμενικό οξύ, το οποίο στην συνέχεια, μετατρέπεται σε ένα *trans*-11 βαξενικό οξύ, γνωστό ως εμβολικό οξύ (C18:1, t11), εξαιτίας της υδρογόνωσης του *cis*-9 διπλού δεσμού (Funck et al., 2006 ; Mendis et al., 2008). Το αλινολενικό οξύ μεταβολίζεται με παραπλήσιο τρόπο αλλά δεδομένου ότι περιέχει τρεις διπλούς δεσμούς, η διαδικασία είναι λίγο πιο περίπλοκη. Έτσι, μετά το τέλος της βιοϋδρογόνωσης, το εμβολικό οξύ είναι το κυρίαρχο *trans*-λιπαρό οξύ που υπάρχει στο σώμα των μηρυκαστικών ζώων και αποδεικνύεται ότι έχει αντικαρκινικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Albuquerque et al., 2011 ; Bauman et al., 2006 ; Bhardwaj et al., 2011 ; Craig-Schmidt, 2006 ; Funck, 2006 ; Żbikowska, 2010 ; Mendis, 2008 ; Mossoba et al., 2003). Το *trans*-εμβολικό οξύ (C18: 1 t11) αντιπροσωπεύει το 67-86% των συνολικών *trans*- λιπαρών οξέων.

Στην μεγάλη κοιλία των μηρυκαστικών ζώων, η δράση των μικροοργανισμών κατά τη διάρκεια της βιοϋδρογόνωσης οδηγεί σε ισομερείωση θέσης ή σε γεωμετρική ισομέρεια των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, με αποτέλεσμα το σχηματισμό δύο ισομερών του συζευγμένου λινελαϊκού οξέος (CLA) (C18:2, c9, t11 και C18:2, t10, c12) από το λινελαϊκό οξύ (C18:2, c9, c12) (Εικόνα 4) (Żbikowska, 2010 ; Larque, 2001). Το CLA, μετέπειτα μπορεί είτε να απορροφηθεί από το ζώο είτε να βιοϋδρογονωθεί σε κεχονικά οξέα (C18: 1, t11) και 18: 1, t10. Οι επιδράσεις που παρατηρούνται για τα συζυγή λιπαρά οξέα C18: 2, c9, t11 και C18: 2 t10, c12 είναι διαφορετικά από εκείνο των άλλων TFA και προκαλούν το ενδιαφέρον του επιστημονικού κόσμου λόγω των ευεργετικών ιδιοτήτων που έχουν στην υγεία του ανθρώπου (Żbikowska, A. 2010) (Παπαλουκάς, 2015). Τα ισομερή CLA (C18:2, c9, t11) φαίνεται να έχουν φυσιολογική σπουδαιότητα ως αντιοξειδωτικά και συμμετέχουν στην αναστολή αρκετών μορφών καρκινογόνων νεοπλασιών όπως αποδεικνύεται από μελέτες σε ζώα (Larque, 2001). Η επίδραση του ισομερούς CLA 18:2, t10, c12 στο μεταβολισμό των λιπιδίων είναι σημαντική, καθώς σε ορισμένες περιπτώσεις τροποποιεί ευνοϊκά τη σύνθεση του σώματος, οδηγώντας σε μειωμένο σωματικό λίπος και αυξημένη άπαχη μάζα σώματος, το οποίο θεωρείται ότι είναι ένα αποτέλεσμα κατά της παχυσαρκίας (Larque, 2001) (Bhardwaj et al., 2011). Παρατηρήθηκε μεταξύ των ζώων ότι μόνο με μια υψηλή ημερήσια πρόσληψη CLAs μπορεί να υπάρξει ευνοϊκή επίδραση στον οργανισμό

τους. Οι ποσότητες αυτές ήταν τουλάχιστον 0,1 g CLAs / 100 g λιπών, που αντιστοιχεί σε 1,5-6,0 g / άτομο / ημέρα και τα 2,6 / ημέρα να είναι από το CLA C18:2, 10t, 12c (Żbikowska, 2010).

Common name	Chemical name of common isomers	Major source
Elaidic acid	C18:1 t9	Partially hydrogenated oils
Vaccenic acid	C18:1 t11	Ruminant meat and milk
Linolelaidic acid	C18:2 t9t12	Partially hydrogenated oils
Conjugated linoleic acid (CLA)	C18:2 c9t11 C18:2 t10c12	Ruminant meat and milk

Εικόνα 4 : Κυριότερα *trans*- λιπαρά οξέα και πηγές που προέρχονται (Żbikowska, 2010).

Τα CLA δεν είναι *trans*- λιπαρά οξέα διότι δεν περιέχουν στο μόριο τους μη συζυγικούς διπλούς δεσμούς σε διαμόρφωση *trans*- (Funck, 2006). Τα CLA ανακαλύφθηκαν πρώτα από τον Pariza και τους συνεργάτες του όταν μελετούσαν τις αντικαρκινικές ιδιότητες του ψητού βόειου κρέατος (Dhaka et al., 2011). Προς έκπληξή τους παρατήρησαν ότι αυτά τα λιπαρά οξέα που προέρχονταν από το λινελαϊκό οξύ, έχουν αντικαρκινικές ιδιότητες (Żbikowska, 2010). Παρ' όλα αυτά απαιτούνται περισσότερες έρευνες για τις επιπτώσεις τόσο των φυσικών *trans*-λιπαρών οξέων όσο και του CLA καθώς τείνουν να γίνουν η κύρια πηγή πρόσληψης στις περισσότερες ευρωπαϊκές χώρες λόγω της μείωσης των τεχνητών *trans*-λιπαρών οξέων (Τσάκνης, 2018).

Τα φυσικά *trans*- λιπαρά οξέα που προέρχονται από τα μηρυκαστικά ζώα διαφέρουν σημαντικά από εκείνα που βρίσκονται σε υδρογονωμένα ως προς τη βιολογική τους λειτουργία και αυτό εξαιτίας της διαφορετικής θέσης των διπλών δεσμών (Dhaka et al., 2011). Έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί από τους Mozaffarian et al. (2009) έδειξαν ότι τα τεχνητά *trans*- λιπαρά οξέα αυξάνουν τον κίνδυνο εκδήλωσης καρδιαγγειακών παθήσεων και στεφανιαίας νόσου, ενώ τα φυσικά *trans*- δεν επιφυλάσσουν τέτοιο κίνδυνο εφόσον καταναλώνονται σε μικρές ποσότητες <0,5% της ενέργειας που χρειάζεται καθημερινά ο ανθρώπινος

οργανισμός (Gashaw et al., 2018). Επομένως μπορούμε να πούμε ότι τα *trans*- των μηρυκαστικών είναι υγιή για ανθρώπινη κατανάλωση στα ήδη μικρά επίπεδα που προσλαμβάνονται γιατί δεν συμβάλλουν στον κίνδυνο καρδιακών παθήσεων (Bauman et al., 2006 ; Dhaka et al., 2011 ; Żbikowska, 2010 ; Galvín et al., 2016 ; Shingfield et al. 2008). Ωστόσο, αυτή η εκδοχή χρειάζεται ακόμη περαιτέρω έρευνα (Funck, 2006 ; Mendis, 2008)

1.2.2 Τα τεχνητά *trans*- λιπαρά οξέα

Το μεγαλύτερο ποσοστό *trans*- λιπαρών οξέων που καταναλώνει ο άνθρωπος προέρχεται από υδρογονωμένα φυτικά έλαια, και φτάνει σε σημείο μεγαλύτερο του 50-60% της πρόσληψης (Albuquerque et al., 2011 ; Dhaka et al., 2011). Προηγούμενες μελέτες είχαν αναφέρει ότι σημαντικές πηγές TFA θα μπορούσαν να βρεθούν σε «fast-food», κατεψυγμένα τρόφιμα, προϊόντα αρτοποιίας, μαργαρίνες, γλυκά, μπισκότα και άλλα συσκευασμένα σνακ όπου τα έλαια που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή τους περιέχουν υδρογονωμένα φυτικά λιπαρά (Dhaka et al., 2011 ; Żbikowska, 2010 ; Galvin, 2016 ; Mossoba et al., 2009 ; Satchithanandam et al., 2004). Τα βιομηχανικά παραγόμενα TFA εμφανίστηκαν στην ανθρώπινη διατροφή μετά το 1902, όταν ο Norman χρησιμοποίησε την υδρογόνωση για πρώτη φορά (Żbikowska, 2010).

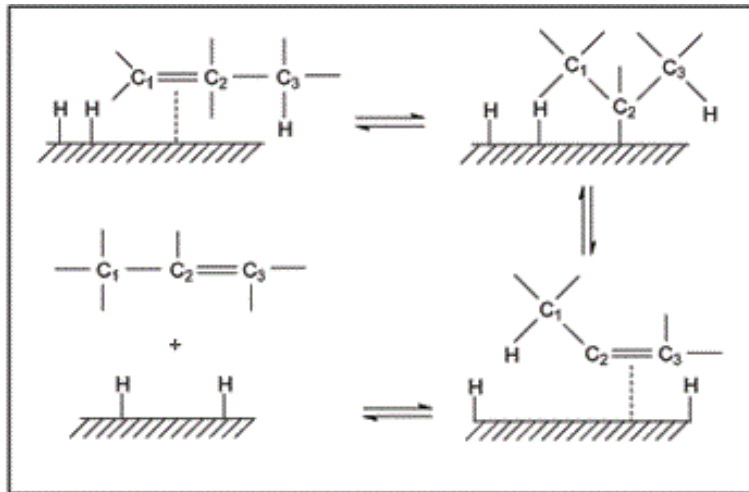
Τα βιομηχανικά παραγόμενα *trans*- λιπαρά οξέα προέρχονται είτε από βιομηχανικές διεργασίες όπως η υδρογόνωση (Perwaiz, 2014 ; Yang et al., 2014) είτε από θερμική επεξεργασία, π.χ. εξευγενισμό των φυτικών ελαίων και κατά τη διάρκεια της θέρμανσης λαδιού σε πολύ υψηλή θερμοκρασία (Ashraful, 2019 ; Bauman et al., 2006 ; Mossoba, 2003). Έχει ότι αυτά τα λιπαρά οξέα έχουν επιβλαβείς επιπτώσεις στην υγεία, επομένως, η μελλοντική έρευνα θα πρέπει να συνεχίσει να βρίσκει εναλλακτικές λύσεις για λίπη που έχουν παρόμοιες ιδιότητες στο ψήσιμο, αλλά όχι αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία. Επομένως, η περαιτέρω έρευνα για τα βιομηχανικά *trans*- λιπαρά οξέα και την καρδιαγγειακή υγεία αποτελεί κορυφαία προτεραιότητα (Brouwer et al., 2013).

1.2.2.1. Μηχανισμοί δημιουργίας *trans*- λιπαρών οξέων:

- Υδρογόνωση

Η υδρογόνωση λιπαρών υλών είναι η μέθοδος για την μετατροπή των υγρών φυτικών ελαίων σε ημιστέρεα λίπη βελτιώνοντας το χρώμα, τη σταθερότητα και τις οργανοληπτικές ιδιότητες της λιπαρής ύλης. Η υδρογόνωση χρησιμοποιείται κυρίως στην παραγωγή μαργαρίνης και παραμένει ακόμα και σήμερα μια σημαντική διαδικασία για την τροποποίηση των βρώσιμων λαδιών, παρά τις ανησυχίες για τις ανεπιθύμητες ιδιότητες των *trans*- λιπαρών οξέων στον ανθρώπινο οργανισμό (Hunter, 2005 ; Perwaiz, 2014). Σκοπός της είναι ο κορεσμός των διπλών δεσμών των τριγλυκεριδίων και των φυσικών ακόρεστων λιπαρών οξέων που περιέχονται αποκλειστικά σε αυτά και τα οποία είναι υγρά σε θερμοκρασία δωματίου (Τσάκνης Γ. 2018).

Η υδρογόνωση βασίζεται στην αντίδραση ακόρεστων λιπαρών οξέων των ελαίων παρουσία καταλύτη (χαλκός, νικέλιο, παλλάδιο και πλατίνα), ειδικά νικελίου, λόγω της καλής δραστηριότητάς του, της επαναχρησιμοποίησης και του χαμηλότερου κόστους. Για να επιτευχθεί υψηλή επιλεκτικότητα, είναι συνηθισμένο να χρησιμοποιείται χαμηλή πίεση υδρογόνου, μέτρια ταχύτητα ανάδευσης και υψηλές θερμοκρασίες. Αυτό οδηγεί σε έλλειψη υδρογόνου στην επιφάνεια του καταλύτη, η οποία με τη σειρά της ευνοεί τον σχηματισμό TFA (Martin et al., 2007). Έτσι, με βάση τον μηχανισμό σχηματισμού γεωμετρικών θέσεων ισομερών κατά την υδρογόνωση που προτάθηκε από τους Allen και Kiess (1955), ένα άτομο υδρογόνου μπορεί να εισέλθει σε οποιοδήποτε άκρο του διπλού δεσμού και να σχηματίσει μια θέση ελεύθερων ριζών δεσμευμένη στον καταλύτη. Στην συνέχεια, ένας γειτονικός άνθρακας ατόμου υδρογόνου μπορεί να απομακρυνθεί και έτσι να αναγεννηθεί ο διπλός δεσμός ή να οδηγήσει στο σχηματισμό ενός ισομερούς θέσης. Καθώς ο σχηματισμός μιας θέσης ελεύθερων ριζών επιτρέπει την ελεύθερη περιστροφή, ο διπλός δεσμός που σχηματίζεται μπορεί να παρουσιάζει οποιαδήποτε *cis*- ή *trans*- διαμόρφωση (Εικόνα 5) (Martin et al., 2007).



Εικόνα 5 : Μηχανισμός Γεωμετρικού ισομερισμού των ακόρεστων λιπαρών οξέων κατά την βιομηχανική υδρογόνωση (Martin et al., 2007).

Τα TFA παράγονται όταν το λίπος (υγρό σε θερμοκρασία δωματίου) μετατρέπεται σε στερεό μέσω της χημικής διαδικασίας υδρογόνωσης. Μερικώς υδρογονωμένα φυτικά λίπη μπορούν αντικαταστήσουν φυσικά στερεά, κορεσμένα λιπαρά οξέα (όπως βούτυρο και λαρδί) σε ψητά / τηγανητά τρόφιμα. Από τη σκοπιά της βιομηχανίας τροφίμων, τα μερικώς υδρογονωμένα φυτικά έλαια είναι ελκυστικά λόγω της μεγάλης διάρκειας ζωής τους, της σταθερότητάς τους κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος και της ημιστέρας δομής τους, τα οποία μπορούν να προσαρμοστούν για να βελτιώσουν την υφή, το σχήμα και την γευστικότητα των ψημένων προϊόντων και των γλυκών (Mozaffarian et al., 2006).

Όταν χρησιμοποιούνται μερικώς υδρογονωμένα λίπη, ο σχηματισμός TFA είναι γενικά χαμηλότερος. Ωστόσο, το υψηλό αρχικό περιεχόμενο αυτών των οξέων οδηγεί σε μεγαλύτερη συγκέντρωση *trans*- ισομερών σε τηγανητά τρόφιμα (Ago et al., 1998 ; Romero et al., 2000). Ειδικότερα το υδρογονωμένο ιχθυέλαιο, που καταναλώνεται συχνά από τον ανθρώπινο πληθυσμό, το οποίο περιέχει πολλά διαφορετικά είδη *trans*- λιπαρών οξέων καθώς και το μερικώς υδρογονωμένο σογιέλαιο αποτελούν τις κύριες πηγές *trans*- λιπαρών παγκοσμίως με το τελευταίο

να αποτελεί ιδιαίτερη ανησυχία για τις αναπτυσσόμενες χώρες και τις χώρες της Ασίας, όπου χρησιμοποιείται σε υψηλό ποσοστό (Romero et al., 2000).

Το επίπεδο TFA στα λίπη κατά την υδρογόνωση παραμένει σε ισορροπία μεταξύ μορφής *trans*- και *cis*- και έτσι ο λόγος *trans*- προς *cis*- είναι 2: 1 και αυτό διότι τα *trans*- προσδίδουν μια δομή ενεργητικά πιο σταθερή (Żbikowska, 2010). Συνήθως τα λιπαρά οξέα που περιέχονται κυρίως στα υδρογονωμένα λάδια αποτελούνται από 18 άτομα άνθρακα. Στο μερικώς υδρογονωμένο σογιέλαιο, το οποίο είναι η κύρια πηγή TFA παγκοσμίως, το κύριο ισομερές είναι το C18: 1 *trans*-10 (Albuquerque et al., 2011 ; Gashaw et al., 2018). Το πιο σημαντικό *trans*- λιπαρό οξύ είναι το ελαϊδικό (*trans*- 18:1 t9) (Albuquerque et al., 2011 ; Ashraful et al., 2019 ; Craig, 2006) το οποίο σχηματίζεται από το ελαϊκό οξύ (*cis*- 18:1 ω9) κ το *trans*- 18:1 (t10) (Dhaka et al., 2011) (Εικόνα 6). Άλλα ισομερή συμπεριλαμβανομένων των C16:1t, C18: 2t,C18: 3t και πολυακόρεστα TFA μακράς αλυσίδας μπορούν επίσης να είναι ένα σημαντικό συστατικό των συνολικών TFA (Żbikowska, 2010). Τα πιο σπουδαία TFA που υπάρχουν στα υδρογονωμένα φυτικά λάδια έχουν τους διπλούς δεσμούς στις θέσεις Δ 8,9,10,11 και 12. Τα *trans*- λιπαρά οξέα που έχουν διπλό δεσμό στις θέσεις Δ 9,10,12 απασχολούν τους ερευνητές διότι σχετίζονται με την ανθρώπινη υγεία και αποτελούν το 50% των λιπαρών που υπάρχουν στα υδρογονωμένα προϊόντα καθώς και το ένα πέμπτο των λιπαρών που υπάρχουν στο λίπος των μηρυκαστικών (Albuquerque et al., 2011 ; Żbikowska, 2010).

TFA	Level (% total TFA)
<i>Trans</i> C18:1	85-95
<i>Trans</i> C18:2	8-22
<i>Trans</i> C18:3	<1 – 7
<i>Trans</i> C16:1	~0.04

Εικόνα 6 : *Trans*- λιπαρά οξέα σε μερικώς υδρογονωμένα φυτικά έλαια (Żbikowska, 2010).

- Δύλιση φυτικών ελαίων

Ορισμένες ουσίες που υπάρχουν στα φυτικά έλαια μπορεί να μεταβάλλουν το χρώμα, τη γεύση και το άρωμα, να περιορίζουν την εφαρμογή τους και να μειώνουν τη διάρκεια ζωής τους. Μεταξύ αυτών των ουσιών, ελεύθερα λιπαρά οξέα, ίχνη μετάλλων, χρωστικές, φωσφατίδια, υδατάνθρακες και πρωτεϊνούχες ύλες, καθώς και υποπροϊόντα αποδόμησης τους, νερό, χλωροφύλλη, καροτενοειδή και προϊόντα οξείδωσης λιπαρών οξέων (Hou et al., 2012 ; Martin et al., 2007). Ως εκ τούτου, τα βρώσιμα έλαια εξευγενίζονται για την απομάκρυνση αυτών των ουσιών με την ελάχιστη δυνατή αρνητική επίδραση στα τριγλυκερίδια και την ελάχιστη απώλεια των επιθυμητών συστατικών. Κατά τη διάρκεια του εξευγενισμού, τα φυτικά έλαια συνήθως θερμαίνονται μεταξύ 60 ° C και 100 ° C και κατόπιν υποβάλλονται σε απόσπηση, που στοχεύει στη βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του λαδιού. Στη διάρκεια της διαδικασίας απόσπησης, η θερμοκρασία αυξάνεται στους 180-270 ° C που οδηγεί στο σχηματισμό TFA στο φυτικό έλαιο. (Martin et al., 2007).

Στον προσδιορισμό των σχετικών ποσοτήτων TFA σε ακατέργαστο ηλιέλαιο και μετά την εξουδετέρωση, τη λεύκανση και την απόσπηση, οι Tasan και Demirci (2003) παρατήρησαν ότι το περιεχόμενο TFA 18: 2 αυξήθηκε 13,8 φορές στο τέλος της διαδικασίας εξευγενισμού. Ωστόσο, όταν το στάδιο της αποσπησης της διαδικασίας πραγματοποιήθηκε στους 230°C για 2 ώρες, ήταν υπεύθυνο για το 91,3% της παραγωγής TFA, και όταν αυτή η διαδικασία πραγματοποιήθηκε στους 265°C για 1 ώρα, η αύξηση του περιεχομένου TFA 18: 2 ήταν 57,8 φορές σε σχέση μ' αυτό του ακατέργαστου ελαίου, συνολική αύξηση 97,4% στην παραγωγή TFA (Hou et al., 2012 ; Martin et al., 2007).

Ο Wolff (1993) μελέτησε στο εργαστήριο την αντίδραση του λιναρόσπορου κατά την απόσπηση ως μοντέλο για την αξιολόγηση της επίδρασης του χρόνου θέρμανσης και της θερμοκρασίας στον ισομερισμό λινολεϊκών και άλφα-λινολενικών οξέων που υπάρχουν στα εξευγενισμένα φυτικά έλαια. Αυτή η μελέτη έδειξε ότι ο σχηματισμός TFA 18: 2 και 18: 3 εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από αυτές τις μεταβλητές και ότι ξεκινά γύρω στους 190°C (Martin et al., 2007). Οι Henon et al. (1999) επιβεβαιώνουν την μελέτη του Wolff καθώς μελέτησε την ισομερείωση

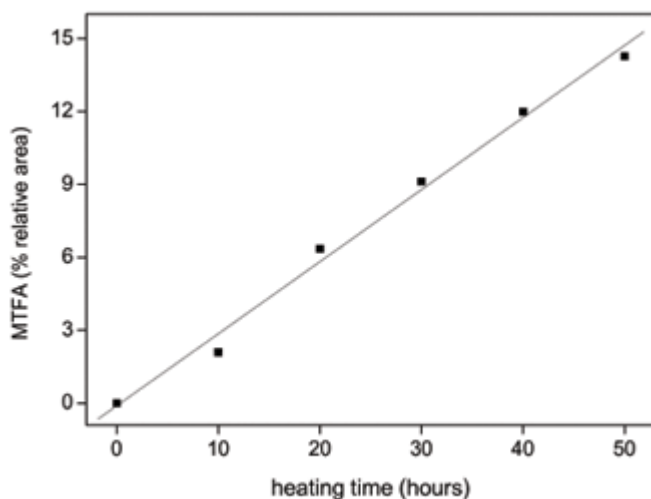
των λινελαϊκών και α-λινολενικών οξέων κατά τη διάρκεια της απόσπησης του ελαίου ελαιοκράμβης σε εργαστηριακή κλίμακα και παρατήρησε την ύπαρξη μιας κρίσιμης θερμοκρασίας επί της οποίας ήταν έντονη η ισομερείωση. Για το α-λινολενικό οξύ, αυτή η θερμοκρασία ήταν στην περιοχή 220-230°C και για το λινελαϊκό οξύ ήταν υψηλότερη από 240°C. Ως αποτέλεσμα, μετά από 4ωρη απόσπηση στους 270°C, περίπου 80% του α-λινολενικού οξέος έπαθε ισομερείωση, ενώ μόνο το 13% του λινελαϊκού οξέος παρήγαγε TFA (Hou et al., 2012 ; Martin et al., 2007).

- Τηγάνισμα

Το τηγάνισμα σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες είναι η κύρια βάση της προετοιμασίας των περισσότερων επεξεργασμένων και τηγανισμένων τροφίμων (Goyal et al., 2009). Κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος, το λίπος / λάδι λειτουργεί ως μέσο μεταφοράς θερμότητας, η θερμότητα μεταφέρεται από το λάδι στα τρόφιμα με την προκύπτουσα εξάτμιση του νερού των τροφίμων και την απορρόφηση του λαδιού, εκτίθεται συνεχώς σε αυξημένες θερμοκρασίες παρουσία αέρα και υφίσταται υδρόλυση, οξειδωση και πολυμερισμό, με αποτέλεσμα την επιδείνωση της ποιότητας, προκαλώντας έτσι αλλαγές όχι μόνο στις αισθήσεις αλλά και στις θρεπτικές ιδιότητες (εμφάνιση, άρωμα, γεύση) (Goyal et al., 2009 ; Martin et al., 2007). Ως αποτέλεσμα, ένα πλήθος προϊόντων όπως τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, μόνο- και διακυλογλυκερόλες, οξειδωμένα μονομερή, διμερή και πολυμερή σχηματίζονται, τα οποία στη συνέχεια ενσωματώνονται στα τρόφιμα και είναι υπεύθυνοι για την εμφάνιση, το άρωμα και την γεύση της τηγανισμένης τροφής. (Bhardwaj et al., 2011).

Ο σχηματισμός TFA κατά η διάρκεια του τηγανίσματος των τροφίμων σχετίζεται στενά με τη θερμοκρασία της διαδικασίας, το χρόνο και τις φορές χρήσης του λαδιού (Bhardwaj et al., 2016 ; Martin et al., 2007 ; Moreno et al., 1999 ; Sanibal et al., 2004). Το υψηλό αρχικό περιεχόμενο των *trans*- λιπαρών οξέων οδηγεί σε μεγαλύτερη συγκέντρωση *trans*- ισομερών σε τηγανητά τρόφιμα (Bhardwaj et al., 2016 ; Martin et al., 2007). Περαιτέρω, τα δεδομένα έδειξαν επίσης, αύξηση στις συγκεντρώσεις *trans*- ισομερών με αύξηση της θερμοκρασίας και της διάρκειας της

θέρμανσης (Bhardwaj et al., 2016). Σε μια μελέτη για το σχηματισμό TFA κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος πατάτας σε σογιέλαιο στους περίπου 180°C με φιλτράρισμα και επανατοποθέτηση λαδιού κάθε 10 ώρες, οι Sanibal και Mancini-Filho (2004) παρατήρησαν σημαντική αύξηση του MTFA στο λάδι με αυξανόμενο χρόνο θέρμανσης. Παρατηρήθηκε μεγαλύτερο περιεχόμενο της ομάδας PTFA μετά από τηγάνισμα 10 ωρών που αντιστοιχεί σε αύξηση 55,2% σε σχέση με την ποσότητα που αρχικά υπήρχε στο λάδι (2,1%) (Martin et al., 2007). Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από τα MTFA έδειξαν ότι ο σχηματισμός αυτών των ισομερών εξαρτάται γραμμικά από το χρόνο τηγανίσματος, με περίπου 0,3% αύξηση της ισομερείωσης ανά ώρα, σε σχέση με τα ολικά οξέα στο έλαιο (Εικόνα 7) (Martin et al., 2007).



Εικόνα 7 : Σχηματισμός MTFA κατά το τηγάνισμα (Martin et al., 2007)

Ο Wolff (1993) απέδειξε ότι ο σχηματισμός οξέων *trans*- C18: 2 και C18: 3 εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το χρόνο θέρμανσης και τη θερμοκρασία και ότι ξεκινά γύρω στους 190 ° C (Hou et al., 2012). Με βάση αυτά τα δεδομένα, αρκετές ευρωπαϊκές χώρες έχουν προτείνει ότι η θερμοκρασία του τηγανίσματος δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 180 ° C και μάλιστα έχουν κανονισμούς κατά της χρήσης αλλοιωμένων λαδιών τηγανίσματος (Bhardwaj et al., 2016). Στη Γαλλία, έχει αποδειχθεί ότι το λάδι που χρησιμοποιείται στο εμπόριο για τηγάνισμα πρέπει να περιέχει το πολύ 3% α-λινολενικό οξύ (Martin et al., 2007). Αυτά τα μέτρα όχι μόνο συμβάλλουν στη μείωση της αποδόμησης των ακόρεστων λιπαρών οξέων, αλλά επίσης οδηγούν σε χαμηλότερο σχηματισμό MTFA και PTFA κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος.

Όμως ο Tsuzuki (2010) ισχυρίζεται ότι δεν σχηματίζονται κατά την διαδικασία αυτή και ανέφερε ότι μια συνηθισμένη διαδικασία τηγανίσματος που χρησιμοποιεί μη υδρογονωμένα έλαια έχει μικρή επίδραση στην πρόσληψη TFA από βρώσιμα έλαια. Δεν σχηματίστηκαν *trans*- λιπαρά οξέα σε μη υδρογονωμένο σογιέλαιο κατά τη θέρμανση στους 160, 180 ή 200 ° C για 24 ώρες, υπονοώντας ότι το *trans*- λιπαρό οξύ μπορεί να σχηματιστεί μόνο υπό δραστικές συνθήκες θέρμανσης, δηλαδή θέρμανση του λαδιού σε υψηλές θερμοκρασίες ή επαναχρησιμοποίηση του λαδιού πολλές φορές (Dhaka et al., 2011).

Το τηγάνισμα θεωρείται ένας παράγοντας που συμβάλλει στον σχηματισμό *trans*- λιπαρών οξέων (TFA), ο οποίος πιστεύεται ότι είναι προϊόν μερικής υδρογόνωσης (Bhardwaj et al., 2016). Μελέτες αξιολόγησης της ποιότητας του λαδιού μετά το τηγάνισμα χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία υπέρυθρων μετασχηματισμών Fourier (FTIR) έχουν δείξει απώλεια *cis*- διπλών δεσμών μαζί με αύξηση σε *trans*- ακορεστότητα, επιβεβαιώνοντας έτσι τον σχηματισμό TFA κατά τη διάρκεια της διαδικασίας (Bhardwaj et al., 2011; Goyal et al., 2009).

Κεφάλαιο 2: Οι επιπτώσεις των *trans*- λιπαρών οξέων στην υγεία των ανθρώπων

Τα *trans*- λιπαρά οξέα, λόγω της ικανότητάς τους να αυξάνουν τη διάρκεια ζωής των προϊόντων παρέχουν το πλεονέκτημα της χαμηλής τιμής αυτών που παράγουν (ντόνατς, μάρκες, μαργαρίνη, καραμέλα, κ.λπ.) (Vartolaş et al., 2019). Ωστόσο η κατανάλωση αυτών ενδέχεται να βλάπτει την ανθρώπινη υγεία, πολλαπλασιάζοντας τον κίνδυνο καρδιακών παθήσεων, διαβήτη και καρκίνο (Vartolaş et al., 2019).

Με την πρόσληψη των *trans*- λιπαρών οξέων μέσω της διατροφής, αυτά μπορούν να απορροφηθούν και να ενσωματωθούν στα λιπίδια του ιστού κι επομένως να μεταφερθούν σ' άλλα λιπαρά οξέα, με σκοπό να καταμεριστούν σε κλάσματα φωσφολιπιδίων των λιποπρωτεϊνών και εντός της χοληστερόλης, ενώ εντοπίζονται και στους περισσότερους ιστούς του σώματος (Stender et al., 2004). Τοιουτοτρόπως η κατανάλωση τους οδηγεί στην αύξηση των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL) σε παρεμφερές επίπεδο με αυτό των κορεσμένων λιπαρών, ωστόσο μειώνουν και τις λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (HDL) (Hunter, 2005 ; Vartolaş. et al., 2019). Σύμφωνα με τα παραπάνω τα *trans*- λιπαρά οξέα θεωρούνται πιο επιβλαβή για την ανθρώπινη υγεία σε σχέση με τα κορεσμένα λιπαρά οξέα (Τσάκνης, Γ. 2018).

Ένα ακόμα πρόβλημα το οποίο δημιουργείται από την κατανάλωση των TFA είναι η αλληλεπίδραση τους με τα απαραίτητα λιπαρά οξέα. Επακόλουθο αυτού είναι ν' αναστέλλεται η μετατροπή τους, αυξάνοντας έτσι τις απαιτήσεις πρόσληψής τους (Τσάκνης, Γ. 2018). Συνάμα δε τα TFA έχουν την δυνατότητα να αναστείλουν τα ένζυμα που εμπλέκονται στη μετατροπή του λινελαϊκού οξέος (C18:2) προς οξέα υψηλότερης ακορεστότητας και μακρύτερης αλυσίδας (π.χ. αραχιδονικό οξύ (C20:4)) (Liu et al., 2007), τα οποία αποτελούν πρόδρομες ουσίες των εικοσανοειδών ενώ επίσης μερικά ανταγωνίζονται με το ελαϊκό οξύ (C18:1) για τα ένζυμα που μετατρέπουν το λινελαϊκό στους μεταβολίτες του (Khan et al., 2017).

Ενώ τα *TFA* ακολουθούν την ίδια μεταβολική οδό με τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα, απορροφώνται σε υψηλό βαθμό από τον οργανισμό με την απορρόφηση των μονοακόρεστων *TFA* να φτάνει και το 95% χωρίς όμως να γίνεται επιλεκτική συσσώρευση στους ιστούς και τελικά οξειδώνονται προς παραγωγή ενέργειας (Gashaw et al., 2018 ; Stender et al., 2004). Πολλές επιστημονικές μελέτες χρεώνουν στην κατανάλωση των τεχνητών *trans*- λιπαρών οξέων την αύξηση των καρδιαγγειακών παθήσεων, καρκίνου, διαβήτη, αρτηριοσκλήρωσης κ.ά. (Stender et al., 2004).

2.1 *Trans*- λιπαρά οξέα και καρδιαγγειακές παθήσεις

Στα περισσότερα κράτη οι καρδιαγγειακές παθήσεις είναι η κύρια αιτία θανάτου με τις Ηνωμένες Πολιτείες να σημειώνουν 30.000-100.000 πρόωρους θανάτους ετησίως εξαιτίας της κατανάλωσης *trans*- λιπαρών οξέων προερχόμενα από μερικώς υδρογονωμένα έλαια (Dhaka et al., 2011 ; Gashaw et al., 2018 ; Katan, 2000). Υπολογίζεται ότι 17,1 εκατομμύρια άνθρωποι πέθαναν από καρδιαγγειακές παθήσεις το 2004, αντιπροσωπεύοντας το 29% όλων των παγκόσμιων θανάτων (Albuquerque et al., 2011). Συνήθως οι μελέτες που συνδέουν την πρόσληψη των *TFA* με την εμφάνιση καρδιακών νοσημάτων (Gashaw et al., 2018) εμφανίζουν δυσκολίες εξαιτίας της αβεβαιότητας που συνδέεται με τη διατροφική πρόσληψη όσο και στις αμφιταλαντεύσεις σχετικά με την ποσότητα των *trans*- λιπαρών οξέων που μπορεί να διαφέρει από προϊόν σε προϊόν (Katan, 2000). Ακόμα και όταν η κατανάλωση τους κυμαίνεται σε χαμηλά επίπεδα (1 έως 3% της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης) αυτά φαίνεται να αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο στεφανιαίας νόσου (Albuquerque et al., 2011 ; Katan, 2000 ; Yang et al., 2014) περισσότερο από κάθε άλλο μακροθρεπτικό συστατικό (υδατάνθρακες), αν τα συγκρίνουμε με ισοθερμιδική αντικατάσταση (Katan, 2000).

Σε έρευνα που έγινε σε ομάδα 140.000 ατόμων, διαπιστώθηκε πως μία αύξηση της τάξεως του 2% στην πρόσληψη ενέργειας από *trans*- λιπαρά οξέα, περίπου 4 gr την ημέρα ή 40 θερμίδες ημερησίως σε σύνολο 2000 kcal, συσχετίζεται με μία

αύξηση 23% στη συχνότητα παρουσίαση στεφανιαίας νόσου (Aro, 2001 ; Albuquerque et al., 2011 ; Booker et al., 2008 ; Gashaw et al., 2018 ; Stender et al., 2004). Στην έρευνα Nurses' Health Study (NHS) στην οποία συμμετείχαν 120.000 νοσοκόμες και που διήρκησε 14 χρόνια βεβαιώθηκαν οι αποδείξεις για την επίδραση των *TFA* στην στεφανιαία νόσο (Hou et al., 2012 ; Tarrago-Trani et al., 2006). Στην έρευνα αυτή αναλύθηκαν τα δεδομένα 900 στεφανιαίων επεισοδίων και διαπιστώθηκε πως ο κίνδυνος για την εκδήλωση στεφανιαίας νόσου διπλασιάζεται σχεδόν με κάθε αύξηση 2% στην κατανάλωση θερμίδων από *trans*-λιπαρά οξέα (Micha et al., 2008 ; Mozaffarian et al., 2009). Ενώ για την επίτευξη του ίδιου επιπέδου του κινδύνου, το ανάλογο ποσοστό για τα κορεσμένα λιπαρά ισοδυναμεί με το 15% των συνολικών θερμίδων (Goyal et al., 2009 ; Yang et al., 2014).

Τα *trans*- λιπαρά οξέα φαίνεται να συμβάλλουν στις καρδιακές παθήσεις μέσω ενός αριθμού μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένου της επίδρασης τους στην συνολική χοληστερόλη και στους δείκτες φλεγμονής όπως η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη και η ιντερλευκίνη-6 (Goyal et al., 2009). Επίσης, έχει αποδειχθεί ότι επιδρούν δυσμενώς τον μεταβολισμό των λιποπρωτεϊνών, με αποτέλεσμα να παρατηρούνται υψηλότερα επίπεδα LDL, ελάττωση του μεγέθους των σωματιδίων της LDL και της συγκέντρωσης της HDL, αύξηση τριγλυκεριδίων και λιποπρωτεΐνης (α) (Gashaw et al., 2018 ; Goyal et al., 2009 ; Mozaffarian et al., 2006). Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι η λιποπρωτεΐνη (α) είναι ένα ανεξάρτητος παράγοντας που επηρεάζει την εκδήλωση στεφανιαίας νόσου και γενικά των καρδιαγγειακών ασθενειών όταν αυτή βρίσκεται σε υψηλή συγκέντρωση (Gashaw et al., 2018).

Οι επιπτώσεις από την πρόσληψη των *trans*- λιπαρών φαίνεται να σχετίζονται και με βιολογικές συνέπειες στα ηπατοκύτταρα (π.χ. μεταβολισμός λιπιδίων) (Ashraf et al., 2019), στα μονοκύτταρα (π.χ. συστηματική φλεγμονή) και στα λιποκύτταρα (π.χ. παχυσαρκία, ομοιόσταση γλυκόζης-ινσουλίνης). Κάθε ένας από αυτούς τους ιστούς έχει καθοριστική σπουδαιότητα για τον κίνδυνο εκδήλωσης καρδιαγγειακής νόσου (Liu et al., 2007 ; Willett et al., 1993).

Ένας ακόμη μηχανισμός με τον οποίο τα *TFA* εμπλέκονται στην εμφάνιση στεφανιαίας νόσου είναι η αθηροσκλήρωση που προκαλούν τόσο στις αρτηρίες όσο και στις φλέβες, προξενώντας θρόμβους στο αίμα (Ashraful et al., 2019 ; Dhaka et al., 2011 ; Goyal et al., 2009 ; Willett et al., 1993). Μπορούν ακόμη ν' αναστείλουν το ένζυμο COX-2 (κυκλοοξυγενάση-2), το οποίο μετατρέπει το αραχιδονικό οξύ σε προσταγλανδίνη H₂, η οποία είναι αναγκαία για την πρόληψη σχηματισμού θρόμβων στις στεφανιαίες αρτηρίες, οι οποίοι μπορούν να οδηγήσουν σε αιφνίδιο θάνατο (Bhardwaj et al., 2011 ; Goyal et al., 2009).

Ενδέχεται επίσης, η πρόσληψη των *trans*- λιπαρών οξέων σε μεγάλο ποσοστό να επιφέρει την ενσωμάτωση τους στα μυϊκά κύτταρα της καρδιάς όσο και στο σύστημα αγωγιμότητας το οποίο μπορεί να ενισχύσει τις καρδιακές αρρυθμίες, αυξάνοντας έτσι τον κίνδυνο αιφνίδιου θανάτου, αν αυτές συνδυαστούν με ένα οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (Ascherio et al., 1994 ; Goyal et al., 2009). Αυτό ενδεχομένως οφείλεται στην αλλαγή της σύνθεσης των λιπαρών οξέων που υπάρχουν στις μεμβράνες των μυϊκών κυττάρων κι επιπλέον επιδρά στη λειτουργία των ιοντικών διαύλων, που είναι σημαντικοί για τον σχηματισμό και την διάδοση των παλμών στα κύτταρα (Mahfouz, 1981)

Αξίζει να σημειωθεί ότι η μείωση της κατανάλωσης τεχνητών *trans*- λιπαρών οξέων ακολουθείται κι από μείωση της θνησιμότητας από καρδιακά νοσήματα όπως διαπιστώθηκε στη Δανία όπου η ημερήσια πρόσληψη μειώθηκε από 6 γραμμάρια το 1976 σε 1-2 γραμμάρια στις μέρες μας και υπήρξε μείωση κοντά στο 50% (Ashraful et al., 2019 ; Dhaka et al., 2011). Παρ' όλων των αλλαγών στον τρόπο ζωής των ανθρώπων σε αυτά τα χρόνια, επιβάλλεται να σημειωθεί ότι απ' όταν υπήρξε άνοδος στην κατανάλωση των *TFA* αυξήθηκε κι η θνησιμότητα από καρδιακά νοσήματα (Willett et al., 1993).

2.2 *Trans*- λιπαρά οξέα και λιποπρωτεΐνες

Μεταγενέστερες επιστημονικές μελέτες, επαληθεύουν τις προηγούμενες και αποδεικνύουν με τη σειρά τους τις δυσμενείς επιπτώσεις των *trans*- λιπαρών οξέων στις λιποπρωτεΐνες. Σύμφωνα με την περιεκτικότητα τους σε λιποειδή, οι λιποπρωτεΐνες χαρακτηρίζονται ως LP χαμηλής πυκνότητας (υψηλό περιεχόμενο

σε λιποειδή) και ως HP υψηλής πυκνότητας (χαμηλό περιεχόμενο σε λιποειδή) (Ghafoorunissa, G. 2008 ; Perwaiz, 2014).

Οι χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (LDL) περιέχουν και το μεγαλύτερο ποσοστό της χοληστερόλης του αίματος κι ενοχοποιούνται για τις περισσότερες βλάβες των στεφανιαίων αρτηριών, ενώ οι λιποπρωτεΐνες υψηλής πυκνότητας (HDL) θεωρούνται επιθυμητές. Τα επιπλέον του φυσιολογικού, επίπεδα της LDL ενοχοποιούνται για την αυξημένη εμφάνιση ισχαιμικής καρδιοπάθειας, ενώ αντίστοιχα τα υψηλά επίπεδα HDL συνδέονται με μειωμένη συχνότητα. Η χοληστερόλη HDL, είναι ένας ισχυρός προγνωστικός παράγοντας του κινδύνου στεφανιαίας νόσου (Coronary Heart Disease-CHD) (Ghafoorunissa, 2008 ; Katan, 2000). Προς τούτο κι η αναλογία μεταξύ LDL και HDL επισημαίνεται ως δείκτης κινδύνου σε σχέση με την ανάπτυξη καρδιακής νόσου (Żbikowska, 2010 ; Perwaiz, I.M. 2014). Όσο δε μεγαλύτερη είναι η αναλογία, τόσο υψηλότερος ο κίνδυνος (Katan, 2000 ; Perwaiz, 2014).

Η αυξημένη πρόσληψη *trans*- λιπαρών οξέων επιφέρει αύξηση της συγκέντρωσης της LDL και μείωση της HDL αυξάνοντας έτσι την αναλογία μεταξύ LDL και HDL χοληστερόλης (Ashraf et al., 2019 ; Bhardwaj et al., 2016 ; Żbikowska, 2010 ; Gashaw et al., 2018 ; Mozaffarian et al., 2006). Μία αύξηση 2% της ενέργειας από την πρόσληψη τους αυξάνει την αναλογία κατά 0,1 ενώ για τα κορεσμένα λιπαρά απαιτείται αύξηση 5% (Katan, 2000 ; Mozaffarian et al., 2006). Αύξηση κατά 0,1 της αναλογίας αυτής αντιστοιχεί περίπου σε 5% μεγαλύτερο κίνδυνο εκδήλωσης καρδιακής νόσου (Mozaffarian et al., 2006).

Μία εκ των πρώτων μελετών που ασχολήθηκαν με τις επιρροές των *trans*- μονοακόρεστων λιπαρών οξέων από υδρογονωμένα λάδια στο προφίλ των λιποπρωτεϊνών του ορού, δημοσιεύτηκε το 1990 από τους Mensink και Katan. Κατά την μελέτη αυτή σημειώθηκε σημαντική αύξηση της ολικής και της LDL χοληστερόλης (LDL-C) ενώ συγχρόνως μειώθηκε η συγκέντρωση της HDL χοληστερόλης (HDL-C) (Katan, 2000 ; Perwaiz, 2014). Πιο αναλυτικά, στα υγιή άτομα που συμμετείχαν στην έρευνα, η HDL μειώθηκε κατά 21% με αντικατάσταση 10% της ενέργειας που προερχόταν από κορεσμένα λιπαρά με *trans*- λιπαρά οξέα ((Hou et al., 2012 ; Perwaiz, 2014).

Λαμβάνοντας υπόψη πιο πρόσφατες έρευνες μία αύξηση στην πρόσληψη των *trans*- MUFA της τάξεως του 1% της ενέργειας σε βάρος των υδατανθράκων είχε ως συνέπεια την αξιοσημείωτη αύξηση της συγκέντρωσης της LDL χοληστερόλης κατά 0,040 mmol/L, ενώ δεν επηρέασε την συγκέντρωση της HDL χοληστερόλης (Ashraful et al., 2019 ; Bhardwaj et al., 2016). Επιπρόσθετα, συγκριτικά με τα υπόλοιπα λιπαρά οξέα τα *trans*- MUFA παρουσιάζουν τις αρνητικότερες επιπτώσεις σε σχέση με την HDL χοληστερόλη (Liu et al., 2007).

2.3 *Trans*- λιπαρά οξέα και καρκίνος

Η επίδραση των *trans*- λιπαρών οξέων στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου δεν έχει ερευνηθεί στον αντίστοιχο βαθμό με τις καρδιακές παθήσεις. Μία από τις πρώτες έρευνες είναι η έκθεση McGovern το 1977, η οποία κατέληξε στο συμπέρασμα ότι υπήρχε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των *TFA* και του καρκίνου του μαστού (Ashraful, 2019) ή του παχέος εντέρου. Πιθανός μηχανισμός της επίδρασης τους θεωρήθηκαν οι αλλαγές που επιφέρουν τα λιπαρά οξέα στην διαπερατότητα της μεμβράνης σε καρκινογόνους παράγοντες. Στην αρχή είχαν ενοχοποιηθεί τα κορεσμένα λιπαρά ως κύριος υπεύθυνος, αλλά στη συνέχεια με στατιστικά στοιχεία διαπιστώθηκε μια σχέση ανάμεσα στην πρόσληψη φυτικών λιπαρών με τον καρκίνο κι υποστηρίχθηκε ότι η αύξηση της κατανάλωσης *trans*-λιπαρών οξέων από υδρογονωμένα φυτικά έλαια μπορεί να θεωρηθεί υπεύθυνη για την σύνδεση μεταξύ των διαιτητικών λιπαρών και του καρκίνου (Albuquerque et al., 2011). Έκτοτε, υπήρξε εκτενής σειρά μελετών που βασίζονται στην παραδοχή ότι η αύξηση κατανάλωσης *TFA* μπορεί να επηρεάσει την εμφάνιση καρκίνου και κυρίως του καρκίνου του μαστού, του παχέος εντέρου και του προστάτη (Albuquerque et al., 2011 ; Ashraful et al., 2019).

Σύμφωνα με τη μελέτη EURAMIC του 1977, η σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης των *trans*- λιπαρών οξέων στο λιπώδη ιστό κι η συχνότητα παρουσίασης καρκίνου του μαστού, του προστάτη και του παχέος εντέρου διερευνήθηκε σε ευρωπαϊκούς πληθυσμούς με μεγάλες ασυμφωνίες στην κατανάλωση *TFA* και μεταξύ τους ανακαλύφθηκε θετικός συσχετισμός (Albuquerque et al., 2011 ; Dhaka et al., 2011). Συγκεκριμένα τ' αποτελέσματα

βασίστηκαν στην μέτρηση των συνολικών *TFA* του λιπώδους ιστού σε 690 ασθενείς. Μία αύξηση ενός γραμμαρίου *trans*- λιπαρών οξέων ανά 100 γραμμάρια λιπαρών οξέων στο λιπώδη ιστό αντιστοιχεί σε αύξηση των περιπτώσεων καρκίνου κατά 19,3 ανά 100.000 άτομα (Albuquerque et al., 2011).

Γυναίκες με υψηλή συγκέντρωση *trans*- λιπαρών οξέων στον ορό, σε αντιπαράθεση με γυναίκες με τα χαμηλότερα επίπεδα, διπλασιάζουν τον ρίσκο εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Dhaka et al., 2011). Σε ανάλογη μελέτη όπου αναλύθηκαν 941 περιπτώσεις καρκίνου του μαστού (Netherlands Cohort Study) και καταγράφηκαν τα επίπεδα των *trans*- και *cis*- λιπαρών οξέων στον ορό του αίματος των γυναικών, ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού παρουσίασε αύξηση ανάλογη με αυτήν του επιπέδου *trans*- λιπαρών οξέων. Εξ αυτού είναι ολοφάνερη η ενοχοποίηση της κατανάλωσης επεξεργασμένων τροφών τα οποία περιέχουν μεγάλη συγκέντρωση *TFA* (Dhaka et al., 2011). Ωστόσο, αποτελέσματα άλλων αντιφατικών ερευνών δείχνουν ότι άλλοι παράγοντες, όπως η γενετική προδιάθεση, τα συστατικά των τροφίμων (Albuquerque et al., 2011 ; Gashaw et al., 2018) κι η πρόσληψη πολυακόρεστων λιπαρών οξέων παίζουν καθοριστικό ρόλο στην επίδραση των *trans*- λιπαρών οξέων στην ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού (Ashraf et al., 2019 ; Τσάκνης, 2018).

Σε τρεις σπουδαίες μελέτες Nurses' Health Study, Hormone and Diet Etiology of Breast Cancer (ORDET) και New York Women's Health Study οι οποίες παρακολουθούσαν τους συμμετέχοντες έως και 20 χρόνια, δεν βρέθηκαν ισχυρές αποδείξεις για την επίδραση των *TFA* στην εμφάνιση καρκίνου του μαστού (Dhaka, et al., 2011 ; Gashaw et al., 2018). Υπάρχουν όμως σοβαρές ενδείξεις ότι το C18:1, t9, συνδέεται με τον καρκίνο του μαστού σε γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση (Gashaw et al., 2018).

Ο καρκίνος του μαστού είναι ένας από τους πιο συνηθισμένους καρκίνους κι είναι η κύρια υπαίτιος θνησιμότητας των γυναικών σ' όλο τον κόσμο (Gashaw et al., 2018). Οι Kohlmeier et al. (1997) εξέτασαν τη σχέση μεταξύ *TFA* και καρκίνου του μαστού σε γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση σε ευρωπαϊκούς πληθυσμούς, όπου οι διατροφικές συνήθειες όσον αφορά την πρόσληψη λίπους διαφοροποιούνται (Dhaka, et al. 2011). Τα αποτελέσματα έδειξαν τη θετική συσχέτιση της

συγκέντρωσης των *TFA* με τον καρκίνο του μαστού, μη οφειλόμενο σε διαφορές στην ηλικία, τον δείκτη μάζας σώματος, τη χρήση εξωγενών ορμονών. Τα νέα αυτά ευρήματα συνιστούσαν συσχέτιση των επιπέδων *TFA* με τον μετεμμηνοπαυσιακό καρκίνο του μαστού σε γυναίκες της Ευρώπης, αλλά προϋποθέτουν επιβεβαίωση και σε άλλους πληθυσμούς, με ταυτόχρονη εξέταση των πιθανών ρόλων των διαιτητικών κορεσμένων και μονοακόρεστων λιπών (Dhaka et al., 2011 ; Gashaw et al., 2018).

Σε μελέτες που έγιναν ώστε να διερευνηθεί η πιθανή συσχέτιση ανάμεσα στα *trans*- λιπαρά οξέα και στον καρκίνο του προστάτη, βρέθηκε ότι αυτά παρεμποδίζουν την μεταγραφή των γονιδίων, καθώς κι άλλων επιθηλιακών όγκων. Στην εμφάνιση καρκίνου του προστάτη συμμετέχει και η γενετική μεταβολή σε σημαντικό βαθμό. Έρευνες που σκόπευσαν στη σύνδεση ανάμεσα στη γενετική προδιάθεση και την πρόσληψη *trans*- λιπαρών οξέων επιβεβαιώθηκαν (Ashraful, et al., 2019 ; Dhaka et al., 2011). Συμφώνα με πιο νεόκοπες έρευνες παρατηρήθηκε ότι η σύνδεση αυτή γίνεται ισχυρότερη στους παχύσαρκους κι υπέρβαρους άνδρες από ότι σε αυτούς με φυσιολογικό δείκτη μάζας σώματος (Dhaka et al., 2011). Επιπροσθέτως, αρκετά δεδομένα υπονοούν ότι η πρόσληψη *trans*- λιπαρών μπορεί να επηρεάσει την φλεγμονή και την αντίσταση στην ινσουλίνη κι αυτά με την σειρά τους να προκαλέσουν την εμφάνιση του καρκίνου του προστάτη (Dhaka et al., 2011). Οι γνώσεις όμως αυτές δεν αρκούν για την διεξαγωγή αξιόπιστων συμπερασμάτων κι απαιτούνται περισσότερες έρευνες για να εντοπισθούν ποια ακριβώς *trans*- λιπαρά οξέα και με ποιον μηχανισμό επηρεάζουν την εμφάνιση του καρκίνου (Ashraful, et al., 2019 ; Τσάκνης, 2018).

Επιπροσθέτως σε έρευνες που εξέτασαν την πρόσληψη *TFA* σε άτομα με την εμφάνιση καρκίνου του παχέος εντέρου, παρατηρήθηκε μια θετική συσχέτιση μεταξύ τους καθώς κι η κατανάλωση υψηλών ποσοτήτων αυτών των λιπαρών αυξάνει τον κίνδυνο νεοπλασιών (Dhaka, et al., 2011). Υπεύθυνοι θεωρούνται οι μηχανισμοί, όπως η μεταβολή της συγκέντρωσης των λιπαρών οξέων ή των χολικών οξέων που βρίσκονται στο κόλον μέσω των οποίων τα *trans*- λιπαρά οξέα επηρεάζουν τις νεοπλασίες (Willett et al., 1993). Κάτι τέτοιο μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό του βλεννογόνου στο κόλον, αυξάνοντας το οξειδωτικό στρες και την φλεγμονή. Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός είναι η αυξημένη αντίσταση στην

ινσουλίνη, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού το οποίο συνδέεται με τον καρκίνο του παχέος εντέρου. Επιπροσθέτως η χρόνια φλεγμονή, όπως και στην περίπτωση του καρκίνου του προστάτη, η οποία συνδέεται με την αυξημένη πρόσληψη *TFA* επηρεάζει την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου (Willett et al., 1993 ; Τσάκνης, 2018).

Σε έρευνα που συμμετείχαν 1455 ασθενείς (άνδρες και γυναίκες) και 1455 άτομα ως ομάδα ελέγχου εντοπίστηκε μια ισχυρή σύνδεση ανάμεσα στα *trans*-λιπαρά οξέα και κυρίως στο *trans*-ισομερές 18:1, όπου εμφανίστηκε καρκίνος του παχέος εντέρου στις γυναίκες (Dhaka, et al., 2011). Σε άλλες έρευνες, που έγιναν σε γυναίκες μεγάλης ηλικίας 55-69 ετών τα αποτελέσματα τους δεν χρεώνουν στα *TFA* σημαντική σχέση με τον παράγοντα εμφάνισης αυτού του τύπου καρκίνου (Willett et al., 1993). Επίσης σε μία ακόμα έρευνα για την επίδραση τους στον καρκίνο του παχέος εντέρου, πήραν μέρος 2000 ασθενείς κι άλλα 2000 άτομα ως ομάδα ελέγχου και βρέθηκαν ενδείξεις όπου η πρόσληψη τους συνδεόταν με τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου (Dhaka, et al., 2011).

Επιπροσθέτως η πρόσληψη *trans*- λιπαρών οξέων έχει συνδεθεί και με το λέμφωμα Non-Hodgkin's. Σύμφωνα με την έρευνα Nurses' Health Study έπειτα από παρακολούθηση 14 ετών εντοπίστηκε ότι πολλαπλασιάζεται ο κίνδυνος εμφάνισης αυτού του λεμφώματος (Dhaka et al., 2011). Ωστόσο πρέπει να σημειωθεί πως οι διαδικασίες παρασκευής των τροφίμων κι οι επιλογές στην διατροφή τροποποιήθηκαν σημαντικά κατά τη χρονική διάρκεια της έρευνας (Dhaka, et al., 2011).

Ο μηχανισμός με τον οποίο τα *TFA* αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου δεν έχει καθοριστεί επακριβώς. Εικάζετε όμως πως η ενσωμάτωση τους στην κυτταρική μεμβράνη των φωσφολιπιδίων είναι μία άποψη αρκετά πιθανή, καθώς η ενσωμάτωση τους στην διπλή στιβάδα προκαλεί μία αλλαγή στην δομή της η οποία μεταβάλλει την κυτταρική λειτουργία (Willett et al., 1993). Επίσης, η ενσωμάτωσή τους στις μεμβράνες των λιποκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων μπορεί να μεταβάλλει την λειτουργία των συνδεδεμένων υποδοχέων με τη μεμβράνη και να επηρεάσει την αλληλουχία των σημάτων που σχετίζονται με την φλεγμονή (Dhaka, et al., 2011).

2.4 *Trans*- λιπαρά οξέα και εμβρυϊκή ανάπτυξη

Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης η διατροφή της μητέρας επιδρά στην ανάπτυξη του εμβρύου κι εντοπίστηκε η ύπαρξη μιας αξιόλογης σχέσης μεταξύ αυτής και των *TFA* (Hornstra et al., 2006). Η ανάπτυξη του εμβρύου εκτιμάται από το βάρος του κατά τη γέννηση. Η εμφάνιση διαβήτη, καρδιαγγειακών νόσων και τα προβλήματα στον μεταβολισμό στην ενήλικη ζωή συνδέονται με την διαφοροποίηση του βάρους του βρέφους που μπορεί να είναι είτε χαμηλότερο είτε υψηλότερο από το φυσιολογικό. Σύμφωνα με τους Koletzko & Decsi [1997], τα *TFA*s μπορούν να συμβάλλουν αντιστρόφως στο βρεφικό βάρος γέννησης σε πρόωρα και υγιή μωρά καθώς και στη μείωση της διάρκειας της εγκυμοσύνης (Dhaka, et al., 2011 ; Żbikowska, 2010 ; Larqué, 2001).

Οι πρώτες έρευνες που διενεργήθηκαν σχετικά με αυτό το ζήτημα, έδειξαν ότι ο πλακούντας μπορούσε να σταθεί εμπόδιο στα *trans*- λιπαρά οξέα, αλλά μετέπειτα έρευνες των Koletzko και Muler απέδειξαν ότι τα λιπαρά αυτά μπορούν να ενσωματωθούν στους ιστούς επειδή βρέθηκαν *TFA* στο ίδιο επίπεδο στο αίμα των βρεφών και της μητέρας (Decsi et al., 2001 ; Żbikowska, 2010 ; Goyal et al., 2009 ; Larque, 2001 ; Wandall, 2008). Εφόσον ο ανθρώπινος οργανισμός δεν παράγει *trans*- λιπαρά, αυτά προέρχονται από τη διατροφή της μητέρας (Żbikowska, 2010 ; Goyal et al., 2009). Οι Elias και Innis (2001) έδειξαν ότι τα επίπεδα *trans*- λιπαρών οξέων συμπεριλαμβανομένου του συζευγμένου λινελαϊκού οξέος (CLA) στο ομφαλικό αίμα των νεογνών καθρεπτίζουν τα επίπεδα των *trans*- λιπαρών οξέων της μητέρας στο αίμα και επομένως την πρόσληψη *trans*- λιπαρών οξέων της μητέρας (Dhaka et al., 2011).

Σε έρευνα που έγινε σε 1369 μητέρες σημειώθηκε ότι τα *TFA* θέτουν σε κίνδυνο την εμβρυϊκή ανάπτυξη (Bhardwaj et al., 2011) και συγκεκριμένα κατά το δεύτερο τρίμηνο της κύησης καθώς μια υψηλότερη πρόσληψη αυτών και ειδικά 16:1t και 18:2 (με έναν *trans*- και έναν *cis*- δεσμό) (κ 18:1 9t) οδήγησε σε μεγαλύτερη ανάπτυξη του εμβρύου σε σχέση με το πρώτο τρίμηνο όπου δεν παρατηρήθηκε κάτι ανάλογο (Bhardwaj et al., 2011 ; Larque, 2001).

Η ενσωμάτωση των *trans*- λιπαρών οξέων στην τη διατροφή έχει αρνητικές επιδράσεις στο προφίλ των απαραίτητων λιπαρών οξέων στους ιστούς θηλασμού (Dhaka, et al., 2011 ; Decsi et al., 2001 ; Larque, 2001 ; Wandall, 2008). Τα DHA (EFA) έπειτα από μία σειρά αντιδράσεων στο σώμα, μετατρέπονται σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας (Dhaka et al., 2011 ; Gashaw et al., 2018). Αυτή η μετατροπή των βασικών λιπαρών οξέων (EFA) σε πολυακόρεστα λιπαρά μακράς ανθρακικής αλυσίδας (LCPUFA) ενδέχεται να 'ναι κρίσιμη, ειδικά στα έμβρυα και τα πρόωρα μωρά που εξαρτώνται από τη μητρική παροχή αυτών των λιπαρών οξέων, όχι μόνο για την ανάπτυξη του εμβρύου αλλά και για την ανάπτυξη και ωρίμανση του εγκεφάλου, το αγγειακό σύστημα και για τη σύνθεση των εικοσανοειδών (Dhaka et al., 2011 ; Gashaw et al., 2018 ; Larque, 2001). Η καθυστερημένη ενδομήτρια ανάπτυξη, οι οπτικές και διανοητικές διαταραχές σχετίζονται με τις δίαιτες με ανεπάρκεια σε PUFA (Larque et al., 2001). Μελέτες που εξέτασαν τον ομφάλιο λώρο νεογνών εντόπισαν μία αρνητική σχέση μεταξύ των *TFA* και δύο πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και συγκεκριμένα του αραχιδονικού οξέος (C20:4) και του εικοσιδυα-εξα-ενοϊκού οξέος (DHA) (C22:6), τα οποία είναι παράγοντες που καθορίζουν τη διάρκεια της κύησης, την ανάπτυξη (βάρος) του εμβρύου αλλά ακόμη και μετά τη γέννηση του (Albuquerque et al., 2011 ; Gashaw et al., 2018 ; Larque et al., 2001). Τα βιομηχανικά παραγόμενα *trans*- λιπαρά οξέα δύναται να παρέμβουν στο μεταβολισμό τους ή να παρεμποδίσουν τη μεταφορά αυτών των πολυακόρεστων οξέων στο έμβρυο (Dalainas, 2008). Μπορούν επίσης να αποτρέψουν τον αποκορεσμό του α-λινολενικού οξέος προς DHA και του λινελαϊκού οξέος προς αραχιδονικό, επηρεάζοντας κατ' αυτόν τον τρόπο την ανάπτυξη του εμβρύου (Liu et al., 2007).

Με βάση τα παραπάνω, έχει αποδειχθεί ότι όταν οι γυναίκες καταναλώνουν *trans*- σε όλη την εγκυμοσύνη και τη γαλουχία, αυτά ενσωματώνονται στα εγκεφαλικά κύτταρα του εμβρύου με αποτέλεσμα ο απόγονος να γίνεται υπερκινητικός σε συνδυασμό με διπολική διαταραχή και ψυχιατρικά προβλήματα ακόμα και οξειδωτική βλάβη στα εγκεφαλικά κύτταρα των μωρών (Gashaw et al., 2018 ; Liu et al., 2007). Επιπλέον έρευνες έχουν δείξει πως αν οι μητέρες τρέφονται με ιχθυέλαιο τότε ο εγκέφαλος του μωρού προστατεύεται από οξειδωτικές βλάβες, διαταραχές μνήμης, συναισθηματικότητα και μανιακή συμπεριφορά (Gashaw et al., 2018).

Επειδή το μητρικό γάλα είναι η μοναδική πηγή θρεπτικών συστατικών, η οποία παρέχει όλα τα απαραίτητα λιπαρά οξέα για την ανάπτυξη τους, τα νεογνά μπορούν να εκτεθούν και κατά τη διάρκεια του θηλασμού στα *trans*- λιπαρά οξέα (Gashaw et al., 2018). Στο ανθρώπινο γάλα μπορούν να παρατηρηθούν *TFA* από υδρογονωμένα φυτικά έλαια τα οποία όμως μπορούν να απομακρυνθούν γρήγορα απ' αυτό, αν αφαιρεθούν από την διατροφή (Decsi et al., 2001 ; Gashaw et al., 2018). Εκτιμάται επίσης πως ένα βρέφος κατά την διάρκεια του θηλασμού καταναλώνει περίπου 0,7 με 1,2 γραμμάρια *TFA* (Decsi et al., 2001 ; Larque, 2001).

Άλλη επενέργεια από την υψηλή πρόσληψη *trans*- λιπαρών οξέων είναι το επικείμενο κακό της προεκλαμψίας, (υπέρταση που προκαλείται από εγκυμοσύνη) (Dhaka et al., 2011 ; Gashaw et al., 2018). Σε μελέτες που έγιναν σε γυναίκες που εμφάνισαν προεκλαμψία, διαπιστώθηκε 30% περίπου υψηλότερα επίπεδα *trans*- λιπαρών οξέων στα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα κυτταρικά τοιχώματα των οποίων χρησιμοποιήθηκαν για να εκτιμηθεί η ποσότητα *trans*- σε σχέση με γυναίκες που δεν εμφάνισαν αυτήν τη διαταραχή (Dhaka et al., 2011).

Έρευνες που έγιναν με πειραματόζωα οδήγησαν σε διαταραχή της αίσθησης του κορεσμού στους απόγονους, μέσω της τροφής τους με υδρογονωμένα φυτικά έλαια πλούσια σε *TFA* κατά τη διάρκεια της κύησης και κατά τον θηλασμό (Gashaw et al., 2018). Αυτά είχαν ως αποτέλεσμα να παρουσιαστούν αρνητικές μεταβολικές συνέπειες, όπως παχυσαρκία, τα οποία παραμένουν ακόμη και μετά τον απογαλακτισμό. Από έρευνες παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης (αντίσταση στην ινσουλίνη) (Gashaw et al., 2018), σωματικού λίπους, αλλαγές στο λιπιδικό προφίλ του αίματος και υπερινσουλιναιμία σε πειραματόζωα (Larque et al., 2001).

Ωστόσο, ο προσδιορισμός των *trans*- λιπαρών οξέων που επηρεάζουν την ανάπτυξη του εμβρύου, την γέννηση και γενικά τον άνθρωπο, είναι πολύπλοκο ζήτημα στο οποίο είναι δύσκολο να ελεγχθούν πολλοί παράγοντες που συμμετέχουν (π.χ. διατροφική κατάσταση, γενετικό υπόβαθρο, τρόπος ζωής και γενική υγεία της μητέρας) και που μπορεί να επηρεάσουν την ανάπτυξη του εμβρύου, νευροανάπτυξη και την ωριμότητα (Larque et al., 2001).

2.5 *Trans*- λιπαρά οξέα και διαβήτης

Από μελέτες που έγιναν τόσο σε ανθρώπους, όσο και σε ζώα κατά την τελευταία δεκαετία, προκύπτει ότι η κατανάλωση *trans*- λιπαρών οξέων οδηγεί στον κίνδυνο ανάπτυξης σακχαρώδη διαβήτη τύπου II (Albuquerque et al., 2011). Για να αυξηθεί ο κίνδυνος ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2, πρέπει τα *TFA* να συμβάλλουν στην αντίσταση στην ινσουλίνη (Albuquerque et al., 2011 ; Bhardwaj et al., 2016 ; Goyal et al., 2009). Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας εκτίμησε ότι το 2000 υπήρχαν 171 εκατομμύρια περιστατικά διαβήτη II , ενώ προβλέπεται ότι το 2030 μπορεί να φτάσουν τα 366 εκατομμύρια. (Goyal et al., 2009).

Δεδομένα από επιδημιολογικές μελέτες υποδεικνύουν ότι η χρόνια κατανάλωση *trans*- λιπαρών οξέων μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη τύπου II, ιδιαίζόντως σε παχύσαρκες γυναίκες με χαμηλή φυσική δραστηριότητα. Το ίδιο συμπέρασμα αποδείχθηκε και από τα αποτελέσματα της μελέτης Nurses' Health, ύστερα από 14 χρόνια παρατήρησης (Goyal et al., 2009). Παρατηρήθηκε δε πως για 2% (3% στις ΗΠΑ) αύξηση της ενέργειας από *TFA* μπορεί να αυξηθεί ο κίνδυνος εμφάνισης διαβήτη τύπου II σε πολύ υψηλό επίπεδο. (Goyal et al., 2009 ; Hu et al., 2001) Ωστόσο θα μπορούσε να υπάρξει μείωση της συχνότητα εμφάνισης διαβήτη τύπου II κατά 40%, εάν οι λιπαρές ύλες που περιείχαν *TFA* καταναλώνονταν στην αρχική τους μορφή, δηλαδή πριν υποστούν υδρογόνωση (πολυακόρεστα λίπη) (Albuquerque et al., 2011 ; Goyal et al., 2009). Πάντως παρόμοια ευρήματα δεν βρέθηκαν στις μελέτες των Iowa Women Study και Health Professionals Study (Goyal et al., 2009).

Η επίδραση των *trans*- λιπαρών στην αντίσταση της ινσουλίνης είναι σημαντικά μεγαλύτερη σε αναλογία με τα κορεσμένα λιπαρά (Albuquerque et al., 2011 ; Goyal et al., 2009). Το ελαιϊδικό οξύ (t9-C18:1) σε σχέση με ελαιϊκό οξύ (c9-C18:1) σε ένα γεύμα πλούσιο σε λιπαρά και όταν το επίπεδο σακχάρου στο αίμα είναι ίδιο, αυξάνει τα επίπεδα ινσουλίνης και έτσι αποδεικνύεται ότι αυξάνει την αντίσταση της ινσουλίνης (Goyal et al., 2009).

Μία πρώτη μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε ασθενείς με διαβήτη τύπου II, ύστερα από δίαιτα έξι εβδομάδων με υψηλή πρόσληψη σε *trans*- λιπαρά οξέα (20%

της συνολικής ενέργειας) έδειξε ότι αυξήθηκαν τα επίπεδα της ινσουλίνης σε σύγκριση με μία δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε *cis*- μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, ενώ η δεύτερη μελέτη στην οποία πήραν μέρος υγιείς νεαρές γυναίκες οι οποίες για 4 εβδομάδες δέχονταν το 5% της ενέργειας από *trans*- λιπαρά οξέα δεν παρουσίασαν κάποια αλλαγή στην ευαισθησία της ινσουλίνης σε σύγκριση με μια δίαιτα εμπλουτισμένη με ελαιϊκό οξύ (Hu et al., 2001).

Σημαντικό ρόλο μπορεί να έχει ο χρόνος που εκτίθεται κάποιος στα *trans*-λιπαρά οξέα. Ποντίκια τα οποία κατά τη διάρκεια της κύησης τρέφονταν με *TFA* έδωσαν απογόνους με λιγότερους υποδοχείς ινσουλίνης (Τσάκνης, 2018). Επίσης, από πείραμα που διεξήχθη σε μαϊμούδες, οι οποίες κατανάλωναν *TFA* για έξι χρόνια, φάνηκε ότι ο μεταβολισμός της γλυκόζης επηρεάστηκε αρνητικά. Τούτο αποδεικνύεται από τη μειωμένη οξειδωτική φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης B κινάσης τόσο στο λιπώδη όσο και στο μυϊκό ιστό, από την υπερινσουλιναιμία μετά το γεύμα και τα αυξημένα επίπεδα φρουκτοζαμίνης (Albuquerque et al., 2011 ; Bhardwaj et al., 2016).

Η ενεργοποίηση των ενδοκυτταρικών κινασών, που μεταβάλλουν τα υποστρώματα του υποδοχέα της ινσουλίνης αλλά και η ενεργοποίηση των παραγόντων μεταγραφής για την έκφραση των γονιδίων της φλεγμονής αποτελούν τον μηχανισμό με τον οποίο τα *trans*- λιπαρά οξέα μπορούν να επηρεάσουν την ευαισθησία στην ινσουλίνη και να συμβάλλοντας στη μειωμένη πρόσληψη γλυκόζης. (Τσάκνης, Γ. 2018).

2.6 *Trans*- λιπαρά οξέα και άλλες επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία

Σύμφωνα με έρευνες έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει σύνδεση ανάμεσα στα *trans*-λιπαρά οξέα με την αύξηση του σωματικού βάρους και την παχυσαρκία (Gashaw et al., 2018). Αν και τα αποτελέσματα είναι περιορισμένα μπορούν παρ' όλα αυτά να υποστηρίξουν μία μικρή αλληλεξάρτηση ανάμεσα στην πρόσληψη *TFA* και στην αύξηση του σωματικού βάρους, κυρίως στην περιφέρεια αλλά και του ενδοκοιλιακού λίπους (Goyal et al., 2009). Σε μελέτη που διεξήχθη σε 16.000

άνδρες σε διάστημα 9 ετών βρέθηκε ότι μία αύξηση 2% στην πρόσληψη των *trans*-λιπαρών οξέων οδηγεί σε αύξηση κατά 2,7 εκατοστά στην περιφέρεια της κοιλιάς (Gashaw et al., 2018 ; Goyal et al., 2009). Μια εξαετή μελέτη αποκάλυψε ότι οι πύθηκοι που τρέφονταν με *TFA* κέρδισαν το 7,2% του σωματικού τους βάρους, σε σύγκριση με το 1,8% για τους πιθήκους που έπαιρναν μονοακόρεστα λιπαρά (Dhaka et al., 2011).

Τα *trans*- λιπαρά οξέα εμφανίζουν στενή σχέση με την συστηματική φλεγμονή η οποία αποτελεί τον ξεχωριστό παράγοντα για την εμφάνιση αρτηριοσκλήρωσης, διαβήτη και καρδιακής ανεπάρκειας (Mozaffarian, 2006 ; Lopez et al., 2005). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μελέτης που έγινε σε 823 υγιείς γυναίκες η αυξημένη πρόσληψη *TFA* συνδέεται με τα αυξημένα επίπεδα ιντερλευκίνης-6 και C-αντιδρώσας πρωτεΐνης στις γυναίκες που είχαν αυξημένο δείκτη μάζας σώματος (Lopez et al., 2005). Αυτά τα δύο συνδέονται με την παχυσαρκία και σύμφωνα με την μελέτη γυναίκες με αυξημένο δείκτη μάζας σώματος είναι πιο ευαίσθητες στις επιδράσεις *TFA*. Πιθανοί μηχανισμοί με τους οποίους αυτά επηρεάζουν τη φλεγμονή, είναι η ενσωμάτωση τους στις μεμβράνες των ενδοθηλιακών κυττάρων ή η επίδραση στα μικροφάγα και ο επηρεασμός του παράγοντα νέκρωσης όγκου (Lopez et al., 2005).

Μια ακόμη επίδραση τους είναι στην γονιμότητα. Σε νεότερη έρευνα που διεξήχθη στο πανεπιστήμιο του Harvard και δημοσιεύτηκε το 2011 βρέθηκε πως τα *trans*- λιπαρά οξέα επηρεάζουν αρνητικά την συγκέντρωση του σπέρματος (Bhardwaj et al., 2011). Συγκεκριμένα σε δείγμα σπέρματος από 33 άνδρες εντοπίστηκαν *trans*- λιπαρά οξέα και διαπιστώθηκε η αρνητική επίδραση τους στην σπερματογένεση. Δηλαδή όσο μεγαλύτερη η πρόσληψη τους, τόσο χαμηλότερη κι η συγκέντρωση του σπέρματος (Dhaka et al., 2011). Παρόμοια αποτελέσματα έδειξαν κι οι μελέτες σε τρωκτικά. Εντούτοις απαιτούνται περισσότερες έρευνες ώστε να προσδιοριστεί το επίπεδο πρόσληψης *trans*- λιπαρών οξέων το οποίο χρειάζεται, ώστε να ελαττωθεί η συγκέντρωση του σπέρματος καθώς και το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από την πρόσληψη μέχρι να εμφανιστούν οι πρώτες επιπτώσεις (Dhaka et al., 2011).

Εκτός από τις προαναφερόμενες επιδράσεις στην σωματική υγεία, τα *TFA* φαίνεται να επιδρούν και στην ψυχική υγεία. Σε ανάλογη μελέτη που διεξήχθη από το 1999 μέχρι το 2004 και έγινε από το πανεπιστήμιο της Καλιφόρνιας στην οποία συμμετείχαν 945 άτομα άνδρες και γυναίκες, με ελάχιστη ηλικία τα 20 χρόνια, για πρώτη φορά εντοπίστηκε η σύνδεση των *trans*- λιπαρών οξέων με την επιθετικότητα και την ευερέθιστη συμπεριφορά (Chavarro et al., 2007 ; Parrott et al., 2007). Έχει αποδειχθεί πως τα *TFA* αναστέλλουν την παραγωγή των ω-3 λιπαρών οξέων, τα οποία μειώνουν την επιθετικότητα, σύμφωνα με πειραματικά δεδομένα. Σύνδεση ανάμεσα στα κορεσμένα και στα *trans*- λιπαρά οξέα με την κατάθλιψη έχει επίσης αναφερθεί και σε προηγούμενες μελέτες. Σε αυτές, τα *trans*-λιπαρά οξέα, φαίνεται να εμποδίζουν την παραγωγή εικοσιδυο-εξα-ενοϊκού οξέος το οποίο ενδέχεται να δρα προστατευτικά ενάντια της επιθετικότητας αλλά και να μειώνει τον κίνδυνο της κατάθλιψης (Parrott et al., 2007). Τα ανωτέρω αποτελέσματα μπορούν να αποτελέσουν μια πιθανή εξήγηση στην σύνδεση που έχει παρατηρηθεί κι από άλλες έρευνες ανάμεσα στην επιθετική συμπεριφορά και στις καρδιακές νόσους ότι τα *trans*- λιπαρά οξέα αποτελούν τον κοινό παρανομαστή (Parrott et al., 2007 ; Guyonnet et al., 2007)

Κεφάλαιο 3: Η επισήμανση των προϊόντων που περιέχουν *trans*- λιπαρά οξέα και η ανάγκη για καινοτόμες μεθόδους ανίχνευσης

Οι ανεπιθύμητες παρενέργειες που προκαλεί η κατανάλωση *trans*- λιπαρών οξέων στην ανθρώπινη υγεία έχουν πλέον επιβεβαιωθεί, όπως αναφέραμε αναλυτικά στο Κεφάλαιο 2. Οι ρυθμιστικές αρχές σε πολλές χώρες έχουν θεσπίσει νομοθεσία με στόχο τη μείωση της περιεκτικότητας των *trans*- λιπαρών οξέων στις προμήθειες τους, είτε απαιτώντας επισήμανση των λιπαρών αυτών στα προσυσκευασμένα τρόφιμα ή περιορίζοντας την ποσότητα των *trans*- λιπαρών οξέων στα έλαια που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τροφίμων (Vartolas et al., 2019).

3.1 Επισήμανση των *trans*- λιπαρών οξέων

Για να καθοριστεί το βέλτιστο επίπεδο πρόσληψης μιας θρεπτικής ουσίας, πρέπει να ληφθούν υπόψη τόσο οι κίνδυνοι όσο και τα οφέλη που αυτή εμφανίζει στον ανθρώπινο οργανισμό κατά την κατανάλωση (Mozaffarian et al., 2006). Δεδομένων των αρνητικών επιδράσεων των *trans*- λιπαρών οξέων, που περιγράφονται στο προηγούμενο κεφάλαιο, στα επίπεδα λιπιδίων, στον ορό, στην συστηματική φλεγμονή και των θετικών συσχετίσεων με τον κίνδυνο ξαφνικού θανάτου από καρδιακές αιτίες, καρκίνο και διαβήτη, επιβεβαιώνεται ο ισχυρισμός ότι η κατανάλωση αυτών των λιπαρών οξέων δεν εμφανίζει κανένα όφελος, εκτός από τη θερμιδική τους αξία (Mozaffarian et al., 2006).

Προηγούμενες μελέτες, το 1975, έδειξαν ότι η μέση πρόσληψη *trans*- λιπαρών οξέων στην Ευρώπη ήταν 2-7g/ημέρα, γεγονός που έφερε στο φως τις ανεπιθύμητες δυσμενείς επιπτώσεις ακόμη και σε χαμηλά επίπεδα κατανάλωσης: 1 έως 3% της συνολικής πρόσληψης ενέργειας (20 έως 60 θερμίδες για ένα άτομο που καταναλώνει 2000 θερμίδες την ημέρα) (Żbikowska, 2010 ; Mozaffarian et al., 2006). Έτσι, η πλήρης ή σχεδόν πλήρης αποφυγή βιομηχανικών παραγόμενων *trans*- λιπαρών οξέων (<0,5% της συνολικής πρόσληψης ενέργειας) είναι

απαραίτητη για την αποφυγή αρνητικών επιπτώσεων (Mozaffarian et al., 2006 ; Vartolaş, 2019).

Η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) εξέδωσε έναν προτεινόμενο κανόνα το 1999 για την επισήμανση της ποσότητας των *trans*- λιπαρών οξέων (TFA) που υπάρχουν στα τρόφιμα (Moss, 2006). Η FDA καθυστέρησε να ολοκληρώσει την πρωτοβουλία για την επισήμανση *trans*- λιπαρών οξέων (κανόνας 1999) διότι περίμενε τα αποτελέσματα μίας επερχόμενης μελέτης για την χοληστερόλη που συντασσόταν από κοινού από το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας και το Υπουργείο Γεωργίας των ΗΠΑ (Ruth, 2002). Παρόλο που δεν υπήρχε υποχρεωτικός κανόνας για την εξάλειψη των *trans*- λιπαρών οξέων από τα τρόφιμα, η Δανία ήταν η πρώτη χώρα που συνέστησε τον περιορισμό και τη σταδιακή κατάργηση της χρήσης των τεχνητών *trans*- λιπαρών οξέων (Żbikowska, 2010 ; McCarthy et al., 2008 ; Vartolaş, 2019). Από το 2003 το Συμβούλιο της Δανίας τροποποίησε το όριο στο 2% για τα βιομηχανικά παραγόμενα *trans*- λιπαρά οξέα, που χρησιμοποιούνται τόσο στα τοπικά όσο και στα εισαγόμενα, μεταποιημένα τρόφιμα (da Costa Filho, 2014 ; Żbikowska, 2010).

Ωστόσο, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) συνέστησε, το 2003, να περιοριστεί η πρόσληψη *trans*- λιπαρών (τεχνητά και μηρυκαστικά) σε ποσοστό μικρότερο του 1% (<2 g/ημέρα) έναντι του 10% της συνολικής θερμιδικής πρόσληψης των κορεσμένων λιπαρών οξέων (da Costa Filho et al., 2014 ; Dhaka et al., 2011 ; Żbikowska et al., 2010 ; Goyal et al., 2009). Έτσι, στις 11 Ιουλίου 2003, η FDA εξέδωσε έναν τελικό κανόνα που απαιτεί την υποχρεωτική δήλωση στην ετικέτα διατροφής της ποσότητας TFA που υπάρχει στα τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων των συμπληρωμάτων διατροφής, όταν το προϊόν περιέχει 0,5 ή περισσότερα γραμμάρια (g) TFA ανά μερίδα, σε ξεχωριστή γραμμή αμέσως κάτω από τη δήλωση για κορεσμένο λίπος (Εικόνα 8) (Moss, 2006).

Η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων όρισε την ημερομηνία έναρξης ισχύος την 1η Ιανουαρίου 2006, δηλαδή την ημερομηνία κατά την οποία όλα τα τρόφιμα που εισέρχονται στο διακρατικό εμπόριο πρέπει να περιλαμβάνουν TFA στον πίνακα πληροφοριών για τα διατροφικά στοιχεία (Azizian, 2004 ; Dhaka, et al., 2011 ; Mossoba et al., 2007). Από τις 12 Δεκεμβρίου 2005, στον Καναδά και την

1η Ιανουαρίου 2006, στις ΗΠΑ , οι ετικέτες διατροφής για όλα τα συμβατικά τρόφιμα και τα συμπληρώματα ήταν υποχρεωτικά να αναφέρουν το περιεχόμενο του TFA.



Nutrition Facts	
Serving Size 1 cup (228g)	
Servings Per Container 2	
Amount Per Serving	
Calories 260	Calories from Fat 120
% Daily Value*	
Total Fat 13g	20%
Saturated Fat 5g	25%
Trans Fat 2g	
Cholesterol 30mg	10%
Sodium 660mg	28%
Total Carbohydrate 31g	10%
Dietary Fiber 0g	0%
Sugars 5g	
Protein 5g	

Εικόνα 8 : Στην ετικέτα αναγράφεται πρώτα η ποσότητα των συνολικών λιπαρών, στην συνέχεια ακολουθούν τα κορεσμένα και στο τέλος τα trans- λιπαρά οξέα.

Εκτιμάται ότι η προσθήκη TFA στον πίνακα 1 πληροφοριών για τα θρεπτικά στοιχεία θα οδηγήσει στην πρόληψη 600–1200 περιπτώσεων CHD και 240-480 θανάτων κάθε χρόνο, εξοικονομώντας 900 εκατομμύρια έως 1,8 δισεκατομμύρια ευρώ ετησίως σε ιατρικά έξοδα, απώλεια παραγωγικότητας και πόνο και ταλαιπωρία. (Moss, 2006)

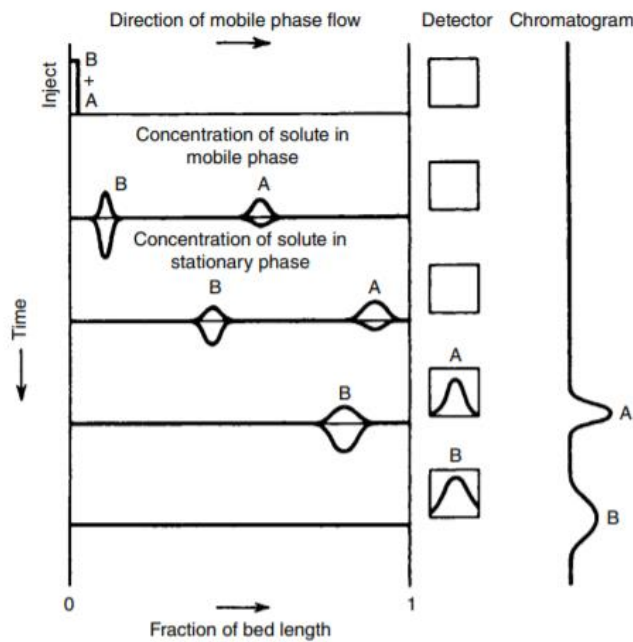
Σήμερα η Ευρωπαϊκή Ένωση δεν έχει λάβει ακόμη θέση σχετικά με τα επίπεδα των trans- λιπαρών οξέων στα επεξεργασμένα τρόφιμα (da Costa Filho, 2014 ; Żbikowska, 2010). Στην Ιαπωνία, η αναφορά TFA στις ετικέτες τροφίμων δεν είναι υποχρεωτική και δεν υπάρχει επίσης όριο για κατανάλωση όσον αφορά την ασφάλεια των καταναλωτών (Vartolaş, 2019). Ωστόσο, τα επίπεδα TFAs είναι υποχρεωτικά στις ετικέτες όταν γίνονται οι ισχυρισμοί των TFA ανεξάρτητα από το αν υπάρχει συγκεκριμένο όριο κατανάλωσης στην χώρα που παράγεται ή γίνεται η επεξεργασία του τροφίμου.

3.2 Μέθοδος προσδιορισμού *trans*- λιπαρών οξέων – Αέρια Χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC)

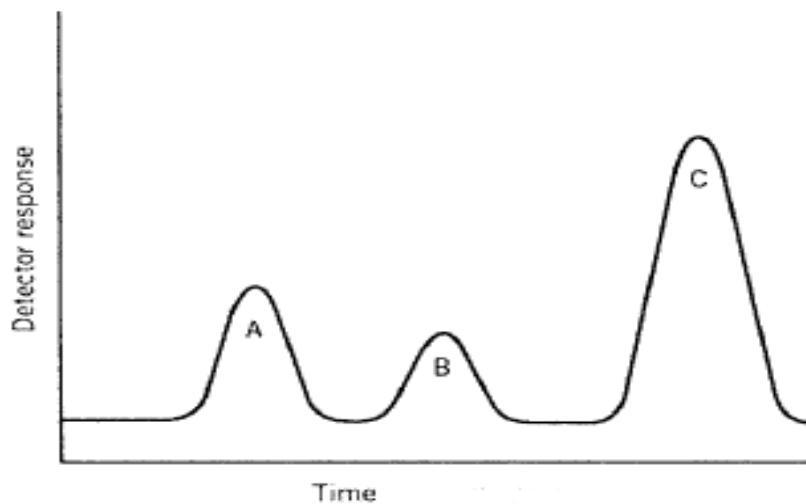
Η αέρια χρωματογραφία αναφέρθηκε πρώτη φορά το 1944 από τους Martin και Synge και τα τελευταία χρόνια έχει βελτιωθεί αρκετά και θεωρείται μία τεχνική με μεγάλες δυνατότητες (Mahesar et al., 2014). Είναι μία μέθοδος η οποία χρησιμοποιείται ευρέως για την ανάλυση του πλήρους προφίλ των λιπαρών οξέων, που υπάρχουν σε τρόφιμα και βρώσιμα έλαια, με ελάχιστες επικαλύψεις ισομερών *cis*- και *trans*- (Mossoba et al., 2013 ; Sherazi et al., 2009). Επίσης, είναι αποτελεσματική στο διαχωρισμό πολύπλοκων μιγμάτων στα συστατικά τους λόγω της μεγάλης διαχωριστικής ικανότητας της (Albuquerque et al., 2011).

Η αρχή λειτουργίας της στηρίζεται στα διαφορετικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των χημικών ουσιών του δείγματος ως προς τις δύο φάσεις της, την στατική και την κινητή (Mahesar et al., 2014). Η κινητή φάση είναι ένα αδρανές αέριο (ήλιο ή άζωτο) απαλλαγμένο από προσμίξεις και χωρίς υδρογόνο και η στατική φάση μπορεί να είναι είτε στερεή είτε υγρή επί αδρανούς στερεού φορέα (Mahesar et al., 2014). Η μοναδική απαίτηση της μεθόδου είναι η ρύθμιση της απαιτούμενης θερμοκρασίας ώστε το δείγμα να βρίσκεται σε αέρια κατάσταση (Albuquerque et al., 2011 ; Mahesar et al., 2014). Έτσι, το προς ανάλυση δείγμα με τη βοήθεια της κινητής φάσης εγχέεται και περνά στην χρωματογραφική στήλη, στα τοιχώματά της οποίας περιέχετε ένα μη πτητικό συστατικό (στατική φάση) (Mahesar et al., 2014). Μεταξύ κινητής φάσης και του αναλυτή δεν υπάρχει καμία αλληλεπίδραση και γι' αυτό το λόγο ο χρόνος κατακράτησης του δείγματος εξαρτάται μόνο από την διαλυτότητα του στο αέριο που και αυτό εξαρτάται από την πίεση ατμών, η οποία σχετίζεται με την θερμοκρασία και την ενδομοριακή αλληλεπίδραση μεταξύ του συστατικού και της στατικής φάσης (πτητική) (Albuquerque et al., 2011 ; Mahesar et al., 2014). Έτσι το φέρον αέριο μετακινεί το πιο πτητικό συστατικό, δηλαδή το συστατικό με το χαμηλότερο σημείο ζέσεως, πιο γρήγορα μέσα στη στήλη κι εξέρχεται πρώτο, ενώ το λιγότερο πτητικό συγκρατείται περισσότερο από την στατική φάση (Εικόνα 9) (Mahesar et al., 2014). Οι διαχωρισμένες πλέον ενώσεις φθάνουν στον ανιχνευτή, όπου η συγκέντρωση του κάθε συστατικού στην αέρια φάση μετατρέπεται σε ηλεκτρικό σήμα, το οποίο

ενισχύεται και καταγράφεται σαν κορυφή πάνω στο αεριοχρωματογράφημα (Εικόνα 10) (Mahesar et al., 2014 ; McNair et al., 2019).



Εικόνα 9 : Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας της αέριας χρωματογραφίας (McNair et al., 2019)



Εικόνα 10 : Χρωματογράφημα της αέριας χρωματογραφίας (McNair et al., 2019)

Η διαδικασία μετρά αξιόπιστα, λιπαρά οξέα που υπάρχουν σ' επίπεδα τόσο χαμηλά όσο 0,1% (w/w) των συνολικών λιπαρών οξέων (Bysted, 2015). Αυτή η μέθοδος, επομένως, είναι ικανή να παρέχει πληροφορίες σχετικά με τα ποσοστά επί τοις εκατό ή και γραμμάρια όλων των λιπαρών οξέων που υπάρχουν σε συγκέντρωση μεγαλύτερη του 0,1% των συνολικών λιπαρών οξέων σε

επεξεργασμένα τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων των ολικών TFA, *trans*-μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (t-MUFA), *trans*-πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (t-PUFA), κορεσμένα λιπαρά οξέα (SFA), *cis*-μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (c-MUFA) και *cis*-πολυακόρεστα (c-PUFA) λιπαρά οξέα (Bysted, 2015 ; Mossoba et al., 2013 ; Sherazi et al., 2009).

Τα λιπαρά οξέα, όμως, λόγω της χαμηλής πτητικότητάς τους δεν μπορούν από μόνα τους να αναλυθούν με την μέθοδο αυτή. Για το λόγο αυτό, εστεροποιούνται με γλυκερόλη, με τη μορφή τρι-, δι-, ή μονο-ακυλογλυκερολών, μετατρέπονται, δηλαδή, στους αντίστοιχους μεθυλεστέρες τους (FAME), οι οποίοι παρουσιάζουν τις κατάλληλες ιδιότητες (πολύ πτητικοί) για να αναλυθούν και εισέρχονται στην στήλη ώστε να διαχωριστούν (Albuquerque, et al., 2011 ; Mossoba et al., 2013). Στην αέρια χρωματογραφία, η προετοιμασία πτητικών παραγώγων είναι απαραίτητη ώστε να βελτιστοποιηθεί ο διαχωρισμός και να μειωθεί ο χρόνος ανάλυσης. Αυτό ενισχύεται ακόμη περισσότερο με τη χρήση μεγάλων τριχοειδών στηλών (100–120 m) διότι σε στήλες μεσαίου μήκους (60 m) παρατηρούνται συχνά επικαλύψεις λιπαρών οξέων (Juaneda et al., 2007). Ωστόσο, η διαδικασία μεθυλίωσης δεν εγγυάται ούτως ή άλλως την ακεραιότητα των *trans*- λιπαρών οξέων καθώς και των ισομερών του συζευγμένου λινελαϊκού οξέος (Juaneda et al., 2007).

Η GC είναι μία τεχνική που εξαρτάται άμεσα από τη χρήση προτύπων. Χρησιμοποιούνται για βαθμονόμηση σχεδιάζοντας τον λόγο του σήματος της προσδιοριζόμενης ουσίας προς το σήμα του εσωτερικού προτύπου ως συνάρτηση της συγκέντρωσης των προσδιοριζόμενων ουσιών των προτύπων (Mahesar et al 2014 ; McNair et al., 2019). Το επιλεγμένο εσωτερικό πρότυπο πρέπει πάλι να είναι παρόμοιο με την αναλυόμενη ουσία, δηλαδή και παρόμοια σήματα αλλά αρκετά διαφορετικά έτσι ώστε να διακρίνονται εύκολα από το όργανο, και να έχει παρόμοιο χρόνο κατακράτησης (McNair et al., 2019) . Επομένως, γίνεται πρώτα ένεση στον αεριοχρωματογράφο με μίγμα προτύπων μεθυλεστέρων για τον καθορισμό των χρόνων κατακράτησης. Στην συνέχεια προστίθενται κατά σειρά, 0,5-1μL διαλύτη, 0,5μL αδρανούς αερίου και 1μL δείγματος (Mahesar et al 2014). Το δείγμα στην διαδικασία αυτή πρέπει να είναι σε μικρή ποσότητα για να μην καταπονείται η στήλη με περιττή έκχυση διαλύτη (McNair et al., 2019). Ο διαλύτης πρέπει να είναι περισσότερο πτητικός από οποιοδήποτε συστατικό και να εκλούεται

πρώτος (εξάνιο). Με βάση τους λαμβανόμενους χρόνους κατακράτησης ταυτοποιούνται τα λιπαρά οξέα και ποσοτικοποιούνται (Mahesar et al 2014).

Στην αέρια χρωματογραφία, για να υπάρχει μέγιστη δυνατή ταυτοποίηση του μορίου που εξετάζεται, χρησιμοποιούνται ανιχνευτές όπως τον ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (GC – FID) (Hou et al., 2012). Στον ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID), τα ηλεκτρόδια τοποθετούνται δίπλα σε φλόγα που τροφοδοτείται από υδρογόνο-οξυγόνο κοντά στην έξοδο της στήλης κι εξερχόμενες ενώσεις που περιέχουν άνθρακα, πυρολύονται από τη φλόγα (Mahesar et al 2014). Ο ανιχνευτής αυτός είναι ευαίσθητος στις οργανικές ενώσεις και κυρίως στους υδρογονάνθρακες λόγω της ικανότητας των ανθράκων να σχηματίζουν κατιόντα και ηλεκτρόνια κατά την πυρόλυση, η οποία δημιουργεί ρεύμα μεταξύ των ηλεκτροδίων (Hou et al., 2012 q Mahesar et al 2014). Η αύξηση του ρεύματος μεταφράζεται και εμφανίζεται ως κορυφή σε ένα χρωματογράφημα.

Το κύριο πλεονέκτημα του FID είναι ο προσδιορισμός της συνολικής σύνθεσης των λιπαρών οξέων, καθώς έχει τη δυνατότητα να μετράει ιόντα ανά μονάδα χρόνου (Mahesar et al 2014). Για τον λόγο αυτό, το GC-FID γίνεται αποδεκτό ως η αναλυτική μέθοδος επιλογής για σκοπούς επισήμανσης της διατροφής. Όσον αφορά τα απλά λιπαρά, αυτή η μέθοδος δείχνει ακριβή και επαναλαμβανόμενα αποτελέσματα, αλλά η ερμηνεία των αποτελεσμάτων γίνεται πιο δύσκολη όταν αναλύει σύνθετα λίπη ή έλαια με πολλά είδη λιπαρών οξέων (κορεσμένων, ακόρεστων, *trans*- λιπαρών οξέων) και όταν τα *trans*- λιπαρά οξέα βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Juanéda et al., 2007 ; Omar et al., 2013 ; Tyburczy et al., 2013).

Ωστόσο, υπάρχουν αρκετοί περιορισμοί στον προσδιορισμό των *trans*- λιπαρών οξέων με τη χρήση GC-FID (Omar et al., 2013 ; Tyburczy et al., 2013). Αυτές οι αναλύσεις συχνά απαιτούν εκτεταμένη εξειδίκευση στον εντοπισμό όλων των λιπαρών οξέων που περιέχουν, όπως των *trans*- λιπαρών οξέων και των ισομερών τους (Tyburczy et al., 2013). Η προετοιμασία των δειγμάτων, ο χρωματογραφικός διαχωρισμός, ο ποσοτικός προσδιορισμός και τα σφάλματα συγκέντρωσης δείγματος μπορεί ουσιαστικά να επηρεάσουν την ακρίβεια αυτών των μετρήσεων σε χαμηλά επίπεδα *trans*- λιπαρών (Tyburczy et al., 2013).

Επίσης σε συνδυασμό με την αέρια χρωματογραφία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ανιχνευτής μάζας (MS), που παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω την ικανότητας ανίχνευσης μικρών ποσοτήτων μιας ουσίας (Omar et al., 2013). Το φασματόμετρο μάζας σπάει τα μόρια σε ιονισμένα θραύσματα και τα ανιχνεύει χρησιμοποιώντας την αναλογία μάζας προς φόρτιση (Albuquerque et al., 2011). Αυτά τα δύο, όταν χρησιμοποιηθούν από κοινού, δίνουν έναν πολύ καλύτερο βαθμό αναγνώρισης της ουσίας από ό,τι η κάθε μονάδα ξεχωριστά. Εξάλλου είναι αδύνατον να γίνει η ακριβής ταυτοποίηση ενός συγκεκριμένου μορίου με αέρια χρωματογραφία ή φασματομετρία μάζας. Η διαδικασία φασματομετρίας μάζας συνήθως απαιτεί ένα πολύ καθαρό δείγμα, ενώ η αέρια χρωματογραφία χρησιμοποιώντας έναν παραδοσιακό ανιχνευτή (π.χ. ανιχνευτής ιονισμού φλόγας) δεν μπορεί να κάνει διάκριση μεταξύ πολλών μορίων που τυχαίνει να χρειάζονται τον ίδιο χρόνο για να διασχίσουν τη στήλη (π.χ. έχουν τον ίδιο χρόνο κατακράτησης), ως αποτέλεσμα δύο ή περισσότερα μόρια να συν-εκλούνται (Omar et al., 2013 ; Tyburczy et al., 2013).

Η αέρια χρωματογραφία από τη μία έχει σημαντικά πλεονεκτήματα όπως ότι φέρει καλύτερη ευαισθησία, δίνοντας λεπτομερείς πληροφορίες για τη σύνθεση και είναι κατάλληλη για χαμηλά επίπεδα *trans*- λιπαρών (Albuquerque et al., 2011 ; Vartola et al., 2019). Από την άλλη, όμως, δεν είναι κατάλληλη για θερμικά ασταθείς ενώσεις και περιορίζεται από την πτητικότητα των ενώσεων (Azizian et al., 2004). Η μέθοδος είναι χρονοβόρα, περιλαμβάνει τη χρήση επικίνδυνων διαλυτών και αντιδραστηρίων. Απαιτεί δε παραγοντοποίηση των εκχυλισμένων λιπών, υψηλές τεχνικές δεξιότητες και ερμηνευτική ικανότητα (da Costa Filho, 2014 ; Karunathilaka et al., 2018 ; Sherazi et al., 2009). Ως σύγχρονη λύση, αναπτύχθηκε η μέθοδος IR. Αυτή η μέθοδος έχει λιγότερο αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον, χωρίς να προϋποθέτει ειδική προετοιμασία του δείγματος ή τεράστιες ποσότητες διαλύτη.

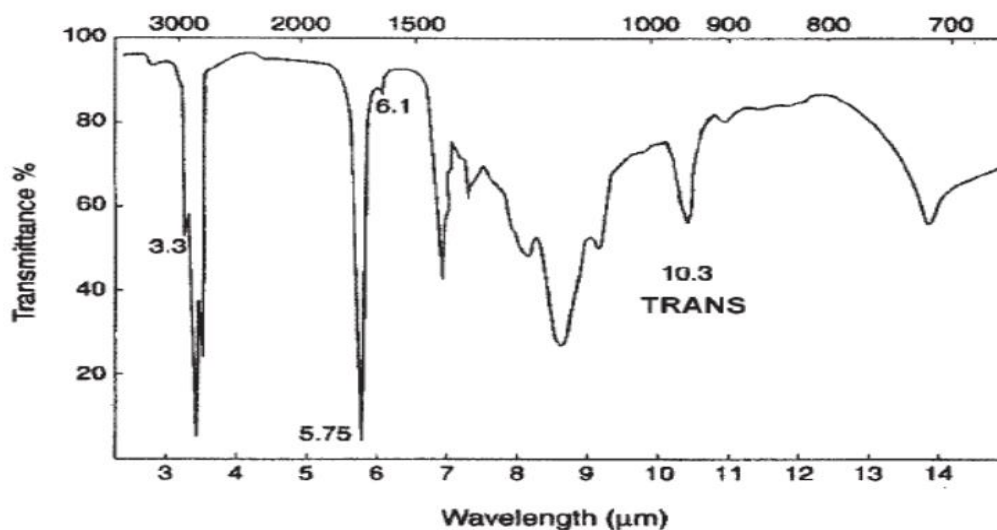
Κύριος στόχος των επίσημων μεθόδων GC είναι ο προσδιορισμός της σύνθεσης FA με τη χρήση ενός μοναδικού χρωματογραφικού διαχωρισμού. Μέχρι σήμερα, καμία μεμονωμένη στήλη GC δεν μπορεί να επιλύσει πλήρως σύνθετα μείγματα FAME (π.χ. ιχθυέλαιο) σε μία μόνο ανάλυση (Tyburczy et al., 2013). Για την αντιστάθμιση ατελών διαχωρισμών, προτείνεται η χρήση χρωματογραφίας ιόντων αργύρου (π.χ. υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), χρωματογραφία

λεπτής στιβάδας, εκχύλιση στερεάς φάσης) για κλασματοποίηση των *cis*- και των *trans*- μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων, πριν από τον προσδιορισμό με χρήση του GC (Juanéda et al., 2007). Ένα μείζον μέλημα που σχετίζεται με αυτά τα παρασκευάσματα είναι ότι οι ληφθείσες ποσότητες είναι ιδιαίτερα μικρές και ευαίσθητες στην απώλεια δείγματος ή στην οξείδωση (Tyburczy et al., 2013). Μια εναλλακτική προσέγγιση είναι η χρήση συμπληρωματικής ανάλυσης GC στην οποία τα αποτελέσματα περισσότερων του ενός προγραμμάτων θερμοκρασίας ή αναλυτικής στήλης συνδυάζονται για την επίτευξη ολοκληρωμένου προσδιορισμού του FAME. Οι Santercole et al. ανέλυσαν τη σύνθεση FA του ιχθυελαίου χρησιμοποιώντας συμπληρωματικούς διαχωρισμούς με τη στήλη 100-m SP-2560 και μια στήλη Supelcowax-10 30 m. Τα ευρήματά τους έδειξαν ότι η στήλη SP-2560 ήταν σημαντική για τον προσδιορισμό των ισομερών FAME θέσης, ενώ η στήλη Supelcowax-10 επέτρεψε το διαχωρισμό του FAME διαφορετικών μηκών αλυσίδας υδρογονανθράκων και βαθμών ακόρεστου σε μικρότερη διάρκεια GC (60 λεπτά έναντι 110 λεπτών) (Juanéda et al., 2007 ; Tyburczy et al., 2013). Οι συγγραφείς τόνισαν την ανάγκη για τέτοιους συμπληρωματικούς διαχωρισμούς GC όταν τα έλαια προέρχονται από μήτρες τροφίμων που δεν περιλαμβάνονται στις επίσημες μεθόδους. Η αυξημένη διάρκεια και η πολυπλοκότητα της ανάλυσης δείγματος θεωρούνται μειονεκτήματα για τη χρήση συμπληρωματικής ανάλυσης GC (Juanéda et al., 2007).

3.3 Μέθοδος προσδιορισμού *trans*- λιπαρών οξέων – Φασματοσκοπία Υπερύθρου – (Infrared spectroscopy, IR)

Η φασματοσκοπία υπερύθρου στηρίζεται στην αλληλεπίδραση της ύλης με την υπέρυθη ακτινοβολία (Juaneda et al., 2007). Αυτή η αλληλεπίδραση προκαλεί αλλαγές στη διπολική ροπή του μορίου, δημιουργώντας δονήσεις που εμφανίζονται σε ένα φάσμα υπερύθρου και χάρη σ' αυτό επαληθεύεται η ταυτότητα των χημικών στοιχείων που υπάρχουν στο χρησιμοποιούμενο δείγμα (Juaneda et al., 2007). Συνήθως μετράται η απορρόφηση του φωτός από το δείγμα σε σχέση με τη συχνότητα, η οποία για μονάδες χρησιμοποιεί τους κυματαριθμούς (cm^{-1}) (Juaneda et al., 2007).

Η υπέρυθη περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος εκτείνεται από το ορατό μέχρι τα μικροκύματα (14.000 cm^{-1} έως 10 cm^{-1}) με τους απομονωμένους *trans*- διπλούς δεσμούς να απορροφούν σε υπέρυθρες ακτίνες (IR) μεταξύ 976 και 956 cm^{-1} με μέγιστο στα 966 cm^{-1} ($10,3\text{ }\mu\text{m}$) (Εικόνα 11) λόγω της παραμόρφωσης του C-H δίπλα στον *trans*- διπλό δεσμό (Juaneda et al., 2007). Αυτή η ιδιότητα εφαρμόστηκε για τον προσδιορισμό των επιπέδων των *trans*- λιπαρών οξέων σε υδρογονωμένα έλαια χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία υπέρυθρου IR (Juaneda et al., 2007). Όμως, αυτή η μέθοδος δίνει μόνο ένα % περιεχόμενο διπλού δεσμού χωρίς λεπτομέρειες σχετικά με τη φύση των ισομερών *trans*-, όπως το μήκος της αλυσίδας ή τον αριθμό των *trans*- διπλών δεσμών (Juaneda et al., 2007).



Εικόνα 11 : Κορυφή των *trans*- λιπαρών οξέων στα 966 cm^{-1} ($10,3\text{ }\mu\text{m}$) (Juaneda et al., 2007).

Σε αυτές τις τυπικές μεθόδους υπέρυθρων μπορεί να προκύψουν σφάλματα για τους ακόλουθους λόγους:

- Ο προσδιορισμός των ορίων είναι δύσκολος, ειδικά όταν είναι χαμηλές οι συγκεντρώσεις των *trans*- λιπαρών οξέων (Juaneda et al., 2007).

- Οι τριακυλογλυκερόλες έχουν μια ευρεία ζώνη απορρόφησης κοντά στα 970 cm^{-1} και, ως εκ τούτου, επηρεάζουν τη μέτρηση των *trans*- λιπαρών οξέων (Juaneda et al., 2007). Έχει βρεθεί ότι το συνολική περιεκτικότητα σε *trans*- λιπαρά οξέα υπερεκτιμάται κατά 2-3% όταν τα καθαρά φυτικά έλαια αναλύονται με τη μορφή

τριάκυλογλυκερόλης (Tyburczy et al., 2013). Επίσης, τα αποτελέσματα μπορεί να είναι διαφορετικά εξαιτίας της απορρόφησης του υδροξυλίου (OH) εκτός επιπέδου στα 943 cm^{-1} , κοντά στην περιοχή *trans*- απορρόφησης (Juaneda et al., 2007).

- Τα ισομερή CLA παράγουν ζώνες απορρόφησης στο φάσμα μέσων IR κοντά στα 990 cm^{-1} . Συγκεκριμένα για τα ισομερή *trans*- / *trans*- κοντά στα 985 cm^{-1} και για τα ισομερή *cis*- / *trans*- στα 948 cm^{-1} (Tyburczy et al., 2013). Έτσι μπορεί να επηρεάσουν τη μεμονωμένη *trans*- IR μέτρηση (966 cm^{-1}) (Juaneda et al., 2007).

- Η φασματοσκοπία IR που εφαρμόζεται στα *trans*- λιπαρά οξέα βαθμονομείται χρησιμοποιώντας απορρόφηση μεθυλεστέρα ελαιϊδικού οξέος (C18:1 t9), υποθέτοντας ότι το TFA με διπλούς δεσμούς σε άλλες θέσεις έχει την ίδια απορρόφηση όπως αυτή του ελαιϊδικού μεθυλίου (Juaneda et al., 2007). Αυτό είναι σωστό για τα λιπαρά οξέα που περιέχουν ένα *trans*- διπλό δεσμό αλλά όχι για αυτά που περιέχουν παραπάνω από έναν *trans*- διπλό δεσμό, γεγονός που αποτελεί μια επιπλέον πηγή σφάλματος (Juaneda et al., 2007 Tyburczy et al., 2013).

Οι περισσότερες από αυτές τις ανακρίβειες μπορούν να ελαχιστοποιηθούν ή να παρακαμφθούν χρησιμοποιώντας πιο πρόσφατες τεχνολογίες φασματοσκοπίας υπέρυθρων, όπως υπέρυθρες μετατροπές Fourier (FTIR) και εξασθενημένη ολική αντανάκλαση (ATR) -FTIR.

3.3.1 Υπέρυθη φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier (Fourier-*trans*-form infrared spectroscopy, FTIR)

Η τεχνική FTIR εισήχθη με επιτυχία και χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των απομονωμένων *trans*- λιπαρών οξέων σε έλαια και λίπη (Daoud et al., 2019 ; Juaneda et al., 2007). Οι πρόσφατες εξελίξεις στη φασματοσκοπία FTIR έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της εφαρμογής αυτής για την ανάλυση των εδώδιμων ελαίων και λιπών (Daoud et al., 2019). Είναι γνωστό ότι η φασματοσκοπία FTIR ασχολείται με τις λειτουργικές ομάδες των μορίων παρακολουθώντας τις χαρακτηριστικές δονήσεις των χημικών τους δεσμών σε συγκεκριμένες υπέρυθρες περιοχές (da Costa Filho, 2014). Έτσι, μπορούμε να θεωρήσουμε ότι δύο διαφορετικές χημικές δομές δεν έχουν τα ίδια φάσματα FTIR, και για αυτό

θεωρείται ως τεχνική ανάλυσης δακτυλικών αποτυπωμάτων για τη δομική ταυτοποίηση ενώσεων (da Costa Filho, 2014 ; Κουή κ.ά., 2015 ; Lucarini, 2018 ; Yap et al., 2007 ; Vartolaş et al., 2019).

Η αρχή λειτουργίας βασίζεται σε ένα συμβολόμετρο αντί μονοχρωμάτορα, που έχει ως στόχο την κατεύθυνση όλων των συχνοτήτων στον ανιχνευτή ταυτόχρονα και όχι διαδοχικά, μόνο μία, μία τη φορά, εξουδετερώνοντας κατ' αυτόν τον τρόπο τις αδυναμίες και τους περιορισμούς των συμβατικών φασματοφωτόμετρων διασποράς (Mahesar et al., 2014). Ωστόσο, παρά τις βελτιώσεις, το FTIR εξακολουθεί να υπερεκτιμά τα επίπεδα TFA, ειδικά όταν οι συγκεντρώσεις των *trans*- λιπαρών οξέων είναι χαμηλές (Juaneda et al., 2007).

Η υπέρυθη φασματοσκοπία μετασχηματισμού Fourier (FTIR) είναι γνωστή ως μια ακριβής, γρήγορη, μη καταστρεπτική κι ευαίσθητη τεχνική που δεν απαιτεί προετοιμασία ή χρήση δείγματος οργανικών διαλυτών (Daoud et al., 2019 ; Moreno et al., 1999 ; Vartolaş et al., 2019). Αυτή η υπεροχή τους οφείλεται στα βασικά χαρακτηριστικά κατασκευής και λειτουργίας τους που επιτρέπουν τη λήψη ενός πλήρους φάσματος κατά τη διάρκεια μίας μόνο κατοπτρικής σάρωσης, ενώ ο ανιχνευτής μπορεί να παρατηρεί όλες τις συχνότητες ταυτόχρονα (Vartolaş et al., 2019). Η υψηλής ταχύτητας σάρωσης που εμφανίζουν επιτρέπει την καταγραφή πολλαπλών φασμάτων σε πολύ μικρό χρόνο (1 min ή και λιγότερο) (Moreno et al., 1999 ; Vartolaş et al., 2019). Η φασματοσκοπία FTIR περιορίζεται στον προσδιορισμό των συνολικών TFA όταν χρησιμοποιείται ως μονομεταβλητή μέθοδος ανάλυσης (Karunathilaka et al., 2018). Ως εκ τούτου, οι φασματοσκοπικές μέθοδοι FTIR παρέχουν γρήγορες λύσεις για τον ποσοτικό προσδιορισμό των συνολικών TFA όταν χρησιμοποιούνται σε προσδιορισμούς ποιοτικού ελέγχου κατά την παραγωγή και τον έλεγχο ταυτότητας τροφίμων (Karunathilaka et al., 2018).

Η ακρίβεια της μεθόδου εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την επιλογή του προτύπου και την αντιστοίχιση του με το δείγμα που είναι για ανάλυση (Moreno et al., 1999 ; Vartolaş et al., 2019). Όπως και στην αέρια χρωματογραφία, το πιο κατάλληλο υλικό αναφοράς είναι ένα λιπαρό σώμα του οποίου το λιπιδικό προφίλ θα πρέπει να μοιάζει όσο το δυνατόν περισσότερο με τη σύνθεση των λιπαρών οξέων του δείγματος (da Costa Filho, 2014). Τα πρότυπα βαθμονόμησης προετοιμάζονται με την προσθήκη γνωστών ποσοτήτων τριλαϊδίνης (t9 18:1) σε

ένα *trans*-free έλαιο σε επίπεδα που καλύπτουν το αναμενόμενο εύρος περιεκτικότητας αυτών των λιπαρών οξέων των δοκιμαστικών ελαίων. Τα πρότυπα βαθμονόμησης αναλύονται για το συνολικό περιεχόμενο *trans*- λιπαρών μετρώντας το ύψος του αρνητικού δευτέρου παραγώγου ή την περιοχή της απορρόφησης στα 966 cm^{-1} (da Costa Filho, 2014).. Η περιεκτικότητα *trans*- λιπαρών των δοκιμαστικών ελαίων υπολογίζεται στη συνέχεια με βάση την παρατηρούμενη ένταση *trans*- ζώνης, χρησιμοποιώντας τη συνήθη συνάρτηση γραμμικής παλινδρόμησης βαθμονόμησης (Moreno et al., 1999 ; Vartolaş et al., 2019).

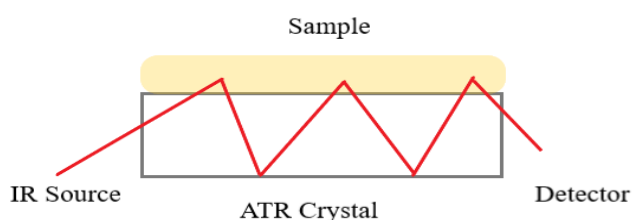
Δεδομένου ότι το ποσό της απορροφούμενης ενέργειας είναι ανάλογο της συγκέντρωσης του προς μέτρηση υλικού, είναι δυνατό μετά από βαθμονόμηση να υπολογιστεί η συγκέντρωση ενός δείγματος μέσω της σύγκρισης του μεγέθους μιας χαρακτηριστικής ταινίας με αυτό ενός φάσματος που περιέχει γνωστή συγκέντρωση του εν λόγω συστατικού (Κουή κ.ά., 2015).

Πρόσφατα, έχει προταθεί μια βελτιωμένη μέθοδος η φασματοσκοπία υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier με Αποσβένουσα Ολική Ανάκλαση (ATR-FTIR) χρησιμοποιώντας ολόκληρα τα φασματικά δεδομένα FTIR αντί για συγκεκριμένα μήκη κύματος (Κουή κ.ά., 2015 ; Vartolaş et al., 2019).

3.3.2 Φασματοσκοπία Υπερύθρου με την τεχνική της Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης (Attenuated Total Reflection, ATR)

Η εξασθενημένη ολική ανάκλαση (ATR) είναι μία τεχνική δειγματοληψίας που χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με υπέρυθρη φασματοσκοπία και επιτρέπουν στα δείγματα να εξεταστούν απευθείας σε στερεή ή υγρή κατάσταση, χωρίς περαιτέρω προετοιμασία (Yang et al., 2014). Η ATR χρησιμοποιεί μία ιδιότητα ολικής εσωτερικής ανάκλασης κατά την οποία μία δέσμη υπερύθρου φωτός εισάγεται από ένα μέσο υψηλής πυκνότητας (με υψηλότερο δείκτη διάθλασης) σε ένα μέσο χαμηλότερης πυκνότητας (με χαμηλότερο δείκτη διάθλασης) (Lucarini, 2018). Η

δέσμη της υπέρυθρης ακτινοβολίας που προσπίπτει στον κρύσταλλο (συνήθως υπό γωνία 45ο) υφίσταται πολλαπλές ολικές ανακλάσεις στον κρύσταλλο, με αποτέλεσμα να διέρχεται από το δείγμα πολλές φορές, από το οποίο και απορροφάται (Εικόνα 12) (Lucarini 2018). Η εσωτερική ολική ανάκλαση της ακτινοβολίας στη διεπιφάνεια μεταξύ των δύο μέσων με διαφορετικούς δείκτες διάθλασης έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός φθίνοντος κύματος, το οποίο διεισδύει κι εκτείνεται στο μέσο με τον χαμηλότερο δείκτη διάθλασης (δείγμα) και εξασθενεί στις περιοχές του υπέρυθρου ηλεκτρομαγνητικού φάσματος όπου το δείγμα απορροφά ενέργεια από ορισμένες ενώσεις σε συγκεκριμένα μήκη κύματος, όπως από τα *trans*- λιπαρά οξέα στα 966 cm⁻¹ (Κουή κ.ά. 2015).



Εικόνα 12 : Κρύσταλλος ATR-ανάκλαση ακτινοβολίας

Η ATR εφαρμόστηκε για πρώτη φορά στο FTIR χρησιμοποιώντας συμβατικά μέσα μετάδοσης για τον προσδιορισμό του σχηματισμού επιπέδου TFA κατά τη διάρκεια της διαδικασίας υδρογόνωσης των ελαίων (Sherazi et al., 2009). Οι Mossoba et al. στη συνέχεια βελτίωσε τη διαδικασία της φασματοσκοπίας χρησιμοποιώντας έναν κρύσταλλο ATR (Tyburczy et al., 2013). Οι ATR κρύσταλλοι, όπως προαναφέρθηκε, κατασκευάζονται από υλικά που έχουν πολύ υψηλό δείκτη διάθλασης και χαμηλή διαλυτότητα στο νερό. Μερικά από τα πιο διαδεδομένα υλικά που χρησιμοποιούνται ευρύτατα στους ATR κρυστάλλους είναι ο σεληνιούχος ψευδάργυρος (ZnSe), το γερμάνιο (Ge) και το διαμάντι, με το τελευταίο να παρουσιάζει εξαιρετικές μηχανικές ιδιότητες για την μελέτη σκληρών υλικών (Tyburczy et al., 2013). Επίσης, το μήκος του ATR κρυστάλλου καθορίζει την ευαισθησία της τεχνικής (Lucarini 2018 ; Sherazi et al., 2009). Για μια δεδομένη γωνία πρόσπτωσης της ακτινοβολίας, η αύξηση του λόγου του μήκους προς το πάχος του κρυστάλλου παρέχει μεγαλύτερο αριθμό ανακλάσεων (Sherazi et al., 2009).

Η μεθοδολογία ATR-FTIR, υιοθετήθηκε το 2009, με σκοπό να μειώσει τον χρόνο ανάλυσης σε λιγότερο από 5 λεπτά, δίνοντας συνάμα και πιο ακριβή

αποτελέσματα (Mossoba et al., 2007). Η ATR-FTIR φασματοσκοπία αποτελεί μία από τις σημαντικότερες μη καταστρεπτικές και πιο ευέλικτες μεθόδους, η οποία παρέχει φάσματα πολύ υψηλής ποιότητας για μία πολύ μεγάλη ποικιλία υλικών (Birkel et al., 2011 ; Mossoba et al., 2007). Εφαρμόστηκε για τον ποσοτικό προσδιορισμό των *trans*- λιπαρών οξέων σε εξευγενισμένα και υδρογονωμένα έλαια έχοντας το βασικό πλεονέκτημα το ότι δεν απαιτεί οποιαδήποτε επεξεργασία του δείγματος παρά μόνο μία απειροελάχιστη ποσότητα δείγματος που τοποθετείται σε επαφή με τον κρύσταλλο ως έχει (Mossoba et al., 2007). Επομένως, είναι μία γρήγορη αναλυτική μέθοδος για την ποσοτικοποίηση των *trans*- λιπαρών οξέων στα προϊόντα καθώς και για ποιοτική ανάλυση των τροφίμων (Daoud et al., 2019 ; Vartolaş et al., 2019). Επιτρέπει την αξιολόγηση της δομής των συνθέσεων για ταχεία αξιολόγηση της ποιότητας, της ανιχνευσιμότητας και της ασφάλειας των τροφίμων (Birkel et al., 2011). Επιπλέον, επεκτείνει και ενισχύει το εύρος των εφαρμογών φασματοσκοπίας υπέρυθρων στην ταξινόμηση τροφίμων, τη διάκριση και την πιστοποίηση της ταυτότητας, καθώς και στην παρακολούθηση των μολυσματικών και νοθευμένων παραγόντων (Birkel et al., 2011).

Ένας σημαντικός περιορισμός των μεθόδων ATR – FTIR είναι ότι δεν είναι κατάλληλες για τον προσδιορισμό του κορεσμένου λίπους, το οποίο, όπως το *trans*-λιπαρό οξύ, πρέπει επίσης να δηλώνεται στις ετικέτες των ΗΠΑ στις περισσότερες περιπτώσεις (Birkel, 2011 ; Mossoba et al., 2007). Ωστόσο, ο σχηματισμός στενότερων εύρους ζώνης με την αρνητική δεύτερη παράγωγο μέθοδο βοήθησε επίσης στον καθορισμό του μεγέθους της επίδρασης κορεσμένου λίπους στον προσδιορισμό ATR-FTIR του συνολικού *trans*- λίπους (Mossoba et al., 2007 ; Tyburczy et al., 2013). Οι Mossoba et al. απέδειξαν ότι τα φασματικά χαρακτηριστικά του κορεσμένου λίπους αλληλεπικαλύπτονται με εκείνα του ολικού *trans*- λίπους. Η παρεμβολή από κορεσμένο λίπος ήταν αρκετά σημαντική για να αποτρέψει τον ακριβή προσδιορισμό του συνολικού *trans*- λιπαρού σε επίπεδα <0,5% του συνολικού λίπους. Οι Mossoba et al. προειδοποίησε ότι ο προσδιορισμός της ζώνης απορρόφησης του κορεσμένου λίπους ως εκείνης του *trans*- λιπαρού θα μπορούσε να οδηγήσει σε υπερεκτίμηση της συνολικής περιεκτικότητας σε *trans*- λιπαρά υψηλών κορεσμένων ελαίων (Tyburczy et al., 2013).

Αρκετά χρόνια πριν, η επίσημη μέθοδος AOAC 2000.10 και η επίσημη μέθοδος AOCS Cd 14d-99 θεωρούνται κατάλληλες για τον προσδιορισμό του συνολικού *trans*- λίπους σε επίπεδα τόσο χαμηλά όσο 5% του συνολικού λίπους (Mossoba et al., 2007). Όμως, η ανάπτυξη της αρνητικής δεύτερης παραγώγου της μεθόδου AOCS Cd 14e-09 εξαλείφει σε μεγάλο ποσοστό τα προβλήματα των παλαιότερων μεθόδων και οδήγησε σε στενότερα πλάτη ζώνης απορρόφησης στην περιοχή του IR και συγκεκριμένα στην περιοχή που απορροφούν τα *trans*- λιπαρά οξέα που είναι αυτά που μας ενδιαφέρουν (Mossoba et al., 2007 ; Tyburczy et al., 2013). Οι Mossoba et al έδειξαν ότι η επίσημη μέθοδος AOCS Cd 14e-09 θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τον ποσοτικό προσδιορισμό του συνολικού *trans*- λίπους σε συγκεντρώσεις τόσο χαμηλές όσο 0,34% του συνολικού λίπους σε καθαρά πρότυπα τριακυλογλυκερόλης και 0,5% του συνολικού λίπους σε βρώσιμα έλαια. Επειδή αυτές οι παρατηρήσεις βασίζονται σε μια μελέτη επικύρωσης ενός εργαστηρίου, δεν παρέχουν ισχυρή υποστήριξη για την απόδοση της επίσημης μεθόδου AOCS Cd 14e-09 σε επίπεδα *trans*- λιπαρών <2% του συνολικού λίπους (Brikel, 2011 ; Mossoba et al., 2007).

Η δυσμενής επίδραση της φασματικής παρεμβολής στον προσδιορισμό του συνολικού *trans*- λίπους με χρήση φασματοσκοπίας ATR-FTIR ώθησε τους ερευνητές να αναζητήσουν εναλλακτικές διαδικασίες μέτρησης (Azizian et al., 2004). Η παρουσία φασματικής παρεμβολής σε ή κοντά στη ζώνη *trans*- απορρόφησης στα 966 cm^{-1} μπορεί να αντιμετωπιστεί με τη χρήση πολυμεταβλητής χημειομετρικής ανάλυσης (Azizian et al., 2004 ; Tyburczy et al., 2013). Πολυμεταβλητά μοντέλα βαθμονόμησης που καθορίζουν τη σχέση μεταξύ φασματικών χαρακτηριστικών και συγκεντρώσεων αναλυτή μπορούν να αναπτυχθούν με τη χρήση τεχνικών παλινδρόμησης (Azizian et al., 2004). Η μέθοδος παλινδρόμησης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) επιτρέπει στον αναλυτή να χρησιμοποιεί φασματικές πληροφορίες από ευρείες φασματικές περιοχές και να συσχετίζει αλλαγές στα φασματικά χαρακτηριστικά με τη συγκέντρωση αναλυτή, ενώ ταυτόχρονα υπολογίζει και άλλες φασματικές συνεισφορές που προκύπτουν από τη μήτρα λαδιού (Tyburczy et al., 2013). Αρκετές μελέτες παρέχουν στοιχεία ότι η προσέγγιση βαθμονόμησης πολλαπλών μεταβλητών σε συνδυασμό με φασματοσκοπία FTIR μπορεί να

βελτιώσει την ακρίβεια του προσδιορισμού των χαμηλών επιπέδων *trans*- λιπαρών (Tyburczy et al., 2013).

3.3.3 Fourier *Trans*-form-Near Infrared Spectroscopy FT-NIR

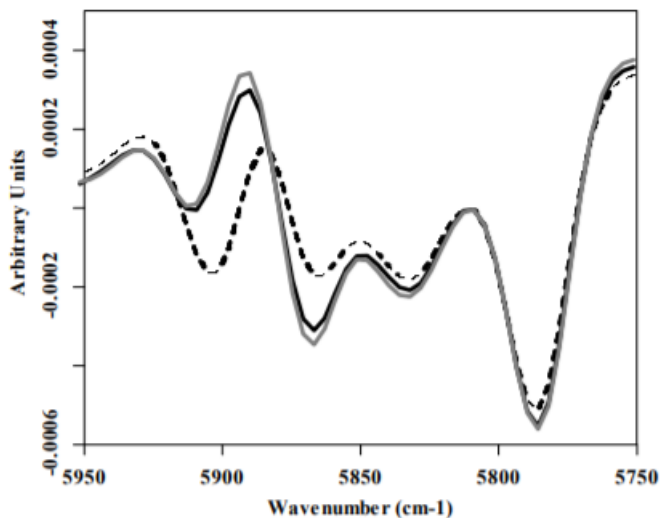
Προ ετών, η φασματοσκοπία FT-NIR εφαρμόστηκε για την ανάλυση και τον προσδιορισμό των μεμονωμένων λιπαρών οξέων, συμπεριλαμβανομένων των *trans*- λιπαρών οξέων (Azizian et al., 2004 ; Κουή κ.ά., 2015). Μια μεταγενέστερη ανάπτυξη της μεθόδου FT-NIR για ανάλυση *trans*- λιπαρών οξέων προσφέρει τη δυνατότητα συνδυασμού της ταχύτητας της μεθόδου ATR-FTIR και της ευαισθησίας της μεθόδου GC, αλλά χωρίς την προετοιμασία δειγμάτων της τελευταίας (Κουή κ.ά., 2015). Σε αντίθεση με τη μέθοδο ATR-FTIR που δείχνει πολύ χαρακτηριστική *trans*- απορρόφηση στα 966 cm^{-1} , η απορρόφηση FT-NIR αποτελείται από επικαλυπτόμενες και ευρείες ζώνες που προκύπτουν από τις ίδιες θεμελιώδεις απορροφήσεις που συμβαίνουν στην περιοχή του NIR (Azizian et al., 2004).

Τα τελευταία χρόνια, η πρόοδος στην οργάνωση και την υπολογιστική ισχύ για ανάλυση χημειομετρίας ευνόησε το FT-NIR, καθιστώντας δυνατό τον χαρακτηρισμό για τον έλεγχο και τη διασφάλιση ποιότητας στα τρόφιμα (Azizian et al., 2004). Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι το μέγεθος δείγματος που απαιτείται για την ανάλυση FT-NIR είναι σημαντικά μεγαλύτερο (1-2 g) σε σύγκριση με ATR-FTIR (1–50 mg) ή GC (5-20 mg). Ένας προσαρμοσμένος ανιχνευτής οπτικών ινών για FT-NIR θα επέτρεπε την ανάλυση μικρότερων μεγεθών δείγματος (Tyburczy et al., 2013).

Στην ανάλυση FT-NIR, τα λίπη και τα έλαια μπορούν να αναλυθούν άμεσα χωρίς την ανάγκη να επιλυθούν τα μεμονωμένα λιπαρά οξέα, γεγονός που εξαρτάται από την μήτρα της τεχνικής FT-NIR (Tyburczy et al., 2013). Με άλλα λόγια, με το FT-NIR, ένα μαθηματικό μοντέλο που αντιπροσωπεύει μια συγκεκριμένη κατηγορία προϊόντων, αναπτύσσεται και επικυρώνεται πρώτα. Αυτό το μοντέλο μπορεί στη συνέχεια να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση οποιουδήποτε άγνωστου δείγματος στην ίδια οικογένεια (Azizian, H. et al. 2004). Δηλαδή, ένα μοντέλο που αναπτύχθηκε για λάδια δεν μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για

μαργαρίνες και ένα για μαργαρίνες δεν θα λειτουργεί για λάδια (Azizian, H. et al. 2004).

Η ανάπτυξη κάθε συγκεκριμένου μοντέλου μπορεί να είναι χρονοβόρα και συνεπώς θεωρείται μειονέκτημα για τη μέθοδο FT-NIR, αλλά αυτό το μοντέλο πρέπει να αναπτυχθεί μόνο μία φορά. Η μέθοδος FT-NIR δείχνει επίσης μεγάλες δυνατότητες ως ένα γρήγορο εργαλείο για την ανίχνευση ακαθαρσιών και νοθείας (Azizian, H. et al 2004). Η απορρόφηση FT-NIR είναι αντιπροσωπευτική συνδυασμών και θεμελιωδών ζωνών FTIR και οι αλλαγές στο φάσμα απορρόφησης αντικατοπτρίζουν διαφορές στη σύνθεση που μπορούν εύκολα να διακριθούν από εκείνες του φυσικού δείγματος. Στην Εικόνα 13 φαίνεται η επίδραση του υπολειμματικού διαλύτη που υπάρχει στο εκχυλισμένο λίπος από ένα δείγμα σάλτσας σαλάτας (Azizian et al., 2004)..



Εικόνα 13 : Φάσμα δεύτερου παραγώγου FT-NIR του σογιέλαιου και εκχυλισμένο λάδι από σάλτσα σαλάτας (Azizian, H. et al 2004)

Το προφίλ κορυφής στο φάσμα δεύτερου παραγώγου FT-NIR άλλαξε σημαντικά λόγω μικρών ποσοτήτων χλωροφορμίου και μεθανόλης στο δείγμα (διακεκομμένη γραμμή). Παρατηρήθηκε ένα τυπικό προφίλ φυτικών ελαίων (μαύρη γραμμή) αφού το χλωροφόρμιο και η μεθανόλη εξατμίστηκαν με θέρμανση της φιάλης που περιέχει το δείγμα (Azizian et al., 2004).. Ενώ το φάσμα του σογιέλαιου συμπεριλήφθηκε στην εικόνα 13 για σύγκριση (γκρίζα γραμμή).

Η τεχνολογία FT-NIR είναι γρήγορη, οικονομικά αποδοτική, μη καταστρεπτική και ασφαλής, καθώς δεν χρησιμοποιεί χημικά, διαλύτες ή αέρια

(Tyburczy et al., 2013). Μετρά απλώς την απορρόφηση σχεδόν υπέρυθρου φωτός του δείγματος σε διαφορετικά μήκη κύματος καταγράφοντας μοριακές δονήσεις όλων των μορίων που περιέχουν ομάδες CH, NH ή OH (Yang et al., 2014). Οι Azizian και Kramer παρουσίασαν μια διαδικασία φασματοσκοπίας FT-NIR για γρήγορο προσδιορισμό (<5 λεπτά /δείγμα) προσδιορισμού της σύνθεσης FA επιλεγμένων βρώσιμων λιπών και ελαίων (Tyburczy et al., 2013). Τα μοντέλα βαθμονόμησης προήρθαν από τα δεδομένα της αέριας χρωματογραφίας και αναπτύχθηκαν με συσχέτιση των φασματικών χαρακτηριστικών FT-NIR από 55 λίπη και έλαια (Tyburczy et al., 2013). Τα ευρήματά τους αποκάλυψαν ότι η διαδικασία FT-NIR ήταν εξίσου ακριβής με τη μέθοδο GC αναφοράς για τον προσδιορισμό των μεμονωμένων *trans*- FA σε επίπεδα τόσο χαμηλά όσο 0,2% του συνολικού FA (Tyburczy et al., 2013). Η εφαρμογή των μοντέλων βαθμονόμησης FT-NIR στον προσδιορισμό της FA σε φυτικά έλαια επικυρώθηκε πρόσφατα σε μια συνεργατική μελέτη τριών εργαστηρίων. Επομένως, η χρήση του FTNIR για ταχεία διαλογή / παρακολούθηση λιπαρών προϊόντων και ενδέχεται να επιτρέψει προσδιορισμούς *trans*- FA για σκοπούς κανονιστικής επισήμανσης (Yang et al., 2014).

3.4 Σύγκριση GC/ATR-FTIR/FT-NIR

Μελετήθηκαν 30 τοπικά εμπορικά λίπη και λάδια αγορασμένα από τις ΗΠΑ και τον Καναδά για την περιεκτικότητά τους σε *trans*- λιπαρά οξέα (Mossoba et al., 2013). Τα 25 προϊόντα τα οποία αγοράστηκαν στις ΗΠΑ έχουν αναφερθεί πρόσφατα για το περιεχόμενό τους σε *trans*- λιπαρά οξέα με τη μέθοδο ATR-FTIR (AOCS Cd 14e-09) και παρουσιάζονται στον πίνακα 1 για να συγκριθούν με τις τιμές που βρέθηκαν με FT-NIR και GC (Mossoba et al., 2013). Τα υπόλοιπα πέντε καναδικά προϊόντα αναλύθηκαν με παρόμοιο τρόπο και παρουσιάζονται και αυτά στον πίνακα 1 (Mossoba et al., 2013).

Το περιεχόμενο των *trans*- λιπαρών οξέων μετατράπηκε από «γραμμάρια ανά μερίδα» σε «% του συνολικού λίπους», καθώς το μέγεθος της μερίδας διαφέρει μεταξύ των ΗΠΑ (14g) και του Καναδά (9.2g) (Azizian et al., 2004 ; Karunathilaka

et al. 2018) . Αυτή η μετατροπή επέτρεψε την άμεση σύγκριση των τιμών που υπάρχουν στις ετικέτες που εκφράζονται ως τοις εκατό του συνολικού λίπους με εκείνες που καθορίζονται από το GC και το FT-NIR ((Azizian et al., 2004).

Όλα τα έλαια της παρούσας μελέτης είχαν επισημανθεί ως *trans*-free (0 g λίπους ανά μερίδα) προϊόντα εκτός από τα πέντε Καναδικά προϊόντα τα οποία αποκτήθηκαν πριν την απαίτηση για δήλωση του περιεχομένου των *trans*- λιπαρών οξέων το 2006 (Mossoba et al., 2013). Στις ΗΠΑ και στον Καναδά μπορεί να δηλωθεί η τιμή 0 g *trans*- λιπαρών οξέων ανά μερίδα εάν τα *trans*- λιπαρά οξέα υπάρχουν σε ποσότητα <0,5 (<3,6%) και <0,2 g (<2,2%) *trans*- λίπους ανά μερίδα, αντίστοιχα (Azizian et al., 2004 ; Karunathilaka et al. 2018). Το περιεχόμενο σε *trans*- λιπαρά οξέα όλων των προϊόντων που αναλύθηκαν με FT-NIR και GC βρέθηκαν να αντιστοιχούν σε τιμές <3,6% του συνολικού λίπους, ομοίως και για τα πέντε καναδικά προϊόντα που είχαν τιμές <2,2%, γεγονός που επιβεβαιώνει την δήλωση για *trans*-free προϊόντα σύμφωνα τόσο με τα όρια των ΗΠΑ όσο και με αυτά του Καναδά (Mossoba et al., 2013). Ωστόσο, βρέθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές μεταξύ των αποτελεσμάτων FT-NIR, ATR-FTIR και GC για τον προσδιορισμό των *trans*- λιπαρών οξέων σε επίπεδα <2% του συνολικού λίπους (Πίνακας 1). Σε αυτό το χαμηλό εύρος, οι τιμές της αέριας χρωματογραφίας βρέθηκαν χαμηλότερες σε σχέση με εκείνες από το FT-NIR για 22 προϊόντα. Για τα ελαιόλαδα ψυχρής έκθλιψης (αρ. 12-17), οι τιμές GC ήταν χαμηλότερες σε σχέση με εκείνες που καθορίστηκαν τόσο από το FT-NIR όσο και από το ATR-FTIR (Εικόνα 14) (Mossoba et al., 2013). Αντίθετα, οι τιμές GC ήταν υψηλότερες από τις τιμές FT-NIR (Πίνακας 1, Εικόνα 15) για 7 προϊόντα, δηλαδή τα λάδια canola (αρ. 1-4), ένα φυτικό έλαιο (αρ. 27) και δύο έλαια από καρυδιά (αρ. 29-30) (Mossoba et al., 2013). Αυτή η παρατήρηση δείχνει τη δυσκολία στην ακριβή μέτρηση των χαμηλών συγκεντρώσεων *trans*- FA. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό σε ένα περιβάλλον στο οποίο πολλοί κατασκευαστές επιδιώκουν να έχουν δηλώσεις ετικέτας 0 g *trans*- λιπαρών οξέων ανά μερίδα για τα προϊόντα τους (Azizian et al., 2004 ; Karunathilaka et al. 2018).

Πίνακας 1 : Δηλωμένες τιμές ετικέτας για συνολική περιεκτικότητα *trans*- λιπαρών οξέων 30 βρώσιμων λιπών και ελαίων και οι τιμές που καθορίζονται από GC, FT-NIR και ATR-FTIR (Mossoba et al., 2013)

Oils	Declared label value	GC	FT_NIR	Benchtop ATR_FTIR ^a	Portable ATR-FTIR ^a
	<i>trans</i> - FA (g)	<i>trans</i> - FA (% of total fat)	<i>trans</i> - FA (% of total fat)	<i>trans</i> - FA (% of total fat)	<i>trans</i> - FA (% of total fat)
1 Canola	0	1,21	0,6	1,59	1,61
2 Canola	0	1,73	1,0	1,89	1,92
3 Canola	0	1,71	1,1	2,03	2,01
4 Canola	Δ/Π	1,65	1,1	N/A ^a	N/A ^a
5 Coconut	0	0,00	0,2	N/A ^b	N/A ^b
6 Coconut	Δ/Π	1,62	1,7	N/A ^b	N/A ^b
7 Corn	0	0,36	1,4	1,09	1,03
8 Corn	0	0,99	1,2	1,35	1,35
9 Flax	0	0,36	0,9	N/A ^a	N/A ^a
10 Flax	0	0,35	1,0	N/A ^a	N/A ^a
11 Grapeseed	0	0,44	1,1	1,08	1,04
12 Olive	0	0,04	1,3	0,81	0,75
13 Olive	0	0,04	1,0	0,82	0,87
14 Olive	0	0,04	1,1	0,79	0,84
15 Olive	0	0,03	0,8	0,79	0,81
16 Olive	0	0,03	0,5	0,84	0,81
17 Olive	0	0,04	0,9	0,85	0,81
18 Peanut	0	0,39	1,6	1,05	1,1
19 Safflower	0	0,13	0,4	0,86	0,85
20 Safflower	Δ/Π	0,67	1,1	0,79	0,85
21 Shortening	0	3,30	3,3	3,46	3,35
22 Sunflower	0	0,13	0,6	0,93	0,86
23 Sunflower ^b	Δ/Π	0,78	1,0	0,79	0,87
24 Sunflower ^b	Δ/Π	0,66	1,1	0,83	0,9
25 Vegetable	0	1,10	1,5	1,61	1,63
26 Vegetable	0	0,74	1,4	1,31	1,38
27 Vegetable	0	2,18	1,8	2,27	2,35
28 Walnut	0	0,53	1,2	1,29	1,24
29 Walnut	0	1,54	1,1	1,98	1,92
30 Walnut	0	1,28	1,2	1,81	1,73

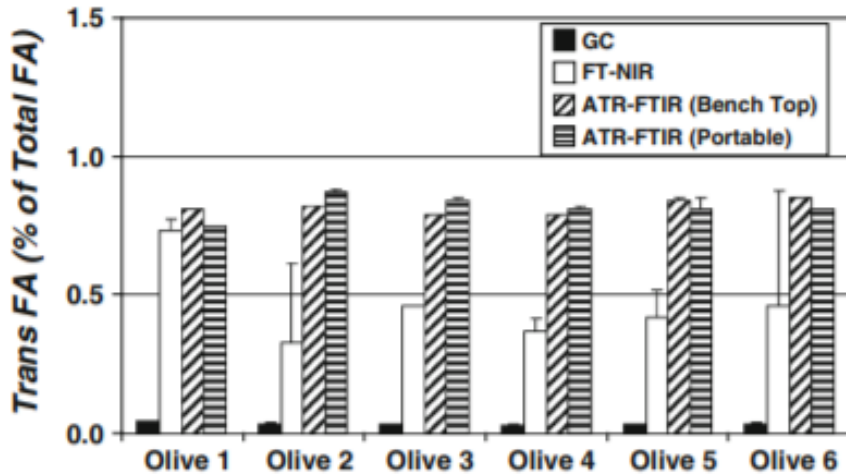
Δ/Π : Δεν Παρουσιάζονται, το δείγμα αγοράστηκε στον Καναδά και αναλύθηκε πριν από τη δημοσίευση του κανόνα επισήμανσης

^a: Τα δεδομένα ATR-FTIR για τα προϊόντα των ΗΠΑ είχαν προαναφερθεί

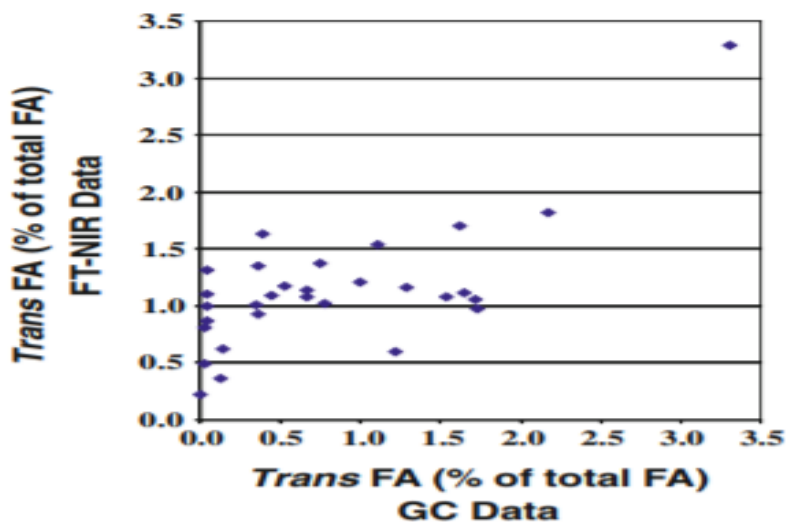
N/A^a: Παρατηρήθηκε ζώνη παρεμβολής στα 968 cm⁻¹

N/A^b: Παρατηρήθηκε ζώνη παρεμβολής στα 962 cm⁻¹

^b: β-καροτένιο βρέθηκε ως συστατικό



Εικόνα 14 : Σύγκριση της χαμηλής συγκέντρωσης (<1% του συνολικού λίπους) trans-λιπαρών οξέων για τα έξι ελαιόλαδα ψυχρής πίεσης που καθορίζονται από την GC, FT-NIR και ATR-FTIR (βλ. πίνακα 1) (Mossoba et al., 2013)



Εικόνα 15 : Διάγραμμα διασποράς που δείχνει μια σύγκριση της συνολικής περιεκτικότητας trans-FA (ως ποσοστό του συνολικού λίπους) που προσδιορίζεται από τα FT-NIR και GC και για τα 30 προϊόντα που αναλύθηκαν (βλ. Πίνακα 1) (Mossoba et al., 2013)

Αρκετοί παράγοντες μπορούν να συμβάλουν στις παρατηρούμενες διαφορές μεταξύ των χρωματογραφικών και φασματοσκοπικών μεθόδων στο εύρος χαμηλής συγκέντρωσης *trans*- λιπαρών οξέων.

- Παρουσία δευτερευόντων συστατικών εκτός FA

Ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει αρνητικά τον ποσοτικό προσδιορισμό των *trans*- λιπαρών οξέων σε χαμηλά επίπεδα (<2% του συνολικού λίπους) με μεθόδους FT-NIR και ATR-FTIR σχετίζεται με την παρουσία δευτερευόντων συστατικών εκτός λιπαρών οξέων σε βρώσιμα έλαια τα οποία, εάν δεν υπολογίζονται, θα θέσουν σε κίνδυνο τα φασματοσκοπικά αποτελέσματα (Mossoba et al., 2013). Οι μετρήσεις FT-NIR και ATR-FTIR πραγματοποιούνται απευθείας στο δείγμα χωρίς προηγούμενη μεθυλίωση και έτσι όλα τα συστατικά που υπάρχουν στα λίπη ή στα λάδια συμβάλλουν στα συνολικά φάσματα FT-NIR και ATR-FTIR, τα οποία εξαρτώνται έντονα από τη μήτρα (Mossoba et al., 2013). Αντίθετα, λόγω της εκτεταμένης προετοιμασίας δείγματος που απαιτείται για ανάλυση GC, σχεδόν όλα τα συστατικά εκτός λιπαρών οξέων αποκλείονται στη διαδικασία GC (Azizian et al., 2004 ; Karunathilaka et al. 2018). Η παρουσία συστατικών εκτός FA (π.χ. υπολειμματικοί διαλύτες, β-σιτοστερόλη), οι δυνητικά δυσμενείς επιπτώσεις τους στην ποσοτικοποίηση και η ανάγκη να τα συμπεριλάβουν στα μοντέλα βαθμονόμησης FT-NIR έχουν διερευνηθεί (Azizian et al., 2004 ; Karunathilaka et al. 2018). Μια αρνητική επίδραση αυτών των συστατικών εκτός FA στην ακρίβεια των μετρήσεων FT-NIR θα είναι πιο αισθητή κατά την ανάλυση για συστατικά που υπάρχουν σε χαμηλές συγκεντρώσεις (π.χ., η συνολική περιεκτικότητα *trans*- FA των επεξεργασμένων φυτικών ελαίων) (Mossoba et al., 2013). Σε προηγούμενη μελέτη FT-NIR, ένα δείγμα τριολεϊνης φτιάχτηκε με ποικίλα επίπεδα β-σιτοστερόλης. Η προσθήκη 2% β-σιτοστερόλης προκάλεσε μείωση περίπου 8% στην προβλεπόμενη περιεκτικότητα του *cis*-9 18:1 (ως % του συνολικού λίπους) όταν αναλύθηκε με μοντέλο βαθμονόμησης FT-NIR που δεν αντιστοιχούσε στην β-σιτοστερόλη στη μήτρα λαδιού (Mossoba et al., 2013). Αυτό το πρόβλημα εξαλείφθηκε όταν δεδομένα για τα δείγματα με β-σιτοστερόλη είχαν συμπεριληφθεί στο ενημερωμένο μοντέλο FT-NIR (Mossoba et al., 2013). Ο ακριβής προσδιορισμός λαδιών ψυχρής έκθλιψης παραμένει μια

σημαντική πρόκληση, δεδομένου ότι είναι πλούσια σε συστατικά εκτός FA (Azizian et al., 2004 ; Karunathilaka et al. 2018). Τα έλαια που έχουν υποστεί πλήρη επεξεργασία (εξευγενισμένα, λευκασμένα και αποσμητικά) παρουσιάζουν μικρότερες διαφορές όταν συγκρίνονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης με GC και IR, επειδή πολλά από τα συστατικά που δεν είναι FA αφαιρούνται κατά τη διάρκεια της διύλισης και της απόσμησης (Azizian et al., 2004 ; Karunathilaka et al. 2018).

- Συστατικά με *Trans*- Διπλούς δεσμούς

Τα βρώσιμα λίπη και λάδια μπορεί επίσης να περιέχουν άλλα δευτερεύοντα συστατικά με *trans*- διπλούς δεσμούς, όπως β-καροτένιο κυρίως σε φοινικέλαιο, β-στιγμαστερόλη και πολυφαινόλες (αντιοξειδωτικές ουσίες) στο ελαιόλαδο ((Azizian et al., 2004 ; Mossoba et al., 2013). Δύο από τα ηλιέλαια (αρ. 23 και 24) στην παρούσα μελέτη ανέφερε μια άγνωστη ποσότητα β-καροτένιου ως συστατικό, ένα συστατικό με πολλαπλούς *trans*- διπλούς δεσμούς (Tyburczy et al., 2013). Για το λάδι αρ. 23, οι τιμές GC (0,78%) και ATR-FTIR (0,79%) ήταν παρόμοιες, αλλά χαμηλότερες από αυτές αποκτήθηκε από FT-NIR (1,0%) (Mossoba et al., 2013). Για το λάδι αρ. 24, οι τιμές ήταν: GC (0,66%), ATR-FTIR (0,83) και FT-NIR (1,1%). Σε αυτήν την περίπτωση, το β-καροτένιο μπορεί να σύμβαιε σε υπερεκτίμηση με τις φασματοσκοπικές μεθόδους IR. Προηγούμενες έρευνες έδειξαν ότι η προσθήκη χαμηλών επιπέδων β-καροτένιο (<1% του συνολικού λίπους) σε ένα *trans*-free λάδι είχε έντονη επίδραση στο φάσμα του IR κοντά στα 966 cm⁻¹ (απομονωμένοι *trans*- διπλοί δεσμοί) και έτσι επηρεάζεται η φαινομενική περιεκτικότητα του ελαίου σε *trans*- λιπαρά οξέα (Mossoba et al., 2013). Στην τρέχουσα μελέτη, η παρουσία σκουαλενίου στα ελαιόλαδα ψυχρής πίεσης επιβεβαιώθηκαν από αναλύσεις. Μετά την ενσωμάτωση σκουαλενίου, το συνολικό περιεχόμενο *trans*- λιπαρών οξέων που μετρήθηκε με την μέθοδο FT-NIR ήταν ακόμα μεγαλύτερα σε σχέση με αυτά που ελήφθησαν από την GC (Mossoba et al., 2013). Για τα έξι έλαια ψυχρής έκθλιψης όλες οι φασματοσκοπικές τιμές ήταν υψηλότερες από εκείνη που λαμβάνεται από την GC στα χαμηλά επίπεδα *trans*-λιπαρών οξέων (<2% του συνολικού λίπους) (Mossoba et al., 2013). Αυτές οι αποκλίσεις στο περιεχόμενο *trans*- FA μπορεί να σχετίζονται με το παρουσία

συστατικών λαδιού εκτός FA που μπορεί ή όχι περιέχουν *trans*- διπλούς δεσμούς (Azizian et al., 2004 ; Karunathilaka et al. 2018).

- Ανεπαρκές φορτίο δείγματος (συγκέντρωση αναλυτή)

Στους προσδιορισμούς GC, μια πιθανή πηγή μεροληψίας είναι το ανεπαρκές φορτίο δείγματος κατά την ένεση που μπορεί να προκαλέσει υποτίμηση της ποσότητας ενός αναλυτή, ιδιαίτερα για συστατικά που υπάρχουν σε επίπεδα ιχνών (Azizian et al., 2004 ; Karunathilaka et al. 2018). Ένα αυξημένο φορτίο δείγματος μπορεί να διευκολύνει την ανίχνευση κορυφής που υπάρχει κοντά στο όριο ανίχνευσης (Mossoba et al., 2013). Ένα από τα ελαιόλαδα με χαμηλό περιεχόμενο *trans*- FA (αρ. 12) επιλέχθηκε για να δοκιμαστεί αυτή η υπόθεση (Mossoba et al., 2013). Αύξηση κατά πέντε φορές στο ποσό του δείγματος που εγχύθηκε οδήγησε σε αύξηση 57% της μετρούμενης περιεκτικότητας σε *trans*- FA (από 0,035 έως 0,055% του συνολικού FA) (Mossoba et al., 2013). Αυτή η απόκλιση μεταξύ του μετρούμενου και του πραγματικού περιεχομένου του FAME, ειδικά για όσα βρίσκονται κοντά στο όριο του ανίχνευσης, μπορεί να είναι ένας από τους παράγοντες που εξηγεί, εν μέρει, τα χαμηλότερα αποτελέσματα GC, σε σχέση με αυτά του FT-NIR, που λαμβάνεται για περιεχόμενα χαμηλού *trans*- FA (Πίνακας 1).

Προς το παρόν, δεν υπάρχει απαίτηση για επίλυση και ποσοτικοποίηση μερικών δευτερευόντων ισομερών *trans*- λιπαρών οξέων σύμφωνα με τις επίσημες μεθόδους GC ή για ακριβή ποσοτικά αποτελέσματα κάτω από τον ορισμό επισήμανσης 0 g *trans*- λίπος ανά μερίδα (Mossoba et al., 2013). Ωστόσο, τα ακριβή αποτελέσματα GC σε οποιοδήποτε επίπεδο *trans*- FA είναι εξαιρετικά σημαντικά για την ανάπτυξη μοντέλων FT-NIR δεδομένου ότι το τελευταίο εξαρτάται από τη μήτρα και όλα τα συστατικά λαδιού ή λίπους συμβάλλουν στο συνολικό φάσμα FTNIR (Azizian et al., 2004 ; Karunathilaka et al. 2018). Η αναγνώριση και ο ποσοτικός προσδιορισμός αυτών των δευτερευόντων FAME είναι κρίσιμα επειδή τα μοντέλα βαθμονόμησης FT-NIR βασίζονται στην ακρίβεια της πρωτογενούς μεθόδου αναφοράς GC (Mossoba et al., 2013). Όλα τα μοντέλα βαθμονόμησης FT-NIR που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν αναπτύχθηκαν με βάση τα

αποτελέσματα αναφοράς GC στα οποία αυξήθηκαν τα φορτία δείγματος στις στήλες GC (Azizian et al., 2004 ; Karunathilaka et al. 2018).

- Επικάλυψη κορυφής GC

Η επικάλυψη κορυφής GC μπορεί να είναι μια άλλη πηγή σφάλματος εάν οι κορυφές δεν διαχωρίζονται επαρκώς (Azizian et al., 2004 ; Karunathilaka et al. 2018). Στην παρούσα μελέτη, μια σειρά αλληλεπικαλυπτόμενων κορυφών GC για τα λιπαρά οξέα 18: 1 και 18: 2 έπρεπε να επιλυθεί για να αποφευχθεί η εσφαλμένη αναγνώριση και οι πιθανές δυσμενείς επιπτώσεις που επηρεάζουν την αναλυτική ακρίβεια (Mossoba et al., 2013). Ένας αριθμός *trans*- ισομερών λιπαρών οξέων 18: 1 εκλούστηκαν ταυτόχρονα, καθώς και *cis*-9 20:1 με *trans*-9, *cis*-12, *cis*-15 18: 3 (Mossoba et al., 2013). Τα ισομερή λιπαρά οξέα που είχαν εκλουσθεί μαζί υπολογίστηκαν με συμπληρωματική αέρια χρωματογραφία με την χρήση διαφορετικής στήλης. Όλα τα δείγματα ελαιόλαδου εμφάνισαν κορυφή (0,02% του συνόλου των λιπαρών οξέων) που εκλούστηκε μετά το 19:0 και πριν το *cis*-9, *cis*-12 18: 2 (λινελαϊκό οξύ) (Mossoba et al., 2013). Ο χρόνος έκλυσης αυτή της κορυφής ήταν παρόμοιος με εκείνον των *cis*-9, *trans*-12 18: 2 και στις δύο στήλες (Mossoba et al., 2013). Η ανάλυση αυτή έδειξε ότι η κορυφή άνηκε σε ένα λιπαρό οξύ με 2 διπλούς δεσμούς στους άνθρακες 9 και 12. Επομένως, η κορυφή αποδόθηκε ως *cis*-9, *trans*-12 18: 2, ένα ισομερές FA που είχε προηγουμένως ταυτοποιηθεί σε χαμηλά επίπεδα (* 0,01% του συνολικού FA) σε ορισμένα παρθένα ελαιόλαδα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Η νομοθεσία για την κατανάλωση των *trans*-λιπαρών, η παρουσία τους στην ετικέτα και οι τρόποι μείωσης τους

4.1 Τρόποι μείωσης της συγκέντρωσης *trans*- λιπαρών στα προϊόντα

Οι πολυάριθμες έρευνες της προηγούμενης δεκαετίας ενοχοποιούν την κατανάλωση *trans*- λιπαρών οξέων για τις ανθυγιεινές επιπτώσεις στον οργανισμό των καταναλωτών. Αυτή η κατάσταση σε συνδυασμό με τις αλλαγές στη επισήμανση, και την επιβολή από τον παγκόσμιο οργανισμό υγείας, ενός μέγιστου ορίου κατανάλωσης *trans*- λιπαρών οξέων στο 1% (Dhaka et al., 2011 ; Ghafoorunissa et al., 2008), δεν αφήνει περιθώρια για την απομάκρυνσή τους από την διατροφή μας. Η κατάσταση αυτή, ώθησε ορισμένους κατασκευαστές τροφίμων να αναδιαμορφώσουν τα προϊόντα τους για να μειώσουν ή να εξαλείψουν τα *trans*- λιπαρά οξέα από τα προϊόντα τους (Dhaka et al., 2011 ; Ghafoorunissa et al., 2008).

Ως εξής, εξαναγκασμένη η βιομηχανία τροφίμων σκοπεύει σε δυνητικούς αντικαταστάτες ώστε τα προϊόντα της ν' απολυτρωθούν μεν από τα *trans*- λιπαρά οξέα αλλά να συνεχίσουν να καλύπτουν τις απαιτήσεις του αγοραστικού κοινού ως προς τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των λιπαρών υλών, όπως την οξειδωτική σταθερότητα (Dhaka et al., 2011). Επιπλέον πρέπει όμως να διαφυλάττουν και τα ιδιαίτερα προτερήματα τους, όπως η υφή και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που προσδίδουν τα *trans*- λιπαρά οξέα στα τρόφιμα στα οποία εντάσσονται, αλλά και να ευχαριστούν τις διατροφικές ανάγκες των καταναλωτών (Dhaka et al., 2011).

Τα τελευταία χρόνια έχουν αναφερθεί αρκετοί αποτελεσματικοί τρόποι να υποκαταστήσουν την υδρογόνωση: όπως η κλασμάτωση, η χρήση γενετικά τροποποιημένων φυτών, η χρήση τροπικών ελαίων και η ενδοεστεροποίηση (Goyal et al., & Sundararaj et al., 2009).

- Κλασμάτωση

Η χρήση της κλασμάτωσης οδηγεί αποτελεσματικά στον διαχωρισμό των λιπών και των ελαίων σε δύο ή περισσότερα συστατικά ανάλογα με το σημείο τήξης και την διαλυτότητα τους (Dhaka et al., 2011 ; Sundararaj et al., 2009). Κατά το χρονικό διάστημα αυτής της διαδικασίας έχουμε την ελεγχόμενη επιλεκτική κρυστάλλωση των τριγλυκεριδίων που εμπεριέχεται εντός του μίγματος των λιπαρών υλών κι ακολούθως τον διαχωρισμό των στερεών (στεατίνη) και των υγρών (ελαΐνη) κλασμάτων, τα οποία μπορούν να κλασματοποιηθούν επιπλέον (Dhaka et al., 2011). Έτσι, αν μία λιπαρή ύλη τηχθεί και στην συνέχεια ψυχθεί κάτω από το σημείο τήξεως, τα τριγλυκερίδια με σημείο τήξεως μεγαλύτερο από την θερμοκρασία επαναφοράς θα σχηματίσουν κρυστάλλους οι οποίοι είναι εύκολο να απομακρυνθούν με φυγοκέντριση ή διήθηση (Dhaka et al., 2011). Τα κλάσματα αυτά προσδίδουν αξία στα λάδια και αυξάνουν τις δυνατότητες χρήσης τους σε σχέση με το αρχικό λίπος ή έλαιο (Sundararaj et al., 2009). Η κλασμάτωση εφαρμόζεται κυρίως στο φοινικέλαιο καθώς μπορεί να διασπαστεί εύκολα σε κλάσματα με το μεγαλύτερο ενδιαφέρον να παρουσιάζει το υγρό κλάσμα ελαΐνης, το οποίο είναι κατάλληλο για τηγάνισμα καθώς παρουσιάζει υψηλή οξειδωτική σταθερότητα (Dhaka et al., 2011; Sundararaj et al., 2009).

Μετά την κλασμάτωση τακτικά ακολουθεί η διαδικασία της ενδοεστεροποίησης διότι από μόνη της δεν μπορεί να παράγει βέλτιστο προϊόν για την παραγωγή μαργαρίνης (Sundararaj et al., 2009 ; Τσάκνης, 2018). Από το συνταίριασμα των δύο αυτών μεθόδων δημιουργείται μία λιπαρή φάση αρμόζουσα για την παρασκευή μαργαρινών χωρίς την παρουσία *trans*- λιπαρών οξέων (Dhaka et al., 2011 ; Sundararaj et al., 2009). Τον τελευταίο καιρό η κλασμάτωση βρίσκεται σε σημαντική αύξηση και θεωρείται ότι μελλοντικά, στα χέρια της βιομηχανίας τροφίμων, δύναται να συντελέσει σε μία άκρως ικανοποιητική λύση (Dhaka et al., 2011).

- Ενδοεστεροποίηση

Συγκαταλέγεται στις κύριες μεθόδους αντικατάστασης της υδρογόνωσης που υλοποιείται τις τελευταίες δεκαετίες. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας

εστεροποίησης, οι εστερικοί δεσμοί διαχωρίζονται τυχαία και τα απελευθερωμένα λιπαρά οξέα ανακατεύονται και επανατοποθετούνται σε νέα θέση, είτε στην ίδια γλυκερόλη είτε σε άλλη γλυκερόλη (Dhaka, et al., 2011 ; Ghafoorunissa et al., 2008). Με την αναδιάταξη που διενεργείται κατά την ενδοεστεροποίηση πολλαπλασιάζονται τα είδη των τριγλυκεριδίων επιδρώντας έτσι στις φυσικές ιδιότητες των ελαίων, όπως το σημείο τήξης και την κρυστάλλωση του λίπους (Dhaka, 2011). Δεν επηρεάζει όμως τον κορεσμό και δεν προκαλεί ισομερείωση στους διπλούς δεσμούς των λιπαρών οξέων (Sivakanthan et al., 2020). Πρέπει να σημειωθεί ότι με τη διαδικασία αυτή δεν απομακρύνονται τα *trans*- λιπαρά οξέα που ήδη υπάρχουν στα λάδια, όμως θεωρείται αποτελεσματική τεχνική από την άποψη των λειτουργικών χαρακτηριστικών που προσδίδει στα προϊόντα επάλειψης, ενώ δεν παράγονται νέα *TFA*s (Dhaka, et al., 2011). Τα ενδοεστεροποιημένα λιπαρά επεξεργάζονται περαιτέρω με κλασμάτωση για να μειωθούν τα *trans*- ισομερή. Συνήθως τα ενδοεστεροποιημένα λιπαρά είναι προϊόντα ενός υγρού ελαίου τυχαίας αναδιάταξης τα οποία αναμιγνύονται με πλήρως υδρογονωμένα λάδια (Ghafoorunissa et al., 2008 ; Sivakanthan et al., 2020).

Η ενδοεστεροποίηση γίνεται με χρήση χημικού ή ενζυμικού καταλύτη με ελεγχόμενο ή τυχαίο τρόπο (Ghafoorunissa et al., 2008). Η ενδοεστεροποίηση με την χρήση ενζυμικού καταλύτη είναι μια κατευθυνόμενη διαδικασία που καταλύεται από λιπάσες που προσφέρει πλεονεκτήματα όπως υψηλή επιλεκτικότητα, χρήση ήπιων συνθηκών αντίδρασης, λιγότερες παρενέργειες, λιγότερα απόβλητα και ευκολία ανάκτησης προϊόντος σε σύγκριση με τη χημική ενδοεστεροποίηση (Dhaka, et al., 2011 ; Ghafoorunissa et al., 2008). Οι λιπάσες προέρχονται κυρίως από βακτήρια, ζύμες και μύκητες όπως τα *Aspergillus niger*, *Rhizopus delamar*, *Candida rugosa* και αναδιατάσσουν τα λιπαρά οξέα με συγκεκριμένο τρόπο εντός του τριγλυκεριδίου (Sivakanthan et al., 2020). Οι καταλύτες αυτοί αντιδρούν μόνο με τους εστερικούς δεσμούς των λιπαρών οξέων που βρίσκονται στις θέσεις sn-1 και sn-3, αφήνοντας αμετάβλητο το λιπαρό οξύ που βρίσκεται στην θέση sn-2 (Dhaka, et al., 2011 ; Sivakanthan et al., 2020). Αυτό επιτρέπει τη δημιουργία συγκεκριμένων τριγλυκεριδίων σε υψηλά ποσοστά τα οποία μπορούν να βελτιώσουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και να μειώσουν

την συνολική περιεκτικότητα των κορεσμένων λιπαρών του προϊόντος (Dhaka, et al., 2011).

Μία ευρέως σε χρήση εφαρμογή αυτής της διαδικασίας είναι η παραγωγή λιπαρών, μαργαρίνης με χαμηλή συγκέντρωση *trans*- λιπαρών οξέων (Dhaka, et al., 2011). Η ενζυματική διαδικασία βοηθά στη βελτίωση της δημόσιας υγείας μειώνοντας το *trans*- πρόσληψη λίπους αντικαθιστώντας μερικώς υδρογονωμένα φυτικά έλαια με ενδοεστεροποιημένα έλαια και βελτιώνοντας την κατανάλωση PUFA και άλλων ειδικών λιπαρών οξέων με λειτουργικές ιδιότητες ((Dhaka, et al., 2011 ; Sivakanthan et al., 2020).

Η ενδοεστεροποίηση απαρτίζει μία οργανωμένη σειρά ενεργειών κατά την οποία εμπλέκονται σκληρά λίπη (φοινικέλαιο, φοινικοστεατίνη και πλήρως υδρογονωμένα φυτικά λάδια) με υψηλό βαθμό κορεσμένων λιπαρών οξέων, με εδώδιμα υγρά λίπη. Σε ειδικές συνθήκες το αποτέλεσμα της μίξης δίνει την παραγωγή λιπών με ανάμεικτες ιδιότητες (Dhaka, et al., 2011). Με την ενδοεστεροποίηση παράγονται μαργαρίνες χωρίς *trans*- λιπαρά οξέων, αλλά με αρκετά υψηλή ποσότητα σε κορεσμένα λιπαρά ((Dhaka, et al., 2011 ; Sivakanthan et al., 2020). Αν δηλαδή μια μαργαρίνη με τον συνήθη καθιερωμένο τύπο περιέχει από 8.5% έως 23.4% κορεσμένα λιπαρά και 15% έως 28% *trans*- λιπαρά οξέα, οι μαργαρίνες νέας γενιάς μπορούν να περιέχουν 0% *trans*- λιπαρά οξέα, αλλά 32% κορεσμένα λιπαρά (Dhaka, et al., 2011).

- Τροποποίηση της διαδικασίας χημικής υδρογόνωσης

Η τροποποίηση των συνθηκών υδρογόνωσης (π.χ. πίεση, θερμοκρασία και καταλύτης) επηρεάζει τη σύνθεση του λιπαρού οξέος του προκύπτοντος ελαίου, συμπεριλαμβανομένης της ποσότητας σχηματιζόμενων *trans*- λιπαρών οξέων, και ιδιοτήτων όπως σημείο τήξης (Dhaka, et al., 2011). Ο σχηματισμός TFAs αυξάνεται με τη θερμοκρασία υδρογόνωσης αλλά ελαττώνεται με την αύξηση της πίεσης, της συγκέντρωσης του καταλύτη και της ανακίνησης (Kodali et al., 2005 ; List, et al., 2005). Είναι δυνατή η παραγωγή λιπών και ελαίων με παρόμοιες

ιδιότητες με τα προϊόντα που έχουν μικρή συγκέντρωση *trans*- λιπαρών οξέων αυξάνοντας τον βαθμό υδρογόνωσης, γεγονός που μειώνει το επίπεδο *trans*-λιπαρών οξέων αλλά αυξάνει το επίπεδο των κορεσμένων λιπαρών οξέων (Kodali et al., 2005). Στον πίνακα 2 φαίνεται ότι με προοδευτική υδρογόνωση σογιέλαιου (μειωμένη τιμή ιωδίου), η περιεκτικότητα *trans*- λιπαρών οξέων αυξάνεται στο μέγιστο και στη συνέχεια μειώνεται ουσιαστικά στο μηδέν, και το επίπεδο κορεσμένων λιπαρών οξέων αυξάνεται συνεχώς (Kodali et al., 2005 ; List, et al., 2005).

ΤΙΜΗ ΙΩΔΙΟΥ	% <i>TRANS</i> -	% ΚΟΡΕΣΜΕΝΑ
130	0	14
110	6	14
68	26	23
55	45	33
15	1,5	82
5	0	92

Πίνακας 2 : Αλλαγές στην τιμή του ιωδίου και στα ποσοστά *trans*- λιπαρών οξέων και κορεσμένων λιπαρών οξέων με προοδευτική υδρογόνωση του σογιέλαιου

- Τροποποίηση λαδιών με χρήση τεχνικών της γενετικής μηχανικής

Οι ελαιούχοι σπόροι μπορούν να τροποποιηθούν, είτε με χρήση σύγχρονων μεθόδων γενετικής μηχανικής, είτε με παραδοσιακές τεχνικές όπως η διασταύρωση ειδών μέχρι να επιτευχθεί το επιθυμητό αποτέλεσμα (Dhaka, et al., 2011). Αυτό γίνεται με στόχο την δημιουργία ελαιόκαρπων με τροποποιημένη σύσταση λιπαρών οξέων και βελτιωμένες διατροφικές ή τεχνολογικές ιδιότητες.

Με επιλεκτική διασταύρωση έγινε δυνατή η δημιουργία ενός τύπου ηλιελαίου με υψηλό ποσοστό ελαϊκού οξέος (*cis*- C18:1) (κύριο συστατικό του ελαιόλαδου) αλλά και αύξηση της απόδοσης του (Dhaka, et al., 2011). Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό αυτού του ηλιέλαιου είναι πως έχει περισσότερο χρόνο ζωής και

αυξημένη οξειδωτική σταθερότητα σε σχέση με το κοινό ηλιέλαιο (Hunter, 2005 ; Kodali et al., 2005). Το τελευταίο επειδή περιέχει περισσότερο λινελαϊκό οξύ C18:2, προϋποθέτει τη διαδικασία της υδρογόνωσης ώστε να γίνει ανθεκτικότερο στις διαδικασίες της οξείδωσης (Hunter, 2005).

Η γενετική μοριακή βιολογία έχει δώσει τη δυνατότητα τα τελευταία χρόνια να παραχθούν μεταλλαγμένοι σπόροι, από τους οποίους μπορούν να παραχθούν λάδια με συγκεκριμένη σύνθεση λιπαρών οξέων (Hunter, 2005). Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η δημιουργία σπόρων σόγιας που μπορούν να δώσουν σογιέλαιο με αυξημένη περιεκτικότητα κορεσμένων λιπαρών οξέων όπως στεατικού ή παλμιτικού οξέος αυξάνοντας έτσι την περιεκτικότητα σε στερεό λίπος, ώστε να αποφευχθεί η υδρογόνωση (Dhaka et al., 2011 ; Hunter, 2005).

4.2 Επιλογές καταναλωτών

Προς το παρόν ο μόνος τρόπος που υπάρχει, κι είναι στα χέρια των καταναλωτών, για να μειωθεί η πρόσληψη *trans*- λιπαρών οξέων, είναι να προτιμούν τρόφιμα χωρίς *trans*- λιπαρά οξέα (Goyal et al., 2009 ; Sundararaj et al., 2009). Αυτό είναι εφικτό με τη βοήθεια υποδείξεων από εξειδικευμένους υγειονομικής περίθαλψης που θα ενημερώνουν σχετικά με την αποφυγή τροφίμων τα οποία περιέχουν *trans*- λιπαρά οξέα (Goyal et al., 2009). Επίσης κι άπαντες θεραπευτές μαζί με τους ανωτέρω δύνανται με θέρμη, μέσα στα πλαίσια των θεσμών, να υποστηρίξουν τις αλλαγές ώστε να μειωθεί η χρησιμοποίηση *trans*- λιπαρών οξέων σε υπηρεσίες παραγωγής και διανομής τροφίμων, σε σχολεία, νοσοκομεία κ.α. (Mozaffarian, 2006).

Υπάρχει πλήθος αγαθών που περιέχουν *TFA*s, που άμεσα ή μετά από επεξεργασία χρησιμοποιούνται για το σύνολο των βιοτικών αναγκών του ανθρώπου (Goyal et al., 2009 ; Mozaffarian, 2006). Αυτά τα προϊόντα εμφανίζουν διακυμάνσεις στις περιεχόμενες ποσότητες των *trans*- λιπαρών οξέων ανάλογα με

την περιεκτικότητα μερικώς υδρογονωμένων ελαίων, και διακρίνονται σε τρόφιμα που περιέχουν πολλά, λίγα ή καθόλου *trans*- λιπαρά οξέα (Mozaffarian, 2006).

Η αναγκαστική αναφορά της περιεκτικότητας σε λιπαρά στις ετικέτες διατροφής των τροφίμων θα πρέπει να γίνει αρωγός στον αγώνα για την αποφυγή των *trans*- λιπαρών οξέων (Goyal et al., 2009 ; Sundararaj et al., 2009). Ωστόσο αυτό θα λειτουργήσει μόνο εάν οι καταναλωτές, πριν τα προμηθευτούν, είναι πλήρως ενημερωμένοι κι αφού διαβάσουν επιμελώς τις ετικέτες να αποφασίσουν με σύνεση στην αγορά ή μη του προϊόντος (Mozaffarian, 2006). Σημαντική, επίσης, είναι η αναγραφή των προϊόντων που έχουν συγκέντρωση *trans*- λιπαρών οξέων <0,5 g/μερίδα ως *trans*- free προϊόντα διότι ακόμα και οι καταναλωτές που διαβάζουν τις ετικέτες ενδέχεται να προσλάβουν ακούσια σημαντικές ποσότητες *trans*- λιπαρών οξέων σε περίπτωση που καταναλώσουν πολλές μερίδες του προϊόντος (Goyal et al., 2009). Έτσι, η εξέταση της λίστας συστατικών για την ποσότητα υλικών μερικώς υδρογονωμένων ελαίων, θα είναι ο μόνος τρόπος αναγνώρισης αυτών των τροφίμων (Goyal et al., 2009). Αξίζει να αναφερθεί πως οι ετικέτες τροφίμων σ' εστιατόρια, αρτοποιεία και πολλά άλλα καταστήματα τροφίμων λιανικής, δεν είναι υποχρεωτικές και για αυτό δεν εμφανίζονται σχεδόν ποτέ (Goyal et al., 2009 ; Mozaffarian, 2006). Η αποφυγή *trans*- λιπαρών οξέων σε αυτούς τους ιστότοπους επικρέμεται από την πληροφόρηση των καταναλωτών σχετικά με τον τύπο και την ποσότητα των λαδιών που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή υλικών προς βρώση (Mozaffarian, 2006). Η κατάκτηση όμως αυτής της γνώσης είναι ένα δυνητικά δύσκολο αλλά σημαντικό καθήκον, καθώς τα περισσότερα *TFA*s θα καταναλώνονται από τρόφιμα που λαμβάνονται σε αυτές τις τοποθεσίες, επειδή τα *trans*- λιπαρά οξέα εξαλείφονται όλο και περισσότερο από συσκευασμένα τρόφιμα (Goyal et al., 2009 ; Mozaffarian, 2006).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση τα στοιχεία από πειραματικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε εργαστήρια, διατροφικές δοκιμές και προοπτικές μελέτες παρατήρησης, η κατανάλωση *trans*- λιπαρών οξέων από μερικώς υδρογονωμένα έλαια δεν παρέχει κανένα εμφανές θρεπτικό όφελος και έχει σημαντική πιθανότητα βλάβης. Αν και η εξάλειψη μερικώς υδρογονωμένων ελαίων από τρόφιμα μπορεί να είναι πρόκληση για εστιατόρια και κατασκευαστές τροφίμων, η εμπειρία πολλών χωρών δείχνει ότι τέτοια λίπη μπορούν σε μεγάλο βαθμό να αντικατασταθούν χωρίς αύξηση του κόστους ή μείωση της ποιότητας ή της διαθεσιμότητας των τροφίμων. Οι πάροχοι υγειονομικής περίθαλψης πρέπει να συμβουλεύουν τους καταναλωτές σχετικά με τον τρόπο ελαχιστοποίησης της πρόσληψης *trans*-λιπαρών. Αυτά τα βήματα θα βοηθήσουν στη μείωση της κατανάλωσης *trans*- λιπαρών οξέων, η οποία οδηγεί σε σημαντικά οφέλη για την υγεία, όπως η αποτροπή χιλιάδων εκδηλώσεων CHD κάθε χρόνο στις Ηνωμένες Πολιτείες.

Οι παραπάνω συζητήσεις τονίζουν προκλήσεις για την ανάπτυξη μεθόδων που προσδιορίζουν τα επίπεδα των *trans*- λιπαρών οξέων, ιδίως όταν αυτά είναι χαμηλά. Οι ασυνέπειες που παρατηρούνται μεταξύ των επίσημων μεθόδων GC, ATR-FTIR και FT-NIR σε προϊόντα με χαμηλής συγκέντρωση *trans*- λιπαρών οξέων μελετώνται συνεχώς, όμως μερικές παραμένουν άγνωστες και απαιτούν περαιτέρω έρευνα. Στην ανάλυση GC παρατηρούνται αλληλεπικαλύψεις μεταξύ *trans*- και *cis*- λιπαρών οξέων και συν-έκλυση *trans*- με κορεσμένα και ακόρεστα λιπαρά οξέα που οδηγεί σε υποτίμηση του περιεχομένου TFA. Οι προσδιορισμοί FT-NIR και ATR-FTIR ενδέχεται να υπερεκτιμούν το συνολικό περιεχόμενο *trans*- FA επειδή ορισμένα δευτερεύοντα συστατικά ενός βρώσιμου λίπους ή ελαίου θα μπορούσε να συμβάλει στο συνολικό φάσμα FT-NIR ή να επηρεάσει την ζώνη απορρόφησης *trans*- λιπαρών ATR-FTIR.

Συμπερασματικά, και οι τρεις μέθοδοι για τον προσδιορισμό *trans*- (GC, ATR-FTIR και FT-NIR) έχουν εγγενή πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Είναι πρόωρο να υποδείξουμε ποια από τις μεθόδους είναι πιο ακριβής, καθώς αρκετές διαφορές στην απάντηση παραμένουν ανεξήγητες και πρέπει να διευκρινιστούν. Η επιλογή της μεθόδου θα εξαρτηθεί από κάθε συγκεκριμένο σύνολο απαιτήσεων και

περιστάσεων. Εάν λίγα δείγματα απαιτούν ανάλυση με μέγιστο αριθμό πληροφοριών σύνθεσης, η μέθοδος GC είναι σαφώς η καλύτερη επιλογή. Από την άλλη πλευρά, εάν είναι μόνο το συνολικό περιεχόμενο *trans*- απαιτείται για ρουτίνα ανάλυση, τότε μπορεί κανείς να εξετάσει ATR-FTIR ή FT-NIR. Η μέθοδος FT-NIR έχει το πλεονέκτημα ότι παρέχει όχι μόνο το συνολικό περιεχόμενο *trans*-, αλλά και εκτενείς πληροφορίες σχετικά με τα λιπαρά οξύ προφίλ του προϊόντος. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι η μέθοδος FT-NIR απαιτεί πρώτα την προετοιμασία ενός συγκεκριμένου μοντέλου για κάθε τύπο προϊόντος και ότι αυτό απαιτεί συγκρίσεις με ακριβή GC προσδιορισμοί. Προσπάθειες βρίσκονται σε εξέλιξη για τη διεξαγωγή μιας συλλογικής μελέτης χρησιμοποιώντας το FT-NIR για τον προσδιορισμό της ποσότητας και της σύνθεσης των λιπαρών οξέων των προϊόντων, συμπεριλαμβανομένης της περιεκτικότητάς τους σε *trans*- λιπαρά οξέα, προκειμένου να το καταστήσει ως επίσημη μέθοδος FT-NIR.

Όλες οι τρέχουσες επίσημες μέθοδοι ανάλυσης ήταν μέθοδοι που βασίζονται στην έρευνα κατά την πρόωμη ανάπτυξή τους και ορισμένες από τις πρόσφατες εξελίξεις στην ανάλυση λιπιδίων μπορεί να ενσωματωθούν σε επίσημες μεθόδους με την πάροδο του χρόνου. Οι επίσημες μέθοδοι, επειδή έχουν υποβληθεί σε συνεργατικές μελέτες πολλαπλών εργαστηρίων, παρέχουν ένα επίπεδο βεβαιότητας για τη μέτρηση συγκεκριμένων αναλυτών σε ένα καθορισμένο εύρος συγκέντρωσης για συγκεκριμένους πίνακες. Αυτές οι μέθοδοι, αν και ισχυρές, μπορεί να μην είναι τόσο ευαίσθητες όσο άλλες, νεότερες μέθοδοι που μπορεί να περιλαμβάνουν πιο εξελιγμένα όργανα. Οι προκλήσεις που εμποδίζουν την αποδοχή νεότερων μεθόδων βασισμένων στην έρευνα ως επίσημων μεθόδων περιλαμβάνουν τη διαθεσιμότητα κεφαλαίων για την υποστήριξη της αγοράς δαπανηρών αναλυτικών μέσων, την απροθυμία των αναλυτών να υιοθετήσουν νέες μεθόδους ή τεχνικές και δυσκολίες που πληρούν τα αποδεκτά πρότυπα απόδοσης σε συνεργατικές μελέτες πολλαπλών εργαστηρίων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Albuquerque, T. G., Costa, H. S., Castilho, M. C., & Sanches-Silva, A. (2011). Trends in the analytical methods for the determination of *trans*- fatty acids content in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 22(10), 543–560. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.03.009>

Aro, A., Amaral, E., Kesteloot, H., Rimestad, A., Thamm, M. & van Poppel, G. (1998). *Trans*-Fatty acids in French fries, soups, and snacks from 14 European countries: The *TRANS*-FAIR study. *Journal of Food Composition Analysis*, 11(170–177). <https://doi.org/10.1006/jfca.1998.0572>

Aro, A. (2001). Complexity of issue of dietary *trans*- fatty acids. *Lancet*, 357(9258), 732. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04175-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04175-1)

Ascherio, A., & Willett, W. C. (1997). Health effects of *trans*- fatty acids. *The American journal of clinical nutrition*, 66(4), 1006S–1010S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/66.4.1006S>

Ashraful, I. M., Mohammad, N. A., Shafayet, A. S., Parvez, H., Farhana, S. & Ruhul, K. (2019). Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. *Trans-fatty acid and lipid profile: A serious risk factor to cardiovascular disease, cancer and diabetes*, 13(2), 1643-1647.

Azizian, H., Kramer, J.K.G., Kamalian, A.R., Hernandez, M., Mossoba, M.M., and Winsborough, S.L. (2004) Quantification of *trans*- Fatty Acids in Food Products by GC, ATR-FTIR and FT-NIR Methods, *Lipid Technology* 16(10), 229– 231.

Bauman, D. E., Mather, I. H., Wall, R. J., & Lock, A. L. (2006). Major Advances Associated with the Biosynthesis of Milk. *Journal of Dairy Science*, 89(4), 1235–1243. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72192-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72192-0)

Bhardwaj, S., Passi, S. J., & Misra, A. (2011). Overview of *trans*- fatty acids: biochemistry and health effects. *Diabetes & metabolic syndrome*, 5(3), 161–164. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2012.03.002>

Bhardwaj, S., Passi, S. J., Misra, A., Pant, K. K., Anwar, K., Pandey, R. M., & Kardam, V. (2016). Effect of heating/reheating of fats/oils, as used by Asian Indians, on *trans*-fatty acid formation. *Food Chemistry*, 212, 663–670. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.021>

Booker, C.S. & Mann, J.I. (2008). *Trans*- fatty acids and cardiovascular health: *Trans*-lation of the evidence base, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 18(6), 448-456, <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2008.02.005>.

Birkel, E., Rodriguez-Saona, L. Application of a Portable Handheld Infrared Spectrometer for Quantitation of *trans*- Fat in Edible Oils. *J Am Oil Chem Soc* 88, 1477–1483 (2011). <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1814-z>

Brouwer, IA, Wanders, AJ, & Katan, MB (2013). *Trans- λιπαρά οξέα και καρδιαγγειακή υγεία: ολοκληρώθηκε η έρευνα; European Journal of Clinical Nutrition*, 67 (5), 541–547. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2013.43>

Chavarro JE, Rich-Edwards JW, Rosner BA, Willett WC. Dietary fatty acid intakes and the risk of ovulatory infertility. *Am J Clin Nutr* 2007;85(1):231–7

Craig-Schmidt, M. C. (2006). World-wide consumption of *trans*- fatty acids. *Atherosclerosis (Supplements)*, 7(2), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosisup.2006.04.001>

da Costa Filho, P. A. (2014). Developing a rapid and sensitive method for determination of *trans*-fatty acids in edible oils using middle-infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 158, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.084>

Dalainas, I., Ioannou, H.P. 2008, “The role of *trans*- fatty acids in atherosclerosis, cardiovascular disease and infant development”, *International Angiology*, Volume 27, pp. 146-156

Daoud, S., Bou-maroun, E., Dujourdy, L., Waschatko, G., Billecke, N., & Cayot, P. (2019). Fast and direct analysis of oxidation levels of oil-in-water emulsions using ATR-FTIR. *Food Chemistry*, 293, 307–314. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.005>

Decsi, T., Burus, I., Molnar, S., Minda, H., & Veitl, V. (2001). Inverse association between *trans*- isomeric and long chain polyunsaturated fatty acids in cord blood lipids of full-term infants. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74(3), 364-368. <https://doi.org/10.1093/ajcn/74.3.364>

Dhaka, V., Gulia, N., Ahlawat, K.S. & Khatkar, B.S. (2011) *Trans*- fats—sources, health risks and alternative approach - A review. *J Food Sci Technol* 48, 534–541. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0225-8>

Dr. Carlos Morillo, Quantitative Analysis of *Trans*-Fats in Food Products using an FT/IR-ATR Method (Application Note 050-AT-0215) (*JASCO INC. 28600 Mary's Court, Easton, MD 21601 USA* Application Library: jascoinc.com/applications)

Dutton HJ. Hydrogenation of fats and its significance. In: Eraken EA, Dutton HJ, eds. *Geometrical and Positional Fatty Acid Isomers*. Champaign IL. American Oil Chemists Society;1979:1-16 51. Mounts TL. Hydrogenation. In: Pryde EH, Ed. *Fatty Acids*. Champaign IL. American Oil Chemists Society; 1979:391-402

Funck, L.G., Barrera-Arellano, D., & Block, J. M. (2006). Conjugated linoleic acid (CLA) and its relationship with cardiovascular disease and associated risk factors. *Archivos latinoamericanos de nutricion*, 56(2), 123–134.

Żbikowska, A. (2010). Formation and Properties of *Trans*- Fatty Acids - a Review. *Polish Journal of Food & Nutrition Sciences*, 60(2), 107–114

- Galvín, S., Guillén-Sans, R., Galbis, J. A., & Guzmán-Chozas, M. (2016). *Trans-fatty acids in two classes of reformulated “zero trans-” Spanish margarines by use of second derivative ATR-FTIR spectroscopy. LWT - Food Science & Technology, 65*, 1066–1071. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.047>
- Gashaw, A., & Getasetegn, M. (2018). Chemistry and Health Impacts of *Trans- Fatty Acids. Journal of Chemical Technology & Metallurgy, 53*(2), 159–169.
- Ghafoorunissa G. (2008). Role of *trans-* fatty acids in health and challenges to their reduction in Indian foods. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 17*(1), 212–215.
- Ghebreyesus, T. A., & Frieden, T. R. (2018). REPLACE: a roadmap to make the world *trans-* fat free by 2023. *Lancet, 391*(10134), 1978–1980. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31083-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31083-3)
- Gillette Guyonnet, S., Abellan Van Kann, G., Andrieu, S., Barberger Gateau, P., Berr, C., Bonnefoy, M., Dartigues, J.F., de Groot, L., Ferry, M., Galan, P., Hercberg, S., Jeandel, C., Morris, M.C., Nourhashemi, F., Payette, H., Poulain, J.P., Portet, F., Roussel, A.M., Ritz, P., Rolland, Y., Vellas, B. 2007, “IANA task force on nutrition and cognitive decline with aging”, *Journal of Nutrition, Health and Aging, Volume 11*, pp. 132-52.
- Goyal N, Sundararaj P. (2009). Are we unknowingly consuming *trans-* fats and abused oils? *Department of Food and Nutrition, Lady Irwin College, University of Delhi, Delhi, India. 30*(2):4–7.
- Hornstra G, Van Eijsden M, Dirix C, Bonsel G. *Trans-* fatty acids and birth outcome: some first results of the MEFAB and ABCD cohorts. *Atheroscler Suppl 2006;7*(2):21–3.
- Hou, J.-C., Wang, F., Wang, Y.-T., Xu, J., & Zhang, C.-W. (2012). Assessment of *trans-* fatty acids in edible oils in China. *Food Control, 25*(1), 211–215. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.044>
- <https://www.ssi.shimadzu.com/sites/ssi.shimadzu.com/files/Products/literature/FTIR/A430.pdf>
- Hu, F.B., Manson, J.E., Stampfer, M.J., Colditz, G., Liu, S., Solomon, C.G., Willett, W.C. 2001, “Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women”, *New England Journal of Medicine, Volume 345*, pp. 790-797
- Hunter, J. E. (2005). Dietary levels of *trans-*fatty acids: basis for health concerns and industry efforts to limit use. *Nutrition Research, 25*(5), 499–513. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2005.04.002>
- Jasti, S., & Kovacs, S. (2010). Use of *trans-* fat information on food labels and its determinants in a multiethnic college student population. *Journal of nutrition education and behavior, 42*(5), 307–314. <https://doi.org/10.1016/j.jneb.2009.06.004>
- Katan, M. B. (2000). *Trans-* Fatty Acids and Plasma Lipoproteins. *Nutrition Reviews, 58*(6), 188–191.

Khan, M.U., Hassan, M.F. & Rauf, A. (2017). Determination of *trans*- Fat in Selected Fast Food Products and Hydrogenated Fats of India Using Attenuated Total Reflection Fourier *Trans*-form Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy. *Journal of Oleo Science*, 66(3):251-257

Kodali, D.R., List, G.R. (2005). *Trans- Fats Alternatives*. AOCS PRESS: Illinois

Κουή, Μ., Αβδελίδης, Ν., Θεοδωρακέας, Π., Χειλάκου, Ε. 2015. Φασματοσκοπία Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier με Αποσβένουσα Ολική Ανάκλαση. [Κεφάλαιο Συγγράμματος]. Στο Κουή, Μ., Αβδελίδης, Ν., Θεοδωρακέας, Π., Χειλάκου, Ε. 2015. *Μη καταστρεπτικές και φασματοσκοπικές μέθοδοι εξέτασης των υλικών*. [ηλεκτρ. βιβλ.] Αθήνα:Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών. κεφ 7.

Kromhout, D., Menotti. A., Bloemberg, B., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Dontas, A.S., Fidanza, F., Giaipali, S., Jansen, A., Karvonen, M., Katan, M., Nissinen, A., Nedeljkovic, S., Pekkanen, J., Pekkarinen, M., Punsar, S., Rasanen, L., Simic, B. & Toshima, H. (1995). Dietary Saturated and *trans*-Fatty Acids and Cholesterol and 25-Year Mortality from Coronary Heart Disease: The Seven Countries Study. *Preventive Medicine*, 24(3), 308-315. <https://doi.org/10.1006/pmed.1995.1049>

Larqu e, E., Zamora, S., & Gil, A. (2001). Dietary *trans*- fatty acids in early life: a review. *Early human development*, 65 Suppl, S31–S41. [https://doi.org/10.1016/s0378-3782\(01\)00201-8](https://doi.org/10.1016/s0378-3782(01)00201-8)

Liu, W. H., Stephen Inbaraj, B., & Chen, B. H. (2007). Analysis and formation of *trans*-fatty acids in hydrogenated soybean oil during heating. *Food Chemistry*, 104(4), 1740–1749. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.069>

Lopez GE, Schulze MB, Meigs JB, Manson JE, Rifai N, Stampfer MJ, et al. Consumption of *trans*- fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. *J Nutr* 2005;135(3):562–6

Lucarini, M., Durazzo, A., Sánchez Del Pulgar, J., Gabrielli, P., & Lombardi-Boccia, G. (2018). Determination of fatty acid content in meat and meat products: The FTIR-ATR approach. *Food Chemistry*, 267, 223–230. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.042>

Mahesar, S.A., Sherazi, S.T.H, Khaskheli, A.R., Kandhro, A.A. & Uddin, S. (2014). Analytical approaches for the assessment of free fatty acids in oils and fats. *Analytical Methods*, 14(6), 4956-4963. <https://doi.org/10.1039/C4AY00344F>.

Mahfouz, M. 1981, “Effect of dietary *trans*- fatty acids on the delta 5, delta 6 and delta 9 desaturases of rat liver microsomes in vivo”, *Acta Biol Med Ger.*, vol. 40, pp. 1699-1705.

Martin, Clayton A., Milinsk, Maria C., Visentainer, Jesu  V., Matsushita, Makoto, & de-Souza, Nilson E.. (2007). *Trans*- fatty acid-forming processes in foods: a review. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 79(2), 343-350. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652007000200015>

Mendis, S., Cruz-Hernandez, C. & Ratnayake, W.M.N. (2008). Fatty Acid Profile of Canadian Dairy Products with Special Attention to the *trans*-Octadecenoic Acid and

Conjugated Linoleic Acid Isomers, *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 91(4), 811–819, <https://doi.org/10.1093/jaoac/91.4.811>

Micha, R. & Mozaffarian, D. (2008). *Trans-* fatty acids: Effects on cardiometabolic health and implications for policy. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 79(3-5), 147-152, <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2008.09.008>

Moreno, M.C.M.M., Olivare, D.M., Lopez, F.J.A., Adelantado, J.V.G. & Reig, F.B. (1999). Determination of unsaturation grade and *trans-* isomers generated during thermal oxidation of edible oils and fats by FTIR. *Journal of Molecular Structure* 482-483: 551– 556. [https://doi.org/10.1016/S0022-2860\(98\)00937-5](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(98)00937-5)

Mossoba MM, Kramer JKG, Delmonte P, Yurawecz MP, Rader JI (2005) In: Kodali DR, List GR (eds) *Trans-* fats alternatives. AOCS Press, Champaign, IL, pp 47–70

Mossoba M.M., Kramer J.K.G., Delmonte P., Yurawecz M. P. and Rader J. I. (2003). Official Methods for the Determination of *Trans-* Fat. *AOCS Monograph*. AOCS Press, Champaign, IL. 1-22.

Mossoba, M. M., Milosevic, V., Milosevic, M., Kramer, J. K. G., & Azizian, H. (2007). Determination of total *trans-* fats and oils by infrared spectroscopy for regulatory compliance. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 389(1), 87–92. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1262-7>

Mossoba, M.M., Moss, J. & Kramer, J.K.G. (2009). *Trans-* Fat Labeling and Levels in U.S. Foods: Assessment of Gas Chromatographic and Infrared Spectroscopic Techniques for Regulatory Compliance, *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, Volume 92, Issue 5, Pages 1284–1300, <https://doi.org/10.1093/jaoac/92.5.1284>

Mozaffarian, D., M.D., M.P.H., Katan, M.B., Ph.D., Ascherio, A., M.D., Dr.P.H., Stampfer, M.J., M.D., Dr.P.H., Willett, W.C., M.D. & Dr.P.H. (2006). *Trans- Fatty Acids and Cardiovascular Disease*, 1601-1613. doi:10.1056/NEJMra054035

Mozaffarian, D., Aro, A., & Willett, W. C. (2009). Health effects of *trans* fatty acids: experimental and observational evidence. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63, S5–S21. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602973>

Parrott, M.D., Greenwood, C.E., 2007, “Dietary influences on cognitive function with aging: from high-fat diets to healthful eating”, *Annals of the New York Academy of Science*, Volume 1114, pp. 389-97.

Perwaiz, I. M. (2014). Pakistan Journal of Medical Sciences. *Trans- fatty acids-A risk factor for cardiovascular disease*, 30(1), 194-197. doi: 10.12669/pjms.301.4525

(Παπαλουκάς, Λ. (2015). Προσδιορισμός της ποιότητας και της προέλευσης του πρόβειου γάλακτος μέσω φυτικών ουσιών και βιοδεικτών. Δημοσιευμένη διδακτορική διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας, Δασολογίας και Φυτικού Περιβάλλοντος, Θεσσαλονίκη.

- Romero, A., Cuesta, C. & Sanchez-Muniz, F.J. (2000). *Trans- fatty acid production in deep fat frying of frozen foods with different oils and frying modalities. Nutrition Research* 20(4): 599– 608. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(00\)00150-0](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(00)00150-0)
- Sanibal, Elaine Abrão Assef, & Mancini Filho, Jorge. (2004). Perfil de ácidos graxos *trans-* de óleo e gordura hidrogenada de soja no processo de fritura. *Food Science and Technology*, 24(1), 27-31. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612004000100006>
- Satchithanandam, S., Oles, C.J., Spease, C.J., Brandt, M.M., Yurawecz, M.P. & Rader, J.I. (2004). *Trans-*, saturated, and unsaturated fat in foods in the united states prior to mandatory *trans* fat labeling. *Lipids* 39, 11–18. <https://doi.org/10.1007/s11745-004-1195-5>
- Sherazi, S. T. H., Talpur, M. Y., Mahesar, S. A., Kandhro, A. A., & Arain, S. (2009). Main fatty acid classes in vegetable oils by SB-ATR-Fourier *trans*-form infrared (FTIR) spectroscopy. *Talanta*, 80(2), 600–606. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.07.030>
- Shingfield K.J., Chilliard Y., Toivonen V., Kairenius P., Givens D.I. (2008). *Trans- Fatty Acids and Bioactive Lipids in Ruminant Milk*. In: Bösze Z. (eds) *Bioactive Components of Milk. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 606. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-0-387-74087-4_1
- Sivakanthan, S., & Madhujith, T. (2020). Current trends in applications of enzymatic interesterification of fats and oils: A review. *LWT - Food Science & Technology*, 132, N.PAG. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109880>
- Sommerfeld M. (1983). *Trans-* unsaturated fatty acids in natural products and processed foods. *Progress in lipid research*, 22(3), 221–233. [https://doi.org/10.1016/0163-7827\(83\)90010-3](https://doi.org/10.1016/0163-7827(83)90010-3)
- Stender, S., & Dyerberg, J. (2004). Influence of *Trans-* Fatty Acids on Health. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 48(2), 61–66. <https://doi.org/10.1159/000075591>
- Tarrago-Trani, M. T., Phillips, K. M., Lemar, L. E., & Holden, J. M. (2006). New and Existing Oils and Fats Used in Products with Reduced *Trans* Fatty Acid Content. *Journal of the American Dietetic Association*, 106(6), 867–880. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2006.03.010>
- Τσάκνης, Γ. (2018). ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ-ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΛΙΠΩΝ ΚΑΙ ΛΑΔΙΩΝ. ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΤΖΙΟΛΑ: ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ.
- Tyburczy, C., Mossoba, M., & Rader, J. (2013). Determination of *trans-* fat in edible oils: current official methods and overview of recent developments. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 405(17), 5759–5772. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-7005-z>
- Yang, M., Yang, Y., Nie, S., Xie, M., Chen, F., & Luo, P. G. (2014). Formation of *trans-* fatty acids during the frying of chicken fillet in corn oil. *International Journal of*

Food Sciences & Nutrition, 65(3), 306–310.
<https://doi.org/10.3109/09637486.2013.858237>

Vartolaş, E.-I., Manolache, F. A., Ionescu, V., Uţoiu, C. D., Manasia, T. A., & Todaşcă, M. C. (2019). Ft-Ir Spectroscopy as Method for *Trans*- Fatty Acids Quantificationa Short Review. *Annals: Food Science & Technology*, 20(3), 623–630.

Wandall, B. (2008). The controversy over *trans*- fatty acids: Effects early in life. *Food & Chemical Toxicology*, 46(12), 3571–3579. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.08.017>

Willett, W. C., Stampfer, M. J., Manson, J. E., Colditz, G. A., Speizer, F. E., Rosner, B. A., Sampson, L. A., & Hennekens, C. H. (1993). Intake of *trans*- fatty acids and risk of coronary heart disease among women. *Lancet (London, England)*, 341(8845), 581–585. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)90350-p](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)90350-p)