ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

# ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΑΝΑΦΕΡΟΜΕΝΩΝ ΤΙΜΩΝ Ω-3 ΛΙΠΑΡΩΝ ΣΕ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ ΚΑΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΥΤΟΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΕ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

ΣΑΛΙΑΪ Α. ΝΙΚΟΛΙΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ Κ. ΡΙΖΟΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ, 2018

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

# ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΑΝΑΦΕΡΟΜΕΝΩΝ ΤΙΜΩΝ Ω-3 ΛΙΠΑΡΩΝ ΣΕ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ ΚΑΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΑΥΤΟΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΕ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

Σαλίαϊ Α. Νικολία
Επιβλέπων Καθηγητής: Απόστολος Κ. Ρίζος

Ηράκλειο, 2018

UNIVERSITY OF CRETE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY
GENERAL MASTER OF SCIENCE DEGREE

# A COMPARATIVE STUDY BETWEEN ACTUAL AND STATE VALUE OMEGA -3 DIETARY SUPPLEMENTS IN THE GREEK MARKET AND ASSESSMENT OF THE AUTOXIDATION RATE IN CONTROLLED CONDITIONS

Saliaj A. Nikolia

Supervisor: Professor Apostolos K. Rizos

Heraklion, 2018

**Επιβλέπων Καθηγητής**

**Απόστολος Κ. Ρίζος**

Καθηγητής Τμήματος Χημείας, Πανεπιστημίου Κρήτης

**Μέλη τριμελούς εξεταστικής επιτροπής:**

**Απόστολος Κ. Ρίζος**

Καθηγητής Τμήματος Χημείας, Πανεπιστημίου Κρήτης

**Αριστείδης Μ. Τσατσάκης**

Καθηγητής Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστημίου Κρήτης

**Εμμανουήλ Τζατζαράκης**

Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστημίου Κρήτης

# *Ευχαριστίες*

Η ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής μου διατριβής δεν θα ήταν δυνατή αν όλα αυτά τα χρόνια δεν είχα την αμέριστη συμπαράσταση και καθοδήγηση ανθρώπων, οι οποίοι με αγκάλιασαν με την εμπιστοσύνη τους και με υποστήριξαν σε κάθε βήμα μου.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστώ θερμά το Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης που δέχτηκαν την εισαγωγή μου στο Γενικό Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Ειδίκευσης.

Ιδιαίτερα θέλω να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. *Απόστολο Ρίζο*, για την επιστημονική, πνευματική κα ηθική υποστήριξη του απέναντι μου. Σας ευχαριστώ εκ καρδίας, γιατί χάρης εσάς κατόρθωσα να επιτύχω τον πιο σημαντικό έως τώρα ακαδημαϊκό μου στόχο.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή της Ιατρικής Σχολή κ. *Εμμανουήλ Τζατζαράκη* για την πολύτιμη βοήθειά που μου προσέφερε αλλά και για τη συνεχή και υπομονετική καθοδήγησή του σε συνδυασμό με τον άψογο επαγγελματισμό του, βοήθησε σήμερα να φτάσω στο σημείο που βρίσκομαι.

Στην συνέχεια και με την ίδια θέρμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. *Αριστείδη Τσατσάκη*, Διευθυντή του Εργαστηρίου Τοξικολογίας, για την δυνατότητα που μου πρόσφερε να διεκπεραιώσω την μεταπτυχιακή μου εργασία στο εργαστήριο του.

Δεν θα μπορούσα να μην αναφερθώ σε αυτό το σημείο στην αρχικά συμφοιτήτρια μου *Δήμητρα Γκουλούση* και πλέον πολύ καλή μου φίλη για την πολύτιμη βοήθειά που μου προσέφερε απλόχερα. Στην αγαπημένη μου φίλη *Ελευθερία Μανιουδάκη* που με τον ιδιαίτερο δικό της τρόπο μου έδινε δύναμη.

Ολοκληρώνοντας, δεν θα μπορούσα να παραβλέψω φυσικά την ίδια μου την οικογένεια, η οποία στεκόταν και στέκεται πάντα δίπλα μου, σε όλη την διάρκεια κι αυτής της προσπάθειάς μου. Είναι οι άνθρωποι που με την αγάπη τους, την υπομονή τους και την διαρκή υποστήριξή τους έκαναν τις δύσκολες στιγμές να μοιάζουν ευκολότερες. Ένα μεγάλο ευχαριστώ στον πατέρα μου

*Αρμπέν Σαλίαϊ*, στην μητέρα μου *Μαϊλίντα Σαλίαϊ*, στον αδερφό μου *Γιώργο Σαλίαϊ* και στον σύντροφο μου *Νίκο Γιαμάκη*.

Σας ευχαριστώ όλους από τα βάθη της καρδίας μου.

*Νικολία Σαλίαϊ,*

Ηράκλειο 2018

# Περιεχόμενα

*Περίληψη* ..... *12*

**Κεφάλαιο 1** ..... **15**

*1. Εισαγωγή* ..... *15*
1.1 Λιπαρά οξέα ..... 16
1.1.1 Κορεσμένα λιπαρά οξέα ..... 17
1.1.2 Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα ..... 17
1.1.3 Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα ..... 18
1.2 Σημαντικότερα ω-3 λιπαρά οξέα ..... 19
1.3 Λιπαρά οξέα και υγεία ..... 20
1.3.1 Θετικές επιπτώσεις στην υγεία ..... 21
1.3.2 Αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία ..... 28
1.3.3 Διατροφική σημασία της οξείδωσης των λιπιδίων ..... 28
1.4 Δομή και σύσταση συμπληρωμάτων διατροφής ιχθυελαίου ..... 32

**Κεφάλαιο 2** ..... **34**

*2. Πειραματικό Μέρος* ..... *34*
2.1 Στόχος και αντικείμενο μελέτης ..... 34
2.2 Δειγματοληψία ..... 34
2.3 Πειραματική διαδικασία ..... 35
2.3.1 Αντιδραστήρια ..... 35
2.3.2 Όργανα και σκεύη ..... 36
2.3.3 Μέθοδοι ανάλυσης ..... 36
**2.3.3.1 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων σε δείγματα συμπληρωμάτων διατροφής** ..... 36
**2.3.3.2 Εκτίμηση του ρυθμού αυτο-οξείδωσης σε δείγματα συμπληρωμάτων διατροφής** ..... 40

**Κεφάλαιο 3** ..... **45**

*3. Αποτελέσματα* ..... *45*
3.1 Αποτελέσματα και χαρακτηρισμός κορυφών GC-MS ..... 45
3.2 Αποτελέσματα και εκτίμηση του ρυθμού αυτοοξείδωσης ..... 52

**Κεφάλαιο 4** ..... **56**

*4.1 Συζήτηση αποτελεσμάτων* ..... *56*

*4.2 Σύγκριση αποτελεσμάτων με παγκόσμιες μελέτες* ..... *60*

**Βιβλιογραφία** ..... **65**

# ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ ΚΑΙ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

## Πίνακες

**Πίνακας 1.** Συνθήκες ανάλυσης δειγμάτων…….39

**Πίνακας 2.** Θραύσματα και χρόνοι έκλυσης σύμφωνα με τους οποίους έγινε ανίχνευση των λιπαρών οξέων……40

**Πίνακας 3.** Περιεκτικότητες % των κύριων λιπαρών οξέων στα 10 διαφορετικά δειγμάτων των συμπληρωμάτων διατροφής……46

**Πίνακας 4.** Συνολικά αποτελέσματα περιεκτικότητας % SFA, MUFA, PUFA λιπαρών οξέων στα συμπληρώματα διατροφής…….48

**Πίνακας 5.** Σύγκριση της συγκέντρωσης των EPA και DHA βάση των τιμών που προσδιορίστηκαν πειραματικά έναντι αυτών που αναφέρουν οι συσκευασίες των δειγμάτων…….50

**Πίνακας 6.** Μελέτη του ρυθμού αυτοοξείδωσης σε δείγματα όπου αποθηκεύτηκαν για 28 ημέρες, σε φωτεινό μέρος, σε θερμοκρασία 20 – 25$^{O}$C……54

**Πίνακας 7.** Μελέτη του ρυθμού αυτοοξείδωσης για το 3ο δείγμα όπου αποθηκεύτηκε για 28 ημέρες, σε θερμοκρασία 37$^{O}$C και 47$^{O}$C…….55

**Πίνακας 8.** Σύγκριση μελετών για την οξειδωτική κατάσταση βάση των κριτήριων ποιότητας του GOED.…….60

**Πίνακας 9.** Συνιστώμενη πρόσληψη EPA και DHA……61

**Πίνακας 10.** Συνιστώμενη Διαιτητική Πρόσληψη για ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα από εθνικούς και διεθνείς οργανισμούς για τους ενήλικες…….62

# Σχήματα

**Σχήμα 1.** Δομή κορεσμένου λιπαρού οξέος……17

**Σχήμα 2.** Δομή μονοακόρεστων λιπαρών οξέων……17

**Σχήμα 3.** Ω-3 λιπαρό οξύ……18

**Σχήμα 4.** Ω-6 λιπαρό οξύ……18

**Σχήμα 5.** Χημικός τύπος του α-λινολενικού οξέος……19

**Σχήμα 6.** Χημικός τύπος του εικοσαπενταενοϊκού οξέος……19

**Σχήμα 7.** Χημικός τύπος του εικοσιδυαεξαενοϊκού οξέος……20

**Σχήμα 8.** Στάδια οξείδωσης των λιπιδίων……29

**Σχήμα 9.** Σχηματική απεικόνιση της μικρό – ενθυλάκωσης ιχθυελαίου……32

**Σχήμα 10.** Αέριος χρωματογράφος GCMS-QP-2010 της εταιρείας Shimadzu……38

**Σχήμα 11.** Τετραπολικός Αναλυτής Μαζών……38

**Σχήμα 12.** Σχηματική απεικόνιση φασματοφωτόμετρου UV-Vis……42

**Σχήμα 13.** Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης UV-1800 της εταιρείας Shimadzu…43

**Σχήμα 14.** Προφίλ λιπαρών οξέων σε Συμπληρώματα Διατροφής……45

**Σχήμα 15.** Περιοχή ανίχνευσή του εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA, C20:5*n*3) και του δεκαεξανοϊκό οξύ (DHA, C22:6*n*3)……46

**Σχήμα 16.** Παρουσίαση των κορεσμένων, μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σε συμπληρώματα διατροφής……49

**Σχήμα 17.** Παρουσίαση του συνόλου των ω-3 και ω-6 σε συμπληρώματα διατροφής……49

**Σχήμα 18.** Απόκλιση % της αναφερόμενης σε σχέση με την πραγματική τιμή EPA και DHA……51

**Σχήμα 19.** Συγκέντρωση υπεροξειδίων στα υπό ανάλυση δείγματα.……52

**Σχήμα 20.** Συγκέντρωση ανισιδίνης στα υπό ανάλυση δείγματα……..……53

**Σχήμα 21.** Συγκέντρωση του ολικού αριθμού οξείδωσης στα υπό ανάλυση δείγματα.……53

**Σχήμα 22.** Μελέτη του ρυθμού αυτοοξείδωσης σε σχέση με την επίδραση των εξωτερικών συνθηκών αποθήκευσης. Τα δείγματα ανοίχτηκαν από τις συσκευασίες τους και τοποθετήθηκαν σε φωτεινό μέρος σε θερμοκρασία 20 – 25$^{O}$C για 28 ημέρες……54

**Σχήμα 23.** Μελέτη του ρυθμού αυτοοξείδωσης σε σχέση με την επίδραση της θερμοκρασίας, στους 37$^{O}$C και 47$^{O}$C για το 3$^{ο}$ δείγμα……..55

**Σχήμα 24.** Παγκόσμιο χάρτης παρουσιάζει τα επίπεδα των EPA και DHA στο αίμα……..63

## Ευρετήριο όρων:

| Συντομογραφία | Αγγλική Ονομασία | Ελληνική Ονομασία |
|---|---|---|
| EPA | Eicosapentaenoic acid | Εικοσαπενταενοϊκό οξύ |
| DHA | Docosahexaenoic acid | Εικοσιδυαεξαενοϊκό οξύ |
| ALA | α-linolenic acid | α-Λινολενικό οξύ |
| MUFA | Monounsaturated Fatty Acids | Μονοακόρεστα Λιπαρά Οξέα |
| PUFA | Polyunsaturated Fatty Acids | Πολυακόρεστα Λιπαρά Οξέα |
| SFA | Saturated Fatty Acids | Κορεσμένα Λιπαρά Οξέα |
| UFA | Unsaturated Fatty Acids | Ακόρεστα Λιπαρά Οξέα |
| AD | Alzheimer's disease | νόσος Alzheimer |
| GOED | Global Organization for EPA and DHA | Διεθνής Οργανισμός για το EPA και το DHA |
| CHD | Coronary Heart Disease | Στεφανιαία νόσος |
| EFSA | European Food Safety Authority | Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων |

# Περίληψη

Τα ω-3 λιπαρά οξέα ανήκουν στην κατηγορία των λιπαρών οξέων που δεν μπορεί να παράξει ο οργανισμός από μόνος του, και θα πρέπει να γίνεται λήψη αυτών μέσω της διατροφής. Αποτελούν απαραίτητα συστατικά της διατροφής του ανθρώπου, τα οποία βρίσκονται σε ιδιαίτερα μεγάλες αναλογίες σε ιχθυέλαια και στα λίπη των ψαριών. Η κατανάλωση ω-3 λιπαρών οξέων έχει αποδειχτεί ότι έχει ευεργετικές συνέπειες, διότι έχουν αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Στην αγορά τα λιπαρά αυτά οξέα υπάρχουν ως συμπληρώματα διατροφής τα οποία είναι πάρα πολύ διαδεδομένα.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η συγκριτική μελέτη των πραγματικών έναντι των αναφερόμενων τιμών ω-3 σε διατροφικά συμπληρώματα, καθώς και η εκτίμηση του ρυθμού αυτοοξείδωσης τους σε ελεγχόμενες συνθήκες. Αναλύθηκαν δέκα (10) διαφορετικά δείγματα συμπληρωμάτων διατροφής τα οποία είναι διαθέσιμα στην ελληνική αγορά.

Αρχικά με τη χρήση αέριας χρωματογραφίας – φασματομετρίας μάζας (GC-MS) έγινε ποσοτική ανάλυση των λιπαρών οξέων και κατηγοριοποίηση αυτών σε κορεσμένα, μονοακόρεστα, πολυακόρεστα λιπαρών οξέων (SFA/MUFA/PUFA). Στην συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ποσοτικοποίηση της συγκέντρωσης των EPA και DHA και σύγκριση των πραγματικών τιμών που προσδιορίστηκαν έναντι των αναφερόμενων τιμών. Η απόκλιση που εμφανίζει το EPA είναι από 43,6% λιγότερο από την αναφερόμενη τιμή έως 165,3% περισσότερο. Ενώ το DHA από 21,5% λιγότερο έως 153,9% σε σχέση με την αναγραφόμενη τιμή στην ετικέτα των δειγμάτων. Από τα 10 δείγματα μόνο τα 2 περιέχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση από την αναγραφόμενη τιμή τόσο σε EPA όσο και DHA. Ένα δείγμα μόνο περιέχει μεγαλύτερη ποσότητα σε DHA από ότι αναγράφει στην ετικέτα, ενώ εν αντιθέσει περιέχει μικρότερη ποσότητα σε EPA. Τα υπόλοιπα 7 δείγματα περιέχουν λιγότερη ποσότητα από ότι αναγράφεται τόσο σε EPA, όσο και σε DHA. Στην συνέχεια γίνεται προσδιορισμός του ρυθμού αυτοοξείδωσης των συμπληρωμάτων διατροφής, όπου αναλύθηκαν 8 από τα 10 δείγματα, διότι τα δύο από αυτά τα δείγματα δεν ήταν εφικτό να αναλυθούν λόγω τις δομής της κάψουλας που περιείχε το ιχθυέλαιο. Προσδιορίστηκε ο αριθμός των υπεροξειδίων, της ανισιδίνης και του ολικού αριθμού οξείδωσης. Όσο αφορά τον αριθμό των υπεροξειδίων (PV) τα μισά δείγματα ήταν πάνω από το επιτρεπτό όριο, ενώ όσο αφορά την τιμή της ανισιδίνης (AV) μόνο ένα δείγμα ήταν πάνω από το επιτρεπτό όριο και σύμφωνα με τον ολικό αριθμό οξείδωσης (TOTOX) τρία από τα οχτώ δείγματα ήταν πάνω από το επιτρεπτό όριο. Τέλος, έγινε εκτίμηση του ρυθμού αυτοοξείδωσης σε ελεγχόμενες συνθήκες, συγκεκριμένα στα δείγματα που εξετάστηκαν οι εξωτερικές συνθήκες επίδρασης, δηλαδή τοποθετηθήκαν σε φωτεινό μέρος σε θερμοκρασία 20 – 25$^{O}$C για 28

ημέρες, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διακύμανση όσο αφορά την οξείδωση. Όμως όταν εξετάστηκε η επίδραση της θερμοκρασίας στους 37$^{O}$C και 47$^{O}$C για 28 ημέρες, τα δείγματα δεν οξειδώθηκαν σημαντικά στους 37$^{O}$C για το χρονικό διάστημα των 28 ημερών, ενώ αντίθετα στους 47$^{O}$C τα δείγματα οξειδώθηκαν πάρα πολύ γρήγορα με αποτέλεσμά στις 20 ημέρες να καταστραφούν τελείως, συγκεκριμένα οι κάψουλες έλιωσαν και έγιναν μια ενιαία μάζα.

# Abstract

Ω-3 are essential fatty acids that humans and other animals need to ingest because the body requires them for good health but can not synthesize them. They are essential components of human diet, which are in particularly high proportions in fish oils. Consumption of ω-3 fatty acids has been shown to have beneficial effects because they have antioxidant and anti-inflammatory properties. In the market, these fatty acids exist as dietary supplements that are very widespread.

The aim of the present study is to compare the actual and state value of the reported ω-3 dietary supplements, and assessment of the autoxidation rate in controlled conditions. Ten (10) different samples of dietary supplements that are available in the Greek market were analyzed.

Firstly, using gas chromatography - mass spectrometry (GC-MS) was quantitative analysis of fatty acids and classifying these in saturated, monounsaturated, polyunsaturated fatty acids (SFA / MUFA / PUFA). Subsequently, the concentration of EPA and DHA was quantitated and a comparison of the actual values determined against the reported values. The deviation of the EPA is 43.6% less than the reported value to 165.3% more. While DHA from 21.5% less to 153.9% relative to the indicated value on the sample label. From 10 samples only 2 containing a higher concentration than the indicated value in both EPA and DHA. A sample only contains larger amount in DHA than that on the label, while in contrast it contains a smaller quantity in EPA. The remaining 7 samples contain less than that reported in both EPA and DHA. Next, the rate of autoxidation of dietary supplements is determined, 8 of the 10 samples was analyzed, because 2 of these samples was not possible to analyze due to the structure of the capsule containing fish oil. The degree of oxidation measuring by the peroxide value (PV) and the anisidine value (AV), and the total oxidation value (Totox). As for peroxide value (PV), half of the samples were above the allowable limit, while for anisidine value (AV) only one sample was above the allowable limit and according to the total number of oxidation (TOTOX) three of the eight samples were above the allowable limit. Finally, the rate of autoxidation was evaluated under controlled conditions, in particular in the samples tested for external effects, they placed in a bright place at 20 - 25$^{O}$C for 28 days, no significant variation in oxidation was observed. However, when the effect of temperature was measured at 37 $^{O}$C and 47$^{O}$C for 28 days, the samples were not significantly oxidized at 37$^{O}$C for 28 days, whereas on 47$^{O}$C the samples were oxidized too rapidly resulting in 20 days be completely destroyed, in particular capsules melted and became a single mass.

# Κεφάλαιο 1

## 1. Εισαγωγή

Η σύγχρονη διατροφή, με την υιοθέτηση των δυτικών διατροφικών συνηθειών, του γρήγορου φαγητού, την κατανάλωση πολύ κρέατος και την εγκατάλειψη των βασικών αρχών της μεσογειακής διατροφής, έχει ένα σημαντικό ελάττωμα, που βασίζεται σε μια βιολογική αδυναμία του ανθρώπινου οργανισμού. Συγκεκριμένα, σε αντίθεση με όλα τα άλλα λιπαρά οξέα, αδυνατεί να συνθέσει τα ω-3 αλλά και τα ω-6 λιπαρά οξέα, άρα η λήψη αυτών πρέπει να γίνεται μέσω της τροφής. Αυτό δεν αποτελεί ιδιαίτερο πρόβλημα διότι για τα ω-6 βρίσκονται σε αφθονία στα σπορέλαια που χρησιμοποιούνται στη μαγειρική, αλλά και σε όλα σχεδόν τα φυτικής προέλευσης τρόφιμα. Ενώ όσο αφορά τα ω-3 λιπαρά οξέα, η κύρια διατροφική πηγή πρόσληψης είναι τα λιπαρά ψάρια, τα οποία λείπουν σημαντικά από το καθημερινό τραπέζι.

Παρόλο που η κατανάλωση ενός και μόνο τροφίμου ή συστατικού, δεν αρκεί για να εξασφαλίσει σε έναν άνθρωπο το «εισιτήριο» της υγείας, τα ω-3 λιπαρά οξέα θεωρούνται σήμερα ο πολύτιμος σύμμαχος της καρδιαγγειακής υγείας. Η κατανάλωση λοιπόν ψαριών με πλούσια λιπαρά σε ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα έχει αποδειχτεί ότι έχει ευεργετικές συνέπειες ενώ οι περισσότερες έρευνες δείχνουν ότι τα ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα έχουν αντιοξειδωτικές και αντι-φλεγμονώδεις ιδιότητες γεγονός που τα καθιστά σημαντικούς παράγοντες προστασίας από τις χρόνιες ασθένειες, όπως τα κακοήθη νεοπλάσματα, ο διαβήτης, νευροεκφυλιστικές ασθένειες, η ασθένεια Alzheimer και η αρθρίτιδα.

Ο πρώτος που αναγνώρισε την αξία των ω-3, ήταν ο Βρετανός φυσιολόγος Hugh Sinclair, ο οποίος τη δεκαετία του '40 συνέδεσε πολλά από τα νοσήματα που είχαν αρχίσει να μαστίζουν τις δυτικές κοινωνίες με ελλείψεις στα συγκεκριμένα λιπαρά οξέα. Τα ευρήματά του δημοσιεύτηκαν το 1956 σε ένα άρθρο που συνέδεσε την ανεπαρκή λήψη ω-3 λιπαρών οξέων με την αρτηριοσκλήρωση και άλλες καταστάσεις. Το άρθρο θεωρήθηκε τότε τόσο αιρετικό, που διώχθηκε από το Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης.

Ωστόσο σήμερα, τα ω-3 θεωρείται ότι αποτελούν το διατροφικό συστατικό-κλειδί που απώλεσε ο άνθρωπος, στη διάρκεια της εκσυγχρονιστικής του πορείας, από τις ακατέργαστες στις πλήρως βιομηχανοποιημένες τροφές και από εκεί στις δεκάδες ασθένειες φθοράς που τον βασανίζουν σήμερα.

## 1.1 Λιπαρά οξέα

Τα λιπαρά οξέα είναι μονοκαρβοξυλικά οξέα με μακριά ανθρακική αλυσίδα. Λόγω του μηχανισμού βιοσύνθεσής τους έχουν γενικά άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα. Υπάρχουν δύο ειδών λιπαρών οξέα, τα κορεσμένα, που λέγονται και λίπη, και τα ακόρεστα που λέγονται έλαια. Τα λίπη και έλαια εμφανίζουν μοναδικές φυσικές και χημικές ιδιότητες οι οποίες είναι απόρροια του είδους, της αναλογίας και της κατανομής των λιπαρών οξέων στο μόριο των ακυλογλυκερολών που τα αποτελούν και τα οποία καθορίζουν τόσο τις τεχνολογικές όσο και τις διατροφικές ιδιότητες των διαφόρων ελαίων.

Τα λιπίδια είναι οργανικές ενώσεις διαλυτές σε οργανικό διαλύτη και αδιάλυτες σε νερό. Ως λιπίδια για διατροφική χρήση θεωρούνται όλα τα γλυκερίδια των διαφόρων λιπαρών οξέων φυτικής ή ζωικής προέλευσης. Τα ζωικά λίπη, όπως το βούτυρο, το λίπος του κρέατος και το λαρδί είναι στερεά, ενώ οι φυτικές λιπαρές ύλες, όπως το ελαιόλαδο και το καλαμποκέλαιο είναι υγρά. Από χημική άποψη τα λίπη και τα φυτικά έλαια είναι τριγλυκερίδια, δηλαδή τριεστέρες της γλυκερόλης με τρία καρβοξυλικά οξέα που φέρουν ανθρακικές αλυσίδες μεγάλου μήκους.

Τα λιπαρά οξέα αποτελούν τα μοριακά συστατικά των λιπών και των λαδιών. Διαφέρουν το ένα από το άλλο όσον αφορά τον αριθμό των ατόμων του άνθρακα που περιέχουν, καθώς και τη διάταξη και τη φύση των μοριακών τους δεσμών.

Τα λιπαρά οξέα διακρίνονται σε κορεσμένα λιπαρά οξέα (saturated fatty acids, SFA) αν δεν διαθέτουν διπλούς δεσμούς στην αλειφατική αλυσίδα και σε ακόρεστα λιπαρά οξέα (unsaturated fatty acids, UFA). Αν τα τελευταία διαθέτουν ένα διπλό δεσμό ονομάζονται μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (monounsaturated fatty acids, MUFA) και αν διαθέτουν δύο ή περισσότερους ονομάζονται πολυακόρεστα λιπαρά οξέα(polyunsaturated fatty acids, PUFA). Τα πιο διαδεδομένα λιπαρά οξέα είναι τα ακόλουθα:

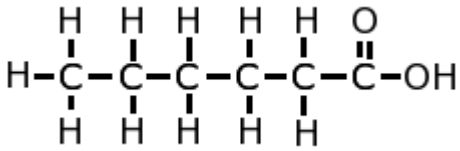
- **Κορεσμένα λιπαρά οξέα**: $CH_3[CH_2]_{14}COOH$ (παλμιτικό οξύ), $CH_3[CH_2]_{16}COOH$ (στεατικό οξύ)

- **Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα**: $CH_3[CH_2]_7CH{=}CH[CH_2]COOH$ (ελαϊκό οξύ)

- **Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα**:
  $CH_3[CH_2]_4CH{=}CHCH_2CH{=}CH[CH_2]_7COOH$ (λινελαϊκό οξύ),
  $CH_3CH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CH[CH_2]_7COOH$ (α-λινολενικό οξύ)

### *1.1.1 Κορεσμένα λιπαρά οξέα*

Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα που συναντάμε στα τρόφιμα έχουν συνήθως 4 – 24 άτομα C και υπάρχουν κυρίως σε μεγαλύτερες αναλογίες στης ζωϊκής προέλευσης λιπαρές ύλες αλλά και στο φοινικοπυρηνέλαιο και το κοκκέλαιο. Πιο γνωστά είναι το βουτυρικό (C4:0), παλμιτικό (C16:0), στεατικό (C18:0) που βρίσκονται σε μεγάλη αναλογία στο λίπος των βοδινών, χοιρινών και προβάτων αλλά επίσης και σε γαλακτοκομικά προϊόντα όπως το γάλα, το βούτυρο κλπ. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα δεν έχουν κανένα διπλό δεσμό (Σχήμα 1).

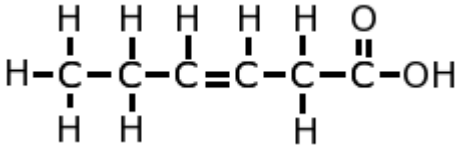


**Σχήμα 1.** Δομή κορεσμένου λιπαρού οξέος.

Το σημείο τήξεως, η πτητικότητα και η διαλυτότητα στο νερό των κορεσμένων λιπαρών οξέων είναι συνάρτηση του μοριακού τους βάρους. Λιπαρά οξέα μέχρι τεσσάρων ατόμων άνθρακα αναμιγνύονται με το νερό σε οποιαδήποτε αναλογία. Με την αύξηση όμως του μοριακού τους βάρους η διαλυτότητα των λιπαρών οξέων στο νερό ελαττώνεται ταχέως.

### *1.1.2 Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα*

Η παρουσία διπλού δεσμού C=C δίνει τη δυνατότητα δημιουργίας γεωμετρικών ισομερών με διαφορετικούς προσανατολισμούς ομάδων σε σχέση με το διπλό δεσμό. Έτσι προκύπτουν τα cis- και trans- γεωμετρικά ισομερή όπου τα πρώτα αναφέρονται στα λιπαρά όπου τα άτομα του υδρογόνου βρίσκονται από την ίδια πλευρά του διπλού δεσμού ενώ στα trans βρίσκονται σε αντίθετες πλευρές.



**Σχήμα 2.** Δομή μονοακόρεστων λιπαρών οξέων.

Συνήθως η μορφή cis είναι η φυσικώς συναντώμενη μορφή αλλά η trans-διαμόρφωση είναι η πιο θερμοδυναμικά αρεστή και πολλά σημαντικά λιπαρά εμφανίζονται με αυτή. Η διαμόρφωση trans μπορεί ακόμη να προκύψει και από διάφορες επεξεργασίες που υφίστανται τα λάδια, για παράδειγμα η υδρογόνωση.

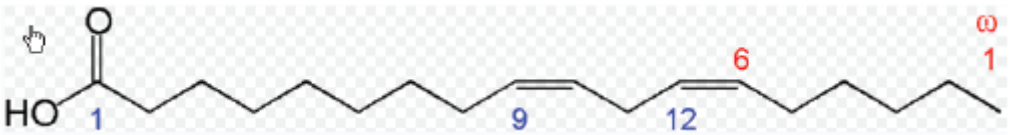
Τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα εμφανίζονται σε μεγάλη αναλογία σε φυτικής προέλευσης λάδια όπως το ελαιόλαδο (ελαϊκό οξύ C:18), σησαμέλαιο, αραβοσιτέλαιο και σε μικρότερες αναλογίες σε άλλα (π.χ. σογιέλαιο κλπ).

### *1.1.3 Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα*

Ένας ευρύτατα χρησιμοποιούμενος τρόπος διάκρισης των ακόρεστων (κυρίως των πολυακόρεστων) λιπαρών οξέων βασίζεται στη θέση του πρώτου διπλού δεσμού ξεκινώντας από το πιο απόμακρο άτομο άνθρακα (άνθρακα της μεθυλομάδας, -CH3) σε σχέση με την καρβοξυλική ομάδα. Ο άνθρακας αυτός ονομάζεται "ωμέγα" (ω-άνθρακας). Έτσι ως ω-3 και ω-6 χαρακτηρίζονται τα ακόρεστα λιπαρά οξέα των οποίων ο πρώτος διπλός δεσμός βρίσκεται στο 3ο και το 6ο άτομο άνθρακα ξεκινώντας την αρίθμηση από τον ωμέγα-άνθρακα (δηλ. το τελευταίο άτομο άνθρακα με βάση την κανονική αρίθμηση). Συχνά αναφέρονται και ως n-3 και n-6.

Στην περίπτωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων μπορούν να διακριθούν επίσης και άλλες κατηγοριοποιήσεις βάσει τόσο του αριθμού των διπλών δεσμών όσο και των σχετικών θέσεών τους. Έτσι εμφανίζονται τα συζυγή όπου οι διπλοί δεσμοί διαχωρίζονται μεταξύ τους από ένα μόνο απλό δεσμό μεταξύ ανθράκων και τα μη συζυγή όπου μπορεί να διακόπτονται από περισσότερους δεσμούς C-C. Από τα πιο διαδεδομένα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα είναι το λινελαϊκό (C18:2), λινολενικό (C18:3) που απαντούν κυρίως σε το σογιέλαιο, ηλιέλαιο αραβοσιτέλαιο κλπ. Επίσης πολυακόρεστα λιπαρά οξέα με μεγάλο μήκος ανθρακικής αλυσίδα και μέχρι 6 διπλούς δεσμούς βρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες στα ιχθυέλαια.

**Σχήμα 3.** Ω-3 λιπαρό οξύ.



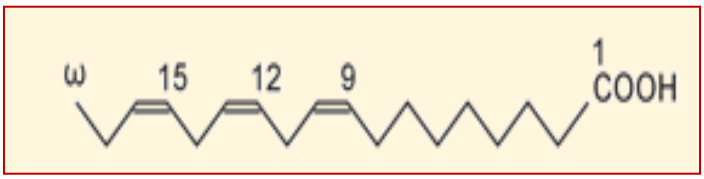

**Σχήμα 4.** Ω-6 λιπαρό οξύ.

Τα πολυακόρεστα οξέα βρίσκονται σε ιδιαίτερα μεγάλες αναλογίες στα ιχθυέλαια και στα λίπη των ψαριών αλλά και σε διάφορα φυτικά λάδια. Συγκεκριμένα, τα ω-3 λιπαρά οξέα βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στα λιπαρά ψάρια και στα ιχθυέλαια και σε μικρότερες αναλογίες (με ορισμένες εξαιρέσεις) στα φυτικά λάδια. Τα ω-6 λιπαρά οξέα βρίσκονται σε φυτικά λάδια από τα οποία προσλαμβάνονται σε ικανοποιητικές ποσότητες σε αντίθεση με τα ω-3. [1, 2, 3]

## 1.2 Σημαντικότερα ω-3 λιπαρά οξέα

Τα σημαντικότερα ω-3 λιπαρά οξέα είναι:

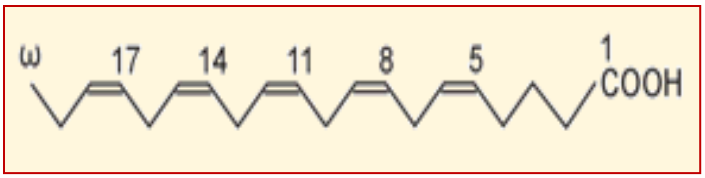
- ***[18:3] α-Λινολενικό οξύ (α-linolenic acid, ALA, 9Z,12Z,15Z-octadecatrienoic acid)***




**Σχήμα 5.** Χημικός τύπος του α-λινολενικού οξέος.

Αποτελεί κύριο συστατικό (55%) του λινέλαιου. Σε μικρότερα ποσοστά (8-10%) βρίσκεται στο κραμβέλαιο και στο σογιέλαιο. Διατροφικώς απαραίτητο. Το α-λινολενικό οξύ (ALA) είναι απαραίτητο να λαμβάνεται με την διατροφή. Επαρκής πρόσληψη αυτού άλλα και των υπόλοιπων ω-3 λιπαρών οξέων μακράς αλύσου, είναι ιδιαίτερα σημαντική σε κατηγορίες του πληθυσμού όπως τα βρέφη, τα μικρά παιδιά και οι ασθενείς που χρειάζονται εντερική ή παρεντερική διατροφή.

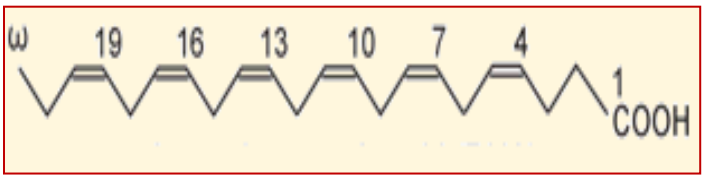
- ***[20:5] Εικοσα-πεντα-εν-οϊκό οξύ (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z-eicosapentaenoic acid, EPA)***




**Σχήμα 6.** Χημικός τύπος του εικοσαπενταενοϊκού οξέος.

Βρίσκεται σχεδόν αποκλειστικά στα ιχθυέλαια. Ο σολομός, η σαρδέλα, ο μπακαλιάρος θεωρούνται ως τροφές πλούσιες σε EPA. Λόγω της σημασίας του είναι διατροφικά απαραίτητο. Αποτελεί πρόδρομη ένωση της προσταγλανδίνης-3, που αποτρέπει τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων.

- ***[22:6] Εικοσιδυα-εξα-εν-οϊκό οξύ (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z-docosahexaenoic acid, DHA)***




**Σχήμα 7.** Χημικός τύπος του εικοσιδυαεξαενοϊκού οξέος.

Βρίσκεται κυρίως στα ιχθυέλαια και αποτελεί προϊόν μεταβολισμού του EPA. Πιθανολογείται ότι η απουσία του από τον οργανισμό του ανθρώπου συνδέεται με τη νόσο Alzheimer. Ο εγκέφαλος και ο αμφιβληστροειδής είναι ιστοί που είναι ιδιαίτερα πλούσιοι σε DHA. [1, 2, 4]

## 1.3 Λιπαρά οξέα και υγεία

Λόγω της αυξημένης παχυσαρκίας στις περισσότερες αναπτυγμένες χώρες έχει δοθεί ιδιαίτερη έμφαση στη δημόσια υγεία. Και συγκεκριμένα σε δίαιτες με χαμηλά λιπαρά και χαμηλής ενεργειακής αξίας όπου αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά με υποκατάστατα λίπους. Ωστόσο υπάρχει ανάγκη να εξεταστεί τόσο η ποιότητα όσο και η ποσότητα των λιπαρών αυτών οξέων που εμπεριέχονται στην διατροφή. [4]

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην διατήρηση των φυσιολογικών συνθηκών και κατά συνέπεια στην ανθρώπινη υγεία. Τα πολυακόρεστα αυτά λιπαρά οξέα αποτελούνται από δύο οικογένειες, τα ω-6 και τα ω-3 λιπαρά οξέα, οι οποίες είναι διακριτές φυσιολογικά αλλά και μεταβολικά. Τα ω-3 λιπαρά οξέα βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στα λιπαρά ψάρια και στα ιχθυέλαια και σε μικρότερες αναλογίες στα φυτικά έλαια, ενώ αντιθέτως τα ω-6 βρίσκονται κυρίως σε φυτικά έλαια από τα οποία προσλαμβάνονται σε ικανοποιητικές ποσότητες, σε αντίθεση με τα ω-3.

Τα ω-3 και ω–6 λιπαρά οξέα είναι απαραίτητα συστατικά της διατροφής του ανθρώπου, διότι ο ανθρώπινος οργανισμός δεν μπορεί να τα συνθέσει από μόνος του. Ο οργανισμός του ανθρώπου μπορεί να κάνει αλληλομετατροπές των πολυακόρεστων οξέων, για παράδειγμα του λινελαϊκού σε αραχιδονικό, μέσω ενδιάμεσης μετατροπής του σε γ-λινολενικό, όμως δεν μπορεί να βιοσυνθέσει το λινελαϊκό οξύ και το α-λινολενικό οξύ από άλλες πηγές. Για τον λόγο αυτό το λινελαϊκό οξύ και το α-λινολενικό οξύ πρέπει να λαμβάνονται με την τροφή και ονομάζονται απαραίτητα λιπαρά οξέα (essential fatty acids, EFAs).

Η κατανάλωση λοιπόν ψαριών με πλούσια ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα έχει αποδειχτεί ότι έχει ευεργετικές συνέπειες ενώ οι περισσότερες έρευνες δείχνουν ότι τα ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα έχουν αντιοξειδωτικές και αντι-φλεγμονώδεις ιδιότητες γεγονός που τα καθιστά σημαντικούς παράγοντες προστασίας από τις χρόνιες ασθένειες, όπως τα κακοήθη νεοπλάσματα, ο διαβήτης, νευροεκφυλιστικές ασθένειες, η ασθένεια Alzheimer και η αρθρίτιδα. [5]

Σε αντίθεση με τα cis - ακόρεστα λιπαρά οξέα που είναι ευεργετικά στην υγεία του ανθρώπου, τα trans – ακόρεστα φαίνεται ότι είναι επιβλαβή. Μετά από πολλά χρόνια επιδημιολογικών ερευνών οι επιστήμονες διαπίστωσαν ότι τα trans - λιπαρά οξέα είναι επικίνδυνα στην υγεία. Η βιομηχανία τροφίμων εδώ και δεκαετίες κάνει μερική υδρογόνωση σε πολυακόρεστα φυτικά έλαια, τα οποία ταγγίζουν εύκολα και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην παρασκευή τροφίμων και για αυτό τον λόγο τα μετατρέπουν σε ημίρρευστα λίπη και δημιουργούν έτσι τις μαργαρίνες. Ωστόσο, διαπιστώθηκε ότι κατά τη διαδικασία αυτή σχηματίζονται και trans - λιπαρά οξέα, με κυριότερο εκπρόσωπο το trans - ελαϊκό οξύ ή ελαϊδικό οξύ.

Τα trans - λιπαρά σε αντίθεση με τα cis - λιπαρά οξέα αλλάζουν τη σύνθεση των λιπιδίων στο πλάσμα του αίματος και επάγουν φλεγμονώδη φαινόμενα. Προκαλούν επίσης την ενεργοποίηση διαφόρων παραγόντων, όπως του παράγοντα νέκρωσης όγκων και αυξάνουν τα επίπεδα ιντερλευκίνης-6 και της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης. Οι παράγοντες αυτοί έχει αποδειχθεί ότι αυξάνουν τον κίνδυνο για καρδιαγγειακές ασθένειες. [5,6]

### *1.3.1 Θετικές επιπτώσεις στην υγεία*

Τα σημαντικότερα ω-3 λιπαρά οξέα είναι το α-λινολενικό οξύ (ALA), το εικοσαπενταενοϊκό οξύ (EPA) και το εικοσιδυαεξανεοϊκό οξύ (DHA), ενώ τα σημαντικότερα ω-6 λιπαρά οξέα είναι το λινελαϊκό οξύ (LA), γ-λινολενικό οξύ (GLA),

και το αραχιδονικό οξύ (ΑΑ). Τα λιπαρά αυτά οξέα συνδέονται άμεσα με την υγεία του ανθρώπινου οργανισμού. [5]

- ***Καρδιοαγγειακές παθήσεις***

Στις σύγχρονες κοινωνίες το κυριότερο αίτιο θανάτου είναι οι καρδιοαγγειακές παθήσεις, τις οποίες έχουν συσχετίσει σε μεγάλο βαθμό με την κατανάλωση κορεσμένου λίπους. Οι καρδιοαγγειακές παθήσεις είναι ένα σύνολο ασθενειών που προσβάλλουν την καρδιά και τα αιμοφόρα αγγεία, στις οποίες περιλαμβάνονται:

1. Η στεφανιαία νόσος της καρδιάς (ισχαιμική πάθηση της καρδιάς).

2. Η νόσος των αρτηριών που τροφοδοτούν τον εγκέφαλο με αίμα που ευθύνεται για τα εγκεφαλικά επεισόδια ή αποπληξία.

3. Η περιφερική αρτηριακή νόσος που επηρεάζει τις αρτηρίες που τροφοδοτούν με αίμα τα άκρα (πόδια, χέρια).

4. Ρευματική νόσος της καρδιάς, ρευματική καρδίτιδα. Είναι ασθένεια των μυών και των βαλβίδων της καρδιάς που ακολουθεί μόλυνση από βακτηρίδιο της οικογένειας του στρεπτόκοκκου.

5. Συγγενείς καρδιοπάθειες. Είναι ένα πολύπλοκο σύνολο παθήσεων που υπάρχουν εκ γενετής και οφείλονται σε δυσγενεσίες των δομών της καρδιάς και των αγγείων του κυκλοφορικού συστήματος.

6. Βαθιά φλεβική θρόμβωση και πνευμονική εμβολή. Παθήσεις που οφείλονται στο σχηματισμό θρόμβων στις φλέβες των κάτω άκρων (μηρός, κνήμη, πόδια) και που στη συνέχεια μπορεί να διασπαστούν, να αποκολληθούν και να μεταφερθούν στην καρδία και στους πνεύμονες.

Σε αντίθεση με πολλές άλλες χρόνιες παθήσεις, οι καρδιακές παθήσεις είναι θεραπεύσιμες και αναστρέψιμες. Η θεραπεία εστιάζεται κυρίως στην διατροφή και τη μείωση του στρες. Τα ω-3 λιπαρά οξέα, και συγκεκριμένα το EPA και το DHA, που προέρχονται από ιχθυέλαια έχουν συνδεθεί με την καρδιαγγειακή υγεία χάρη στην αντιθρομβωτική τους δράση. Ενώ αντιθέτως επιστημονικά έχει αποδειχτεί όταν η κατανάλωση των ω-3 είναι από φυτική πηγή δεν είναι το ίδιο αποτελεσματική. Η Αμερικανική Ένωση Καρδιολογίας προτείνει οι ενήλικες να τρώνε ιδιαίτερα λιπαρά ψάρια τουλάχιστον δύο φορές την βδομάδα, αλλά και λαχανικά που είναι πηγή ω-3. [7,8]

Αυτό που ουσιαστικά συμβαίνει είναι ότι τα ω-3 μπορούν να προστατεύσουν από τις καρδιακές παθήσεις λόγω του ότι μειώνουν την αρτηριακή πίεση και τον καρδιακό ρυθμό, μειώνοντας τα τριγλυκερίδια, την θρομβωτική τάση, την

φλεγμονή, συμβάλουν στην βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, καθώς επίσης και της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, τις συγκεντρώσεις παραοξονάσης αλλά και τη σταθερότητα της πλάκας. [9]

Όμως επειδή οι χρόνιες ασθένειες είναι πολυγονιδιακές και πολυπαραγοντικές είναι πολύ πιθανό η θεραπευτική δόση των ω-3 λιπαρών οξέων να εξαρτηθεί από το βαθμό σοβαρότητας της ασθένειας που προκύπτει από τη γενετική προδιάθεση.

- ***Εγκυμοσύνη και υγεία νεογνού***

Αξίζει να σημειωθεί επίσης ότι η ισορροπία των ω-6 και των ω-3 λιπαρών οξέων είναι πολύ σημαντική για την ομοιόσταση και την κανονική ανάπτυξη, όπου συγκεκριμένα επηρεάζουν την έκφραση γονιδίων. Δεδομένου ότι πολλές χρόνιες ασθένειες ξεκινάνε από την μήτρα ή από την βρεφική ηλικία, η πρόσληψη πολυακόρεστων λιπαρών οξέων ακόμη και πριν την εγκυμοσύνη είναι σημαντική. Έχει αποδειχτεί ότι το DHA είναι απαραίτητο για τις λειτουργίες του εγκεφάλου τόσο για τα νεογνά όσο και για ενήλικες ανθρώπους. [10]

- ***Κατάθλιψη και άγχος***

Τα ω-3 μπορούν επίσης να καταπολεμήσουν την κατάθλιψη και το άγχος. Η κατάθλιψη είναι μια από τις πιο κοινές ψυχικές διαταραχές στον κόσμο, όπου τα συμπτώματα περιλαμβάνουν θλίψη, λήθαργο και γενική απώλεια ενδιαφέροντος για τη ζωή. Το άγχος επίσης αποτελεί μια πολύ συχνή διαταραχή όπου χαρακτηρίζεται από συνεχή ανησυχία και νευρικότητα. Μελέτες που έχουν γίνει έχουν διαπιστώσει ότι οι άνθρωποι που καταναλώνουν ω-3 τακτικά είναι λιγότερο πιθανό να είναι καταθλιπτικοί. [11,12] Από τους τρείς τύπου ω-3 (ALA, EPA, DHA), φαίνεται ότι το EPA δρα καλύτερα στην καταπολέμηση της κατάθλιψης. [13]

- ***Υγεία των ματιών***

Το εικοσιδιεξαενοϊκό λιπαρό οξύ (DHA, C22:6ω-3) είναι το σημαντικότερο συστατικό του εγκεφάλου και του αμφιβληστροειδούς χιτώνα των οφθαλμών. Εάν δεν υπάρχει αρκετό DHA στον οργανισμό, τότε μπορεί να προκύψουν προβλήματα όρασης. Είναι ενδιαφέρον ότι η λήψη αρκετών ω-3 έχει συνδεθεί με μειωμένο κίνδυνο εκφύλισης της ωχράς κηλίδας, μία από τις κυριότερες αιτίες μόνιμης βλάβης των ματιών και τύφλωσης. [14,15]

- ***Διαταραχή Ελλειμματικής Προσοχής/ Υπερκινητικότητας (ΔΕΠΥ)***

Αρκετές μελέτες έχουν διαπιστώσει ακόμα ότι παιδία με Διαταραχή Ελλειμματικής Προσοχής/ Υπερκινητικότητας ή ΔΕΠΥ έχουν χαμηλότερα επίπεδα ω-3 λιπαρών οξέων σε σχέση με του υγιείς συνομηλίκους τους. Συγκεκριμένα, πολυάριθμες μελέτες έχουν βρει ότι τα ω-3 μπορούν να μειώσουν πραγματικά τα συμπτώματα της ΔΕΠΥ. Ουσιαστικά τα ω-3 βοηθούν στη βελτίωση της απροσεξίας και της ικανότητας ολοκλήρωσης των εργασιών, διότι μειώνουν την υπερδραστηριότητα, την παρορμητικότητα, την ανησυχία αλλά και την επιθετικότητα. [16, 17, 18]

- ***Φλεγμονή***

Η φλεγμονή είναι εξαιρετικά σημαντική διότι είναι μια διαδικασία κατά την οποία τα λευκά κύτταρα του αίματος παράγουν ουσίες που σκοπό έχουν να προστατεύσουν τον οργανισμό από κάποια μόλυνση και από "ξένα σώματα", όπως βακτηρίδια και ιούς. Μερικές φορές η φλεγμονή παραμένει για μεγάλο χρονικό διάστημα, ακόμη και χωρίς να υπάρχει μόλυνση ή τραυματισμός, όπου αυτή η περίπτωση ονομάζεται χρόνια (μακροχρόνια) φλεγμονή. Τα ω-3 λιπαρά οξέα μπορούν να μειώσουν την παραγωγή μορίων και ουσιών που συνδέονται με τη φλεγμονή, όπως φλεγμονώδη εικοσανοειδή και κυτοκίνες. Μελέτες έχουν δείξει σταθερά μια σύνδεση μεταξύ υψηλότερης πρόσληψης ω-3 και μειωμένης φλεγμονή. [19, 20]

- ***Αυτοοάνοσες ασθένειες***

Το ανοσοποιητικό σύστημα είναι ένα πολύπλοκο δίκτυο από κύτταρα και συστατικά κυττάρων (που ονομάζονται μόρια). Ο φυσιολογικός ρόλος του ανοσοποιητικού συστήματος είναι να προστατεύει τον οργανισμό και να αντιμετωπίζει τις λοιμώξεις που προκαλούνται από βακτήρια, ιούς και άλλα μικρόβια που εισβάλλουν στο σώμα. Όταν κάποιος πάσχει από ένα αυτοάνοσα νόσημα, το ανοσοποιητικό του σύστημα λανθασμένα επιτίθεται εναντίον του ίδιου του σώματός του, στοχεύοντας τα κύτταρα, τους ιστούς και τα όργανά του. Ο Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου Ι είναι ένα πρωταρχικό παράδειγμα, όπου σε αυτή την ασθένεια το ανοσοποιητικό σύστημα προσβάλλει τα κύτταρα που παράγουν ινσουλίνη στο πάγκρεας. Τα ω-3 μπορούν να βοηθήσουν στην καταπολέμηση ορισμένων από αυτές τις ασθένειες και μπορεί να είναι ιδιαίτερα σημαντικά κατά την νεαρή ηλικία. Μελέτες δείχνουν ότι η λήψη ω-3 λιπαρών οξέων κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους της ζωής συνδέεται με μειωμένο κίνδυνο πολλών αυτοάνοσων ασθενειών, συμπεριλαμβανομένου του Διαβήτη Τύπου Ι και της

σκλήρυνσης κατά πλάκας. [21, 22] Επίσης έχει αποδειχτεί ότι βοηθούν στη θεραπεία του λύκου, της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, της ελκωδούς κολίτιδας, της νόσου του Crohn και της ψωρίασης. [23, 24, 25, 26, 27]

- ***Ψυχιατρικές διαταραχές***

Χαμηλά επίπεδα σε ω-3 λιπαρά οξέα έχουν αναφερθεί σε άτομα με ψυχιατρικές διαταραχές. Τα ω-3 έχει αποδειχτεί ότι μπορούν να μειώσουν τη συχνότητα των μεταβολών της διάθεσης, τη βίαιη συμπεριφορά και των υποτροπών σε άτομα με σχιζοφρένεια και διπολική διαταραχή. [11, 28, 29]

- ***Alzheimer***

Τα ω-3 όπως αναφέρθηκε και παραπάνω αποτελούν βασικό δομικό συστατικό των κυτταρικών μεμβρανών και διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στην νευροανάπτυξη, για αυτό και έχει ερευνηθεί η επίδρασή τους στην καλή λειτουργία της όρασης και της εγκεφαλικής λειτουργίας. Όσον αφορά στον εγκέφαλο, πολλές μελέτες έχουν προσπαθήσει να συνδέσουν την κατανάλωση ω-3 λιπαρών οξέων με την άνοια, την μνήμη και τη νόσο Alzheimer.

Είναι γεγονός, πως η αύξηση της ηλικίας συνοδεύεται από έκπτωση της καλής νοητικής λειτουργίας και της εγκεφαλικής ανθεκτικότητας. Εκτιμάται, μάλιστα, ότι το 25% του πληθυσμού ηλικίας άνω των 85 ετών έχει σημαντική νοητική βλάβη, που συνοδεύεται από άνοια και νόσο Alzheimer (AD), κάτι που αυτόματα υποβαθμίζει την ποιότητα ζωής, τόσο του ηλικιωμένου, όσο και του οικογενειακού του περιβάλλοντος. Λόγω της νευροπροστατευτικής δράσης των ω-3 λιπαρών οξέων μελετήθηκε ο ρόλος τους στη νόσο AD. Τα ευρήματα είναι πολλά υποσχόμενα, καθώς οι έρευνες έχουν δείξει ότι αυτή η προστατευτική δράση μπορεί να οδηγήσει σε πρόληψη ή ακόμα και καθυστέρηση στην έκπτωση της νοητικής λειτουργίας ατόμων με ήπιας μορφής νόσο AD. [30, 31, 32] Επιπλέον, μια μελέτη διαπίστωσε ότι οι άνθρωποι που τρώνε λιπαρά ψάρια τείνουν να έχουν μεγαλύτερη γκρίζα ύλη στον εγκέφαλο, όπου αυτός είναι ο ιστός του εγκεφάλου που επεξεργάζεται τις πληροφορίες, τις μνήμες και τα συναισθήματα. [33]

- ***Καρκίνος παχέος εντέρου***

Ο καρκίνος είναι μια από τις κύριες αιτίες θανάτου στον δυτικό κόσμο, τα ω-3 λιπαρά οξέα μειώνουν τον κίνδυνο ορισμένων μορφών καρκίνου, όπως του παχέος εντέρου. Συγκεκριμένα άνθρωποι οι οποίοι καταναλώνουν περισσότερα ω-3

έχουν έως και 55% χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης του καρκίνου του παχέος εντέρου. [34, 35]

- ***Άσθμα***

Το άσθμα είναι μια χρόνια πνευμονοπάθεια με συμπτώματα όπως βήχα, δύσπνοια κα συριγμό. Οι σοβαρές κρίσεις άσθματος μπορεί να είναι πολύ επικίνδυνες διότι προκαλείται φλεγμονή και πρήξιμο στους αεραγωγούς των πνευμόνων. Τις τελευταίες δεκαετίες αυξάνονται τα ποσοστά άσθματος. Τα ω-3 μειώνουν την παραγωγή των αντισωμάτων IgE, τα οποία είναι υπεύθυνα για τις αλλεργικές αντιδράσεις και τα συμπτώματα άσθματος. Η θετική επίδραση, ωστόσο, φαίνεται να είναι εντονότερη στους ασθενείς με ήπιο άσθμα ή ήπια αλλεργία. Σε σοβαρότερα περιστατικά, συγκεκριμένα σε ασθενείς που λαμβάνουν μεγάλες δόσεις στεροειδών, τα ω-3 είναι λιγότερο αποτελεσματικά, καθώς τα φάρμακα μετριάζουν τη δράση τους. Η πρόσληψη των ω-3 κατά την εγκυμοσύνη συνδέεται με μειωμένο κίνδυνο να εκδηλώσει αργότερα το παιδί άσθμα. [36, 37]

- ***Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος***

Η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος είναι σήμερα μία από τις συχνότερες αιτίες χρόνιας ηπατοπάθειας παγκοσμίως, η συχνότερη σε κάποιες χώρες, ιδιαίτερα σε πληθυσμούς με υψηλό ποσοστό παχυσαρκίας. Η στεάτωση ή λιπώδης διήθηση του ήπατος χαρακτηρίζεται από συσσώρευση λιπιδίων, ειδικότερα τριγλυκεριδίων, στα ηπατοκύτταρα. Έχει αποδειχθεί ότι τα ω-3 μπορούν να μειώσουν το λίπος στο ήπαρ. Συγκεκριμένα τα ω-3 μειώνουν το λίπος και τη φλεγμονή του ήπατος σε άτομα με μη αλκοολική λιπώδης ηπατική νόσο. [38, 39]

- ***Οστεοπόρωση και αρθρίτιδα***

Η οστεοπόρωση και η αρθρίτιδα είναι δύο κοινές διαταραχές που επηρεάζουν το σκελετικό σύστημα. Τα ω-3 μπορούν να βελτιώσουν την αντοχή των οστών αυξάνοντας την ποσότητα του ασβεστίου στα οστά. Επίσης ασθενείς που λαμβάνανε ω-3 ανέφεραν μειωμένο πόνο στις αρθρώσεις. Συνεπώς, τα ω-3 λιπαρά οξέα μπορούν να βελτιώσουν την υγεία των οστών και των αρθρώσεων. [40, 41, 42]

- ***Πόνοι κατά την διάρκεια της εμμηνόρροιας***

Κατά την εμμηνόρροια, οι γυναίκες εμφανίζουν έντονους πόνους στην κάτω κοιλία και τη λεκάνη και συχνά αυτοί οι πόνοι ακτινοβολούν στην πλάτη χαμηλά και στους μηρούς. Οι πόνοι αυτοί έχουν σημαντικές αρνητικές επιπτώσεις στην ποιότητα ζωής ενός ατόμου. Ωστόσο, μελέτες έχουν επανειλημμένα δείξει ότι οι γυναίκες που καταναλώνουν τα περισσότερα ω-3 έχουν πιο ήπιο πόνο κατά την εμμηνόρροια. [43]

- ***Ύπνος***

Ο καλός ύπνος αποτελεί θεμέλιο για βέλτιστη υγεία, διότι μελέτες έχουν αποδείξει ότι η στέρηση ύπνου συνδέεται με πολλές ασθένειες όπως η παχυσαρκία, ο διαβήτης και η κατάθλιψη. Τα ω-3 μπορούν να βελτιώσουν τον ύπνο. Τα χαμηλά επίπεδα ω-3 σχετίζονται με προβλήματα ύπνου στα παιδία και την αποφρακτική άπνοια του ύπνου σε ενήλικες, η οποία είναι μία πάθηση κατά την οποία παρεμποδίζεται η ροή του αέρα προς τους πνεύμονες. Συγκεκριμένα, τα χαμηλά επίπεδα του DHA έχουν συνδεθεί με τα χαμηλότερα επίπεδα της ορμόνης μελατονίνης, η οποία βοηθάει το άτομο να κοιμηθεί. Οι μελέτες των Montgomery et al, 2014, οι Hansen et al, 2014, και οι Ladesich et al, 2011 υποστηρίζουν ότι οι κατανάλωση ω-3 λιπαρών οξέων βοηθάει την διάρκεια και την ποιότητα του ύπνου.

- ***Υγεία του δέρματος***

Το DHA είναι δομικό συστατικό του δέρματος. Είναι υπεύθυνο για την υγεία των κυτταρικών μεμβρανών, οι οποίες αποτελούν μεγάλο μέρος του δέρματος. Μια υγιή κυτταρική μεμβράνη έχεις ως αποτέλεσμα το δέρμα να είναι μαλακό, υγρό, εύκαμπτο και χωρίς ρυτίδες. Το EPA επίσης ωφελεί το δέρμα με διάφορούς τρόπους, όπως την διαχείριση της ενυδάτωσης του δέρματος, την διαχείριση της παραγωγής ελαίου στο δέρμα, την πρόληψη της πρόωρης γήρανσης του δέρματος, την πρόληψη της ακμής. Τα ω-3 επίσης μπορούν να προστατέψουν το δέρμα από την καταστροφή του δέρματος από την ηλιακή ακτινοβολία, διότι το EPA βοηθάει στην παρεμπόδιση της έκλυσης ουσιών που τρώνε το κολλαγόνο στο δέρμα μετά από την έκθεση στον ήλιο. [47, 48]

### *1.3.2 Αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία*

Η ναυτία και οι γαστρεντερικές διαταραχές αποτελούν μια ανεπιθύμητη ενέργεια που συνοδεύει την τακτική χρήση των συμπληρωμάτων ιχθυελαίου. Τα ψάρια είναι η κύρια πηγή EPA και DHA. Είναι γνωστό ότι ορισμένα είδη ψαριών έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε μεθυλ-υδράργυρο καθιστώντας τη δηλητηρίαση από υδράργυρο μια σπάνια, αλλά υπαρκτή, δυσμενή συνέπεια της συχνής κατανάλωσης τους. [49, 50] Στα ψάρια με ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις σε υδράργυρο περιλαμβάνονται ο καρχαρίας, ο ξιφίας, το σκουμπρί και το χέλι. [51] Ωστόσο, το ιχθυέλαιο που λαμβάνεται από τα ψάρια αυτά περιέχει ελάχιστες ποσότητες υδραργύρου. [52]

Μια άλλη ανεπιθύμητη ενέργεια των ω-3 λιπαρών οξέων είναι η συσχέτιση τους με εμφάνιση αιμορραγικής διάθεσης. Ωστόσο η μέτρια κατανάλωση ω-3 έχει βρεθεί ότι συσχετίζεται με χαμηλό κίνδυνο αιμορραγίας. [53]

### *1.3.3 Διατροφική σημασία της οξείδωσης των λιπιδίων*

Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που επηρεάζουν την οξείδωση των λιπαρών υλών. Η σύνθεση των λιπαρών οξέων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο, συγκεκριμένα ο αριθμός, η γεωμετρία και η θέση των διπλών δεσμών καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό την ταχύτητα των αντιδράσεων και την ευαισθησία των ελαίων. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα είναι οξειδωτικά πιο ευπαθή από τα κορεσμένα. Τα έλαια με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ακόρεστα λιπαρά οξέα και μάλιστα αν περιέχουν λιπαρά οξέα με περισσότερους από έναν διπλούς δεσμούς (πολυακόρεστα σε σχέση με μονοακόρεστα) είναι οξειδωτικά πιο ευπαθή από άλλα με λιγότερη περιεκτικότητα. Ακόμη, τα λιπαρά οξέα με cis διπλούς δεσμούς οξειδώνονται πιο γρήγορα από τα trans ισομερή τους καθώς επίσης και οι συζυγείς διπλοί δεσμοί είναι πιο ενεργοί οξειδωτικά σε σχέση με τους μη συζυγείς. Σε χαμηλές θερμοκρασίες τα κορεσμένα λιπαρά οξειδώνονται πιο αργά από τα ακόρεστα ενώ η επίδραση των ψηλότερων θερμοκρασιών επηρεάζει και τα δύο είδη σημαντικά (αύξηση θερμοκρασίας γενικά επιταχύνει την ταχύτητα των αντιδράσεων οξείδωσης). Η συγκέντρωση οξυγόνου και η επιφάνεια με την οποία εκτίθεται η λιπαρή ύλη σε αυτό επιπλέον επιταχύνει την οξείδωση, όπως το ίδιο ισχύει και με την έκθεσή τους στο φως.

Το οξυγόνο από τον αέρα αντιδρά με τους χημικούς δεσμούς των μορίων των λιπαρών οξέων, τα οποία διασπόνται και σχηματίζονται νέα μόρια. Η οξείδωση

των λιπαρών υλών από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο έχει σημασία για την ανάπτυξη του ταγγισμού, την παραγωγή διάφορων οσμών, επιθυμητών και μη, για τον πολυμερισμό των πολυακόρεστων λαδιών και για την παραγωγή ενώσεων με σημαντική φυσιολογική δράση.

Η οξείδωση είναι ένα φαινόμενο βασικής σημασίας για τις λιπαρές ύλες. Κατά την οξείδωση μια αυτοκαταλυόμενη σειρά αντιδράσεων λαμβάνει χώρα, η οποία προχωρά με το μηχανισμό των ελευθέρων ριζών (ομάδων με μονήρες ηλεκτρόνιο). Οι παραγόμενες ελεύθερες ρίζες αντιδρούν συνεχώς με νέα ουδέτερα μόρια μέχρις ότου όλες οι ελεύθερες ρίζες παράξουν προϊόντα που δεν προκαλούν σχηματισμό νέων ελευθέρων ριζών. Γενικά στην αλληλουχία αυτών των αντιδράσεων διακρίνονται τρία κύρια στάδια, έναρξη – διάδοση – τερματισμός. Κατά το στάδιο της έναρξης ένα άτομο υδρογόνου από την -CH2- ομάδα που βρίσκεται δίπλα σε διπλό δεσμό C=C απομακρύνεται παίρνοντας ενέργεια από θέρμανση, φως κλπ. Τα αρχικά προϊόντα της αυτοξείδωσης είναι τα υδρο–υπεροξείδια που με τη σειρά τους παράγουν άλλα υδρο-υπεροξείδια και νέες ρίζες συμβάλλοντας έτσι στην εξέλιξη της αντίδρασης με αυξανόμενο ρυθμό. Στο στάδιο της διάδοσης σχηματίζονται δευτερογενή υδροξυ-υπεροξείδια και άλλα υπεροξείδια ή ενδιάμεσα προϊόντα από τα οποία σχηματίζονται πολλές διαφορετικές ενώσεις όπως διάφορες καρβονυλικές ενώσεις (πχ αλδεΰδες) και λιπαρά οξέα χαμηλού μοριακού βάρους τα οποία γίνονται αντιληπτά και οργανοληπτικά λόγω των ανεπιθύμητων χαρακτηριστικών τους. Στο Σχήμα 8, παρουσιάζονται τα 3 στάδια της (αυτο)οξείδωσης των λιπιδίων:

**Initiation**

$$RH \xrightarrow[\text{metal}]{\text{heat, light}} R^{\bullet} + H^{\bullet}$$

**Propagation**

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet}$$

$$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet}$$

**Termination**

$$R^{\bullet} + R^{\bullet} \longrightarrow R\text{-}R$$

$$R^{\bullet} + ROO^{\bullet} \longrightarrow ROOR$$

$$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \longrightarrow ROOR + O_2$$

**Σχήμα 8.** Στάδια οξείδωσης των λιπιδίων.

- **Στάδιο 1:**

Έναρξη αυτοοξείδωσης από αυτοκατάλυση που προκαλεί μία αρχική οξείδωση (αφυδρογόνωση) η οποία δίνει μία ελεύθερη ρίζα.

- **Στάδιο 2:**

Η αρχική ελεύθερη ρίζα προκαλεί διαδοχικες αφυδρογονώσεις (οξειδώσεις). Τα παραγόμενα λιποϋπεροξείδια προκαλούν νέες αφυδρογονώσεις. Οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν με τα παραγόμενα λιποϋπεροξείδια και δίνουν νέες ρίζες.

- **Στάδιο 3:**

Οι αλυσίδες διαδοχικών ελευθέρων ριζών τερματίζονται με τη δημιουργία ενώσεων στις οποίες δεν υπάρχουν πλέον ελεύθερες ρίζες. [54]

Η ίδια χημική οξείδωση πραγματοποιείται και μέσα στο ανθρώπινο σώμα, αλλά αυτή η διαδικασία ελέγχεται αυστηρά από εσωτερικές αντιοξειδωτικές άμυνες, επιτρέποντας έτσι στους ανθρώπους να διατηρούν μια υγιή ζωής μέσα σε μια ατμόσφαιρα με οξυγόνο.

Η κατανάλωση οξειδωμένων λιπαρών υλών δεν περιορίζεται στα προϊόντα ω-3. Όμως, στα ω-3 EPA και DHA, είναι αρκετά συχνή και συνδέεται με μια δυσάρεστη γεύση και οσμή που περιορίζει την κατανάλωση τους και είναι σαφώς και ο λόγος που οι εταιρείες παραγωγής των ω-3 λαμβάνουν μέτρα για την μείωση της διαδικασίας της οξείδωσης, συγκεκριμένα τις περισσότερες φορές χρησιμοποιούν αντιοξειδωτικά.

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, επειδή τα πιο ευαίσθητα έλαια είναι εκείνα τα οποία είναι πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, η οξείδωση προκαλεί μειώσει του βασικού λιπαρού οξέος (essential fatty acid) με αποτέλεσμα να μειώνεται η θρεπτική αξία. Ωστόσο η συνολική διατροφική σημασία είναι ελάχιστη δεδομένου ότι οι απώλειες είναι συνήθως μικρές σε σχέση με το συνολικό περιεχόμενο σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Πιο σημαντική είναι η απώλεια των ‘’αντιοξειδωτικών θρεπτικών ουσιών’’ όπως είναι η βιταμίνη Ε, διάφορες καροτίνες και η βιταμίνη C.

Όσο αφορά τις επιπτώσεις στην υγεία των οξειδωμένων EPA και DHA, δεν υπάρχουν στοιχεία ότι η κανονική χρήση των ω-3 ελαίων έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία λόγω της οξείδωσης. Η θεωρία που ισχύει για την κατανάλωση οξειδωμένων προϊόντων είναι ότι θα οδηγήσουν σε φλεγμονή και οξείδωση των ιστών στο ανθρώπινο σώμα. Τα προϊόντα της οξείδωσης των λιπιδίων μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στους ιστούς εάν οι ιστοί δεν προστατεύονται από επαρκή

αντιοξειδωτικά. Οι πιο ευάλωτες περιοχές βρίσκονται στο έντερο, διότι τα προϊόντα οξείδωσης των λιπιδίων με το μικρότερο μοριακό βάρος απορροφώνται στο αίμα και έχουν πρόσβαση στους ιστούς του σώματος. Όμως ακόμα και τότε, η ζημία είναι ελάχιστη εάν απορροφηθεί επαρκές αντιοξειδωτικό, και πιθανώς ένας από τους πρωταρχικούς κινδύνους από την οξείδωση των λιπιδίων να μην είναι τόσο τα ίδια τα προϊόντα οξείδωσης αλλά η ταυτόχρονη καταστροφή προστατευτικών ουσιών όπως οι τοκοφερόλες, τα καροτενοειδή, το ασκορβικό οξύ και τα φολικά. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι τα λιπαρά αυτά τρόφιμα είναι πιθανόν να γίνουν μη βρώσιμα, εξαιτίας της ανάπτυξης ανεπιθύμητων αρωμάτων και εμφάνισης, πολύ πριν οι συγκεντρώσεις της οξείδωσης φτάσουν σε τοξικά επίπεδα. [54]

Σήμερα, δεν είναι κατανοητό εάν τα προϊόντα που είναι οξειδωμένα και υπάρχουν στον φαγητό μας, εισέρχονται αποτελεσματικά στο σώμα μας και αν διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε σύγκριση με οξυγονωμένα λιπίδια που χρησιμοποιούνται στο σώμα μας. Το ανθρώπινο σώμα είναι καλά εξοπλισμένο για να χειρίζεται το οξυγόνο, διότι καταναλώνει ένα ορισμένο επίπεδο οξειδωμένων λιπιδίων μέσω της διατροφής. Στην πραγματικότητα, μια σειρά από οξυγονωμένα και οξειδωμένα προϊόντα λιπιδίων παράγονται μέσα στο σώμα μας, τα οποία είναι ωφέλιμα για την ανθρώπινη υγεία. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι η έναρξη και η επίλυση της φλεγμονής. Προϊόντα οξειδωμένων λιπιδίων σχηματίζονται στους ιστούς της φλεγμονής, αλλά αυτό δεν σημαίνει ότι η κατανάλωση των ίδιων ουσιών θα έχει το ίδιο βιολογικό αποτέλεσμα. Η ανησυχία που επικρατεί σχετικά με τα οξειδωμένα λιπίδια που υπάρχουν στα τρόφιμα ότι είναι κακό για την ανθρώπινη υγεία είναι υπερεκτιμημένη επειδή θεωρείται ότι οτιδήποτε είναι οξειδωμένο είναι κακό. [55, 56]

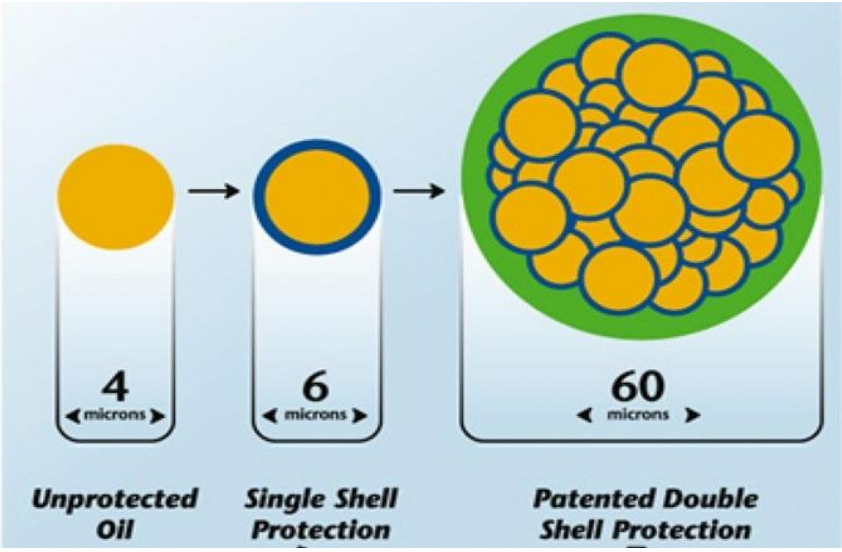
Σύμφωνα με μια μελέτη που έγινε από τους Ottestad et al. το 2012 υγιή άτομα κατανάλωσαν για επτά εβδομάδες 8g από οξειδωμένα ιχθυέλαια, στους οποίους δεν επηρεάστηκαν οι καθιερωμένοι δείκτες (4-HHE, 4-HNE, 8-iso-PGF2α, α-τοκοφερόλη, ολικά GSH, GR, GPx, CAT, και C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)) του οξειδωτικού στρες σε καμία από τις ομάδες που έλαβαν μέρος. Αυτή η μελέτη κατέδειξε ότι οι υψηλές δόσεις οξειδωμένων ιχθυελαίων δεν προκαλεί οξειδωτικό στρες στο σώμα.

Όμως πραγματοποιήθηκε μια δεύτερη μελέτη από την ίδια ομάδα και χρησιμοποίησε το ίδιο σχέδιο μελέτης, όμως εξέτασε τέσσερις επιπλέον δείκτες οξειδωτικού στρες οι οποίοι σχετίζονται με την φλεγμονή (sICAM-2, sVCAM-1, IL-6, και οξειδωμένη LDL χοληστερόλη). Και πάλι, δεν διαπιστώθηκε καμία επίδραση σε αυτούς τους δείκτες σε σχέση με την κατανάλωση οξειδωμένων ιχθυελαίων. [58]

## 1.4 Δομή και σύσταση συμπληρωμάτων διατροφής ιχθυελαίου

Η σταθερότητα και η ασφάλεια του ιχθυελαίου αποτελούν την πιο σημαντική ανησυχία της βιομηχανίας των τροφίμων, διότι αν το ιχθυέλαιο οξειδωθεί παράγει χημικά και λειτουργικά ανεπιθύμητα προϊόντα που υποβαθμίζουν την ποιότητα του προϊόντος. Λόγου αυτού έχουν αναπτυχθεί προηγμένες τεχνολογίες που διατηρούν την ποιότητα και παρατείνουν τη διάρκεια ζωής του ιχθυελαίου.

Η μικρό – ενθυλάκωση είναι μια διαδικασία επικάλυψης σωματιδίων ή σταγονιδίων υγρών ή στερεών με μια μεμβράνη με πολυμερή για την παραγωγή μικροκαψουλών με μέγεθος από 50nm έως 2mm. Με τη μέθοδο αυτή το ιχθυέλαιο προστατεύεται από φυσικές και χημικές αποικοδομήσεις, εμποδίζεται ή επιβραδύνεται η πτητικότητα, καλύπτεται η δυσάρεστη μυρωδιά, επεκτείνεται η διάρκεια ζωής του. Η διαδικασία αυτή αναστέλλει την οξείδωση, διότι το ιχθυέλαιο προστατεύεται από το φως και το οξυγόνο. Η μικρό – ενθυλάκωση επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας πολυμερή όπως χιτοζάνη, ζελατίνη, μαλτοδεξτρίνη, άμυλο, πρωτεΐνες ορού γάλακτος και κόμμεα φυτών, μέσω της ξήρανσης με ψεκασμό (συνήθως), συσσωμάτωση, υπέρηχους και τεχνικές γαλακτωματοποίησης μεμβράνης (Σχήμα 9). [59]




**Σχήμα 9.** Σχηματική απεικόνιση της μικρό – ενθυλάκωσης ιχθυελαίου.

Σε θερμοκρασία δωματίου, τα ιχθυέλαια είναι υγρά αλλά γενικά στερεοποιούνται σε θερμοκρασίες 158 - 108$^{O}$C. Η σύσταση του διαφέρει ανάλογα το είδος των ψαριών, αλλά και από την περιοχή που αλιεύονται. Συγκεκριμένα, τα είδη που αλιεύονται στην Αμερική από το Περού και την Χιλή έως τις ΗΠΑ έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε ω-3 λιπαρά οξέα, συγκεκριμένα έως και 35% του

συνολικού λίπους του ψαριού. Όπου πρόκειται κυρίως για EPA και DHA και περίπου 10% DPA. Ενώ τα Ευρωπαϊκά είδη ψαριών, όπως το καπελάνο, το χέλι και η ρέγγα έχουν 18 – 25% ω-3 λιπαρά οξέα. Τα ιχθυέλαια επεξεργάζονται επίσης με αντιοξειδωτικά όπως το BHT (Butylated hydroxytoluene), για να τα προστατευτούν από την οξείδωση. [60, 61]

# Κεφάλαιο 2

## 2. Πειραματικό Μέρος

## 2.1 Στόχος και αντικείμενο μελέτης

Τα ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα είναι απαραίτητα συστατικά της διατροφής του ανθρώπου, τα οποία βρίσκονται σε ιδιαίτερα μεγάλες αναλογίες σε ιχθυέλαια και στα λίπη των ψαριών. Η κατανάλωση λοιπόν ψαριών με πλούσια λιπαρά σε ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα έχει αποδειχτεί ότι έχει ευεργετικές συνέπειες ενώ οι περισσότερες έρευνες δείχνουν ότι τα ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα έχουν αντιοξειδωτικές και αντι-φλεγμονώδεις ιδιότητες γεγονός που τα καθιστά σημαντικούς παράγοντες προστασίας από τις χρόνιες ασθένειες, όπως τα κακοήθη νεοπλάσματα, ο διαβήτης, νευροεκφυλιστικές ασθένειες, η ασθένεια Alzheimer και η αρθρίτιδα.

Στην αγορά τα λιπαρά αυτά οξέα υπάρχουν ως συμπληρώματα διατροφής τα οποία είναι πάρα πολύ διαδεδομένα. Συγκεκριμένα, τα τελευταία 40 χρόνια η διατροφική πρόσληψη συμπληρωμάτων διατροφής έχει αυξηθεί και γίνεται ολοένα και πιο σημαντική στην ανθρώπινη διατροφή. Με δεδομένη την πληθώρα των ιχθυελαίων σε συμπλήρωμα διατροφής που διατίθενται στους καταναλωτές σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν:

- Να γίνει ποσοτικός προσδιορισμός των ω-3 λιπαρών οξέων σε συμπληρώματα διατροφής που κυκλοφορούν στην ελληνική αγορά.

- Να πραγματοποιηθεί σύγκριση των πραγματικών έναντι των αναφερόμενων τιμών των ω-3 λιπαρών οξέων σε συμπληρώματα διατροφής και έπειτα να αξιολογηθούν.

- Να γίνει εκτίμηση του ρυθμού αυτοξείδωσης τους σε ελεγχόμενες συνθήκες.

## 2.2 Δειγματοληψία

Για την συγκεκριμένη ερευνητική εργασία χρησιμοποιήθηκαν δέκα (10) δείγματα συμπληρωμάτων διατροφής τα οποία είναι διαθέσιμα στην ελληνική αγορά. Η προμήθεια των δειγμάτων έγινε από διάφορα και τυχαία φαρμακεία της πόλης του Ηρακλείου. Τα δείγματα αυτά ήταν από 8 διαφορετικές εταιρείες που παράγουν ω-3 συμπληρώματα διατροφής.

## 2.3 Πειραματική διαδικασία

### *2.3.1 Αντιδραστήρια*

Χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

- Υδροξείδιο του νατρίου (NaOH).

Sodium hydroxide, MERCK

- Ισοοκτάνιο ($C_8H_{18}$).

Isooctane, CARLO ERBA

- Τριφθοριούχο βόριο 12% σε μεθανόλη ($BF_3$).

$BF_3$ – Methanol, SUPELCO

- Χλωριούχο νάτριο ( NaCl).

Sodium chloride, PENTA

- Εσωτερικόπρότυπο (IS).

C23:0 Methyl tricosanoate , capillary GC, Sigma- Aldrich

- Χλωροφόρμιο ($CHCl_3$).

Chloroform, RIEDEL DE HAEN

- Παγόμορφο οξικό οξύ ($C_2H_4O_2$).

Acetic acid, HONEYWELL

- Ιωδιούχο κάλιο (KI).

Potassium iodide, MERCK

- Θειοθειϊκό νάτριο ($Na_2S_2O_3$).

Sodium thiosulphate pentahydrate, MERCK

- Διαλυτό άμυλο $(C_6H_{10}O_5)n$.

Starch soluble, FLUKA GARANTIE

- p-ανισιδίνη($C_7H_9NO$).

p-Anisidine, ALDRICH

### *2.3.2 Όργανα και σκεύη*

- Αναλυτικός ζυγός
- Κωνικές φιάλες
- Μικροπιπέτες 50-1000μl
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Προχοΐδα
- Κυψελίδες
- Ογκομετρικός σωλήνας 50ml
- GC vials
- Ποτήρια ζέσεως
- Συσκευή ανάδευσης
- Σιφώνια πληρώσεως 10, 15 ml
- Φιάλη αερίου αζώτου
- Συσκευή εξάτμισης υπό άζωτο
- Φασματοφωτόμετρο
- Αέρια χρωματογραφία – Φασματομετρία μάζας (GC-MS)

### *2.3.3 Μέθοδοι ανάλυσης*

Για την μετατροπή των λιπαρών οξέων, των εκχυλισθέντων λιπαρών υλών σε με μεθυλεστέρες (FAME) και την απομόνωση τους επιλέχτηκε η πρότυπη μέθοδος AOAC 991.38 του 1995. Για τον προσδιορισμό των λιπαρών οξέων από τους μεθυλεστέρες χρησιμοποιήθηκε ως μέθοδος ανάλυσης η αέρια χρωματογράφια, η οποία ήταν συζευγμένη με φασματογράφο μαζών ταχείας σάρωσης. Ο ρυθμός οξείδωσης των λιπαρών οξέων προσδιορίστηκε με τη μέθοδο των Υπεροξειδίων (ογκομετρικά) και τον προσδιορισμός της τιμής της Ανισιδίνης βάση της πρότυπης μεθόδου IAFMM του 1981.

#### 2.3.3.1 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων σε δείγματα συμπληρωμάτων διατροφής

Σε αναλυτικό ζυγό, ζυγίστηκαν με ακρίβεια περίπου 25mg (±0,1) εσωτερικού προτύπου (IS), το οποίο ήταν μεθυλεστέρας του λιπαρού οξέος $C_{23:0}$ που δεν υπήρχε ως συστατικό στα δείγματα μας. Το εσωτερικό πρότυπο (IS) στην συνέχεια

αραιώθηκε με 25 ml $C_8H_{18}$, όπου έπειτα μοιράστηκε σε γυάλινους βιδωτούς σωλήνες σε μερίδες του 1ml. Ακολούθησε εξάτμιση σε ήπιο ρεύμα $N_2$.

Στον δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε τον μεθυλεστέρα, ζυγίστηκαν 25mg δείγματος και προστέθηκαν 1,5 ml μεθανολικού διαλύματος NaOH 0,5M. Το δείγμα καλύφθηκε με $N_2$, αναμίχθηκε και έπειτα θερμάνθηκε για 5 λεπτά στους $100^{O}C$. Μετά την θέρμανση, το δείγμα ψύχθηκε σε θερμοκρασία δωματίου. Κατόπιν προστέθηκαν 2 ml $BF_3$ σε μεθανόλη, το δείγμα καλύφθηκε ξανά με $N_2$, αναμίχθηκε καλά και θερμάνθηκε ξανά για 30 λεπτά στους $100^{O}C$. Εν συνέχεια, ψύχθηκε στους 30 - $40^{O}C$. Έπειτα προστέθηκαν 1 ml$C_8H_{18}$, το δείγμα καλύφθηκε ξανά με $N_2$, και όσο ήταν ζεστό αναδεύτηκε ζωηρά. Άμεσα προστέθηκαν 5 ml κορεσμένου διαλύματος NaCl, καλύφθηκε με $N_2$, και αναδεύτηκε παρά πολύ καλά. Ακολούθησε ψύξη του δείγματος σε θερμοκρασία δωματίου.

Αφού πραγματοποιήθηκε διαχωρισμός της στοιβάδας του $C_8H_{18}$, μεταφέρθηκε σε ένα καθαρό σωλήνα και καλύφθηκε με $N_2$. Κατόπιν, έγινε για άλλη μια φορά προσθήκη 1 ml $C_8H_{18}$ στο δείγμα, το οποίο αφού εκχυλίστηκε προστέθηκε στον δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε την παραπάνω εκχυλισμένη φάση. Ο σωλήνας που περιείχε το σύνολο των οργανικών φάσεων εξατμίστηκε υπό $N_2$ μέχρι την ποσότητα του 1ml οργανικής φάσης. Η ποσότητα αυτή διοχετευόταν σε ειδικά vials για να πραγματοποιηθεί ανάλυση στο GC-MS.

## ▪ Αέρια Χρωματογραφία

Με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας προσδιορίστηκαν ποσοτικά τα λιπαρά οξέα στις διάφορες λιπαρές ύλες, διότι πραγματοποιείται διαχωρισμός των οργανικών πτητικών ενώσεων σύμφωνα με το διαφορετικό σημείο ζέσης και την πολικότητά τους. Έτσι με την αέρια χρωματογραφία πραγματοποιείται διαχωρισμός ενός μίγματος στα συστατικά του. Ο διαχωρισμός αυτός πραγματοποιείται σε στήλης χρωματογραφίας, η οποία βρίσκεται σε θερμοστατούμενο φούρνο και το φέρον αέριο, το οποίο είναι αδρανές επιτυγχάνει την κίνηση του αναλυτή.

Το δείγμα εισάγεται στο ρεύμα του φέροντος αερίου στην αρχή της στήλης με μια μικροσύριγγα, διαμέσου ενός διαφράγματος (septum). Η ταχύτητα και η ικανότητα του διαχωρισμού εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Για αυτό το λόγο η στήλη βρίσκεται σε φούρνο, του οποίου η θερμοκρασία ελέγχεται αυστηρά. Η θερμοκρασία του θαλάμου είναι $60^{O}C$. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται εξαιτίας των διάφορων δυνάμεων συγκράτησης και έκλουσης ανάμεσα στα συστατικά του μίγματος, το υλικό πλήρωσης της στήλης και της ροής του φέροντος αερίου. Όταν οι αναλύτες εισέλθουν στην στήλη η θερμοκρασία του φούρνου αυξάνεται προοδευτικά. Έτσι οι ουσίες που είναι πιο πτητικές, έχουν χαμηλότερο σημείο ζέσης

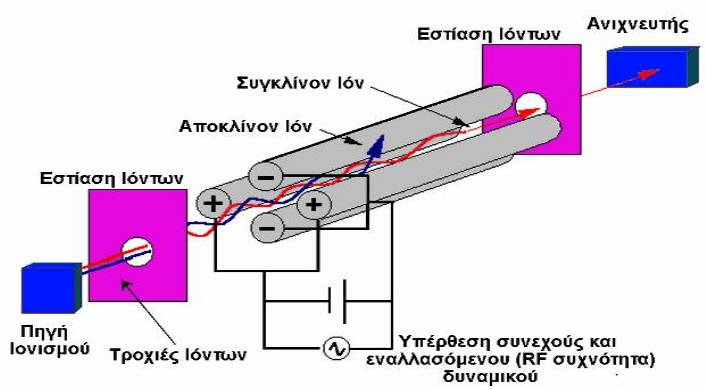
άρα θα κινηθούν πιο γρήγορα στη στήλη και θα είναι αυτές οι οποίες θα εκλουστούν πρώτες. Το δεύτερο μέρος του χρωματογράφου περιλαμβάνει τον ανιχνευτή, ο οποίος τοποθετείται στο τέλος της στήλης. Τα σήματα ενισχύονται και καταγράφονται στο καταγραφικό σύστημα.

**Σχήμα 10.** Αέριος χρωματογράφος GCMS-QP-2010 της εταιρείας Shimadzu.

## ▪ Φασματογραφία Μάζας

Η αρχή λειτουργίας της φασματογραφίας μάζας στηρίζεται στη δημιουργία ιόντων μιας ένωσης, το διαχωρισμό του με βάση το λόγο της μάζας προς το φορτίο (m/z) και την καταγραφή τους. Έτσι, στον θάλαμο ιοντισμού μετατρέπεται η ένωση σε ιόντα, έπειτα στον αναλυτή μαζών γίνεται διαχωρισμός των ιόντων με βάση το λόγω m/z από τον αναλυτή μαζών.

Στην συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκε το μηχάνημα GCMS-QP-2010 της εταιρείας Shimadzu που έχει έναν τετραπολικό αναλυτή μαζών (quadrupole mass analyzer), όπου ο διαχωρισμός μαζών επιτυγχάνεται με την υπέρθεση ενός εναλλασσόμενου ηλεκτρικού πεδίου έχοντας συχνότητα στην περιοχή των ραδιοκυμάτων (RF, radiofrequency) σε ένα συνεχές (DC) ηλεκτρικό πεδίο. Το DC-RF πεδίο εφαρμόζεται σε τέσσερις παράλληλες ράβδους, όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα.




**Σχήμα 11.** Τετραπολικός Αναλυτής Μαζών.

Οι τέσσερις παράλληλες κυλινδρικές ράβδοι δρουν ως ηλεκτρόδια, όπου οι διαγώνιες ράβδοι συνδέονται ηλεκτρικά μεταξύ τους. Συγκεκριμένα το ένα ζεύγος συνδέεται με τον θετικό πόλο μιας πηγής μεταβλητής τάσης DC, ενώ το άλλο με τον αρνητικό πόλο της πηγής. Για να παρθεί το φάσμα μαζών, τα ιόντα επιτυγχάνονται στον χώρο ανάμεσα στις ράβδους με ένα δυναμικό 5 έως 10V. Τα δυναμικά DC και RF αυξάνουν συγχρόνως, διατηρώντας όμως το λόγο τους σταθερό. Σε συγκεκριμένο λόγο δυναμικών DC:RF μόνο ένα ιόν έχει σταθερή τροχιά, δηλαδή ένα m/z φτάνει στον ανιχνευτή ενώ όλες οι άλλες τιμές φιλτράρονται εκτός ιοντικής δέσμης.

## ▪ Συνθήκες ανάλυσης

Χρησιμοποιήθηκε τριχοειδής στήλη SP-2340, 60m x 0.25mm i.d. x 0.20um). Ως φρέον αέριο χρησιμοποιήθηκε ήλιο υψηλής καθαρότητας, όπου η ταχύτητα ροής του ρυθμίστηκε στο 1 ml/min.

Η εμβολή έγινε στους 270$^{O}$C με 1ul ποσότητα δείγματος. Η θερμοκρασία του φούρνου ρυθμίστηκε αρχικά στους 60$^{O}$C για 1 min, στην συνέχεια αυξήθηκε με ρυθμό 20$^{O}$C/min στους 180$^{O}$C και παρέμεινε για 1min στην θερμοκρασία αυτή. Ακολούθησε αύξηση στους 250$^{O}$C με ρυθμό 4$^{O}$C/min όπου παρέμεινε στην θερμοκρασία αυτή επίσης για 1 min. Έπειτα η αύξηση οδηγήθηκε στους 300$^{O}$C, με ρυθμό 25$^{O}$C/min όπου παρέμεινε στην θερμοκρασία αυτή για 2min.

Η ανάλυση για το κάθε δείγμα είχε διάρκεια 32,2 min και η ανίχνευση πραγματοποιήθηκε ανιχνεύοντας συγκεκριμένα θραύσματα σε συγκεκριμένο χρόνο έκλουσης. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται αναλυτικά όλες οι συνθήκες ανάλυσης.

**Πίνακας 1.** Συνθήκες ανάλυσης δειγμάτων.

| | |
|---|---|
| **Injector** | Splitless, 270, flow rate 1ml/min |
| **Oven** | 60$^{O}$C, hold 1min |
| | 20$^{O}$C/min to 180$^{O}$C, hold 1min |
| | 4$^{O}$C/min to 250$^{O}$C, hold 1min |
| | 25$^{O}$C/min to 300$^{O}$C, hold 2min |
| | Total rum time 32,2 min |
| **Detector** | MS (quadrupole), ion source temperature 230 $^{O}$C, interface temperature 310$^{O}$C, SIM |

**Πίνακας 2.** Θραύσματα και χρόνοι έκλυσης σύμφωνα με τους οποίους έγινε ανίχνευση των λιπαρών οξέων.

| Λιπαρά οξέα | | Θραύσματα | Retation Time (min) |
|---|---|---|---|
| C14:0 | Myristic acid | 43,55,57,74,87,97 | 6.113 |
| C16:0 | Palmitic acid | 43,55,69,74,87,101 | 7.839 |
| C16:1n7 | Palmitoleic acid | 41,55,69,74,83,97 | 8.424 |
| C16:2n4 | 9,12-hexadecadienoic acid | 43,55,69,74,87,109,115 | 8.881 |
| C16:3n4 | 6,9,12-hexadecatrienoic acid | 41,55,67,81,83,95,109 | 9.489 |
| C18:0 | Stearic acid | 41,43,69,74,97,111,129 | 10.147 |
| C18:1n9 | Oleic acid | 41,55,69,74,97,110 | 10.790 |
| C18:1n7 | Vaccenic acid | 41,55,69,74,97,111 | 10.889 |
| C18:2n6 | Linoleic acid (LA) | 41,55,67,81,95,109, | 12.004 |
| C18:3n4 | Gamma-linolenic acid (GLA) | 40,44,55,57,67,69,79, | 13.816 |
| C18:3n3 | Alpha-linolenic acid (ALA) | 41,55,69,83,97,98,123 | 14.388 |
| C18:4n3 | Stearidonic acid | 41,53,55,67,79,91,95 | 15.243 |
| C20:4n3 | Eicosatetraenoic acid | 40,44,55,66,67,79,85,91 | 19.142 |
| C20:1n9 | Eicosenoic acid | 40,44,69,83,97,111 | 20.124 |
| C20:3n3 | Eicosatrienoic acid | 40,44,55,57,67,69,79,80,91 | 21.107 |
| C20:5n3 | Eicosapentaenoic acid (EPA) | 41,55,67,79,91,105,108 | 23.111 |
| C23:0 | Tricosanoic acid | 43,57,74,87,101,129 | 23.437 |
| C22:5n3 | Docosapentaenoic acid (DPA) | 41,67,79,105,133,147 | 28.374 |
| C22:6n3 | Docosahexaenoic acid (DHA) | 41,67,79,105,131 | 29.289 |

### 2.3.3.2 Εκτίμηση του ρυθμού αυτο-οξείδωσης σε δείγματα συμπληρωμάτων διατροφής

- **Προσδιορισμός του αριθμού υπεροξειδίων**

Σε αναλυτικό ζυγό, ζυγίστηκαν 1,5 – 2,5g δείγματος σε κωνική φιάλη με ακρίβεια 0,001g. Κατόπιν προστέθηκαν 10 ml $CHCl_3$ και το δείγμα διαλύθηκε με γρήγορη ανάδευση. Στην συνέχεια προστέθηκαν 15 ml $C_2H_4O_2$ και 1ml κορεσμένου υδατικού διαλύματος KI. Η φιάλη πωματίστηκε άμεσα, και ακολούθησε ανάδευση επί ένα λεπτό. Έπειτα, αφέθηκε για 5 λεπτά ακριβώς μακριά από το φως σε θερμοκρασία 15 – 25$^{O}$C και 75 ml απεσταγμένου νερού προστέθηκαν. Το I που

ελευθερώθηκε τιτλοδοτείται με το διάλυμα $Na_2S_2O_3$ 0,01N με ζωηρή ανάδευση, όπου ως δείκτης χρησιμοποιήθηκε διάλυμα αμύλου 1%.

Ο αριθμός των υπεροξειδίων (PV), εκφραζόμενος σε χιλιοστοϊσοδύναμα ενεργού οξυγόνου ανά Kg, δίνεται από τον τύπο:

$$PV = \frac{V \cdot T \cdot 1000}{m}$$

V: ο αριθμός των ml του τυποποιημένου θειοθειϊκού νατρίου που χρησιμοποιείται για τη δοκιμή.

T: η ακριβής μοριακότητα του διαλύματος $Na_2S_2O_3$ σε mol/l.

m: το βάρος της παρτίδας δοκιμής σε g.

## ▪ Προσδιορισμός της τιμής της ανισιδίνης

Ζυγίστηκαν 0,5 – 4g δείγματος σε κωνική φιάλη με ακρίβεια 0,001g, τα οποία διαλύθηκαν με 25ml $C_8H_{18}$ και αναμίχθηκαν υπό έντονη ανάδευση. Έπειτα μετρήθηκε η απορρόφηση του διαλύματος με το ιχθυέλαιο έναντι ενός άλλου με σκέτο $C_8H_{18}$ ως δείγμα αναφοράς στα 350nm. Στην συνέχεια, σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα Α προστίθενται 5ml από το δείγμα του ιχθυελαίου. Ενώ σε έναν άλλο δοκιμαστικό σωλήνα Β προστίθενται 5ml με $C_8H_{18}$. 1 ml διαλύματος p-ανισιδίνης 0,25% w/v σε οξικό οξύ προστίθεται στους δοκιμαστικούς σωλήνες Α και Β, οι σωλήνες αναδεύονται έντονα και αφήνονται για 10 λεπτά ακριβώς σε σκοτεινό μέρος. Τέλος, μετριέται η απορρόφηση των δοκιμαστικών σωλήνων Α και Β στα 350nm.

Η τιμή της ανισιδίνης (AV) δίνεται από τον παρακάτω τύπο:

$$AV = \frac{25 \cdot (1{,}2 \cdot (E_b - E_a))}{m}$$

$E_a$: η απορρόφηση του διαλύματος του ιχθυελαίου.

$E_b$: η απορρόφηση του διαλύματος του ιχθυελαίου - ανισιδίνης.

m: το βάρος της παρτίδας δοκιμής σε g.

## ▪ Αριθμός ολικής οξείδωσης (αριθμός TOTOX)

Ο αριθμός ολικής οξείδωσης υπολογίζεται βάση του αριθμού των υπεροξειδίων και τον αριθμός της ανισιδίνης.

$$TOTOX = (2 \cdot PV) + AV$$

## ▪ Φασματοφωτομετρία υπεριώδους – ορατού (UV-Vis)

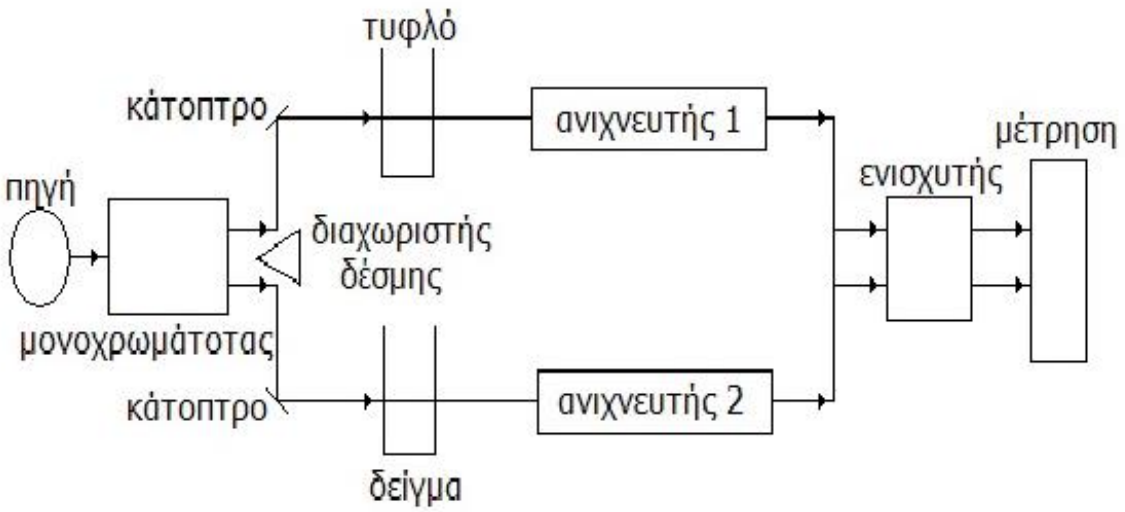
Η φασματοφωτομετρία υπεριώδους – ορατού στηρίζεται στην μέτρηση της απορρόφησης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (190-800nm) από τα μόρια των διαφόρων χημικών ενώσεων, τα οποία υφίστανται ηλεκτρονιακές μεταπτώσεις.

Η απορρόφηση στο UV-Vis δεν χαρακτηρίζει το μόριο ως σύνολο αλλά δίνει πληροφορίες για ομάδες ατόμων στο μόριο.

Στο υπεριώδες διακρίνουμε δύο περιοχές: α) το εγγύς υπεριώδες (400 με 190nm) και β) το άπω υπεριώδες (190 με 100nm). Η συνήθης οργανολογία περιορίζεται στο εγγύς υπεριώδες, διότι η απορρόφηση κάτω από τα 190nm α) από το διοξείδιο του πυριτίου (χαλαζία), υλικό από το οποίο είναι κατασκευασμένες τα οπτικά εξαρτήματα (κυψελίδες) και β) από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο, δεν επιτρέπει μετρήσεις στο άπω υπεριώδες.

Για να πραγματοποιηθεί απορρόφηση ακτινοβολίας, τα φωτόνια που προσκρούουν στο δείγμα πρέπει να έχουν ενέργεια ίση με αυτή που χρειάζεται για να προκληθεί μια κβαντισμένη ενεργειακή μεταβολή. Οι ποσοτικές μετρήσεις που δίνει η φασματοφωτομετρία UV-VIS στηρίζεται στο ότι η απορρόφηση της ακτινοβολίας εξαρτάται από την ποσότητα της ουσίας που απορροφά την ακτινοβολία, όπου η ποσοτική σχέση δίνεται από το νόμο Beer-Lambert.

Στο Σχήμα 12 παρουσιάζεται η οργανολογία του φασματοφωτόμερου UV-Vis, όπου αποτελείται από μια σταθερή πηγή ακτινοβολίας, ένα σύστημα φακών, σχισμών και καθρεπτών, ένα μονοχρωμάτορα, μια διάφανη κυψελίδα του δείγματος και έναν ανιχνευτή ακτινοβολίας.




**Σχήμα 12.** Σχηματική απεικόνιση φασματοφωτόμετρου UV-Vis.

Η πηγή ακτινοβολίας πρέπει να εκπέμπει συνεχές φάσμα σε όλο το εύρος του μήκους κύματος, με υψηλή και σταθερή ένταση. Το σύστημα φακών, σχισμών και καθρεπτών χρησιμοποιείται για τον ορισμό, την ευθυγράμμιση και την εστίαση της δέσμης. Ο μονοχρωμάτορας χρησιμεύει για την ανάλυση της ακτινοβολίας σε ζώνες μηκών κύματος και αποτελείται από μία σχισμή εισόδου, ένα φακό ή ένα καθρέπτη ευθυγράμμισης, ένα πρίσμα ή φράγμα, ένα φακό ή καθρέπτη εστιάσεως και μία σχισμή εξόδου. Το πλάτος ζώνης της εκπεμπόμενης από το μονοχρωμάτορα ακτινοβολίας εξαρτάται από το πλάτος της σχισμής εισόδου, το πλάτος της σχισμής εξόδου και τη διάταξη της διασποράς που χρησιμοποιείται. Οι σχισμές μικρού πλάτους μειώνουν την ένταση στον ανιχνευτή. Το πρίσμα διαχωρίζει την ακτινοβολία σε ζώνες μήκους κύματος, που εξέρχονται σε διαφορετικές κατευθύνσεις. Μπορούμε να διευθύνουμε τη ζώνη με το επιθυμητό μήκος κύματος στη σχισμή εξόδου περιστρέφοντας το πρίσμα.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης UV-1800 της εταιρείας Shimadzu, όπου η μονοχρωματική δέσμη που παράγεται από τον μονοχρωμάτορα χωρίζεται σε δύο παράλληλες δέσμες της ίδιας ισχύος. Η μια προσπίπτει στην κυψελίδα με το τυφλό διάλυμα και η άλλη στην άλλη κυψελίδα με το διάλυμα του δείγματος. Η δέσμη που προσπίπτει στο τυφλό διάλυμα παίζει ρόλο αφαιρετικής δέσμης και στον ανιχνευτή του φασματόμετρου μετριέται ο λόγος σήμα τυφλού/ σήμα δείγματος.

**Σχήμα 13.** Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης UV-1800 της εταιρείας Shimadzu.

## ▪ Συνθήκες ανάλυσης

Και για τα 10 δείγματα προσδιορίστηκε ο ρυθμός οξείδωσης, συγκεκριμένα έγινε μέτρηση της τιμής των υπεροξειδίων, της ανισιδίνης και του ολικού αριθμού οξείδωσης τους.

Επιλέχθηκαν 2 δείγματα τα οποία απομακρύνθηκαν από την συσκευασία τους τοποθετήθηκαν σε ποτήρια ζέσεως σε φωτεινό μέρος και σε θερμοκρασία δωματίου 20 – 25$^{O}$C. Και πάρθηκαν μετρήσεις στις 0, 14 και 28 ημέρες.

Για να μελετηθεί η επίδραση της θερμοκρασίας στα συμπληρώματα διατροφής επιλέχθηκε 1 δείγμα το οποίο παρέμεινε σε σκοτεινό μέρος στους 37$^{O}$C για 28 ημέρες και ελήφθησαν μετρήσεις στις 0, 14 και 28 ημέρες. Επίσης το δείγμα αυτό μελετήθηκε και στους 47$^{O}$C και πάρθηκαν μετρήσεις στις 0, 4, 9 και στις 15 ημέρες.

# Κεφάλαιο 3

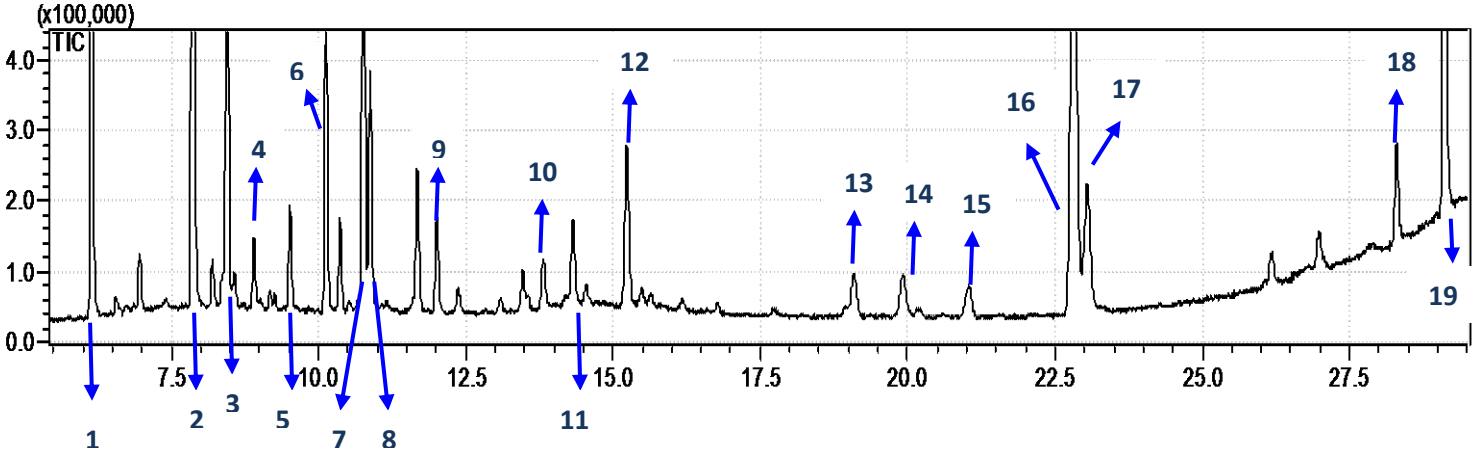
## 3. Αποτελέσματα

### 3.1 Αποτελέσματα και χαρακτηρισμός κορυφών GC-MS

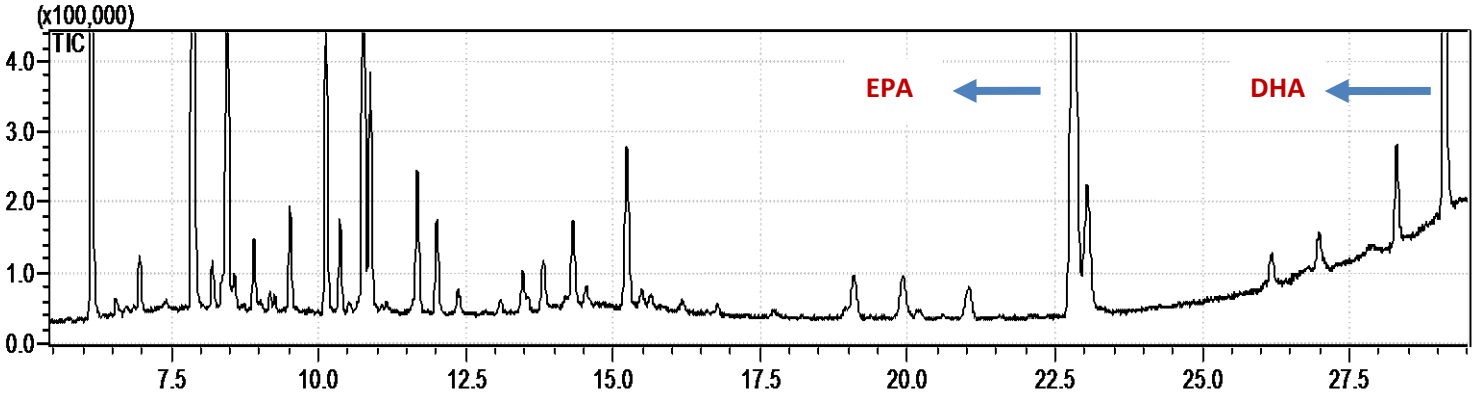
Χρησιμοποιήθηκαν δέκα (10) διαφορετικά δείγματα συμπληρωμάτων διατροφής τα οποία είναι διαθέσιμα στην ελληνική αγορά, τα οποία ήταν από 8 διαφορετικές εταιρείες όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο των πειραματικών δεδομένων.

Στο τέλος της διαδικασίας επεξεργασίας δείγματος, που αναλύθηκε παραπάνω, εφαρμόστηκε η χρωματογραφική ανάλυση με σκοπό τον προσδιορισμό των λιπαρών οξέων. Αρχικά έγινε ταυτοποίηση των κορυφών των λιπαρών οξέων. Ακολούθησε ποσοτική ανάλυση των λιπαρών οξέων για κάθε δείγμα. Στην συνέχεια υπολογίστηκε το άθροισμα των κορεσμένων, μονοακόρεστων, πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και των σχέσεων του SFA/MUFA/PUFA καθώς και το σύνολο των ω-3 και ω-6. Πραγματοποιήθηκε επιπλέον σύγκριση των πραγματικών έναντι των αναφερόμενων τιμών ω-3 που αναγράφονται στις ετικέτες των συμπληρωμάτων διατροφής, συγκεκριμένα των EPA και DHA.

Για το κάθε δείγμα ξεχωριστά λήφθηκε χρωματογράφημα με την τεχνική της αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας. Στο παρακάτω σχήμα παρουσιάζεται ένα τυπικό χρωματογράφημα από ένα δείγμα ιχθυελαίου από συμπλήρωμα διατροφής.




**Σχήμα 14.** Προφίλ λιπαρών οξέων σε Συμπληρώματα Διατροφής. 1: myristic, 2: palmitic, 3: palmitoleic, 4: 9,12-hexadecadienoic acid, 5: 6,9,12-hexadecatrienoic acid, 6: stearic, 7: oleic, 8: vaccenic, 9: linoleic acid,10: gamma-linolenic, 11:alpha-linolenic,12: stearidonic, 13: eicosatetraenoic, 14: eicosenoic, 14: eicosatrienoic, 16: eisosapentaenoic, 17: tricosanoic, 18: docosapentaenoic, 19: docosahexaenoic.




**Σχήμα 15.** Περιοχή ανίχνευσή του εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA, C20:5*n*3) και του δεκαεξανοϊκό οξύ (DHA, C22:6*n*3).

Τα αποτελέσματα της περιεκτικότητας λιπαρών οξέων σε συμπληρώματα διατροφής παρουσιάζονται στον παρακάτω Πίνακα 3.

**Πίνακας 3.** Περιεκτικότητες % των κύριων λιπαρών οξέων στα 10 διαφορετικά δειγμάτων των συμπληρωμάτων διατροφής.

| Λιπαρά οξέα % | ΔΕΙΓΜΑΤΑ | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| **C14:0** | 8,55 | 0,16 | 0,08 | 0,72 | 0,96 | 0,83 | 0,10 | 0,13 | 1,24 | 0,23 |
| **C16:0** | 20,74 | 1,65 | 7,36 | 17,35 | 43,90 | 13,68 | 2,33 | 1,03 | 3,88 | 0,48 |
| **C16:1*n*7** | 8,92 | 0,48 | 0,61 | 0,69 | 0,46 | 4,16 | 0,73 | 0,31 | 2,49 | 0,84 |
| **C16:2*n*4** | 0,97 | 0,26 | 0,13 | 0,17 | 0,13 | 0,81 | 0,28 | 0,13 | 0,27 | 0,09 |
| **C16:3*n*4** | 1,41 | 0,24 | 0,15 | 0,21 | 0,08 | 0,92 | 0,22 | 0,13 | 0,34 | 0,30 |
| **C18:0** | 4,43 | 5,39 | 5,05 | 5,19 | 3,93 | 5,67 | 4,89 | 4,26 | 4,33 | 0,23 |
| **C18:1*n*9** | 8,69 | 9,12 | 33,00 | 15,44 | 7,62 | 15,55 | 7,52 | 7,04 | 8,77 | 5,84 |
| **C18:1*n*7** | 3,37 | 3,00 | 2,44 | 2,40 | 0,38 | 4,74 | 3,06 | 2,60 | 3,73 | 2,32 |
| **C18:2*n*6** | 1,45 | 1,10 | 13,00 | 3,38 | 1,41 | 2,82 | 1,00 | 0,78 | 1,29 | 1,34 |
| **C18:3*n*4** | 0,74 | 0,50 | 0,44 | 0,32 | 0,08 | 1,47 | 0,56 | 0,36 | 0,64 | 0,89 |
| **C18:3*n*3** | 1,39 | 3,41 | 3,18 | 2,41 | 0,98 | 2,60 | 3,74 | 3,74 | 5,86 | 0,76 |
| **C18:4*n*3** | 3,24 | 1,97 | 0,81 | 1,27 | 0,15 | 3,60 | 1,71 | 1,26 | 1,85 | 2,88 |
| **C20:4*n*3** | 0,96 | 2,33 | 1,08 | 1,53 | 0,36 | 1,35 | 2,20 | 2,38 | 1,42 | 2,15 |
| **C20:1*n*9** | 1,09 | 1,12 | 1,24 | 1,00 | 1,50 | 3,02 | 1,56 | 1,29 | 2,13 | 0,19 |
| **C20:3*n*3** | 0,78 | 1,81 | 0,73 | 0,95 | 0,40 | 0,89 | 1,58 | 1,57 | 1,31 | 1,61 |
| **C20:5*n*3** | 18,46 | 36,20 | 17,34 | 26,97 | 7,41 | 21,24 | 36,19 | 41,25 | 33,08 | 50,75 |
| **C22:5*n*3** | 1,94 | 3,46 | 2,07 | 2,72 | 4,31 | 1,40 | 4,53 | 4,46 | 3,37 | 3,84 |
| **C22:6*n*3** | 12,88 | 27,81 | 11,30 | 17,29 | 25,94 | 15,23 | 27,79 | 27,27 | 24,01 | 25,24 |

Προσδιορίστηκε ένα σύνολο 19 λιπαρών οξέων, τα οποία αναγράφονται στις παρακάτω κατηγορίες λιπαρών οξέων.

- Κορεσμένα: C14:0, C16:0, C18:0
- Μονοακόρεστα: C16:1*n*7, C18:1*n*9, C18:1*n*7, C20:1*n*9
- Πολυακόρεστα: C18:2*n*6, C18:3*n*3, C18:4*n*3, C20:4*n*3, C20:3*n*3, C20:5*n*3, C22:5*n*3, C22:6*n*3

Από τα λιπαρά οξέα αυτά στα ω-3 ανήκουν C18:3*n*3, C18:4*n*3, C20:4*n*3, C20:3*n*3, C20:5*n*3, C22:5*n*3, C22:6*n*3 ενώ το μοναδικό ω-6 λιπαρό οξύ ήταν το C18:2*n*6.

Όσο αφορά το σύνολο των κορεσμένων λιπαρών οξέων εμφανίζουν εύρος τιμών από 0,08 % (C14:0) έως 43,9 % (C16:0). Το επικρατέστερο μονοακόρεστο λιπαρό οξύ είναι το ελαϊκό οξύ(C18:1*n*9), το οποίο έχει εύρος τιμών από 5,85% έως 33%.

Από τα ω-3 λιπαρά οξέα, το εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA, C20:5*n*3) εμφανίζεται με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις σε όλα τα δείγματα εκτός από το 5$^{o}$ δείγμα όπου το δεκαεξανοϊκό οξύ (DHA, C22:6*n*3) σε αυτή την περίπτωση έχει μεγαλύτερη συγκέντρωση. Οι συγκεντρώσεις του EPA στα συμπληρώματα διατροφής είχε εύρος από 7,41% έως 50,75%. Ενώ οι συγκεντρώσεις του DHA κυμαίνονταν από 11,3% έως 27,81%. Σε όλα τα δείγματα επίσης ανιχνεύτηκαν το δοκοσαπεντανοϊκό οξύ (DPA, C22:5*n*3) και το α-λινολενικό οξύ (ALA, C18:3*n*3). Το DPA κυμαίνεται σε συγκεντρώσεις από 1.4% έως 4,53%, ενώ το ALAαπό 0,76% έως 5,86%. Τα ω-3 λιπαρά οξέα είχαν ολικό μέσο όρο 61%.

Το λινελαϊκό οξύ (C18:2*n*6) είναι το μοναδικό ω-6 λιπαρό οξύ που ανιχνεύτηκε σε όλα τα δείγματα. Η ελάχιστή τιμή που ανιχνεύτηκε ήταν 0,78% ενώ η μέγιστη 13%. Ο μέσος όρος που παρουσιάζει το λινελαϊκό οξύ στα δείγματα είναι 2,8%.

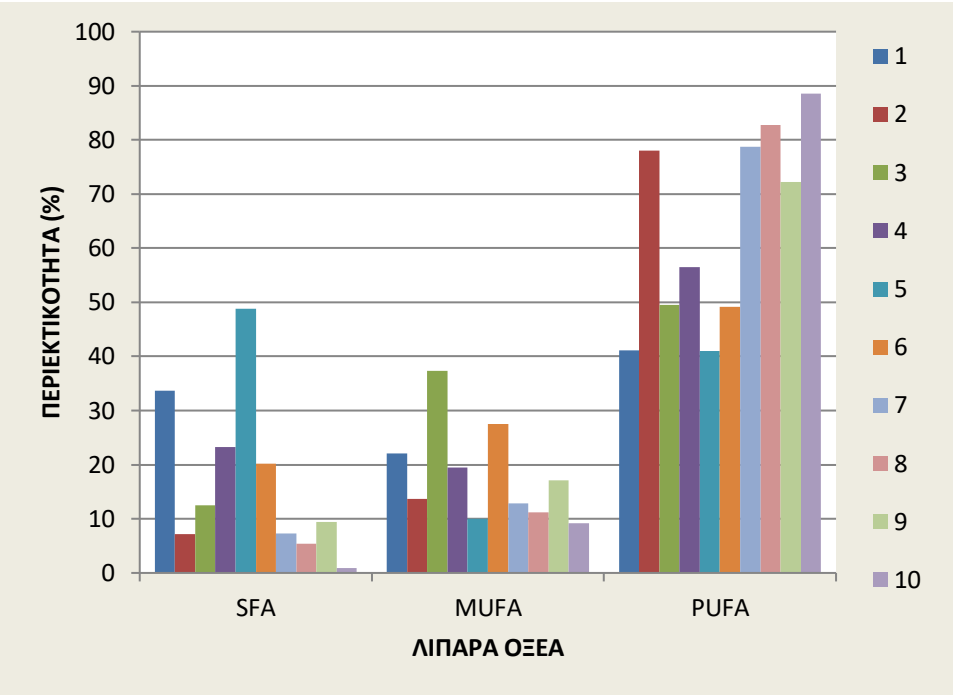
Στον Πίνακα 4. παρουσιάζεται το άθροισμά των κορεσμένων (SFA), μονοακόρεστων (MUFA) και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA) αλλά και η σχέση αυτών ανά δείγμα.

**Πίνακας 4.** Συνολικά αποτελέσματα περιεκτικότητας % SFA, MUFA, PUFA λιπαρών οξέων στα συμπληρώματα διατροφής.

| ΔΕΙΓΜΑΤΑ | ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ % | | |
|---|---|---|---|
| | ΚΟΡΕΣΜΕΝΑ SFA | ΜΟΝΟΑΚΟΡΕΣΤΑ MUFA | ΠΟΛΥΑΚΟΡΕΣΤΑ PUFA |
| **1** | 33,72 | 22,08 | 41,08 |
| **2** | 7,20 | 13,71 | 78,09 |
| **3** | 12,48 | 37,29 | 49,51 |
| **4** | 23,26 | 19,53 | 56,51 |
| **5** | 48,80 | 9,96 | 40,95 |
| **6** | 20,18 | 27,48 | 49,14 |
| **7** | 7,32 | 12,87 | 78,74 |
| **8** | 5,41 | 11,25 | 82,71 |
| **9** | 9,46 | 17,12 | 72,18 |
| **10** | 0,94 | 9,20 | 88,58 |

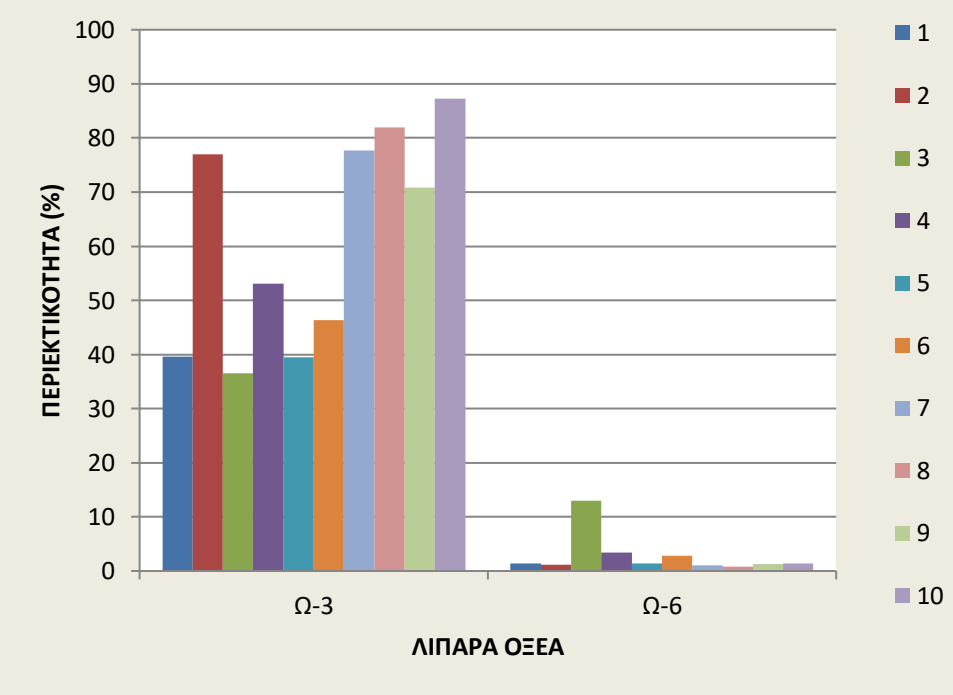
Παρατηρώντας λοιπόν, τα αποτελέσματα για τις συνολικές συγκεντρώσεις των κορεσμένων, μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, είναι φανερό και αναμενόμενο ότι τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα εμφανίζονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις με μέσο όρο 64%, και οι τιμές τους κυμαίνονται από 41% έως 89%. Ακολουθούν τα μονοακόρεστα λιπαρά με μέσο όρο 18%, και τιμές από 9,2% έως 37%. Σε μικρότερες συγκεντρώσεις εμφανίζονται το κορεσμένα λιπαρά οξέα με μέσο όρο 17%, ενώ οι τιμές τους κυμαίνονται από 1% έως 49%.

Στα ραβδογράμματα που παρουσιάζονται παρακάτω (Σχήμα 16) είναι φανερό ότι τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα εμφανίζονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις έναντι των μονοακόρεστων και κορεσμένων σε όλα τα δείγματα εκτός από το 5$^{ο}$ δείγμα όπου τα κορεσμένα λιπαρά οξέα εμφανίζουν την μεγαλύτερη συγκέντρωση.




**Σχήμα 16.** Παρουσίαση των κορεσμένων, μονοακόρεστων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σε συμπληρώματα διατροφής.

Όσο αφορά τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα έγινε επιπλέον ανάλυση των ω-3 και ω-6 σε ραβδογράμματα. Όπου στο Σχήμα 17 είναι φανερό ότι οι συγκεντρώσεις των ω-6 είναι πάρα πολύ μικρές σε σχέση με τα ω-3 λιπαρά οξέα σε όλα τα δείγματα. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, το λινελαϊκό οξύ (C18:2*n*6) είναι το μοναδικό ω-6 λιπαρό οξύ που ανιχνεύτηκε σε όλα τα δείγματα.




**Σχήμα 17.** Παρουσίαση του συνόλου των ω-3 και ω-6 σε συμπληρώματα διατροφής.

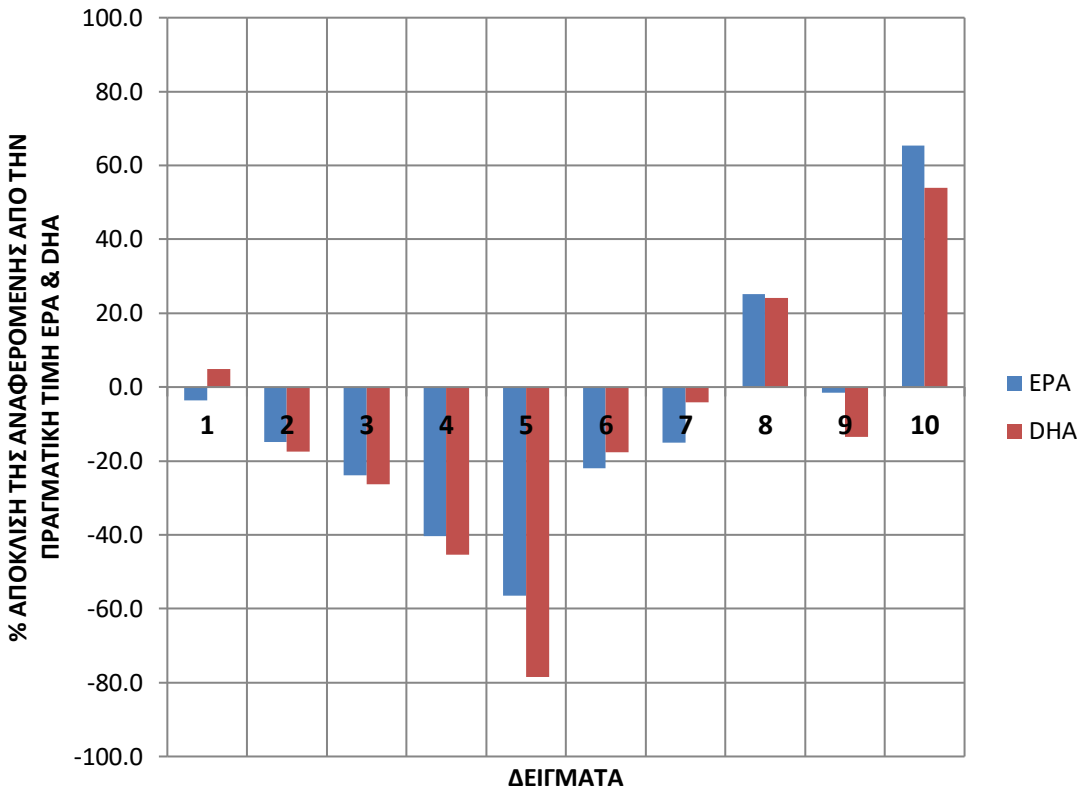
Σε όλες τις συσκευασίες των δειγμάτων που αναλύθηκαν, αναγράφονταν πάνω οι συγκεντρώσεις των EPA και DHA που περιείχε κάθε συμπλήρωμα διατροφής. Στον Πίνακα 5 έχει γίνει σύγκριση της συγκέντρωσης των αναφερόμενων τιμών EPA και DHA έναντι των πραγματικών τιμών που προσδιορίστηκαν πειραματικά.

**Πίνακας 5.** Σύγκριση της συγκέντρωσης των EPA και DHA βάση των τιμών που προσδιορίστηκαν πειραματικά έναντι αυτών που αναφέρουν οι συσκευασίες των δειγμάτων.

| ΔΕΙΓΜΑΤΑ | ΑΝΑΦΕΡΟΜΕΝΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (mg/g) | | ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (mg/g) | | ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ % | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | EPA | DHA | EPA | DHA | EPA | DHA |
| **1** | 192 | 120 | 185,5 | 126,0 | -3,5 | 4,8 |
| **2** | 340 | 360 | 289,6 | 214,5 | -14,8 | -17,5 |
| **3** | 163 | 106 | 124,4 | 78,0 | -23,8 | -26,3 |
| **4** | 325 | 217 | 193,6 | 118,5 | -40,4 | -45,3 |
| **5** | 70 | 500 | 30,5 | 107,6 | -56,4 | -78,5 |
| **6** | 180 | 120 | 140,3 | 98,8 | -22,0 | -17,6 |
| **7** | 330 | 220 | 280,5 | 210,9 | -15,0 | -4,1 |
| **8** | 300 | 200 | 375,4 | 248,2 | 25,1 | 24,1 |
| **9** | 344 | 278 | 338,8 | 240,6 | -1,5 | -13,5 |
| **10** | 400 | 208 | 661,2 | 320,1 | 65,3 | 53,9 |

Το εύρος τιμών που εμφανίζει το EPA είναι από 43,6% λιγότερο από την αναφερόμενη τιμή έως 165,3% περισσότερο. Ενώ το DHA από 21,5% λιγότερο έως 153,9% σε σχέση με την αναγραφόμενη τιμή στην ετικέτα των δειγμάτων.

Στο Σχήμα 18 είναι φανερή η απόκλιση των πραγματικών τιμών EPA και DHA σε σχέση με την αναφερόμενη συγκέντρωση που αναγράφεται στην συσκευασία των δειγμάτων.




**Σχήμα 18.** Απόκλιση % της αναφερόμενης σε σχέση με την πραγματική τιμή EPA και DHA.

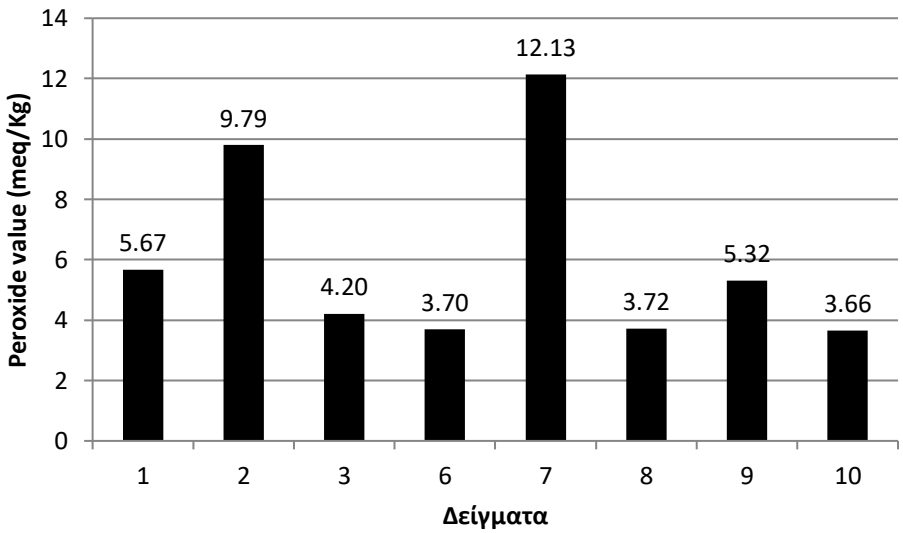
Από τα 10 δείγματα μόνο τα 2 περιέχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση από την αναγραφόμενη τιμή τόσο σε EPA όσο και DHA. Ένα δείγμα μόνο περιέχει μεγαλύτερη ποσότητα σε DHA από ότι αναγράφει στην ετικέτα, ενώ εν αντιθέσει περιέχει μικρότερη ποσότητα σε EPA. Τα υπόλοιπα 7 δείγματα περιέχουν λιγότερη ποσότητα από ότι αναγράφεται τόσο σε EPA, όσο και σε DHA.

Συμπεριλαμβάνοντας τα παραπάνω και σύμφωνα με το Σχήμα 18 προκύπτει ότι το 80% των δειγμάτων περιέχουν μικρότερη από την αναγραφόμενη συγκέντρωση σε EPA ενώ σε DHA 70% των δειγμάτων. Το 5ο δείγμα εμφανίζει την μεγαλύτερη απόκλιση ενώ την μικρότερη την εμφανίζει το 1ο δείγμα.

## 3.2 Αποτελέσματα και εκτίμηση του ρυθμού αυτοοξείδωσης

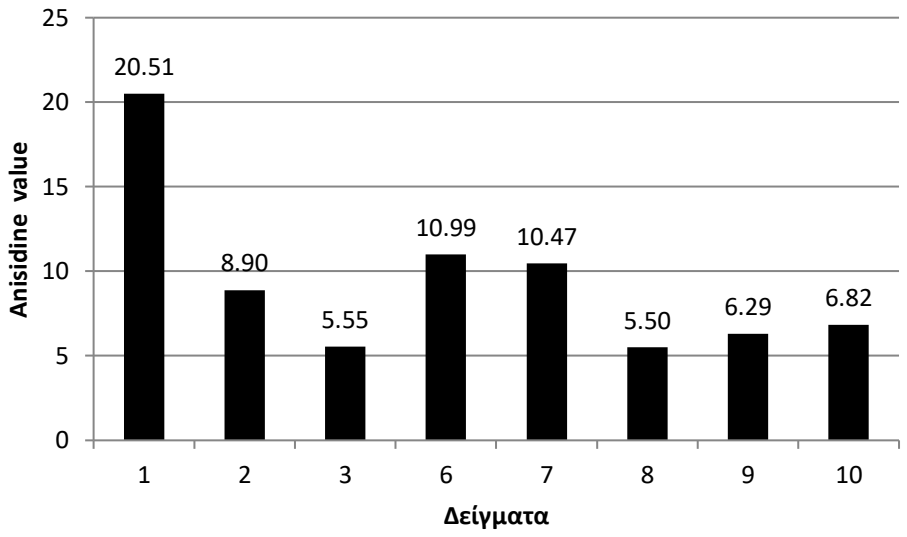
Στην συνέχεια γίνεται προσδιορισμός του ρυθμού αυτοοξείδωσης των συμπληρωμάτων διατροφής. Γίνεται προσδιορισμός του αριθμού των υπεροξειδίων, της ανισιδίνης και του ολικού αριθμού οξείδωσης. Παρουσιάζονται αναλυτικά γραφήματα που εξετάζεται υπό διαφορετικές συνθήκες συντήρησης ο ρυθμός οξείδωσης και γίνεται σύγκριση των παραμέτρων αυτών. Αναλύθηκαν 8 από τα 10 δείγματα, διότι τα δύο από αυτά τα δείγματα δεν ήταν εφικτό να αναλυθούν λόγω τις δομής της κάψουλας που περιείχε το ιχθυέλαιο.

Αρχικά γίνεται ανάλυση των δειγμάτων έναντι του αριθμού των υπεροξειδίων (Σχήμα 19), όπου βάση της βιβλιογραφίας το ανώτερο ανεκτό όριο υπεροξειδίων για το ιχθυέλαιο είναι 5 meq $O_2$/Kg (Global Organization for EPA and DHA Omega). Από τα 8 δείγματα που αναλύθηκαν τα τέσσερα δείγματα (50 %) ήταν πάνω από το ανεκτό όριο. Ο σχηματισμός των πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης ήταν υψηλότερος στο 7$^o$ δείγμα, με τιμή 12,13 meq $O_2$/Kg, ακολουθεί το 2$^o$ δείγμα, το 1$^o$ και το 9$^o$ δείγμα. Ο μικρότερος αριθμός υπεροξειδίων ωστόσο σχηματίζεται στο 10$^o$ δείγμα με τιμή 3,66 meq $O_2$/Kg.



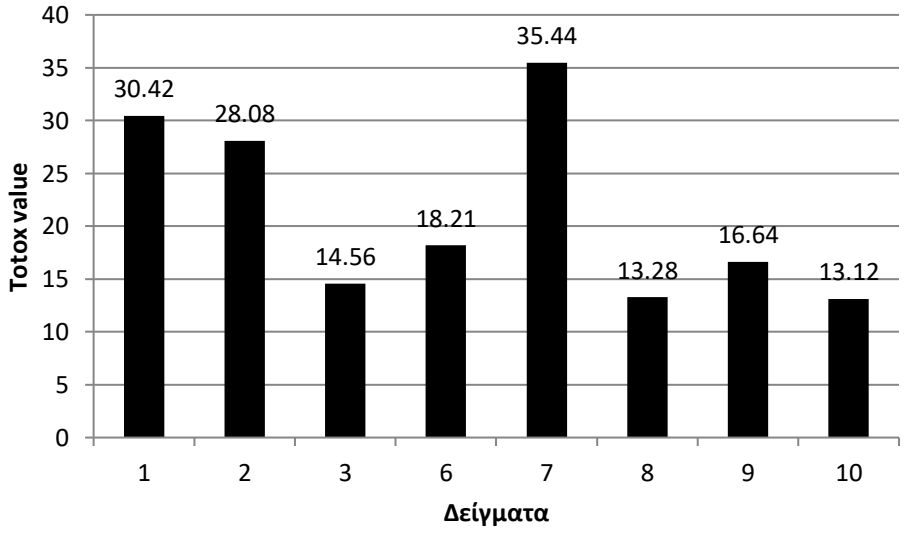

**Σχήμα 19.** Συγκέντρωση υπεροξειδίων στα υπό ανάλυση δείγματα.

Στο Σχήμα 20 παρουσιάζεται η ανάλυση των δειγμάτων έναντι της τιμής της ανισιδίνης, όπου η τιμή της ανισιδίνης αφορά τα δευτερεύοντα προϊόντα της οξείδωσης, όπου βάση της βιβλιογραφίας το ανώτερο όριο είναι 20. Το 1$^o$ δείγμα είναι εκτός ορίων, όπου εμφανίζει την μεγαλύτερη τιμή ανισιδίνης, που σημαίνει ότι έχει σχηματίσει τα περισσότερα δευτερεύοντα προϊόντα της οξείδωσης με τιμή 20,51 , ενώ την μικρότερη έχει το 8$^o$ δείγμα με τιμή 5,50.




**Σχήμα 20.** Συγκέντρωση ανισιδίνης στα υπό ανάλυση δείγματα.

Έπειτα γίνεται συσχέτιση του αριθμού των υπεροξειδίων με την τιμή της ανισιδίνης, μέσου του ολικού αριθμού οξείδωσης, τα αποτελέσματα του οποίου παρουσιάζονται στο Σχήμα 21. Βάση του Διεθνή οργανισμού για το EPA και το DHA, το ανώτερο ανεκτό όριο για τον ολικό αριθμό οξείδωσης είναι 26. Τρία από τα οχτώ συνολικά δείγματα είναι εκτός των ορίων.




**Σχήμα 21.** Συγκέντρωση του ολικού αριθμού οξείδωσης στα υπό ανάλυση δείγματα.

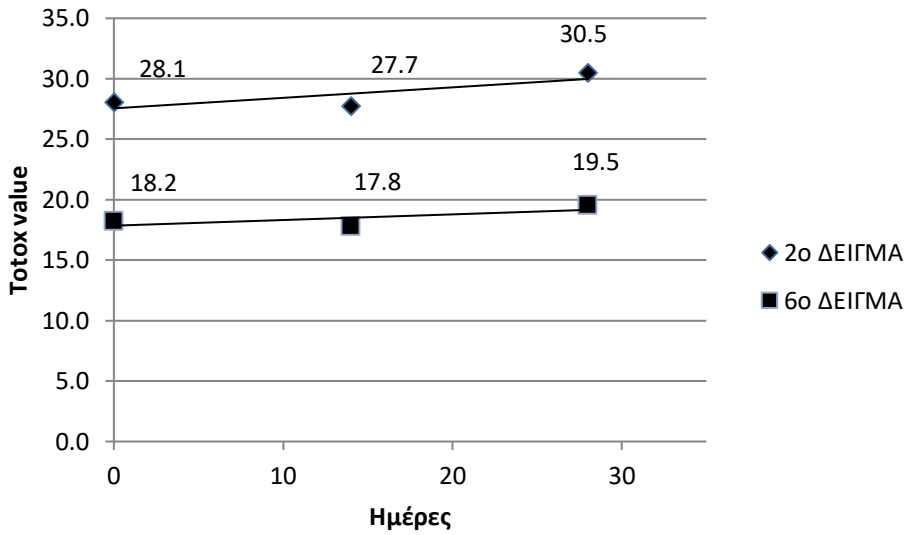
Το εύρος των τιμών του ολικού αριθμού οξείδωσης είναι από 13,12 έως 35,44, όπου το 7$^{ο}$ δείγμα εμφανίζει την μεγαλύτερη οξείδωση ενώ την μικρότερη το 10$^{ο}$ δείγμα.

Στην συνέχεια μετριέται η οξείδωση των δειγμάτων υπό ελεγχόμενες συνθήκες, όπου τα δείγματα απομακρύνθηκαν από τις συσκευασίες τους, τοποθετήθηκαν σε φωτεινό μέρος σε θερμοκρασία 20 – 25$^{O}$C για 28 ημέρες.

Σύμφωνα με τον Πίνακα 6 και το Σχήμα 22, κατά την πάροδο των 28 αυτών ημερών δεν παρατηρείται σημαντική διακύμανση όσο αφορά την οξείδωση των δειγμάτων.

**Πίνακας 6.** Μελέτη του ρυθμού αυτοοξείδωσης σε δείγματα όπου αποθηκεύτηκαν για 28 ημέρες, σε φωτεινό μέρος, σε θερμοκρασία 20 – 25$^{O}$C.

| ΔΕΙΓΜΑΤΑ | 0 ΗΜΕΡΕΣ | | | 14 ΗΜΕΡΕΣ | | | 28 ΗΜΕΡΑ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | PV | AV | TOTOX | PV | AV | TOTOX | PV | AV | TOTOX |
| **2** | 9,79 | 8,90 | **28,08** | 9,88 | 7,96 | **27,72** | 10,82 | 8,87 | **30,50** |
| **6** | 3,70 | 10,99 | **18,21** | 4,09 | 9,6 | **17,78** | 4,95 | 9,61 | **19,52** |

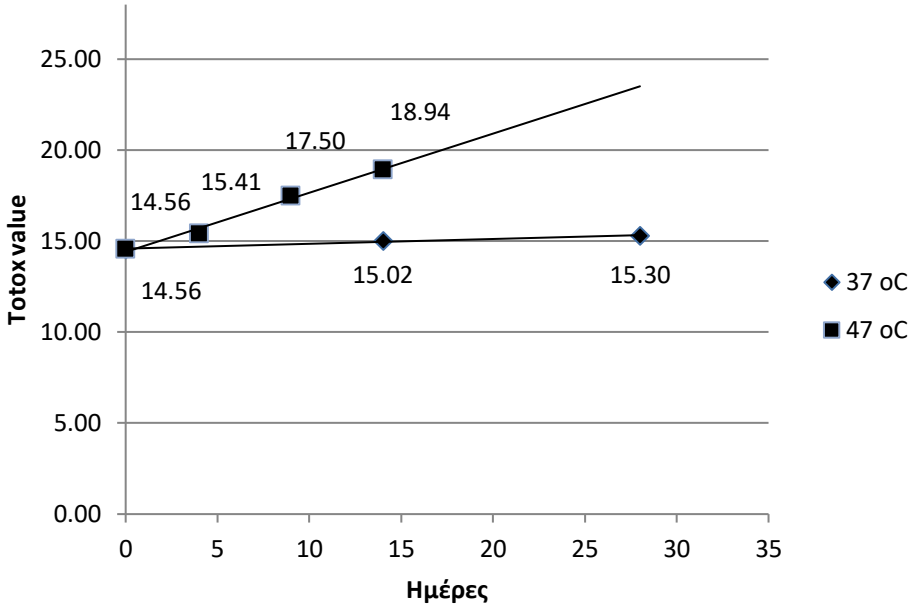



**Σχήμα 22.** Μελέτη του ρυθμού αυτοοξείδωσης σε σχέση με την επίδραση των εξωτερικών συνθηκών αποθήκευσης. Τα δείγματα ανοίχτηκαν από τις συσκευασίες τους και τοποθετήθηκαν σε φωτεινό μέρος σε θερμοκρασία 20 – 25$^{O}$C για 28 ημέρες.

Η θερμοκρασία αποτελεί έναν πολύ σημαντικό παράγοντα που επηρεάζει τον ρυθμό της οξείδωσης, έτσι λοιπόν μελετήθηκε η επίδραση της για το ίδιο δείγμα στους 37$^{O}$C και 47$^{O}$C για 28 ημέρες (Πίνακας 7, Σχήμα 22).

**Πίνακας 7.** Μελέτη του ρυθμού αυτοοξείδωσης για το 3ο δείγμα όπου αποθηκεύτηκε για 28 ημέρες, σε θερμοκρασία 37$^{O}$C και 47$^{O}$C.

| ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ (ºC) | 0 ΗΜΕΡΕΣ | | | 4 ΗΜΕΡΕΣ | | | 9 ΗΜΕΡΕΣ | | | 14 ΗΜΕΡΕΣ | | | 28 ΗΜΕΡΑ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | PV | AV | TOTOX | PV | AV | TOTOX | PV | AV | TOTOX | PV | AV | TOTOX | PV | AV | TOTOX |
| **37** | 4,20 | 5,55 | **14,56** | - | - | - | - | - | - | 4,50 | 6,02 | **15,02** | 4,92 | 5,45 | **15,30** |
| **47** | 4,20 | 5,55 | **14,56** | 4,57 | 6,28 | **15,41** | 5,44 | 6,62 | **17,50** | 5,83 | 7,28 | **18,94** | - | - | - |




**Σχήμα 23.** Μελέτη του ρυθμού αυτοοξείδωσης σε σχέση με την επίδραση της θερμοκρασίας, στους 37$^{O}$C και 47$^{O}$C για το 3ο δείγμα.

Σύμφωνα με το Πίνακα 7 και το Σχήμα 23 το δείγμα δεν οξειδώνεται σημαντικά στους 37$^{O}$C για το χρονικό διάστημα των 28 ημερών, εν αντιθέσει στους 47$^{O}$C το δείγμα οξειδώνεται πάρα πολύ γρήγορα. Στους 47$^{O}$C μετά τις 14 ημέρες τα δείγματα έλιωσαν, καταστράφηκαν οι κάψουλες και έγιναν μια ενιαία μάζα. Στους 37$^{O}$C ο ολικός αριθμός οξείδωσης στην αρχή (0 ημέρα) είναι 14,56 ενώ μετά από 28 ημέρες 15,30. Αντιθέτως 47$^{O}$C η οξείδωση αυξάνεται ραγδαία και μετά από 14 ημέρες ο ολικός αριθμός οξείδωσης είναι 18,94.

# Κεφάλαιο 4

## 4.1 Συζήτηση αποτελεσμάτων

Εξετάστηκαν δέκα (10) διαφορετικά δείγματα συμπληρωμάτων διατροφής ω–3, στα οποία προσδιορίστηκαν 19 διαφορετικά λιπαρά οξέα. Τα λιπαρά αυτά οξέα κατηγοριοποιηθήκαν σε κορεσμένα, μονοακόρεστα και πολυακόρεστα. Τα κορεσμένα και τα μονοακόρεστα λιπαρά οξέα εμφανίζονται σε μικρότερες συγκεντρώσεις από ότι τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, με εξαίρεση μόνο ένα δείγμα (το 5ο) όπου τα κορεσμένα εμφανίζουν την μεγαλύτερη συγκέντρωση.

Το επικρατέστερο μονοακόρεστο λιπαρό οξύ είναι το ελαϊκό οξύ (C18:1n9), ενώ από τα πολυακόρεστα τα ω-3 EPA και DHA εμφανίζονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Όσο αφορά τα κορεσμένα οι συγκεντρώσεις τους εμφανίζουν διακυμάνσεις ανάλογα με το δείγμα που εξετάζεται κάθε φορά. Από τα ω-6 το μοναδικό λιπαρό οξύ που ανιχνεύτηκε σε όλα τα δείγματα ήταν το λινελαϊκό οξύ (C18:2n6).

Συγκρίνοντας την μετρήσιμη έναντι της αναγραφόμενης στην ετικέτα τιμής των EPA και DHA προκύπτει ότι το 80% των δειγμάτων περιέχει μικρότερη από την αναγραφόμενη συγκέντρωση σε EPA ενώ σε DHA το 70% των δειγμάτων. Όλα τα δείγματα εμφανίζουν αποκλίσεις σε σχέση με την αναγραφόμενη τιμή των EPA και DHA.

Οι Kleiner et al, 2014 επισημαίνουν ότι υπάρχουν πολλοί πιθανοί λόγοι που τα συμπληρώματα διατροφής εμφανίζουν μικρότερες συγκεντρώσεις σε EPA και DHA. Ένας λόγος είναι ότι τα ψάρια έχουν διαφορετικές διακυμάνσεις σε συγκεντρώσεις σε λιπαρά οξέα κατά την διάρκεια διαφορετικών χρονικών περιόδων το έτος. Ένας άλλος λόγος οφείλεται στην διατροφή των ψαριών, για παράδειγμα ανάλογα αν τα ψάρια είναι ιχθυοκαλλιέργειας ή άγρια έχουν διαφορετικές διατροφικές συνήθειες.

Η αναλογία των EPA και DHA σε ω-3 λιπαρά οξέα αποτελεί ένα σημαντικό σημείο συζήτησης. Οι Gorjao et al, 2009 ανέφεραν ότι τα περισσότερα διαθέσιμα στο εμπόριο ιχθυέλαια παρουσιάζονται με αναλογία 2:1 EPA σε DHA, ενώ αρκετά λιπαρά ψάρια που ζούνε σε παγωμένα νερά έχουν υψηλότερες αναλογίες σε DHA από ότι σε EPA. Σύμφωνα με τους Kris-Etherton & Hill, 2008 τα περισσότερα διαθέσιμα εμπορικά συμπληρώματα ω-3 στις ΗΠΑ περιέχουν 180 mg EPA και 120 mg DHA ανά κάψουλα, δηλαδή η αναλογία EPA προς DHA είναι 1,5:1. Όμως το EPA και το DHA έχουν διαφορετικές επιπτώσεις σε διαφορετικές πτυχές της υγείας και θεωρείται ότι υπό ορισμένες συνθήκες όταν το DHA είναι υψηλότερο από το EPA είναι προτιμότερο.

Οι Mori & Woodman το 2006 σύνταξαν μια ανασκόπηση σχετικά με την ανεξάρτητη επίδραση του EPA και του DHA σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου για τις καρδιαγγειακές παθήσεις στους ανθρώπους. Σύμφωνα με την έκθεση αυτή, είναι φανερό ότι το EPA και το DHA έχουν διαφορετικές αιμοδυναμικές και αντιαθηρογόνες ιδιότητες. Τόσο το EPA όσο και το DHA έχουν αποτελεσματική δράση στην μείωση των επιπέδων των τριγλυκεριδίων, αλλά μόνο το DHA έχει την ικανότητα αύξησης της λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας (HDL-C). Το DHA αυξάνει επίσης το μέγεθος των σωματιδίων των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL), μια πιθανή αντιαθηρογόνο δράση. Ούτε το EPA ούτε το DHA δεν δείχνουν να επηρεάζουν τη συνολική χοληστερόλη, όμως φαίνεται το DHA να είναι πιο αποτελεσματικό στη μείωση της αρτηριακής πίεσης και του καρδιακού ρυθμού σε σχέση με το EPA. Ωστόσο, τα περισσότερα κλινικά δεδομένα που έχουνε παρθεί σχετικά με το καρδιαγγειακό σύστημα για την επίδραση των ω-3 λιπαρών οξέων, χρησιμοποιούν συνδυασμό των EPA και DHA.

Τα ω-3 λιπαρά οξέα είναι χημικά ασταθή, με αποτέλεσμα τα ιχθυέλαια να οξειδώνονται γρήγορα κατά την διάρκεια της αποθήκευσης τους. Δημιουργείται λοιπόν μια πολύπλοκη χημική σούπα με υπεροξείδια και δευτερεύοντα προϊόντα οξείδωσης οπότε αυτό έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της συγκέντρωσης των μη οξειδωμένων λιπαρών οξέων.

Συνεπώς, η σύνθεση ενός συμπληρώματος διατροφής ιχθυελαίου δεν μπορεί να ταυτίζεται με τις επισημάνσεις EPA και DHA στις ετικέτες, διότι τα ω-3 είναι ιδιαίτερα επιρρεπή στην οξείδωση λόγω του μεγάλου αριθμού των διπλών δεσμών και τη θέση τους εντός της αλυσίδας των λιπαρών οξέων. Αυτό τα καθιστά επιρρεπή στην οξείδωση επειδή οι αλλυλικοί άνθρακες, αυτοί που είναι μεταξύ δυο διπλών δεσμών ατόμων άνθρακα, έχουν χαμηλή ενέργεια ενεργοποίησης για την απώλεια υδρογόνου και τον σχηματισμό ελεύθερων ριζών. Τα πολυακόρεστα ω-3 λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας έχουν περισσότερους από αυτούς τους ευάλωτους αλλυλικούς άνθρακες, συγκεκριμένα το EPA έχει 4 ενώ το DHA έχει 5, ενώ το α-λινολενικό οξύ έχει 2. Όσο αφορά τα ω-6 το αραχιδονικό οξύ έχει 3, σε αντίθεση με τα μονοακόρεστα και τα κορεσμένα λιπαρά οξέα που δεν έχουν κανένα. [66]

Με την παρουσία διάφορων εκκινητών, δημιουργείται μια ελεύθερη ρίζα όπου ξεκινάει μια σειρά αντιδράσεων όπου δημιουργούνται υπεροξείδια και περισσότερες ελεύθερες ρίζες σε σχέση με τα μη οξειδωμένα PUFAs. Μια πολύπλοκη σειρά διαφορετικών υπεροξειδίων προκύπτουν ανάλογα με τη θέση των οξειδωμένων ανθράκων, και αφού υποβληθεί σε ισομερισμό cis-trans και μετατόπιση διπλών δεσμών, παράγονται συζυγή διένια και τριένια με διαφορετική πολικότητα και σχήμα από το αρχικό λιπαρό οξύ. [67]

Τα υπεροξείδια λιπιδίων είναι ασταθή και αναδομούνται περαιτέρω σε δευτερογενή προϊόντα της οξείδωσης. Καθώς το έλαιο οξειδώνεται με την πάροδο

του χρόνου, υπάρχει μια αρχική εκθετική αύξηση στην συγκέντρωση των υπεροξειδίων. Αυτά αργότερα αποικοδομούνται και η συγκέντρωση των δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης αυξάνεται όσο τα υπεροξείδια των λιπιδίων μειώνονται. [66]

Στον δεύτερο μέρος τις συγκεκριμένης μελέτης έγινε έλεγχος του ρυθμού οξείδωσης των συμπληρωμάτων διατροφής. Από τα 10 δείγματα αναλύθηκαν τα 8, τα δυο αυτά δείγματα δεν ήταν εφικτό να αναλυθούν λόγω τις δομής της κάψουλας που περιείχε το ιχθυέλαιο. Τα περισσότερα δείγματα ήταν σημαντικά οξειδωμένα βάση των αναλύσεων που έγιναν (PV, AV, TOTOX). Συγκεκριμένα όσο αφορά τον αριθμό των υπεροξειδίων (PV) τα μισά δείγματα ήταν πάνω από το επιτρεπτό όριο, ενώ όσο αφορά την τιμή της ανισιδίνης (AV) μόνο ένα δείγμα ήταν πάνω από το επιτρεπτό όριο. Ενώ όσο αφορά τον ολικό αριθμό οξείδωσης (TOTOX) τρία από τα οχτώ δείγματα ήταν πάνω από το επιτρεπτό όριο.

Στα δείγματα που εξετάστηκαν οι εξωτερικές συνθήκες επίδρασης, δηλαδή άνοιγμα των συσκευασιών, και τοποθέτηση σε φωτεινό μέρος σε θερμοκρασία 20 – 25$^{O}$C για 28 ημέρες, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διακύμανση όσο αφορά την οξείδωση των δειγμάτων. Όμως όταν εξετάστηκε η επίδραση της θερμοκρασίας στους 37$^{O}$C και 47$^{O}$C για 28 ημέρες, τα δείγματα δεν οξειδώθηκαν σημαντικά στους 37$^{O}$C για το χρονικό διάστημα των 28 ημερών, ενώ αντίθετα στους 47$^{O}$C τα δείγματα (3$^{o}$ δείγμα) οξειδώθηκαν πάρα πολύ γρήγορα με αποτέλεσμά στις 20 ημέρες να καταστραφούν τελείως, συγκεκριμένα οι κάψουλες έλιωσαν και έγιναν μια ενιαία μάζα.

Ο ρυθμός οξείδωσης των λιπιδίων επηρεάζεται από την ακτινοβολία, την θερμότητα και την συγκέντρωση οξυγόνου ακόμη και σε κανονικές συνθήκες δωματίου. Ακόμα και ένα έλαιο αποθηκευμένο στο σκοτάδι στους 4$^{O}$C μπορεί να οξειδωθεί σε ένα μήνα από την αποθήκευση του.[68] Παρόλο που γίνεται προσθήκη αντιοξειδωτικών δεν εμποδίζουν πλήρως την οξείδωση των λιπαρών. Τα φωσφολιπίδια είναι πιο επιρρεπή σε οξείδωση σε σχέση με τα τριγλυκερίδια. [67]

Επειδή η υπεροξείδωση είναι μια επιταχυνόμενη αλυσιδωτή αντίδραση, οι μικρές συγκεντρώσεις υπεροξειδίων στο έλαιο, ή η έκθεση σε οξειδωτικές συνθήκες κατά την επεξεργασία έχει μεγάλη επίδραση στον ρυθμό οξείδωσης. Επιπλέον, για γίνει απομάκρυνση της μυρωδιάς των ψαριών συχνά η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει υψηλή θερμοκρασία η οποία μπορεί να επιταχύνει την οξείδωση.

Το έλαιο σε ένα συμπλήρωμα διατροφής μπορεί να διαφέρει σημαντικά από έλαιο ενός φρέσκου ψαριού ανάλογα με την ηλικία, την θερμότητα κα την έκθεση σε φως. Ο Albert et al, 2013 επισημαίνει ότι όλα αυτά έχουν ως αποτέλεσμα τα συμπληρώματα διατροφής να αποτελούνται από ένα σύνθετο μίγμα EPA, DHA και

άλλων λιπαρών οξέων, διάφορα πρόσθετα και ένα μίγμα μη καθορισμένης συγκέντρωσης τοξικών υπεροξειδίων και δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης.

Στην παρούσα μελέτη είναι εμφανείς η μεταβλητότητα των τιμών EPA και DHA που δηλώνονται στις ετικέτες των συμπληρωμάτων διατροφής και των τιμών αυτών που προσδιορίστηκαν αναλυτικά. Συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής παρουσιάζουν ότι όλα τα δείγματα ήταν μη συμμορφούμενα όσο αφορά την δηλωμένη ποσότητα των EPA και DHA, θα πρέπει λοιπόν να διασφαλιστεί από τις εταιρείες παραγωγής να συμβαδίζει η αναγραφόμενη ποσότητα με την πραγματική τιμή των λιπαρών οξέων που περιέχουν. Θα πρέπει δηλαδή να υπάρχουν διαδικασίες διασφάλισης της ποιότητα όπου τουλάχιστον τα συμπληρώματα να περιέχουν τουλάχιστον την αναγραφόμενη τιμή.

## 4.2 Σύγκριση αποτελεσμάτων με παγκόσμιες μελέτες

Σύμφωνα με τα κριτήρια ποιότητα του GOED για την οξειδωτική κατάσταση, τα όρια είναι:

- PV= max. 5 meq $O_2$/kg
- AV=max 20
- TOTOX= max 26

Στον Πίνακα 8 γίνεται σύγκριση της οξειδωτικής κατάστασης των δειγμάτων από διάφορες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε διάφορες χώρες.

**Πίνακας 8.** Σύγκριση μελετών για την οξειδωτική κατάσταση βάση των κριτήριων ποιότητας του GOED.

| ΜΕΛΕΤΗ | ΧΩΡΑ | ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ | PV≤ 5 | AV≤ 20 | TOTOX≤ 26 |
|---|---|---|---|---|---|
| **Αυτή η μελέτη** | ΕΛΛΑΔΑ | 8 | 50% | 13% | 38% |
| **Jackowski et al, 2015** | ΚΑΝΑΔΑΣ | 171 | 83% | N/A | N/A |
| **Fantoni et al, 1996** | ΒΡΑΖΙΛΙΑ | 16 | 63% | N/A | N/A |
| **Albert et al, 2005** | ΝΕΑ ΖΗΛΑΝΔΙΑ | 36 | 17% | 75% | 50% |
| **Bannenberg et, 2017** | ΝΕΑ ΖΗΛΑΝΔΙΑ | 47 | 72% | 86% | 77% |
| **Halvorsen & Blomhoff, 2010** | ΝΟΡΒΗΓΙΑ | 33 | 88% | N/A | N/A |
| **Kolanowski, 2010** | ΠΟΛΩΝΙΑ | 19 | 95% | N/A | N/A |
| **Opperman & Benade, 2013** | ΝΟΤΙΑ ΑΦΡΙΚΗ | 57 | 68% | N/A | N/A |
| **Ritter et al, 2012** | ΑΜΕΡΙΚΗ | 16 | 69% | N/A | N/A |

Σε όλες τις μελέτες που έχουν γίνει παρατηρούμε ότι τα επίπεδα για την οξείδωση των συμπληρωμάτων διατροφής είναι αρκετά υψηλά, ωστόσο η συγκεκριμένη έρευνα σε σχέση με τις υπόλοιπες εμφανίζει μικρή οξειδωτική κατάσταση σε σχέση με τα κριτήρια ποιότητας του GOED. Είναι φανερό ότι δεν υπάρχει καμία μελέτη που να μην υπάρχουν δείγματα τα οποία να μην είναι οξειδωμένα.

Προς το παρόν δεν υπάρχει συναίνεση για τις συνιστώμενες προσλήψεις των ω-3 λιπαρών οξέων. Στους Πίνακες 9 και 10 παρουσιάζονται διάφορες συστάσεις για την προτεινόμενη πρόσληψη από διάφορους οργανισμούς. Σκοπός αυτών των συστάσεων είναι η μείωση των κινδύνων για την στεφανιαία νόσο και τη μείωση των επιπέδων τριγλυκεριδίων στο αίμα. Επιπλέον έχουν προταθεί και ιδιαίτερες συστάσεις για τις εγκύους, τα βρέφη, του χορτοφάγους και τους vegan. [76]

Ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) και η Αμερικάνικη Εταιρεία Καρδιολογίας (American Heart Association) συνιστούν για το γενικό πληθυσμό τη λήψη 250-500mg EPA και DHA ημερησίως, ποσότητα η οποία μπορεί να ληφθεί από 1-2 μερίδες λιπαρών ψαριών την εβδομάδα. Η Ευρωπαϊκή Καρδιολογική Εταιρεία συνιστά τη λήψη 500mg ιχθυελαίου/ημέρα για όσους κάνουν διατροφή φτωχή σε ψάρια. Σε ειδικούς πληθυσμούς, οι συστάσεις ενδέχεται να διαφέρουν σε κάποιο βαθμό ανάλογα τη χώρα και τον οργανισμό που κάνει τη σύσταση. Παραδείγματος χάρη, σε εγκυμονούσες και θηλάζουσες γυναίκες συχνά συστήνονται επιπλέον 200mg DHA ημερησίως, ενώ σε ασθενείς του καρδειαγγειακού συστήματος συχνά συστήνονται τουλάχιστον 1000mg/ημέρα πολυακόρεστων λιπαρών μακράς αλυσίδας ως δευτερεύουσα αγωγή.

Παρατηρείται ότι οι συνιστώμενες προσλήψεις ω-3 λιπαρών οξέων διαφέρουν από χώρα σε χώρα και κυμαίνονται μεταξύ 1 και 2% της συνολικής ημερήσιας ενεργειακής πρόσληψης. Ενώ οι συνιστώμενες προσλήψεις για το ALA είναι 0,8 έως 2g ανά ημέρα ή 0,2 έως >1 % της προσλαμβανόμενης ενέργειας.

**Πίνακας 9.** Συνιστώμενη πρόσληψη EPA και DHA. [77]

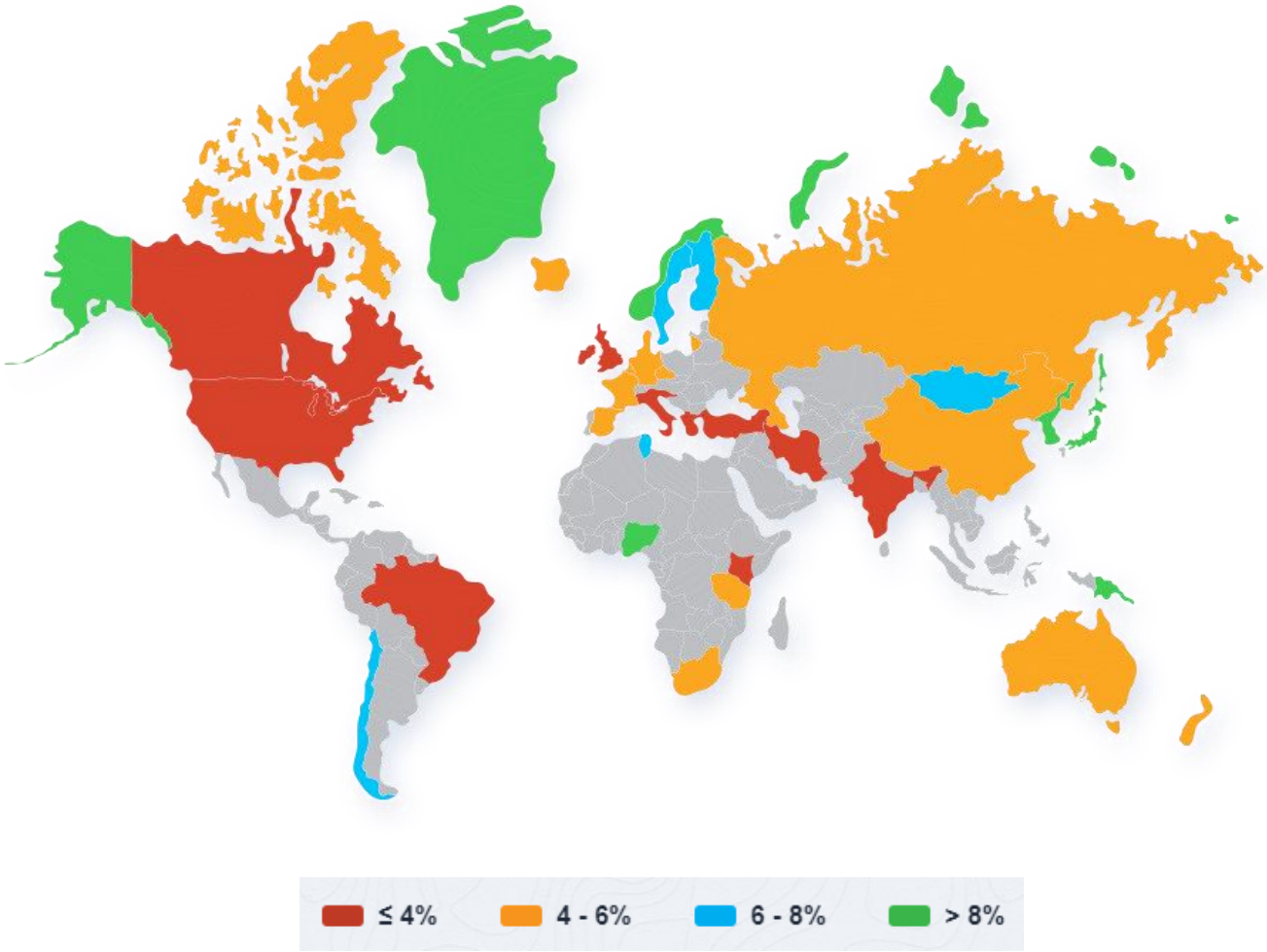
| ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ | ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ | ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ EPA - DHA |
|---|---|---|
| **Academy of Nutrition and Dietetics** | Ενήλικες | ≥500 mg/ημέρα |
| **American Heart Association** | Ενήλικες χωρίς CHD | Λιπαρά ψάρια ≥2 φορές/εβδομάδα (~500 mg/ημέρα) |
| | Ασθενείς με CHD | ~1 g/ημέρα |
| | Ασθενείς με υψηλά τριγλυκερίδια | 2–4 g/ημέρα |
| **US Department of Agriculture** | Ενήλικες | ≥250 mg/ημέρα |
| **International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids** | Ενήλικες | ≥500 mg/ημέρα |
| | Έγκυες / θηλάζουσες γυναίκες | ≥500 mg/ημέρα (≥300 mg/ημέρα από DHA) |
| **European Food Safety Agency** | Ενήλικες | ≥250 mg/ημέρα |
| | Έγκυες / θηλάζουσες γυναίκες | ≥250 mg/ημέρα ( 100–200 mg/ημέρα DHA) |
| **World Health Organization** | Ενήλικες | ≥250 mg/ημέρα |

**Πίνακας 10.** Συνιστώμενη Διαιτητική Πρόσληψη για ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα από εθνικούς και διεθνείς οργανισμούς για τους ενήλικες[1]. [78]

| ΕΘΝΙΚΟΙ / ΔΙΕΘΝΕΙΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ | Ω-3 | | ALA | | EPA + DHA[2] | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | % της ενέργειας | g/ημέρα | % της ενέργειας | g/ημέρα | % της ενέργειας | mg/ημέρα |
| (WHO/FAO, 2003) | 1-2 | - | - | - | - | 200-1000/εβομάδα |
| United Kingdom, (DoH, 1991, 1994) | - | - | >0.2 | - | - | **200** |
| (SACN, 2004) | - | - | - | - | - | **450** |
| (Eurodiet, 2000) | - | - | - | 2 | - | 200 |
| Belgium, Superior Health Council (CSS, 2009; SHC, 2004) | 1.3-2.0 | - | >1 | - | ≥0.3 | |
| Australia, (Ministry of Health-Department of Health and Ageing - National Health and Medical Research Council, 2006) | | | | | | |
| Ενήλικες άντρες | - | - | - | 1.3 | - | **610**[3] |
| Ενήλικες γυναίκες | - | - | - | 0.8 | - | **430**[3] |
| Έγκυες | - | - | - | 1.0 | - | **115**[4] |
| Θηλάζουσες | - | - | - | 1.2 | - | **145**[4] |
| The Netherlands, (Health Council, 2001, 2006) | - | - | 1 | - | **-** | **450** |
| Nordic Countries, (NNR, 2004) | ≥1 | - | - | - | - | - |
| France, (ANSES, 2010) | | | 1 | | | 500 (250 DHA) |
| USA, (IoM, 2005) | | | | | | |
| Ενήλικες άντρες | - | - | - | 1.6 | - | - |
| Ενήλικες γυναίκες | - | - | - | 1.1 | - | - |
| Έγκυες | - | - | - | 1.4 | - | - |
| Θηλάζουσες | - | - | - | 1.3 | - | - |
| Germany, Austria, Switzerland, (D-A-CH, 2012) | - | - | 0.5 | - | - | - |
| Έγκυες | - | - | - | - | - | 200 (DHA) |
| Θηλάζουσες | - | - | - | - | - | 200 (DHA) |
| (EFSA Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies (NDA), 2010) Έγκυες και Θηλάζουσες | | | 0.5 | | | 250 +100-200 DHA) |

[1]Οι τιμές για την εγκυμοσύνη και τη γαλουχία αναφέρονται μόνο εάν διαφέρουν από εκείνες για τις ενήλικες γυναίκες. [2]Οι τιμές με έντονους χαρακτήρες αναφέρονται στα ω-3 (EPA, DHA και DPA). [3]Προτεινόμενος διατροφικός στόχος. [4]Επαρκείς προσλήψεις.

Οι Spark et al το 2016, επεξεργάστηκαν 298 μελέτες οι οποίες είχαν πραγματοποιηθεί από 1980 έως 2016. Οι μελέτες αυτές αναφέρουν τις συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων σε διάφορα κλάσματα του αίματος. Τα δεδομένα των λιπαρών οξέων από κάθε κλάσμα αίματος μετατράπηκαν σε σχετικά ποσοστά βάρους (% κ.β.) και στη συνέχεια ανατέθηκαν σε μία από τις τέσσερις διακριτές περιοχές (υψηλή, μέτρια, χαμηλή, πολύ χαμηλή) που αντιστοιχούσαν σε % κατά βάρος EPA και DHA σε ισοδύναμα ερυθροκυττάρων.




**Σχήμα 24.** Παγκόσμιος χάρτης παρουσιάζει τα επίπεδα των EPA και DHA στο αίμα ανά χώρα.

Τα επίπεδα αίματος των EPA και DHA είναι μεταβλητά ανά τον κόσμο, με τις περισσότερες περιοχές που εξετάστηκαν να εμφανίζουν χαμηλά έως πολύ χαμηλα επίπεδα (Σχήμα 24). Οι περιφέρειες με υψηλά επίπεδα στο αίμα EPA + DHA (> 8%) περιλάμβαναν τη Θάλασσα της Ιαπωνίας, τη Σκανδιναβία και περιοχές με αυτόχθονους πληθυσμούς ή πληθυσμούς που δεν ήταν πλήρως προσαρμοσμένοι στις δυτικές διατροφικές συνήθειες. Πολύ χαμηλά επίπεδα στο αίμα (≤4%) παρατηρήθηκαν στη Βόρεια Αμερική, την Κεντρική και Νότια Αμερική, την Ευρώπη, τη Μέση Ανατολή, τη Νοτιοανατολική Ασία και την Αφρική.

Για το μεγαλύτερο μέρος του πλανήτη παρατηρούνται χαμηλά έως και πολύ χαμηλά επίπεδα EPA και DHA στο αίμα, το οποίο έχεις ως συνέπια το μεγαλύτερο μέρος του πλανήτη να συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο θνησιμότητας. Το 24% των Ευρωπαίων ηλικίας 55 και άνω θεωρείται ότι κινδυνεύει να αντιμετωπίσει καρδιαγγειακά νοσήματα, ενώ το 40% του πληθυσμού των ΗΠΑ προβλέπεται, μέχρι το 2030, να έχει κάποια μορφή καρδιαγγειακής νόσου. [79]

# Βιβλιογραφία

[1] Food and Agriculture Organization of the United Nations (2010). Fats and fatty acids in human nutrition: Report of an expert consultation. *FAO Food and Nutrition Paper*, **91**, 1-166.

[2] Rustan A. & Drevon C. (2005). Fatty acids: Structures and properties. Enyclopedia of Life Sciences, John Wiley & Sons 1-7.

[3] Valenzuela R. & Valenzuela A. (2013). Overview about lipid structure. *Lipid Metabolism*, INTECH, 3-20.

[4] WilliamsC. (2000). Dietary fatty acids and human health. *Annales de Zootech*, **49**, 165-180.

[5] Simopoulos A. (1999). Essential fatty acids in health and chronic disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **70**, 560S-569S.

[6] Zambonin L., Ferreri C., Cabrini L., Prata C., Chatgilialoglu C. & Land L., (2006). Occurrence of trans fatty acids in rats fed a trans-free diet: a free radical-mediated formation?. *Free* Radical *Biology* and *Medicine*, **40**, 1549-1556.

[7] Raffaele C. (2011). n–3 Fatty acids in cardiovascular disease. *The New England Journal of Medicine*, **25**, 2439-2450.

[8] Breslow J. (2006). n–3 fatty Acids and cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **83**, 1477S-1482S.

[9] Hooper L., Thompson R. , Harrison R., Summerbell C., Ness A., Moore H.,Worthington H., Durrington P., Higgins J., Capps N., Riemersma R., Ebrahim S. & Smith G. (2006). Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovasculardisease, and cancer: systematic review. *The British Medical Journal,* **332**, 752–760.

[10] Simopoulos A. (2006). Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratioand genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapy,* **60**, 502-507.

[11] Grosso G., Galvano F., Marventano S., Malaguarnera M., Bucolo C., Drago F. & Caraci F. (2014). Omega-3 fatty acids and depression: Scientific evidence and biological mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2014**, 1-16.

[12] Lin P. & Su K., (2007). A meta-analytic review of double-blind, placebo-controlled trials of antidepressant efficacy of omega-3 fatty acids. *Journal of Clinical Psychiatry*, **68**, 1056-1061.

[13] Mozaffari-Khosravi H., Yassini-Ardakani M., Karamati M. & Shariati-Bafghi S. (2013). Eicosapentaenoic acid versus docosahexaenoic acid in

mild-to-moderate depression: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *European Neuropsychopharmacology*, **23**, 636-644.

[14] SanGiovanni J. & Chew E. (2005). The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. *Progress in Retinal and Eye Research*, **24**, 87-138.

[15] Merle B., Benlian P., Puche N., Bassols A., Delcourt C. & Souied E. (2014). Circulating omega-3 Fatty acids and neovascular age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **55**, 2010-2019.

[16] Gillies D., Sinn J., Lad S., Leach M. & Ross M. (2012). Polyunsaturated fatty acids (PUFA) for attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in children and adolescents. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, **11**, 1-74.

[17] Bloch M. & Qawasmi A. (2011). Omega-3 fatty acid supplementation for the treatment of children with attention-deficit/hyperactivity disorder symptomatology: systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, **50**, 991-1000.

[18] Bélanger S., Vanasse M., Spahis S., Sylvestre M., Lippé S., L'heureux F., Ghadirian P., Vanasse C. & Levy E. (2009). Omega-3 fatty acid treatment of children with attention-deficit hyperactivity disorder: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Paediatrics and Child Health*, **14**, 89-98.

[19] Calder P. (2006). n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **83**, 1505S-1519S.

[20] Simopoulos A. (2002). Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *Journal of the American College of Nutrition*, **21**, 495-505.

[21] Stene L. & Joner G. (2003). Use of cod liver oil during the first year of life is associated with lower risk of childhood-onset type 1 diabetes: a large, population-based, case-control study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **78**, 1128-1134.

[22] Löfvenborg J., Andersson T., Carlsson P., Dorkhan M., Groop L., Martinell M., Tuomi T., Wolk A. & Carlsson S. (2014). Fatty fish consumption and risk of latent autoimmune diabetes in adults. *Nutrition & Diabetes*, **4**, 1-6.

[23] Hoare S., Lithander F., Mei I., Ponsonby A. & Lucas R. (2016). Higher intake of omega-3 polyunsaturated fatty acids is associated with a decreased risk of a first clinical diagnosis of central nervous system demyelination: Results from the Ausimmune Study. *Multiple Sclerosis Journal*, **22**, 884-892.

[24] Duffy E., Meenagh G., McMillan S., Strain J., Hannigan B. & Bell A. (2004). The clinical effect of dietary supplementation with omega-3 fish oils and/or copper in systemic lupus erythematosus. *The Journal of Rheumatology*, **31**, 1551-1556.

[25] Papadia C., Coruzzi A., Montana C., Di Mario F., Franzè A & Forbes A. (2010). Omega-3 fatty acids in the maintenance of ulcerative colitis. *JRSM Short Report*, **1**, 1-15.

[26] Berbert A., Kondo C., Almendra C., Matsuo T & Dichi I. (2005). Supplementation of fish oil and olive oil in patients with rheumatoid arthritis. *Nutrition*, **21**, 131-136.

[27] Balbás G., Regaña M. & Millet P. (2011). Study on the use of omega-3 fatty acids as a therapeutic supplement in treatment of psoriasis. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, **4**, 73-77.

[28] Balanzá-Martínez V., Fries G., Colpo G., Silveira P., Portella A., Tabarés-Seisdedos R. & Kapczinski F. (2011). Therapeutic use of omega-3 fatty acids in bipolar disorder. *Expert Review of Neurotherapeutics*, **11**, 1029-1047.

[29] Peet M. & Stokes C. (2005). Omega-3 fatty acids in the treatment of psychiatric disorders. *Drugs*, **65**, 1051-1059.

[30] Fotuhi M., Mohassel P. & Yaffe K. (2009). Fish consumption, long-chain omega-3 fatty acids and risk of cognitive decline or Alzheimer disease: a complex association. *Nature Clinical Practice Neurology*, **5**, 140-152.

[31] Cole G., Ma Q. & Frautschy S. (2009). Omega-3 fatty acids and dementia. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, **81**, 213-221.

[32] Mohajeri M., Troesch B. & Weber P. (2015). Inadequate supply of vitamins and DHA in the elderly: implications for brain aging and Alzheimer-type dementia. *Nutrition*, **31**, 261-275.

[33] Raji C., Erickson K., Lopez O., Kuller L., Gach H., Thompson P., Riverol M & Becker J. (2014). Regular fish consumption and age-related brain gray matter loss. *American Journal of Preventive Medicine*, **47**, 444-451.

[34] Theodoratou E., McNeill G., Cetnarskyj R., Farrington S., Tenesa A., Barnetson R., Porteous M., Dunlop M. & Campbell H. (2007). Dietary fatty acids and colorectal cancer: a case-control study. *American Journal of Epidemiology*, **166**, 181-195.

[35] Zhong X., Fang Y., Pan Z., Li B., Wang L., Zheng M., Chen Y. & Zhang C. (2013). Dietary fat, fatty acid intakes and colorectal cancer risk in Chinese adults: a case-control study. *European Journal of Cancer Prevention*, **22**, 438-47.

[36] Huan Y., Pengcheng X. & Ka H. (2013). Fish and Fish Oil Intake in Relation to Risk of Asthma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*, **8**, 1-9.

[37] Li J., Xun P., Zamora D., Sood A., Liu K., Daviglus M., Iribarren C., Jacobs D., Shikany J., & He K. (2013). Intakes of long-chain omega-3 (n−3) PUFAs and fish in relation to incidence of asthma among American young adults: the CARDIA study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **97**, 181–186.

[38] Bouzianas D., Bouziana S. & Hatzitolios A. (2013). Potential treatment of human nonalcoholic fatty liver disease with long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Nutrition Reviews*, **71**, 753-771.

[39] Parker H., Johnson N., Burdon C., Cohn J., O'Connor H. & George J. (2012). Omega-3 supplementation and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Hepatology*, **56**, 944-951.

[40] Kruger M. & Horrobin D. (1997). Calcium metabolism, osteoporosis and essential fatty acids: a review. *Progress in Lipid Research*, **36**, 131-151.

[41] Kruger M., Coetzer H., Winter R., Gericke G. & Papendorp D. (1998). Calcium, gamma-linolenic acid and eicosapentaenoic acid supplementation in senile osteoporosis. *Aging*, **10**, 385-394.

[42] Danao-Camara T. & Shintani T. (1999). The dietary treatment of inflammatory arthritis: case reports and review of the literature. *Hawaii Medical Journal*, **58**, 126-131.

[43] Deutch B. (1995). Menstrual pain in Danish women correlated with low n-3 polyunsaturated fatty acid intake. *European Journal of Clinical Nutrition*, **49**, 508-516.

[44] Montgomery P., Burton J., Sewell R., Spreckelsen T. & Richardson A. (2014). Fatty acids and sleep in UK children: subjective and pilot objective sleep results from the DOLAB study-a randomized controlled trial. *Journal of Sleep Research*, **23**, 364-388.

[45] Hansen A., Dahl L., Olson G., Thornton D., Graff I., Frøyland L., Thayer J. & Pallesen S. (2014). Fish consumption, sleep, daily functioning, and heart rate variability. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, **10**, 567–575.

[46] Ladesich J., Pottala J., Romaker A. & Harris W. (2011). Membrane level of omega-3 docosahexaenoic acid is associated with severity of obstructive sleep apnea. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, **7**, 391-396.

[47] Spencer E., Ferdowsian H. & Barnard N. (2009). Diet and acne: a review of the evidence. *International Journal of Dermatology*, **48**, 339-347.

[48] McCusker M. & Grant-Kels J. (2010). Healing fats of the skin: the structural and immunologic roles of the ω-6 and ω-3 fatty acids. *Clinics in Dermatology*, **28**, 440–451.

[49] Mozaffarian D. & Rimm E. (2006). Fish intake, contaminants, and human health: Evaluating the risks and the benefits. *Journal of the American Medical Association*, **296**, 1885-1899.

[50] Innis S., Palaty J., Vaghri Z. & Lockitch G. (2006). Increased levels of mercury associated with high fish intakes among children from Vancouver, Canada. *Journal of Pediatrics*, **148**, 759-763.

[51] What You Need to Know About Mercury in Fish and Shellfish. Washington, *DC: Food and Drug Administration, Environmental Protection Agency*. 2004 Publication No. EPA-823-R-04-005.

[52] Foran S., Flood J. & Lewandrowski K. (2003). Measurement of mercury levels in concentrated over-the-counter fish oil preparations: Is fish oil healthier than fish? *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **127**, 1603-1605.

[53] Harris W. (2007). Expert opinion: Omega-3 fatty acids and bleeding—Cause for concern? *American Journal of Cardiology*, **99**, 44C-46C.

[54] Gurr M. (1999). Lipids in nutrition and health: A reappraisal. *PJ Barnes & Associates*, **3**, 97 – 118.

[55] Shahidi F., & Zhong Y. (2005). Lipid Oxidation: Measurment Methods. Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 357-385.

[56] Barriuso B., Astiasarán I. & Ansorena D. (2013). A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. *European Food Research and Technology*, **236**, 1-15.

[57] Ottestad I., Vogt G., Retterstøl K., Myhrstad M., Haugen J., Nilsson A., Ravn-Haren G., Nordvi B., Brønner K., Andersen L., Holven K. & Ulven S. (2012). Oxidised fish oil does not influence established markers of oxidative stress in healthy human subjects: a randomised controlled trial. *British Journal of Nutrition*, **108**, 315-326.

[58] Ottestad I., Retterstøl K., Myhrstad M., Andersen L., Vogt G., Nilsson A., Borge G., Nordvi B., Brønner K., Ulven S. & Holven K. (2013). Intake of oxidised fish oil does not affect circulating levels of oxidised LDL or inflammatory markers in healthy subjects. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, **23**, e3-4.

[59] Sudipta C. & Zaher J. (2016). Microencapsulation of fish oil. *Lipid Technology*, **28**, 13-15.

[60] Fakir A., Gadhave A. & Waghmare J. (2015). A review on a microencapsulation of fish oil to improve oxidative stability. *Asian Journal of Science and Technology*, **6**, 1197-1204.

[61] Fahim Tamzeedul K., Kashif G., Sahena F., Fahad A., Eaqub A., Kamaruzzaman B., Mir H., Ashraful I., Mohammad A. & Zaidul I. (2017). Microencapsulation of fish oil using supercritical antisolvent process. *Journal of Food and Drug Analysis*, **3**, 1-13.

[62] Kleiner A., Cladis D. Cabrini L. & Santerre C. (2015). A comparison of actual versus stated label amounts of EPA and DHA in commercial omega-3 dietary supplements in the United States. *Journal of Science of Food and Agriculture*, **95**, 1260-1267.

[63] Gorjao R., Azevedo-Martins A.,Rodrigues H., Abdulkader F., Arcisio M., Procopio J. & Curi R (2009). Comparative effects of DHA and EPA on cell function. *Pharmacology and Therapeutics*,**122**, 56–64.

[65] Kris-Etherton P. & Hill A (2008). N-3 fatty acids: food or supplements. *Journal of the American Dietetic Association,***108**, 1125–1130.

[65] Mori T. & Woodman R. (2006). The independent effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on cardiovascular risk factors in humans. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, **9**, 95–104.

[66] Albert B., Cameron-Smith D., Hofman P. & Cutfield W. (2013). Oxidation of marine omega-3 supplements and human health. *BioMed Research International*, **2013**, 1-8.

[67] Shahidi F. & ZhongY. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews*, **39**, 4067–4079.

[68] Pak C. (2005). Stability and quality of fish oil during typical domestic application. United Nations University, Reykjavik, Iceland. http://www.unuftp.is/static/fellows/document/pak05prf.pdf

[69] Bannenberg G., Mallon C., Edwards H., Yeadon D., Yan K., Johnson H. & Ismail A. (2017). Omega-3 long chain polyunsaturated fatty acid content and oxidation state of fish oil supplements in New Zealand. *Nature*, **1488**, 1-13.

[70] Jackowski S., Alvi A., Mirajkar A., Imani Z., Gamalevych J, Shaikh N. & Jackowski G. (2015). Oxidation levels of North American over-the-counter n-3 (omega-3) supplements and the influence of supplement formulation and delivery form on evaluating oxidative safety. *Journal of Nutritional Science*, **4**, 1-10.

[71] Fantoni C., Cuccio A. & Barrera-Arellano D. (1996). Brazilian encapsulated fish oils: Oxidative stability and fatty acid composition. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **73**, 251-253.

[72] Halvorsen B. & Blomhoff R. (2010). Determination of lipid oxidation products in vegetable oils and marine omega-3 supplements. *Food & Nutrition Research*, **55**, 1-13.

[73] Kolanowski W. (2010). Omega-3 LC PUFA contents and oxidative stability of encapsulated fish oil dietary supplements. *International Journal of Food Properties*, **13**, 498-511.

[74] Opperman M. & Benade S. (2013). Analysis of the omega-3 fatty acid content of South African fish oil supplements: a follow-up study. *Cardiovascular Journal of Africa*, **24**, 297–302.

[75] Ritter J., Budge S. & Jovica F. (2012). Quality analysis of commercial fish oil preparations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **93**, 1935–1939.

[76] Kris-Etherton P. & Innis S. (2007). Position of the American Dietetic Association and Dietitians of Canada: dietary fatty acids. *Journal of the American Dietetic Association*, **107**, 1599-1611.

[77] Flock R., Harris W. & Kris-Etherton P. (2013). Long-chain omega-3 fatty acids: time to establish a dietary reference intake. *Nutrition Reviews*, **71**, 692-707.

[78] EFSA (2010). Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*, **8** (3), 1461.

[79] Stark K., Elswyk M., Higgins M., Weatherford C. & Salem N. (2016). Global survey of the omega-3 fatty acids, docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid in the blood stream of healthy adults. *Progress in Lipid Research*, **63**, 132-52.