



Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας

**«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ  
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΜΕ ΤΟΝ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΤΩΝ *INVITRO*  
ΤΕΧΝΙΚΩΝ DPPH, ABTS, REDUCINGPOWER ΚΑΙ  
ΡΙΖΑΣ ΥΔΡΟΞΥΛΙΟΥ»**

Γεώργιος Κωνσταντίνος Φραγγόπουλος,

Πτυχιακή Εργασία Λάρισα, 2021

*“Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης τροφίμων με τον συνδυασμό των in vitro τεχνικών DPPH, ABTS, Reducing Power και Ρίζας Υδροξυλίου.”*

*“Study of antioxidant potential combining the in vitro methods DPPH, ABTS, Reducing Power and Hydroxyl Radical”*

## Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή

**Κουρέτας Δημήτριος (επιβλέπων):** Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών Τοξικολογίας, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**Βεσκούκης Αριστείδης:** Επίκουρος Καθηγητής στην Οξειδοαναγωγική Βιολογία της Διατροφής και της Άσκησης, Τμήμα Διαιτολογίας και Διατροφολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**Χαρουτουγιάν Σέρκος:** Καθηγητής Χημείας Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθήνας

## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κύριο Κουρέτα για την πολύ σημαντική ευκαιρία που μου έδωσε με την εκπόνηση της συγκεκριμένης πτυχιακής εργασίας στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Βεσκούκη Αριστείδη και τον κύριο Χαρουτουγιάν Σέρκο για την παρουσία τους στην τριμελή συμβουλευτική επιτροπή.

Ένα ιδιαίτερο ευχαριστώ στην Πατούνα Αναστασία που με τις γνώσεις της, τη διάθεση της και την υπομονή της με καθοδήγησε καθ'όλη τη διάρκεια της πτυχιακής εργασίας αλλά και στα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου που βοήθησαν όποτε χρειάστηκε.

Τέλος ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια μου για την στήριξη και την πίστη τους σε μένα καθ'όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

## Πίνακας περιεχομένων

### Περιεχόμενα

«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ .....	1
Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή .....	3
Ευχαριστίες .....	4
Περίληψη .....	10
Abstract .....	11
1. Εισαγωγή.....	12
Όσπρια .....	13
Φασόλια .....	16
Ρεβίθια .....	17
Φακή.....	19
Γάλα .....	21
Τσάι του βουνού.....	22
Αναψυκτικά τύπου Cola .....	23
Ελεύθερες ρίζες.....	25
Δράση ελευθέρων ριζών.....	26
Οξειδωτικό στρες .....	27
Αντιοξειδωτικά .....	28
Πολυφαινόλες .....	29
2. Σκοπός .....	30
3. Υλικά και μέθοδοι .....	31
4. Αποτελέσματα .....	38
5. Συζήτηση .....	52
6. Βιβλιογραφία .....	60

## Πίνακας Εικόνων

Εικόνα 1: Αθήνα-ελιά 6 <sup>ος</sup> αιώναςπ.Χ.....	12
Εικόνα 2:Φασολιά( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) .....	17
Εικόνα 3: Καρπός φασολιού.....	17
Εικόνα 4: Φυτό Desi ρεβίθι .....	18
Εικόνα 5: Φυτό Kabulí ρεβίθι.....	18
Εικόνα 7: Φυτό Φακής ( <i>Lens culinaris</i> ).....	19
Εικόνα 8: Τσάι του βουνού( <i>Sideritis scardica</i> ) .....	22
Εικόνα 9: Εξωγενείς πηγές ελευθέρων ριζών.....	26
Εικόνα 10: Εξέλιξη υγιούς κυττάρου σε κύτταρο που έχει υποστεί οξειδωτικό στρες	28
Εικόνα 11:Δράση αντιοξειδωτικού .....	28
Εικόνα 12:Κατηγορίες πολυφαινολών .....	29
Εικόνα 13: Αντίδραση με ρίζα DPPH•.....	33
Εικόνα 14: Σχηματισμός ρίζας ABTS και προσθήκη αντιοξειδωτικού παράγοντα ....	34

## Κατάλογος διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας οσπρίων μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

Διάγραμμα 2: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας γάλακτος μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

Διάγραμμα 3: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυτικού γάλακτος μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

Διάγραμμα 4: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας τσαγιού του βουνού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

Διάγραμμα 5: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας αναψυκτικών τύπου Cola μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

Διάγραμμα 7: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας γάλατος μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

Διάγραμμα 8: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυτικού γάλατος μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

Διάγραμμα 9: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας τσαγιού του βουνού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

Διάγραμμα 10: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας αναψυκτικών τύπου Cola μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

Διάγραμμα 11: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας οσπρίων μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας OH\*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC50±SD

Διάγραμμα 12: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας γάλακτος μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας OH\*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC50±SD

Διάγραμμα 13: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυτικού γάλακτος μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας OH\*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC50±SD

Διάγραμμα 14: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας τσαγιού του βουνού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας OH\*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC50±SD



Διάγραμμα 15: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας αναψυκτικών τύπου Cola μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας OH\*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC50±SD.

Διάγραμμα 16: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας οσπρίων μέσω προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε AU0,5±SD

Διάγραμμα 17: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας γάλακτος μέσω προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε AU0,5±SD

Διάγραμμα 18: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυτικού γάλακτος μέσω προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε AU0,5±SD

Διάγραμμα 19: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας τσαγιού του βουνού μέσω προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε AU0,5±SD

Διάγραμμα 20: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας αναψυκτικών τύπου κόλα μέσω προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε AU0,5±SD

## Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1: Κατανάλωση οσπρίων στην Ευρώπη .....	13
Πίνακας 2: Ποσότητες θρεπτικών συστατικών ανά 100g βραστών οσπρίων .....	14
Πίνακας 3: Μέση σύσταση γάλακτος ανάμεσα σε θηλαστικά(%) .....	22
Πίνακας 4: Δραστικές μορφές οξυγόνου(ROS).....	25
Πίνακας 5: Κατηγορίες αντιοξειδωτικών .....	29
Πίνακας 6: Συνολικά αποτελέσματα οσπρίων.....	52
Πίνακας 7: Συνολικά αποτελέσματα γαλακτοκομικών, τσάι και αναψυκτικού τύπου Cola	53

## Περίληψη

Η Μεσογειακή διατροφή αποτελεί ένα ισορροπημένο τρόπο διατροφής με διάφορα είδη τροφίμων που οδηγούν στη βελτίωση της υγείας, στη μείωση χρόνιων προβλημάτων και στην αύξηση του προσδόκιμου ζωής. Τα όσπρια αποτελούν βασικό κομμάτι της διατροφής αυτής καθώς είναι σημαντική πηγή πρωτεϊνών, βιταμινών, μετάλλων και αντιοξειδωτικών. Τα συνηθέστερα όσπρια που καταναλώνονται σε καθημερινή βάση είναι τα φασόλια, οι φακές και τα ρεβίθια. Εκτός των οσπρίων, στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν ακόμα γάλα, τσάι του βουνού και αναψυκτικά τύπου Cola, ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, την ικανότητα δηλαδή να αναστείλουν τη δράση των ελευθέρων ριζών.

Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των προαναφερθέντων προϊόντων μέσω της αλληλεπίδρασης τους με ελεύθερες ρίζες. Για να γίνει αυτό χρησιμοποιήθηκαν συγκεκριμένες μέθοδοι και ειδικότερα, αυτές των DPPH, ABTS, Hydroxyl Radical και Reducing Power.

Στα αποτελέσματα παρατηρήθηκε σημαντική αντιοξειδωτική ικανότητα της φακής και των φασολιών, σε υψηλότερο βαθμό από τα ρεβίθια. Τα γαλακτοκομικά παρουσίασαν παρόμοια διαβάθμιση της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας ενώ από τα φυτικά γαλακτοκομικά τα σοκολατούχο σόγιας και σοκολατούχο αμυγδάλου εμφάνισαν ισχυρότερη δράση. Τα είδη του τσαγιού εμφάνισαν επίσης παρόμοια αντιοξειδωτική ικανότητα. Τέλος, από τα αναψυκτικά τύπου Cola, η κλασική Cola φαίνεται να υπερτερεί.

## Abstract

Mediterranean diet constitutes a balanced way of diet with a variety of food that provide improvement of health, reducing chronic diseases and increase life expectancy. Legumes are crucial part of this diet because they provide proteins, vitamins, minerals and antioxidants. The most usual consumed legumes on a daily basis are beans, lentils and chickpeas. Besides legumes, milk, mountain tea and type Cola beverage were also studied in this project for their antioxidant capacity, the ability to inhibit the action of free radicals.

In order to determine the antioxidant capacity of these products, through interaction with freeradicals. The following methods were used: DPPH, ABTS, Hydroxyl Radical and Reducing Power.

In the results, there was an observation of a better antioxidant ability of lentils and beans compared to chickpeas. Milk products presented similar gradation of antioxidant capacity while in plant milk, soy chocolate and chocolate almond presented higher action. The types of mountain tea presented also similar gradation of antioxidant capacity. Finally, among Cola types, classic Cola seems to surpass the other ones.

## 1. Εισαγωγή

Οι παραδοσιακές διατροφικές συνήθειες αρχαίων πολιτισμών που αναπτύχθηκαν γύρω από την περιοχή της Μεσογείου διακρίνονται για μερικά κοινά βασικά χαρακτηριστικά που όλα μαζί σχηματίζουν έναν ισορροπημένο και υγιεινό τρόπο διατροφής, τη Μεσογειακή διατροφή. Ο συγκεκριμένος τρόπος διατροφής περιλαμβάνει συχνή κατανάλωση λαχανικών, φρούτων, δημητριακών, ξηρών καρπών και οσπρίων συνδυασμένα με ελαιόλαδο, συγκεκριμένη ποσότητα ψαριών και άλλων θαλασσινών ή γαλακτοκομικών με περιορισμένη ποσότητα κρέατος. Η Μεσογειακή διατροφή έχει συσχετιστεί με τη βελτίωση της υγείας και τη διατήρηση των ποσοστών χρόνιων ασθενειών σε χαμηλά επίπεδα, με παράλληλη αύξηση του προσδόκιμου ζωής(1).

Η Μεσογειακή διατροφή αναπτύχθηκε στην λεκάνη της Μεσογείου και χρησιμοποιείται για να περιγράψει κυρίως τον τρόπο διατροφής των Ελλήνων αλλά και των κατοίκων της Νότιας Ιταλίας. Ωστόσο, με το πέρασμα των χρόνων, ενσωμάτωσε μερικά διατροφικά χαρακτηριστικά λαών από την Εγγύς Ανατολή, και πιο συγκεκριμένα από τον Περσικό Κόλπο και τη Βόρεια Αίγυπτο. Ένα σημαντικό



ιστορικό χαρακτηριστικό στοιχείο σύνδεσης της Μεσογειακής διατροφής με την Ελλάδα αποτελεί η ελιά, καθώς ένα κλαδί ελιάς αποτελούσε το σύμβολο της πόλης-κράτους Αθήνας(1).

**Εικόνα 1: Αθήνα-ελιά 6<sup>ος</sup> αιώνας π.Χ.**

Στον 21<sup>ο</sup> αιώνα η παραδοσιακή Μεσογειακή διατροφή έχει σαφώς επηρεαστεί από την παγκοσμιοποίηση με αποτέλεσμα την ανταλλαγή και τον συνδυασμό γεωργικών προϊόντων, συνταγών, τεχνολογιών και διαφημίσεων. Όλα αυτά οδήγησαν στην διαφοροποίηση της κλασσικής έννοιας της Μεσογειακής διατροφής καθώς, πλέον, καθοδηγείται από ισχυρή οικονομική δύναμη που επεμβαίνει όχι μόνο στη διατροφή αλλά και συνολικά στον τρόπο ζωής του σύγχρονου ανθρώπου. Επιπλέον, η αυξανόμενη αστικοποίηση,

η

βιομηχανική ρύπανση του νερού και του εδάφους και γενικότερα η υποβάθμιση της γης έχει απομακρύνει τον παραδοσιακό τρόπο Μεσογειακής διατροφής από τον σύγχρονο άνθρωπο. Ακόμα, ο ανταγωνισμός και η ενσωμάτωση των λιγότερο υγιεινών Δυτικών συμπεριφορών από τις κοινότητες ελαττώνουν την Μεσογειακή διατροφή και όλα τα οφέλη της για την υγεία. Από την αλλοίωση της παραδοσιακής Μεσογειακής διατροφής έχουν προκύψει προβλήματα αυξανόμενου βάρους, και άλλων χρόνιων παθήσεων ακόμα και στις χώρες που θεωρούνται στυλοβάτες της συγκεκριμένης διατροφής, όπως η Ιταλία, η Ελλάδα και η Κύπρος(1).

## Όσπρια

Τα όσπρια αποτελούν ένα σημαντικό κομμάτι της Μεσογειακής διατροφής, ιδιαίτερα σε αναπτυσσόμενες χώρες, όπου αποτελούν βασική πηγή πρωτεϊνών και περιλαμβάνονται στα τρόφιμα που πρέπει να καταναλώνονται, σχεδόν, σε καθημερινή βάση. Σε μερικές, μάλιστα, περιοχές του πλανήτη αποτελούν την μοναδική πηγή πρωτεΐνης. Στην Ευρώπη, η μεγαλύτερη κατανάλωση οσπρίων παρατηρείται στη Μεσόγειο. Κατά κύριο λόγο καταναλώνονται φασόλια, φακές και ρεβίθια(2).

<i>Χώρες Ευρώπης</i>	<i>Μέσος όρος κατανάλωσης οσπρίων ετησίως</i>
Ελλάδα, Ισπανία, Πορτογαλία	6 κιλά κατά κεφαλήν
Υπόλοιπη Ευρώπη	3,9 κιλά κατά κεφαλήν

Πίνακας 1: Κατανάλωση οσπρίων στην Ευρώπη

Και τα τρία είδη οσπρίων αποτελούν εξαιρετική πηγή θρεπτικών συστατικών όπως, βιταμίνες, μέταλλα, ίνες, αντιοξειδωτικά και άλλες βιοδραστικές ενώσεις ενώ έχουν συνδεθεί και με τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων(2).

<i>Βραστά όσπρια</i>	<i>Ακατέργαστες πρωτεΐνες (g)</i>	<i>Υδατάνθρακες (g)</i>	<i>Ακατέργαστες ίνες (g)</i>	<i>Συνολικά λιπίδια (g)</i>	<i>Ενέργεια (kj)</i>
Ρεβίθια	7,7	21,9	3,1	10,1	633
Φακές	7,8	18,9	0,3	9,5	506
Φασόλια	7,4	17,7	1,1	7	478

**Πίνακας 2: Ποσότητες θρεπτικών συστατικών ανά 100 g βραστών οσπρίων**

Ακόμη, αποτελούν πηγή φυτικών πρωτεϊνών που βοηθούν στο σχηματισμό και την ανάπλαση κυττάρων του σώματος. Τα όσπρια θεωρούνται, επιπλέον, σημαντική πηγή υδατανθράκων όπως το άμυλο ενώ περιέχουν βιταμίνες ομάδας Α, Β, C και ασβέστιο, κάλιο και φώσφορο. Τα όσπρια αποτελούν, επίσης, πολύ σημαντική πηγή σιδήρου και ψευδαργύρου. Οι ανεπάρκειες σιδήρου και ψευδαργύρου είναι από τις πιο κοινές ελλείψεις ιχνοστοιχείων παγκοσμίως και εκτιμάται ότι επηρεάζουν πάνω από 2 δισεκατομμύρια άτομα ανά το κόσμο. Αυτές οι ελλείψεις σχετίζονται με αναιμία (σίδηρος) και εξασθενημένη ανοσία και ανάπτυξη (ψευδάργυρος) και οδηγούν σε μεγάλες απώλειες ανθρώπινου δυναμικού (2).Σημαντικό ρόλο σε αυτά τα προβλήματα έχει το γεγονός της απομάκρυνσης της σύγχρονης ζωής από την υγιεινή διατροφή. Παρόλα αυτά γίνονται προσπάθειες μέσω συστάσεων των ειδικών τα τελευταία χρόνια για την επιστροφή σε αυτόν τον τρόπο διατροφής με την κατανάλωση οσπρίων τριών με τέσσερις μέρες την εβδομάδα.

Περίπου 20 είδη οσπρίων χρησιμοποιούνται στη διατροφή του ανθρώπου. Το κοινό φασόλι είναι ιδιαίτερα διάσημο για την κατανάλωση του στη Λατινική Αμερική και την Αφρική. Μάλιστα στη Βραζιλία θεωρείται κορυφαίο τρόφιμο στην διατροφή μεγάλου πληθυσμού της χώρας. Το ρεβίθι καταναλώνεται έντονα στην Ινδία ενώ οι φακές στη Μέση Ανατολή. Πολύ χαμηλή κατανάλωση οσπρίων σε σχέση με πολλές άλλες χώρες παρουσιάζεται στην Αυστραλία, παρά τη συνεχή αύξηση του παγκόσμιου ενδιαφέροντος για τα όσπρια. Με το ενδιαφέρον για την κατανάλωση οσπρίων να αυξάνεται συνεχώς, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας πρότεινε κατανάλωση περίπου 30 γραμμαρίων οσπρίων και

σπόρων ανά ημέρα για την πρόληψη χρόνιων παθήσεων.

Η συνολική παγκόσμια αξία των καλλιεργειών οσπρίων εκτιμάται περίπου στα 2 δισεκατομμύρια αμερικανικά δολάρια. Σε αυτό τον υπολογισμό περιλαμβάνονται περίπου 1,2 τόνοι ξηρών φασολιών σε Αμερική, Αφρική και Ασία, 0,5 τόνο ρεβιθιών στην Ασία και τη Μέση Ανατολή καθώς και 0,2 τόνο φακές (2).

## Φασόλια

Μεγάλο μέρος του πληθυσμού που πάσχει από ανεπάρκεια ιχνοστοιχείων καταναλώνει φασόλια ως μέρος της καθημερινής διατροφής τους, ειδικά σε περιοχές της Λατινικής Αμερικής και της Ανατολικής Αφρικής. Οι δίαιτες αγροτικών και φτωχών πληθυσμών σε αυτές τις περιοχές είναι κυρίως φυτικές, στις οποίες τα όσπρια (και ειδικότερα τα φασόλια) αποτελούν βασικότατο συστατικό της καθημερινής διατροφής. Τα φασόλια είναι παραδοσιακά μια μικρή γεωργική καλλιέργεια, που συχνά καλλιεργούνται σε σύνθετα συστήματα καλλιέργειας σε συνδυασμό ή εναλλαγή με καλαμπόκι, σόργο, μπανάνες ή άλλες καλλιέργειες. Το εύρος του τύπου ανάπτυξης (από καθορισμένους τύπους θάμνων έως δυναμικούς αναρριχητές) και το εύρος των κύκλων ανάπτυξης (από 2 έως 10 μήνες σε μήκος) καθιστούν τα φασόλια μια καλλιέργεια που ταιριάζει σε πολλές θέσεις

παραγωγής (3)





Εικόνα 2: Φασολιά (*Phaseolus vulgaris*)



Εικόνα 3: Καρπός φασολιού

Τα κοινά φασόλια (*Phaseolus vulgaris* L.) είναι μια εξαιρετική πηγή όχι μόνο σιδήρου και ψευδαργύρου, αλλά και πρωτεϊνών, διαιτητικών ινών και βιταμινών (4). Επιπλέον αποτελούν πηγή αντιοξειδωτικών με σημαντικά οφέλη για την υγεία καθώς έρευνες έχουν δείξει πως έχουν αντικαρκινική και αντιμεταλλαξιγόνο δράση (5).

## Ρεβίθια

Το ρεβίθι είναι όσπριο πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά που έχει σημαντικό ρόλο στην εξασφάλιση της παγκόσμιας διατροφής, καθώς αποτελεί ιδιαιτέρως σημαντική αποθήκη διαιτητικής πρωτεΐνης. Το ρεβίθι έχει επίσης σημαντικό ρόλο στα συστήματα καλλιέργειας, σταθεροποιώντας το ατμοσφαιρικό άζωτο και συμβάλλοντας στη γονιμότητα του εδάφους. Η Ινδία είναι η χώρα στην οποία ο κόσμος καταναλώνει περισσότερο ρεβίθια ενώ ταυτόχρονα πρόκειται για την χώρα με την μεγαλύτερη παραγωγή ρεβιθιών στον κόσμο, συμβάλλοντας σε ένα ποσοστό της τάξεως πάνω από το 70% της παγκόσμιας παραγωγής ρεβιθιών.

Υπάρχουν δύο κατηγορίες ρεβιθιών που διαφοροποιούνται ανάλογα με τον τύπο των σπόρων και το χρώμα των λουλουδιών, δηλαδή το Desi και το Kabuli. Τα

ρεβίθια Desi διαθέτουν μικρότερους σκούρους χρωματισμένους σπόρους και ροζ λουλούδια και καλλιεργούνται κυρίως στην Κεντρική Ασία και στην ινδική υποήπειρο. Ενώ τα ρεβίθια Kabuli περιέχουν μεγαλύτερους μπεζ σπόρους και λευκά άνθη και καλλιεργούνται κυρίως στην περιοχή της Μεσογείου(6,7).



**Εικόνα 4: Φυτό Desi ρεβίθι**



**Εικόνα 5: Φυτό Kabuli ρεβίθι**

Σχεδόν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα περιλαμβάνονται στο ρεβίθι εκτός από εκείνα που περιέχουν θείο, τα οποία ωστόσο είναι δυνατό να συμπληρωθούν με την προσθήκη δημητριακών στην καθημερινή διατροφή. Επιπλέον, περιέχει και σημαντική ποσότητα πρωτεϊνών απαραίτητη για βρέφη και μικρά παιδιά σε χώρες υπό ανάπτυξη, ειδικά στην Ασία και την Αφρική. Το άμυλο είναι ο κύριος υδατάνθρακας αποθήκευσης και ακολουθείται από διαιτητικές ίνες, ολιγοσακχαρίτες και απλά σάκχαρα όπως γλυκόζη και σακχαρόζη. Αν και τα λιπίδια δεν βρίσκονται σε υψηλές ποσότητες, το ρεβίθι είναι πλούσιο σε θρεπτικά ακόρεστα λιπαρά οξέα όπως το λινολεϊκό και το ελαϊκόξύ, η β-σιτοστερόλη, η καμπεστερόλη και η στιγμαστερόλη είναι σημαντικές στερόλες που υπάρχουν στο έλαιο ρεβιθίου. Ασβέστιο, μαγνήσιο, φωσφόρος και, ιδιαίτερα, κάλιο υπάρχουν επίσης σε σπόρους ρεβιθίου. Το ρεβίθι είναι μια καλή πηγή σημαντικών βιταμινών

όπως η ριβοφλαβίνη, η νιασίνη, η θειαμίνη, το φυλλικό οξύ και το πρόδρομο β-καροτένιο της βιταμίνης Α (8).

## Φακή



**Εικόνα 6: Φυτό Φακής  
(*Lensculinaris*)**

Η φακή είναι ένα ετήσιο γηγενές φυτό από τη Δυτική Ασία και άλλα μέρη του κόσμου, συμπεριλαμβανομένης της Βόρειας Αμερικής. Είναι αρκετά διάσημο για το βρώσιμο σπόρο σε σχήμα φακού, το οποίο εμπεριέχει απαραίτητα θρεπτικά συστατικά και ιχνοστοιχεία. Ειδικότερα, η φακή αποτελεί σημαντική πηγή ασβεστίου, σιδήρου, μαγνησίου, καλίου και φωσφόρου. Επιπλέον, είναι σημαντική αποθήκη βιταμινών όπως οι βιταμίνες C, A και K. Το χρώμα των συγκεκριμένων οσπρίων ποικίλει, καθώς μπορεί να είναι κίτρινο, πορτοκαλί, κόκκινο, πράσινο, καφέ ή μαύρο, ανάλογα με την ποικιλία, το περίβλημα σπόρου και των κοτυληδόνων. Το χρώμα των αποφλοιωμένων σπόρων σχετίζεται κυρίως με το χρώμα της κοτυληδόνας, το οποίο μπορεί να είναι κίτρινο, κόκκινο ή πράσινο. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα ερευνών η κατανάλωση φακής έχει συσχετιστεί σε σημαντικό επίπεδο με τη μείωση της συχνότητας εμφάνισης εκφυλιστικών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένου του διαβήτη, των καρδιαγγειακών παθήσεων και του καρκίνου(8).

Είναι ευρέως γνωστό ότι οι φακές παρέχουν πρωτεΐνες με απαραίτητα αμινοξέα στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι βασικές πρωτεΐνες στις φακές είναι η σφαιρίνη και η αλβουμίνη. Προσφέρουν επιπλέον υψηλή ποσότητα αμύλου αλλά και αδιάλυτων διαιτητικών ινών, ενώ αποτελούν καλή πηγή πρεβιοτικών υδατανθράκων οι οποίοι συμβάλλουν στη διατήρηση του μικροβιακού

περιβάλλοντος του εντέρου και στην αποτροπή ασθενειών που συνδέονται με το έντερο. Επιπλέον, έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και νάτριο, ωστόσο παρέχουν μεγάλη ποσότητα καλίου αλλά και σιδήρου. Συγκριτικά με άλλα όσπρια φαίνεται ότι διαθέτουν αρκετές πολυφαινόλες οι οποίες τους προσδίδουν ιδιότητες ως πιθανά αντιοξειδωτικά, αντιβακτηριακά και αντικαρκινικά (9).

## Γάλα

Το γάλα είναι ένα λευκό θρεπτικό υγρό που παράγεται φυσιολογικά από τους μαστούς των θηλαστικών με σκοπό την θρέψη των νεογνών. Αποτελείται από ένα μίγμα διαφόρων ουσιών όπως νερό, λίπη, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, ένζυμα, άλατα και βιταμίνες. Μέχρι τον 20<sup>ο</sup> αιώνα δεν είχαν βρεθεί ικανοποιητικά υποκατάστατα του θηλασμού οπότε βρέφη που δεν θήλαζαν επιβίωναν για ένα χρόνο. Στα μέσα του 19<sup>ου</sup> αιώνα αναπτύχθηκαν χημικές τεχνικές που επιτρέπουν την ανάλυση της σύστασης του γάλακτος οι οποίες βοήθησαν στη δημιουργία των προαναφερθέντων υποκαταστάτων. Τα υποκατάστατα του ανθρώπινου γάλακτος αναπτύχθηκαν από το γάλα άλλων θηλαστικών μέσω πολυάριθμων τροποποιήσεων στις σύνθετες φόρμουλες που είναι διαθέσιμες σήμερα. Η σύσταση του γάλακτος είναι μοναδική για κάθε είδος. Το ανθρώπινο γάλα περιέχει 9 γραμμάρια πρωτεΐνης ανά λίτρο σε σύγκριση με τα 34 γραμμάρια ανά λίτρο του αγελαδινού γάλακτος. Η περιεκτικότητα σε λίπη κυμαίνεται σε παρόμοια επίπεδα στον άνθρωπο και στην αγελάδα, περίπου 38 γραμμάρια ανά λίτρο γάλακτος. Όσον αφορά τη λακτόζη παρατηρείται μικρότερη διαφοροποίηση καθώς περιέχεται 70 γραμμάρια ανά λίτρο στο ανθρώπινο γάλα και 48 γραμμάρια ανά λίτρο στο αγελαδινό(11,12). Όπως το αγελαδινό γάλα, έτσι και το κατσικίσιο αποτελεί εξαιρετική πηγή πρωτεϊνών, ασβεστίου, φωσφόρου και καλίου. Ένα από τα χαρακτηριστικά του κατσικίσιου γάλακτος που το καθιστούν προτιμότερο από το αγελαδινό σε ορισμένες περιπτώσεις είναι οι λιγότερες αλλεργικές αντιδράσεις(10).

<i>Είδη</i>	<i>Λίπη (%)</i>	<i>Λακτόζη (%)</i>	<i>Πρωτεΐνη (%)</i>
-------------	-----------------	--------------------	---------------------

Ανθρώπινο	3,7	6,98	1,63
Αγελαδινό	4	4,9	3,5
Κατσικίσιο	4,09	4,2	3,71

Πίνακας 3: Μέση σύσταση γάλακτος ανάμεσα σε θηλαστικά (%)

Η πρωτεΐνη του βοείου γάλακτος κυριαρχείται από το κλάσμα καζεΐνης σε ένα ποσοστό της τάξης του 80% ενώ το υπόλοιπο 20% αντιστοιχεί στην πρωτεΐνη ορού. Η καζεΐνη είναι μια κατηγορία πρωτεϊνών με υπομονάδες (α, β και κ-καζεΐνη) που σχηματίζουν μικκύλια με ιόντα ασβεστίου και προσδίδουν το χαρακτηριστικό λευκό χρώμα του γάλακτος(11). Στο ανθρώπινο, τα αντίστοιχα ποσοστά είναι 40% και 60%. Μελέτες σχετικά με τον ορό του γάλακτος και το αποπρωτεϊνοποιημένο γάλα έδειξαν ότι ο κύριος συντελεστής στη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλήρους γάλακτος είναι το κλάσμα καζεΐνης και ότι η αλβουμίνη είναι ο κύριος συντελεστής στη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα της πρωτεΐνης ορού γάλακτος(11,12).

## Τσάι του βουνού

Το τσάι του βουνού είναι το συνηθέστερο ρόφημα στον κόσμο μετά το νερό. Παρασκευάζεται συνήθως προσθέτοντας βραστό νερό πάνω σε ώριμα φύλλα του φυτού *Camellia sinensis* οποία περιέχουν κατεχίνες, έναν τύπο αντιοξειδωτικού φλαβονοειδούς. Σε πολλές χώρες, το τσάι είναι η κύρια πηγή αντιοξειδωτικών φλαβονοειδών και η υψηλή κατανάλωση του έχει συσχετιστεί με πολλά διαφορετικά ευνοϊκά αποτελέσματα, όπως η πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων, διατήρηση της γνωστικής υγείας, η προστασία από μη αλκοολούχα λιπώδη ηπατική νόσο και η αναστολή της έναρξης και εξέλιξης του καρκίνου.



Το *Sideritis scardica* είναι ένα γένος ανθοφόρων φυτών συμπεριλαμβανομένων περισσότερων από 150 ειδών

που διανέμονται στη Μεσόγειο, στο Ατλαντικό τμήμα της Αφρικής, στην Μικρά Ασία και στον Καύκασο. Το

*Sideritis scardica* βρίσκεται στη βαλκανική χερσόνησο, όπου χρησιμοποιείται ευρέως για την παρασκευή ενός δημοφιλούς ροφήματος (τσάι βουνού), το



Εικόνα 7: Τσάι του βουνού (*Sideritis scardica*)

οποίο έχει ως κύρια συστατικά φαινολικά οξέα, κυρίως φουρουλικό οξύ και χλωρογενικό οξύ και τη φλαβονοειδή ένωση απιγενίνη, και πιθανόν υποστηρίζει τον ορισμένο αριθμό δημοσιευμένων ψυχοσωματικών επιδράσεων του ελληνικού τσαγιού βουνού στον άνθρωπο (13,14).

## Αναψυκτικά τύπου Cola

Η ακριβής σύνθεση των αναψυκτικών τύπου Cola δεν είναι γνωστή στο καταναλωτικό κοινό. Ωστόσο, τα κύρια συστατικά είναι γνωστά: εκτός από νερό, περιέχει φωσφορικό οξύ, γλυκόζη / φρουκτόζη ή τεχνητά γλυκαντικά και καφεΐνη. Το φωσφορικό οξύ υπάρχει σε όλα τα διαθέσιμα ποτά Cola. Οι διαφορές μεταξύ διαφόρων τύπων Cola είναι κυρίως στην περιεκτικότητα σε γλυκαντικά και καφεΐνη. Η συγκέντρωση γλυκόζης / φρουκτόζης στην κανονική Cola είναι σχετικά υψηλή σε σχέση με τα υπόλοιπα αναψυκτικά τύπου Cola. Στην Cola χωρίς καφεΐνη, με χαμηλή περιεκτικότητα σε ζάχαρη (Light) και χωρίς ζάχαρη (Zero), η ζάχαρη αντικαθίσταται από τεχνητά γλυκαντικά όπως η ακεσουλφάμη K, η ασπαρτάμη και το κυκλαμικό. Η καφεΐνη έχει αποδειχθεί ότι έχει προστατευτικά αποτελέσματα στο ήπαρ, στον εγκέφαλο, και στα νεφρά μέσω της πρόληψης της υπεροξειδωσίας των λιπιδίων ή / και της αύξησης των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Η αντιοξειδωτική ικανότητα της καφεΐνης

φαίνεται ότι εξαρτάται από τη δόση, όπως φαίνεται σε μια πρόσφατη μελέτη η οποία εστιάζει στην περιεκτικότητα σε καφεΐνη στους κόκκους καφέ (15).



## Ελεύθερες ρίζες

Οι ελεύθερες ρίζες είναι χημικά είδη ικανά για ανεξάρτητη ύπαρξη που περιέχουν ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στιβάδα. Είναι θεμελιώδεις για οποιαδήποτε βιοχημική διαδικασία και αντιπροσωπεύουν ουσιαστικό μέρος της αερόβιας ζωής και του μεταβολισμού.. Τα μόρια αυτά είναι εξαιρετικά δραστικά και έχουν πολύ μικρό χρόνο ημιζωής. Οι ελεύθερες ρίζες μπορεί να φορτίζονται θετικά ή αρνητικά ή μπορεί να είναι ουδέτερες. Μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με το κεντρικό άτομο που διαθέτουν ως δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), και ως δραστικές μορφές αζώτου (RNS)(16).

Όνομα	Τύπος
υπεροξειδίο	$O_2 \bullet-$
υδροξύλιο	$HO \bullet$
υπεροξύλιο	$ROO \bullet$
υδροϋπεροξύλιο	$HO_2 \bullet$
αλκοξύλιο	$RO \bullet$

Πίνακας 4: Δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS)

### Σχηματισμός ελευθέρων ριζών

Οι ελεύθερες ρίζες σχηματίζονται μέσω της:

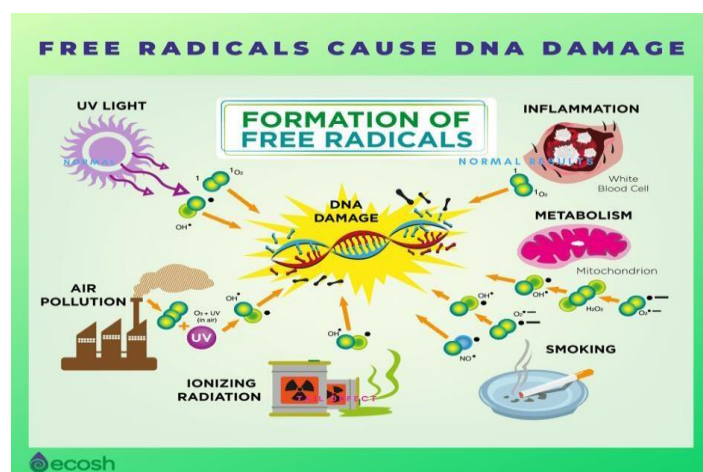
1. Ομολυτικής διάσπασης ενός ομοιοπολικού δεσμού ενός φυσιολογικούμορίου
2. Απώλειας ενός μόνο ηλεκτρονίου από ένα κανονικόμόριο
3. Προσθήκης ενός μόνο ηλεκτρονίου σε ένα κανονικόμόριο

Οι ελεύθερες ρίζες μπορεί να φορτίζονται θετικά ή αρνητικά ή μπορεί να είναι ουδέτερες. Στα βιολογικά συστήματα, η μεταφορά ηλεκτρονίων είναι πολύ πιο κοινή διαδικασία από την ομολυτική σχάση, η οποία απαιτεί υψηλή ενεργειακή είσοδο από υψηλή θερμοκρασία, υπεριώδες φως ή ιονίζουσα ακτινοβολία κ.α.

Οι ROS μπορεί να παραχθούν τόσο από ενδογενείς όσο και από εξωγενείς παράγοντες. Πιθανές ενδογενείς πηγές αποτελούν:

- τα μιτοχόνδρια κατά τη διάρκεια της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης
- ο μεταβολισμός του κυτοχρώματος P450
- τα υπεροξυσώματα
- η ενεργοποίηση των φλεγμονωδών κυττάρων
- ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα και μακροφάγα κύτταρα

Στις εξωγενείς πηγές περιλαμβάνονται οι περιβαλλοντικοί ρύποι, τα φυτοφάρμακα, ο καπνός του τσιγάρου, η ιονίζουσα αλλά και η ηλιακή ακτινοβολία και οι



ατμοσφαιρικοί ρύποι (16).

Εικόνα 8: Εξωγενείς πηγές ελευθέρων ριζών

## Δράση ελευθέρων ριζών

Είναι γνωστό ότι οι ελεύθερες ρίζες έχουν διπλό ρόλο στα βιολογικά συστήματα, καθώς μπορούν να είναι είτε επιβλαβή είτε ευεργετικά ανάλογα με τη συγκέντρωσή τους. Τα ευεργετικά αποτελέσματα των ROS περιλαμβάνουν φυσιολογικούς ρόλους στις κυτταρικές αποκρίσεις, όπως για παράδειγμα στην άμυνα έναντι μολυσματικών παραγόντων και στη λειτουργία ενός αριθμού κυτταρικών συστημάτων σηματοδότησης. Ένα ακόμη ευεργετικό παράδειγμα ROS σε χαμηλές

συγκεντρώσεις είναι η επαγωγή μιτογόνου απόκρισης. Αντίθετα, σε υψηλές συγκεντρώσεις, οι ROS μπορεί να είναι σημαντικοί μεσολαβητές βλάβης στις κυτταρικές δομές, συμπεριλαμβανομένων των λιπιδίων και μεμβράνες, πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα (ονομάζεται οξειδωτικό στρες). Οι επιβλαβείς επιδράσεις του ROS εξισορροπούνται από την αντιοξειδωτική δράση των μη ενζυματικών αντιοξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών ενζύμων(16).

## Οξειδωτικό στρες

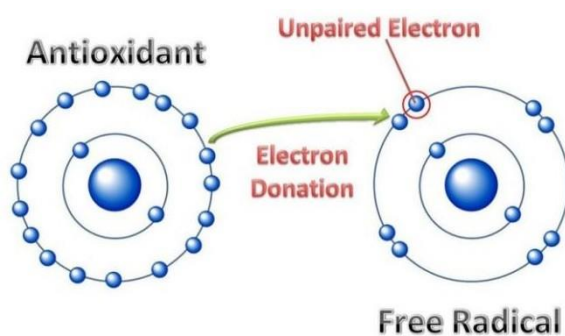
Η έννοια του οξειδωτικού στρες ορίζεται ως η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ αντιοξειδωτικών και ελεύθερων ριζών με τις τελευταίες να βρίσκονται σε πλεόνασμα. Αυτή είναι μια επιβλαβής διαδικασία που μπορεί να επηρεάσει αρνητικά αρκετές κυτταρικές δομές, όπως μεμβράνες, λιπίδια, πρωτεΐνες, λιποπρωτεΐνες και το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DNA). Το οξειδωτικό στρες έχει συσχετιστεί με διάφορες ασθένειες, τόσο χρόνιες όσο και εκφυλιστικές, καθώς και για την επιτάχυνση της διαδικασίας γήρανσης του σώματος. Τέτοιες ασθένειες είναι ο καρκίνος, καρδιαγγειακές παθήσεις, νευρολογικές διαταραχές, διαταραχές του αναπνευστικού συστήματος και των νεφρών.(17) Τα τελευταία χρόνια έχουν διατυπωθεί διάφοροι ορισμοί του οξειδωτικού στρες, με επικρατέστερο αυτόν του Jones που το κατονομάζει ως τη διαταραχή της οξειδοαναγωγικής σηματοδότησης(39).



Εικόνα 9: Εξέλιξη υγιούς κυττάρου σε κύτταρο που έχει υποστεί οξειδωτικό στρες

## Αντιοξειδωτικά

Πρόκειται για ομάδα ουσιών που σε χαμηλές συγκεντρώσεις, σε σχέση με τα υποστρώματα που οξειδώνονται, αναστέλλουν ή καθυστερούν σημαντικά τις διεργασίες οξείδωσης των συγκεκριμένων υποστρωμάτων. Τα αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται ως ένα χρήσιμο εργαλείο στην άμυνα κατά των διαταραχών που



Εικόνα 10: Δράση αντιοξειδωτικού

προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες. Γενικά, είναι απαραίτητη η ισορροπία μεταξύ του ρυθμού σχηματισμού ελευθέρων ριζών και του ρυθμού απομάκρυνσης τους. Τα φυσικά αντιοξειδωτικά

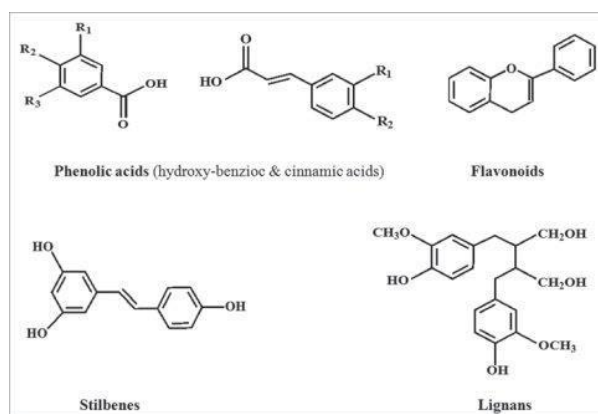
χωρίζονται σε συγκεκριμένες κατηγορίες ανάλογα με τη σύνθεση τους, τις φυσικές και χημικές ιδιότητες τους καθώς και τον μηχανισμό δράσης τους (18). Έτσι τα αντιοξειδωτικά χωρίζονται στις εξής κατηγορίες:

<i>Ένζυμα</i>	<i>Πρωτεΐνες υψηλού μοριακού βάρους</i>	<i>Λιποδιαλυτά</i>	<i>Υδατοδιαλυτά</i>
Υπεροξειδική δισμουτάση	Αλβουμίνη	Χολερυθρίνη	Ασκορβικό οξύ
Καταλάση	Σερουλοπλασμίνη	Καροτενοειδή	Ουρικό οξύ
Περοξειδάση γλουταθειόνης	Τρανσφερίνη	Κινόνες	Πολυφαινόλες

Πίνακας 5: Κατηγορίες αντιοξειδωτικών

## Πολυφαινόλες

Είναι γνωστό ότι τα φρούτα και τα λαχανικά περιέχουν σημαντικά θρεπτικά συστατικά όπως οι βιταμίνες. Ωστόσο, περιέχουν επιπλέον συστατικά, όπως οι ίνες, τα καροτενοειδή και φυτοστερόλες που είναι ωφέλιμα για την υγεία. Πιο συγκεκριμένα, η φυτοχημική ομάδα των πολυφαινολών μπορεί να αποφέρει αρκετά οφέλη. Πρόκειται για ομάδα βιοδραστικών φυτοχημικών με υποκατηγορίες όπως флаβονοειδή, στυλβένια, φαινολικά οξέα και λιγνάνες. Τα флаβονοειδή, που έχουν αποτελέσει αντικείμενο μελέτης από πολλούς επιστήμονες ανά τον κόσμο, δομικά βασίζονται σε ένα σκελετό 15 ατόμων άνθρακα ενός δακτυλίου χρωμανίου, συνδεδεμένο με δεύτερο αρωματικό δακτύλιο. Μπορούν να υποδιαιρεθούν σε флаβονόλες, флаβανόλες, флаβόνες, ισοφλαβόνες και ανθοκυανιδίνες(19).



Εικόνα 11: Κατηγορίες πολυφαινολών

## 2. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας τεσσάρων (4) κατηγοριών τροφίμων. Οι κατηγορίες αυτές είναι τα όσπρια, το γάλα, το τσάι του βουνού και αναψυκτικά τύπου Cola. Οι κατηγορίες αυτές επιλέχθηκαν καθώς αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της διατροφής μεγάλης μερίδας ανθρώπων ανά το κόσμο. Η αξιολόγηση των τροφίμων πραγματοποιήθηκε μέσω *in vitro* τεχνικών μεθόδων που είναι ικανές για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής και αναγωγικής ικανότητάς τους.

### 3. Υλικά και μέθοδοι

#### Προετοιμασία δειγμάτων

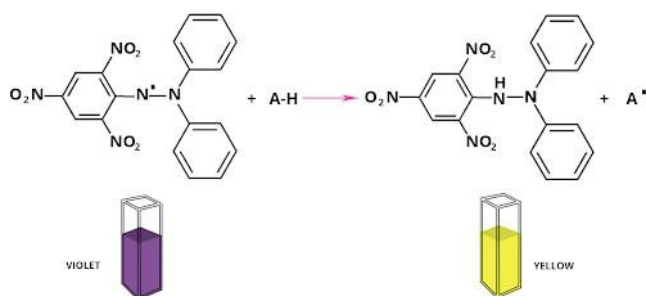
Αρχικά, συλλέχθηκε ορισμένη ποσότητα δείγματος από την κάθε συσκευασία τροφίμων και τοποθετήθηκε σε φυαλίδια όγκου 50ml. Από τα δείγματα του γάλακτος, του τσαγιού και της Cola δημιουργήθηκαν εναιωρήματα, τα οποία διατηρήθηκαν στους -20 °C μέχρι να ολοκληρωθεί η πειραματική διαδικασία. Στα υπόλοιπα τρόφιμα (δηλαδή τα φασόλια, τις φακές και τα ρεβίθια) ακολούθησε η διαδικασία της ομογενοποίησης για το καθένα ξεχωριστά ώστε να δημιουργηθεί το κατάλληλο εκχύλισμα για την εφαρμογή των μεθόδων.

Για την ομογενοποίηση των συγκεκριμένων τροφίμων προηγήθηκε εμβάπτιση σε dH<sub>2</sub>O και αραίωση 1:4. Μετά από αυτή την διαδικασία, ακολούθησε η ομογενοποίηση των δειγμάτων, η φυγοκέντρησή τους στα 10.000 rpm για 15 λεπτά και τέλος συλλέχθηκε το υπερκείμενο το οποίο αποθηκεύτηκε σε κλάσματα τα οποία διατηρήθηκαν στους -20 °C μέχρι την ολοκλήρωση της πειραματικής διαδικασίας.

## Μέθοδοι

### Εκτίμηση αντιοξειδωτικής δράσης μέσω της μεθόδου αναστολής της ρίζας DPPH•

Η μέθοδος διερεύνησης αντιοξειδωτικής δράσης μέσω της δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH• είναι από τις πιο απλές, γρήγορες και εύκολες τεχνικές για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας μορίων ή εκχυλισμάτων που περιέχουν αντιοξειδωτικές ενώσεις. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην ικανότητα αλληλεπίδρασης των αντιοξειδωτικών μορίων με την ρίζα 1,1 διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH). Η αδρανοποίηση της ρίζας μπορεί να συμβεί είτε με προσθήκη ηλεκτρονίου, είτε με προσθήκη ενός ατόμου υδρογόνου. Η ρίζα αυτή έχει μωβ χρώμα και απορροφά στα 517 nm. Κατά την αλληλεπίδραση το χρώμα μετατρέπεται από μωβ σε κίτρινο (20).



Εικόνα 12: Αντίδραση με ρίζα DPPH•

Ο συνολικός όγκος της αντίδρασης είναι 1 ml. Αρχικά, ετοιμάζεται το διάλυμα DPPH το οποίο εν συνεχεία διατηρείται για λίγες μέρες στο ψυγείο. Στη συνέχεια γίνεται η προσθήκη 50 μl του δείγματος, 900 μl μεθανόλης και 50 μl DPPH. Τέλος, το μίγμα επωάζεται στο σκοτάδι για 20 λεπτά και ακολουθεί φωτομέτρηση στα 517 nm.

Μετά το πέρας της φωτομέτρησης, έγινε υπολογισμός της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης για κάθε δείγμα. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του εκάστοτε



εκχυλίσματος υπολογίσθηκε ως το ποσοστό αναστολής της δράσης της ρίζας του DPPH•. Το ποσοστό αυτό προκύπτει από τον τύπο:

$$\% \text{ αναστολή} = (A_0 - A_d) / A_0 \times 100$$

όπου:

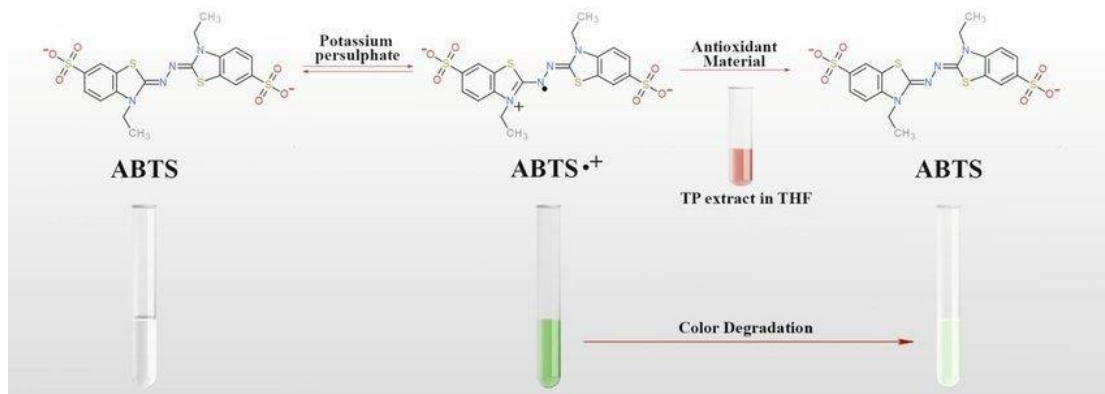
A<sub>0</sub>: Μέση τιμή της οπτικής απορρόφησης του δείγματος ελέγχου.

A<sub>d</sub>: Μέση τιμή της οπτικής απορρόφησης του δείγματος (φυτικό εκχύλισμα).

Ακόμα, έγινε προσδιορισμός της τιμής IC<sub>50</sub>, της τιμής δηλαδή της συγκέντρωσης του εξεταζόμενου δείγματος κατά την οποία αναστέλλει το 50% της ρίζας. Η αντιοξειδωτική ικανότητα είναι μεγαλύτερη όταν το IC<sub>50</sub> είναι χαμηλό.

## Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω της μεθόδου αναστολής της ρίζας ABTS<sup>•+</sup>

Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης με βάση την ικανότητα των μορίων του δείγματος να αλληλεπιδρούν με τη ρίζα ABTS<sup>•+</sup>. Η συγκεκριμένη ρίζα παράγεται από τη μίξη του ABTS[2,2'-Azino-bis-(3-ethyl- benzthiazoline - sulphonicacid)] με μια περοξειδάση (HRP) παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Στην προκειμένη περίπτωση προηγείται ο σχηματισμός της ρίζας με την προσθήκη των προαναφερθέντων υλικών, ακολουθεί επώαση και έπειτα γίνεται προσθήκη του προς εξέταση δείγματος. Αντιοξειδωτική ουσία ανάγει τη ρίζα με την προσθήκη ενός ατόμου υδρογόνου με αποτέλεσμα μείωση της οπτικής απορρόφησης στα 730 nm (21).



Εικόνα 13: Σχηματισμός ρίζας ABTS και προσθήκη αντιοξειδωτικού παράγοντα

Με το πέρας της φωτομέτρησης, έγινε υπολογισμός της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης για κάθε δείγμα. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του εκάστοτε εκχυλίσματος υπολογίστηκε ως το ποσοστό αναστολής της δράσης της ρίζας του ABTS•. Το ποσοστό αυτό προκύπτει από τον τύπο:

$$\% \text{ αναστολή} = (A_0 - A_\delta) / A_0 \times 100$$

όπου:

A<sub>0</sub>: Μέση τιμή της οπτικής απορρόφησης του δείγματος ελέγχου

A<sub>δ</sub>: Μέση τιμή της οπτικής απορρόφησης του δείγματος (φυτικό εκχύλισμα).

Ακόμα, έγινε προσδιορισμός της τιμής IC<sub>50</sub>, της τιμής δηλαδή της συγκέντρωσης του εξεταζόμενου δείγματος κατά την οποία αναστέλλει το 50% της ρίζας. Η αντιοξειδωτική ικανότητα είναι μεγαλύτερη όταν το IC<sub>50</sub> είναι χαμηλό.

## Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω της μεθόδου αναστολής της ρίζας Hydroxyl Radical (OH•)

Η συγκεκριμένη ρίζα είναι αρκετά δραστική στα βιολογικά συστήματα και συμπεριλαμβάνεται σε μια βλαβερή ομάδα ελευθέρων ριζών που μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα στα βιομόρια των κυττάρων. Σε αυτή τη μέθοδο έχουμε προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού νατρίου, 2-δεοξυριβόζης, FESO<sub>4</sub>-EDTA, υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) και του δείγματος σε διάφορες συγκεντρώσεις. Στη συνέχεια ακολουθεί επώαση μίας ώρας σε θερμοκρασία 37°C, και έπεται προσθήκη 375 μl TCA 2.8 % και 375 μl TBA 1 %. Μετά από βράσιμο 10 λεπτών και αφού η αντίδραση επανέλθει σε θερμοκρασία δωματίου, ακολουθεί φωτομέτρηση στα 520 nm (22).

Με το πέρας της φωτομέτρησης, έγινε υπολογισμός της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης για κάθε δείγμα. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του εκάστοτε εκχυλίσματος υπολογίστηκε ως το ποσοστό αναστολής της δράσης της ρίζας του OH•. Το ποσοστό αυτό προκύπτει από τον τύπο:

$$\% \text{ αναστολή} = (A_0 - A_d) / A_0 \times 100$$

όπου:

A<sub>0</sub>: Μέση τιμή της οπτικής απορρόφησης του δείγματος ελέγχου

A<sub>d</sub>: Μέση τιμή της οπτικής απορρόφησης του δείγματος (φυτικό εκχύλισμα).

Ακόμα, έγινε προσδιορισμός της τιμής IC<sub>50</sub>, της τιμής δηλαδή της συγκέντρωσης του εξεταζόμενου δείγματος κατά την οποία αναστέλλει το 50% της ρίζας. Η αντιοξειδωτική ικανότητα είναι μεγαλύτερη όταν το IC<sub>50</sub> είναι χαμηλό.

## Μέθοδος προσδιορισμού της Αναγωγική Ικανότητας (Reducing Power assay)

Αυτή η μέθοδος σχετίζεται με την αντιοξειδωτική ικανότητα και μπορεί να χρησιμεύσει ως αντανάκλαση της αντιοξειδωτικής δράσης. Οι ενώσεις με αναγωγική ισχύ δείχνουν ότι είναι δότες ηλεκτρονίων και μπορούν να μειώσουν τα οξειδωμένα ενδιάμεσα των διαδικασιών υπεροξειδωσης λιπιδίων, έτσι ώστε να μπορούν να δρουν ως πρωτογενή και δευτερεύοντα αντιοξειδωτικά. Σε αυτόν τον προσδιορισμό, το κίτρινο χρώμα του διαλύματος δοκιμής αλλάζει σε διάφορες αποχρώσεις του πράσινου και του μπλε ανάλογα με την αναγωγική ικανότητα κάθε ένωσης. Η παρουσία ουσιών με αναγωγική ισχύ προκαλεί τη μετατροπή του συμπλόκου  $Fe^{3+}$  / ferricyanide που χρησιμοποιείται σε αυτήν τη μέθοδο σε μορφή σιδήρου. Με τη μέτρηση στα 700nm, είναι δυνατόν να προσδιοριστεί η συγκέντρωση του ιόντος  $Fe^{3+}$  (23).

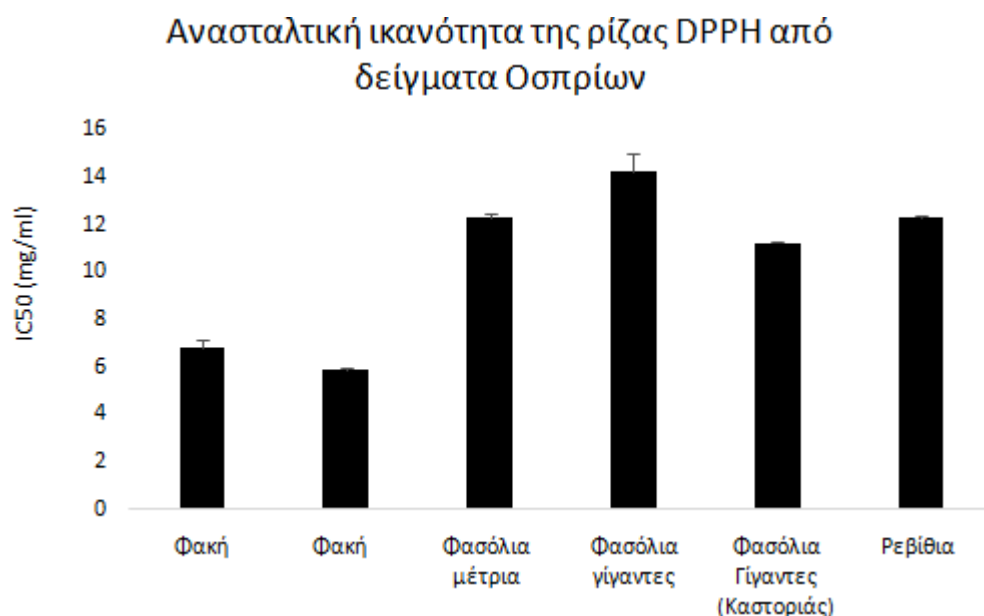
Η τεχνική αυτή αρχίζει με την προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού άλατος, και την ανάμιξη σε αυτό, του δείγματος με σιδηροκυανιούχο κάλιο 1%. Ακολουθεί επώαση 20 λεπτών σε θερμοκρασία 50°C. Στη συνέχεια προστίθεται TCA 10% και γίνεται φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στα 3000rpm. Έπεται η συλλογή του υπερκειμένου και η προσθήκη, σε αυτό, απιονισμένου νερού και χλωριούχου σιδήρου. Μετά από 10 λεπτά επώαση στο σκοτάδι, η φωτομέτρηση λαμβάνει χώρα στα 700nm.

Με το πέρας της φωτομέτρησης, έγινε υπολογισμός της τιμής  $AU_{0,5}$ , δηλαδή της συγκέντρωσης του δείγματος που είναι ικανή να δώσει απορρόφηση 0,5. Όσο πιο χαμηλό είναι το  $AU_{0,5}$  τόσο υψηλότερη η αναγωγική ικανότητα του δείγματος.

## 4. Αποτελέσματα

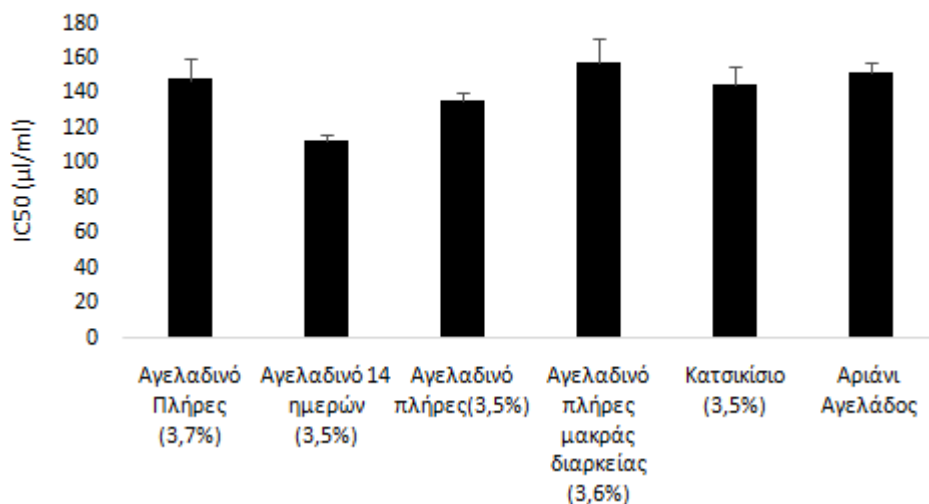
### Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω της μεθόδου αναστολής της ρίζας DPPH•

Μέσω της μεθόδου DPPH έγινε ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας τροφίμων και ροφημάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την εργασία αυτή. Το  $IC_{50}$ , η συγκέντρωση δηλαδή του δείγματος που είναι ικανό να εξουδετερώσει το 50% της ρίζας εκφράζει την εκάστοτε αντιοξειδωτική ικανότητα. Τα δείγματα που έχουν χαμηλή τιμή  $IC_{50}$  έχουν υψηλότερη δράση. Το  $IC_{50}$  εκφράστηκε σε mg/ml για τα δείγματα σε στερεή μορφή και σε  $\mu\text{l/ml}$  για τα δείγματα σε μορφή υγρού. Πιο αναλυτικά τα δείγματα που μετρήθηκαν ήταν τα όσπρια (φασόλια, ρεβίθια, φακές), το γάλα, το τσάι του βουνού και αναψυκτικά τύπου Cola. Οι συγκεντρώσεις των οσπρίων ήταν 50, 25, 12.5 και 6.25 mg/ml. Στο ζωικό γάλα οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 150, 100, 50, 25, 12.5 και 6.25  $\mu\text{l/ml}$  ενώ στο φυτικό γάλα οι συγκεντρώσεις ήταν 150, 100, 50, 25, 12.5  $\mu\text{l/ml}$ . Οι συγκεντρώσεις στο τσάι ήταν 150, 100, 50 και 25  $\mu\text{l/ml}$  και οι αντίστοιχες στα αναψυκτικά τύπου Cola 150, 100, 50, 25 και 12.5  $\mu\text{l/ml}$ .



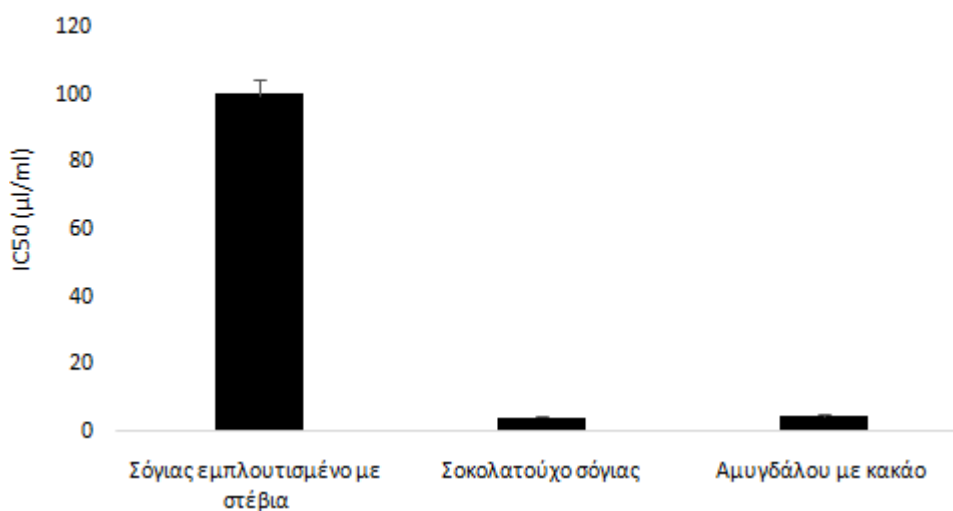
*Διάγραμμα 1: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας οσπρίων μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$*

### Ικανότητα αναστολής της ρίζας DPPH από δείγματα Γαλακτοκομικών



Διάγραμμα 2: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας γάλακτος μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

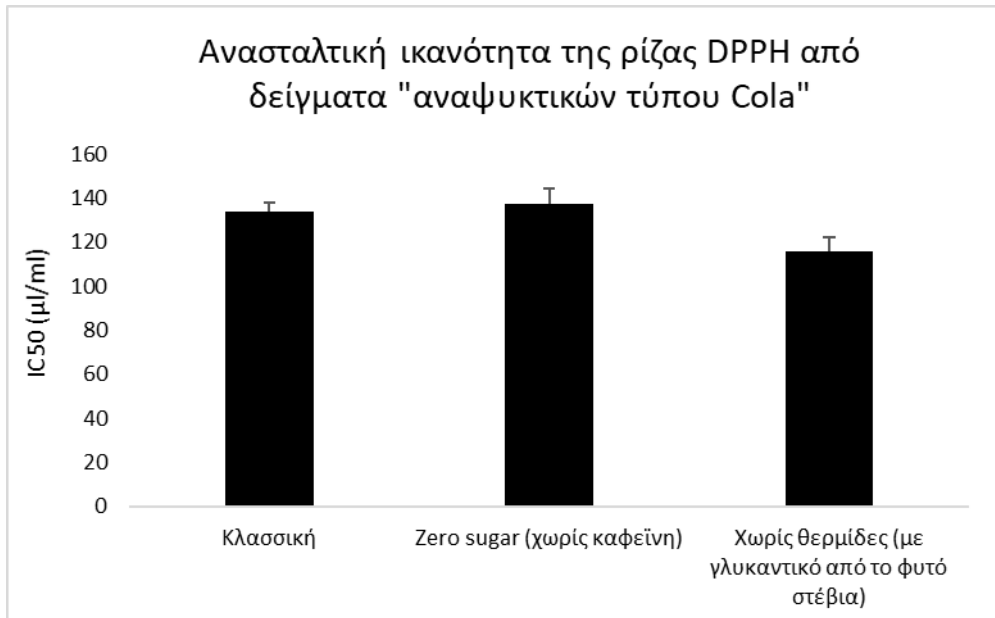
### Ανασταλτική ικανότητα της ρίζας DPPH από δείγματα Φυτικών Γαλακτοκομικών



Διάγραμμα 3: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυτικού γάλακτος μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$



*Διάγραμμα 4: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας τσαγιού του βουνού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$*



*Διάγραμμα 5: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας αναψυκτικών τύπου Cola μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας DPPH. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$*

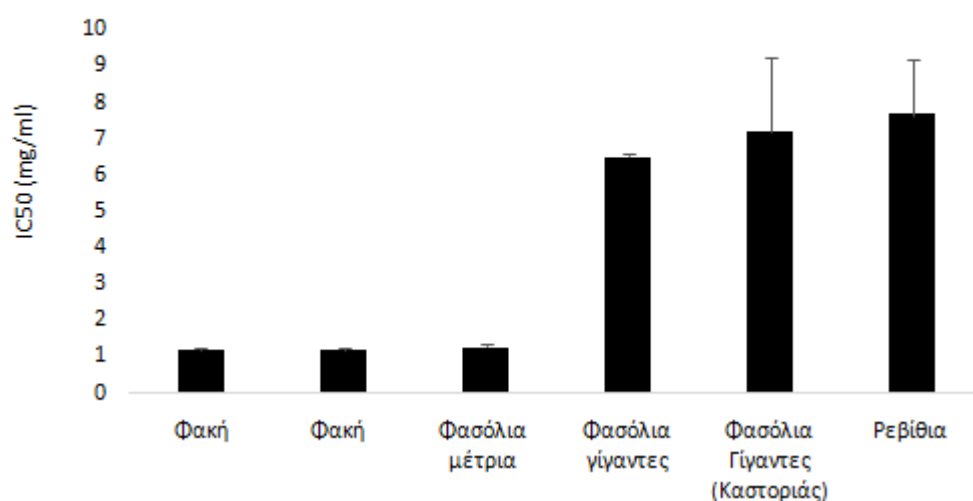


Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στο διάγραμμα 1 παρατηρήθηκε ότι η φακή έχει υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με τα υπόλοιπα όσπρια ενώ τα φασόλια γίναντες αντιθέτως, την μικρότερη δράση. Στο διάγραμμα 2 στο οποίο απεικονίζονται τα γάλατα αυτό με την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση είναι το αγελαδινό 14 ημερών ενώ από τα φυτικά γάλατα στο διάγραμμα 3 παρατηρείται μεγάλη δραστηριότητα του σοκολατούχου και του αμυγδαλού με κακάο. Στο διάγραμμα 4 ξεχωρίζει η αρώνια και τέλος στο 5<sup>ο</sup> διάγραμμα η Cola με γλυκαντικό από το φυτό στέβια.

### Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω της μεθόδου αναστολής της ρίζας ABTS

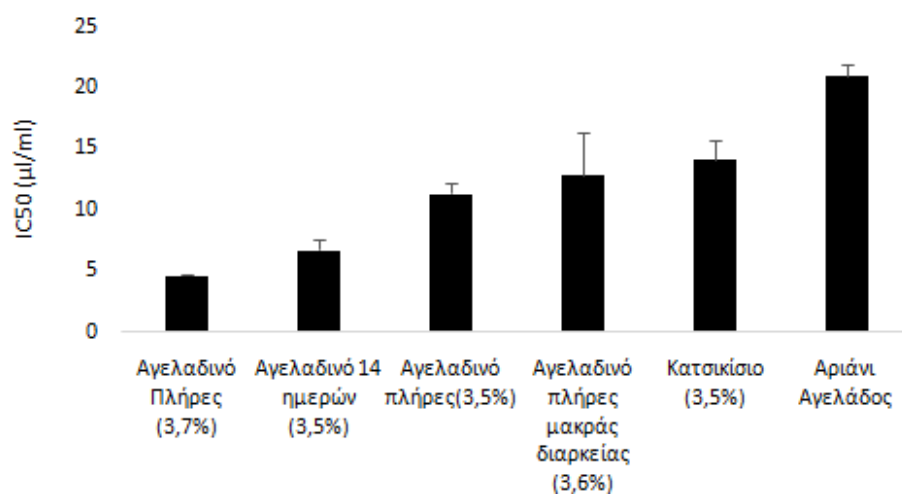
Μέσω της μεθόδου ABTS πραγματοποιήθηκε η εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας τροφίμων και ροφημάτων. Το IC<sub>50</sub>, η συγκέντρωση δηλαδή του δείγματος που εξουδετερώνει το 50% της ρίζας εκφράζει την εκάστοτε αντιοξειδωτική ικανότητα, με τα δείγματα που έχουν χαμηλή τιμή IC<sub>50</sub> να έχουν υψηλότερη δράση. Το IC<sub>50</sub> εκφράστηκε σε mg/ml για τα δείγματα σε στερεή μορφή και σε μl/ml για τα δείγματα σε μορφή υγρού. Πιο αναλυτικά τα δείγματα που μετρήθηκαν ήταν τα όσπρια (φασόλια, ρεβίθια, φακές), το γάλα, το τσάι του βουνού και αναψυκτικά τύπου Cola. Οι συγκεντρώσεις των οσπρίων ήταν 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56, 0.78 και 0.39 mg/ml. Στο ζωικό γάλα και στο φυτικό γάλα οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 12.5, 6.25, 3.125, 1.56, 0.78 και 0.39 μl/ml. Οι συγκεντρώσεις στο τσάι ήταν 50, 25, 12.5, 6.25 και 3.125 μl/ml και οι αντίστοιχες στα αναψυκτικά τύπου Cola 150, 100, 50, 25 και 12.5 μl/ml.

### Ανασταλτική ικανότητα της ρίζας ABTS από δείγματα Οσπρίων



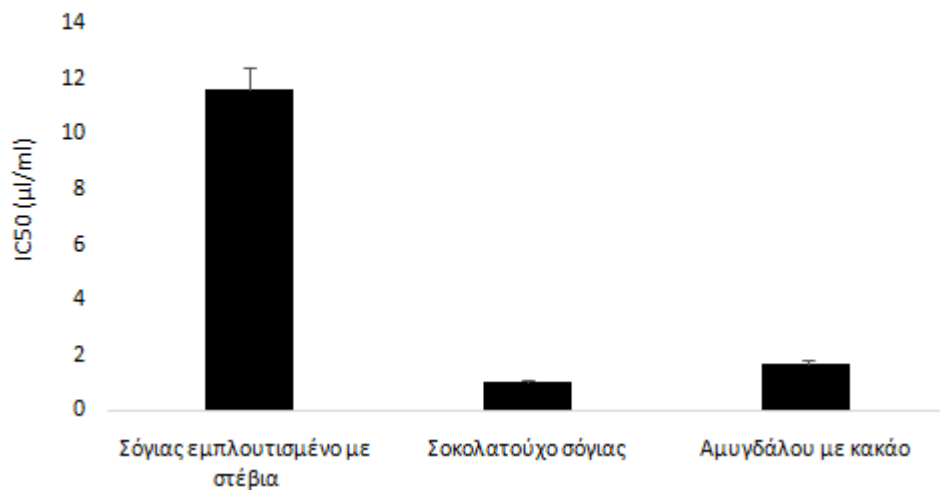
Διάγραμμα 6: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας οσπρίων μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

### Ικανότητα αναστολής της ρίζας ABTS από δείγματα Γαλακτοκομικών



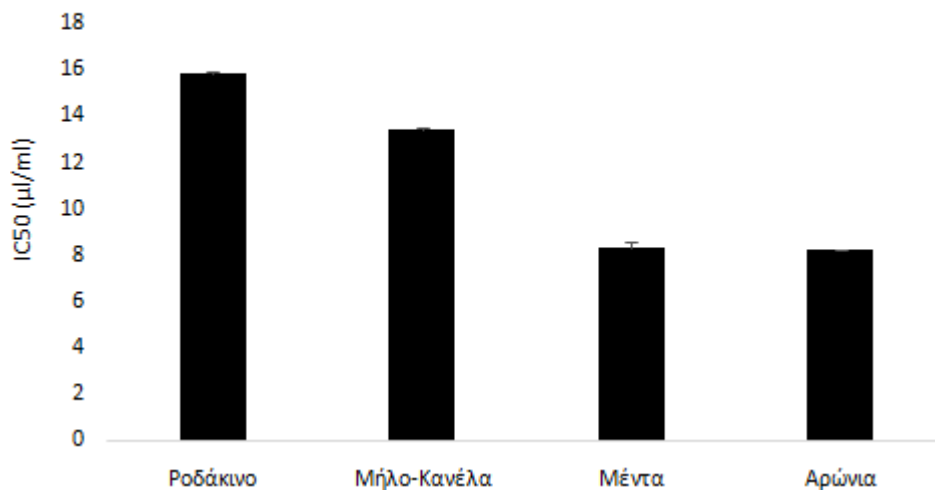
Διάγραμμα 7: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας γάλατος μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

### Ανασταλτική ικανότητα της ρίζας ABTS από δείγματα Φυτικών Γαλακτοκομικών



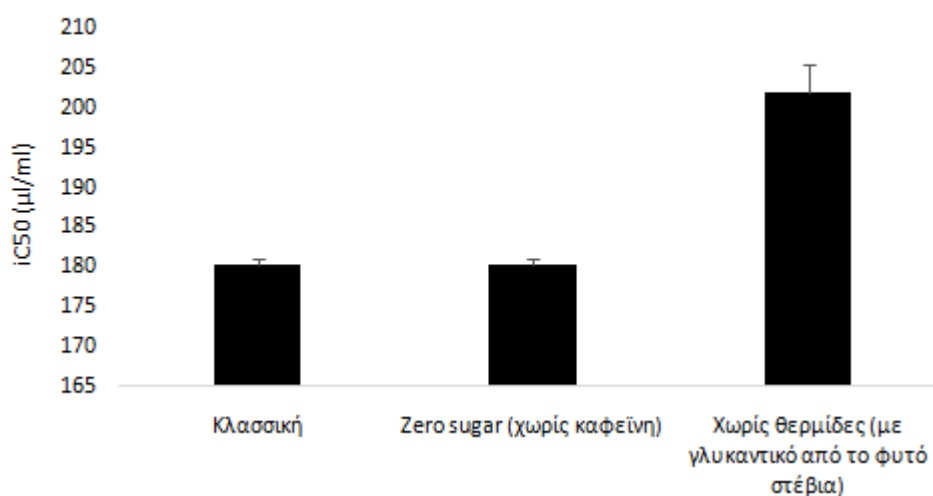
Διάγραμμα 8: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυτικού γάλατος μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

### Ανασταλτική ικανότητα της ρίζας ABTS δειγμάτων "Τσάι του Βουνού"



Διάγραμμα 9: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας τσαγιού του βουνού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε  $IC_{50} \pm SD$

### Ανασταλτική ικανότητα της ρίζας ABTS από δείγματα "αναψυκτικών τύπου Cola"

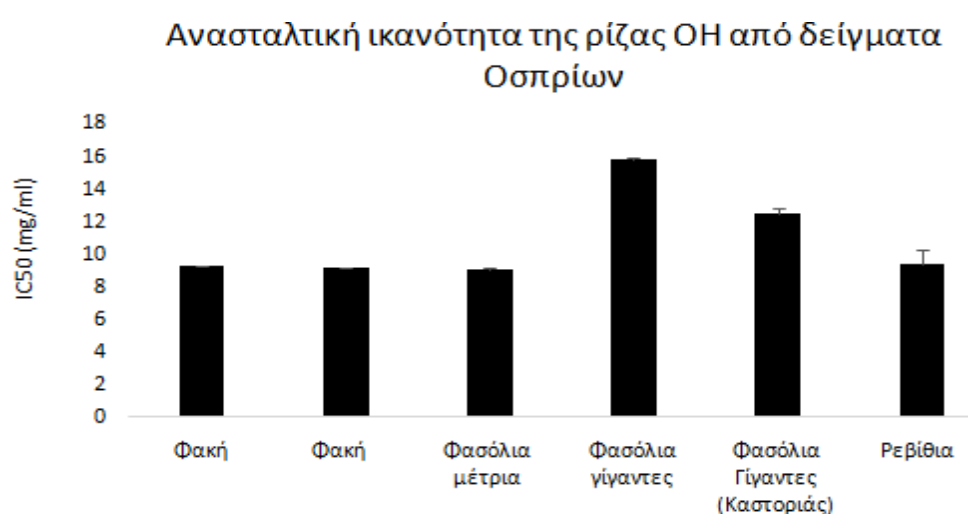


*Διάγραμμα 10: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας αναψυκτικών τύπου Cola μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας ABTS. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC<sub>50</sub>±SD*

Στο διάγραμμα 6 στο οποίο απεικονίζονται τα όσπρια, παρατηρήθηκε ότι η αντιοξειδωτική δράση της φακής και των μέτριων φασολιών είναι σε ίδια περίπου επίπεδα και σημαντικά υψηλότερη από την αντίστοιχη των υπολοίπων οσπρίων με IC<sub>50</sub> μικρότερο των 10 mg/ml. Στο διάγραμμα 7 η υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα αντιστοιχεί στο αγελαδινό πλήρες γάλα με τα υπόλοιπα γάλατα να παρουσιάζουν ολοένα και χαμηλότερη, σε σχέση με αυτό, αντιοξειδωτική δράση. Στα φυτικά γάλατα τα οποία απεικονίζονται στο διάγραμμα 8 ξεχωρίζουν τα σοκολατούχο σόγιας και αμυγδάλου με κακάο γάλατα με ισχυρότερο το πρώτο. Από το διάγραμμα 9 βλέπουμε πως το τσάι αρώνια και το τσάι μέντα είναι σχεδόν στο ίδιο επίπεδο με ισχυρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα έναντι των υπολοίπων. Τέλος στο διάγραμμα 10 παρατηρείται υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα στην κλασσική Cola αλλά και στην zero sugar συγκριτικά με το 3<sup>ο</sup> δείγμα Cola.

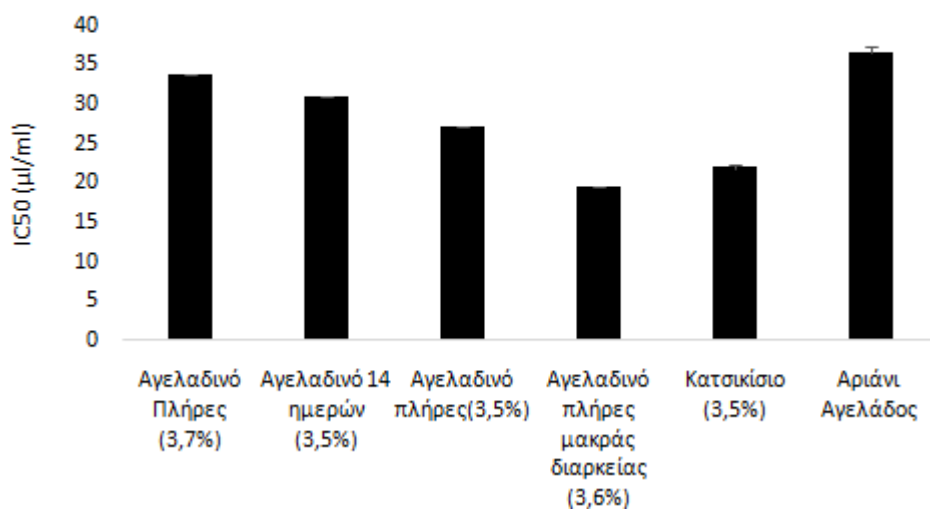
### 4.3 Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής ικανότητας μέσω της μεθόδου αναστολής της ρίζας Hydroxyl Radical (OH<sup>•</sup>)

Μέσω της μεθόδου Hydroxyl Radical έγινε ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας τροφίμων και ροφημάτων που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη εργασία χάρη στην αναστολή της ρίζας υδροξυλίου. Το IC<sub>50</sub>, η συγκέντρωση δηλαδή του δείγματος που εξουδετερώνει το 50% της ρίζας εκφράζει την ελάχιστη αντιοξειδωτική ικανότητα, με τα δείγματα που έχουν χαμηλή τιμή IC<sub>50</sub> να έχουν υψηλότερη δράση. Το IC<sub>50</sub> εκφράστηκε σε mg/ml για τα δείγματα σε στερεή μορφή και σε μl/ml για τα δείγματα σε μορφή υγρού. Πιο αναλυτικά τα δείγματα που μετρήθηκαν ήταν τα όσπρια ( φασόλια, ρεβίθια, φακές ), το γάλα, το τσάι του βουνού καθώς και αναψυκτικά τύπου Cola. Οι συγκεντρώσεις των οσπρίων ήταν 50, 25, 12.5, 6.25 και 3.125mg/ml. Στο γάλα οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 50, 25, 12.5, 6,25, 3.125, 1.56, 0.78, 0.39 και 0.19μl/ml. Οι συγκεντρώσεις στο τσάι ήταν 50, 25, 12.5, 6,25 και 3.125μl/ml και οι αντίστοιχες στα αναψυκτικά τύπου Cola 50, 25, 12.5, 6,25 και 3.125μl/ml.



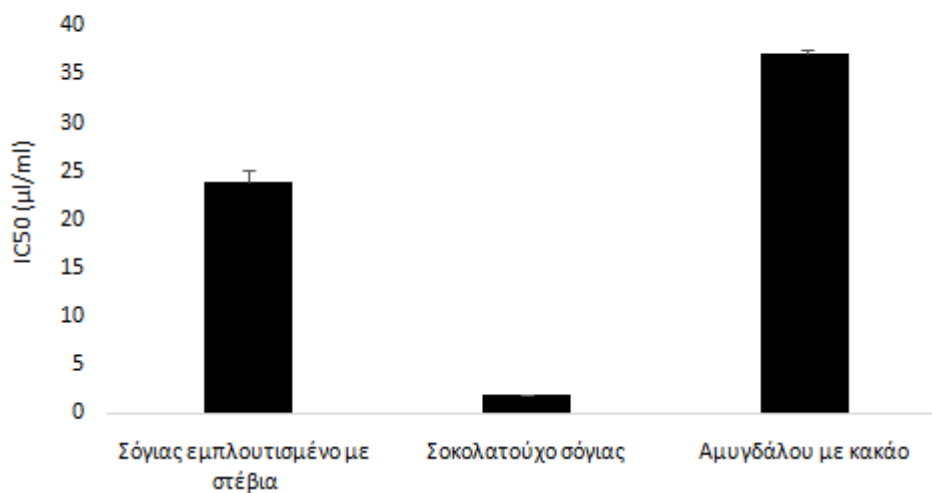
*Διάγραμμα 11: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας οσπρίων μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας OH<sup>•</sup>. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC<sub>50</sub>±SD*

### Ικανότητα αναστολής της ρίζας OH από δείγματα Γαλακτοκομικών



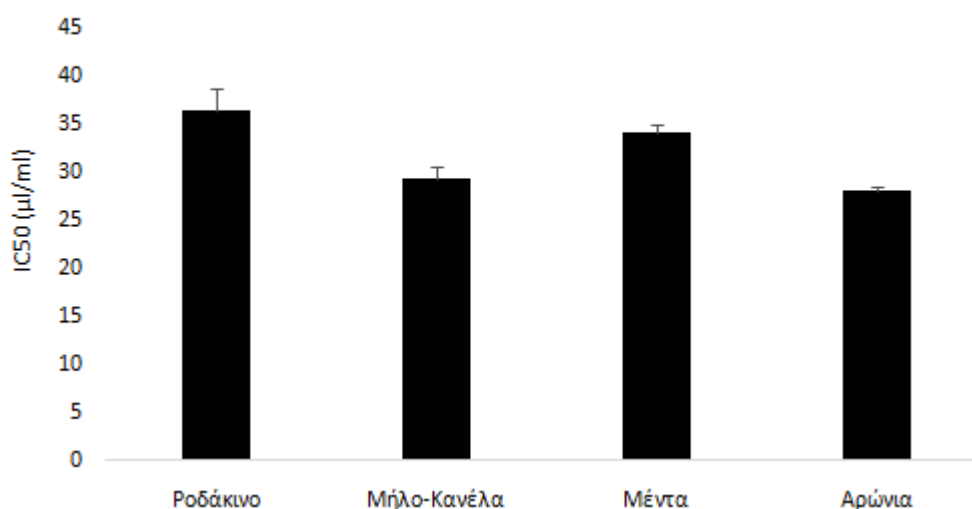
Διάγραμμα 12: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας γάλακτος μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας OH\*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC<sub>50</sub>±SD.

### Ανασταλτική ικανότητα της ρίζας OH από δείγματα Φυτικών Γαλακτοκομικών



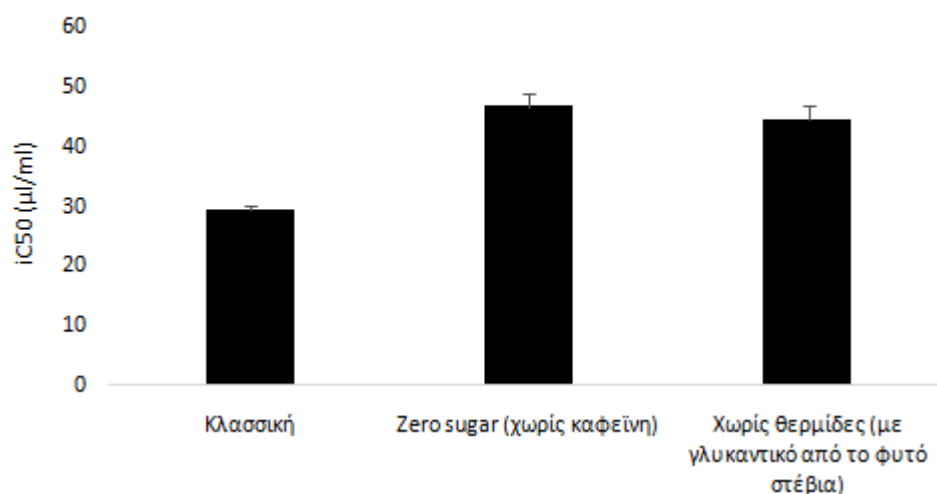
Διάγραμμα 13: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυτικού γάλακτος μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας OH\*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC<sub>50</sub>±SD.

### Ανασταλτική ικανότητα της ρίζας OH δειγμάτων "Τσάι του Βουνού"



Διάγραμμα 14: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας τσαγιού του βουνού μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας OH\*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC<sub>50</sub>±SD.

### Ανασταλτική ικανότητα της ρίζας OH από δείγματα "αναψυκτικών τύπου Cola"



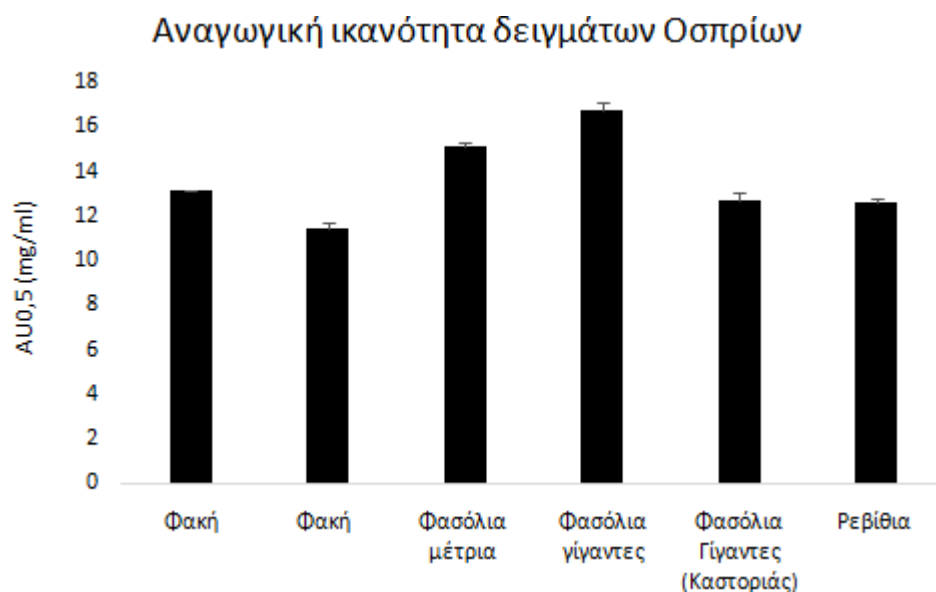
Διάγραμμα 15: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας αναψυκτικών τύπου Cola μέσω της ικανότητας αναστολής της ρίζας OH\*. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε IC<sub>50</sub>±SD.

Στο διάγραμμα 11 απεικονίζονται τα όσπρια με τη φακή και τα μέτρια φασόλια να έχουν ισχυρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα, ενώ τη χαμηλότερη έχουν τα φασόλια γίγαντες. Στα γαλακτοκομικά ξεχωρίζει το αγελαδινό πλήρες μακράς διάρκειας, ακολουθούμενο από το κατσικίσιο. Στα φυτικά γάλατα του διαγράμματος 13 το σοκολατούχο σόγιας παρουσιάζει πολύ ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Όσον αφορά το τσάι του βουνού, η αρώνια και το μήλο-κανέλα είναι ελαφρώς καλύτερα σε σχέση με τα άλλα δύο. Τέλος, η κλασσική Cola στο διάγραμμα 15 παρουσιάζει ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση από τις υπόλοιπες.

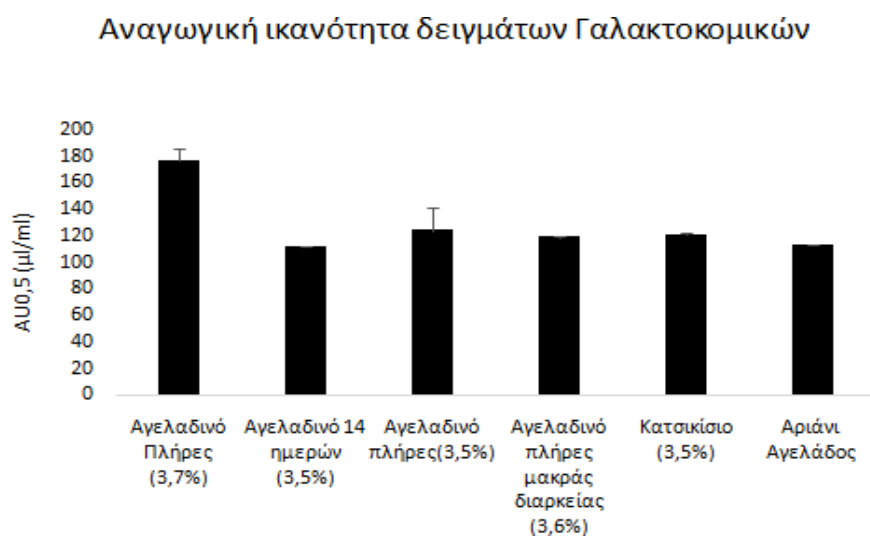
#### **4.4 Μέθοδος προσδιορισμού της Αναγωγική Ικανότητας (Reducing Power assay)**

Η μέθοδος Reducing Power assay σχετίζεται με την αντιοξειδωτική ικανότητα μέσω της εκτίμησης της αναγωγικής ισχύος των προς μελέτη δειγμάτων. Πιο αναλυτικά τα δείγματα που μετρήθηκαν ήταν τα όσπρια (φασόλια, ρεβίθια, φακές) ,το γάλα, το τσάι του βουνού και αναψυκτικά τύπου Cola. Οι συγκεντρώσεις των οσπρίων ήταν 50, 25, 12.5 και 6.25 mg/ml. Στο γάλα οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 150, 100, 50, 25, 12.5 και 6.25 μl/ml, ενώ στο φυτικό γάλα οι συγκεντρώσεις ήταν 3.125, 1.56, 0.78 και 0.39 μl/ml. Οι συγκεντρώσεις στο τσάι ήταν 25, 12.5, 6.25 και 3.125 μl/ml και οι αντίστοιχες στα αναψυκτικά τύπου Cola 150, 100, 50, 25 και 12.5 μl/ml.



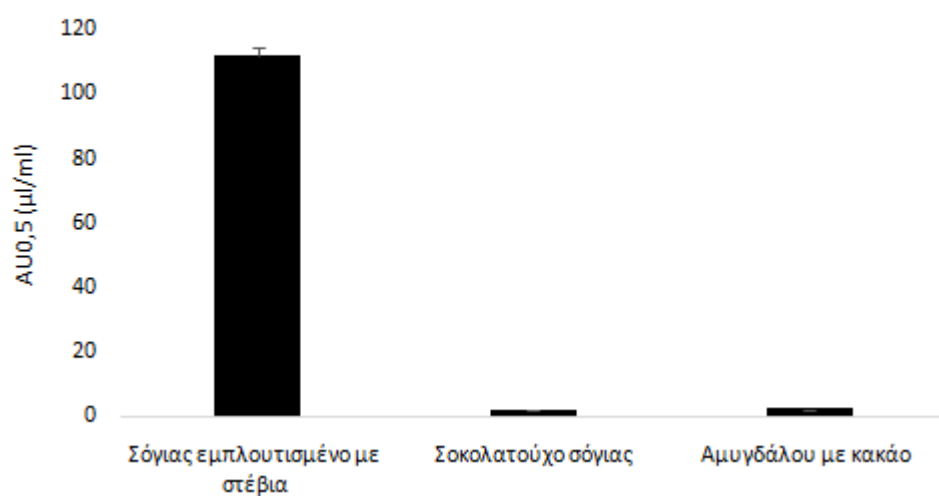


*Διάγραμμα 16: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας οσπρίων μέσω προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε AU<sub>0,5</sub>±SD*



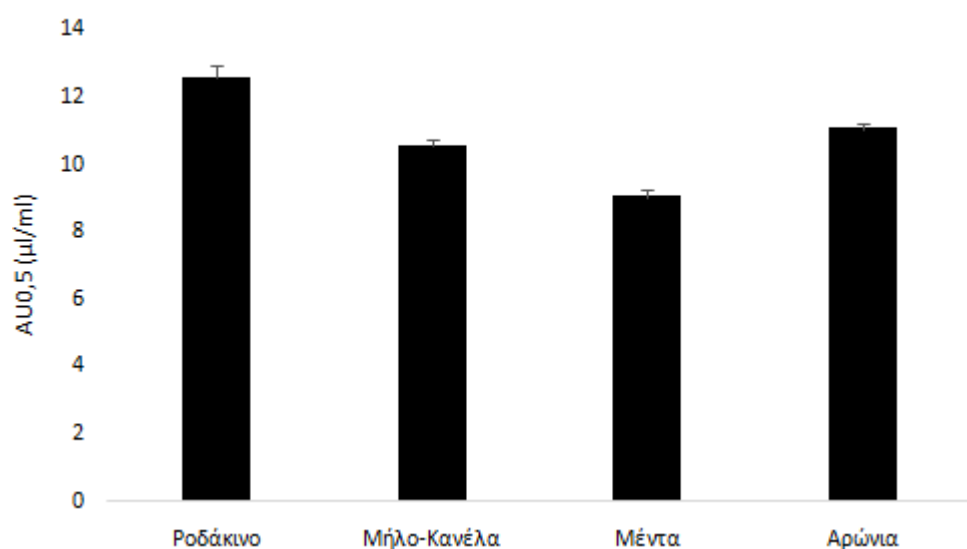
*Διάγραμμα 17: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας γάλακτος μέσω προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε AU<sub>0,5</sub>±SD*

### Αναγωγική ικανότητα Φυτικών Γαλακτοκομικών δειγμάτων

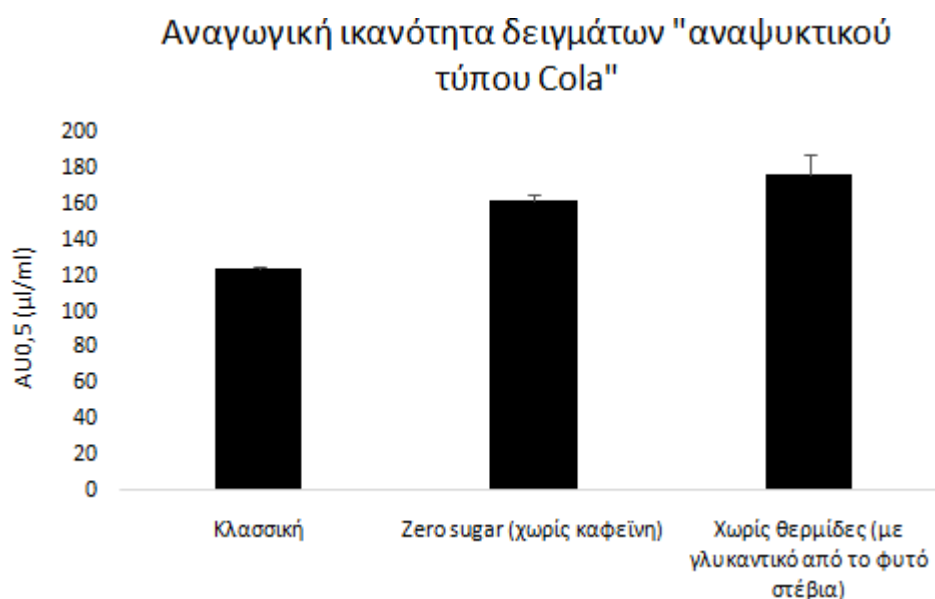


Διάγραμμα 18: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυτικού γάλακτος μέσω προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε AU<sub>0,5</sub>±SD

### Αναγωγική ικανότητα δειγμάτων "Τσάι του Βουνού"



Διάγραμμα 19: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας τσαγιού του βουνού μέσω προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε AU<sub>0,5</sub>±SD



*Διάγραμμα 20: Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας αναψυκτικών τύπου κόλα μέσω προσδιορισμού της αναγωγικής ισχύος. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε AU<sub>0,5</sub>±SD*

Από το διάγραμμα 16 προκύπτει πως η φακή με τα ρεβίθια διατηρούν ισχυρότερη αναγωγική ικανότητα σε σύγκριση με τα υπόλοιπα όσπρια. Στα γαλακτοκομικά του διαγράμματος 17 ξεχωρίζει το αγελαδινό πλήρως ως το γάλα με τη μικρότερη αναγωγική ισχύ. Τα υπόλοιπα γάλατα κυμαίνονται σε παρόμοια επίπεδα με την υψηλότερη αναγωγική ισχύς να την έχει το αριάνι αγελάδος και το αγελαδινό 14 ημερών. Στα φυτικά γάλατα το σοκολατούχο σόγιας και αμυγδάλου με κακάο παρουσιάζουν πολύ υψηλή αναγωγική ικανότητα. Στο διάγραμμα 19 το τσάι μέντας έχει την μεγαλύτερη αναγωγική ισχύς, ενώ τέλος από τα αναψυκτικά κόλα του διαγράμματος 20 η κλασσική είναι αυτή που ξεχωρίζει.

## 5. Συζήτηση

Κατηγορία τροφίμου	Τρόφιμο	DPPH (IC <sub>50</sub> mg/ml)	ABTS (IC <sub>50</sub> mg/ml)	Hydoxyl Radical (IC <sub>50</sub> mg/ml)	Reducing Power (AU <sub>0,5</sub> mg/ml)
Όσπριο	Φακή	6,85±0,34	1,21±0,01	9,23±0,03	13,13±0,001
	Φακή	5,91±0,05	1,21±0,02	9,16±0,01	11,46±0,24
	Φασόλια μέτρια	12,28±0,17	1,29±0,05	9,05±0,09	15,16±0,16
	Φασόλια γίγαντες	14,24±0,81	6,51±0,09	15,84±0,12	16,75±0,4
	Γίγαντες (Καστοριάς)	11,25±0,05	7,22±2,02	12,52±0,29	12,66±0,43
	Ρεβίθια	12,29±0,08	7,67±1,51	9,41±0,83	12,57±0,21

Πίνακας 6: Συνολικά αποτελέσματα οσπρίων

Κατηγορία Τροφίμου	Τρόφιμο	DPPH (IC <sub>50</sub> μl/ml)	ABTS (IC <sub>50</sub> μl/ml)	Hydoxyl Radical(I C <sub>50</sub> μl/ml)	Reducing Power (AU0.5 μl/ml)
Ζωικό Γάλα	Αγελαδινό Πλήρες (3,7%)	147,5±12,3	4,68±0,03	33,7±2,76	177,38±8,04
	Αγελαδινό 14 ημερών (3,5%)	113±3,12	6,71±0,79	30,89±0,71	111,63±1,13
	Αγελαδινό πλήρες(3,5 %)	135,7±5,24	11,32±0,94	27,09±1,98	124,2±16,76
	Αγελαδινό πλήρες μακράς διάρκειάς (3,6%)	157,5±13,7	12,88 ±3,46	19,48±2,13	119,13±0,88
	Κατσικίσιο (3,5%)	145,09±9,8	14,15±1,52	21,92±1,98	120,88±1,13
	Αριάνι Αγελάδος	151,6±6,03	20,93±0,92	36,51±1,91	113,38±0,38

<b>Φυτικό Γάλα</b>	<b>Σόγιας εμπλουτισ- μένημε στέβια</b>	100,15±4,7	11,63±0,82	23,91±1,22	111,88±2,38
	<b>Σοκολατού- χο σόγιας</b>	4,44±0,24	1,03±0,13	1,87±0,04	2,03±0,05
	<b>Αμυγδάλου με κακάο</b>	4,93±0,27	1,69±0,17	37,08±0,52	2,24±0,03
<b>Τσάι του Βουνού</b>	<b>Ροδάκινο</b>	23,19±1,25	15,87±0,88	36,51±2,24	12,58±0,37
	<b>Μήλο- Κανέλα</b>	17,22±1,33	13,42±0,11	29,35±1,22	10,55±0,2
	<b>Μέντα</b>	16,22±0,17	8,34±0,24	34,22±0,81	9,03±0,23
	<b>Αρώνια</b>	15,25±0,18	8,23±0,04	28,18±0,36	11,07±0,17
<b>Αναψυκτι- κό τύπου Cola</b>	<b>Κλασσική</b>	133,6±4,21	174,5±0,64	29,35±0,73	123,75±1,5
	<b>Zerosugar (χωρίς καφεΐνη)</b>	137,3±7,01	180,4±0,64	46,79±2,15	162,5±2,5
	<b>Χωρίς θερμίδες (με στέβια)</b>	115,61±6,7	202,±3,38	44,73±2,14	176,2±12,2

Πίνακας 7: Συνολικά αποτελέσματα γαλακτοκομικών, τσάι και αναψυκτικού τύπου Cola.

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα ορισμένων τροφίμων και ροφημάτων με τη χρήση τεχνικών *in vitro*. Τα τρόφιμα και τα ροφήματα που μελετήθηκαν αναγράφονται αναλυτικά στους πίνακες 6 και 7. Στους πίνακες αυτούς αναγράφονται επίσης οι τιμές IC<sub>50</sub>, όλα τα δείγματα και μέθοδοι με βασική αρχή την αναστολή της δράσης κάποιας ρίζας (DPPH•, ABTS• και OH•) αλλά και οι τιμές AU<sub>0.5</sub> που αφορούν την ικανότητα αναγωγής του Fe<sup>3+</sup> σε Fe<sup>2+</sup> το οποίο διερευνήθηκε μέσω της μεθόδου Reducing Power.

Η εφαρμογή των προαναφερθέντων μεθόδων στα όσπρια για την αποτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας παρουσίασε αποτελέσματα σε παρόμοια επίπεδα με τις φακές να παρουσιάζουν την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα στις περισσότερες περιπτώσεις. Συγκεκριμένα, η φακή παρατηρήθηκε ότι έχει τη

χαμηλότερη τιμή  $IC_{50}$  (6mg/ml) και άρα την ισχυρότερη ανασταλτική δράση της ρίζας DPPH• σε σύγκριση με τα υπόλοιπα όσπρια. Τα ρεβίθια και τα φασόλια γίγαντες έχουν τις υψηλότερες τιμές  $IC_{50}$  (12,3mg/ml και 14,2mg/ml αντίστοιχα) και επομένως τη χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια και στην μέθοδο ABTS όπου οι φακές διατηρούν την υψηλότερη ανασταλτική δράση της ρίζας ABTS• με τιμή  $IC_{50}$  1,2mg/ml, ενώ σε αυτή τη μέθοδο και τα μέτρια φασόλια έχουν χαμηλή τιμή  $IC_{50}$  (1,3mg/ml). Όμοια είναι και η αναστολή της ρίζας OH• από τις φακές και τα μέτρια φασόλια σε σύγκριση με τα υπόλοιπα όσπρια. Όσον αφορά την αναγωγική ισχύ τα δείγματα δε παρουσίασαν κάποια ιδιαίτερη διακύμανση μεταξύ τους, αφού όλες οι τιμές  $AU_{0,5}$  κυμαίνονται στο εύρος 11-16mg/ml.

Η Ινδία είναι από τις χώρες με τη μεγαλύτερη παραγωγή και κατανάλωση οσπρίων. Σύμφωνα, με μελέτες σε ερευνητικό κέντρο στη Μουμπάι (24), παρατηρήθηκε ότι μεταξύ 30 ειδών οσπρίων το κοινό φασόλι έχει υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα, ενώ το ρεβίθι σχετικά χαμηλή κάτι που παρατηρήθηκε και στα αποτελέσματα της δικής μας μελέτης. Η αντιοξειδωτική ικανότητα της φακής διακυμάνθηκε σε ένα ενδιάμεσο επίπεδο συγκριτικά με τα υπόλοιπα όσπρια, εν αντιθέσει με τις παρούσες μετρήσεις όπου τα δείγματα φακής παρουσίασαν την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα συγκριτικά με τα υπόλοιπα όσπρια. Τα αποτελέσματα αυτά προήλθαν από πειράματα των συγκεκριμένων οσπρίων με τις μεθόδους DPPH και ABTS. Παρόμοια έρευνα (25) Πανεπιστημίου της Ινδίας σε συνεργασία με ινστιτούτο της Γερμανίας έδειξε και πάλι χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα του ρεβιθιού σε σχέση με άλλα όσπρια, ενώ αντίθετα τα φασόλια είχαν και πάλι υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Επίσης, στα αποτελέσματα της ίδιας μελέτης παρατηρήθηκε χαμηλότερη αναγωγική ικανότητα του ρεβιθιού σε σχέση με τα υπόλοιπα όσπρια.

Οι ίδιες τεχνικές εφαρμόστηκαν και στα γαλακτοκομικά τα οποία αφορούν τόσο ζωικά όσο και φυτικά γάλατα. Όσον αφορά την πρώτη κατηγορία, μέσω της μεθόδου DPPH φάνηκε ότι το αγελαδινό γάλα 14 ημερών είναι ικανό να εξουδετερώσει τη ρίζα με τη χαμηλότερη ποσότητα δείγματος συγκριτικά με τα υπόλοιπα δείγματα της ίδιας κατηγορίας, τα οποία ήταν στο ίδιο επίπεδο με μικρές διαφορές. Η μέθοδος ABTS παρουσίασε διαφοροποίηση στα ζωικά γαλακτοκομικά. Ειδικότερα, το αγελαδινό πλήρες είναι εκείνο με την χαμηλότερη τιμή  $IC_{50}$ , όπως και

το αγελαδινό 4 ημερών το οποίο παρουσίασε παρόμοια δράση. Κατά την εφαρμογή της τεχνικής της ρίζας OH•, το γάλα με τη χαμηλότερη τιμή IC<sub>50</sub> είναι το αγελαδινό πλήρες μακράς διάρκειας με το κατσικίσιο να ακολουθεί. Το αγελαδινό πλήρες είναι στο ίδιο επίπεδο με αυτό του DPPH, ωστόσο στο ABTS είχε ισχυρότερη δράση. Τέλος, στην τεχνική της αναγωγικής ισχύος, τα γαλακτοκομικά κυμαίνονται σε σχετικά ίδια επίπεδα εκτός του αγελαδινού πλήρους που είχε την υψηλότερη τιμή AU<sub>0,5</sub> κατ' επέκταση και τη χαμηλότερη Αναγωγική Ικανότητα.

Η καζεΐνη θεωρείται ως ένας από τους σημαντικότερους αντιοξειδωτικούς παράγοντες του γάλακτος και έχει συσχετιστεί με την αντιοξειδωτική ικανότητα του (11). Έρευνες σε πανεπιστήμια της Νότιας Κορέας (26) και της Τουρκίας(27) έδειξαν με τη χρήση της μεθόδου ABTS πως η αντιοξειδωτική ικανότητα του γάλακτος αυξάνεται με την υδρόλυση της καζεΐνης. Επιπλέον, πειράματα από το πανεπιστήμιο της Πάντοβα στην Ιταλία με τη χρήση της μεθόδου ABTS έδειξαν υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα του μερικώς αποβουτυρωμένου γάλακτος σε σύγκριση με το μη αποβουτυρωμένο γάλα (28).

Σχετικά με τα φυτικά γαλακτοκομικά σε όλες τις μεθόδους επικράτησε το ίδιο μοτίβο όσον αφορά τις διαφορές στη δραστικότητα μεταξύ των δειγμάτων. Πιο συγκεκριμένα το γάλα σόγιας εμπλουτισμένο με στέβια παρουσίασε σημαντικά υψηλότερες τιμές IC<sub>50</sub>(μέθοδοι ABTS, DPPH) και AU<sub>0,5</sub> (μέθοδος Reducing Power)άρα τη χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα έναντι των υπολειπόμενων 2 δειγμάτων. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη περιεκτικότητα των εν λόγω δειγμάτων σε κακάο, καθώς μελέτες έχουν δείξει τη σημαντική αντιοξειδωτική του ικανότητα. Πιο συγκεκριμένα, έχει βρεθεί πως το κακάο αποτελεί σημαντική πηγή αντιοξειδωτικών και μάλιστα περιέχει περισσότερα φλαβονοειδή ακόμα και από το τσάι, γεγονός που κάνει το κακάο σημαντικό αντιοξειδωτικό. Περιέχει ακόμα αζωτούχες ενώσεις και μεταλλικά στοιχεία όπως κάλιο, φωσφόρος, σίδηρος, ψευδάργυρος και μαγνήσιο (38). Οι ευεργετικές ιδιότητες του κακάο μελετήθηκαν σε Ινδικούς πληθυσμούς των νησιών του Παναμά όπου βρέθηκε πως λόγω της συχνής κατανάλωσης κακάο οι κάτοικοι δεν εμφάνιζαν συχνά ασθένειες όπως αθηροσκλήρωση, διαβήτη τύπου 2 και υπέρταση. Επιπλέον, έρευνα στην Ολλανδία σε ανθρώπους ηλικίας 65-84 χρονών έδειξε πως η κατανάλωση κακάο οδηγούσε σε μείωση της πίεσης του αίματος, πιθανόν λόγω βιοδιαθεσιμότητας οξειδίου του αζώτου (NO), αλλά και στεατικού οξέος (38).

Όσον αφορά το τσάι του βουνού, σε όλες τις μεθόδους το τσάι ροδάκινο είχε την υψηλότερη τιμή τόσο  $IC_{50}$  (23μl/ml, 16μl/ml, 36.5μl/ml) όσο και  $AU_{0,5}$  (12.6μl/ml) εμφανίζοντας έτσι μικρότερη δράση σε σύγκριση με τις υπόλοιπες κατηγορίες τσαγιού. Το τσάι αρώνια και το τσάι μέντα ήταν σε παρόμοια επίπεδα στις πρώτες δύο τεχνικές, DPPH και ABTS (16μl/ml στο DPPH) ωστόσο παρουσίασαν και τα δύο μεγαλύτερη δραστηριότητα στην αναστολή της ρίζας ABTS με σχεδόν μισή τιμή  $IC_{50}$  (8μl/ml). Στην αναστολή της ρίζας  $OH\cdot$  τη μεγαλύτερη δράση είχαν το τσάι μήλο-κανέλα και αρώνια. Ακόμα, το τσάι με τη μεγαλύτερη αναγωγική ισχύ ήταν η μέντα αν και όλες οι κατηγορίες τσαγιού είναι σε υψηλές τιμές  $IC_{50}$ . Από τα πειράματα διαπιστώθηκε ότι όλες οι γεύσεις του τσαγιού του βουνού κυμαίνονταν σε περίπου ίδια επίπεδα τιμών  $IC_{50}$ , οπότε πιθανόν οι γεύσεις των φρούτων έχουν ελάχιστη συνεισφορά στην αντιοξειδωτική δράση του τσαγιού *Sideritis scardica* πιθανόν λόγω χαμηλής περιεκτικότητας των φρούτων στο τσάι του βουνού.

Μελέτες σε ιστιτούτο της Ισπανίας και σε πανεπιστήμιο των Σκοπίων πραγματοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας μεταξύ δύο ειδών τσαγιού του βουνού και πιο συγκεκριμένα, το *Sideritis scardica* και το *Sideritis raeseri* (29). Χρησιμοποιήθηκαν εκχυλίσματα από φύλλα, άνθος και μίσχο του φυτού. Με τη βοήθεια των τεχνικών DPPH και ABTS παρατηρήθηκε υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα στα εκχυλίσματα από φύλλα του *Sideritis scardica*, σε σύγκριση με τα εκχυλίσματα από άνθος και μίσχο του ίδιου φυτού. Σε παρόμοιο συμπέρασμα κατέληξαν ερευνητές από ιστιτούτο της Βουλγαρίας (30). Με εφαρμογή της μεθόδου DPPH συμπέραναν πως τα εκχυλίσματα του *Sideritis scardica* έχουν υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως άμυνα εναντίον των ελευθέρων ριζών.

Οι γεύσεις του τσαγιού που μελετήθηκαν σε αυτή την εργασία ήταν το ροδάκινο, το μήλο, η μέντα και η αρώνια. Ενώ η βιταμίνη C θεωρείται σημαντικός αντιοξειδωτικός παράγοντας, μελέτες έδειξαν πως συνεισφέρει λιγότερο από 15% στη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του μήλου (34). Επιπλέον, έρευνες από συνεργασία πανεπιστημίου της Νέας Υόρκης και πανεπιστημίου της Σεούλ, έδειξαν



πως οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του μήλου οφείλονται κυρίως στη συνεργασία φαινολικών ενώσεων (33). Επίσης, μέσω της μεθόδου ABTS βρέθηκε ότι το φλαβονοειδές κουερσετίνη έχει την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τα υπόλοιπα συστατικά του μήλου με αντιοξειδωτικές ιδιότητες.(33)Από τις έρευνες αυτές οι ερευνητές συμπέραναν πως διαφορετικές ποικιλίες του μήλου έχουν διαφορετικό φαινολικό περιεχόμενο ενώ διάφορα φαινολικά έδειξαν διαφορετική αντιοξειδωτική ικανότητα. Αυτός είναι πιθανόν ο λόγος που το μήλο δε φαίνεται να έχει σημαντική επίδραση στην συνολική αντιοξειδωτική δράση του *Sideritis scardica*. Το ροδάκινο αποτελεί ακόμα μία πηγή αντιοξειδωτικών. Στις κύριες φαινολικές ενώσεις του περιλαμβάνονται καφεϊκό οξύ, χλωρογενικό οξύ, λευκοανθοκυανίνες, κατεχίνες και φλαβονόλες. Άλλα αντιοξειδωτικά που βρίσκονται στα ροδάκινα περιλαμβάνουν ασκορβικό οξύ και καροτενοειδή. Ωστόσο, η περιεκτικότητα σε ασκορβικό οξύ και καροτενοειδή στα ροδάκινα είναι σχετικά χαμηλή και πιθανόν να είναι ένας λόγος που το τσάι ροδάκινο εμφανίζει ελαφρώς χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από τα υπόλοιπα είδη τσαγιού που μελετήθηκαν σε αυτή την εργασία (35). Σε πανεπιστήμιο του Καναδά εξετάστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα της μέντας όπου βρέθηκε πως τα φύλλα έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα βασιζόμενοι στα αποτελέσματα των μεθόδων DPPH και Reducing Power. Οι φαινολικές ενώσεις ήταν αυτές που προσέδιδαν στη μέντα τις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες (36). Ωστόσο, όπως φαίνεται από τα πειράματα αυτής της εργασίας η μέντα έχει και αυτή μικρή συνεισφορά στο τσάι καθώς όλα τα είδη τσαγιού βρίσκονται περίπου στο ίδιο επίπεδο. Η καλλιέργεια της αρώνιας γίνεται πιο δημοφιλής επειδή τα συστατικά του φυτού περιέχουν πολλές χρήσιμες βιοδραστικές ενώσεις. Το φυτό αρώνια είναι γνωστό ότι είναι μία από τις πλουσιότερες φυσικές πηγές πολυφαινολών όπως του δροξυκιναμικού οξέος, οι φλαβονόλες και η ανθοκυανίνη. Για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης της αρώνιας σε πανεπιστήμιο της Νότιας Κορέας χρησιμοποιήθηκαν οι μέθοδοι DPPH, ABTS και Reducing Power.(37)Από εκχυλίσματα φύλλων σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης (2 και 4 μηνών) διαπιστώθηκε πως τα φύλλα 2 μηνών είχαν υψηλότερη εξουδετέρωση τόσο της ρίζας DPPH• όσο και της ρίζας ABTS• (37). Παρά τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες και της αρώνιας και εδώ ισχύει ότι και παραπάνω, δηλαδή η αρώνια φαίνεται να έχει μικρή συνεισφορά στην συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του *Sideritis scardica* πιθανόν λόγω χαμηλής περιεκτικότητας του συστατικού στο τσάι

(37).

Οι μέθοδοι DPPH, ABTS, HydroxylRadical και ReducingPower χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των αναψυκτικών τύπου Cola. Αρχικά, στη μέθοδο του DPPH, η Cola χωρίς θερμίδες εμποτισμένη με γλυκαντικό από το φυτό στέβια, παρουσίασε πιο ισχυρή ανασταλτική δράση της ρίζας (115  $\mu\text{l/ml}$ ) σε σχέση με τα άλλα είδη αν και οι τιμές του  $\text{IC}_{50}$  ήταν σχετικά υψηλές (133 $\mu\text{l/ml}$  και 137 $\mu\text{l/ml}$ ). Αντίθετα, όσον αφορά την αναστολή της ρίζας ABTS• η κλασσική ColaZero ήταν πιο ισχυρή από την Cola εμποτισμένη με στέβια(174 $\mu\text{l/ml}$ έναντι200 $\mu\text{l/ml}$ ).ΗκλασσικήColaείχεκαιπάλιτηχαμηλότερητιμή  $\text{IC}_{50}$ άρακαιτηνυψηλότερηαντιοξειδωτικήικανότηταστηνμέθοδοπουαφοράτηρίζα  $\text{OH}\cdot$ . Η ColaZero και η Cola χωρίς θερμίδες είχαν παρόμοιες τιμές  $\text{IC}_{50}$  (45 $\mu\text{l/ml}$  και 47 $\mu\text{l/ml}$ αντίστοιχα) συγκριτικά με τη κλασσική που παρουσίασε ισχυρότερη αντιοξειδωτική Τέλος, η Cola με την υψηλότερη ικανότητα αναγωγής του  $\text{Fe}^{3+}$ σε  $\text{Fe}^{2+}$ είναι η κλασσική. Σε κάθε μέθοδο, δηλαδή διαφορετικό είδος αναψυκτικού τύπου Cola έχει ισχυρότερη δράση.

Η κόλα ανήκει σε μια κατηγορία αναψυκτικών η οποία περιέχει κυρίως νερό, ζάχαρη, καφεΐνη, χρωστικές και κιτρικό οξύ. Η καφεΐνη είναι γνωστό πως με μακροχρόνια και υπερβολική κατανάλωση αυξάνει την αρτηριακή πίεση. Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει, επίσης, πως η πρόσληψη καφεΐνης (κάτω από 600 mg / ημέρα) προκαλεί ήπιες, παροδικές και αναστρέψιμες, καρδιαγγειακές επιδράσεις, χωρίς διαρκείς δυσμενείς επιπτώσεις (31). Καθώς η δημοτικότητα αυτού του τύπου αναψυκτικών ολοένα αυξάνεται, και η υπερκατανάλωση καφεΐνης και ζάχαρης οδηγεί σε πιθανά προβλήματα υγείας, αναπτύσσονται διαφορετικές μορφές των ποτών αυτών που περιέχουν χυμούς φρούτων, βιταμίνες, όπως η βιταμίνη C και εκχυλίσματα φυτών τα οποία μπορούν να αυξήσουν την αντιοξειδωτική ικανότητα αυτών των ποτών (31). Ειδικότερα, σε πανεπιστήμιο της Πολωνίας διεξήχθη έρευνα σύγκρισης αντιοξειδωτικής ικανότητας κλασσικών ποτών τύπου Cola και ποτών που είχαν εμπλουτισθεί με τις προαναφερθέντες ουσίες. Με τη χρήση των μεθόδων DPPH και ABTS οι ερευνητές συμπέραναν πως τα, εμπλουτισμένα με χυμούς φρούτων ή φυσικές χρωστικές, αναψυκτικά τύπου Cola είχαν υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με τα κλασσικά. Τα εμπλουτισμένα ποτά τύπου Cola, που είχαν

την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα από όλα τα δείγματα περιείχαν τζίνσενγκ, ένα Ασιατικό φυτό με θεραπευτικές ιδιότητες , καροτενοειδή, ασκορβικό οξύ και διάφορους τύπους χυμών φρούτων όπως, μήλο και ανανά. Επιπλέον, έρευνες σε Πανεπιστήμιο του Μιλάνου έδειξαν σχετικά χαμηλή αντιοξειδωτική ικανότητα κλασσικών ποτών τύπου Cola σε σύγκριση με ποτά παρόμοιου τύπου (32). Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τα ευρήματα αυτής της εργασίας καθώς από τα πειράματα προκύπτει πως η κλασσική Cola έχει ισχυρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με τα άλλα αναψυκτικά Cola, ενώ η Cola εμπλουτισμένη με στέβια έχει τη χαμηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

Συμπερασματικά, από τη συγκεκριμένη εργασία προκύπτει ότι ένα σημαντικό μέρος τροφίμων και ροφημάτων που αποτελούν τμήμα της διατροφής των ανθρώπων στις μέρες μας , όπως τα όσπρια, το γάλα, το τσάι και τα αναψυκτικά τύπου Cola, έχουν, το καθένα σε διαφορετικά επίπεδα αντιοξειδωτική ικανότητα, δηλαδή την ικανότητα να αναστείλουν τη δράση των δυνητικά βλαβερών για τον οργανισμό ελευθέρων ριζών. Παρόμοιες έρευνες έχουν διεξαχθεί και σε διάφορα πανεπιστήμια και ινστιτούτα του κόσμου τα οποία επιβεβαιώνουν την ύπαρξη αντιοξειδωτικής ικανότητας στα συγκεκριμένα είδη τροφίμων αλλά και ροφημάτων.

Τέλος, επιπλέον μελέτες θα μπορούσαν να διερευνήσουν εκτενέστερα την αντιοξειδωτική ικανότητα των εν λόγω τροφίμων και πιθανώς κάποιων συστατικών στα οποία μπορεί να οφείλεται αυτή η ικανότητα με σκοπό τη βελτίωση τους αφού όπως έχει ήδη αναφερθεί είναι προϊόντα που χρησιμοποιούνται ευρέως στη διατροφή των ανθρώπων.

## 6. Βιβλιογραφία

1. Cristina-Mihaela Lăcătuș, Elena-Daniela Grigorescu, Mariana Floria, Alina Onofriescu and Bogdan-Mircea Mihai, The Mediterranean Diet: From an Environment-Driven Food Culture to an Emerging Medical Prescription, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, p:1-3, 9-10,2018
2. Diego Rubiales, Susana S. Araújo, Maria C. Vaz Patto<sup>2</sup>, Nicolas Rispaill , Oswaldo Valdés-López , Editorial: Advances in Legume Research, *frontiers in Plant Science*, p: 1-2,2018
3. Stephen E. Beebe, Idupulapati M. Rao, Matthew W. Blair and Jorge A. Acosta-Gallegos, Phenotyping common beans for adaptation to drought, *Frontiers in Physiology*, p: 1-2, 2013
4. Stephen E. Beebe, Idupulapati M. Rao, Matthew W. Blair, Jorge A. Acosta-Gallegos, Phenotyping common beans for adaptation to drought, *frontiers in Physiology*, p: 1, 2013
5. Qiong-Qiong Yang , Ren-You Gan , Ying-Ying Ge, Dan Zhang, Harold Corke , Ultrasonic Treatment Increases Extraction Rate of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Antioxidants, *MDPI*, p:1-2, 2019
6. Rebecca S. Zwart, Mahendar Thudi, Sonal Channale , Praveen K. Manchikatl , Rajeev K. Varshney, John P. Thompson, Resistance to Plant-Parasitic Nematodes in Chickpea: Current Status and Future Perspectives, *frontiers in Plant Science*, p:1-2,2019
7. R. Purushothamana, H.D. Upadhyaya, P.M. Gaur a, C.L.L. Gowda, L. Krishnamurthya, Kabuli and desi chickpeas differ in their requirement for reproductive duration, *Field Crops Research*, p:1-2,2014
8. A. K. Jukanti , P. M. Gaur, C. L. L. Gowda, R. N. Chibbar, Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review, *British Journal*

- of Nutrition, p: 12-13, Kumar Ganesan, BaojunXu, Polyphenol-Rich Lentils and Their Health Promoting Effects, International Journal of Molecular Sciences, p:1-3-7,2017
9. Stephanie Clark and María Bárbara Mora García, A 100-Year Review: Advances in goat milk research, J. Dairy Sci., p: 10026–10044,2017
  10. OlleHernell,HumanMilkvs.Cow’sMilkandtheEvolutionofInfantFormulas, p:17-22, 2011
  11. Anthony Fardet, Edmond Rock, In vitro and in vivo antioxidant potential of milks, yoghurts, fermented milks and cheeses: a narrative review of evidence, Nutrition Research Reviews, p: 54-55,2018
  12. Francesca Danesi, Shikha Saha, Paul A Kroon, MarijaGlibetic, Aleksandra Konic-Risti, Luigi F D’Antuonoa, Alessandra Bordonía, Bioactive-rich Sideritisscardica tea (mountain tea) is as potent as Camellia sinensis tea at inducing cellular antioxidant defences and preventing oxidative stress, Journal of the Science of Food and Agriculture, p: 3558-3559,2012
  13. Emma L. Wightman, Philippa A. Jackson, Julie Khan, Joanne Forster, Felix Heiner ,Bjoern Feistel, Cynthia G. Suarez , Ivo Pischel, David O. Kennedy, The Acute and Chronic Cognitive and Cerebral Blood Flow Effects of a Sideritisscardica (Greek Mountain Tea) Extract: A DoubleBlind, Randomized, Placebo Controlled, Parallel Groups Study in Healthy Humans, MDPI-nutrients, p: 1-3,2018
  14. ĽubomíraTóthova, JúliusHodosy, Kathryn Mettenburg , Helena Fábryová , Alexandra Wagnerová, JankaBábíċková , Monika Okuliarová , MichalZeman ,PeterCelec,NoharmfuleffectofdifferntCoca-colabeveragesafter6months of intake on rat testes, Food and Chemical Toxicology, p: 343-344,2013
  15. M. Valko, C.J. Rhodes b, J. Moncol, M. Izakovic, M. Mazur, Free radicals, metalsandantioxidantsinoxidativestress-inducedcancer,Chemico-Biological Interactions, p:1-2-3,2006
  16. Gabriele Pizzino, Natasha Irrera, MariapaolaCucinotta, Giovanni Pallio,FedericaMannino, Vincenzo Arcoraci, Francesco Squadrito, Domenica Altavilla, Alessandra Bitto, Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health, Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health, p: 2-3,2017
  17. 2012

18. Jacob Vaya, Michael Aviram, Nutritional Antioxidants: Mechanisms of Action, Analyses of Activities and Medical Applications, Bentham Science Publishers Ltd, p:99-104
19. César G. Fraga, Kevin D. Croft, David O. Kennedy, Francisco A. Tomás-Barberán, The effects of polyphenols and other bioactives on human health, The Royal Society of Chemistry, 2019
20. W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier and C. Berset, Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, Food Sci. Technol. 28p: 25-30, 1995
21. Nicholas J. Miller, Catherine Rice-Evans, Michael J. Davies, Vimala Gopinathan and Anthony Milner, A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, Clinical Science, p: 407-412, 1993
22. Chung S.K, Osawa T., Kawakishi S. Hydroxyl radical scavenging effects of species and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). Biosci. Biotechnol. Biochem., 61, 118-123, 1997
23. Gow-Chin Yen, Pin-Der Duh, Scavenging Effect of Methanolic Extracts of Peanut Hulls on Free-Radical and Active-Oxygen Species, J. Agric. Food Chem, p: 629-632, 1994
24. Sushama A. Marathe, V. Rajalakshmi, Sahayog N. Jamdar, Arun Sharma, Comparative study on antioxidant activity of different varieties of commonly consumed legumes in India, Food and Chemical Toxicology 49, p: 2005-2012, 2011
25. Hardeep Singh Gujral, Paras Sharma, Neha Gupta, and Ali Abbas Wani, Antioxidant Properties of Legumes and Their Morphological Fractions as Affected by Cooking, Food Sci. Biotechnol. 22(1), p:187-194, 2013
26. Woo, Sung-Ho, Jhoo, Jin-Woo, Kim, Gur-Yoo, Antioxidant activity of low molecular peptides derived from milk proteins, Food Science of Animal Resources V29 issue 5, p: 633-639, 2009
27. Şanlıdere Aloğlu, H. The effect of various heat treatments on the antioxidant capacity of milk before and after simulated gastrointestinal digestion. International Journal of Dairy Technology, 66(2), 170–174, 2012

28. G. Niero , M. Penasa, S. Currò, A. Masi, A.R. Trentin, M. Cassandro, M. De Marchi, Development and validation of a near infrared spectrophotometric method to determine total antioxidant activity of milk, *Food Chemistry*, p:371-376, 2017
29. Jasmina Petreskaa , Marina Stefova , Federico Ferreresb , Diego. A. Morenob , Francisco. A. Tomás-Barberánb , Gjose Stefkovc , Svetlana Kulevanovac and Angel Gil-Izquierdob, Dietary Burden of Phenolics Per Serving of “Mountain Tea” (Sideritis) from Macedonia and Correlation to Antioxidant Activity, *Natural Product Communication* vol 6, p: 1305-1314, 2011
30. Roumiana Vassilevska-Ivanova, Lydia Shtereva, Ira Stancheva, Maria Geneva, Marieta Hristozkova, Determination of the Antioxidant Capacity of *sideritis scardica* specimens collected at different regions in Bulgaria, *Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences*, p:1307-1314, 2016
31. Dariusz Nowak, Michał Gosliński, Assessment of Antioxidant Properties of Classic Energy Drinks in Comparison with Fruit Energy Drinks, *Foods*, p: 1-6, 2020
32. Oreste V. Brenna , Elena L.M. Ceppi, Gabriella Giovanelli, Antioxidant capacity of some caramel-containing soft drinks, *Food Chemistry*, p: 119-123, 2009
33. KI WON LEE, YOUNG JUN KIM, DAE-OK KIM, HYONG JOO LEE, CHANG YONG LEE, Major Phenolics in Apple and Their Contribution to the Total Antioxidant Capacity, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, p: 6516–6520, 2003
34. Hong Wang, Guohua Cao, Ronald L. Prior, Total Antioxidant Capacity of Fruits, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, p: 701–705, 1996
35. Yueyuan Zhang, Inyee Han, Paul Dawson, Antioxidant Activity Assessment and Color Analysis of Skin from Different Peach Varieties Grown in South Carolina, *Food and Nutrition Sciences*, p: 18-28, 2015
36. Nicole Brown, Jenny A. John, Fereidoon Shahidi, Polyphenol composition and antioxidant potential of mint leaves, *Food Production, Processing and Nutrition*, p: 1-14, 2019

37. Nhuan Do Thi, Eun-Sun Hwang, Bioactive Compound Contents and Antioxidant Activity in Aronia (*Aronia melanocarpa*) Leaves Collected at Different Growth Stages, *Preventive Nutrition and Food Science*, p: 204- 212, 2014
38. R. Latif, Chocolate/cocoa and human health: a review, *The Journal of Medicine*, p: 63-66, 2013
39. Dean P. Jones, Redefining Oxidative Stress, *Antioxidants & Redox Signaling* Vol. 8, No.9-10