



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ-ΑΓΡΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

**ΠΜΣ :«Τεχνολογίες Διαχείρισης Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών:
Καλλιέργεια, Μεταποίηση και Παραγωγή Προϊόντων Υψηλής Προστιθέμενης
Αξίας»**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
«ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΒΡΑΣΜΟΥ ΣΤΗΝ
ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΥΝΑΜΗΣ
ΤΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΠΡΑΣΙΝΟΥ ΤΣΑΓΙΟΥ ΚΑΙ ΤΣΑΓΙΟΥ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ»**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ: ΠΡΟΒΟΠΟΥΛΟΥ ΚΟΡΝΗΛΙΑ
ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΓΚΟΥΓΚΟΥΛΙΑΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ**

ΛΑΡΙΣΑ 2022

Τριμελής επιτροπή εξέτασης

1. Γκουγκουλιάς Νικόλαος: Επιβλέπων Καθηγητής
2. Βογιατζή – Καμβούκου Ελένη: Καθηγήτρια
3. Παπαχατζής Αλέξανδρος: Καθηγητής

« Effect of temperature and boiling time on polyphenol content and antioxidant activity of green tea and mountain tea extracts»

	ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	Σελ.
	Περίληψη	5
	Abstract	6
	Ευχαριστίες	7
	Κατάλογος εικόνων	8
	Κατάλογος πινάκων	9
	Κατάλογος σχημάτων	10
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ	
	ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΦΥΤΑ ΚΑΙ Η ΥΦΙΣΤΑΜΕΝΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ	11
1.1	Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά	11
1.2	Υφιστάμενη κατάσταση στην Ελλάδα	14
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ	
	ΤΣΑΙ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ ΚΑΙ ΠΡΑΣΙΝΟ ΤΣΑΙ	16
2.1	Τσάι του βουνού <i>Sideritis spp</i>	16
2.1.1	Είδη	16
2.1.2	Καλλιέργεια-Καλλιεργητικές τεχνικές	18
2.1.3	Δραστικές ουσίες	19
2.1.4	Φαρμακευτικές ιδιότητες-Χρήσεις	20
2.2	Πράσινο τσάι <i>Camelia sinensis</i>	22
2.2.1	Είδη	23
2.2.2	Καλλιέργεια-Καλλιεργητικές τεχνικές	23
2.2.3	Δραστικές ουσίες	26
2.2.4	Φαρμακευτικές ιδιότητες-Χρήσεις	26
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ	
	ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ	29
3.1	Κατηγορίες πολυφαινολών	33
3.2	Φλαβονοειδείς φαινόλες (φλαβονοειδή)	33
3.2.1	Φλαβονόλες	35
3.2.2	Φλαβόνες	36
3.2.3	Φλαβανόλες	36
3.2.4	Φλαβανόνες	36
3.2.5	Ανθοκυανίνες (Ανθοκυάνια)	37
3.2.6	Ισοφλαβονοειδή	38
3.3	Μη φλαβονοειδείς φαινόλες (μη φλαβονοειδή)	39
3.3.1	Φαινολικά οξέα	39
3.3.2	Στιλβένια	40
3.3.3	Λιγνάνια	40
3.3.4	Ταννίνες	41
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ	
	ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ-ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ-ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	42
4.1	Οξειδωτικά-Ελεύθερες ρίζες	42

4.2	Αντιοξειδωτικά	47
4.2.1	Κατηγορίες αντιοξειδωτικών	48
4.2.2	Μηχανισμός αντιοξειδωτικών	50
4.2.3	Πηγές αντιοξειδωτικών	52
4.2.4	Ενζυματικής προελεύσεως αντιοξειδωτικά	53
4.2.5	Μη ενζυματικής προελεύσεως αντιοξειδωτικά	54
4.3	Οι φαινολικές ενώσεις των τροφών ως αντιοξειδωτικά	59
4.3.1	Συνθετικά φαινολικά αντιοξειδωτικά	60
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ	
	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	63
5.1.	Υλικά και μέθοδοι	63
5.2.	Παραλαβή Φαινολικών Εκχυλισμάτων	63
5.3.	Προσδιορισμός των Ολικών Φαινολών	68
5.4.	Προσδιορισμός της Αντιριζικής Ενεργητικότητας με το Ελεύθερο Σταθερό ριζικό DPPH•	69
5.5.	Αποτελέσματα και Συζήτηση	72
5.6.	Συμπεράσματα	83
	Βιβλιογραφία	84

Περίληψη

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της επίδρασης τόσο της θερμοκρασίας όσο και του χρόνου βρασμού των υδατικών εκχυλισμάτων του πράσινου τσαγιού και του σιδερίτη (τσάι του βουνού) στην αντιοξειδωτική δράση και στη σύσταση των πολυφαινολών τους. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε σε ποια χρονική στιγμή και θερμοκρασία θα παραληφθεί το εκχύλισμα με την υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις και την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση. Όσον αφορά το σιδερίτη, η μέγιστη περιεκτικότητα των ολικών φαινολών και η μέγιστη αντιοξειδωτική ενεργητικότητα παρατηρήθηκαν στις ίδιες θερμοκρασίες και χρόνους, δηλαδή στις $T=80^{\circ}\text{C}$ και $T=100^{\circ}\text{C}$ στο χρόνο $t = 40 \text{ min}$. Εν αντιθέσει, τα εκχυλίσματα του πράσινου τσαγιού παρουσίασαν τη μέγιστη περιεκτικότητα των ολικών φαινολών στη θερμοκρασία $T=80^{\circ}\text{C}$ και στο χρόνο $t=40 \text{ min}$ και την μέγιστη αντιοξειδωτική ενεργητικότητα σε δύο θερμοκρασίες $T=80^{\circ}\text{C}$ και $T=100^{\circ}\text{C}$ στους χρόνους $t=40 \text{ min}$ και $t=20 \text{ min}$ αντιστοίχως.

Abstract

The aim of the present study is to determine the effect of both temperature and boiling time of aqueous extracts of green tea and sideritis (mountain tea) on the antioxidant activity and the composition of polyphenols. In particular, analyzed at which time and temperature the extract with the highest content of phenolic compounds and the strongest antioxidant activity will be obtained. Regarding sideritis, the maximum total phenolic content and the maximum antioxidant activity were observed at the same temperatures and time points, i.e. at $T = 80^{\circ}\text{C}$ and $T = 100^{\circ}\text{C}$ at time $t = 40$ min. In contrast, green tea extracts showed the maximum content of total phenolics at temperature $T=80^{\circ}\text{C}$ and time $t=40$ min and maximum antioxidant activity at both temperatures $T=80^{\circ}\text{C}$ and $T=100^{\circ}\text{C}$ at times $t=40$ min and $t=20$ min respectively.

Ευχαριστίες

Για τη διεκπεραίωση της παρούσας Μεταπτυχιακής Διατριβής θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Γκουγκουλιά Νικόλαο για την εμπιστοσύνη και την καθοδήγηση που μου έδειξε οποιαδήποτε στιγμή και αν τον χρειάστηκα. Ιδιαίτερα για την πραγματοποίηση της πειραματικής διαδικασίας στο Εργαστήριο του Πανεπιστημίου.

Τέλος, την οικογένειά μου που με στήριξε, όχι μόνο στο κομμάτι της Μεταπτυχιακής διατριβής, αλλά καθ' όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1. Το τσάι του βουνού (<i>Sideritis</i> sp.)	16
Εικόνα 2. Φύλλα (αριστερά) και καρποί (δεξιά) του <i>Camelia sinensis</i>	22
Εικόνα 3. Η οδός του σικιμικού οξέος	30
Εικόνα 4. Κατηγορίες πολυφαινολών	33
Εικόνα 5. Βασικός σκελετός φλαβονοειδών	35
Εικόνα 6. Χαρακτηριστικές δομές φλαβονοειδών	38
Εικόνα 7. Ταννίνες	41
Εικόνα 8. Το φυτικό υλικό	63
Εικόνα 9. Προετοιμασία δειγμάτων για το σιδερίτη	64
Εικόνα 10. Τα ποτήρια ζέσεως με το φυτικό υλικό στην θερμαινόμενη πλάκα στους 40°C και στους 100°C	65
Εικόνα 11. Οι ογκομετρικές φιάλες με το διηθητικό χαρτί και η τοποθέτησή τους στο ψυγείο	66
Εικόνα 12. Προετοιμασία του πράσινου τσαγιού	67
Εικόνα 13. Τα ποτήρια ζέσεως στη θερμαινόμενη πλάκα	67
Εικόνα 14. Πριν την εκχύλιση	67
Εικόνα 15. Τα ποτήρια ζέσεως στους 100°C	67
Εικόνα 16. Φασματοφωτόμετρο Micrel	69

Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 1. Οι κυριότερες υποομάδες φαινολικών ενώσεων	32
Πίνακας 2. Οι πιο διαδεδομένες ανθοκυανιδίνες	37
Πίνακας 3. Κυριότερα είδη ελεύθερων ριζών	45

Κατάλογος σχημάτων

Σχήμα 1. Μεταβολή των ολικών φαινολών σε υδατικά εκχυλίσματα Σιδερίτη	72
Σχήμα 2. Μεταβολή των ολικών φαινολών στο Σιδερίτη	73
Σχήμα 3. Μεταβολή της αποτελεσματικής συγκέντρωσης (IC50) σε υδατικά εκχυλίσματα Σιδερίτη	74
Σχήμα 4. Μεταβολή της αντιοξειδωτικής δύναμης DPPH σε υδατικά εκχυλίσματα Σιδερίτη	75
Σχήμα 5. Συσχέτιση μεταξύ των ολικών φαινολών και της αντιριζικής ενεργητικότητας DPPH των υδατικών εκχυλισμάτων Σιδερίτη	76
Σχήμα 6. Μεταβολή των ολικών φαινολών σε υδατικά εκχυλίσματα Πράσινου τσαγιού	77
Σχήμα 7. Μεταβολή των ολικών φαινολών στο Πράσινο τσάι	78
Σχήμα 8. Μεταβολή της αποτελεσματικής συγκέντρωσης (IC50) σε υδατικά εκχυλίσματα Πράσινου τσαγιού	79
Σχήμα 9. Μεταβολή της αντιοξειδωτικής δύναμης DPPH σε υδατικά εκχυλίσματα Πράσινου τσαγιού	81
Σχήμα 10. Συσχέτιση μεταξύ των ολικών φαινολών και της αντιριζικής ενεργητικότητας DPPH των υδατικών εκχυλισμάτων Πράσινου τσαγιού	82

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΦΥΤΑ ΚΑΙ Η ΥΦΙΣΤΑΜΕΝΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

1.1. Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά

Κατά τον διεθνή υγειονομικό οργανισμό, φαρμακευτικό φυτό είναι κάθε φυτό το οποίο σ' ένα ή περισσότερα όργανα περιέχει κάποια συστατικά τα οποία χρησιμοποιούνται για θεραπευτικούς σκοπούς ή αποτελούν πρώτη ύλη για φαρμακευτικά παρασκευάσματα. (Βογιατζή-Καμβούκου, Ε., 2004) Ως φαρμακευτικό φυτό, δηλαδή, ορίζεται κάθε φυτό που χρησιμοποιείται (α) για την ανακούφιση, την πρόληψη ή τη θεραπεία μιας ασθένειας ή την τροποποίηση μιας φυσιολογικής ή παθολογικής διαδικασίας, και (β) ως πηγή παραγωγής φαρμάκων (Rates, 2001). Από την άλλη πλευρά, αρωματικά φυτά ορίζονται τα φυτά τα οποία έχουν ελαιοφόρους αδένες στους οποίους υπάρχουν αιθέρια έλαια, τα οποία χρησιμοποιούνται σαν πρώτη ύλη για διάφορα παρασκευάσματα στην κοσμετολογία, αρωματοποιία και στη βιομηχανία τροφίμων και ειδών υγιεινής. (Βογιατζή-Καμβούκου, Ε., 2004)

Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά αποτελούν μία πολύ ξεχωριστή ομάδα του φυτικού βασιλείου με μεγάλο εύρος εφαρμογών. Χρησιμοποιούνταν από αρχαιοτάτων χρόνων, λόγω των φαρμακευτικών τους ιδιοτήτων κατά την ανάρρωση από ασθένειες ή την περιποίηση πληγών. Ξεκινώντας την ιστορική αναδρομή, οι Σουμέριοι που ήταν ένας από τους αρχαιότερους λαούς του κόσμου, καθώς και οι Ασσύριοι που κατοικούσαν στην ίδια περιοχή, όπως προκύπτει από έργα τέχνης και γραπτά που βρέθηκαν από την τότε εποχή, γνώριζαν τις θεραπευτικές ιδιότητες 200 περίπου φυτών μεταξύ των οποίων ήταν ο κοριάνδρος, ο άνηθος, ο μάραθος, ο κρόκος, η ρίγανη, το θυμάρι, και το κύμινο που τα χρησιμοποιούσαν οι γιατροί και οι μάγοι της εποχής εκείνης. (Μπαρμπέρη Ε., 2015) Στην Αρχαία Βαβυλώνα εκτός από τους κρεμαστούς κήπους στους οποίους καλλιεργούσαν πολλά διακοσμητικά φυτά, υπήρχαν και άλλοι μεγάλοι κήποι με αρωματικά φυτά για παραγωγή αρτυμάτων που τα έσοδά τους αποτελούσαν ένα σημαντικό μέρος της όλης οικονομίας της. (Μπαρμπέρη Ε., 2015)

Από αρχαιολογικά ευρήματα, οι αρχαίοι Αιγύπτιοι χρησιμοποιούσαν σε αρκετά μεγάλο βαθμό τα αρωματικά και τα φαρμακευτικά φυτά τόσο στη διατροφή τους όσο και στην ιατρική και δε στη διαδικασία μουμιοποίησης. Ενδεικτικά, στα υλικά που χρησιμοποιούνταν για την διαδικασία αυτή εμπεριέχονται και συστατικά κανέλας, κύμινου, γλυκάνισου και πιθανότατα μαντζουράνας. Όπως αναφέρει ο Ηρόδοτος (450 πΧ), στην Αίγυπτο πολλά ιερά διατηρούσαν κήπους με φαρμακευτικά φυτά για τη θεραπεία ασθενειών ενώ τα εκχυλίσματα αυτών

αποτελούσαν κορυφαία προσφορά στους βασιλείς και κατείχαν σημαντική θέση στις θρησκευτικές τελετές.

Στην αρχαία Ελλάδα τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά είχαν μεγάλη σημασία και αξία, το οποίο αποδεικνύεται από τα δάφνινα στεφάνια που χρησιμοποιούνταν για την στέψη των νικητών των Ολυμπιακών αγώνων. Επιπρόσθετα, ο Ιπποκράτης, ο πατέρας της Ιατρικής (460 - 370 π.Χ.), ήταν από τους πρώτους που μελέτησε τις θεραπευτικές ιδιότητες αυτών των φυτών και κατέγραψε περισσότερα από 400 φάρμακα που βασίζονταν στις θεραπευτικές ιδιότητες των βοτάνων (Κάλφας, 2018). Ο ίδιος πίστευε ότι ο κορίανδρος προλάβαινε τις στομαχικές διαταραχές και βοηθούσε στον ύπνο, ο γλυκάνισος σταματούσε το φτάρνισμα, το θυμάρι ήταν αποχρεμπτικό (βοηθούσε στην εξαγωγή φλεγμάτων), η μαντζουράνα και το θρούμπι περιόριζαν την έκκριση της χολής και η μέντα σταματούσε τον εμετό. Γενικά, η θεραπευτική του αγωγή βασιζόταν κατά ένα μεγάλο μέρος στη χρήση αυτών των φυτών. Συνεχίζοντας, ο Θεόφραστος (372 - 287 π.Χ) και αργότερα ο Διοσκουρίδης ο Αναζαρβεύς (40-90 μ.Χ), θεμελιωτής της φαρμακολογίας, ασχολήθηκαν με τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά και περιέγραψαν τις θεραπευτικές ιδιότητες 600 περίπου φυτών. (Μπαρμπέρη Ε., 2015). Συγκεκριμένα ο Διοσκουρίδης επανέφερε τη Βοτανική στο προσκήνιο τον 1^ο μ.Χ. αιώνα με το σύγγραμμά του «Περί Ύλης Ιατρικής» όπου περιγράφονται 950 περίπου φάρμακα εκ των οποίων τα 600 είναι φυτικής προέλευσης. Μια ανεκτίμητης αξίας πηγή πληροφοριών διότι βασίζεται κατά ένα μεγάλο μέρος σε δικές του θεωρίες και εμπειρίες και ήδη διακρίνει κανείς την κατάταξη των φυτών ανάλογα με τις δραστικές τους ουσίες και τις θεραπευτικές τους ιδιότητες. Θεωρείται ως το πρώτο (διασωζόμενο) σύγγραμμα φαρμακολογίας το οποίο επηρέασε σημαντικά τους επόμενους συγγραφείς, ανάμεσά τους και ο Γαληνός.

Εν συνεχεία, οι Ρωμαίοι χρησιμοποιούσαν τα αρωματικά φυτά για τον αρωματισμό των κρασιών τους ενώ έδειχναν ιδιαίτερη αγάπη στο δενδρολίβανο το οποίο χρησιμοποιούσαν στην κουζίνα τους μαζί με τον μαϊντανό, τον δυόσμο και το μάραθο. Τα φυτά της οικογένειας αυτής βρίσκουν και αλλού εφαρμογή για τους Ρωμαίους καθώς τα χρησιμοποιούν και στο λουτρό τους με τα άνθη λεβάντας να κυριαρχούν στις συνήθειες τους. Δεν είναι τυχαίο ότι η λατινική ονομασία της λεβάντας *Lavandula* βγήκε από το ρήμα *Lavare* που σημαίνει «πλένομαι». Ο δε Γαληνός, προσωπικός γιατρός των Ρωμαίων αυτοκρατόρων και πατέρας της Φαρμακευτικής, ήταν φανατικός υποστηρικτής της Αρωματοθεραπείας.

Την περίοδο της Παλαιάς Διαθήκης υπάρχουν αναφορές για τη σπουδαιότητα των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών μιας και συγκαταλέγονταν ανάμεσα σε προϊόντα μεγάλης αξίας, όπως οι πολύτιμοι λίθοι και ο χρυσός.

Ο μεσαίωνας, από την άλλη πλευρά, δεν ευνόησε γενικά τη επιστημονική πρόοδο ούτε και την ανάπτυξη των γνώσεων των φαρμακευτικών φυτών. Οι περιοχές της επιστήμης, της μαγείας και του τσαρλατανισμού συγχέονται συχνά. Φαρμακευτικά φυτά όπως ο *Hyoscyamus niger*, *Atropa belladonna*, και ο Μανδραγόρας θα θεωρηθούν σαν φυτά με διαβολική προέλευση και ιδιότητες. Κατά την περίοδο αυτή όμως θα διατηρηθούν οι γνώσεις που αποκτήθηκαν στους προηγούμενους αιώνες. Οι μοναχοί χάρη στις γνώσεις της ελληνικής και της λατινικής μπόρεσαν να διατηρήσουν πολλές παλιές γνώσεις, να ιδρύουν ιαματικούς βοτανικούς κήπους και να γράφουν συγγράμματα για την χρήση των φαρμακευτικών φυτών. (Μπαρμπέρη Ε., 2015)

Κατά την περίοδο της Αναγέννησης όμως, εξαιτίας των συνθετικών φαρμάκων που άρχισαν να παρασκευάζονται, η αρωματοθεραπεία ξεχάστηκε. Τον 15ο και 16ο αιώνα, τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά ήταν ένας από τους λόγους για τους οποίους ξεκίνησε η εξερεύνηση του κόσμου και κατ' επέκταση, ένα από τα αίτια της ανακάλυψης της Αμερικής.

Με την ανάπτυξη όμως που γνώρισε ο τομέας της Χημείας κατά το 19^ο αιώνα εκτοπίστηκε εντελώς η χρήση αρωματικών φυτών και βοτάνων. Επανήλθαν όμως στο προσκήνιο κατά τη διάρκεια των δύο Παγκοσμίων πολέμων, όπου τα αποτελέσματα της αρωματοθεραπείας και των αιθερίων ελαίων στην περίθαλψη των τραυματιών παρακίνησε τους επιστήμονες να ασχοληθούν συστηματικά πλέον σε δεκάδες πανεπιστήμια και ερευνητικά κέντρα. Συγκεκριμένα, ο Γάλλος χημικός Rene Gattefosse κατά τη διάρκεια του Πρώτου Παγκοσμίου Πολέμου γιάτρεψε πρώτα με αιθέριο έλαιο λεβάντας τα δικά του εγκαύματα και μετά συνέχισε να θεραπεύει και άλλες σοβαρές περιπτώσεις εγκαυμάτων, παρασκευάζοντας παράλληλα ένα ευρύ φάσμα θεραπευτικών ελαίων, πολλά εκ των οποίων είναι γνωστά μέχρι και σήμερα. (Αντωνιάδου, Κ. Φ., 2014)

Μέσα στο πέρασμα του χρόνου καταλαβαίνουμε λοιπόν ότι οι άνθρωποι έδειξαν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στις ιδιότητες που παρουσιάζουν αυτά τα φυτά με το ενδιαφέρον να μένει αμείωτο και στις μέρες μας. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας εκτιμά ότι το 80% του παγκόσμιου πληθυσμού προτιμά την παραδοσιακή ιατρική για τις πρωταρχικές ανάγκες της υγείας του, μεγάλο μέρος της οποίας βασίζεται στη χρήση των αιθερίων ελαίων από τα αρωματικά φυτά. Όλα αυτά στο πλαίσιο της ευαισθητοποίησης της κοινής γνώμης που έχει ως στόχο τη μείωση της κατανάλωσης συνθετικών φαρμάκων και τον περιορισμό της χρήσης χημικών πρόσθετων στα τρόφιμα. Έτσι, η παγκόσμια βιομηχανία τροφίμων και ποτών, καλλυντικών και φαρμάκων επιστρέφει ξανά στη φύση χρησιμοποιώντας ουσίες φυτικής προέλευσης για την παρασκευή των προϊόντων της.

1.2. Υφιστάμενη κατάσταση στην Ελλάδα

Η λεκάνη της Μεσογείου θεωρείται «παγκόσμια κέντρο βιοποικιλότητας» (Beltran et al., 2014). Σε παγκόσμιο επίπεδο, έχουν καταγραφεί 422.000 είδη φυτών, εκ των οποίων το 12,5% έχει αναφερθεί ότι έχει θεραπευτικές ιδιότητες, ενώ το 25% των φαρμάκων της σύγχρονης φαρμακοβιομηχανίας έχουν ως πρώτη ύλη φυτικά είδη (Schippmann et al., 2002). Ειδικότερα, στην Ελλάδα, με τις ιδιαίτερες κλιματικές και εδαφολογικές συνθήκες που διαθέτει, ευνοείται η ανάπτυξη πλούσιας χλωρίδας ενώ θεωρείται ως περιοχή μεγάλης βιοποικιλότητας αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών, τα οποία παρέχουν θεραπευτικά, οικονομικά και περιβαλλοντικά οφέλη (Κατσιώτης & Χατζοπούλου, 2015). Ενδεικτικά, στη χώρα μας έχουν καταγραφεί περίπου 2.000 είδη φυτών με αιθέρια έλαια (Κάλφας, 2018).

Η Ελλάδα αποτελεί μία από τις πρώτες χώρες στον κόσμο όπου έγινε εκμετάλλευση των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών και των ιδιοτήτων τους, χωρίς ωστόσο αυτό να γίνεται βάσει κάποιου δομημένου προγράμματος παραγωγής σε μεγάλη κλίμακα, σε αντίθεση με άλλες γείτονες χώρες, οι οποίες πέτυχαν την πλήρη εμπορική τους αξιοποίηση (Κάλφας, 2018). Μόνο τα τελευταία χρόνια σημειώθηκε μία στροφή στην καλλιέργεια αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών σε εμπορική κλίμακα και παρατηρήθηκε αύξηση των εντατικά καλλιεργούμενων εκτάσεων με αρωματικά φυτά στην Ελλάδα (Δόρδας, 2009). Αυτό προήλθε ως αποτέλεσμα της σταδιακής αντικατάστασής των συνθετικών φαρμάκων με προϊόντα οικολογικού χαρακτήρα. Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, με το πλήθος των ουσιών που περιέχουν, ιδιαίτερα στα αιθέρια έλαιά τους, αποτελούν πρώτης τάξεως πηγές φυσικών συστατικών, τα οποία χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία παρασκευής ροφημάτων, στη βιομηχανία τροφίμων, τη ζαχαροπλαστική, την αρωματοποιία, τα καλλυντικά, τη φαρμακοβιομηχανία κ.λπ. (Κάλφας, 2018, Solomou et al., 2019).

Έτσι, η καλλιέργεια αρωματικών φυτών και βοτάνων αποτελεί έναν σχετικά πρόσφατο γεωργικό κλάδο, ο οποίος αξιοποιεί ορεινά και φτωχά εδάφη, έχει μειωμένες απαιτήσεις σε εισροές και σχετικά μεγάλη ανοχή σε προσβολές από εχθρούς και ασθένειες τα οποία την καθιστούν ιδανική εναλλακτική λύση για γεωργικό εισόδημα (ΥΠΑΑΤ, 2017). Η μεγάλη ποικιλία σε αυτοφυή φυτική είδη και σε βιοτόπους που διαθέτει η χώρα μας σε συνάρτηση με το ανάγλυφο και την ποικιλομορφία καιρικών συνθηκών που επικρατούν, καθιστούν τα αρωματικά φυτά ως μία από τις καλύτερες επιλογές καλλιέργειας που μπορεί να παράγει προϊόντα εξαιρετικής ποιότητας σε γη χαμηλής αξίας χωρίς ιδιαίτερες απαιτήσεις (Μαλούπα κ.α., 2013, Στεφάνου κ.α., 2014). Πλήθος αρωματικών και φαρμακευτικών φυτικών ειδών καλλιεργούνται σε ολόκληρη την Ελλάδα, ανάλογα με το κλίμα της κάθε περιοχής και τις

απαιτήσεις του κάθε φυτικού είδους (Κοκκίνου κ.α., 2014). Ορισμένα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά που συναντώνται στη χώρα μας είναι η ρίγανη (*Origanum* sp.), ο κρόκος (*Crocus* sp.), το τσάι του βουνού (*Sideritis* spp.), η λεβάντα (*Lavandula* sp.), το μελισσόχορτο (*Melissa officinalis*), το φασκόμηλο (*Salvia* sp.), το θυμάρι (*Thymus* sp.) και η μέντα (*Mentha* sp.) (Solomou et al., 2015).

Σύμφωνα με στοιχεία του έτους 2015, η ρίγανη είναι το είδος που καλλιεργείται από τους περισσότερους παραγωγούς, ακολουθούμενο από τον κρόκο, το τσάι του βουνού, τη λεβάντα, το μελισσόχορτο, τον γλυκάνισο, το φασκόμηλο, το θυμάρι, τη μέντα, το δενδρολίβανο, το δυόσμο, το χαμομήλι, τον κόλιανδρο κ.α. (ΟΠΕΚΕΠΕ, 2015). Συσκευαστήρια αποξηραμένων αρωματικών φυτών βρίσκονται διασκορπισμένα σε όλη τη χώρα, ενώ τα αποστακτήρια αιθέριων ελαίων είναι συγκεντρωμένα στη Β. Ελλάδα (Κάλφας, 2018). Επιπλέον, ελληνικές εταιρίες που δραστηριοποιούνται και στο εξωτερικό πετυχαίνοντας αξιόλογες εξαγωγές. Ένα σημαντικό πρόβλημα του κλάδου αποτελεί η έλλειψη πιστοποιημένου σπόρου και πολλαπλασιαστικού υλικού, με αποτέλεσμα πολλές μονάδες να καταφεύγουν στη λύση της εισαγωγής σπόρων από το εξωτερικό, γεγονός που μπορεί να μειώνει το κόστος παραγωγής, ωστόσο πιθανότατα υποβαθμίζει την ποιότητα (Κούτσος, 2006; Δόρδας, 2012).

Η παγκόσμια αγορά των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών είναι πολύ μεγάλη με σταθερά ανοδικές τάσεις. Ο κλάδος των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών έχει μεγάλη αξία αλλά και προοπτικές ιδιαίτερα για την απασχόληση των νέων. Έχει μεγάλες δυνατότητες και μπορεί να συμβάλλει στη δημιουργία θέσεων εργασίας όχι μόνο στον γεωργικό κλάδο αλλά και στον βιομηχανικό, τον επιστημονικό, τον κλάδο των πωλήσεων, του τουρισμού, των νέων τεχνολογιών κ.λπ. (Μαλούπα κ.α., 2013, Κάλφας, 2018)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΤΣΑΙ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ ΚΑΙ ΠΡΑΣΙΝΟ ΤΣΑΙ

2.1. Τσάι του βουνού *Sideritis* spp.

Το τσάι του βουνού ή *Sideritis* L., (Εικόνα 1) όπως είναι η επιστημονική του ονομασία, προέρχεται από την ελληνική λέξη «σίδηρος», καθώς στην αρχαιότητα θεωρούνταν ότι θεράπευε τα τραύματα που προκαλούνταν από τα σιδερένια αντικείμενα (Γκολιάρης, 1995). Εκτός από αυτή την ιδιότητα που του προσέδιδαν, ο σιδερίτης χρησιμοποιούνταν ευρέως για αιώνες για τις αντιφλεγμονώδεις, αντι-ικές και αντιμικροβιακές του ιδιότητες, καθώς και στη θεραπεία γαστρεντερικών και πεπτικών προβλημάτων (Gonzalez-Burgos et al., 2009)



Εικόνα 1. Το τσάι του βουνού (*Sideritis* sp.)

Στις περισσότερες Μεσογειακές χώρες, ο σιδερίτης χρησιμοποιείται ως βότανο για διάφορες χρήσεις. Ωστόσο, μόνο στην Ισπανία και την Ελλάδα, χρησιμοποιείται για την παρασκευή τσαγιού. Συγκεκριμένα, η χώρα μας κατέχει την πρωτιά στην κατανάλωση του αφεψήματος «τσάι του βουνού» αλλά και είναι η μοναδική χώρα στην οποία καλλιεργούνται συστηματικά διάφορα είδη του *Sideritis* sp. (Γκολιάρης, 1995). Τις τελευταίες δεκαετίες, το αυξημένο ενδιαφέρον για το τσάι του βουνού οδήγησε στην πραγματοποίηση πλήθους μελετών για να διερευνηθούν εκτενέστερα οι βοτανικές, φυτοχημικές και φαρμακολογικές ιδιότητές του (Gonzalez-Burgos et al., 2011).

2.1.1. Είδη

Το γένος *Sideritis* ανήκει στην οικογένεια Labiateae, και αριθμεί περίπου 140 αυτοφυή ποώδη είδη, από τα οποία τα 130 είναι πολυετή και τα υπόλοιπα μονοετή (USDA, 2022). Κατανέμονται σε γεωγραφικές περιοχές του βόρειου ημισφαιρίου με ήπιο και τροπικό κλίμα και κατά κύριο λόγο στη λεκάνη της Μεσογείου. Η Ισπανία και η Τουρκία κατέχουν τα

περισσότερα ενδημικά είδη. Η Ελλάδα είναι, επίσης, μία χώρα πλούσια σε πληθυσμό και ποικιλία ειδών σιδερίτη (Παληογιάννη, 2007).

Σύμφωνα με την τελευταία κατάταξη (Papanikolaou & Kokkini, 1982), τα είδη του γένους *Sideritis* που αυτοφύονται στην Ελλάδα είναι τα παρακάτω (Γκολιάρης, 1995, Δόρδας, 2012, Solomou et al., 2019, Koutsos & Chatzopoulou, 2004, Παληογιάννη, 2007):

- ***Sideritis athoa* (Papan. et Kokkini):** Είναι αυτοφυής πολυετής πόα, ύψους έως 40 εκ. Διαθέτει όρθιο βλαστό, απλό ή διακλαδισμένο και ξυλώδη στη βάση του. Καλύπτεται ολόκληρο από μικρές αδενώδεις τρίχες. Φύεται στα όρη της Πίνδου και της Σαμοθράκης, όπου είναι γνωστό με το όνομα τσάι «βλάχικο», καθώς και στον Άθω με το όνομα «μπεττόνικα». Συνώνυμο με το είδος αυτό είναι το *Sideritis perfoliate* L.
- ***S. clandestina* (Chob & Borry):** το είδος αυτό είναι γνωστό με το όνομα «τσάι του Μαλεβού» ή «τσάι του Ταΰγετου». Αυτοφύεται στους βράχους των υπαλπικών περιοχών του Μαλεβού, του Ταΰγετου και της Κυλήνης. Είναι μονοετές, με ύψος έως 40 εκ. με απλό ή διακλαδισμένο βλαστό. Συνώνυμο αυτού του είδους είναι τα *Sideritis theezans* Boiss & Heldr., *Phlomis clandestine* Ch. & B.
- ***S. scardica* Griseb:** Είναι γνωστό με το όνομα «τσάι του Ολύμπου». Αποτελεί αυτοφυές είδος της υπαλπικής ζώνης του Όλυμπου, του Κίτσαβου, του Πηλίου και του Σκάρδου. Είναι πολυετής πόα, με βλαστό απλό ή διακλαδισμένο, λίγο ξυλώδη στην βάση. Αυτοφύεται σε βραχώδη μέρη και σε υψόμετρο πάνω από 1.000μ., Είναι συνώνυμο με το είδος *Sideritis florida* Boiss & Heldr.
- ***S. raeseri* Boiss & Heldr.:** Αποτελεί αυτοφυές είδος του Παρνασσού, του Τυμφρηστού (Βελούχι) και άλλων βουνών της Αιτωλίας, Δωρίδας και Φθιώτιδας, εξ' ού και το κοινό του όνομα «τσάι του Παρνασσού» ή «τσάι του Βελουχιού». Έχει βλαστό λεπτό, απλό ή σπάνια διακλαδισμένο, ξυλώδη στη βάση και καλυμμένο με χνούδι. Αποτελεί το πιο διαδεδομένο είδος στη χώρα μας και καλλιεργείται συστηματικά από τη δεκαετία του 1960 σε ορεινές και ημιορεινές περιοχές με υψόμετρο πάνω από 700 μέτρα και σε μέτριας γονιμότητας ξηρικά ασβεστούχα εδάφη.
- ***S. syriaca* L.:** Είναι γνωστό με το όνομα «τσάι της Κρήτης», «Μαλοτήρα» και «Καλοκοιμηθιά». Αυτοφύεται στα βουνά της Κρήτης και κυρίως στα Λευκά Όρη και στον Ψηλορείτη, σε υψόμετρο μεταξύ 1300-2000 μέτρων. Ο βλαστός του είναι απλός, όρθιος, καλυμμένος με πυκνό λευκό χνούδι. Συνώνυμό του είναι το *S. cretica* Boiss.
- ***S. euboica* Heldr.:** Είναι γνωστό ως «τσάι της Εύβοιας» ή «τσάι απ' το Δέλφι». Αποτελεί αυτοφυές είδος του όρους Δίρφου, σε υψόμετρο μεταξύ 1000-1500 μ. Είναι πολυετές φυτό,

ύψους 30-50 εκ., με πυκνό λευκό χνούδι να καλύπτει όλα τα τμήματά του. Ο βλαστός είναι σκληρός, απλός και ορισμένες φορές διακλαδισμένος. Τα φύλλα είναι επιμήκη και τα άνθη κίτρινου χρώματος. Φύεται επίσης σε νησιά του δυτικού Αιγαίου.

2.1.2. Καλλιέργεια – καλλιεργητικές τεχνικές

Κλίμα – Έδαφος

Τα είδη του σιδερίτη αυτοφύονται σε πολλές περιοχές της Ελλάδας σε υψόμετρα πάνω από 1000 m, σε υπαλπικές και αλπικές περιοχές, και σε ξηρικά, βραχώδη και ασβεστολιθικά εδάφη μέτριας γονιμότητας (Δόρδας, 2012). Αντέχει στις χαμηλές θερμοκρασίες και είναι λιτοδίαιτο στις εδαφικές απαιτήσεις.

Πολλαπλασιασμός

Ο πολλαπλασιασμός του γίνεται είτε α) εγγενώς με σπόρο, ο οποίος συλλέγεται από τα αυτοφυούμενα ή καλλιεργούμενα φυτά και σπέρνεται σε σπορείο από τον Αύγουστο μέχρι αρχές Οκτωβρίου, και στη συνέχεια πραγματοποιείται μεταφύτευση των σπορόφυτων, είτε β) αγενώς με μοσχεύματα και παραφυάδες, τα οποία έχουν αναπτύξει ρίζες και φυτεύονται στο χωράφι, όπως και τα φυτά των σπορειών. Ο πολλαπλασιασμός με σπόρο δεν προτιμάται καθώς δημιουργεί ανομοιομορφία στα παραγόμενα φυτά και άρα υποβάθμιση της ποιότητας του τελικού προϊόντος. Τα μοσχεύματα και οι παραφυάδες είναι ο συνηθέστερος τρόπος πολλαπλασιασμού.

Καλλιέργεια

Η φύτευση πραγματοποιείται αργά το φθινόπωρο. Πριν τη φύτευση, απαιτείται καλοκαιρινό όργωμα και φρεζάρισμα. Φυτεύονται περίπου 2000-2500 φυτά/στρέμμα, ένα φυτό ανά 50 εκ. στη γραμμή φύτευσης και διατήρηση απόστασης 80 εκατοστών μεταξύ των γραμμών. Κατά τη διάρκεια του έτους πραγματοποιούνται σκαλίσματα (ένα την άνοιξη κι ένα το φθινόπωρο) για απομάκρυνση των ζιζανίων και διατήρηση ικανοποιητικής παραγωγής. Απαιτείται φθινοπωρινή λίπανση 3-4 μονάδες αζώτου και 4-5 μονάδες φωσφόρου ανά στρέμμα. Η λίπανση πρέπει να αποφεύγεται όταν η φυτεία δείχνει ζοηρή, ώστε να μην αναπτυχθούν ιδιαίτερα τα φυτά και μειωθεί η ποιότητα του προϊόντος. Είναι ξηρική καλλιέργεια και δεν απαιτείται πότισμα.

Προσβολές και ασθένειες

Το τσάι του βουνού παρουσιάζει ανθεκτικότητα τόσο σε διάφορες ασθένειες όσο και σε έντομα οπότε δεν κρίνεται απαραίτητη η χημική επέμβαση με ψεκασμούς.

Συγκομιδή – ξήρανση

Τα άνθη του σιδεριτή συγκομίζονται τον Ιούλιο, στο στάδιο της πλήρους άνθησης των φυτών. Η συγκομιδή πρέπει να πραγματοποιείται πριν την ανατολή του ηλίου και με τη χρήση δρεπανιού με ιδιαίτερη προσοχή. Για τη διατήρηση της αυτοφυούς χλωρίδας, δεν πρέπει με κανένα τρόπο να ξεριζώνονται τα φυτά κατά τη συλλογή. Η διάρκεια της ανθοφορίας διαρκεί σύντομο χρονικό διάστημα (περί τις 15 ημέρες) και για αυτό είναι σημαντικό, για επίτευξη μέγιστης ποιότητας, η συγκομιδή να γίνει μέσα σ' αυτό το χρονικό διάστημα. Η ταξιανθία κόβεται ολόκληρη μαζί με ένα μέρος του βλαστού μήκους 5-7 εκ. και σε ματσάκια. Με το πέρας της συλλογής πραγματοποιείται το δέσιμο και μετέπειτα η ξήρανση. Τα συγκομισθέντα άνθη ξηραίνονται είτε με άπλωμα είτε με κρέμασμα σε μικρά δεματάκια, έως ότου αποκτήσουν χρώμα πρασινοκίτρινο, το οποίο θεωρείται ότι είναι το καλύτερο. Το κίτρινο χρώμα αποτελεί ένδειξη κακής ποιότητας. Η ξήρανση διαρκεί 4 έως 6 ημέρες και μπορεί να φτάσει και τις 8 αναλόγως τις καιρικές συνθήκες που επικρατούν. Το αποξηραμένο δεματάκι έχει συνήθως βάρος 80 γρ.

Απόδοση

Η διάρκεια της καλλιέργειας στο ίδιο χωράφι είναι 5-8 χρόνια. Αύξηση της παραγωγής παρατηρείται από το 2^ο έως το 4^ο έτος και από το 5^ο έτος αρχίζει να μειώνεται. Με ευνοϊκές καιρικές συνθήκες, η απόδοση ανά στρέμμα είναι περίπου 50-60 κιλά το δεύτερο έτος, που μπορεί να φτάσει τα 100-120 κιλά το τρίτο και τέταρτο έτος (Γκολιάρης, 1995, Κάλφας, 2018, Σκρουμπής, 1988).

2.1.3. Δραστικές ουσίες

Οι δραστικές ουσίες που περιέχονται στα διάφορα είδη του γένους *Sideritis* συμπεριλαμβάνουν:

- **Τερπενοειδή**, όπως ιριδοειδή (ιριδολακτόνες) και οι γλυκοσίδες τους (μονοτερπένια), καθώς και καουράνια (τετρακυκλικά διτερπένια). Τα τερπενοειδή παρουσιάζουν μεγάλη φαρμακολογική αξία και χρησιμοποιούνται ευρέως στη λαϊκή θεραπευτική για την ηρεμιστική, αντιαρθρική, αναλγητική, αντιφλεγμονώδη, αντιαρρυθμική, αντιϋπερτασική, αντιοξειδωτική, διουρητική, αντιβιοτική, καθαρτική, κυτταροτοξική και τονωτική δράση

τους. Τα καουράνια είναι δυνητικά αντιογκογόνα, αντιφλεγμονώδη, αντι-ικά HIV, και αντιβακτηριακά (Παληογιάννη, 2007).

- **Φαινολικά παράγωγα**, όπως φλαβονοειδή (παράγωγα του φαινυλοπροπανίου C₆-C₃) και οι γλυκοσίδες τους, φαινολικά οξέα (παράγωγα του βενζοϊκού οξέος C₆-C₁, του κινναμωμικού οξέος C₆-C₃, της σπερμιδίνης, της τυραμίνης ή της πουτρεσκίνης, με τη μορφή εστέρων ή γλυκοσιδών) και φαιναιθυλαλκοολικοί γλυκοσίδες (μονοσακχαριδικά, δισακχαριδικά και τρι σακχαριδικά παραγωγα). Τα φαινολικά παράγωγα διαθέτουν ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα, εμφανίζουν αντιμικροβιακή, αντινεοπλασματική, αντιϊκή και προστατευτική δράση σε καρδιαγγειακές παθήσεις (Παληογιάννη, 2007). Η περιεκτικότητα των ειδών *Sideritis* sp. σε πολυφαινόλες έχει προσδιοριστεί σε 240 γρ ανά κιλό ξηρού βάρους (Romanucci et al., 2017).
- **Λιπαρά οξέα** (όπως λινολεϊκό, ελαϊκό, 6-οκταδεκανοϊκό, παλμιτικό και λινολενικό). Τα φυτικά λιπαρά οξέα, σε αντίθεση με τα ζωικά, είναι πλούσια σε ακόρεστα και έχουν πρωταρχικό ρόλο στη διατροφή του ανθρώπου (Παληογιάννη, 2007).
- **Ανόργανα στοιχεία**. Περισσότερα από είκοσι στοιχεία έχουν βρεθεί σε αποξηραμένα τμήματα φυτών του *Sideritis raeseri*, όπως κάλιο (K) και ασβέστιο (Ca) σε αφθονία, ενώ το μαγνήσιο είχε αυξημένη περιεκτικότητα κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας. Η συγκέντρωση του σιδήρου (Fe) ήταν υψηλότερη από ό,τι τα υπόλοιπα ιχνοστοιχεία, όπως ο χαλκός (Cu), ο ψευδάργυρος (Zn) και το μαγνήσιο (Mn) (Romanucci et al, 2017).

Από τις κατηγορίες των ενεργών συστατικών του σιδερίτη, τα αιθέρια έλαια, τα διτερπένια και οι πολυφαινόλες αποτελούν τις βασικές ενώσεις, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τις *in vivo* και *in vitro* φαρμακολογικές του δράσεις. Οι περισσότερες έρευνες επικεντρώνονται στα αιθέρια έλαια και στα συστατικά αυτών, όπως β-πινένη, α-πινένη, α-χουμουλένη, λιμονένη, β-καρυοφυλένη, καρβακρόλη, γερμακρένη κ.α. (Λιναρδάκη, 2007).

2.1.4. Φαρμακευτικές ιδιότητες – Χρήσεις

Στην εκλαϊκευμένη ιατρική, ο σιδερίτης θεωρείται ότι έχει αντιφλεγμονώδεις, αντιελκωτικές, αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές, αντισπασμωδικές, αντιϊκές, ηρεμιστικές και αναλγητικές ιδιότητες, και χορηγείται στη θεραπεία του βήχα εξαιτίας του κοινού κρυολογήματος και για την αντιμετώπιση γαστροεντερικών διαταραχών.

Πλήθος μελετών διερευνούν την επίδραση των διαφόρων δραστικών ουσιών που περιέχονται στα είδη του *Sideritis* και τη φαρμακολογική δράση τους:

- **Αντιφλεγμονώδης δράση:** Τα φλαβονοειδή, τερπενοειδή και λιπίδια έχουν ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση, σε συνδυασμό με φυτοστερόλες, α- και β- αμίνες και διτερπένια (Charami et al., 2008).
- **Αναλγητική δράση:** Αυτή η δράση προέρχεται από τη συνέργεια μεταξύ ενώσεων, όπως είναι οι φυτοστερόλες, α και β αμίνες και διτερπένια με βάση το καουρένιο (Gonzalez-Burgos et al., 2011).
- **Αντιβακτηριακή και αντιμυκητιασική δράση:** Οι ιδιότητες αυτές προκύπτουν από την περιεκτικότητα σε μονοτερπένια των αιθέριων ελαίων, όπως το α-πινένιο και η καρβακρόλη (Fokialakis et al., 2007; Aligiannis et al., 2001)
- **Αντιοξειδωτική δράση:** Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του σιδερίτη προέρχονται από τις πολυφαινόλες, οι οποίες αναστέλλουν τη δράση των ελεύθερων ριζών. Συγκεκριμένα, εκχύλισμα από εναέρια μέρη και φύλλα του *Sideritis syriaca*, βρέθηκε ότι είχε υψηλή περιεκτικότητα σε α-πυγνίνη και φαινυλοπροπανοειδή, οι οποίες φαίνεται να ευθύνονται για την αντιοξειδωτική δράση του τσαγιού του βουνού της Κρήτης (Charami et al., 2008; Kostadinova et al., 2008).
- **Δράση κατά της νόσου Αλτσχάιμερ:** Εκχύλισμα από το είδος *Sideritis scardica*, που χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση της αναστολής της συσσώρευσης και της τοξικότητας β-αμυλοειδούς στη νόσο Alzheimer, προκάλεσε μείωση του αριθμού των σχηματιζόμενων πλακών κατά 21%, καθυστερώντας την παράλυση που προκαλείται από το β-αμυλοειδές έως και 3,5 ώρες (Heiner et al., 2018).
- **Δράση κατά των ψυχικών διαταραχών:** Εκχυλίσματα *Sideritis scardica*, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τη διερεύνηση της πρόσληψης σεροτονίνης, νοραδρεναλίνης και ντοπαμίνης σε αρουραίους και ανθρώπινα κύτταρα, έδωσαν θετικά αποτελέσματα αναφορικά με τη χρήση τους στη θεραπεία διαφόρων ψυχικών διαταραχών, όπως διαταραχές άγχους, μείζονα κατάθλιψη, διαταραχή ελλειμματικής προσοχής-υπερκινητικότητας, διανοητική ανεπάρκεια ή νευροεκφυλιστικές παθήσεις (Knörle, 2012).
- **Γαστροπροστατευτική δράση:** Διαφορετικά εκχυλίσματα του *Sideritis scardica* (κλάσματα διαιθυλαιθέρα, οξικού αιθυλεστέρα και η-βουτανόλης του ακατέργαστου εκχυλίσματος αιθανόλης) παρουσίασαν σημαντική γαστροπροστατευτική δράση, με το φαινολικό εκχύλισμα η-βουτανόλης να είναι το αποτελεσματικότερο (Todorova & Trendafilova, 2014).
- **Δράση κατά του ιού HIV:** Σε *in vitro* μελέτη που πραγματοποίησαν οι Bruno et al. (2002) σε λεμφοκύτταρα H9 προκειμένου να προσδιορίσουν την αντι-HIV δράση της λινεαρόλης

και των καουρενίων προέκυψε ότι παρόλο που η λινεαρόλη ήταν ανενεργή, πέντε από τα υπό μελέτη καουρένια ανέστειλαν την αναπαραγωγή του ιού.

- **Δράση κατά του HSV ερπητοϊού:** Η ανάγκη για φάρμακα ανθεκτικά στις μεταλλάξεις του ερπητοϊού HSV, ειδικότερα φάρμακα που έχουν ως βάση τα νουκλεοτίδια όπως η ασικλοβίρη, οδήγησε την έρευνα σε νέες θεραπείας. Με βάση την παραδοσιακή χρήση του *Sideritis perfoliate ssp perfoliata* σε μολυσματικές ασθένειες, οι Lazari et al. (2006) αξιολόγησαν τη δράση διαφορετικών εκχυλισμάτων σιδηρίτη σε προσβολές από τον ερπητοϊό HSV. Το εκχύλισμα διγλωρομεθάνης είχε αντι-ϊική δράση κατά του απλού ιού του έρπη (HSV) μέσω της αναστολής πολλαπλασιασμού του HSV-1.
- **Αντιτροφοδοτική δράση:** Η δράση διτερπενοειδών καουρενίων που απομονώθηκαν από εκχυλίσματα ειδών *Sideritis* ελέγχθηκε στην καταπολέμηση νυμφών των εντόμων *Spodoptera littoralis* και *Spodoptera frugiperda*, τα οποία αποτελούν σημαντικούς εχθρούς των καλλιεργειών βάμβακος, καπνού και λαχανικών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η δραστική ουσία σιδηροζόλη έδρασε επιτυχώς κατά του *Spodoptera littoralis* (Bondi et al., 2000). Επίσης, σε μελέτη των Aslan et al. (2006) φάνηκε ότι καουρένια από εκχυλίσματα *Sideritis trojana* είχαν αντιτροφοδοτική δράση κατά των *Acanthoscelides obtectus*, *Sitophilus granarius* και *Ephestia kuehniella*, παρασιτικών εντόμων σε αποθηκευμένα σιτηρά.

2.2. Πράσινο τσάι *Camelia sinensis*

Το πράσινο τσάι προέρχεται από το είδος *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze (Εικόνα 2) της οικογένειας Theaceae, και είναι το ίδιο είδος από το οποίο προέρχονται το λευκό, το ούλονγκ (oolong tea), το μαύρο και το pu-erh τσάι (Ahmed & Stepp, 2013). Οι κατεχίνες που περιέχει θεωρούνται υπεύθυνες για την αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση του, η καφεΐνη τού προσδίδει διεγερτικές ιδιότητες ενώ το αμινοξύ θιανίνη χαλαρωτικές.



Εικόνα 2. Φύλλα (αριστερά) και καρποί (δεξιά) του *Camelia sinensis*

Η ποιότητα του πράσινου τσαγιού εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες που σχετίζονται με την καλλιέργεια και την επεξεργασία του, οι οποίες επηρεάζουν τις χημικές του ιδιότητες και κατ' επέκταση τη γεύση, το άρωμα, και τις ιδιότητές του (Namita et al., 2012). Η Κίνα αποτελεί το παγκόσμιο κέντρο παραγωγής πράσινου τσαγιού, ωστόσο πράσινο τσάι παράγεται σε περισσότερες από 20 χώρες σε τροπικές, υποτροπικές και εύκρατες περιοχές.

2.2.1. Είδη

Το είδος *Camellia sinensis* είναι αειθαλής θάμνος ή δένδρο, που συνήθως κλαδεύεται έως δύο μέτρα ύψος. Έχει λευκοκίτρινα άνθη και επιμήκη, οδοντωτά φύλλα. Τα νεαρά φύλλα έχουν κοντές λευκές τρίχες στην κάτω πλευρά και ανοιχτοπράσινο χρώμα σε αντίθεση με τα παλαιότερα φύλλα τα οποία έχουν βαθύτερο χρωματισμό. Οι διαφορετικές ηλικίες των φύλλων παράγουν διαφορετικές ποιότητες τσαγιού, καθώς η χημική τους σύνθεση είναι διαφορετική (Namita et al., 2012).

Υπάρχουν τέσσερις ποικιλίες *Camellia sinensis*: η μικρόφυλλη *Camellia sinensis* var. *sinensis*, η πλατύφυλλη *Camellia sinensis* var. *assamica*, *Camellia sinensis* var. *dehungensis*, και *Camellia sinensis* var. *pubilimba*.

Το τσάι που κυκλοφορεί στο εμπόριο παράγεται κυρίως από τις δύο πρώτες ποικιλίες, ωστόσο το πράσινο τσάι προέρχεται κατά κύριο λόγο από την μικρόφυλλη ποικιλία, η οποία έχει πιο γλυκιά γεύση από την πλατύφυλλη. Η τελευταία χρησιμοποιείται συνήθως για την παραγωγή μαύρου τσαγιού και pu-erh. Ωστόσο, και οι δύο ποικιλίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή λευκού, πράσινου, κίτρινου, κόκκινου, μαύρου και pu-erh τσαγιού (Ahmed & Stepp, 2013). Η πλατύφυλλη ποικιλία αναπτύσσεται γρήγορα και είναι κατάλληλη για θερμά, τροπικά και υποτροπικά κλίματα (Banerjee, 1992), ενώ η μικρόφυλλη για ψυχρότερα, πιο ήπια κλίματα. Υπάρχει και πλήθος άλλων υβριδίων μεταξύ των ποικιλιών, τα οποία καλλιεργούνται ανάλογα με την περιοχή (Ming, 1992). Η διαφοροποίηση μεταξύ των δύο εμπορικών ποικιλιών *Camellia sinensis* γίνεται, επιπλέον, με την ανίχνευση πολυμορφισμών στις αλληλουχίες των νουκλεοτιδίων *matK* και *rbcL* που βρίσκονται στους χλωροπλάστες (Kato et al., 2003, Stoeckle et al., 2011).

2.2.2. Καλλιέργεια – καλλιεργητικές τεχνικές

Υψόμετρο

Το είδος *Camelia sinensis* καλλιεργείται και αναπτύσσεται πολύ καλά σε περιοχές με υψόμετρο έως 2.200 μέτρα, με μέτρια βροχόπτωση (περισσότερο από 120-150 cm ετήσιο ύψος βροχής) και θερμοκρασίες 12-30 °C. Ωστόσο, οι άριστες συνθήκες ανάπτυξης για το φυτό είναι

250-300 cm ύψος βροχής ετησίως και θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ 18-20 °C (Williges, 2004). Ορισμένες ποικιλίες τσαγιού μπορούν να αναπτυχθούν και σε μεγαλύτερο υψόμετρο, έως 3.000 μέτρα, το οποίο συνδέεται με καλύτερη ποιότητα τσαγιού.

Έδαφος

Απαιτεί καλά στραγγιζόμενα και αμμώδη εδάφη, που αερίζονται επαρκώς και είναι πλούσια σε θρεπτικά στοιχεία και χαμηλό pH. Η ξηρασία, η περίσσεια νερού, η υπερβολική ζέστη και ο παγετός αποτελούν παράγοντες επιβλαβείς για την ανάπτυξη των φυτών τσαγιού και μπορεί να οδηγήσουν σε προϊόν χαμηλότερης ποιότητας όσον αφορά τα χημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους.

Τα φυτά τσαγιού καλλιεργούνται συνήθως σε φυτώρια με ελεγχόμενες συνθήκες ή θερμοκήπια για τα πρώτα δύο έως τέσσερα χρόνια. Το διάστημα αυτό, τα φυτά θεωρούνται ανώριμα και δε συλλέγονται. Μετά την ωρίμανσή τους, πραγματοποιείται και η μεταφύτευσή τους στο χωράφι οπότε και συγκομίζεται το προϊόν.

Πολλαπλασιασμός

Γίνεται εγγενώς, με σπόρους, ή, αγενώς, με μοσχεύματα. Ο εμβολιασμός χρησιμοποιείται, επίσης, για αγενή πολλαπλασιασμό, όπου τα σπορόφυτα χρησιμοποιούνται ως υποκείμενα. Τα φυτά που προέρχονται από εγγενή πολλαπλασιασμό έχουν χαμηλότερες αποδόσεις, απαιτούν λιγότερη λίπανση και παράγουν ανομοιογενή φυτεία και προϊόν, σε σύγκριση με τα φυτά που πολλαπλασιάζονται με μοσχεύματα, ωστόσο αναπτύσσουν ισχυρότερο ριζικό σύστημα. Αντίθετα, τα φυτά που προκύπτουν από μοσχεύματα δεν έχουν καλά ανεπτυγμένο ριζικό σύστημα και απαιτούν λίπανση.

Λίπανση

Απαιτούνται 45-60 kg άζωτο (N), 4-7 kg φώσφορο (P), 20-30 kg κάλιο (K) και 4 kg ασβέστιο (Ca) ανά εκτάριο για να δώσουν 4 τόνους φύλλου (Rehm, 1989).

Καλλιέργεια

Τα φυτά τσαγιού καλλιεργούνται σε συμπαγείς σειρές και κλαδεύονται με τέτοιο τρόπο, ώστε να αποκτήσουν σχήμα ορθογώνιο, ύψους 1-1,2 μέτρων. Με αυτό τον τρόπο, η φυτεία αποκτά την όψη «τραπεζιού», επιταχύνεται η συγκομιδή και μεγιστοποιούνται οι αποδόσεις. Τα νεαρά φυτά κλαδεύονται πλευρικά, σε ύψος 23 εκ. πάνω από το έδαφος, ώστε να ενθαρρυνθεί η πλευρική ανάπτυξη και ο σχηματισμός θάμνου. Το κλάδεμα γίνεται καθ' όλη

τη διάρκεια του έτους, μεταξύ των περιόδων συγκομιδής ή ετησίως, για τη διατήρηση της συγκεκριμένης μορφής «τραπεζιού». Βαθύ κλάδεμα πραγματοποιείται κάθε 4-5 χρόνια

Προσβολές και ασθένειες

Το *Camelia sinensis* προσβάλλεται από το έντομο *Xyleborus fornicatus*, το οποίο προκαλεί μεγάλες ζημιές στις φυτείες, το άκαρι *Oligonychus coffeae*, νύμφες των γενών Coccinellidae και Staphylinidae, καθώς και τα ακάρεα *Typhlodromus* και *Phytoseius* (Williges, 2004). Είναι επίσης ευπαθές στην μυκητολογική ασθένεια που προκαλείται από το *Exobasidium vexans*. Για την καταπολέμηση αυτών των παρασίτων, πραγματοποιούνται ψεκασμοί κατά τη διάρκεια του έτους.

Συγκομιδή

Κατά τη συγκομιδή συλλέγονται είτε τα νεαρά, τρυφερά φύλλα μεμονωμένα, είτε μικρό τμήμα του βλαστού με το άνθος και 1-3 φύλλα αμέσως κάτω από αυτό. Τα παλαιότερα φύλλα γενικά δεν χρησιμοποιούνται στην παραγωγή πράσινου τσαγιού υψηλής ποιότητας, επειδή είναι τραχιά και δίνουν στυφή γεύση στο προϊόν. Η συγκομιδή γίνεται με το χέρι ή, τα τελευταία χρόνια, με συλλεκτική μηχανή. Ωστόσο, η υψηλή ποιότητα πράσινου τσαγιού απαιτεί συγκομιδή με το χέρι. Σε μία μέρα, μπορεί να συλλεχθούν έως και 30 κιλά φύλλα τσαγιού. Τα φύλλα συλλέγονται από το ίδιο φυτό σε μεσοδιαστήματα από τέσσερις ημέρες έως δύο εβδομάδες. Υπάρχουν 3-4 περίοδοι συγκομιδής στη διάρκεια του έτους, ανάλογα με την περιοχή καλλιέργειας (βορειότερη ή νοτιότερη).

Επεξεργασία

Τα φρέσκα φύλλα τσαγιού έχουν πικρή γεύση και είναι πλούσια σε πτητικές ενώσεις και αρωματικές ουσίες. Η επεξεργασία τους αποτελεί τον καθοριστικότερο παράγοντα διατήρησης και ενίσχυσης των πτητικών ουσιών, ελάττωσης της πικρής γεύσης, επανενεργοποίησης των ενζύμων, μείωσης της περιεχόμενης υγρασίας, και μετατροπής του χρωματισμού των φύλλων σε έξι διαφορετικά χρώματα, μεταξύ των οποίων και το πράσινο. Αμέσως μετά τη συλλογή, τα φύλλα απλώνονται και περιστρέφονται έως την μερική ξήρανσή τους (απώλεια 30% της υγρασίας τους). Στη συνέχεια θερμαίνονται για 10-15 λεπτά στους 180-200 οC σε ειδικά «τηγάνια» είτε στους 100 οC με ατμό, για να σταθεροποιηθεί το περιεχόμενό τους (φιζάρισμα). Στη συνέχεια, τα φύλλα τυλίγονται, ώστε να σπάσουν τα κυτταρικά τοιχώματα και να απελευθερωθεί η υγρασία τους, διαμορφώνονται σε διάφορα σχήματα και ξαναθερμαίνονται έως την τελική ξήρανσή τους.

Αποθήκευση

Τα αποξηραμένα φύλλα τσαγιού αποθηκεύονται προστατευμένα σε ειδικές συσκευασίες, σε ξηρό, δροσερό και σκοτεινό μέρος ώστε να αυξηθεί η διάρκεια ζωής τους και να διατηρηθεί η ποιότητά τους (Friedman et al., 2006).

2.2.3. Δραστικές ουσίες

Το τσάι περιέχει περίπου 4000 δραστικές ενώσεις, από τις οποίες το ένα τρίτο είναι πολυφαινόλες, κυρίως φλαβονοειδή (Sumpio et al., 2006), τα οποία χωρίζονται σε έξι κατηγορίες: φλαβανόλες (EGCG, EG, ECG και κατεχίνη), φλαβονόλες (καμφερόλη και κερσετίνη), ανθοκυανιδίνες (μαλβιδίνη, κυανιδίνη και δελφινιδίνη), φλαβόνες (απιγενίνη και ρουτίνη), φλαβονόνες (μυρισετίνη) και ισοφλαβονοειδή (γενιστεΐνη και βιοχανίνη Α) (Yilmaz, 2006).

Οι φλαβανόλες είναι γνωστές με τον γενικό όρο κατεχίνες και αποτελούν το 20-30% του ξηρού βάρους του πράσινου τσαγιού. Θεωρούνται υπεύθυνες για τα οφέλη που έχει το πράσινο τσάι στην υγεία (Cabrera et al., 2006). Οι κύριες κατεχίνες είναι η (-)-γαλλική επικατεχίνη (ECG), η (-)-επικατεχίνη (EC), η (-)- επιγαλλοκατεχίνη (EGC) και η (-)-γαλλική επιγαλλοκατεχίνη (EGCG). Η πιο ενεργή και με υψηλότερη περιεκτικότητα κατεχίνη στο πράσινο τσάι είναι η EGCG (Yilmaz, 2006). Οι κατεχίνες προσδίδουν στυπτικότητα και πικρή γεύση στο τσάι, ενώ η γεύση, το χρώμα και το άρωμα του τσαγιού συνδέονται άμεσα ή έμμεσα με αυτές. Μείωση της περιεκτικότητας σε κατεχίνες οδηγεί σε βελτιωμένη ποιότητα αρώματος του τσαγιού (Wang et al., 2000). Το πράσινο τσάι είναι εξαιρετικά καλή πηγή βιταμίνης C. Άλλες ενώσεις που περιέχονται στο πράσινο τσάι είναι αλκαλοειδή (καφεΐνη, θεοφυλλίνη, θεοβρωμίνη), αμινοξέα, υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, χλωροφύλλη, πτητικές οργανικές ενώσεις, φθόριο, αλουμίνιο, μέταλλα και ιχνοστοιχεία (Cabrera et al., 2003).

2.2.4. Φαρμακευτικές ιδιότητες-Χρήσεις

Τα τελευταία χρόνια, η κατανάλωση του πράσινου τσαγιού έχει αυξηθεί λόγω των ωφελειών του στην ανθρώπινη υγεία. Πλήθος ερευνών αναφέρουν για τις ευεργετικές επιδράσεις των πολυφαινολών σε διάφορες ανθρώπινες παθήσεις (Dalluge & Nelson, 2000).

- **Αντιγηραντική δράση:** Η αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών και το οξειδωτικό στρες αποτελούν τη βάση για την εμφάνιση νευροεκφυλισμών και την επιδείνωση διαφόρων λειτουργιών του οργανισμού με την πάροδο της ηλικίας (Harman, 1994). Η αιτιολογία νευροεκφυλιστικών παθήσεων που σχετίζονται με την ηλικία όπως η νόσος του Πάρκινσον και

η νόσος του Αλτσχάιμερ, καρδιαγγειακών παθήσεων, καθώς και του καρκίνου και του διαβήτη συνδέεται με αλλαγές στην οξειδωτική ισορροπία και τις βλάβες που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες (Polidori, 2003, Junqueira et al., 2004). Το πράσινο τσάι προστατεύει τα λιπίδια του ορού και τις πρωτεΐνες από τις οξειδωτικές βλάβες λόγω της γήρανσης (Kitani et al., 2004). Επιπλέον, στη μελέτη του Zaveri (2006) αναφέρεται ότι η κατανάλωση πράσινου τσαγιού οδήγησε στη μείωση των επιπέδων ενός δείκτη που σχετίζεται με την οξειδωτική βλάβη του DNA στο συκώτι, τους νεφρούς και τον εγκέφαλο, υποδηλώνοντας ότι οι πολυφαινόλες που περιέχονται στο πράσινο τσάι είναι ευεργετικές κατά των βλαβών από τη διαδικασία γήρανσης.

- **Δράση κατά της νόσου Πάρκινσον:** Πλήθος μελετών αναφέρουν ότι το πράσινο τσάι και οι EGCG κατεχίνες αναστέλλουν σημαντικά την εξέλιξη της νόσου σε ζωικά μοντέλα (Levites et al., 2001). Δόσεις EGCG 25 mg/kg ανέστειλαν την απώλεια ντοπαμινεργικών νευρώνων στον εγκέφαλο και διατήρησαν τα επίπεδα της ντοπαμίνης (Choi et al., 2002). Η δράση αυτή αποδόθηκε στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των κατεχινών EGCG. Επιδημιολογικές μελέτες στην πρόληψη της νόσου Πάρκινσον με κατανάλωση πράσινου τσαγιού έδειξαν 5-10 φορές λιγότερα περιστατικά εκδήλωσης της ασθένειας σε ασιατικούς πληθυσμούς (Pan et al., 2003), ενώ άλλες μελέτες δείχνουν προστατευτική αντιοξειδωτική δράση γενικότερα (Zheng et al., 2005).
- **Δράση κατά της νόσου Νόσου Αλτσχάιμερ:** Σε μελέτες αναφέρεται ότι οι EGCG προστατεύουν από την νευροτοξικότητα που προκαλείται από το β-αμυλοειδές στους νευρώνες του ιππόκαμπου, μία δράση που αποδόθηκε στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες αυτών των κατεχινών (Choi, et al., 2001). Επιπλέον, οι EGCG αναστέλλουν το σχηματισμό των β-αμυλοειδών, στα οποία οφείλεται ο σχηματισμός των πλακών (Levites et al., 2003).
- **Αντικαρκινική δράση:** Το πράσινο τσάι προλαμβάνει τον καρκίνο, καθώς έχει αποδειχθεί ότι οι κατεχίνες που περιέχει αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και ταυτόχρονα προάγουν την αποδόμηση των λευχαιμικών κυττάρων (Smith & Dou, 2001). Εργαστηριακές μελέτες σε καλλιέργειες καρκινικών κυττάρων έδειξαν τις δυνατότητες του πράσινου τσαγιού στην αναστολή της ανάπτυξης του καρκίνου του στομάχου (Setiawan et al., 2001).
- **Δράση κατά των καρδιαγγειακών παθήσεων:** Η προστατευτική δράση του πράσινου τσαγιού στις καρδιαγγειακές παθήσεις οφείλεται στην αντιοξειδωτική του δράση. Μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε ανθρώπους οι οποίοι λάμβαναν εκχύλισμα πράσινου τσαγιού μείωσε τον κίνδυνο εμφάνισης αθηρωμάτωσης (Miura et al., 2000). Το πράσινο τσάι ρυθμίζει επίσης την αρτηριακή πίεση (Negishi et al., 2004). Η στεφανιαία νόσος σχετίζεται με αυξημένο οξειδωτικό

στρες και δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. Έχει αποδειχθεί ότι τα αντιοξειδωτικά είναι δυνατό να αναστρέψουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (Duffy et al., 2001).

- **Αντιδιαβητική δράση:** Το πράσινο τσάι έχει αντιδιαβητική δράση, καθώς φαίνεται ότι μειώνει τα επίπεδα γλυκόζης στην κυκλοφορία του αίματος χωρίς να επηρεάσει τα επίπεδα ινσουλίνης (Tsuneki et al., 2004).
- **Δράση κατά της οδοντικής πλάκας:** Το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού είναι αποτελεσματικό στην πρόληψη της τερηδόνας λόγω της αντιβακτηριδιακής του δράσης (Sakanaka et al., 2981).
- **Δράση κατά δερματολογικών παθήσεων:** Εκχύλισμα πράσινου τσαγιού έχει αποδειχθεί, με χρήση ζωικών μοντέλων, ότι αναστέλλει το σχηματισμό δερματικών όγκων, που προκαλούνται από χημικές καρκινογόνες ουσίες ή την υπεριώδη ακτινοβολία (UVB). Τα εκχυλίσματα έχουν επίσης αντιφλεγμονώδη δράση που οφείλεται στις πολυφαινόλες και συγκεκριμένα στην EGCG η οποία είναι κυρίως υπεύθυνη για την πρόληψη του σχηματισμού καρκίνου (Katiyar & Elmets, 2001).
- **Δράση κατά της παχυσαρκίας:** Σε πείραμα μακρόχρονης κατανάλωσης πράσινου τσαγιού, στανταρισμένου σε 8,35% καφεΐνη και 24,7% κατεχίνες, που πραγματοποιήθηκε σε παχύσαρκους αρουραίους, φάνηκε ότι υπήρξε διέγερση του καφέ λιπώδους ιστού *in vivo* και καταγράφηκαν υψηλότερα επίπεδα θερμογένεσης σε σχέση με την επίδραση της καφεΐνης, με αποτέλεσμα να σταματήσει η συσσώρευση σωματικού λίπους στα πειραματόζωα, πιθανώς λόγω της ενεργοποίησης του ηπατικού μεταβολισμού των λιπιδίων (Duloo et al., 2000). Αυτή η επίδραση βρέθηκε επίσης σε μη παχύσαρκους αρουραίους (Ito et al., 2008).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ

3.1 Πολυφαινόλες

Οι πολυφαινόλες, μαζί και με άλλες ομάδες ουσιών (ορμόνες, χρωστικές, τερπένια, αλκαλοειδή κ.ά), αποτελούν τους δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών που βιοσυντίθενται μέσω μεταβολικών διαδικασιών των υδατανθράκων, των αμινοξέων και των λιπών (πρωτογενείς μεταβολίτες). Οι δευτερογενείς μεταβολίτες δεν παίζουν ρόλο στο σχηματισμό δομικών στοιχείων των κυττάρων και δεν συμβάλλουν στην αύξηση ή στην ανάπτυξη των φυτών, σχηματίζονται όμως σε συγκεκριμένα όργανα του φυτού και σε κατάλληλα στάδια ανάπτυξης. Η σύνθεσή τους συνδέεται στενά με τη λειτουργία θεμελιωδών αμυντικών μηχανισμών ζωτικής σημασίας για την επιβίωση των φυτών.

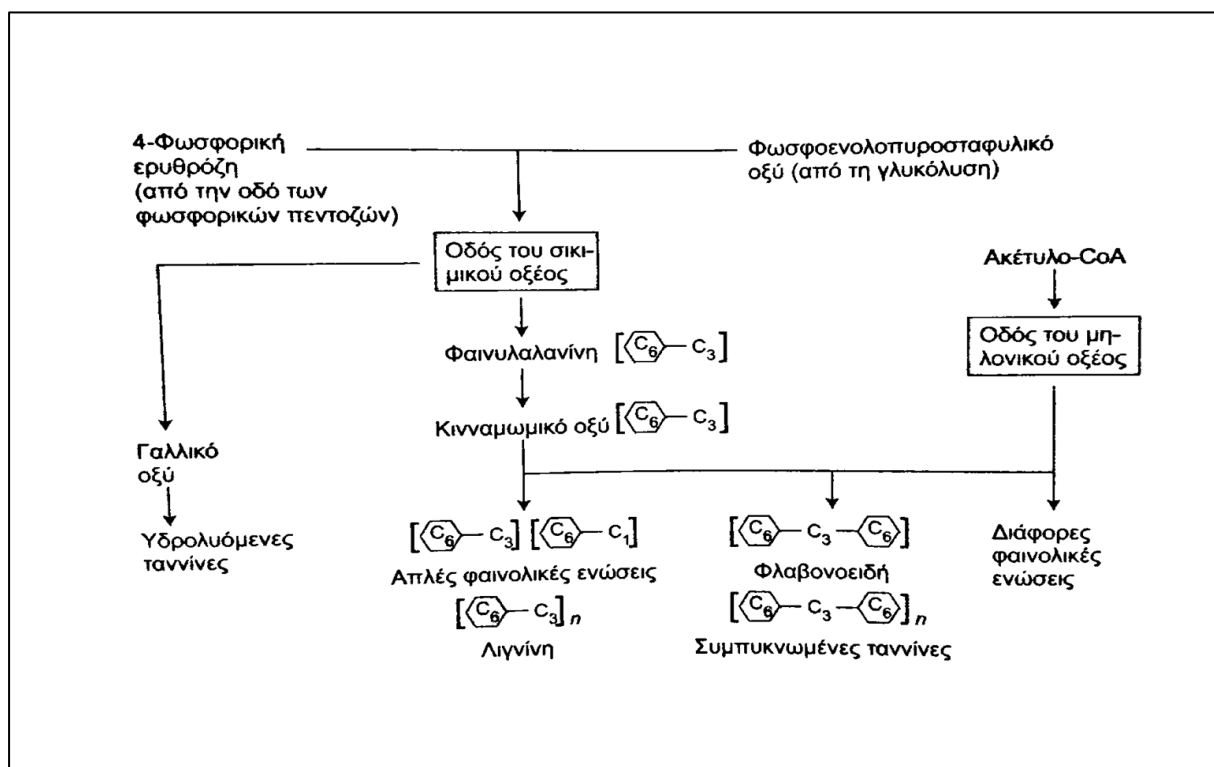
Οι δευτερογενείς μεταβολίτες κατατάσσονται στις παρακάτω ομάδες:

- Φαινολικές ενώσεις (Φλαβονοειδείς φαινόλες, μη φλαβονοειδείς φαινόλες, φαινολικά οξέα, λιγνάνια, ταννίνες)
- Τερπένια (μονοτερπένια, διτερπένια, σεσκιτερπένια, ιριδοειδή)
- Αζωτούχες ενώσεις (αλκαλοειδή, αμίνες, μπεταλαΐνες κ.ά)
- Αιθέρια έλαια
- Κουτίνη-Κηροί-Σουβερίνη

Οι φαινολικές ενώσεις είναι οργανικές ενώσεις των οποίων το μόριο περιλαμβάνει έναν τουλάχιστον αρωματικό δακτύλιο (C_6) συνδεδεμένο με ένα ή περισσότερα υδροξύλια (-OH). Μέσω αντιδράσεων συμπύκνωσης, προσθήκης ή πολυμερισμού του βασικού αρωματικού δακτυλίου, προκύπτει ένας μεγάλος αριθμός παραγώγων. (Buckanan and Gruissem, 2000). Στα φυτά απαριθμούνται πάνω από 8000 φαινολικές ενώσεις και διακρίνονται σε 15 υποομάδες ανάλογα με τη χημική τους δομή. Οι φυσικές πολυφαινόλες συναντώνται κατά κύριο λόγο σε συνδεδεμένη μορφή με υδατάνθρακες, αμίνες, λιπίδια, καρβοξυλικά οξέα ή και ακόμα με άλλες φαινόλες. Κάποιες απ' αυτές είναι διαλυτές μόνο σε οργανικούς διαλύτες, άλλες αποτελούν υδατοδιαλυτά καρβοξυλικά οξέα και γλυκοζίτες ενώ άλλες είναι μεγάλα αδιάλυτα πολυμερή. (Taiz L. & Zeiger E., 2002). Η βιοσύνθεσή τους πραγματοποιείται κυρίως μέσω δύο κύριων βιοσυνθετικών οδών: της μεταβολικής οδού του άλατος του σικιμικού οξέος και της μεταβολικής οδού του άλατος του μαλονικού οξέος και είναι αρκετά περίπλοκες διαδικασίες. Στη βιοσύνθεση της πλειονότητας των φυτικών πολυφαινολών συμμετέχει κυρίως η οδός του σικιμικού οξέος καθότι η οδός του μαλονικού

οξέος αποτελεί σημαντική πηγή φαινολικών ενώσεων στους μύκητες και στα βακτήρια και έχει μικρότερη σημασία στα ανώτερα φυτά. (Taiz L. & Zeiger E., 2002).

Η οδός του σικιμικού οξέος (shikimic acid pathway) είναι αυτή που μετατρέπει απλές πρόδρομες ενώσεις υδατανθράκων σε τρία αρωματικά αμινοξέα: τη φαινυλαλανίνη, την τυροσίνη και την τρυπτοφάνη. Η συγκεκριμένη οδός δεν πραγματοποιείται σε ζωικούς οργανισμούς αλλά μόνο στα φυτά, τους μύκητες και τα βακτήρια. Γι' αυτό το λόγο προστίθενται στη διατροφή των ζώων ως συμπλήρωμα καθότι είναι απαραίτητες θρεπτικές ουσίες. Οι πιο διαδεδομένες ομάδες φαινολικών ενώσεων προέρχονται από τη φαινυλαλανίνη μέσω της απομάκρυνσης ενός μορίου αμμωνίας για το σχηματισμό κινναμωμικού οξέος. Η αντίδραση αυτή καταλύεται από την αμμωνιακή λυάση της φαινυλαλανίνης (phenylalanine ammonia lyase, PAL), το πιο πολυμελετημένο ένζυμο του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτικών οργανισμών. Η PAL βρίσκεται σε κομβικό σημείο διακλάδωσης μεταξύ του πρωτογενούς και δευτερογενούς μεταβολισμού και έτσι αποτελεί ένα σημαντικό ρυθμιστικό βήμα που οδηγεί στο σχηματισμό πολλών φαινολικών ενώσεων. Αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα μετά την αντίδραση της PAL οδηγούν στην προσθήκη περισσότερων υδροξυλικών και άλλων ομάδων. Το trans-κινναμωμικό οξύ, το p-κουμαρικό οξύ καθώς και τα παράγωγα αυτών είναι απλές φαινολικές ενώσεις οι οποίες ονομάζονται φαινυλοπροπανοειδή (phenylpropanoids). (Taiz L. & Zeiger E., 2002).



Εικόνα 3. Η οδός του σικιμικού οξέος

Το μαλονικό οξύ μαζί με το κινναμωμικό, που έχει προέλθει από το δρόμο του σικιμικού οξέος, μας δίνουν τα φλαβονοειδή ή τις συμπυκνωμένες ταννίνες.

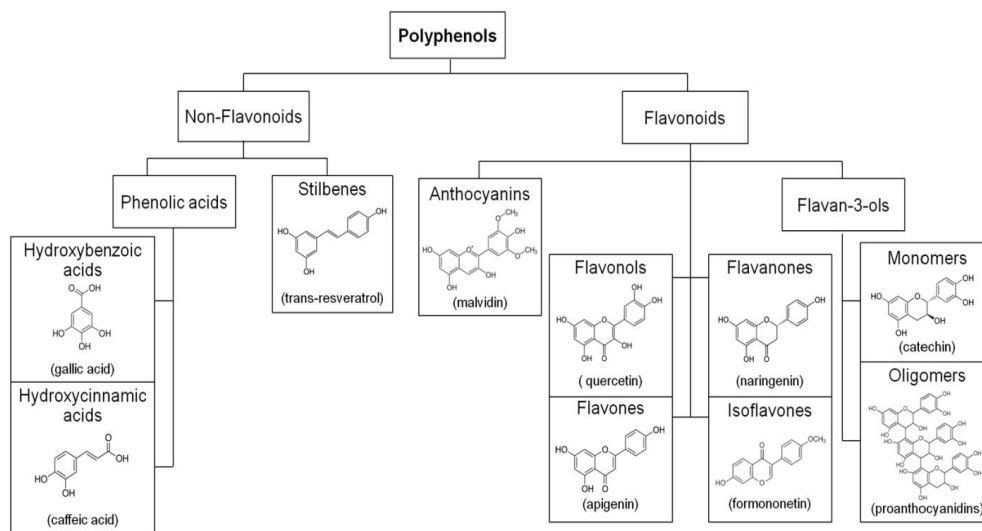
Οι φαινολικές ενώσεις διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα του φυτού εναντίον φυτοπαθογόνων αλλά και ζωικών εχθρών καθώς επίσης το προστατεύουν και σε συνθήκες καταπόνησης αβιοτικών παραγόντων όπως οι βροχοπτώσεις και η υπεριώδης ακτινοβολία. (Daglia, 2012). Οι πολυφαινόλες αποτελούν μία μεγάλη ομάδα φυτοχημικών ενώσεων των οποίων η σύνθεση στα φυτικά είδη μπορεί να διαφέρει ποιοτικά και ποσοτικά. Επιπρόσθετα, κάποιες απ' αυτές τις ενώσεις είναι πιθανό να εντοπίζονται σε όλα τα είδη φυτών αλλά μερικές πολυφαινόλες μπορεί να συναντώνται σε συγκεκριμένες οικογένειες πχ οι ισοφλαβόνες που απαντώνται κυρίως στη σόγια. Σίγουρα πάντως οι παραλλαγές αυτές είναι πολυπαραγοντικές καθώς συντρέχουν και γενετικοί παράγοντες, περιβαλλοντικές συνθήκες αλλά και τα στάδια ανάπτυξης του ίδιου του φυτού.

Πίνακας 1. Οι κυριότερες υποομάδες των φαινολικών ενώσεων

Αριθμός ατόμων άνθρακα	Τύπος βασικού ανθρακικού σκελετού	Κατηγορία ενώσεων	Χαρακτηριστικοί εκπρόσωποι
6	C_6	Απλές φαινόλες	Υδροκινόνη, κατεχόλη
7	C_6-C_1	Παράγωγα υδροξυβενζοϊκού	4-Υδροξυβενζοϊκό
8	C_6-C_2	Ακετοφαινόλες Παράγωγα οξικού φαινυλίου	4-Υδροξυακετοφαινόλη 4-Υδροξυφαινυλοξικό
9	C_6-C_3	Παράγωγα υδροξικιναμικού Φαινυλοπροπανίου Κουμαρίνες	Καφεϊκό Ευγενόλη Εσκουλετίνη
10	C_6-C_4	Ναφθοκινόνες	Γιουγκλόνη
13	$C_6-C_1-C_6$	Ξανθόνες	Μαντζιφερίνη
14	$C_6-C_2-C_6$	Στιλβένια, Ανθρακινόνες	Εμοτίνη, Ρεσβερατρόλη
15	$C_6-C_3-C_6$	Φλαβονοειδή	Κερκετίνη
18	$(C_6-C_3)_2$	Λιγνάνες	Πινορεσινόλη
30	$(C_6-C_3-C_6)_2$	Διφλαβονοειδή	Αμεντοφλαβόνη
n	$(C_6)_n$	Μελανίνες της κατεχόλης	Πολυμερή του ναφθαλινίου
n	$(C_6-C_1)_n:Glc$	Υδρολυόμενες ταννίνες	Γαλλοταννίνες
n	$(C_6-C_3)_n$	Λιγνίνες	Πολυμερή της γουαϊακόλης (γυμνόσπερμα) Πολυμερή της γουαϊακόλης και της συρινγκόλης (αγγειόσπερμα)
n	$(C_6-C_3-C_6)_n$	Συμπυκνωμένες ταννίνες	Πολυμερή της κατεχίνης

3.1 Κατηγορίες πολυφαινολών

Οι πολυφαινόλες ταξινομούνται στις *φλαβονοειδείς* και στις *μη φλαβονοειδείς* φαινόλες. Στις φλαβονοειδείς φαινόλες κατατάσσονται οι φλαβονόλες, οι φλαβόνες, οι φλαβονόνες, οι φλαβανόλες, οι ισοφλαβονοειδή και οι ανθοκυανίνες (Cheynier,2005) ενώ στις μη φλαβονοειδείς τα φαινολικά οξέα που χωρίζονται στα παράγωγα του υδροξυβενζοϊκού οξέος και του κινναμωμικού οξέος, τα στυλβένια, τα λιγνάνια και ,τέλος, τα φαινυλοπροπανοειδή. (Daglia, 2012) Οι κυριότερες και πιο πολυμελετημένες κατηγορίες πολυφαινολών είναι οι απλές φαινόλες, τα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή, τα στυλβένια και οι λιγνάνες (Harborne and Baxter, 1993).



Εικόνα 4. Κατηγορίες πολυφαινολών

3.2 Φλαβονοειδείς φαινόλες (φλαβονοειδή)

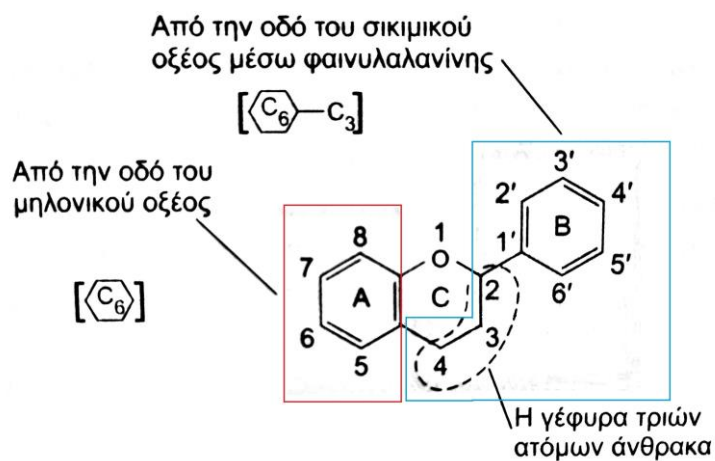
Τα φλαβονοειδή είναι ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στα φωτοσυνθετικά κύτταρα. Ανακαλύφθηκαν τη δεκαετία του 1930 από τον Ούγγρο επιστήμονα Albert Szent-Gyorgi ο οποίος παρατήρησε την συνέργεια μεταξύ καθαρής βιταμίνης C και κάποιων απροσδιόριστων παραγόντων που απομονώθηκαν από τις φλούδες των λεμονιών. Αρχικά τα ονόμασε «Κιτρίνη» και στη συνέχεια αναφέρονταν ως βιταμίνες («Βιταμίνη P»). Στη συνέχεια όμως αποδείχθηκε ότι επρόκειτο για το φλαβονοειδές ρουτίνη (Karak P. , 2019) Το ενδιαφέρον όμως για αυτές τις ενώσεις μειώθηκε όταν αποδείχτηκε ότι δεν αποτελούν μικροθρεπτικά στοιχεία για την ανθρώπινη υγεία τη δεκαετία του 1940.

Ωστόσο, μία μεγάλη επέκταση του πεδίου συνέβη στη δεκαετία του 1990 μετά τη δημοσίευση επιδημιολογικών μελετών που συσχετίζουν τη μειωμένη επίπτωση καρκίνου και καρδιαγγειακών παθήσεων με μεγαλύτερη πρόσληψη φλαβονοειδών. Ερχόμενοι στο σήμερα πάνω από 30.000 μελέτες έχουν δημοσιευτεί σχετικά με τα φλαβονοειδή. (Perez-Vizcaino, F. et al, 2010)

Η δομή των φλαβονοειδών περιέχει δύο αρωματικούς δακτυλίους συνδεδεμένους μεταξύ τους με την ύπαρξη ενός πυρανικού δακτυλίου ο οποίος είναι ο κεντρικός ετεροκυκλικός δακτύλιος. Πολλαπλοί συνδυασμοί υδροξυλίων, σακχάρων, οξυγόνου και μεθυλομάδων δημιουργούν μια πληθώρα δομών που κατηγοριοποιούνται σε διάφορες υποομάδες (φλαβονόλες, φλαβόνες, φλαβανόνες, ισοφλαβόνες, ανθοκυανιδίνες κτλ.) Η υδροξυλική ομάδα είναι συνήθως παρούσα στις θέσεις 4', 5' και 7' ενώ τα σάκχαρα βρίσκονται στην πλειοψηφία των φλαβονοειδών ως γλυκοζίτες. Η συνύπαρξη σακχάρων και της υδροξυλικής ομάδας αυξάνουν την υδατοδιαλυτότητα των φλαβονοειδών ενώ άλλα υποκατάστατα, όπως η μεθυλομάδα, καταστούν τα φλαβονοειδή λιπόφιλα. (Crozier, A. et al, 2008). Με βάση το βαθμό οξείδωσης του πυρανικού δακτυλίου κατατάσσονται στις προαναφερθείσες υποομάδες: φλαβονόλες, φλαβόνες, φλαβονόνες, φλαβανόλες, ισοφλαβονοειδή και ανθοκυανίνες. (Cheynier, 2005)

Παραπάνω από 4000 φλαβονοειδή έχουν εντοπιστεί σε φρούτα, λαχανικά, στο τσάι και στο κρασί ενώ η λίστα αυτή συνεχίζει να αυξάνεται. (Daglia, 2012). Πιο συγκεκριμένα, οι φλαβανόλες, κυρίως η κατεχίνη, και οι φλαβονόλες κερκετίνη και καεμπφερόλη μαζί με τους γλυκοζίτες τους απαντώνται στα αφεψήματα του πράσινου και του μαύρου τσαγιού καθώς επίσης και στο κόκκινο κρασί. Η κερκετίνη μάλιστα αποτελεί κύριο συστατικό των κρεμμυδιών και των μήλων. Από την άλλη πλευρά, οι φλαβανόνες συναντώνται κυρίως στα εσπεριδοειδή. (Rice-Evans, C. A. et al., 1996)

Οι φλαβονοειδείς φαινόλες παρουσιάζουν πλήθος βιοχημικών και αντιοξειδωτικών επιδράσεων που σχετίζονται με διάφορες ασθένειες όπως πχ. ο καρκίνος, η νόσος του Αλτσχάιμερ, η αρτηριοσκλήρωση κ.ά. Συνδέονται με ένα ευρύ φάσμα επιδράσεων στην ανθρώπινη υγεία και αποτελούν σημαντικό συστατικό πολλών θρεπτικών, φαρμακευτικών και καλλυντικών εφαρμογών. Όλα αυτά οφείλονται στα ισχυρά αντιοξειδωτικά τους, στις αντιμικροβιακές, αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες όπως επίσης και στην ικανότητά τους να απορροφούν τις ελεύθερες ρίζες. (Karak P. , 2019). Ας δούμε τις πιο σημαντικές ομάδες φλαβονοειδών:



Εικόνα 5. Βασικός σκελετός φλαβονοειδών

3.2.1 Φλαβονόλες

Μεταξύ των φλαβονοειδών, οι φλαβονόλες μαζί με τις φλαβανόλες είναι μακράν οι πιο άφθονες και οι πιο ευρέως διαδεδομένες στη φύση. Σε σύγκριση με τις φλαβόνες, οι φλαβονόλες έχουν μια ομάδα υδροξυλίου (-OH) στη θέση 3 του δακτυλίου C. (Panche, A. N., et al, 2016). Οι φλαβονόλες απαντώνται συνήθως με την γλυκοζυλιωμένη τους μορφή (ως γλυκοζίτες). Τα συζευγμένα σάκχαρα είναι συνήθως η γλυκόζη και η ραμνόζη. (Perez-Vizcaino, F. et al, 2010)

Οι γλυκοζίτες των φλαβονολών είναι:

- Της μυρισετίνης (μυρισετόλη 3-μονογλυκοζίτης)
- Της κερκετίνης (κερκετόλη 3-μονογλυκοζίτης)
- Της καιμπεφερόλης (καιμπεφερόλη 3-μονογλυκοζίτης)

Οι φλαβονόλες συσσωρεύονται στους εξωτερικούς ιστούς (δέρμα και φύλλα) καθώς η βιοσύνθεση τους διεγείρεται από το φως. Ωστόσο, υπάρχουν έντονες διαφορές μεταξύ των συγκεντρώσεων από φρούτο σε φρούτο στο ίδιο δέντρο αλλά και ακόμη μεταξύ των διαφόρων πλευρών ενός φρούτου, ανάλογα με την έκθεση στο ηλιακό φως.

Μπορούν να βρεθούν τόσο σε φρούτα όσο και σε λαχανικά αλλά κύριες πηγές αποτελούν τα κρεμμύδια, τα μήλα, ο μηλίτης, τα σταφύλια, το κρασί και το τσάι. Η πιο γνωστή φλαβονόλη είναι η κερκετίνη. Οι φλαβονόλες είναι από τις πιο διαδεδομένες κίτρινες χρωστικές. Διατίθενται στο εμπόριο ως συμπληρώματα διατροφής είτε σε καθαρή μορφή, π.χ. κερκετίνη, είτε ως μείγματα φλαβονοειδών ή εκχυλίσματα. (Perez-Vizcaino, F. et al, 2010)

3.2.2 Φλαβόνες

Οι φλαβόνες απαντώνται λιγότερο συχνά από τις φλαβονόλες στα φρούτα και τα λαχανικά. Διαθέτουν ένα διπλό δεσμό μεταξύ των θέσεων 2 και 3 καθώς επίσης και μία κετόνη στη θέση 4 του δακτυλίου C. Βρίσκονται κυρίως στα φύλλα, στα άνθη και τους καρπούς. Κύριες πηγές φλαβονών αποτελούν το χαμομήλι, η μέντα, το σέλινο, ο μαϊντανός, οι κόκκινες πιπεριές καθώς επίσης και το ginkgo biloba (Panche, A. N., et al, 2016). Δημητριακά όπως το κεχρί και το σιτάρι περιέχουν C-γλυκοζίτες φλαβόνες Σ' αυτή την κατηγορία φλαβονοειδών ανήκουν η απιγενίνη, η λουτεολίνη, η διοσμετίνη.

3.2.3 Φλαβανόλες ή Φλαβαν-3-όλες

Οι φλαβανόλες απαντώνται τόσο στην μονομερή τους μορφή (κατεχίνες) όσο και σε πολυμερείς ενώσεις (προανθοκυανιδίνες). Οι φλαβανόλες συχνά αναφέρονται και ως φλαβαν-3-όλες καθώς η ομάδα του υδροξυλίου (-OH) βρίσκεται πάντα συνδεδεμένη στη θέση 3 του δακτυλίου C (Panche, A. N., et al, 2016).

Οι κατεχίνες βρίσκονται σε πολλά είδη φρούτων, ιδιαίτερα στις φλούδες αυτών (Tsao, 2010), και στο κόκκινο κρασί, όμως το πράσινο τσάι αποτελεί μακράν την κυριότερη και πλουσιότερη πηγή τους. Ενδεικτικά αξίζει να αναφερθεί ότι στο εκχύλισμα του πράσινου τσαγιού εμπεριέχονται 200 mg κατεχινών. (Manach et al., 2004) Επιπρόσθετα, απαντώνται στη μαύρη σοκολάτα αλλά και στο κακάο. Η κατεχίνη και η επικατεχίνη αποτελούν τις κύριες φλαβανόλες των φρούτων ενώ η γαλοκατεχίνη και η επιγαλοκατεχίνη απαντώνται σε συγκεκριμένα είδη της οικογένειας Leguminaceae (κοινώς όσπρια), στα σταφύλια και στο τσάι. (Manach et al., 2004). Η κατεχίνη και η επικατεχίνη έχουν τη δυνατότητα να σχηματίζουν πολυμερή, τις λεγόμενες προανθοκυανιδίνες οι οποίες υδρολύονται και μετατρέπονται σε ανθοκυανιδίνες.

3.2.4 Φλαβανόνες

Κάποιες δεκαετίες πριν, οι φλαβανόνες θεωρούνταν δευτερεύοντα φλαβονοειδή. Ωστόσο τα τελευταία 15 χρόνια ο αριθμός τους σημείωσε σημαντική αύξηση σε σημείο να αποτελούν σημαντική κατηγορία φλαβονοειδών. Θα μπορούσαν να θεωρηθούν μάλιστα και ο ακρογωνιαίος λίθος των φλαβονοειδών μιας και αποτελούν τις πρόδρομες ενώσεις όλων των άλλων υποκατηγοριών (Khan, M. K., & Dangles, O. ,2014) Οι φλαβανόνες μπορούν να βρεθούν σ' όλα τα μέρη του φυτού τόσο στο υπόγειο όσο και στο υπέργειο ανάλογα με το είδος του φυτού. Η υψηλότερη τους όμως συγκέντρωση απαντάται κυρίως στη φλούδα των

εσπεριδοειδών πχ πορτοκάλια, λεμόνια όπως και στα στερεά τμήματα αυτών, ιδιαίτερα στο λευκό σπογγώδες τμήμα τους και στις μεμβράνες διαχωρισμού των τμημάτων τους. Είναι υπεύθυνες για την πικρή γεύση του χυμού και της φλούδας των εσπεριδοειδών.

Κύριοι εκπρόσωποι της κατηγορίας αυτής είναι η εσπεριτίνη, η ναρινγενίνη, η ναριρουτίνη και η εριοδικτυόλη. Στις φλαβονόνες αποδίδεται μια σειρά από οφέλη για την υγεία λόγω των ιδιοτήτων τους στη δέσμευση των ελεύθερων ριζών. (Panche, A. N., et al, 2016).

3.2.5 Ανθοκυανίνες (Ανθοκυάνια)

Οι ανθοκυανίνες είναι γλυκοζίτες των ανθοκυανιδίων που προκύπτουν από την προσκόλληση ενός μορίου γλυκόζης στη θέση 3 του πυρυλικού δακτυλίου. Μέσω της συμπύκνωσης σχηματίζουν μ'άλλα φλαβονοειδή πιο σύνθετα πολυμερή. Οι ανθοκυανίνες είναι χρωστικές ουσίες διαλυτές στο νερό που συμβάλλουν στον καθορισμό του χρώματος των ανθέων και των καρπών (ερυθρό, ιώδες, μπλε). Το χρώμα των ανθοκυανινών ωστόσο εξαρτάται από το pH, δηλαδή είναι κόκκινο σε όξινο περιβάλλον και μπλε σε βασικό. (Tsao, 2010). Οι ανθοκυανίνες είναι έγχρωμα φλαβονοειδή που προσελκύουν ζώα. Μαζί με τα καροτενοειδή αποτελούν τους δύο τύπους χρωστικών που συναντάμε στα φυτά. (Taiz L. & Zeiger E., 2002). Η ταξινόμησή τους γίνεται με βάση τον αριθμό και τη θέση των υδροξυλίων (-OH) στο μόριο του φλαβονοειδούς. (Di Lorenzo et al., 2021).

Πίνακας 2. Οι πιο διαδεδομένες ανθοκυανιδίνες είναι:

Ανθοκυανιδίνη	Ομάδα	Χρώμα
Πελαργονιδίνη	4'- OH	Ερυθρό προς πορτοκαλόχρωμο
Κυανιδίνη	3'- OH, 4'- OH	Ερυθρό προς ιώδες
Δελφινιδίνη	3'- OH, 4'- OH, 5'- OH	Ιώδες προς κυανό
Παιονιδίνη	3'- OCH ₃ , 4'- OH	Ερυθρό του ρόδου
Πετουνιδίνη	3'- OCH ₃ , 4'- OH, 5'- OCH ₃	Ιώδες

Στην πραγματικότητα, το 90% των ανθοκυανινών βασίζεται στην κυανιδίνη, τη δελφινιδίνη και την πελαργονιδίνη και τα μεθυλιωμένα παράγωγά τους. (Tsao, 2010). Οι ανθοκυανίνες είναι από τις πολυφαινολικές ενώσεις που συναντώνται περισσότερο στα τρόφιμα.

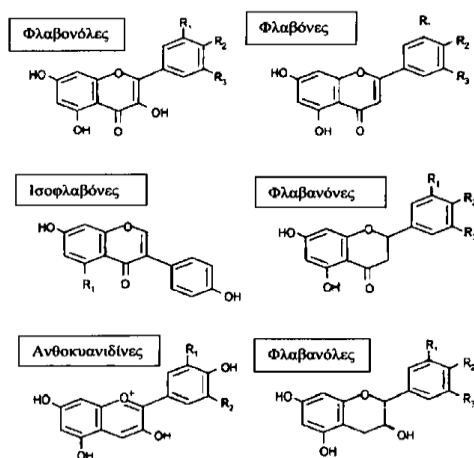
Πηγές ανθοκυανίνων με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις είναι τα μαύρα μούρα, η μαύρη σοκολάτα και η μαύρη σταφίδα. Ακολουθούν το κόκκινο κρασί, τα έγχρωμα φασόλια και ορισμένα φυλλώδη και ριζώδη λαχανικά όπως οι μελιτζάνες, το λάχανο, τα κόκκινα κρεμμύδια και τα ραπανάκια αλλά εξίσου σημαντική είναι και η παρουσία της στα φρούτα. (Di Lorenzo et al., 2021). Η σταθερότητα που παρουσιάζουν αυτές οι ενώσεις μαζί τα οφέλη στην ανθρώπινη υγεία, διευκολύνουν τη χρήση τους στον τομέα των τροφίμων. (Panche, A. N., et al, 2016).

3.2.6 Ισοφλαβονοειδή

Τα ισοφλαβονοειδή αποτελούν μία χαρακτηριστική υποομάδα των φλαβονοειδών καθότι έχουν περιορισμένη κατανομή στο φυτικό βασίλειο μιας και απαντώνται κατά κύριο λόγο στη σόγια και μετέπειτα σ' άλλα ψυχανθή φυτά. (Panche, A. N., et al, 2016).

Πρόκειται για μία ομάδα στην οποία η θέση ενός αρωματικού δακτυλίου (δακτύλιος B) έχει αλλάξει. Αν και δεν είναι στεροειδή, το σύστημα δακτυλίων των ισοφλαβονών έχει τριδιάστατη δομή παρόμοια με αυτήν των στεροειδών επιτρέποντας την πρόσδεσή τους σε υποδοχείς οιστρογόνων. Αν και δεν είναι στεροειδή, έχουν υδροξυλομάδες στις θέσεις 7' και 4', σε μια διαμόρφωση ανάλογη με τα υδροξύλια στο μόριο της οιστραδιόλης. Αυτή η δομή προσδίδει στις ισοφλαβόνες ιδιότητα φυτοιστρογόνου. (Taiz L. & Zeiger E., 2002).

Παρουσιάζουν πολλές και διαφορετικές βιολογικές δράσεις. Μερικά, όπως η ροτενόνη, δύναται να χρησιμοποιηθούν ως εντομοκτόνα, ως ιχθυοκτόνα αλλά και ως ποντικοφάρμακα. Κάποιες άλλες παρουσιάζουν αντι-οιστρογόνες επιδράσεις. Για παράδειγμα, αρνιά που τρέφονται με τριφύλλι (πλούσιο σε ισοφλαβόνες) συχνά δεν είναι γόνιμα. Τέλος, στα ισοφλαβονοειδή αποδίδονται οι αντικαρκινικές ιδιότητες των τροφών που παρασκευάζονται από τη σόγια. (Taiz L. & Zeiger E., 2002).



Εικόνα 6. Χαρακτηριστικές δομές φλαβονοειδών

3.3 Μη φλαβονοειδείς φαινόλες (μη φλαβονοειδή)

Τα μη φλαβονοειδή περιλαμβάνουν μόρια με απλή δομή όπως τα φαινολικά οξέα (υδροξυβενζοϊκά οξέα και υδροξυκινναμωμικά οξέα), αλλά και πιο σύνθετα μόρια όπως τα στυλβένια, τις ταννίνες και τις λιγνίνες. (Khan, M. K., & Dangles, O. ,2014)

3.3.1 Φαινολικά οξέα

Τα φαινολικά οξέα αποτελούν το 1/3 των πολυφαινολών που εντοπίζονται στους εδώδιμους φυτικούς ιστούς. Διακρίνονται σε δύο κατηγορίες ανάλογα τη χημική τους δομή: τα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος (C1-C6) και τα παράγωγα του κινναμωμικού οξέος (C3-C6). Ξεχωρίζουν ως προς το μοτίβο της υδροξυλίωσης και μεθυξυλίωσης των αρωματικών δακτυλίων τους. Επιπρόσθετα, συνιστούν αναπόσπαστο κομμάτι της διατροφής του ανθρώπου και πολλές φορές λαμβάνονται και ως φαρμακευτικά σκευάσματα.

Τα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος βρίσκονται κυρίως υπό την μορφή γλυκοζιτών. Επιπλέον, τα υδροξυβενζοϊκά οξέα είναι συστατικά με πολύπλοκες δομές όπως οι υδρολυόμενες ταννίνες. Το περιεχόμενο σε υδροξυβενζοϊκό οξύ στα βρώσιμα φυτά είναι γενικά πολύ χαμηλό, με εξαίρεση ορισμένων κόκκινων φρούτων, το μαύρο ραπανάκι και τα κρεμμύδια. (Τσακίρης Α., 2020) Οι πλέον δεσπόζουσες μορφές είναι το π-υδροξυβενζοϊκό, το βανιλλικό και το πρωτοκατεχικό οξύ. Η υψηλότερη συγκέντρωση βενζοϊκών οξέων έχει υπολογιστεί σε είδη της οικογένειας *Apiaceae*. (Di Lorenzo et al., 2021)

Από την άλλη πλευρά, τα παράγωγα του κινναμωμικού οξέος απαντώνται κυρίως στα φρούτα και πρόκειται για αρωματικές ουσίες με πλευρική αλυσίδα 3 ατόμων C. Απαντώνται πιο συχνά από τα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος και σπάνια βρίσκονται σε ελεύθερη μορφή, εκτός από τα επεξεργασμένα τρόφιμα που έχουν υποστεί κατάψυξη, αποστείρωση, ή ζύμωση. (Τσακίρης Α., 2020) Κύριοι αντιπρόσωποι αυτής της ομάδας είναι το καφεϊκό οξύ, το πιο άφθονο φαινολικό οξύ, (σε εστεροποιημένη μορφή στα τρόφιμα), το φερουλικό και το π-κουμαρικό οξύ. Τα κινναμωμικά οξέα είναι ευρέως διαδεδομένα στα φυτά ως αμίδια ή ως εστέρες. Συναντώνται σε υψηλές συγκεντρώσεις στον καφέ, στο τσάι, στο κρασί, στο κακάο, στα φρούτα, στα λαχανικά και στα δημητριακά. Συγκεκριμένα, στα φρούτα βρίσκονται στα εξωτερικά τμήματα των ώριμων φρούτων αλλά οι συγκεντρώσεις τους μειώνονται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Ενδεικτικά, το καφεϊκό οξύ αντιπροσωπεύει το 75-100% της συνολικής περιεκτικότητας του υδροξυκινναμωμικού οξέως στα περισσότερα φρούτα.

3.3.2 Στιλβένια

Πρόκειται για πολύπλοκες ενώσεις με δύο βενζολικούς δακτυλίους οι οποίοι συνδέονται με ένα αιθάνιο ή μια αιθυλενική αλυσίδα. Κύριος αντιπρόσωπος είναι η ρεσβερατρόλη η οποία απαντάται τόσο με τη trans μορφή της όσο και με τη cis.

Τα φυτά τα παράγουν ως απάντηση σε μολύνσεις από παθογόνα αλλά και σε διάφορες συνθήκες καταπόνησης. Έχει ανιχνευθεί σε περισσότερα από 70 είδη φυτών, συμπεριλαμβανομένων των σταφυλιών, των μούρων, των φιστικιών και του ευκάλυπτου. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι η φλούδα των κόκκινων σταφυλιών είναι ιδιαίτερα πλούσια σε ρεσβερατρόλη σε ποσότητα 50-100 g/kg καθαρού βάρους, γεγονός που συμβάλλει στη σχετικά υψηλή συγκέντρωση ρεσβερατρόλης στο κόκκινο κρασί και στο χυμό σταφυλιών. Υπάρχουν ενδείξεις για αντικαρκινογόνες επιδράσεις της ρεσβερατρόλης. (D Archivio, M. et al., 2007). Η ρεσβερατρόλη βρίσκει απήχηση και στον τομέα της φαρμακοβιομηχανίας καθώς η παρουσία της στα φαρμακευτικά προϊόντα μπορεί να ελαχιστοποιήσει ή να συμβάλλει στην πρόληψη της οξείδωσης των λιπιδίων των προϊόντων αυτών παρατείνοντας έτσι τη διάρκεια ζωής τους. (Shahidi, F., & Ambigaipalan, P., 2015).

3.3.3 Λιγνάνια

Πρόκειται για ομάδα μη φλαβονοειδών ενώσεων που απαντώνται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο φυτό λινάρι καθώς επίσης και στο σουσάμι ενώ σε μικρότερες στα δημητριακά ολικής αλέσεως, στα φασόλια, στα λαχανικά και στα φρούτα. (Σπηλιώτη, 2003). Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί 500 διαφορετικά λιγνάνια φυτικής προέλευσης. Έχουν εντοπιστεί σε ρίζες, ριζώματα, στελέχη, φύλλα σπόρους και καρπούς 70 οικογενειών του φυτικού βασιλείου. (Pan J. Y. et al., 2009). Τα λιγνάνια παρουσιάζουν παρόμοια δομή με την 17-β-οιστραδιόλη, ένα οιστρογόνο και γι' αυτό συμπεριλαμβάνονται στα φυτοοιστρογόνα. (Hallmans et al., 2003). Μερικά από τα προσλαμβανόμενα λιγνάνια μετατρέπονται από την εντερική μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου μέσω μίας σειράς αντιδράσεων στα εντερολιγνάνια, εντεροδιόλη (END) και εντερολακτόνη (ENL). Η τελευταία μάλιστα θεωρείται κύριο βιοδραστικό λιγνάνιο και συχνά συνδέεται με το χαμηλό ποσοστό εμφάνισης καρκίνου του μαστού. (Saarinen, N. M. et al., 2007) Άλλα ευρέως γνωστά λιγνάνια είναι η σεσαμινόλη και η ματαιρεσινόλη.

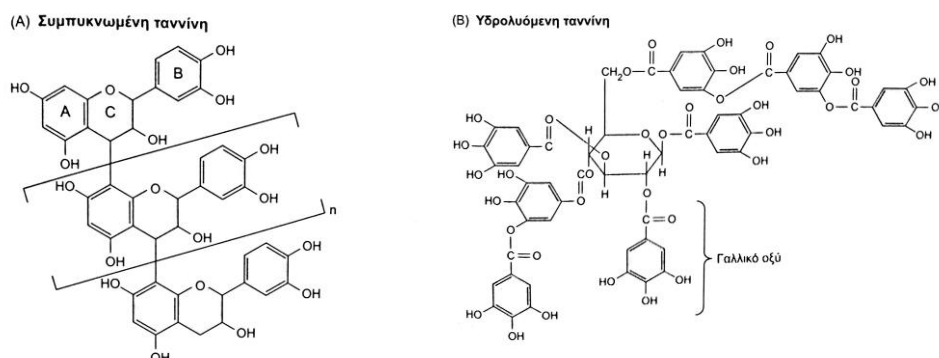
3.3.4 Ταννίνες

Πρόκειται για πολυφαινόλες με αμυντικές ιδιότητες όπως και η λιγνίνη και δίχως ομοιόμορφη δομή. Έλαβαν το όνομά τους από το *tanning*, όρος ο οποίος χρησιμοποιείται για τη βυρσοδεψική διεργασία, καθώς ο όρος *ταννίνη* χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά για την περιγραφή συστατικών που θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν στην επεξεργασία δέρματος. Μαζί με τις πρωτεΐνες του κολλαγόνου που συναντάται στο δέρμα των ζώων, οι ταννίνες σχηματίζουν δεσμούς με αποτέλεσμα να αυξάνεται η ανθεκτικότητα του στη θερμότητα, στο νερό και στα μικρόβια. Μπορεί ακόμη να ενωθούν με άλατα του σιδήρου και να σχηματιστούν βαθυκύανες διαλυτές ενώσεις (μελάνι) ενώ με άλατα του χαλκού, του μόλυβδου και του κασσιτέρου, αυτές καταβυθίζονται. (Taiz L. & Zeiger E., 2002)

Οι ταννίνες χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: στις συμπυκνωμένες και στις υδρολύμενες. Οι συμπυκνωμένες ταννίνες σχηματίζονται έπειτα από τον πολυμερισμό μονάδων φλαβονοειδών και απαντώνται συνήθως στα ξυλώδη φυτά. Συχνά ονομάζονται και προ-ανθοκυανιδίνες καθώς μπορούν να υδρολύονται με ισχυρά οξέα σε ανθοκυανιδίνες. Από την άλλη πλευρά, οι υδρολυόμενες ταννίνες είναι ετερογενή πολυμερή που περιέχουν φαινολικά οξέα και σάκχαρα. Είναι μικρότερες σε σχέση με τις συμπυκνωμένες, υδρολύονται ευκολότερα και η υδρόλυση τους επιτυγχάνεται με αραιό οξύ. (Taiz L. & Zeiger E., 2002) Ως υδρολύμενες ταννίνες έχουμε:

- i. Τις γαλλοταννίνες, που αποτελούνται από ένα σάκχαρο και μόρια γαλλικού οξέος.
- ii. Τις ελλαγιταννίνες, που αποτελούνται από ένα σάκχαρο και μόρια ελλαγικού οξέος.
- iii. Το ελλαγικό οξύ είναι διμερές γαλλικό οξύ.

Οι ταννίνες απαντώνται στα μήλα, στα βατόμουρα, στο τσάι και στα σταφύλια.



Εικόνα 7. Ταννίνες

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ- ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ- ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

4.1 Οξειδωτικά- Ελεύθερες ρίζες

Τα μόρια αποτελούνται από έναν ή περισσότερους ατομικούς πυρήνες. Οι πυρήνες αυτοί περιβάλλονται από ηλεκτρόνια τα οποία περιστρέφονται γύρω τους τοποθετημένα σε τροχιακά απέχοντας διαφορετικές αποστάσεις από αυτούς. Τα ηλεκτρόνια του κάθε τροχιακού ζευγαρώνουν μεταξύ τους δημιουργώντας ζεύγη. Το ηλεκτρόνιο κάθε ζεύγους περιστρέφεται γύρω από τον εαυτό του σε αντίθετη κατεύθυνση από το άλλο (spin). Η σταθερότητα και συνεπώς η μικρή ενεργειακή κατάσταση κάθε μορίου οφείλεται στα ζευγαρωμένα ηλεκτρόνια. Όταν όμως ένα ή και περισσότερα ηλεκτρόνια είναι ασύζευκτα, ιδιαιτέρως αυτά των εξωτερικών τροχιακών του ατόμου, τότε το μόριο γίνεται ασταθές αποκτώντας μ' αυτό τον τρόπο μεγαλύτερη ενεργειακή κατάσταση και ως εκ τούτου γίνεται πιο δραστικό απ' άλλα μόρια. (Σωτηρούδης, Θ. Γ., 2004)

Ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο παρουσιάζει τεράστια έλξη με ηλεκτρόνια γειτονικών ατόμων με αποτέλεσμα την πρόκληση χημικών αντιδράσεων μεταξύ ατόμων ή μορίων, κατά τις οποίες πραγματοποιείται μεταφορά ηλεκτρονίων. Οι αντιδράσεις αυτές ονομάζονται **οξειδοαναγωγικές**. Κατά την οξείδωση έχουμε απώλεια ηλεκτρονίων, ενώ κατά την αναγωγή έχουμε απόκτηση ηλεκτρονίων από ένα άτομο. Ένα ευρέως γνωστό παράδειγμα οξειδοαναγωγικής αντίδρασης αποτελεί η οξείδωση των μετάλλων από το οξυγόνο της ατμόσφαιρας (σκούριασμα). (Σωτηρούδης, Θ. Γ., 2004)

Σε επίπεδο οργανισμού γνωρίζουμε ότι οι αερόβιοι οργανισμοί προκειμένου να επιτύχουν την μέγιστη ενεργειακή απόδοση από τον καταβολισμό σακχάρων ή άλλων μορίων χρησιμοποιούν το οξυγόνο ως δέκτη ηλεκτρονίων. Συγχρόνως με την αντίδραση αυτή όμως, παράγονται ελεύθερες ρίζες. **Ελεύθερες ρίζες** ονομάζονται τα άτομα, μόρια ή ακόμα και τα ιόντα που περιέχουν ένα ή περισσότερα μονήρη ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στοιβάδα. Το γεγονός αυτό τους προσδίδει την ιδιότητα να έχουν την τάση να αποσπούν ηλεκτρόνια από άλλα μόρια και να είναι εξαιρετικά ενεργές σε χημικές αντιδράσεις οξειδοαναγωγής. Είναι σχετικά σταθερές και αυτόνομες και μπορούν με ευκολία να βλάψουν ζωτικά βιολογικά μόρια όπως λίπη, πρωτεΐνες και DNA.

Οι ελεύθερες ρίζες στον οργανισμό παράγονται είτε λόγω της φυσιολογικής μεταβολικής λειτουργίας των κυττάρων (αερόβιος οξειδωτικός μεταβολισμός), είτε λόγω εξωγενών παραγόντων (ατμοσφαιρική ρύπανση, έκθεση σε βαρέα μέταλλα, ακτινοβολία, φαρμακευτική αγωγή κ.ά.). Άλλοι παράγοντες που θα μπορούσαν να συμβάλλουν στην

παραγωγή ελευθέρων ριζών είναι η φλεγμονή, το στρες, η υπερβολική άσκηση, ο καρκίνος και η γήρανση. Οι ελεύθερες ρίζες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη μεταφορά σημάτων μεταξύ των κυττάρων και στην κυτταρική απόπτωση ενώ συμβάλλουν επίσης και στην έκφραση των γονιδίων.

Ως κυριότερη πηγή ελευθέρων ριζών στον οργανισμό έχουμε το τρίτο στάδιο της αερόβιας αναπνοής, δηλαδή την οξειδωτική φωσφορυλίωση, κατά την οποία πραγματοποιούνται οξειδωτικές και αποοξειδωτικές ενζυμικές αντιδράσεις όπως η ξανθοξειδάση, η γλυκοξειδάση και η φλαβοπρωτεϊνοδεϋδρογονάση κατά τις οποίες ένα μικρό ποσοστό μετατρέπεται σε ανιόντα υπεροξειδίου τα οποία με την σειρά τους σχηματίζουν H_2O_2 , ρίζες υδροξυλίου καθώς και άλλα είδη ελεύθερων ριζών. Άλλες πηγές ελευθέρων ριζών αποτελούν τα φαγοκύτταρα και τα υπεροξειδισώματα (κυστίδια στο εσωτερικό των κυττάρων που αποτελούνται από μεμβράνη και επιτελούν εξειδικευμένες λειτουργίες με την βοήθεια διαφόρων ενζύμων που βρίσκονται στο εσωτερικό τους). Επιπρόσθετα, όσον αφορά τους ενδογενείς παράγοντες παραγωγής, είναι πιθανό να δημιουργηθούν και κατά την αυτοοξειδωση των θειολών και των υδροκινονών όπως επίσης και από προστατευτικά μέσα στην λεγόμενη αναπνευστική έκρηξη των φαγοκυττάρων ως απάντηση σε μικροβιακές λοιμώξεις ή φλεγμονές. (Κωνσταντινίδου Ε., 2003). Συγκεντρωτικά, οι ελεύθερες ρίζες παράγονται στα βιολογικά συστήματα μέσω των παρακάτω διαδικασιών (Ρέρη Ε., 2010):

- ✓ Από τη φυσιολογική δράση των οξειδωτικών ενζύμων πχ οι υπεροξειδάσες και οι αφυδρογονάσες.
- ✓ Ως παραπροϊόν κατά τη λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων των κυττάρων.
- ✓ Από χημικές αντιδράσεις αναγωγής μεταλλικών ιόντων.
- ✓ Κατά τον κύκλο του ενζυμικού συστήματος κυτόχρωμα P450
- ✓ Ως μέρος της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος.
- ✓ Κατά την βιοσύνθεση της προσταγλαδίνης
- ✓ Κατά τον κύκλο αναγωγής των κινονών

Όσον αφορά τους εξωγενείς παράγοντες, αυτοί έχουν διαφορετικό χαρακτήρα. Επάγουν την παραγωγή των ελεύθερων ριζών μέσω της έκθεσης στην ακτινοβολία UV, σε διάφορα χημικά προϊόντα (φυτοφάρμακα, φαρμακευτικά προϊόντα), στον καπνό του τσιγάρου, σε διάφορους άλλους ρύπους αλλά και στο όζον.

Οι πιο συνηθισμένες μορφές ελευθέρων ριζών που παράγονται στους φυτικούς οργανισμούς και συγκεκριμένα στα φυτικά κύτταρα είναι: (Κωνσταντινίδου Ε., 2003)

- Οξυγόνο απλής κατάστασης (O_2 singlet oxygen): Παράγεται από μεταφορά ηλεκτρονίων στο φωτοσύστημα II (χλωροπλάστης)
- Σουπεροξειδικά ανιόντα ($O_2^{\cdot-}$ superoxide anions): Έχουν μέτρια δραστηριότητα και αντιδρούν με μικρό αριθμό βιολογικών μορίων. Παράγονται κατά τη μεταφορά ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια, κατά την αζωτοδέσμευση, κατά την αντίδραση Mehler στους χλωροπλάστες και, τέλος, κατά την άμυνα του φυτού ενάντια στα παθογόνα.
- Υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2 hydrogen peroxide): Παρά το γεγονός ότι δεν αποτελεί ελεύθερη ρίζα, συμπεριλαμβάνεται σ' αυτές καθότι παρουσιάζει παρόμοιες ιδιότητες με το $O_2^{\cdot-}$ και έχει την ικανότητα να σχηματίζει εύκολα $\cdot OH$. Διαχέεται με ευκολία μέσω των κυτταρικών μεμβρανών, κάτι που έρχεται σε αντίθεση με τα υπόλοιπα ROS, επομένως προξενεί καταπόνηση και πέρα από το σημείο παραγωγής του. Η παραγωγή τους πραγματοποιείται κατά την φωτοαναπνοή, τη β-οξειδωση και κατά την άμυνα εναντίον των φυτοπαθογόνων.
- Υδροξυλικές ρίζες ($\cdot OH$ hydroxyl radicals): Από τα πλέον δραστικά μόρια στα βιολογικά συστήματα με την ικανότητα να αντιδράσει μ' όλα σχεδόν τα κυτταρικά συστατικά. Παράγονται κατά την πρωτονιακή αποσύνθεση O_3 στον αποπλάστη, την αναγωγική αποδόμηση H_2O_2 , κατά την αντίδραση Haber-Weiss και την άμυνα εναντίον των παθογόνων.
- Υπερυδροξυλικές ρίζες ($\cdot O_2H$ perhydroxyl radicals): Παράγονται κατά την αντίδραση O_3 και OH^- στον αποπλάστη.

Στις ελεύθερες ρίζες συγκαταλέγονται και οι ενεργές μορφές οξυγόνου οι οποίες είναι ισχυρότερες οξειδωτικά ακόμα και από το ίδιο το οξυγόνο όταν αυτό βρίσκεται στη βασική του κατάσταση και είναι ιδιαίτερα τοξικές. Οι **ενεργές μορφές οξυγόνου** (reactive or active oxygen species, ROS or AOS) προσβάλλουν μόρια όπως οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών, νουκλεϊκά οξέα και πολλά άλλα μικρότερα μόρια. Οι βλάβες που προξενούνται από τις ROS εκδηλώνονται με μεταβολή των ιδιοτήτων και της λειτουργικότητας των μεμβρανών, με μεταλλάξεις στο DNA, με γήρανση, νέκρωση κ.ά. (Κωνσταντινίδου Ε., 2003, Ρέρη Ε., 2010)

Μαζί με τις ενεργές μορφές οξυγόνου στις ελεύθερες ρίζες συγκαταλέγονται και οι **ενεργές μορφές αζώτου** (reactive nitrogen species, RNS). Αυτές περιλαμβάνουν το μονοξειδίο του αζώτου (NO[•]), το υπεροξυνιτρώδες (ONOO⁻) και το διοξειδίο του αζώτου (NO₂). Το υπεροξυνιτρώδες αποτελεί παράγωγο του μονοξειδίου του αζώτου και είναι ισχυρό οξειδωτικό ικανό να βλάψει πολλά βιομόρια. Η παραγωγή του μονοξειδίου του αζώτου πραγματοποιείται κατά το μεταβολισμό του αμινοξέος L-αργινίνη. Κατά τη διαδικασία αυτή τα ένζυμα που αποτελούν τις συνθέσεις του NO (nitric oxide synthases, NOS) μετατρέπουν την L-αργινίνη σε L-κιτρουλίνη και NO. (Fubini, B., & Hubbard, A., 2003) Το μονοξειδίο του αζώτου (NO) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε μεγάλο αριθμό φυσιολογικών διεργασιών μεταξύ αυτών, τη νευρομεταβίβαση, τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, την ανοσία κ.ά. (Κατωπόδης, I., & Καλαντζή, E., 2010)

Πίνακας 1. Κυριότερα είδη ελευθέρων ριζών

Ενεργές μορφές οξυγόνου	Ενεργές μορφές αζώτου
Ανιόν υδροϋπεροξειδικής ρίζας	Μονοξειδίο του αζώτου
Ρίζα υδροξυλίου	Διοξειδίο του αζώτου
Υπεροξειδίο του υδρογόνου	

Σε μικρές συγκεντρώσεις οι παραγόμενες ελεύθερες ρίζες είναι απαραίτητες για την ωρίμανση των κυτταρικών δομών και παράλληλα δρουν ως όπλα για το αμυντικό σύστημα του οργανισμού. (Ρέρη E., 2010). Εξάλλου υπό φυσιολογικές συνθήκες στον οργανισμό συνυπάρχουν τα προοξειδωτικά συστήματα (παράγουν τις ελεύθερες ρίζες) και τα αντιοξειδωτικά που τις εξουδετερώνουν. Στην περίπτωση όμως που αυξάνονται οι οξειδωτικές αντιδράσεις, παρατηρείται αύξηση των προοξειδωτικών συστημάτων έναντι των αντιοξειδωτικών. Η αυξημένη, λοιπόν, ποσότητα ελευθέρων ριζών που δεν μπορεί να καταστραφεί, σταδιακά συσσωρεύεται στο σώμα και οδηγεί σε ένα φαινόμενο που ονομάζεται **οξειδωτική καταπόνηση ή "οξειδωτικό στρες"** (oxidative stress). Όλη αυτή η καταπόνηση συμβάλλει στην ανάπτυξη χρόνιων και εκφυλιστικών ασθενειών όπως ο καρκίνος, οι αυτοάνοσες διαταραχές, η γήρανση κ.ά. Είναι όμως σημαντικό να σημειωθεί η διάκριση μεταξύ του οξειδωτικού στρες, το οποίο είναι μια αναστρέψιμη κατάσταση και της οξειδωτικής βλάβης ως μη αναστρέψιμης κατάστασης.



Αλλοιώσεις στα βιολογικά μόρια εξαιτίας της δράσης των ελευθέρων ριζών

Οι συνέπειες της δράσης των ελευθέρων ριζών στον ανθρώπινο οργανισμό σηματοδοτούν την εμφάνιση ασθενειών όπως ο καρκίνος, καρδιαγγειακών νοσημάτων, σακχαρώδους διαβήτη, αυτοάνοσων νοσημάτων αλλά και παθήσεις του νευρικού συστήματος λόγω χάρη Νόσος του Πάρκινσον και, τέλος, γήρανση. Ενδεικτικά, όσον αφορά τον καρκίνο, η οξείδωση που υφίσταται το DNA από τις ελεύθερες ρίζες επιφέρουν μεταβολές στην έκφραση των ογκογονιδίων καθώς επίσης και των ογκοκατασταλτικών γονιδίων με αποτέλεσμα την επαγωγή της καρκινογένεσης στον οργανισμό (Kamata, T., 2009). Στα πρωτεϊνικά μόρια, από την άλλη, η οξειδωτική βλάβη μπορεί να προκαλέσει βλάβες στα ένζυμα, στους υποδοχείς ή και ακόμα να επηρεάσει τον μηχανισμό μεταφοράς σημάτων. Η μεθειονίνη, η κυστεΐνη, η αργινίνη και η ιστιδίνη φαίνεται ότι είναι αμινοξέα τα οποία είναι αρκετά ευάλωτα στην οξείδωση. (Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N., 2010). Επιπρόσθετα, μια οξειδωτική καταστροφή νευρικών κυττάρων μπορεί να οδηγήσει σε α) μείωση της λειτουργικότητας του νευρικού συστήματος (αταξία) και β) σε μείωση της αντίληψης (άνοια).

4.2 Αντιοξειδωτικά

Αν και στις περισσότερες των περιπτώσεων η παραγωγή των ελεύθερων ριζών και των οξειδωτικών είναι ζωτική για τους οργανισμούς, παρόλα αυτά το πλεόνασμά τους μπορεί να αποδεχθεί επιβλαβές. Έτσι, οι οργανισμοί διαθέτουν μία σειρά από μηχανισμούς άμυνας απέναντί του για την αντιμετώπιση πιθανής οξειδωτικής βλάβης. Αυτοί οι μηχανισμοί μπορεί να είναι είτε ένζυμα (ενζυμικά και μη ενζυμικά μικρά μόρια) είτε χημικές ουσίες και ονομάζονται **αντιοξειδωτικά**.

Ο όρος αντιοξειδωτικό χρησιμοποιήθηκε αρχικά για να περιγράψει μία χημική ουσία που παρεμποδίζει την καταπόνηση του οξυγόνου. (Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N., 2010). Γενικά στην επιστήμη της Βιολογίας, **αντιοξειδωτικά** ονομάζονται οι ουσίες που όταν υπάρχουν σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις από εκείνες του οξειδώσιμου υποστρώματος, καθυστερούν σημαντικά ή και ακόμα αποτρέπουν την οξείδωση του υποστρώματος αυτού. Αποβλέπουν στην απόσβεση και στην εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών ή της βλάβης που αυτά προκαλούν. (Κωνσταντινίδου Ε., 2003). Αυτός ο ορισμός καλύπτει όλα τα υποστρώματα τα οποία μπορούν να οξειδωθούν από τις ελεύθερες ρίζες, όπως είναι τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες, το DNA και τα ανθρακικά άλατα. (Frankel, E. N., & Meyer, A. S., 2000).

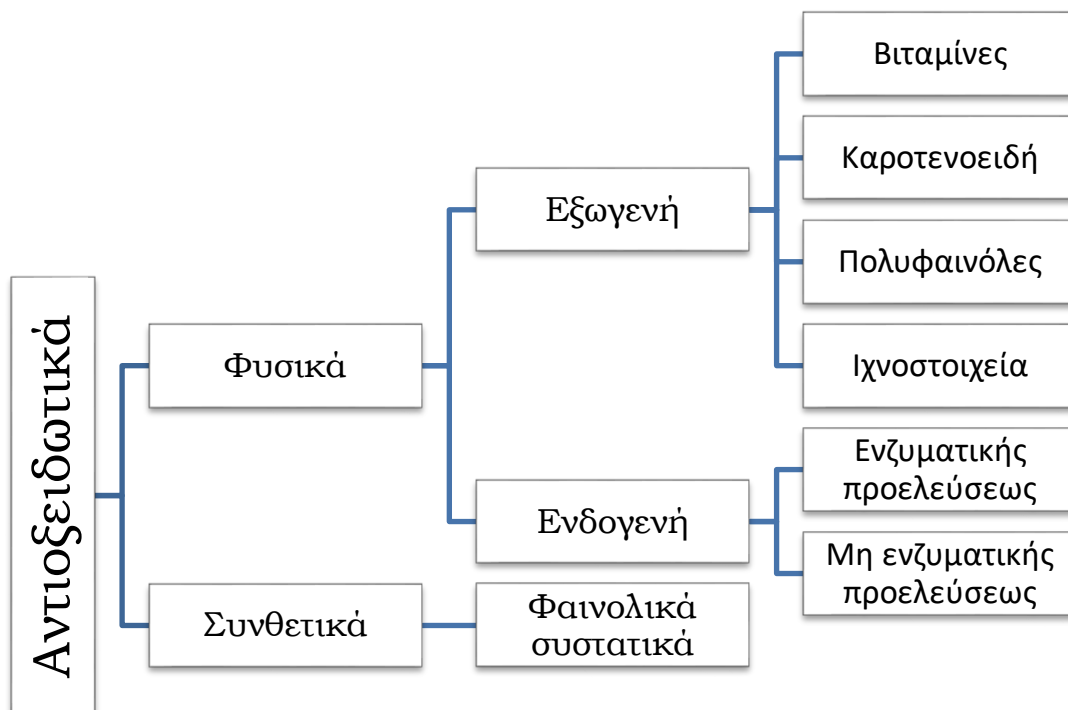
Στα τέλη του 19^{ου} και στις αρχές του 20^{ου} αιώνα ξεκίνησε δειλά η εκτεταμένη μελέτη της χρήσης των αντιοξειδωτικών αλλά σε βιομηχανική κλίμακα, για διεργασίες που αφορούσαν την πρόληψη της διάβρωσης των μετάλλων, τον πολυμερισμό των καυσίμων των μηχανών εσωτερικής καύσης με σκοπό τη μείωση της ρύπανσης κ.ά. Στον τομέα της Βιολογίας κάποιες πρώιμες μελέτες για τα αντιοξειδωτικά επικεντρώθηκαν στη χρήση τους για την πρόληψη της οξείδωσης των ακόρεστων λιπών. Χάρης σ' αυτές τις μελέτες αναγνωρίστηκε η δράση των βιταμινών Α, C και Ε ως αντιοξειδωτικοί παράγοντες, φέρνοντας έτσι την επανάσταση στον τομέα της Βιοχημείας και οδηγώντας στην διαπίστωση της σπουδαιότητας των αντιοξειδωτικών στους ζωντανούς οργανισμούς. (Selvaraj, T., & Sarathchandra, G., 2018)

Τα αντιοξειδωτικά έχουν την ιδιότητα να αντιδρούν και να ανάγουν τα οξειδωτικά ή, όσον αφορά τις ελεύθερες ρίζες, να τις ουδετεροποιούν είτε δεχόμενα είτε παρέχοντας τους το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Συνεπώς τα αντιοξειδωτικά μετατρέπονται σε ελεύθερες ρίζες και οξειδώνονται με τη διαφορά ότι είναι πολύ λιγότερο δραστικά καθότι είναι μεγαλύτερου μοριακού βάρους.

4.2.1 Κατηγορίες αντιοξειδωτικών

Τα αντιοξειδωτικά μπορεί να είναι φυσικά ή συνθετικά ανάλογα με την προέλευση τους και εν συνεχεία τα φυσικά σε ενδογενή ή εξωγενή. Αυτή είναι και η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη κατηγοριοποίηση των αντιοξειδωτικών. Τα ενδογενή αντιοξειδωτικά είναι αυτά που παράγει μόνος του ο οργανισμός ενώ τα εξωγενή αυτά που προσλαμβάνει από εξωγενείς πηγές πχ από τη διατροφή για να αποκτήσει το σύνολο των αντιοξειδωτικών που χρειάζεται. Τα φρούτα, τα λαχανικά και οι σπόροι είναι πηγές πλούσιες σε αντιοξειδωτικά, ωστόσο οι περισσότερες αντιοξειδωτικές ουσίες υπάρχουν πλέον και σε συμπληρώματα διατροφής. (Αριστομενοπούλου, Κ., 2018).

Τα ενδογενή αντιοξειδωτικά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα τη δραστηριότητά τους σε ενζυμικά και σε μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά. Τα πρώτα λειτουργούν διασπώντας και απομακρύνοντας τις ελεύθερες ρίζες. Συγκεκριμένα, μετατρέπουν τα επικίνδυνα οξειδωτικά προϊόντα σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και εν συνεχεία σε νερό (H_2O) μέσω μίας διαδικασίας αποτελούμενης από πολλά στάδια και παρουσία άλλων παραγόντων όπως ο χαλκός (Cu), ο ψευδάργυρος (Zn), το μαγγάνιο (Mn), ο σίδηρος (Fe). Από την άλλη πλευρά, τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά λειτουργούν διακόπτοντας τις αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελεύθερων ριζών. (Nimse, S. B., & Pal, D. 2015)



Κατηγορίες αντιοξειδωτικών με βάση τη δραστηριότητά τους

Παραδείγματα ενζυμικών συστημάτων είναι η υπεροξειδική δισμουτάση η οποία βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα και στα μιτοχόνδρια, η οξειδάση της γλουταθειόνης που έχει ως βασικά συστατικά το σελήνιο και παράγωγα της γλουταθειόνης και η καταλάση. Μη ενζυμικής προελεύσεως είναι το ουρικό οξύ, η χολερυθρίνη, η αλβουμίνη και οι μεταλλοθειονίνες. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν επίσης οι βιταμίνες E και C, τα καροτενοειδή (β-καροτένιο, λυκοπένιο, λουτεΐνη, ξανθίνες), οι πολυφαινόλες (φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα, λιγνάνες, στυλβένια) και το σελήνιο.

Αντιοξειδωτική δράση έχουν και ορισμένα παράγωγα χλωροφύλλης, τα αλκαλοειδή, οι ινδόλες, τα διτερπένια, οι φυτοστερόλες. Είναι χαρακτηριστικό ότι σε πολλά αρωματικά φυτά, συνυπάρχει η αντιοξειδωτική με την αντιμικροβιακή δράση, όπως συμβαίνει στο θυμάρι, το δενδρολίβανο, τη ρίγανη και το μαύρο πιπέρι. Τα φυτά αυτά ως αντιμικροβιακά, μπορούν άριστα να χρησιμοποιηθούν τόσο σαν συντηρητικά τροφίμων όσο και σαν και βελτιωτικά γεύσης. (Αναστασίου Γ., 2015)

Άλλος τρόπος κατηγοριοποίησης των αντιοξειδωτικών αφορά τη διαλυτότητά τους σε νερό και σε λιπίδια. Αντιστοίχως, διακρίνονται σε υδατοδιαλυτά και λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά. Οι υδατοδιαλυτές αντιοξειδωτικές ουσίες, όπως η βιταμίνη C, απαντάται στα υγρά των κυττάρων όπως είναι η κυτοσόλη. Οι λιποδιαλυτές αντιοξειδωτικές ουσίες, όπως η βιταμίνη E, τα καροτενοειδή και το λιποϊκό οξύ, εντοπίζονται κυρίως στις κυτταρικές μεμβράνες. (Nimse, S. B., & Pal, D. 2015)

Επιπρόσθετα, οι αντιοξειδωτικές ουσίες δύναται να ταξινομηθούν και ανάλογα με το μέγεθος τους σε αντιοξειδωτικά μικρού και μεγάλου μορίου. Ως αντιοξειδωτικά μικρού μορίου έχουμε τις βιταμίνες C και E, τα καροτενοειδή και τη γλουταθειόνη (GSH), τα οποία εξουδετερώνουν τις ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS) με μία διαδικασία που λέγεται ριζική απομάκρυνση (radical scavenging). Τα αντιοξειδωτικά μεγάλου μορίου είναι είτε ένζυμα, όπως η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) και η καταλάση (CAT) είτε πρωτεΐνες όπως η αλβουμίνη, που απορροφούν τις ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS) και τις εμποδίζουν να προσβάλλουν άλλα βασικά πρωτεϊνικά μόρια. (Nimse & Pal, 2015).

4.2.2 Μηχανισμοί δράσης αντιοξειδωτικών

Τα αντιοξειδωτικά δρουν ως δότες υδρογόνου και ηλεκτρονίου, ως αποικοδομητές του υπεροξειδίου και του μονήρους οξυγόνου ενώ άλλη μία δράση τους περιλαμβάνει την αναστολή των ενζύμων. (Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N., 2010).

Η εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών από τα αντιοξειδωτικά πραγματοποιείται κατά κύριο λόγο με την προσφορά ενός ηλεκτρονίου σ' αυτές με σκοπό τον σχηματισμό ζεύγους ηλεκτρονίων. Τα αντιοξειδωτικά είτε δρουν μεμονωμένα είτε με συνδυασμό μηχανισμών. Ανάμεσα στους διάφορους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς ανήκουν η εξουδετέρωση ελευθέρων ριζών, η χηλική δέσμευση μεταβατικών μετάλλων, η απενεργοποίηση και η ενεργοποίηση ενζύμων και, τέλος, η αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης. Δύο όμως είναι οι κύριοι μηχανισμοί εξουδετέρωσης των ελευθέρων ριζών. (Selvaraj, T., & Sarathchandra, G., 2018) Συγκεκριμένα:

- Μηχανισμός διάσπασης της αλυσιδωτής αντίδρασης κατά την οποία το πρωτογενές αντιοξειδωτικό προσφέρει ένα ηλεκτρόνιο στην ελεύθερη ρίζα μετατρέποντάς την σ' ένα λιγότερο ασταθές τελικό προϊόν. Τότε το αντιοξειδωτικό μετατρέπεται σε νέα ρίζα αλλά σαφέστατα λιγότερο ενεργή και λιγότερο επικίνδυνη από τις ρίζες που εξουδετέρωσε.
- Προληπτική αντιοξειδωτική δράση: Αυτά τα οξειδωτικά παρεμποδίζουν έμμεσα το σχηματισμό των ελευθέρων ριζών μειώνοντας το ρυθμό έναρξης της αλυσίδας καθώς απενεργοποιούν τον καταλύτη που εκκινεί την αλυσίδα. Στην ομάδα αυτή συγκαταλέγονται οι χηλικοί παράγοντες μετάλλων. Μέταλλα όπως Co, Cu, Fe, Mn εμπεριέχονται στα τρόφιμα σε μικρές ποσότητες και επιταχύνουν την οξείδωση των ακόρεστων λιπιδίων δρώντας σαν προοξειδωτικά. Η χηλική τους όμως δέσμευση έχει ως συνέπεια την μείωση της προοξειδωτικής τους δράσης. Ακόμα, ορισμένα ένζυμα καταλύουν αντιδράσεις μετατροπής των ελευθέρων ριζών σε σταθερότερα προϊόντα. Τα αντιοξειδωτικά εδώ αναλαμβάνουν να απενεργοποιήσουν τα ένζυμα αυτά πριν την έναρξη των αντιδράσεων.

Τα αντιοξειδωτικά δρουν σε τρία αμυντικά επίπεδα: α) την προληπτική γραμμή άμυνας, β) την απορρόφηση των ριζών και γ) την επιδιόρθωση. (Lobo V. et al., 2010). Οι δύο μηχανισμοί που προαναφέρθηκαν μπορούν να χωριστούν και σε επιμέρους γραμμές άμυνας: (Ighodaro, O. et al., 2018, Lobo V. et al., 2010)

Την πρώτη γραμμή άμυνας αποτελούν τα αντιοξειδωτικά, τα οποία όπως αναφέρθηκε πιο πάνω, έχουν ως στόχο την καταστολή ή την πρόληψη του σχηματισμού των ελευθέρων ριζών. Αν και δεν μπορεί να διευκρινιστεί με απόλυτη σαφήνεια ο ακριβής μηχανισμός και ο

τόπος παραγωγής των ελευθέρων ριζών στον οργανισμό, πιστεύεται ότι οι επαγόμενες από τα μέταλλα διασπάσεις είναι υπεύθυνες για τις αντιδράσεις παραγωγής. Συνεπώς τα οξειδωτικά στοχεύουν στην μείωση της οξειδωτικής δράσης των μετάλλων. Στην κορυφή του καταλόγου αυτού του είδους ενζύμων είναι η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, η καταλάση και η υπεροξειδική δισμουτάση. Για παράδειγμα, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης είναι γνωστό ότι διασπά υδρουπεροξίδια των λιπιδίων σε αλκοόλες ενώ μαζί με την καταλάση ανάγουν το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε νερό.

Ως δεύτερη γραμμή άμυνας έχουμε την απομάκρυνση των δραστικών ριζών με στόχο την καταστολή της έναρξης της αλυσιδωτής αντίδρασης παραγωγής ή της αντίδρασης διάδοσης της αλυσίδας. Η συγκεκριμένη ομάδα αντιοξειδωτικών αναφέρεται συχνά και ως καθαριστικά αντιοξειδωτικά. Ουδετεροποιούν ή εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες παρέχοντας σ' αυτές ηλεκτρόνια και μέσω της διαδικασίας αυτής μετατρέπονται και αυτά σε ελεύθερες ρίζες αλλά με σαφέστατα μικρότερη επιζήμια δράση. Αυτές οι νεοδημιουργηθείσες ρίζες αδρανοποιούνται με ευκολία και καθίστανται εντελώς ακίνδυνες από άλλα αντιοξειδωτικά της ομάδας αυτής. Στην παρούσα φάση αναλαμβάνουν δράση ενδογενή αντιοξειδωτικά είτε λιπόφιλα είτε υδρόφιλα. Ως λιπόφιλα έχουμε την βιταμίνη C, το ουρικό οξύ και την αλβουμίνη και ως υδρόφιλα την βιταμίνη E, τη χολερυθρίνη και την αλβουμίνη. Η βιταμίνη E αναγνωρίζεται ως το πιο ισχυρό λιπόφιλο αντιοξειδωτικό.

Η τρίτη γραμμή άμυνας ενεργοποιείται εφόσον έχει παρέλθει η βλάβη από τις ελεύθερες ρίζες και αποβλέπει στην επιδιόρθωση. Τα αντιοξειδωτικά αυτά αποκαθιστούν τις βλάβες στα διάφορα βιομόρια και αναδομούν την κατεστραμμένη κυτταρική μεμβράνη. Διάφορα πρωτεολυτικά ένζυμα, πρωτεϊνάσες, πρωτεάσες και πεπτιδάσες τα οποία υπάρχουν στο κυτταρόπλασμα και στα μιτοχόνδρια των κυττάρων, αναγνωρίζουν, αποδομούν και απομακρύνουν τις οξειδωτικά τροποποιημένες πρωτεΐνες προκειμένου να προλάβουν τη συσσώρευσή τους στο κύτταρο. Τα συστήματα επιδιόρθωσης του DNA διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στο γενικό σύστημα άμυνας έναντι της οξειδωτικής βλάβης. Διάφορα είδη ενζύμων, πχ γλυκοζυλάσες και νουκλεάσες, επιδιορθώνουν πιθανόν ζημιές που μπορεί να έχει υποστεί το DNA.

Στην τέταρτη και τελευταία γραμμή άμυνας υπάρχει άλλη μία σημαντική λειτουργία, η λειτουργία της προσαρμογής, κατά την οποία το σήμα για την παραγωγή και τις αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών σηματοδοτεί συγχρόνως την παραγωγή και τη μεταφορά του κατάλληλου αντιοξειδωτικού στην κατάλληλη θέση.

4.2.3 Πηγές αντιοξειδωτικών

Βιταμίνη Α

- Αυγά, Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα
- Συκώτι
- Λιπαρά ψάρια και ιχθυέλαια

Βιταμίνη C

- Φρούτα, κυρίως εσπεριδοειδή, φραγκοστάφυλα, φράουλες
- Πράσινα φυλλώδη λαχανικά

Βιταμίνη Ε

- Φυτικά έλαια κυρίως ελαιόλαδο
- Ξηροί καρποί (αμύγδαλα, καρύδια, φουντούκια)
- Κρέας, συκώτι, θαλασσινά

Β-καροτένιο

- Φρούτα, κυρίως εσπεριδοειδή
- Λαχανικά, ιδιαίτερα τα κίτρινα και τα πορτοκαλί

Φλαβονοειδή

- Κόκκινο κρασί
- Φρούτα, λαχανικά
- Πράσινο και μαύρο τσάι

Από το παραπάνω σχήμα διαφαίνεται ότι ως κύριες πηγές αντιοξειδωτικών και εκτενώς μελετημένες αποτελούν τα φρούτα και τα λαχανικά αλλά εξίσου σημαντική πηγή αποτελούν ροφήματα όπως το πράσινο τσάι, ο καφές και το κόκκινο κρασί. Ακολουθούν τα δημητριακά, οι σπόροι, το ελαιόλαδο και το τσάι διαφόρων αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών όπως ο σιδερίτης, το φασκόμηλο, το χαμομήλι κ.ά. Το τσάι και τα αφεψήματα βοτάνων συνιστούν σπουδαία πηγή φαινολικών αντιοξειδωτικών και ανήκουν όλα τα φυτικά είδη στην οικογένεια Lamiaceae. Τα μπαχαρικά που προστίθενται σαν βελτιωτικό της γεύσης και της οσμής των τροφών συχνά εμπεριέχουν και αυτά σημαντικά υψηλές ποσότητες φαινολικών ενώσεων με αντιοξειδωτική δράση. (Brewer, M. S., 2011)

4.2.4 Ενζυματικής προελεύσεως αντιοξειδωτικά

Υπεροξειδική δισμουτάση (SODs)

Αποτελεί το πιο ισχυρό αντιοξειδωτικό του κυττάρου και συγκαταλέγεται στα πρώτης γραμμής αντιοξειδωτικά κατά των ενεργών μορφών οξυγόνου. Πρόκειται για μια κατηγορία ενζύμων τα οποία καταλύουν τη διάσπαση του υπεροξειδίου σε οξυγόνο και σε υπεροξείδιο του υδρογόνου. Τα ισοένζυμα της SOD κωδικοποιούνται από διαφορετικά γονίδια. (Ighodaro, O. et al., 2018). Διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες αναλόγως το μέταλλο που δεσμεύουν (Lobo V. et al., 2010):

- Cu και Zn SODs: Κωδικοποιούνται από το γονίδιο SOD₁ και εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 21. Δεσμεύουν το χαλκό και τον ψευδάργυρο και απαντώνται στο κυτταρόπλασμα, στους χλωροπλάστες και στον αποπλάστη.
- Fe και Mn SODs: Κωδικοποιούνται από το γονίδιο SOD₂ και εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 6. Δεσμεύουν το σίδηρο και το μαγγάνιο ενώ απαντώνται στα μιτοχόνδρια και στους χλωροπλάστες.
- Ni SODs: Κωδικοποιούνται από το γονίδιο SOD₃ και εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 4. Δεσμεύουν το νικέλιο

Σχεδόν στην πλειονότητα των ανθρώπινων ιστών συναντάμε αξιόλογη ποσότητα της SOD₃. Στα επίπεδα της υπεροξειδικής δισμουτάσης παρατηρείται μείωση ανάλογη με την πάροδο των ετών. Έχει προταθεί η καθημερινή πρόσληψή της μέσω συμπληρωμάτων με στόχο την προστασία του ανοσοποιητικού συστήματος και την μείωση των πιθανοτήτων εμφάνισης ασθενειών και την επιβράδυνση της διαδικασίας της γήρανσης. Ως φυσικές πηγές πρόσληψης θεωρούνται το λάχανο, τα λαχανάκια Βρυξελλών και το μπρόκολο. (Ighodaro, O. et al., 2018)

Καταλάση

Πρόκειται για πρωτεΐνη με τεταρτοταγή δομή και βάρος 240kDa η οποία καταλύει την αυτοοξειδωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου H₂O₂ σε νερό και οξυγόνο. Το υπεροξείδιο του υδρογόνου αποτελεί επιβλαβές προϊόν πολλών φυσιολογικών διεργασιών συνεπώς είναι αναγκαία η άμεση μετατροπή του σε λιγότερο βλαβερές ουσίες προκειμένου να αποφευχθεί η βλάβη. Γι' αυτό το λόγο χρησιμοποιείται η καταλάση από τα κύτταρα για τη διάσπαση του. Απαντάται σε όλους τους ζωντανούς ιστούς αλλά κυρίως στα υπεροξυσωμάτια, στα αιμοπετάλια και στα ερυθρά αιμοσφαίρια ενώ απουσιάζει από τα μιτοχόνδρια. (Ighodaro, O. et al., 2018, Lobo V. et al., 2010)

Παράγωγα της γλουταθειόνης

Περιλαμβάνονται η γλουταθειόνη, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και οι S-τρανσφεράσες της γλουταθειόνης καθώς επίσης και το σελήνιο. Το συγκεκριμένο σύστημα συναντάται στα ζώα, στα φυτά και στους μικροοργανισμούς. Υπάρχουν τουλάχιστον τέσσερα ισοένζυμα της οξειδάσης της γλουταθειόνης στους ζωικούς οργανισμούς. Ενδεικτικά, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης 1 απαντάται πιο συχνά και αποτελεί έναν πολύ αποτελεσματικό απαγωγό του υπεροξειδίου του υδρογόνου, ενώ η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης 4 είναι πιο δραστική με τα υδροϋπεροξειδία των λιπιδίων. Οι S-τρανσφεράσες της γλουταθειόνης παρουσιάζουν υψηλή δραστικότητα με τα υπεροξειδία των λιπιδίων. Το παραπάνω σύστημα ενζύμων βρίσκεται σε ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα στο ήπαρ και συνδράμει επίσης και σε διαδικασίες αποτοξίνωσης που πραγματοποιούνται σ' αυτό. (Lobo V. et al., 2010). Όσον αφορά τη γλουταθειόνη συγκεκριμένα, απαντάται στον πυρήνα, στα μιτοχόνδρια και στο κυτταρόπλασμα. Ένα από τα σπουδαιότερα αντιοξειδωτικά το οποίο συμμετέχει στην αντιοξειδωτική άμυνα μέσω ποικίλων μηχανισμών. Σε συνεργασία με την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης εξουδετερώνουν ρίζες υδροξυλίου, οξυγόνου και υπεροξειδίου του υδρογόνου ενώ, τέλος, συμμετέχει στη μεταφορά αμινοξέων διαμέσου των μεμβρανών. (Pérry, E., 2010)

4.2.5 Μη ενζυματικής προελεύσεως αντιοξειδωτικά

Βιταμίνη C

Η βιταμίνη C ή αλλιώς ασκορβικό οξύ αποτελεί υδρόφιλο αντιοξειδωτικό με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση που εμφανίζει πληθώρα δράσεων και λειτουργιών καθώς συμβάλλει στη διαρκή ανανέωση και στη διατήρηση της υγείας των κυττάρων του οργανισμού μας. Γι' αυτό το λόγο ανήκει στις απαραίτητες βιταμίνες που πρέπει να προσλαμβάνει ο οργανισμός σε καθημερινή βάση.

Πιο συγκεκριμένα, το ασκορβικό δρα ως ο τελικός δότης ηλεκτρονίων, παίζοντας τον ρόλο του εκκαθαριστή των δραστικών ελευθέρων ριζών. Η σχηματιζόμενη ρίζα του ασκορβικού (Asc.) είναι σχετικά μη δραστική, λόγω της χημικής της δομής. Ως εκ τούτου, δεν αντιδρά με το μοριακό O₂, όπως οι περισσότερες ελεύθερες ρίζες και, κατά συνέπεια, η συγκέντρωσή της μπορεί να αυξηθεί σημαντικά και να της επιτρέψει να αντιδράσει με μια άλλη ελεύθερη ρίζα του ασκορβικού. Η χαμηλή δραστικότητα της ρίζας του ασκορβικού φαίνεται να αποτελεί τον ουσιαστικότερο παράγοντα για την κεντρική του θέση μεταξύ των

φυσικών αντιοξειδωτικών. Ακόμη, δημιουργεί χηλικές ενώσεις με ιόντα Cu και Fe παρεμποδίζοντας τη δράση τους.

Τα περισσότερα ζώα, ψάρια και ερπετά είναι ικανά να συνθέσουν τη βιταμίνη C στο συκώτι ή στα νεφρά αλλά οι άνθρωποι έχουν χάσει αυτή την ικανότητα. Το ασκορβικό οξύ είναι απαραίτητο για τη σύνθεση κολλαγόνου στους ιστούς ενώ η έλλειψή του οδηγεί σε σκορβούτο. Η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη σε βιταμίνη C για τον άνθρωπο είναι 30 mg/ημέρα. (Benzie, I. F., & Choi, S. W., 2014). Τα εσπεριδοειδή και ιδιαίτερα τα πορτοκάλια περιέχουν σημαντικά ποσοστά της εν λόγω βιταμίνης. Υπολογίζεται ότι σε 100g χυμού πορτοκαλιών περιέχονται 40-50 mg βιταμίνης C. Ο χυμός των λεμονιών περιέχει μεγαλύτερες ποσότητες βιταμίνης C σε σχέση με τα άλλα εσπεριδοειδή, δηλαδή περίπου 50-60 mg/100g.

Βιταμίνη E

Η βιταμίνη E περιλαμβάνει μια ομάδα οκτώ ενώσεων, οι οποίες διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, τις τοκοφερόλες και τις τοκοτριενόλες, κάθε μια από τις οποίες έχει τέσσερα μέλη (α, β, γ και δ). Η βιολογική δραστηριότητα των δύο ομάδων διαφέρει. (Antoniadou, F. et al., 2021). Η φυσική βιταμίνη E είναι ελαιώδης ουσία διαλυτή σε οργανικούς διαλύτες. Οι πρώτοι που μίλησαν για αυτό τον όρο αυτό ήταν οι Evans and Bishop το 1922 με σκοπό να περιγράψουν έναν διατροφικό παράγοντα ο οποίος ήταν σημαντικός για την αναπαραγωγή στα ποντίκια. (Χαριδήμου, Μ., & Κοντολαίμη, Α., 2022).

Δεν υπάρχει καμία αμφιβολία ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα της βιταμίνης E αποτελεί την βασική ιδιότητά της. Παρουσιάζει όμως και άλλες ιδιότητες όπως νευροπροστατευτικές, αντιφλεγμονώδεις και υποχοληστερολαιμικές. Η βιταμίνη E που εντοπίζεται μέσα ή κοντά στις κυτταρικές μεμβράνες, στο υγρό ελαιώδες στρώμα, μπορεί να αντιδράσει με τις μη λιποειδικές ρίζες υπεροξειδίου, πριν αυτές αλληλοεπιδράσουν με τις κυτταρικές μεμβράνες. (Αναστασίου, Γ., 2015) Ειδικά η α-τοκοφερόλη έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να αναστείλει τη λιπιδιακή υπεροξειδωση που λαμβάνει χώρα στις λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL) και στις μεμβράνες των κυττάρων Αυτό επιτυγχάνεται κυρίως μέσω της ικανότητάς της να εκκαθαρίζει τις υπεροξειδικές ρίζες πριν προλάβουν να αντιδράσουν με άλλα ακόρεστα λιπίδια. Αυτό το προστατευτικό στρώμα γύρω από το κύτταρο, αποτελεί ένα είδος κεντρικού σταθμού για δισεκατομμύρια μόρια θρεπτικών ουσιών και ορμονών, οι οποίες διοχετεύονται κάθε λεπτό στο εσωτερικό των κυττάρων, μέσω ενός περίπλοκου δικτύου αγωγών. Στο δίκτυο αυτό, η βιταμίνη E αναλαμβάνει το ρόλο της φρουράς του σταθμού, επαγρυπνώντας πρωτίστως για τυχόν εμφάνιση των ελευθέρων ριζών. (Χαριδήμου, Μ., & Κοντολαίμη, Α., 2022). Η βιταμίνη E μπορεί επίσης να διακόψει την

αλυσίδα των επιθέσεων των ριζών, αντιδρώντας με τις λιπουπεροξειδικές ρίζες και προλαμβάνοντας περαιτέρω αφαίρεση ατόμων υδρογόνου από τα λιπαρά οξέα ή άλλα οργανικά μόρια. Έτσι, η βιταμίνη Ε τερματίζει τις αλυσιδωτές αντιδράσεις μετάδοσης.

Η περισσότερο διαδεδομένη τοκοφερόλη είναι η α- τοκοφερόλη που βρίσκεται σε αρκετή ποσότητα στο σιτέλαιο. Η β- τοκοφερόλη βρίσκεται μαζί με την α-τοκοφερόλη στο σιτέλαιο καθώς και στο λάδι avocado Η γ-τοκοφερόλη βρίσκεται στο αραβοσιτέλαιο. Βιταμίνη Ε περιέχουν επίσης πολλά λαχανικά (πράσινα φυλλώδη λαχανικά, μπρόκολο, κολοκύθα), σαλάτες, ξηροί καρποί (αμύγδαλα, ηλιόσποροι), λιπαρά έλαια (σπορέλαιο, λινέλαιο, λάδι σόγιας) καθώς και ζωικά προϊόντα όπως ο κρόκος αυγού, το γάλα, το βούτυρο και το χοιρινό λίπος (Gerald Combs, Jr., 2012).

Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή είναι μια ομάδα φυτοχημικών ουσιών που βρίσκονται σε τρόφιμα φυτικής προέλευσης. Κύριος ρόλος τους είναι να προστατεύουν τους ιστούς από τις ελεύθερες ρίζες που παράγονται από την ηλιακή ακτινοβολία. Τουλάχιστον 60 καροτενοειδή απαντώνται τόσο στα φρούτα όσο και στα λαχανικά που καταναλώνει ο άνθρωπος. Τα κυριότερα καροτενοειδή που υπάρχουν στην καθημερινή διατροφή είναι τα εξής: το α- και το β-καροτένιο, η β-κρυπτοξανθίνη, το λυκοπένιο, οι ξανθοφύλλες, η ζεαξανθίνη και η λουτεΐνη. Τα πρώτα τρία καροτενοειδή αποτελούν μορφές της προβιταμίνης Α, γεγονός που σημαίνει ότι μπορούν να μετατραπούν, μέσα στο ανθρώπινο σώμα, σε ρετινόλη, δηλαδή στην βιταμίνη Α. Η βιταμίνη Α συμβάλλει στη φυσιολογική ανάπτυξη των παιδιών, στην καλή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και στην όραση. Τα καροτενοειδή είναι σημαντικά όχι μόνο για τη δράση τους ως προβιταμίνη Α, αλλά και για ένα φάσμα άλλων δράσεων στα βιολογικά συστήματα.

Όπως και οι τοκοφερόλες, τα καροτένια και οι ξανθοφύλλες είναι αποτελεσματικοί αποσβεστήρες του O₂ (μονήρους οξυγόνου) και καθαριστές των ελεύθερων ριζών. Οι αντιδράσεις των καροτένιων με τις ελεύθερες ρίζες είναι πολύ πιο πολύπλοκες και εξαρτώνται κυρίως από τη φύση της ελεύθερης ρίζας παρά από το ίδιο το καροτένιο. Ο μηχανισμός εξουδετέρωσης των ελευθέρων ριζών περιλαμβάνει τρεις διαφορετικές αντιδράσεις: α) μεταφορά ηλεκτρονίων κυρίως ως δότες ηλεκτρονίων, β) σχηματισμό προσδέσεων και γ) αφαίρεση. (Oroian, M., & Escriche, I., 2015, Χαριδήμου, Μ., & Κοντολαίμη, Α., 2022).

Όσον αφορά το λυκοπένιο, αποτελεί ίσως και τον πιο αποτελεσματικό εκκαθαριστή του μονήρους οξυγόνου. Βάσει μελετών, μια διατροφή πλούσια σε λυκοπένιο συσχετίζεται με χαμηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη αλλά και με μειωμένη εμφάνιση

καρδιαγγειακής νόσου. Πηγές πρόσληψης του λυκοπένιου αποτελεί κυρίως η ντομάτα, το καρπούζι, το πεπόνι και το γκρέιπφρουτ.

Το β-καροτένιο, από την άλλη πλευρά, είναι το δεύτερο πιο γνωστό καροτενοειδές μετά το λυκοπένιο για το οποίο πολυάριθμες μελέτες υποστηρίζουν τον καθοριστικό ρόλο που διαδραματίζει για την ανθρώπινη υγεία. Ονομάζεται και προβιταμίνη Α μιας και αποτελεί πρόδρομη ουσία της βιταμίνης Α. Πρόκειται για ένα από τα πιο ισχυρά φυσικά αντιοξειδωτικά για αυτό και η πρόσληψη του είναι ζωτικής σημασίας. Πηγές πρόσληψης του αποτελούν το καρότο, το ροδάκινο, το βερίκοκο και το σπανάκι.

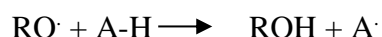
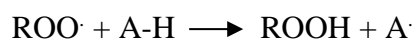
Φαινολικές ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις είναι μια μεγάλη κατηγορία ενώσεων του φυτικού βασιλείου. Κάποιες απ' αυτές τις ενώσεις αποτελούν ισχυρά αντιοξειδωτικά και εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών. Τα φλαβονοειδή, συγκεκριμένα, παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση καθώς έχουν ένα ή περισσότερα από τα κάτωθι δομικά στοιχεία: (Αναστασίου, Γ., 2015)

- i. δομή όρθο-κατεχόλης (όρθο- διφαινολική ομάδα στο Β δακτύλιο),
- ii. 2-3 συζυγιακό διπλό δεσμό με 4-οξο λειτουργική ομάδα και
- iii. ομάδες υδροξυλίου σε θέσεις 3, 5

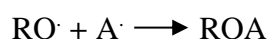
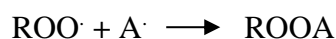
Ο βαθμός υδροξυλίωσης των φλαβονοειδών επηρεάζει την αντιοξειδωτική τους δράση, η οποία μειώνεται από την παρουσία σακχάρου στο μόριο. Έτσι, ενώ π.χ. κάποιοι γλυκοζίτες δεν είναι αντιοξειδωτικές ενώσεις, οι αντίστοιχες γλυκόνες μπορεί να είναι (Ratty and Das, 1988). Σε μια μελέτη βρέθηκε ότι μη εκχυλιζόμενες πολυφαινόλες (πολυμερείς προανθοκυανιδίνες και υψηλού μοριακού βάρους υδρολυόμενες ταννίνες) είναι 15 έως 30 φορές ισχυρότερα αντιοξειδωτικά από τα διαλυτά φαινολικά συστατικά, στα οποία αποδίδεται παραδοσιακά η αντιοξειδωτική δράση. Ενώσεις με πολλές ομάδες υδροξυλίου έχουν μεγάλη αντιοξειδωτική δράση. Για παράδειγμα, η αντιοξειδωτική δράση των ισομερών της κατεχίνης είναι τουλάχιστον διπλάσια από αυτή της βιταμίνη Ε (Rice and Evans, 1995).

Οι Boland, J. L. and ten-Have, P. (1947) ήταν οι πρώτοι που μελέτησαν λεπτομερώς την αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών ενώσεων. Τα φαινολικά αντιοξειδωτικά λειτουργούν μέσω διαφόρων μηχανισμών έναντι των ελευθέρων ριζών. Συνηθέστερα λειτουργούν σαν περιοριστές των ελευθέρων ριζών που καταλύουν την οξείδωση των λιπιδίων. Τα φαινολικά αντιοξειδωτικά Α-Η παρεμβαίνουν στην οξείδωση των λιπιδίων με προσφορά ενός ατόμου Η ή ενός ηλεκτρονίου σε ρίζες λιπιδίων ($\text{ROO}\cdot$, $\text{RO}\cdot$), όπως φαίνεται και παρακάτω:

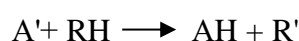
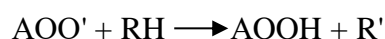
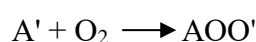


Η φαινόξυ-ρίζα (A') που έχει σχηματιστεί παρουσιάζει σχετική σταθερότητα και δύσκολα επιτρέπει τη συνέχιση της αλυσιδωτής ριζικής αντίδρασης με το οξειδούμενο υπόστρωμα. Συγκεκριμένα, η φαινόξυ-ρίζα σταθεροποιείται με διασπορά των ασύζευκτων ηλεκτρονίων μέσω συντονισμού. (Αναστασίου, Γ. (2015).

Επίσης, έχει τη δυνατότητα να τερματίζει τις αλυσωτές αντιδράσεις αντιδρώντας με άλλες ελεύθερες ρίζες:



Οι παραπάνω αντιδράσεις είναι εξώθερμες. Όσο πιο ασθενής είναι ο δεσμός A-H, τόσο αυξάνεται η αποτελεσματικότητα των πολυφαινόλων ως αντιοξειδωτικά. Τα ενδιάμεσα ριζικά τους είναι σχετικά σταθερά λόγω της έλλειψης κατάλληλων θέσεων για εναπόθεση μοριακού οξυγόνου. (Shahidi, F. et al., 1992) Ωστόσο, η φαινόλη είναι αδρανής ως αντιοξειδωτικό. Τα ορθο- και παρα- διφαινολικά παράγωγα έχουν αντιοξειδωτική ικανότητα έναντι των λιπιδικών ριζών η οποία αυξάνεται με υποκατάσταση των ατόμων H με αιθυλο- ή n-βουτυλο- ομάδες εξαιτίας της αύξησης της ηλεκτρονικής πυκνότητας του OH μέσω του επαγωγικού φαινομένου.



Η εισαγωγή μιας δεύτερης υδροξυ- ομάδας στην ορθο- ή παρα- θέση μιας φαινόλης αυξάνει την αντιοξειδωτική ικανότητά της. Η υποκατάσταση στην παρα- θέση με αιθυλική ή βουτυλική ομάδα αντί για μεθυλομάδα βελτιώνει επίσης τη δραστηριότητα του φαινολικού αντιοξειδωτικού. Όμως, η παρουσία αλυσιδωτού ή διακλαδισμένου αλκυλίου σε αυτή τη θέση είναι ικανό να μειώσει την αντιοξειδωτική δραστηριότητα. (Shahidi, F. et al., 1992)

4.3 Οι φαινολικές ενώσεις των τροφών ως αντιοξειδωτικά

Στη βιομηχανία τροφίμων υπάρχει ένας μακρύς κατάλογος ενώσεων (πάνω από 150) που μπορούν να παρεμποδίσουν κυρίως την αυτοοξείδωση των λιπιδίων αλλά και την αλλοίωση. Ο κατάλογος αυτός όμως είναι βραχύς όσον αφορά τα επιτρεπτά αντιοξειδωτικά που μπορούν να χρησιμοποιούνται για την σταθεροποίηση τροφίμων για άμεση χρήση. (Schuler, P., 1990). Η χρήση τους υπόκειται σε έλεγχο από ρυθμιστικούς νόμους ενός κράτος ή κατά τα διεθνή πρότυπα. (Shah M. A. et al., 2014) Τα αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα για την προστασία τους από τις βλαβερές συνέπειες της οξείδωσης και χρησιμοποιούνται επίσης ως συμπληρώματα διατροφής για την εξουδετέρωση των δυσμενών συνεπειών του οξειδωτικού στρες. (Shahidi, F., 2015). Η οξείδωση των παραγόμενων αγαθών και δε αυτών που έχουν παραχθεί από οργανικές πρώτες ύλες μπορεί να πραγματοποιηθεί με:

- την επίδραση του οξυγόνου της ατμόσφαιρας
- την αυτοοξείδωση κάποιου συστατικού τους
- την επίδραση του φωτός (φωτοοξείδωση)
- με τη δράση ενζύμων και μικροοργανισμών (βιοοξείδωση)

Τα αντιοξειδωτικά, φυσικά ή συνθετικά, προστίθενται στη διαδικασία παραγωγής των αγαθών με στόχο να επιβραδύνουν ή να παρεμποδίσουν είτε την οξείδωση είτε την αυτοοξείδωση των συστατικών τους για να επιμηκυνθεί ο χρόνος ζωής τους. Πολλά από τα φυσικά αντιοξειδωτικά που παρουσιάζουν ενδιαφέρον είναι φυτικής προέλευσης και ανήκουν στην κατηγορία των πολυφαινολών καθώς επίσης στα καροτενοειδή και στις βιταμίνες. Η δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών και ο μηχανισμός δράσης τους υπαγορεύεται μεταξύ άλλων από τα δομικά χαρακτηριστικά των εμπλεκόμενων μορίων, το σύστημα στο οποίο βρίσκονται, καθώς και από τις συνθήκες επεξεργασίας και αποθήκευσης. Ενώ έχουν διεξαχθεί πολλές έρευνες σχετικά με τις φυσικές πηγές αντιοξειδωτικών, η ευρεία χρήση τους παρεμποδίζεται από τους κανονισμούς, οι οποίοι επιτρέπουν τη χρήση μόνο εκείνων που έχουν RDI (απαιτούμενη ημερήσια πρόσληψη), όπως οι βιταμίνες. Ωστόσο, το πράσινο τσάι, το δεντρολίβανο και άλλα μπαχαρικά ή τα εκχυλίσματά τους και οι μικτές τοκοφερόλες χρησιμοποιούνται συχνά στα τρόφιμα ως αρωματικοί παράγοντες ή υπό άλλες συγκαλυμμένες μορφές για να παρακαμφθούν αυτά τα αδικαιολόγητα ρυθμιστικά ζητήματα. (Shahidi, F., 2015)

Από τα επιτρεπτά αντιοξειδωτικά αυτά που χρησιμοποιούνται ευρέως είναι τα συνθετικά φαινολικά αντιοξειδωτικά όπως:

- ✓ Η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη- Butylated hydroxyanisole-BHA
- ✓ Το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο- Butylated hydroxytoluene- BHT
- ✓ Η τριτ-βουτυλο-υδροκινόνη- Tertiary-butylhydroquinone- TBHQ
- ✓ Ο προπυλικός εστέρας του γαλλικού οξέος- Propyl gallate- PG
- ✓ Μερικά άλλα παράγωγα του γαλλικού οξέος

Η χρήση των συνθετικών φαινολικών αντιοξειδωτικών στα τρόφιμα υπόκειται σε αυστηρούς ελέγχους και ρυθμίσεις από τις κυβερνήσεις εξαιτίας των δυνητικά τοξικών επιπτώσεων τους. Συγκεκριμένα, η BHA και το BHT, βρέθηκαν έπειτα από εργαστηριακές δοκιμές, υπεύθυνα για ηπατικές βλάβες και καρκινογενέσεις όταν χρησιμοποιήθηκαν σε υψηλά ποσοστά συγκεντρώσεων ενώ σε άλλες έρευνες βρέθηκε ότι έχουν την ιδιότητα να σχηματίζουν μοριακά σύμπλοκα με τη δομή του νουκλεϊκού οξέος οδηγώντας σε βλάβες στη διπλή ελικοειδή μορφή του DNA. (Shahidi, F., & Ambigaipalan, P., 2015). Συνεπώς, όλο και περισσότερο αυξάνεται το ενδιαφέρον ως προς την προσθήκη των φυσικών φαινολών στις τροφές λόγω των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων που παρουσιάζουν. Επιδημιολογικές εξετάσεις δείχνουν την θετική συσχέτιση μεταξύ της αυξημένης κατανάλωσης φαινολικών αντιοξειδωτικών με την μειωμένη εμφάνιση καρδια-αγγειακών νόσων.

4.3.1 Συνθετικά φαινολικά αντιοξειδωτικά

Βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη- Butylated hydroxyanisole-BHA

Πρόκειται για ένα μονοφαινολικό αντιοξειδωτικό. Στο εμπόριο διατίθενται με τη μορφή λευκών κηρωδών νιφάδων οι οποίες αποτελούν μείγμα δύο ισομερών, των 3-tertiary-butyl-4-hydroxyanisole (90%) και 2-tetiary-butyl-4-hydroxyanisole (10%). Η BHA διαλύεται εύκολα στα λίπη και στα έλαια αλλά όχι στο νερό. Αποτελεί σπουδαίο αντιοξειδωτικό για την πρόληψη της αλλοίωσης της γεύσης και του χρώματος των αιθέριων ελαίων. Επίσης, σε έλαια όπως αυτά της καρύδας και του πυρήνα του φοίνικα, είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική καθώς συμβάλλει στον έλεγχο της οξείδωσης των λιπαρών τους οξέων. Το έλαιο καρύδας και το φοινικοπυρηνέλαιο χρησιμοποιούνται στα δημητριακά και στα ζαχαρωτά. Η BHA χρησιμοποιείται που έχουν ψηθεί ή τηγανιστεί, σε προϊόντα που προέρχονται από την πατάτα καθώς επίσης σε επιδόρπια και ποτά. (Shahidi, F., & Ambigaipalan, P., 2015).

Βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο- Butylated hydroxytoluene- BHT

Όπως η BHA έτσι και το BHT, πρόκειται για ένα μονοφαινολικό αντιοξειδωτικό το οποίο διαλύεται με ευκολία στα λίπη και στα έλαια αλλά είναι αδιάλυτο στο νερό. Διατίθενται στο εμπόριο σε λευκή κρυσταλλική μορφή και παρουσιάζει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στην καταστολή της οξειδωσης των λιπών ζωικής προέλευσης έναντι των φυτικών ελαίων. Η BHA και το BHT συνήθως δρουν συνεργιστικά. Η πτητική φύση και των δύο τα καθιστά σπουδαία πρόσθετα στα υλικά συσκευασίας των τροφίμων επειδή μπορούν εύκολα να απορροφηθούν από τα τρόφιμα. Συνεπώς προστίθενται απευθείας στο υλικό της εσωτερικής επένδυσης ως κερί ή στο χαρτί συσκευασίας ως γαλάκτωμα. (Shahidi, F., & Ambigaipalan, P., 2015).

Τριτ-βουτυλο-υδροκινόνη- Tertiary-butylhydroquinone- TBHQ

Αποτελεί ένα ιδιαίτερα δραστικό συντηρητικό για ακόρεστα έλαια φυτικής προελεύσεως, για προϊόντα που προέρχονται από κρέας και για πολλά βρώσιμα ζωικά λίπη. Δεν επιφέρει αλλαγές στο χρώμα ούτε μεταβάλλει τη γεύση και την οσμή στο υλικό στο οποίο προστίθενται. Η σύνθεσή του πραγματοποιείται κατά την απομεθυλίωση της BHA. Μπορούμε να το βρούμε στο εμπόριο υπό μορφή σκόνης μπλε χρώματος και υπάρχει η δυνατότητα να συνδυαστεί είτε με τη BHA είτε με το BHT για βέλτιστα αποτελέσματα. Η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη είναι 0,2 mg/kg σωματικού βάρους και αυτό γιατί σε πειραματικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν φάνηκε ότι σε υψηλές δόσεις το TBHQ είχε αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία των ποντικών που χρησιμοποιήθηκαν ως πειραματόζωα. Συγκεκριμένα, προκάλεσε τη δημιουργία καρκινικών όγκων στο στομάχι των ζώων και βλάβες στο DNA. Αξιοσημείωτο αποτελεί και το γεγονός ότι πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι η προσθήκη του σε βιοντίζελ θα μπορούσε να αποτρέψει την οξειδωσή του και να παρατείνει το χρόνο αποθήκευσής του. (Shahidi, F., & Ambigaipalan, P., 2015).

Προπυλικός εστέρας του γαλλικού οξέος- Propyl gallate- PG

Η χρήση του ξεκίνησε ήδη από το 1948 στις βιομηχανίες καλλυντικών και τροφίμων για τη συντήρηση καλλυντικών προϊόντων και σε υλικά συσκευασίας τροφίμων που εμπεριέχουν λίπη αλλά και ως πρόσθετο σε βρώσιμα λίπη και έλαια, σε μαγιονέζες και σε αρτοσκευάσματα. Είναι διαθέσιμο στο εμπόριο υπό μορφή λευκής σκόνης που προέρχεται ύστερα από εστεροποίηση του γαλλικού οξέος με προπυλική αλκοόλη κατόπιν απόσταξης για την απομάκρυνση της περίσσειας της αλκοόλης. Είναι ευδιάλυτο στην αιθανόλη αλλά όχι στο νερό. Έχει σημείο τήξης 148°C και γι' αυτό το λόγο είναι αναποτελεσματικό σε εφαρμογές

τηγανίσματος καθώς προϋποθέτουν την ύπαρξη θερμοκρασιών άνω των 190°C. Συνεργάζεται καλά με την BHA και το BHT αλλά απαγορεύεται η συνεφαρμογή με το TBHQ. Σε πειραματικές έχει αποδειχθεί ότι το PG και ο μεταβολίτης του το γαλλικό οξύ έχουν τοξική δράση στο ήπαρ και προάγουν την καρκινογένεση. Επίσης, σε άλλες έρευνες που έχουν διεξαχθεί, οι αντιοξειδωτικές και κυτταροπροστατευτικές ιδιότητες που παρουσιάζει το PG μπορούν παρουσία του Cu να μετατραπούν σε προοξειδωτικές και κυτταροτοξικές. Τέλος, η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη PG ορίζεται στα 0,25 mg/kg σωματικού βάρους. (Shahidi, F., & Ambigaipalan, P., 2015).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.1 Υλικά και μέθοδοι

Υλικά

- ✓ Φυτικό υλικό από πράσινο τσάι και τσάι του βουνού

Σκεύη

Για το πείραμα χρειαστήκαμε τον εξής εργαστηριακό εξοπλισμό:

- ✓ Ζυγαριά ακριβείας
- ✓ Ποτήρια ζέσεως
- ✓ Ογκομετρικές φιάλες 100ml
- ✓ Πλαστικοί υδροβολείς
- ✓ Γυάλινοι ογκομετρικοί κύλινδροι
- ✓ Γυάλινος αναδευτήρας
- ✓ Γυάλινο θερμομέτρο
- ✓ Πλαστικά χωνιά
- ✓ Διηθητικό χαρτί
- ✓ Μεμβράνη



Εικόνα 8. Το φυτικό υλικό

5.2. Παραλαβή Φαινολικών Εκχυλισμάτων

Οι διαλυτές φαινόλες εκχυλίζονται με υδατο-αλκοολούχα διαλύματα, συνηθέστερα με 80% αιθανόλη, 80%, 60% μεθανόλη, μείγμα αιθανόλης- μεθανόλης- νερό με αναλογία (4:4:2) ή μείγμα μεθανόλης- οξικό οξύ- νερό με αναλογία (4:4:2) κ.α. Ικανοποιητικά αποτελέσματα εκχύλισης των φαινολών μας δίνει η χρήση 50% μεθανόλης σε 1,2 M HCL (Meyer, A.S. et al. 1997).

Προετοιμασία

Το πρώτο στάδιο για την διεξαγωγή του πειράματος ξεκίνησε με την παρασκευή των δειγμάτων. Το πράσινο τσάι αγοράστηκε από γνωστό κατάστημα με βότανα ενώ το τσάι του βουνού από κατάστημα με ξηρούς καρπούς και ζαχαρώδη. Όσον αφορά το τσάι του βουνού, αρχικά το φυτικό υλικό τεμαχίστηκε λαμβάνοντας μόνο τις ανθοταξίες και κάποια φύλλα καθώς η συσκευασία περιλάμβανε ολόκληρο τον βλαστό. Το πράσινο τσάι ήταν ήδη τεμαχισμένο και επεξεργασμένο. Οι θερμοκρασίες βρασμού των δειγμάτων των φυτικών υλικών ήταν διαδοχικά 40°C, 60 °C, 80 °C και 100 °C και ο χρόνος βρασμού κυμαινόταν από 5', 10', 20' μέχρι 40'.

Στη συνέχεια στη ζυγαριά ακριβείας ζυγίσαμε την ποσότητα του κάθε φυτικού υλικού που ήταν απαραίτητη για την κάθε θερμοκρασία για τον εκάστοτε χρόνο βρασμού. 2 γραμμάρια φυτικού υλικού για κάθε θερμοκρασία, συνολικά 32 γραμμάρια από κάθε φυτό. Ακολούθως ο υδροβολέας συμπληρώθηκε με αποσταγμένο νερό και τα ποτήρια ζέσεως όπως επίσης και οι ογκομετρικές φιάλες τοποθετήθηκαν στον πάγκο του εργαστηρίου. Σημειώσαμε στις ογκομετρικές φιάλες την εκάστοτε θερμοκρασία που απομακρύνθηκε από τη θερμαινόμενη πλάκα και στα ποτήρια ζέσεως τους αριθμούς 1-4.



Εικόνα 9. Προετοιμασία δειγμάτων για το σιδερίτη

Στα ποτήρια ζέσεως ρίξαμε 100ml αποσταγμένο νερό με τη βοήθεια των γυάλινων ογκομετρικών κυλίνδρων και του υδροβολέα. Εν συνεχεία, τοποθετήθηκαν στην θερμαινόμενη πλάκα και αφέθηκαν εκεί μέχρι να φτάσουν στην επιθυμητή θερμοκρασία. Η θερμοκρασία μετρούνταν με ειδικό γυάλινο θερμόμετρο. Η πρώτη θερμοκρασία ήταν οι 40 βαθμοί Κελσίου. Μόλις έφτασε το νερό στο επιθυμητό σημείο θερμοκρασίας, τότε τοποθετήθηκε σε κάθε ποτήρι ζέσεως το φυτικό υλικό και αναδεύτηκε με τον γυάλινο αναδευτήρα. Συγχρόνως, με την έναρξη της ανάδευσης, ξεκίνησε η χρονομέτρηση.



Εικόνα 10. Τα ποτήρια ζέσεως με το φυτικό υλικό στην θερμαινόμενη πλάκα στους 40 °C και στους 100 °C

Στο ενδιάμεσο, ετοιμάστηκαν τέσσερις ογκομετρικές φιάλες που έφεραν στο στόμιο τους πλαστικό χωνί με διηθητικό χαρτί. Στα πέντε λεπτά απομακρύναμε το πρώτο ποτήρι ζέσεως και ρίξαμε το περιεχόμενό του στην πρώτη ογκομετρική φιάλη. Λήφθηκε το εκχύλισμα και το φυτικό υλικό το οποίο παρέμεινε στο διηθητικό χαρτί απορρίφθηκε.

Η ογκομετρική φιάλη τοποθετήθηκε στην άκρη μέχρι να ετοιμαστούν και τα άλλα τρία δείγματα των 10', των 20' και των 40'. Η διαδικασία παρέμεινε η ίδια και για τις άλλες τρεις επαναλήψεις που αφορούσαν τις επόμενες θερμοκρασίες 60 °C, 80 °C και 100 °C. Ειδικότερα όμως, στην προετοιμασία για τα δείγματα που αφορούσαν την θερμοκρασία των 100 °C, στα ποτήρια ζέσεως που εμπειρεύσαν το νερό, καλύφθηκε με διαφανής μεμβράνη προκειμένου να αποφευχθεί η εξάτμιση του νερού. Με το πέρας της διαδικασίας και αφού ετοιμάστηκαν τα δείγματα που αφορούσαν την θερμοκρασία των 40°C, οι ογκομετρικές φιάλες τοποθετήθηκαν στο ψυγείο. Το ίδιο συνέβη και με τις ογκομετρικές φιάλες των άλλων θερμοκρασιών μόλις ολοκληρώθηκε η διαδικασία για τα δείγματα του σιδηρίτη.



Εικόνα 11. Οι ογκομετρικές φιάλες με το διηθητικό χαρτί και η τοποθέτησή τους στο ψυγείο

Έπειτα ακολούθησε η προετοιμασία των δειγμάτων για το πράσινο τσάι. Δεν διέφερε σημαντικά από εκείνη του σιδερίτη. Το φυτικό υλικό ζυγίστηκε στη ζυγαριά ακριβείας και προετοιμάστηκαν τα ποτήρια ζέσεως και οι ογκομετρικές φιάλες που θα χρησιμοποιούνταν. Εφόσον ολοκληρώθηκε τα παραπάνω, τα ποτήρια ζέσεως γεμίστηκαν με 100ml αποσταγμένο νερό και τοποθετήθηκαν στη θερμαινόμενη πλάκα. Μόλις το γυάλινο θερμομέτρο έδειξε 40°C, εισήχθη το φυτικό υλικό στα ποτήρια, ανακατέψαμε με τον αναδευτήρα και συγχρόνως ξεκίνησε η χρονομέτρηση.

Στα 5 λεπτά αφαιρέθηκε το πρώτο ποτήρι ζέσεως από τη θερμαινόμενη πλάκα και ρίξαμε το περιεχόμενο στο χωνί της ογκομετρικής φιάλης με το διηθητικό χαρτί. Το διηθητικό χαρτί με το φυτικό υλικό απορρίφθηκε και η ογκομετρική φιάλη με το εκχύλισμα παρέμεινε εκεί έως ότου ετοιμαστούν και οι επόμενες. Όταν συμπληρώθηκαν τα 10' κατέβηκε και το δεύτερο ποτήρι ζέσεως από την θερμαινόμενη πλάκα και εν συνεχεία εκχυλίστηκε το περιεχόμενο. Η δεύτερη ογκομετρική φιάλη μαζί με την πρώτη τοποθετήθηκαν στην άκρη για να ετοιμαστούν και τα άλλα δύο εκχυλίσματα των τελευταίων θερμοκρασιών. Όπως και στο σιδερίτη, τα ποτήρια ζέσεως στην θερμοκρασία των 100°C καλύφθηκαν εξαρχής με διαφανή μεμβράνη.



Εικόνα 12. Προετοιμασία του πράσινου τσαγιού

Εικόνα 13. Τα ποτήρια ζέσεως στην θερμαινόμενη πλάκα

Εικόνα 14. Πριν την εκχύλιση

Εικόνα 15. Τα ποτήρια ζέσεως στους 100°C

5.3 Προσδιορισμός ολικών φαινολών στα εκχυλίσματα

Ο προσδιορισμός των ολικών φαινολών γίνεται με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu σύμφωνα με την κλασική μέθοδο του Singleton και Rossi ή με την δική του μικροπαραλλαγή (Badenschneider et al., 1995).

Αντιδραστήρια

1. Folin-Ciocalteu του εμπορίου.

Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu μπορεί να παρασκευασθεί και στο εργαστήριο ως εξής: Σε ογκομετρική φιάλη των 100ml προστίθενται 70ml αποσταγμένο νερό, 10gr βολφραμικό νάτριο και 2,5gr μολυβδενικό νάτριο. Μετά την διάλυση τους προστίθενται 5ml H₃PO₄ 80%, 10 ml π. HCL και φέρονται σε βρασμό υπό κάθετο ψυκτήρα για 10 ώρες. Στη συνέχεια προστίθενται 15gr θειικό λίθιο, 5 σταγόνες βρωμίου και τοποθετούνται πάλι σε βρασμό για 15 min. Μετά την ψύξη συμπληρώνεται η φιάλη των 100 ml με αποσταγμένο νερό.

2. Άνυδρο ανθρακικό νάτριο 20%.

3. Γαλλικό οξύ ή κατεχίνη για παρασκευή Stock διαλύματος.

Τεχνική

Σύμφωνα με την κλασική μέθοδο Singleton και Rossi προσθέτουμε 1 ml από το εξεταζόμενο υδατικό εκχύλισμα (είτε του πράσινου τσαγιού είτε του σιδερίτη) και 60 ml αποσταγμένο νερό σε ογκομετρική φιάλη των 100ml. Στη συνέχεια προσθέτουμε 5 ml από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Αναμειγνύεται το μείγμα και μετά από 1 min και πριν την λήξη 8 min προσθέτουμε 15 ml άνυδρο ανθρακικό νάτριο 20%. Συμπληρώνεται η ογκομετρική φιάλη των 100 ml και παραμένει το μίγμα για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Μετράται η απορρόφηση απόχρωσης στα 750 nm. Με τις ίδιες συνθήκες προετοιμάζονται τα standards διαλύματα και σχηματίζεται η πρότυπη καμπύλη. Οι φαινόλες υπολογίζονται ως ισοδύναμα του γαλλικού οξέος (GAE) σε mg/l.



Εικόνα 16. Φασματοφωτόμετρο Micrel

5.4. Προσδιορισμός της Αντιριζικής Ενεργητικότητας με το Ελεύθερο Σταθερό ριζικό DPPH•

Η μέθοδος DPPH• είναι μια χαμηλού κόστους μέθοδος μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας που στηρίζεται στο ελεύθερο σταθερό ριζικό DPPH•. Η μέθοδος βρίσκει εφαρμογή στον προσδιορισμό της αντιριζικής ενεργητικότητας των φυτών, των φυτικών εκχυλισμάτων και των αιθέριων ελαίων (Brand-Williams et al. 1995). Το σταθερό ριζικό DPPH• (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazil) αλληλοεπιδρά με τις αντιοξειδωτικές ενώσεις και αδρανοποιείται μέσω προσθήκης ενός ατόμου υδρογόνου (517nm) με αποτέλεσμα το μωβ χρώμα να αποχρωματίζεται (Yamaguchi, 1998). Η αδρανοποίηση μπορεί να επιτευχθεί εκτός από την προσθήκη ενός ατόμου υδρογόνου και με την προσθήκη ενός ηλεκτρονίου.

Αντιδραστήρια

1. Διάλυμα DPPH 6×10^{-5} mol/L σε μεθανόλη (MB \rightarrow DPPH = 394,33 \rightarrow 5,9 mgDPPH / 250mlCH₃OH)
2. Trolox συγκεντρώσεις (5-10-15-20-25-30) mmol, διαλύονται σε 6 ml μεθανόλη και προσθέτουμε αποσταγμένο νερό. Trolox (6 - υδροξυ - 2,5,7,8 - τετραμέθυλο - χρωμάνυλο - 2 - καρβοξυλικό οξύ \rightarrow MB = 250,29).

Τεχνική

Προσθέτονται σε δοκιμαστικούς σωλήνες 2 ml από το μεθανολικό διάλυμα του DPPH και 50 μl από το υδατικό εκχύλισμα του χαμομηλιού ή 50 μl από 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις Trolox (5-10-15-20-25-30) mmol αντίστοιχα. Μετά από μηχανική ανάμειξη (Vortex-30), το διάλυμα επωάζεται για 15 min σε θερμοκρασία δωματίου και φασματοφωτομετράται σε $\lambda = 515$ nm. Παράλληλα μ' αυτά φωτομετράται και λευκό δείγμα προετοιμασμένο κατά τον ίδιο τρόπο, αντί για 50 μl του εξεταζόμενου διαλύματος προσθέτονται 50 μl αποσταγμένο νερό. Μηδενίζουμε το σπεκτοφωτόμετρο με μεθανόλη.

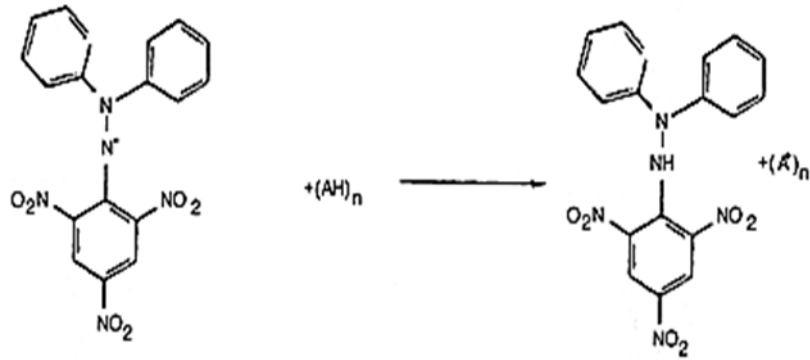
Προσδιορίζεται η μεταβολή της απορρόφησης του διαλύματος της ρίζας DPPH• μετά την προσθήκη του αντιοξειδωτικού. Το επί τοις εκατό ποσοστό καταστολής της ρίζας DPPH• υπολογίζεται σύμφωνα με την εξίσωση του (Gadow et al., 1997):

$$\% \text{ καταστολή} = (A_{\text{Λευκού}} - A_{\text{Δείγματος}}) / A_{\text{Λευκού}} \times 100$$

Από την γραφική παράσταση που συνδέει τις συγκεντρώσεις Trolox και τις διαφορές των απορροφήσεων ή τις συγκεντρώσεις Trolox και την % καταστολή του DPPH• εκφράζουμε τα αποτελέσματα σε ισοδύναμα Trolox.

Επίσης τα αποτελέσματα για την αντιριζική ενεργητικότητα μπορούν να υπολογισθούν ως μmoles DPPH• εξουδετερωμένα από τις φαινολικές ενώσεις ενός ml υδατικού εκχυλίσματος, δηλ. αυδατικά εκχυλίσματα με πιο υψηλή αντιριζική ενεργητικότητα συλλαμβάνουν πιο μεγάλη ποσότητα (μmoles) από το σταθερό ελεύθερο ριζικό (DPPH•). Ανάλογα με τον όγκο του εκχυλίσματος, τη μάζα του φυτού που λήφθηκε για ανάλυση και τον όγκο του εξεταζόμενου διαλύματος μπορεί να υπολογισθεί η ποσότητα του DPPH• σε μmoles ανά 1 γραμμάριο φυτικό υλικό.

Ως δραστική συγκέντρωση EC_{50} (Efficient concentration) των αντιοξειδωτικών φαινολικών ενώσεων των εκχυλισμάτων ορίζεται η ποσότητα σε μM ή (g/L) διαφορετικών συγκεντρώσεων των εκχυλισμάτων που μπορεί να ελαττώσει την απόχρωση του DPPH• κατά 50%. Ο υπολογισμός γίνεται από το διάγραμμα που δείχνει το % ποσοστό εξουδετέρωσης της ρίζας σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση του εκχυλίσματος. Παρασκευάζονται δηλαδή διαφορετικές συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων.



DPPH•

1,1 διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο →
μωβ χρώμα

DPPH-H

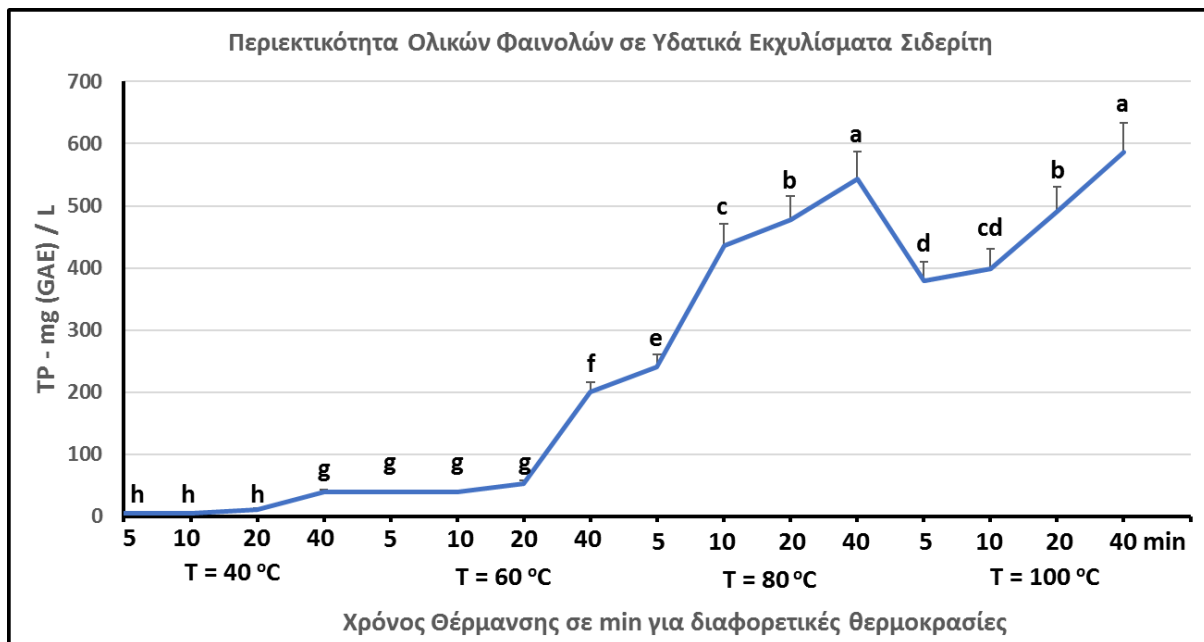
1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη
αποχρωματισμός

Στατιστική ανάλυση

Η σύγκριση των μέσων όρων πραγματοποιήθηκε υποβάλλοντας τα δεδομένα σε μονόδρομη ανάλυση διακύμανσης σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05 χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο MINITAB (Ryan et al., 2005). Το πείραμα είχε τέσσερις επαναλήψεις. Ο διαχωρισμός των μέσων όρων έγινε χρησιμοποιώντας τη δοκιμή Tukey's μεταξύ των μεταχειρίσεων.

5.5. Αποτελέσματα και Συζήτηση

Σιδερίτης



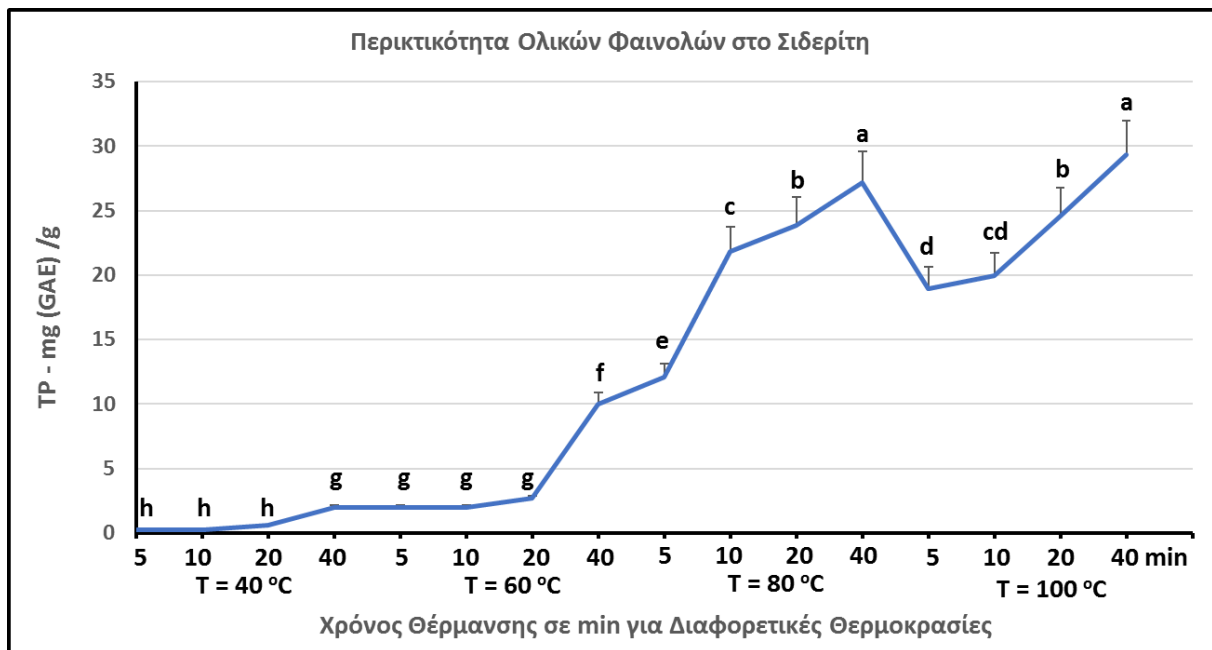
Σχήμα 1. Μεταβολή των ολικών φαινολών σε υδατικά εκχυλίσματα Σιδερίτη σε σχέση με τον χρόνο θέρμανσης και την θερμοκρασία. Τιμές στο γράφημα με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's

Το σχήμα 1 παρουσιάζει την μεταβολή της περιεκτικότητας των ολικών φαινολών των υδατικών εκχυλισμάτων του Σιδερίτη για κάθε θερμοκρασία στο εκάστοτε χρονικό διάστημα βρασμού. Ξεκινώντας με την θερμοκρασία $T = 40^{\circ}\text{C}$, βλέπουμε ότι από τα 5' λεπτά έως και τα 20' η περιεκτικότητα των ολικών φαινολών είναι σχεδόν ίδια δίχως κάποια αξιόλογη μεταβολή ενώ στα 40' διακρίνουμε μία σχετική αύξηση.

Για τη θερμοκρασία $T = 60^{\circ}\text{C}$, στους χρόνους $t = 5 \text{ min}$ έως $t = 20 \text{ min}$ η περιεκτικότητα είναι αμελητέα χωρίς σημαντικές διαφορές και μάλιστα είναι ίδια με την περιεκτικότητα που αφορά το χρόνο $t = 40 \text{ min}$ της θερμοκρασίας $T = 40^{\circ}\text{C}$. Στον χρόνο $t = 40 \text{ min}$ διακρίνεται μία σημαντική αύξηση.

Όσον αφορά την επομένη θερμοκρασία, την θερμοκρασία $T = 80^{\circ}\text{C}$, η περιεκτικότητα των ολικών φαινολών αυξάνεται σταδιακά με το πέρασμα των λεπτών χωρίς να παρουσιάζονται ομοιότητες μεταξύ των περιεκτικότητων. Τέλος, για την θερμοκρασία $T = 100^{\circ}\text{C}$, βλέπουμε ότι η περιεκτικότητα αυξάνεται σημαντικά και σταθερά. Μάλιστα, η περιεκτικότητα στον χρόνο $t = 40 \text{ min}$ για τις θερμοκρασίες $T = 80^{\circ}\text{C}$ και $T = 100^{\circ}\text{C}$ είναι σχεδόν παρόμοιες χωρίς να διαφέρουν σημαντικά.

Συμπερασματικά, ρίχνοντας μια τελευταία ματιά στο σχήμα 1, ο καλύτερος χρόνος για κάθε θερμοκρασία αλλά και για όλες τις θερμοκρασίες είναι ο χρόνος $t = 40 \text{ min}$ όπου εδώ λαμβάνουμε και τη μέγιστη περιεκτικότητα των ολικών φαινολών.

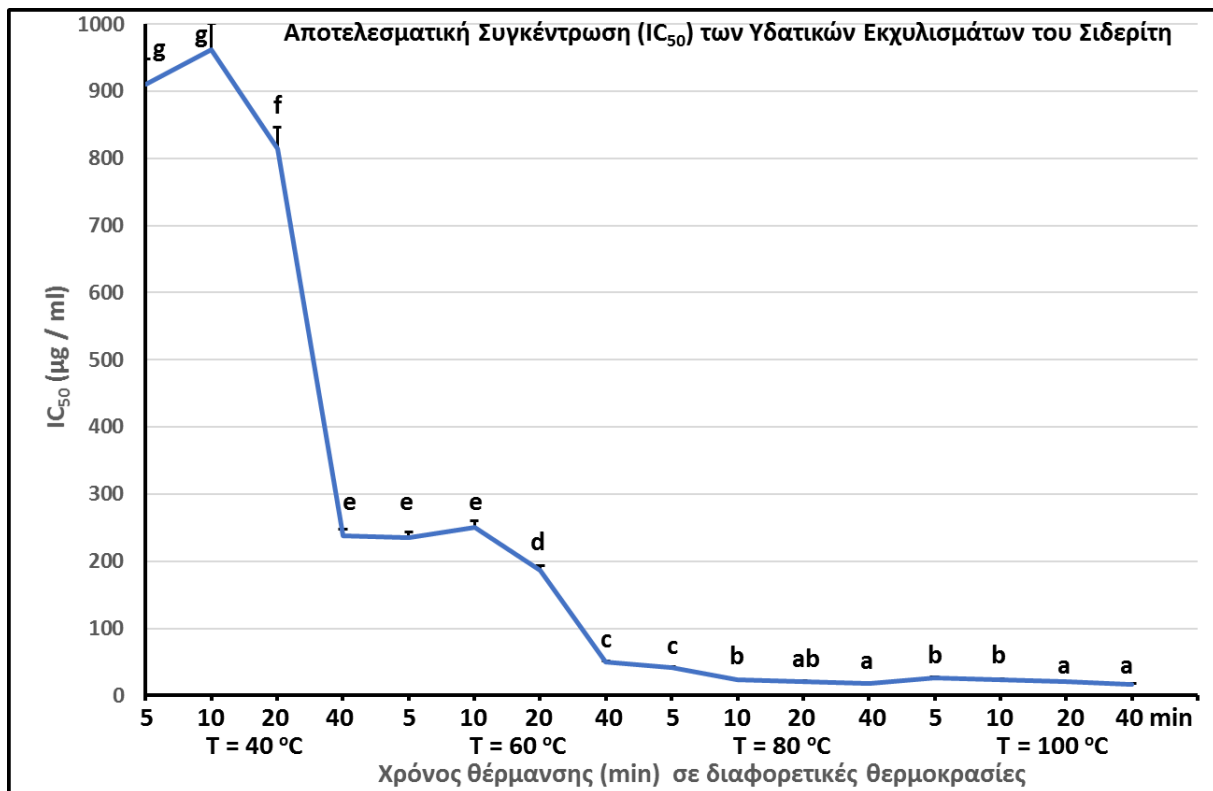


Σχήμα 2. Μεταβολή των ολικών φαινολών στον Σιδερίτη σε σχέση με τον χρόνο θέρμανσης και την θερμοκρασία. Τιμές στο γράφημα με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's.

Στο σχήμα 2 δεν παρατηρείται κάποια ουσιαστική μεταβολή σε σύγκριση με το σχήμα 1. Η διαφορά είναι ότι τα αποτελέσματα του σχήματος 2 αναφέρονται στην περιεκτικότητα των ολικών φαινολών του φυτικού υλικού του Σιδερίτη και όχι του υδατικού εκχυλίσματός του όπως στο σχήμα 1.

Ξεκινώντας από τη θερμοκρασία $T=40^{\circ}\text{C}$, δεν παρατηρείται μεταβολή στην περιεκτικότητα των ολικών φαινολών μεταξύ των χρόνων $t=5\text{ min}$ έως $t=20\text{ min}$. Κάτι τέτοιο φαίνεται να ισχύει και στην θερμοκρασία $T=60^{\circ}\text{C}$. Αυτό όμως που βλέπουμε είναι ότι η τιμή για το χρόνο $t=40\text{ min}$ για την θερμοκρασία $T=40^{\circ}\text{C}$, είναι παρόμοια με τις τιμές $t=5\text{ min}$ έως $t=20\text{ min}$ της θερμοκρασίας $T=60^{\circ}\text{C}$.

Οι τιμές της περιεκτικότητας των ολικών φαινολών που αφορούν την θερμοκρασία $T=80^{\circ}\text{C}$, παρουσιάζουν αύξηση όσο περνάει η ώρα με τα ίδια να ισχύουν και για την θερμοκρασία $T=100^{\circ}\text{C}$. Αυτό που διακρίνεται εδώ είναι το γεγονός ότι η μέγιστες τιμές που αναφέρονται στο χρόνο $t=40\text{ min}$ είναι ίδιας κλίμακας χωρίς ουσιαστική μεταβολή.

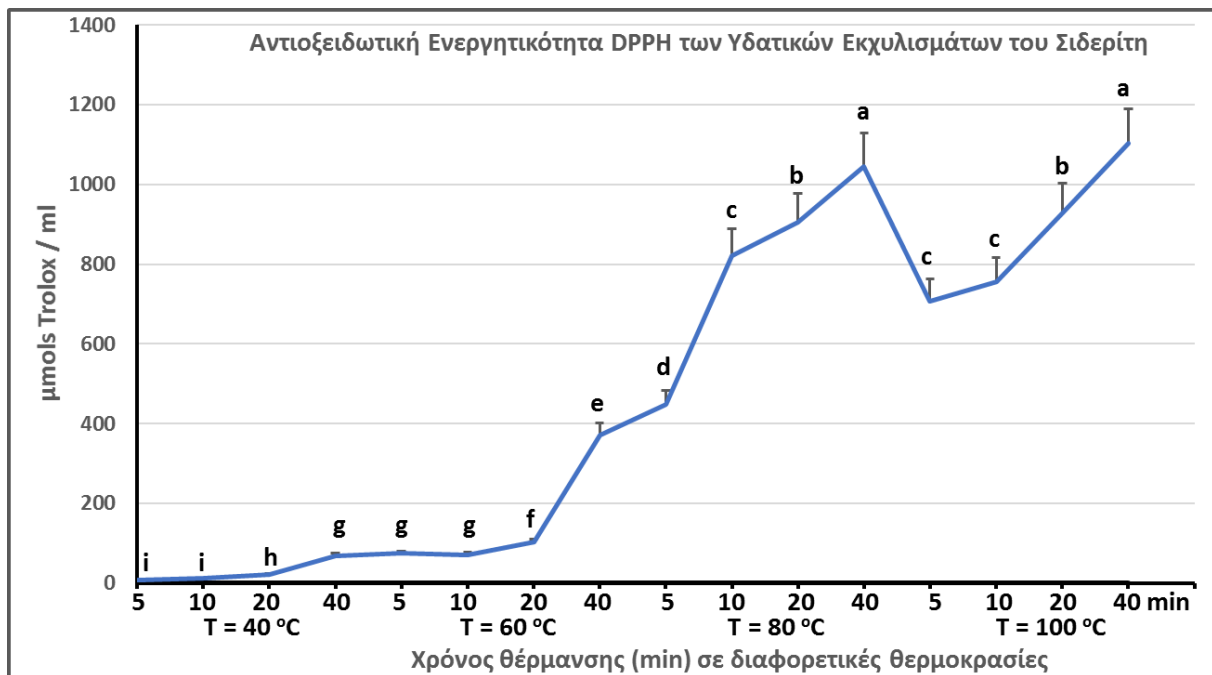


Σχήμα 3. Μεταβολή της αποτελεσματικής συγκέντρωσης (IC₅₀) σε υδατικά εκχυλίσματα Σιδερίτη σε σχέση με τον χρόνο θέρμανσης και την θερμοκρασία. Τιμές στο γράφημα με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's.

Παρατηρώντας το σχήμα 3, βλέπουμε ότι όσον αφορά τις τιμές που αντιστοιχούν στη θερμοκρασία $T = 40^{\circ}\text{C}$ είναι αυξημένες σε σχέση με τις τιμές των υπολοίπων θερμοκρασιών. Συνεχίζοντας με την τιμή του χρόνου $t = 40 \text{ min}$ για τη θερμοκρασία $T = 40^{\circ}\text{C}$ κυμαίνεται στα ίδια χωρίς αξιοσημείωτη στατιστική διαφορά με τις τιμές $t = 5 \text{ min}$ και $t = 10 \text{ min}$ της θερμοκρασίας $T = 60^{\circ}\text{C}$. Από εκεί και έπειτα παρουσιάζεται μία σταθερή πτώση των τιμών μεταξύ των χρόνων των εκάστοτε θερμοκρασιών.

Πάλι παρουσιάζεται παρόμοια τιμή μεταξύ του χρόνου $t = 40 \text{ min}$ για τη θερμοκρασία $T = 60^{\circ}\text{C}$ και του χρόνου $t = 5 \text{ min}$ της $T = 80^{\circ}\text{C}$. Για τους χρόνους που ακολουθούν για τη θερμοκρασία $T = 60^{\circ}\text{C}$, διακρίνεται μία σταθερή πτωτική πορεία, σχεδόν σε ευθεία γραμμή. Τέλος, για τη θερμοκρασία $T = 100^{\circ}\text{C}$, οι τιμές ανά ζεύγη δηλαδή για τους χρόνους $t = 5 \text{ min} - t = 10 \text{ min}$ και για τους χρόνους $t = 20 \text{ min} - t = 40 \text{ min}$, είναι ίδιες και σχετικά χαμηλές έναντι των υπολοίπων θερμοκρασιών.

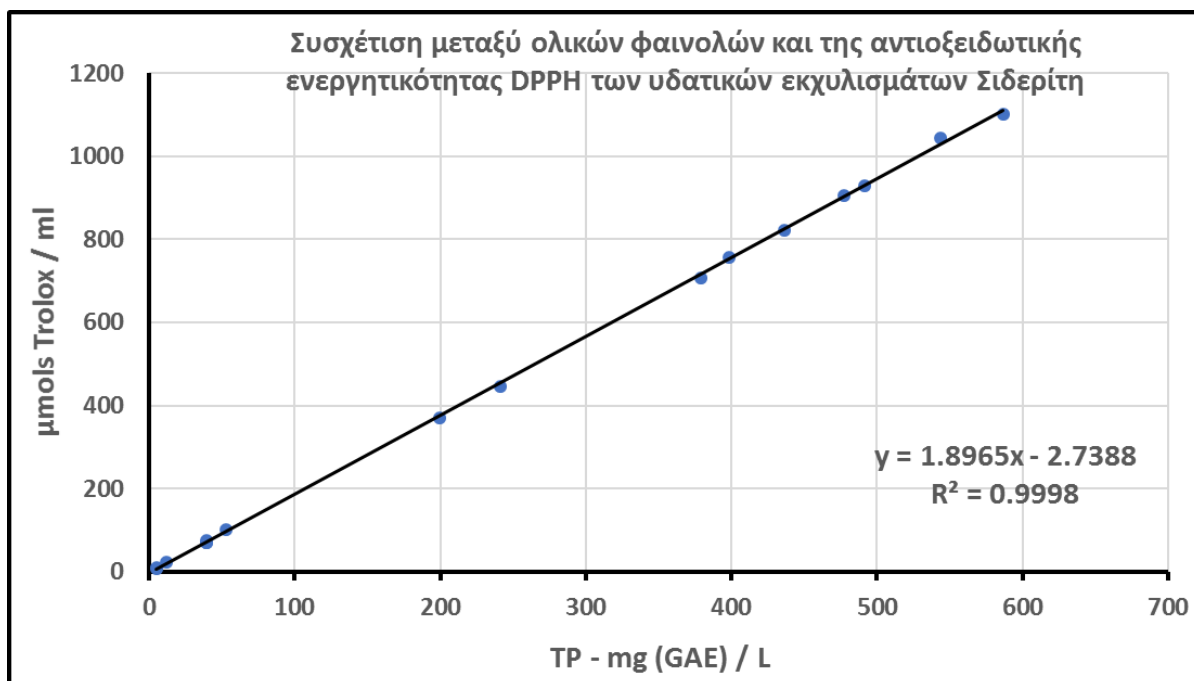
Αυτό γιατί μικρή τιμή αποτελεσματικής συγκέντρωσης σημαίνει μεγάλη αντιοξειδωτική δύναμη και αντιστρόφως μεγάλη τιμή αποτελεσματικής συγκέντρωσης σημαίνει μικρή αντιοξειδωτική δύναμη. Άρα καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι το πιο ισχυρό είναι το a από το παραπάνω γράφημα του σχήματος 3 γιατί έχει την μικρότερη τιμή. Και εδώ, πάλι καλύτερος χρόνος για κάθε θερμοκρασία χωριστά αλλά και για όλες σαν τελικό συμπέρασμα είναι ο χρόνος $t = 40 \text{ min}$ όπου παρατηρείται η σχετικά μικρή τιμή του για κάθε θερμοκρασία.



Σχήμα 4. Μεταβολή της αντιοξειδωτικής δύναμης DPPH σε υδατικά εκχυλίσματα Σιδερίτη σε σχέση με τον χρόνο θέρμανσης και την θερμοκρασία. Τιμές στο γράφημα με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's.

Στο σχήμα 4 παρουσιάζεται η μεταβολή της αντιοξειδωτικής δύναμης DPPH των υδατικών εκχυλισμάτων του σιδερίτη σε συνάρτηση με τον χρόνο θέρμανσης και την θερμοκρασία. Αρχίζοντας από τη θερμοκρασία $T = 40^{\circ}\text{C}$, οι μεταβολές των χρόνων $t = 5 \text{ min}$ και $t = 10 \text{ min}$ είναι αμελητέες τόσο μεταξύ τους όσο και με την τιμή του χρόνου $t = 20 \text{ min}$ η οποία παρουσιάζει μια ελαφριά αύξηση. Όσον αφορά την τιμή του χρόνου $t = 40 \text{ min}$ είναι σαφέστατα αυξημένη σε σχέση με τις τιμές των προηγούμενων χρόνων θέρμανσης αλλά κυμαίνεται στις ίδιες τιμές με τους χρόνους $t = 5 \text{ min}$ και $t = 10 \text{ min}$ της θερμοκρασίας $T = 60^{\circ}\text{C}$. Από εκεί και έπειτα για τις υπόλοιπες τιμές των χρόνων θέρμανσης και θερμοκρασιών παρατηρείται αύξηση μέχρι την τιμή $t = 5 \text{ min}$ της θερμοκρασίας $T = 100^{\circ}\text{C}$ όπου μειώθηκε. Η ανοδική πορεία συνεχίστηκε βέβαια μέχρι τον χρόνο $t = 40 \text{ min}$. Αυτό που παρατηρήθηκε επίσης είναι ότι οι τιμές των χρόνων $t = 40 \text{ min}$ των δύο θερμοκρασιών $T = 80^{\circ}\text{C}$ και $T = 100^{\circ}\text{C}$ είναι ίδιες.

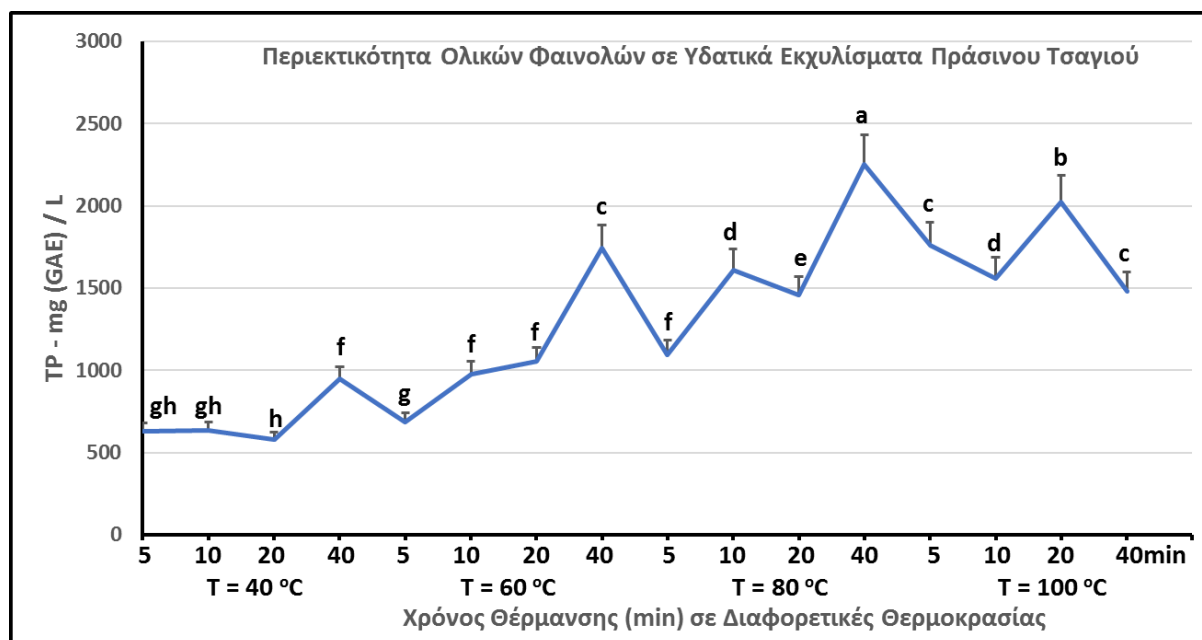
Για ακόμα μία φορά επαληθεύτηκε ότι ο χρόνος $t = 40 \text{ min}$ για όλες τις θερμοκρασίες αλλά και για την κάθε μία ξεχωριστά είναι ο ιδανικός καθώς τότε εντοπίζεται η μέγιστη αντιοξειδωτική δύναμη DPPH των υδατικών εκχυλισμάτων του σιδερίτη.



Σχήμα 5. Συσχέτιση μεταξύ των ολικών φαινολών και της αντιοξειδωτικής ενεργητικότητας DPPH των Υδατικών εκχυλισμάτων του Σιδερίτη σε διαφορετικές θερμοκρασίες και διαφορετικούς χρόνους θέρμανσης.

Στο σχήμα 5, η Συσχέτιση μεταξύ των ολικών φαινολών και της αντιοξειδωτικής δύναμης DPPH που εκφράστηκε σε μmols Trolox/ml είναι πολύ υψηλή, με συντελεστή συσχέτισης $R^2 = 0.9998$.

Πράσινο τσάι



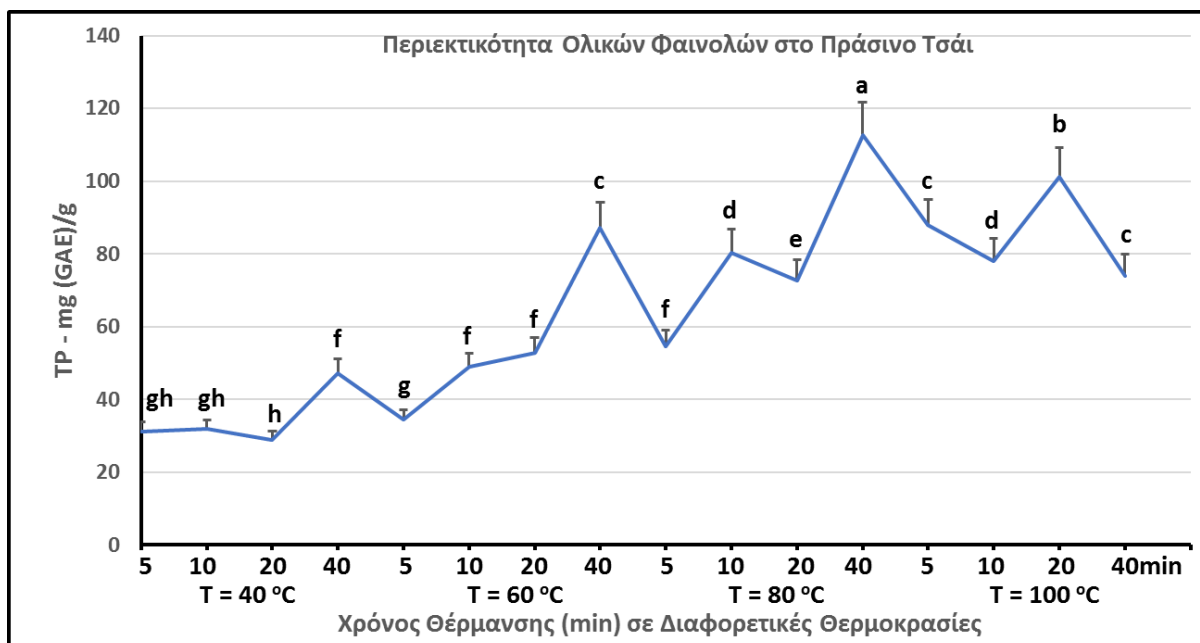
Σχήμα 6. Μεταβολή των ολικών φαινολών σε υδατικά εκχυλίσματα Πράσινου Τσαγιού σε σχέση με τον χρόνο θέρμανσης και την θερμοκρασία. Τιμές στο γράφημα με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's.

Παρατηρώντας το σχήμα 6 βλέπουμε εκ πρώτης όψεως τις διαφορές που υπάρχουν με το αντίστοιχο σχήμα 1 του Σιδερίτη. Οι τιμές της περιεκτικότητας των ολικών φαινολών για κάθε θερμοκρασία για το εκάστοτε χρονικό διάστημα ξεκινούν από υψηλές τιμές ακόμα και στους μικρότερους χρόνους.

Η περιεκτικότητα κυμαίνεται το ίδιο για τους χρόνους $t = 5$ min και $t = 10$ min της θερμοκρασίας $T = 40^{\circ}\text{C}$, διακρίνεται μια ελαφριά πτώση στο χρόνο $t = 20$ min και αυξάνει ξανά στο χρόνο $t = 40$ min. Οι ίδιες τιμές του χρόνου $t = 40$ min της θερμοκρασίας $T = 40^{\circ}\text{C}$ εντοπίζονται και στους χρόνους $t = 10$ min και $t = 20$ min της θερμοκρασίας $T = 60^{\circ}\text{C}$ και του χρόνου $t = 5$ min της θερμοκρασίας $T = 80^{\circ}\text{C}$.

Τόσο στη θερμοκρασία $T = 80^{\circ}\text{C}$ όσο και στη $T = 100^{\circ}\text{C}$, παρατηρείται μία αυξομείωση μεταξύ των τιμών της περιεκτικότητας στους χρόνους θέρμανσης ενώ στο αντίστοιχο διάγραμμα του Σιδερίτη στις συγκεκριμένες τιμές παρατηρείται σταθερή αύξηση στις τιμές της περιεκτικότητας.

Ενώ και στα προηγούμενα διαγράμματα του Σιδερίτη βλέπουμε ότι ο καλύτερος χρόνος είναι ο $t = 40$ min και για την περιεκτικότητα των ολικών φαινολών αλλά και για την αντιοξειδωτική δύναμη DPPH, εδώ μπορούμε να πούμε ότι ισχύει το ίδιο αλλά για την θερμοκρασία $T = 100^{\circ}\text{C}$ ο καλύτερος χρόνος είναι ο $t = 20$ min. Εκεί παρατηρείται η μέγιστη περιεκτικότητα ολικών φαινολών για τη μέγιστη θερμοκρασία.



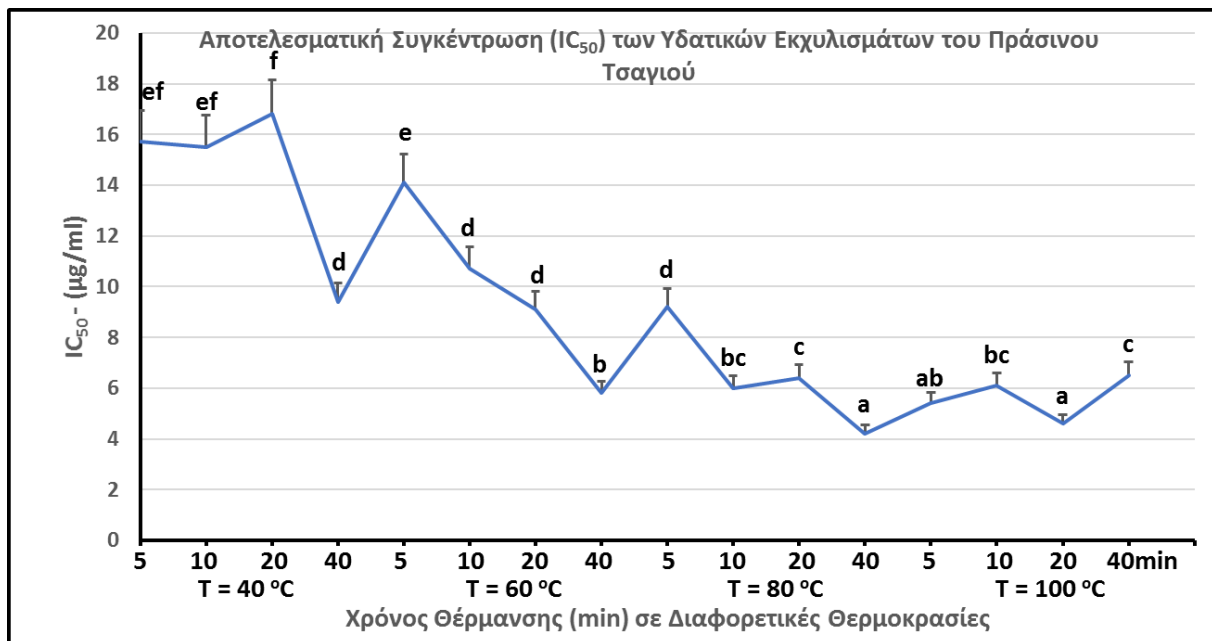
Σχήμα 7. Μεταβολή των ολικών φαινολών στο Πράσινο Τσάι σε σχέση με τον χρόνο θέρμανσης και την θερμοκρασία. Τιμές στο γράφημα με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's.

Τα σχήματα 6 και 7 συγκρινόμενα δεν παρουσιάζουν κάποια αξιοσημείωτη διαφορά. Το σχήμα 7 όμως παρουσιάζει τη μεταβολή της περιεκτικότητας των ολικών φαινολών του φυτικού υλικού του πράσινου τσαγιού και όχι του υδατικού εκχυλίσματος.

Οι τιμές της περιεκτικότητας των ολικών φαινολών του φυτικού υλικού για κάθε θερμοκρασία για το εκάστοτε χρονικό διάστημα ξεκινούν από υψηλές τιμές ακόμα και στους μικρότερους χρόνους.

Η περιεκτικότητα κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα για τους χρόνους $t = 5 \text{ min}$ και $t = 10 \text{ min}$ της θερμοκρασίας $T = 40^\circ\text{C}$. Από εκεί διακρίνεται μια όχι σημαντική πτώση στο χρόνο $t = 20 \text{ min}$ και αυξάνει ξανά στο χρόνο $t = 40 \text{ min}$. Οι τιμές του χρόνου $t = 40 \text{ min}$ της θερμοκρασίας $T = 40^\circ\text{C}$ εντοπίζονται και στις θερμοκρασίες $T = 60^\circ\text{C}$ και $T = 80^\circ\text{C}$ στους χρόνους $t = 10 \text{ min}$ και $t = 20 \text{ min}$ και στο χρόνο $t = 5 \text{ min}$ αντίστοιχα. Στις θερμοκρασίες $T = 80^\circ\text{C}$ όσο και στη $T = 100^\circ\text{C}$, παρατηρείται μία διακύμανση μεταξύ των τιμών της περιεκτικότητας στους χρόνους θέρμανσης.

Ενώ και στα προηγούμενα διαγράμματα του Σιδερίτη βλέπουμε ότι ο καλύτερος χρόνος είναι ο $t = 40 \text{ min}$ και για την περιεκτικότητα των ολικών φαινολών αλλά και για την αντιοξειδωτική δύναμη DPPH, εδώ μπορούμε να πούμε ότι ισχύει το ίδιο αλλά για την θερμοκρασία $T = 100^\circ\text{C}$ ο καλύτερος χρόνος είναι ο $t = 20 \text{ min}$. Εκεί παρατηρείται η μέγιστη περιεκτικότητα ολικών φαινολών για τη μέγιστη θερμοκρασία.



Σχήμα 8. Μεταβολή της αποτελεσματικής συγκέντρωσης (IC₅₀) σε υδατικά εκχυλίσματα Πράσινου Τσαγιού σε σχέση με τον χρόνο θέρμανσης και την θερμοκρασία. Τιμές στο γράφημα με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's.

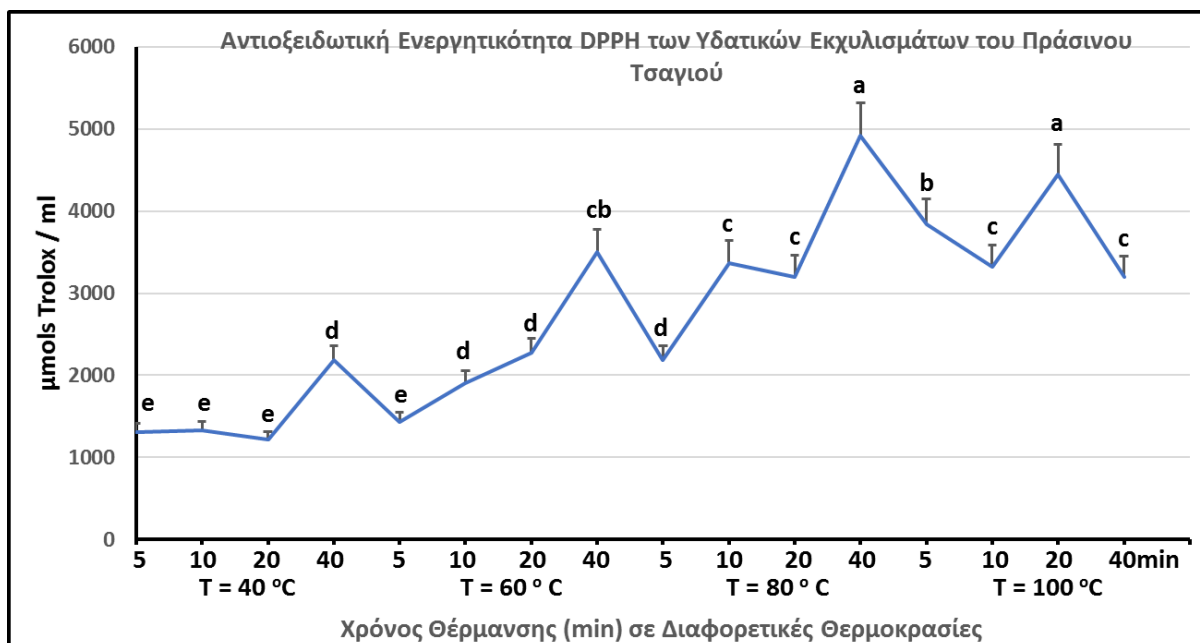
Στο σχήμα 8, βλέπουμε ότι όσον αφορά τις τιμές που αντιστοιχούν στη θερμοκρασία $T = 40^{\circ}\text{C}$ υπάρχει μια διακύμανση. Οι τιμές των χρόνων $t = 5 \text{ min}$, $t = 10 \text{ min}$ και $t = 20 \text{ min}$ είναι αυξημένες και σχεδόν συγκλίνουν σε σχέση με τις τιμές των υπολοίπων θερμοκρασιών. Κάτι που ίσχυε και στο σχήμα 3 που αφορούσε την αντίστοιχη μεταβολή των υδατικών εκχυλισμάτων του Σιδερίτη. Σχετικά με την τιμή του χρόνου $t = 40 \text{ min}$ βλέπουμε ότι υπάρχει κατακόρυφη πτώση έναντι των άλλων τιμών, κάτι που έρχεται και σε αντίθεση με την αντίστοιχη τιμή του Σιδερίτη, όπου εκεί η τιμή του χρόνου $t = 40 \text{ min}$ κυμαίνεται στα ίδια χωρίς αξιοσημείωτη στατιστική διαφορά με τις τιμές $t = 5 \text{ min}$ και $t = 10 \text{ min}$ για $T = 60^{\circ}\text{C}$.

Η μέτρηση για τη θερμοκρασία $T = 60^{\circ}\text{C}$ και στο χρόνο $t = 5 \text{ min}$ ξεκινά από υψηλή σχετικά τιμή και όπως συνέβη και στο Σιδερίτη, από εκεί και έπειτα παρουσιάζεται μία σταθερή πτώση των τιμών μεταξύ των χρόνων των εκάστοτε θερμοκρασιών.

Επιπρόσθετα, στο σχήμα 8 παρουσιάζονται παρόμοιες τιμές μεταξύ του χρόνου $t = 10 \text{ min}$ και $t = 20 \text{ min}$ για τη θερμοκρασία $T = 60^{\circ}\text{C}$ και του χρόνου $t = 5 \text{ min}$ για τη θερμοκρασία $T = 80^{\circ}\text{C}$. Στη θερμοκρασία $T = 80^{\circ}\text{C}$ πάλι παρατηρείται διακύμανση μεταξύ των τιμών όπου στο αντίστοιχο σχήμα 3 του Σιδερίτη από τη θερμοκρασία $T = 60^{\circ}\text{C}$ έως τη $T = 80^{\circ}\text{C}$ διακρίνεται μία σταθερή πτωτική πορεία, σχεδόν σε ευθεία γραμμή. Τέλος, όσον αφορά τη θερμοκρασία $T = 100^{\circ}\text{C}$ ενώ οι τιμές των χρόνων $t = 5 \text{ min}$ και $t = 10 \text{ min}$ σημειώνουν αυξητική πορεία, στο χρόνο $t = 20 \text{ min}$ η τιμή πέφτει απότομα. Στο σχήμα 3 σχετικά με τη θερμοκρασία $T = 100^{\circ}\text{C}$, οι τιμές είναι ίδιες και σχετικά χαμηλές έναντι των υπολοίπων θερμοκρασιών ανά ζεύγη δηλαδή για τους χρόνους $t = 5 \text{ min} - t = 10 \text{ min}$ και για τους χρόνους $t = 20 \text{ min} - t = 40 \text{ min}$.

Τέλος και στα δύο σχήματα το πιο ισχυρό είναι το a και αυτό γιατί μικρή τιμή αποτελεσματικής συγκέντρωσης σημαίνει μεγάλη αντιοξειδωτική δύναμη και αντιστρόφως μεγάλη τιμή αποτελεσματικής συγκέντρωσης σημαίνει μικρή αντιοξειδωτική δύναμη.

Σχετικά με τον καλύτερο χρόνο για κάθε θερμοκρασία και γενικά μετά για όλες είναι αξιοσημείωτο ότι σ' αυτό το σχήμα δεν είναι ίδιος ο καλύτερος χρόνος για όλες τις θερμοκρασίες. Για τις $T = 40^{\circ}\text{C}$, $T = 60^{\circ}\text{C}$ και $T = 80^{\circ}\text{C}$ είναι ο ίδιος, δηλαδή ο $t = 40 \text{ min}$, για τη θερμοκρασία όμως $T = 100^{\circ}\text{C}$ είναι ο $t = 20 \text{ min}$. Στο σχήμα 3, το αντίστοιχο για τον Σιδερίτη, καλύτερος χρόνος για κάθε θερμοκρασία χωριστά αλλά και για όλες σαν τελικό συμπέρασμα είναι ο χρόνος $t = 40 \text{ min}$.

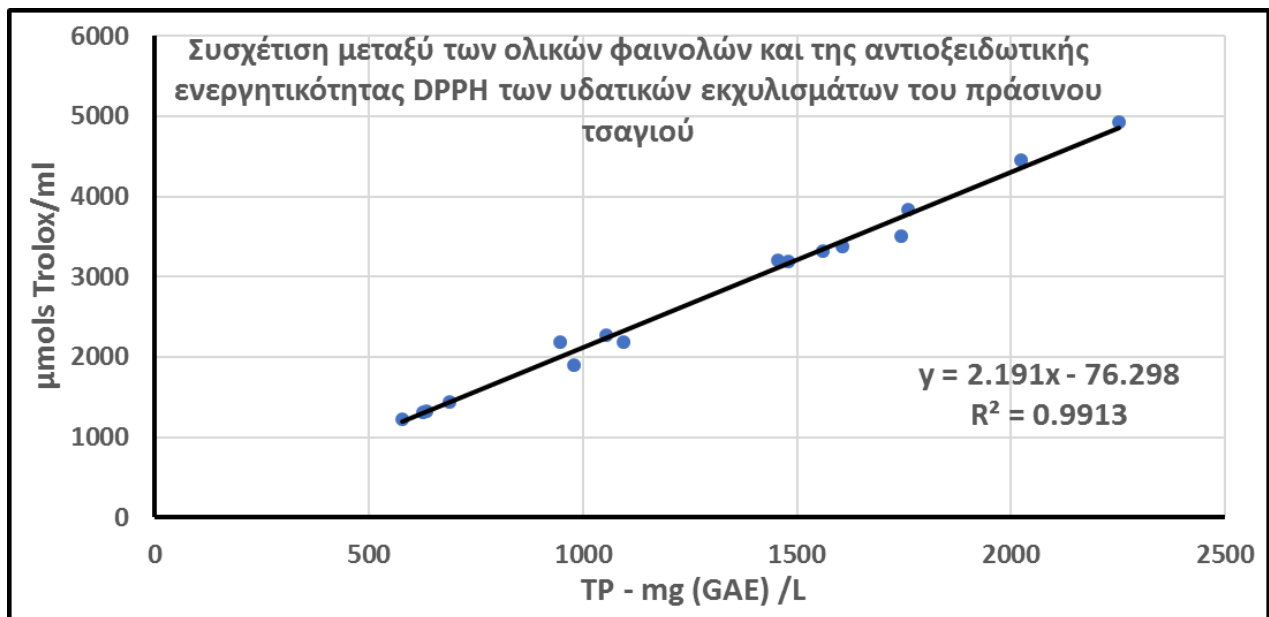


Σχήμα 9. Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ενεργητικότητας DPPH σε υδατικά εκχυλίσματα Πράσινου Τσαγιού σε σχέση με τον χρόνο θέρμανσης και την θερμοκρασία. Τιμές στο γράφημα με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's.

Ξεκινώντας την παρατήρηση του σχήματος 9, βλέπουμε ότι οι τιμές των χρόνων $t = 5$ min, $t = 10$ min και $t = 20$ min της θερμοκρασίας $T = 40^{\circ}\text{C}$ είναι ίδιες όπως επίσης και με τον χρόνο $t = 5$ min της θερμοκρασίας $T = 60^{\circ}\text{C}$. Κάτι που βρίσκουμε και στο σχήμα 4 που είναι το αντίστοιχο για το υδατικό εκχύλισμα του Σιδερίτη. Οι τιμές της θερμοκρασίας $T = 60^{\circ}\text{C}$ αυξάνονται σταθερά με αποκορύφωμα την τιμή του χρόνου $t = 40$ min όπως το ίδιο παρατηρείται και στο σχήμα 4 του Σιδερίτη για την αντίστοιχη θερμοκρασία.

Για τις τιμές της θερμοκρασίας $T = 80^{\circ}\text{C}$, παρατηρείται βαθμιδωτή αυξομείωση των τιμών ανάμεσα στους χρόνους θέρμανσης ενώ στη θερμοκρασία $T = 100^{\circ}\text{C}$ παρατηρούμε ότι οι χρόνοι $t = 10$ min και $t = 40$ min έχουν ίδιες τιμές. Για τις ίδιες θερμοκρασίες στο σχήμα 4 του Σιδερίτη έχουμε σταθερή αύξηση στις τιμές

Όπως διαπιστώθηκε και από το προηγούμενο διάγραμμα, δεν είναι ίδιος ο καλύτερος χρόνος για όλες τις θερμοκρασίες. Για τις $T = 40^{\circ}\text{C}$, $T = 60^{\circ}\text{C}$ και $T = 80^{\circ}\text{C}$ είναι ο ίδιος, δηλαδή ο $t = 40$ min, για τη θερμοκρασία όμως $T = 100^{\circ}\text{C}$ είναι ο $t = 20$ min. Στο σχήμα 4, το αντίστοιχο για τον Σιδερίτη, καλύτερος χρόνος για κάθε θερμοκρασία χωριστά αλλά και για όλες σαν τελικό συμπέρασμα είναι ο χρόνος $t = 40$ min.



Σχήμα 10. Συσχέτιση μεταξύ των ολικών φαινολών και της αντιοξειδωτικής ενεργητικότητας DPPH των Υδατικών εκχυλισμάτων του Πράσινου Τσαγιού σε διαφορετικές θερμοκρασίες και διαφορετικούς χρόνους θέρμανσης.

Στο σχήμα 10 , η Συσχέτιση μεταξύ των ολικών φαινολών και της αντιοξειδωτικής δύναμης DPPH που εκφράστηκε σε μmols Trolox/ml είναι πολύ υψηλή, με συντελεστή συσχέτισης $R^2 = 0.9913$. Σε σχέση με το σχήμα 5 που αφορούσε τη συσχέτιση μεταξύ των ολικών φαινολών και της αντιοξειδωτικής δύναμης των υδατικών εκχυλισμάτων του Σιδερίτη, έχουμε και εκεί υψηλή συσχέτιση με τον συντελεστή να είναι $R^2 = 0.9998$. Εντοπίζεται δηλαδή μία πάρα πολύ μικρή διαφορά, σχεδόν ανεπαίσθητη.

5.6 Συμπεράσματα

Στη συγκεκριμένη εργασία μελετήθηκαν τα υδατικά εκχυλίσματα πράσινου τσαγιού και σιδερίτη ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση και τη σύσταση των πολυφαινολών τους. Οι παράγοντες που θα έκριναν την υψηλότερη περιεκτικότητα των φαινολικών ενώσεων και την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων ήταν η επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου βρασμού.

Τα φυτικά υλικά θερμάνθηκαν στους 20°C, 40°C, 80°C και 100°C για 5min, 10min, 20min και 40min. Η περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH•.

Η περιεκτικότητα των ολικών φαινολών στα υδατικά εκχυλίσματα του πράσινου τσαγιού και του σιδερίτη διέφερε αρκετά. Συγκεκριμένα, αυτό του πράσινου τσαγιού παρουσίασε υψηλές τιμές περιεκτικότητας ήδη από την πιο χαμηλή θερμοκρασία. Το πράσινο τσάι σημείωσε τη μέγιστη περιεκτικότητα ολικών φαινολών στη θερμοκρασία $T = 80^{\circ}\text{C}$ στο χρόνο $t = 40 \text{ min}$, ενώ το υδατικό εκχύλισμα του σιδερίτη σημείωσε τη μέγιστη περιεκτικότητα σε δύο θερμοκρασίες ($T = 80^{\circ}\text{C}$ και $T = 100^{\circ}\text{C}$) στο χρόνο $t = 40 \text{ min}$.

Η αντιοξειδωτική ενεργητικότητα DPPH στα υδατικά εκχυλίσματα του πράσινου τσαγιού ήταν υψηλότερη στις θερμοκρασίες $T = 80^{\circ}\text{C}$ και $T = 100^{\circ}\text{C}$ στους χρόνους $t = 40 \text{ min}$ και $t = 20 \text{ min}$ αντίστοιχα. Μία θερμοκρασία παραπάνω όταν η μέγιστη περιεκτικότητα των ολικών φαινολών των υδατικών εκχυλισμάτων σημειώθηκε στη θερμοκρασία $T = 80^{\circ}\text{C}$. Όσον αφορά το σιδερίτη, η αντιοξειδωτική ενεργητικότητα DPPH ήταν η μέγιστη στις ίδιες θερμοκρασίες και στους ίδιους χρόνους που σημείωσε την μέγιστη περιεκτικότητα των ολικών φαινολών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahmed, S. & Stepp, J.R., 2013. Green Tea: The Plants, Processing, Manufacturing and Production. Στο *Tea in Health and Disease Prevention*, Preedy, V. (Ed.), σελ. 19-32, Elsevier, London.
- Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Chinou, I.B., Mitakou, S., Gikas, E., & Tzarbopoulos, A., 2001. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Five Taxa of *Sideritis* from Greece. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49, 811-815.
- Antoniadou, F., Papamitsou, T., Kavvadas, D., Kapoukranidou, D., Sioga, A., & Papaliagkas, V. (2021). Βιταμίνες και αντιοξειδωτικά στη μάχη κατά της άνοιας Μια βιβλιογραφική ανάλυση των νεότερων. *Archives of Hellenic Medicine/Arheia Ellenikes Iatrikes*, 38(1).
- Aslan, I., Kilic, T., Gören, A., Topcu, G., 2006. Toxicity of acetone extract of *Sideritis trojana* and 7-epicandiciol, 7-epicandiciol diacetate and 18-acetylsideroxol against stored pests *Acanthoscelides obtectus* (Say), *Sitophilus granarius* (L.) and *Ephestia kuehniella* (Zell). *Industrial Crops and Products* 23, 171–176.
- Baderschneider, B., Luthria, D., Waterhouse, A.L., & Winterhalter, P., 2015. Antioxidants in white wine (cv. Riesling): I. Comparison of different testing methods for antioxidant activity. *VITIS-Journal of Grapevine Research*, 38(3), 127-131.
- Banerjee, B., 1992. Botanical classification of tea. Στο *Tea: Cultivation to consumption*, Wilson, K.C., Clifford, M.N. (Eds.), σελ. 25-52, Chapman and Hall, London,
- Beltrán, B.J., Franklin, J., Syphard, A.D., Regan, H.M., Flint, L.E., & Flint, A.L., 2014. Effects of climate change and urban development on the distribution and conservation of vegetation in a Mediterranean type ecosystem. *International journal of geographical information systems*, 28, 1561-1589.
- Benzie, I. F., & Choi, S. W. (2014). Antioxidants in food: content, measurement, significance, action, cautions, caveats, and research needs. *Advances in food and nutrition research*, 71, 1-53.
- Boland, J. L. and ten-Have, P., 1947 Kinetics in the chemistry of rubber and related materials; the inhibitory effect of hydroquinone on the thermal oxidation of ethyl linoleate, *Trans. Faraday Soc.*, 43, 201, 1947
- Bondì, M. L., Bruno, M., Piozzi, F., Husnu Can Baser K, & Simmonds, M.S., 2000. Diversity and antifeedant activity of diterpenes from Turkish species of *Sideritis*. *Biochemical systematics and ecology*, 28 (4), 299–303

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C.L.W.T., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Brewer, M. S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 10(4), 221-247.
- Bruno, M., Rosselli, S., Pibiri, I., Kilgore, N., & Lee, K. H. (2002). Anti-HIV agents derived from the ent-kaurane diterpenoid linearol. *Journal of natural products*, 65(11), 1594–1597. <https://doi.org/10.1021/np020029b>
- Buckanan, B., Grisse, W. (Eds.), 2000. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists. Rockville, ISBN 0-943088- 39-9.
- Cabrera, C., Artacho, R., & Giménez, R., 2006. Beneficial effects of green tea--a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 25 (2), 79–99.
- Cabrera, C., Giménez, R., & López, M.C., 2003. Determination of tea components with antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(15), 4427–4435.
- Charami, M.T., Lazari, D., Karioti, A., Skaltsa, H., Hadjipavlou-Litina, D. & Souleles, C.. 2008. Antioxidant and Antiinflammatory Activities of *Sideritis perfoliata* subsp. *perfoliata* (Lamiaceae), *Phytotherapy Research*, 22, 450–454.
- Chen, Z.Y., Zhu, Q.Y., Tsang, D., & Huang, Y., 2001. Degradation of green tea catechins in tea drinks. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49 (1), 477-482.
- Choi, J.Y., Park, C.S., Kim, D.J., Cho, M.H., Jin, B.K., Pie, J.E., & Chung, W.G., 2002. Prevention of nitric oxide-mediated 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced Parkinson's disease in mice by tea phenolic epigallocatechin 3-gallate. *Neurotoxicology*, 23 (3), 367–374.
- Choi, Y.T., Jung, C.H., Lee, S.R., Bae, J.H., Baek, W.K., Suh, M.H., Park, J., Park, C. W., & Suh, S.I., 2001. The green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate attenuates beta-amyloid-induced neurotoxicity in cultured hippocampal neurons. *Life sciences*, 70 (5), 603–614.
- Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (Eds.). (2008). Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. *John Wiley & Sons*
- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 348.
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 174-181.

- Dalluge, J.J. & Nelson, B.C., 2000. Determination of tea catechins. *Journal of chromatography*; 881 (1-2), 411-424.
- Di Lorenzo, C., Colombo, F., Biella, S., Stockley, C., & Restani, P. (2021). Polyphenols and human health: The role of bioavailability. *Nutrients*, 13(1), 273.
- Dimitrios, B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in food science & technology*, 17(9), 505-512.
- Duffy, S.J., Keaney, J.F., Jr, Holbrook, M., Gokce, N., Swerdloff, P.L., Frei, B., & Vita, J.A., 2001. Short- and long-term black tea consumption reverses endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 104 (2), 151–156.
- Dulloo, A.G., Seydoux, J., Girardier, L., Chantre, P., & Vandermander, J., 2000. Green tea and thermogenesis: interactions between catechin-polyphenols, caffeine and sympathetic activity. *International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity*, 24 (2), 252–258. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801101>
- Fokialakis, N., Kalpoutzakis, E., Tekwani, B.L., Khan, S.I., Kobaisy, M., Skaltsounis, A.L., & Duke, O., 2007. Evaluation of the antimalarial and antileishmanial activity of plants from the Greek island of Crete. *Journal of Natural Medicine*, 61, 38–45.
- Frankel, E. N., & Meyer, A. S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13), 1925-1941.
- Friedman, M., Levin, C.E., Choi, et al., 2006. HPLC analysis of catechins, theaflavins, and alkaloids in commercial teas and green tea dietary supplements: Comparison of water and 80% ethanol/water extracts. *Journal of Food Science*, 71, C328-C337.
- Fubini, B., & Hubbard, A. (2003). Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) generation by silica in inflammation and fibrosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 34(12), 1507-1516.
- Gadow, A., Joubert, E., Hansmann, G. F., 1997. Comparison of antioxidant Activity of Aspalathin with that of other Plant Phenols of Rooibos Tea *J. Agric. Food Chem.*, 45, 632-635.
- Gonzalez-Burgos, E., Carretero, M.E., & Gomez-Serranillos, M.P., 2011. *Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities -A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 135, 209-225.

- Hallmans, G., Zhang, J. X., Lundin, E., Stattin, P., Johansson, A., Johansson, I., ... & Adlercreutz, H. (2003). Rye, lignans and human health. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(1), 193-199.
- Harborne, J. B. (1989). *Methods in plant biochemistry*. Volume 1. Plant phenolics.
- Harman, D., 1994. Free-radical theory of aging. Increasing the functional life span. *Annals of the New York Academy of Science*, 717, 1-15.
- Heiner, F., Feistel, B. & Wink, M., 2018. *Sideritis scardica* extracts inhibit aggregation and toxicity of amyloid- β in *Caenorhabditis elegans* used as a model for Alzheimer's disease. *Peer Journal*, 4683.
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.
- Ito, Y., Ichikawa, T., Morohoshi, Y., Nakamura, T., Saegusa, Y., & Ishihara, K., 2008. Effect of tea catechins on body fat accumulation in rats fed a normal diet. *Biomedical research (Tokyo, Japan)*, 29 (1), 27–32.
- Junqueira, V.B., Barros, S.B., Chan, S.S., Rodrigues, L., Giavarotti, L, Abud, R.L, & Deucher, G.P., 2004. Aging and oxidative stress. *Molecular Aspects of Medicine*, 25(1-2): 5-16.
- Kamata, T. (2009). Roles of Nox1 and other Nox isoforms in cancer development. *Cancer science*, 100(8), 1382-1388.
- Karak, P. (2019). Biological activities of flavonoids: an overview. *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 10(4), 1567-1574.
- Katiyar, S.K. & Elmets, C.A., 2001. Green tea polyphenolic antioxidants and skin photoprotection (Review). *International journal of oncology*, 18 (6), 1307–1313.
- Kato, Y., Kato, M., Takeda, Y., & Omori, M., 2003. Genetic diversity within cultivated teas based on nucleotide sequence comparison of ribosomal RNA maturase in chloroplast DNA, *Euphytica*, 134, 287-295.
- Khan, M. K., & Dangles, O. (2014). A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(1), 85-104.
- Kitani, K., Yokozawa, T., & Osawa, T., 2004. Interventions in aging and age-associated pathologies by means of nutritional approaches. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1019, 424–426.
- Knörle, R., 2012. Extracts of *Sideritis scardica* as triple monoamine reuptake inhibitors. *Journal of neural transmission*, 119,1477-1482.

- Kostadinova, E., Alipieva, K., Stefova, M., Antonova, D., Evstatieva, L., Stefkov, G., Tsvetkova, I., Naydesnki, H., Bankona, V., 2008. Influence of cultivation on the chemical composition and antimicrobial activity of *Sideritis* spp. *Pharmacognosy Magazine* 4, 102–106.
- Koutsos, T.V. & Chatzopoulou, P.S. 2004. *Sideritis* species in Greece: the current situation. Στο *Report of a working group on medicinal and aromatic plants. European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources*, Lipman, E. (Ed.), σελ. 112-114.
- Lazari, D.M., Sylignaki, G.I., Matta, M.K., Panagiotidis, C.A., 2006. Evaluation of the antiherpetical activities of *Sideritis perfoliata* L. subsp *perfoliata* (Lamiaceae). *Planta Medica*, 72, 1010–11010.
- Levites, Y., Amit, T., Mandel, S., & Youdim, M.B., 2003. Neuroprotection and neurorescue against A-beta toxicity and PKC-dependent release of non-amyloidogenic soluble precursor protein by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 17 (8), 952–954.
- Levites, Y., Weinreb, O., Maor, G., Youdim, M. B., & Mandel, S., 2001. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate prevents N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced dopaminergic neurodegeneration. *Journal of neurochemistry*, 78 (5), 1073–1082.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Meyer, A.S., Yi, O.S., Pearson, D.A., Waterhouse, A.L., & Frankel, E.N., 1997. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(5), 1638-1643
- Ming, T., 1992. A revision of *Camellia* sect. *Thea*. *Acta Botanica Yunnanica*, 14 (2), 115-132.
- Miura, Y., Chiba, T., Miura, S., Tomita, I., Umegaki, K., Ikeda, M., & Tomita, T., 2000. Green tea polyphenols (flavan 3-ols) prevent oxidative modification of low density lipoproteins: an ex vivo study in humans. *The Journal of nutritional biochemistry*, 11 (4), 216–222.
- Namita, P., Mukesh, R., & Vijay, K.J. 2012. *Camellia Sinensis* (Green Tea): A Review. *Global Journal of Pharmacology*, 6 (2), 52-59. ISSN 1992-0075.
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC advances*, 5(35), 27986-28006.

- Negishi, H., Xu, J.W., Ikeda, K., Njelekela, M., Nara, Y., & Yamori, Y., 2004. Black and green tea polyphenols attenuate blood pressure increases in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *The Journal of nutrition*, 134 (1), 38–42.
- Oroian, M., & Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 74, 10-36.
- Pan, J. Y., Chen, S. L., Yang, M. H., Wu, J., Sinkkonen, J., & Zou, K. (2009). An update on lignans: natural products and synthesis. *Natural product reports*, 26(10), 1251-1292.
- Pan, T., Jankovic, J., & Le, W., 2003. Potential therapeutic properties of green tea polyphenols in Parkinson's disease. *Drugs & aging*, 20 (10), 711–721.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5.
- Papanikolaou, K. & Kokkini, S., 1982. A taxonomic revision of *Sideritis* L. section *Empedoclia* (Rafin.) Bentham (Labiatae) in Greece. Στο Margaris, N., Koedam, A., Vokou, D. (Eds.), *Aromatic plants: basic and applied aspects. Proceedings of an International Symposium on aromatic plants*, 14-19 September 1981, Kallithea (Chalkidiki), Greece. Martinus Nijhoff Publishers, The Hague, The Netherlands. σελ. 101-128.
- Perez-Vizcaino, F., & Duarte, J. (2010). Flavonols and cardiovascular disease. *Molecular aspects of medicine*, 31(6), 478-494.
- Polidori, M.C., 2003. Antioxidant micronutrients in the prevention of aged-related diseases. *Journal of Postgraduate Medicine*, 49 (3): 229-35.
- Rates, S.M. 2001. Plants as source of drugs. *Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology*, 39(5), 603–613.
- Rehm, 1989. *Spezieller Pflanzenbau in den Tropen und Subtropen*, Band 4, 2. Auflage, Ulmer Verlag, Stuttgart, BRD.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.
- Romanucci, V., Di Fabio, G., D'Alonzo, D., Guaragna, A., Scapagnini, G. & Zarrelli, A., 2017. Traditional uses, chemical composition and biological activities of *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97, 373-383.
- Ryan, B. F., Joiner, B. L., Cryer, J. D. "MINITAB Handbook: Updated for release 14", Pacific Grove, Duxbury, CA, USA, 2005.

- Saarinen, N. M., Wärrä, A., Airio, M., Smeds, A., & Mäkelä, S. (2007). Role of dietary lignans in the reduction of breast cancer risk. *Molecular nutrition & food research*, 51(7), 857-866.
- Sakanaka, S., Shimura, N., Aizawa, M., Kim, M., & Yamamoto, T., 1992. Preventive Effect of Green Tea Polyphenols against Dental Caries in Conventional Rats. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 56(4), 592–594.
- Schippmann, U., Cunningham, A.B., & Leaman, D.J., 2002. Impact of Cultivation and Gathering of Medicinal Plants on Biodiversity: Global Trends and Issues (Case Study No. 7). In *Biodiversity and the Ecosystem Approach in Agriculture, Forestry and Fisheries*, Satellite Event Session on the Occasion of the 9th Regular Session of the Commission on “Genetic Resources for Food and Agriculture”, Rome, 12-13 October 2002. FAO Document Repository of United Nations.
- Schuler, P. (1990). Natural antioxidants exploited commercially. In *Food antioxidants* (pp. 99-170). Springer, Dordrecht.
- Selvaraj, T., & Sarathchandra, G. (2018). Antioxidants-A Pharmacological Overview. *Adv Anal Pharm Chem: AAPC-102. DOI, 10*, 1-8.
- Setiawan, V.W., Zhang, Z.F., Yu, G.P., Lu, Q.Y., Li, Y. L., Lu, M. L., Wang, M.R., Guo, C.H., Yu, S.Z., Kurtz, R.C., & Hsieh, C.C., 2001. Protective effect of green tea on the risks of chronic gastritis and stomach cancer. *International journal of cancer*, 92 (4), 600–604.
- Singleton, V.L., & Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Shah, M. A., Bosco, S. J. D., & Mir, S. A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat science*, 98(1), 21-33.
- Shahidi, F., Janitha, P. K., & Wanasundara, P. D. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical reviews in food science & nutrition*, 32(1), 67-103.
- Shahidi, F. (2015). Antioxidants: Principles and applications. In *Handbook of antioxidants for food preservation* (pp. 1-14). Woodhead Publishing.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, 18, 820-897
- Smith, D.M. & Dou, Q.P., 2001. Green tea polyphenol epigallocatechin inhibits DNA replication and consequently induces leukemia cell apoptosis. *International journal of molecular medicine*, 7(6), 645–652.

- Solomou, A., Skoufogianni, E., Mylonas, C., Germani, R. & Danalatos, N.G., 2019. Cultivation and utilization of "Greek mountain tea" (*Sideritis* spp.): current knowledge and future challenges. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 7(2):289-299.
- Solomou, A.D., Martinos, K., Skoufogianni, E., & Danalatos, N.G., 2016. Medicinal and aromatic plants diversity in Greece and their future prospects: A review. *Agricultural Science*, 4(1), 9-21.
- Stoeckle, M., Gamble, C., Kirpekar, R., et al., 2011. Commercial Teas Highlight Plant DNA Barcode Identification Successes and Obstacles, *Scientific Reports*, 1 (42).
- Sumpio, B.E., Cordova, A.C., Berke-Schlessel, D.W., Qin, F., & Chen, Q.H., 2006. Green tea, the "Asian Paradox", and cardiovascular disease. *Journal of the American College of Surgeons*, 202 (5), 813–825.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology* 3rd ed (Sunderland: Sinauer Associates). Inc., Publishers, 690.
- Tariq, M., Naveed, A., & Barkat Ali, K., 2010. The morphology, characteristics and medicinal properties of 'Camellia sinensis' tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(19): 2028-33.
- Todorova, M. & Trendafilova, A., 2014. *Sideritis scardica* Griseb., an endemic species of Balkan peninsula: Traditional uses, cultivation, chemical composition, biological activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 152, 256-265.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.
- Tsuneki, H., Ishizuka, M., Terasawa, M., Wu, J.B., Sasaoka, T., & Kimura, I., 2004. Effect of green tea on blood glucose levels and serum proteomic patterns in diabetic (db/db) mice and on glucose metabolism in healthy humans. *BMC pharmacology*, 4, 18.
- USDA – United States Department of Agriculture (2022). *Sideritis* L.
- Wang, H., Provan, G.J., & Helliwell, K. 2000. Tea Flavonoids: Their Functions, Utilisation and Analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 152-160.
- Williges, U., 2004. Status of organic agriculture in Sri Lanka with special emphasis on tea production systems (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). Department of crop production of the Justus, Liebig University of Gießen.
- Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., and Terao, J., 1998. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 62(6), 1201-1204.

- Yilmaz, Y., 2006. Novel uses of catechins in food. *Trends in Food Science and Technology*, 17 (20), 64-71.
- Zaveri, N.T., 2006. Green tea and its polyphenolic catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life sciences*, 78 (18), 2073–2080.
- Zheng, H., Weiner, L.M., Bar-Am, O., Epsztejn, S., Cabantchik, Z.I., Warshawsky, A., Youdim, M.B., & Fridkin, M., 2005. Design, synthesis, and evaluation of novel bifunctional iron-chelators as potential agents for neuroprotection in Alzheimer's, Parkinson's, and other neurodegenerative diseases. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 13 (3), 773–783.

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Αναστασίου, Γ. (2015). Πολυφαινόλες και ο ρόλος τους ως αντιοξειδωτικά στο ελαιόλαδο.
- Αντωνιάδου, Κ. Φ. (2014). *Αρωματικά φυτά και Αιθέρια έλαια: χημική σύσταση-δράσεις- παραγωγή-αξιοποίηση-εμπόριο-ερευνα αγοράς* (Bachelor's thesis).
- Αριστομενοπούλου, Κ. (2018). *Τα αντιοξειδωτικά στη διατροφή και τη θεραπεία. Φίλοι ή εχθροί* (Doctoral dissertation).
- Βογιατζή-Καμβούκου, Ε. (2004). Επιλογή αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. *Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία Θεσσαλονίκη*.
- Γαλάτης, Β., Γανωτάκης, Δ., Γκανή-Σπυροπούλου, Κ., Καραμπουρνιώτης, Γ., Κοτζαμπάσης, Κ., Κωνσταντινίδου, Ε. Ι. & Ρουμπελάκη-Αγγελάκη, Κ. Α. (2003). *Φυσιολογία Φυτών από το μόριο στο περιβάλλον*. Ηράκλειο: Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης.
- Γκολιάρης, Α. 1995. *Γενετική μελέτη στο Ελληνικό τσάι του βουνού (Sideritis L.)*. Διδακτορική διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. DOI: 10.12681/eadd/8991
- Δόρδας, Χ. 2009. *Συμπληρωματικές σημειώσεις για το μάθημα των Αρωματικών και Φαρμακευτικών φυτών*. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. Θεσσαλονίκη. Σελ. 27.
- Δόρδας, Χ., 2012. *Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά*, Εκδόσεις Σύγχρονη παιδεία. Θεσσαλονίκη. Σελ. 358.
- Κάλφας, Η. 2018. *Αρωματικά φυτά*. Αμερικάνικη Γεωργική Σχολή. Θεσσαλονίκη. Σελ. 95.
- Κατσιώνης, Σ. & Χατζοπούλου, Π., 2015. *Αρωματικά, φαρμακευτικά και αιθέρια έλαια*. Εκδόσεις Αδελφών Κυριακίδη. Θεσσαλονίκη. Σελ. 1008
- Κατωπόδης, Ι., & Καλαντζή, Ε. (2010). Αντιοξειδωτικά: κίνδυνοι και οφέλη.

- Κοκκίνου, Ε., Παπαπορφυρίου, Π., Αβραάμ, Ε.Μ., Φωτιάδης, Γ., Παρίση, Ζ.Μ., & Κυριαζόπουλος, Α.Π., 2014. Αυτοφυή φαρμακευτικά φυτά των λιβαδικών οικοσυστημάτων της Ελλάδας. Στα *Πρακτικά του 8^{ου} Πανελληνίου Λιβαδοπονικού Συνεδρίου «Λιβάδια – Κτηνοτροφία: Έρευνα και ανάπτυξη. Προοπτικές εργασίας για νέους»*, 1-3- Οκτωβρίου, Θεσσαλονίκη. Σελ. 105-110.
- Κουτσός, Θ., 2006 Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη. σελ.349
- Λιναρδάκη, Ζ., 2007. Μελέτη βιοχημικών παραμέτρων σε εγκεφαλικές περιοχές μυών μετά από την πόση υδατικού αφεψήματος του *Sideritis clandestina* subsp. *cyllenea*. Μεταπτυχιακή Διατριβή. Πανεπιστήμιο Πάτρας. Σελ. 142.
- Μαλούπα, Ε., Γρηγοριάδου, Κ., Λάζαρη, Δ., Κρίγκας, Ν., 2013. Καλλιέργεια, μεταποίηση και διασφάλιση ποιότητας των ελληνικών αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. Βασικές αρχές καθετοποιημένης παραγωγής. Γεωτεχνικό Επιμελητήριο Ελλάδας. Παράρτημα Ανατολικής Μακεδονίας, Καβάλα. Σελ. 90.
- Μπαρμπέρη, Ε. (2015). Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά στην Ελλάδα.
ΟΠΕΚΕΠΕ, 2015. www.opekepe.gr
- Παληγογιάννη, Α., 2007. Μελέτη Πτητικών Συστατικών Ελληνικών Οίνων & Αποσταγμάτων – Παραγωγή Βιολειτουργικών Οίνων με Βάση Φυτά του Γένους *Sideritis*. Διδακτορική διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σελ. 440.
- Ρέρη, Ε. (2010). *Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης εκχυλισμάτων από μέντα, φασκόμηλο και τσάι με συνδυασμό in vitro μεθόδων* (Master's thesis).
- Σκρουμπής, Β. 1998. *Αρωματικά, Φαρμακευτικά και Μελισσοτροφικά φυτά της Ελλάδος*. Αθήνα. Σελ. 256.
- Σπηλιώτη Ελιάνα 2003. Μελέτη του μηχανισμού δράσης των φυτικών λιγνανίων δασικής προέλευσης σε κύτταρα καρκίνου του μαστού και σε ενδοθηλιακά κύτταρα. Διδακτορική διατριβή. Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Σελ. 18-19
- Στεφάνου, Π., Μπαλούτας, Δ., Κατσινίκας, Δ., Αβραάμ, Ε.Μ., Κυριαζόπουλος, Α.Π., Παρίση, Ζ.Μ., Αραμπατζής, Γ., 2014. Η καλλιέργεια των αρωματικών φυτών στην Ελλάδα: παρούσα κατάσταση, δυνατότητες και προοπτικές. Στα *Πρακτικά του 8^{ου} Πανελληνίου Λιβαδοπονικού Συνεδρίου «Λιβάδια – Κτηνοτροφία: Έρευνα και ανάπτυξη. Προοπτικές εργασίας για νέους»*, 1-3- Οκτωβρίου, Θεσσαλονίκη. Σελ. 65-70.
- Σωτηρούδης, Θ. Γ. (2004). Ελεύθερες ρίζες, αντιοξειδωτικά και υγεία
- Τσακίρης, Α. (2020). Τα αντιοξειδωτικά του κρασιού. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας Κρητικών κρασιών

Χαριδήμου, Μ., & Κοντολαίμη, Α. (2022). Αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα και τρόπος επίδρασης τους στον ανθρώπινο οργανισμό.

ΥΠΑΑΤ, 2017. Στρατηγικό Σχέδιο ανάπτυξης για την καλλιέργεια, επεξεργασία και εμπορία των Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών στην Ελλάδα. *Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων*. Σελ. 114.