

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΊΔΡΥΜΑ  
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ:**

**«ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ»**



**ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ**

**«ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ»**

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΚΑΙ  
ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΣΙΔΕΡΙΤΗ**

**Ευθαλία Γκαϊδατζή**

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ  
ΙΔΡΥΜΑ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ,  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ»**



**ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ  
«ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ»**

**Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης και φαινολικών ενώσεων  
σε δείγματα σιδερίτη**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

Ευθαλία Γκαϊδατζή, Μεταπτυχιακή φοιτήτρια

Επιβλέπων καθηγητής: Αθανάσιος Παπαδόπουλος

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2018

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ  
ΙΔΡΥΜΑ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ,  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ»**

**ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ  
«ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ»**

**Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης και φαινολικών ενώσεων σε  
δείγματα σιδερίτη**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Ευθαλία Γκαΐδατζή, Μεταπτυχική φοιτήτρια**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ  
ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Παπαδόπουλος Αθανάσιος**

**ΜΕΛΟΣ:**

**ΜΕΛΟΣ:**

**ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2018**

**ΣΕΛΙΔΑ ΠΝΕΥΜΑΤΙΚΩΝ ΔΙΚΑΙΩΜΑΤΩΝ**

copyright ©2018, Ευθαλία Γκαϊδατζή

**ALL RIGHTS RESERVED**



**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**«ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ»**

Εγκρίθηκε την .....

**ΒΑΘΜΟΣ: ΑΡΙΣΤΗ:.....**

**ΠΟΛΥ ΚΑΛΗ:.....**

**ΚΑΛΗ: .....**

**ΑΠΟΔΕΚΤΗ:.....**

**ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ**

**ΥΠΟΓΡΑΦΗ**

.....

.....

.....

.....

.....

.....

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρακάτω μελέτη πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Ιδρύματος Θεσσαλονίκης και πιο συγκεκριμένα του Τμήματος Διατροφής – Διαιτολογίας, με κατεύθυνση «Διατροφή και Λειτουργικά Τρόφιμα».

Στην παρούσα μελέτη είχαμε στόχο τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών συστατικών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας αφεψήματος διαφόρων ειδών σιδερίτη (*S. syriaca*, *S. raeseri*, *S. euboica*, *S. scardica*) καθώς και τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών συστατικών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας του εμπορικού «αναψυκτικού» τυνυυ που παρασκευάζεται από εταιρεία της περιοχής και η σύγκριση μεταξύ τους. Για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών συστατικών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Folin-Ciocalteu, ενώ για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας οι μέθοδοι DPPH και ABTS.

Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν 5 είδη Σιδερίτη μαζί με το αναψυκτικό τυνυυ τα οποία αφού ακολουθήσανε διαδικασία βρασμού και μετά μετρήθηκαν φασματοφωτομετρικά.

Η στατιστική ανάλυση έγινε με το πρόγραμμα Excell.



Λέξεις-κλειδιά: σιδερίτης, αρωματικά φυτά, αντιοξειδωτικά, φαινόλες

## ABSTRACT

The following study was conducted within the postgraduate program of the Alexandrian Technological Institute of Thessaloniki and more specifically the Department of Nutrition – Dietetics , in the direction of "Nutrition and Functional Foods".

The aim of this study was to determine the total phenolic components and the antioxidant capacity of the variety of sideric species (*S. syriaca*, *S. raeseri*, *S. euboea*, *S. scardica*) as well as the determination of the total phenolic components and its antioxidant capacity in a commercial beverage called “tuvunu” produced by a local company and comparison with each other.

The Folin-Ciocalteu method was used to determine the total phenolic components, while the DPPH and ABTS methods were used to determine the antioxidant capacity. Specifically, 5 species of Siderite were measured together with the Tuvunu beverage which after boiling they measured spectrophotometrically.

The statistical analysis was done with the Excell program.

Keywords: Sideritis, aromatic plants, antioxidants, phenols



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>6</b>
<b>2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ.....</b>	<b>9</b>
2.1 Ονομασία.....	9
2.2 Ταξινόμηση.....	9
2.2.1 Βοτανική περιγραφή.....	10
2.3 Γεωγραφική εξάπλωση, καλλιέργεια, συγκομιδή και ξήρανση.....	11
2.3.1 Γεωγραφική εξάπλωση.....	11
2.3.2 Καλλιέργεια.....	15
2.3.3 Συγκομιδή και ξήρανση.....	16
2.4 Θεραπευτική χρήση, εθνοφαρμακολογία.....	16
2.5 Χημική σύσταση.....	17
2.5.1 Πρωτογενείς μεταβολίτες.....	17
2.5.2 Δευτερογενείς μεταβολίτες.....	18
2.6 Αντιμικροβιακή, αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδης και λοιπές δράσεις.....	22
2.6.1 Αντιμικροβιακή δράση.....	22
2.6.2 Αντιοξειδωτική δράση.....	23
2.6.3 Αντιφλεγμονώδης δράση.....	23
2.6.4 Λοιπές δράσεις.....	24
2.7 Αντιοξειδωτικά.....	25
2.7.1 Οξείδωση - Οξειδωτικές αντιδράσεις.....	25
2.7.2 Αντιοξειδωτικές ουσίες - Αντιοξειδωτική δράση.....	26
2.8 Μέθοδοι προσδιορισμού φαινολικών συστατικών και αντιοξειδωτικής ικανότητας.....	29
2.8.1 Μέθοδος ABTS.....	29
2.8.2 Μέθοδος DPPH.....	29
2.8.3 Δοκιμή FRAP.....	30
2.8.4 Μέθοδος HPLC και μέθοδος TLC.....	30
2.8.5 Μέθοδος του δείκτη Folin-Ciocalteu.....	30
2.8.6 Μέθοδος του δείκτη υπερμαγγανικού καλίου (KMnO <sub>4</sub> ).....	31
2.8.7 Μέθοδος ORAC.....	31
2.8.8 Μέθοδος EPR.....	31
2.8.9 Μέθοδος TRAP.....	31

2.9	Φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού.....	32
2.9.1	Νόμος των Lambert-Beer.....	32
2.9.2	Φάσματα απορρόφησης υπεριώδους-ορατού.....	34
2.9.3	Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός.....	34
2.9.4	Εφαρμογές της φασματοφωτομετρίας UV-Vis.....	36
<b>3.</b>	<b>ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....</b>	<b>38</b>
<b>4.</b>	<b>ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>39</b>
4.1	Δείγμα Σιδερίτη.....	39
4.2	Δείγμα «αναψυκτικού».....	39
4.3	Αντιδραστήρια.....	39
4.4	Όργανα.....	39
4.5	Σκεύη.....	39
4.6	Πειραματική Διαδικασία.....	40
4.6.1	Μέθοδος ποσοτικού προσδιορισμού φαινολικών ουσιών (Folin-Ciocalteu).....	40
4.6.2	Μέθοδος προσδιορισμού αντιοξειδωτικής ικανότητας (ABTS).....	43
4.6.3	Μέθοδος προσδιορισμού αντιοξειδωτικής ικανότητας (DPPH).....	45
<b>5.</b>	<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>48</b>
5.1	Αποτελέσματα.....	48
5.1.1	Πρότυπη καμπύλη Folin-Ciocalteu.....	48
5.1.2	Πρότυπη καμπύλη ABTS.....	49
5.1.3	Πρότυπη καμπύλη DPPH.....	50
5.2	Αποτελέσματα ανάλυσης δειγμάτων.....	51
5.2.1	Μέθοδος Folin-Ciocalteu.....	51
5.2.2	Μέθοδος ABTS.....	51
5.2.3	Μέθοδος DPPH.....	52
5.3	Στατιστικός έλεγχος.....	53
5.3.1	Έλεγχος των Mann-Whitney.....	53
5.4	Γραμμική συσχέτιση.....	55
5.4.1	Γραμμική συσχέτιση μεταξύ των μεθόδων ABTS - Folin-Ciocalteu και DPPH - Folin-Ciocalteu	56
<b>6.</b>	<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>58</b>
<b>7.</b>	<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>60</b>

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Από την αρχαιότητα τα αρωματικά φυτά και τα βότανα είχαν μια ιδιαίτερη θέση σε όλους τους λαούς. Χρησιμοποιήθηκαν για την έκφραση της γενναιοδωρίας της μητέρας Φύσης καθώς και για την έκφραση της ομορφιάς. Η χρήση τους αναπτύχθηκε μέσω της «δοκιμής και λάθους» (“trial and error”) και βασίζεται σε εμπειρία χιλιάδων χρόνων (Camejo-Rodrigues, et al., 2003). Μέχρι τα μέσα του 19<sup>ου</sup> αιώνα τα βότανα ήταν η κύρια θεραπευτική ενώ ακόμη και σήμερα, σε πολλές χώρες της Ευρώπης η χρήση τους ως αφεψήματα είναι πολύ δημοφιλής, αποτελώντας εναλλακτική λύση σε φάρμακα που προέρχονται από συνθετικές – χημικές ουσίες (Camejo-Rodrigues, et al., 2003).

Γνωστό σαν τσάι του βουνού ή τσάι ελληνικό, η Σιδηρίτιδα ή Σιδερίτης, κοινώς με το λατινικό όνομα *Sideritis*. Τα είδη του γένους *Sideritis* «τσάι του βουνού» της οικογένειας Lamiaceae (Labiatae) χρησιμοποιούνται ιδιαίτερα από την ελληνική παραδοσιακή ιατρική ως αφεψήματα για αρκετές ασθένειες. Λέγεται ότι πήρε το όνομά του από την ικανότητά του να θεραπεύει πληγές από σιδερένια αντικείμενα ή κατά άλλους από τα δόντια του κάλυκα του άνθους του που μοιάζουν με αιχμή λόγχης (Παληγιάννη, 2007). Σύμφωνα με μια άλλη εκδοχή, οφείλει το όνομά του στο γεγονός ότι αποτελεί φυσική πηγή σιδήρου (Τσιάπος, 2018). Στην Ελλάδα είναι γνωστό από την αρχαιότητα και αναφέρεται από το Θεόφραστο (372-287 π.Χ.), τον Διοσκουρίδη (10 μ.Χ. αιώνα) τον Ιπποκράτη (460 – 377 π. Χ.) και τον Αριστοτέλη (384-322 π. Χ.) (Γκόλιαρης, 1999). Ο Πεδάνιος Διοσκουρίδης υπήρξε σημαντικός για την περιγραφή τόσο των βοτανικών χαρακτηριστικών, όσο και των φαρμακευτικών χρήσεων της Σιδηρίτιδας στην αρχαιότητα. Ο Διοσκουρίδης συγκεκριμένα, αναφέρει 3 Σιδηρίτιδες με φαρμακευτικές ιδιότητες (θεραπεία πληγών από σιδερένια αντικείμενα). Σύμφωνα με τις περιγραφές του η Σιδηρίτιδα είναι πτόα με φύλλα πιο επιμήκη από τον ελελίσφακον και μικρότερα από της μέντας. Οι βλαστοί είναι ανιόντες, τετράγωνοι, σπιθαμιαίοι (με μήκος μιας παλάμης ή και μεγαλύτεροι) με γεύση ευχάριστη και καθόλου στυφή. Υπάρχουν σπόνδυλοι περιφερειακά στους βλαστούς και μέσα σ’ αυτούς μαύρα σπέρματα (**Εικόνα 1**). Τέλος, φύεται σε πετρώδη εδάφη.



**Εικόνα 1.** *Sideritis* spp. (Τσαι του βουνού) (Γαρδέλη, 2009).

Πιστεύεται ότι ο Διοσκουρίδης το χρησιμοποιούσε εκτός από θεραπευτικό των πληγών και ως ευεργετικό για τα αιμοφόρα αγγεία της καρδιάς. Εξαιτίας των φλαβονοειδών ουσιών που περιέχουν ορισμένα είδη της Σιδηρήτιδας έχουν πολύτιμες φαρμακευτικές και κατά συνέπεια θεραπευτικές ιδιότητες κατά των παθήσεων των τριχοειδών αγγείων και της καρδιάς.

Το γένος *Sideritis* περιλαμβάνει περισσότερα από 150 πολυετή και ετήσια φυτικά είδη τα οποία απαντώνται σε εύκρατα και τροπικά κλίματα του Βορείου Ημισφαιρίου από τις Μπαχάμες προς τη Δυτική Κίνα και από τη Γερμανία στο Μαρόκο. Τα περισσότερα είδη απαντώνται στη Μεσόγειο, από τα Κανάρια νησιά έως τη Μαδέρα και τον Καύκασο, την Ισπανία και την Τουρκία (González-Burgos, et al., 2011). Πρόκειται για ένα αμφιλεγόμενο βοτανικό γένος, με περίπλοκη ταξινόμηση λόγω του υψηλού αριθμού των υβριδισμών που συμβαίνουν μεταξύ των ειδών.

Είναι πολύ διαδεδομένο και δημοφιλές ρόφημα στην Ελλάδα και απαντά σε 14 τοπικά είδη και υποείδη. Σύμφωνα με Dimopoulos et al. (2013) στην Ελλάδα απαντώνται 16 taxa που ανήκουν σε 12 είδη του γένους:

- *Sideritis albiflora* Hub.- Mor. (Ανατολική Μεσόγειο)
- *Sideritis clandestina* (Bory & Chaub.) Hayek subsp. *clandestina* (Ενδημικό της Ελλάδας)
- *Sideritis clandestina* (Bory & Chaub.) Hayek subsp. *peloponnesiaca* (Boiss & Heldr.) Baden in Strid & Tan (Ενδημικό της Ελλάδας)
- *Sideritis curvidens* Stapf (Ανατολική Μεσόγειο)
- *Sideritis euboica* Heldr. (Ενδημικό της Ελλάδας)

- *Sideritis lanata* L. (Βαλκάνια – Ανατολία)
- *Sideritis montana* L. subsp. *montana* (Μεσόγειο - Νοτιοδυτική Ασία)
- *Sideritis montana* subsp. *remota* (d'Urv) P. W. Ball (Μεσόγειο - Νοτιοδυτική Ασία)
- *Sideritis perfoliata* L. subsp. *athoa* (Papan. & Kokkini) Baden in Strid & Tan (Βαλκάνια - Ανατολία)
- *Sideritis perfoliata* L. subsp. *perfoliata* (Ανατολική Μεσόγειο)
- *Sideritis purpurea* Talbot ex Benth (Βαλκάνια)
- *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. in Boiss. subsp. *attica* (Heldr.) Papan. & Kokkini (Ενδημικό της Ελλάδας)
- *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. in Boiss subsp. *raeseri* (Βαλκάνια)
- *Sideritis scardica* Griseb. (Βαλκάνια)
- *Sideritis sipylea* Boiss. (Ανατολική Μεσόγειο)
- *Sideritis syriaca* L. subsp. *syriaca* (Ενδημικό της Ελλάδας)

Σύμφωνα με τον Baden (1991) τα είδη που απαντώνται στην περιοχή της Ελλάδας ανήκουν σε δύσκολη ταξινομική ομάδα (Baden, 1991). Τα φυτά του γένους *Sideritis* είναι μονοετείς ή πολυετείς πόες με άνθη έντονα κίτρινα, έχουν ελαφρώς ξυλώδη βλαστό και συχνά έχουν πυκνό τρίχωμα. Ανήκουν στην οικογένεια των Χειλανθών (*Lamiaceae*) (Τσιάπος, 2018). Τα φύλλα τους είναι ακέραια ή οδοντωτά και οι σπόνδυλοι είναι απομακρυσμένοι ή συναθροίζονται σε σταχυόμορφη ταξιανθία. Ο κάλυκας είναι αρχικά σωληνοειδής που καταλήγει οδοντωτός. Η στεφάνη έχει κίτρινο χρώμα (Baden, 1991). Αυτοφύονται σε βραχώδη μέρη και σε υψόμετρο πάνω από 1000 μέτρα. Ευδοκούν σε ορεινές περιοχές και σε χωράφια ασβεστούχα, πετρώδη, μέτριας γονιμότητας. Πολλαπλασιάζονται με σπόρο που σπέρνεται σε σπορείο και με παραφυάδες. Η μεταφύτευση γίνεται το φθινόπωρο ή την άνοιξη σε αποστάσεις 40-50 επί 50-60 εκατοστά. Ανθίζει τους μήνες Ιούλιο και Αύγουστο. Το υπέργειο τμήμα συλλέγεται σε πλήρη άνθηση. Είναι φυτά αρωματικά, φαρμακευτικά και μελισσοτροφικά. Το αφέψημα των φυτών του γένους *Sideritis* χρησιμοποιείται συχνά σαν ποτό θερμαντικό και αρωματικό. Η γεύση του είναι υπόπικρη. Για την παρασκευή του οι ταξιανθίες του φυτού υποβάλλονται σε βρασμό για 3-10 λεπτά, το διάλυμα διηθείται και προστίθεται ή όχι μικρή ποσότητα γλυκαντικής ουσίας (μέλι, ζάχαρη κ.α.) ή/ και γάλα.

Το αφέψημα όμως, φημίζεται για τις θεραπευτικές του ιδιότητες. Σύμφωνα με μελέτες τα φυτά του γένους *Sideritis* χρησιμοποιούνται στην παραδοσιακή ιατρική για ασθένειες που αφορούν:

- Γαστρεντερικές παθήσεις: κατά της δυσπεψίας (Hanlidou, et al., 2004) και του έλκους,
- Παθήσεις του αιμοποιητικού συστήματος: κατά της αναιμίας (Hanlidou, et al., 2004),
- Μολύνσεις ασθένειες: γρίπη (Buc-Calderon, et al., 1990) αναπνευστικού, αντιμικροβιακό (Hanlidou, et al., 2004),
- Νευρολογικά: αναλγητικό, ηρεμιστικό (Hanlidou, et al., 2004) & αντισπασμωδικό. Είναι καταπραϋντικό κι επειδή δεν ερεθίζει το νευρικό σύστημα πλεονεκτεί έναντι του κοινού τσαγιού, διότι δεν προκαλεί αϋπνία.
- Παθήσεις αναπνευστικού: κατά του κοινού κρυολογήματος (Hanlidou, et al., 2004),
- Παθήσεις του ουροποιητικού συστήματος: διουρητικό (Hanlidou, et al., 2004), λοιμώξεις του ουροποιητικού,
- Άλλα: αντιπυρετικό, τονωτικό, αντιφλεγμονώδες & επουλωτικό (Gonzalez-Burgos, et al., 2011).

Σύγχρονες μελέτες επιβεβαιώνουν την παραδοσιακή χρήση των φυτών του γένους καθώς βρέθηκε ότι τα εκχυλίσματα και τα αιθέρια έλαια έχουν:

- Αντιοξειδωτική δράση (Armata, et al., 2008) (Charami, et al., 2008) (Ertas, et al., 2009) (Gabrieli, et al., 2005) (Linardaki, et al., 2011) (Güvenç, et al., 2005) (Skouroliakou, et al., 2009),
- Αντιμικροβιακή δραστηριότητα (Aligiannis, et al., 2001) (González-Burgos, et al., 2011). Εξωτερικά γίνεται χρήση του αφεψήματος για πλύση πληγών και στοματικών ελκών.

Μεταξύ αυτών αναφέρονται και δράσεις κατά του HIV, αναλγητικές, ανασταλτικές, αντιρευματικές, αντιπηκτικές, αντισπασμωδικές, εφιδρωτικές κα (Ertas et al., 2009, González-Burgos et al., 2011, Güvenç et al., 2010, Tadicnja et al., 2012).

Αξίζει να αναφερθεί ότι από τους μοναχούς του Αγίου Όρους θεωρούνταν πανάκεια και το χρησιμοποιούσαν έναντι κάθε νόσου ακόμη και για παθήσεις του αιματοποιητικού συστήματος (αναιμία), ενώ στην ξένη βιβλιογραφία αναφέρεται ως αντιπυρετικό επί κρυολογημάτων, τονωτικό, ανθυστερικό, και διουρητικό.

Μια άλλη χρήση των ειδών του γένους *Sideritis* είναι σαν πρόσθετο-ενισχυτικό γεύσης και συντηρητικό στο ελαιόλαδο. Λόγω των φλαβονοειδών που βρέθηκαν στα είδη *Sideritis* (και ιδιαίτερα στον *S. euboica*) και γνωρίζοντας τη συσχέτιση μεταξύ φλαβονοειδών και αντιοξειδωτικής δράσης, είναι πιθανό το φυτό *Sideritis* να μπορεί να αξιοποιηθεί σαν πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών σε τρόφιμα, γεγονός με ιδιαίτερα οικονομικά οφέλη κυρίως για την Ελλάδα. Το γένος *Sideritis* όπως στην Ελλάδα, αντίστοιχα και σε αρκετές περιοχές της Τουρκίας, χρησιμοποιείται σαν ενισχυτικό γεύσης καθώς και για ιατρικούς σκοπούς (Παληγογιάννη, 2007).

(Aligiannis, et al., 2001) (González-Burgos, et al., 2011) (Hanlidou, et al., 2004) (Baden, 1991) (Ertas, et al., 2009) (Gabrieli, et al., 2005) (Aligiannis, et al., 2001) (Güvenç, et al., 2010) (Linardaki, et al., 2011) (Skouroliakou, et al., 2009) (Škrovánková, et al., 2012)

## 2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

### 2.1 Ονομασία και Ταξινόμηση

Το επιστημονικό όνομα *Sideritis* προέρχεται από την ελληνική λέξη σίδηρος και κατά μία εκδοχή δόθηκε στο φυτό, εξαιτίας της ικανότητάς του να θεραπεύει τις πληγές που προκαλούνται από σιδερένια αντικείμενα. Σύμφωνα με άλλη, επειδή αποτελεί φυσική πηγή σιδήρου, αφού στα ροφήματα που παρασκευάζονται από αυτό περιέχεται αρκετός σίδηρος. Μία τρίτη άποψη υποστηρίζει ότι η ονομασία του οφείλεται στο σχήμα των δοντιών του κάλυκα, που μοιάζουν με αιχμή λόγχης (Καραχασάνη, 2014). Ο Σιδερίτης αποτελεί πολύ διαδεδομένο και δημοφιλές ρόφημα τόσο στην Ελλάδα, όσο και στην ευρύτερη περιοχή της Μεσογείου. Στην Ελλάδα συγκεκριμένα, απαντά σε 14 τοπικά είδη και υποείδη όπου ανάλογα με την περιοχή που φύονται έχουν επικρατήσει διάφορες τοπικές ονομασίες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι αυτό της ενετοκρατούμενης Κρήτης όπου τον θεωρούσαν πανάκεια για τα κρυολογήματα και τις παθήσεις του αναπνευστικού. Το λαϊκό του όνομα είναι μαλοτήρα και αναλύεται: male (αρρώστια) & tirare (σύρω) (Γκόλιαρης, 1999).

Η Σιδηρίτιδα ή ο Σιδηρίτης (αγγλικά ironwort, **iron**=σίδηρος, **wort**=βότανο, γαλλικά crapaudine) είναι δικοτυλήδονο φυτό της οικογένειας των Χειλανθών ή Χειλοστεφάνων ή Λαμπιατών ή Λαμιϊδών (Labiatae ή Lamiales) και ανήκει στο γένος *Sideritis*. Το γένος αριθμεί 120 περίπου είδη που ευδοκούν σε θερμά και ξηρά κλίματα του Βορείου ημισφαιρίου και κυρίως των παραμεσογειακών χωρών (χώρες της παραμεσογείου, τα Κανάρια νησιά και τη βόρεια Ασία), και φύεται σε εδάφη βραχώδη και ασβεστολιθικά, σε ύψος που κυμαίνεται από 500 έως και 2000 μέτρα (Παληογιάννη, 2007).

Κατά τη διάρκεια της ιστορικής εξέλιξης, έχουν γίνει πολλές προσπάθειες για την ταξινόμηση του γένους *Sideritis*. Ο βαθμός πολυμορφισμού, η παρουσία της διακύμανσης οικοτύπου και ο συχνός υβριδισμός μεταξύ των ειδών, καθιστά ακόμη πιο δύσκολη την ταξινόμηση του γένους. Η κατάταξή του βασίζεται στα μορφολογικά, κυτταρολογικά, παλυνολογικά, γενετικά και χημικά χαρακτηριστικά του.

Ως αποτέλεσμα των υβριδισμών αυτών, η ταξινόμησή του γίνεται πιο δύσκολη. Τόσο η μελέτη κάποιων μορφολογικών χαρακτήρων όσο και η ανάλυση των δευτερογενών μεταβολιτών (διτερπενοειδή και φλαβονοειδή) που θεωρούνται ως χημοταξονομικοί δείκτες αυτού του γένους, φάνηκαν χρήσιμοι για τον αποσαφηνισμό των προβλημάτων στη συστηματική ταξινόμηση των ειδών *Sideritis*.

Τα είδη που είναι γνωστά στη χώρα μας με το κοινό όνομα «τσάι του βουνού» ανήκουν στο γένος *Sideritis* L. και παίρνουν το όνομά τους από την περιοχή που αυτοφύονται, όπως τσάι Κρήτης, Ολύμπου, κ.α. (Καραχασάνη, 2014).

### **2.1.1 Βοτανική περιγραφή**

Τα είδη του γένους *Sideritis* είναι μονοετείς ή πολυετείς πόες, αποξυλομένες ενίοτε στη βάση, χνουδωτές, που αναπτύσσονται μέχρι 40-50 cm και ανήκουν στα αρωματικά φυτά (Καραχασάνη, 2014). Τα φυτά αυτά έχουν αδενώδεις τρίχες στα φύλλα και στους βλαστούς. Οι τρίχες αυτές εκκρίνουν αιθέρια έλαια. Οι βλαστοί των φυτών είναι ποώδεις προς τη βάση τους, αποξυλωμένοι, τετράγωνοι (εκτός από τα φυτά που έρπουν) και φέρουν φύλλα αντίθετα, σταυρωτά ή κατά σπονδύλους, συνήθως απλά χωρίς παράφυλλα. Τα άνθη φέρονται μεμονωμένα ή πολλά μαζί στις μασχάλες των φύλλων (συνήθως κατά διχασιά) ή επάκρια (κατά βότρες ή στάχεις). Τα άνθη είναι ερμαφρόδιτα, σπάνια δίκλινα, ζυγόμορφα, σπάνια ακτινόμορφα, με βράκτια ή χωρίς βράκτια. Ο κάλυκας είναι κωδωνοειδής ή σωληνοειδής και αποτελείται από 5, σπάνια 4-12 οδόντες ή είναι δίχειλος. Η στεφάνη είναι δίχειλη (σπάνια μονόχειλη ή ακτινόμορφη), σωληνοειδής, συμπέταλη, αποτελούμενη από 5 λοβούς. Οι στήμονες είναι 2-4 βραχείς περιβάλλονται από το σωλήνα της στεφάνης και είναι διδύναμοι, δηλαδή σχηματίζουν δυο ανισοϋψή ζεύγη. Οι ανώτεροι έχουν 2 γυρεοσάκκους και οι κατώτεροι ατροφικούς ή δύσμορφους ανθήρες. Επίσης, συχνά παρατηρούνται στημονώδη στα άνθη. Η ωοθήκη είναι επιφυής, σύγκαρπη, τετράλοβη, αποτελούμενη από 2 καρπόφυλλα τα οποία σχηματίζουν 4 χώρους. Σε κάθε χώρο περιέχεται μια ανάτροπη σπερματοβλάστη. Ο στύλος είναι απλός και καταλήγει σε 1 δισχιδές στίγμα. Είναι έγκλειστος, με τον άνω λοβό κυλινδρικό και τον κάτω πεπλατυσμένο και να περιβάλλει τη βάση του άνω. Συχνά στα άνθη της οικογένειας αυτής παρατηρείται ένας υπόγυνος νεκταριοφόρος δίσκος. Ο καρπός είναι σχιζοκάρπιο και αποτελείται από 4 μονόσπερμα κάρυα με στρογγυλή κορυφή.

Τα φύλλα τους είναι ακέραια ή οδοντωτά και ισχυρά νευρώδη, ενώ τα άνθη τους είναι λευκά ή κίτρινα ή ποικίλου χρώματος, (μικρά, τοποθετημένα σε σπονδύλους απομακρυσμένους ή κοντά σε άλλους και στερούνται βρακτίων φύλλων. Οι θήκες των ανθέρων των δυο ανωτέρων στημόνων είναι σε απόσταση κι έχουν τους λοβούς τους τον ένα απέναντι από τον άλλο. Τα καρπίδια είναι στρογγυλεμένα. Η στεφάνη είναι λευκή ή κίτρινη ή ερυθρά. Τα άνθη όχι σπάνια τοποθετημένα κατάστάχεις (**Εικόνα 2**) (Παληογιάννη, 2007).

Τα είδη του γένους *Sideritis* αναπτύσσονται άριστα σε πλήρη ήλιο και είναι καλά προσαρμοσμένα σε συνθήκες ξηρασίας. Βρίσκονται σε βραχώδεις πλαγίες και λιβάδια, από λίγα μέτρα πάνω από την επιφάνεια της θάλασσας μέχρι και περισσότερο από 3000 m, και απαιτούν μέτρια σε θρεπτικά συστατικά και ελαφρώς αλκαλικά εδάφη (Καραχασάνη, 2014).



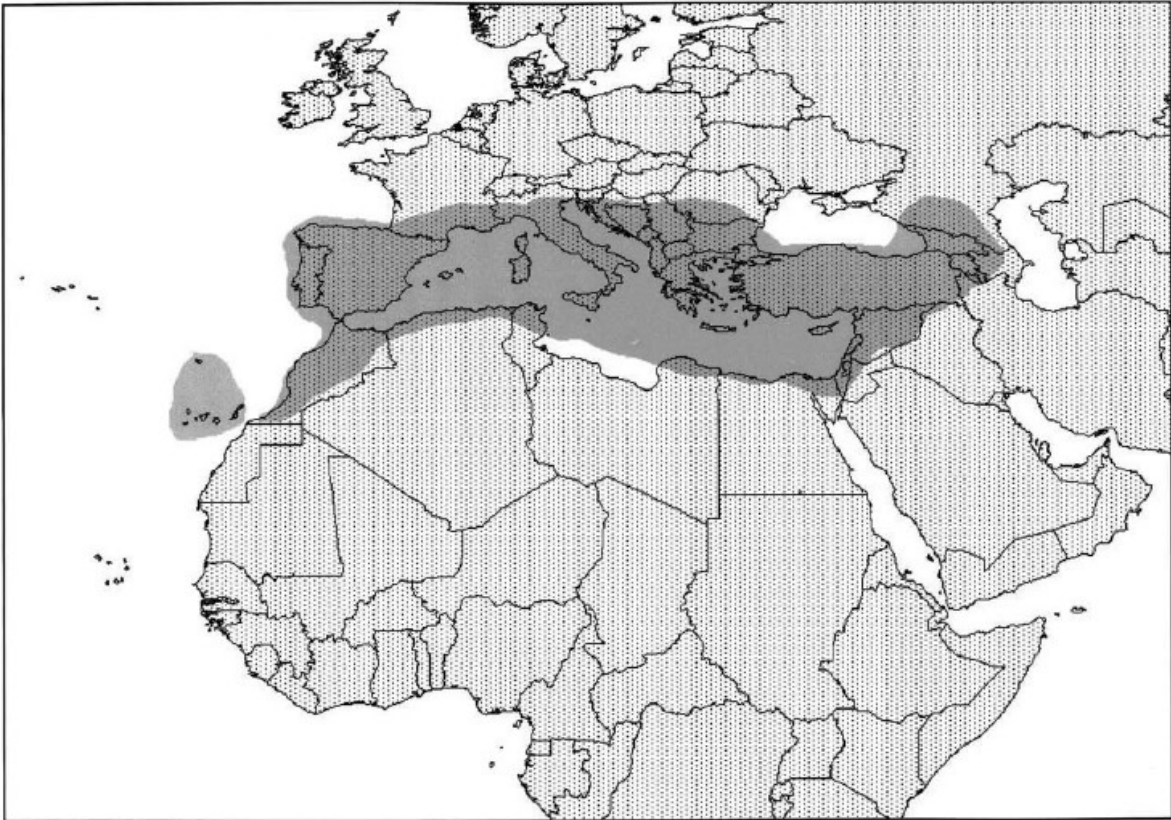


**Εικόνα 2.** Μέρη του φυτού *Sideritis* (Σιούλας & Σχιζοδήμου, 2011).

## **2.2 Γεωγραφική εξάπλωση, καλλιέργεια, συγκομιδή και ξήρανση**

### **2.2.1 Γεωγραφική εξάπλωση και καλλιέργεια**

Το γένος *Sideritis*, όπως προαναφέρθηκε, ανήκει στην οικογένεια *Lamiaceae* και περιλαμβάνει πάνω από 150 είδη που διανέμονται σε εύκρατες και τροπικές περιοχές του Βορείου ημισφαιρίου, από τις Μπαχαμες μέχρι τη Δυτική Κίνα και από τη Γερμανία μέχρι το Μαρόκο (**Εικόνα 3**). Τα περισσότερα είδη βρίσκονται κυρίως στην περιοχή της Μεσογείου, από τις Κανάριους Νήσους και τη Μαδέρα έως τον Καύκασο. Η Ισπανία και η Τουρκία διαθέτουν το μεγαλύτερο αριθμό διαφορετικών ειδών. Στην Ισπανία, τα περισσότερα από αυτά τα είδη κατανέμονται στο νοτιοανατολικό τμήμα της Ιβηρικής Χερσονήσου και των Κανάριων Νήσων, ενώ στην Τουρκία εντοπίζονται κυρίως στις περιοχές του Μαρμαρά και του Αιγαίου.



**Εικόνα 3.** Γεωγραφική εξάπλωση του είδους *Sideritis* (Καραχασάνη, 2014).

Η Ελλάδα είναι ιδιαίτερα πλούσια σε ενδημικά είδη του φυτού και μάλιστα ποικίλλονται κατά διαμερίσματα από τη Μακεδονία μέχρι την Κρήτη και σε υψόμετρο που κυμαίνεται από 500 έως 2000 μέτρα. Τα φυτά ευδοκιμούν σε ξερά πετρώδη, ασβεστολιθικά και γενικά υποβαθμισμένα εδάφη, σε διάφορες περιοχές της χώρας, όπως στην Ήπειρο, στη Μακεδονία, στην Κρήτη, στα Ιόνια νησιά, στη Μεσσηνία, στο Πήλιο και στην Εύβοια. Τα είδη που είναι γνωστά στη χώρα μας με το κοινό όνομα «τσάι του βουνού» ανήκουν στο γένος *Sideritis* L. και παίρνουν το όνομά τους από την περιοχή που αυτοφύονται, όπως τσάι Κρήτης, Ολύμπου, κ.α.

Αυτοφύεται σχεδόν αποκλειστικά στις ορεινές περιοχές της Ελλάδας και υπολογίζονται περίπου στα 183 τα καλλιεργούμενα είδη και 74 τα άγριας συγκομιδής, ενώ από αυτά τα 17 αποτελούν ενδημικά είδη, που εξαπλώνονται από τη Μακεδονία ως την Κρήτη και τα Ιόνια νησιά (Καραχασάνη, 2014).

Τα κυριότερα είδη στην Ελλάδα, όπως φαίνονται στην **εικόνα 4**, είναι:

- **Τσάι Βλάχικο** (*Sideritis aethoa* Papan. & Kokkini.): Είναι πολυετής πόα, ύψους μέχρι 40 εκατ., που καλύπτεται ολόκληρη με μικρές αδενώδεις τρίχες. Ο βλαστός του στη βάση είναι ξυλώδης, αρκετά όρθιος, απλός ή με διακλαδώσεις. Τα φύλλα του έχουν χρώμα ανοιχτό πράσινο ή κιτρινοπράσινο και είναι λογχοειδή. Ο

κάλυκας είναι κωδωνοειδής, σκεπάζεται με αδένες και τα πέταλα του άνθους έχουν χρώμα κίτρινο. Αυτοφύεται στον Άθω, στην Πίνδο και στα ορεινά του νησιού Σαμοθράκη.

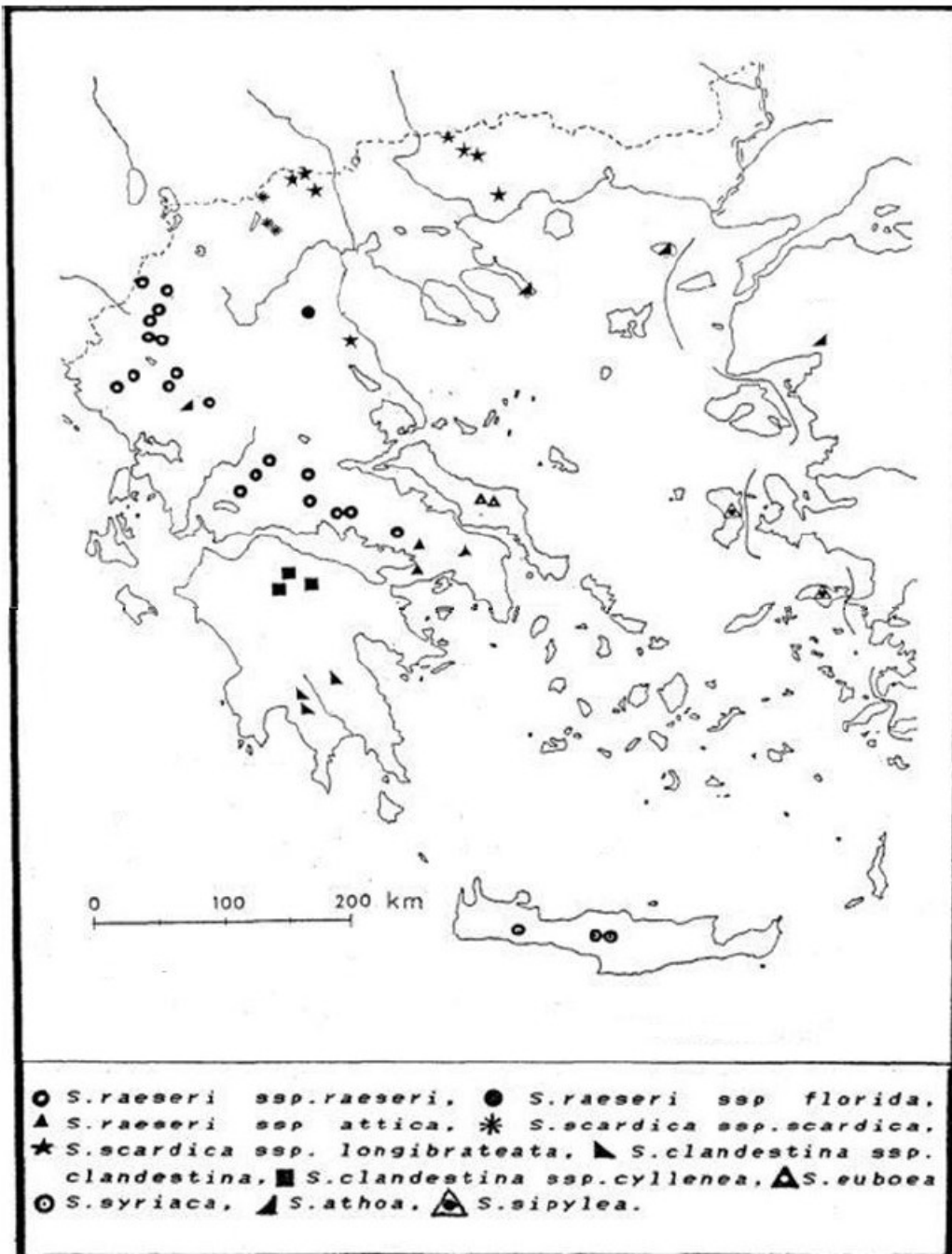
- **Τσάι του Μαλεβού ή Τσάι Ταΰγερτου** (*Sideritis clandestina*): Είναι πολυετής πόα, ύψους μέχρι 40 εκατοστά. Ο βλαστός του στη βάση είναι ξυλώδης, απλός ή διακλαδισμένος σε δευτερεύοντες. Τα φύλλα του είναι χνουδωτά, σταχτόχροα, επιμήκη - λογχοειδή, ακέραια ή πριονωτά, τα κατώτερα με μίσχο και τα ανώτερα επιφυή ή με μίσχο. Ο κάλυκας είναι κωδωνοειδής, σκεπάζεται από πυκνές τρίχες και τα πέταλα του άνθους έχουν χρώμα κίτρινο. Αυτοφύεται πάνω στους βράχους, στις υπαλπικές και αλπικές περιοχές του Μαλεβού, του Ταΰγερτου και της Κυλλήνης.

- **Τσάι του Ολύμπου.** (*Sideritis scardica*): Είναι πολυετής πόα. Ο βλαστός του είναι λίγο ξυλώδης στη βάση, είναι απλός ή διακλαδισμένος, με δευτερεύοντες. Τα φύλλα του είναι πράσινα λογχοειδή, ακέραια ή ελαφρώς πριονωτά, με λευκό χνούδι, τα κατώτερα έμμισχα και τα ανώτερα άμισχα. Ο κάλυκας είναι μάλλον κωδωνοειδής και καταλήγει σε δόντια, καλύπτεται από πυκνές τρίχες και τα πέταλα του άνθους έχουν χρώμα ζωηρό κίτρινο. Αυτοφύεται σε βραχώδη εδάφη της υπαλπικής ζώνης του Ολύμπου, Κίσαβου, Πηλίου και Σκάρδου.

- **Τσάι του Παρνασσού ή Τσάι του βελουχιού** (*Sideritis raeseri*): Είναι πολυετής πόα, ύψους μέχρι 40 εκατοστά. Ο βλαστός είναι λεπτός, χνουδωτός, συνήθως απλός, σπάνια διακλαδισμένος. Τα φύλλα του είναι στενά, λογχοειδή, τα κατώτερα με μίσχο και τα ανώτερα άμισχα. Έχουν χρώμα πράσινο ως λευκοπράσινο και είναι ακέραια ή ελαφρώς πριονωτά. Ο κάλυκας έχει λευκοπράσινο χρώμα, καταλήγει σε δόντια και τα πέταλα του άνθους έχουν χρώμα κίτρινο. Αυτοφύεται στον Παρνασσό, Τυμφρηστό (Βελούχι) και σε άλλα βουνά της Αιτωλίας, Δωρίδας και Φθιώτιδας.

- **Τσάι της Κρήτης** (*Sideritis syriaca* L.) γνωστό ως Μαλοτήρα ή Καλοκοιμηθιά: Είναι πολυετής πόα, ύψους μέχρι 50 εκατοστά. Έχει βλαστό ισχυρό, τετράγωνο, όρθιο, απλό, που σκεπάζεται με πυκνό και λευκό χνούδι. Τα φύλλα του έχουν χρώμα λευκοπράσινο, καλύπτονται με πυκνό χνούδι, είναι επιμήκη - λογχοειδή, ακέραια ή πριονωτά τα κατώτερα με μίσχο και τα ανώτερα άμισχα. Ο κάλυκας είναι σωληνοειδής που καταλήγει σε δόντια και σκεπάζεται από μακρύ και πυκνό τρίχωμα. Τα πέταλα του άνθους έχουν χρώμα κίτρινο. Αυτοφύεται στα ψηλά βουνά της Κρήτης και κυρίως στα Λευκά Όρη και τον Ψηλορείτη, σε ύψος 1300-2000 μέτρα.

- **Τσάι της Εύβοιας.** (*Sideritis Euboea*) ή τσάι απ' το Δέλφι: Είναι πολυετής πόα, ύψους 30-50 εκατοστά, με πυκνό και λευκό χνούδι σ' όλα τα μέρη του. Ο βλαστός του είναι ισχυρός, αποξυλωμένος προς τη βάση, απλός ή μερικές φορές διακλαδισμένος. Τα φύλλα του έχουν πυκνό χνούδι, είναι επιμήκη και τα κατώτερα έχουν μίσχο. Ο κάλυκας είναι σωληνοειδής που καταλήγει σε δόντια και έχει χνούδι. Τα πέταλα του άνθους έχουν χρώμα κίτρινο. Αυτοφύεται άφθονο στο βουνό Δίρφου σε υψόμετρο 1000-1500μ. (Διάσελο Δίρφους, Σκοτεινή, Σέτα, Στρόπωνες, Μετόχι κ.λ.π.). Επίσης υπάρχει στο Ξεροβούνι Εύβοιας, σε υψόμετρο 1400μ. (Γκόλιαρης, 1999).



**Εικόνα 4.** Περιοχές της Ελλάδας όπου φύονται τα διάφορα είδη του γένους *Sideritis*. (Σιούλας & Σχιζοδήμου, 2011).

Όπως προαναφέρθηκε, το τσάι του βουνού είναι αυτοφυές και συνήθως βρίσκεται σε υψόμετρο άνω των 1000 μέτρων. Προτιμά τα βραχώδη και ασβεστολιθικά εδάφη. Άλλα είδη αναπτύσσονται στις ρωγμές ή στα κοιλάματα των ασβεστολιθικών βράχων, όπου μπορεί να σταματά το χώμα, άλλα σε εδάφη γεμάτα ασβεστολιθικά συντρίμματα (χαλίκια) και άλλα σε πετρώδεις περιοχές, είτε μεμονωμένα είτε σε φυτοκοινωνίες.

Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια η αυξημένη κατανάλωση και κατ' επέκταση η αυξημένη ζήτησή του από τους καταναλωτές, δημιούργησε την επιτακτική ανάγκη να καλλιεργηθεί, καθώς τα αυτοφυή φυτά δεν μπορούσαν να καλύψουν τις ανάγκες της αγοράς. Ως καλλιεργούμενο φυτό μπορούμε να το χαρακτηρίσουμε σκληροτράχηλο στις κλιματικές συνθήκες, γιατί αντέχει πολύ στις χαμηλές θερμοκρασίες και χωρίς απαιτήσεις στις εδαφικές συνθήκες, αφού ευδοκιμεί καλύτερα σε μέτριας σύστασης ορεινά ασβεστολιθικά εδάφη. Για να μην υποβαθμιστεί η ποιότητά του και κατά συνέπεια και η τιμή του, πρέπει όταν το καλλιεργούμε να μιμούμαστε τις φυσικές συνθήκες ανάπτυξής του, από άποψη υψομέτρου και εδάφους.

Όσο αφορά στον πολλαπλασιασμό του φυτού του Σιδερίτη, αυτός πραγματοποιείται είτε εγγενώς (με σπόρο), είτε αγενώς (με παραφυάδες).

Κατά τον εγγενή πολλαπλασιασμό, ο σπόρος συγκεντρώνεται από το αυτοφυόμενο ή καλλιεργούμενο τσάι του βουνού. Τα φυτά από τα οποία θα πάρουμε το σπόρο πρέπει να είναι υγιή και εύρωστα, και ακόμα να έχει γίνει καλά η γονιμοποίηση των ανθέων και η ωρίμανση του σπόρου. Οι ταξιανθίες μαζεύονται, ξεραίνονται και ο σπόρος αποχωρίζεται με κτύπημα των σποροποιημένων ταξιανθιών, κυρίως τις μεσημεριανές ώρες, όταν η υγρασία τους θα έχει μειωθεί στο ελάχιστο. Ένα γραμμάριο έχει περίπου 600 σπόρους. Θεωρητικά, 7 γραμμάρια σπόρου φτάνουν για τη δημιουργία φυτών να καλύψουν καλλιέργεια ενός στρέμματος. Στην πράξη όμως για διάφορους λόγους (μειωμένη βλαστική ικανότητα και απώλεια στο φύτευμα σπόρων) χρησιμοποιούμε γύρω στα 15 γραμμ. σπόρου για κάθε στρέμμα. Η ποσότητα αυτή σπέρνεται σε σπορείο 5 Τ.μ., από τον Αύγουστο μέχρι αρχές Οκτώβρη. Η σπορά και οι καλλιεργητικές φροντίδες του σπορείου είναι όμοιες με του καπνού ή της ντομάτας. Χρειάζεται προσοχή ώστε ο σπόρος να σπέρνεται αραιά, γιατί σε αντίθετη περίπτωση τα φυτά φυτρώνουν πυκνά, δεν αερίζονται καλά και καταστρέφονται εύκολα από σηψιρριζία. Τα σπορόφυτα μεταφυτεύονται όταν αποκτήσουν 4-6 φύλλα.

Ο αγενής πολλαπλασιασμός ακολουθεί την εξής διαδικασία: Ένα φυτό τσάι του βουνού, μετά το δεύτερο έτος δίνει αρκετές παραφυάδες, δηλαδή βλαστούς με λίγες ρίζες στη βάση. Εάν αυτό είναι καλλιεργούμενο, μπορεί να δώσει πάρα πολλές παραφυάδες, ενώ το αυτοφύες δίνει πολύ λιγότερες. Όταν οι παραφυάδες αφαιρεθούν από τα μητρικά φυτά, φυτεύονται στο χωράφι, όπως και τα φυτά των σπορείων. Δύο εποχές κρίνονται κατάλληλες για τη φύτευση. Η πρώτη είναι το Φθινόπωρο (Οκτώβρη -Νοέμβρη) και η δεύτερη τέλος του χειμώνα με αρχές άνοιξης (Φλεβάρης-Μάρτης). Για τις ελληνικές συνθήκες προτιμότερο είναι το φθινόπωρο μετά τα πρωτοβρόχια. Η φύτευση γίνεται σε γραμμές που απέχουν μεταξύ τους 50-60 εκ. Πάνω στις γραμμές τα φυτά απέχουν μεταξύ τους 40 - 50 εκ. Μπορεί να γίνει με φυτευτικές μηχανές (καπνού - ντομάτας), ύστερα από κατάλληλη ρύθμιση της απόστασης των δίσκων, ή με το χέρι σε μικρούς λάκκους ή με το φυτευτήρι. Εάν μετά τη φύτευση δεν ακολουθήσει βροχή, καλό είναι να γίνει ριζοπότισμα.

Η καλλιέργεια στο ίδιο χωράφι διαρκεί 5-8 χρόνια. Η παραγωγή από το δεύτερο έως το τέταρτο έτος αυξάνεται και από το πέμπτο έτος αρχίζει να μειώνεται. Από μια

επιτυχημένη φυτεία με ευνοϊκές καιρικές συνθήκες μπορούμε να πάρουμε τις παρακάτω αποδόσεις: Τον πρώτο χρόνο περίπου 10 κιλά ξερό προϊόν, το δεύτερο 50-60 κιλά, τον τρίτο και τέταρτο 90-100 κιλά. Όταν στη φυτεία γίνουν όλες οι απαραίτητες καλλιεργητικές φροντίδες (καταπολέμηση ζιζανίων, αφαίρεση ξηρών βλαστών κ.λ.π.), αυτή μπορεί να διατηρηθεί παραγωγική για περισσότερα από 5 χρόνια (Γκόλιαρης, 1999).

### **2.2.2 Συγκομιδή και ξήρανση**

Η συγκομιδή γίνεται συνήθως τον Ιούλιο, στο στάδιο που τα φυτά βρίσκονται σε πλήρη άνθιση. Κατά τη συγκομιδή κόβεται ολόκληρη η ταξιανθία και κάτω από αυτή ένα μέρος του βλαστού, μήκους 5 ως 6 εκατοστών, με μαχαίρι ή δρεπάνι. Στη συνέχεια η ποσότητα που συγκομίστηκε μεταφέρεται για ξήρανση σε υπόστεγα που έχουν σκεπή από κεραμίδια, για να αποκτήσει ένα χρώμα πρασινοκίτρινο που είναι το καλύτερο. Εάν η ξήρανση δεν γίνει σε σκιά ή όταν το υπόστεγο είναι από λαμαρίνα (τσιγκο), τότε τα φυτά αποχρωματίζονται, με αποτέλεσμα να υποβαθμιστεί η ποιότητά τους. Η ξήρανση στα υπόστεγα γίνεται, είτε με άπλωμα είτε με κρέμασμα σε μικρά δεματάκια (ματσάκια). Μετά την ξήρανση ένα δεματάκι ζυγίζει περίπου 80 γραμμάρια. Τα δεματάκια συσκευάζονται σε δέματα βάρους 20 κιλών, που περιμετρικά καλύπτονται με λινάτσα, όπως ο καπνός. Σ' αυτή τη μορφή φυλάγεται σε αποθήκες που αερίζονται καλά, μέχρι να διατεθεί στο εμπόριο (Γκόλιαρης, 1999).

### **2.3 Θεραπευτική χρήση**

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται διεθνώς μια στροφή στη χρήση φυσικών προϊόντων ιδιαίτερα στον τομέα των φαρμάκων και τροφίμων. Είναι χαρακτηριστικό το γεγονός ότι πολλά φάρμακα που κυκλοφορούν έχουν συστατικά φυτικής προέλευσης. Παράλληλα με τη συστηματική και σε βάθος έρευνα για τη μελέτη της χημικής σύστασης, της βιολογικής δράσης ή της βελτίωσης της ποιότητας, γίνεται ιδιαίτερη προσπάθεια σε διεθνή κλίμακα για την ανακάλυψη νέων φυτών - πηγών διαφόρων συστατικών - που μπορεί να έχουν φαρμακευτική ή βιομηχανική χρήση (Καραχασάνη, 2014).

Η θεραπευτική χρήση των ειδών *Sideritis* αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τον Διοσκουρίδη στο βιβλίο του "De Materia Medica" γραμμένο τον 1ο αιώνα. Τα είδη του φυτού *Sideritis* έχουν χρησιμοποιηθεί παραδοσιακά ως αφεψήματα, αρωματικές ουσίες ή για θεραπευτικούς σκοπούς. Οι περισσότερες από τις θεραπευτικές χρήσεις του *Sideritis* spp. περιορίζονται στη λαϊκή ιατρική, αν και αξίζει να σημειωθεί η ολοένα και πιο συχνή παρουσία του *Sideritis* spp. στην αγορά βοτάνων και η αύξηση του αριθμού των συνταγογραφούμενων φαρμάκων που περιέχουν το είδος *Sideritis* (Gonzalez-Burgos et al., 2011).

Οι περισσότερες από τις ενώσεις που απομονώνονται από το *Sideritis* και μερικά παράγωγά τους, έχουν δείξει ότι διαθέτουν διαφορετικού τύπου βιολογικές ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένου ιδιότητες όπως αναλγητικές, αντι-φλεγμονώδεις, κυτταροστατικές, αντιϊκές, αντιβακτηριακές, αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές (Καραχασάνη, 2014).

Ο *Sideritis* είναι γνωστός ως θεραπευτικό αρωματικό τσάι από βότανα στην παραδοσιακή ιατρική των βαλκανικών χωρών. Το «τσάι του βουνού» είναι γνωστό ως αποτελεσματική θεραπεία κατά της πνευμονοπάθειας και του βήχα, του άσθματος, του εμφυσήματος και της βρογχίτιδας. Το είδος αυτό είναι αποτελεσματικό στη θεραπεία της νόσου του προστάτη, της στηθάγχης, του πονόλαιμου, κλπ. Έχει αναφερθεί επίσης ότι το τσάι αυτό ενισχύει τη διούρηση και συμβάλλει στην καταστροφή και εξάλειψη της πέτρας των νεφρών. Το «τσάι του βουνού» χρησιμοποιείται μαζί με άλλα βότανα, ως αντιρευματικό και το αιθανολικό του εκχύλισμα χρησιμοποιείται τοπικά ως αντισηπτικό μετά από εξαγωγή δοντιού και για την επούλωση πληγών του στόματος. Επιπλέον, τα φύλλα συνθλίβονται με λάδι και εφαρμόζονται ως κατάπλασμα. Ο *Sideritis* είναι επίσης δημοφιλής ως ένα τσάι της μακροζωίας. Τέλος, με χυμό λεμονιού και μέλι χρησιμοποιείται παραδοσιακά ως ένα δροσιστικό ποτό (Todorova & Trendafilova, 2014). Παράλληλα με την παραδοσιακή χρήση που αναφέρεται εκτενώς, η σημασία αυτού του γένους έγκειται στον τύπο των διαταραχών για τις οποίες χρησιμοποιούνται τα παρασκευάσματα των εναέριων τμημάτων του: γαστρίτιδα, γαστρικό έλκος, φλεγμονή του βλεννογόνου, εγκαύματα και πληγές, μεταξύ άλλων. Για τους σκοπούς αυτούς, οι εγχύσεις και αφέψημα παρασκευάζονται από εναέρια μέρη και χορηγούνται τόσο στοματικά όσο και τοπικά ως κομπρέσες ή λουτρά.

## **2.4 Χημική σύσταση**

Πολλά χημικά συστατικά έχουν εντοπιστεί σε φυτά του γένους *Sideritis*. Τόσο πρωτογενείς, όσο και δευτερογενείς μεταβολίτες, όπως τερπένια, φλαβονοειδή, αιθέρια έλαια, κουμαρίνες, ιριδοειδή και στερόλες και λιγνάνες. Διτερπένια, φλαβονοειδή και αιθέρια έλαια περιέχονται σχεδόν σε κάθε είδος του φυτού και στην πραγματικότητα αυτά τα συστατικά είναι ο κύριος υπεύθυνος για την φαρμακολογική δράση του. Παρακάτω, παρουσιάζονται οι κύριοι μεταβολίτες του γένους.

### **2.4.1 Πρωτογενείς και δευτερογενείς μεταβολίτες**

Όσον αφορά τη χημική σύσταση του φυτού *Sideritis* και συγκεκριμένα τη σύσταση τους σε πρωτογενείς μεταβολίτες, οι γνώσεις μας είναι σχετικά περιορισμένες. Παρόλο που η χρήση του εντοπίζεται ακόμα και στη χώρα μας από αρχαιοτάτων χρόνων, μια σφαιρική αποψη για το ποιά είναι τελικά η χημική σύσταση του *Sideritis* μπορεί κάποιος να τη διαπιστώσει μόνο με βάση τα εμπορικά σκευάσματα που

κυκλοφορούν. Στον **Πίνακα 1** δίνεται η διατροφική αξία 100 g εμπορικού σκευάσματος Sideritis. Από τον παρακάτω πίνακα, φαίνεται πως είναι ένα φυτό πλούσιο σε υδατάνθρακες συμπεριλαμβανομένου και των εδώδιμων ινών που βρίσκονται σε μεγαλύτερη αναλογία.

Ενέργεια	121 Kcal
Πρωτεΐνες	13
Υδατάνθρακες	12
Σάκχαρα	0
Λιπαρά	3
Κορεσμένα	0
Εδώδιμες Ίνες	59
Νάτριο	0.002

**Πίνακας 1.** Διατροφική αξία % (w/w) εμπορικού σκευάσματος Sideritis (Καραχασάνη, 2014).

Οι εδώδιμες ίνες είναι υδατανθρακούχες ουσίες, συστατικά τροφών φυτικής προέλευσης που δεν μπορούν να πεφθούν ή να απορροφηθούν στο λεπτό έντερο, περνώντας σχεδόν ανέπαφες στο παχύ έντερο. Αυτές εντοπίζονται στα τοιχώματα φυτικών κυττάρων και είναι ιδιαίτερα σημαντικό γιατί περισσότερο από το 95% των συστατικών του είναι διαιτητικές ίνες. Γενικότερα ως φυτικές ίνες έχουν χαρακτηριστεί η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη, η πηκτίνη, η λιγνίνη, τα κόμμεα, οι β-γλυκάνες, οι φρουκτάνες, τα ανθεκτικά αμύλα, η χιτίνη, η χιτοσάνη, το ψύλλιο, η πολυδεξτρόζη, η πολυόλη και οι ανθεκτικές δεξτρίνες (Καραχασάνη, 2014).

#### **2.4.1.1 Αιθέριο έλαιο και τερπένια**

Πολλά είδη της οικογένειας Lamiaceae είναι γνωστό ότι είναι πλούσια σε αιθέρια έλαια. Αν και το είδος Sideritis δεν είναι ανάμεσά τους, πολλές μελέτες σχετικά με τα αιθέρια έλαιά του έχουν διεξαχθεί. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ο Σιδερίτης χρησιμοποιείται ως τσάι με ένα πολύ ευχάριστο άρωμα, λόγω των συστατικών αιθέριου ελαίου που περιέχει, ακόμη και παρά τη μικρή τους συγκέντρωση στο είδος. Από την άλλη πλευρά, το αιθέριο έλαιο είναι ένα σημαντικό χαρακτηριστικό για τα φυτά, λόγω της βιολογικής τους δραστηριότητας και για χημοταξονομικούς σκοπούς. Ο **Πίνακας 2** συνοψίζει τις κύριες κατηγορίες ενώσεων αιθέριου ελαίου που βρίσκονται στον Σιδερίτη. Περισσότερα από 100 συστατικά σε ποικίλες ποσότητες ανιχνεύθηκαν και αναγνωρίστηκαν με GC και GC / MS, που ανήκουν σε μονοτερπενικές, σεσκιτερπενικές, διτερπενικές, αλειφατικές και αρωματικές ενώσεις.



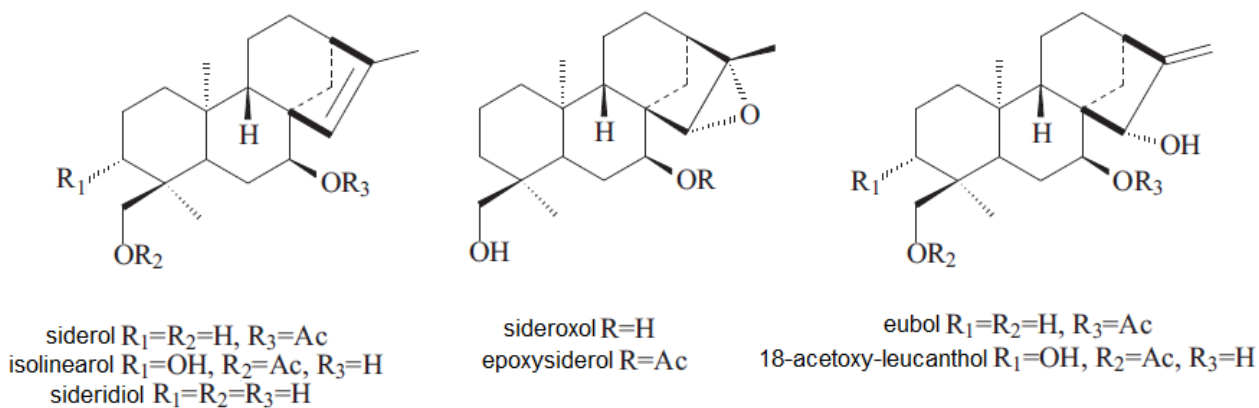
Είναι προφανές ότι η συγκέντρωση των ελαίων του *Sideritis* από διαφορετικές τοποθεσίες διαφέρουν σημαντικά (Todorova & Trendafilova, 2014). Αυτές οι διαφορές τόσο στο περιεχόμενο του ελαίου, όσο και της σύστασής του, μπορεί να οφείλονται σε διάφορους λόγους όπως οι κλιματικοί και οι γενετικοί παράγοντες, οι αγρονομικές πρακτικές και ο χημειότυπος του φυτού (Gonzalez-Burgos et al., 2011).

Συστατικό	Σχετική Συγκέντρωση (%)			
	Βουλγαρία	Π.Γ.Δ.Μ.	Τουρκία	Ελλάδα
Μονοτερπένια	2,4-48,6	1,8-6,9	33,4	84,4
Οξυγονομένα μονοτερπένια	0-1,6	0-30,0	24,5	5,5
Σεσκιτερπένια	0,2-22,2	1,3-8,6	16,4	3,1
Οξυγονωμένα σεσκιτερπένια	1,2-4,6	23,9-25,5	3,1	2,2
Διτερπένια	1,1-31,0	10,3-5,0	0,2	0
Άλλα	6,2-47,6	18,1-35,7	16,7	0,4

**Πίνακας 2.** Κύρια συστατικά αιθέριων ελαίων *Σιδερίτη* από διαφορετικές τοποθεσίες (Todorova & Trendafilova, 2014).

Στο γένος *Sideritis spp.* σεσκιτερπένια και τριτερπένια δεν απαντώνται τόσο συχνά. Παρόλα αυτά στο *Sideritis scardica* εντοπίστηκαν τα τριτερπενοειδή (αμυρίνη, ουρσολικό οξύ, ολεανολικό οξύ). Αντιθέτως, τα είδη *Sideritis* είναι πλούσια σε διτερπένια. Έχουν ταυτοποιηθεί και απομονωθεί από τα εναέρια τμήματα του φυτού *Sideritis* τουλάχιστον 160 διαφορετικά διτερπένια με αξιοσημείωτη δομική μεταβλητότητα (**Εικόνα 5**). Μέχρι σήμερα, ένας σημαντικός αριθμός από μελέτες έχουν αναφέρει την παρουσία των διτερπενοειδών, ειδικά σε αυτά τα φυτά που αναπτύσσονται στην Ιβηρική Χερσόνησο και τις Κανάριες Νήσους. Η περιγραφή των διτερπενίων γίνεται πιο αντιληπτή με βάση τις διαφορές που παρουσιάζουν στον ανθρακικό σκελετό τους (λαβδάνιο, πιμαρένιο, καουρένιο, ατισένιο, μπεγιερένιο, τραχιλοβένιο, ροζένιο και αβιτένιο) με τα περισσότερα να αποδίδουν και την εναντιομερή τους διαμόρφωση. Τα πιο απαντημένα του γένους είναι στην ομάδα των καουρενίων (σιδερόλη, σιδεροζόλη, η καντόλη Α και Β, επικαντικαντιόλη, καντικατιόλη και η φολιόλη, η λινεαρόλη), λαβδανίου (βογατριόλη), μπεγιερενίου (τομπαρόλη), ροζενίου (λαγασκατριόλη) και ατισενίου (σεραδιόλη). Οι διτερπενικές ενώσεις που απομονώθηκαν από τα διάφορα είδη του γένους *Sideritis* στη Μεσόγειο περιλαμβάνουν παράγωγα λαβδανίου και των οξειδίων του λαβδανίου, των ενατιομερών του ατισενίου, καουρενίου, μπεϋερενίου και τα παράγωγα των εναντιομερών του πιμαρενίου και ροζενίου. Μια ανάλυση των διτερπενοειδών στη περιοχή της Κεντρικής και Ανατολικής Μεσογείου (Τουρκία, Ελλάδα, Ιταλία) αντίθετα δείχνει πως τα συγκεκριμένα είδη περιέχουν σχεδόν αποκλειστικά διτερπένια καουρενίου και πως τα είδη των περιοχών της δυτικής Μεσογείου και της Μακαρονησίας περιέχουν διτερπένια (εναντιομερών

καουρενίου, λαβδανίου, ατισενίου, μπεϋερενίου, πιμαρενίου, ροζενίου και τραχιλοβενίου) (Καραχασάνη, 2014).



**Εικόνα 5.** Διπερπένια απομονωμένα από *Sideritis scardica* (Todorova & Trendafilova, 2014).

#### 2.4.1.2 Φαινολικό περιεχόμενο και φλαβονοειδή

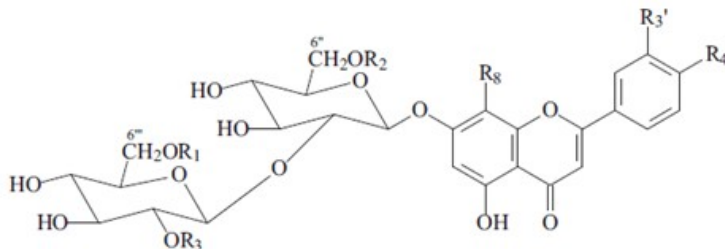
Ο *Sideritis* είναι πλούσια πηγή φαινολικών ενώσεων και κυρίως φλαβονοειδών. Οι φαινολικές ενώσεις τείνουν να είναι υδατοδιαλυτές επειδή έχουν την τάση συχνά να συνδυάζονται με σάκχαρα ως γλυκοζίτες και συνήθως βρίσκονται στο χυμοτόπιο των κυττάρων. Τα φλαβονοειδή διακρίνονται σε:

- εξωτερικά, που είναι άγλυκα με λιπόφιλες ιδιότητες και
- εσωτερικά, που είναι γλυκοζίτες με υδρόφιλες ιδιότητες.

Γενικά, το άγλυκο μέρος θεωρείται ως πιο αξιόπιστος ταξινομικός δείκτης. Πολυάριθμες φυτοχημικές αναλύσεις επικεντρώθηκαν στην παρουσία φλαβονοειδών και φαινολικών ενώσεων, καθώς η φαρμακολογική δράση του *Sideritis* αποδίδεται μερικώς σε αυτούς τους τύπους των χημικών ενώσεων. Είδη της ομάδας *Sideritis* χαρακτηρίζονται από συσσώρευση των 7-γλυκοσιδίων 8-υδροξυφλαβόνης (**Εικόνα 6**) (Καραχασάνη, 2014).

Πρόσθετες μελέτες πραγματοποιήθηκαν για να διερευνηθεί η επίδραση των οικογεωγραφικών παραγόντων στη συσσώρευση αυτών των βιολογικά ενεργών δευτερογενών μεταβολιτών. Μελετήθηκε η μεταβολή στο περιεχόμενο των φλαβονοειδών και των τανίνων του *Sideritis* σε διάφορα μέρη των φυτών ανάλογα με τις εποχιακές συνθήκες και το στάδιο ανάπτυξης των φυτών. Η μέγιστη περιεκτικότητα των συνολικών φλαβονοειδών παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια του σταδίου εκκόλαψης (0,34%) και η χαμηλότερη κατά τον σχηματισμό των σπόρων (0,02%). Οι τανίνες συσσωρεύτηκαν κατά κύριο λόγο στην αρχή της βλάστησης (7,93%), με τη χαμηλότερη συγκέντρωση να παρατηρείται κατά το στάδιο της

πλήρους άνθησης (3,97%). Η μεγαλύτερη ποσότητα φλαβονοειδών και τανίνων βρέθηκε στα φύλλα και τους μίσχους, αντίστοιχα. Τέλος, η μείωση του υψομέτρου οδήγησε σε πτώση των επιπέδων φαινολικών και φλαβονοειδών δευτερογενών μεταβολιτών (Todorova & Trendafilova, 2014).



Compound	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>3'</sub>	R <sub>4'</sub>	R <sub>8</sub>
Hypolaetin 7-O-allosyl(1→2)glucoside	H	H	H	OH	OH	OH
Isoscutellarein 7-O-allosyl(1→2)glucoside	H	H	H	H	OH	OH
4'-O-Methylisoscuteallarein 7-O-allosyl(1→2)glucoside	H	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	OH
Apigenin 7-O-allosyl(1→2)glucoside	H	H	H	H	OH	OH
Isoscutellarein 7-O-allosyl-(1→2)-[6''-O-acetyl]-glucoside	H	CH <sub>3</sub> CO	H	H	OH	OH
Hypolaetin 7-O-allosyl-(1→2)-[6''-O-acetyl]-glucoside	H	CH <sub>3</sub> CO	H	OH	OH	OH
Hypolaetin 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl(1→2) glucoside	CH <sub>3</sub> CO	H	H	OH	OH	OH
Luteolin 7-O-allosyl-(1→2)-[6''-O-acetyl]-glucoside	H	CH <sub>3</sub> CO	H	OH	OH	H
Apigenin 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl(1→2)glucoside	CH <sub>3</sub> CO	H	H	H	OH	H
Luteolin 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl(1→2)glucoside	CH <sub>3</sub> CO	H	H	OH	OH	H
Chryseriol 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl(1→2)glucoside	CH <sub>3</sub> CO	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H
Isoscutellarein 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl (1→2)glucoside	CH <sub>3</sub> CO	H	H	H	OH	OH
3'-O-Methylhypolaetin 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl (1→2)glucoside	CH <sub>3</sub> CO	H	H	CH <sub>3</sub> O	OH	OH
Luteolin 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl-(1→2)-[6''-O-acetyl]-glucoside	CH <sub>3</sub> CO	CH <sub>3</sub> CO	H	OH	OH	H
4'-O-Methylhypolaetin 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl (1→2)glucoside	CH <sub>3</sub> CO	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	OH
Hypolaetin 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl-(1→2)-[6''-O-acetyl]-glucoside	CH <sub>3</sub> CO	CH <sub>3</sub> CO	H	OH	OH	OH
4'-O-Methylisoscuteallarein 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl (1→2)glucoside	CH <sub>3</sub> CO	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	OH
Isoscutellarein 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl-(1→2)-[6''-O-acetyl]-glucoside	CH <sub>3</sub> CO	CH <sub>3</sub> CO	H	H	OH	OH
3'-O-Methylhypolaetin 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl-(1→2)-[6''-O-acetyl]- glucoside	CH <sub>3</sub> CO	CH <sub>3</sub> CO	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OH
4'-O-Methylhypolaetin 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl-(1→2)-[6''-O-acetyl]- glucoside	CH <sub>3</sub> CO	CH <sub>3</sub> CO	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OH
4'-O-Methylisoscuteallarein 7-O-[6'''-O-acetyl]-allosyl-(1→2)-[6''-O-acetyl]-glucosid	CH <sub>3</sub> CO	CH <sub>3</sub> CO	H	H	OCH <sub>3</sub>	OH
Luteolin 7-O-allosyl(1→2)glucoside	H	H	H	OH	OH	H
3'-O-Methylhypolaetin 7-O-allosyl(1→2)glucoside	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OH
Isoscutellarein 7-O-[2'''',6'''-di-O-acetyl]-allosyl(1→2)glucoside	CH <sub>3</sub> CO	H	CH <sub>3</sub> CO	H	OH	OH
3'-O-Methylhypolaetin 7-O-[2'''',6'''-di-O-acetyl]-allosyl(1→2)glucoside	CH <sub>3</sub> CO	H	CH <sub>3</sub> CO	OCH <sub>3</sub>	OH	OH
Hypolaetin 7-O-[2'''',6'''-di-O-acetyl]-allosyl(1→2)glucoside	CH <sub>3</sub> CO	H	CH <sub>3</sub> CO	OH	OH	OH

**Εικόνα 6.** Δομές 7-γλυκοσιδίων φλαβονοειδών που ανιχνεύθηκαν σε δείγματα Σιδερίτη (Todorova & Trendafilova, 2014).

## 2.5 Δράσεις ειδών Σιδερίτη

### 2.5.1 Αντιμικροβιακή δράση

Η αντιμικροβιακή δράση των διαφόρων ειδών Σιδερίτη έχει μελετηθεί κατά καιρούς, επιτρέποντας την δημιουργία ενός αντιμικροβιακού προφίλ, το οποίο καταδεικνύει την αντιμικροβιακή δράση, τόσο των εκχυλισμάτων του όσο και του αιθέριου ελαίου του κυρίως έναντι σε Gram-θετικά βακτήρια και συγκεκριμένους μύκητες.

Πιό συγκεκριμένα, εκχυλίσματα εξανίου από άγρια και καλλιεργημένα δείγματα *Sideritis* ελέγχθηκαν για την αντιμικροβιακή τους δράση. Κανένα από αυτά δεν ήταν δραστικό έναντι της gram-θετικής *Escherichia coli* και του μύκητα *Candida albicans*, αλλά όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν παρουσίασαν καλή δραστηριότητα κατά του *Staphylococcus aureus*. Όλα τα εκχυλίσματα που εξετάστηκαν είχαν κοινή αντιβακτηριακή δράση, ενώ το λιγότερο δραστικό δείγμα ήταν αυτό με τη χαμηλότερη συγκέντρωση σε διτερπένια (Todorova & Trendafilova, 2014). Επίσης, η αντιμικροβιακή δράση των εκχυλισμάτων μεθανόλης που λήφθηκαν από εναέρια τμήματα του *Sideritis* αξιολογήθηκε με τη χρήση της μεθόδου διάχυσης δίσκου. Τα εκχυλίσματα βρέθηκαν δραστικά έναντι όλων των βακτηρίων και των ζυμών που δοκιμάστηκαν στη μελέτη, εκτός από τα *Micrococcus luteus* και *Proteus vulgaris*. Επιπλέον, υπάρχουν αρκετές αναφορές για την αντιμικροβιακή δράση των αιθέριων ελαίων του *Sideritis*. Διαπιστώθηκε ότι αναστέλουν την ανάπτυξη των Gram-θετικών βακτηρίων *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium phlei* και του μύκητα *Candida albicans*, ενώ δεν έδειξαν καμία δραστηριότητα ενάντια σε Gram-αρνητικά βακτήρια. Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα του αιθέριου ελαίου του *Sideritis* αξιολογήθηκε έναντι έξι Gram-αρνητικών και οκτώ Gram-θετικών βακτηρίων χρησιμοποιώντας τη μέθοδο διάχυσης δίσκου. Τα αιθέρια έλαια δεν είχαν καμία επίδραση έναντι οποιωνδήποτε Gram-αρνητικών βακτηρίων. Ωστόσο, μια σημαντική δραστηριότητα λήφθηκε για Gram-θετικά βακτήρια, ιδιαίτερα ενάντια των *Staphylococcus aureus* και *Staphylococcus epidermidis*. Τέλος, μελετήθηκε η αντιμικροβιακή δραστηριότητα των διτερπενοειδών *siderol*, *linearol* και *epicandicandiol* έναντι των βακτηρίων *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* και του μύκητα *Candida albicans*. Η μόνη δραστική ένωση ήταν η *epicandicandiol*, έναντι των *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* και *Candida albicans*. Η παρουσία μιας ακετυλομάδας που εμφανίζεται στα διτερπένια *siderol* και *linearol* φαίνεται να σχετίζεται με τη μειωμένη τους δραστηριότητα (Gonzalez-Burgos et al., 2011).

### **2.5.2 Αντιοξειδωτική δράση**

Η προστασία κατά της οξειδωτικής βλάβης είναι ένα από τα πιο ευρέως περιγραφόμενα χαρακτηριστικά των φυτικών πολυφαινολών και συνδέεται με την αντιοξειδωτική δράση τους. Η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων που λαμβάνονται με διαλύτες διαφορετικής πολικότητας από το δείγμα, προσδιορίζονται με μία σειρά μεθόδων, όπως η BCBT, η DPPH και η HS-GC μέθοδος (Todorova & Trendafilova, 2014).

Η συσχέτιση μεταξύ του φαινολικού περιεχομένου και της αντιοξειδωτικής δράσης είναι αποδεδειγμένη. Έχει αξιολογηθεί η αντιοξειδωτική δράση των διαφόρων εκχυλισμάτων (οξικού αιθυλεστέρα, βουτανόλης, διχλωρομεθάνιου, διαιθυλαιθέρα και νερού) από εναέρια τμήματα *Sideritis* με τη μέθοδο DPPH. Το εκχύλισμα οξικού

αιθυλεστέρα διέθετε την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση, η οποία θα μπορούσε να αποδοθεί στην παρουσία φαινολικών ενώσεων, όπως η απιγενίνη. Αυτή η σχέση ανάμεσα στην αντιοξειδωτική δράση και το φαινολικό περιεχόμενο έχει βρεθεί επίσης και για τα μεθανολικά εκχυλίσματα του είδους *Sideritis*. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από τη μέθοδο DPPH ήταν 41,68 - 72,47%, ανάλογα με το εξεταζόμενο δείγμα, σε συγκέντρωση 100 ppm. Έχει αποδειχθεί ότι όσο υψηλότερο είναι το ποσοστό της αξίας των αναστολέων, τόσο υψηλότερη είναι η ριζοσπαστική δράση καθαρισμού (Gonzalez-Burgos et al., 2011).

Έτσι, καθώς ο Σιδερίτης αποτελεί φυσική πηγή φαινολικών και φλαβονοειδών ενώσεων, καθίσταται σαφές πως η αντιοξειδωτική του δράση δεν είναι αμελητέα. Εν κατακλείδι, όσο υψηλότερο είναι το περιεχόμενο των παραπάνω ενώσεων στο εκάστοτε δείγμα του φυτού, τόσο αυξάνεται και η αντιοξειδωτική του ικανότητα.

### **2.5.3 Αντιφλεγμονώδης δράση**

Τα είδη του γένους *Sideritis* είναι γνωστά στην παραδοσιακή ιατρική για την αντιφλεγμονώδη τους δράση, καθώς αποτελούν σημαντική πηγή αντιφλεγμονωδών ενώσεων. Πολυάριθμες μελέτες έχουν επικυρώσει αυτή τη θεραπευτική ένδειξη.

Η αντιφλεγμονώδης δράση των διαφόρων εκχυλισμάτων και κλασμάτων που λαμβάνονται από τα εναέρια μέρη του είδους *Sideritis* έχουν εξεταστεί ως προς την αντιφλεγμονώδη δράση τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα έναντι της χορηγούμενης καραγενάνης σε προκαλούμενο οίδημα του πέλματος σε ποντίκια μετά από στοματική και τοπική χορήγηση, αντίστοιχα. Λιπιδικό κλάσμα ελήφθη από εκχύλισμα εξανίου του *Sideritis*, και η αντιφλεγμονώδης δράση του εκτιμήθηκε με τη χρήση του σε οίδημα πέλματος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η από του στόματος χορήγηση 50 και 100 mg / kg του λιπιδικού κλάσματος, ανέστειλε σημαντικά το σχηματισμό οιδήματος στο πέλμα σε διαφορετικούς χρόνους. Κατά τον ίδιο τρόπο, κατέστειλε τον σχηματισμό οιδήματος αυτιού σε δόση 0,25, 0,5 και 1 mg / αυτί μετά από τοπική εφαρμογή (35, 41 και 53% αναστολή, αντίστοιχα). Το λιπιδικό κλάσμα μείωσε επίσης την απελευθέρωση ισταμίνης. Μια άλλη μελέτη με εκχυλίσματα *Sideritis* αποκάλυψε ότι τα εκχυλίσματα εξανίου και μεθανόλης διέθεταν υψηλότερη αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα σε σχέση με το ανοσοενισχυτικό-καραγενάνη στη χρόνια φλεγμονή και δεν παρατηρήθηκε επίδραση στην οξεία φάση της. Η διπερπενοειδής *borjatriol* που απομονώθηκε από *Sideritis*, έδειξε αντιφλεγμονώδη δράση σε διάφορα μοντέλα. Ανέστειλε κοκκίωμα που προκλήθηκε σε αρουραίους, εμπόδισε την ανάπτυξη νυστατίνης που προκαλείται από οίδημα και ανέστειλε την δραστηριότητα της λυσοζύμης στον ορό, ένζυμο το οποίο βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα σε ασθενείς που πάσχουν από αρθρίτιδα.

Επιπλέον, αντιφλεγμονώδης δράση έχει παρατηρηθεί και σε απομονωμένα φλαβονοειδή διαφόρων ειδών Σιδερίτη, μέσω της ίδιας με τις παραπάνω δοκιμής οιδήματος πέλματος ποντικού. Επίσης, έχει διερευνηθεί η αντιφλεγμονώδης δράση



φαινυλοπροπανοειδών γλυκοζιτών. Συγκεκριμένα, οι γλυκοζίτες lavandulifolioside, martysonide, verbascoside και leucosceptoside A, που απομονώθηκαν από εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα και νερού από τα εναέρια τμήματα Σιδερίτη, αναφέρθηκε ότι ασκούν σημαντική αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα. Επιπλέον, αυτοί οι φαινυλοπροπανοειδής γλυκοζίτες παρήγαγαν 50% λιγότερο γαστρικό έλκος από την ινδομεθακίνη που χρησιμοποιήθηκε ως φάρμακο αναφοράς (Gonzalez-Burgos et al., 2011).

#### 2.5.4 Λοιπές δράσεις

Εκτός από τις παραπάνω βιολογικές δράσεις που παρατηρούνται στον Σιδερίτη και στα παράγωγά του, έχουν αναφερθεί πολλές ακόμα ιδιότητες που καθιστούν τον Σιδερίτη ως ένα πολυδραστικό βότανο.

Αναφορικά, έχουν τεκμηριωθεί πολλές δράσεις του συγκεκριμένου φυτού, όπως κυτταροτοξική δράση, γαστροπροστατευτική δράση, αντιγλοιοματική δράση, αναλγητική δράση, ακόμα και θετική επίδραση στην μνήμη και σε ασθένειες που σχετίζονται με αυτή (Πίνακας 3).

Activity	Assay
Antimicrobial	Agar cup method Agar diffusion and broth microdilution methods Broth microdilution method
Antioxidant	β-Carotene bleaching test (BCBT) Static headspace gas chromatography (HS-GC) 2,2'-Diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH <sup>•</sup> ) radical scavenging method ABTS (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) method
Anti-inflammatory	Carrageenan-induced rat's paw oedema test
Cytotoxic	Kenacid Blue R dye binding method
Gastroprotective	Absolute ethanol-induced stress ulcer in rats
Antiglioma	Viability of C6 rat glioma cells and rat primary astrocytes
Triple monoamine reuptake inhibition	Rat brain synaptosome experiments and uptake experiments using JAR cells
Influence on memory	Morris water maze

**Πίνακας 3.** Βιολογικές δράσεις του Σιδερίτη (Todorova & Trendafilova, 2014).

## 2.6 Αντιοξειδωτικά

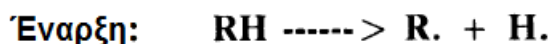
### 2.6.1 Οξείδωση – Οξειδωτικές αντιδράσεις

Οξείδωση (οξειδωτική τάγγιση) ονομάζεται η αλλοίωση των λιπαρών υλών η οποία είναι αποτέλεσμα αντιδράσεων αυτοοξείδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων τους.

Ο από μελέτες που έγιναν σε ελεύθερα ακόρεστα λιπαρά οξέα. Οι ίδιες αντιδράσεις συμβαίνουν και στα εστεροποιημένα λιπαρά οξέα.

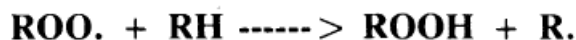
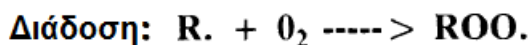
Οι αντιδράσεις αυτές θεωρείται ότι γίνονται σε τρία στάδια: της έναρξης (initiation), της διάδοσης (propagation) και του τερματισμού:

- Κατά την έναρξη με τη δράση μιας ελεύθερης ρίζας, που προέρχεται κυρίως από το οξυγόνο, σχηματίζεται μικρός αριθμός εξαιρετικά δραστηκών μορίων λιπαρού οξέος με ασύζευκτα ηλεκτρόνια, δηλαδή ελεύθερες ρίζες R. (**Εικόνα 6**), οι οποίες και αντιδρούν αμέσως (έχουν μικρό χρόνο ζωής).



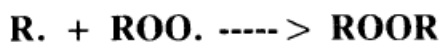
**Εικόνα 6.** Στάδιο έναρξης μηχανισμού οξειδωσης (Paquette et al., 1985).

- Κατά το στάδιο της διάδοσης, η ελεύθερη ρίζα R $\cdot$  αντιδρά με ατμοσφαιρικό O $_2$  και σχηματίζονται υπεροξυ-ρίζες (ROO $\cdot$ ), επίσης πολύ δραστηκές και αντιδρούν με άλλα ακόρεστα λιπαρά οξέα για να δημιουργήσουν υδρο(ϋ)περοξειδία (ROOH), δηλαδή ενώσεις στις οποίες η υδροξυλομάδα (OH) συνδέεται στο οξυγόνο. Με τις παράλληλα σχηματιζόμενες νέες ρίζες R $\cdot$  (**Εικόνα 7**) η πορεία επαναλαμβάνεται, με αποτέλεσμα αλυσιδωτή αντίδραση. Επιπλέον και τα υδροπεροξειδία μπορεί να διασπαστούν προς τις ελεύθερες ρίζες ROO $\cdot$ .



**Εικόνα 7.** Στάδιο διάδοσης μηχανισμού οξειδωσης (Paquette et al., 1985).

- Τέλος, η αύξηση της συγκέντρωσης των ελεύθερων ριζών έχει ως αποτέλεσμα τις μεταξύ τους αντιδράσεις προς σταθερά τελικά προϊόντα. Οι αντιδράσεις αυτές αποτελούν το στάδιο του τερματισμού, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 8** (Γαλανοπούλου et al., 2007).



*Εικόνα 8. Στάδιο τερματισμού μηχανισμού οξειδωσης (Paquette et al., 1985).*

### **2.6.2 Αντιοξειδωτικές ουσίες – Αντιοξειδωτική δράση**

Ως αντιοξειδωτικά (antioxidants) χαρακτηρίζονται όλες οι ουσίες οι οποίες προστίθενται στα τρόφιμα με σκοπό να τα προστατεύσουν από την οξειδωτική τάγγιση, ανεξάρτητα από το μηχανισμό δράσης τους (Μπλούκας, 2004). Τα περισσότερα αντιοξειδωτικά είναι αρωματικές ενώσεις, που διαθέτουν μια τουλάχιστον ελεύθερη υδροξυλική ή αμινική ομάδα. Οι σημαντικότερες ενώσεις που προστίθενται στα τρόφιμα ανήκουν στις πολυκυκλικές φαινόλες, με μια ή περισσότερες υδροξυλομάδες (Μπόσκος, 1997). Η προσθήκη αντιοξειδωτικών στα τρόφιμα είναι ιδιαίτερα σημαντική, επειδή με την καταστολή σχηματισμού των ελεύθερων ριζών κατά την αυτοοξείδωση των λιπαρών ουσιών, παρεμποδίζεται η ανάπτυξη των καρδιοαγγειακών παθήσεων και ο καρκίνος και επιβραδύνεται η γήρανση του ανθρώπου.

Τα αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση της οξειδωτικής τάγγισης των λιπαρών ουσιών διακρίνονται σε: συνθετικά αντιοξειδωτικά (synthetic antioxidants) και φυσικά αντιοξειδωτικά (natural antioxidants).

- Συνθετικά αντιοξειδωτικά

Πρόκειται για φαινολικά παράγωγα και έχουν την ικανότητα να εμποδίζουν την αντίδραση των ελεύθερων ριζών των λιπαρών οξέων με το οξυγόνο χάριν της φαινολικής δομής που διαθέτουν. Το φαινύλιο, ενεργώντας ως δότης πρωτονίων, εμποδίζει το σχηματισμό ελεύθερων ριζών (R.), καθυστερώντας έτσι την έναρξη της διαδικασίας αυτοοξείδωσης των λιπών. Οι ελεύθερες ρίζες του αντιοξειδωτικού που σχηματίζονται κατά την αντίδραση αυτή είναι σταθερές και συνεπώς δεν έχουν την ικανότητα της παραπέρα οξείδωσης των λιπών και ελαίων. Κατά συνέπεια, τα αντιοξειδωτικά αυτά είναι τόσο αποτελεσματικότερα, όσο γρηγορότερα προσθέτονται στο τρόφιμο, ώστε να εμποδίσουν το σχηματισμό των ελεύθερων ριζών στα λιπαρά οξέα.

- Φυσικά αντιοξειδωτικά

Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον για τα φυσικά αντιοξειδωτικά προκύπτει από τους πιθανούς κινδύνους που υποκρύπτουν για την υγεία του καταναλωτή τα συνθετικά



αντιοξειδωτικά (Μπλούκας, 2004). Η πλειοψηφία των φυσικών αντιοξειδωτικών είναι φαινολικές ενώσεις οι οποίες χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: τις τοκοφερόλες, τα φλαβονοειδή και τα φαινολικά οξέα (Pokorny et al., 2001).

Επίσης, τα αντιοξειδωτικά ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους, μπορούν να χωριστούν στα πρωτογενή και δευτερογενή αντιοξειδωτικά.

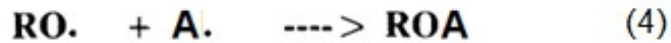
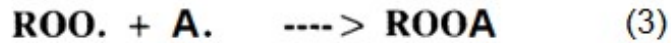
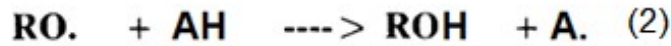
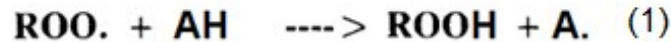
- Πρωτογενή αντιοξειδωτικά:

Είναι συνήθως φαινολικές ενώσεις, που οδηγούν στον τερματισμό των αλυσιδωτών αντιδράσεων ελεύθερων ριζών. Στις αντιδράσεις αυτές παίζουν το ρόλο του δότη ηλεκτρονίων. Παραδείγματα πρωτογενών αντιοξειδωτικών αποτελούν οι φυσικές και συνθετικές τοκοφερόλες, το ΒΗΑ (βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη), το ΒΗΤ (βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο), το ΤΒΗQ (tetr-βουτυλο-υδροκινόνη), κ.α.

- Δευτερογενή αντιοξειδωτικά:

Η δράση τους επικεντρώνεται στη διάσπαση των υδροϋπεροξειδίων των λιπιδίων (προϊόντα οξειδωσης), προς σταθερά τελικά προϊόντα, που δεν λαμβάνουν μέρος σε αλυσιδωτές αντιδράσεις. Τέτοια αντιοξειδωτικά είναι το διαρυλο-θειοδιπρωπιονικό οξύ και ο αντίστοιχος εστέρας (Μπόσκος, 1997).

Οι υπεροξυ και οξυ ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται κατά το στάδιο διάδοσης στην αυτοοξειδωση δεσμεύονται από αντιοξειδωτικά (ΑΗ). Τα αντιοξειδωτικά που περιέχουν μια φαινολική ομάδα διαδραματίζουν το σημαντικότερο ρόλο στα τρόφιμα. Στις αντιδράσεις 1 και 2 στην **Εικόνα 9**, σχηματίζουν ρίζες που σταθεροποιούνται από ένα σύστημα αρωματικού συντονισμού. Σε αντίθεση με τις ακυλικές υπεροξυ και οξυ ελεύθερες ρίζες, δεν είναι ικανές να αφαιρέσουν ένα άτομο  $-H$  από ένα ακόρεστο λιπαρό οξύ και επομένως δεν μπορούν να αρχίσουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων. Τα τελικά προϊόντα που σχηματίζονται στις αντιδράσεις 3 και 4 στην **Εικόνα 9** είναι σχετικά σταθερά και κατά συνέπεια οι αλυσίδες των ριζών της αυτοοξειδωσης μικραίνουν. Ένα μόριο αντιοξειδωτικού συνδέεται με δύο ρίζες. Επομένως, ο μέγιστος επιτεύξιμος στοιχειομετρικός παράγοντας είναι  $n=2$ . Στην πράξη, η τιμή του  $n$  είναι μεταξύ 1 και 2 για τα χρησιμοποιούμενα αντιοξειδωτικά. Τα αντιοξειδωτικά, εκτός από τον κύριο λόγο τους ως δεσμευτές ριζών, μπορούν επίσης να ανάγουν μερικώς τα υδροϋπεροξειδία σε υδροξύ ενώσεις (Belitz et al., 2006).



*Εικόνα 9. Δραστηριότητα ενός αντιοξειδωτικού ως μέσο δέσμευσης ριζών. AH: Αντιοξειδωτικό (Belitz et al., 2006).*

Τέλος, όταν οι οξειδωτικοί μηχανισμοί υπερτερούν των αντίστοιχων αντιοξειδωτικών του οργανισμού τότε τα επίπεδα των ελευθέρων ριζών υπερβαίνουν τα φυσιολογικά όρια και βρισκόμαστε μπροστά στο λεγόμενο οξειδωτικό στρες, φαινόμενο καταστρεπτικό για τους ιστούς.

## **2.7 Μέθοδοι προσδιορισμού φαινολικών συστατικών και αντιοξειδωτικής ικανότητας**

Για τον προσδιορισμό της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας και των φαινολικών συστατικών βιολογικών δειγμάτων, έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι. Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης ενός δείγματος περιλαμβάνει κυρίως την ικανότητα του δείγματος να δώσει ηλεκτρόνια (ή άτομα υδρογόνου) σε ένα ειδικό ΔΕΟ ή σε κάθε δείκτη ηλεκτρονίων. Το προϊόν της αντίδρασης αυτής μετράται τελικά με μια από τις παρακάτω κυριότερες μεθόδους μέτρησης αντιοξειδωτικής δράσης. (Rixao et al., 2007)

### **2.7.1 Μέθοδος ABTS**

Η δοκιμή ABTS βασίζεται στον έλεγχο του αποχρωματισμού της ριζικού κατιόντος ABTS που παράγεται από την οξείδωση του αντιδραστήριου 2,2 azinodis-(3-ethylbenzothiaziline-6-sulfonate) (ABTS). Η οξείδωση προκαλείται από την προσθήκη ενός δείγματος που περιέχει φαινολικό παράγοντα. Το ABTS παρουσιάζει μια ισχυρή απορρόφηση στα 600 – 750 nm και μπορεί να καθοριστεί εύκολα φασματοφωτομετρικά. Έλλειψη φαινολικών ουσιών, το ABTS είναι σταθερό, αλλά όταν αντιδρά με ένα δότη χ-ατόμων, όπως οι φαινολικές ουσίες μετατρέπεται σε μια «μη χρωματισμένη» μορφή. Επομένως όταν η συγκέντρωση των φαινολικών ουσιών είναι μεγαλύτερη η μη χρωματισμένη μορφή του ABTS θα είναι πιο έντονη, δηλαδή θα έχουμε πιο έντονο αποχρωματισμό. Η ποσότητα του ABTS που καταναλώνεται

λόγω της αντίδρασης με τις φαινολικές ουσίες εκφράζεται σε ισοδύναμα Trolox ή σε ισοδύναμα Γαλλικού οξέως και εκφράζει την αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος (Villano et al., 2004).

### **2.7.2 Μέθοδος DPPH**

Είναι η παλαιότερη μέθοδος για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Η δοκιμή DPPH βασίζεται στην ικανότητα της σταθερής ελεύθερης ρίζας 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) να αντιδρά με τους χ-δότες συμπεριλαμβανομένων των φαινολικών ουσιών. Σύμφωνα με αυτή ένας όγκος δείγματος αραιωμένος με μεθανόλη σε αναλογία 1:1 προστίθεται σε ένα όγκο αντιδραστήριου 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. Ακολουθεί μέτρηση της απορρόφησης του δείγματος στα 515 nm μετά από 60 min της αντίδρασης στους 20°C. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα Trolox σε mmol/L (Roginsky & Lissi, 2004).

### **2.7.3 Μέθοδος του δείκτη Folin–Ciocalteu**

Η μέθοδος αυτή προσδιορίζει τις ολικές φαινολικές ενώσεις ενός δείγματος και είναι η πλέον αποδεκτή. Αυτή, βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ενώσεων σε αλκαλικό περιβάλλον με μίγμα φωσφοροβολφραϊμικού ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) και φωσφορομολυβδαινοκού οξέος ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Κατά την αντίδραση οι φαινολικές ομάδες οξειδώνονται σε ομάδες με δομή κινόνης και τα οξέα φωσφοροβολφραϊμικού και φωσφορομολυβδαινοκού ανάγονται σε οξείδια βολφραμίου ( $W_8O_{34}$ ) και μολυβδαινίου ( $MoO_{23}$ ) μπλε χρώματος. Γενικά οι φαινόλες που καθορίζονται από το δείκτη FC εκφράζονται πολύ συχνά σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Σουφλερός, 1997).

### **2.7.4 Δοκιμή FRAP**

Η δοκιμή FRAP (ferric reducing antioxidant power) βασίζεται στη δυνατότητα των φαινολών να μετατρέπουν τον  $Fe^{+3}$  σε  $Fe^{+2}$ . Όταν αυτό συμβαίνει παρουσιάζει την παρουσία της 2,4,6-tripyridyl-triazine, συνοδεύεται από το σχηματισμό χρωματισμένου συμπλέγματος με  $Fe^{+2}$ . Εκφρασμένη σε ισοδύναμα ασκορβικού οξέως, η τιμή FRAP εφαρμόζεται για να καθορίζει την αντιοξειδωτική ικανότητα. Το ποσοστό της μείωσης του ferrylmetmyoglobin που καθορίζεται φασματοσκοπικά στην ορατή περιοχή, προτάθηκε για να χαρακτηρίζει την αντιοξειδωτική ικανότητα φλαβονοειδών. Ωστόσο, η ερώτηση για τη σχέση μεταξύ της μεθόδου FRAP και της αντιοξειδωτικής ικανότητας παραμένει ανοιχτή (Benzie & Strain, 1996).

### **2.7.5 Μέθοδος HPLC και μέθοδος TLC**

Οι πλέον χρησιμοποιούμενες τεχνικές διαχωρισμού των φαινολικών συστατικών των τροφίμων είναι η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) και η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC). Η δεύτερη υπερέρχει επειδή

επιτυγχάνονται αποτελεσματικότεροι διαχωρισμοί ώστε να είναι δυνατή μια καλύτερη ποιοτική ανάλυση. Σ' αυτή συμβάλλουν σημαντικά: α) οι χρησιμοποιούμενες στήλες silica για το διαχωρισμό μη πολικών φαινολών με ισοκρατική έκλυση και αντίστροφης φάσης για το διαχωρισμό πολικών φαινολών με τη βαθμιδωτή (gradient) έκλυση, και β) ο συνηθέστερα χρησιμοποιούμενος ανιχνευτής υπεριώδους, αφού όλες οι φαινολικές ενώσεις εμφανίζουν ένα ή περισσότερα μέγιστα απορρόφησης στη περιοχή από τα 230 μέχρι τα 290 nm.

Η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας είναι μια σημαντική τεχνική διαχωρισμού φαινολικών συστατικών και ανίχνευσης μεταξύ εκείνων που εμφανίζουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Ο διαχωρισμός γίνεται σε πλάκες με στατική φάση κυτταρίνη, πολυαμίδιο και συνηθέστερα silicagel, ενώ ως σύστημα ανάπτυξης μίγματα διαφόρων διαλυτών. Για την επιλογή των καταλληλότερων από αυτά λαμβάνεται υπ όψη η πολικότητα των συστατικών των οποίων επιδιώκεται ο διαχωρισμός. Επειδή ελάχιστες φαινολικές ενώσεις είναι έγχρωμες και επομένως απ ευθείας ανιχνεύσιμες πάνω στην πλάκα, συνήθως η τελευταία παρατηρείται στο υπεριώδες φως και ψεκάζεται με διάφορα αντιδραστήρια. Η εμφάνιση φθορισμού και χαρακτηριστικών χρώσεων αποτελεί ένδειξη παρουσίας φαινολικών ενώσεων με ιδιαίτερα δομικά χαρακτηριστικά ή και αντιοξειδωτική δράση (Harborne, 1997).

#### **2.7.6 Μέθοδος του δείκτη υπερμαγγανικού καλίου ( $KMnO_4$ )**

Όπως και η παραπάνω μέθοδος έτσι και αυτή προσδιορίζει τις ολικές φαινολικές ενώσεις σε ένα δείγμα. Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στη οξείδωση των φαινολικών ενώσεων από το υπερμαγγανικό κάλιο, στη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το τέλος της ογκομέτρησης σημειώνεται με την αλλαγή του χρώματος του δείκτη carmin-indigo, από το κυανό σε κίτρινο. Ο δείκτης αυτός οξειδώνεται πριν από ορισμένα συστατικά του δίκταμου, αλλά μετά από τις φαινολικές ενώσεις. Η αλλαγή του χρώματος του συμπίπτει με το τέλος της οξείδωσης των φαινολικών ενώσεων, έτσι ώστε να αποφεύγεται η παραπέρα κατανάλωση ( $KMnO_4$ ) για οξείδωση άλλων διαφόρων συστατικών του Σιδερίτη (Σουφλερός, 1997).

#### **2.7.7 Μέθοδος ORAC**

Η μέθοδος ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity / Ικανότητα Απορροφητικότητας Ριζών Οξυγόνου) στηρίζεται στην ελάττωση του φθορισμού ορισμένων ουσιών (φυκοερυθρίνες) με την προσθήκη ελευθέρων ριζών. Η δράση αυτή των ελευθέρων ριζών αναστέλλεται παρουσία των αντιοξειδωτικών.

### 2.7.8 Μέθοδος EPR

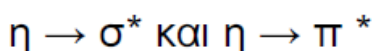
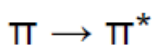
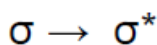
Με τη μέθοδο EPR μπορούμε να προσδιορίσουμε την αντιοξειδωτική δράση ουσιών με βάση την ελάττωση του EPR σήματος συγκεκριμένων ελευθέρων ριζών μετά την αντίδραση τους με το αντιοξειδωτικό παρουσία μιας παγίδας σπιν.

### 2.7.9 Μέθοδος TRAP

Η μέθοδος TRAP (Total Peroxyl Radical-Trapping Potential/ Συνολικό Δυναμικό Παγίδευσης Ριζών Υπεροξειδίου) Βασίζεται στην αντίδραση ελευθέρων ριζών υπεροξειδίου με μία ουσία, τη λουμινόλη. Το προϊόν της αντίδρασης είναι μία ρίζα λουμινόλης η οποία εκπέμπει φως (χημειοφωταύγεια) το οποίο και μετράται. Παρουσία αντιοξειδωτικών, η χημειοφωταύγεια ελαττώνεται. (Packer & Colman, 1999)

## 2.8 Φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού

Η απορρόφηση της υπεριώδους και ορατής ακτινοβολίας από τα μόρια μιας ουσίας οφείλεται σε ηλεκτρονικές διεγέρσεις. Στις διεγέρσεις αυτές τα ηλεκτρόνια μεταπίπτουν σε διαφορετική ενεργειακή κατάσταση χωρίς να αλλάζουν ηλεκτρονική στοιβάδα. Οι κυριότερες διεγέρσεις ηλεκτρονίων που συμβαίνουν στα μόρια των οργανικών μορίων είναι:



Οι διεγέρσεις αυτές εμφανίζονται στην υπεριώδη περιοχή του φάσματος. Στα μόρια, που έχουν εκτεταμένο συζυγιακό σύστημα, παρατηρούνται μετατοπίσεις των παραπάνω διεγέρσεων στα μεγαλύτερα μήκη κύματος και πολλές φορές στην ορατή περιοχή του φάσματος.

Η απορρόφηση της υπεριώδους ακτινοβολίας από τα διαλύματα των ανόργανων ενώσεων οφείλεται κυρίως σε διεγέρσεις μεταφοράς φορτίου. Αντίθετα η απορρόφηση της ορατής ακτινοβολίας οφείλεται σε διεγέρσεις των d και f ηλεκτρονίων των μεταβατικών στοιχείων.

Οι άχρωμες οργανικές ή ανόργανες ενώσεις, που δεν απορροφούν στην ορατή περιοχή του φάσματος, μπορούν να μετατραπούν σε έγχρωμες, με κατάλληλες χημικές αντιδράσεις, (π.χ. οξείδωση, σχηματισμός συμπλόκων ενώσεων κτλ.).

Οι ηλεκτρονικές διεγέρσεις συνοδεύονται από διεγέρσεις δονήσεως και περιστροφής των μορίων και από διάφορες επιδράσεις των μορίων τού διαλύτη. Για το λόγο αυτό, τα μοριακά φάσματα απορροφήσεως έχουν την μορφή ταινιών. Αντίθετα τα ατομικά φάσματα απορροφήσεως είναι γραμμωτά. (Κουιμτζής, 1982)

### 2.8.1 Νόμος των Lambert-Beer

Σε μία κυψελίδα με πάχος στοιβάδας  $l$ , περιέχεται διάλυμα μιας ουσίας με συγκέντρωση  $C$ . Στο διάλυμα προσπίπτει κάθετα στα τοιχώματα της κυψελίδας παράλληλη μονοχρωματική δέσμη που έχει ένταση  $I_0$ . Η δέσμη περνά μέσα από το διάλυμα και βγαίνει με ένταση  $I$ , ενώ ένα ποσοστό της απορροφάται από το διάλυμα. Το ποσοστό αυτό εξαρτάται από το πάχος της στοιβάδας  $l$  και από τη συγκέντρωση της ουσίας  $C$ . Επειδή η απορρόφηση μιας ακτινοβολίας συνοδεύεται και από ορισμένες ηλεκτρονικές διεγέρσεις είναι επόμενο ότι το μήκος κύματος της ακτινοβολίας και εκείνο το ποσοστό της που απορροφάται από ένα διάλυμα εξαρτώνται από τη φύση της διαλυμένης ουσίας, δηλαδή από ένα συντελεστή  $\epsilon$ . (Πολυχρονιάδου-Αλιχανίδου, 1996)

Η μαθηματική σχέση που συνδέει την ένταση της προσπίπτουσας δέσμης  $I_0$  με την ένταση εκείνης που βγαίνει από το διάλυμα  $I$ , είναι γνωστή σαν νόμος των Lambert-Beer,

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon l C} \quad (1)$$

Αν λογαριθμίσουμε τη σχέση αυτή παίρνουμε τη σχέση:

$$-\log \frac{I}{I_0} = \epsilon l C \quad (2)$$

Ο λόγος  $I/I_0$  ονομάζεται διαπερατότητα (transmittance) και συμβολίζεται με  $T$ .

Ο δεκαδικός λογάριθμος του αντίστροφου της διαπερατότητας ( $-\log T$ ) ονομάζεται οπτική πυκνότητα (optical density) και συμβολίζεται με  $D$ , ενώ η απορρόφηση (absorbance) συμβολίζεται με  $A$ . Στη διεθνή βιβλιογραφία επικράτησε τελικά ο όρος απορρόφηση. Έτσι η σχέση (2) υπάρχει και με τη μορφή:

$$A = -\log \frac{I}{I_0} = \epsilon l C \quad (3)$$

Από τη σχέση αυτή προκύπτουν:

- η απορρόφηση διαλύματος μιας ουσίας για ορισμένη συγκέντρωση και σε ορισμένο μήκος κύματος είναι γραμμική εξάρτηση τού πάχους της στοιβάδας  $l$  (νόμος του Lambert) και
- η απορρόφηση διαλύματος μιας ουσίας για ορισμένο πάχος στοιβάδας και σε ορισμένο μήκος κύματος είναι γραμμική εξάρτηση τής συγκεντρώσεως  $C$  (νόμος του Beer).

Ο νόμος του Beer αποτελεί τη βάση τής φασματοφωτομετρίας.

Ο συντελεστής  $\epsilon$  ονομάζεται μοριακός συντελεστής αποσβέσεως (molar extinction coefficient). Ο συντελεστής  $\epsilon$  παριστάνει την απορρόφηση διαλύματος μιας ουσίας, όταν η συγκέντρωσή της είναι 1 mole/L και το πάχος της στοιβάδας είναι 1 cm. Οι φυσικοχημικές διαστάσεις του  $\epsilon$  είναι  $\text{mole}^{-1} \cdot \text{cm}^2$ . Η τιμή του  $\epsilon$  εξαρτάται από τη φύση της ουσίας και από το μήκος κύματος, στο οποίο γίνεται η μέτρηση της απορροφήσεως. (Πολυχρονιάδου-Αλιχανίδου, 1996)

### **2.8.2 Φάσματα απορροφήσεως υπεριώδους-ορατού**

Η γραφική απεικόνιση της απορροφήσεως ενός διαλύματος σε σχέση με το μήκος κύματος της μονοχρωματικής δέσμης δίνει το φάσμα απορροφήσεως της διαλυμένης ουσίας. Η συγκέντρωση του διαλύματος και το πάχος της κυψελίδας εκλέγονται με τέτοιο τρόπο, ώστε οι μετρήσεις της απορροφήσεως να έχουν τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια.

Στην ποιοτική ανάλυση προτιμώνται οι καμπύλες  $\log \epsilon$  σε σχέση με το μήκος κύματος επειδή η μορφή των καμπύλων αυτών είναι ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση. Σε ορισμένες περιπτώσεις τα φάσματα δίνονται και σαν μεταβολή τής διαπερατότητας .

Σε ορισμένα φασματοφωτόμετρα διπλής δέσμης υπάρχει αυτόματη διάταξη καταγραφής της πρώτης ή της δεύτερης παραγώγου των φασμάτων απορρόφησης. Οι παράγωγοι των φασμάτων χρησιμοποιούνται τόσο στην ποιοτική, όσο και στην ποσοτική χημική ανάλυση.

Το μήκος κύματος, στο οποίο παρατηρείται το μεγαλύτερο ποσοστό απορροφήσεως, ονομάζεται μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης και συμβολίζεται με  $\lambda_{\max}$ . Η θέση που βρίσκεται το μέγιστο απορροφήσεως εξαρτάται από το ηλεκτρονικό σύστημα της ουσίας που συμμετέχει στη διέγερση. Στο  $\lambda_{\max}$  ο μοριακός συντελεστής αποσβέσεως έχει τη μέγιστη τιμή και συμβολίζεται με  $\epsilon_{\max}$ . (Orie & Lecour, 2007)

### 2.8.3 Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός

Οι φασματοφωτομετρικοί προσδιορισμοί βασίζονται στο γνωστό νόμο του Beer. Τα δείγματα, στα οποία πρόκειται να γίνει ο προσδιορισμός ενός ή περισσοτέρων συστατικών, κατεργάζονται έτσι, ώστε στο τελικό στάδιο της κατεργασίας να έχουμε διάλυμα. Ο προσδιορισμός των συστατικών στο διάλυμα αυτό γίνεται, είτε με τη βοήθεια πρότυπων διαλυμάτων, ή με μία φασματοφωτομετρική ογκομέτρηση (Buc-Calderon et al., 1990)

#### 2.8.3.1 Προσδιορισμός ενός συστατικού-καμπύλη αναφοράς

Ο φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός ενός συστατικού σε ένα διάλυμα γίνεται με τον παρακάτω τρόπο:

Παρασκευάζεται μια σειρά πρότυπων διαλυμάτων στα οποία οι συγκεντρώσεις του συστατικού είναι γνωστές. Επίσης παρασκευάζεται και ένα διάλυμα αναφοράς στο οποίο η συγκέντρωση του συστατικού είναι μηδέν. Η χημική σύσταση των πρότυπων διαλυμάτων και του διαλύματος αναφοράς πρέπει να πλησιάζει όσο το δυνατό περισσότερο στη χημική σύσταση του άγνωστου διαλύματος. Η απορρόφηση των πρότυπων διαλυμάτων μετριέται σε ένα ορισμένο μήκος κύματος σε σχέση με το διάλυμα αναφοράς. Το μήκος κύματος στο οποίο γίνονται οι μετρήσεις ονομάζεται αναλυτικό μήκος κύματος. Η γραφική παράσταση των τιμών απορρόφησης σε σχέση με τη συγκέντρωση δίνει την καμπύλη αναφοράς. Οι συγκεντρώσεις του συστατικού στα πρότυπα διαλύματα πρέπει να είναι τέτοιες, ώστε η απορρόφησή τους να κυμαίνεται από 0.2 μέχρι 0.8. Μετά γίνεται η μέτρηση της απορρόφησης στο άγνωστο διάλυμα. Η τιμή της συγκρίνεται με τις τιμές της καμπύλης αναφοράς και υπολογίζεται η άγνωστη συγκέντρωση του συστατικού στο διάλυμα. Αν η απορρόφηση στο άγνωστο διάλυμα είναι μεγαλύτερη από 0.8, το διάλυμα αραιώνεται. Αν η απορρόφηση είναι μικρότερη από 0.2, τότε γίνεται κατάλληλη ρύθμιση του οργάνου.

Στις περιπτώσεις που δεν χρειάζεται μεγάλη ακρίβεια στον προσδιορισμό της συγκεντρώσεως του συστατικού, παρασκευάζεται ένα μόνο πρότυπο διάλυμα. Έστω  $C_{\pi}$  η συγκέντρωση του πρότυπου διαλύματος και  $A_{\pi}$  η απορρόφησή του. Αν  $A_{\alpha}$  είναι η απορρόφηση του άγνωστου διαλύματος, η συγκέντρωσή του  $C_{\alpha}$  προκύπτει από τη σχέση:

$$C_{\alpha} = C_{\pi} \cdot \frac{A_{\alpha}}{A_{\pi}} \quad (4)$$

Για την εφαρμογή της σχέσεως 4 πρέπει να είναι γνωστό ότι το χημικό σύστημα υπακούει στο νόμο του Beer. (Κουιμτζής, 1982)



### Επιλογή του αναλυτικού μήκους κύματος

Η μέτρηση της απορροφήσεως των διαλυμάτων που χρησιμοποιούνται για ποσοτικούς προσδιορισμούς, γίνεται στο  $\lambda_{\max}$ . Η επιλογή του  $\lambda_{\max}$  έχει τα παρακάτω πλεονεκτήματα:

- συνήθως, στο  $\lambda_{\max}$  το εύρος της ταινίας απορροφήσεως είναι μεγάλο. Έτσι τα μικρά σφάλματα στη ρύθμιση (θέση) του επιθυμητού μήκους κύματος δεν επηρεάζουν τις μετρήσεις απορροφήσεως. Επίσης οι αποκλίσεις από το νόμο του Beer που προέρχονται από το μεγάλο εύρος της μονοχρωματικής δέσμης είναι αμελητέες,
- η ευαισθησία και η ακρίβεια των προσδιορισμών έχουν τη μέγιστη τιμή στο  $\lambda_{\max}$  και
- η επίδραση διαφόρων προσμείξεων, που μπορεί να υπάρχουν στα δείγματα ή στα αντιδραστήρια, ελαχιστοποιείται.

Όταν στο άγνωστο διάλυμα υπάρχουν και άλλες ουσίες που απορροφούν στο  $\lambda_{\max}$ , τότε εκλέγεται ένα μήκος κύματος, όπου οι απορροφήσεις των ουσιών αυτών να είναι μηδέν. Αν δεν υπάρχει τέτοιο μήκος κύματος, τότε οι ουσίες αυτές παρεμποδίζουν τον προσδιορισμό του συστατικού, και πρέπει να απομακρυνθούν. Η απομάκρυνση των παρεμποδίσσεων γίνεται συνήθως με μία από τις μεθόδους διαχωρισμού, δηλαδή εκχύλιση, ιοντοανταλλαγή, χρωματογραφία κ.α. Πολλοί προσδιορισμοί μπορούν να γίνουν χωρίς να απομακρυνθούν οι παρεμποδίσεις, αν χρησιμοποιηθεί η δεύτερη παράγωγος των φασμάτων απορροφήσεως. Με τη βοήθεια της δεύτερης παραγωγής μπορούν να γίνουν ποσοτικοί προσδιορισμοί και σε θολά διαλύματα. Στις περιπτώσεις αυτές, σαν χαρακτηριστικό μέγεθος χρησιμοποιείται η κατακόρυφη απόσταση ανάμεσα σε ένα μέγιστο και σε ένα διπλανό ελάχιστο. Η απόσταση αυτή είναι γραμμική συνάρτηση της συγκεντρώσεως. Όταν υπάρχουν πολλά ζεύγη μέγιστου-ελάχιστου, τότε χρησιμοποιείται το ζεύγος που έχει τη μεγαλύτερη απόσταση. (Κουιμτζής, 1982)

#### 2.8.3.2 Κυψελίδες

Οι κυψελίδες που χρησιμοποιούνται στα φασματοφωτόμετρα κατασκευάζονται από απλό γυαλί (ορατή περιοχή) ή από χαλαζία (υπεριώδη και ορατή περιοχή). Η επιλογή του μεγέθους και του σχήματος των κυψελίδων εξαρτάται από τη φύση και την ποσότητα του δείγματος.

Οι κυψελίδες που χρησιμοποιούνται για το διάλυμα αναφοράς και για το διάλυμα του δείγματος πρέπει να έχουν το ίδιο ακριβώς πάχος στοιβάδας και την ίδια διαπερατότητα σε όλη την περιοχή του φάσματος. Ο έλεγχος αυτός γίνεται ως εξής: Προσθέτουμε στις δύο κυψελίδες νερό ή ένα οποιονδήποτε διαλύτη. Μετά τοποθετούμε τη μία κυψελίδα στη θέση του διαλύματος αναφοράς και την άλλη στη θέση του δείγματος. Στο σημείο αυτό η ένδειξη του οργάνου πρέπει να είναι ακριβώς 100%T ή A=0 σε όλη την περιοχή του φάσματος. Οι κυψελίδες πρέπει να καθαρίζονται πριν να χρησιμοποιηθούν. Ο καθαρισμός γίνεται με απορρυπαντικό και

αποσταγμένο νερό. Αν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για οργανικούς διαλύτες, ο καθαρισμός συνεχίζεται με αλκοόλη και αιθέρα. Αν οι κυψελίδες δεν καθαρίσουν με τον τρόπο αυτό, τότε χρησιμοποιείται μείγμα πυκνού υδροχλωρικού οξέος και αιθανόλης 1:1, ή θερμό νιτρικό οξύ. Αν παρόλα αυτά οι κυψελίδες δεν καθαρίσουν τότε βυθίζονται σε χρωμοθειϊκό οξύ για μικρό χρονικό διάστημα. (Κουιμτζής, 1982)

#### 2.8.4 Εφαρμογές της φασματοφωτομετρίας UV-Vis

Η φασματοφωτομετρία υπεριώδους-ορατού έχει πολλές εφαρμογές, τόσο στην ποιοτική όσο και στην ποσοτική ανάλυση. Έτσι η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται στη διευκρίνιση της δομής των μορίων, στην ταυτοποίηση ουσιών, στον ποσοτικό προσδιορισμό ανόργανων και οργανικών ενώσεων, στην μελέτη της κινητικής των αντιδράσεων, στην μελέτη της χημικής ισορροπίας των αμφίδρομων αντιδράσεων κ.ά. Οι ποσοτικοί προσδιορισμοί βασίζονται στα φάσματα απορρόφησης. Σαν χαρακτηριστικά μεγέθη χρησιμοποιούνται η θέση του  $\lambda_{\text{max}}$  και η τιμή του  $\epsilon_{\text{max}}$ . Όταν υπάρχουν και οι παράγωγοι των φασμάτων απορρόφησης, τότε σαν χαρακτηριστικά μεγέθη χρησιμοποιούνται τα μήκη κύματος των μέγιστων - ελάχιστων και η ποσοτική σχέση ανάμεσα στα μέγιστα και στα ελάχιστα.

Η χρησιμοποίηση των φασμάτων απορρόφησης υπεριώδους-ορατού στη διευκρίνιση της δομής των μορίων και στην ταυτοποίηση των ουσιών δεν είναι τόσο εκτεταμένη, όσο άλλων φασματοσκοπικών μεθόδων π.χ. IR και NMR. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, οι ταινίες απορρόφησης που οφείλονται στις ηλεκτρονικές διεγέρσεις διευρύνονται από τις διεγέρσεις ταλαντώσεως και περιστροφής των μορίων. Σε πολλές όμως περιπτώσεις τα φάσματα αυτά είναι απαραίτητα για την επιβεβαίωση δομών, που βρίσκονται με άλλες μεθόδους. Με τα φάσματα αυτά μπορεί να γίνει:

- διάκριση ανάμεσα σε συζυγικά συστήματα.
- διαπίστωση ταυτομερών δομών.
- ταυτοποίηση μίας ουσίας.

Οι ποσοτικοί προσδιορισμοί των διαφόρων ουσιών βασίζονται στο νόμο του Beer. Ο φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός μιας ουσίας παρουσιάζει δυσκολίες, όταν στο δείγμα συνυπάρχουν και άλλες ουσίες με παρόμοια φάσματα απορρόφησης ή ο μοριακός συντελεστής αποσβέσεως της ουσίας είναι πολύ μικρός. Στις περιπτώσεις αυτές συνήθως χρησιμοποιούνται ειδικά αντιδραστήρια τα οποία μετατρέπουν την ουσία σε μία άλλη που απορροφά σε διαφορετική περιοχή του φάσματος, και έχει μεγάλο μοριακό συντελεστή αποσβέσεως. Με τον τρόπο αυτό προσδιορίζονται σχεδόν όλα τα στοιχεία και πάρα πολλές οργανικές ενώσεις. (Πολυχρονιάδου-Αλιχανίδου, 1996)

### **3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι ο προσδιορισμός των ολικών φαινολικών συστατικών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας αφεψήματος διαφόρων ειδών σιδερίτη (*S. syriaca*, *S. raeseri*, *S. euboea*, *S. scardica*) καθώς και ο προσδιορισμός των ολικών φαινολικών συστατικών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας του εμπορικού «αναψυκτικού» tunyhu που παρασκευάζεται από εταιρεία της περιοχής και η σύγκριση μεταξύ τους. Για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών συστατικών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Folin-Ciocalteu, ενώ για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας οι μέθοδοι DPPH και ABTS. Παράλληλα στόχος της εργασίας είναι και η εύρεση της μεθόδου προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης (μεταξύ ABTS και DPPH) η οποία συσχετίζεται καλύτερα με το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (Folin-Ciocalteu).

### **4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

#### **4.1 Δείγμα Σιδερίτη**

Στην παρούσα έρευνα εξετάστηκε δείγμα Σιδερίτη (*Sideritis scardica*, *Sideritis syriaca*, *Sideritis raeseri*, *Sideritis euboea*). Η παρασκευή του δείγματος ακολούθησε την εξής διαδικασία: 2,5g Σιδερίτη τοποθετήθηκαν σε 100 mL απεσταγμένου νερού σε θερμοκρασία βρασμού και ο βρασμός συνεχίστηκε για ακριβώς 3 λεπτά.

Αναλυτικά, τρία δείγματα Σιδερίτη παρασκευάστηκαν με ανοιχτό βρασμό, για την κάθε μέθοδο, και συμπληρώθηκε η απώλεια του απεσταγμένου νερού κατά το βρασμό μέχρι όγκου 100 mL.

#### **4.2 Δείγμα «αναψυκτικού»**

Χρησιμοποιήθηκαν 15 δείγματα «αναψυκτικού», 5 Lot Number ανά μέθοδο. Τα δείγματα φυλάσσονταν στους 4 °C μέχρι την χρησιμοποίησή τους.

#### **4.3 Αντιδραστήρια**

Κατά την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα αντιδραστήρια :

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  1%
- Τρυγικό Κ – Na 2%
- $\text{Na}_2\text{CO}_3$
- NaOH
- Folin – Ciocalteu
- ABTS
- DPPH
- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$
- Γαλλικό οξύ

- Τροlox
- Αιθανόλη
- Απεσταγμένο νερό

#### **4.4 Όργανα**

- Συσκευή ανάδευσης, Framo-geratechnik, M21/1
- Αναλυτικός ζυγός, Electronic Balance, ER-18 OA
- Μικροπιπέτες των 5-50  $\mu\text{L}$ , 50-200  $\mu\text{L}$  και 100-1000  $\mu\text{L}$  Socorex
- Υδατόλουτρο, Grant GR ISO
- Φασματοφωτόμετρο, Thermo Electron Corporation NICOLET evolution 100

#### **4.5 Σκεύη**

- Κωνικές φιάλες των 100 mL
- Ογκομετρικές φιάλες των 50, 100 mL και του 1 L
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Σιφώνια πληρώσεως των 1, 5, 10 mL
- Ποτήρια ζέσεως των 50, 100 και 250 mL
- Κυψελίδες χαλαζία
- Γυάλινη ράβδος
- Σπάτουλα

#### **4.6 Πειραματική Διαδικασία**

##### **4.6.1 Μέθοδος ποσοτικού προσδιορισμού φαινολικών ουσιών (Follin–Ciocalteu)**

Το σύνολο των φαινολικών ενώσεων ενός εκχυλίσματος προσδιορίζεται συνήθως με χρωματομετρικές μεθόδους. Αν και κανένα αντιδραστήριο δε δίνει με τις επιμέρους φαινολικές ενώσεις προϊόντα που να εμφανίζουν το ίδιο μέγιστο μήκος απορρόφησης, η μέθοδος που στηρίζεται στο αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu είναι η πλέον αποδεκτή.

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην οξειδωση του συνόλου των φαινολικών συστατικών, σε αλκαλικό περιβάλλον από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Το αντιδραστήριο αυτό αποτελείται από ένα μίγμα φωσφοροβολφραϊμικού οξέος ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ), το οποίο ανάγεται κατά την οξειδωση των φαινολών, σε μίγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου ( $\text{W}_8\text{O}_{23}$ ) και του μολυβδαινίου ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). Το κυανό χρώμα που προκύπτει παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750 nm, και έτσι είναι ανάλογο της

συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών. Οι φαινόλες που προσδιορίζονται με τη μέθοδο αυτή εκφράζονται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος. (Tsimidou et al., 1992)

Δεδομένου ότι η μέθοδος αυτή μετράει το σύνολο των φαινολών η επιλογή του γαλλικού οξέος ως πρότυπο βασίζεται στη διαθεσιμότητα μιας καθαρής και σταθερής ουσίας και το γαλλικό οξύ τηρεί και τους δύο αυτούς παράγοντες και είναι σχετικά φθηνό. Επίσης έχει εξεταστεί η σταθερότητα των πρότυπων γαλλικών διαλυμάτων και έχει αποδειχτεί ότι αυτά χάνουν λιγότερο από το 5% της αξίας του σε χρονικό διάστημα άνω των δύο εβδομάδων, όταν διατηρούνται στεγανά κλεισμένα στο ψυγείο.

#### **4.6.1.1 Προετοιμασία αντιδραστηρίων**

Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς και της ανάλυσης των δειγμάτων με τη μέθοδο Folin - Ciocalteu παρασκευάστηκαν τα παρακάτω διαλύματα:

- Solution 1

Για την παρασκευή αυτού του διαλύματος χρειάζονται:

1 mL διαλύματος (A)

1 mL διαλύματος (B)

98 mL διαλύματος (C)

(A) →  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  1%

Σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL προστίθεται 0,5 g στερεού  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  1% και συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με απεσταγμένο νερό.

(B) → Τρυγικό K – Na 2%

Σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL προστίθεται 1,0 g τρυγικού K-Na και συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με απεσταγμένο νερό.

(C) → Σε ογκομετρική φιάλη του 1 L προστίθενται 20 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  και 4 g NaOH. Κατόπιν συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με απεσταγμένο νερό.

- Folin – Ciocalteu

Πυκνό αντιδραστήριο Folin–Ciocalteu αραιώνεται με απεσταγμένο νερό σε αναλογία 1:1 σε ογκομετρική φιάλη των 200 mL.

- Πυκνό διάλυμα Γαλλικού οξέος ( $C_7H_6O_5$ )

Σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL προστίθονται 0,5 g γαλλικού οξέος ξηρής μορφής και 10 mL αιθυλικής αλκοόλης ( $CH_3-CH_2-OH$ ), ώστε να διαλυθεί το γαλλικό οξύ. Μετά από καλή ανάδευση η φιάλη συμπληρώνεται μέχρι την χαραγή με απεσταγμένο νερό.

#### **4.6.1.2 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς**

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα γαλλικού οξέος. Οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν, επιλέχθηκαν μετά από μια σειρά υπολογισμών και δοκιμών της αντίδρασης σε δείγμα Σιδερίτη. Συνοπτικά η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

Σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL προστέθηκαν 0,5 g γαλλικού οξέος ξηρής μορφής και 10 mL αιθυλική αλκοόλη, ώστε να διαλυθεί το γαλλικό οξύ. Μετά από καλή ανάδευση συμπληρώθηκε η φιάλη με απεσταγμένο νερό μέχρι τη χαραγή.

Από το πυκνό διάλυμα γαλλικού οξέος, με κατάλληλες αραιώσεις, παρασκευάστηκαν έξι πρότυπα αραιωμένα διαλύματα γαλλικού οξέος με συγκεντρώσεις 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, 200 mg/L, 250 mg/L και 300 mg/L, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς.

Από τα έξι πρότυπα αραιωμένα διαλύματα γαλλικού οξέος, ελήφθησαν ποσότητες 0,5 mL και τοποθετήθηκαν σε έξι δοκιμαστικούς σωλήνες. Κατόπιν προστέθηκαν 2,5 mL από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu σε κάθε σωλήνα και ακολούθησε έντονη ανάδευση. Μετά το πέρασ 10 min προστέθηκαν 2 mL Solution 1 και ακολούθησε ξανά έντονη ανάδευση.

Στη συνέχεια οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 50 °C για 5 min. Μετά την παρέλευση των 5 min έγινε ψύξη αυτών με κρύο νερό και συγχρόνως έντονη ανάδευση. Μετά την ψύξη ακολούθησε η μέτρηση της απορρόφησης των διαλυμάτων με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου στα 760 nm. Ο μηδενισμός του οργάνου έγινε με τυφλό δείγμα το οποίο παρασκευάστηκε με τον ίδιο ακριβώς τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω με την μόνη διαφορά ότι στη θέση του γαλλικού οξέος προστέθηκε ίση ποσότητα απεσταγμένου νερού.

Κατόπιν κατασκευάστηκε η γραφική παράσταση συγκεντρώσεων των διαλυμάτων συναρτήσει των απορροφήσεων που μετρήθηκαν, η οποία αποτελεί την πρότυπη καμπύλη αναφοράς για τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.

#### 4.6.1.3 Διαδικασία ανάλυσης δειγμάτων

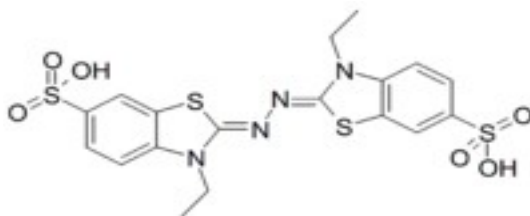
Για τη ανάλυση των δειγμάτων ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία: 2,5 g Σιδερίτη τοποθετήθηκαν σε 100 mL απεσταγμένου νερού σε θερμοκρασία βρασμού και ο βρασμός συνεχίστηκε για ακριβώς 3 λεπτά. Ο βρασμός ήταν ανοιχτός και η απώλεια απεσταγμένου νερού κατά το βρασμό, συμπληρώθηκε μέχρι όγκου 100 mL. Σε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 0,5mL από το πυκνό αφέψημα που παρασκευάστηκε (δείγμα) και 2,5 mL από το αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu. Ακολούθησε έντονη ανάδευση. Μετά την παραμονή 10 min, προστέθηκαν στον σωλήνα 2 mL διαλύματος Solution 1 και ακολούθησε έντονη ανάδευση. Στη συνέχεια οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 50 °C για 5min. Ακολούθησε ψύξη του δείγματος με κρύο νερό και συγχρόνως ανάδευση και μέτρηση της απορρόφησής του στα 760 nm.

Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν για 3 δείγματα Σιδερίτη και 5 δείγματα «αναψυκτικού» tununu.

Ο μηδενισμός του οργάνου έγινε με το τυφλό δείγμα το οποίο παρασκευάστηκε με τον ίδιο ακριβώς τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω με τη μόνη διαφορά ότι στη θέση του δείγματος προστέθηκε ίδια ποσότητα απεσταγμένου νερού.

#### 4.6.2 Μέθοδος προσδιορισμού αντιοξειδωτικής ικανότητας (ABTS)

Το αντιδραστήριο αυτής της μεθόδου είναι το 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid). Με οξείδωση αυτού του αντιδραστηρίου παράγει κατιόν ABTS<sup>+</sup>, το οποίο έχει έντονο γαλαζοπράσινο χρώμα. Ο συντακτικός τύπος του φαίνεται στην **Εικόνα 10**.



**Εικόνα 10.** Συντακτικός τύπος ABTS<sup>+</sup>.

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στον αποχρωματισμό του παραπάνω σχηματιζόμενου ριζικού κατιόντος  $ABTS^+$ , ο οποίος προκαλείται με την προσθήκη ενός δείγματος που περιέχει φαινολικό παράγοντα, λόγω της απομάκρυνσης των ελεύθερων ριζών.

Το  $ABTS^+$  μπορεί να παραχθεί είτε από χημική αντίδραση π.χ. με διοξειδίο του μαγγανίου ( $MnO_2$ ), με υπερθειικό κάλιο ( $K_2S_2O_8$ ) ή από ενζυμικές αντιδράσεις (π.χ. μεθυσσφαιρίνη, αιμοσφαιρίνη). Γενικά η χημική αντίδραση απαιτεί πολύ χρόνο (μέχρι και 16 ώρες για την παραγωγή υπερθειικού καλίου) ή υψηλές θερμοκρασίες, ενώ οι ενζυμικές αντιδράσεις είναι ταχύτερες και οι συνθήκες αντίδρασης ηπιότερες.

Η μέγιστη απορρόφηση του  $ABTS^+$  αποδείχτηκε ότι είναι σε μήκη κύματος 415, 645, 734 και 815 nm. Τα μήκη κύματος, τα οποία επιλέχτηκαν από τους περισσότερους ερευνητές για να ελέγξουν φασματοφωτομετρικά την αντίδραση μεταξύ των αντιοξειδωτικών και του  $ABTS^+$  είναι 415 και 734 nm.

Εκτός από το αντιδραστήριο Trolox έχει βρεθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί και το γαλλικό οξύ. Σύμφωνα με έρευνες που έχουν γίνει, τα αντιδραστήρια Trolox και γαλλικό οξύ, σαν πρότυπα αντιδραστήρια σ' αυτή τη μέθοδο, είναι παρόμοια θεωρώντας ότι το Trolox είναι μια μονοφαινόλη και το γαλλικό οξύ μια τριφαινόλη (Minussi et al., 2003).

#### **4.6.2.1 Προετοιμασία αντιδραστηρίων**

Για την ανάλυση των δειγμάτων με τη μέθοδο ABTS παρασκευάστηκαν τα παρακάτω διαλύματα:

- Πυκνό διάλυμα ABTS

Σε αναλυτικό ζυγό ζυγίζονται 0,036 g  $ABTS^+$  και 0,0066 g  $K_2S_2O_8$ . Κατόπιν διαλύονται σε ποτήρι ζέσεως με 20 mL απεσταγμένο νερό, αναδεύοντας πολύ καλά. Στη συνέχεια μεταγγίζονται σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL, η οποία συμπληρώνεται με απεσταγμένο νερό μέχρι την χαραγή και το διάλυμα τοποθετείται στο σκοτάδι για 12-16 ώρες.

- Αραιό διάλυμα ABTS

Μετρίεται η απορρόφηση του πυκνού διαλύματος στα 734 nm και αραιώνεται με αιθανόλη έως ότου δώσει απορρόφηση περίπου 0,7 μονάδες.



#### **4.6.2.2 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης**

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα Trolox. Πρότυπα διαλύματα Trolox κατασκευάστηκαν με συγκεντρώσεις 100 μM, 200 μM, 300 μM, 400 μM, 500 μM, 600 μM, 700 μM, 800 μM, 900 μM και 1000 μM, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς.

Στην συνέχεια, σε 11 δοκιμαστικούς σωλήνες (ο ένας περιείχε το λευκό) τοποθετήθηκαν 100 μL Trolox και 3,9 mL αραιού διαλύματος ABTS. Ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης των διαλυμάτων με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου στα 734 nm.

Κατόπιν κατασκευάστηκε η γραφική παράσταση συγκεντρώσεων των διαλυμάτων συναρτήσει των απορροφήσεων που μετρήθηκαν, η οποία αποτελεί την πρότυπη καμπύλη αναφοράς για την μέθοδο ABTS

#### **4.6.2.3 Διαδικασία ανάλυσης δειγμάτων**

Η απορρόφηση των δειγμάτων, δεν ενέπιπτε εντός των ορίων της πρότυπης καμπύλης. Έτσι, έπειτα από διαδοχικές δοκιμαστικές αραιώσεις, η αραιώση 1:4 κρίθηκε κατάλληλη και επιλέχθηκε να εφαρμοστεί σε όλα τα δείγματα. Η αραιώση πραγματοποιήθηκε ως εξής:

Σε 3 ογκομετρικές φιάλες των 50 mL έγινε αραιώση τόσο των 4 δειγμάτων Σιδερίτη, όσο και των 5 δειγμάτων «αναψυκτικού», σε συγκέντρωση 1:4 και συμπλήρωση μέχρι την χαραγή με απεσταγμένο νερό. Χρησιμοποιήθηκε η σχέση αραιώσης  $C_1 * V_1 = C_2 * V_2$

Αφού έγιναν οι απαιτούμενες αραιώσεις (1:4) σε όλα τα δείγματα Σιδερίτη και «αναψυκτικού», ακολούθησε η παρακάτω διαδικασία:

Σε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 100 μL του κάθε αραιωμένου δείγματος και 3,9 mL αραιού διαλύματος ABTS. Στη συνέχεια ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης σε UV στα 734 nm.

Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν για 4 δείγματα Σιδερίτη και 5 δείγματα «αναψυκτικού» τυνunu.

Ο μηδενισμός του οργάνου έγινε με το τυφλό δείγμα το οποίο παρασκευάστηκε με τον ίδιο ακριβώς τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω με τη μόνη διαφορά ότι στη θέση του δείγματος προστέθηκε ίδια ποσότητα αιθανόλης.

### **4.6.3 Μέθοδος προσδιορισμού αντιοξειδωτικής ικανότητας (DPPH)**

Τα αντιοξειδωτικά συστατικά του Σιδερίτη δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH (1,1 διφαινυλο-2-πικρυλυδραζυλικής ρίζας) και η μείωσή της ελέγχεται με τη μείωση της απορρόφησης στα 517 nm. Το χρώμα από ιώδες στο αρχικό διάλυμα, μετατρέπεται σε κίτρινο, όταν όλο το ποσό της ελεύθερης ρίζας έχει δεσμευτεί από τα αντιοξειδωτικά του δείγματος.

#### **4.6.3.1 Προετοιμασία αντιδραστηρίων**

Για την ανάλυση των δειγμάτων με τη μέθοδο DPPH παρασκευάστηκαν τα παρακάτω διαλύματα:

- Πυκνό stock-διάλυμα DPPH με αιθανόλη

Ζυγίζονται 0,0197 g με ακρίβεια 4<sup>ου</sup> δεκαδικού ψηφίου και διαλύονται με αιθανόλη σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL. Η φιάλη συμπληρώνεται με αιθανόλη μέχρι την χαραγή). Η συγκέντρωση του πυκνού διαλύματος DPPH είναι 0,5 mM.

- Αραιό διάλυμα DPPH με αιθανόλη

Από το παραπάνω πυκνό αιθανολικό διάλυμα DPPH λαμβάνονται 5 mL και προστίθεται αιθανόλη μέχρις ότου προκύψει τελικό διάλυμα που να δίνει απορρόφηση UV στα 517 nm, 0,7 μονάδες.

#### **4.6.3.2 Κατασκευή πρότυπης καμπύλης**

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα Trolox. Πρότυπα διαλύματα Trolox κατασκευάστηκαν με συγκεντρώσεις 100 μM, 200 μM, 300 μM, 400 μM, 500 μM, 600 μM, 700 μM, 800 μM και 900 μM, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς.

Στην συνέχεια, σε 10 δοκιμαστικούς σωλήνες (ο ένας περιείχε το λευκό) τοποθετήθηκαν 100 μL Trolox και 3,9 mL αραιού διαλύματος DPPH. Ακολούθησε ισχυρή ανάδευση και τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε σκοτεινό μέρος για 30 λεπτά. Κατόπιν, έγινε μέτρηση της απορρόφησης των διαλυμάτων με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου στα 517 nm.

Κατόπιν κατασκευάστηκε η γραφική παράσταση συγκεντρώσεων των διαλυμάτων συναρτήσει των απορροφήσεων που μετρήθηκαν, η οποία αποτελεί την πρότυπη καμπύλη αναφοράς για την μέθοδο DPPH.

#### **4.6.3.3 Διαδικασία ανάλυσης δειγμάτων**

Η απορρόφηση των δειγμάτων, δεν ενέπιπτε εντός των ορίων της πρότυπης καμπύλης. Έτσι, έπειτα από διαδοχικές δοκιμαστικές αραιώσεις, η αραιώση 1:4 κρίθηκε κατάλληλη και επιλέχθηκε να εφαρμοστεί σε όλα τα δείγματα. Η αραιώση πραγματοποιήθηκε ως εξής:

Σε ογκομετρικές φιάλες των 50 mL έγινε αραιώση τόσο των 4 δειγμάτων Σιδερίτη, όσο και των 5 δειγμάτων «αναψυκτικού», σε συγκέντρωση 1:4 και συμπλήρωση μέχρι την χαραγή με απεσταγμένο νερό. Χρησιμοποιήθηκε η σχέση αραιώσης  $C_1 * V_1 = C_2 * V_2$

Αφού έγιναν οι απαιτούμενες αραιώσεις (1:4) σε όλα τα δείγματα Σιδερίτη και «αναψυκτικού», ακολούθησε η παρακάτω διαδικασία:

Σε δοκιμαστικό σωλήνα προστέθηκαν 100  $\mu$ L του κάθε αραιωμένου δείγματος και 3,9 mL αραιού διαλύματος DPPH. Ακολούθησε ισχυρή ανάδευση με vortex και τοποθέτηση σε σκοτεινό μέρος για 30 λεπτά. Στη συνέχεια ακολούθησε μέτρηση της απορρόφησης σε UV στα 517 nm.

Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν για 4 δείγματα Σιδερίτη και 5 δείγματα «αναψυκτικού» τυνunu.

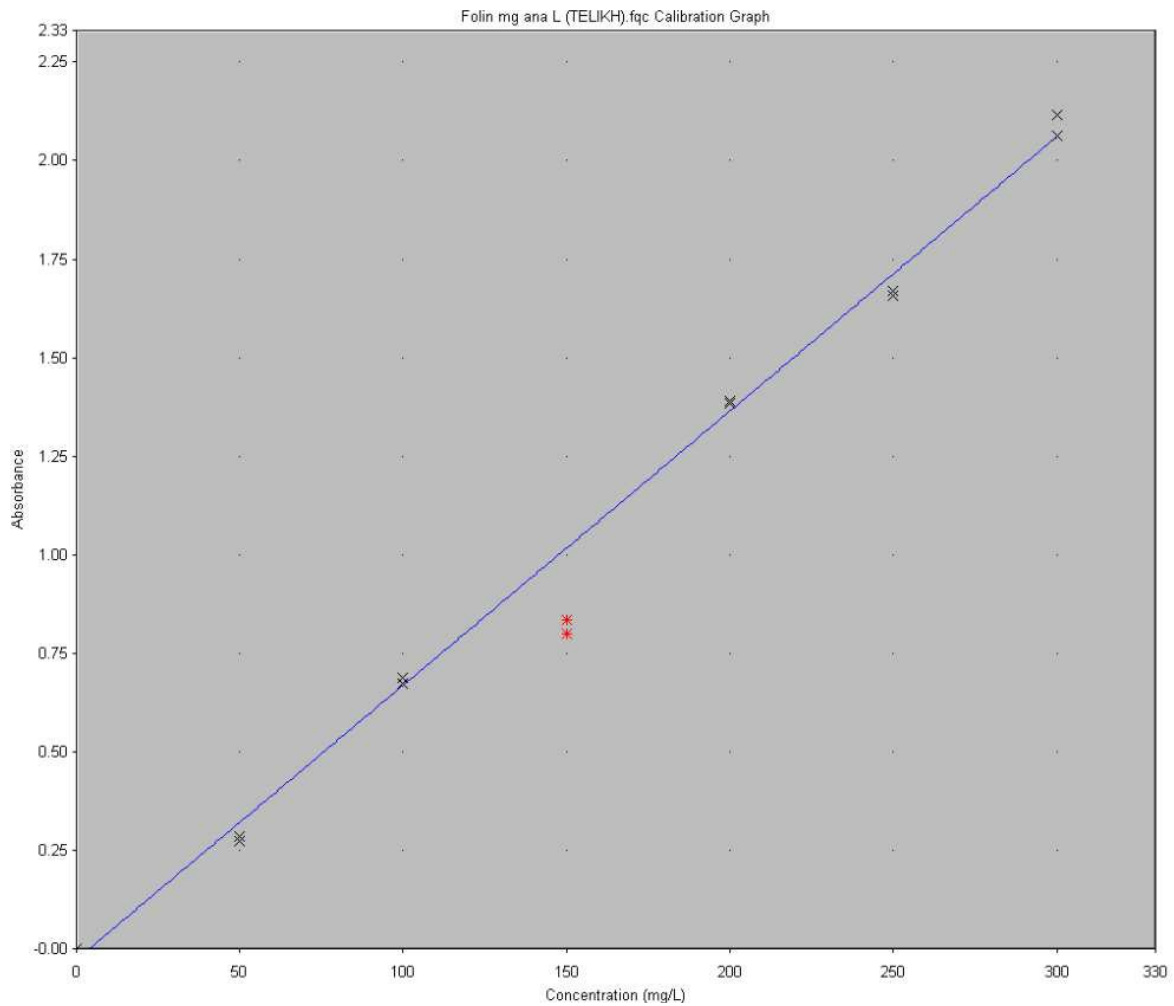
Ο μηδενισμός του οργάνου έγινε με το τυφλό δείγμα το οποίο παρασκευάστηκε με τον ίδιο ακριβώς τρόπο που περιγράφηκε παραπάνω με τη μόνη διαφορά ότι στη θέση του δείγματος προστέθηκε ίδια ποσότητα αιθανόλης

## **5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

### **5.1 Αποτελέσματα**

#### **5.1.1 Πρότυπη καμπύλη Folin-Ciocalteu**

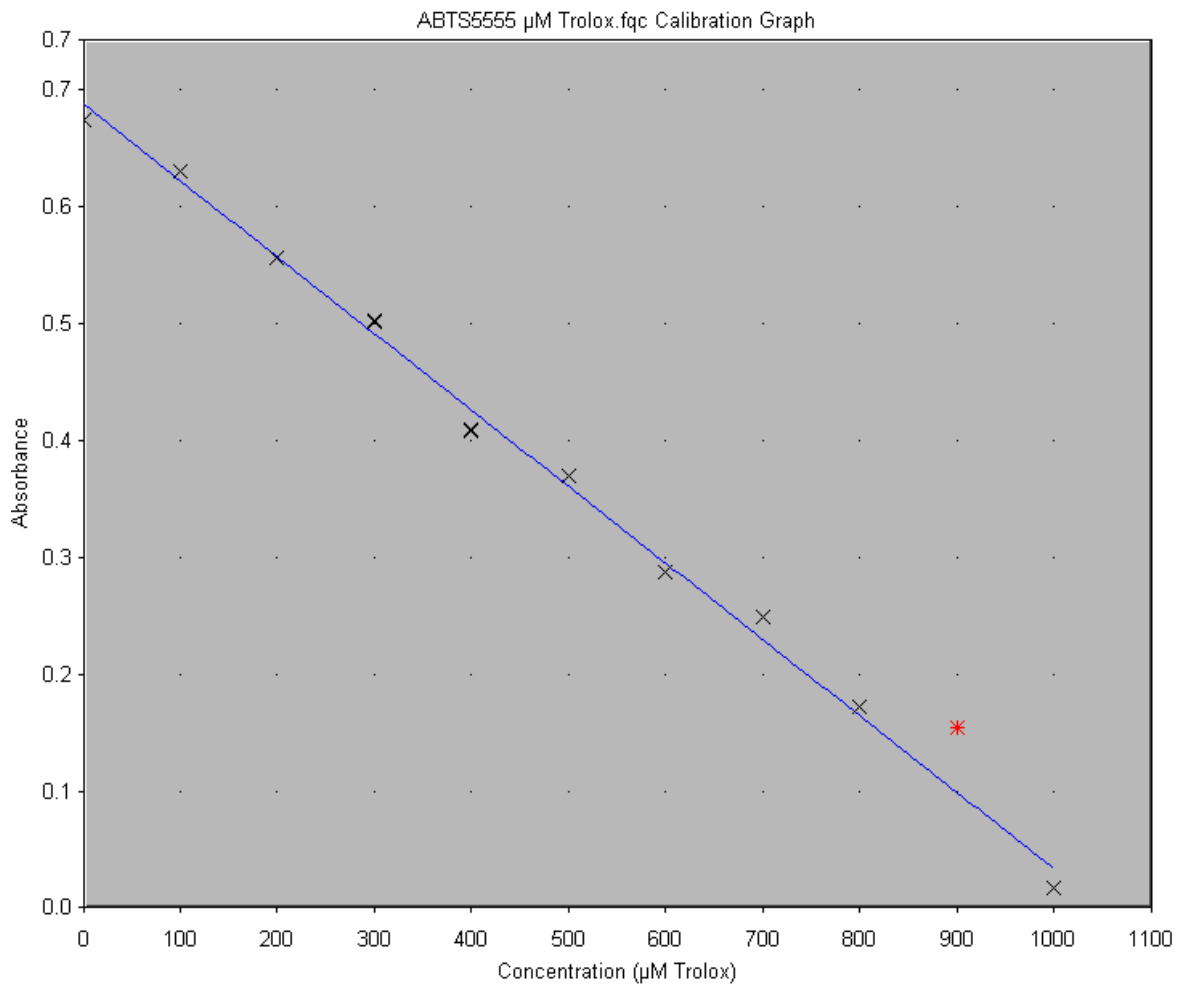
Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης (**Εικόνα 11**), όπως αναφέρθηκε, έγινε μέτρηση της απορρόφησης διαφορετικών συγκεντρώσεων γαλλικού οξέος στα 760 nm με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου.



**Εικόνα 11.** Πρότυπη καμπύλη Folin-Ciocalteu.

### 5.1.2 Πρότυπη καμπύλη ABTS

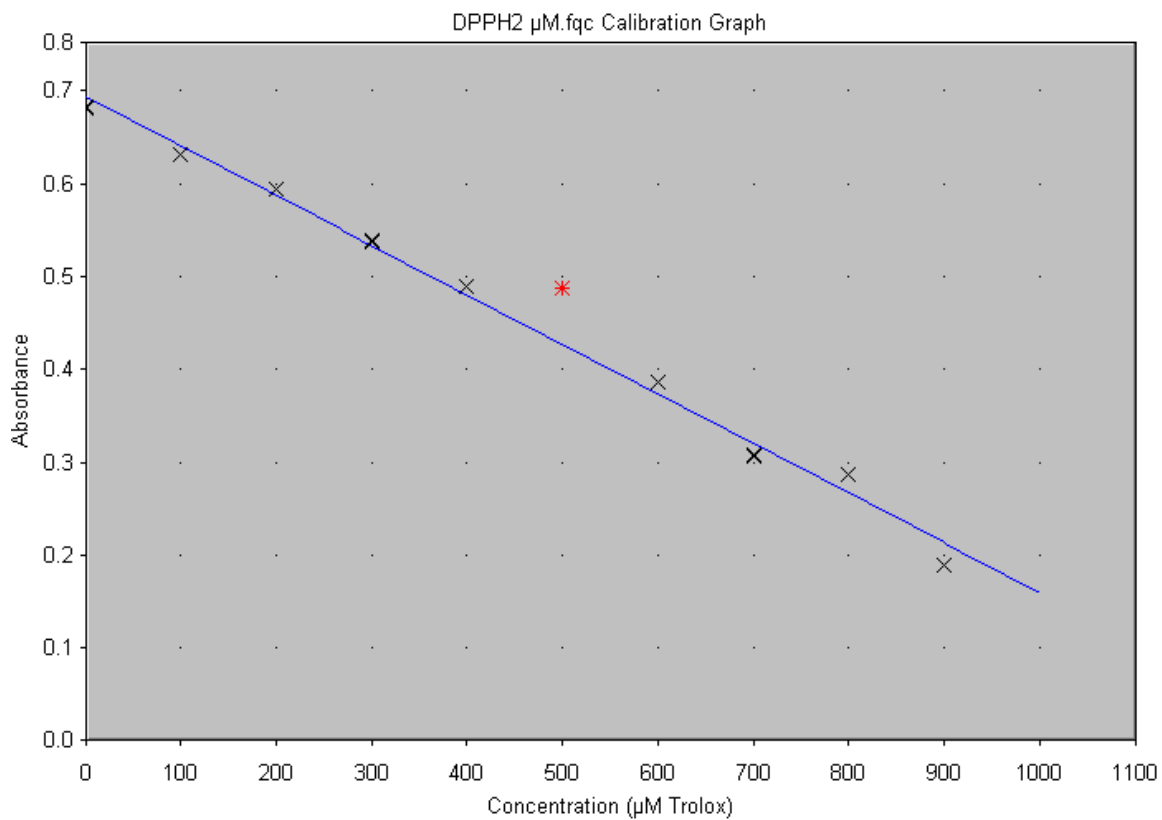
Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης (**Εικόνα 12**), όπως αναφέρθηκε, έγινε μέτρηση της απορρόφησης διαφορετικών συγκεντρώσεων Trolox στα 734 nm με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου.



**Εικόνα 12.** Πρότυπη καμπύλη ABTS

### 5.1.3 Πρότυπη καμπύλη DPPH

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης (**Εικόνα 13**), όπως αναφέρθηκε, έγινε μέτρηση της απορρόφησης διαφορετικών συγκεντρώσεων Trolox στα 517 nm με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου.

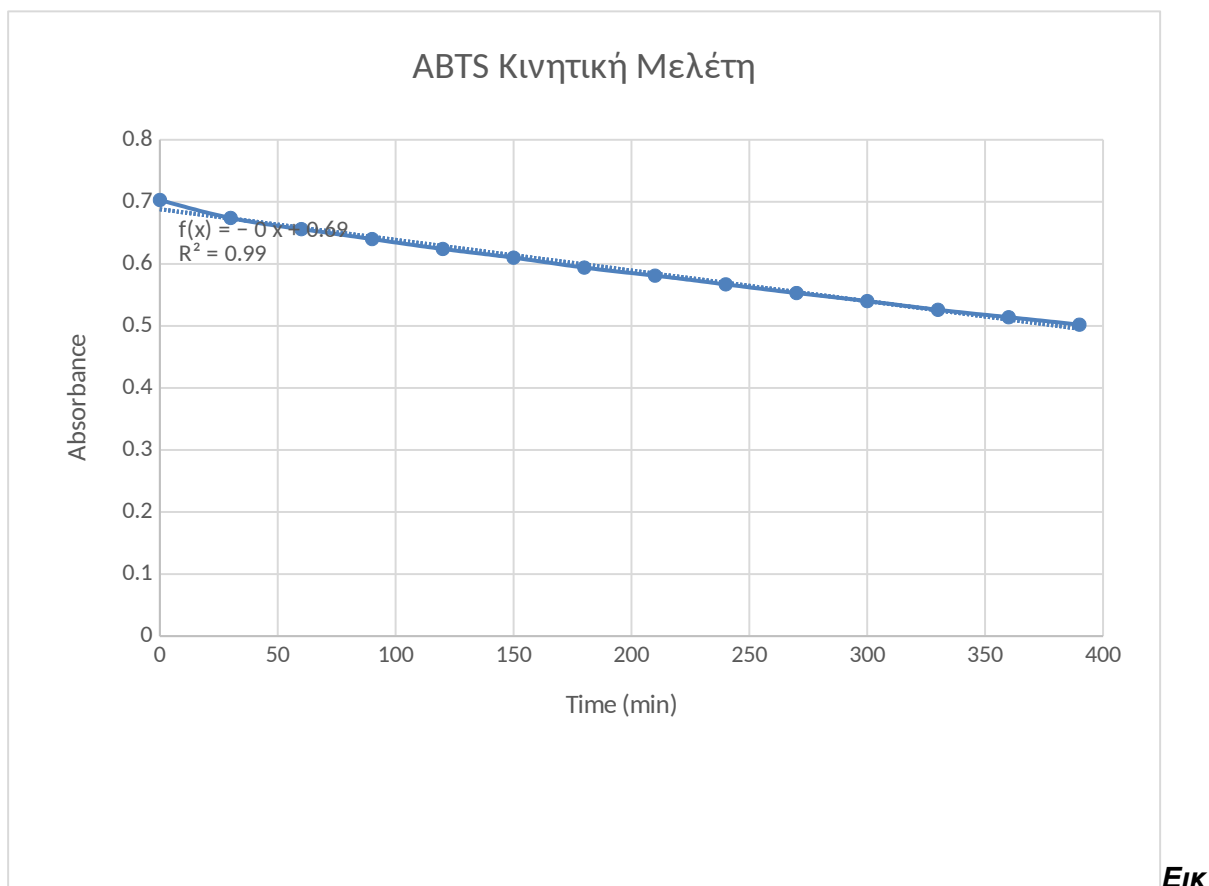


**Εικόνα 13.** Πρότυπη καμπύλη DPPH.

## 5.2 Κινητική Μελέτη

Χρειάζεται να εξετάσουμε τη σταθερότητα των αντιδραστηρίων που θα χρησιμοποιήσουμε. Το Folin-Ciocalteu είναι πολύ σταθερό στον χρόνο και για αυτό δεν χρειάζεται κάποια κινητική μελέτη.

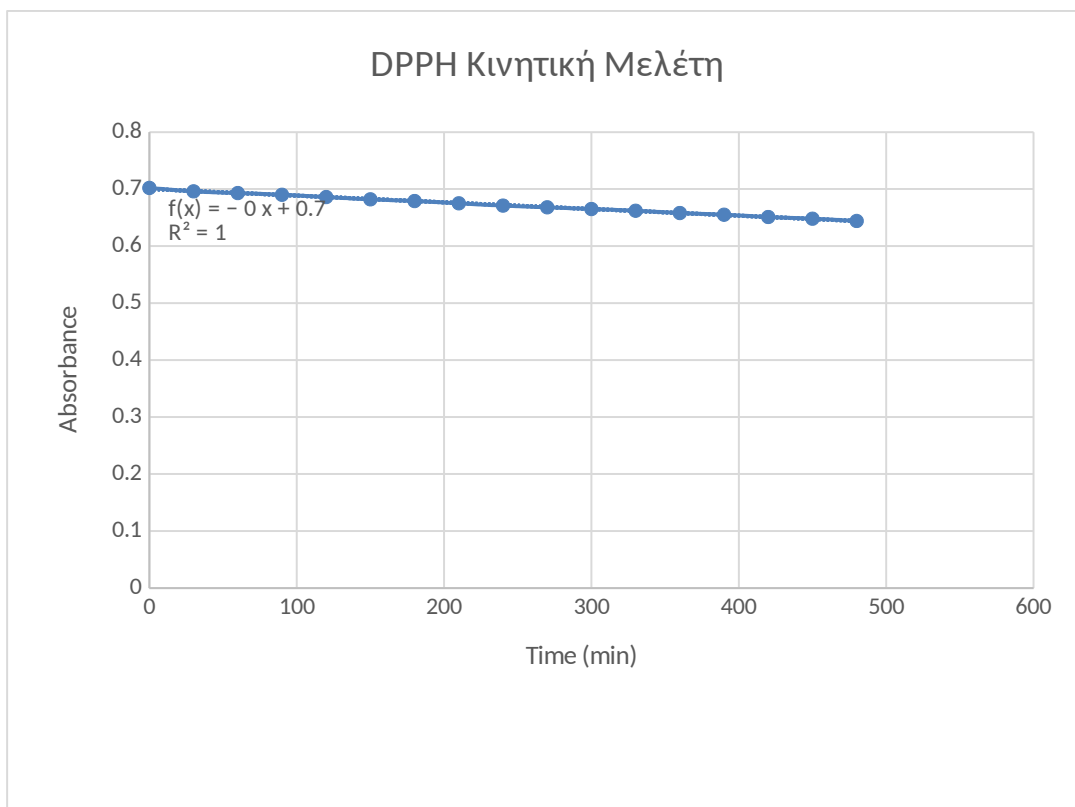
### 5.2.1 ABTS



**όνα 14.**Κινητική μελέτη της σταθερότητας του αντιδραστηρίου ABTS

Για το ABTS φάνηκε ότι μετά την αραίωση το διάλυμα πρέπει να χρησιμοποιηθεί γρήγορα. Η απορρόφηση μειώνεται με το χρόνο.

### 5.2.2 DPPH



**Εικόνα 15.** Κινητική μελέτη σταθερότητας του αντιδραστηρίου DPPH

Το αραιωμένο διάλυμα DPPH μειώνεται με το χρόνο αλλά είναι πιο σταθερό από το αραιωμένο διάλυμα ABTS. Επομένως, μπορεί να χρησιμοποιηθεί περισσότερο από το διάλυμα του ABTS.

### 5.3 Αποτελέσματα ανάλυσης δειγμάτων

#### 5.3.1 Μέθοδος Folin-Ciocalteu

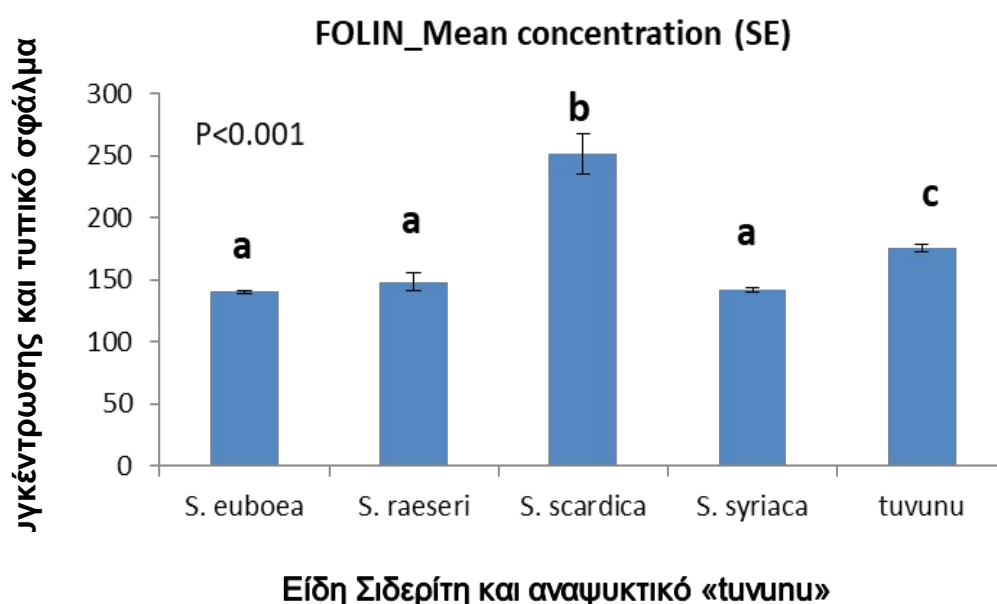
Τα αποτελέσματα των αναλύσεων με την μεθόδο Folin–Ciocalteu φαίνονται στον παρακάτω Πίνακα 4.

Δείγμα	Συγκέντρωση (mg/L) (μέσος όρος 9)	SE (Τυπικό σφάλμα)



	επαναλήψεων)	
S. euboea	140,2	1,3
S. raeseri	148,3	7,1
S. scardica	251,5	15,9
S. syriaca	141,6	1,9
tuvunu	175,6	2,7

**Πίνακας 4.** Αποτελέσματα προσδιορισμού φαιολικών ουσιών σε δείγματα Σιδερίτη και «αναψυκτικού» με Σιδερίτη και τυπικό σφάλμα.



**Εικόνα16.** Μέσος όρος συγκεντρώσεων και τυπικό σφάλμα δειγμάτων με αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu

Η στατιστική ανάλυση με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu μας έδειξε ότι : οι S.euboea – S. scardica και S.euboea – αναψυκτικό tuvunu διαφέρουν σημαντικά.

Επίσης στατιστική σημαντική διαφορά παρουσιάζουν οι S.raeseri - S.scardica και S.raeseri – tuvunu.

Ο S.scardica παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με όλα τα άλλα είδη Sideriti και με το αναψυκτικό «tuvunu».

Ο S.syriaca παρουσίασε σημαντική στατιστική διαφορά με τους S.scardica και το αναψυκτικό «tuvunu».

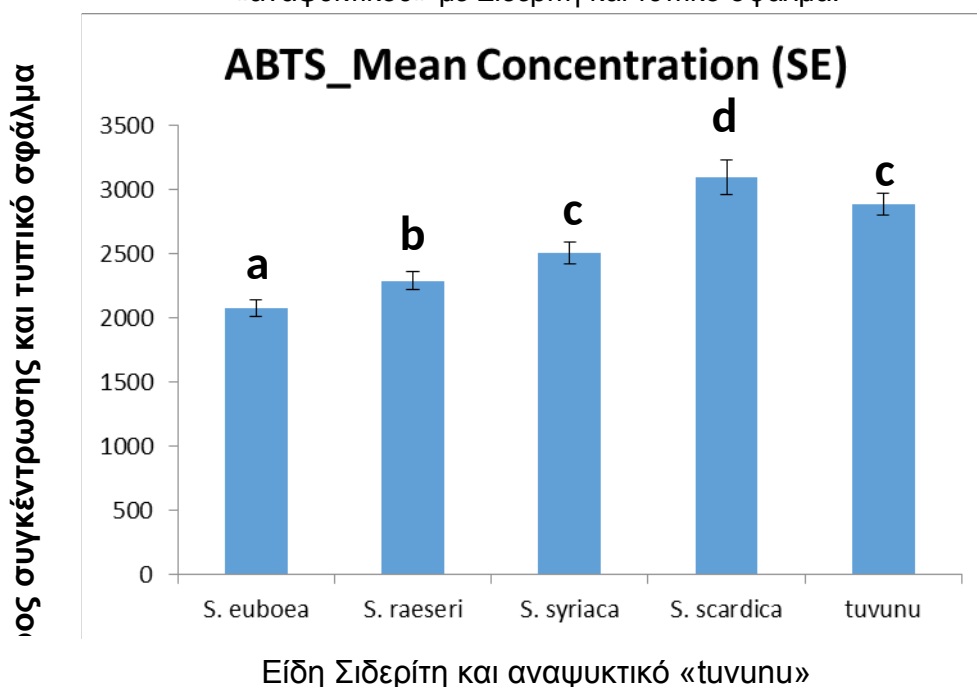
Τέλος το αναψυκτικό «tununu» έδειξα να διαφέρει στατιστικά σημαντικά με όλα τα είδη Σιδερίτη.

### 5.3.2 Μέθοδος ABTS

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων με την μέθοδο ABTS φαίνονται στον παρακάτω Πίνακα 5.

Δείγμα	Συγκέντρωση (mg/L) (μέσος όρος 9 επαναλήψεων)	SE (Τυπικό σφάλμα)
S. euboea	2079	66
S. raeseri	2293	69
S. scardica	3095	135
S. syriaca	2510	83
tununu	2885	85

Πίνακας 5. Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας σε δείγματα Σιδερίτη και «αναψυκτικού» με Σιδερίτη και τυπικό σφάλμα.



Εικόνα 17. Μέσος όρος συγκεντρώσεων και τυπικό σφάλμα δειγμάτων με αντιδραστήριο ABTS

Αναλύοντας στατιστικά τα δείγματα φάνηκε ότι με την μέθοδο ABTS υπήρχαν στατιστικές διαφορές. Συγκεκριμένα στατιστικά σημαντικές διαφορές παρουσίασαν οι:

Ο *S.euboaea* με όλα τα υπόλοιπα είδη σιδερίτη καθώς και με το αναψυκτικό «*tununu*»,

Ο *S.raeseri* με όλα τα υπόλοιπα είδη σιδερίτη καθώς και με το αναψυκτικό «*tununu*»,

Ο *S.syriaca* με όλα τα υπόλοιπα είδη σιδερίτη εκτός του αναψυκτικού «*tununu*»,

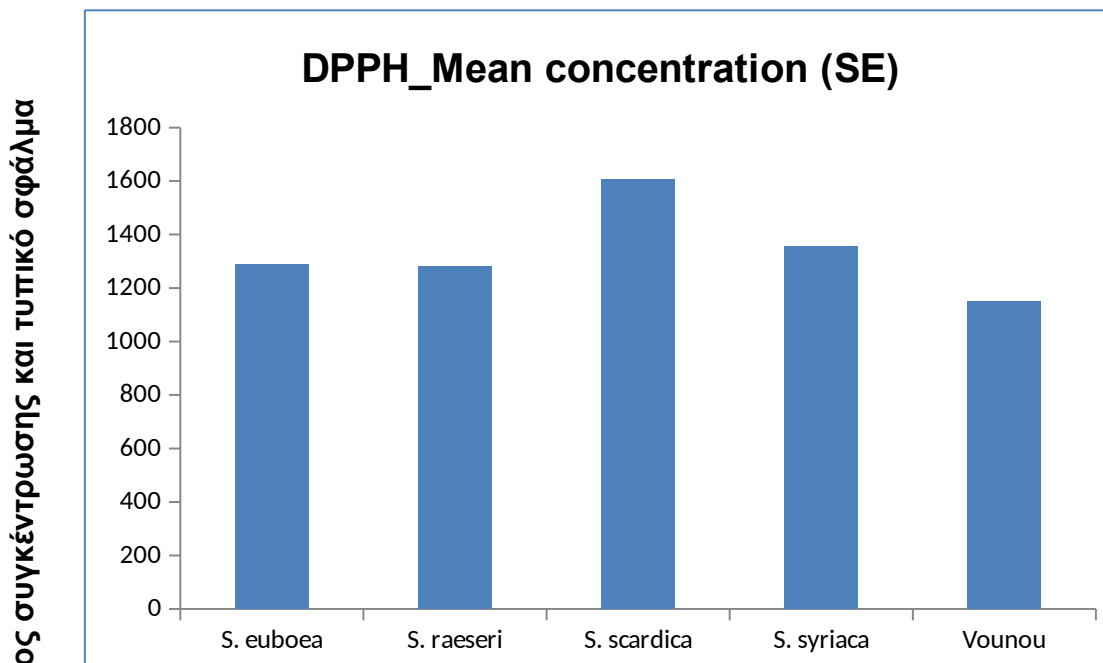
Ο *S.scardica* με όλα τα υπόλοιπα είδη σιδερίτη καθώς και με το αναψυκτικό «*tununu*» και τέλος το αναψυκτικό «*tununu*» διέφερε στατιστικά σημαντικά με τους *S.euboaea*, *S.raeseri* και *S.scardica*.

### 5.2.3 Μέθοδος DPPH

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων με την μέθοδο DPPH φαίνονται στον παρακάτω Πίνακα 6.

Δείγμα	Συγκέντρωση (mg/L) (μέσος όρος 9 επαναλήψεων)	SE (Τυπικό σφάλμα)
<i>S. euboaea</i>	1287,54	14,97
<i>S. raeseri</i>	1280,55	26,24
<i>S. scardica</i>	1604,97	99,71
<i>S. syriaca</i>	1357,58	40,70
<i>tununu</i>	1150,61	51,11

**Πίνακας 6.** Αποτελέσματα αντιοξειδωτικής ικανότητας σε δείγματα Σιδερίτη και «αναψυκτικού» με Σιδερίτη.



Είδη Σιδερίτη και αναψυκτικό «tununu»

**Εικόνα 18.** Μέσος όρος συγκεντρώσεων και τυπικό σφάλμα δειγμάτων με αντιδραστήριο DPPH.

Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι με τη χρήση του αντιδραστηρίου DPPH τα δείγματα που παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ήταν οι :

**S. euboea – S.scardica και S.euboea – αναψυκτικό «tununu»**  
**S.raeseri – S.scardica και S.raeseri - αναψυκτικό «tununu»**  
**S.scardica – S.euboea, S.scardica – S.raeseri, S.scardica – S.syriaca και S.scardica - αναψυκτικό «tununu»,**  
**S.syriaca – S.scardica και S.syriaca - αναψυκτικό «tununu».** Τέλος το αναψυκτικό «tununu» διαφέρει στατιστικά σημαντικά με όλα τα είδη Σιδερίτη με τη μέθοδο DPPH.

#### **5.4 Στατιστικός έλεγχος**

Πριν ξεκινήσει ο στατιστικός έλεγχος έγινε έλεγχος της κανονικότητας των τιμών με τη δοκιμασία Kolmogorov – Smirnov. Είναι ο έλεγχος των συνεχών μεταβλητών για το εάν ακολουθούν κανονική κατανομή.

Για τον στατιστικό έλεγχο των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος F των διακυμάνσεων των δειγμάτων ανα ζεύγη (**ANOVA Test**) και στη συνέχεια έγινε έλεγχος t των δειγμάτων με ίσες ή άνισες διακυμάνσεις (**T-test** ή student t-test) ανάλογα με το αποτέλεσμα του ελέγχου F.

Τα δείγματα συγκρίθηκαν σε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0,05$ .

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα Excell.

#### **5.4.1 ANOVA Test**

Ανάλυση Διακύμανσης ή Ανάλυση Διασποράς (ANOVA) ονομάζεται η στατιστική μέθοδος όπου πραγματοποιείται έλεγχος υποθέσεων με στόχο να ανιχνευθούν εάν υπάρχουν διαφορές στις μέσες τιμές περισσότερων από δύο πληθυσμών.

Το χρησιμοποιήσαμε για να διαπιστώσουμε εάν υπάρχουν διαφορές μεταξύ των διαφορετικών δειγμάτων τσαγιού με την ίδια μέθοδο.

Η υπόθεση που κάναμε είναι ότι δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ των δειγμάτων.

##### **5.4.1.1 ABTS**

Με την χρήση του ANOVA Test διαπιστώθηκε ότι υπήρχε στατιστική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων. Συγκεκριμένα μεταξύ των S.raeseri και S.syriaca, S.euboea και το σκεύασμα Tuvunu, S. raeseri – tuvunu, S. syriaca – tuvunu, S. scardica - S. Euboea και τέλος μεταξύ των S. scardica - S. raeseri με **αντιδραστήριο ABTS** επειδή η τιμή κατανομής F είναι μεγαλύτερη από το κριτικό F στις παρακάτω περιπτώσεις (πίνακας 7).

<b>Έλεγχος F των διακυμάνσεων δύο δειγμάτων</b>	<b>F</b>	<b>Κρίσιμο F</b>
S. raeseri - S. syriaca	0,69320975	0,29085822
S. euboea - tuvunu	0,601596396	0,290858219
S. raeseri - tuvunu	0,660443	0,290858
S. syriaca - tuvunu	0,952733	0,290858

S. scardica - S. euboaea	4,182506	3,438101
S. scardica - S. raeseri	3,809835	3,438101

**Πίνακας 7.** Έλεγχος F των διακυμάνσεων δύο δειγμάτων με αντιδραστήριο ABTS

#### 5.4.1.2 DPPH

Χρησιμοποιώντας το ANOVA Test και για το αντιδραστήριο **DPPH** διαπιστώθηκε ότι υπήρχε στατιστική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων. Συγκεκριμένα μεταξύ των S. euboaea - S. Raeseri, S. raeseri - S. Syriaca, S. scardica - S. Syriaca, S. scardica – tununu καθώς και μεταξύ των S. syriaca – tununu με αντιδραστήριο DPPH επειδή η τιμή κατανομής F είναι μεγαλύτερη από το κριτικό F σε όλες τις περιπτώσεις (πίνακας 8).

Έλεγχος F των διακυμάνσεων δύο δειγμάτων	F	Κρίσιμο F
S. euboaea - S. raeseri	0,325483	0,290858
S. raeseri - S. syriaca	0,415718	0,290858
S. scardica - S. syriaca	6,001577	3,438101
S. scardica - tununu	3,806376	3,438101
S. syriaca - tununu	0,634229	0,290858

**Πίνακας 8.** Έλεγχος F των διακυμάνσεων δύο δειγμάτων με αντιδραστήριο ABTS

### 5.4.1.3 Folin-Ciocalteu

Χρησιμοποιώντας το ANOVA Test και για το αντιδραστήριο **Folin-Ciocalteu** διαπιστώσαμε τη στατιστική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων. Συγκεκριμένα μεταξύ των *S. eufoea* - *S. Syriaca*, *S. raeseri* - *S. Syriaca*, *S. raeseri* – *tuvunu*, *S. scardica* - *S. Syriaca*, *S. scardica* – *tuvunu*, *S. syriaca* – *tuvunu* με αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu επειδή η τιμή κατανομής F είναι μεγαλύτερη από το κριτικό F σε αυτές τις περιπτώσεις (πίνακας 9).

Έλεγχος F των διακυμάνσεων δύο δειγμάτων	F	Κρίσιμο F
<i>S. eufoea</i> - <i>S. syriaca</i>	0,515711059	0,290858219
<i>S. raeseri</i> - <i>S. syriaca</i>	14,65862	3,438101
<i>S. raeseri</i> - <i>tuvunu</i>	6,939615	3,438101
<i>S. scardica</i> - <i>S. syriaca</i>	72,41285	3,438101
<i>S. scardica</i> - <i>tuvunu</i>	34,28135	3,438101
<i>S. syriaca</i> - <i>tuvunu</i>	0,473415	0,290858

**Πίνακας 9.** Έλεγχος F των διακυμάνσεων δύο δειγμάτων με αντιδραστήριο Folin- Ciocalteu

### 5.4.2 T-test ή Student Test

Μετά το ANOVA Test έγινε T-test για όποια δείγματα χρειαζόταν.

Η δοκιμή T ή η δοκιμασία Student είναι μια στατιστική μέθοδος που χρησιμοποιείται για να διαπιστωθεί εάν 2 διαφορετικοί πληθυσμοί διαφέρουν σημαντικά.

Για αυτή τη μέθοδο, πρέπει να υποθέσουμε ότι τα αποτελέσματα ακολουθούν μια κανονική κατανομή και ότι οι πληθυσμοί είναι ανεξάρτητοι.

### 5.4.3 Συσχέτιση Pearson

Είδη Σιδερίτη	ABTS-DPPH	ABTS-FOLIN	DPPH-FOLIN
S.euboea	-0,20	0,73	0,22
S.raeseri	0,75	-0,46	-0,84
S.scardica	0,47	0,49	0,42
S.syriaca	0,97	0,63	0,61
Tuvunu	-0,69	0,58	-0,56

**Πίνακας 10.** Συντελεστής συσχέτισης (r, Pearson ανάλυση) των συγκεντρώσεων μεταξύ των τριών μεθόδων μέτρησης ανά είδος σιδερίτη

Η συσχέτιση Pearson μεταξύ των μεθόδων ανά είδος σιδερίτη μας δείχνει κατά πόσο οι αξιολογήσεις που έχουμε κάνει σχετίζονται μεταξύ τους.

Βλέπουμε ότι για τον S.euboea η πιο ισχυρή συσχέτιση παρουσιάζεται με τις μεθόδους ABTS-FOLIN ενώ η πιο αδύναμη συσχέτιση μεταξύ των μεθόδων ABTS-DPPH.

Δεν ισχύει το ίδιο για τον S.raeseri όπου η πιο ισχυρή συσχέτιση είναι αυτή των μεθόδων ABTS-DPPH ενώ η λιγότερο ισχυρή αυτή με τις μεθόδους DPPH-FOLIN.

Ο S.scardica παρουσίασε σχεδόν τις ίδιες συσχετίσεις και με τις τρεις μεθόδους προσδιορισμού ενώ ο S.syriaca έδειξε να έχει έντονη συσχέτιση με τις μεθόδους ABTS-DPPH.

Τέλος το αναψυκτικό «Tuvunu» φάνηκε να έχει έντονες αρνητικές συσχετίσεις με τις μεθόδους ABTS-DPPH και DPPH-FOLIN ενώ θετική συσχέτιση βρέθηκε με τις μεθόδους προσδιορισμού ABTS-FOLIN.



## 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το ζητούμενο της ερευνάς μας ήταν να βρεθεί ποια ήταν η διαφορά μεταξύ των δειγμάτων για κάθε μέθοδο και να βρεθεί η βέλτιστη μέθοδος για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας.

Πρώτον, έπρεπε να μάθουμε αν το αντιδραστήριο ABTS και το αντιδραστήριο DPPH ήταν σταθερά στο χρόνο. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο κάναμε μια κινητική μελέτη για κάθε αντιδραστήριο. Το Folin-Ciocalteu είναι πολύ σταθερό οπότε δεν χρειάστηκε να κάνουμε κινητική μελέτη.

Δεύτερον, αφού μετρήσαμε τα δείγματα με την κάθε μέθοδο, τα αναλύσαμε στατιστικά για να μάθουμε αν υπήρχαν διαφορές μεταξύ τους.

Όπως ήταν αναμενόμενο τα δείγματα μας παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές και με τα τρία αντιδραστήρια. Η διαφορά στην προέλευση των ειδών Σιδερίτη ήταν εμφανής στις μετρήσεις που πραγματοποιήσαμε.

Από την ανάλυση των διακυμάνσεων F διαπιστώσαμε μεταξύ αρκετών ζευγών δειγμάτων στατιστική διαφορά τόσο με το ABTS και το DPPH όσο και με το Folin – Ciocalteu.

Συγκεκριμένα, το **ANOVA** Test με το αντιδραστήριο **ABTS** έδειξε ότι υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ των *S. raeseri* - *S. Syriaca*, *S. euboea* – *tuvunu*, *S. raeseri* – *tuvunu*, *S. syriaca* – *tuvunu*, *S. scardica* - *S. euboea*, *S. scardica* - *S. raeseri* που είναι αναμενόμενο αφού τα είδη του Σιδερίτη διαφέρουν στην προέλευση άρα και στην περιεκτικότητα σε αντιοξειδωτικά.

Το **ANOVA** Test με το αντιδραστήριο **DPPH** μας έδειξε ότι τα παρακάτω ζεύγη διαφέρουν σημαντικά: *S. euboea* - *S. raeseri*, *S. raeseri* - *S. syriaca*, *S. scardica* - *S. syriaca*, *S. scardica* – *tuvunu*, *S. syriaca* – *tuvunu*. Σε αυτά τα ζεύγη υπάρχουν σημαντικές διαφορές στην περιεκτικότητα των αντιοξειδωτικών.

Το **ANOVA** Test με το αντιδραστήριο **Folin-Ciocalteu** έδειξε ότι υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων. Συγκεκριμένα μεταξύ των *S. euboea* - *S. Syriaca*, *S. raeseri* - *S. Syriaca*, *S. raeseri* – *tuvunu*, *S. scardica* - *S. Syriaca*, *S. scardica* – *tuvunu*, *S. syriaca* – *tuvunu*.

Μετά την ολοκλήρωση των **ANOVA** Tests ακολούθησε η διαδικασία των T-tests σε όποια δείγματα χρειαζόταν.

Έτσι η ολοκληρωμένη στατιστική ανάλυση των δειγμάτων μας έδειξε ότι υπήρχαν ανάμεσα στα δείγματα σημαντικά στατιστικές διαφορές. Αυτές ήταν: Αναλύοντας στατιστικά τα δείγματα φάνηκε ότι με την μέθοδο **ABTS** υπήρχαν στατιστικές διαφορές. Συγκεκριμένα στατιστικά σημαντικές διαφορές παρουσίασαν οι:

Ο *S.euboea* με όλα τα υπόλοιπα είδη σιδερίτη καθώς και με το αναψυκτικό «*tununu*»,

Ο *S.raeseri* με όλα τα υπόλοιπα είδη σιδερίτη καθώς και με το αναψυκτικό «*tununu*»,

Ο *S.syriaca* με όλα τα υπόλοιπα είδη σιδερίτη εκτός του αναψυκτικού «*tununu*»,

Ο *S.scardica* με όλα τα υπόλοιπα είδη σιδερίτη καθώς και με το αναψυκτικό «*tununu*» και τέλος το αναψυκτικό «*tununu*» διέφερε στατιστικά σημαντικά με τους *S.euboea*, *S.raeseri* και *S.scardica*.

Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι με τη χρήση του αντιδραστηρίου **DPPH** τα δείγματα που παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ήταν οι :

*S. euboea* – *S.scardica* και *S.euboea* – αναψυκτικό «*tununu*»

*S.raeseri* – *S.scardica* και *S.raeseri* - αναψυκτικό «*tununu*»

*S.scardica* – *S.euboea*, *S.scardica* – *S.raeseri*, *S.scardica* – *S.syriaca* και

*S.scardica* - αναψυκτικό «*tununu*»,

*S.syriaca* – *S.scardica* και *S.syriaca* - αναψυκτικό «*tununu*». Τέλος το αναψυκτικό «*tununu*» διαφέρει στατιστικά σημαντικά με όλα τα είδη Σιδερίτη με τη μέθοδο DPPH.

Η στατιστική ανάλυση με το αντιδραστήριο **Folin-Ciocalteu** μας έδειξε ότι :

οι *S.euboea* – *S. scardica* και *S.euboea* – αναψυκτικό *tununu* διαφέρουν σημαντικά.

Επίσης στατιστική σημαντική διαφορά παρουσιάζουν οι *S.raeseri* - *S.scardica* και

*S.raeseri* – *tununu*.

Ο *S.scardica* παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με όλα τα άλλα είδη *Sideriti* και με το αναψυκτικό «*tununu*».

Ο *S.syriaca* παρουσίασε σημαντική στατιστική διαφορά με τους *S.scardica* και το αναψυκτικό «*tununu*».

Τέλος το αναψυκτικό «*tununu*» έδειξα να διαφέρει στατιστικά σημαντικά με όλα τα είδη Σιδερίτη.

## **7. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ**

Θα συστήναμε επανάληψη τέτοιων μετρήσεων στο μέλλον προκειμένου να επιβεβαιώσουμε τα αποτελέσματα αυτά τόσο για την συγκέντρωση φαινολικών συστατικών όσο και για την αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων

Συστήνεται η χρησιμοποίηση ακόμα περισσότερων ειδών Σιδερίτη με διαφορετική προέλευση, τόσο από την Ελλάδα όσο και από το εξωτερικό, για σύγκριση της συγκέντρωσης σε φαινόλες και αντιοξειδωτικά ανάλογα με τα διαφορετικά εδαφικά χαρακτηριστικά ανάπτυξης του φυτού.

Μεγάλο ενδιαφέρον θα παρουσίαζε η σύγκριση των αποτελεσμάτων μας με άλλα είδη τσαγιού γενικότερα (πράσινο, μαύρο, λευκό, Ουλόνγκ κ.α)

## **8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

Aligiannis, N. και συν., 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of five taxa of *Sideritis* from Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, pp. 811-815.

Aligiannis, N. και συν., 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of five taxa of *Sideritis* from Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, pp. 811-815.

Armata, M. και συν., 2008. Constituents of *Sideritis syriaca*. ssp. *syriaca* (Lamiaceae) and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, p. 179–186.

Baden, C., 1991. *Sideritis* L., in: Strid A, Tan K. *MOUNTAIN FLORA OF GREECE*, pp. 84-91.

Benzie, I. & Strain, J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay.. *Anal. Biochem*, pp. 70-76.

Buc-Calderon, P. και συν., 1990. N-acyl dehydroalanines scavenge oxygen radicals and inhibit in vitro free radical mediated processes. *Chemico-Biological Interactions*, pp. 77-88.

Camejo-Rodrigues, J., Ascensão, L., Bonet, M. & Vallès, J., 2003. An ethnobotanical study of medicinal and aromatic plants in the Natural Park of "Serra de São Mamede" (Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*, pp. 199-209.

Charami, M.-T. και συν., 2008. Antioxidant and Antiinflammatory Activities of *Sideritis perfoliata* subsp. *perfoliata* (Lamiaceae). *Phytother. Res.*, p. 450–454.

Danesi, F. και συν., 2013. Bioactive-rich *Sideritis scardica* tea (mountain tea) is as potent as *Camellia sinensis* tea at inducing cellular antioxidant defences and preventing oxidative stress. *J Sci Food Agric*, p. 3558–3564.

de la Puerta, R., Fernández-Arche, M., Lopez-Lazaro, M. & Garcia, M., 2013. Antioxidant and cytotoxic activities of *Sideritis perezlarae* (Borja) Roselló, Stübing and Peris. *Natural Product Research*, pp. 1602-1606.

Demirtas, I. και συν., 2011. Antioxidant activity and chemical composition of *Sideritis libanotica* Labill. ssp. *linearis* (Bentham) Borm. (Lamiaceae). *Natural Product Research*, pp. 1512-1523.

Dincer, C. και συν., 2016. Phenolic composition and antioxidant activity of *Sideritis lycia* and *Sideritis libanotica* subsp. *linearis*: Effects of cultivation, year and storage. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*.

Erkan, N., Cetin, H. & Ayranci, E., 2011. Antioxidant activities of *Sideritis congesta* Davis et Huber-Morath and *Sideritis arguta* Boiss et Heldr: Identification of free flavonoids and cinnamic acid derivatives. *Food Research International*, p. 297–303.

Ertas, A., Öztürk, M., Boga, M. & Topçu, G., 2009. Antioxidant and anticholinesterase activity evaluation of ent-kaurane diterpenoids from *Sideritis arguta*. *Journal of Natural Products*, pp. 500-502.

Gabrieli, N. C., Kefalas, G. P. & Kokkalou, L. E., 2005. Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri*. *Journal of Ethnopharmacology*, pp. 423-428.

González-Burgos, E., Carretero, M. & Gómez-Serranillos, M., 2011. *Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities—A review. *Journal of Ethnopharmacology*, p. 209–225.

Gonzalez-Burgos, E., Carretero, M. & Gomez-Serranillos, M., 2011. *Sideritis* spp: Uses, chemical composition and pharmacological activities-A review.. *Journal of Ethnopharmacology*, pp. 209-225.

González-Burgos, E., Carretero, M. & Gómez-Serranillos, M., 2011. *Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities—A review. *Journal of Ethnopharmacology*, pp. 209-225.

Goulas, V., Exarchou, V., Kanetis, L. & Gerothanassis, I. P., 2014. Evaluation of the phytochemical content, antioxidant activity and antimicrobial properties of mountain tea (*Sideritis syriaca*) decoction. *JOURNAL OF FUNCTIONAL FOODS*, p. 248–258.

Güvenç, A. και συν., 2005. Antioxidant Activity Studies on Selected *Sideritis*. Species Native to Turkey. *Pharmaceutical Biology*, pp. 173-177.

Güvenç, A. και συν., 2010. Investigations of anti-inflammatory, antinociceptive, antioxidant and aldose reductase inhibitory activities of phenolic compounds from *Sideritis brevibracteata*. *Food Chemistry*, pp. 686-692.

Güvenç, A. και συν., 2010. Investigations of anti-inflammatory, antinociceptive, antioxidant and aldose reductase inhibitory activities of phenolic compounds from *Sideritis brevibracteata*. *Food Chemistry*, p. 686–692.

Hanlidou, E., Karousou, R., Kleftoyanni, V. & Kokkini, S., 2004. The herbal market of Thessaloniki (N Greece) and its relation to the ethnobotanical tradition. *Journal of Ethnopharmacology*, pp. 281-299.

Ivanova, D., Gerova, D., Chervenkov, T. & Yankova, T., 2005. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, p. 145–150.

Kogiannou, D. A. και συν., 2013. Herbal infusions; their phenolic profile, antioxidant and anti-inflammatory effects in HT29 and PC3 cells. *Food and Chemical Toxicology*, p. 152–159.

Koleva, I. και συν., 2002. Antioxidant activity screening of extracts from *Sideritis* species (Labiatae) grown in Bulgaria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, p. 809–819.

Linardaki, Z. και συν., 2011. Differential antioxidant effects of consuming tea from *Sideritis clandestina* subsp. *peloponnesiaca* on cerebral regions of adult mice. *Journal of Medicinal Food*, pp. 1060-1064.

Minussi, R. και συν., 2003. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. *Food Chemistry*, pp. 409-416.

Odabas, E. K. και συν., 2010. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Sideritis erythrantha* Boiss. and Heldr. (var. *erythrantha* and var. *cedretorum* P.H. Davis) endemic in Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, p. 2960–2965.

Pljevljakušić, D. και συν., 2011. Chemical properties of the cultivated *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. subsp. *raeseri*. *Food Chemistry*, p. 226–233.

Pokorny, J., Yanishlieva, N. & Gordon, M., 2001. Antioxidants in Food Practical Applications. *Woodhead Publishing*.

Roginsky, V. & Lissi, E., 2004. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, Issue 235-254.

Sagdic, O. και συν., 2008. Biological activities of the extracts of two endemic *Sideritis* species in Turkey. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, p. 80–84.

Sagir, Z., Carikci, S., Kilic, T. & Goren, A., 2016. Metabolic profile and biological activity of *Sideritis brevibracteata* P. H. Davis endemic to Turkey. *International Journal of Food Properties*.

Samanidou, V., Tsagiannidis, A. & Sarakatsianos, I., 2012. Simultaneous determination of polyphenols and major purine alkaloids in Greek *Sideritis* species, herbal extracts, green tea, black tea, and coffee by high-performance liquid chromatography-diode array detection. *J. Sep. Sci.*, p. 608–615.

Skouroliakou, M., Kastanidou, O., Stathopoulou, M. & Vourli, G., 2009. Evaluation of the antioxidant effect of a new functional food enriched with *Sideritis euboica* in healthy subjects. *Journal of Medicinal Food*, pp. 1105-1110.

Škrovánková, S., Mišurcová, L. & Machu, L., 2012. Antioxidant Activity and Protecting Health Effects of Common Medicinal Plants. *Advances in Food and Nutrition Research*, pp. 75-139.

Stagos, D. και συν., 2012. Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species. *Food and Chemical Toxicology*, p. 4115–4124.

Tekeli, Y., 2012. Antioxidant activities and phenolic compounds of two endemic Taxa of Labiatae Sideritis. *Revista de Chimie*, pp. 465-469.

Tsibranska, I., Tylkowski, B., Kochanov, R. & Alipieva, K., 2011. Extraction of biologically active compounds from Sideritis ssp. L.. *Food and Bioproducts Processing*, p. 273–280.

Tunalier, Z. και συν., 2004. ANTIOXIDANT PROPERTIES AND PHENOLIC COMPOSITION OF Sideritis SPECIES. *Chemistry of Natural Compounds*, pp. 177-180.

Vasilopoulou, C. G. και συν., 2013. Phytochemical composition of “mountain tea” from Sideritis clandestina subsp. clandestina and evaluation of its behavioral and oxidant/antioxidant effects on adult mice. *Eur J Nutr*, p. 107–116.

Γαρδέλη, Χ., 2009. *Μελέτη της Χημικής Σύστασης Αιθέριων Ελαίων ορισμένων Αρωματικών Φυτών της Ελληνικής Χλωρίδας*, Αθήνα: s.n.

Γκόλιαρης, Α., 1999. *Καλλιέργεια, αυτοφυή είδη και βελτίωση στο ελληνικό τσάι του βουνού (Sideritis L.)*, Θεσσαλονίκη: ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε..

Καραχασάνη, Α., 2014. *Γεωγραφική και βοτανική ταξινόμηση ειδών Σιδερίτη (Sideritis spp) αυτοφυόμενων στην Ελλάδα, με χρήση της υπέρυθρης φασματοσκοπίας συνδυασμένης με χημειομετρικές μεθόδους*, Αθήνα: Μεταπτυχιακή Διατριβή.

Κουιμτζής, Θ., 1982. *Ενόργανη χημική ανάλυση (2η Έκδοση)*, Θεσσαλονίκη: Γραφικές τέχνες.

Μπλούκας, Ι., 2004. *Επεξεργασία και Συντήρηση Τροφίμων*, Αθήνα: Αθ. Σταμούλης.

Μπόσκος, Δ., 1997. *Χημεία Τροφίμων (4η Έκδοση)*, Θεσσαλονίκη: Γαρταγάνη.

Παληογιάννη, Α., 2007. *Μελέτη Πτητικών Συστατικών Ελληνικών Οίνων & Αποσταγμάτων - Παραγωγή Βιολειτουργικών Οίνων με Βάση Φυτά του Γένους Sideritis*, Αθήνα: Διδακτορική Διατριβή.

Πολυχρονιάδου-Αλιχανίδου, Α., 1996. *Ανάλυση τροφίμων (5η Έκδοση)*, Θεσσαλονίκη: Γαρταγάνη.

Τσιάπος, Σ., 2018. *Το τσάι του βουνού - Σιδερίτης & οι ευεργετικές του ιδιότητες*. Θεσσαλονίκη: ΠΑΙΔΕΙΑ / ΜΑΛΛΙΑΡΗΣ-ΠΑΙΔΕΙΑ Α.Ε..

