



**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ
ΑΦΕΨΗΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΦΥΤΑΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΔΙΑΙΤΑΣ
Η ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΤΟΥ ΜΑΡΑΘΟΥ**

**ΔΕΛΗΓΙΑΝΝΙΔΟΥ ΓΕΩΡΓΙΑ-ΕΙΡΗΝΗ
ΛΟΥΚΜΑΝΗ ΕΥΑ**

ΕΠΙΒΛΕΠΟΝΤΕΣ ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ
ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ
ΧΡΗΣΤΟΣ ΚΟΝΤΟΓΙΩΡΓΗΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2012-2013

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η πτυχιακή εργασία αυτή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Θεσσαλονίκης, καθώς και στο εργαστήριο Φαρμακογνωσίας του Φαρμακευτικού Τμήματος του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

Ευχαριστούμε θερμά τους επιβλέποντες καθηγητές μας κ. Αθανάσιο Παπαδόπουλο και κ. Χρήστο Κοντογιώργη για όλη τη βοήθεια και τη υποστήριξη που επέδειξαν κατά την διάρκεια της εκπόνησης και συγγραφής της παρούσας μελέτης.

Ευχαριστούμε θερμά επίσης την Επίκουρη Καθηγήτρια Φαρμακογνωσίας του τμήματος Φαρμακευτικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, κ. Διαμάντω Λάζαρη για την πολύτιμη βοήθειά της κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας αυτής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η εποχή στην οποία ζούμε διακρίνεται από πληθώρα βλαπτικών και επιβαρυντικών για την υγεία παραγόντων, όπως το κάπνισμα, η πλημμελής διατροφή, το στρες, η ατμοσφαιρική ρύπανση κ.α., που οδηγούν σε διάφορες νόσους. Η πρόοδος της γνώσης στην βιομηχανία των φαρμάκων έχει συντελέσει στην εμφάνιση πολλών νέων φαρμάκων που υπόσχονται να καταπολεμήσουν τις περισσότερες ασθένειες. Κυρίως λόγω των παρενεργειών τους, όμως, το επιστημονικό ενδιαφέρον έχει εστιάσει αρκετά σε πιο εναλλακτικές θεραπείες, όπως είναι τα βότανα.

Η φύση έχει αποτελέσει μια πλούσια αποθήκη θεραπευτικών φυτών για χιλιάδες χρόνια και είναι εντυπωσιακός ο αριθμός των φαρμάκων που έχουν απομονωθεί από φυσικές πηγές, κυρίως από φυτά. Στην παρούσα εργασία μελετάται η περίπτωση του μάραθου που είναι ένα ποώδες και αρωματικό φυτό που ανήκει στην οικογένεια των Σκιαδοφόρων.

Σκοπός της έρευνας αυτής είναι η διαπίστωση παρουσίας ευεργετικών για την υγεία χαρακτηριστικών στο φυτό αυτό και η πειραματική τεκμηρίωση της διαπίστωσης αυτής. Κατά την μελέτη χρησιμοποιήθηκε αποξηραμένος μάραθος από τον οποίο παρασκευάστηκαν αφεψήματα με βρασμό σε τρεις διαφορετικούς χρόνους (1', 3' και 5') και ακολούθησε εκχύλιση με τέσσερις διαφορετικούς διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας (πετρελαϊκός αιθέρας, διεθυλαιθέρας, οξικός αιθυλεστέρας και 1-βουτανόλη).

Από την παραπάνω διαδικασία προέκυψαν δεκαπέντε δείγματα (στερεά υπολείμματα) στα οποία μελετήθηκε: α) το συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων με την μέθοδο Folin-Ciocalteu, β) η αλληλεπίδραση των δειγμάτων με την ρίζα ABTs, και DPPH για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας γ) η ικανότητα δέσμευσης ριζών υδροξυλίου (OH^-) και δ) η ικανότητα απελευθέρωσης μονοξειδίου του αζώτου (NO).

ABSTRACT

The era in which we live is distinguished by a variety of harmful and aggravating to our health; factors such as smoking, poor diet, stress, air pollution, etc., leading to various diseases. The progress of knowledge in the industry of drugs has contributed to the emergence of many new drugs that promise to impugn most diseases. However, due to their side effects, the scientific interest is now focused on alternative treatments such as herbs.

Nature has become a rich repository therapeutic plant for thousands of years and an impressive number of drugs have been isolated from natural sources, including plants. In this study we examined the case of fennel which is an aromatic and herbaceous plant of the Umbelliferae family.

The purpose of this study is to examine the presence of beneficial health characteristics at this plant and furthermore provide experimental evidence of this finding. During this research we used dried fennel for the preparation of beverages boiled at three different times (1 ', 3' and 5 '), and the process that followed was extraction with four different solvents of increasing polarity (petroleum ether, diethyl ether, ethyl acetate and 1-butanol).

This procedure resulted to fifteen samples (solid waste) in which we studied: a) the total Phenolic content by the method of Folin-Ciocalteu, b) the interaction of the samples with the root of ABTs and DPPH in order to determine the antioxidant capacity c) the ability to capture hydroxyl radicals (\cdot -OH) and d) the capacity to release nitric oxide (NO).

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.	Εισαγωγή	7
2.	Μεσογειακή διατροφή	9
3.	Εισαγωγή στα βότανα	11
3.1.	Ιστορία των βοτάνων	12
4	Βασικά συστατικά των βοτάνων	15
4.1.	Τα φυτοχημικά	15
4.2.	Φαινολικές ενώσεις	18
4.2.1	Δράσεις φαινολικών ενώσεων	18
4.3.	Πολυφαινόλες	19
4.4.	Φλαβονοειδή	23
4.4.1.	Δράσεις φλαβονοειδών	24
4.4.2.	Πηγές φλαβονοειδών	24
4.5.	Τερπένια	25
5.	Ο μάραθος	27
5.1.	Περιγραφή φυτού και χρήσεις	28
5.2.	Ιστορία και μύθοι	30
5.3.	Συστατικά	30
5.3.1	Ανηθόλη	30
5.3.2.	Φενχόνη	32
5.3.3.	Λεμονένιο	32
5.3.4.	Καμφίνη	32
5.3.5.	Καμφορά	33
5.3.6.	Α-πινένιο	33
5.3.7.	Β-πινένιο	33
5.3.8.	Β-μυρισετίνη	34
5.3.9.	Α-φελλανδρένιο	34
5.3.10.	Καμφερόλη	34
5.3.11.	Κερκετίνη	35
5.3.12.	Ρουτίνη	35
6.	Αιθέρια έλαια	37
7.	Οξειδωση.	38
7.1.	Ελεύθερες ρίζες. Οξειδωτικό στρες. Προσδιορισμός ελευθέρων ριζών.	40
7.2.	Αντιοξειδωτικά. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας.	44

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

8.	Φυτικό υλικό	47
8.1	Παραλαβή πτητικών συστατικών	48
9	Βιολογικά πειράματα	51
9.1	Μέθοδος Folin-Ciocalteu	51
9.2	Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης με τη Μέθοδο του ABTs.	53
9.3	Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της ελεύθερης ρίζας DPPH.	56
9.4	Προσδιορισμός ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών OH ⁻ .	59
9.5	Προσδιορισμός ικανότητας απελευθέρωσης Μονοξειδίου του Αζώτου NO.	61
10	Αποτελέσματα	63
10.1	Παραλαβή πτητικών συστατικών.	63
10.2	Μέθοδος Folin-Ciocalteu (FC)	64
10.3	Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης με τη Μέθοδο του ABTs.	67
10.4	Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της ελεύθερης ρίζας DPPH.	71
10.5	Προσδιορισμός ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών OH ⁻ .	77
10.6	Προσδιορισμός ικανότητας απελευθέρωσης ριζών NO.	83
11.	Συμπεράσματα – Συζήτηση	83
	Βιβλιογραφία	86

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Όπως είναι γνωστό, τα βότανα χρησιμοποιούνται σαν φάρμακα εδώ και χιλιάδες χρόνια και είναι μέρος πολλών παραδόσεων όσον αφορά την ίαση από διάφορες ασθένειες και την ανακούφιση διαφόρων σωματικών διαταραχών. Είναι επίσης γνωστό ότι πολλά φάρμακα ευρείας χρήσεως είναι ουσίες, οι οποίες υπήρχαν και υπάρχουν σε φαρμακευτικά βότανα. Στον δυτικό κόσμο, τα τελευταία 20 χρόνια κυρίως, το ενδιαφέρον για τα φαρμακευτικά βότανα είναι τεράστιο, επειδή η αποτελεσματικότητά τους έχει πλέον επιβεβαιωθεί από σειρά επιστημονικών μελετών.

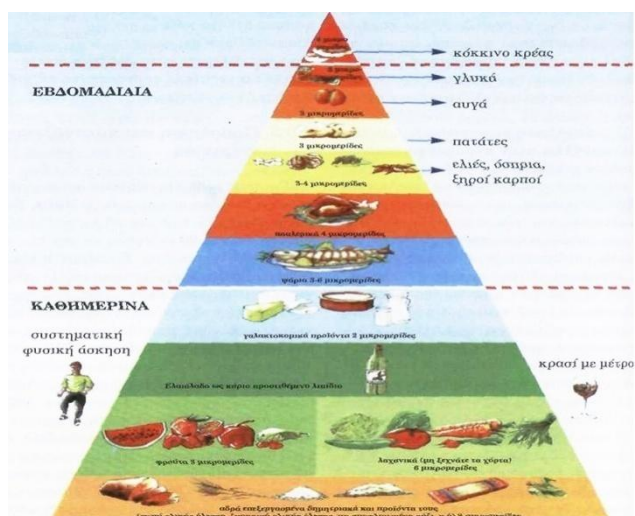
Σήμερα το επιστημονικό ενδιαφέρον έχει επικεντρωθεί στην καταπολέμηση της οξειδωσης των κυττάρων και του οξειδωτικού στρες, τα οποία είναι υπεύθυνα για ένα μεγάλο αριθμό ασθενειών τα ποσοστά των οποίων όλο και αυξάνονται στις σύγχρονες κοινωνίες. Η αντιμετώπιση της οξειδωσης των κυττάρων επιτυγχάνεται μέσω της χρήσης αντιοξειδωτικών ουσιών. Τέτοιες ουσίες είναι και τα φαινολικά συστατικά και τα φλαβονοειδή, τα οποία απαντώνται κυρίως σε πολλά φυτικά προϊόντα, όπως τα βότανα.

Τα εδώδιμα αυτοφυή χόρτα ωφελούν την υγεία του ανθρώπου. Εκτός από την βελτίωση της γεύσης των γευμάτων, φαίνεται να έχουν και ποικίλες θεραπευτικές ιδιότητες. Αξίζει να αναφερθεί ότι τα εδώδιμα φυτά περιέχουν φαινόλες, αντιοξειδωτικά και μεταλλικά στοιχεία, βιταμίνες κ.α. Οι φαινόλες έχουν ποικίλες βιολογικές επιδράσεις στον οργανισμό, συμπεριλαμβανομένης της αντιοξειδωτικής δράσης. Επιπλέον, τα νιτρικά, που περιέχονται στα χόρτα είναι μορφή αζώτου και την προσλαμβάνουν τα φυτά από το έδαφος. Η υψηλή, όμως, περιεκτικότητα σ' αυτά θεωρείται επιβλαβής για τον οργανισμό και μπορεί να προκαλέσει γαστρικά προβλήματα αλλά και καρκινογενέσεις. Με βάση τα παραπάνω μπορούμε να πούμε ότι όλα τα φυτά κρύβουν κάποια θεραπευτική ιδιότητα, μικρή ή μεγάλη αν και μερικά δεν έχουν συμπεριληφθεί στους καταλόγους των θεραπευτικών, όμως, δεν σημαίνει ότι δεν έχουν κάποια θρεπτική αξία ή τουλάχιστον διαιτητική.

Μεγάλη είναι η σημασία των φυτών στη ζωή του ανθρώπου, ώστε θα έλεγε κάποιος ότι η φύση τα δημιούργησε για τον άνθρωπο. Επιπλέον, προσφέρουν στον άνθρωπο ηθική ικανοποίηση καθώς βρίσκει και συλλέγει μόνος του την τροφή αυτή κι έτσι έχει ένα καθαρό προϊόν χωρίς κατάλοιπα χημικά ή τοξικά.

Αξίζει να τονιστεί ότι η συλλογή των χόρτων ενέχει κινδύνους γι' αυτό θα πρέπει ο άνθρωπος να είναι ιδιαίτερος προσεκτικός δηλαδή δεν πρέπει να συλλέγει χόρτα από ασφαλτοστρωμένους δρόμους, από μολυσμένες περιοχές, όπου υπάρχουν ζώα ή εργοστάσια, ώστε να αφήνουν υπολείμματα και να τα λαμβάνουν τα φυτά. Η συλλογή των χόρτων είναι άφοβη, αν είναι απόμακρα τα σημεία απ' τα οποία θα συλλεχθούν ή γκρεμός. Συνοψίζοντας, πρέπει να πούμε ότι τα αυτοφυή χόρτα κάνουν πολύ καλό στον οργανισμό του ανθρώπου κι έχουν μεγάλη θρεπτική αξία.

2. ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ



Η μεσογειακή διαίτα αποτελεί σήμερα ένα πολυσυζητημένο διατροφικό μοντέλο, που προτείνεται από πολλούς ειδικούς για τη διατήρηση της υγείας και την επίτευξη της πολυπόθητης μακροζωίας. Απέκτησε αρχικά δημοσιότητα με τη μελέτη των «επτά χωρών», του Ancel Keys, το 1970⁽¹⁾. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής δημοσιεύτηκαν σε πολλά περιοδικά, ενώ αργότερα, το 1975, ο Keys έγραψε ένα βιβλίο με τίτλο «Υγιεινή διατροφή με μεσογειακή διαίτα». Σύμφωνα με τη μελέτη αυτή, η θνησιμότητα από καρδιαγγειακά νοσήματα ήταν 3-4 φορές μικρότερη στις χώρες της Μεσογείου που συμμετείχαν στη μελέτη, σε σύγκριση με τις βόρειες χώρες της Ευρώπης και τις Η.Π.Α. Ο πληθυσμός της Κρήτης που συμμετείχε στην έρευνα βρέθηκε να έχει τη μικρότερη θνησιμότητα και τη μεγαλύτερη μακροζωία. Αυτό αποδόθηκε κατά κύριο λόγο στη διαίτα τους, χαρακτηριστικά της οποίας μελετήθηκαν από πολλούς μελετητές.⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾

Τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα της παραδοσιακής μεσογειακής διαίτας είναι άφθονες φυτικές τροφές, όπως το ψωμί, τα ζυμαρικά, τα λαχανικά, οι σαλάτες, τα όσπρια, τα φρούτα, οι ξηροί καρποί καθώς και το ελαιόλαδο ως κύρια πηγή λιπαρών, καθώς επίσης και μικρές έως μέτριες ποσότητες ψαριού, πουλερικών, γαλακτοκομικών, αυγών και μόνο μικρές

ποσότητες κόκκινου κρέατος. Ακόμα κρασί, σε μικρές έως μέτριες ποσότητες, που συνήθως καταναλώνονται με τα γεύματα. Η συγκεκριμένη διαίτα έχει λίγα λιπαρά οξέα, είναι πλούσια σε υδατάνθρακες και ίνες και περιέχει πολλά μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, τα οποία προέρχονται κυρίως από το ελαιόλαδο.⁽⁵⁾

Πιο συγκεκριμένα, αυτή η διαίτα έχει βρεθεί χαμηλή σε κορεσμένα λίπη (<7-8% της ενέργειας), με συνολικό εύρος λιπών από >25% ως <35% της ενέργειας από μια περιοχή σε άλλη. Τα στοιχεία υποδεικνύουν ότι η εργασία στον τομέα της κουζίνας επέφερε έναν τρόπο ζωής ο οποίος περιλαμβάνει συστηματική φυσική δραστηριότητα και σχετίζεται με πολλή λιγότερη παχυσαρκία σε σχέση με τις Η.Π.Α.⁽¹⁾

Η διατροφή βέβαια των χωρών της Μεσογείου παρουσιάζει διαφορές από χώρα σε χώρα, που βασίζονται στις διαφορετικές διατροφικές συνήθειες, αλλά και παραδόσεις της κάθε χώρας. Οι Έλληνες για παράδειγμα τρώνε περισσότερο τυρί, λιγότερο βούτυρο και λιγότερο γάλα από ότι οι Γάλλοι και οι Ιταλοί. Παρόλο όμως που υπάρχουν πολλές διαφορές, υπάρχουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά.⁽⁵⁾

Στην εποχή μας γίνεται ολοένα και πιο επιτακτική η ανάγκη για επιστροφή στην παραδοσιακή μεσογειακή διατροφή. Πρόκειται για διατροφή, η οποία περιλαμβάνει πολλών ειδών αγριόχορτα και τα οποία μπορούν μαγειρεμένα ή φρέσκα ως χορταστική σαλάτα να γίνουν μέρος της καθημερινής διατροφής, που θα αποτελέσει σύμμαχο μιας καλύτερης υγείας. Πριν από δεκάδες χιλιάδες χρόνια, ένα μεγάλο μέρος της ενεργειακής πρόσληψης των προγόνων μας βασιζόταν σε αγριόχορτα, τα οποία ήταν ιδιαιτέρως πλούσια σε διάφορα συστατικά όπως βιταμίνη C, Ω-3 λιπαρά οξέα, μεταλλικά στοιχεία κι άλλα.

3. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΑ ΒΟΤΑΝΑ

Η φύση έχει αποτελέσει μια πλούσια αποθήκη θεραπευτικών φυτών για χιλιάδες χρόνια και ένας εντυπωσιακός αριθμός σύγχρονων φαρμάκων έχει απομονωθεί από φυσικές πηγές, κυρίως από τα φυτά.⁽⁶⁾

Το λεξικό της Αγγλικής της Οξφόρδης, αναφέρει λεπτομερώς πως ο όρος «βότανα» αφορά φυτά των οποίων τα φύλλα ή οι μίσχοι και τα φύλλα χρησιμεύουν ως τροφή ή θεραπεία ή με κάποιον τρόπο, χάρη στη μυρωδιά ή το άρωμα τους.

Η θεραπευτική των βοτάνων σε μορφή πουδρών, υγρών η μειγμάτων έχει υπάρξει η βάση της θεραπείας για διάφορες ασθένειες από αρχαιοτάτων χρόνων. Η χρήση αυτή των βοτάνων έχει αυξηθεί σε πολύ μεγάλο βαθμό τα τελευταία 20-25 χρόνια.⁽⁷⁾

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) σε θεραπευτικά βότανα βασίζεται το 65-80% του παγκόσμιου πληθυσμού για τις βασικές τους ανάγκες υγείας.

Επιπροσθέτως, η εμφάνιση ανθεκτικών σε φάρμακα μικροβιακών στελεχών, λόγω της αλόγιστης χρήσης των αντιβιοτικών, που έχουν σκοπό να καταπολεμήσουν μολυσματικές ασθένειες, έχει διεγείρει ιδιαίτερα το ενδιαφέρον για τα θεραπευτικά βότανα.⁽⁸⁾ Οι ευεργετικές για την υγεία ιδιότητες πολλών φυτών, που χρησιμοποιούνται εδώ και αιώνες ως καρυκεύματα για το φαγητό, υποστηρίζεται ότι προλαμβάνουν την αλλοίωση των τροφίμων και ότι λειτουργούν ως αντιμικροβιακοί παράγοντες εναντίον παθολογικών μικροοργανισμών. Αυτές οι πιθανές αντιμικροβιακές ιδιότητες κάνουν τα βότανα αντικείμενα πολλών μελετών σε όλον τον κόσμο,⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾ αλλά λίγες μόνο από αυτές τις έρευνες έχουν διεξαχθεί με συστηματικό τρόπο.⁽¹²⁾



3.1. ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΩΝ ΒΟΤΑΝΩΝ

«Η τροφή σου να είναι το φάρμακο σου και το φάρμακο σου να είναι η τροφή σου»

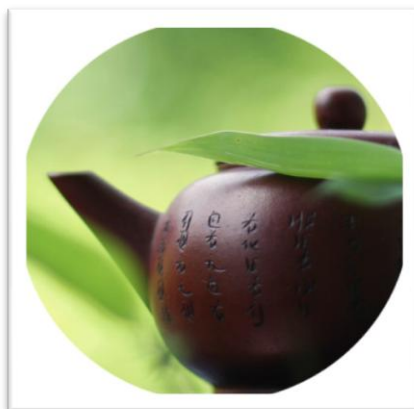
Ιπποκράτης, (460-377 π.Χ)

Στην αρχαία Αίγυπτο έχουν βρεθεί πάπυροι από το 1555 π.Χ, που μαρτυρούν την ευρεία χρήση του κόλιανδρου, του ιουνίπερου, του μάραθου, του κύμινου, του σκόρδου και του θυμαριού. Επίσης έχει καταγράψει ότι οι Σουμέριοι χρησιμοποιούσαν το θυμάρι για τις ευεργετικές ως προς την υγεία ιδιότητες του ήδη από το 5000 π.Χ. και οι αγρότες στη Μεσοποταμία (σημερινό Ιράκ και Ιράν) επίσης ανέπτυξαν γνώσεις πάνω στις ευεργετικές ιδιότητες των βοτάνων και συγκεκριμένα του ιουνίπερου, του σαφράν και του θυμαριού.⁽¹³⁾

Στην αρχαία Ελλάδα και τη Ρώμη, τα βότανα φαίνεται πως χρησιμοποιούνταν περισσότερο από τα μπαχαρικά. Ο πρώτος ιατρός της Ελλάδας φαίνεται πως ήταν ο Χίρων. Σύμφωνα με τον Όμηρο, ο Χίρων ήταν αυτός που δίδαξε στον Ασκληπιό την τέχνη της ιατρικής και της χρήσης των βοτάνων σε αυτήν. Ο Ιπποκράτης (460-377 π.Χ.) είχε ένα ρεπερτόριο 300 φαρμάκων, που συμπεριελάμβανε το σκόρδο, την κανέλα και το δενδρολίβανο, τα οποία όλα συλλέγονταν. Για παράδειγμα, η μέντα είχε μεγάλη αξία για τα θετικά της αποτελέσματα στο πεπτικό σύστημα και η γλυκόριζα είχε χρήση ως γλυκό, αλλά και ως βότανο με αντιφλεγμονώδεις δράσεις, αλλά και για το άσθμα, τα προβλήματα στο στήθος και τα έλκη στο στόμα. Το δενδρολίβανο χρησιμοποιούνταν για να βελτιώσει και να ενδυναμώσει τη μνήμη.

Γύρω στον πρώτο αιώνα μ.Χ. ο Διοσκουρίδης, Έλληνας βοτανολόγος, φαρμακολόγος και χειρουργός, εξέδωσε την πρώτη μονογραφία με φυτά, η οποία περιέχει 600 βότανα, περιγράφοντας πώς κανείς μπορεί να διαλέξει, αποθηκεύσει και εφαρμόσει τα φυτά για ένα εύρος ευεργετικών πλεονεκτημάτων. Ένας άλλος σπουδαίος Έλληνας ιατρός, ο Γαληνός (131-200 μ.Χ.), ο οποίος ζούσε στη Ρώμη από το 162 μ.Χ., έπαιξε πολύ σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη θεραπειών με βότανα, αλλά χρησιμοποιούσε πολύπλοκα μείγματα με μέχρι 100 συστατικά. Η μονογραφία του Διοσκουρίδη χρησιμοποιούνταν ως βάση αναφοράς στην Ευρώπη μέχρι τον 17^ο αιώνα.

Στην Κίνα, η χρήση των θεραπευτικών φυτών είναι τυλιγμένη με μύθους. Σε δύο θρυλικούς Κινέζους αυτοκράτορες αποδίδεται η ανακάλυψη των φαρμακευτικών ιδιοτήτων των βοτάνων-τον Sheng Nong(2838-2698 π.Χ.) και τον Huang Di ή αλλιώς «Κίτρινο Αυτοκράτορα» (2698-2598 π.Χ.). Παραδοσιακά, οι Κινέζοι πολλές φορές χρησιμοποιούσαν βότανα και μπαχαρικά σε ειδικά παρασκευασμένες σούπες, φαγητά ή αναψυκτικά και για καλύτερη διατήρηση, αλλά και για καλύτερη υγεία. Το ginseng και το ginkgo biloba έχει αναφερθεί πως βελτιώνουν την αντοχή και τη γνωστική ικανότητα, αντίστοιχα.⁽¹⁴⁾



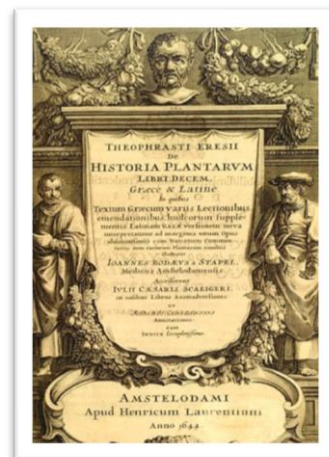
Στην Ινδία, η παραδοσιακή ιατρική (Ayurveda) αναπτύχθηκε πριν πάνω από 5000 χρόνια στα Ιμαλάια, με τη γνώση να μεταδίδεται προφορικά, μέχρι που γράφτηκε στη Σανσκριτική ποίηση (the Vedas) γύρω στο 1500 π.Χ. Γνώρισε άνθηση τον 7^ο αιώνα. Η Ayurveda εστιάζει στην πρόληψη των ασθενειών με έμφαση στη διατροφή. Κάποια παραδείγματα αυτού του είδους ιατρικής είναι η χρήση του κουρκουμά για τον ίκτερο και του βασιλικού για προστασία της καρδιάς.

Με την κατάρρευση της Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας γύρω στο 476 μ.Χ., η ανάπτυξη της Αραβικής ιατρικής, το 500-1300 μ.Χ., διατήρησε κάποιες από τις γνώσεις σχετικά με τις ευεργετικές για την υγεία ιδιότητες των βοτάνων και "έχτισε" επάνω στις γνώσεις του Γαληνού. Η διάδοση της Ισλαμικής κουλτούρας στη Βόρεια Αφρική είχε σημαντικά αποτελέσματα στην περιοχή, αναμειγνύοντας την γνώση αυτή με αυτήν της Κίνας και της Ινδίας.

Τον 9^ο αιώνα, ο αυτοκράτορας Καρλομάγνος είπε αυτολεξεί «το βότανο είναι ο φίλος των γιατρών και η δόξα των μαγείρων», δείχνοντας πως ο διπλός ρόλος των βοτάνων (γευστικά και θεραπευτικά) εξακολουθούσε να αναγνωρίζεται. Στη βυζαντινή εποχή σε συγγράμματα συναντάμε πολλά από τα σημερινά βότανα όπως τη μολόχα, το κόλιανδρο, το κάρδαμο και άλλα. Η μεγάλη ακμή της βοτανολογίας σημειώθηκε το Μεσαίωνα.⁽¹⁵⁾

Ο Παράκελσος (1493 – 1541 μ.Χ.), ο μεγάλος αλχημιστής της Αναγέννησης και πατέρας της σύγχρονης ιατρικής, το 1538 διατύπωσε τη

συνταγή «ελιξίριο μακροζωίας». Το αποκάλεσε «καθολική θεραπεία» και υποσχόταν πως όποιος το λάμβανε «θα εναρμόνιζε τις σημαντικότερες λειτουργίες των εσωτερικών του οργάνων και θα ωφελούσε ολόκληρο το σώμα του» προκειμένου να επιτύχει την «επιμήκυνση της διάρκειας της ζωής του». ⁽¹⁶⁾⁽⁹³⁾



Δυστυχώς, η αρχική συνταγή χάθηκε ή κλάπηκε και δεν ανακαλύφθηκε παρά 250 χρόνια αργότερα, σε ένα δημοσίευτο χειρόγραφο του. Οι σουηδοί ιατροί Dr. Urban Hjærne και Dr. Claus Samst, εργάστηκαν πάνω σ' αυτή τη συνταγή. Σε χειρόγραφο του Dr. Samst, εξηγείται σε 46 σημεία, πως το Schweden Bitter τονώνει, αναζωογονεί, προστατεύει και θεραπεύει κάθε ασθένεια. Το Schweden Bitter που προφέρεται «σβέντεν μπίτερ» και σημαίνει «σουηδικό πικρό» χρησιμοποιήθηκε κατά κόρον στη Κεντρική Ευρώπη, ενώ ακόμα και σήμερα η αποτελεσματικότητά του κατά πολλών παθήσεων, προκαλεί την αναζήτηση επιστημονικώς του μυστικού, αυτού του βοτανικού μίγματος. ⁽⁹³⁾

Στην Αυστραλία, οι αυτόχθονες πληθυσμοί ανέπτυξαν τη δική τους τοπική θεραπευτική με βότανα, βασιζόμενοι στα φυτά που ήταν διαθέσιμα. Η απομόνωση τους σήμαινε ότι οι αυτόχθονες δεν αντιμετώπιζαν τις ασθένειες του Δυτικού πληθυσμού και επομένως, η χρήση των βοτάνων αναπτύχθηκε για λιγότερο σοβαρές ασθένειες. Για παράδειγμα, η χρήση του είδους μέντας river mint για την καταπολέμηση του κοινού κρυολογήματος και του βήχα και του ευκαλύπτου για τη διάρροια, τον πυρετό, τον πονοκέφαλο και ένα εύρος άλλων ασθενειών. ⁽¹⁹⁾

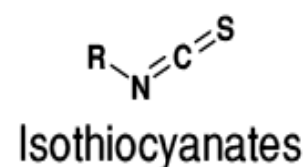
Οι Μεσογειακές δίαιτες έχουν συσχετισθεί με μειωμένη συχνότητα εμφάνισης χρόνιων ασθενειών, όπως είναι τα καρδιαγγειακά νοσήματα και ο καρκίνος. Οι δίαιτες αυτές συμπεριλαμβάνουν σημαντικές ποσότητες σκόρδου, δενδρολίβανου, βασιλικού και θυμαριού, ανάμεσα σε άλλα βότανα, κάτι το οποίο πιθανώς εξηγεί κάποιες από τις προστατευτικές επιδράσεις στην υγεία, που παρατηρούνται σε πληθυσμούς που ακολουθούν τις δίαιτες αυτές. ⁽²⁰⁾

4. ΒΑΣΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΩΝ ΒΟΤΑΝΩΝ ΜΕ ΕΥΕΡΓΕΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ

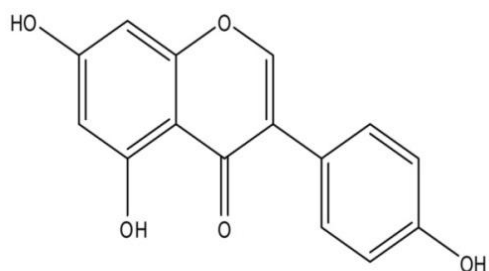
4.1. ΤΑ ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΑ

Με την ονομασία φυτοχημικά (*phytochemicals*), στο πεδίο των συμπληρωμάτων διατροφής, αναφερόμαστε σε φυτικές ουσίες ευεργετικές για τον ανθρώπινο οργανισμό.⁽²¹⁾ Τα φυτοχημικά δεν είναι απαραίτητο να ανήκουν στις βιταμίνες, στα αμινοξέα ή στα απαραίτητα λιπαρά οξέα. Βρίσκονται στα φρούτα, στα λαχανικά, στους σπόρους ή στα φαρμακευτικά βότανα. Οι περισσότερες από τις ουσίες αυτές, εκτός των άλλων, έχουν ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Τα πιο συνηθισμένα φυτοχημικά ανήκουν στις ακόλουθες ομάδες χημικών ουσιών.⁽²²⁾

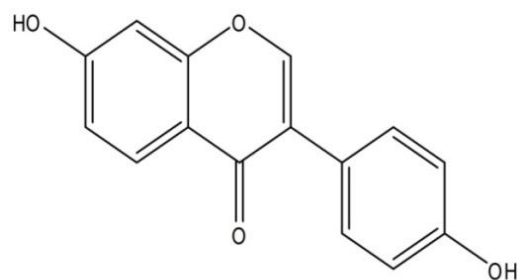
-Τα ισοθειακυανικά (*isothiocyanates*), τα οποία υπάρχουν στα λάχανα, στα μπρόκολα, στα λαχανάκια Βρυξελλών, στη μουστάρδα και αλλού, εκτός των άλλων ενεργοποιούν τα ένζυμα του ήπατος και πιθανόν αποτρέπουν τη δημιουργία καρκίνου.



-Οι ισοφλαβόνες (*isoflavones*) βρίσκονται στη σόγια και τα προϊόντα της. Η σόγια περιέχει πολλά είδη ισοφλαβονών, με πιο σημαντικά την γαινιστεΐνη (*genistein*) και δεΐσδεΐνη (*daidzein*)⁽⁸⁹⁾

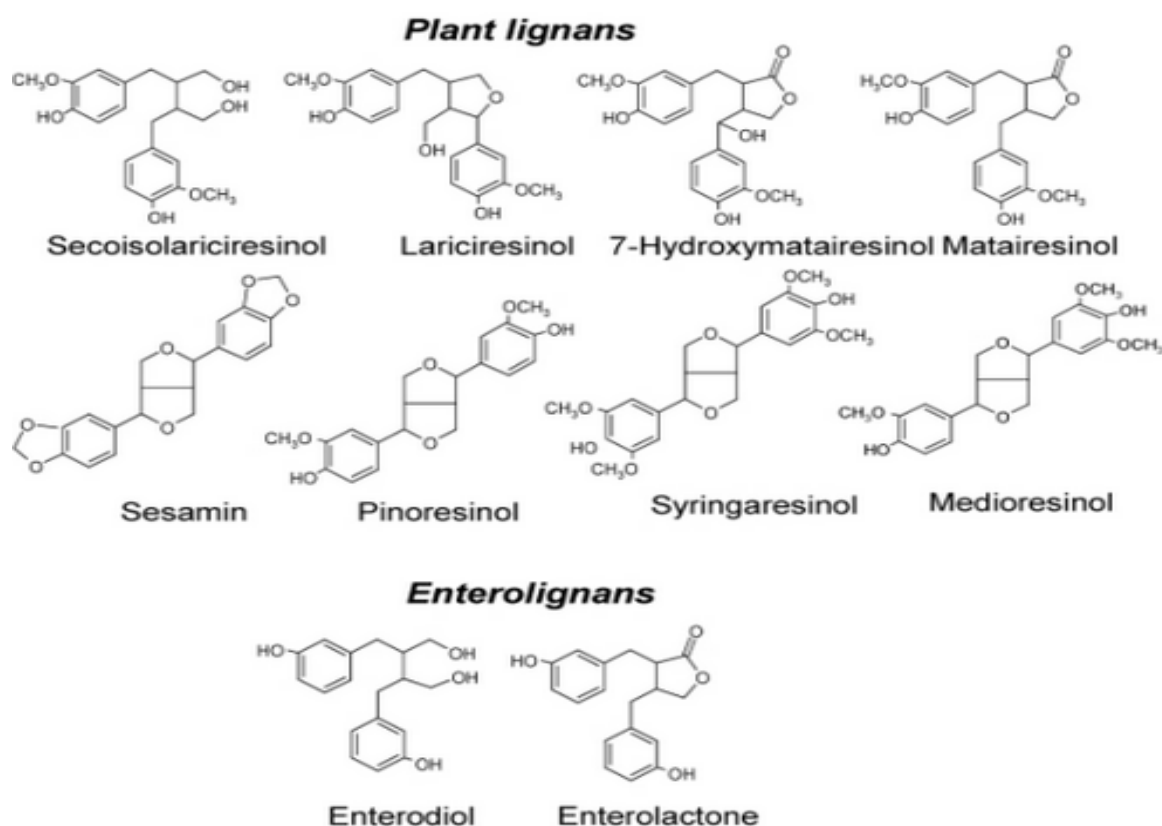


5,7-Dihydroxy-3-(4-hydroxy-phenyl)-chromen-4-one
(**genistein**, isoflavone)



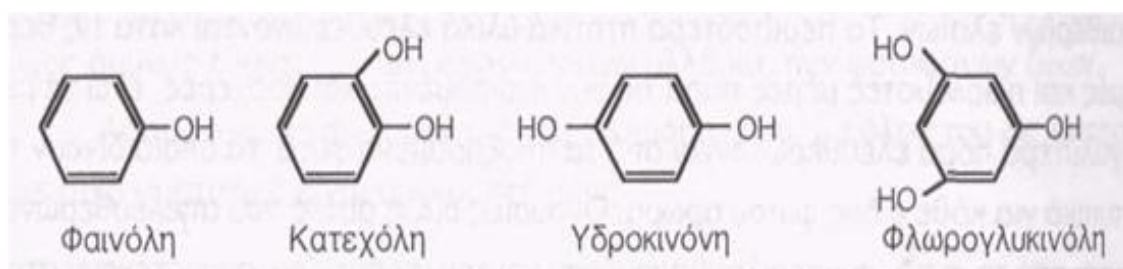
7-Hydroxy-3-(4-hydroxy-phenyl)-chromen-4-one
(**daidzein**, isoflavone)

-Τα λιγνάνια (*lignans*) συνυπάρχουν με άλλα μικροδιατροφικά στο λιναρόσπορο, στο σουσάμι, στους ξηρούς καρπούς, στη βρώμη και αλλού.⁽⁹⁰⁾

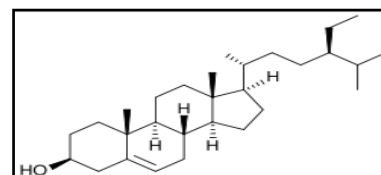


-Τα οργανοσουλφίδια(*organ sulfides*) βρίσκονται κυρίως στα λάχανα, στα κρεμμύδια, και στο σκόρδο. Μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων.

-Οι πολυφαινόλες (*polyphenols*) βρίσκονται στο τσάι, στο κακάο, στις φράουλες κ.α. Είναι αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ουσίες. Μερικές από τις πιο απλές πολυφαινόλες είναι:

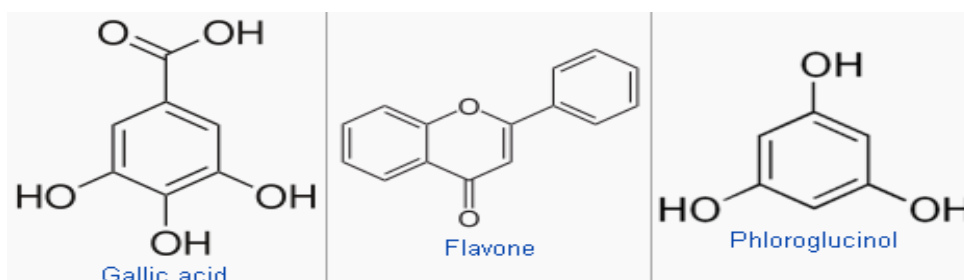


-Οι φυτοστερόλες (*phytosterols*) όπως είναι η σιτοστερόλη, απαντώνται στα φυτικά έλαια. Μειώνουν την LDL.



B-σιτοστερόλη

-Οι ταννίνες (*tannins*) υπάρχουν στο τσάι, στο ρόδι, στο κόκκινο κρασί και στον καβουρδισμένο καφέ. Είναι ουσίες αντιοξειδωτικές, μικροβιοκτόνες και έχουν αντιφλεγμονώδη δράση. Υπάρχουν τρεις κύριες κατηγορίες ταννίνων:



Στα φυτοχημικά ανήκουν τα φλαβονοειδή και τα καροτενοειδή.⁽²³⁾

Πίνακας 1: Τα φυτοχημικά και οι κύριες πηγές τους

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ/ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΠΗΓΕΣ
ΚΑΡΟΤΕΝΟΕΙΔΗ	
B-καροτένιο	Καρότα, διάφορα φρούτα
Λουτεΐνη, ζεαξανθίνη	Σπανάκι, καλαμπόκι, αυγά
Λυκοπένιο	Ντομάτα και τα προϊόντα επεξεργασίας της
ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ	
Ανθοκυανίνες	Μούρα, κεράσια, κόκκινα σταφύλια
Φλαβανόλες, κατεχίνες, επικατεχίνες, προανθοκυανιδίνες	Τσάι, κακάο, σοκολάτα, μήλα, σταφύλια
Φλαβανόνες	Εσπεριδοειδή
Φλαβονόλες	Κρεμμύδια, μήλα, τσάι, μπρόκολο
Προανθοκυανίνες	Μύρτιλλα, κακάο, μήλα, φράουλες, σταφύλια, κρασί, φιστίκια, κανέλα
ΙΣΟΘΕΙΟΚΥΑΝΙΚΑ	
Σουλφοραφάνη	Μπρόκολο, κουνουπίδι, λάχανο, ραδίκια
ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ	
Καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ	Μήλα ,αχλάδια, εσπεριδοειδή

4.2. ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Οι φαινολικές ενώσεις βρίσκονται στα εδώδιμα και μη εδώδιμα φυτά. Αποτελούνται από ένα βενζολικό δακτύλιο, ο οποίος φέρει μία ή και περισσότερες υδροξυλομάδες. Είναι προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών και βρίσκονται ελεύθερα ή ενωμένα με μόρια γλυκόζης ή άλλα σάκχαρα (γλυκοζίτες η γλυκοσίδες), ενώ πολλές περιλαμβάνουν αμίνες, οργανικά οξέα, λιπίδια και άλλα συστατικά.⁽²⁴⁾

Φαινολικές ενώσεις θεωρούνται εκείνες που προέρχονται από τα μεταβολικά μονοπάτια του σικιμικού οξέος και του φαινυλοπροπανίου και βασικός του ρόλος είναι η προστασία των φυτών από τα φωτοσυνθετικό και το περιβαλλοντικό στρες. Οι φαινολικές ενώσεις διακρίνονται σε απλές φαινόλες, όταν έχουν ένα φαινολικό δακτύλιο και σε πολυφαινόλες όταν έχουν δύο ή περισσότερους. Στις απλές φαινόλες ανήκουν τα φαινολικά οξέα και οι κουμαρίνες, ενώ στις πολυφαινόλες τα φλαβονοειδή και οι ταννίνες.⁽²⁵⁾

Οι πολυφαινολικές ενώσεις είναι πολύ διαδεδομένες στη φύση και βρίσκονται σε αφθονία στην επιδερμίδα πολλών φρούτων , όπως τα μήλα , τα αχλάδια, τα ροδάκινα κ.α., σε λαχανικά, όπως το κρεμμύδι και το σπανάκι, στο πράσινο και στο μαύρο τσάι, στο κόκκινο κρασί, στο κακάο και στη σοκολάτα. Η περιεκτικότητα των φυτικών τροφίμων σε πολυφαινόλες εξαρτάται από το είδος, την ποικιλία, την έκθεση στο φως, την επεξεργασία και την αποθήκευση.⁽²⁶⁾

4.2.1. ΔΡΑΣΕΙΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

- 1)** Εμφανίζουν αντιαθηρωματική δράση, αποτρέποντας την παραγωγή ουσιών υπεύθυνων για τη δημιουργία αθηρωματικών πλακών.
- 2)** Εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη δράση, αναστέλλοντας προφλεγμονώδεις παράγοντες, όπως οι κυτονίνες.
- 3)** Παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση, δεσμεύοντας τις ελεύθερες ρίζες και προστατεύοντας το ενδοθήλιο από το οξειδωτικό στρες.
- 4)** Βελτιώνουν τη λειτουργία του αρτηριακού ενδοθηλίου.

5) Βελτιώνουν τη λειτουργία των αιμοπεταλίων αποτρέποντας την έκκριση από αυτά φλεγμονωδών παραγόντων και εμποδίζοντας τη συσσωμάτωσή τους.

6) Μειώνουν τα λιπίδια στο αίμα, γεγονός σημαντικό για την πρόληψη της αθηροσκλήρωσης. Ελαττώνουν την ολική χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια και την LDL, ενώ αυξάνουν την HDL.

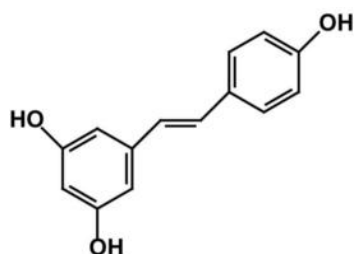
7) Τροποποιούν την έκφραση κάποιων γονιδίων που σχετίζονται με την στεφανιαία νόσο.

4.3. ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ

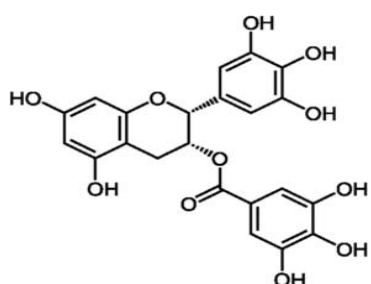
Πολυφαινόλες είναι οι εξής ουσίες:

- Ρεσβερατρόλη,
- Κατεχίνη,
- Θειοφλαβίνη,
- Απιγενίνη,
- Ελλαγικό οξύ,
- Κικορικό οξύ καθώς και πολλές άλλες.

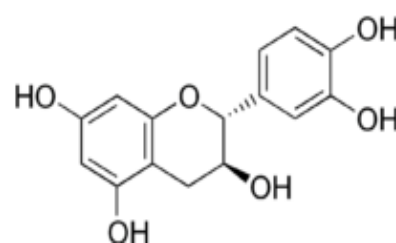
Πιο κάτω μπορούμε να δούμε μερικές πολυφαινόλες που έχουν τραβήξει το ενδιαφέρον των επιστημόνων.



Ρεσβερατρόλη από το κόκκινο κρασί

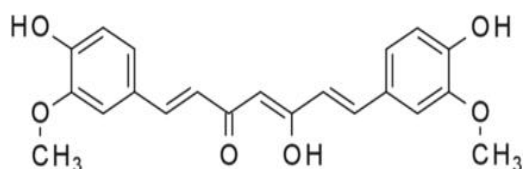


Γαλλική επικατεχίνη (EGCG)

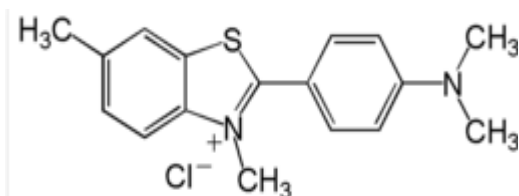


Κατεχίνη από το πράσινο τσάι

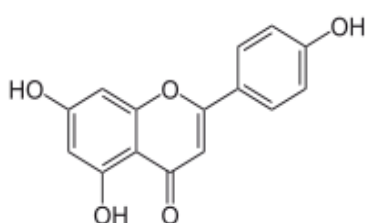
Η θερμογονική δράση των κατεχίνων και ιδιαίτερα η σχέση μεταξύ της κατανάλωσης πράσινου τσαγιού και της μείωσης του σωματικού λίπους (ιδίως γύρω από την κοιλιά) που υποδεικνύουν πληθυσμιακές μελέτες, έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον της διεθνούς επιστημονικής κοινότητας.⁽⁹⁶⁾



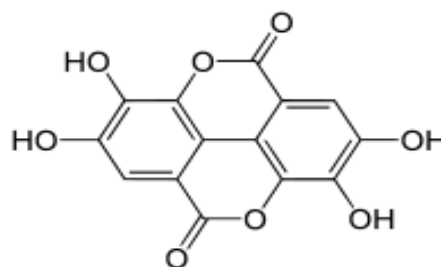
Κουρκουμίνη από το μπαχαρικό κουρκουμάς



Θειοφλαβίνη



Απιγενίνη



Ελλαγικό οξύ

Η αλήθεια είναι ότι οι πολυφαινόλες πριν κάποια χρόνια ήταν ουσίες περίπλοκες και μη μελετημένες από τους διατροφολόγους.⁽²⁸⁾ Την τελευταία δεκαετία όμως, έχουν γίνει πολλές επιστημονικές έρευνες γύρω από τις ουσίες αυτές που αποδεικνύουν ότι η κατανάλωσή τους έχει τεράστια συμβολή στην αποφυγή ασθενειών αλλά και στη διατήρηση της καλής υγείας και της ζωτικότητάς μας.⁽²⁹⁾

Οι πολυφαινόλες είναι έγχρωμες, αντιοξειδωτικές ουσίες που βρίσκονται στα φυτά και τα προστατεύουν από το στρες, την υπεριώδη ακτινοβολία και τις μολύνσεις. Πιο συγκεκριμένα πρόκειται για μόρια με παρόμοιες χημικές δομές, που ανήκουν στην ευρύτερη ομάδα των φωτοχημικών ουσιών, ουσιών που βρίσκονται στα φυτικά τρόφιμα και παρουσιάζουν ενεργό και ωφέλιμη βιολογική δράση στο σώμα μας. Από τα δεκάδες χιλιάδες φυτοχημικά μόρια οι πολυφαινόλες αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα απαριθμώντας περίπου 8.000 μόρια, ενώ εκτιμάται ότι σε μια μέση διατροφή καταναλώνουμε περίπου 1 ολόκληρο γραμμάριο ανά ημέρα από τις ουσίες αυτές.⁽³⁰⁾

Οι πολυφαινόλες χωρίζονται σε τέσσερις ομάδες ανάλογα με τη χημική τους δομή, οι οποίες είναι οι παρακάτω⁽³¹⁾:

- **Φλαβονοειδή:**

Αποτελούν την μεγαλύτερη υποομάδα πολυφαινόλων και είναι ιδιαίτερα ευεργετικά για την υγεία λόγω των αντιοξειδωτικών τους ιδιοτήτων, της δράσης τους στην καταπολέμηση των φλεγμονών αλλά και της αντικαρκινικής τους δράσης. Τις λαμβάνουμε κάθε φορά που πίνουμε τσάι, καφέ, κακάο, που τρώμε κόκκινο λάχανο, ελαιόλαδο κ.α.



- **Φαινολικά Οξέα :**

Παρέχουν αυξημένες αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντιπικές και αντικαρκινικές ιδιότητες. Μία διατροφή πλούσια σε φρούτα και λαχανικά ολικής άλεσης μας παρέχει επαρκείς ποσότητες από Φαινολικά οξέα. Παραδείγματα από τροφές που περιέχουν Φαινολικά οξέα είναι: τα μήλα, τα κεράσια, τα ακτινίδια, οι φράουλες, τα κρεμμύδια, το τσάι, ο καφές, το κόκκινο κρασί, το ρύζι, η βρώμη, τα δημητριακά κ.α.



- **Ανθοκυανίνες:**

Είναι αντιοξειδωτικές ουσίες που μας παρέχουν προστασία από τις φλεγμονές, τον καρκίνο και τις καρδιαγγειακές νόσους. Στην ουσία πρόκειται για τις χρωστικές που δίνουν το λαμπρό κόκκινο, μπλε και μοβ χρώμα στα ρόδια, στα σταφύλια, στα κόκκινα κρεμμύδια, στα μπλε μούρα κ.α.



- **Στιλβένια:**

Με την πιο διάσημη από αυτά την *Ρεσβερατρόλη* - είναι ισχυρές αντιοξειδωτικές ουσίες με αντιφλεγμονώδη δράση, δράση κατά του Αλτσχάιμερ, των καρδιαγγειακών νόσων και ιδιαίτερα της αθηρωμάτωσης, του καρκίνου και του σακχαρώδους διαβήτη. Βρίσκονται στα μούρα, στην φλούδα των σταφυλιών ιδιαίτερα των κόκκινων, στο κρασί και σε άλλες φυτικές ουσίες.

Οι ταννίνες, οι λιγνίνες και τα φλαβονοειδή είναι επίσης υποκατηγορίες των πολυφαινολών.

Η κύρια πηγή για τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά είναι η διατροφή, μιας και οι πολυφαινόλες βρίσκονται σε ποικιλίες τροφίμων που περιέχουν φυτοθεραπευτικά συστατικά. Τα περισσότερα όσπρια, φρούτα (όπως μήλα, μούρα, πεπόνι, κεράσια, βακκίνια, σταφύλια, αχλάδια, δαμάσκηνα, βατόμουρα, και φράουλες), και λαχανικά (όπως μπρόκολο, λάχανο, σέλινο, κρεμμύδι και μαϊντανός) είναι πλούσια σε πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά. Το κόκκινο κρασί, η σοκολάτα, το πράσινο τσάι, το ελαιόλαδο, η γύρη της μέλισσας είναι εναλλακτικές πηγές.

Ένα πολυφαινολικό αντιοξειδωτικό είναι ένας τύπος αντιοξειδωτικού που περιέχει μία πολυφαινολική δομή. Τα πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά έχουν την ικανότητα να εξολοθρεύουν τις ελεύθερες ρίζες και να ανάγουν ορισμένες χηλικές αντιδράσεις: τα δραστικά ιόντα που περιέχουν οξυγόνο (*ελεύθερες ρίζες*) πρέπει να αφαιρούνται από τα κύτταρα συνεχώς για να διατηρηθεί ο σωστός μεταβολισμός.

Η ύπαρξη μιας πληθώρας από πολυφαινολικά αντιοξειδωτικά μπορούν⁽³²⁾:

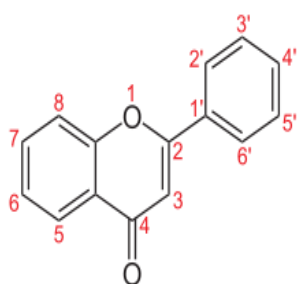
- Να μειώσουν τις φλεγμονώδεις επιδράσεις, όπως της στεφανιαίας νόσου, και να βελτιώσουν την υγεία των ενδοθηλίων περιορίζοντας την οξειδωση την χαμηλής-πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (*LDL*).
- Να συμβάλλουν στην πρόληψη του καρκίνου. Οι πολυφαινόλες που αναφέρονται για την πρόληψη του καρκίνου είναι η κατεχίνη επιγαλλοκατεχίνη, γαλλικού εστέρα.
- Να καθυστερήσουν την διαδικασία της γήρανσης.
- Να προστατεύσουν τις λιπομεμβράνες των κυττάρων, τις πρωτεΐνες και το DNA. Οι πολυφαινόλες που υπάρχουν στο τσάι ενεργούν ως εξολοθρευτές ριζών οξυγόνου και αζώτου.

4.4. ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ

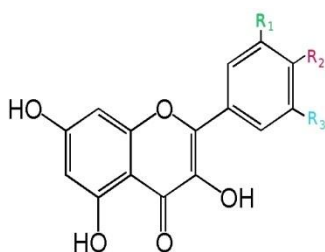
Τα φλαβονοειδή αποτελούν μία μεγάλη ομάδα πολυφαινολικών ενώσεων, που βρίσκονται σε όλα σχεδόν τα φυτά και αποτελούν τα δραστικά συστατικά πολλών φαρμάκων φυτικής προέλευσης. Είναι κίτρινες και ανάλογες στη δομή με τις ανθοκυανίνες. Είναι γνωστά σήμερα 400 περίπου φλαβονοειδή, τα οποία ανήκουν σε διάφορες ομάδες. Οι ομάδες των φλαβονοειδών είναι οι φλαβονόλες (*κερκετίνη, καμφερόλη*), οι φλαβόνες (*απιγενίνη*), οι φλαβανόνες, οι ισοφλαβανόνες, οι αουρόνες και οι καλκόνες.⁽³¹⁾

Οι φλαβονόλες κερκετίνη και καμφερόλη ως γλυκοζίτες απαντώνται στα περισσότερα φυτά (*ένας πολύ γνωστός γλυκοζίτης της κερκετίνης είναι η ρουτίνη*). Αποτελούν σε μεγάλη αναλογία συστατικά του τσαγιού και συμβάλλουν στη στυφή γεύση. Οι φλαβανόνες βρίσκονται κυρίως στα εσπεριδοειδή. Παρουσιάζουν ενδιαφέρον και ως συνθετικές γλυκαντικές ύλες. Χρησιμοποιούνται ως συστατικά τροφίμων και καλλυντικών. Στα ανώτερα φυτά, απαντώνται υπό μορφή γεννίνων ή γλυκοσιδών.

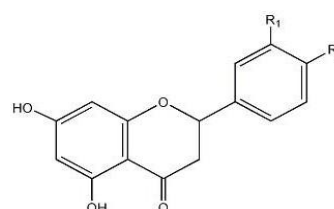
Φυτικής προέλευσης γλυκοζίτες φλαβονοειδών και ανθοκυανίνες απαντώνται συχνά σε ακυλιωμένη μορφή με αρωματικά οξέα όπως το π-κουμαρικό οξύ και καφεϊκό οξύ σε μια συγκεκριμένη υδροξυ-ομάδα του σακχαρικού μέρους τους. Οι ενώσεις αυτές είναι σταθερές στους φυτικούς ιστούς εξαιτίας δια- και ενδομοριακών υδρόφοβικών αλληλεπιδράσεων που προκαλούνται μετά την ακυλίωσή τους με αρωματικά οξέα. Αυτή η ιδιότητα των φλαβονοειδών φαίνεται να είναι υπεύθυνη για ορισμένες φυσιολογικές λειτουργίες των ανωτέρων φυτών όπως αντίσταση στην υπεριώδη ακτινοβολία και δέσμευση ελευθέρων ριζών.⁽³²⁾



Φλαβόνες



Φλαβονόλες



R ₁ = H;	R ₂ = OH;	Naringenin
R ₁ = OH;	R ₂ = OH;	Eriodictyol
R ₁ = OH;	R ₂ = OCH ₃ ;	Hesperetin

Φλαβανόνες

4.4.1. ΔΡΑΣΕΙΣ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ

Μια από τις πιο σπουδαίες ιδιότητες των φλαβονοειδών είναι και η προστασία που παρέχουν στις οξειδώσεις *in vivo*. Οι τελευταίες συνδέονται με την αθηροσκλήρωση, καρκινογένεση και άλλες εκφυλιστικές ασθένειες. Παρουσιάζουν πλήθος βιολογικών ιδιοτήτων, συμπεριλαμβανομένης της αντικαρκινικής, αντιοξειδωτικής, αντιφλεγμονώδους, αντιβακτηριακής, αντιαλλεργικής και αντιιικής.⁽³⁴⁾

Αρκετές μελέτες έδειξαν ότι τα άτομα που καταναλώνουν τρόφιμα πλούσια σε φλαβονοειδή ή άλλα φυτοχημικά, όπως είναι τα κρεμμύδια, τα σκόρδα και το πράσινο τσάι ελάττωσαν στο μισό τις πιθανότητες θανάτου από στεφανιαία νόσο. Στο πλαίσιο αυτό εντάσσεται και το λεγόμενο *γαλλικό παράδοξο*. Δηλαδή, ενώ οι Γάλλοι καταναλώνουν πολύ μεγάλες ποσότητες ζωικών λιπών, και όπως είναι φυσικό, έχουν υψηλότερη χοληστερόλη από τους Αμερικάνους, οι θάνατοι από στεφανιαία νόσο στη Γαλλία είναι 2,5 φορές λιγότεροι, γεγονός που αποδίδεται στο κόκκινο κρασί, το οποίο καταναλώνουν καθημερινά οι Γάλλοι. Το κόκκινο κρασί είναι πλούσιο σε φλαβονοειδή.⁽³⁵⁾⁽³⁶⁾

4.4.2. ΠΗΓΕΣ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ

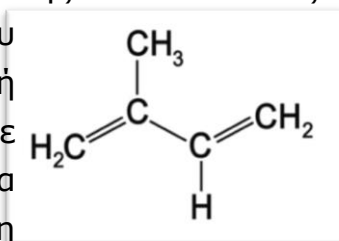
Τα φλαβονοειδή δεν παράγονται στον ανθρώπινο οργανισμό αλλά βρίσκονται σε αφθονία στα φρούτα και στα λαχανικά. Πολύ καλές πηγές είναι τα ρόδια, τα εσπεριδοειδή, τα μήλα, τα κρεμμύδια, τα κόκκινα σταφύλια, τα μούρα, τα βατόμουρα, οι φράουλες, τα κεράσια, οι κόκκινες πιπεριές, οι μαύρες σταφίδες, τα δαμάσκηνα, το φασκόμηλο, το πράσινο τσάι κ.α. Επίσης, φλαβονοειδή έχει και το μέλι. Όσο πιο σκούρο είναι, τόσο μεγαλύτερη είναι η αντιοξειδωτική του ικανότητα. Φλαβονοειδή με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση βρίσκονται στα κουκούτσια των σταφυλιών και στο φλοιό ορισμένων ειδών πεύκων.⁽³⁷⁾⁽³⁸⁾

Το κακάο και η σοκολάτα, έχουν ορισμένες ουσίες που κατατάσσονται στα φλαβονοειδή και ως εκ τούτου εμποδίζουν την εμφάνιση οξειδωτικού στρες και τις πολύ αρνητικές συνέπειες, που έχει η εμφάνιση του στον ανθρώπινο οργανισμό. Αντιοξειδωτικές ιδιότητες έχει και ο καφές. Μέχρι σήμερα έχουν επισημανθεί περισσότερες από 4.000 φλαβονοειδείς φυτικές ουσίες.⁽³⁹⁾⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾

4.5. ΤΕΡΠΕΝΙΑ

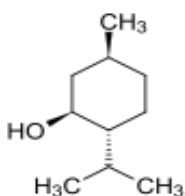
Τα τερπένια είναι μια από τις μεγαλύτερες ομάδες φυσικών προϊόντων και αποτελούνται από πολλές ουσίες με σημαντικό ρόλο σε φυσιολογικές και παθολογικές διαδικασίες.⁽⁴²⁾ Η βιοσύνθεσή τους έχει υπάρξει κεντρικό θέμα για μελέτες του μεταβολισμού για πάνω από μισό αιώνα.

Παράγονται μέσω της βιοσυνθετικής οδού του μεβαλονικού και πρόδρομο μόριο το ακέτυλο συνένζυμο Α ή μέσω της βιοσυνθετικής οδού του πυροσταφυλικού- φωσφογλυκεριναλδεΐδης. Οι ενώσεις αυτές προέρχονται από την βασική μονάδα του ισοπρενίου - ισοπεντανίου (C₅). Η ομάδα αυτή αποτελείται από πάρα πολλά μέλη, με εξαιρετική ποικιλότητα δομής. Η ονομασία τερπένιο προέρχεται από τη γερμανική λέξη «*terpentin*» (νέφτι), διότι από το προϊόν αυτό απομονώθηκαν τα πρώτα μέλη της ομάδας. Έχουν προσδιορισθεί πάνω από 23.000 διαφορετικά τερπένια, με διαφορετική δομή.⁽⁸⁵⁾

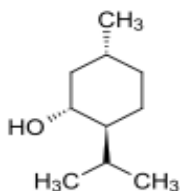


Βρίσκονται στη φύση κυρίως ως συστατικά των αιθέριων ελαίων και χρησιμοποιούνται ως φυσικά προσθετικά γεύσης στο φαγητό, ως αρώματα και ως εναλλακτικές θεραπείες, όπως στην αρωματοθεραπεία.⁽⁴³⁾ Πολλά τερπένια είναι υδρογονάνθρακες, αλλά έχουν βρεθεί και ενώσεις που περιέχουν οξυγόνο, όπως αλκοόλες, αλδεΐδες ή κετόνες. Το δομικό τους στοιχείο είναι το ισοπρένιο.⁽⁴⁴⁾

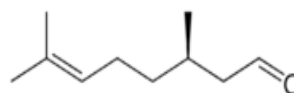
Ο μεταβολισμός του ισοπρενίου στα φυτά είναι πολύπλοκος. Τα φυτά μπορούν να συνθέσουν πολλά είδη αρωματικών ενώσεων και πτητικών ελαίων από τα ισοπρενοειδή. Παράδειγμα αποτελούν η μενθόλη, η καμφορά και η κιτρονελλάλη.



Μενθόλη(+)



Μενθόλη(-)



Κιτρονελλάλη

Αυτές οι C₁₀ ενώσεις καλούνται επίσης μονοτερπένες. Παρόμοια, ενώσεις που αποτελούνται από τρεις μονάδες ισοπρενίου ονομάζονται σесκουιτερπένες, ενώ τα στεροειδή ονομάζονται τριτερπένες.

Τα μονο- και τα σесκιρτισμένα απαντούν κυρίως στα φυτά, ενώ τα υψηλότερης τάξης τερπένια απαντούν, τόσο στα φυτά, όσο και στα ζώα και πολλά παρουσιάζουν αξιόλογη βιολογική δραστικότητα.⁽²⁷⁾

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Ταξινόμηση των τερπενίων		
Ταξινόμηση των τερπενίων		
Αριθμός ατόμων άνθρακα	Μονάδες ισοπρενίου	Ταξινόμηση
10	2	Μονοτερπένιο
15	3	Σεσκιτερπένιο
20	4	Διτερπένιο
25	5	Σεστερτερπένιο
30	6	Τριτερπένιο
40	8	Τετρατερπένιο

Παράγονται από μία ποικιλία φυτών, ιδίως από τα κωνοφόρα και είναι το βασικό συστατικό της ρητίνης. Όταν τα τερπένια επεξεργάζονται χημικά, προκύπτουν τα τερπενοειδή.

5. ΜΑΡΑΘΟΣ

Ο μάραθος (ή *μάραθο, το*) είναι ποώδες, ετήσιο και αρωματικό φυτό. Είναι δικοτυλήδονο και ανήκει στην οικογένεια των Σκιαδοφόρων. Η επιστημονική του ονομασία είναι Φοινίκουλον το κοινό. Η αγγλική του ονομασία είναι Fennel (*Foeniculum vulgare*).

Βρίσκεται σε χώρες όπως η Ελλάδα, η Ιταλία, η Ισπανία, η Γαλλία, η Ρωσία, Η Βόρεια Αφρική, η Ινδία, οι ΗΠΑ και η Λατινική Αμερική. Στην Ινδία και το Πακιστάν οι μαραθόσποροι ψήνονται και καταναλώνονται μετά το γεύμα ως χωνευτικό και αρωματικό της αναπνοής. Υπάρχουν δύο υποκατηγορίες μάραθου, ο *vulgare* και ο *riperitum*. Το πρώτο είδος καλλιεργείται ως καρύκευμα και βότανο ή ως λαχανικό λόγω του μεγάλου κονδυλώδους στελέχους του

και είναι κοινό στο μεγαλύτερο μέρος της Ευρώπης (εκτός του Βορρά), αλλά θεωρείται πως είναι εγχώριο μόνο στο νότιο και νοτιοδυτικό τμήμα της ηπείρου. Το δεύτερο είδος είναι ένα αιωνόβιο φυτό με άκαμπτα και σαρκοειδή φύλλα και βρίσκεται σε ξηρά, βραχώδη μέρη στην περιοχή της Μεσογείου.

Οι σπόροι πρέπει να συλλέγονται όταν ωριμάσουν και σκάσουν, το φθινόπωρο. Η διαδικασία περιλαμβάνει κόψιμο των καφέ σκιαδών, αφαίρεση των σπόρων, καθάρισμα και ελαφρά ξήρανση στη σκιά. Ο Ozbek, το 2002 υποστήριξε ότι η τιμή του LD₅₀ του *Foeniculum vulgare* ήταν 1,038 ml/kg στα ποντίκια.⁽⁴⁵⁾

Μάραθο	
Συστηματική ταξινόμηση	
Βασίλειο:	Φυτά (Plantae)
Συνομοταξία:	Αγγειόσπερμα (Magnoliophyta)
Ομοταξία:	Δικοτυλήδονα (Magnoliopsida)
Τάξη:	Σελινώδη (Ariales)
Οικογένεια:	Σελινοειδή (Ariaceae) ή Σκιαδοφόρα (Umbelliferae)
Γένος:	Φοινίκουλον (<i>Foeniculum</i>)
Είδος:	<i>F. vulgare</i>
Διώνυμο	
<i>Foeniculum vulgare</i> (Φοινίκουλον το κοινό) Mill.	

5.1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΦΥΤΟΥ- ΧΡΗΣΕΙΣ

Το φυτό *Foeniculum vulgare* χαρακτηρίζεται από καθαρά διαχωριζόμενα φύλλα. Έχει ύψος από 50 μέχρι και 250 cm. Έχει σαρκώδη ρίζα και πτεροειδή φύλλα και μικροσκοπικά κίτρινα άνθη, τα οποία εμφανίζεται το καλοκαίρι. Οι σπόροι και τα φύλλα του έχουν πράσινο χρώμα και οι ρίζες του απαλό λευκοπράσινο. Η γεύση του είναι γλυκιά και αρωματική. Ο άγριος μάραθος είναι ελαφρώς πιο πικρός από το μάραθο Φλωρεντίας (*φινόκιο*), που έχει πιο γλυκιά γεύση και είναι περισσότερο δημοφιλής στη Δυτική Ευρώπη και Αμερική.⁽⁴⁶⁾



Μάραθος

Η χρήση του μάραθου ως βότανο έχει μακρά ιστορία. Έχει χρησιμοποιηθεί ως αναλγητικό, ως αντιφλεγμονώδες, αντισπασμωδικό, αρωματικό, διαλυτικό των υγρών του στομάχου, διουρητικό, εμμηναγωγό, αποχρεμπτικό, γαλακταγωγό, αλλά και ως παραισθησιογόνο. Χρησιμοποιείται συχνά ως μία φυσική θεραπεία για διάφορες διαταραχές της πέψης. Ακόμη, χρησιμοποιείται ως καρύκευμα και στην παρασκευή λικέρ, αλλά και στην βιομηχανία αρωμάτων. Οι σπόροι, τα φύλλα και οι ρίζες του χρησιμοποιούνται, αλλά και οι σπόροι του είναι οι πιο ενεργοί από ιατρικής άποψης και αποτελούν το τμήμα του φυτού που εφαρμόζεται συνήθως σε ασθενείς.⁽⁴⁷⁾

Ο μάραθος ως βότανο χρησιμοποιείται ως θεραπευτικό μέσο για διαταραχές της πέψης, όπως για ήπιες, σπασμωδικές, γαστρεντερικές ενοχλήσεις, πρήξιμο και φούσκωμα. Επίσης χρησιμοποιείται και για την καταρροή της άνω αναπνευστικής οδού. Έχει σημειωθεί ότι τα αιθέρια έλαια του μάραθου χρησιμοποιούνται σε εντερικές διαταραχές σε παιδιά και σε κάποιες αναπνευστικές διαταραχές, χάρη στις αντισπασμωδικές του ιδιότητες. Οι σπόροι του φυτού είναι γνωστό ότι προωθούν την εμμηνόρροια ανακουφίζουν τα συμπτώματα της εμμηνόπαυσης και αυξάνουν τη λίμπιντο.⁽⁴⁹⁾⁽⁵⁰⁾

Ο Ozbek και οι συνεργάτες του έχουν αναφέρει ότι ο *Foeniculum vulgare* έχει πιθανώς ηπατοπροστατευτική δράση ενάντια στην οξεία ηπατική βλάβη που επάγεται από την πρωτεΐνη CCl₄ σε αρουραίους.⁽⁵¹⁾

Τα φύλλα του μάραθου μπορούν να συνοδεύσουν το χοιρινό και το ψάρι. Οι σπόροι του χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων ως προσθήκη στα κρέατα, τα προϊόντα λαχανικών, το ψάρι ,τι σάλτσες, τις σούπες, το ψωμί, τα είδη αρτοποιίας, το τσάι και κάποια αλκοολούχα αναψυκτικά. Τα αιθέρια έλαια χρησιμοποιούνται στις σάλτσες, τα σαπούνια, τις κρέμες, τα αρώματα και τα λικέρ.⁽⁵²⁾



5.2. ΙΣΤΟΡΙΑ ΚΑΙ ΜΥΘΟΙ

Ο μάραθος χρησιμοποιήθηκε από τους αρχαίους Έλληνες στη μαγειρική για τις αρωματικές του ιδιότητες αλλά και ως φάρμακο. Η αρχαιότερη μορφή της λέξης «μάραθος» είναι η λέξη «*maratuwo*», η οποία αναφέρεται σε πινακίδες της Γραμμικής Β γραφής (17^{ος}-13^{ος} αιώνας π.Χ.). Κατ' άλλους, η ονομασία του φυτού προέρχεται από τη λέξη «*Μαραθώνας*» και αναφέρεται στη μάχη των Ελλήνων κατά των Περσών στο Μαραθώνα, το 490 π.Χ. Λέγεται ότι ονομάστηκε έτσι επειδή φυόταν στο πεδίο της μάχης. Σύμφωνα με τη μυθολογία, ο Προμηθέας έκρυψε μέσα σε ένα κοτσάνι μάραθου τη φωτιά που έκλεψε από τους θεούς και στη συνέχεια την έδωσε στους ανθρώπους.

Στην αρχαία ρώμη, ο Πλίνιος υποστηρίζει ότι τα φίδια τρώνε και τρίβουν το σώμα τους πάνω σε μάραθο, για να βελτιώσουν την όρασή τους, αφού αλλάξουν δέρμα. Αναφέρει ακόμα ότι το φυτό μπορεί να θεραπεύσει 22 ασθένειες.

Στις θεραπευτικές ιδιότητες του φυτού πίστευε και ο βασιλιάς Καρλομάγνος, ο οποίος το 812 μ.Χ φρόντισε να καλλιεργείται στους αυτοκρατορικούς του κήπους. Ο μάραθος, ένα από τα εννιά ιερά βότανα των Αγγλοσαξόνων, ήταν γνωστός στην Αγγλία πριν από την κατάκτηση της χώρας από τους Νορμανδούς τον 11^ο αιώνα, καθώς αναφέρεται σε μαγειρικές συνταγές της εποχής αυτής. Ενδιαφέρουσα είναι η ιστορία του φυτού και κατά την περίοδο των Μεγάλων Ανακαλύψεων. Όταν έφτασαν οι Πορτογάλοι κατακτητές στα νησιά Μαδέρα είδαν ότι φύεται άφθονο άγριο μάραθο. Έτσι, ονόμασαν την πρωτεύουσα των νησιών Μαδέρα Φουνσάλ (*Funchal*), ονομασία που προέρχεται από την Πορτογαλική λέξη για το μάραθο «*funcho*».⁽⁵³⁾



η

5.3. ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Η trans-ανηθόλη και η φενχόνη είναι τα πιο σημαντικά συστατικά του αιθέριου ελαίου του *Foeniculum vulgare*. Στο αιθέριο έλαιο του γλυκού μάραθου η περιεχόμενη ποσότητα φενχόνης συνήθως δεν ξεπερνά το 5%, ενώ στους πιο πικρούς τύπους του ελαίου, η ποσότητα αυτή μπορεί να φτάσει και το 20%. Το ποσοστό της ανηθόλης φτάνει το 84-90% στο έλαιο του γλυκού μάραθου, ενώ στα πιο πικρά έλαια είναι γύρω στο 61-70%.⁽⁵⁴⁾⁽⁵⁵⁾

Τα εκχυλίσματα των σπόρων του φυτού περιέχουν ως βασικά συστατικά τους (σύμφωνα με χρωματογραφική ανάλυση) trans- και cis-ανηθόλη, φενχόνη, λεμονένιο, α-πινένιο, β-μυρσίνη, α-φελλανδρένιο και καμφορά. Περιέχει επίσης χαλκό, σίδηρο, ασβέστιο, μαγγάνιο, κάλιο, σελήνιο, ψευδάργυρο και μαγνήσιο και βιταμίνες Α, Ε ΚΑΙ C.⁽⁵⁶⁾⁽⁵⁷⁾

Τα κυριότερα συστατικά του είναι⁽⁵⁸⁾:

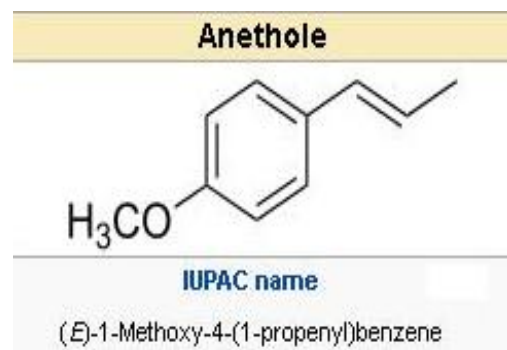
- Ανηθόλη
- Φενχόνη

Επίσης:

- Λεμονένιο
- Καμφορίνη
- Καμφορά
- Α-πινένιο
- Β-πινένιο
- Β-μυροσίνη
- Α-φελλαδρένιο
- Καμφερόλη
- Κερκετίνη
- Ρουτίνη

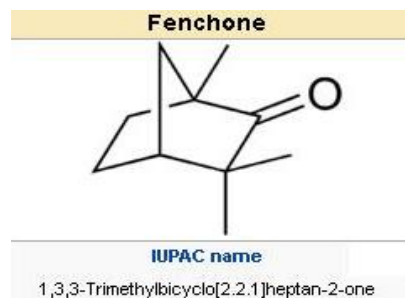
5.3.1. ΑΝΗΘΟΛΗ

Η ανηθόλη είναι ένα οργανικό συστατικό που χρησιμοποιείται ευρέως ως χρωστική ουσία. Από χημικής άποψης ανήκει στα φαινυλοπροπένια, είδος αρωματικών ουσιών που συναντάται συχνά στη φύση, στα αιθέρια έλαια. Προσδίδει σε μεγάλο ποσοστό το ιδιαίτερο άρωμα του άνηθου και του μάραθου, του μύρτιλου και της γλυκόριζας. Είναι ένα άχρωμο, αρωματικό, πτητικό υγρό. Είναι ελάχιστα διαλυτή στο νερό, αλλά παρουσιάζει μεγάλη διαλυτότητα στην αιθανόλη.⁽⁵⁹⁾



5.3.2. ΦΕΝΧΟΝΗ

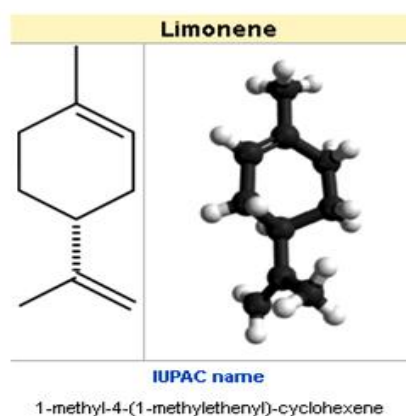
Η φενχόνη είναι μία φυσική οργανική ουσία, που ταξινομείται ως μονο-τερπένιο και ως κετόνη. Είναι ένα άχρωμο, ελαιώδες υγρό. Έχει παρόμοια δομή και άρωμα με την καμφορά. Είναι συστατικό του αφέντι και αιθέριο έλαιο του μάραθου. Χρησιμοποιείται ακόμη, για να προσδίδει γεύση στα φαγητά, αλλά και στην αρωματική βιομηχανία.



5.3.3. ΛΕΜΟΝΕΝΙΟ

Είναι ένας άχρωμος, υγρός υδρογονάνθρακας, που ταξινομείται ως κυκλικό τερπένιο. Το D-ισομερές είναι το συχνότερο και έχει μια ισχυρή οσμή σαν αυτή των πορτοκαλιών.⁽⁶⁰⁾

Πήρε το όνομα του από το λεμόνι, διότι η φλούδα του λεμονιού, όπως και πολλών άλλων εσπεριδοειδών, περιέχει σημαντική ποσότητα αυτής της ουσίας, η οποία συνεισφέρει στο άρωμα τους. Έχει κατοπτρική ισομέρεια και οξειδώνεται εύκολα σε υγρό περιβάλλον παράγοντας λεμονικό οξύ, καρβόνη και καρβεόλη.⁽⁶¹⁾



5.3.4. ΚΑΜΦΙΝΗ

Είναι ένα μονο-τερπένιο, σχεδόν αδιάλυτο στο νερό, αλλά πολύ διαλυτό σε κοινούς οργανικούς διαλύτες. Εξατμίζεται γρήγορα σε θερμοκρασία δωματίου και έχει μια οξεία μυρωδιά. Είναι ένα συστατικό πολλών αιθέριων ελαίων, όπως του ελαίου της καμφοράς, του τζίντζερ, της citronella και της βαλεριάνας, Χρησιμοποιείται στην παραγωγή αρωμάτων και ως προσθετικό γεύσης στα τρόφιμα.

5.3.5. ΚΑΜΦΟΡΑ

Είναι ένα κηρώδες, λευκό ή διαφανές στερεό με δυνατή αρωματική οσμή. Ανήκει στα τερπενοειδή και έχει χημικό τύπο $C_{10}H_{16}O$. Τα αποξηραμένα φύλλα δενδρολίβανου περιέχουν μέχρι και 20% καμφορά. Χρησιμοποιείται για το άρωμά του ως συστατικό στο μαγείρεμα (κυρίως στην Ινδία), στην ταρίχευση για ιατρικούς σκοπούς και για θρησκευτικές τελετές.⁽⁶¹⁾

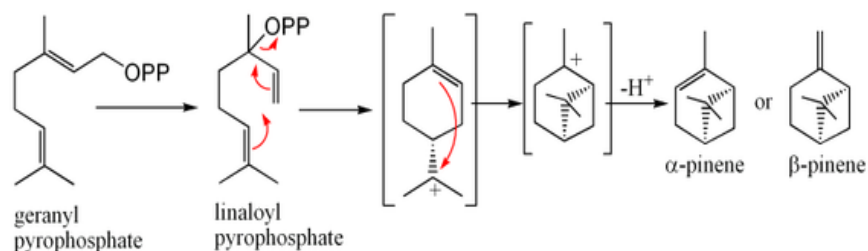
5.3.6. Α-ΠΙΝΕΝΙΟ

Το α-πινένιο είναι μία οργανική ένωση της ομάδας των τερπενίων και είναι ένα από τα δύο ισομερή της ομάδας του πινενίου. Είναι αλκάλιο και περιέχει έναν ενεργό τετραμελή δακτύλιο.⁽⁶²⁾ Συναντάται στα έλαια πολλών ειδών κωνοφόρων δένδρων, ιδιαίτερα του πεύκου. Βρίσκεται επίσης στο αιθέριο έλαιο του δενδρολίβανου. Και τα δύο εναντιομερή βρίσκονται στη φύση, το (-) α-πινένιο είναι πιο συχνό στα ευρωπαϊκά πεύκα ενώ το (+) α-πινένιο είναι πιο συχνό στη Βόρεια Αμερική.

5.3.7. Β-ΠΙΝΕΝΙΟ

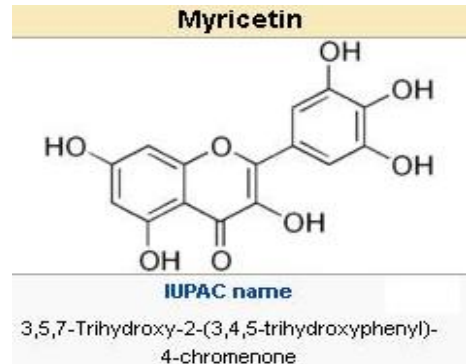
Το β-πινένιο είναι ένα άχρωμο υγρό, το οποίο διαλύεται στην αλκοόλη, αλλά όχι στο νερό. Έχει μια μυρωδιά που προσεγγίζει περισσότερο αυτήν του πεύκου. Βρίσκεται στο δενδρολίβανο, το βασιλικό και στο τριαντάφυλλο. Είναι ένα βασικό συστατικό του αρώματος και της γεύσης του λυκίσκου.⁽⁶³⁾

Τα α- και β- πινένιο παράγονται από πυροφωσφορικό γερανύλιο, μέσω κυκλοποίησης του πυροφωσφορικού λιναλυλεστέρα που ακολουθείται από την απώλεια ενός πρωτονίου από το αντίστοιχο καρβοκατιόν.⁽⁸⁷⁾ Σύμφωνα με την αντίδραση:



5.3.8. Β-ΜΥΡΙΣΕΤΙΝΗ

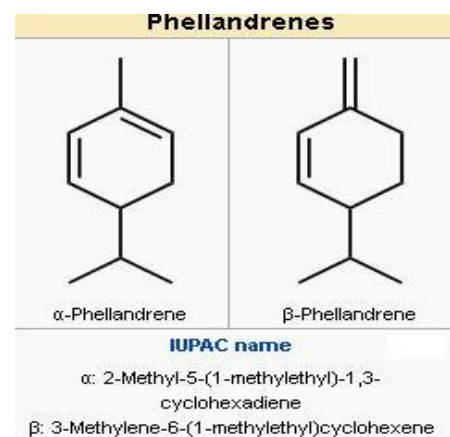
Είναι μία αλεφίνη που ανήκει στα μονο-τερπένια. Είναι συστατικό των αιθέριων ελαίων αρκετών φυτών, όπως του άγριου θυμαριού, του λυκίσκου και του ylang-ylang.⁽⁶⁴⁾ Αποτελεί βασικό ενδιάμεσο στην παραγωγή πολλών αρωμάτων.



5.3.9. Α-ΦΕΛΛΑΝΔΡΕΝΙΟ

Το α-φελλανδρένιο είναι κυκλικό μονο-τερπένιο με δύο ενδοκυκλικούς διπλούς δεσμούς. Δεν διαλύεται στο νερό, αλλά αναμειγνύεται με αιθέρα. Έχει πάρει το όνομά του από τον *Eucalyptus phellandra*, από τον οποίο μπορεί να απομονωθεί.

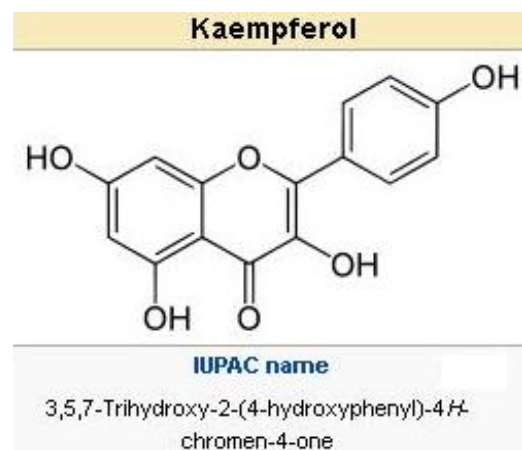
Τα φελλανδρένια χρησιμοποιούνται στην παρασκευή αρωμάτων, λόγω της ευχάριστης μυρωδιάς τους.



5.3.10. ΚΑΜΦΕΡΟΛΗ

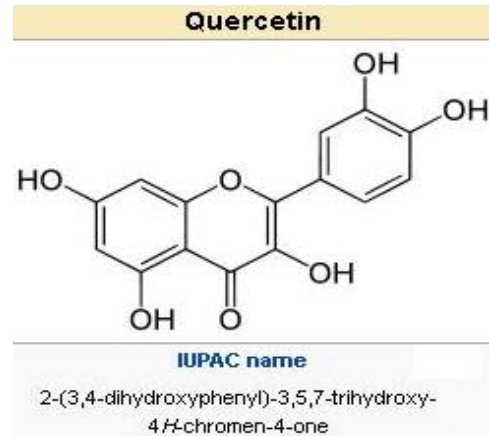
Είναι φυσική φλαβονόλη, είδος φλαβονοειδών.

Είναι κίτρινο, κρυσταλλικό στερεό με σημείο τήξης 276-278 βαθμούς. Είναι ελαφρώς διαλυτό στο νερό, αλλά διαλύεται σε ζεστή αιθανόλη και διαιθυλεθέρα. Υπάρχει στο τσάι, το μπρόκολο, το γκρέιπφρουτ, το λάχανο, τα φασόλια, τις ντομάτες, τις φράουλες, τα σταφύλια, τα μήλα και άλλες φυτικές πηγές.⁽⁶⁵⁾



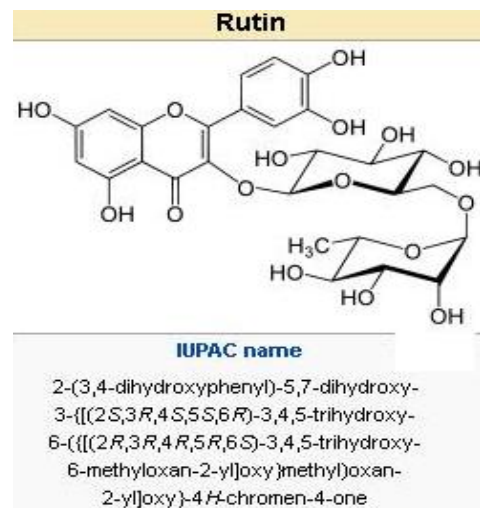
5.3.11. ΚΕΡΚΕΤΙΝΗ

Είναι μία κίτρινη κρυσταλλική σκόνη ουσία, που ανήκει στις φλαβονόλες. Είναι πρακτικά αδιάλυτη στο νερό, αλλά διαλύεται σε υδατικά αλκαλικά διαλύματα. Προέρχεται από τα φυτά και βρίσκεται στα φρούτα, τα λαχανικά, τα φύλλα και τους σπόρους. Υψηλή συγκέντρωσή της βρίσκεται στο μαύρο και πράσινο τσάι, τα μήλα, το κρεμμύδι (*ιδιαίτερα στο κόκκινο*), στα κόκκινα σταφύλια, τα εσπεριδοειδή, στη ντομάτα, το μπρόκολο και άλλα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, στα μούρα, βατόμουρα κλπ.



5.3.12. ΡΟΥΤΙΝΗ

Η ρουτινή είναι ένας γλυκοζίτης φλαβονόλης που συνίσταται από την κερκετίνη και τον δισακχαρίτη ρουτινοσίδη. Η μονάδα του δισακχαρίτη της ρουτινής (*ρουτινόζη*) συνίσταται από τα σάκχαρα ραμνόζη (*6-δεοξυ-L-μαννόζη*) και γλυκόζη.⁽⁶⁶⁾ Πηγές της είναι το μαύρο τσάι και το εξωκάρπιο των μήλων.



Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται οι διατροφικές πληροφορίες του μάραθου σύμφωνα με την USDA Nutrient Database ⁽⁸⁶⁾

Πίνακας 3: Διατροφικές Πληροφορίες Του Μάραθου			
Nutrient	Unit	Value per 100.0g	Cup. sliced 87g
<u>Proximates</u>			
Water	g	90.21	78.40
Energy	Kcal	31	27
Protein	g	1.24	1.08
Total lipid (fat)	g	0.20	0.17
Carbohydrate, by difference	g	7.30	0.35
Fiber total dietary	g	3.1	2.7
<u>Minerals</u>			
Calcium Ca	mg	49	43
Iron Fe	mg	0.73	0.64
Magnesium Mg	mg	17	15
Phosphorus P	mg	50	44
Potassium K	mg	414	360
Sodium Na	mg	52	45
Zinc Zn	mg	0.20	0.17
<u>Vitamins</u>			
Vitamin C total ascorbic acid	mg	12.0	10.4
Thiamin	mg	0.010	0.009
Riboflavin	mg	0.032	0.028
Niacin	mg	0.640	0.557
Vitamin B6	mg	0.047	0.041
Folate, DFE	μg	27	23
Vitamin B12	μg	0.00	0.00
Vitamin A, IU	IU	134	117

6. ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ

Χημικώς τα αιθέρια έλαια είναι μίγματα υδρογονανθράκων, δηλαδή τερπενίων και σесκιτερπενίων και οξυγονούχων ενώσεων. Τα τερπένια είναι ακόρεστοι υδρογονάνθρακες που οξειδώνονται σχετικά εύκολα και υποβιβάζουν την ποιότητα της αρωματικής ουσίας. Γι' αυτό χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τεχνικές απομάκρυνσής τους, που λέγονται αποτερπενιώσεις.

Αυτές οι τεχνικές βασίζονται στην εκχύλιση με αλκοόλες που παραλαμβάνουν κατά προτίμηση τις πιο πολικές οξυγονούχες ενώσεις και στην απομάκρυνση των τερπενίων με κλασματική απόσταξη σε ελαττωμένη πίεση. Από τις οξυγονούχες ενώσεις των αιθέριων ελαίων μία μεγάλη κατηγορία περιλαμβάνει άκυκλες μονο-τερπενικές αλκοόλες όπως η γερανιόλη, νερόλη και λιναλοόλη ή αλδεΐδες όπως η κιτρονελλάλη, κιτράλη και γερανιάλη.

Μικρές μεταβολές στη χημική σύσταση τέτοιων ενώσεων προκαλούν σημαντικές διαφορές στο άρωμα. Αφαίρεση π.χ. δυο υδρογόνων από τη γερανιόλη, οπότε σχηματίζεται η κιτράλη μετατρέπει το άρωμα από τριανταφυλλιού σε λεμονιού.⁽⁶⁷⁾ Παραλαμβάνονται με φυσικές μεθόδους από φύλλα, ρίζες, φρούτα κλπ. Η πιο συνηθισμένη τεχνική είναι η απόσταξη με υδρατμούς.

Οι μέθοδοι παραλαβής των αιθέριων ελαίων είναι:

- 1) Παραλαβή με απόσταξη, όπου διακρίνουμε τρεις τρόπους αποστάξεως:
 - απόσταξη με νερό
 - απόσταξη με νερό και υδρατμούς και
 - απόσταξη με υδρατμούς.
- 2) Παραλαβή με έκθλιψη
- 3) Παραλαβή με εκχύλιση
- 4) Παραλαβή με υδρόλυση

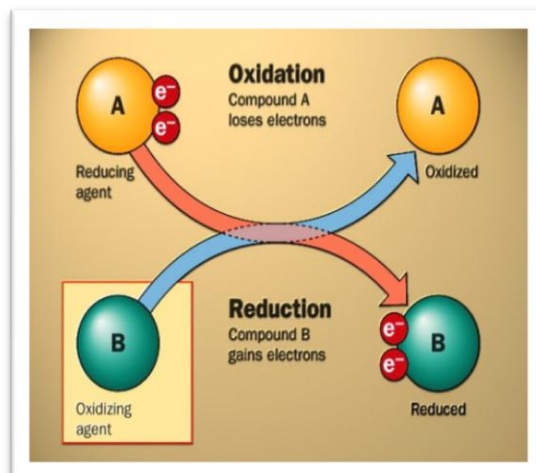


Η απομόνωση των αιθέριων ελαίων γίνεται με φυσικές και χημικές μεθόδους. Στις φυσικές εφαρμόζεται η κλασματική απόσταξη και η χρωματογραφία, που είναι και οι καταλληλότερες, καθώς δεν υπάρχει απώλεια συστατικών και κίνδυνος διάσπασης μη σταθερών συστατικών. Στις χημικές μεθόδους χρησιμοποιούνται διάφορα αντιδραστήρια που δεσμεύουν ορισμένα συστατικά (π.χ. αλδεΐδες και κετόνες), τα οποία καθιστούν μη πτητικά ή υδροδιαλυτά, ώστε να αποχωριστούν από τα υπόλοιπα. Ύστερα οι ενώσεις διασπώνται και παραλαμβάνονται τα συστατικά.⁽⁶⁸⁾

7. ΟΞΕΙΔΩΣΗ

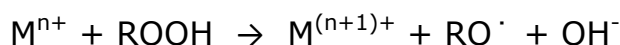
Οξειδωση (*oxidation*) σημαίνει απώλεια ηλεκτρονίων, ενώ αναγωγή (*reduction*) πρόσληψη ηλεκτρονίων. Τα δύο αυτά φαινόμενα είναι αλληλένδετα έτσι συνήθως μιλάμε για οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις (*oxidation-reduction processes* ή *redox processes*).

Οξειδωτικό μέσο ή οξειδωτικό (*oxidizing agent* ή *oxidant*) είναι η ουσία που προκαλεί οξείδωση. Αναγωγικό μέσο ή αναγωγικό (*reducing agent* ή *reductant*) είναι η ουσία που προκαλεί αναγωγή. Το οξειδωτικό ανάγεται κατά την αντίδραση, δηλαδή παίρνει ηλεκτρόνια, ενώ το αναγωγικό οξειδώνεται, δηλαδή χάνει ηλεκτρόνια.⁽⁸⁸⁾



Η οξείδωση αφορά τον κορεσμό των ακόρεστων λιπαρών οξέων με οξυγόνο. Τα σχηματιζόμενα προϊόντα, αρχικά είναι τα υπεροξειδία. Η διεργασία της οξείδωσης είναι πολύπλοκη και θεωρείται πως ακολουθεί μια πορεία τριών σταδίων.

Το πρώτο ονομάζεται στάδιο επώασης (*initiation*), είναι βραδύ και επιταχύνεται με τη βοήθεια καταλυτών έναρξης της αντίδρασης (*initiators*). Παραδείγματα τέτοιων καταλυτών είναι η θερμότητα, το υπεριώδες φως και τα βαρέα μέταλλα (ιδίως του χαλκού). Ιόντα μεταβατικών και βαρέων μετάλλων (π.χ. Fe, Cu, Pb, Hg) επιταχύνουν τη δημιουργία ελευθέρων ριζών από υπεροξειδία και συνεπώς επιταχύνουν την επαγωγική περίοδο.



όπου M^{n+} και $M^{(n+1)+}$ ιόντα του μετάλλου M με διαφορετικό φορτίο.

Τα προϊόντα του σταδίου αυτού είναι οι λεγόμενες ελεύθερες ρίζες των λιπαρών οξέων, που παράγονται λόγω απόσπασης ενός ατόμου (H) από τη γειτονική προς το διπλό δεσμό μεθυλ-ομάδα ($-CH_2-$).

Στο δεύτερο στάδιο ή στάδιο της προαγωγής (*propagation*), το υπό μορφή ρίζας λιπαρό οξύ αντιδρά με ένα μόριο οξυγόνου, δίνοντας ως προϊόν μια ελεύθερη υπεροξειδική ρίζα. Παράλληλα όμως, σχηματίζεται νέο λιπαρό οξύ με μορφή ρίζας, ενώ η υπεροξειδική ρίζα μετατρέπεται σε υδρουπεροξειδίο.

Ο σχηματισμός των υδρουπεροξειδίων όμως, δεν είναι το τελευταίο στάδιο οξείδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων. Ακολουθεί το τελικό στάδιο (*termination*), στο οποίο οι υπεροξειδικές ρίζες έχουν τη δυνατότητα πολυμερισμού είτε με νέα υπεροξειδική ρίζα είτε με ρίζα λιπαρού οξέος.

Επίσης, τα σχηματισθέντα υδρουπεροξειδία μπορούν στη συνέχεια να οξειδωθούν δευτερογενώς και να διασπασθούν σε αλδεΐδες, αλδευδοξέα και οξέα.

Όταν η οξείδωση συμβαίνει σε θερμοκρασία δωματίου, ονομάζεται αυτοοξείδωση. Σε αυτήν την περίπτωση, πρόκειται για μια βραδεία διεργασία, που απαιτεί την παρουσία ατμοσφαιρικού οξυγόνου και φωτός και έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ανεπιθύμητης οσμής-γεύσης στη λιπαρή ύλη. Ο ορός αυτός πρέπει να διαχωρίζεται από το υδρολυτικό τάγγισμα, που χρησιμοποιείται για να αποδώσει την ανώμαλη οσμή-γεύση στο λίπος, κυρίως του γάλακτος, μετά από την υδρόλυση του.⁽⁶⁹⁾

7.1. ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

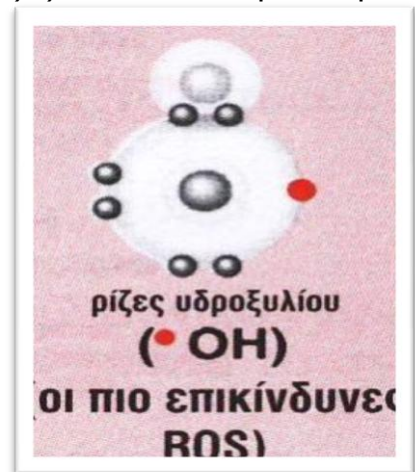
Η αξιοποίηση των τροφών από τον ανθρώπινο οργανισμό πραγματοποιείται μέσα από πολύπλοκες βιοχημικές διαδικασίες, από τις οποίες παράγεται η απαραίτητη για τη λειτουργία του ενέργεια. Παράλληλα όμως με την ενέργεια παράγεται και ένας αριθμός πολύ δραστικών ουσιών, οι ελεύθερες ρίζες.

Οι ελεύθερες ρίζες μπορεί να μη διαθέτουν φορτίο, να είναι θετικά φορτισμένες, οπότε έχουμε κατιονικές ρίζες ή να είναι αρνητικά φορτισμένες, οπότε έχουμε ανιονικές ρίζες. Κατά τη διάρκεια οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων ένα μόριο μπορεί να δώσει ή να λάβει ένα μονήρες ηλεκτρόνιο ή ένα ζεύγος ηλεκτρονίων. Στην περίπτωση που μεταφέρεται ένα μονήρες ηλεκτρόνιο, έχουμε το σχηματισμό ελεύθερων ριζών.⁽⁷⁰⁾

Αυτό που χαρακτηρίζει τις ελεύθερες ρίζες είναι ότι από τη στιγμή της δημιουργίας τους "αγωνίζονται" να αποσπάσουν ηλεκτρόνια από οποιαδήποτε άλλη χημική ουσία. Κατά την προσπάθεια τους αυτή, μόλις αντιληφθούν πως κάποια παθογόνα μικρόβια έχουν εισέλθει στον ανθρώπινο οργανισμό, σπεύδουν, αποσπώντας από αυτά ηλεκτρόνια να τα εξουδετερώσουν και να τα καταστρέψουν. Ορισμένες ελεύθερες ρίζες σχεδιάστηκαν με το σκεπτικό αυτό. Δηλαδή, θα μπορούσε κανείς να ισχυριστεί ότι οι ελεύθερες ρίζες είναι οι καταδρομείς του ανοσοποιητικού μας συστήματος.

Οι ελεύθερες ρίζες είναι επιπλέον επιφορτισμένες να φέρουν σε πέρας και ορισμένες άλλες ζωτικής σημασίας αποστολές από τον έλεγχο της κυκλοφορίας του αίματος στις αρτηρίες μέχρι τη διατήρηση της διαύγειας του πνεύματός μας και την καταπολέμηση των λοιμώξεων. Αν δεν υπήρχαν αυτές, δεν θα μπορούσαμε να επιβιώσουμε.

Αν όμως οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται είναι περισσότερες από όσες χρειάζονται, η περίσσεια αυτών προσβάλλει τα υγιή κύτταρα των διαφόρων ιστών και προκαλεί άμεσα ή έμμεσα πάρα πολλές ασθένειες. Ενδεικτικά, αναφέρεται το πρόωρο γήρας, ο καταρράκτης, ο διαβήτης, οι καρδιοπάθειες, οι ασθένειες του κυκλοφορικού, η νόσος Alzheimer, η παχυσαρκία, οι δερματοπάθειες, η νόσος Parkinson, οι καρκίνοι, οι φλεγμονές κ.α.



Η περίσσεια των ελεύθερων ριζών, η οποία προκαλεί βλάβες, παράγεται:

- 1) Από την εισπνοή ρύπων
- 2) Από το μεταβολισμό όλων σχεδόν των φαρμάκων
- 3) Από τα τοξικά μέταλλα, όπως ο υδράργυρος, το κάδμιο και ο μόλυβδος.
- 4) Από τον καπνό του τσιγάρου.
- 5) Από το υπεριώδες φως.
- 6) Από τη ραδιενέργεια και
- 7) Από την έντονη σωματική άσκηση.

Η μεγάλη συσσώρευση ελεύθερων ριζών, από οποιαδήποτε αιτία κι αν προέρχεται, προκαλεί αυτό που ονομάζεται οξειδωτικό στρες.

Οξειδωτικό στρες

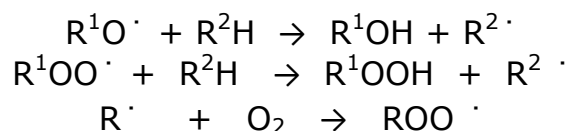
Ο όρος οξειδωτικό στρες αναφέρεται στην κατάσταση που δημιουργείται στα κύτταρα ενός ιστού, όταν ανατρέπεται η ισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών ουσιών σε βάρος των αντιοξειδωτικών.⁽⁷¹⁾

Οι ελεύθερες ρίζες, πάρα τη συμβολή τους στην άμυνα του οργανισμού, είναι ιδιαίτερα δραστικά μόρια, που κατά τη διάρκεια αυτών των μεταβολικών διεργασιών μπορεί να ξεφύγουν από τον κυτταρικό έλεγχο και να προκαλέσουν οξειδωτική καταστροφή σε μακρομόρια των κυττάρων.

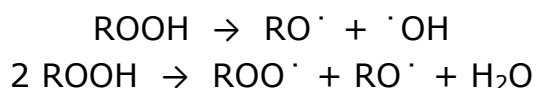
Μία από τις καταστρεπτικές επιπτώσεις των δραστικών αυτών μορίων στα κύτταρα είναι η υπεροξείδωση των μεμβρανικών ακόρεστων λιπαρών οξέων. Τα τρία στάδια της οξείδωσης στα οποία έχουμε τη συμμετοχή και υποβάθμιση των λιπών είναι:

- αλυσιδωτή διάδοση
- αλυσιδωτή διακλάδωση
- τερματισμός αλυσίδας

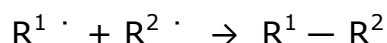
Κατά την αλυσιδωτή διάδοση οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν με ακόρεστα κυρίως λιπαρά οξέα και αποδίδουν το λιπαρό οξύ τροποποιημένο και μια νέα ελεύθερη ρίζα. Η νέα ελεύθερη ρίζα διατηρεί υψηλή δραστηριότητα και δίνει νέες αντιδράσεις αλυσωτής διάδοσης. Η συσσώρευση από τροποποιημένα προϊόντα λιπαρών οξέων οδηγεί σε σταδιακή υποβάθμιση των ελαίων και τροποποίηση των λειτουργικών χαρακτηριστικών στο κύτταρο.



Κατά την αλυσιδωτή διακλάδωση υπεροξειδία καθώς και τα προϊόντα από την έναρξη και την αλυσιδωτή διάδοση αντιδρούν προς τη δημιουργία δύο νέων ελευθέρων ριζών. Σε αυτό το στάδιο πολλαπλασιάζονται οι ελεύθερες ρίζες και οι ανεπιθύμητες συνέπειές τους.



Η διάδοση και η διακλάδωση συνεχίζονται τροποποιώντας τα λιπαρά οξέα και δεν σταματούν παρά μόνο όταν τα εδώδιμα έλαια έχουν ταγγίσει και είναι ακατάλληλα για κατανάλωση. Αυτό γίνεται με τις αντιδράσεις τερματισμού κατά τις οποίες τα μονήρη ηλεκτρόνια δύο ελευθέρων ριζών σχηματίζουν ένα ηλεκτρονιακό ζεύγος



Αυτή η διαδικασία που βλάπτει τη δομή και τη λειτουργία των μεμβρανών, περιλαμβάνει μία σύνθετη ακολουθία αντιδράσεων που οδηγούν στο σχηματισμό λιπιδικών ριζών και υδρουπεροξειδίων. Παράλληλα δημιουργείται ένα σύνθετο μείγμα καρβονυλικών ενώσεων: μηλονική διαλδεύδη και άλλες αλδεΐδες. Αυτές οι ενώσεις είναι εξαιρετικά τοξικές, λόγω της υψηλής τους συγγένειας με τις θειόλες και τις αμινομάδες των νουκλειικών οξέων και των πρωτεϊνών.⁽⁹⁵⁾

Το NO παρουσιάζει σημαντική δράση, προστατεύοντας τα κύτταρα από οξειδωτικές βλάβες και εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες. Παρόλα αυτά, η υπερδιέγερση της *NO συνθετάσης*, παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων O_2^- , έχει ως συνέπεια την παραγωγή υδροξυλικών ριζών ($OH\cdot$) και υπεροξυνιτρικών ($ONOO^-$), μία πιο σταθερή ρίζα με εντονότερη αντιβακτηριακή δράση.

Πολλές κατηγορίες περιβαλλοντικών ρύπων μπορούν να προκαλέσουν την ενδοκυτταρική παραγωγή ROS, όπως διάφορα μέταλλα μέσω της αντίδρασης Fenton και αρκετές οργανικές ουσίες που μεταβολίζονται, παράγοντας οξειδοαναγωγικά ενδιάμεσα και ρίζες οξυγόνου (*Winston and Di Giulio, 1991*). Η ανισορροπία που δημιουργείται μεταξύ της παραγωγής των ROS και της εξουδετέρωσής τους από τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς των κυττάρων ονομάζεται

οξειδωτικό stress (Davies, 1995). Το οξειδωτικό stress έχει μελετηθεί αρκετά, τόσο σε χερσαίους όσο και σε υδρόβιους οργανισμούς (Imlay and Linn, 1988; Ames et al., 1993; Stadtman and Berlett, 1997; Livingstone, 2001)

Προσδιορισμός ελεύθερων ριζών

Ελεύθερη ρίζα με την νεώτερη έννοια, είναι άτομο ή ομάδα ατόμων (ανόργανα ή οργανικά μόρια) που φέρει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Υπάρχουν και οι διριζες που τα δυο ασύζευκτα ηλεκτρόνια βρίσκονται σε μια απόσταση μεταξύ τους αλλά στο ίδιο μόριο. Με την έννοια αυτή τα άτομα του χλωρίου (Cl) και του νατρίου (Na), το άτομο του μονοξειδίου του αζώτου (NO) και η μεθυλική ρίζα (CH_3) είναι ελεύθερες ρίζες.

Μία γνωστή ελεύθερη ρίζα που χρησιμοποιείται στις μετρήσεις σταθερών του ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού ($ΗΠΣ$) είναι το διγαινυλοπικρυλυδραζύλιο ($DPPH$), άλλες σταθερές ελεύθερες ρίζες στην Οργανική Χημεία είναι η ελεύθερη ρίζα Calvinoxyl και τα νιτροξειδία.

Τα νιτροξειδία είναι ενώσεις με την ομάδα που φέρει τριών ηλεκτρονίων δεσμό N-O. Οι ενώσεις αυτές χρησιμοποιούνται στην δέσμευση δραστικών ελεύθερων ριζών, όπως τις ρίζες του υδροξυλίου (OH), το υπεροξειδικό ανιόν (O_2^-) και άλλες οργανικές ρίζες (R).

Οι ελεύθερες ρίζες και η δομή τους μπορούν να μελετηθούν κυρίως με την φασματοσκοπία ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού ($ΗΠΣ$ ή EPR ή ESR). Επίσης οι ελεύθερες ρίζες ανάλογα με την σταθερότητα και την ιδιαίτερη δομή τους μπορούν να μελετηθούν και με υπεριώδη ορατή ακτινοβολία ($UV-VIS$ spectroscopy), καθώς και με μια παραλλαγή του πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) που λέγεται χημικώς επαγόμενη δυναμική πυρηνική πόλωση ($CIDNP$) και με φασματομετρία μάζας (*mass spectrometry*).⁽⁹²⁾

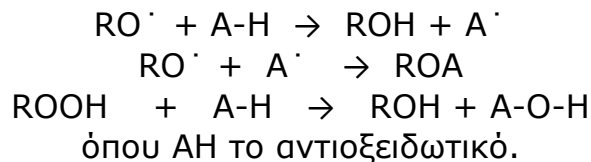
7.2. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Ως «αντιοξειδωτικό» ορίζεται μια ουσία που, όταν παρουσιάζεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις συγκριτικά με τις συγκεντρώσεις ενός υποστρώματος που μπορεί να οξειδωθεί, καθυστερεί σημαντικά ή προλαμβάνει την οξείδωση του υποστρώματος αυτού.⁽⁷²⁾



Για να προστατευθούν από τα ROS και άλλες ρίζες, όλα τα κύτταρα περιέχουν αντιοξειδωτικά. Πρόκειται για αναγωγικούς παράγοντες που αντιδρούν εύκολα με οξειδωτικές ουσίες και προστατεύουν, έτσι, σημαντικότερα μόρια από την οξείδωση. Στα βιολογικά αντιοξειδωτικά περιλαμβάνονται οι βιταμίνες C και E, το συνένζυμο Q και αρκετά καρωτενοειδή. Η χολερυθρίνη, που παράγεται κατά τη διάρκεια της αποδόμησης της αίμης, προστατεύει επίσης από την οξείδωση.

Γενικά, οι αντιοξειδωτικές ενώσεις οξειδώνονται οι ίδιες προστατεύοντας τα υπόλοιπα συστατικά των κυττάρων ή των τροφίμων.



Ιδιαίτερα σημαντική είναι η γλουταθειόνη, ένα τριπεπτίδιο που απαντάται σε υψηλές συγκεντρώσεις, σε όλα σχεδόν τα κύτταρα. Η γλουταθειόνη περιέχει έναν άτυπο γ-πεπτιδικό δεσμό ανάμεσα στο γλουταμινικό οξύ (*Glu*) και την κυστεΐνη (*Cys*). Η ομάδαθειόλης του κατάλοιπου κυστεΐνης είναι οξειδωαναγωγικά ενεργή. Κατά την διάρκεια της οξείδωσης, ενώνονται δύο μόρια της αναχθείσας μορφής στο δισουλφίδιο.⁽⁹¹⁾

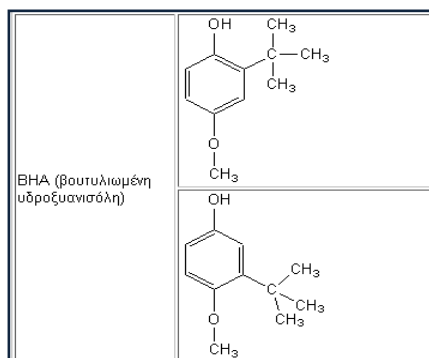
Ένα αντιοξειδωτικό πρέπει να συνδυάζει τις εξής ιδιότητες:

1. Να είναι αποτελεσματικό σε πολύ μικρή περιεκτικότητα.
2. Να μην έχει καμία βλαβερή επίδραση στην υγεία του ανθρώπου.
3. Να μην προσδίδει στο τρόφιμο δυσάρεστη οσμή και γεύση.
4. Να είναι έστω και ελάχιστα λιποδιαλυτό.
5. Να είναι όσο γίνεται σταθερό στα διάφορα στάδια επεξεργασίας του τροφίμου.

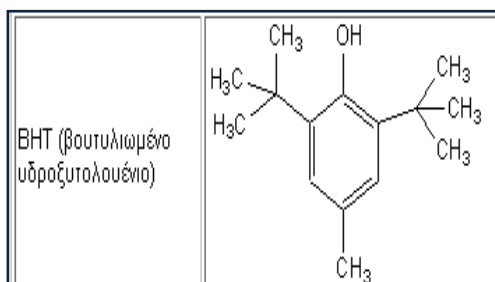
Η δράση τους στηρίζεται στην απομάκρυνση ή στην εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών και σε ορισμένες περιπτώσεις στην πλήρη αναστολή της οξειδωσης.

Τα πιο γνωστά αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία τροφίμων είναι⁽⁸⁸⁾⁽⁷⁴⁾:

1. Η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (*BHA*).



2. Το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (*BHT*).



3. Εστέρες του γαλλικού οξέος, όπως ο προπυλικός (*PG*), ο οκτυλικός και δωδεκυκλικός.
4. Η δι-τριπ.-βουτυλο-υδροκινόνη (*TBHQ*).

Επίσης στα αντιοξειδωτικά ανήκουν οι τοκοφερόλες, τα φαινολικά, αναγωγικές ενώσεις, όπως το θειώδες οξύ και τα άλατά του, το κιτρικό οξύ και το EDTA.⁽⁷³⁾

Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας

Μία προσέγγιση της αντιοξειδωτικής δράσης συστατικών των τροφίμων είναι η μείωση του υπεροξειδικού ανιόντος (O_2^-) που παράγεται από διάφορα συστήματα (ξανθίνη/ οξειδάση ξανθίνης), σε υδατικά διαλύματα ή σε DMSO.⁽⁷⁷⁾

Η αρχή των μεθόδων που εφαρμόστηκαν για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας βασίζεται στην παρακάτω γενική αντίδραση

Οξειδωτικό + e(αντιοξειδωτικό) → Ανηγμένη μορφή αντιοξειδωτικού + Οξειδωμένη μορφή αντιοξειδωτικού

Το οξειδωτικό παραλαμβάνει ένα ηλεκτρόνιο από το αντιοξειδωτικό οδηγώντας σε αλλαγή του χρώματος του πρώτου. Ο βαθμός αλλαγής του χρώματος είναι ανάλογος με την συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού. Το τελικό σημείο της αντίδρασης, που προσδιορίζεται φωτομετρικά, είναι το σημείο όπου το χρώμα παύει να αλλάζει.⁽⁷⁸⁾⁽⁷⁷⁾

Η μεταβολή της απορρόφησης σε συνάρτηση με την συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού δίνει μια γραμμική καμπύλη η κλίση της οποίας αντανακλά την αναγωγική ικανότητα του αντιοξειδωτικού η οποία εκφράζεται ως ισοδύναμη αυτής του αντιοξειδωτικού Trolox ή του γαλλικού οξέως.

Β.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



Μεθοδολογία

8. Φυτικό υλικό

Για την πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκε αποξηραμένος μάρθος τυποποιημένος σε συσκευασία των 40g που συλλέχθηκε και αποξηράνθηκε στον Κόπανο Νάουσας, τον Αύγουστο του 2011. Αξίζει να αναφερθεί πως για την παρασκευή των αφεψημάτων δεν χρησιμοποιήθηκαν όλα τα μέρη του φυτού, αλλά μόνο τα φύλλα και ο κορμός.

8.1 Παραλαβή πτητικών συστατικών

➤ Σκεύη- Όργανα	➤ Αντιδραστήρια
-Ζυγός ακριβείας	-Πετρελαϊκός αιθέρας(PE)
-Θερμαντική πλάκα	-Διαιθυλαιθέρας (E ₂ PO)
-Ποτήρια ζέσεως	-Οξικός Αιθυλεστέρας(EA)
-Διαχωριστικό χωνί	-Βουτανόλη(BuOH)
-Διηθητικό χαρτί	-Θειικό νάτριο (Na ₂ SO ₄)
-Κωνικές φιάλες (250ml)	-Μεθανόλη
- Αποστακτική συσκευή με κενό	-Αιθανόλη
-Σφαιρικές φιάλες(250ml,1000ml)	-Απιονισμένο νερό
-Ογκομετρικοί κύλινδροι(50ml,150ml)	
-Μεταλλική σπάτουλα	
-Γυάλινα φιαλίδια με πώμα	
- Εκχυλιστική χοάνη	
-Αυτόματες πιπέτες, tips	

Εισαγωγικά είναι χρήσιμο να αναφέρουμε πως οι διαλύτες διακρίνονται σε πολικούς και μη πολικούς και πως η κατηγορία των πολικών διαλυτών (τους οποίους εξετάζουμε) διακρίνεται σε 2 βασικές κατηγορίες: τους πρωτικούς διαλύτες «*protic*», και τους απρωτικούς διαλύτες «*aprotic*».

Για την συγκεκριμένη εργασία επιλέχθηκαν οι παρακάτω διαλύτες με τον καθένα από τους οποίους πραγματοποιήθηκαν 3 διαδοχικές εκχυλίσεις.

Πίνακας 4 : Πολικότητα διαλυτών	
ΔΙΑΛΥΤΗΣ	ΔΙΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΣΤΑΘΕΡΑ
ΠΕΤΡΕΛΑΙΚΟΣ ΑΙΘΕΡΑΣ	2.0
ΔΙΑΙΘΥΛΑΙΘΕΡΑΣ	4.3
ΟΞΙΚΟΣ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ	6.0
ΒΟΥΤΑΝΟΛΗ	18
ΝΕΡΟ	78.5

Η εφαρμογή του νόμου της κατανομής στη διεργασία της εκχυλίσεως αποδεικνύει ότι είναι προτιμότερο η εκχύλιση να γίνεται πολλές φορές με μικρές ποσότητες διαλύτη, παρά μια φορά με όλη την ποσότητα.

Αναλυτική διαδικασία

Αρχικά στο ζυγό ακριβείας μετράτε ποσότητα φυτού 5gr και με ογκομετρικό κύλινδρο λαμβάνονται 150ml αποσταγμένου νερού. Το νερό μεταφέρεται σε γυάλινο ποτήρι ζέσεως και τοποθετείται στην πλάκα βρασμού. Κατά την έναρξη του βρασμού τοποθετούμε τον μάραθο στο ποτήρι με το νερό αναδεύουμε ώστε να βυθιστεί όλη η ποσότητα του φυτού και χρονομετρούμε 1 min βρασμού.

Στην συνέχεια το ποτήρι αποσύρεται από την εστία και το υδατικό διάλυμα του μάραθου διηθείται για τον διαχωρισμό του με το στερεό υπόλειμμα(φύλλα).

Αφού το υδατικό διάλυμα κρυώσει υποβάλλεται σε τρεις διαδοχικές εκχυλίσεις με 50ml πετρελαϊκού αιθέρα(PE). Τα διηθήματα ενώνονται σε μια κωνική φιάλη ώστε τελικά να παραληφθούν 150ml οργανικού διαλύτη και προστίθεται ποσότητα θειικού νατρίου, ως ξηραντικό μέσω. Η φιάλη κλείνεται με parafilm και αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για σχεδόν 60min.

Στην συνέχεια το μίγμα διηθείται και το διήθημα υποβάλλεται σε απόσταξη υπό κενό μέχρι να απομακρυνθεί όλη η ποσότητα του διαλύτη. Το στερεό υπόλειμμα που προκύπτει παραλαμβάνεται και τοποθετείται σε γυάλινο φιαλίδιο με πώμα το οποίο φυλάσσεται στο ψυγείο. Πριν και μετά την μεταφορά του στερεού υπολείμματος στο φιαλίδιο το ζυγίζουμε και καταγράφουμε το βάρος του ώστε να προσδιοριστεί στην συνέχεια το συνολικό βάρος του στερεού υπολείμματος.

Η παραπάνω διαδικασία εφαρμόζεται διαδοχικά και στους υπόλοιπους διαλύτες με σειρά αυξανόμενης πολικότητας (Πίνακας 4) (Διαιθυλαιθέρας, Οξικός Αιθυλεστέρας, Βουτανόλη) ενώ πραγματοποιείται απόσταξη και του υδατικού διαλύματος.

Συνολικά η διαδικασία επαναλαμβάνεται 3 φορές για χρόνο βρασμού 1 min και τα στερεά υπολείμματα από την κάθε φορά ενώνονται σε ένα φιαλίδιο ώστε τελικά να παραληφθούν 5 φιαλίδια (ένα για κάθε διαλύτη και ένα που προέρχεται από το υδατικό διάλυμα).

Όλη η διαδικασία με τις 3 επαναλήψεις εφαρμόζεται για βρασμό της ίδιας ποσότητας φυτού (5gr) για 3min και για 5min ώστε τελικά να παραληφθούν 15 φιαλίδια με στερεά υπολείμματα του φυτού τα βάρη των οποίων μετρήθηκαν σε γραμμάρια σε αναλυτικό ζυγό. (Πίνακας 5, Αποτελέσματα 10.1)



9. Βιολογικά πειράματα

9.1. Μέθοδος Folin-Ciocalteu (FC)

<ul style="list-style-type: none">➤ Σκεύη- Όργανα-Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών-Δοκιμαστικοί σωλήνες-Κυψελίδες-Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης-Ογκομετρικές φιάλες όγκου 50ml, 100ml-Γυάλινες κυψελίδες	<ul style="list-style-type: none">➤ Αντιδραστήρια-Κορεσμένο διάλυμα Na_2CO_3 (20% w/v)-Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu FCR-Γαλλικό οξύ GA-MeOH αναλυτικής καθαρότητας-Απιονισμένο νερό-Διάλυμα DMSO
--	--

Κατά την πειραματική διαδικασία ο προσδιορισμός των πολυφαινολών έγινε με την μέθοδο Folin-Ciocalteu που ονομάζεται επίσης και μέθοδος ισοδυναμίας με γαλλικό οξύ (GAE). Με την διαδικασία αυτή γίνεται ο προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου χωρίς να γίνεται διάκριση σε μονομερή, διμερή και πολυμερή φαινολικά συστατικά.

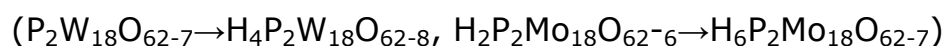
Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (FCR) ή φαινολικό αντιδραστήριο Folin ή αντιδραστήριο Folin-Denis, είναι ένα μίγμα μολυβδαινικού νατρίου βολφραιμικού νατρίου και φωσφορικού οξέος που χρησιμοποιείται για τον χρωματομετρικό *in vitro* προσδιορισμό των φαινολικών και πολυφαινολικών αντιοξειδωτικών. Το αντιδραστήριο δεν μετρά μόνο φαινόλες, αλλά αντιδρά και με οποιαδήποτε αναγωγική ουσία, έτσι λοιπόν μετρά την συνολική αναγωγική ικανότητα του δείγματος και όχι μόνο το φαινολικό περιεχόμενο. Επίσης το αντιδραστήριο αυτό είναι μέρος του ποσοτικού προσδιορισμού πρωτεΐνης Lowry και έχει την ικανότητα να αντιδρά με ορισμένες ενώσεις που περιέχουν άζωτο, όπως η υδροξυλαμίνη και γουανιδίνη.⁽⁷⁶⁾

Επειδή έχει την δυνατότητα να μετρά την αντιοξειδωτική ικανότητα *in vitro* το αντιδραστήριο αυτό χρησιμοποιήθηκε για τον ποσοτικό προσδιορισμό σε τρόφιμα και συμπληρώματα διατροφής στην τεχνολογία

τροφίμων. Ο προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με ισοδύναμο Trolox (TEAC) είναι μια εναλλακτική μέθοδος για εργαστηριακές μετρήσεις.

Αρχή μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στην ικανότητα του αντιδραστηρίου να προκαλεί οξείδωση των φαινολικών ιόντων με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων.⁽⁸¹⁾



Το προϊόν της αντίδρασης αυτής είναι ένα σύμπλοκο μολυβδαίνιου-βολφραΐμιου χαρακτηριστικού μπλε χρώματος που απορροφά στην περιοχή του ορατού. Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με κορεσμένο διάλυμα Na₂CO₃ που αφενός δεν διαταράσσει την σταθερότητα του αντιδραστηρίου FC και του προϊόντος, ενώ επιπλέον αποτελεί προϋπόθεση παρουσίας των φαινολικών ιόντων (Balentine et al 1997). Γενικά, οι φαινόλες που καθορίζονται από τον δείκτη FC εκφράζονται συχνά σε ισοδύναμα γαλακτικού οξέος (Σουφλερός, 1997)

Αναλυτική πορεία

Σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούνται 790μL απιονισμένου νερού και έπειτα 10μL δείγματος αφυδατωμένου ροφήματος αναδιαλυμένου σε DMSO συγκέντρωσης 10mg/ml για την παρασκευή του τυφλού διαλύματος.

Στην συνέχεια προστίθενται 50μL αντιδραστηρίου FC και ακολουθεί ανάδευση. Μετά το πέρας 1 min προστίθενται 150 μL κορεσμένου διαλύματος ανθρακικού νατρίου 20% w/v. Το μίγμα ανακινείται ξανά και φυλάσσεται σε σκοτεινό μέρος για 120 min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετράται στα 750 nm ως προς το λευκό δείγμα. Στα αποτελέσματα φαίνεται η συσχέτιση του χρόνου βρασμού με την συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων (Πίνακες:6,7,8 , Γραφήματα: 1,2,3,4, Αποτελέσματα 10.2.)

9.2. Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης με την μέθοδο του ABTs 2,2'-αζινοδι (3-αιθυλβενζιδιαζολινο-6-σουλφονικό οξύ)

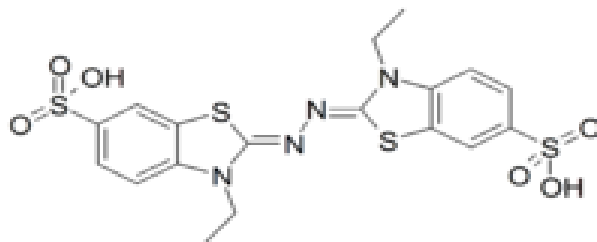
➤ Σκεύη- Όργανα

- Ογκομετρική φιάλη
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών
- Ποτήρι ζέσεως
- Γυάλινη ράβδος
- Σπάτουλα

➤ Αντιδραστήρια

- K₂S₂O₈
- ABTs
- Αιθανόλη
- Trolox
- Μεθανόλη

Η μέθοδος ABTS αναπτύχθηκε αρχικά από τους Miler και Rice-Evans το 1993 και αργότερα εξελίχθηκε. Στην βελτιωμένη έκδοση της το οξειδωτικό ABTS⁺ παράγεται από την οξείδωση του 2,2'-αζινοδι (3-αιθυλβενζιδιαζολινο-6-σουλφονικό οξύ) (ABTS²⁻) με υπερθειικά ιόντα.⁽⁷⁵⁾⁽⁷⁶⁾



ABTS⁺

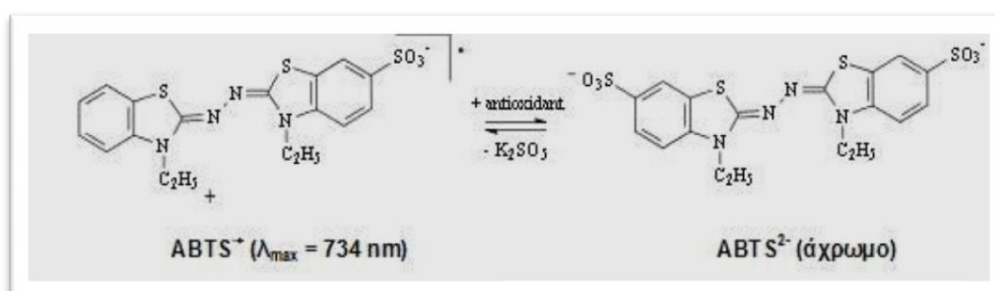
Αρχή μεθόδου

Στην παρούσα εργασία ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας έγινε με ABTS. Η κατιοντική ρίζα του ABTS χρησιμοποιείται για την ταξινόμηση της σχετικής ικανότητας παρεμπόδισης των φλαβονοειδών και των φαινολικών συστατικών μέσω της ικανότητας τους ως δότες ηλεκτρονίων ή πρωτονίων. Με παραλλαγή της μεθόδου η ελεύθερη ρίζα προκύπτει από το αντίστοιχο αμμωνιακό άλας της ένωσης ABTS, ενζυμικά, με οξείδωση του από το H₂O₂, παρουσία του ενζύμου υπεροξειδάση HRP.

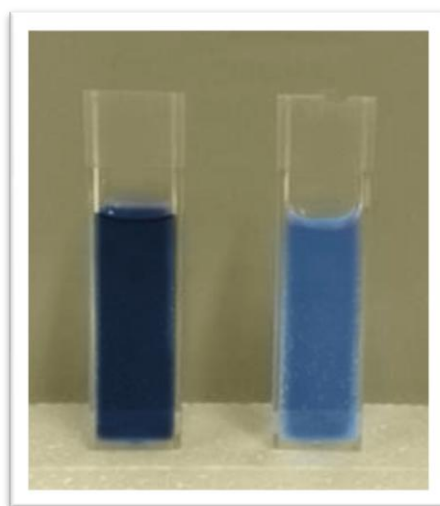
Όταν η ρίζα αλληλεπιδρά με τα αντιοξειδωτικά μειώνεται, εμποδίζοντας την απορρόφηση σε μια μεγάλη και ακριβή κλίμακα που εξαρτάται από την αντιοξειδωτική ικανότητα της εξεταζόμενης ουσίας.

Η αρχή της μεθόδου είναι η δημιουργία ενός χρωμοφόρου $ABTS^+$ και η σχετική ικανότητα των αντιοξειδωτικών να μειώσουν την ένταση της ρίζας σε σχέση με αυτή του Trolox.

Τα αντιοξειδωτικά καταναλώνουν το έγχρωμο κατιόν σε βαθμό ανάλογο με την συγκέντρωσή τους σύμφωνα με την αντίδραση:



Στην παρακάτω εικόνα(Εικόνα 2) φαίνεται ο αποχρωματισμός της ρίζας $ABTS$,(στην αριστερή κυψελίδα δεν περιέχεται η ουσία που εξετάζεται)



Εικόνα 2: Αποχρωματισμός $ABTS$

Αναλυτική πορεία

Σε ποτήρι ζέσεως ζυγίζονται κατάλληλη ποσότητα ABTs και $K_2S_2O_8$ και διαλύονται σε μεθανόλη για την παρασκευή 100ml διαλύματος. Το διάλυμα αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι για 12-16h.

Η απορρόφηση του διαλύματος μετράται πριν την χρήση στα 734nm. Σε περίπτωση που η απορρόφηση είναι διαφορετική από την ζητούμενη για να πραγματοποιηθεί η διαδικασία, το διάλυμα παρασκευάζεται ξανά ή πραγματοποιείται κατάλληλη αρραίωση στο αρχικό μέχρι να έχουμε την κατάλληλη απορρόφηση.

Στην συνέχεια για κάθε δείγμα παρασκευάζονται 3 διαλύματα σε δοκιμαστικούς σωλήνες όπου προσθέτουμε διάλυμα ABTs και 10μl ουσίας. Τα δείγματα αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου για 6 min και στην συνέχεια μετράται η απορρόφηση στα 734 nm. Στα αποτελέσματα φαίνεται η συσχέτιση της συγκέντρωσης με την απορρόφηση των δειγμάτων, η σχέση των αποτελεσμάτων με την πρότυπη καμπύλη αναφοράς του ABTs και η μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων εκφρασμένη σε μM Trolox. (Πίνακας:9, Γραφήματα: 6,7,8,25 Αποτελέσματα 10.3.).

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς ABTs

➤ Σκεύη- Όργανα	➤ Αντιδραστήρια
-Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης	-Trolox
-Ογκομετρικές φιάλες των 50 ml	-ABTS
-Ποτήρι ζέσεως των 100ml	
-Δοκιμαστικοί σωλήνες	
-Γυάλινες κυψελίδες	
-Στατό	
-Πιπέτες	

Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης(Γράφημα:5, Αποτελέσματα 10.3.), έγινε μέτρηση της απορρόφησης διαφορετικών συγκεντρώσεων Trolox στα 760 nm με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου. Προσθέτουμε 100 μl διαλύματος Trolox με συγκεντρώσεις από 100-1200μM, αντί για το δείγμα μάραθου.

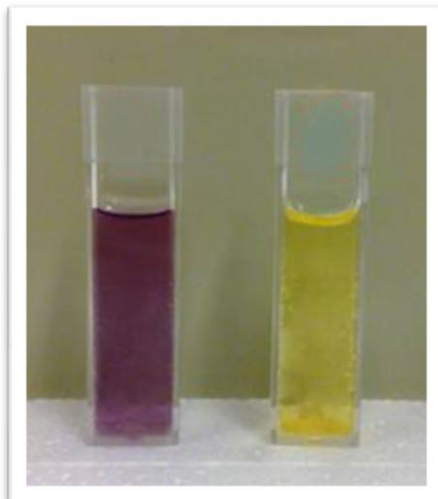
9.3. Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλο-υδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH)

➤ Σκεύη- Όργανα	➤ Αντιδραστήρια
-Δοκιμαστικοί σωλήνες	-Μεθανόλη
-Αυτόματες πιπέτες	-Αιθανόλη
-Ογκομετρικές φιάλες	- DPPH
-Ποτήρια ζέσεως	
-Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης	
-Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών	
-Κυψελίδες χαλαζία	

Μια εύχρηστη μέθοδος που έχει αναπτυχθεί για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης των τροφών χρησιμοποιώντας την σταθερή ελεύθερη DPPH.

Το εξωτερικό ηλεκτρονίων στην ελεύθερη ρίζα DPPH δίνει ένα ισχυρό μέγιστο απορρόφησης στα 517nm και είναι μωβ χρώμα. Το χρώμα αλλάζει από πορφυρό σε κίτρινο(γίνεται αποχρωματισμός, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1) καθώς η μοριακή απορρόφηση της ρίζας DPPH στα 517nm μειώνεται, όταν το εξωτερικό ηλεκτρόνιο της ρίζας DPPH συνδέεται με το υδρογόνο από μια ελεύθερη ρίζα παγιδεύοντας το αντιοξειδωτικό για να σχηματίσει το μειωμένο DPPH-H.

Ο αποχρωματισμός που προκύπτει είναι στοιχειομετρικός σε σχέση με τον αριθμό των ηλεκτρονίων τα οποία δημιουργούν ζεύγη "συλλαμβάνονται".⁽⁸³⁾

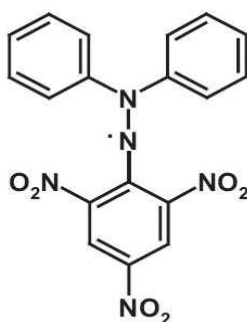


Εικόνα 1 : Αποχρωματισμός του DPPH.

Αντιοξειδωτικές ενώσεις μπορούν να είναι υδατοδιαλυτές, λιποδιαλυτές, αδιάλυτες, ή να δεσμεύονται σε κυτταρικά τοιχώματα. Ως εκ τούτου, η ικανότητα να απομονωθούν οι αντιοξειδωτικές ουσίες από το τρόφιμο είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην ποσοτικοποίηση της αντιοξειδωτικής δράσης των τροφών.

Αρχή μεθόδου

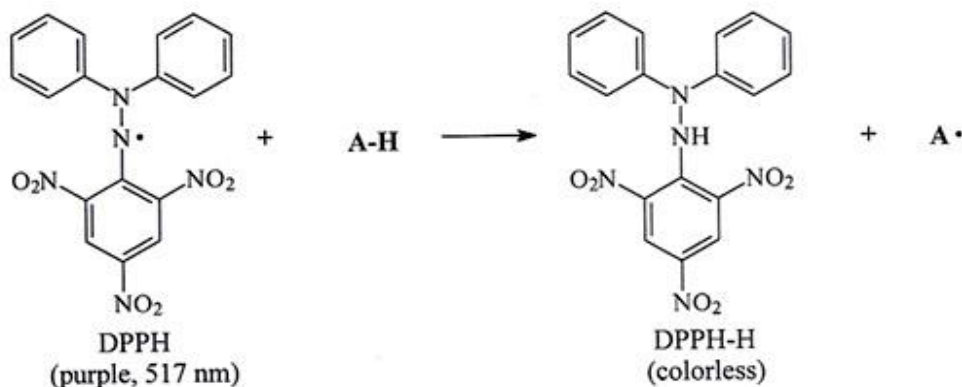
Η μέθοδος βασίζεται στην ικανότητα των αντιοξειδωτικών ουσιών να δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH. Η δέσμευση αυτής της σταθερής ελεύθερης ρίζας έχει ως αποτέλεσμα το διάλυμα να αποχρωματίζεται. Η ελάττωση της απορρόφησης μετράται στα 515nm.



1,1 -difenil -2-picril -hidrazil (DPPH·)

DPPH

Η αντίδραση που πραγματοποιείται μεταξύ του αντιοξειδωτικού και της ελεύθερης ρίζας φαίνεται στο παρακάτω σχήμα.

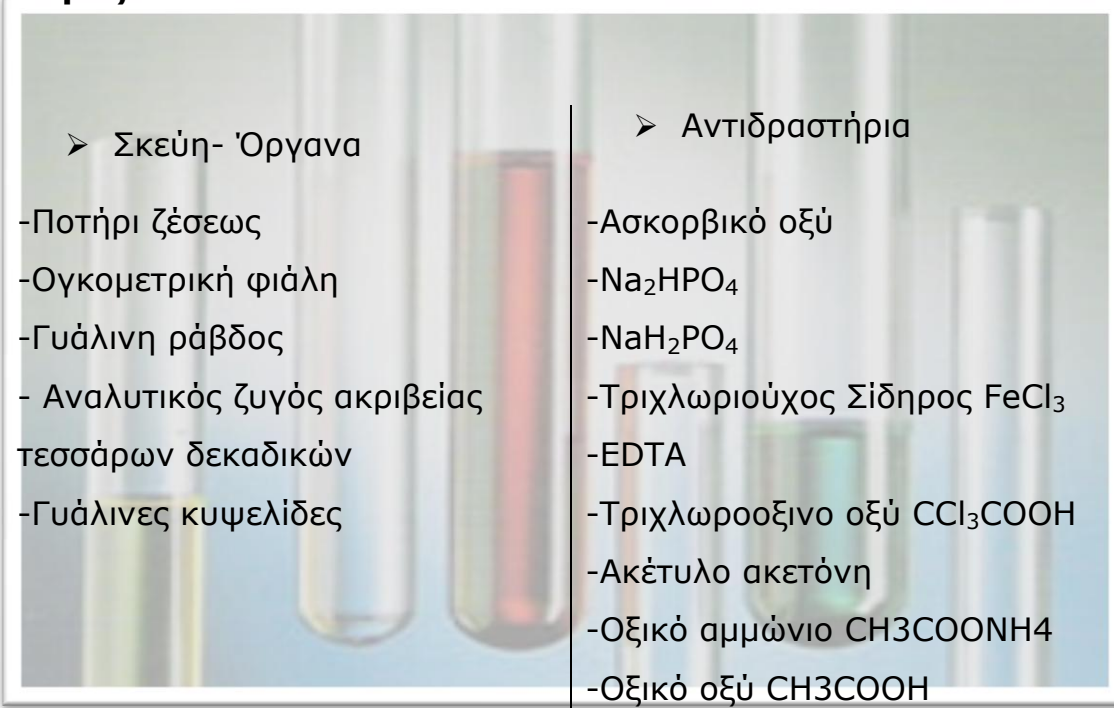


Αναλυτική πορεία

Σε 3 δοκιμαστικούς σωλήνες αναμιγνύονται 20μL ουσίας με κατάλληλη ποσότητα αιθανόλης και DPPH. Ακολουθεί ανάδευση και τα δείγματα αφήνονται σε σκοτεινό μέρος. Τέλος μετράται η απορρόφηση των δειγμάτων στα 515nm πρώτα μετά από 20min και έπειτα μετά από 60min. Στα αποτελέσματα φαίνεται η % αλληλεπίδραση της ελεύθερης ρίζας DPPH με την ουσία στα εξεταζόμενα δείγματα, κατά την μέτρηση στα 20min (Πίνακας: 10, Γραφήματα:9,10,11,15, ,Αποτελέσματα 10.4.) και κατά την μέτρηση στα 60min (Πίνακας: 11, Γραφήματα:12,13,14,16, Αποτελέσματα: 10.4.)

Επιπλέον παρασκευάζονται και δείγματα standards με αντίστοιχη ποσότητα DMSO και H₂O, που αντικαθιστούν την ουσία που εξετάζεται και επίσης μετράται η απορρόφηση τους.

9.4. Προσδιορισμός Ικανότητας Δέσμευσης Ελεύθερων ριζών υδροξυλίου $\cdot\text{OH}$



<p>➤ Σκεύη- Όργανα</p> <ul style="list-style-type: none">-Ποτήρι ζέσεως-Ογκομετρική φιάλη-Γυάλινη ράβδος- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών-Γυάλινες κυψελίδες	<p>➤ Αντιδραστήρια</p> <ul style="list-style-type: none">-Ασκορβικό οξύ-Na_2HPO_4-NaH_2PO_4-Τριχλωριούχος Σίδηρος FeCl_3-EDTA-Τριχλωροοξινο οξύ CCl_3COOH-Ακέτυλο ακετόνη-Οξικό αμμώνιο $\text{CH}_3\text{COONH}_4$-Οξικό οξύ CH_3COOH
--	---

Αρχή Μεθόδου

Η ρίζα υδροξυλίου είναι η δραστικότερη μορφή ρίζας, που απαντάται στα βιολογικά συστήματα. Αντιδρά ταχύτατα με πλειάδα βιολογικών μακρομορίων προκαλώντας σοβαρές βλάβες. Οι ρίζες υδροξυλίου παράγονται κύρια μέσω της αντίδρασης Haber-Weiss με την παρουσία ιόντων σιδήρου ή χαλκού.

Ως σύστημα δημιουργίας ριζών υδροξυλίου χρησιμοποιήθηκε Fe συμπλοκοποιημένος με EDTA, που καταλύει την αυτοοξειδωση του ασκορβικού οξέος. Οι ρίζες του υδροξυλίου που σχηματίζονται οξειδώνουν το DMSO προς σχηματισμό φορμαλδεΐδης. Η αντίδραση περιλαμβάνει αρχική αλληλεπίδραση του DMSO με τις ρίζες υδροξυλίου δίνοντας ρίζες μεθυλίου με τελικό προϊόν τη φορμαλδεΐδη, που προσδιορίζεται χρωματομετρικά με τη μέθοδο Nash. (Klein et al 1981) (Nash 1953) Η μέτρηση γίνεται στα 412 nm, όπου απορροφά η φορμαλδεΐδη.

Το DMSO είναι πολύ καλός σαρωτής ριζών υδροξυλίου και στις πειραματικές συνθήκες, που χρησιμοποιήθηκαν, η αντιοξειδωτική ικανότητα των ενώσεων ουσιαστικά εκφράζεται ως η ικανότητα τους να

ανταγωνίζονται το DMSO στη σάρωση των παραγόμενων ριζών υδροξυλίου.

Αναλυτική πορεία

Για την διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας χρειάστηκε να παρασκευαστεί ρυθμιστικό διάλυμα (buffer) Na_2HPO_4 και NaH_2PO_4 ,(ph 7.4). Επίσης χρειάστηκε να παρασκευαστεί διάλυμα Nash που προκύπτει από την προσθήκη οξικού αμμωνίου, οξικού οξέος και ακέτυλο ακετόνης.

Σε 4 δοκιμαστικούς σωλήνες αναμιγνύονται 10μl διαλύματος αφυδατωμένου ροφήματος αναδιαλυμένου σε DMSO, κατάλληλα αραιωμένο, με διάλυμα FeCl_3 , Buffer(ph 7.4),διάλυμα EDTA, διάλυμα ασκορβικού οξέως και αραιό διάλυμα DMSO.

Ακολουθεί επώαση των δειγμάτων σε υδατόλουτρο στους 37°C για 30min και στην συνέχεια προστίθεται κατάλληλη ποσότητα από διάλυμα Nash το οποίο αποτελείται από 45g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, 0.9ml CH_3COOH , και 0.6ml $\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{COCH}_3$, σε 100ml H_2O και κατάλληλη ποσότητα από διάλυμα CCl_3COOH 17%w/v.

Μετά από επώαση 10min στους 60°C μετράται η απορρόφηση στα 734nm. Στα αποτελέσματα φαίνεται η % ικανότητα δέσμευσης OH^- σε συσχέτιση με τους διαλύτες που επιλέχθηκαν για τα πυκνά δείγματα (Πίνακες: 12, 13, 14, Γραφήματα: 17, 18, 19, 20, Αποτελέσματα 3.6.) αλλά και για τα αραιωμένα (1:10) δείγματα (Πίνακες:15,16,17, Γραφήματα:21,22,23,24, Αποτελέσματα:10.5.)

9.5. Προσδιορισμός Ικανότητας Απελευθέρωσης Μονοξειδίου του Αζώτου NO

➤ Σκεύη- Όργανα	➤ Αντιδραστήρια
-Ποτήρι ζέσεως	-Na ₂ HPO ₄
-Ογκομετρική φιάλη	-NaH ₂ PO ₄
-Γυάλινη ράβδος	- L-Cysteine
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών	- Sulphanilamide
-Γυάλινες κυψελίδες	- N-naphthylethyldiamide
	-H ₃ PO ₄

Αρχή Μεθόδου

Στο πείραμα αυτό γίνεται προσπάθεια μελέτης της δυνατότητας των ενώσεων να απελευθερώνουν NO (μονοξείδιο του αζώτου) παρουσία θειολικού παράγοντα και να λειτουργούν άρα ως δότες μονοξειδίου του αζώτου. Ο θειολικός παράγοντας, που μπορεί να είναι L-κυστεΐνη ή θειοφαινόλη σε τελικές συγκεντρώσεις 0,5 & 5mM και 0,5mM αντίστοιχα.

Είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία για τις ενώσεις με αζωμεθινικό δεσμό ότι μπορούν να απελευθερώσουν NO με την παρουσία θειολικού παράγοντα και συγκεκριμένα της L-κυστεΐνης για την πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε στην μελέτη του μάραθου. Οι ενώσεις είναι διαλυμένες σε ρυθμιστικό φωσφορικών (pH = 7.4), που περιλαμβάνει L-κυστεΐνη, που βοηθούν στην απελευθέρωση NO, το οποίο με την παρουσία του ατμοσφαιρικού αέρα μετατρέπεται σε NO₂⁻. Η ανίχνευση των νιτρωδών έγινε με τη βοήθεια της αντίδρασης Griess. Στην πραγματικότητα δεν είναι δυνατή η δημιουργία NO₂⁻ απουσία της L-κυστεΐνης.

Αναλυτική πορεία

Για την διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας χρειάστηκε να παρασκευαστεί ρυθμιστικό διάλυμα (buffer) Na_2HPO_4 και NaH_2PO_4 ,(ph 7.4).

Επίσης χρειάστηκε να παρασκευαστεί διάλυμα Griess που προκύπτει από την προσθήκη σουλφανιλαμίδης (*sulphanilamide*), *N-naphthylethyldiamide* και πυκνού H_3PO_4 .

Σε 3 δοκιμαστικούς σωλήνες αναμιγνύονται 100μl διαλύματος αφυδατωμένου ροφήματος αναδιαλυμένου σε DMSO, κατάλληλα αραιωμένο, με διάλυμα κυστεινης και Buffer (ph 7.4.)

Ακολουθεί επώαση των δειγμάτων στους 37°C για 60min και στην συνέχεια προστίθεται κατάλληλη ποσότητα από διάλυμα Griess που αποτελείται από 4g *sulphanilamide*, 0.2g *N-naphthylethyldiamide* και 10ml H_3PO_4 σε 100ml νερού. Αφού τα δείγματα αφεθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 10min μετράται η απορρόφηση στα 540nm.(Αποτελέσματα 10.6.)

10. Αποτελέσματα

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις πειραματικές διαδικασίες που πραγματοποιήθηκαν, στην σειρά με την οποία αυτές αναφέρθηκαν στις προηγούμενες ενότητες, τόσο με την μορφή αριθμητικών δεδομένων όσο και με την μορφή διαγραμμάτων. Στο τέλος της παρουσίασης του κάθε πειράματος ακολουθούν σχόλια και παρατηρήσεις που αφορούν το κάθε πείραμα ξεχωριστά.

10.1. Παραλαβή πτητικών συστατικών

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 5) παρουσιάζονται τα βάρη των στερεών υπολειμμάτων που προέκυψαν από τον βρασμό 15g (συνολικά για το κάθε λεπτό-5gr για κάθε επανάληψη) αποξηραμένου μάραθου στους χρόνους που αναφέρονται.

Όπως παρατηρείται το βάρος του στερεού υπολείμματος αυξάνει διαδοχικά τόσο σε σχέση με τον χρόνο βρασμού του φυτού, κάτι που φανερώνει πως τελικά τα 5 λεπτά βρασμού επιτρέπουν την μέγιστη συγκριτικά διάλυση των ουσιών του φυτού στο νερό, όσο και σε σχέση με την αύξηση της πολικότητας των διαλυτών που επιλέχθηκαν, αυτό φανερώνει πως οι ουσίες που περιέχονται στο μάραθο είναι περισσότερο πιθανό να διαλυθούν στον περισσότερο πολικό διαλύτη όπως είναι το νερό.

Αναφορικά, η απόδοση του βάρους του φυτού μετά τις εκχυλίσεις εμφανίζεται αναλογικά μικρή και παρουσιάζει μέγιστο στο 5^ο λεπτό με απόδοση σχεδόν 15% και ελάχιστο στο 1^ο λεπτό με απόδοση 7% επί του βάρους των 15gr που χρησιμοποιήθηκαν συνολικά.

Πίνακας 5: Βάρη στερεών υπολειμμάτων από τις εκχυλίσεις			
Διαλύτης	Βάρος στερεού υπολείμματος		
	1 MIN	3 MIN	5MIN
P.E.	0.0672	0.0146	0.1218
E₂PO	0.0802	0.0635	0.1263
E.A	0.0906	0.2534	0.2101
BuOH	0.1148	0.2158	0.1643
H₂O	0.7007	1.3355	1.6135

10.2. Μέθοδος Folin-Ciocalteu (FC)

Πίνακας 6 : Αποτελέσματα από βρασμό 1^{ος} λεπτού

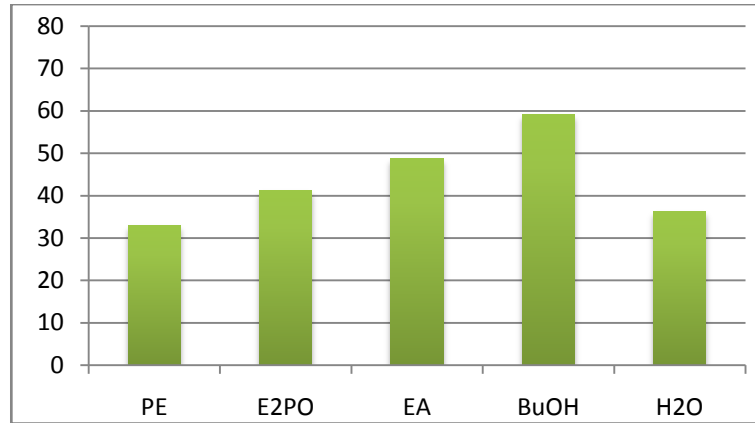
ΔΙΑΛΥΤΗΣ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΦΑΙΝ. mg/L
PE	33,024
E₂PO	41,097
EA	48,725
BuOH	59,220
H₂O	36,230

Πίνακας 7 : Αποτελέσματα από βρασμό 3^{ων} λεπτών

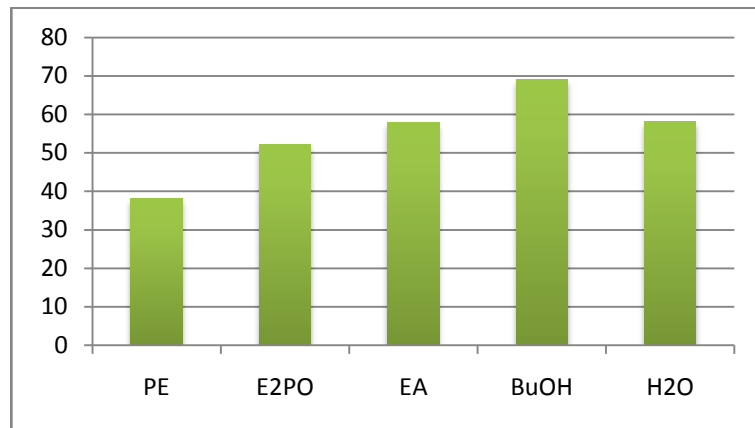
ΔΙΑ ΛΥΤΗΣ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΦΑΙΝ. mg/L
PE	38,028
E₂PO	52,125
EA	57,774
BuOH	69,058
H₂O	58,135

Πίνακας 8 : Αποτελέσματα από βρασμό 5 λεπτών

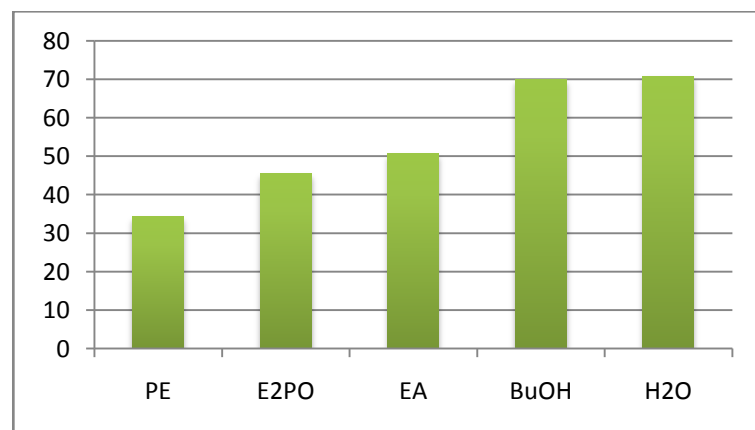
ΔΙΑ ΛΥΤΗΣ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΦΑΙΝ. mg/L
PE	34,275
E₂PO	45,429
EA	50,807
BuOH	69,966
H₂O	70,818



Γράφημα 1 : Συγκέντρωση φαινολικών(mg/l) για το 1ο λεπτό

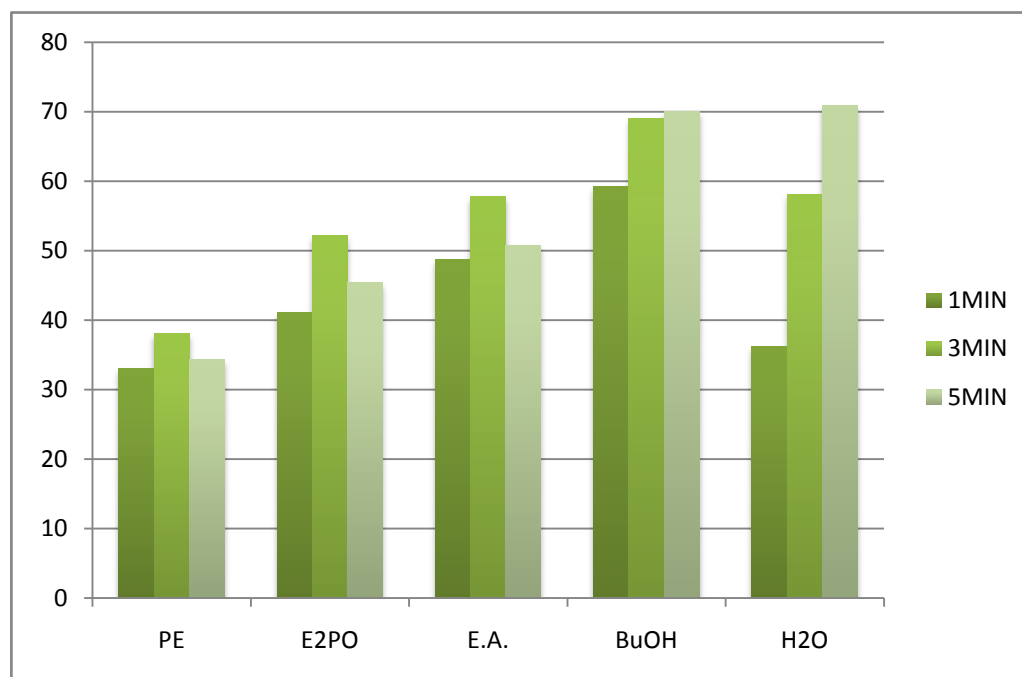


Γράφημα 2 : Συγκέντρωση φαινολικών(mg/l) για το 3ο λεπτό



Γράφημα 3 : Συγκέντρωση φαινολικών (mg/l)για το 5ο λεπτό

Συγκεντρωτικά αποτελέσματα



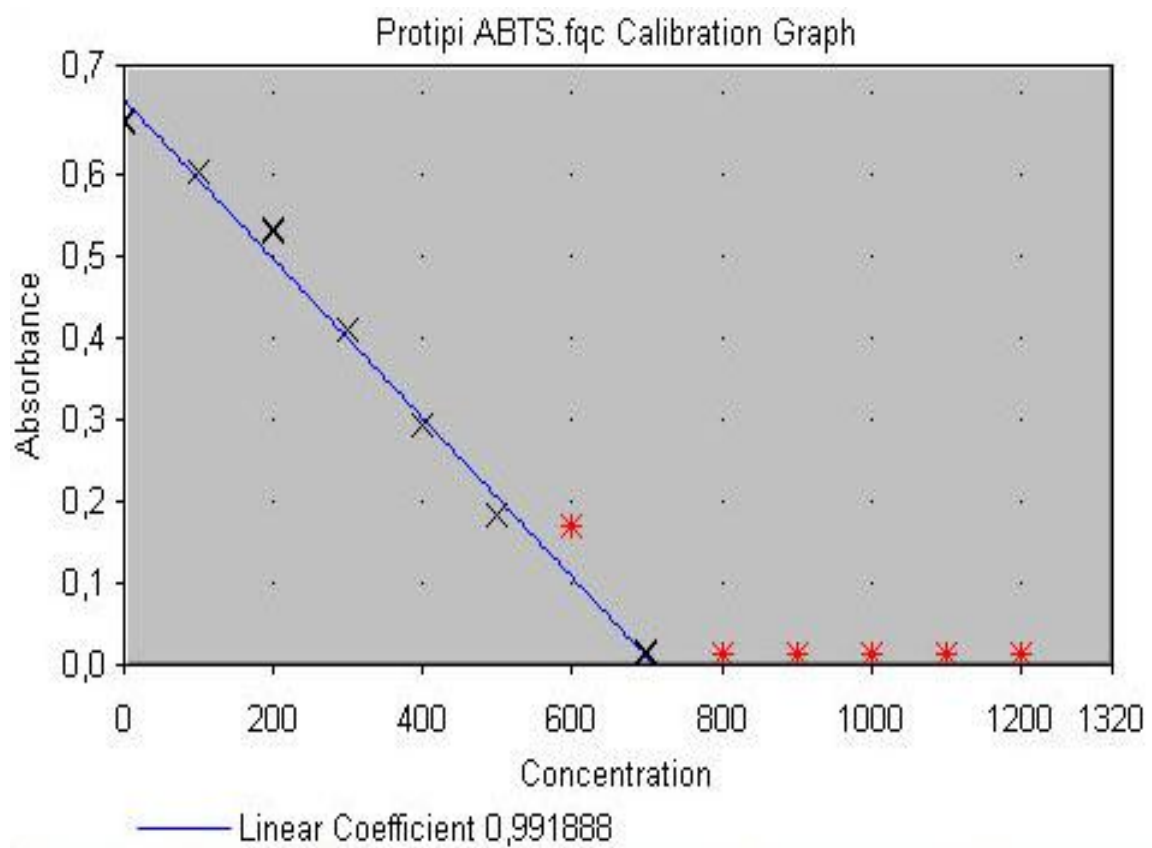
Γράφημα 4: Συγκεντρωτικά αποτελέσματα της συγκέντρωσης φαινολικών (mg/l) σε συσχέτιση με τον χρόνο βρασμού των δειγμάτων

Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται μια σταθερά ανοδική πορεία στην συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων από το πρώτο προς το πέμπτο λεπτό. Αυτό φανερώνει πως ο μεγαλύτερος χρόνος βρασμού τελικά επιτρέπει την διάλυση μεγαλύτερης ποσότητας τέτοιων ενώσεων.

Επιπλέον, παρατηρείται μία γενική τάση αύξησης του φαινολικού περιεχομένου ανάλογα με την πολικότητα των διαλυτών η οποία φαίνεται τόσο στα γραφήματα του 1^{ου} και 3^{ου} λεπτού αλλά πιο έντονα στο γράφημα που αναφέρεται στο 5^ο λεπτό καθώς η κλίμακα της συγκέντρωσης είναι σημαντικά αυξημένη.

Επίσης, σχετικά με τους διαλύτες παρατηρείται πως μετακινούμενοι αντίστροφα, από τον περισσότερο πολικό που είναι το νερό προς τον λιγότερο πολικό που είναι ο πετρελαϊκός, ο χρόνος βρασμού δεν φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά το φαινολικό περιεχόμενο στους λιγότερο πολικούς διαλύτες.

10.3. Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο του ABTS



Γράφημα 5 :
Πρότυπη Καμπύλη ABTS

Πίνακας 9 : Αποτελέσματα ABTs**ΔΙΑΛΥΤΗΣ**ΣΥΓΚΕΝΤΩΣΗ ΣΕ μM Trolox
Μ.Ο.ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ
Μ.Ο.**1 MIN**

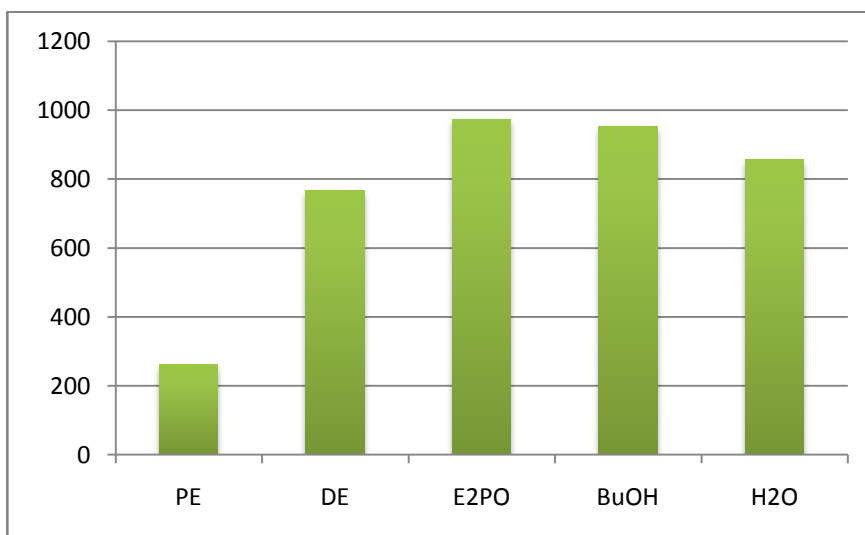
PE	263,885	0,515
E ₂ PO	766,725	0,186
E.A.	974,125	0,050
BuOH	952,501	0,065
H ₂ O	856,696	0,127

3 MIN

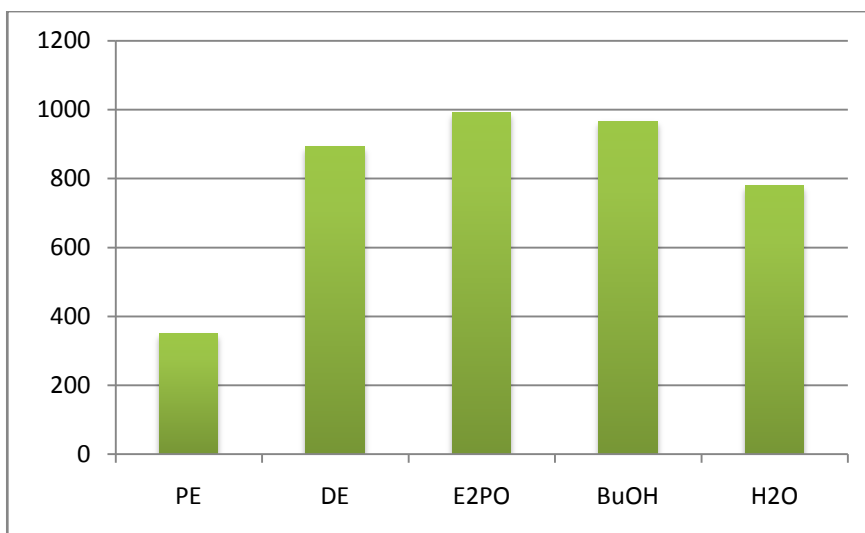
PE	351,456	0,458
E ₂ PO	892,809	0,104
E.A.	991,143	0,039
BuOH	967,007	0,055
H ₂ O	779,113	0,178

5 MIN

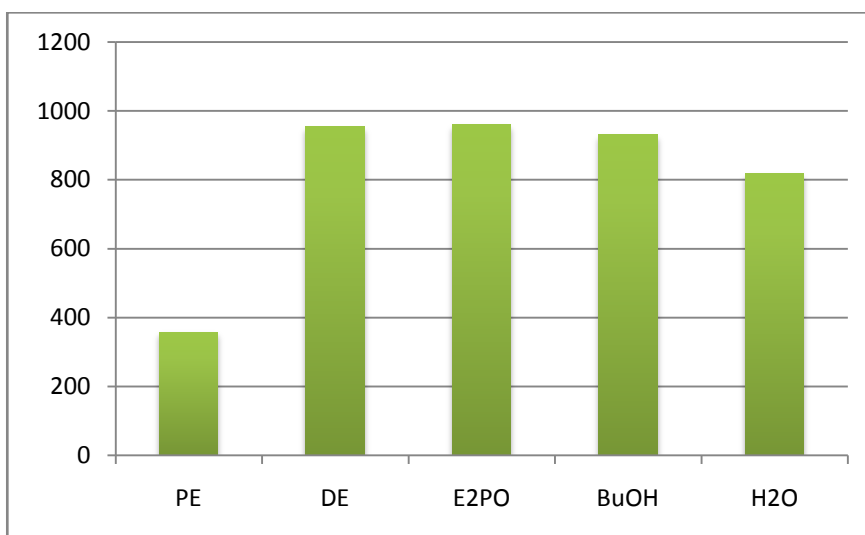
PE	358,941	0,453
E ₂ PO	954,628	0,063
E.A.	960,573	0,059
BuOH	931,845	0,078
H ₂ O	817,932	0,153



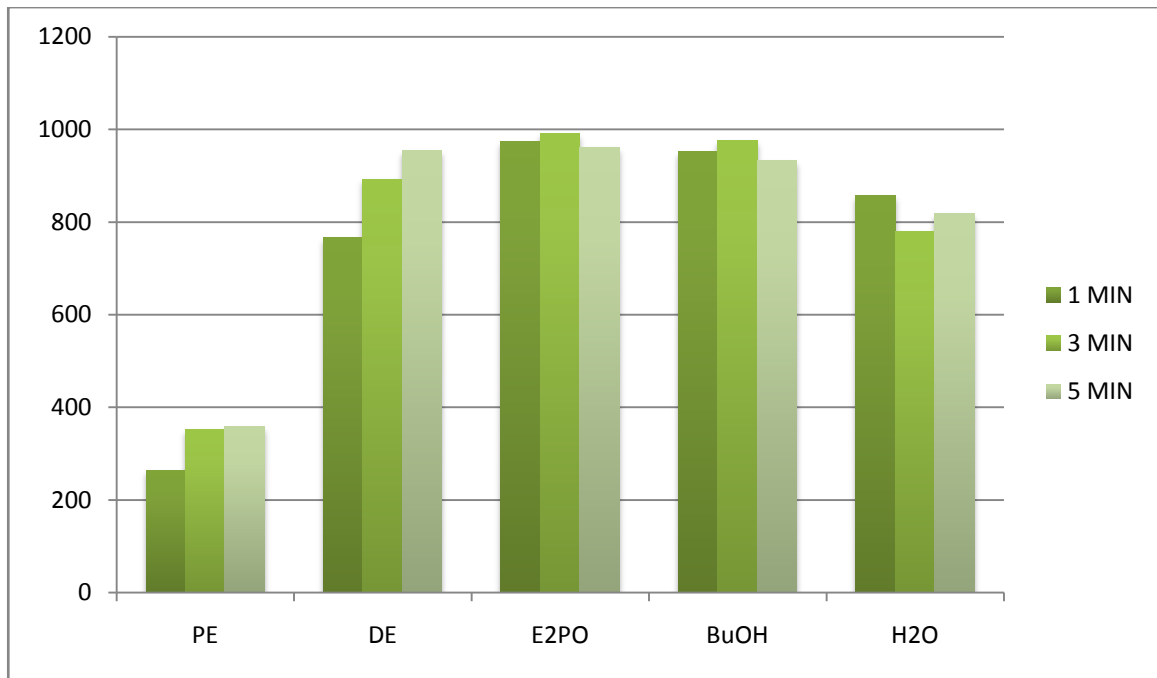
Γράφημα 6: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εξεταζόμενων δειγμάτων του 1^{ου} λεπτού εκφρασμένη σε Trolox



Γράφημα 7: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εξεταζόμενων δειγμάτων του 3^{ου} λεπτού εκφρασμένη σε Trolox



Γράφημα 8: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εξεταζόμενων δειγμάτων του 5^{ου} λεπτού εκφρασμένη σε Trolox



Γράφημα 25: Μεταβολή συγκέντρωσης των αντιοξειδωτικών ουσιών στα δείγματα εκφρασμένα σε μM Trolox

Παρατηρώντας την μορφή της πρότυπης καμπύλης και αυτές των εξεταζόμενων δειγμάτων βλέπουμε πως η αύξηση της συγκέντρωσης των αντιοξειδωτικών ουσιών στα δείγματα μας είναι συνακόλουθη της μείωσης της απορρόφησης που εμφανίζουν. Αυτή η μείωση της απορρόφησης που ποιοτικά παρατηρείται με τον αποχρωματισμό της ρίζας ABTs, αποτελεί την πρώτη ένδειξη της έντονης αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων.

Από την πειραματική διαδικασία προκύπτει πως η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων διαφοροποιείται ανάλογα με τον χρόνο βρασμού του αφεψήματος, κάτι που είναι κυρίως εμφανές στα δείγματα που εκχυλίστηκαν με πετρελαϊκό και διαιθυλαιθέρα.

Στα δείγματα που εκχυλίστηκαν με οξικό αιθυλεστέρα και βουτανόλη οι αντιοξειδωτικές ουσίες του αφεψήματος φαίνονται να περιέχονται σε μεγαλύτερη ποσότητα από ότι στους υπόλοιπους διαλύτες και η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων αυτών δεν φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά από τον χρόνο βρασμού.

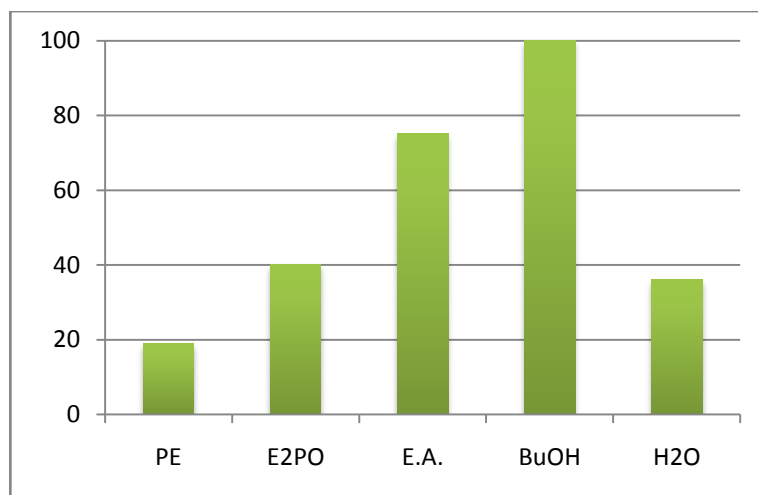
Τέλος στα δείγματα του νερού παρατηρείται μια μεταβολή στην αντιοξειδωτική ικανότητα από το 1^ο στο 3^ο λεπτό, όπως και από το 3^ο στο 5^ο. Συγκεκριμένα, στο 3^ο λεπτό φαίνεται η περιεκτικότητα αντιοξειδωτικών ουσιών να είναι συγκριτικά μικρότερη σε σχέση με το 1^ο και το 5^ο που παρουσιάζουν σχεδόν την ίδια αντιοξειδωτική ικανότητα.

10.4. Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλο-υδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH)

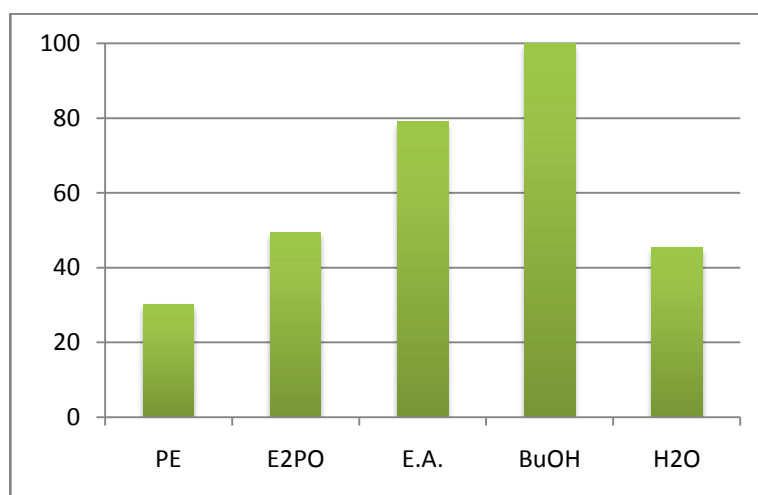
Αποτελέσματα της % αλληλεπίδρασης της ουσίας με την ελεύθερη ρίζα κατά την μέτρηση στα 20 min και στα 60 min.

Πίνακας 10:Αποτελέσματα κατά την μέτρηση στα 20 λεπτά			
ΔΙΑΛΥΤΗΣ	1' MIN	3' MIN	5' MIN
PE	19	27.7	29.8
E2PO	40	50	55.7
E.A.	75.2	100	99.1
BuOH	100	97.3	100
H₂O	35,5	100	100

Πίνακας 11 :Αποτελέσματα κατά την μέτρηση στα 60 λεπτά			
ΔΙΑΛΥΤΗΣ	1' MIN	3' MIN	5' MIN
PE	30.1	29.4	29.8
E2PO	49.5	60,4	55.7
E.A.	79.1	100	99.1
BuOH	100	100	100
H₂O	45.4	100	100

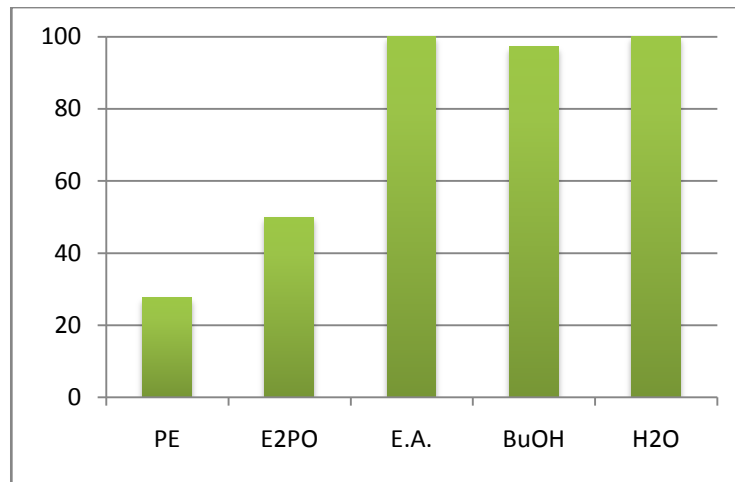


Γράφημα 9: % αλληλεπίδραση της ουσίας με την ελεύθερη ρίζα DPPH κατά την μέτρηση των δειγμάτων του 1^{ου} λεπτού στα 20 min

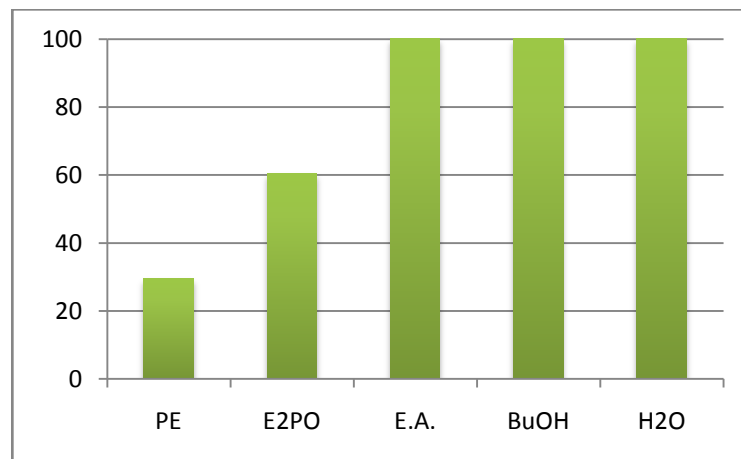


Γράφημα 12: % αλληλεπίδραση της ουσίας με την ελεύθερη ρίζα DPPH κατά την μέτρηση των δειγμάτων του 1^{ου} λεπτού στα 60 min

Όπως φαίνεται στα παραπάνω γραφήματα η αλληλεπίδραση της ουσίας με την ελεύθερη ρίζα DPPH κατά την μέτρηση στα 60min είναι αυξημένη κατά 5-10%, σχεδόν σταθερά για όλους τους διαλύτες, πλην της βουτανόλης που φαίνεται να έχει και να διατηρεί την μέγιστη ικανότητα αλληλεπίδρασης τόσο κατά την πρώτη μέτρηση όσο και κατά την δεύτερη.

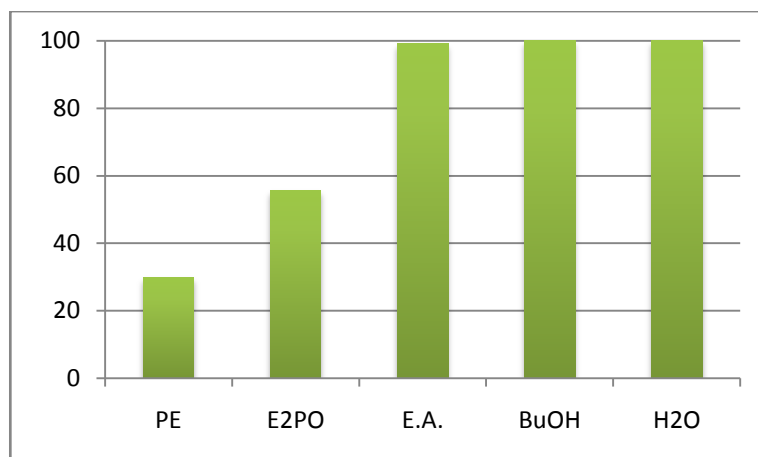


Γράφημα 10: % αλληλεπίδραση της ουσίας με την ελεύθερη ρίζα DPPH κατά την μέτρηση των δειγμάτων του 3^{ου} λεπτού στα 20 min

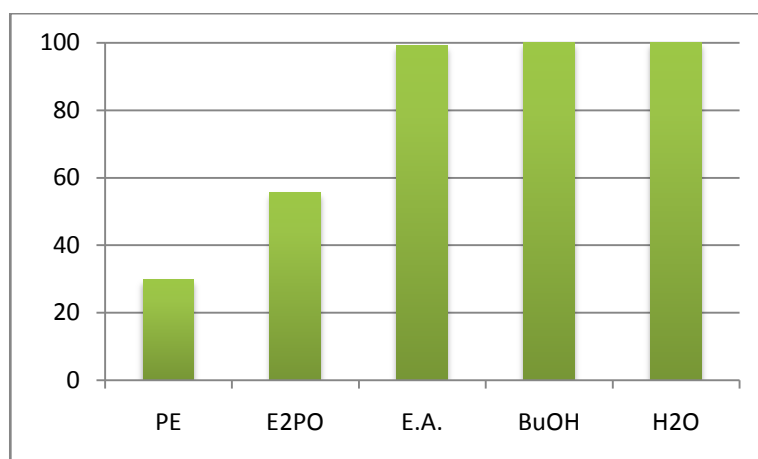


Γράφημα 13: % αλληλεπίδραση της ουσίας με την ελεύθερη ρίζα DPPH κατά την μέτρηση των δειγμάτων του 3^{ου} λεπτού στα 60 min

Όπως φαίνεται στα παραπάνω γραφήματα μεταξύ της πρώτης και δεύτερης μέτρησης παρατηρείται αυξημένο ποσοστό αλληλεπίδρασης κατά σχεδόν 5%, στον πετρελαϊκό και τον διαιθυλαιθέρα κάτι που όμως δεν φαίνεται να επηρεάζει την ικανότητα αλληλεπίδρασης στους υπόλοιπους διαλύτες που από την αρχή παρουσίασαν μέγιστη ικανότητα δέσμευσης.

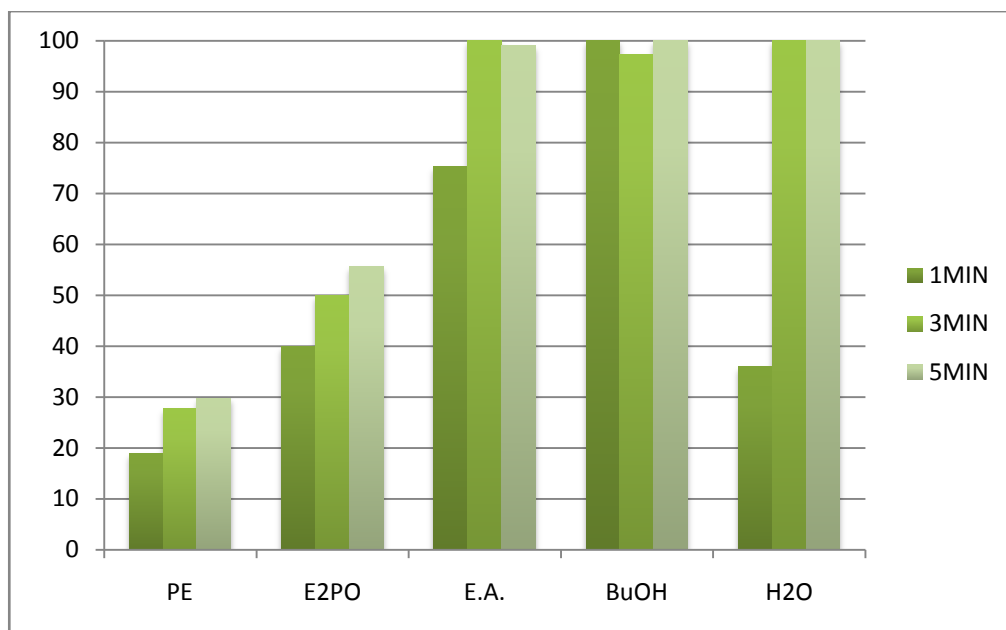


Γράφημα 11: % αλληλεπίδραση της ουσίας με την ελεύθερη ρίζα DPPH κατά την μέτρηση των δειγμάτων του 5^{ου} λεπτού στα 20 min



Γράφημα 14: % αλληλεπίδραση της ουσίας με την ελεύθερη ρίζα DPPH κατά την μέτρηση των δειγμάτων του 5^{ου} λεπτού στα 60 min

Όπως φαίνεται στα παραπάνω γραφήματα μεταξύ της πρώτης και δεύτερης μέτρησης δεν δίνει την δυνατότητα να αλληλεπιδράσει ακόμα περισσότερη ποσότητα ουσίας με την ελεύθερη ρίζα DPPH. Έτσι λοιπόν τα αποτελέσματα στην μέτρηση των 20min και των 60min, είναι τα ίδια κάτι που ίσως να σημαίνει πως εκεί εντοπίζεται και η μέγιστη ικανότητα αλληλεπίδρασης της ουσίας σ' ό,τι αφορά τους διαλύτες πετρελαϊκό και διαιθυλαιθέρα.



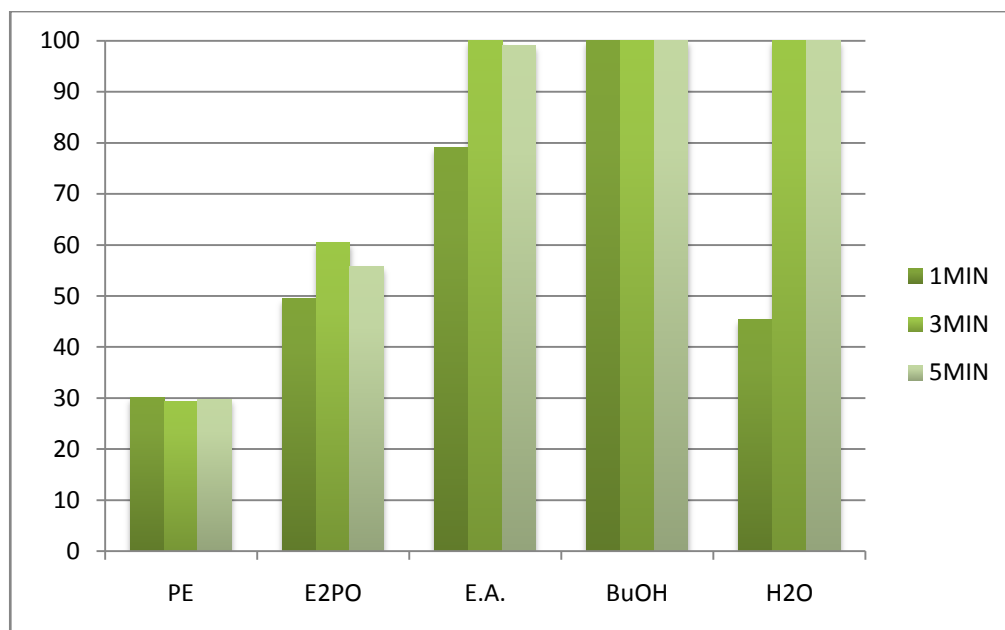
Γράφημα 15: Συσχέτιση των αποτελεσμάτων της % αλληλεπίδρασης της ουσίας με την ελεύθερη ρίζα DPPH συνολικά των λεπτών 1-3-5 όταν μετρήθηκαν στα 20 min

Όπως φαίνεται στο παραπάνω γράφημα ο χρόνος βρασμού του μάραθου επηρεάζει περισσότερο την ικανότητα αλληλεπίδρασης της ουσίας με την ελεύθερη ρίζα στους λιγότερο πολικούς διαλύτες.

Αναλυτικά, στα δείγματα του πετρελαϊκού και του διαιθυλαιθέρα από το 1^ο στο 5^ο λεπτό παρατηρείται μια αύξηση στην ικανότητα αλληλεπίδρασης της τάξης του 10-15%, κάτι που δεν παρουσιάζεται καταυτό τον τρόπο στους υπόλοιπους διαλύτες.

Συγκεκριμένα, αυτό που παρατηρήθηκε είναι πως ο αποχρωματισμός των δειγμάτων του οξικού, στην συνέχεια της βουτανόλης και κυρίως του νερού στο 3^ο και 5^ο λεπτό ήταν σχεδόν ραγδαίος, πράγμα που φανερώνει την ύπαρξη αυξημένης περιεκτικότητας αντιοξειδωτικών ουσιών στα δείγματα αυτά.

Ενδιαφέρον υπάρχει στην αύξηση της αλληλεπίδρασης με την ρίζα σε σχέση με τον χρόνο βρασμού στα δείγματα του 1^{ου} λεπτού του οξικού και κυρίως του νερό, τα οποία αυξάνουν και ουσιαστικά μεγιστοποιούν την ικανότητα τους στο 3^ο λεπτό, κάτι το οποίο διατηρείται σταθερό και στο 5^ο λεπτό καθώς εκεί παρατηρείται εξ' αρχής έντονη αλληλεπίδραση των ουσιών είναι λογικό να μην υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση με την πάροδο του χρόνου.



Γράφημα 16: Συσχέτιση των αποτελεσμάτων της % αλληλεπίδρασης της ουσίας με την ελεύθερη ρίζα DPPH συνολικά των λεπτών 1-3-5 όταν μετρήθηκαν στα 60 min

Όπως φαίνεται στο παραπάνω γράφημα κατά την μέτρηση στα 60 λεπτά τα δείγματα δεν παρουσιάζουν μεγάλη διαφοροποίηση στην ικανότητα αλληλεπίδρασης σε σχέση με τον χρόνο βρασμού. Αυτό δίνει μια σημαντική πληροφορία σχετικά με την αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων, πως ίσως τελικά ο χρόνος που έβρασε ένα δείγμα να μην επηρεάζει απόλυτα την ικανότητα αλληλεπίδρασης με την ρίζα DPPH καθώς, όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα, όταν δοθεί ο κατάλληλος χρόνος για να αλληλεπιδράσει η ουσία μας με την ελεύθερη ρίζα τότε η πρώτη θα παρουσιάσει την μέγιστη δυνατή ικανότητα.

Έτσι λοιπόν, συνολικά, παρατηρείται αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης με το πέρασμα του χρόνου αλλά και με την αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών.

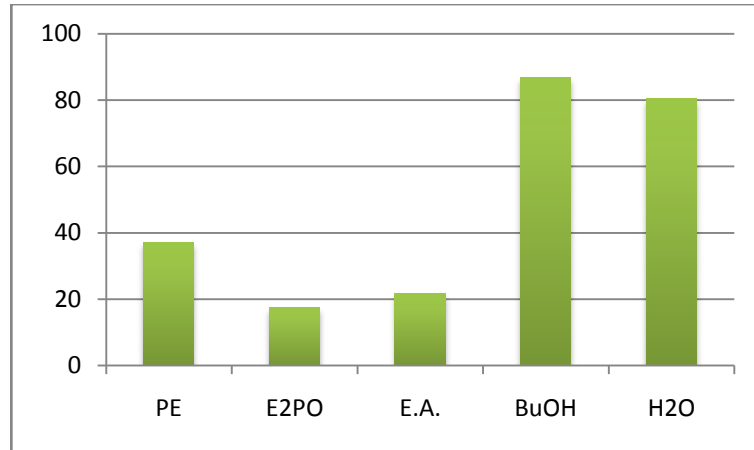
10.5. Προσδιορισμός Ικανότητας Δέσμευσης Ελεύθερων ριζών υδροξυλίου OH⁻

Τα παρακάτω αποτελέσματα αναφέρονται στο πυκνό δείγμα.

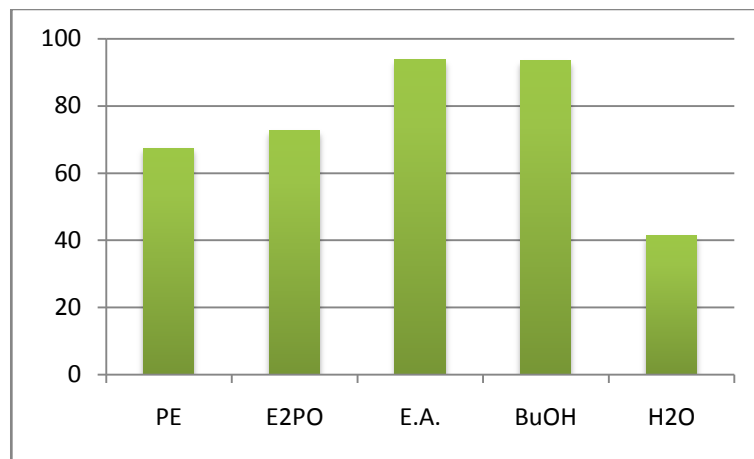
Πίνακας 12 : Αποτελέσματα από βρασμό 1^{ος} λεπτού	
ΔΙΑΛΥΤΗΣ	% ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ OH⁻
PE	37,2
E₂PO	17,6
E.A.	21,7
BuOH	86,8
H₂O	80,5

Πίνακας 13 : Αποτελέσματα από βρασμό 3^{ων} λεπτών	
ΔΙΑΛΥΤΗΣ	% ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ OH⁻
PE	67,4
E₂PO	72,6
E.A.	93,8
BuOH	93,4
H₂O	41,4

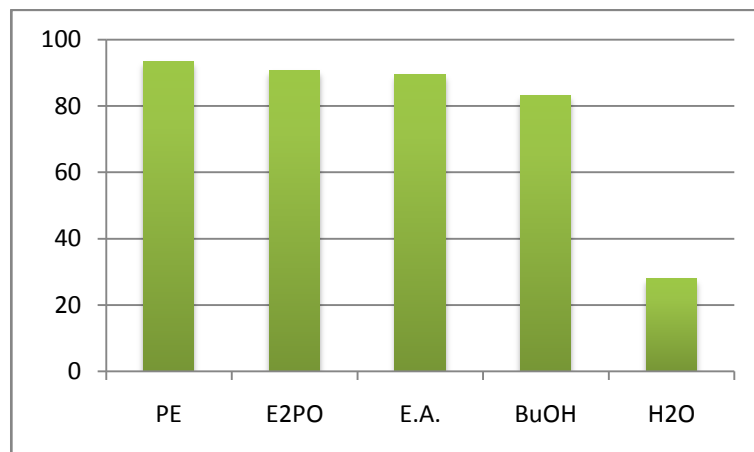
Πίνακας 14 : Αποτελέσματα από βρασμό 5 λεπτών	
ΔΙΑΛΥΤΗΣ	% ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ OH⁻
PE	93,2
E₂PO	90,6
E.A.	89,5
BuOH	83,1
H₂O	27,9



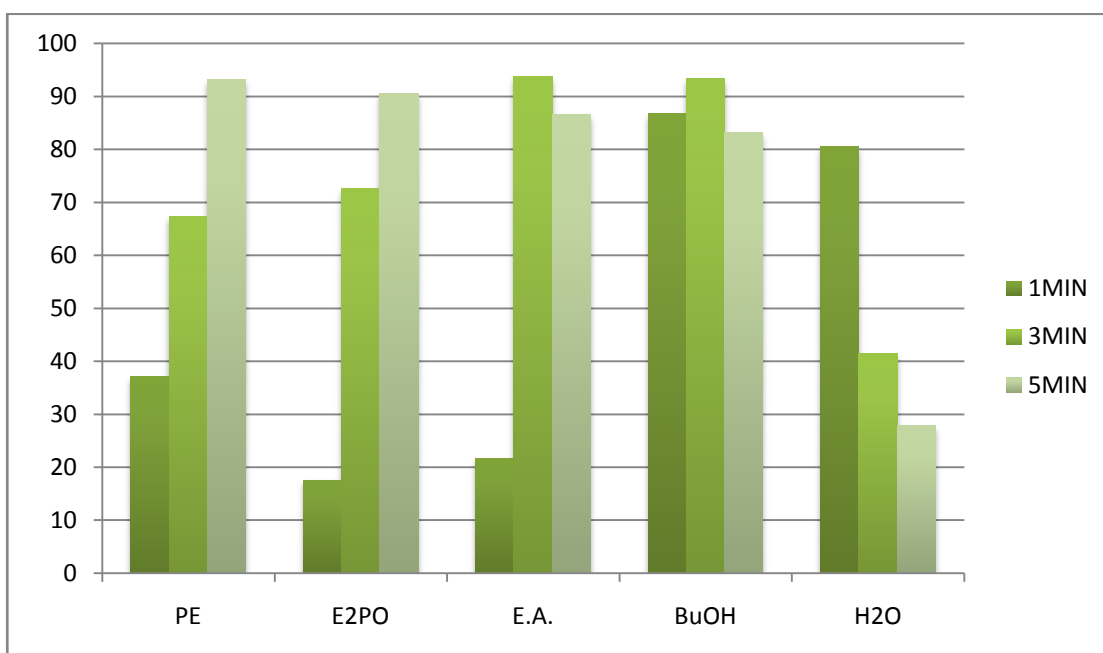
Γράφημα 17: % ικανότητα δέσμευσης ριζών OH για τα δείγματα του 1^{ου} λεπτού



Γράφημα 18: : % ικανότητα δέσμευσης ριζών OH για τα δείγματα του 3^{ου} λεπτού



Γράφημα 19: : % ικανότητα δέσμευσης ριζών OH για τα δείγματα του 5^{ου} λεπτού



Γράφημα 20: Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων για την % ικανότητα δέσμευσης OH^-

Όπως φαίνεται από το παραπάνω διάγραμμα, τα δείγματα του 3^{ου} και 5^{ου} λεπτού στους 4 πρώτους διαλύτες δίνουν σταθερά αυξημένα ποσοστά στην ικανότητα δέσμευσης ριζών OH^- , καθώς 7 από τα 8 δείγματα βρίσκονται πάνω και από το 70%.

Ενδιαφέρον προκαλεί η σταθερά αυξημένη απόδοση στα δείγματα της βουτανόλης ανεξάρτητα από τον χρόνο βρασμού του δείγματος, κάτι που οδηγεί στο συμπέρασμα πως τελικά αυτός ο διαλύτης είχε την καλύτερη ικανότητα να συγκρατεί κατά την εκχύλιση τις ουσίες του αφεψήματος που παρουσιάζουν σημαντική ικανότητα δέσμευσης των ριζών OH^- .

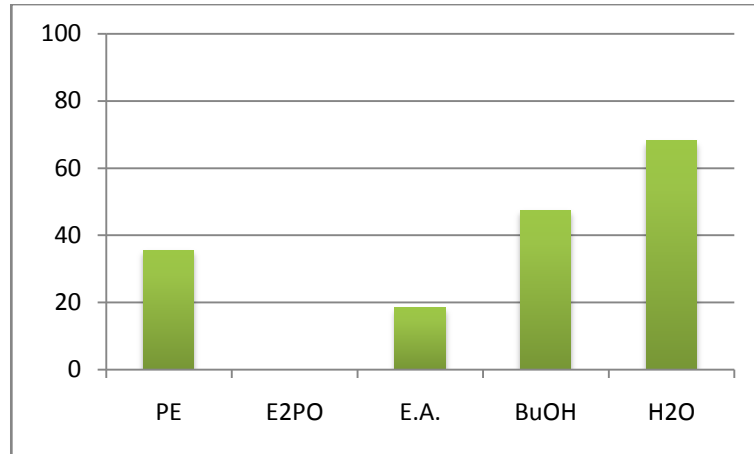
Αν δούμε συγκριτικά το 1^ο με το 5^ο λεπτό παρατηρούμε πως υπάρχει μια αντιστροφή στην πορεία των ποσοστών σε σχέση με τους διαλύτες, καθώς στο 1^ο λεπτό τα ποσοστά αυξάνουν και μεγιστοποιούνται στο δείγμα του νερού, ενώ στο 5^ο λεπτό τα ποσοστά μειώνονται σταδιακά μέχρι την ραγδαία μείωση κατά σχεδόν 50% στο δείγμα του νερού. Αντίστοιχα, για το 3^ο λεπτό βλέπουμε μια επίσης σταθερή ανοδική πορεία στα ποσοστά που και πάλι όμως καταλήγει σε σχεδόν 50% μείωση στο δείγμα του νερού.

Τα παρακάτω αποτελέσματα αναφέρονται σε νέο δείγμα που παρασκευάστηκε από το αρχικό με αραιώση 1:10.

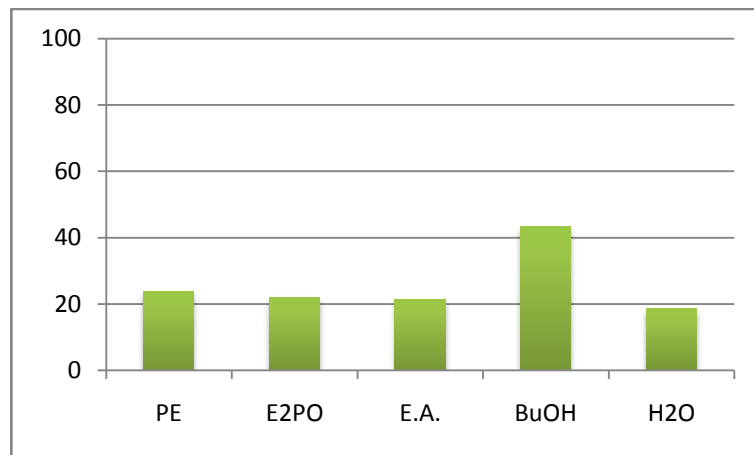
Πίνακας 15: Αποτελέσματα από βρασμό 1^{ος} λεπτού	
ΔΙΑΛΥΤΗΣ	% ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ OH⁻
PE	35,6
E₂PO	
E.A.	18,5
BuOH	47,5
44H₂O	59,9

Πίνακας 16: Αποτελέσματα από βρασμό 3^{ων} λεπτών	
ΔΙΑΛΥΤΗΣ	% ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ OH⁻
PE	23,7
E₂PO	22,1
E.A.	21,5
BuOH	43,4
H₂O	18,7

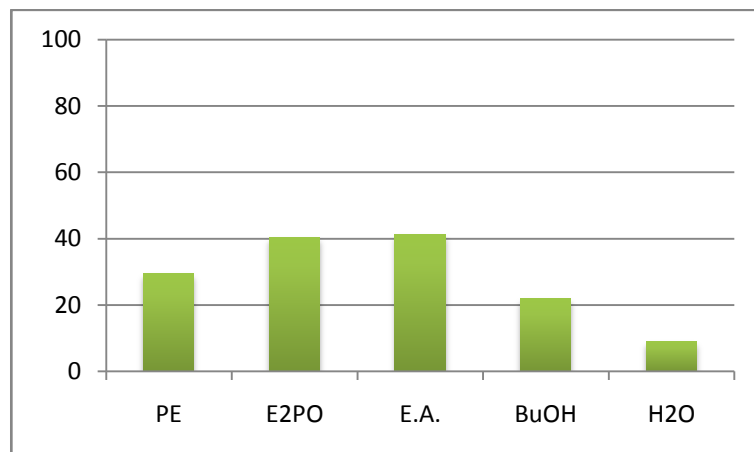
Πίνακας 17: Αποτελέσματα από βρασμό 5 λεπτών	
ΔΙΑΛΥΤΗΣ	% ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ OH⁻
PE	29,4
E₂PO	40,2
E.A.	41,3
BuOH	22
H₂O	9,1



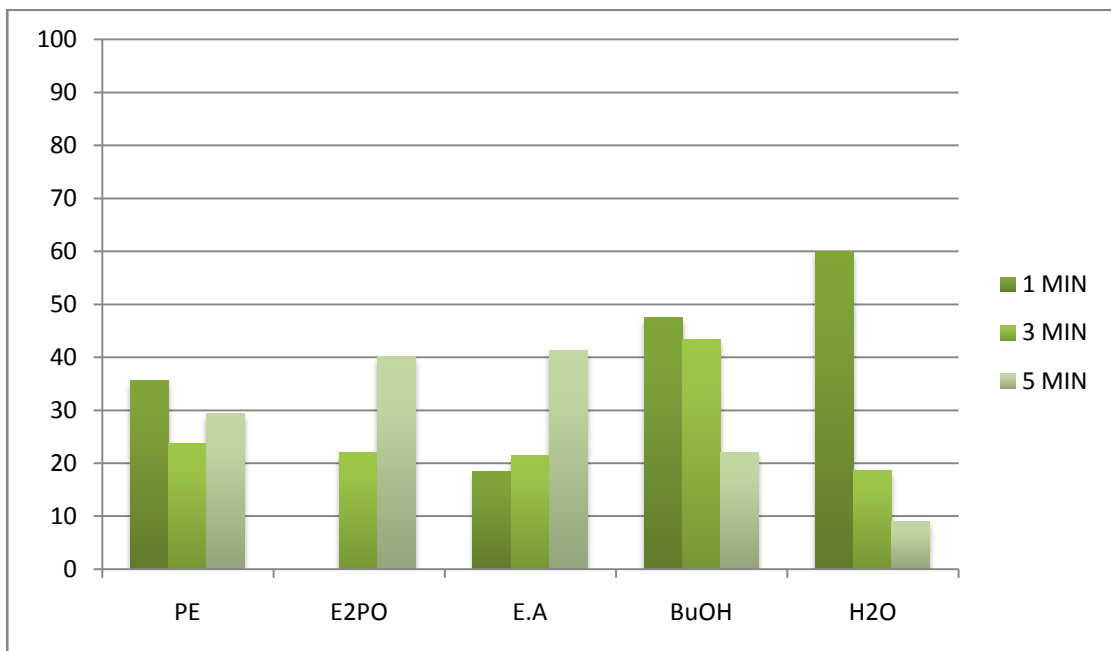
Γράφημα 21: % ικανότητα δέσμευσης ριζών OH για τα δείγματα του 1^{ου} λεπτού



Γράφημα 22: % ικανότητα δέσμευσης ριζών OH για τα δείγματα του 3^{ου} λεπτού



Γράφημα 23: % ικανότητα δέσμευσης ριζών OH για τα δείγματα του 5^{ου} λεπτού



Γράφημα 24: Συσχέτιση της % ικανότητας δέσμευσης ριζών OH για τα δείγματα όλων των λεπτών

Από το παραπάνω γράφημα φαίνεται η έντονη επίδραση που είχε η αραίωση των δειγμάτων στην κλίμακα της ικανότητας δέσμευσης των ριζών OH⁻, καθώς πλέον στο σύνολο των δειγμάτων το μέγιστο εντοπίζεται σχεδόν στο 60% και το ελάχιστο σχεδόν στο 10%.

Ενδιαφέρον προκαλεί η περίπτωση του πετρελαϊκού και του διεθυλαιθέρα του 1^{ου} λεπτού όπου φαίνεται να έχει την ίδια σχεδόν ικανότητα τόσο στο πυκνό όσο και στο αραιό δείγμα, όταν στα υπόλοιπα δείγματα η μείωση ξεπερνά κατά περίπτωση και το 50%.

10.6. Προσδιορισμός Ικανότητας Απελευθέρωσης Μονοξειδίου του Αζώτου NO

Από την πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε, αλλά και κατά την επανάληψη της σε διαφορετικές συγκεντρώσεις δείγματος και αντιδραστηρίων, δεν προέκυψαν αποτελέσματα που να οδηγούν σε κάποιο ουσιαστικό συμπέρασμα σχετικά με την ικανότητα του αφεψήματος του μάραθου να απελευθερώνει μονοξείδιο του αζώτου.

11. Συμπεράσματα-Συζήτηση

Από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν τεκμηριώνονται οι εξής ικανότητες του αφεψήματος του μάραθου:

Από την μέθοδο *Folin-Ciocalteu* προέκυψε ότι το φαινολικό περιεχόμενο του αφεψήματος επηρεάζεται τόσο από τον χρόνο βρασμού όσο και από την πολικότητα του διαλύτη. Το φυτό εμφανίζει αυξημένη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις οι οποίες παραμένουν σε μεγάλο βαθμό στο νερό κατά την παρασκευή του αφεψήματος, και κατά συνέπεια τις καθιστά διαθέσιμες για τον οργανισμό. Παρόλα αυτά είναι σημαντικό να ληφθεί υπόψη και η βιοδιαθεσιμότητα των φαινολικών ενώσεων στον ανθρώπινο οργανισμό, ώστε να μπορέσει να υπάρξει μια συνολική εικόνα της ποσότητας που τελικά θα μπορέσει να απορροφηθεί από τον οργανισμό αλλά και των επιδράσεων που θα έχει σε αυτόν.

Από την συνολική εικόνα των μεθόδων *ABTs* και *DPPH* παρατηρείται έντονη αντιοξειδωτική ικανότητα στο αφέψημα του μάραθου και είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικό το γεγονός πως η ικανότητα αυτή δεν επηρεάζεται σημαντικά από τον χρόνο βρασμού. Επίσης σημαντικό είναι το γεγονός ότι οι αντιοξειδωτικές ουσίες που παραμένουν στην υδατική φάση παρέχουν την μέγιστη αντιοξειδωτική ικανότητα. Συνολικά, παρατηρείται αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης με το πέρασμα του χρόνου αλλά και με την αύξηση της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών.

Αναφορικά με τις μεθόδους που επιλέχθηκαν για τον έλεγχο της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων, αξίζει να σημειωθεί πως δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στα αποτελέσματα.

Η ικανότητα δέσμευσης ριζών OH^- φαίνεται να επηρεάζεται από τον χρόνο βρασμού του αφεψήματος, κάτι που παραμένει σταθερό τόσο στο πυκνό όσο και στο αραιό δείγμα.

Παρατηρείται μια θετική συσχέτιση μεταξύ της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του φαινολικού περιεχομένου η οποία παραμένει σταθερή σε συνάρτηση με τον χρόνο βρασμού αλλά και με τους διαλύτες που επιλέχθηκαν, κάτι το οποίο δηλώνει ότι το υψηλό φαινολικό περιεχόμενο έχει ως αποτέλεσμα την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα.

Θετική είναι επίσης η συσχέτιση της περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις και της ικανότητας δέσμευσης ριζών OH^- στα αφεψήματα που παρασκευάστηκαν με βρασμό $3^{\text{ωv}}$ λεπτών.

Συγκεφαλαιώνοντας βασιζόμενοι στα παραπάνω, μπορούμε με ασφάλεια να πούμε πως ο μάραθος, λόγω των ευεργετικών για την υγεία χαρακτηριστικών του, αξίζει αποτελέσει κομμάτι της διατροφής μας και ως αφέψημα.

Σαφώς η περαιτέρω μελέτη του φυτού αυτού, αλλά και όλων των βοτάνων, θα μπορούσε να παρέχει ακόμη περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τις ιδιότητες τους και να δώσει κατά συνέπεια απαντήσεις στον τρόπο με τον οποίο αυτές μπορούν να αξιοποιηθούν σε συνδυασμό με την τεχνολογία, ώστε να ωφεληθεί ο άνθρωπος.

Η χημεία αποτελεί μια βασική επιστήμη που προσφέρει την δυνατότητα σε όποιον την κατέχει να ανταπεξέλθει σε πάρα πολλές ειδικότητες, έτσι σαφώς και η επιστήμη της διατροφής απαιτεί την πολύ καλή γνώση χημείας που αφορά τόσο τα τρόφιμα όσο και τον άνθρωπο.

Η ανάγκη της εποχής μας για ανάπτυξη επιβάλλει την ύπαρξη επιστημονικής έρευνας και την δημιουργία τεχνολογίας βασιζόμενοι στο πνευματικό δυναμικό της χώρας και η χημεία μπορεί να δώσει λύσεις σε πρωτοποριακές τεχνικές και να εξυπηρετήσει τον άνθρωπο τόσο μέσα όσο και έξω από το χημικό εργαστήριο.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Keys A. (1970). Coronary heart disease in seven countries study *Circulation*, 44 (S): 1-8
2. Trichopoulou A., Katsougianni K., Gnardellis C. (1993). The traditional Greek Diet. *European Journal Of clinical nutrition*, 47, 76-81.
3. Willet W.C., Sacks F., Trichopoulou A., et al (1995). Mediterranean diet pyramid cultural model for healthy eating. *American J of clinical nutrition*, 61, 402-406.
4. Trichopoulou A., Lagiou P. (1997). Healthy traditional Mediterranean Diet: An expression of Culture, History and Lifestyle. *Nutrition reviews*, 11:383-389.
5. Χασαπίδου Μ., Φαχαντίδου Α.(2002). Διατροφή για Υγεία, Άσκηση και Αθλητισμό, pp. 103, University Studio Press, Thessaloniki.
6. Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbial Rev*, 12:564-582.
7. Rios J.L, Recio M.C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol*, 100:80-84.
8. Chopra I, Hodgson J, Metcalf B, Poste G. (1997). The search for antibacterial agents effective against bacteria resistant to multiple antibiotics. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 4:497-503.
9. Arora D.S., Kaur J. (1999). Antimicrobial activity of spices. *Int J Antimicrobial Agents*, 12:257-262.
10. Arora D.S, Kaur GJ, Kaur H. (2009). Antibacterial activity of tea and coffee: their extracts and preparations. *Int J Food Properties*, 12:286-294.
11. Rojas J.J, Ochoa V.J, Ocampo S.A, Munoz J.F. (2006). Screening for antimicrobial activity of ten medical plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-hospital infections. *BMC Complement Altern Med*, 6:2.
12. Kaur G.D., Arora D.S. (2009). Antibacterial and phytochemical screening of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9:30.
13. Bellamy D, Pfiser A. (1992). *World medicine: plants, patients and people*. Oxford: Blackwell Publishers.
14. Chevallier A. (1996). *The encyclopedia if medicinal plants*. London: Dorling Kindersley.
15. Hemphill I., Cobiac L. (2006). Health benefits of herbs and spices: the past, the present, the future. *The medical Journal of Australia*, 185:4.
16. Govindarajan R, Vijayakumar M, Pushpangadan P. Antioxidant approach to disease management and the role of 'Pasayana' herbs of Ayurveda. *J Ethnopharmacol* (2005).99:165-178.

17. Thatte U.M, Dahanukar S.A. (1986). Ayurveda and contemporary scientific thought. *Trends Pharmacology Sci*, 7:247-251.
18. Pikoulis E., Msaouel P., Avgerinos E.D, Anagnostopoulos S, Tsigris Ch.(2008). Medical progress. Evolution of medical education in ancient Greece. *Clin Med J*, 121(21):2202-2206.
19. Keys A.(1980). Seven countries: a multivariate analysis of death and coronary heart disease. Cambridge, Mass: Harvard University Press.
20. Hostettmann K, Marston A. Australian medical plants. In: Steiner RP, editor. *Folk medicine, the art and the science*. Washington DC: American Chemical Society, 1885:215.
21. Μανουσάκης Γ.Ε.(2008). Συμπληρώματα διατροφής. Έκδοση: Μανουσάκης Γ..
22. Antioxidants and Cancer Prevention: Fact Sheet (2007). National Cancer Institute.
23. Sacchettini J.C. & Poulter, C.D. (1997). Creating Isoprenoid Diversity. *Science* 277, 1788-1789.
24. Glenn Tinseth, "Hop Aroma and Flavor", January/February 1993, *Brewing Techniques*.
25. Qureshi N, Porter J.Q (1981) in biosynthesis of Isoprenoid Compounds, eds Porter K.W, Spurgeon S.L (Wiley, New York), 1:147-94.
26. Κουτελιδάκης Α. (2008). Φαινολικά συστατικά και πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
27. Jan Koolman, Klaus-Heinrich Roehm, «Εγχειρίδιο Βιοχημείας» (2^η Έκδοση) Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης (52-53)
28. United States Department of Agriculture USDA Database for Flavonoid Content of Selected Foods. <http://www.ars.usda.gov>
29. US National Library of Medicine National Institute Of Health www.ncbi.nlm.nih.gov
30. Πολυφαινόλες-Αντιοξειδωτικά. <http://ajcn.nutrition.org>
31. The American Journal of Clinical Nutrition. <http://ajcn.nhri.org.tw>
32. Πολυφαινόλες. <http://www.holism.gr>
33. Πολυφαινόλες. <http://www.holism.gr>
34. Shahidi F., Janitha P.K and Wanasundara P.d. (1992) Phenolic Antioxidants, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 32:67-75.
35. Schuler P.(1990) Natural Antioxidants Exploited Commercially, in: *Food Antioxidants*, edited by B.J.F. Hudson, Elsevier Science Publishers, London, pp.113-127.
36. Μπόσκου Δ., Χημεία τροφίμων, 2004, Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.
37. Duarte L., Perez-Vizcaino F., Zarzuelo A., Tanargo L. (1993). Vasodilator effects of guercetin in isolated rat vascular smooth muscle, *Eur. J. Pharmacology*, 239:1-7.

38. Pietta P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants, *J. Nat. Prod.*, 63:1035-42.
39. Hertog M.G.L, Feskens E.J.M, Kromhout D., Hollman P.C.H, Katan M.B. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *The Lancet*, 342(8878):1007-1011.
40. Kondo K., Hirano R., Matsumoto A., Igarashr O., Ltahura H. (1996). Inhibition of LDL oxidant by cocoa. *The Lancet*, 348(9040):1514.
41. Μανουσαάκης Γ.Ε, 2008, Συμπληρώματα Διατροφής, Μανουσαάκης Γ, σελ.57-58.
42. Sacchetini J.C. & Poulter, C.D.(1997). Creating Isoprenoid Diversity. *Science* 277, 1788-1789.
43. Glenn Tinseth, "Hop Aroma and Flavor", January/February 1993, *Brewing Techniques*.
44. Qureshi N, Porter J.W(1981) in *Biosynthesis of Isoprenoid Compounds*, eds Porter J.W, Spurgeon D.L(Wiley, New York), 1/47-94
45. Ozbek H. (2002) Investigation of the level of the lethal dose 50 and the hypoglycemic effect of *Foeniculum vulgare* Mill. Fruit essential oil extract in healthy and diabetic mice. *Van Tip Dergisi*, 9 (4)/98-103.
46. Tutin T.G. (1968). *Flora Europaea*. Cambridge University Press, 2/341.
47. Yamini Y., Sefidkon F., Pourmortazavi S.M. (2002). *Flav. Fragr. J.*, 17/345-348.
48. Embong MB, Hadziyev D, Molnar S. (1977). Essential Oils from Spices Grown in Alberta, Fennel Oil (*Foeniculum vulgare* var. dulce). *Can J Plant Sci*, 57/829-37.
49. Miura Y, Ogawa K, Fukui H, Tabata M. (1986). Changes in the Essential Oil Components During the Development of Fennel Plants from Somatic Embryoids. *Pabta Med*, 52/95-6.
50. Akgul A, Bayrak A. (1988). Comparative Volatile Oil Composition Various Parts from Turkish Bitter Fennel (*Foeniculum vulgare* var. vulgare). *Food Chem*, 30/319-323.
51. Katsiotis S.T. (1988). Study of Different Parametres Influencing the Composition of Hydrodistilled Sweet Fennel Oil. *Flavour Fragrance J*, 4/221-4.
52. Verghese J. (1988). Fennel. *Indian Cocoa Arecanut Spices J*, 12/39-43.
53. Arslan N., Bayrak A., Akgul A. (1989). The Yield and Components of Essential Oil in Fennels of Different Origin (*Foeniculum vulgare* Mill.) Growing in Ankara Compositions. *Herba Hung*, 28/27-31.
54. Gupta K., Thakral K.K., Gupta V.K, Arora S.K. (1996). Essential Oils of FENNEL (*Foeniculum vulgare*). *J Sci Food Agric*, 68/73-6.
55. Venskutonis P.R., Dapkevicious A., Van Beek T.A. (1996). Essential Oils of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) from Lithuania. *J Essent Oil Res*, 8/211-3.
56. Czygane F.C. (1989). Fenchel, Teedrogen, Wichtl. *Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart*, 2/171-3.

57. Madaus G. (1976). *Foeniculum*. Lehrbuch der biologischen Heilmittel. Hilesheim, New York, 2/1354-61.
58. Forster H.B., Niklas H., Lutz S. (1980). Antispasmodic effects of some medicinal plants. *Planta Med*, 40/309-19.
59. Forster H.B. (1983). Spasmolytische wirkung pflanzlicher carminative. *Z Aliment. Med*, 59/1327-33.
60. Reynolds J.E.F. (1982). *Essential Oils and Aromatic Carminatives Martindale-The Extra Pharmacopeia*, Royal Phaceutical Society, London, 28/670-6.
61. Albert-Puelo M. (1980). Fennel and anise as estrogenic agent. *J Ethnopharmacol*, 2/337-44.
62. Ozbek H., Ugras S., Dulger H., Bayram I., Tuncer I., Ozturk G., Ozturk A. (2003). Hepatoprotective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil. *Fitoterapia*, 74 (3)/317-319.
63. Lawrence E., (1980). Fennel cultivation. *Encyclopedia Americana*, 2/272-273.
64. Bellamy D., Pfiser A. (1994). *World medicine, plants, patients and people*. Oxford, Blackxell Publishers.
65. Lawrence B.M. (1994). *Progress in Essential Oils*. *Perfume Flavor*, 19/31-2.
66. Bernath J., Nemeth E., Kattaa A., Hethelyi E. (1996). Morphological and Chemical Evaluation of Fennel. (*Foeniculum vulgare* Mill.) Population of Different Origin. *J Essent Oil Res*, 8/247-53.
67. Simandi B., Deak A., Ronyani E., Yanxiang G., Veress T., Lemberkovics E., Then M., Sass-Kiss A., Vamos- Falusi Z. (1999). Supercritical carbon dioxide extraction and fractionation of Fennel oil. *J Agric Food Chem*, 47/1635-40.
68. Ozcan M., Akgul A., Baser K.H.C., Ozok T., Tabanca N. (2001). Essential oil composition of sea fennel (*Crithmum maritimum*) from Turkey. *Nahrung/Food*, 45(5)/353-6.
69. Bowes K., Zheljazkov V. (2005). Essential oil yields and quality of fennel grown in Nova Scotia. *Hort Science* 39(7)/1640-1643.
70. Fahlbusch K.G., Hammerschmidt F.J, Panten J., Pickenhagen W., Schatkowski D., Bauer K., Garbe D., Surbung H. (2003). *Flavors and Fragrances*. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim 2002.
71. Karlberg A.T., Magnusson K., Nilsson U. (1992). Air oxidant of d-limonene (the citrus solvent) creates potent allergens. *Contact Dermatitis* 26 (5)/332-40.
72. Mann J.C., Hobbs J.B., Banthorpe D.V., Harborne J.B. (1994). *Natural products, their chemistry and biological significance*. Harlow, Essex, England, Lingman Scientific & Technical. Pp. 309-11.
73. Simonsen J.L. (1957). *The Terpenes*. Cambridge, Cambridge University Press, 2/105-191.
74. Οδηγός για Πρόσθετα Τροφίμων (Αριθμοί Ε) 2008 <http://www.moh.gov.cy>

75. Μ.Ιωάννου, Μεταπτυχιακή διατριβή «Αντιοξειδωτικό Περιεχόμενο Και Αντιοξειδωτική Δράση Καρπών Και Οσπρίων Από Την Ελληνική Αγορά» <http://estia.hua.gr> Βιβλιοθήκη Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο
76. Μηνιώτη Αικατερίνη, Διδακτορική Διατριβή «Ανάπτυξη Νέων Μεθόδων Προσδιορισμού Ολικής Αντιοξειδωτικής Ενεργότητας Και Εφαρμογή Στο Ελαιόλαδο» <http://despace.aua.gr> Βιβλιοθήκη Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
77. Οργανική χημεία, κεφάλαιο δέκατο, Έφαρμογές των μηχανισμών των ελεύθερων ριζών στην οργανική χημεία, βιολογία και ιατρική www.chem.uoa.gr Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμια Αθηνών, Τμήμα Χημείας
78. Ελληνική Εταιρία Ελεύθερων Ριζών και Οξειδωτικού Στρες www.eeeros.gr e-books: («Ελεύθερες Ρίζες Στην Οργανική Χημεία», Αθ.Π.Βαλαβανίδης, Τμήμα Χημείας παν. Αθηνών, Αθήνα 2006.)
79. Βιβλιοθήκη Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο <http://dspace.lib.ntua.gr>
80. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Psifiothiki <http://invenio.lib.auth.gr>
81. Κ.Βελίτσος, Πτυχιακή εργασία «Προσδιορισμός Και Συσχέτιση Ολικών Φαινολικών Ουσιών Και Αντιοξειδωτικής Ικανότητας Σε Ελληνικούς Καφέδες Της Ελληνικής Αγοράς <http://eureka.lib.teithe.gr>
82. <http://en.wikipedia.org>
83. DPPH Method <http://www.medlabs.com>
84. Δευτερογενείς Μεταβολίτες <http://el.Wikipedia.org>
85. Terpene <http://en.wikipedia.org>
86. United States Department of Agriculture, Nutrient Database <http://www.ars.usda.gov>
87. Pinene <http://en.wikipedia.org>
88. Α.Πολυχρονιάδου-Αληχανιδου, «Ανάλυση Τροφίμων» Ε΄ Έκδοση, Εκδόσεις Γαρταγάνης, Θεσσαλονίκη
89. Ισοφλαβόνες <http://www.isoflavones.info>
90. Saarinen NM, Tuominen J, Pylkkänen L, Santti R - Nutrients (2010) «Assessment of Information to Substantiate a Health Claim on the Prevention of Prostate Cancer by Lignans» <http://openi.nlm.nih.gov>
91. Jan Koolman, Klaus-Heinrich Roehm, «Εγχειρίδιο Βιοχημείας» (2η Έκδοση), Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης (248-285)
92. Οργανική Χημεία, Κεφάλαιο Πρώτο, «Ελεύθερες ρίζες: Βασικές έννοιες, σχηματισμός και σταθερότητα» www.chem.uoa.gr Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμια Αθηνών, Τμήμα Χημείας
93. Μ. Τρέμπεν «Υγεία από το Φαρμακείο του Θεού» Εκδόσεις Κέδρος 2002 <http://www.kedros.gr>

94. Gas chromatography-mass spectrometry <http://en.wikipedia.org>
95. Ε.Μπούκη, Διπλωματική Διατριβή, «Μελέτη της επαγωγής σουπεροξειδικών ανιόντων και οξειδίων του αζώτου σε αιμοκύτταρα του μυδιού *Mytilus galloprovincialis* (Lmk .), μετά από έκθεση σε μικρομοριακές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων, παρουσία φαινολικών ενώσεων» Τμήμα Βιολογίας Πανεπιστήμιο Πατρών <http://nemertes.lis.upatras.gr> .
96. Σύλλογος ατόμων με σκλήρυνση κατά πλάκας, Τριμηνιαία ενημερωτική περιοδική έκδοση του συλλόγου (Τεύχος 13, 2010) άρθρο του κ. Δ.Γρηγοράκη, Κλινικός Διαιτολόγος-Διατροφολόγος. «Κατεχίνες και πράσινο τσάι» <http://www.msassociationhellas.org>