



ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ
ΔΡΑΣΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΑΛΚΟΟΛΗΣ
ΠΟΤΩΝ ΑΠΟ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ ΤΟΥ
ΦΥΤΟΥ ΣΙΔΕΡΙΤΗΣ



ΜΠΑΡΑΝ ΜΑΡΙΑΝΑ

Επιβλέπων Καθηγητής:

ΠΡΟΕΣΤΟΣ ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ, Επίκουρος Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2017



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο του τομέα Χημείας Τροφίμων του τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Ο επιβλέπων της παρούσας ερευνητικής εργασίας ήταν ο κ. Χαράλαμπος Προεστός, Επίκουρος Καθηγητής Χημείας Τροφίμων του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, τον οποίον ευχαριστώ θερμά για την ανάθεση του θέματος της έρευνας, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε καθ' όλην την διάρκεια εκτέλεσης της εργασίας και για την συνεχή και πολύτιμη καθοδήγησή του. Επιπλέον, ευχαριστώ την Κωνσταντίνα Παπασταυροπούλου, φοιτήτρια του τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την σημαντική βοήθειά της στο εργαστήριο για την εκπόνηση της εν λόγω εργασίας και για το άψογο κλίμα συνεργασίας. Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην Άννα Ροιδάκη, μεταπτυχιακή φοιτήτρια, για την ανεκτίμητη βοήθειά της στο εργαστήριο. Τελειώνοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους μου και την οικογένεια μου για την στήριξη και την κατανόηση τους, και ιδιαίτερα τον Νταλάκα Αθανάσιο για την υποστήριξη και την πολύτιμη βοήθεια του.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το Ελληνικό τσάι του βουνού είναι ένα πολυετές φυτό, ύψους 20-75 cm το οποίο ανήκει στην οικογένεια χειλανθών (Lamiaceae) και στο γένος *Sideritis*. Αυτοφύεται σχεδόν αποκλειστικά στις ορεινές περιοχές της Ελλάδας και όλης της Μεσογείου και περιλαμβάνει τα είδη: *Sideritis athoa* Pap. & Kokkini., *Sideritis clandestina* Chaub & Bory., *Sideritis scardica* Gheb., *Sideritis raeseri* Boiss & Heldr., *Sideritis syriaca* L. και *Sideritis euboica* Heldr κ.α. Επίσης, χρησιμοποιείται κυρίως ως τσάι ή ακόμα και για ιατρικούς σκοπούς σε διάφορες περιοχές της Ελλάδας. Ο *Sideritis* spp. περιέχει μια σειρά από χημικές ενώσεις που παρουσιάζουν ενδιαφέρον λόγω των βιολογικών και θεραπευτικών ιδιοτήτων τους, συμπεριλαμβανομένων και των αντιοξειδωτικών.

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των ολικών φαινολικών συστατικών (Folin-Ciocalteu) και εκτιμήθηκε η αντιοξειδωτική δράση αφεψημάτων του ξηρού φυτού *Sideritis* (*Scardica*, *Raeseri*, *Athoa*) όπως και των αφεψημάτων του εμπορίου (TUVUNU with honey&lemon, TUVUNU with lemon, Όλυμπος με αρώνια, Όλυμπος με λεμόνι) με την χρήση φασματοφωτομετρικών μεθόδων (DPPH, ABTS). Παράλληλα, τα αφεψήματα αυτά μελετήθηκαν ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση και τα ολικά φαινολικά συστατικά. Επιπρόσθετα, καταμετρήθηκαν οι φαινολικές ενώσεις των ξηρών φυτών (*Scardica*, *Raeseri*, *Athoa*) με την μέθοδο HPLC-DAD.

Μετά την σύγκριση των δειγμάτων των ξηρών φυτών *Sideritis scardica*, *Raeseri* και *Athoa* αποδείχθηκε πως το υδατικό αφέψημα του δείγματος *Sideritis Scardica* παρουσιάζει την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά. Ταυτόχρονα παρουσιάζει καλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών απ' ότι το υδατικό αφέψημα του δείγματος *Sideritis Raeseri*, το οποίο με την σειρά του παρουσιάζει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και καλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών απ' ότι το υδατικό αφέψημα του δείγματος *Sideritis Athoa*. Όσο αφορά την μέθοδο HPLC-DAD, η σειρά των δειγμάτων από την μεγαλύτερη ποσότητα φαινολικών ουσιών προς την μικρότερη είναι η εξής: *Scardica* > *Athoa* > *Raeseri*.

Επιπλέον, μετά την σύγκριση των αφεψημάτων του εμπορίου αποδείχθηκε πως η σειρά από αυτά που παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και την καλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών προς αυτά με την μικρότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και την μικρότερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών είναι η ακόλουθη:

TU VUNU with honey and lemon > Όλυμπος με αρώνια > TU VUNU with lemon > Όλυμπος με λεμόνι

Αποδείχθηκε λοιπόν ότι πράγματι τα αφεψήματα του φυτού *Sideritis* που μελετήθηκαν περιέχουν φυσικά διοδραστικά συστατικά, όπως τα φαινολικά τα οποία συνεισφέρουν στην υψηλή αντιοξειδωτική τους δράση.

SUMMARY

Greek mountain tea is a perennial plant, 20-75 cm in height, belonging to the Lamiaceae family and the *Sideritis* genus. It is almost exclusively indigenous to the mountainous regions of Greece and the entire Mediterranean area. It includes the following species: *Sideritis athoa* Pap. & Amp; Kokkini., *Sideritis clandestina* Chaub & Bory., *Sideritis scardica* Giseb., *Sideritis raeseri* Boiss & Heldr., *Sideritis syriaca* L. and *Sideritis euboea* Heldr et al. Primarily it is used as tea, as well as for medical purposes in various regions of Greece. *Sideritis* spp. contains a number of chemical compounds of interest including their antioxidants, due to their biological and therapeutic properties.

In the present study, the total phenolic components (Folin-Ciocalteu) were determined. Moreover, the antioxidant activity of the dried *Sideritis* plants (*scardica*, *raeseri*, *athoa*) and the commercial beverages (TUVUNU with honey & lemon, TUVUNU with lemon, Olympos with aronia, Olympos with lemon) were estimated using spectrophotometric methods (DPPH, ABTS). At the same time, these herbal infusions were studied for their antioxidant activity and their total phenolic components. Additionally, the phenolic compounds of the dry plants (*scardica*, *raeseri*, *athoa*) were measured by the HPLC-DAD method.

After comparing the samples of *Sideritis scardica*, *raeseri* and *athoa* dry plants, the aqueous decay of the *Sideritis scardica* sample showed the highest content of phenolic components. At the same time, it exhibited a better ability to free radicals than the aqueous decoction of the *Sideritis raeseri* sample, which in turn exhibits a higher content of phenolic components and a better ability to free radicals than the aqueous decay of the *Sideritis athoa* specimen. Finally, as far as the HPLC-DAD method is concerned, the ranking of samples from the largest amount of phenolic substances to the lowest is the following: *Scardica*> *Athoa*> *Raeseri*.

Moreover, after comparing commercially available beverages, it has been shown that the ranking of those with the highest content of phenolic components and the better ability of free radicals to those with the lowest content of phenolic components and the lower ability to free radicals is the following:

TU VUNU with honey and lemon> Olympos with aronia> TU VUNU with lemon> Olympos with lemon

Therefore, it has been shown that the breeds of *Sideritis* plant contain naturally active ingredients, such as phenolics, which contribute to their high antioxidant action.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Εισαγωγή-Περιεχόμενα	6
1. Εισαγωγή	7
1.1 Ιστορικά στοιχεία	10
1.2 Ταξινόμηση-Περιγραφή	12
1.3 Βοτανική Περιγραφή	14
1.4 Φαρμακολογικές ιδιότητες του γένους Sideritis	15
1.5 Εθνοφαρμακολογία και Λαϊκές θεραπευτικές ικανότητες	16
1.6 Αντιοξειδωτικές ικανότητες	17
1.7 Φαινολικές Ενώσεις	18
1.7.1 Χημεία των φαινολικών ενώσεων	19
1.7.2 Απλές φαινόλες	23
1.7.3 Φλαβονοειδή	24
1.7.4 Φαινολοξέα	28
1.7.5 Φαινυλαιθανοειδικοί γλυκοσίδες	28
1.7.6 Ταννίνες	30
1.7.7 Πολυφαινόλες στα τρόφιμα	32
1.7.8 Διαιτητική πρόσληψη πολυφαινολών	34
1.8 Δράση αντιοξειδωτικών	35
1.9 Επιδράσεις στην υγεία	38
1.10 Αρνητικές επιδράσεις των φυτικών πολυφαινολών	41
1.11 Τσάι του βουνού του εμπορίου	43
1.11.1 Tununu	43
1.11.2 Τσάι του βουνού, Όλυμπος	45

Σκοπός Εργασίας	47
2. Πειραματική διαδικασία – Υλικά & μέθοδοι	48
2.1 Επεξεργασία των δειγμάτων	49
2.2 Εκτίμηση της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας DPPH	50
2.2.1 Αντιδραστήρας – Διαλυτές & Πρότυπες ουσίες	51
2.2.2 Πειραματική πορεία	51
2.3 Συνολικά φαινολικά συστατικά (Total Phenolic Content ,TPC –Μέθοδος Folin Ciocalteu)	53
2.3.1 Αντιδραστήρας – Διαλυτές και Πρότυπες ουσίες	54
2.3.2 Πειραματική πορεία	54
2.4 Εκτίμηση της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας ABTS	55
2.4.1 Αντιδραστήρας – Διαλυτές και Πρότυπες ουσίες	56
2.4.2 Πειραματική πορεία	56
3. Αποτελέσματα – Συμπεράσματα	57
3.1 Εκτίμηση της ικανότητας της ρίζας DPPH των δειγμάτων του Τσάι του Βουνού	58
3.2 Υπολογισμός των συνολικών φαινολικών συστατικών με την μέθοδο Folin Ciocalteu	59
3.3 Εκτίμηση της δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας των δειγμάτων του Τσάι του Βουνού	65
3.4 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων (HPLC-DAD)	68
3.5 Συμπεράσματα	69
3.6 Συζήτηση	71
4. Βιβλιογραφία	77

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.
ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

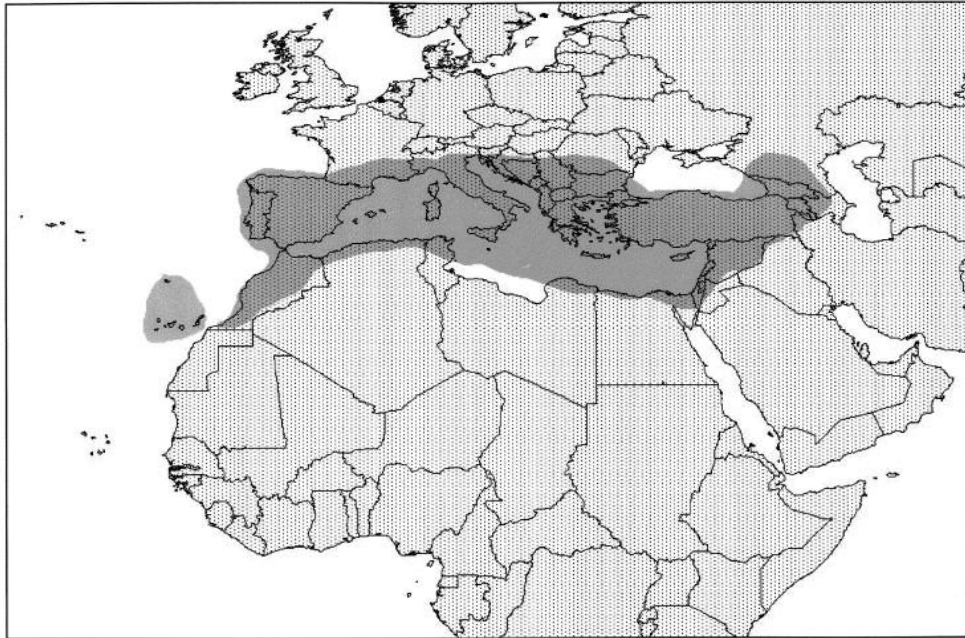
Το τσάι του βουνού ανήκει στην οικογένεια των χειλανθών (*Lamiaceae*) και στο γένος *Sideritis*, το οποίο περιλαμβάνει περίπου 150 είδη, που βρίσκονται κυρίως στις παραμεσόγειες χώρες. Το επιστημονικό του όνομα είναι *Sideritis* spp ^[1]. Το γένος *Sideritis* L. περιλαμβάνει μια πληθώρα φυτικών ειδών αποτελούμενων από ποώδη ετήσια, ποώδη πολυετή, καθώς και μικρούς θάμνους. Πρόκειται για αρωματικά – φαρμακευτικά φυτά. ^[2]

Σύμφωνα με μια εκδοχή, η ονομασία αυτή προέρχεται από τη λέξη σίδηρος εξαιτίας της ικανότητάς του να θεραπεύει τις πληγές που προκαλούνται από σιδερένια αντικείμενα. Σύμφωνα με άλλη ονομάστηκε έτσι επειδή αποτελεί φυσική πηγή σιδήρου, αφού στα ροφήματα που παρασκευάζονται από αυτό περιέχεται αρκετός σίδηρος. Μια τρίτη εκδοχή αναφέρει ότι το όνομα προέρχεται από το σχήμα του άνθους (τα δόντια κάλυκα του άνθους) που μοιάζουν με αιχμή λόγχης.^[3] Ανάλογα με την προέλευση τους τα διάφορα είδη και υποείδη του γένους *Sideritis* έχουν διάφορα ονόματα όπως «τσάι του Ταΰγετου», «τσάι του Ολύμπου», «τσάι του Δέλφι», «τσάι Βλάχικο», «του καλόγερου το χόρτο» κ.α. ^[4]

Γενικά στην αρχαιότητα το όνομα Σιδηρίτης αναφερόταν σε διάφορα φυτά, που θεωρείτο ότι είχαν την ικανότητα να επουλώνουν σοβαρές πληγές από σιδερένια αντικείμενα, όπως τα βέλη ή τα ξίφη κλπ. Κατ' άλλους, ο πρώτος Σιδηρίτης του Διοσκουρίδη πήρε το όνομά του από τα δόντια του κάλυκα του άνθους, που μοιάζουν με αιχμή λόγχης. Ο Διοσκουρίδης το χρησιμοποιούσε ως θεραπευτικό των πληγών. ^[5]

Διανέμεται ευρέως σε υποτροπικές και μέτριες περιοχές και είναι θάμνος ύψους 20-75 cm. Τα είδη *Sideritis* είναι μια ομάδα φυτών γνωστή ως «τσάι βουνού» στην Ανατολή. Ορισμένα είδη χρησιμοποιούνται ως τσάι, γευστικοί παράγοντες και για ιατρικούς σκοπούς σε αρκετές περιοχές. Η έγχυση των εναέριων τμημάτων πολλών ειδών *Sideritis* χρησιμοποιείται ως τονωτικά, καρμίνες, αντιφλεγμονώδεις παράγοντες, αντισπασμωδικά, διουρητικά και πεπτικά, και για την αντιμετώπιση των κρυολογημάτων. Γενική πρακτική των καταναλωτών για την προετοιμασία του τσαγιού βουνού είναι να εγχύνεται το αεραγωγό (στέλεχος και φύλλα) του ξηρού φυτού σε βραστό νερό για 3-5 λεπτά και το προκύπτον εκχύλισμα να πίνεται ζεστό μετά το φιλτράρισμα του φυτού. ^{[6],[7]}

Το γένος *Sideritis* περιλαμβάνει περισσότερα από 150 είδη και υποείδη που ευδοκούν κυρίως σε εύκρατα και τροπικά κλίματα του Βορείου Ημισφαιρίου, ιδιαίτερα στις παραμεσόγειες περιοχές όπως στην Ισπανία, στα Κανάρια νησιά, στη Γαλλία, στην Ελβετία, στην Ιταλία, στη Βαλκανική χερσόνησο, στην Κύπρο, στη Μικρά Ασία, στον Καύκασο και στα παράλια της Βορείου Αφρικής (Αλγερία, Μαρόκο και Αίγυπτο). Μερικά είδη του γένους συναντώνται επίσης στο Μεξικό, στο Περού και στην Ιαπωνία. ^[8]



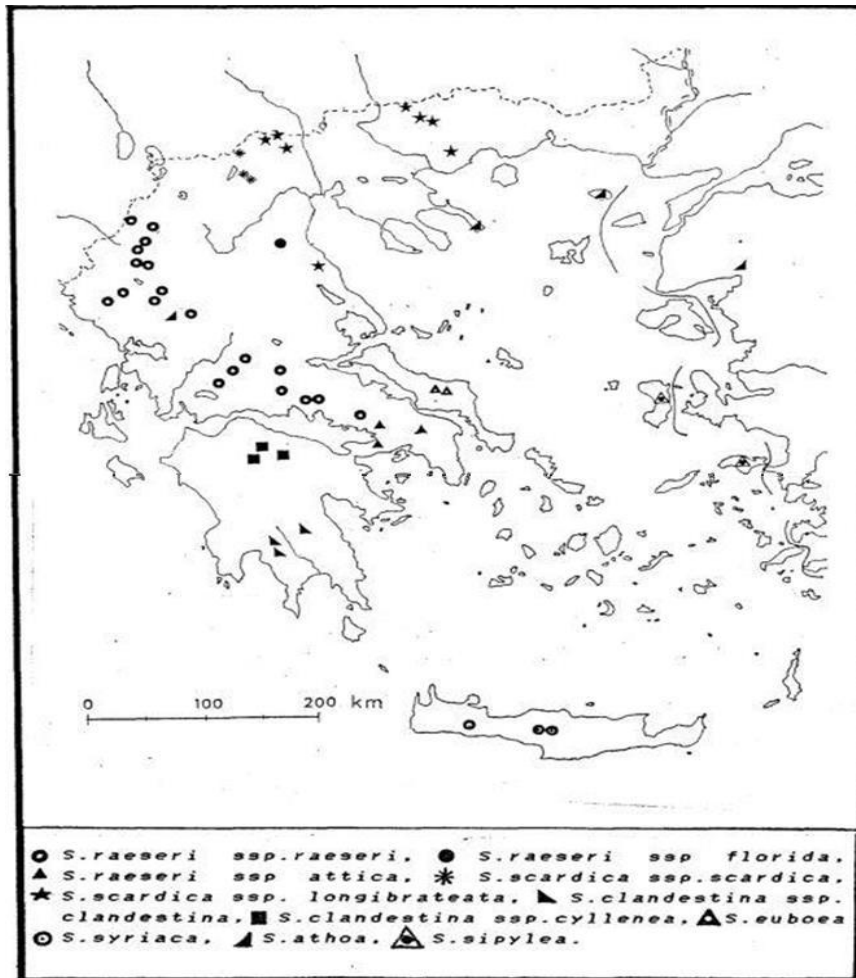
ΕΙΚΟΝΑ 1: ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ SIDERITIS

Η μεγαλύτερη ποικιλία ειδών συναντάται στην Ιβηρική Χερσόνησο, με 45 τουλάχιστον είδη τα περισσότερα των οποίων είναι ενδημικά, ενώ 14 από αυτά απειλούνται σήμερα με εξαφάνιση. Δεύτερη σε ποικιλία ειδών είναι η δυτική κυρίως περιοχή της Τουρκίας με 40 τουλάχιστον είδη, 75% των οποίων είναι ενδημικά, ενώ ιδιαίτερα πλούσια είναι και η περιοχή των Βαλκανίων. Χώρες πλούσιες σε πληθυσμούς και ποικιλία ειδών είναι επίσης η Ελλάδα, η Ιταλία και χώρες των ακτών της βόρειας Αφρικής. Σε όλες σχεδόν τις Μεσογειακές χώρες είδη του γένους αυτού είναι γνωστά, σε τοπική κλίμακα, ως βότανα για διάφορες χρήσεις. Όμως χρήση για την παρασκευή τσαγιού γίνεται μόνο στην Ισπανία, Τουρκία και κυρίως στην Ελλάδα, όπου έχουμε και τη μεγαλύτερη κατανάλωση.^[2]

Η Ελλάδα είναι ιδιαίτερα πλούσια σε ενδημικά είδη του φυτού. Τα φυτά ευδοκούν σε υψόμετρο που κυμαίνεται από 500 έως 2000 μέτρα σε ξηρά πετρώδη ή ασβεστολιθικά εδάφη και σε διάφορες περιοχές της χώρας.^[9]

Οργανοληπτικά το ρόφημα είναι πολύ εύγευστο και αρωματικό, ενώ μπορεί να καταναλωθεί ζεστό ή κρύο, με ζάχαρη, μέλι ή και σκέτο. Μέχρι τώρα καλλιέργεια ειδών του φυτού, γίνεται μόνο στην Ελλάδα, ενώ σε όλες τις άλλες χώρες γίνεται συλλογή μόνο των αυτοφυών φυτών. Το μέρος του φυτού που συλλέγεται είναι η ταξιανθία σε πλήρη άνθηση μαζί με 5-6 cm βλαστού. Οι ανθοφόροι βλαστοί ξηραίνονται ώστε να μπορούν να διατηρηθούν για μεγάλο χρονικό διάστημα.^{[10], [2]}

Στην Ελλάδα συλλέγονται κάθε χρόνο περίπου 75 τόνοι από αυτοφυή φυτά, για ιδιοκατανάλωση και εμπορία. Η καλλιέργεια γίνεται σε περιοχές του Όρους Όρθρος του Νομού Μαγνησίας και σε πολύ μικρότερη κλίμακα στο νομό Κοζάνης. Η παραγωγή είναι γύρω στους 150-180 τόνους ετησίως, η οποία και απορροφάται από την εγχώρια αγορά. Το φυτό που καλλιεργείται είναι το *Sideritis raeseri* Boiss & Heldz.^[11]



ΕΙΚΟΝΑ 2: ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ ΟΠΟΥ ΦΥΟΝΤΑΙ ΤΑ ΔΙΑΦΟΡΑ ΕΙΔΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *SIDERITIS*.

1.1 ΙΣΤΟΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Στην Ελλάδα είναι γνωστό το τσάι του βουνού από την αρχαιότητα και αναφέρεται από το Θεόφραστο (372-287 π.Χ.) και τον Διοσκουρίδη (10 μ.Χ. αιώνα) που περιγράφει τόσο τα βοτανικά χαρακτηριστικά, όσο και τις φαρμακευτικές χρήσεις του Σιδερίτη στην αρχαιότητα στο έργο του Περί Ιατρικής Φλης (De Materia Medica).

Ο Διοσκουρίδης περιγράφει τρεις Σιδερίτες, από τους οποίους όμως μόνο οι δύο δεν έχουν σχέση με το γένος ^[1] :

1. Ο πρώτης ονομάζεται και Ηράκλεια. Η περιγραφή αντιστοιχεί πιθανόν στο *Sideritis scordioides* L ή στον Στάχτυ τον κρητικό ή σε κάποιο είδος *Marrubium*.

2. Ο δεύτερος σιδερίτης αντιστοιχεί σε κάποιο είδος *Poterium*, μάλλον στο *Poterium polygamum* L ή στο *Poterium sanguisorba* Kit (Rosaceae).

3. Ο τρίτος αντιστοιχεί πιθανόν στο Γεράνιο το ροβεριανό ή στην *Scrophularia lucida* L. ή στην *S. chrysanthemifolia* L. (Scrophulariaceae).

Τα δύο τελευταία είδη δεν αντιστοιχούν σε κάποιο φυτό της οικογένειας Lamiaceae.

Ο Λινναίος ήταν ο πρώτος που περιέγραψε τους σιδερίτες ενώ οι Webb και Berthelot το 1836 υποστήριξαν ότι αποτελούσαν ένα ξεχωριστό γένος, το οποίο ονόμασαν *Leucophae*. Ο Bentham το 1948 θεώρησε ότι αποτελούν μια εκδοχή του γένους *Sideritis* και τους ονόμασε *Marrubiastrum*, ενώ ο Bolle επανέφερε την κατά Λινναίον κατάταξη. Τέλος, οι Mendoza-Hener πρότειναν ότι οι σιδερίτες μπορούν να διακριθούν σε δύο υπογένη, *Sideritis* και *Marrubiastrum* τα οποία μπορούν να καταταχθούν τα διάφορα είδη που απαντώνται στις παραμεσόγειες περιοχές και στα Κανάρια νησιά αντίστοιχα.^{[1], [4], [12]}

Τα είδη του *Sideritis* που μας ενδιαφέρουν, αυτοφύονται στις παραμεσόγειες περιοχές και κυρίως στη χώρα μας. Χρησιμοποιούνται από το λαό μας, γιατί δίνουν τα αγαπημένα ροφήματα με το όνομα ελληνικά τσάγια ή τσάγια του βουνού.^[12]

Το «Τσάι του Βουνού» στην περιοχή του όρους Όρθρυς αποτελεί βασικό συστατικό της διατροφικής παράδοσης των κατοίκων της περιοχής και μάλιστα σε σημείο που η συλλογή του να αποτελεί μια ολόκληρη τελετουργία και μέρος της τοπικής ιστορίας. Πρόκειται για ένα φυτικό είδος, που αποτελεί στοιχείο της τοπικής παράδοσης και οικονομίας. Μάλιστα είχε επικρατήσει στο χωριό Βρύναϊνα την περίοδο της πλήρους άνθησης των φυτών, να καθορίζεται μια μέρα κατά την οποία όλο το χωριό ξεκινούσε για τη συγκομιδή. Ήταν κάτι σαν τοπικό εθιμικό πανηγύρι. Νωρίς το πρωί χτυπούσε η καμπάνα του χωριού και κάθε ικανό άτομο πήγαινε στην πλατεία και όλοι μαζί ξεκινούσαν για τις κορυφές του βουνού, για τη συλλογή των ανθοφόρων βλαστών.

Μετά τη λήξη του δεύτερου παγκοσμίου πολέμου πολλοί κάτοικοι από τα ορεινά χωριά κατέφυγαν σε μεγαλύτερες πόλεις όπου διέδωσαν τη χρήση του τσαγιού. Έτσι κατά τις δεκαετίες του

50 και 60 όπου πολλοί πλέον κάτοικοι της επαρχίας είχαν συγκεντρωθεί στα αστικά κέντρα, η κατανάλωση του τσαγιού άρχισε να αυξάνει πανελλαδικά.

Στα τέλη της δεκαετίας του 60 άρχισαν οι πρώτες σκέψεις για καλλιέργεια του φυτού. Μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του 80 το τσάι του βουνού καλλιεργούνταν στο φυσικό του περιβάλλον, δηλαδή δίπλα στις αυτοφυείς φυτείες, όπου το υψόμετρο ήταν άνω των 1000 μέτρων. Στη δεκαετία του 90 άρχισαν να εγκαταλείπονται πολλές από τις ορεινές φυτείες και να επεκτείνεται η καλλιέργεια σε περιοχές αρκετά χαμηλότερα και από το χωριό Βρύναινα (700 μέτρα). Η μεταφορά της καλλιέργειας σε χαμηλότερα υψόμετρα επιβλήθηκε λόγω της δυσκολίας εξεύρεσης χωραφιών σε υψόμετρα άνω των 1000 μέτρων και της συχνής πρόσβασης σε αυτά και γενικά από τις δυσκολίες που έχουν οι μεταφορές σε τέτοιο υψόμετρο, αλλά και από την επιθυμία για μεγαλύτερη παραγωγή που επιφέρει αύξηση του εισοδήματος. Όμως η επέκταση της καλλιέργειας σε χαμηλότερα υψόμετρα συνοδεύτηκε από προβλήματα σχετικά με την ποιότητά του (στοιχεία από προσωπική επικοινωνία με τους παραγωγούς της περιοχής).^[2]



ΕΙΚΟΝΑ 3: ΒΙΒΛΙΟ ΒΟΤΑΝΟΛΟΓΙΑΣ

1.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ - ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το τσάι του βουνού ανήκει στην οικογένεια των χειλανθών (Lamiaceae) και στο γένος *Sideritis*, το οποίο περιλαμβάνει περίπου 150 είδη, που βρίσκονται κυρίως στις παραμεσόγειες χώρες. Τα κυριότερα είδη στην Ελλάδα είναι: ^[13]

1. Τσάι Βλάχικο (*Sideritis athoa*, Papan. & Kokkini.). Είναι πολυετής πόα, ύψους μέχρι 40 εκατοστά, που καλύπτεται ολόκληρη με μικρές αδενώδεις τρίχες. Ο βλαστός του στη βάση είναι ξυλώδης, αρκετά όρθιος, απλός ή με διακλαδώσεις. Τα φύλλα του έχουν χρώμα ανοιχτό πράσινο ή κιτρινοπράσινο και είναι λογχοειδή. Ο κάλυκας είναι κωδωνοειδής, σκεπάζεται με αδένες και τα πέταλα του άνθους έχουν χρώμα κίτρινο. Αυτοφύεται στον Άθω, στην Πίνδο και στα ορεινά του νησιού Σαμοθράκη.

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

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

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

5. Τσάι της Κρήτης (*Sideritis syriaca* L.) γνωστό ως Μαλοτήρα ή Καλοκοιμηθιά. Είναι πολυετής πόα, ύψους μέχρι 50 εκατοστά. Έχει βλαστό ισχυρό, τετράγωνο, όρθιο, απλό, που σκεπάζεται με πυκνό και λευκό χνούδι. Τα φύλλα του έχουν χρώμα λευκοπράσινο, καλύπτονται με πυκνό χνούδι, είναι επιμήκη - λογχοειδή, ακέραια ή πριονωτά τα κατώτερα με μίσχο και τα ανώτερα άμισχα. Ο κάλυκας είναι σωληνοειδής που καταλήγει σε δόντια και σκεπάζεται από μακρύ και πυκνό

τρίχωμα. Τα πέταλα του άνθους έχουν χρώμα κίτρινο. Αυτοφύεται στα ψηλά βουνά της Κρήτης και κυρίως στα Λευκά Όρη και τον Ψηλορείτη, σε ύψος 1300-2000 μέτρα.

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

Στην Ελλάδα απαντώνται 16 taxa που ανήκουν σε 12 είδη του γένους. Εκτός των παραπάνω τα είδη που μπορούν να βρεθούν στον Ελλαδικό χώρο είναι:^{[14],[15]}

- *Sideritis albiflora* Hub.- Mor. (Ανατολική Μεσόγειο)
- *Sideritis clandestina* (Bory & Chaub.) Hayek subsp. *peloponnesiaca* (Boiss & Heldr.) Baden in Strid & Tan (Ενδημικό της Ελλάδας)
- *Sideritis curvidens* Stapf (Ανατολική Μεσόγειο)
- *Sideritis lanata* L. (Βαλκάνια – Ανατολία)
- *Sideritis montana* L. subsp. *montana* (Μεσόγειο - Νοτιοδυτική Ασία)
- *Sideritis montana* subsp. *remota* (d'Urv) P. W. Ball (Μεσόγειο - Νοτιοδυτική Ασία)
- *Sideritis perfoliata* L. subsp. *perfoliata* (Ανατολική Μεσόγειο)
- *Sideritis purpurea* Talbot ex Benth (Βαλκάνια)
- *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. in Boiss. subsp. *attica* (Heldr.) Papan. & Kokkini (Ενδημικό της Ελλάδας)
- *Sideritis sipylea* Boiss. (Ανατολική Μεσόγειο)



ΕΙΚΟΝΑ 4: ΤΣΑΙ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ (SIDERITIS)

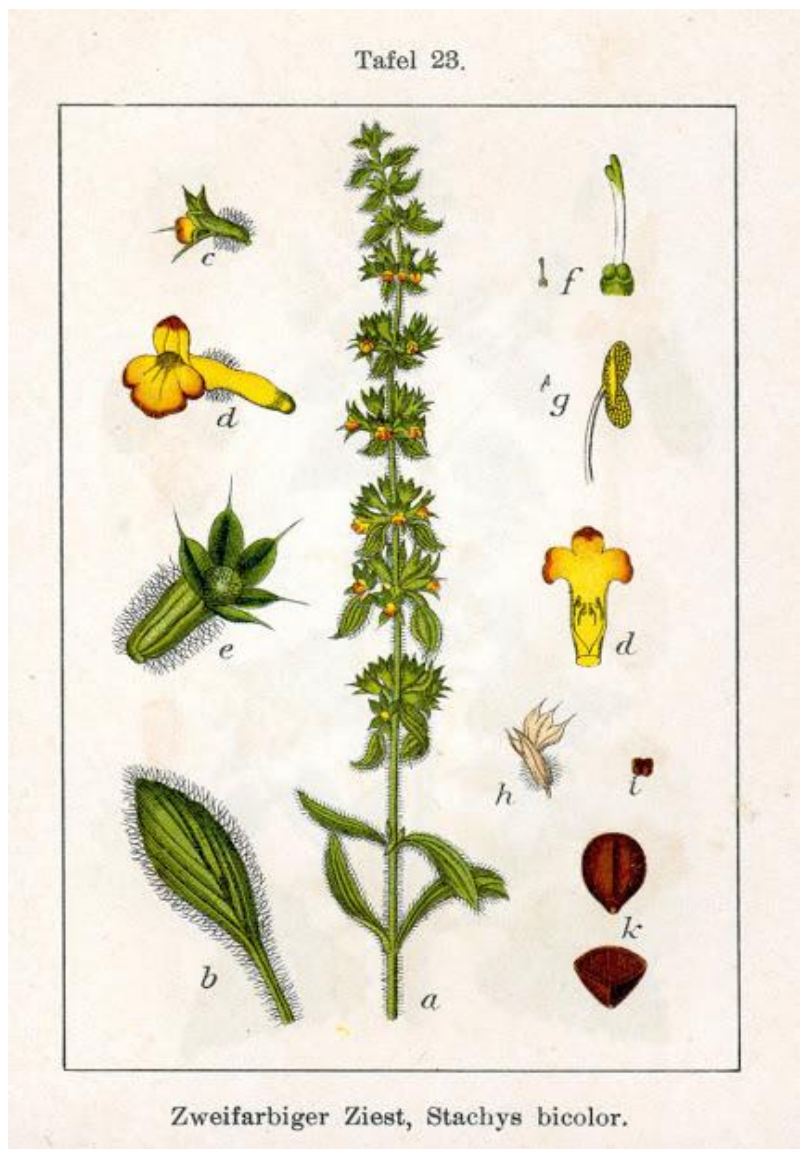
1.3 ΒΟΤΑΝΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το Ελληνικό τσάι του βουνού είναι πολυετές φυτό. Είναι μονοετείς ή πολυετείς πόες αποξυλωμένες στη βάση και τριχωτές. Συνήθως είναι πολύ αρωματικές λόγω του περιεχομένου αιθέριου ελαίου. Τα φύλλα είναι οδοντωτά και τα άνθη είναι λευκά ή κίτρινα και συνήθως σχηματίζουν στάχυ. Ο κάλυκας είναι κωνοειδής με 10 νευρώσεις και 5 οδόντες διαταγμένους σε δύο χείλη. Το επάνω χείλος αποτελείται από δύο συμφυή πέταλα, ενώ το κάτω καταλήγει σε τρεις λοβούς, από τους οποίους ο μεσαίος είναι ο μεγαλύτερος. Οι στήμονες είναι τέσσερις και οι μπροστινοί δύο είναι επιμηκέστεροι από τους άλλους δύο. Ο στύλος καταλήγει σε δύο άνισα στίγματα. Η ωθήκη είναι δίχωρη, ενώ με ψευδή διαφράγματα γίνεται τετράχωρη. Οι καρποί είναι τέσσερα κάρυα που περικλείουν από ένα σπέρμα. ^{[13],[16]}

Κοινό χαρακτηριστικό των ειδών αυτών αλλά και γενικά του γένους *Sideritis* L. είναι ότι πρόκειται για φυτά ιδιαίτερα προσαρμοσμένα για να επιβιώνουν σε απόκρημνες βραχώδεις περιοχές με υψόμετρο άνω των 1000 μέτρων. Τα είδη αυτά είναι ιδιαίτερα ανθεκτικά στην ξηρασία και στις χαμηλές θερμοκρασίες. Δεν απαιτούν πλούσια εδάφη και προτιμούν θέσεις, με ελαφρό έδαφος όχι ιδιαίτερα βαθύ, όχι συνεκτικό και με άφθονο ήλιο. Συναντώνται ιδιαίτερα σε σχισμές βράχων όπου ελάχιστα είδη φυτών θα μπορούσαν να επιβιώσουν. ^{[2],[17]}

Στην Ελλάδα καλλιεργείται κυρίως στα χωριά Βρύναινα και Κοκκωτοί, που βρίσκονται σε ορεινές περιοχές του όρους Όρθρυς. Τα χωριά αυτά βρίσκονται στις ανατολικές πλαγιές του όρους Όρθρυς σε υψόμετρο περίπου 700m και ανήκουν στην επαρχία. Η

περιοχή στην οποία βρίσκονται τα δύο αυτά χωριά είναι εξαιρετικά πλούσια σε μεσογειακή χλωρίδα, η οποία διαφοροποιείται αρκετά από αυτή των γειτονικών βουνών, όπως αυτό του Πηλίου. Χαρακτηριστικό της περιοχής είναι η ύπαρξη πολλών αρωματικών φυτών της Μεσογειακής χλωρίδας. ^[2]



ΕΙΚΟΝΑ 5: ΜΕΡΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΣΙΔΕΡΙΤΗΣ

1.4 ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ SIDERITIS

Μια σειρά μελετών έχουν διεξαχθεί κατά καιρούς τόσο σε φυτικά εκχυλίσματα του γένους Sideritis όσο και σε χημικές ενώσεις που απομονώθηκαν από αυτά για να εκτιμηθούν οι θεραπευτικές τους ιδιότητες, οι οποίες οφείλονται στα συστατικά του αιθέριου ελαίου του, όπως για παράδειγμα στα φλαβονοειδή.^{[2],[5]}

- **Αντιφλεγμονώδης δράση:** Υπάρχουν πολλές μελέτες πάνω στην αντιφλεγμονώδη δράση που εμφανίζουν τα εκχυλίσματα του γένους Sideritis. Αυτή οφείλεται κυρίως στις ομάδες των φλαβονοειδών, των τερπενίων και των λιπιδίων. Κατά των φλεγμονών δρουν και οι φυτοστερόλες, οι α- και β- αμιρίνες και τα διτερπένια.^[17]

- **Αναλγητική δράση:** Φυτά του γένους σιδερίτης εμφανίζουν και αναλγητικές ιδιότητες. Αυτές οφείλονται σε ενώσεις λιγότερο πολικές από εκείνες των αντιφλεγμονωδών. Τέτοιες είναι οι φυτοστερόλες, οι α- και β- αμιρίνες και τα διτερπένια με σκελετό καουρενίου.^[1]

- **Αντιμικροβιακή δράση:** Σημαντική είναι και η δράση κατά των βακτηρίων, των ιών και των ζυμών. Η δράση αυτή οφείλεται κυρίως στα αιθέρια έλαια του φυτού που περιέχουν μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες. Από τα φυτά που μελετήθηκαν πιο δραστικά ήταν αυτά με αιθέρια έλαια πλούσια σε α-πιπένιο και καρβακρόλη. Το είδος S.raeseri δεν περιέχει πολλά μονοτερπένια και γι' αυτό ήταν αδρανές.^{[19],[20]}

- **Αντιοξειδωτική δράση:** Ο Sideritis εμφανίζει και έντονη αντιοξειδωτική δράση. Ειδικότερα τα εκχυλίσματα των φυτών με οξικό αιθυλεστέρα και με βουτανόλη. Η αντιοξειδωτική δράση οφείλεται στην ύπαρξη πολυφαινολικών ενώσεων οι οποίες έχουν την ικανότητα να μπλοκάρουν τις ελεύθερες ρίζες. Σε σύγκριση με άλλα αρωματικά φυτά της Μεσογείου η δράση του Σιδερίτη χαρακτηρίζεται μέτρια.^{[1],[17]}

Επομένως, οι δράσεις των φυτών του γένους Sideritis οφείλονται σε τρεις φυτοχημικές ομάδες, που υπάρχουν σ' αυτά: στα φλαβονοειδή, στα διτερπένια και στα πτητικά συστατικά.

1.5 ΕΘΝΟΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ, ΛΑΪΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ

Στην λαϊκή θεραπευτική χρησιμοποιείται ως ευστόμαχο, θερμαντικό, τονωτικό, διουρητικό, αποτοξινωτικό και εναντίον των κρυολογημάτων. Πιστεύεται ότι είναι ευεργετικό για τα αιμοφόρα αγγεία της καρδιάς. Το αφέψημα από τα υπέργεια τμήματα χρησιμοποιείται για τα κρυολογήματα, για τις παθήσεις του αναπνευστικού και για τις παθήσεις του ουροποιητικού, αφού είναι καλό διουρητικό. Το αφέψημα με ξυλαράκια κανέλλας και μέλι είναι μαλακτικό και αντισηπτικό για το βήχα. ^{[5],[13],[16],[21]}

Στην Ισπανία επίσης χρησιμοποιούνται διάφορα αυτοφυή είδη στη λαϊκή θεραπευτική, κυρίως για μακροχρόνια θεραπεία φλεγμονωδών καταστάσεων. Ευρέως διαδεδομένη είναι η *S. angustifolia* Lagasca (κοινώς ουρά του γάτου "rabo de gato"), που χρησιμοποιείται ως λαϊκό φάρμακο, καθώς και στην κτηνιατρική για τις πολύ σοβαρές πληγές των ζώων, κυρίως στην περιοχή της Βαλένθια και στην Καταλονία. ^{[5],[8]}

Οι ξεροί ανθοφόροι βλαστοί του χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ροφημάτων (τσάγια), γίνονται με την προσθήκη μικρής ποσότητας δρόγης μέσα σε νερό που βράζει. Το αφήνουμε λίγα λεπτά της ώρας και ακολούθως το στραγγίζουμε. ^[5]

Το ρόφημα, που είναι πλούσιο σε σίδηρο είναι αρωματικό, υπόπικρο και θεωρείται ως ευστόμαχο, τονωτικό, εφιδρωτικό και αποχρεμπτικό. Επιπλέον δεν ερεθίζει το νευρικό σύστημα και γι' αυτό πλεονεκτεί του κοινού τσαγιού (Κεϋλάνης κλπ.), αφού δεν προκαλεί αϋπνία. ^[22] Επίσης αποτελεί και συστατικό πολλών τροφών και γλυκισμάτων.



1.6 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ

Παρόλο που δεν υπάρχει κάποιος διεθνώς αποδεκτός όρος για τα αντιοξειδωτικά, μπορούν να θεωρηθούν οι ουσίες που είναι δότες υδρογόνου ή ηλεκτρονίου και εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες.^{[23],[24]}

Στη βιομηχανία τροφίμων, αντιοξειδωτικό θεωρείται κάθε ουσία η οποία αποτρέπει ή καθυστερεί σημαντικά την οξειδωση του υποστρώματος (ουσιών που είναι ευαίσθητες ως προς την διαδικασία της οξειδωσης) όταν βρίσκεται σε μικρότερες συγκεντρώσεις από αυτές του υποστρώματος.^[15]

Η δημιουργία των ελεύθερων ριζών οφείλεται σε εξωγενείς πηγές (καπνό, ατμοσφαιρική ρύπανση, όζον, μονοξειδίο και διοξειδίο του αζώτου, ρίζες υδροξυλίου, ιονίζουσα ακτινοβολία κ.ά.) καθώς και από ενδογενείς πηγές. Οι διεργασίες οξειδωσης στον άνθρωπο (κυρίως ενζυμικές) είναι υπεύθυνες για το σχηματισμό Ενεργών Μορφών Οξυγόνου (Reactive Oxygen Species – ROS), που είναι απαραίτητες για διεργασίες του οργανισμού (πχ. συντήρηση της ενέργειας, αντιδράσεις του ανοσοποιητικού κ.ά.).^[24]

Οι ελεύθερες ρίζες (όπως το υδροξύλιο (OH^{\cdot}), υπεροξειδίο ($\text{O}_2^{\cdot-}$), αλκοξύλιο (RO^{\cdot}) και υπεροξύλιο (RO_2^{\cdot})) είναι μόρια ή άτομα που στην εξωτερική τους στιβάδα έχουν ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Είναι γενικά ασταθή μόρια και συμμετέχουν εύκολα σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής με γειτονικά μόρια.^{[24],[25]}

Το ανθρώπινο σώμα διαθέτει μηχανισμούς άμυνας έναντι των ROS (προληπτικούς μηχανισμούς, μηχανισμούς επιδιόρθωσης, αντιοξειδωτικές άμυνες). Ως αντιοξειδωτικά για το ανθρώπινο σώμα μπορούν να ενεργούν και ορισμένες ουσίες χαμηλού μοριακού βάρους (πχ. ουρικό οξύ, ασκορβικό - βιταμίνη C, τοκοφερόλες - βιταμίνη E).^[15]

Η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ του σχηματισμού και της απομάκρυνσης ROS, με συνέπεια την αύξηση των οξειδώσεων από ROS, ονομάζεται «οξειδωτικό στρες» (oxidative stress) και είναι παράγοντας πρόκλησης ασθενειών. Δυνητικά μπορεί να προκαλέσει αυτοάνοσα νοσήματα, καρδιαγγειακές παθήσεις, καρκίνο, αθηροσκλήρωση, ρευματοειδή αρθρίτιδα, νευροεκφυλιστικές ασθένειες (όπως η νόσος του Alzheimer) και έχει προταθεί ως η αιτία της γήρανσης.^[15]

Ως αντιοξειδωτικές ουσίες, έχουν προταθεί τα φλαβονοειδή, οι φυτικές φαινόλες, οι βιταμίνες E και C.^[24]

Η οξειδωση, πέρα από τον άνθρωπο, έχει επιπτώσεις και στα τρόφιμα που περιέχουν ουσίες (λιπίδια, πρωτεΐνες, σάκχαρα και βιταμίνες), που μπορεί να αντιδράσουν με ελεύθερες ρίζες προκαλώντας έτσι την οξειδωσή τους, με αποτέλεσμα την αλλοίωση της ποιότητάς τους.^[15]

Ως αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα χρησιμοποιούνται πολλές φορές χημικές ενώσεις οι οποίες έχουν την ικανότητα να δίνουν ρίζες υδρογόνου, ώστε να ελαχιστοποιήσουν την οξειδωση των λιπιδίων αυξάνοντας έτσι το χρόνο ημιζωής του προϊόντος.^[15]

1.7 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Τα τελευταία 10 χρόνια, οι ερευνητές και οι κατασκευαστές τροφίμων ενδιαφέρονται ολοένα και περισσότερο για τις πολυφαινόλες. Ο κύριος λόγος για αυτό τους το ενδιαφέρον είναι η αναγνώριση των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων των πολυφαινολών, η μεγάλη τους αφθονία στη διατροφή μας και ο πιθανός ρόλος τους στην πρόληψη διαφόρων ασθενειών που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες, όπως ο καρκίνος και οι καρδιαγγειακές και νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Scalbert A, Manach C, Morand C, Rémésy C, Jime'nez L. Crit Rev Food Sci Nutr, στο Τύπο). Επιπλέον, οι πολυφαινόλες, οι οποίες αποτελούν τις δραστικές ουσίες που βρίσκονται σε πολλά φαρμακευτικά φυτά, ρυθμίζουν τη δραστηριότητα μιας ευρείας περιοχής ενζύμων και κυτταρικών υποδοχέων. Με αυτόν τον τρόπο, πέρα από την ύπαρξη αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων, οι πολυφαινόλες έχουν αρκετές ακόμα συγκεκριμένες βιολογικές δράσεις, οι οποίες μέχρι τώρα δεν έχουν κατανοηθεί καλά. ^[26]

Οι πολυφαινόλες είναι τα κύρια συστατικά του τσαγιού και του καφέ και θεωρούνται υπεύθυνες όχι μόνο για την χαρακτηριστική τους γεύση, αλλά και για τις ωφέλιμες ιδιότητές τους. Αν και το τσάι και ο καφές είναι τα πιο ευρέως καταναλώσιμα ποτά στον κόσμο, υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για τα βοτανικά εκχυλίσματα με φαρμακευτικές ιδιότητες, όπως το Σιδεριτής. ^[27]

Οι πολυφαινόλες αποτελούν μία από τις πιο πολυάριθμες και πανταχού παρούσες ομάδες φυτικών μεταβολιτών και αποτελούν αναπόσπαστο μέρος τόσο της ανθρώπινης όσο και της ζωικής δίαιτας. Οι πολυφαινόλες κυμαίνονται από απλά φαινολικά μόρια έως υψηλά πολυμερισμένα συστατικά με μοριακά βάρη μεγαλύτερα από τα 30.000 Da, ενώ η εμφάνιση αυτής της πολύπλοκης ομάδας ουσιών στα φυτικά τρόφιμα είναι εξαιρετικά μεταβλητή. Οι πολυφαινόλες έχουν παραδοσιακά θεωρηθεί ως αντιοξειδωτικά από τους διατροφολόγους, λόγω της δυσμενούς επίδρασης των τανινών, ενός τύπου πολυφαινόλης, στην αφομοίωση της πρωτεΐνης. Ωστόσο, το πρόσφατο ενδιαφέρον για φαινολικά τροφίμων έχει αυξηθεί σημαντικά, λόγω της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας (καθαρισμός ελεύθερων ριζών και χηλικών μεταλλικών επιφανειών) και των πιθανών ευεργετικών τους επιπτώσεων στην ανθρώπινη υγεία, όπως στη θεραπεία και στη πρόληψη του καρκίνου, των καρδιαγγειακών παθήσεων και άλλων παθολογιών. ^[28]

Για δεκαετίες, οι φυτικές πολυφαινόλες είναι στο επίκεντρο των επιστημόνων, καθώς θεωρούνται απαραίτητες για τη φυσιολογία των φυτών, λόγω της συμβολής τους στη μορφολογία των φυτών (δηλαδή στον χρωματισμό), εμπλέκονται στην ανάπτυξη και την αναπαραγωγή και παρέχουν στα φυτά αντοχή σε παθογόνα και αρπακτικά (ενεργώντας ως φυτοαλεξίνες ή με την αύξηση της συτυπικότητας των τροφίμων, καθιστώντας έτσι τα τρόφιμα ανούσια), προστατεύουν τις καλλιέργειες από την πανώλη και τη βλάστηση των σπόρων πριν την συγκομιδή, καθώς και για άλλους λόγους. Τα πολυφαινολικά προφίλ των φυτών διαφέρουν μεταξύ των ποικιλιών του ίδιου είδους. Συνεπώς, οι πολυφαινόλες έχουν μελετηθεί για ταξινομικούς σκοπούς ή για τον προσδιορισμό της αλλοίωσης των τροφίμων. Οι πολυφαινόλες έχουν πολλές βιομηχανικές εφαρμογές, όπως στην παραγωγή χρωμάτων, χαρτιού και καλλυντικών, ως μέσο μαυρίσματος και στη βιομηχανία τροφίμων ως πρόσθετα (ως φυσικά χρωστικά και συντηρητικά). Επιπροσθέτως, μερικές φαινολικές ενώσεις, τα

φλαβονοειδή, έχουν εφαρμογές ως αντιβιοτικά, αντι-διαρροϊκά, αντί-γαστρεντερικά και αντιφλεγμονώδη μέσα, καθώς και στη θεραπεία ασθενειών όπως υπέρταση, αγγειακή ευθραυστότητα, αλλεργίες, υπερχοληστερολαιμία και άλλες.^[28]

Οι πολυφαινολικές ενώσεις είναι πανταχού παρούσες σε όλα τα φυτικά όργανα και αποτελούν επομένως αναπόσπαστο μέρος της ανθρώπινης διατροφής. Μέχρι πρόσφατα, το μεγαλύτερο μέρος του θρεπτικού ενδιαφέροντος για τις πολυφαινολικές ενώσεις ήταν στις επιβλαβείς επιδράσεις που προκαλούνται από την ικανότητα ορισμένων πολυφαινολών να δεσμεύονται και να καθιζάνουν μακρομόρια, όπως οι διαιτητικές πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα πεπτικά ένζυμα, μειώνοντας έτσι την πεπτικότητα των τροφίμων.^[28]

Ωστόσο, το πρόσφατο ενδιαφέρον, στις φαινολικές τροφές έχει αυξηθεί σε μεγάλο βαθμό εξαιτίας των αντιοξειδωτικών και της ικανότητας καθαρισμού ελεύθερων ριζών που σχετίζονται με ορισμένες φαινόλες και των πιθανών επιπτώσεών τους στην ανθρώπινη υγεία. Αυτή η ανασκόπηση προσφέρει μια επισκόπηση των κύριων διατροφικών επιδράσεων των πολυφαινολικών ενώσεων καθώς και μια σύντομη περιγραφή της χημείας των πολυφαινολών και της εμφάνισής τους στις φυτικές τροφές.^[28]

1.7.1 ΧΗΜΕΙΑ ΤΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

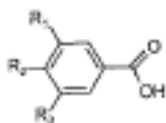
Οι πολυφαινόλες είναι αντιοξειδωτικές ενώσεις που βρίσκονται στα φυτά και τα προστατεύουν από το στρες, την υπεριώδη ακτινοβολία και τις μολύνσεις. Πρόκειται για μόρια με παρόμοιες δομές που ανήκουν στην ευρύτερη ομάδα των φυτοχημικών ενώσεων, οι οποίες βρίσκονται στα φυτικά τρόφιμα και περιέχουν στο μόριο τους τη χαρακτηριστική ομάδα της φαινόλης. Οι φαινολικές ενώσεις είναι προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών και βρίσκονται σε αυτά ελεύθερα ή ενωμένα με μόρια γλυκόζης ή άλλα σάκχαρα.^[29]

Αρκετά χιλιάδες μόρια που έχουν δομή πολυφαινόλης (δηλαδή, αρκετές ομάδες υδροξυλίου σε αρωματικούς δακτυλίους) έχουν ταυτοποιηθεί σε ανώτερα φυτά και αρκετές εκατοντάδες βρίσκονται σε βρώσιμα φυτά. Αυτά τα μόρια είναι δευτερογενείς μεταβολίτες φυτών και γενικά εμπλέκονται στην άμυνα κατά της υπεριώδους ακτινοβολίας ή της επιθετικότητας από παθογόνα. Αυτές οι ενώσεις μπορούν να ταξινομηθούν σε διαφορετικές ομάδες σε συνάρτηση του αριθμού των φαινολικών δακτυλίων που περιέχουν και των δομικών στοιχείων που δεσμεύουν τους δακτυλίους μεταξύ τους. Διακρίνονται έτσι τα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή, τα στυλβένια και οι λιγνάνες (Πίνακας 1).^[26]

Οι φαινολικές ενώσεις ή οι πολυφαινόλες αποτελούν μία από τις πιο πολυάριθμες και ευρέως διανεμημένες ομάδες ουσιών στο φυτικό βασίλειο, με περισσότερες από 8000 φαινολικές δομές γνωστές επί του παρόντος. Οι πολυφαινόλες είναι προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών. Εμφανίζονται βιογενετικά από δύο κύριες συνθετικές διαδρομές: το μονοπάτι σικιμικού οξέος

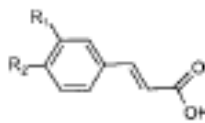
και το οξεικό οξύς μονοπάτι. Πρόκειται για μια εξαιρετικά ευρεία και πολύπλοκη ομάδα φυτικών ουσιών.^[28]

Hydroxybenzoic acids



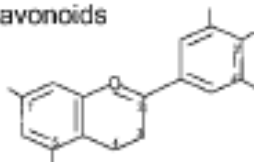
$R_1 = R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}$: Protocatechuic acid
 $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$: Gallic acid

Hydroxycinnamic acids

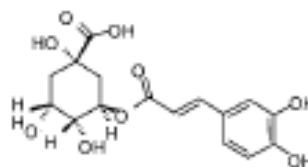


$R_1 = \text{OH}$: Coumaric acid
 $R_1 = R_2 = \text{OH}$: Caffeic acid
 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}$: Ferulic acid

Flavonoids

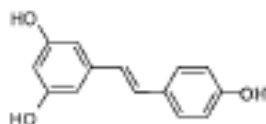


See Figure 2



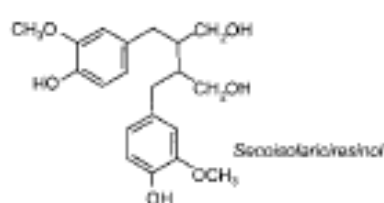
Chlorogenic acid

Stilbenes



Resveratrol

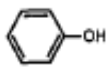

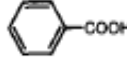
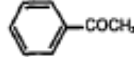
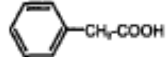
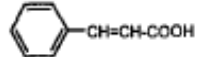
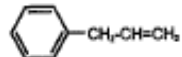
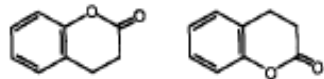
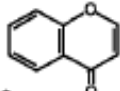
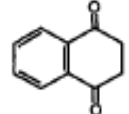
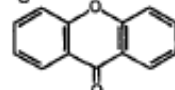
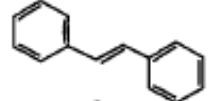
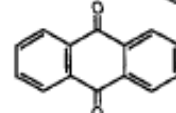
Lignans



Secoisolariciresinol

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: ΧΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ

Οι φυσικές πολυφαινόλες μπορούν να κυμαίνονται από απλά μόρια, όπως φαινολικά οξέα, σε πολυμερισμένες ενώσεις, όπως οι ταννίνες. Εμφανίζονται κυρίως σε συζευγμένη μορφή, με ένα ή περισσότερα υπολείμματα σακχάρου συνδεδεμένα με ομάδες υδροξυλίου, αν και υπάρχουν επίσης άμεσες συνδέσεις της μονάδας ζάχαρης με ένα αρωματικό άτομο άνθρακα. Τα συνδεδεμένα σάκχαρα μπορούν να είναι παρόντα ως μονοσακχαρίτες, δισακχαρίτες ή ακόμη και ως ολιγοσακχαρίτες. Η γλυκόζη είναι το πιο συνηθισμένο υπόλειμμα σακχάρου, αν και βρίσκονται επίσης η γαλακτόζη, η ραμνόζη, η ξυλόζη και η αραβινόζη, καθώς και τα γλυκουρονικά και γαλακτουρονικά οξέα και πολλά άλλα. Συνδέσεις με άλλες ενώσεις, όπως τα καρβοξυλικά και τα οργανικά οξέα, οι αμίνες και τα λιπίδια, καθώς και συνδέσεις με άλλες φαινόλες είναι επίσης κοινές.^[28]

Class	Basic Skeleton	Basic Structure
Simple phenols	C ₆	
Benzoquinones	C ₆	
Phenolic acids	C ₆ -C ₁	
Acetophenones	C ₆ -C ₂	
Phenylacetic acids	C ₆ -C ₂	
Hydroxycinnamic acids	C ₆ -C ₃	
Phenylpropenes	C ₆ -C ₃	
Coumarins, isocoumarins	C ₆ -C ₃	
Chromones	C ₆ -C ₃	
Naftoquinones	C ₆ -C ₄	
Xanthenes	C ₆ -C ₁ -C ₆	
Stilbenes	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Anthraquinones	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Flavonoids	C ₆ -C ₃ -C ₆	
Lignans, neolignans	(C ₆ -C ₃) ₂	
Lignins	(C ₆ -C ₃) _n	

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ΚΥΡΙΕΣ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Σύμφωνα με τον Harbourne, οι πολυφαινόλες μπορούν να χωριστούν σε τουλάχιστον 10 διαφορετικές κατηγορίες, ανάλογα με τη βασική χημική δομή τους. Ο Πίνακας 2 απεικονίζει τη βασική χημική δομή των κύριων πολυφαινολικών ενώσεων. Τα φλαβονοειδή, τα οποία αποτελούν τη σημαντικότερη ενιαία ομάδα, μπορούν να υποδιαιρεθούν περαιτέρω σε 13 κατηγορίες, με περισσότερες από 5.000 ενώσεις που περιγράφονται από το 1990 (Πίνακας 3).^[28]

Flavonoid	Basic Structure
Chalcones	
Dihydrochalcones	
Aurones	
Flavones	
Flavonols	
Dihydroflavonol	
Flavanones	
Flavanol	
Flavandiol or leucoanthocyanidin	
Anthocyanidin	
Isoflavonoids	
Biflavonoids	
Proanthocyanidins or condensed tannins	

Αυτές οι ενώσεις μπορούν να ταξινομηθούν σε διαφορετικές ομάδες σε συνάρτηση του αριθμού των φαινολικών δακτυλίων που περιέχουν και των δομικών στοιχείων που δεσμεύουν τους δακτυλίους μεταξύ τους. [28]

Η ταξινόμηση των φαινολικών ενώσεων γίνεται με βάση τον αριθμό και την διάταξη των ατόμων άνθρακα που ενώνονται με το δακτύλιο της φαινόλης και συνήθως απαντώνται υπό συζευγμένη μορφή με σάκχαρα και οργανικά οξέα. Έτσι προκύπτουν δυο μεγάλες κατηγορίες φαινολικών ενώσεων στα φυτά: τα φλαβονοειδή και τα μη φλαβονοειδή. [27],[29]

- Φλαβονοειδή: Βασικός τύπος C6-C3-C6, με κύριους εκπροσώπους τις ανθοκυανίνες και τις ταννίνες.
- Μη φλαβονοειδή: περιλαμβάνει τα φαινολικά οξέα, υδροξυκινναμωμικά οξέα και στυλβένια.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

1.7.2 ΑΠΛΕΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ

Μεταξύ των πιο κοινών και σημαντικών φαινολικών ενώσεων χαμηλού μοριακού βάρους είναι τα απλά φαινολικά παράγωγα και τα φλαβονοειδή. Τα φαινολικά παράγωγα αποτελούν μία ευρύτατη κατηγορία φυσικών προϊόντων, με πλήθος δομών οι οποίες έχουν ως κοινό χαρακτηριστικό την ύπαρξη ενός βενζολικού δακτυλίου με 1 ή περισσότερα υδροξύλια ελεύθερα ή συνδεδεμένα. Βιοσυνθετικά προέρχονται από την οδό του σικιμικού και του οξικού οξέος.^[30] Οι απλές φαινόλες (C6), όπως η ίδια η φαινόλη, η κρεσόλη, η θυμόλη, η ρεσορκινόλη, η κυκλίνη, κλπ., είναι ευρέως διαδεδομένες μεταξύ των διαφόρων φυτικών ειδών, περιλαμβανομένης της υδροκινόνης και των παραγώγων της (πχ, αρβουτίνης, σησαμόλης) και της φλορογλουκινόλης. Τα φαινολικά με δομή (C6-C1) (Πίνακας 1), όπως τα φαινολικά οξέα (π.χ., γαλλικά, βανιλικά, συριγγικά, ρ-υδροξυβενζοϊκά) και αλδεΐδες (π.χ. βανιλίνη, συριγγαλδεΐδη, π-υδροξυβενζαλδεΐδη) συναντιούνται αρκετά συχνά σε ανώτερα φυτά και φτέρες. Τα φαινολικά οξέα και οι ακετοφαινόλες (C6-C2), ωστόσο περιγράφονται λιγότερο συχνά στη βιβλιογραφία. Όλες αυτές οι ενώσεις μπορούν να βρεθούν ελεύθερες, αν και οι αντίστοιχοι μεθυλεστέρες/αιθυλεστέρες όπως και οι γλυκοσίδες εμφανίζονται πολύ συχνά σε ελεύθερες και / μη δεσμευμένες μορφές.^[28]



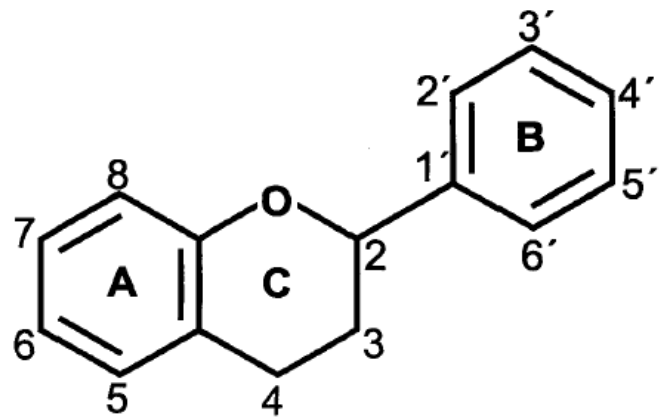
ΣΧΗΜΑ 1 ΦΑΙΝΟΛΗ

Τα παράγωγα φαινυλοπροπανοειδών (C6-C3) είναι επίσης μια σημαντική ομάδα φαινολικών χαμηλού μοριακού βάρους. Οι χρωμόνες είναι λιγότερο γνωστές από τις κουμαρίνες, με τις τελευταίες να εμφανίζονται φυσικά ως γλυκοζίτες (π.χ., umbelliferone, aes-culetin, scopoletin). Τα σημαντικότερα φαινυλοπροπανοειδή είναι τα υδροξυκινναμικά οξέα (ρ-κουμαρικό, καφεϊκό, γειτονικό, σιναπτικό) και παράγωγά τους. Οι κινναμυλικές αλκοόλες (κονικυλική αλκοόλη ή γουαΐακύλιο, σιναπυλική αλκοόλη ή συριγγύλη και ρ-κουμαρμυλική αλκοόλη ή ρ-υδροξυφαινύλιο) αποτελούν το βασικό συστατικό των λιγνινών και επομένως αντιπροσωπεύουν μία από τις κύριες ομάδες φυτικών φαινολικών. Τα φαινυλοπροπανοειδή και οι πιο απλές φαινόλες (βενζοϊκό οξύ και παράγωγα βενζαλδεΐδης) συνδέονται συνήθως ομοιοπολικά με πολυσακχαρίτες κυτταρικού τοιχώματος (κυρίως εστερικά συνδεδεμένες με μονάδες αραβινόζης ημικυτταρίνης) ή με τη λεγόμενη πυρηνική λιγνίνη.^[28]

1.7.3 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ

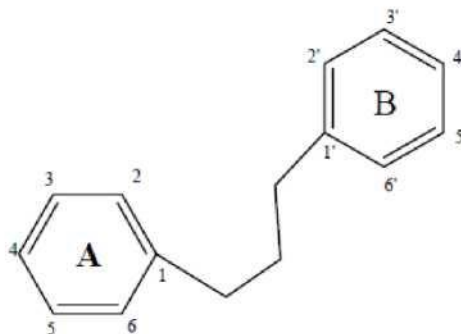
Ανήκουν στις φαινολικές ενώσεις και αποτελούν μία μεγάλη και σπουδαία κατηγορία φυσικών προϊόντων. Είναι γνωστά εδώ και πολλές δεκαετίες και έχουν αποτελέσει αντικείμενο μεγάλου πλήθους ερευνητικών εργασιών. Περισσότερα από 9000 διαφορετικά φλαβονοειδή έχουν απομονωθεί μέχρι σήμερα, ενώ ο αριθμός αυτός αυξάνεται σταθερά λόγω της πολύ μεγάλης δομικής ποικιλομορφίας των προϊόντων αυτών. Τα περισσότερα από αυτά είναι ισχυρώς χρωματισμένα με ένα ευρύ φάσμα χρωματισμού από κόκκινο έως και μπλε, με συνηθέστερο το κίτρινο. ^{[30],[31],[32]}

Τα φλαβονοειδή (Πίνακας 3) αντιπροσωπεύουν την πιο κοινή και ευρέως κατανεμημένη ομάδα φυτικών φαινολικών. Η συνήθης δομή τους είναι αυτή των διφαινυλοπροπανίων (C₆-C₃-C₆) και αποτελείται από δύο αρωματικούς δακτυλίους συνδεδεμένους μέσω τριών ατόμων άνθρακα που συνήθως σχηματίζουν έναν οξυγονωμένο ετερόκυκλο. Το Σχήμα 2 αντιπροσωπεύει τη βασική δομή και το σύστημα που χρησιμοποιείται για την αρίθμηση του φλαβονοειδούς βιολογικά. Ο δακτύλιος Α προέρχεται συνήθως από ένα μόριο ρεσορκινόλης ή φλορογλουκινόλης που συντίθεται στο οξεικό μονοπάτι, ενώ ο δακτύλιος Β προέρχεται από τη διαδρομή του σικιμικού οξέος. Μπορούν να χωριστούν σε 6 υποκατηγορίες ως συνάρτηση του τύπου του εμπλεκόμενου ετερόκυκλου: στις φλαβονόλες, τις φλαβόνες, τις ισοφλαβόνες, τις φλαβανόνες, τις ανθοκυανιδίνες και τις φλαβανόλες (κατεχίνες και προανθοκυανιδίνες) (Σχήμα 2). ^[28]



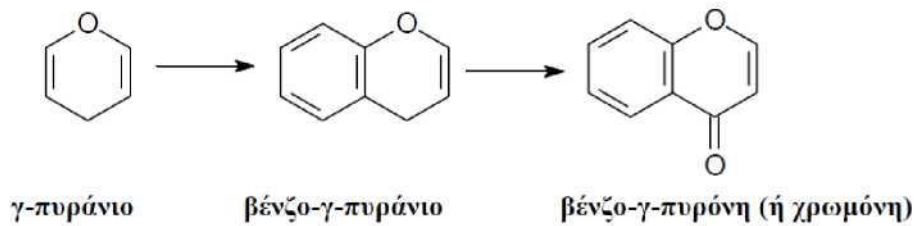
ΣΧΗΜΑ 2: ΒΑΣΙΚΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΡΙΘΜΗΣΗΣ ΤΩΝ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ

Από χημικής άποψης, τα φλαβονοειδή είναι φαινολικά παράγωγα που συνίστανται από 15 τουλάχιστον άτομα άνθρακα (2 βενζολικούς πυρήνες ενωμένους με μία αλυσίδα 3 ατόμων άνθρακα), δομή που αναφέρεται και ως C₆-C₃-C₆. Τα διάφορα φλαβονοειδή θεωρούνται παράγωγα του φαινυλοπροπανίου (C₆-C₃) και συντίθενται μέσω των βιοσυνθετικών οδών του σικιμικού και του οξικού οξέος. Για να σχηματισθεί ο δακτύλιος Α ενώνονται 3 οξικά οξέα και συνδέονται με το δακτύλιο

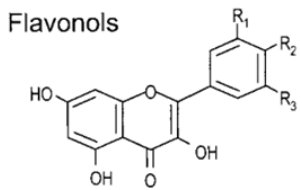
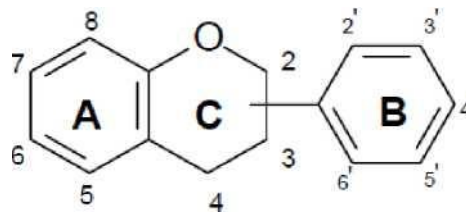


Β που προέρχεται από το π-κουμαρικό οξύ. [30],[31],[32],[33]

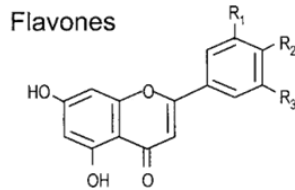
Η βένζο-γ-πυρόνη (χρωμόνη) είναι βασική πρόδρομη ουσία για τον σχηματισμό των φλαβονοειδών.



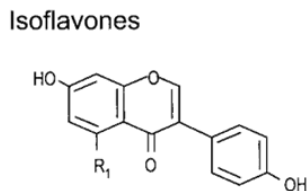
Ως βασικός σκελετός των φλαβονοειδών θεωρείται ο δακτύλιος χρωμανίου.



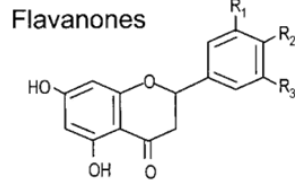
$R_2 = \text{OH}; R_1 = R_3 = \text{H}$: Kaempferol
 $R_1 = R_2 = \text{OH}; R_3 = \text{H}$: Quercetin
 $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$: Myricetin



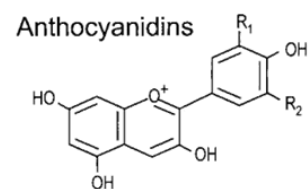
$R_1 = \text{H}; R_2 = \text{OH}$: Apigenin
 $R_1 = R_2 = \text{OH}$: Luteolin



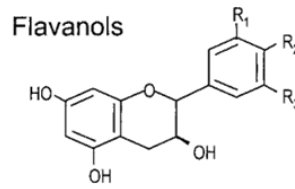
$R_1 = \text{H}$: Daidzein
 $R_1 = \text{OH}$: Genistein



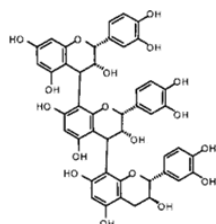
$R_1 = \text{H}; R_2 = \text{OH}$: Naringenin
 $R_1 = R_2 = \text{OH}$: Eriodictyol
 $R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{OCH}_3$: Hesperetin



$R_1 = R_2 = \text{H}$: Pelargonidin
 $R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{H}$: Cyanidin
 $R_1 = R_2 = \text{OH}$: Delphinidin
 $R_1 = \text{OCH}_3; R_2 = \text{OH}$: Petunidin
 $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$: Malvidin



$R_1 = R_2 = \text{OH}; R_3 = \text{H}$: Catechins
 $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$: Gallocatechin



Τα φλαβονοειδή εμφανίζονται περιστασιακά στα φυτά ως αγλυκόνες, αν και συνηθέστερα απαντώνται ως παράγωγα γλυκοσίδης.

Μεταξύ των φλαβονοειδών, οι φλαβόνες (π.χ., απιγενίνη, λουτεολίνη, διοσμετίνη), οι φλαβονόλες (π.χ., κερσετίνη, μυριστίνη, καμπεφερόλη) και οι γλυκοσίδες αυτών είναι οι πλέον κοινές ενώσεις. Είναι ευρέως διαδεδομένες στο φυτικό βασίλειο, με εξαίρεση τα φύκια και τους μύκητες. Οι φλαβονόλες εμφανίζονται ως Ο-γλυκοσίδες, ενώ οι φλαβονό Ο-γλυκοζίτες και Ο-γλυκοζίτες είναι πολύ συνηθισμένοι, με τους τελευταίους να χαρακτηρίζονται από τον δεσμό άνθρακα-άνθρακα μεταξύ του ανωμερικού άνθρακα ενός μορίου σακχάρου και του C-6 ή C-8 άνθρακα του πυρήνα φλαβόνου. Σε αντίθεση με τα Ο-γλυκοσίδια, τα σάκχαρα στα C-γλυκοσίδια δεν διασπώνται με όξινη υδρόλυση. Οι φλαβανόνες (π.χ., naringenin, hesperidin) μπορούν επίσης να εμφανιστούν ως Ο- ή C-γλυκοσίδες και είναι ιδιαίτερα άφθονοι σε εσπεριδοειδή και δαμάσκηνα. Η μεταβλητότητα αυτής της ομάδας φλαβονοειδών είναι αξιοσημείωτη, με περίπου 380 γλυκοζίδια φλαβονόλης

και 200 διαφορετικές περιγραφόμενες έως σήμερα γαλακτοσίδες κουρσετίνης και καζεφερόλης. Οι ισοφλαβόνες (π.χ., γενιστεΐνη, δαΐδεζίνη) εμφανίζονται ειδικά σε όσπρια, με τον δακτύλιο Β του μορίου της φλαβόνης συνδεδεμένο με τον άνθρακα 3 του ετερόκυκλου. [28]

Τα φλαβονοειδή (π.χ., κατεχίνη, επικικατίνη, γαλλοκατεχίνη) είναι τα μονομερή συστατικά των συμπυκνωμένων τανινών, αν και είναι επίσης πολύ κοινά ως ελεύθερα μονομερή. Οι ανθοκυάνες είναι η πιο σημαντική ομάδα υδατοδιαλυτών φυτικών χρωστικών και είναι υπεύθυνες για το χρώμα των λουλουδιών και των καρπών των ανώτερων φυτών. Ο όρος αζωτοκυανίνη αναφέρεται στους γλυκοζίτες της ανθοκυανιδίνης (π.χ., πελαργονιδίνη, μαλβιδίνη, κυανιδίνη). Εκτός από τη γλυκοζυλίωση, έχουν επίσης κοινές συνδέσεις με αρωματικά και αλειφατικά οξέα, καθώς και με παράγωγα μεθυλεστέρων. Οι ανθοκυανίνες και οι πολυμερείς χρωστικές ουσίες που σχηματίζονται από ανθοκυανίνες με συμπύκνωση με άλλα φλαβονοειδή είναι υπεύθυνες για το χρώμα του κόκκινου κρασιού. [28]

Οι απλές φαινόλες και τα φλαβονοειδή αντιπροσωπεύουν τη συντριπτική πλειοψηφία των φυτικών φαινολικών. Οι περισσότερες από αυτές τις ενώσεις είναι σχετικά μικρού μοριακού βάρους και είναι διαλυτές σύμφωνα με την πολικότητα και τη χημική τους δομή (βαθμός υδροξυλίωσης, γλυκοζυλίωση, ακυλίωση κλπ.). Μερικοί από αυτούς, ωστόσο, μπορούν να συνδεθούν με συστατικά κυτταρικού τοιχώματος (πολυσακχαρίτες, λιγνίνη). Λόγω της φύσης των εστερικών δεσμών, αυτές οι ενώσεις μπορούν να διαλυτοποιηθούν σε αλκαλικές συνθήκες ή διαφορετικά να διατηρηθούν στη μήτρα ινών. [28]

Η οικογένεια *Lamiaceae* και το γένος *Sideritis* είναι συχνά αντικείμενο στόχου για την απομόνωση φλαβονοειδών και Ο-γλυκοσίδων για φαρμακολογική μελέτη. Οι Ο-γλυκοσίδες μάλιστα θα μπορούσαμε να υποστηρίξουμε ότι αποτελούν χημειοταξονομικό δείκτη της οικογένειας *Lamiaceae* διότι είναι εκείνη η μορφή με την οποία τα φλαβονοειδή αφθονούν στα φυτά. [30]

Η κατανομή των φλαβονών και φλαβονολών, και των ετεροσίδων τους, συχνά είναι καθολική, η παρουσία όμως υποκατάστατων σε συγκεκριμένες θέσεις περιορίζεται σε ορισμένες οικογένειες ή σε ομάδες οικογενειών, όπου και χρησιμοποιούνται ως χημειοταξονομικοί δείκτες. Τέτοιοι είναι οι 6-Ο- και οι 8-Ο-υποκατεστημένοι γλυκοσίδες των φλαβονοειδών που εμφανίζονται πολύ συχνά στην οικογένεια *Lamiaceae* και στο γένος *Sideritis* (καθώς και στις *Asteraceae*, *Rutaceae* και *Leguminosae*). [34]

Οι σημαντικότερες δράσεις των φλαβονοειδών αναφέρονται στη συνέχεια:

- **Αντιοξειδωτική δράση.**

Η ύπαρξη φαινολικών υδροξυλίων έχει ως αποτέλεσμα την εκδήλωση αντιοξειδωτικής δράσης. Στη διεθνή βιβλιογραφία ολοένα και πληθαίνουν οι αναφορές για αντιοξειδωτική δράση φυτικών εκχυλισμάτων και άλλων παρασκευασμάτων που οφείλονται στα φλαβονοειδή. Επίσης έχει αναφερθεί ότι τα φλαβονοειδή αυξάνουν την αντιοξειδωτική ισχύ της βιταμίνης C δρώντας ως δότες υδρογόνου και έχουν και ευεργετικά αποτελέσματα στην προστασία από το LDL με συνέπεια να μειώνεται ο κίνδυνος καρδιαγγειακών παθήσεων. [35]

- **Αντιφλεγμονώδης δράση.**

Τα φλαβονοειδή έχουν την ικανότητα να παρεμβαίνουν στο μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος, παράγοντα καθοριστικού στις φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο φυσικό προϊόν, το χαμομήλι, περιέχει πολλά φλαβονοειδή στα οποία οφείλει μεταξύ άλλων και την αντιφλεγμονώδη του δράση. ^[36]

- **Αντιελκογόνος δράση:**

Η δράση κάποιων φυτικών εκχυλισμάτων σε γαστρικά έλκη, αποδίδεται στην παρουσία φλαβονοειδών. ^[30]

- **Βιταμινική Ρ δράση:**

Η δράση αυτή σηματοδοτεί την αύξηση της αντίστασης των αιμοφόρων αγγείων και την ελάττωση της διαπερατότητάς τους. Έτσι, χρησιμοποιούνται σε φλεβικές και εγκεφαλικές κυκλοφορικές ανεπάρκειες, κισσούς, σκορβούτο, οφθαλμορραγίες, αιμορραγίες διαβητικών, μητρορραγίες, αιμορραγίες υπερτασικών κ.ά.. ^[34]

- **Αντισπασμωδική δράση.**

Οφείλεται στην ικανότητα των φλαβονοειδών να ανταγωνίζονται τη δράση της ακετυλοχολίνης και της ισταμίνης. Χαρακτηριστική περίπτωση δρόγης με αντισπασμωδικές ιδιότητες είναι η *Glycyrrhiza glabra*. Ένα ακόμη παράδειγμα αποτελεί το φυτό *Elaeagnus angustifolia* L., τα σπέρματα του οποίου εμφανίζουν μυοχαλαρωτική δράση, που οφείλεται αποκλειστικά και μόνο στα φλαβονοειδή. Επιπρόσθετα, μία πιθανή θετική συμβολή τους σε περιπτώσεις ασθενών που πάσχουν από τη νόσο Parkinson μπορεί να προκύψει από φλαβονοειδή τα οποία επιδρούν προστατευτικά στους ντοπαμινεργικούς νευρώνες. ^{[37]. [38]}

- **Αντί-ηπατοτοξική δράση.**

Έρευνες που έχουν γίνει για την ηπατοπροστατευτική δράση κάποιων φλαβονοειδών παρουσίασαν πολύ καλά αποτελέσματα. ^[30]

- **Αντί-ογκογόνος δράση.**

Ένας αριθμός φλαβονοειδών έχει επιδείξει ικανότητα να αναστέλλει τις διαδικασίες καρκινογένεσης σε ποικίλα μοντέλα ζώων. Αν και ο μηχανισμός δράσης του δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί, ορισμένα φλαβονοειδή αναστέλλουν τη δράση του ηπατικού ενζυμικού συστήματος P450, το οποίο συνδέεται με τη δραστηριότητα συγκεκριμένων καρκινικών παραγόντων. Ωστόσο, υπάρχουν προϊόντα διατροφής που περιέχουν φλαβονοειδή και δρουν ως αντικαρκινικά. Τέτοιες τροφές είναι η σόγια, που περιέχει ισοφλαβόνες και θεωρείται αποτελεσματική στον καρκίνο του μαστού. Αντί-νεοπλασματική δράση επιδεικνύει επίσης το τσάι (πλούσιο σε φλαβονόλες και φλαβανόλες), ενώ τα διφλαβονύλια μπορούν να αποδειχθούν χρήσιμα σε ασθενείς με λευχαιμία. Το ότι ορισμένα φλαβονοειδή αποτελούν δυνητικούς αντικαρκινογόνους παράγοντες είναι αντικείμενο μελέτης των τελευταίων ετών. ^{[39]. [40]. [41].}

- **Αντιμικροβιακή δράση.**

Ορισμένα φλαβονοειδή εμφανίζουν σημαντική αντιβακτηριδιακή και αντί-μυκητιασική δράση. Μικρόβια όπως ο *Staphylococcus aureus* και η *Escherichia coli* παρουσιάζουν αξιοσημείωτη ευαισθησία σε κάποια φλαβονοειδή. ^[42]

- **Άλλες δράσεις.**

Τα φλαβονοειδή παρουσιάζουν επίσης αγχολυτική δράση, διουρητική δράση και έχουν βρει εφαρμογή σαν χρωστικές. ^[30]

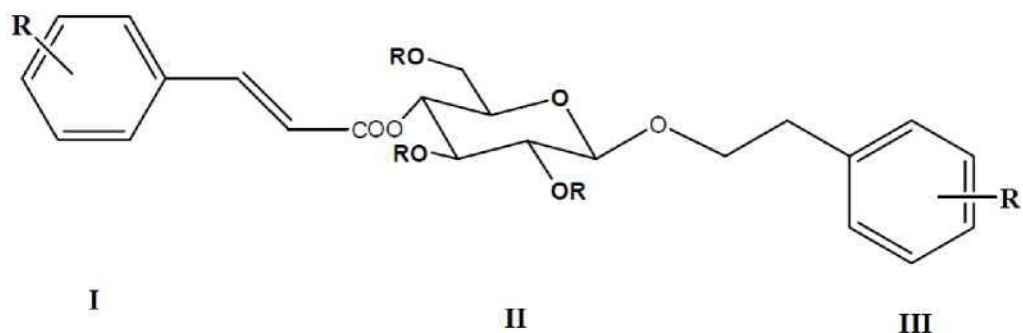
1.7.4 ΦΑΙΝΟΛΟΞΕΑ

Τα φαινολοξέα αποτελούν μία ομάδα οργανικών οξέων και εμπεριέχουν όλες τις οργανικές ενώσεις που έχουν το λιγότερο μία καρβοξυλομάδα και ένα φαινολικό υδροξύλιο. Ο όρος όμως χρησιμοποιείται κυρίως για παράγωγα του βενζοϊκού και του κινναμωμικού οξέος που είναι πολύ διαδεδομένα στα φυτά ελεύθερα, σαν εστέρες ή σαν γλυκοσίδες. Βιοσυνθετικά προέρχονται από την οδό του σικιμικού οξέος. Τα φαινολικά οξέα διακρίνονται στα παράγωγα του βενζοϊκού (C₆-C₁) και του κινναμωμικού οξέος (C₆-C₃) ανάλογα με το δομικό τους σκελετό. ^{[30], [34]}

Από βιολογικής άποψης, τα φαινολοξέα παρουσιάζουν μεγάλο αριθμό δράσεων όπως αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδης, αντιμικροβιακή (αντιβακτηριδιακή και αντί-μυκητιασική), αντιϊκή δράση, κυτταροτοξική, ηπατοτοξική. ^{[30], [34]}

1.7.5 ΦΑΙΝΥΛΑΙΘΑΝΟΕΙΔΙΚΟΙ ΓΛΥΚΟΖΙΤΕΣ

Οι φαινυλαιθανοειδικοί γλυκοζίτες (PhGs) είναι μία ομάδα υδατοδιαλυτών προϊόντων, ευρέως διαδεδομένων στο φυτικό βασίλειο, των οποίων η μελέτη έχει αρχίσει σχετικά πρόσφατα. Είναι γνωστοί και ως βερμπασκοσίδες και ως φαινυλοπροπανοϊδικοί γλυκοζίτες. Το μόριό τους χαρακτηρίζεται από την παρουσία δύο αρωματικών ομάδων (μιας φαινυλαιθανολικής ομάδας και μίας ομάδας τύπου κινναμωμικού οξέος). Οι δύο αυτές αρωματικές ενότητες, οι οποίες μπορούν να είναι υποκατεστημένες κατά διάφορους τρόπους, συνδέονται συνήθως με μία β-ϋ-γλυκοπυρανόση μέσω γλυκοσιδικού και εστερικού δεσμού αντίστοιχα. Συγκεκριμένα, η φαινυλαιθανολική ομάδα συνδέεται στην ανωμερική θέση της γλυκόζης, ενώ στον εστερικό δεσμό συμμετέχει συνήθως η υδροξυλομάδα της θέσεως 4 του σακχάρου. ^[30]



Τα χαρακτηριστικά τμήματα του μορίου είναι: (I) Κινναμωμική ομάδα, (II) Ομάδα β-ϋ-γλυκοπυρανόσης, (III) Φαινυλαιθανολική ομάδα.^[30]

Βιοσυνθετικά η φαινυλαιθανολική ομάδα προέρχεται από την τυροσίνη, η οποία διαδοχικά μετατρέπεται σε τυραμίνη και τυροσόλη. Αντίθετα η δεύτερη αρωματική ομάδα προκύπτει βιοσυνθετικά από την οδό: φαινυλαλανίνη - κινναμωμικό οξύ - π-κουμαρικό οξύ. Αρχικά γίνεται γλυκοσυλίωση της φαινυλαιθανολικής ομάδας, για να ακολουθήσει η εστεροποίηση του οσιδικού τμήματος.^[30]

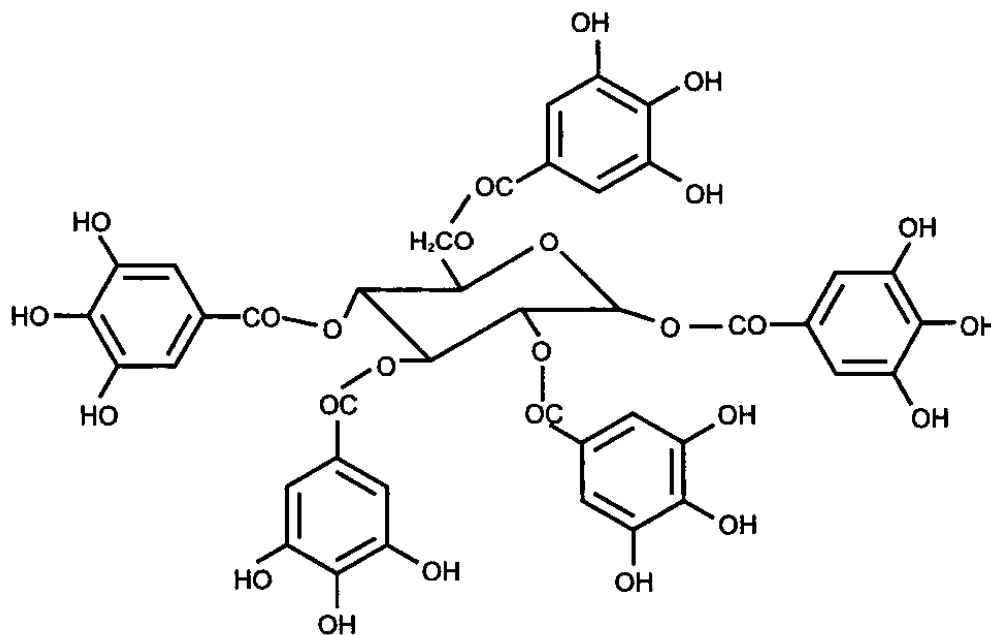
Οι φαινυλαιθανοειδικοί γλυκοσίδες ταξινομούνται με βάση τα δομικά τους χαρακτηριστικά στις εξής κατηγορίες: μονοσακχαριδικά παράγωγα, δισακχαριδικά παράγωγα, τρισακχαριδικά παράγωγα, γλυκοσίδες οι οποίοι δεν έχουν τη β-ϋ-γλυκοπυρανόση ως κεντρικό σάκχαρο και στα σύνθετα παράγωγα συνδυασμού με ιριδοειδή.^[30]

Οι περισσότεροι *βερμπασκοσίδες* έχουν απομονωθεί από φυτά τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί στη λαϊκή θεραπευτική και έχουν θεωρηθεί ως οι δραστικές ουσίες στις οποίες οφείλονται οι θεραπευτικές τους ιδιότητες. Πειράματα που διεξήχθησαν στους *βερμπασκοσίδες* έδειξαν κυρίως αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή, αντιϊική, αντινεοπλασματική- κυτταροτοξική, ανοσοκατασταλτική, αντιϋπερτασική, αντιηπατοτοξική, αντιτροφική, νευροκαταπραϋντική- αντισπληπτική- χρήση στη θεραπεία κατά της επιληψίας, παράγοντες αντινεφρίτιδας και αντιηπατοξική δράση.^{[30], [31]}

1.7.6 TANNINESΣ

Αντίθετα με τις ομάδες φαινολικών φυτών που περιγράφηκαν προηγουμένως, οι ταννίνες είναι ενώσεις ενδιάμεσου προς υψηλού μοριακού βάρους. Οι ταννίνες με μοριακό βάρος μέχρι 30.000 Da έχουν βρεθεί σε λοβούς χαρουπιών (Leguminosae). Οι ταννίνες είναι υψηλά υδροξυλιωμένα μόρια και μπορούν να σχηματίσουν αδιάλυτα σύμπλοκα με υδατάνθρακες και πρωτεΐνες. Αυτή η λειτουργία των φυτικών τανινών είναι υπεύθυνη για τη συτπτικότητα των πλούσιων σε ταννίνη τροφίμων, λόγω της καθίζησης των πρωτεϊνών του σάλιου. Ο όρος "ταννίνη" προέρχεται από τη δυνατότητα μαυρίσματος αυτών των ενώσεων για τη μετατροπή των δερμάτων ζώων σε δέρμα, σχηματίζοντας σταθερά σύμπλοκα ταννίνης-πρωτεΐνης με κολλαγόνο δέρματος. ^[28]

Οι ταννίνες των φυτών μπορούν να υποδιαιρεθούν σε δύο μεγάλες ομάδες: (1) τις υδρολύσιμες και (2) τις συμπυκνωμένες ταννίνες. Μια τρίτη ομάδα τανινών, οι φλοροταννίνες, βρίσκονται μόνο σε θαλάσσια καφέ φύκια και δεν καταναλώνονται συνήθως από τον άνθρωπο. ^[28]



ΣΧΗΜΑ 3: ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΤΑΝΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Υδρολύόμενες ταννίνες:

Οι υδρολύόμενες ταννίνες αποτελούνται από γαλλικό οξύ και το διμερές προϊόν συμπύκνωσης του, το εξαϋδροξυδιφαινικό οξύ, εστεροποιείται σε πολυόλη, η οποία είναι κυρίως γλυκόζη. Οι μεταβολίτες αυτοί μπορούν να συμπυκνώνονται οξειδωτικά σε άλλα γαλλοϋλικά ή εξαϋδροξυδιφαινικά μόρια και να σχηματίζουν πολυμερή υψηλού μοριακού βάρους. Όπως υποδηλώνει και το όνομά τους, αυτές οι ταννίνες υδρολύονται εύκολα με οξέα, αλκάλια, ζεστό νερό

και με ενζυμική δράση, τα οποία παράγουν πολυυδρική αλκοόλη και φαινυλοκαρβοξυλικό οξύ. Σύμφωνα με τη φύση των τελευταίων, οι υδρολύσιμες ταννίνες μπορούν περαιτέρω να υποδιαιρεθούν σε γαλοταννίνες, οι οποίες προέρχονται από το γαλλικό οξύ ή τις ελγυτανταννίνες, οι οποίες προέρχονται από το εξαϋδροξυδιφαινικό οξύ και οι οποίες παίρνουν το όνομά τους από το λαλακικό ελλαγικό οξύ. Η πλέον γνωστή υδρολυόμενη ταννίνη είναι το ταννικό οξύ (Σχήμα 3), που είναι μια γαλοταννίνη που αποτελείται από ένα μόριο πενταγαλοϋλ γλυκόζης το οποίο μπορεί περαιτέρω να εστεροποιηθεί με άλλες πέντε μονάδες γαλλικού οξέος. ^[28]

Συμπυκνωμένες ταννίνες:

Οι συμπυκνωμένες ταννίνες ή προανθοκυανιδίνες είναι πολυμερή υψηλού μοριακού βάρους. Η μονομερής μονάδα είναι ένα φλαβάν-3-όλη (κατεχίνη, επικικατίνη, κτλ.), με ένα μόριο φλαβανο-3,4-διόλης ή λευκοανθοκυανιδίνης ως πρόδρομο του. Οξειδωτική συμπύκνωση λαμβάνει χώρα μεταξύ του άνθρακα C-4 του ετερόκυκλου και των ανθράκων C-6 ή C-8 των γειτονικών μονάδων. ^[28]

Μεγάλο μέρος της βιβλιογραφίας σχετικά με το περιεχόμενο συμπυκνωμένης ταννίνης διαφορετικών φυτών αναφέρεται μόνο σε ολιγομερείς προανθοκυανιδίνες (διμερής, τριμερής, τετραμερής), εξαιτίας της δυσκολίας στην ανάλυση πολυμερών με υψηλό βαθμό μόλυνσης. Οι προανθοκυανιδίνες, ωστόσο, μπορούν να εμφανιστούν ως πολυμερή με βαθμούς πολυμερισμού 50 και άνω. Οι συνηθέστερα περιγραφείσες συμπυκνωμένες ταννίνες έχουν μοριακά βάρη περίπου 5000 Da, αν και όπως αναφέρθηκε προηγουμένως έχουν ανακαλυφθεί πολυμερή με μοριακά βάρη μεγαλύτερα από 30.000 Da. Ο ενζυμικός πολυμερισμός αντιοξειδωτικού ή φλαβάν-3-01 και μονάδες φλαβάν-3,4-διόλης έχει προταθεί ως η διαδικασία που οδηγεί στον σχηματισμό συμπυκνωμένων ταννινών. Οι ενδοφλουβονοειδείς δεσμοί είναι ασταθής σε οξέα και παρέχουν ανθοκυανιδίνες κατά την όξινη υδρόλυση σε αλκοολικά διαλύματα. Αυτή η αντίδραση χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό μορίων προανθοκυανιδίνης. Οι ουσίες που μοιάζουν με φλοφαφαίνη επίσης σχηματίζονται όταν οι συμπυκνωμένες κατεχίνες θερμαίνονται σε διαλύματα ανόργανων οξέων από τον περαιτέρω πολυμερισμό αυτών των ενώσεων. ^[28]

Οι ολιγομερείς προανθοκυανιδίνες και υδρολύσιμες ταννίνες χαμηλού μοριακού βάρους είναι διαλυτές σε διαφορετικούς υδατικούς και οργανικούς διαλύτες, όπως η ακετόνη, η μεθανόλη και το νερό. Ωστόσο, οι συμπυκνωμένες και υδρολυόμενες ταννίνες με υψηλό μοριακό βάρος είναι αδιάλυτες. Επιπλέον, όταν οι ταννίνες σχηματίζουν σύμπλοκα με πολυσακχαρίτες πρωτεϊνών ή κυτταρικού τοιχώματος, παραμένουν αδιάλυτες. Αυτή η αδιαλυτότητα των ταννινών είναι υπεύθυνη για σημαντικά λάθη στην ποσοτικοποίηση της πολυφαινολικής περιεκτικότητας φυτών, καθώς οι πολυφαινόλες συνήθως αναλύονται σε εκχυλίσματα, παραλείποντας συχνά την ποσοτικοποίηση των αδιάλυτων ή των μη εξαγόμενων ταννινών. ^[28]

1.7.7 ΟΙ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Οι πολυφαινόλες είναι σχεδόν πανταχού παρούσες στα φυτικά τρόφιμα (λαχανικά, δημητριακά, όσπρια, φρούτα, ξηροί καρποί κ.λπ.) και ποτά (κρασί, μηλίτης, μπύρα, τσάι, κακάο κ.λπ.). Τα επίπεδα τους ποικίλλουν πολύ ακόμη και μεταξύ των ποικιλιών του ίδιου είδους. Για παράδειγμα, ο σχηματισμός φλαβονό και φλαβονόλης γλυκοσίδης εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το φως. Ως εκ τούτου, οι υψηλότερες συγκεντρώσεις αυτών των ενώσεων βρίσκονται γενικά στα φύλλα και τα εξωτερικά μέρη των φυτών, με μόνο λίγα ίχνη στα υπόγεια μέρη φυτών. Η παρουσία πολυφαινολών στις φυτικές τροφές επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από γενετικούς παράγοντες και περιβαλλοντικές συνθήκες. Άλλοι παράγοντες, όπως η βλάστηση, ο βαθμός ωριμότητας, η ποικιλία, η επεξεργασία και η αποθήκευση επηρεάζουν επίσης την περιεκτικότητα των φυτικών φαινολικών.^[28]

Οι πολυφαινόλες είναι εν μέρει υπεύθυνες για τις αισθητικές και θρεπτικές ιδιότητες των φυτικών τροφών. Η στυπτικότητα και η πικρία των τροφίμων και των ποτών εξαρτάται από την περιεκτικότητα των πολυφαινολικών ενώσεων. Η οξειδωση των πολυφαινολών κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας ή της αποθήκευσης θα έχει ως αποτέλεσμα είτε ευεργετικά είτε ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά στα προϊόντα διατροφής. Για παράδειγμα, οι οξειδωτικές μεταβολές όπως το κακάο να σκουρύνει κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας ή ο οξειδωτικός πολυμερισμός των πολυφαινολών τσαγιού κατά τη διάρκεια της παρασκευής μαύρου τσαγιού, έχουν ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη διακριτών και επιθυμητών οργανοληπτικών ιδιοτήτων. Αντιστρόφως, η ενζυματική αντίδραση μαυρίσματος των φαινολικών ενώσεων (που καταλύονται από την πολυφαινολική οξειδωση) και οι μη-ενζυματικές αντιδράσεις ροδίσματος είναι υπεύθυνες για το σχηματισμό ανεπιθύμητου χρώματος και γεύσης στα φρούτα και τα λαχανικά.

Υπάρχει ένα μεγάλο μέρος της βιβλιογραφίας για την πολυφαινολική σύνθεση και την περιεκτικότητα της σε φυτικά τρόφιμα και ποτά. Λόγω της πολυπλοκότητας αυτής της ευρείας ομάδας φυτικών μεταβολιτών, ωστόσο, πολλές πολυφαινόλες παραμένουν άγνωστες. Επιπλέον, είναι δύσκολο να συγκριθούν δεδομένα εντός της βιβλιογραφίας, λόγω της έλλειψης συμφωνίας επί μιας κατάλληλης μεθόδου για την ανάλυση των διαφόρων τύπων ή οικογενειών πολυφαινολικών ενώσεων. Ως αποτέλεσμα, οι πληροφορίες στη βιβλιογραφία σχετικά με το περιεχόμενο και τη σύνθεση των πολυφαινολών στα φυτικά τρόφιμα είναι όχι μόνο ατελείς, αλλά και αρκετές φορές αντιφατικές και δύσκολο να συγκριθούν.^[28]

Ο πίνακας 5 παραθέτει την πολυφαινολική περιεκτικότητα σε διάφορα τρόφιμα και ποτά. Οι περισσότερες από τις πολυφαινόλες που παρατίθενται είναι φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή (συμπεριλαμβανομένων των ανθοκυανινών, των προκυανιδινών, των φλαβανόνων, των φλαβανόλων κ.λπ.). Λιγότερες είναι οι ταννίνες. Παρ' όλα αυτά, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι ταννίνες συχνά υποτιμώνται όταν οι πολυφαινόλες αναλύονται μόνο σε εκχυλίσματα τροφίμων.^[28]

Food/Beverage*	Total Polyphenols	Food/Beverage*	Total Polyphenols
Cereals (mg/100 g dm)		Fruits (mg/100 g fm)	
Barley	1200–1500	Blackcurrant	140–1200
Corn	30.9	Blueberry	135–280
Millet	590–1060	Cherry	60–90
Oats	8.7	Cowberry	128
Rice	8.6	Cranberry	77–247
Sorghum	170–10,260	Gooseberry	22–75
Wheat	22–40	Grape	50–490
Legumes (mg/100 g dm)		Grapefruit	50
Black gram	540–1200	Orange	50–100
Chickpeas	78–230	Peach	10–150
Cowpeas	175–590	Pear	2–25
Common beans	34–280	Plum	4–225
Green gram	440–800	Raspberry	37–429
Pigeon peas	380–1710	Red currant	17–20
Nuts (% dm)		Strawberry	38–218
Betel nuts	26–33	Tomato	85–130
Cashew nuts	33.7	Fruit juices (mg/L)	
Peanuts	0.04	Apple juice	2–16
Pecan nuts	8–14	Orange juice ^b	370–7100 660–1000
Vegetables (mg/100 g fm)		Beverages	
Brussels sprouts	6–15	Tea leaves (% dm)	
Cabbage	25	Green	20–35
Leek	20–40	Black	22–33
Onion	100–2025	Tea, cup (mg/200 mL)	150–210
Parsley	55–180	Coffee beans (% dm)	0.2–10
Celery	94	Coffee, cup (mg/150 mL)	200–550
Fruits (mg/100 g fm)		Cacao beans (% dm)	12–18
Apple	27–298	Wine (mg/L)	
Apricot	30–43	White	200–300
		Red	1000–4000 (6500)
		Beer (mg/L)	60–100

*dm=dry matter; fm=fresh matter.

^bValues for different orange varieties.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5: ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 5, η πολυφαινολική περιεκτικότητα των φυτικών τροφών μπορεί να ποικίλει κατά διάφορες τάξεις μεγέθους. Στα όσπρια και τα δημητριακά, οι κύριες πολυφαινόλες είναι φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα και ταννίνες. Η περιεκτικότητα σε πολυφαινόλη στα δημητριακά είναι συνήθως μικρότερη από 1% ξηρής ύλης, εκτός από ορισμένες ποικιλίες σόργου (*Sorghum bicolor*), οι οποίες μπορούν να φθάσουν το 10%. Τα όσπρια με υψηλότερη περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες είναι οι σκούρες ποικιλίες, όπως τα κόκκινα φασόλια, τα μαύρα φασόλια (*Phaseolus vulgaris*) και το μαύρο γραμμάριο (*Vigna mungo*). Τα όσπρια περιέχουν επίσης ισοφλαβόνες, ενώ τα λαχανικά αποτελούνται κυρίως από φλαβονοειδείς γλυκοσίδες. Αυτά είναι παρόντα κυρίως στα εξωτερικά μέρη του φυτού. Οι ρίζες και οι κόνδυλοι έχουν πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις φλαβονοειδών, με εξαίρεση ορισμένα φυτά, όπως τα κρεμμύδια και οι γλυκόριζες. Τα μούρα χαρακτηρίζονται από την υψηλή περιεκτικότητά τους σε ανθοκυάνες, ενώ τα φρούτα όπως τα μήλα και τα εσπεριδοειδή είναι πλούσια σε φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή, αντίστοιχα. Η κυρίαρχη φαινολική ένωση στα φρούτα είναι η φλαβονολίνη και οι υψηλότερες συγκεντρώσεις εμφανίζονται στο δέρμα. Τα καρύδια είναι πλούσια σε ταννίνες. Οι πολυφαινόλες στους ελαιούχους σπόρους είναι κυρίως φαινολικά οξέα και το ελαιόλαδο περιέχει τόσο φαινολικά οξέα όσο και υδρολύσιμες ταννίνες. ^[28]

Η πολυφαινολική περιεκτικότητα σε χυμούς φρούτων κυμαίνεται συνήθως από 2-500 mg / mL, αν και οι χυμοί από ορισμένες πορτοκαλί ποικιλίες έχουν πολύ υψηλότερες τιμές (μέχρι 7000 mg / mL) λόγω του εξαιρετικά υψηλού περιεχομένου φλαβανόνης τους (hesperidin). Η ζύμωση του τσαγιού

οδηγεί σε σημαντικές διαφορές στην πολυφαινολική σύνθεση των φύλλων τσαγιού: το πράσινο τσάι είναι πολύ πλούσιο σε φλαβονόλες, ενώ το μαύρο τσάι περιέχει μεγάλες ποσότητες οξειδωμένων πολυφαινολών (θεαφλαβίνες και θεαρυπιγίνη). Το χλωρογενικό οξύ είναι το κύριο φαινολικό συστατικό των κόκκων καφέ. Η κύρια πολυφαινόλη στους κόκκους κακάο είναι η επικατεχίνη της φλαβανόλης και οι κόκκοι κακάο είναι πλούσιες οι ανθοκυανίνες και ταννίνες. Οι πολυφαινόλες στο κρασί περιλαμβάνουν φαινολικά οξέα, ανθοκυανίνες, ταννίνες και άλλα φλαβονοειδή. Υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ της περιεκτικότητας σε πολυφαινόλη λευκών και ερυθρών οίνων (200-300 έναντι 1000-4000 mg / mL, αντίστοιχα) και μεταξύ νέων και ηλικιωμένων οίνων, με σημαντικές διαφορές επίσης στη φύση των πολυφαινολών που υπάρχουν στους ηλικιωμένους οίνους σε σύγκριση με εκείνες που βρίσκονται σε χυμούς σταφυλιών και νεαρούς οίνους. ^[28]

1.7.8 ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ

Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν ακριβείς πληροφορίες σχετικά με την πρόσληψη πολυφαινολών από τη διατροφή, παρά μόνο λίγες εκτιμήσεις στη βιβλιογραφία. Ο Kiihnau εκτιμά ότι η μέση ημερήσια πρόσληψη διαιτητικών φλαβονοειδών στις Ηνωμένες Πολιτείες είναι μεταξύ 1,0 -1,1 g / ημέρα, ανάλογα με την εποχή μέσα στο έτος. Οι Hertog et al. υπολόγισαν την πρόσληψη δύο τύπων φλαβονοειδών- φλαβονολών και φλαβονών στην ολλανδική διατροφή και διαπίστωσαν ότι είναι 23 mg / ημέρα. Το ποσοστό αυτό είναι σημαντικά μικρότερο από την εκτίμηση του Kiihnau των 115 mg / ημέρα για τα δύο αυτά φλαβονοειδή, τα οποία φέρεται ότι υπερεκτιμήθηκαν εξαιτίας της αναξιόπιστης αναλυτικής μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια του 1970. Περισσότερο πρόσφατα, οι Leth και Justesen εκτίμησαν την πρόσληψη φλαβονών, φλαβονολών και φλαβονονών στη Δανία σε 28 mg/ημέρα, παρόμοιες με εκείνες που αναφέρθηκαν από τους Hertog et al. Αυτές οι μελέτες, ωστόσο, εξετάζουν μόνο την πρόσληψη ορισμένων τύπων φλαβονοειδών και δεν λαμβάνουν υπόψη άλλες φαινολικές ενώσεις. Επιπλέον, πρέπει να σημειωθεί ότι η πραγματική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες στα τρόφιμα υποτιμάται συνήθως εξαιτίας της παράλειψης της ανάλυσης αδιάλυτων πολυφαινολών, η οποία μπορεί να είναι ποσοτικά πιο σημαντική από τα φλαβονοειδή. Έτσι, δεν υπάρχει ακριβής εκτίμηση της συνολικής πολυφαινολικής πρόσληψης. ^[28]

1.8 ΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

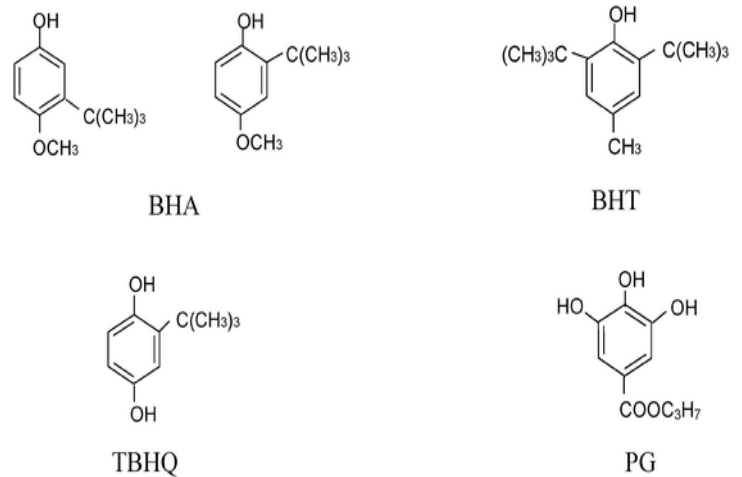
Η οξειδωση των λιπιδίων είναι μια διαδικασία υψηλής καταστροφής των τροφίμων, καθώς οδηγεί σε απaráδεκτες ιδιότητες για τον πελάτη και σε απώλεια της θρεπτικής αξίας. Μια σοβαρή συνέπεια είναι να προκύψουν διαταραχές στην υγεία όπως η αθηροσκλήρωση, η καρκινογένεση κλπ. Έτσι, η παρουσία αντιοξειδωτικών στα τρόφιμα είναι απαραίτητη για την ποιότητα και την ασφάλειά τους. Η σημασία των φυσικών αντιοξειδωτικών για χρήση ως πρόσθετα τροφίμων ή συμπληρώματα

διατροφής έχει ήδη καθιερωθεί. Τα κοινώς χρησιμοποιούμενα συνθετικά αντιοξειδωτικά έχουν αρνητικές παρενέργειες. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα ισχυρότερους περιορισμούς στη χρήση τους και στη μετατόπιση των καταναλωτικών και επιστημονικών συμφερόντων προς φυσικές εναλλακτικές λύσεις. Οι φυσικές ενώσεις διαθέτουν συχνά επιπλέον χρήσιμες ιδιότητες

(αντιβακτηριδιακές, αντιμεταλλαξιγόνες, ανοσοδιεγερτικές κ.λπ.) και οι διαφορετικοί μηχανισμοί προστασίας, τους κατατάσσουν υψηλά στην επιλογή για χρήση σε τρόφιμα. Φαρμακευτικά φυτά και βότανα είναι μια πολλά υποσχόμενη και ποικίλη πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών. Πολλά είδη φυτών έχουν μελετηθεί για αντιοξειδωτική δράση και μερικά από αυτά έχουν γίνει ακόμα και εμπορικά προϊόντα. Προϊόντα όπως το τσάι, το δεντρολίβανο, το φασκόμηλο καθώς και άλλα βότανα, όπως και τα προϊόντα που λαμβάνονται από αυτά, είναι γνωστά παραδείγματα.^{[43],[44]}

Η αυτοοξειδωση λιπιδίων είναι μια ριζική διαδικασία που εμπλέκεται σε μια αλυσιδωτή αντίδραση που περιλαμβάνει στάδια επαγωγής, διάδοσης και τερματισμού. Κατά τη διάρκεια της περιόδου επαγωγής σχηματίζονται ρίζες αλκυλίου και υπεροξυλίου. Αυτά τα ιδιαίτερα δραστικά χημικά είδη παράγουν υδροϋπεροξειδία (ROOH) κατά τη διάρκεια της φάσης διάδοσης. Ο τερματισμός είναι ο συνδυασμός δύο ριζών μαζί για να σχηματίσουν πιο σταθερά προϊόντα.^[45]

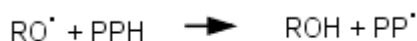
Η όλη αλληλουχία είναι υπεύθυνη για οργανοληπτικές και διατροφικές αλλοιώσεις που οφείλονται στον σχηματισμό πτητικών ενώσεων-χωρίς άρωμα από την αποικοδόμηση του ROOH και την εξαφάνιση των απαραίτητων λιπαρών οξέων. Επιπλέον, οι σχηματισμένες ρίζες εμπλέκονται στις διαδικασίες γήρανσης των ιστών και των παθολογιών όπως ο καρκίνος, ή οι καρδιαγγειακές παθήσεις. Ως εκ τούτου, είναι απαραίτητο να προστατεύονται τα λιπίδια τροφίμων και οι ανθρώπινοι ιστοί έναντι των ελεύθερων ριζών από ενδογενή και εξωγενή αντιοξειδωτικά από φυσική ή συνθετική προέλευση. Σήμερα τα φυσικά προϊόντα αυξάνονται στις προτιμήσεις των καταναλωτών τροφίμων.^[45]



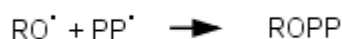
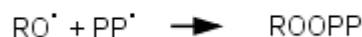
ΣΧΗΜΑ 4: ΣΥΝΘΕΤΙΚΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Τα αντί-ρυζικά αντιοξειδωτικά δρουν δίδοντας άτομα υδρογόνου σε ρίζες λιπιδίων. Οι ρίζες που λαμβάνονται από αντιοξειδωτικά με μοριακές δομές όπως οι φαινόλες είναι σταθερά είδη και στη συνέχεια σταματούν την αλυσιδωτή αντίδραση οξειδωσης. [45]

Τα φαινολικά αντιοξειδωτικά λειτουργούν ως τερματιστές ελεύθερων ριζών και χηλικών ιόντων μετάλλων που είναι ικανά να καταλύουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων. Τα φαινολικά αντιοξειδωτικά παρεμποδίζουν την οξειδωση των λιπιδίων και άλλων μορίων με ταχεία δωρεά ενός ατόμου υδρογόνου σε ρίζες, όπως φαίνεται στις ακόλουθες αντιδράσεις: [28]



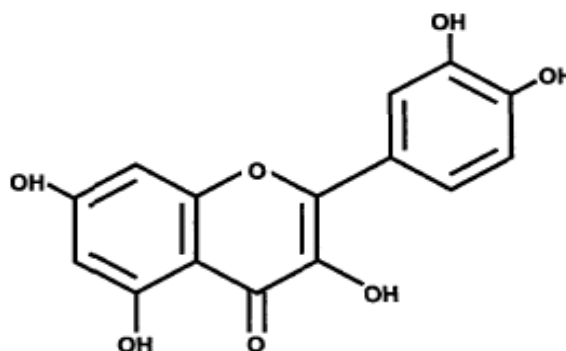
Επιπλέον, τα ενδιάμεσα ρίζας φαινοξυ-ριζών είναι σχετικά σταθερά. Ως εκ τούτου, μια νέα αλυσιδωτή αντίδραση δεν ξεκινά εύκολα. Τα ενδιάμεσα ρίζας φαινοξυ-ριζών δρουν επίσης ως τερματιστές της οδού πολλαπλασιασμού με αντίδραση με άλλες ελεύθερες ρίζες: [28]



Ωστόσο, υπό ορισμένες συνθήκες (υψηλή συγκέντρωση φαινολικών αντιοξειδωτικών, υψηλό pH, παρουσία σιδήρου), τα φαινολικά αντιοξειδωτικά μπορούν να ξεκινήσουν μια διαδικασία αυτοοξειδωσης και να συμπεριφερθούν σαν οξειδωτικά. [28]

Η αποτελεσματικότητα των πολυφαινολών ως αντιοξειδωτικών ενώσεων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη χημική δομή τους. Η ίδια η φαινόλη είναι ανενεργή ως αντιοξειδωτικό, αλλά τα ορθοδιφαινικά και τα παραδιφαινικά έχουν αντιοξειδωτική ικανότητα, η οποία αυξάνεται με την υποκατάσταση των ατόμων υδρογόνου με ομάδες αιθυλίου ή η-βουτυλίου. Τα φλαβονοειδή είναι από τα πιο ισχυρά αντιοξειδωτικά φυτών, επειδή διαθέτουν ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα δομικά (Σχήμα 5):

1. Μια ο-διφαινολική ομάδα (στον δακτύλιο B),
2. Έναν 2-3 διπλό δεσμό συζευγμένο με τη λειτουργία 4-οξο και
3. Υδροξυλικές ομάδες στις θέσεις 3 και 5.



ΣΧΗΜΑ 5: ΓΕΝΙΚΗ ΔΟΜΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΟΥΣ

Η κουβερτίνη, μια φλαβονολίνη που συνδυάζει όλα αυτά τα χαρακτηριστικά, είναι ένα από τα πιο ισχυρά φυσικά αντιοξειδωτικά. Επίσης, η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα των φλαβονοειδών

συσχετίζεται άμεσα με τον βαθμό υδροξυλίωσης τους και μειώνεται με την παρουσία ενός τμήματος σακχάρου (οι γλυκοζίτες δεν είναι αντιοξειδωτικές, ενώ οι αντίστοιχες αγλυκόνες (aglycones) τους είναι αντιοξειδωτικές. ^[28]

Τα φλαβονοειδή είναι πολύ αποτελεσματικοί καθαριστές ριζών υδροξυλίου και υπεροξυλίου, αν και η αποτελεσματικότητά τους ως σαρωτές του ανιόντος υπεροξειδίου δεν είναι ακόμη καθαρή. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, οι πολυφαινόλες είναι χηλικοί παράγοντες μετάλλων και αναστέλλουν τις αντιδράσεις Fenton και Haber-Weiss, οι οποίες είναι σημαντικές πηγές ενεργών ριζών οξυγόνου. Επιπλέον, τα φλαβονοειδή διατηρούν την ικανότητα απομάκρυνσης των ελεύθερων ριζών τους, αφού σχηματίσουν σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα. ^[28]

Αν και η αντιοξειδωτική δράση έχει παραδοσιακά αποδοθεί μόνο σε διαλυτές φαινολικές ενώσεις (εκχυλίσιμες πολυφαινόλες), μια πρόσφατη αναφορά υποδηλώνει ότι οι μη εκχυλίσιμες πολυφαινόλες (πολυμερικές προανθοκυανιδίνες και υδρολύσιμες ταννίνες με υψηλό μοριακό βάρος) είναι 15 - 30 φορές πιο αποτελεσματικές στη σβέση των ριζών υπεροξυλίου σε σχέση με τις απλές φαινόλες. Επειδή αυτές οι ενώσεις δεν απορροφώνται, θα μπορούσαν να ασκήσουν την αντιοξειδωτική τους δράση μέσα στο πεπτικό σύστημα και να προστατεύσουν τα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και τους υδατάνθρακες από την οξειδωτική βλάβη κατά την πέψη και τα εφεδρικά διαλυτά αντιοξειδωτικά. ^[28]

Η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα των πολυφαινολών εξαρτάται από την έκταση της απορρόφησης και του μεταβολισμού αυτών των ενώσεων, καθώς και από τη δράση μεθοξυλιωμένων και συζευγμένων μορφών που κυκλοφορούν στο πλάσμα. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, μόνο μερικές ποσότητες πολυφαινολών τροφίμων απορροφώνται ίν νίνο και μόνο πολύ χαμηλά επίπεδα κατεχινών τσαγιού ανιχνεύτηκαν στο πλάσμα μετά την κατάποση του τσαγιού. Παρόλα αυτά, αυτές οι χαμηλές συγκεντρώσεις φαίνονται επαρκείς για να ασκήσουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση ίν νίνο, όπως παρατηρήθηκε σε μελέτες σε ανθρώπους και όπως υποδηλώνουν επιδημιολογικά δεδομένα. ^[28]

Οι αντιοξειδωτικές πολυφαινόλες, κυρίως τα φλαβονοειδή, είναι ισχυροί αναστολείς της οξειδωσης της LDL. ^[28]

Διάφοροι μηχανισμοί με τους οποίους τα φλαβονοειδή ασκούν το προστατευτικό τους αποτέλεσμα έχουν προταθεί: ^[28]

1. Μείωση του σχηματισμού ελευθέρων ριζών
2. Προστασία της α-τοκοφερόλης από την οξειδωση
3. Αναγέννηση οξειδωμένης α-τοκοφερόλης και
4. Χηλίωση μεταλλικών ιόντων

Μέσα από αυτές τις αντιοξειδωτικές δράσεις, οι πολυφαινόλες ασκούν την προστατευτική δράση τους έναντι καρδιαγγειακών παθήσεων. Επιπλέον, τα φλαβονοειδή έχουν αντιθρομβωτικά και αγγειοπροστατευτικά αποτελέσματα καθώς και υπολιπιδαιμικά αποτελέσματα, όπως συζητήθηκε προηγουμένως. Διαφορετικοί τύποι πολυφαινολών (φαινολικά οξέα, υδρολύσιμες ταννίνες και

φλαβονοειδή) έχουν επίσης αποδειχθεί ότι έχουν αντί-καρκινογόνα αποτελέσματα. Οι πολυφαινόλες μπορεί να παρεμβαίνουν σε πολλά από τα βήματα που οδηγούν στην ανάπτυξη κακοήθων όγκων, προστατεύοντας έτσι το DNA από οξειδωτική βλάβη, αδρανοποιώντας καρκινογόνους παράγοντες, αναστέλλοντας την έκφραση των μεταλλαγμένων γονιδίων και τη δραστικότητα των ενζύμων που εμπλέκονται στην ενεργοποίηση των προκαρκινογόνων και ενεργοποιώντας τα εμπλεκόμενα ενζυματικά συστήματα στην αποτοξίνωση των ξενοβιοτικών. Ορισμένες πολυφαινόλες έχουν επίσης αποδειχθεί ότι έχουν μεταλλαξιγόνο δράση σε μικροβιακές δοκιμασίες όπως ανασκοπείται από τον Brown, αν και έχουν αναφερθεί αντιφατικά αποτελέσματα, ανάλογα με τον τύπο της διαδικασίας που χρησιμοποιήθηκε και τον τύπο του φαινολικού που μελετήθηκε. [28]

1.9 ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ

Οι πολυφαινόλες είναι άφθονα μικροθρεπτικά συστατικά στη διατροφή μας και διαρκώς ανακαλύπτονται στοιχεία για το ρόλο τους στην πρόληψη εκφυλιστικών ασθενειών όπως ο καρκίνος και οι καρδιαγγειακές παθήσεις. Οι επιδράσεις των πολυφαινολών στην υγεία εξαρτώνται από την ποσότητα που καταναλώνεται και την βιοδιαθεσιμότητα τους. [26]

Οι πολυάριθμες αναλυτικές μελέτες πολυφαινολών στα τρόφιμα που έχουν διεξαχθεί μέχρι σήμερα παρέχουν καλή ένδειξη της κατανομής της πολυφαινόλης. Τα φρούτα και τα ποτά, όπως το τσάι, το κόκκινο κρασί και ο καφές αποτελούν τις κύριες πηγές πολυφαινολών, αλλά και λαχανικά, όσπρια και δημητριακά είναι επίσης καλές πηγές. Οι συγκεντρώσεις πολυφαινόλης στα τρόφιμα διαφέρουν ανάλογα με πολυάριθμους γενετικούς, περιβαλλοντικούς και τεχνολογικούς παράγοντες, μερικοί από τους οποίους μπορούν να ελεγχθούν για να βελτιστοποιήσουν την περιεκτικότητα των τροφίμων σε πολυφαινόλες. Τα κύρια καθήκοντα που πρέπει να αντιμετωπιστούν είναι η αναγνώριση των φυτικών ποικιλιών που είναι οι πλουσιότερες στις πολυφαινόλες που παρουσιάζουν ενδιαφέρον, η βελτίωση των μεθόδων καλλιέργειας και ο περιορισμός των απωλειών κατά τη διάρκεια της βιομηχανικής επεξεργασίας και της μαγειρικής. [26]

Οι επιδράσεις των πολυφαινολών στην υγεία εξαρτώνται τόσο από τις αντίστοιχες προσλήψεις τους όσο και από τη βιοδιαθεσιμότητα τους, η οποία μπορεί να ποικίλλει σημαντικά. Αν και είναι πολύ άφθονα στη διατροφή μας, οι προανθοκυανιδίνες απορροφώνται ελάχιστα ή δεν απορροφούνται καθόλου και η δράση τους περιορίζεται στο έντερο. Το ίδιο ισχύει και για τις ανθοκυάνες, εκτός αν ορισμένοι από τους μεταβολίτες τους δεν έχουν ακόμη ταυτοποιηθεί αλλά έχουν απορροφηθεί καλά. Οι προσλήψεις μονομερών φλαβονολών, φλαβονών και φλαβανολών είναι σχετικά χαμηλές και συγκεντρώσεις πλάσματος σπανίως υπερβαίνουν το 1 mmol / L λόγω περιορισμένης απορρόφησης και ταχείας εξάλειψης. Οι φλαβανόνες και οι ισοφλαβόνες είναι τα φλαμοειδή με τα καλύτερα προφίλ βιοδιαθεσιμότητας και οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα μπορεί να φθάσουν τα 5 mmol / L. Ωστόσο, η κατανομή αυτών των ουσιών περιορίζεται στα εσπεριδοειδή και τη σόγια. Τέλος, τα υδροξυκινναμικά

οξέα βρίσκονται σε μεγάλη ποικιλία τροφίμων, συχνά σε υψηλές συγκεντρώσεις, αλλά η εστεροποίηση μειώνει την εντερική τους απορρόφηση. Κατά γενικό κανόνα, οι μεταβολίτες των πολυφαινόλων απομακρύνονται ταχέως από το πλάσμα, πράγμα που δείχνει ότι η κατανάλωση φυτικών προϊόντων σε καθημερινή βάση είναι απαραίτητη για τη διατήρηση υψηλών συγκεντρώσεων μεταβολιτών στο αίμα. ^[26]

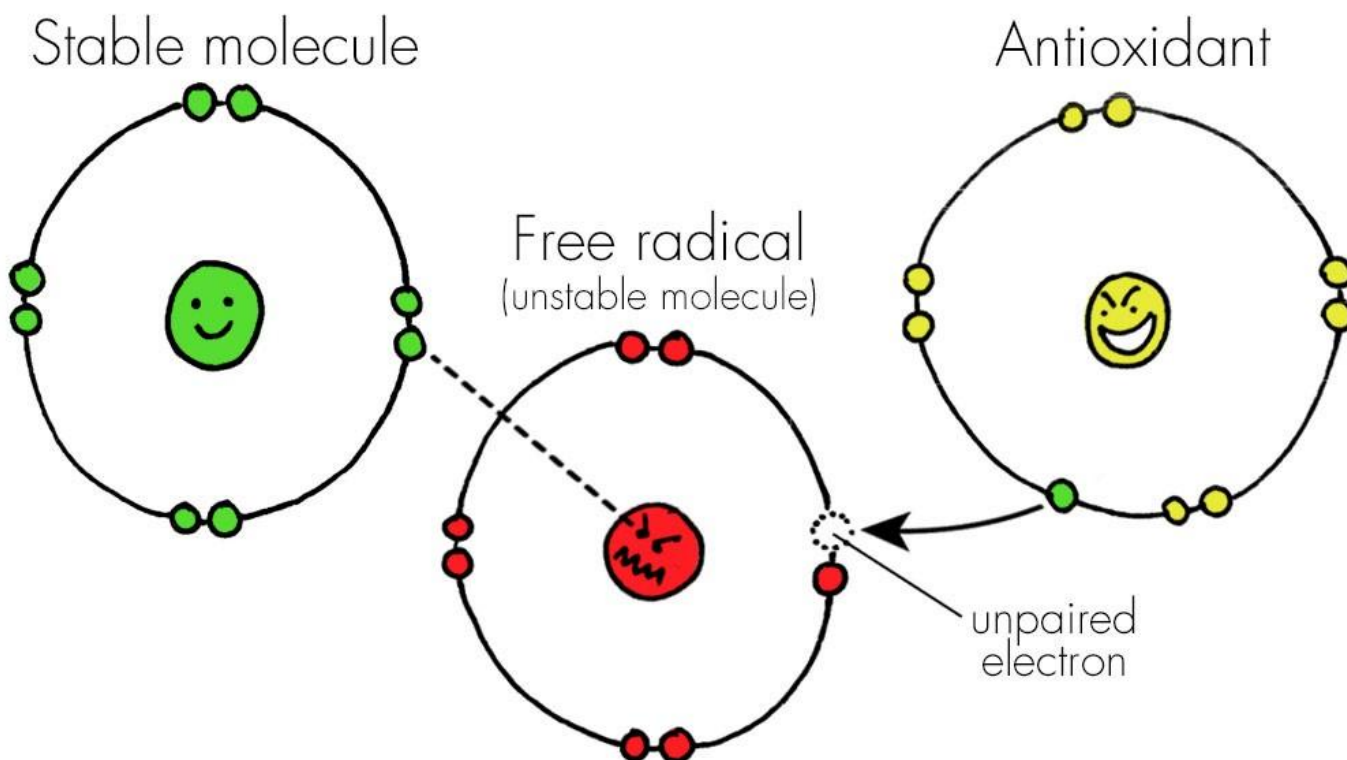
Πρόσφατες μελέτες έχουν αυξήσει σε μεγάλο βαθμό τις γνώσεις μας για τις συγκεντρώσεις στο πλάσμα και την έκκριση ούρων σε μεθανόλες πολυφαινόλης στους ανθρώπους. Ωστόσο, οι τιμές για αυτές τις μεταβλητές δεν φαίνεται να συσχετίζονται καλά με τις συγκεντρώσεις που μετρώνται στις μετρήσεις. Τα διαθέσιμα δεδομένα, κυρίως εκείνα που λαμβάνονται από μελέτες σε ζώα, δείχνουν ότι μερικοί μεταβολίτες πολυφαινόλης μπορεί να συσσωρεύονται σε ορισμένους ιστούς στόχους και όχι μόνο να εξισορροπούνται μεταξύ του αίματος και των ιστών. Οι υπάρχοντες μεταβολίτες μπορεί να διαφέρουν μεταξύ των ιστών και του πλάσματος και η φύση αυτών των μεταβολιτών πρέπει να διευκρινιστεί περαιτέρω. Απαιτούνται περισσότερες μελέτες σε ζώα για να διερευνηθεί ο ενδοκυτταρικός μεταβολισμός και η συσσώρευση μεταβολιτών πολυφαινόλης σε συγκεκριμένα όργανα. Ωστόσο, ορισμένες σημαντικές διαφορές μπορεί να υπάρχουν μεταξύ ζώων και ανθρώπων σε μερικές μεταβολικές διεργασίες, ειδικά στη διαδικασία σύζευξης. ^[26]

Η έννοια της βιοδιαθεσιμότητας ενσωματώνει πολλές μεταβλητές, όπως η εντερική απορρόφηση, η έκκριση των γλυκουρονιδίων προς τον εντερικό αυλό, ο μεταβολισμός από την μικροχλωρίδα, ο μεταβολισμός του εντέρου και του ήπατος, η κινητική του πλάσματος, η φύση των κυκλοφορούντων μεταβολιτών, η δέσμευση στην αλβουμίνη, η κυτταρική πρόσληψη, Η συσσώρευση στους ιστούς και η απέκκριση των χοληφόρων και των ούρων. Η δυσκολία έγκειται στην ενσωμάτωση όλων των πληροφοριών και στη συσχέτιση των μεταβλητών με τις επιπτώσεις στην υγεία σε επίπεδο οργάνων. Αυτά τα καθήκοντα καθίστανται ακόμη πιο δύσκολα, επειδή το σχετικό βάρος κάθε μεταβλητής μπορεί να εξαρτάται από την πολυφαινόλη που θεωρείται. Ορισμένες πολυφαινόλες μπορεί να απορροφηθούν λιγότερο αποτελεσματικά από ό, τι άλλες, αλλά παρ' όλα αυτά επιτυγχάνουν ισοδύναμες συγκεντρώσεις στο πλάσμα λόγω της χαμηλότερης έκκρισης προς τον εντερικό αυλό και του χαμηλότερου μεταβολισμού και αποβολής. ^[26]

Η καλύτερη γνώση της βιοδιαθεσιμότητας είναι απαραίτητη για την διερεύνηση των επιδράσεων των πολυφαινόλων στην υγεία, ανεξάρτητα από την προσέγγιση που ακολουθείται. Το γεγονός ότι οι αγλυκόνες δεν είναι σημαντικοί μεταβολίτες στο αίμα λόγω εκτεταμένης εντερικής και ηπατικής σύζευξης έχει μέχρι στιγμής αγνοηθεί και πολλές μελέτες in vitro σχετικά με τους μηχανισμούς δράσης των πολυφαινόλων συνεχίζουν να επικεντρώνονται σε αγλυκόνες ή γλυκοσίδες αντί στους ταυτοποιημένους μεταβολίτες. Συχνά σε συγκεντρώσεις που δεν μπορούν να επιτευχθούν ρεαλιστικά στο σώμα. Είναι επομένως απαραίτητο να επιβεβαιώσουμε τις επιδράσεις που παρατηρούνται με τα αγλυκόνια μέσω μελετών που χρησιμοποιούν φυσιολογικές συγκεντρώσεις των μεταβολιτών που βρίσκονται πραγματικά στο σώμα. Επιπλέον, οι δραστηριότητες των μικροβιακών μεταβολιτών πρέπει να εξετάζονται σε περαιτέρω μελέτες για τον προσδιορισμό των ενεργών δομών, των διαθέσιμων συγκεντρώσεων και της πιθανής διαμόρφωσης της ικανότητας της μικροχλωρίδας να παράγει

τέτοιους μεταβολίτες. Οι κλινικές μελέτες θα βοηθήσουν σημαντικά στην διερεύνηση της επίδρασης στην υγεία των πολυφαινόλων, υπό την προϋπόθεση ότι υπάρχουν δείκτες επιπτώσεων που είναι αξιόπιστοι και σχετίζονται με την πρόληψη ασθενειών. Η καλύτερη γνώση ορισμένων μεταβλητών βιοδιαθεσιμότητας πολυφαινόλης, όπως η κινητική της απορρόφησης, της συσσώρευσης και της εξάλειψης, θα διευκολύνει το σχεδιασμό αυτών των σπουδών. Εκτός αυτού, μπορούν πλέον να χρησιμοποιηθούν ακριβέστερα δεδομένα για τη φύση των μεταβολιτών που κυκλοφορούν και για το μεταβολισμό από τη μικροχλωρίδα για ερμηνείες. Για παράδειγμα, λαμβάνοντας υπόψη το αν τα υποκείμενα είναι παραγωγοί ίσων ή μη ισόβιοι παραγωγοί φαίνεται ιδιαίτερα συνετός στην εκτίμηση των επιπτώσεων στην υγεία της κατανάλωσης ισοφλαβόνης σόγιας. [26]

Η έρευνα για τη βιοδιαθεσιμότητα της πολυφαινόλης πρέπει τελικά να μας επιτρέψει να συσχετίσουμε την πρόσληψη πολυφαινόλης με μία ή περισσότερες ακριβείς μετρήσεις βιοδιαθεσιμότητας (όπως συγκεντρώσεις βασικών βιοδραστικών μεταβολιτών στο πλάσμα και τους ιστούς) και με πιθανές επιδράσεις στην υγεία σε επιδημιολογικές μελέτες. Η γνώση αυτών των συσχετίσεων πρέπει να επιτευχθεί παρά τις δυσκολίες που συνδέονται με την μεγάλη ποικιλομορφία των πολυφαινόλων, τις διαφορετικές βιοδιαθεσιμότητες τους και την υψηλή διακυτταρική μεταβλητότητα που παρατηρείται σε ορισμένες μεταβολικές διεργασίες, ειδικά εκείνες στις οποίες εμπλέκεται η μικροχλωρίδα. [26]



ΕΙΚΟΝΑ 6: ΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

1.10 ΑΡΝΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ

Παρά την πληθώρα των ευεργετικών επιδράσεων των πολυφαινολών, οι εν δυνάμει τοξικές επιδράσεις της υπερβολικής κατανάλωσής τους, δυστυχώς παραμένουν άγνωστες. Σε πολύ υψηλές δόσεις, τα φλαβονοειδή μπορούν να δράσουν ως προ-οξειδωτικά, ως αναστολείς σημαντικών ενζύμων, που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των ορμονών καθώς και ως μεταλλαξιγόνα. Επομένως, σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις, οι δυσμενείς επιπτώσεις της κατανάλωσης των φλαβονοειδών υπερτερούν έναντι της θετικής δράσης τους. ^{[30],[46]}

Οι προ-οξειδωτικές ιδιότητες των φλαβονοειδών πιστεύεται ότι είναι ευθέως ανάλογες του συνολικού αριθμού των υδροξυλομάδων. Σε μια μελέτη από τους Hanasaki et al., μια σειρά μονό- και δι-υδροξυφλαβονοειδών δεν επέδειξαν καμία προ-οξειδωτική δράση, ενώ πολλαπλές ΟΗ- ομάδες, ιδιαίτερα στο Β δακτύλιο, αύξησαν σημαντικά τη παραγωγή υδροξυλικών ριζών στην αντίδραση 'Fenton'. Παράδειγμα αποτελεί η ένωση μυρικετίνη, η οποία διαπιστώθηκε ότι επάγει τη παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου, από το οποίο η αντίδραση 'Fenton' μπορεί να δημιουργήσει πολύ ενεργές υδροξυλ-ρίζες. Επιπλέον, υπάρχουν στοιχεία που αποδεικνύουν ότι οι φλαβόνες με ακόρεστο 2,3-δεσμό και 4-οξο-διαμόρφωση, μπορούν να διεγείρουν το σχηματισμό ενεργών μορφών οξυγόνου, επαγόμενο από το ιόν του χαλκού (Cu^{2+}) παρουσία οξυγόνου. ^{[46],[47]}

Συνολικά, οι παραπάνω πληροφορίες δείχνουν ότι ορισμένα δομικά χαρακτηριστικά, που ισχυροποιούν την αντιοξειδωτική ικανότητα των φλαβονοειδών, μπορεί από την άλλη να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες και οξειδωτική βλάβη σε λειτουργικά και δομικά κυτταρικά μόρια. Σ' αυτές τις προ-οξειδωτικές ιδιότητες αποδίδονται και οι κυτταροτοξικές και προ-αποπτωτικές επιδράσεις των φλαβονοειδών, που απομονώνονται από ορισμένα φαρμακευτικά βότανα. ^{[30],[46]}

Χαρακτηριστικά αναφέρουμε τις κατεχίνες του πράσινου τσαγιού, οι οποίες μπορούν να επιδείξουν προ-οξειδωτικές δράσεις ιδιαίτερα σε υψηλές συγκεντρώσεις. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις (1-50 μM), δρουν ως αντιοξειδωτικά και αντί-αποπτωτικά, ενώ σε συγκεντρώσεις της τάξης 100-500 μM , δρουν αντίστροφα. Μελέτες έχουν δείξει ότι εκχύλισμα πράσινου τσαγιού (10-200 $\mu\text{g/mL}$) και της κατεχίνης EGCG (20-200 μM), προκάλεσαν οξειδωτικό στρες και κυτταροτοξικότητα, επαγόμενα από υπεροξειδίο του υδρογόνου, σε καλλιέργειες μακροφάγων κυττάρων. ^[46]

Η έκθεση σε μεταλλαξιγόνους ή προ-μεταλλαξιγόνους παράγοντες της διατροφής, θεωρείται σημαντικό στοιχείο στην αιτιολογία του ανθρώπινου καρκίνου. Μελέτες που αφορούν τη μεταλλαξιγόνο δράση της περίσσειας φλαβονοειδών, αποδεικνύουν ότι η ένωση κερσετίνη έχει την ικανότητα να προκαλεί μεταλλάξεις υποκατάστασης ζευγών βάσεων και μετατόπισης αναγνωστικού πλαισίου, οδηγώντας σε χρωμοσωματικές διαταραχές σε καλλιέργειες κυττάρων. ^{[46],[48]}

Ομοίως, άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι οι φλαβονόλες, όπως η κερκετίνη, προκαλούν σπάσιμο της αλυσίδας του DNA, μέσω της αναγωγής του Cu(II) σε Cu(I) και της παραγωγής ενεργών μορφών οξυγόνου. Οι ενεργές μορφές οξυγόνου, όπως οι υπεροξειδικές και υδροοξυλικές ρίζες, πιθανότατα ευθύνονται και για την αποικοδόμηση του DNA, που παρατηρήθηκε σε απομονωμένους πυρήνες ηπατικών κυττάρων επίμυων, μετά από επεξεργασία με τα φλαβονοειδή μυρικετίνη, ναριγκενίνη και

μορίνη. ^{[46],[48]}

Η κατανάλωση φλαβονοειδών σε υψηλές συγκεντρώσεις είναι υπεύθυνη και για τη μείωση της πρόσληψης και ενσωμάτωσης του ιόντος ιωδίου, σε μελέτες σε ζώα. Αυτά τα στοιχεία συμφωνούν και με τα περιστατικά ενδημικής βρογχοκήλης (αυξημένο μέγεθος του θυρεοειδούς αδένα), που παρατηρούνται σε πληθυσμούς όπου το πλούσιο σε φλαβόνες κεχρί, αποτελεί το κύριο διατροφικό προϊόν. ^{[46],[48]}

Συνοψίζοντας, ενώ υπάρχουν αρκετά στοιχεία που αποδεικνύουν ότι μια διατροφή πλούσια σε φλαβονοειδή μπορεί να ευνοήσει την ανθρώπινη υγεία και να προστατεύσει από τις εξαρτώμενες από την ηλικία ασθένειες, εντούτοις παραμένουν ακόμα αδιευκρίνιστες οι συνθήκες και τα επίπεδα της κατανάλωσης φλαβονοειδών, που μπορούν να θέσουν σε κίνδυνο την ανθρώπινη υγεία. Οι πληθυσμοί με τη χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης αυτών των εκφυλιστικών ασθενειών είναι οι Ασιάτες και οι χορτοφάγοι. Βασιζόμενοι στη κατά μέσο όρο ημερήσια κατανάλωση φλαβονολών (68 mg) και ισοφλαβονών (20-240 mg) από τους Ασιατικούς πληθυσμούς, η πρόσληψη τέτοιων δόσεων είναι μάλλον απίθανο να επιφέρει δυσμενείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία. Τα επίπεδα φλαβονοειδών που απαιτούνται για την επαγωγή μεταλλάξεων και κυτταροτοξικότητας, ίσως δεν είναι δυνατόν να επιτευχθούν φυσιολογικά μέσω των διατροφικών πηγών. Ωστόσο, η χρησιμοποίηση συμπληρωμάτων, ιδιαίτερα αντιοξειδωτικών και μιγμάτων βοτάνων, που συνήθως συνιστώνται σε δόσεις g αντί mg, θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε τοξικά επίπεδα. ^{[30],[46],[48]}

1.11 ΤΣΑΙ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ ΤΟΥ ΕΜΠΟΡΙΟΥ

1.11.1 ΤΥ VUNU

Είναι ένα υγιεινό αναψυκτικό. Τα αποξηραμένα λουλούδια που χρησιμοποιούνται για το τσάι είναι ένα μίγμα των ποικιλιών *Sideritis scardica*, *raeseri* και *athoa*, τα οποία βράζονται ελαφρώς σε φυσικό νερό της Ροδόπης. Παράγεται από την Ζυθοποιία Μακεδονίας Θράκης στην Κομοτηνή.

Το τσάι ΤΥ VUNU καλλιεργείται στη Μακεδονία και τη Θράκη και η συγκομιδή γίνεται με το χέρι. Το μέρος του φυτού που συλλέγεται είναι η ταξιανθία σε πλήρη άνθηση μαζί με 5-6 εκατοστά βλαστού.

Τα προϊόντα τους είναι:

- Tuvunu with honey and lemon
- Tuvunu free with lemon
- Tuvunu sparkling water



ΕΙΚΟΝΑ 7: ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΟΥ ΤΥ VUNU

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκαν τα προϊόντα το “Tuvunu with honey and lemon” και “Tuvunu free with lemon” ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση.

Tuvunu with honey and lemon

Συστατικά:

- Νερό
- Σιδερίτης (τσάι του βουνού)
- Μαύρη ακατέργαστη ζάχαρη
- Μέλι ανθέων
- Φυσικός χυμός λεμονιού
- Βιταμίνη C
- Κιτρικό οξύ

Tuvunu free with lemon

Συστατικά:

- Νερό
- Σιδερίτης (τσάι του βουνού)
- Φυσικός χυμός λεμονιού
- Βιταμίνη C

Συσκευασία: Οι καταναλωτές μπορούν να βρουν τα τσάγια σε κουτί αλουμινίου ή σε γυάλινη φιάλη. Τα δείγματα που εξετάστηκαν στο εργαστήριο αφορούν τις συσκευασίες σε αλουμινένιο κουτί.

Η διάρκεια ζωής τους είναι περίπου έναν χρόνο μετά την ημερομηνία παρασκευής των προϊόντων και διατηρούνται στο ράφι. Όταν ανοιχτεί πρέπει να διατηρηθεί στο ψυγείο και να καταναλωθεί μέσα σε 48 ώρες.

Και τα δύο προϊόντα μπορούν να καταναλωθούν και ζεστά και κρύα.

1.11.2 ΤΣΑΙ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ, ΟΛΥΜΠΟΣ

Συλλέγεται με το χέρι, αποξηραίνεται φυσικά για 7 ημέρες και βράζεται παραδοσιακά και ήπια, ελευθερώνοντας τα αρώματα και τα βιοδραστικά συστατικά του ίδιου του φυτού με φυσικό τρόπο, χωρίς καμία περαιτέρω επεξεργασία. Παράγεται από τα Ελληνικά Γαλακτοκομεία Α.Ε. στην Λάρισα.

Τα προϊόντα τους είναι :

- Τσάι του βουνού
- Τσάι του βουνού με λεμόνι
- Τσάι του βουνού με αρώνια
- Τσάι του βουνού με λουίζα
- Τσάι του βουνού με μέντα



ΕΙΚΟΝΑ 8: ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΣΑΙ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ, ΟΛΥΜΠΟΣ

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκαν τα προϊόντα το “ Τσάι του βουνού με αρώνια ” και “ Τσάι του βουνού με λεμόνι ” ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση.

Τσάι του βουνού με λεμόνι

Συστατικά:

- Νερό
- Σιδερίτης (τσάι του βουνού)
- Φυσικός χυμός λεμονιού (0,3%)
- Γλυκοζίτες της στεβιόλης
- Φυσικά σάκχαρα φρούτων από σταφύλι και μήλο

Τσάι του βουνού με αρώνια

Συστατικά:

- Νερό
- Σιδερίτης (τσάι του βουνού)
- Φυσικός χυμός αρώνιας (1,3%)
- Γλυκοζίτες της στεβιόλης
- Φυσικά σάκχαρα φρούτων από σταφύλι και μήλο

Συσκευασία: Τα προϊόντα είναι συσκευασμένα σε συσκευασία Tetra Pak®, FSC μείγμα χαρτόνι από υπεύθυνες πηγές.

Η διάρκεια ζωής τους είναι λιγότερη από έναν μήνα μετά την ημερομηνία παρασκευής των προϊόντων και διατηρούνται στο ψυγείο. Όταν ανοιχτεί πρέπει να διατηρηθεί στο ψυγείο και να καταναλωθεί εντός 5 ημερών.

Και τα πέντε προϊόντα μπορούν να καταναλωθούν τόσο ζεστά, όσο και κρύα.

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Στην παρούσα εργασία, αναλύθηκαν δείγματα του ξηρού φυτού του γένους *Sideritis* spp., όπως και των ειδών *Scardica*, *Raeseri* και *Athoa*. Επίσης, αναλύθηκαν τα δείγματα του εμπορίου “Tununu with honey and lemon”, “Tununu free with lemon”, “Όλυμπος -Τσάι του βουνού με λεμόνι”, και “Όλυμπος -Τσάι του βουνού με αρώνια” με σκοπό τη μελέτη της αντιοξειδωτικής τους δράσης, όπως και το είδος των φαινολικών συστατικών τους. Κύριος σκοπός της παραπάνω επιλογής ήταν η σύγκριση των τριών διαφορετικών ειδών του γένους *Sideritis* spp. μεταξύ τους, καθώς και την σύγκριση των έτοιμων αφεψημάτων που κυκλοφορούν στο εμπόριο. Η εκχύλιση των ξηρών δειγμάτων έγινε με νερό, έτσι ώστε να μελετηθεί η αντιοξειδωτική δράση των αφεψημάτων που προκύπτουν από τις συγκεκριμένες ποικιλίες. Η εργασία επικεντρώθηκε τόσο στην ποσότητα αντιοξειδωτικών που καταναλώνεται από το αγοραστικό κοινό μέσω των τριών αυτών ποικιλιών του εμπορίου, όσο και μέσω των αφεψημάτων που μπορούν να φτιαχτούν σπιτικά. Η επιλογή των τριών αυτών ποικιλιών του γένους *Sideritis* spp. έγινε για δύο λόγους. Πρώτον, γιατί γνωρίζουμε ότι το μείγμα των ειδών *Scardica*, *Raeseri* και *Athoa* χρησιμοποιείται για την δημιουργία των αφεψημάτων “Tununu with honey and lemon” και “Tununu free with lemon”. Δεύτερον, γιατί αυτές οι τρεις ποικιλίες είναι αρκετά διαδεδομένες στον ελληνικό χώρο. Κλείνοντας, επισημαίνεται ότι εφαρμόστηκαν τρεις φωτομετρικοί μέθοδοι για την μελέτη την αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων και η ανάλυση έγινε με HPLC-DAD για τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ, ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Η εκχύλιση των ξηρών δειγμάτων του γένους *Sideritis* spp. έγινε με αποσταγμένο νερό και ακολουθήθηκε η εξής πορεία. Αρχικά, ζυγίζονταν 2,5gr του ξηρού φυτού, το οποίο περιείχε λουλούδια, φύλα και κοτσάνι. Στην συνέχεια, προστίθονταν 100ml νερού και αφήνονταν τα αφεψήματα να βράσουν για 3,5min. Τέλος, γινόταν αποχώρηση του αφεψήματος από το φυτό που έβραζε μέσα με πτυχωτό ηθμό και αφού κρύωναν τα δείγματα γινόταν η ανάλυση τους.

Σε όλα τα δείγματα εφαρμόστηκε η ίδια επεξεργασία και η μέτρηση της αντιοξειδωτικής τους δράσης έγινε την ημέρα της παρασκευής τους.

Ωστόσο, κάθε μέθοδος που εφαρμόστηκε (DPPH, Folin-Ciocalteu, ABTS) έχει διαφορετική φωτομετρική ανταπόκριση από τα δείγματα, ενώ οι αραιώσεις που γίνανε βρέθηκαν πειραματικά και εφαρμόστηκαν για το κάθε δείγμα ξεχωριστά.

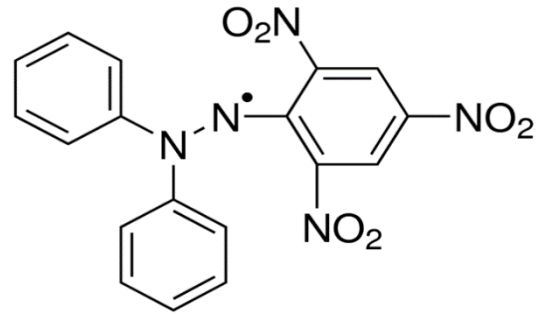
Στα δείγματα του εμπορίου δεν εφαρμόστηκε καμία επεξεργασία. Γίνανε, μόνο αραιώσεις όπου χρειάστηκε και το κάθε δείγμα εξετάστηκε ξεχωριστά ως προς αυτό, έτσι ώστε η απορρόφηση του φωτόμετρου να είναι ανάμεσα στις τιμές 0,20 και 0,80.

Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται οι αραιώσεις που εφαρμόστηκαν:

ΜΕΘΟΔΟΙ	DPPH	FOLIN-CIOCALTEU	ABTS
ΔΕΙΓΜΑΤΑ	g/100ml H ₂ O	g/100ml H ₂ O	g/100ml H ₂ O
Athoa	1,25	2,5	1,25
Raeseri	1,25	2,5	1,25
Scardica	1,25	2,5	1,25
TU VUNU with honey & lemon	1,25	2,5	1,25
TU VUNU with lemon	2,5	2,5	2,5
Όλυμπος με αρώνια	2,5	2,5	2,5
Όλυμπος με λεμόνι	2,5	2,5	2,5

2.2 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ DPPH

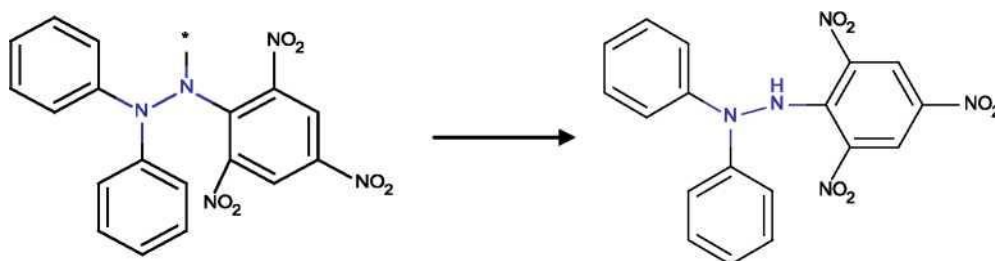
Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας *in vitro* χρησιμοποιείται η ελεύθερη ρίζα 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine (DPPH[•]) (Σχήμα 6) που ανιχνεύτηκε για πρώτη φορά το 1958 από τον Blois (και τροποποιήθηκε ελαφρώς από άλλους ερευνητές). Είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας για φυτικά δείγματα. Ο μηχανισμός της μεθόδου στηρίζεται στη μεταφορά ηλεκτρονίων και ατόμων υδρογόνου από το αντιοξειδωτικό στη σταθερή ελεύθερη ρίζα DPPH[•].^[49] Το μωβ χρώμα της αδέσμευτης ρίζας DPPH[•] μετατρέπεται σε κίτρινο όταν τα αντιοξειδωτικά δεσμεύσουν όλη την ποσότητά της και απορροφάται στα 515nm.^{[15],[50]}



ΣΧΗΜΑ 6 1,1-DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZINE (DPPH[•])

Η DPPH χρησιμοποιείται ευρέως για να ελέγξει την ικανότητα των ενώσεων να δρουν ως σαρωτές ελευθέρων ριζών ή δότες υδρογόνου και να αξιολογούν την αντιοξειδωτική δράση των τροφίμων. Έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την ποσοτικοποίηση αντιοξειδωτικών σε πολύπλοκα βιολογικά συστήματα τα τελευταία χρόνια. Η μέθοδος DPPH μπορεί να χρησιμοποιηθεί για στερεά ή υγρά δείγματα και δεν είναι συγκεκριμένη για κανένα συγκεκριμένο αντιοξειδωτικό συστατικό, αλλά ισχύει για τη συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα ενός δείγματος. Ένα μέτρο της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας βοηθά στην καλύτερη κατανόηση των λειτουργικών ιδιοτήτων των τροφίμων.^[51]

Η 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) αποτελεί μία ρίζα η οποία έχει την τάση να ανάγεται προς 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine. Το DPPH περιέχει ένα μονήρες ηλεκτρόνιο εξαιτίας του οποίου παρουσιάζει έντονη απορρόφηση στα 516 nm με έντονο ιώδες χρώμα. Η δέσμευση αυτού του ηλεκτρονίου έχει σαν αποτέλεσμα τον άμεσο αποχρωματισμό του διαλύματος και συνεπώς την ελάττωση της απορρόφησής του. Επομένως, το ποσοστό της ρίζας που δεν ανάγεται μπορεί να μετρηθεί εύκολα με τη χρήση ενός φωτόμετρου UV-Vis και με την κατασκευή μιας καμπύλης αναφοράς μπορεί να γίνει εύκολα ο υπολογισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων.^[30]



Στη μέθοδο DPPH • ελεύθερης ρίζας (3), η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα μετρείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και επομένως εξαλείφει τον κίνδυνο θερμικής αποικοδόμησης των εξεταζόμενων μορίων.

Το DPPHH είναι ένα προϊόν της αντίδρασης μεταξύ DPPH • και ενός αντιοξειδωτικού (AH):



Η αντιστρεψιμότητα της αντίδρασης εκτιμάται με την προσθήκη DPPHH στο τέλος της αντίδρασης. Εάν υπάρχει αύξηση του ποσοστού του υπόλοιπου DPPH• στο οροπέδιο, η αντίδραση είναι αναστρέψιμη, διαφορετικά πρόκειται για πλήρη αντίδραση. ^[45]

Υψηλές συγκεντρώσεις του DPPH στο μείγμα της αντίδρασης δείχνουν απορρόφηση πέρα από την ακρίβεια των φασματοφωτομετρικών μετρήσεων. ^[53] Ως αποτέλεσμα αυτών των διαφορών στην αντίδραση, οι τιμές EC50 ακόμη και για τα πρότυπα αντιοξειδωτικά, όπως το ασκορβικό οξύ και το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT) ποικίλουν κατά πολύ. Έτσι, δεν είναι δυνατόν να συγκριθούν τα αποτελέσματα διαφορετικών εργαστηρίων. ^[54] Φως, οξυγόνο και pH του μίγματος αντίδρασης επίσης επηρεάζουν την απορρόφηση του DPPH. ^{[52],[55]}

2.2.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ, ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΚΑΙ ΠΡΟΤΥΠΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

- Απεσταγμένο νερό (H₂O)
- DPPH ρίζα: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (free radical) 95% powder, C₁₈H₁₂N₅O₆, MW:394.32 g/mol, CAS: 1898-66-4, Alfa Aesar GmbH&Co KG, Germany
- Ασκορβικό οξύ: L-Ascorbic acid, Analytical reagent grade, C₆H₈O₆, MW:176.12 g/mol, CAS:50-81-7, Fischer Chemical, UK

2.2.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Αρχικά η ριζική μορφή της DPPH που είναι σε στερεή μορφή διαλύεται σε μεθανόλη και παρασκευάζεται ένα πυκνό (stock) διάλυμα 0.001 M, από το οποίο παρασκευάζεται ένα αραιωμένο διάλυμα 100 μM το οποίο χρησιμοποιείται για την μέτρηση της αντιριζικής ικανότητας των δειγμάτων. Όπως έχει αναφερθεί από προηγούμενες μελέτες η μεγαλύτερη απορρόφηση σε μεθανολικά διαλύματα συνεπάγεται καλύτερη ευαισθησία της DPPH. Έπειτα παρασκευάζονται οι αραιώσεις των δειγμάτων που αναφέρονται στον πίνακα και έχουν προκύψει από δοκιμές αραιώσεων και έχουν επιλεγεί οι βέλτιστες.

Σε πλαστικές κυψελίδες, για κάθε δείγμα, τοποθετούνται 20,0 μL από τα αραιωμένα δείγματα μαζί με 1500,0 μL από το διάλυμα DPPH• 100 μM. Γίνεται ανακίνηση στο σκοτάδι για 1 min και έπειτα μετράται η απορρόφηση στα 516 nm ανά 10min μέχρι να σταθεροποιηθεί η απορρόφηση σε μια ελάχιστη τιμή στο plateau χρόνου.

Ο χρόνος για να φθάσει η αντίδραση το σημείο αυτό, που συμβολίζεται ως $T_{plateau}$, εξαρτάται από το είδος του δείγματος, τη συγκέντρωσή του, τις συνθήκες περιβάλλοντος (θερμοκρασία και φως) και προφανώς τη συγκέντρωση του DPPH. Παράλληλα, σε κάθε χρονική στιγμή, μετράται η απορρόφηση του καθαρού διαλύματος DPPH ώστε να γίνει ο υπολογισμός του ποσοστού ανάσχεσής της στο plateau χρόνου. Επίσης, μετράται και το τυφλό για την διόρθωση του σφάλματος που προκαλείται από τον διαλύτη.

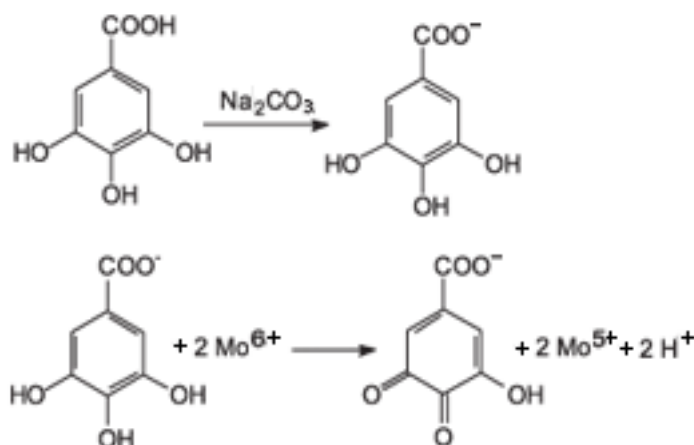
Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιήθηκε το L-ασκορβικό οξύ (L-ascorbic acid, AA) επειδή αντιδρά πλήρως και ταχύτατα με το DPPH και χρειάζεται μόνο μια καταγραφή της τιμής της απορρόφησης. Το stock διάλυμα συγκέντρωσης 1,00 mg/mL παρασκευάζεται από τη διάλυση 0,100 g ασκορβικού οξέος σε 100,00 mL μεθανόλης. Έπειτα παρασκευάζονται τα αραιωμένα διαλύματα του ασκορβικού οξέος συγκεντρώσεων από 800 έως 1800 $\mu\text{g AA/mL}$. Τα διαλύματα του ασκορβικού οξέος παρασκευάζονται την ημέρα της διεξαγωγής του πειράματος. Η πειραματική διαδικασία και οι προσδιορισμοί έγιναν εις τριπλούν (3 διαφορετικές κυψελίδες) για κάθε δείγμα ή διάλυμα της πρότυπης ουσίας κάθε φορά.

2.3 ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ (TOTAL PHENOLIC CONTENT, TPC) - ΜΕΘΟΔΟΣ FOLIN-CIOCALTEU

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του φαινολικού περιεχομένου φυτικής προέλευσης.^[56] Το αντιδραστήριο της μεθόδου Folin-Ciocalteu προτάθηκε αρχικά (1927) για τον προσδιορισμό πρωτεϊνών και αρκετά χρόνια αργότερα η μέθοδος τροποποιήθηκε για την ανάλυση του φαινολικού περιεχομένου στο κρασί.^{[56],[57],[58]} Η μέθοδος είναι απλή, ακριβής και απαιτεί απλό εξοπλισμό.^{[56],[57]}

Είναι μια φωτομετρική μέθοδος που ο βασικός της μηχανισμός είναι η αντίδραση οξειδοαναγωγής, χωρίς να διαχωρίζει τα φαινολικά συστατικά (μονομερή, διμερή).^[56]

Το αντιδραστήριο FC αποτελείται από ένα μείγμα φωσφορομολυβδαινικού οξέος ($H_3PMo_{12}O_{40}$) και φωσφοροβολφραμικού οξέος ($H_3PW_{12}O_{40}$). Η χημική αντίδραση της μεθόδου στηρίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ενώσεων σε αλκαλικό περιβάλλον (Na_2CO_3) σχηματίζοντας οξειδια βολφραμίου (W_8O_{23}) και μολυβδαινίου (Mo_8O_{23}), μπλε χρώματος που ανιχνεύεται φασματοφωτομετρικά στα 750 - 765 nm.^{[56],[59]} Σύμφωνα με Everette et al. (2010) το μπλε χρώμα οφείλεται στο σύμπλεγμα μολυβδαινίου-βολφραμίου που δημιουργείται ως προϊόν της αντίδρασης του FC με τα φαινολικά συστατικά.^{[15],[60],[61]}



2.3.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ, ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΚΑΙ ΠΡΟΤΥΠΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

- Αποσταγμένο νερό (H₂O)
- Ανθρακικό νάτριο (Na₂CO₃): Sodium Carbonate anhydrous, Assay 99,5-100,5%, MW=105,99 g/mol, CAS: 497-19-8, Carlo EΓ eagents, Italy
- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu: Folin-Ciocalteu's phenol reagent, 3H₂O.P₂O₅.14WO₃-4MoO₃.10H₂O & 3H₂O.P₂O₅-13WO₃-5MoO₃.10H₂O, Merck KGaA, Germany
- Γαλλικό οξύ: 3,4,5-Trihydroxybenzoic acid anhydrous 99%, C₇H₆O₅, MW=170,12 g/mol, CAS: 149-91-7, Alfa Aesar GmbH&Co KG, Germany

2.3.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Για όλα τα εκχυλίσματα των δειγμάτων εφαρμόστηκε η ίδια μέθοδος προσδιορισμού του ολικού φαινολικού περιεχομένου με τις ίδιες ποσότητες αντιδραστηρίων. Αρχικά, παρασκευάζεται το κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου Na₂CO₃ ως εξής: Σε 80,0 mL αποσταγμένου H₂O διαλύονται 20,00 g άνυδρου ανθρακικού νατρίου (Na₂CO₃) με τη βοήθεια του βρασμού. Αφού το διάλυμα του ανθρακικού νατρίου επανέλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προστίθενται 8 g περίσσειας Na₂CO₃, και το διάλυμα αφήνεται για 24 h στο σκοτάδι και καλά σφραγισμένο. Τέλος, φιλτράρεται με πτυχωτό ηθμό και αραιώνεται μέχρι τα 100 mL αποσταγμένου H₂O σε ογκομετρική φιάλη. Το διάλυμα αυτό μένει σταθερό και κατάλληλο για χρήση για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ως πρότυπη φαινολική ουσία για την κατασκευή της καμπύλης συσχέτισης επιλέχθηκε το γαλλικό οξύ.

Αρχικά παρασκευάστηκε ένα πυκνό διάλυμα γαλλικού οξέος (stock) συγκέντρωσης 5g GA/L δηλαδή ζυγίστηκε 0,5 g γαλλικού οξέος και διαλυτοποιήθηκαν πλήρως σε 10 mL αιθανόλης και έπειτα αραιώθηκαν στα 100,0mL σε ογκομετρική φιάλη με απιονισμένο νερό. Το πυκνό διάλυμα μπορεί να διατηρηθεί στο ψυγείο για δύο εβδομάδες. Από το πυκνό διάλυμα παρασκευάστηκαν υδατικά διαλύματα συγκεντρώσεων 25 έως 600 mg GA/L.

Αφού τα δείγματα αραιωθούν κατάλληλα όπως φαίνεται στον πίνακα, σε πλαστικές κυψελίδες των 2,5 mL, με τη χρήση ηλεκτρονικών πιπιετών τοποθετούνται 20,0 μL προτύπου ή αραιωμένου δείγματος, 1500,0 μL αποσταγμένου H₂O και 100,0 μL αντιδραστηρίου F-C (βιομηχανικά παρασκευασμένο). Ακολουθεί ισχυρή ανάδευση και μετά από αναμονή 8min, προστίθενται 300,0 μL κορεσμένου διαλύματος Na₂CO₃ και το μείγμα σφραγίζεται με parafilm και αναδεύεται ισχυρά ξανά. Έπειτα, οι κυψελίδες τοποθετούνται για 30 min σε υδρόλουτρο σταθερής θερμοκρασίας 40°C, σε συνθήκες σκότους. Αφού αναπτυχθεί το μπλε χρώμα και το περιεχόμενο των κυψελίδων αποκτήσει τη θερμοκρασία περιβάλλοντος, τότε μετράται σε φασματοφωτόμετρο η απορρόφηση στα 750 nm για κάθε δείγμα ή πρότυπο. Η διόρθωση στο σφάλμα της τιμής της απορρόφησης εξαιτίας του διαλύτη των δειγμάτων και των προτύπων γίνεται με "τυφλό" δείγμα. Η πειραματική διαδικασία και οι προσδιορισμοί έγιναν εις τριπλούν (3 διαφορετικές κυψελίδες) για κάθε δείγμα ή διάλυμα της πρότυπης ουσίας κάθε φορά, ενώ διαφορετικές σειρές πειραμάτων πραγματοποιήθηκαν σε μια ημέρα, αλλά και σε διαφορετικές ημέρες.

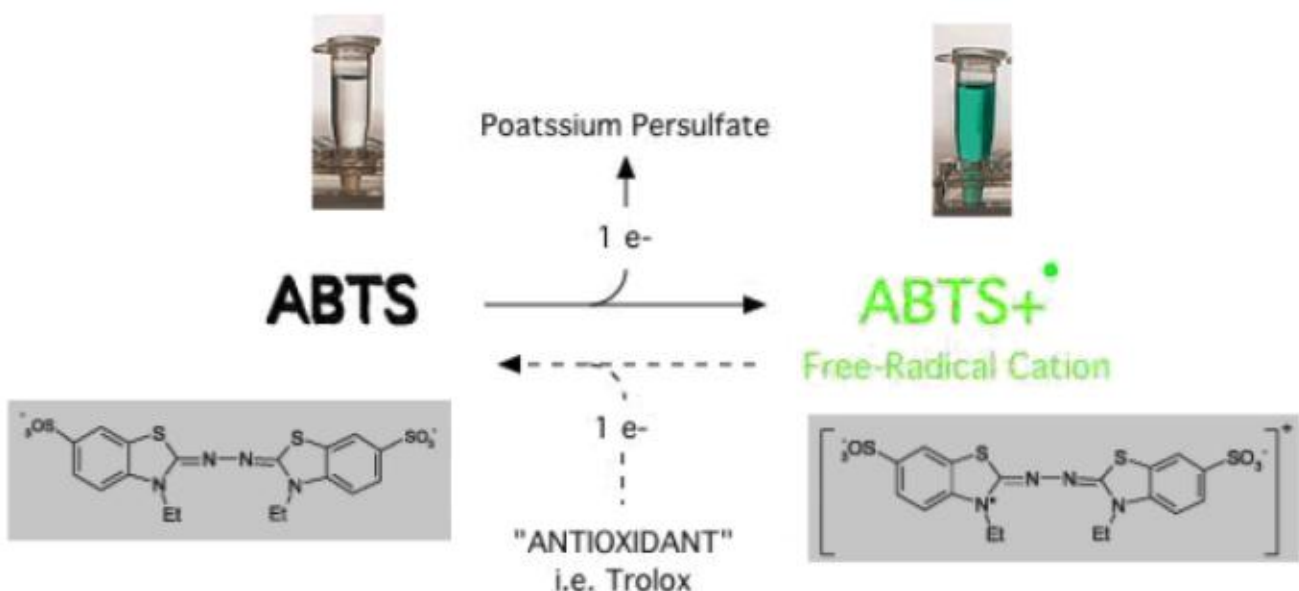
2.4 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ ABTS^{*+}

[2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]

Η μέθοδος ABTS είναι ένας προσδιορισμός αποχρωματισμού που ισχύει τόσο για τα λιπόφιλα όσο και για τα υδρόφιλα αντιοξειδωτικά. Η μέθοδος ABTS μετρά την ικανότητα των πρωτόνιο δοτών αντιοξειδωτικών ώστε να δεσμευτεί το ριζικό κατιόν ABTS⁺.

Η προ-σχηματισμένη ριζική ένωση 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS^{•+}) παράγεται με οξείδωση του ABTS με υπερθειικό κάλιο και ανάγεται παρουσία τέτοιων αντιοξειδωτικών δοτών υδρογόνου. Οι παράμετροι τόσο της συγκέντρωσης του αντιοξειδωτικού όσο και της διάρκειας της αντίδρασης στην αναστολή της ριζικής απορρόφησης κατιόντων λαμβάνονται υπόψη κατά τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας. Πρώτον, η χημεία περιλαμβάνει την άμεση δημιουργία της ριζικής ρίζας ABTS χωρίς την εμπλοκή μιας ενδιάμεσης ριζοσπαστικής. Δεύτερον, είναι ένας προσδιορισμός αποχρωματισμού. Οπότε το ριζικό κατιόν προ-σχηματίζεται πριν από την προσθήκη αντιοξειδωτικών αντί της δημιουργίας της ρίζας που λαμβάνει χώρα συνεχώς παρουσία του αντιοξειδωτικού. Τρίτον, είναι εφαρμόσιμο τόσο στα υδατικά όσο και στα λιπόφιλα συστήματα. [62],[63]

Γίνεται άμεση παραγωγή του μπλε / πράσινου ABTS^{*+} χρωμοφόρου μέσω της αντίδρασης μεταξύ ABTS και υπερθειικού καλίου. Η προσθήκη αντιοξειδωτικών στο προ-σχηματισμένο ριζικό κατιόν μειώνοντάς το και σχηματίζοντας το ABTS σε βαθμό και σε χρονική κλίμακα ανάλογα με την αντιοξειδωτική δράση, τη συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού και τη διάρκεια της αντίδρασης. Έτσι, η έκταση του αποχρωματισμού ως εκατοστιαία αναστολή του κατιόντος ριζών ABTS^{*+} προσδιορίζεται ως συνάρτηση της συγκέντρωσης και του χρόνου και υπολογίζεται σε σχέση με την αντιδραστικότητα του Trolox ως πρότυπο υπό τις ίδιες συνθήκες. Η μέθοδος εφαρμόζεται στη μελέτη τόσο υδατοδιαλυτών όσο και λιποδιαλυτών αντιοξειδωτικών, καθαρών ενώσεων και εκχυλισμάτων τροφίμων. [63]



2.4.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ, ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΚΑΙ ΠΡΟΤΥΠΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

- Απεσταγμένο νερό (H₂O)
- Υπερθειικό νάτριο (Na₂S₂O₈)
- Αιθανόλη 98%
- ABTS: ABTS 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid ammonium salt I) (Spectrophotometric reagent for free chlorine and use as chromogenic substrate in enzyme-immunoassay) >98,0%, C₁₆H₂₄N₆O₆S₄, MW=548,68 g/mol, CAS: 30931-67-0, TCI Tokyo Chemical Industry Co. LTD, Japan.
- Trolox: 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid 97%, C₁₄H₁₈O₄, MW=250,29 g/mol CAS: 53188-07-01, Sigma-Aldrich, Germany.

2.4.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

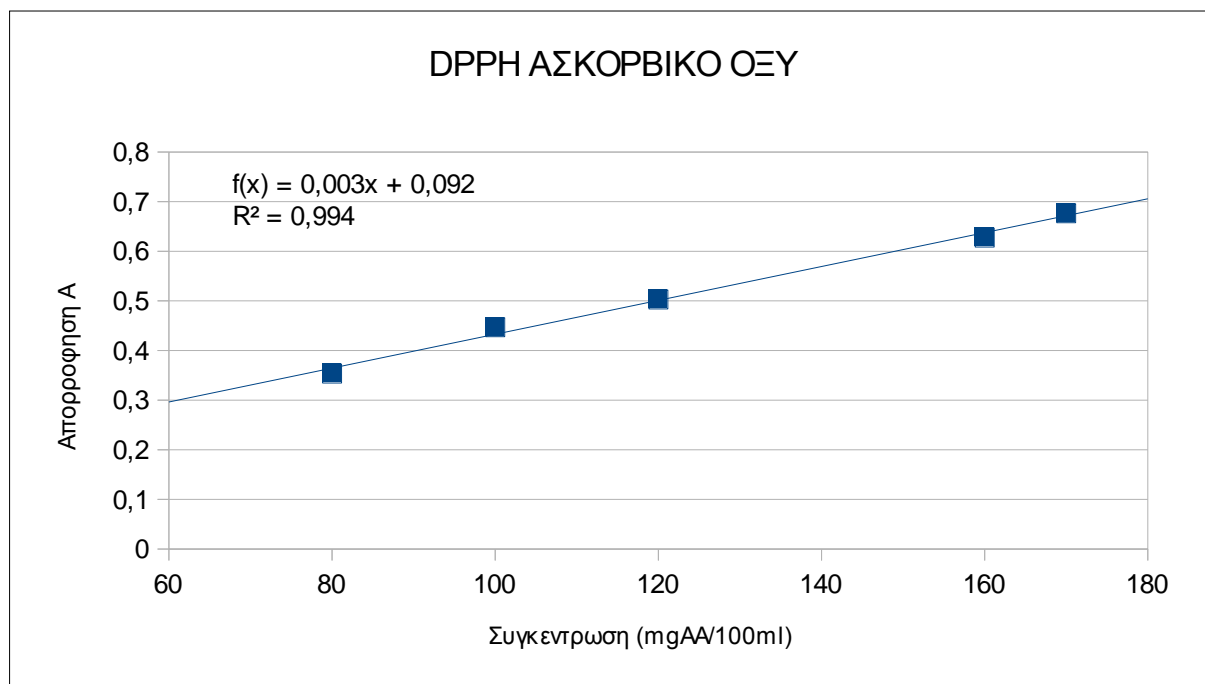
Πρώτο στάδιο αποτελεί η δημιουργία της ρίζας ABTS^{•+}. Παρασκευάζεται υδατικό διάλυμα που περιέχει εν διαλύσει την ουσία ABTS συγκέντρωσης 7,00 mM που είναι το πυκνό διάλυμα της ρίζας (stock) και υπερθειικό νάτριο (Na₂S₂O₈) σε συγκέντρωση 2,45 mM. Το μείγμα αφήνεται 16 ώρες στο σκοτάδι και σε θερμοκρασία δωματίου. Η οξειδωση της ABTS από τα υπερθειικά ιόντα ξεκινά κατευθείαν, αλλά η στοιχειομετρία της αντίδρασης είναι 1:0,5, οπότε η οξειδωση θα είναι ατελής. Η ρίζα υπό τη μορφή του μονοκατιόντος είναι σταθερή για πάνω από 2 μέχρι 4 ημέρες αποθηκευμένη σε σκοτάδι και στο ψυγείο. Πριν από την χρήση της ABTS⁺ για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων το διάλυμα της ρίζας αραιώνεται κατάλληλα με αιθανόλη ώστε να δίνει τιμή απορρόφησης 0,70±0,02. Ως πρότυπη ουσία χρησιμοποιείται η Trolox, της οποίας το stock παρασκευάζεται σε αιθανολικό διάλυμα 0,006 M, και από αυτό διαλύματα συγκεντρώσεων από 0,20 έως 1,50 mM για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης.

Αφού τα δείγματα του ιπποφαούς και της λουίζας αραιωθούν κατάλληλα όπως φαίνεται στον πίνακα έπειτα σε πλαστικές κυψελίδες των 2,5 mL, με τη χρήση ηλεκτρονικών πιπιετών τοποθετούνται 15,0 μL προτύπου ή αραιωμένου δείγματος, 1500,0 μL, του αραιωμένου διαλύματος της ρίζας ABTS⁺. Οι κυψελίδες σφραγίζονται με parafilm και αναδεύονται ισχυρά, φυλάσσονται στο σκοτάδι και φωτομετρούνται στα 734nm έπειτα από την πάροδο 5min λεπτών από την ανάδευση. Η διόρθωση στο σφάλμα της τιμής της απορρόφησης εξαιτίας του διαλύτη των δειγμάτων και των προτύπων γίνεται με "τυφλό" δείγμα. Η πειραματική διαδικασία και οι προσδιορισμοί έγιναν εις τριπλούν (3 διαφορετικές κυψελίδες) για κάθε δείγμα ή διάλυμα της πρότυπης ουσίας κάθε φορά.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

3.1 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ DPPH ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΤΣΑΙ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ

Η εκτίμηση της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας DPPH των δειγμάτων του ιπποφαούς και της λουίζας και των δύο σοδειών είναι άλλη μία μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρέως για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας εκχυλισμάτων και αφεψημάτων δειγμάτων φυτικής προέλευσης. Για να γίνει η εκτίμηση της αντιριζικής ικανότητας των δειγμάτων υπολογίστηκαν τα ισοδύναμα mg ασκορβικού οξέος ανά 100ml διαλύματος με βάση μια πρότυπη καμπύλη ασκορβικού οξέος.



Επίσης υπολογίστηκε και η επί τοις εκατό ικανότητα σάρωσης της ρίζας (Radical Scavenging Activity ,RSA) όλων των δειγμάτων με βάση τον παρακάτω τύπο:

$$\%RSA = ((A_{516DPPH} - A_{516Tplateau}) / A_{516DPPH}) \times 100$$

Όπου $A_{516DPPH}$ είναι η απορρόφηση του διαλύματος της DPPH στο plateau του χρόνου στα 516 nm ,δηλαδή στο χρόνο που το δείγμα εμφάνισε την μεγαλύτερη αντιριζική ικανότητα, και $A_{516Tplateau}$ η απορρόφηση του δείγματος στο plateau του χρόνου στα 516nm. Επίσης βρέθηκε η τιμή της Ικανής (απαραίτητης) Συγκέντρωσης EC50 (Efficient Concentration), δηλαδή η ποσότητα δείγματος που απαιτείται για να μειωθεί η αρχική απορρόφηση του διαλύματος της ρίζας (και άρα η συγκέντρωσή του) κατά 50%. Όσο χαμηλότερη η τιμή της EC50 τόσο μεγαλύτερη η αντιριζική δράση του δείγματος.

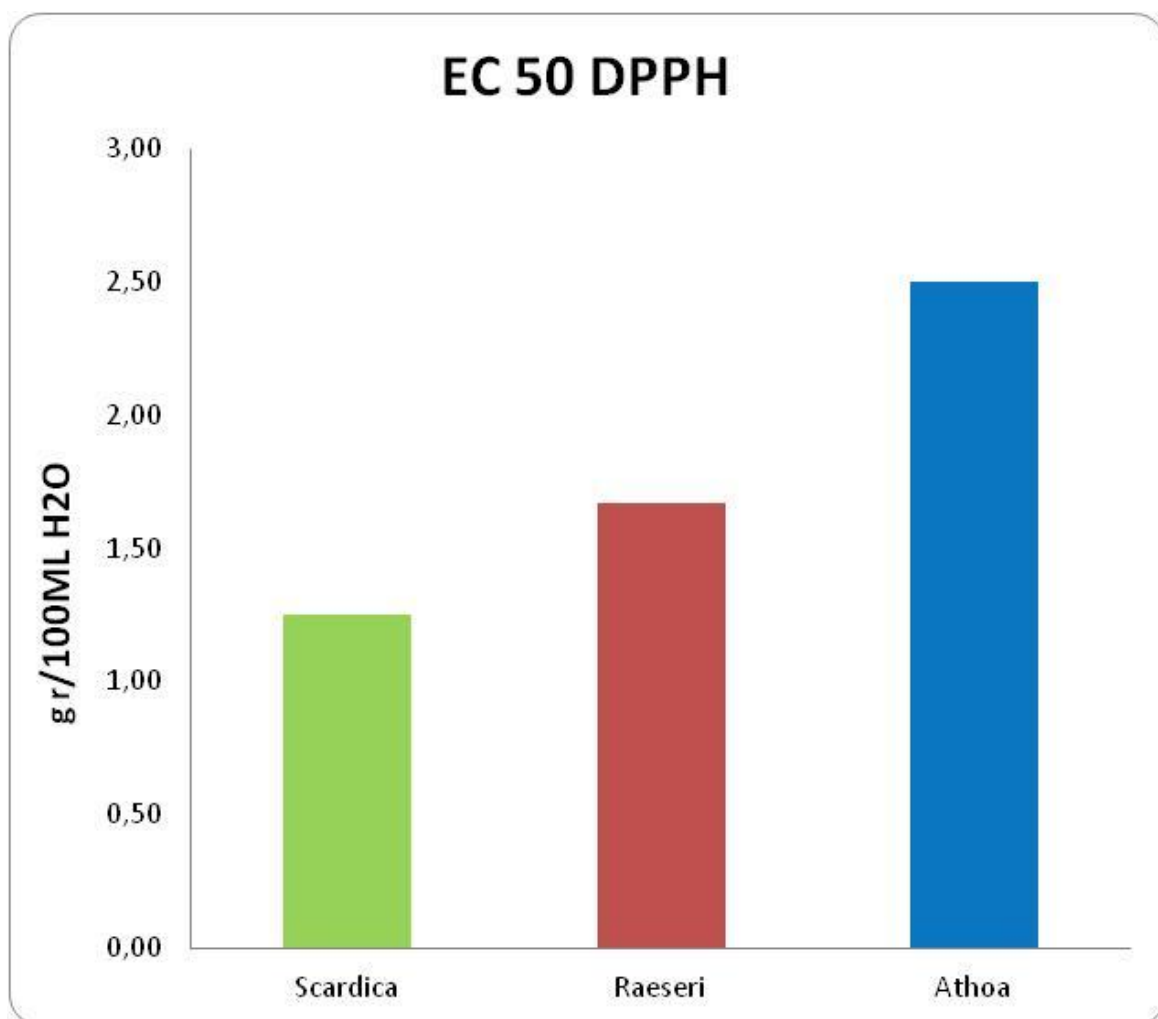
Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα ισοδύναμα του ασκορβικού οξέος για κάθε δείγμα από αφεψήματα που δημιουργήθηκαν στο εργαστήριο από την κάθε ποικιλία ξεχωριστά όπως επίσης και %RSA κάθε δείγματος.

ΜΕΘΟΔΟΣ	DPPH		
ΔΕΙΓΜΑΤΑ	mgAA/100ml*	mgAA/100ml**	Max % ανάσχεση
Athoa	138,2±32,0	138,2±22,2	33,1
Raeseri	154,5±26,3	154,5±19,4	36,1
Scardica	303,6±49,6	303,6±48,6	59,8

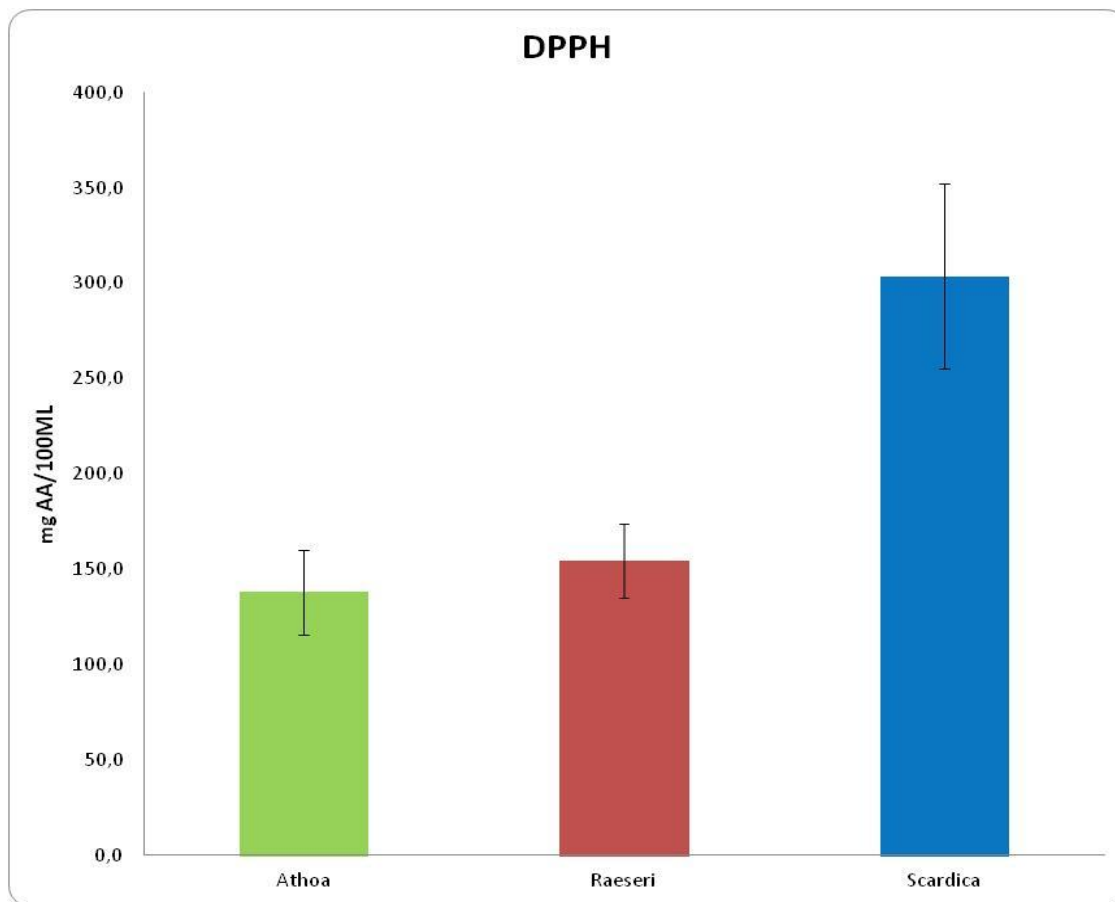
* ± Τυπική απόκλιση (standard deviation)

** ± 95% Διάστημα εμπιστοσύνης (95% confidence interval)

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα τα αφεψήματα της ποικιλίας Scardica του Σιδερίτη παρουσιάζει την μεγαλύτερη αντιριζική ικανότητα. Ύστερα ακολουθούν τα αφεψήματα της ποικιλίας Raeseri με περίπου την μισή αντιριζική ικανότητα από την Scardica. Τα αφεψήματα της ποικιλίας Athoa έχουν την μικρότερη περιεκτικότητα σε αντιριζικές ενώσεις. Το ίδιο μπορεί να παρατηρηθεί και από το διάγραμμα EC50.



Όπως φαίνεται και στο διάγραμμα παρουσίασης των δειγμάτων από αφεψήματα που δημιουργήθηκαν στο εργαστήριο από την κάθε ποικιλία ξεχωριστά.



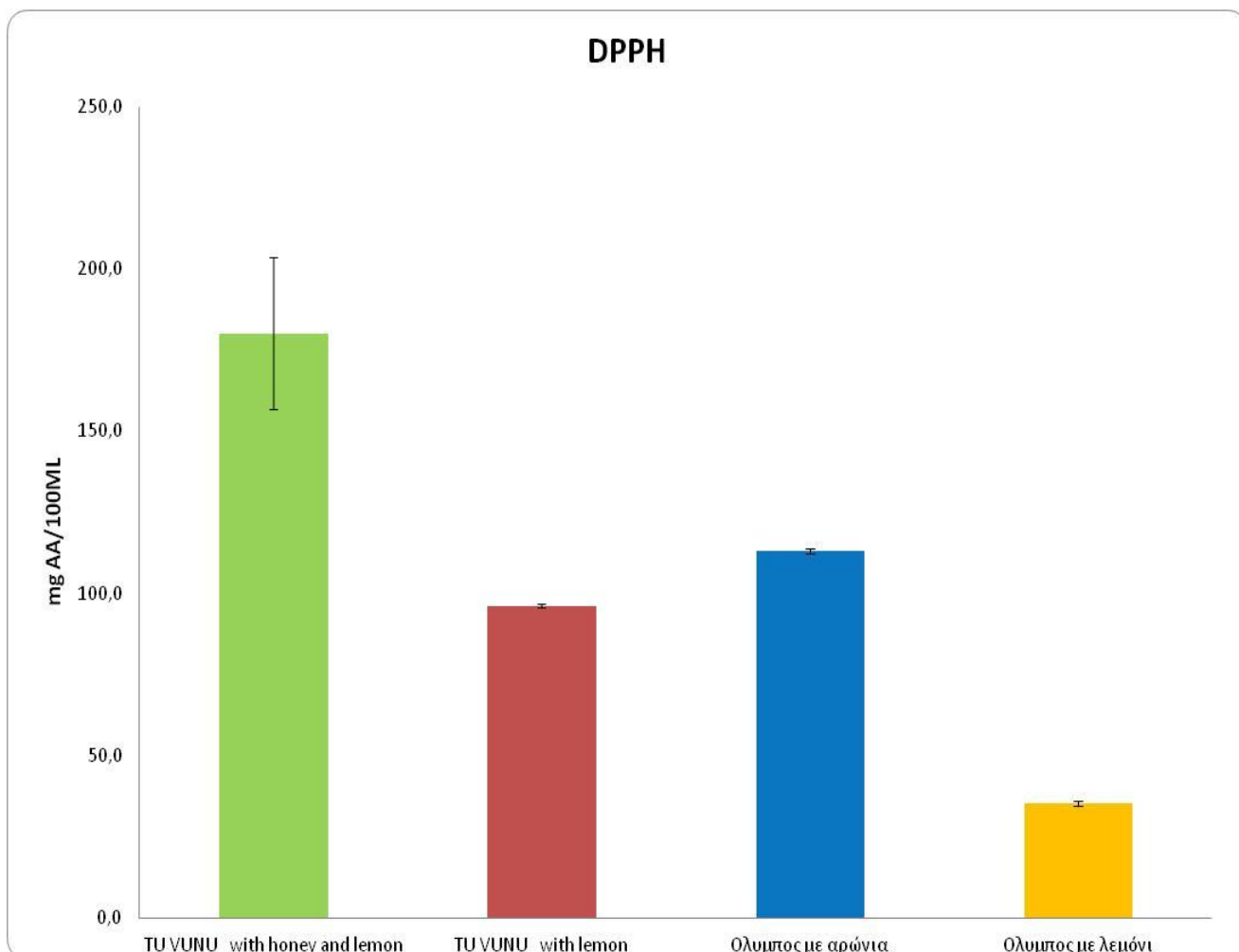
Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα ισοδύναμα του ασκορβικού οξέος για κάθε δείγμα εμπορίου όπως επίσης και %RSA κάθε δείγματος.

ΜΕΘΟΔΟΣ	DPPH		
	ΔΕΙΓΜΑΤΑ	mgAA/100ml*	mgAA/100ml**
TU VUNU with honey&lemon	180,2±16,9	180,2±23,4	38,9
TU VUNU with lemon	96,2±0,4	96,2±0,5	42,2
Όλυμπος με αρώνια	113,0±0,6	113,0±0,8	40,3
Όλυμπος με λεμόνι	35,3±0,6	35,3±0,9	22,8

* ± Τυπική απόκλιση (standard deviation)

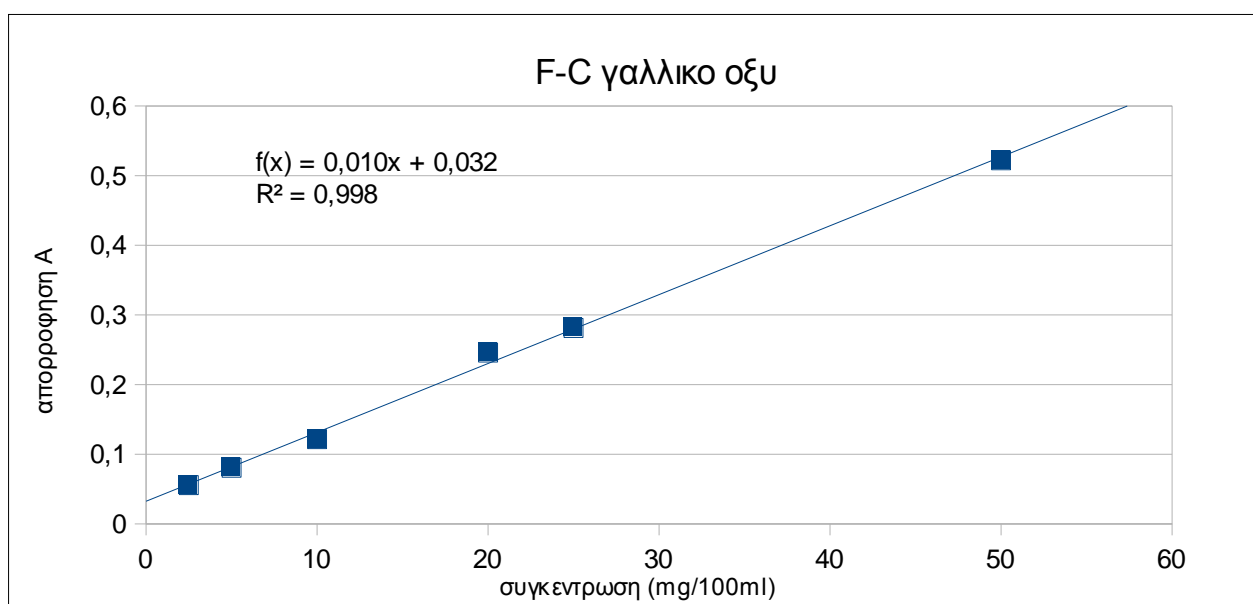
** ± 95% Διάστημα εμπιστοσύνης (95% confidence interval)

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα το αφέψημα του εμπορίου με την μεγαλύτερη αντιριζική ικανότητα είναι το “TU VUNU with honey and lemon”, ωστόσο αυτό είναι και το λογικό αφού περιέχει πρόσθετο ασκορβικό οξύ. Το δεύτερο με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε αντιριζικές ενώσεις είναι το “Όλυμπος με αρώνια”. Τρίτο στην κατάταξη βρίσκεται το “TU VUNU with lemon” με περίπου την μισή αντιριζική ικανότητα από το “TU VUNU with honey and lemon” που είναι της ίδιας εταιρίας. Την μικρότερη περιεκτικότητα σε αντιριζικές ενώσεις βρέθηκε να έχει το “Όλυμπος με λεμόνι, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα παρουσίασης των δειγμάτων του εμπορίου.



3.2 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΥΝΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ (Total Phenolic Content, TPC) ΠΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗΚΑΝ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ FOLIN-CIOCALTEU

Η εκτίμηση του συνολικού φαινολικού περιεχομένου έγινε με την μέθοδο Folin- Ciocalteu. Για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων κατασκευάζεται γραφικά η πρότυπη καμπύλη μέσω της οποίας υπολογίζεται η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών των δειγμάτων εκφρασμένη σε ισοδύναμα του γαλλικού οξέος (GallicAcid Equivalents, GAE).



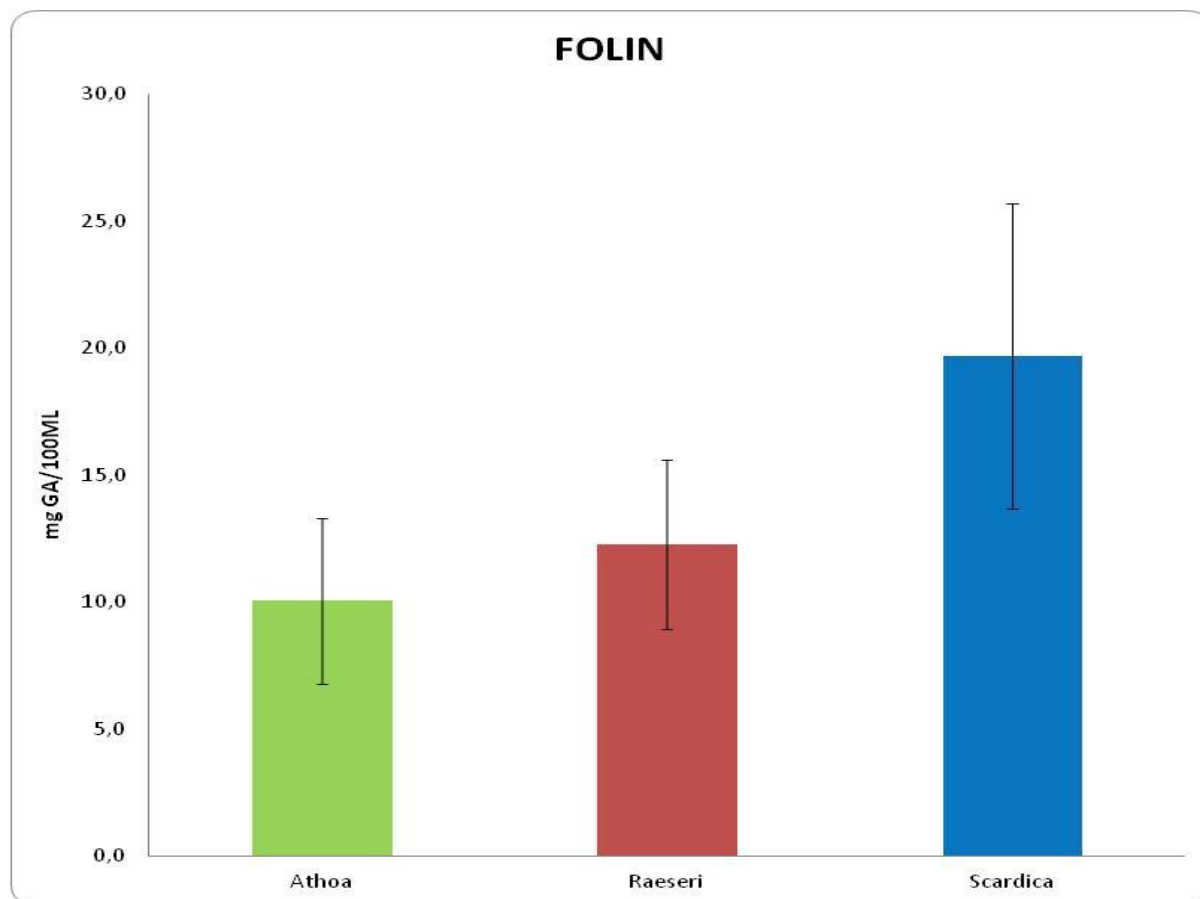
Στον παρακάτω πίνακα δίνονται οι συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων των δειγμάτων από αφεψήματα που δημιουργήθηκαν στο εργαστήριο από την κάθε ποικιλία ξεχωριστά εκφρασμένη σε ισοδύναμα mg γαλλικού οξέος ανά 100mL διαλύματος.(Gallic Acid Equivalents ,mgGAE/100mL).

ΜΕΘΟΔΟΣ	FOLIN	
	mgGA/100ml*	mgGA/100ml**
ΔΕΙΓΜΑΤΑ		
Athoa	10,0±4,4	10,0±3,3
Raeseri	12,3±4,8	12,3±3,3
Scardica	19,7±7,5	19,7±6,0

* ± Τυπική απόκλιση (standard deviation)

** ± 95% Διάστημα εμπιστοσύνης (95% confidence interval)

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα τα αφεψήματα της ποικιλίας Scardica του Σιδερίτη παρουσιάζει την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά. Ύστερα ακολουθούν τα αφεψήματα της ποικιλίας Raeseri με αρκετά μικρότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά από την Scardica. Τα αφεψήματα της ποικιλίας Athoa παρουσιάζουν την μικρότερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις και περίπου τα μισά από την Scardica. Το ίδιο φαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα.



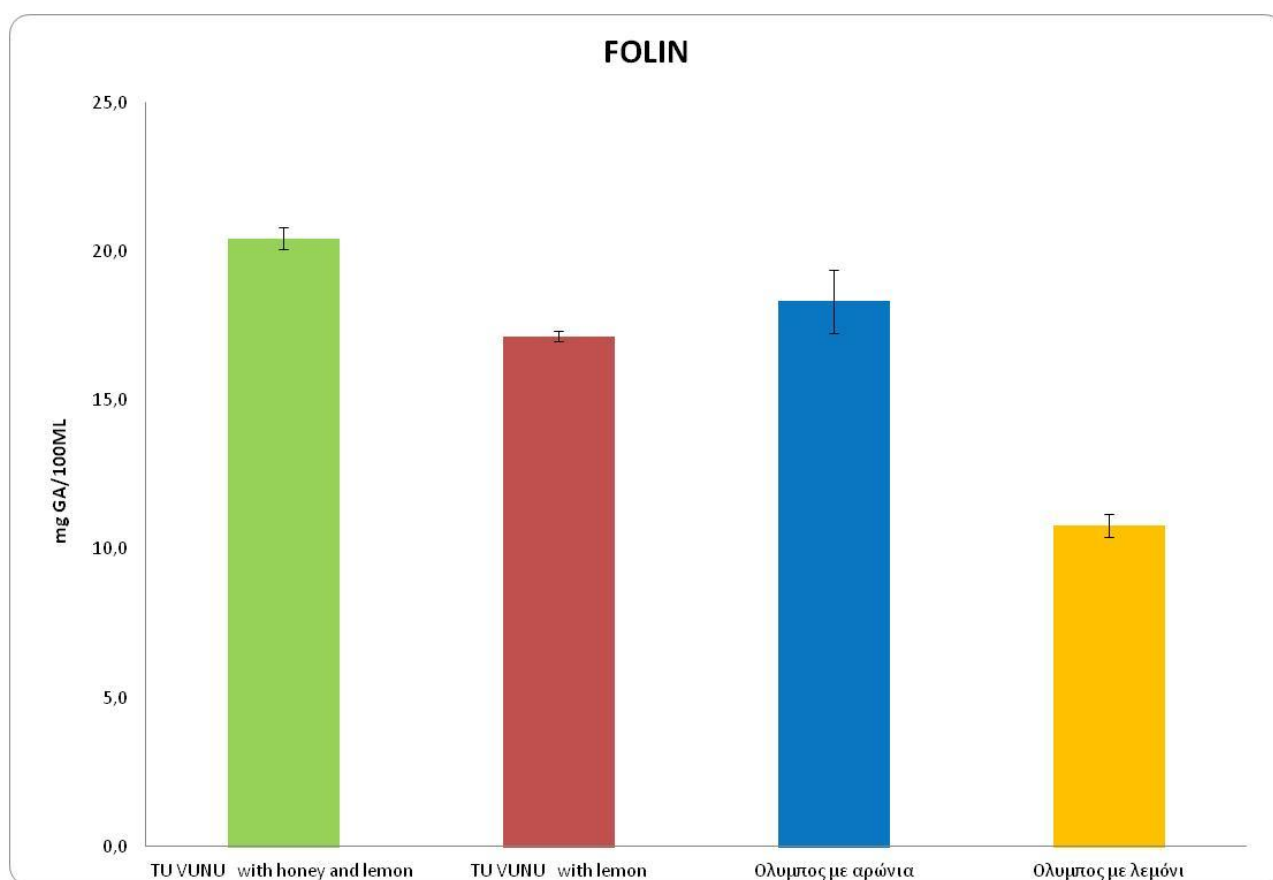
Στον παρακάτω πίνακα δίνονται οι συγκεντρώσεις των φαινολικών ενώσεων των δειγμάτων εμπορίου εκφρασμένη σε ισοδύναμα mg γαλλικού οξέος ανά 100mL διαλύματος.(Gallic Acid Equivalents ,mgGAE/100mL).

ΜΕΘΟΔΟΣ	FOLIN	
	mgGA/100ml*	mgGA/100ml**
ΔΕΙΓΜΑΤΑ		
TU VUNU with honey&lemon	20,4±0,3	20,4±0,4
TU VUNU with lemon	17,1±0,2	17,1±0,2
Όλυμπος με αρώνια	18,3±0,9	18,3±1,1
Όλυμπος με λεμόνι	10,8±0,4	10,8±0,4

* ± Τυπική απόκλιση (standard deviation)

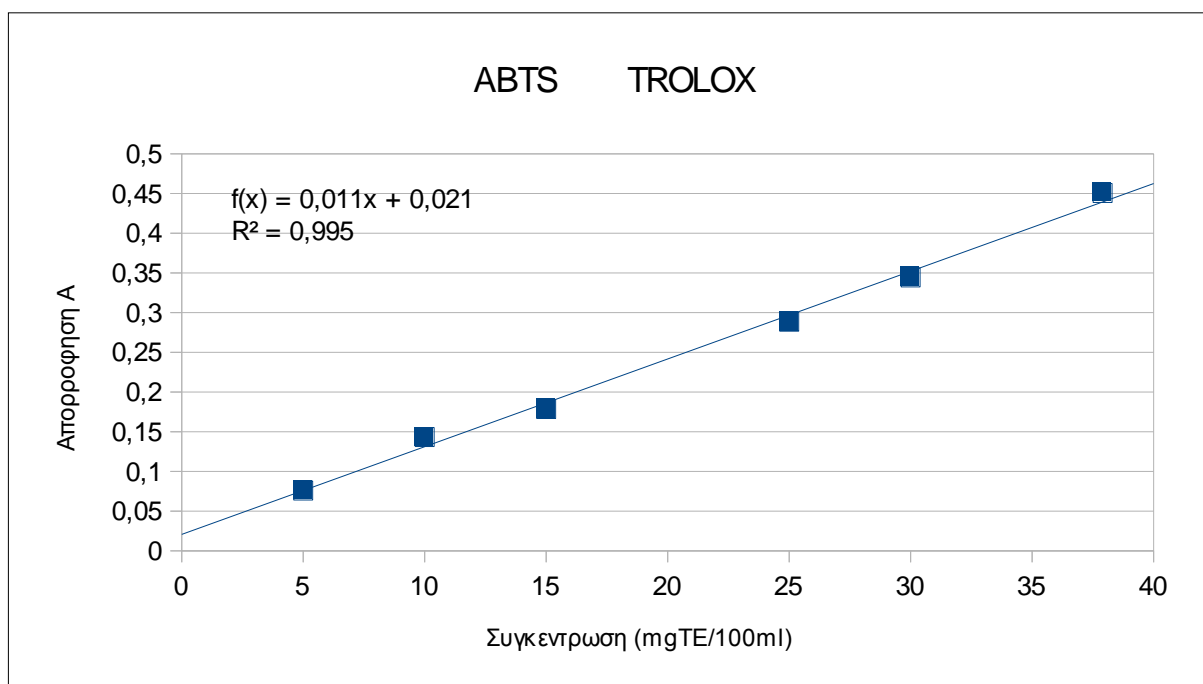
** ± 95% Διάστημα εμπιστοσύνης (95% confidence interval)

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα το αφέψημα του εμπορίου με την μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών είναι το “TU VUNU with honey and lemon”. Το δεύτερο με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις είναι το “Όλυμπος με αρώνια” με μικρή διαφορά από αυτήν του “TU VUNU with honey and lemon”. Τρίτο στην κατάταξη βρίσκεται το “TU VUNU with lemon”, ωστόσο η περιεκτικότητά του σε φαινολικά συστατικά βρίσκεται κοντά σε αυτήν του “TU VUNU with honey and lemon”,όσο και με αυτήν του “Όλυμπος με αρώνια”. Την μικρότερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις βρέθηκε να έχει το “Όλυμπος με λεμόνι”, όπως φαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα παρουσίασης των δειγμάτων του εμπορίου.



3.3 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ ABTS ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΤΣΑΙ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ

Μια εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων που μελετήθηκαν δίνεται μέσω της δοκιμής ανάσχεσης της ρίζας ABTS⁺. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα mg trolox ανά 100ml διαλύματος (TE Trolox Equivalents) και με τα ποσοστά ανάσχεσης της ρίζας από το κάθε δείγμα. Η συγκέντρωση των δειγμάτων υπολογίζεται με την βοήθεια πρότυπης καμπύλης trolox.



Επίσης υπολογίστηκε και η επί τοις εκατό ικανότητα σάρωσης της ρίζας (Radical Scavenging Activity ,RSA) όλων των δειγμάτων με βάση τον παρακάτω τύπο:

$$\%RSA = ((A_{734ABTS} - A_{734T6}) / A_{734ABTS}) \times 100$$

Όπου $A_{734ABTC}$ είναι η απορρόφηση του διαλύματος της ABTS στο 6min μετά την ανακίνηση και την παραμονή στο σκοτάδι, και A_{734T6} η απορρόφηση του δείγματος στα 734nm στα 6min.

Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται τα αποτελέσματα των δειγμάτων από αφεψήματα που δημιουργήθηκαν στο εργαστήριο από την κάθε ποικιλία ξεχωριστά εκφρασμένη σε mg TE/100ml όπως επίσης και %RSA κάθε δείγματος.

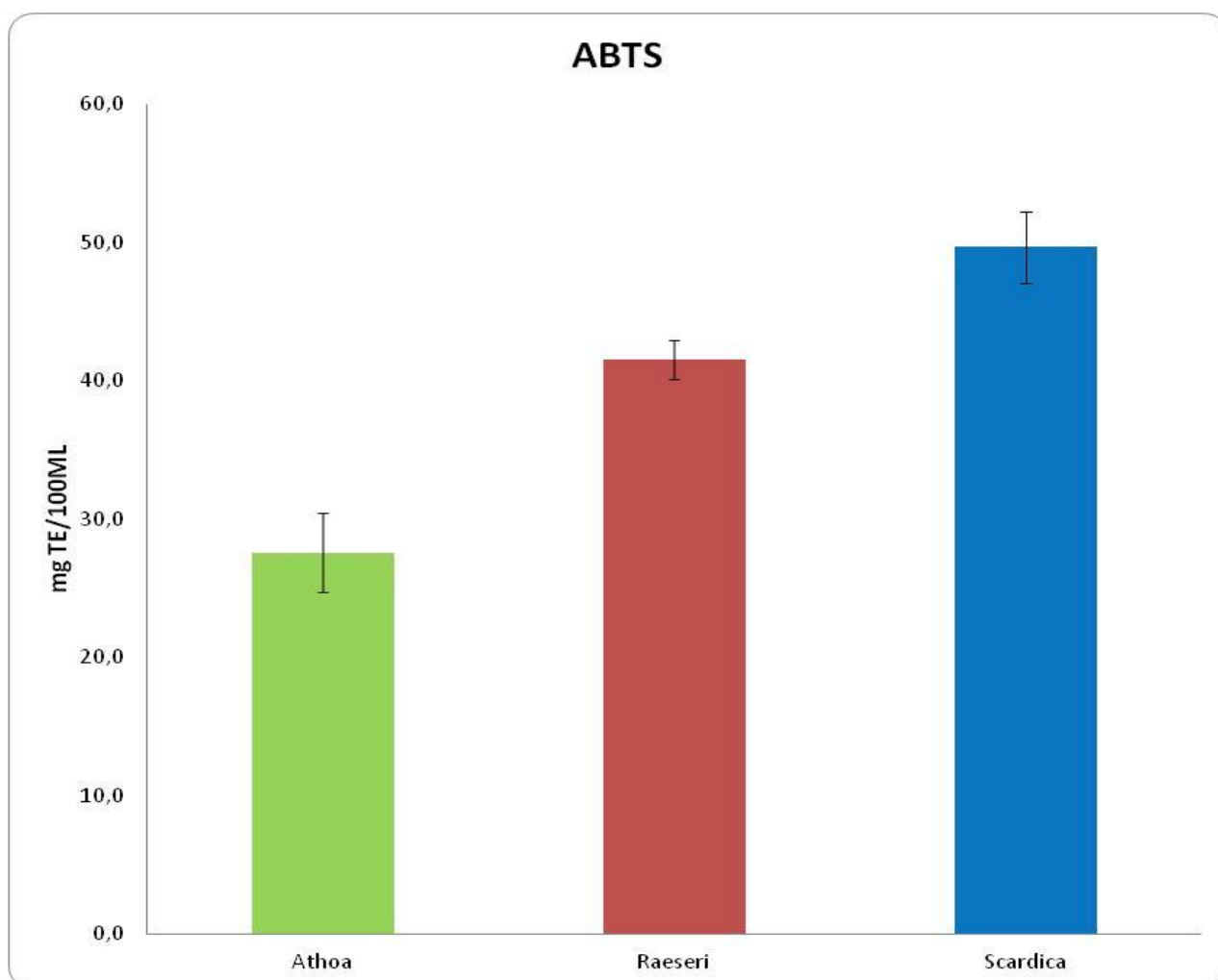
ΜΕΘΟΔΟΣ	ABTS		
ΔΕΙΓΜΑΤΑ	mgTE/100ml*	mgTE/100ml**	Max % ανάσχεση
Athoa	27,6±3,6	27,6±2,8	32,5
Raeseri	41,5±1,7	41,5±1,4	41,5
Scardica	49,7±3,2	49,7±2,6	54,8

* ± Τυπική απόκλιση (standard deviation)

** ± 95% Διάστημα εμπιστοσύνης (95% confidence interval)

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα τα αφεψήματα της ποικιλίας Scardica του Σιδερίτη παρουσιάζει την μεγαλύτερη αντιριζική ικανότητα. Ύστερα ακολουθούν τα αφεψήματα της ποικιλίας Raeseri με κοντινή αντιριζική ικανότητα με την Scardica. Τα αφεψήματα της ποικιλίας Athoa έχουν την μικρότερη περιεκτικότητα σε αντιριζικές ενώσεις.

Όπως φαίνεται και στο διάγραμμα παρουσίασης των δειγμάτων από αφεψήματα που δημιουργήθηκαν στο εργαστήριο από την κάθε ποικιλία ξεχωριστά.



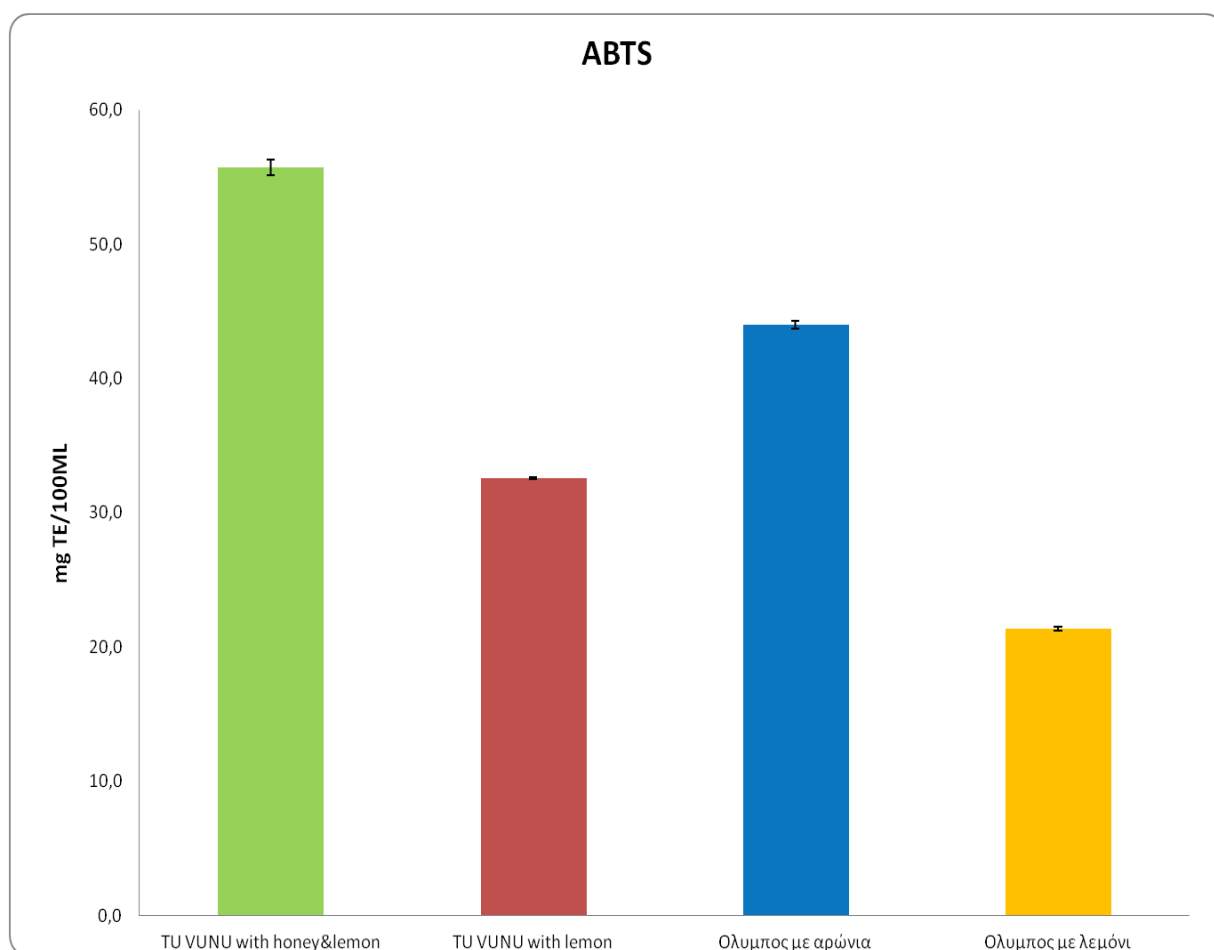
Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται τα αποτελέσματα των δειγμάτων του εμπορίου εκφρασμένα σε mg TE/100ml όπως επίσης και %RSA κάθε δείγματος.

ΜΕΘΟΔΟΣ	ABTS		
	ΔΕΙΓΜΑΤΑ	mgTE/100ml*	mgTE/100ml**
TU VUNU with honey&lemon	55,7±0,5	55,7±0,6	44,8
TU VUNU with lemon	32,6±0,1	32,6±0,1	54,6
Όλυμπος με αρώνια	44,0±0,3	44,0±0,3	67,2
Όλυμπος με λεμόνι	21,4±0,1	21,4±0,1	40,3

* ± Τυπική απόκλιση (standard deviation)

** ± 95% Διάστημα εμπιστοσύνης (95% confidence interval)

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα το αφέψημα του εμπορίου με την μεγαλύτερη αντιριζική ικανότητα είναι το “TU VUNU with honey and lemon”. Το δεύτερο με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε αντιριζικές ενώσεις είναι το “Όλυμπος με αρώνια”. Τρίτο στην κατάταξη βρίσκεται το “TU VUNU with lemon” με περίπου την μισή αντιριζική ικανότητα από το “TU VUNU with honey and lemon. Τέλος, την μικρότερη περιεκτικότητα σε αντιριζικές ενώσεις βρέθηκε να έχει το “Όλυμπος με λεμόνι”, όπως φαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα παρουσίασης των δειγμάτων του εμπορίου.



3.4 ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΜΕ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ ΣΥΣΤΟΙΧΙΑΣ ΔΙΟΔΩΝ (HPLC-DAD)

Παρακάτω φαίνεται ο πίνακας συγκεντρώσεων σε mg/g dry plant (ξηρού φυτού) για τα τρία δείγματα Σιδερίτη.

Κατηγορία Φαινολικών Συστατικών	Χημική Ένωση	Συγκέντρωση [mg/g dry plant (ξηρού φυτού)]		
		Sideritis Scardica	Sideritis Athoa	Sideritis Raeseri
HYDROXYCINNAMIC DERIVATIVES (Παράγωγα Υδροξυκινναμωμικού οξέως)	Chlorogenic acid	96,27	27,34	44,68
	p-Coumaric acid derivative	45,86	0,00	0,00
	p-Coumaric acid derivative	12,21	0,00	0,00
	Chlorogenic acid derivative	173,43	78,42	58,82
PHENYLETHANOID GLYCOSIDES (Γλυκοζίτες Φαινυλεθανοειδικού)	Verbascoside derivative	111,08	32,79	5,43
	Verbascoside derivative	1226,07	112,85	137,00
	Verbascoside derivative	1081,20	458,46	393,27
	Verbascoside derivative	612,83	35,40	34,35
FLAVONOID ACETYLGLYCOSIDES (Ακέτυλο-γλυκοζίτες Φλαβονοειδών)	Isoscutellarein derivative	347,53	160,46	58,21
	Isoscutellarein derivative	383,62	138,72	25,08
	Hypolaetin derivative	627,76	76,89	51,53
	Isoscutellarein derivative	153,49	3,89	38,41

	Isoscutellarein derivative	490,61	9,51	49,27
	Isoscutellarein derivative	18,90	4,07	4,20
	Isoscutellarein derivative	27,00	0,00	0,00
	Hypolaetin derivative	58,05	0,00	0,00
	Isoscutellarein derivative	17,39	0,00	0,00
Σύνολο Φαινολικών Συστατικών		5483,3	1138,8	900,2

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα τα ξηρά φυτά της ποικιλίας Scardica του Σιδερίτη περιέχουν την μεγαλύτερη ποσότητα συνολικών φαινολικών συστατικών. Όπως επίσης περιέχουν αρκετά μεγαλύτερη ποσότητα από την κάθε χημική ένωση φαινολικών συστατικών σε σχέση με τις άλλες δυο ποικιλίες Athoa και Raeseri. Κάποιες ενώσεις από τον πίνακα βρέθηκαν μόνο στην Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα τα αφεψήματα της ποικιλίας Scardica του Σιδερίτη και καθόλου στις άλλες δυο (p-Coumaric acid derivative, Hypolaetin derivative, Isoscutellarein derivative).

Δεύτερη ποικιλία με τα ποίο πολλά συνολικά φαινολικά συστατικά είναι η Sideritis Athoa και τελευταία στην κατάταξη είναι η Raeseri. Ωστόσο, η διαφορά μεταξύ των Athoa και Raeseri είναι μόλις 238,6 mg/g ξηρού φυτού, ενώ η Scardica έχει τα πενταπλάσια φαινολικά συστατικά από την Athoa.

3.4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα των 3 φασματομετρικών αναλύσεων και της Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης με Ανιχνευτή Συστοιχίας Διόδων (HPLC-DAD) καταλήγουμε στα εξής συμπεράσματα:

Μετά την σύγκριση των τριών ποικιλιών Sideritis (Scardica, Raeseri, Athoa) αποδεικνύεται πως το δείγμα Sideritis Scardica παρουσιάζει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και παρουσιάζει καλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών απ' ότι τα δείγματα Sideritis Raeseri και Sideritis Athoa. Το ίδιο συμπεραίνεται και από τον πίνακα της HPLC-DAD, αφού φαίνεται εκεί ξεκάθαρα η μεγάλη περιεκτικότητά του Sideritis Scardica σε φαινολικές ενώσεις.

Από την άλλη μεριά ενώ το δείγμα Sideritis Raeseri παρουσιάζει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και παρουσιάζει καλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών απ' ότι το δείγμα Sideritis Athoa και στις 3 φασματομετρικές αναλύσεις, στον πίνακα της HPLC-DAD τα συμπεράσματα είναι ανάποδα δείχνοντας ότι η Sideritis Athoa περιέχει περισσότερα mg/g ξηρού φυτού σε σχέση με το Sideritis Raeseri. Μία εξήγηση που μπορεί να δοθεί για αυτά τα αποτελέσματα είναι ότι μέσα στα 3,5min βρασμού ποίο πολλές φαινολικές ενώσεις εκχυλίζονται στο νερό από το ξηρό φυτό Sideritis Raeseri παρά από το Sideritis Athoa.

Μετά την σύγκριση των αφεψημάτων του εμπορίου αποδεικνύεται πως το “TU VUNU with honey and lemon” παρουσιάζει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και παρουσιάζει καλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών απ’ ότι τα δείγματα “TU VUNU with lemon”, “Όλυμπος με αρώνια” και “Όλυμπος με λεμόνι”. Αυτό το αποτέλεσμα οφείλεται, όμως, σε μεγάλο βαθμό λόγω της πρόσθετης βιταμίνης C που περιέχει. Διότι η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) είναι ισχυρό αντιοξειδωτικό και δεσμεύει ακαριαία τις ελεύθερες ρίζες και αυξάνει τον αριθμό των φαινολικών ενώσεων του δείγματος που μετράται με την μέθοδο Folin-Ciocalteu.

Το επόμενο προϊόν του εμπορίου που παρουσιάζει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και παρουσιάζει καλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών είναι το “Όλυμπος με αρώνια”. Το οποίο οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο χυμός αρώνιας (1.3%) περιέχει πιο πολλές φαινολικές ουσίες από τον χυμό λεμονιού που περιέχει το αφέψημα το “Όλυμπος με λεμόνι”. Επίσης, περιέχει πιο πολλές φαινολικές ενώσεις, σύμφωνα με τα φασματοφωτομετρικά αποτελέσματα, από το αφέψημα “TU VUNU with lemon”.

Το αφέψημα “TU VUNU with lemon” αν και περιέχει βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) ” παρουσιάζει μικρότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και παρουσιάζει μικρότερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών απ’ ότι τα δείγματα “TU VUNU with honey and lemon” και “Όλυμπος με αρώνια“, ενώ παρουσιάζει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και παρουσιάζει καλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών απ’ ότι το “Όλυμπος με λεμόνι“. Επομένως, το ασκορβικό οξύ που περιέχει το “TU VUNU with lemon” πρέπει να είναι λιγότερο από ότι στο “TU VUNU with honey and lemon”.

Τέλος, από τα αποτελέσματα των 3 φασματομετρικών αναλύσεων φαίνεται ότι το αφέψημα “TU VUNU with honey and lemon” παρουσιάζει σχεδόν ίδια περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και παρόμοια ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών στην μέθοδο ABTS με το αφέψημα από ξηρό φυτό *Sideritis Scardica* (2,5mg/100ml H₂O), ενώ στην μέθοδο DPPH το αφέψημα από ξηρό φυτό *Sideritis Scardica* φαίνεται να έχει την διπλάσια αντιριζική ικανότητα. Στα υπόλοιπα δείγματα το συμπέρασμα μεταξύ αφεψημάτων από ξηρό φυτό και αφεψημάτων εμπορίου δεν είναι τόσο ξεκάθαρα.

3.6 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι Tunalier et al ^[64] σύγκριναν τα είδη *Sideritis*, όπως τα *S. scardica*, *Sideritis amasiaca*, *Sideritis serratifolia*, *S. raeseri*, και διαπίστωσαν ότι το *S. raeseri* περιείχε πολύ μικρότερη ποσότητα ολικών φαινολικών συγκριτικά με τα άλλα. Το οποίο συμφωνεί με τα δικά μας αποτελέσματα αφού αποδείξαμε ότι το *S. scardica* περιέχει περισσότερα ολικά φαινολικά συστατικά σε σχέση με το *S. raeseri*.

Επίσης οι Atoui, Mansouri, Boskou και Kefalas^[65] ανέφεραν ότι η έγχυση του *S. syriaca* περιείχε 88 mg GAE/240 ml ολικών φαινολικών, με 3g ξηρού δειγματος ανά φλιτζάνι.

Σε άλλη έρευνα, οι Pljevljakušić et al^[66] σύλλεξαν φυτά στο δεύτερο έτος της βλάστησης τους και πιο συγκεκριμένα σε τέσσερα διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των λουλουδιών: εκκολαπτόμενη (SR1), πρώιμη ανθοφορία (SR2), πλήρη ανθοφορία (SR3) και υπερχειλίσης (πρώιμος σχηματισμός σπόρου, R4).

Total phenolic content and DPPH radical-scavenging activity.

Sample	Total phenolic content (mg GAE/g DW)	DPPH radical-scavenging activity IC ₅₀ (μg/ml)
SRE1	34.1 ± 0.81	33.2 ± 0.87
SRE2	20.2 ± 0.66	45.1 ± 1.57
SRE3	19.7 ± 0.61	42.2 ± 1.99
SRE4	15.3 ± 0.09	17.9 ± 0.91
Infusion	46.5 ± 1.11 ^a	244 ± 4.82
Decoction	43.9 ± 2.00 ^a	257 ± 3.31
Trolox	-	6.09 ± 0.24

^a mg GAE/100 ml of extract.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6: ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΚΑΙ DPPH ΑΝΤΙΡΙΖΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ, PLJEVLJAKUSIĆ ET AL^[66]

Παρατηρήθηκε ότι το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο μειώθηκε κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας. Η φάση εκβλάστησης περιείχε την υψηλότερη συνολική φαινολική περιεκτικότητα (34,1 mg GAE / g), ενώ η χαμηλότερη βρισκόταν στην φάση υπερχειλίσης (15,3 mg GAE / g). Τα περιεχόμενα των συνολικών φαινολικών του ήταν παρόμοια τόσο κατά την παρασκευή εκχύματος όσο και αφεψημάτων (46,5 και 43,9 mg GAE / 100 ml, αντίστοιχα).

Η Σπανίδου^[15] επεξεργάστηκε τα δείγματά της ως εξής: ζύγισε 2,5g φυτού και το εμβάπτισε σε 250ml αποσταγμένου νερού για χρονικό διάστημα που φαίνεται στους πίνακες 7 και 8. Στην συνέχεια, εφάρμοσε τις μεθόδους Folin-Ciocalteu και DPPH. Κατέληξε στο ότι τόσο στην συνολική ποσότητα φαινολικών όσο και στην αντιριζική ικανότητα των αφεψημάτων έχουμε σημαντική διαφορά στις τιμές των μετρήσεων. Ωστόσο, το συμπέρασμα της σύγκρισης των δύο ειδών *Sideritis* παραμένει ίδιο, ότι δηλαδή το είδος *Scardica* έχει περισσότερα φαινολικά συστατικά και μεγαλύτερη αντιριζική ικανότητα από το είδος *Raeseri*.

Εκχύλιση	Μορφή φυτικού υλικού	Διαλύτης	Χρόνος εκχύλισης (min)	Αντιοξειδωτική ικανότητα (mM Trolox)	Φαινολικό περιεχόμενο (mg GA/L)
Εμβάπτιση (Infusion)	Σκόνη	H ₂ O	15	1,47±0,20	320,20±107,03
		H ₂ O	2	0,49±0,07	99,90±23
Αφέψημα (Decoction)	Ολόκληρο	H ₂ O	10	0,84±0,35	181,37±13
		H ₂ O	15	1,32±0,02	221,70±13
		H ₂ O	20	1,55±0,03	252,08±32
		H ₂ O	2	0,78±0,19	107,64±36
		H ₂ O	10	1,21±0,27	250,70±20
Αφέψημα (Decoction)	Σκόνη	H ₂ O	15	1,54±0,10	269,20±18
		H ₂ O	20	1,61±0,05	282,73±30
		Gly:H ₂ O	363	4,36±0,33	748,84±89
Με υγρό υπό πίεση (PLE)	Σκόνη	0:100			
Με υγρό υπό πίεση (PLE)	Σκόνη	Gly:H ₂ O	363	4,72±0,46	868,39±55
		40:60			

ΠΙΝΑΚΑΣ 7: SIDERITIS RAESERI, ΣΠΑΝΙΔΟΥ

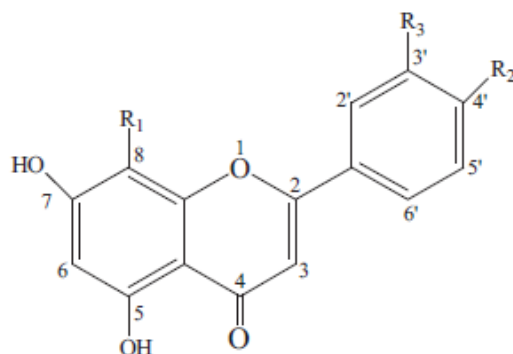
Εκχύλιση	Μορφή φυτικού υλικού	Διαλύτης	Χρόνος εκχύλισης (min)	Αντιοξειδωτική ικανότητα (mM Trolox)	Φαινολικό περιεχόμενο (mg GA/L)
Εμβάπτιση (Infusion)	Σκόνη	H ₂ O	15	1,53±0,01	352,88±12,07
		H ₂ O	2	0,82±0,51	101,28±39
Αφέψημα (Decoction)	Ολόκληρο	H ₂ O	10	1,25±0,40	160,66±15
		H ₂ O	15	1,36±0,31	193,53±37
		H ₂ O	20	1,46±0,23	231,36±13
		H ₂ O	2	1,14±0,05	197,39±16
Αφέψημα (Decoction)	Σκόνη	H ₂ O	10	1,61±0,03	251,52±60
		H ₂ O	15	1,65±0,03	292,67±20
		H ₂ O	20	1,70±0,02	333,00±44
Με υγρό υπό πίεση (PLE)	Σκόνη	Gly:H ₂ O	363	4,53±1,10	844,37±104
Με υγρό υπό πίεση (PLE)	Σκόνη	Gly:H ₂ O	363	4,98±0,05	1057,02±125 ^l
		40:60			

ΠΙΝΑΚΑΣ 8: SIDERITIS SCARDICA, ΣΠΑΝΙΔΟΥ

Όσο αφορά το είδος *Sideritis athena*, πιθανότατα να μην έχουν εφαρμοστεί οι αντίστοιχοι μέθοδοι προσδιορισμού ολικών φαινολών και της αντιριζικής του ικανότητας με Folin-Ciocalteu, DPPH και ABTS.

Μελέτες του είδους *Sideritis* με χρήση των φλαβονοειδών προτύπων τους, έχουν πραγματοποιηθεί από τον Barberan και τους συναδέλφους [67],[68],[69]. Αναλύθηκαν τα είδη ισπανικής και βόρειο-αφρικανικής προέλευσης *Sideritis* και διαπίστωσαν ότι οι 8-OH φλαβόνες υπολατίνη και ισοσοστελλαδίνη είναι χαρακτηριστικές και πιο άφθονες στο τμήμα *Sideritis*. Ενώ οι 5,7-OH φλαβόνες βρέθηκαν μόνο σε μερικά μελετώμενα δείγματα Σιδηρίτη Ιβηρικής - Νότιο Αφρικής προέλευσης.

Οι δομές των αναγνωρισμένων φλαβονών παρουσιάζονται στο σχήμα 7:



Compd. No.		R ₁	R ₂	R ₃
1	Hypolaetin	OH	OH	OH
2	Isoscutellarein	OH	OH	H
3	3'-OCH ₃ hypolaetin	OH	OH	OCH ₃
4	Apigenin	H	OH	H
5	4'-OCH ₃ isoscutellarein	OH	OCH ₃	H
6	chryseriol	H	OH	OCH ₃

ΣΧΗΜΑ 7: ΔΟΜΕΣ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΜΕΝΩΝ ΦΛΑΒΟΝΩΝ

Οι φυτοχημικές μελέτες των δειγμάτων *Sideritis* από τη Βουλγαρία έχουν αποκαλύψει την παρουσία γλυκοσιδών της isoscutellarein και του 4-μεθυλαιθέρας της υπολατίνης [44]. Μελέτες των ελληνικών *S. raeseri* [70] έχουν επίσης αποκαλύψει την παρουσία 7-O-γλυκοσίδες της υπολατίνης και του 3' and 4-μεθυλαιθέρας της υπολατίνης, καθώς και της isoscutellarein και του 4-μεθυλαιθέρας και του δυναμικού της αντιοξειδωτικής τους δράση.

Plant material (location)	Flavones (% dry mass)					
	Hypolaetin	Isoscutellarein	3'-OCH ₃ hypolaetin	Apigenin	4'-OCH ₃ isoscutellarein	Chryseriol
<i>S. raeseri</i> (Galičica)	0.07	0.12	0.26	0.08	0.07	–
<i>S. scardica</i> (Stogovo)	–	0.16	0.16	0.12	–	0.02
<i>S. scardica</i> (Solunska Glava)	–	0.19	0.20	0.10	–	0.01
<i>S. scardica</i> (Karadžica)	–	0.08	0.07	0.05	–	traces

ΠΙΝΑΚΑΣ 9 ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ ΣΤΟ ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ ΜΑΚΕΔΟΝΙΚΟ ΕΙΔΟΣ *SIDERITIS*

Στη μελέτη των B. Janeska et al ^[71], επιβεβαιώθηκε η παρουσία πέντε αγλυκονών φλαβονοειδών στο *S. raeseri*. Τέσσερις από αυτές συνοδεύονται από την ομάδα των 8-OH φλαβονών (υπολατίνης και isoscutellarein και τα παράγωγα μεθυλαιθέρα τους).

Ταυτόχρονα, αποκαλύπτεται μεγαλύτερη ποικιλία φλαβονών 8-OH σε *S. raeseri* (υπολατίνης (hyrolaetin), 3'-μεθυλαιθέρας της υπολατίνης, isoscutellarein και 4'-μεθυλαιθέρας της isoscutellarein). Ενώ, μόνο η isoscutellarein και ο 3'-μεθυλαιθέρας της υπολατίνης βρέθηκαν στο *S. scardica*. Επιπρόσθετα, η χρυσοεόλη (chryseriol) βρέθηκε μόνο στα εκχυλίσματα *S. scardica*, υποδεικνύοντας τη δυνατότητα χημειοσυστηματικής διάκρισης.

Το είδος *S. raeseri* έχει αποδειχθεί ότι είναι πλουσιότερο σε ποικιλία και σε ποσότητα αυτών των φλαβονών, και κυμαίνεται από 0,07 έως 0,26% (m / m) σε ξηρό φυτικό υλικό. Η σχετικά υψηλή συνολική περιεκτικότητα σε φλαβόνες εξηγεί και την ισχυρή αντιοξειδωτική δράση που καθορίστηκε για τα εκχυλίσματα *Sideritis*. ^{[44],[70]}

Σύμφωνα με τους Petreska et al ^[72] η συνολική περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις βρέθηκε να είναι 1450 ± 8 mg σε 8 g ξηρανθέντων. Στο αφέψημα *Sideritis*, η πλέον άφθονη ένωση ήταν η ισοβερβασκοσίδη (isoverbascoside) ($296,3 \pm 7,2$ mg) ακολουθούμενη από τη βερβασκοσίδη (verbascoside) ($197,3 \pm 5,2$ mg) και 7-O- [6 "-O-ακετυλο] αλλοζυλο) γλυκοζίτη ($139,9 \pm 3,5$ mg). Η ολική περιεκτικότητα των φαινυλαιθανοϊκών γλυκοσίδων στο αφέψημα *Sideritis* ήταν της τάξης των $831,0 \pm 1,9$ mg. Το περιεχόμενο του βερβασκοσίδης και του ισοβερβασκοσίδης ήταν περίπου 59% της συνολικής περιεκτικότητας σε φαινυλαιθανοειδή και περίπου 34% της συνολικής περιεκτικότητας σε φαινόλη που υπήρχε στο αφέψημα *Sideritis*. Η συνολική περιεκτικότητα σε γλυκοζίτες 7-O-αλλοζυλ(1→2)γλυκοζίτες ήταν $17,47 \pm 0,54$ mg για τα παράγωγα λουτεολίνης, $399,7 \pm 1,4$ mg για τα παράγωγα της υπολατίνης, $13,68 \pm 1,77$ mg για τα παράγωγα της απιγενίνης και $116,3 \pm 1,1$ mg για τα παράγωγα isoscutellarein. Το περισσότερο άφθονο παράγωγο φλαβονοειδούς 7-O-αλλοζυλ(1→2)γλυκοζίτες ήταν 3'-O-μεθυλοϋπολατίνη 7-O- [6 "-O-ακετυλ]αλλοζυλ-(1→2) γλυκοζίτες και το περιεχόμενό του ήταν περίπου 34% (m/m). Η συνολική περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή αντιπροσωπεύει περίπου το 38% των συνολικών φαινολικών ενώσεων, γεγονός που καθιστά αυτό το φυτό μια πλούσια πηγή 8-υδροξυ φλαβονών (υπολατίνη και isoscutellarein).

Επίσης, οι Danesi et al ^[73] κάνανε ανάλυση HPLC-DAD σε δείγματα *Sideritis scardica* παραθέτοντας στον πίνακα 10.

Compound	g ChA kg ⁻¹
Chlorogenic acid isomer 1	0.151 ± 0.001
Chlorogenic acid isomer 2	10.361 ± 0.046
Chlorogenic acid isomer 3	0.614 ± 0.010
Chlorogenic acid isomer 4	0.411 ± 0.010
Feruloylquinic acid	0.882 ± 0.026
Echinacoside	1.033 ± 0.005
Forsythoside	8.843 ± 0.013
Verbascoside	10.084 ± 0.025
Alyssonoside	3.252 ± 0.112
Leucoseptoside	3.740 ± 0.020
Isoscutellarein-allosyl-glucoside	0.203 ± 0.004
Hypolaetin-allosyl-glucoside	0.685 ± 0.002
Luteolin-allosyl-glucoside	5.628 ± 0.037
3'-Methyl hypolaetin-allosyl-glucoside	0.659 ± 0.018
4'-Methylisoscuteallarein-allosyl-glucoside	1.254 ± 0.016
Hypolaetin-acetyl-allosyl-glucoside	7.706 ± 0.180
Apigenin-acetyl-allosyl-glucoside	1.208 ± 0.024
Isoscutellarein-acetyl-allosyl-glucoside	9.236 ± 0.242
Methyl-hypolaetin-acetyl-allosyl-glucoside	10.590 ± 0.036
Isoscutellarein-diacetyl-allosyl-glucoside	4.978 ± 0.169
Methyl-hypolaetin-acetyl-allosyl-glucoside	1.042 ± 0.010
Hypolaetin-diacetyl-allosyl-glucoside	4.502 ± 0.058
3'-Methylisoscuteallarein-acetyl-allosyl-glucoside	3.744 ± 0.052
Isoscutellarein-acetyl-allosyl-acetyl-glucoside	4.362 ± 0.034
Methyl-hypolaetin-diacetyl-allosyl-glucoside	8.488 ± 0.060
4'-Methylisoscuteallarein-acetyl-allosyl-acetyl-glucoside	1.669 ± 0.017
Apigenin-7-O-p-coumaroyl-β-D-glucopyranoside isomers	13.581 ± 2.383
Total	134.76

The dry methanolic SS extract was dissolved in DMSO and analysed by HPLC-DAD/MS using either positive or negative polarity modes as described in the Experimental section. The phenolic content was reported as grams of chlorogenic acid (ChA) equivalents per kilogram of dry weight sample.

ΠΙΝΑΚΑΣ 10: ΦΑΙΝΟΛΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΚΑΙ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ SIDERITIS SCARDICA

Οι Pljevljakušić et al ^[66] που ανέλυσαν το είδος *Sideritis raeseri* σε τέσσερα διαφορετικά στάδια ανάπτυξης λουλουδιών: εκκολαπτόμενη (SR1), πρώιμη ανθοφορία (SR2), πλήρη ανθοφορία (SR3) και υπερχειλίσης (πρώιμος σχηματισμός σπόρου (SR4), απέδειξαν ότι το κλάσμα των σεσκιτερπενίων είναι η κυρίαρχη ομάδα τερπενοειδών ενώσεων σε όλα τα δείγματα, αντιπροσωπεύοντας το 58,2-67,8% του συνολικού ελαίου, τα περισσότερα από τα οποία είναι υδρογονάνθρακες (30,7-55,4%). Η περιεκτικότητα του κλάσματος διτερπενίου κυμαίνεται από 17,1% έως 19,0%, ενώ χαμηλότερες ποσότητες μονοτερπενίων προσδιορίζονται στα έλαια όλων των φάσεων ανάπτυξης, εκτός από την φάση της υπέρ-άνθησης. Τα παράγωγα της isoscutellarein (ISC) και της υπολατίνης (HYP) ήταν τα πιο χαρακτηριστικά φλαβονοειδή γλυκοσίδια στο *S. raeseri*.

Αυτό είναι σύμφωνο και με προηγούμενα ευρήματα ότι οι 7-O-αλλοζυλ γλυκοσίδες των 8-OH υποκατεστημένων φλαβονών υπήρχαν στους άγριους αναπτυσσόμενους πληθυσμούς του *S. raeseri* ^{[70],[71]}. Στη μελέτη των Pljevljakušić et al ^[3], επιβεβαιώθηκε η παρουσία τριών μονοακετυλιωμένων

γλυκοσίδων σε όλα τα εκχυλίσματα του *S. raeseri*. Η απιγενίνη 7-Ο-γλυκοζίτης, ως αντιπροσωπευτικός των 5,7-ΟΗ φλαβόνων, ανιχνεύθηκε επίσης μόνο σε παρασκευή εκχύματος / αφέψημα. Όσον αφορά τα φαινολικά οξέα, το χλωρογενικό οξύ ανιχνεύθηκε σε όλα τα αναλυθέντα δείγματα, ενώ το γαλλικό οξύ και τα παράγωγά του ανιχνεύθηκαν μόνο στη φάση της υπέρ-άνθησης.

Έχουν αναφερθεί αρκετές μελέτες σχετικά με το αιθέριο έλαιο των ειδών *Sideritis*. Ο Kokkalu ανέφερε ως βασικά συστατικά του αιθέριου ελαίου του *Sideritis scardica* το α-πινένιο (52%), το β-πινένιο (13%), το μυρσένιο (13%) και το β-πελανδρόνιο (4%).^[74] Σε μια ξεχωριστή μελέτη από τους Komaitis et al, αναφέρθηκαν ως κύρια συστατικά η β-καρβοφιλίνη (8%), η θυμόλη (6%), η καρβακρόλη (6%), β-πινένιο (6%) και α-πινένιο (5%).^[75]

Το αιθέριο έλαιο του *Sideritis scardica* αναλύθηκε με τριχοειδή GC / MS από τους K.H.C. Baser and Nese Kirlmer.^[76] Τα κύρια συστατικά του ήταν το β-πινένιο (18%), καρβακρόλη (15%) και το α-πινένιο (7%).

Οι T. Ozek, K.H.C. Baser and G. Tumen^[77] κάνανε ανάλυση GM/MS σε δείγματα *Sideritis Athoa*. Ανέφεραν ως βασικά συστατικά του αιθέριου ελαίου το μυρσένιο (39%), το β-πινένιο (12%), η α-κουρκουμένη (7%) και α-πινένιο (7%).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Gonzalez-Burgos E., Carretero M.E., Gomez-Serranillos M.P., Sideritis spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities A Review, *Journal of Ethnopharmacology*, 135 (2011) 209–225
2. Γ. Χ. Σαμαρά, Βελτιστοποίηση της καλλιέργειας “τσάι του βουνού” (*Sideritis raeseri*) στο χωριό Βρύναινα του νομού Μαγνησίας (2003)
3. Γεννάδιος, Π., Λεξικόν Φυτολογικόν, Γκιούρδα (1959)
4. Ερασμία Π. Χίου, Τσάι του βουνού-Η καλλιέργεια του *Sideritis raeseri* στη Βρύναινα Ν. Μαγνησίας και Τρόποι αποξήρανσής του (2003)
5. Δημήτριος Σιούλας, Αγορίτσα Σχιζοδήμου, Τσάι του Βουνού (*Sideritis* spp)
6. M. Özcan, J.C. Chalchat, A. Akgul, Essential oil composition of Turkish mountain tea (*Sideritis* spp.) (2001)
7. Hilal Sahin, Nadeem, Mehmet Torun, Feramuz Özdemir, Spray drying of the mountain tea (*Sideritis stricta*) water extract by using different hydrocolloid carriers, *Food Science and Technology* (2011)
8. Barber J., Ortega J.F., Guerra A.S., Turner K.G., and Jansene R.K., Origin of Macaronesian *Sideritis* L. (Lamioideae: Lamiaceae) inferred from nuclear and chloroplast sequence datasets, *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23 (2002) 293–306.
9. Ανάσης Ε., Τα φαρμακευτικά βότανα της Ελλάδας: ονομασία, ιστορία, βοτανικοί χαρακτήρες, χρησιμότητες, φαρμακευτικές ιδιότητες, καλλιέργεια. Μακρής (1976)
10. Titel Kein, Informationen über die Pflanze *Sideritis* (2003)
11. Γκόλιαρης Α., Το Τσάι του βουνού, από αυτοφυές τώρα στην καλλιέργεια. (1984) Υπουργείο Γεωργίας " Τα Αγροτικά" Τεύχος 16 : 29-31.
12. Γκόλιαρης Απόστολος, Καλλιέργεια, Αυτοφυή είδη και βελτίωση στο ελληνικό τσάι του βουνού (*Sideritis* L.).
13. Ανάσης Ε., Τα φαρμακευτικά βότανα της Ελλάδας: ονομασία, ιστορία, βοτανικοί χαρακτήρες, χρησιμότητες, φαρμακευτικές ιδιότητες, καλλιέργεια. Μακρής, (1976)
14. Dimopoulos P., Raus Th., Bergmeier E., Constantinidis Th., Iatrou G., Kokkini S., Strid A. & Tzanoudakis D. (2013): *Vascular plants of Greece: An annotated checklist*. - Berlin: Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem; Athens: Hellenic Botanical society.
15. Ελένη Σπανίδη, Τα φυτά του γένους *Sideritis* «τσάι του βουνού» στην ελληνική αγορά βοτάνων: Ταξινομικός προσδιορισμός και αντιοξειδωτική ικανότητα εκχυλισμάτων (2014)
16. Θανασούλια Β., Σιατής Ν., Περί βοτάνων: πλήρης οδηγός βοτάνων, μορφολογία, ιδιότητες, τρόποι χρήσης. Αγγελάκη, 2008.
17. Γκόλιαρης Α. (1984), Το Τσάι του βουνού, από αυτοφυές τώρα στην καλλιέργεια, Υπουργείο Γεωργίας " Τα Αγροτικά" Τεύχος 16 : 29-31.

18. Charami M.T., Lazari D., Karioti A., Skaltsa H., Hadjipavlou-Litina D., and Souleles C., Antioxidant and Antiinflammatory Activities of *Sideritis perfoliata* subsp. *Perfoliata* (Lamiaceae), *Phytother. Res.* 22 (2008) 450–454.
19. N. Aligiannis, E. Kalpoutzakis, I. B. Chinou, and S. Mitakou, E. Gikas and A. Tsarbopoulos, Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Five Taxa of *Sideritis* from Greece *J. Agric. Food Chem.*, 49 (2001) 811-815.
20. Fokialakis N., Kalpoutzakis E., Tekwani B.L., Khan S.I., Kobaisy M., Skaltsounis A.L., Duke O., Evaluation of the antimalarial and antileishmanial activity of plants from the Greek island of Crete, *J. Nat. Med.*, 61 (2007) 38–45.
21. Carper, J., Καρύδη, Κ., Τα βότανα είναι θαυματουργά, Μοντέρνοι καιροί, (2004).
22. Duke J., Ζγουλέτα Ζ., Το πράσινο φαρμακείο: βοτανοθεραπείες, Ψύχαλου, (2006).
23. Miguel, M.G., Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavour and Fragrance Journal.* 25, 291-312, (2010).
24. Škrovnánková, S., Mišurcová, L., Machu, L., Antioxidant Activity and Protecting Health Effects of Common Medicinal Plants. *Advances in Food and Nutrition Research.* 67, 75-139, (2012).
25. Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V., Bitsch, R. Assessment of antioxidant activity by using different In Vitro methods. *Free Radical Research.* 36, 177-187, (2002).
26. Claudine Manach, Augustin Scalbert, Christine Morand, Christian Rémésy, and Liliana Jiménez, Polyphenols: food sources and bioavailability, (2004) American Society for Clinical Nutrition
27. Victoria Samanidou, Anastasios Tsagiannidis, Ioannis Sarakatsianos, Simultaneous determination of polyphenols and major purine alkaloids in Greek *Sideritis* species, herbal extracts, green tea, black tea, and coffee by high-performance liquid chromatography-diode array detection, *J. Sep. Sci.* (2012), 35, 608–615
28. Laura Bravo, Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance, November (1998): 31 7-333
29. Rijke E. d., Out P., Wilfried N. M., Freek A., Cees G. & Udo B. A. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography a*, 31-63.
30. Παπαευσταθίου Γεώργιος, Εφαρμογή 'πράσινων' τεχνολογιών φιλικών προς τον περιβάλλον για την παραγωγή εκχυλισμάτων από το φυτό *Sideritis raeseri* ssp. *attica*, (2010).
31. Παληογιαννη Α.Π. Μελέτη Πτητικών Συστατικών Ελληνικών Οίνων & Αποσταγμάτων - Παραγωγή Βιολειτουργικών Οίνων με Βάση Φυτά του Γένους *Sideritis*. Διδακτορική Διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο. Αθηνών 2007.
32. Irina I.K. New methods for the screenig of antioxidants in three *Sideritis* species, (2007).
33. Harborne J.B. The Flavonoids. *Advances in research since* (1986).
34. Βερυκοκίδου - Βισσαροπούλου Ε. Σημειώσεις Φαρμακογνωσίας Ι. Αθήνα (1993).
35. Cirico T.L., Omaye S.T. Additive or synergetic effects of phenolic compounds on human low

- density lipoprotein oxidation. *Food Chem. Toxicol.* (2006); 44(4):510-516.
36. Mc Kay D.L., Blumberg J.B. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytother Res.* (2006); 20(7):519-30.
37. Mercer L.D., Kelly B.L., Horne M.K., Beart P.M. Dietary polyphenols protect dopamine neurons from oxidative insults and apoptosis: investigations in primary rat mesencephalic cultures. *Biochemical Pharmacology* (2005); 69(2):339-345.
38. Hosseinzadeh H., Ramezani M., Namjo N. Muscle relaxant activity of *Elaeagnus angustifolia* L. fruit seeds in mice. *J. Ethnopharm.* (2003); 84(2-3):275-278.
39. Ren W., Qiao Z., Wang H., Zhu L., Zhang L. Flavonoids: Promising anticancer agents. *Med. res. rev.* (2003); 23(4):519-534.
40. Matsui J., Kiyokawa N., Takenouchi H., Taguchi T., Suzuki K., Shiozawa Y., Saito M., Tang W.R., Katagiri Y.U., Okita H., Fujimoto J. Dietary bioflavonoids induce apoptosis in human leukemia cells. *Leuk. Res.* (2005); 29(5):573-581.
41. Le Marchand L. Cancer preventive effects of flavonoids--a review. *Biomed. Pharmacother.* (2002); 56(6):296-301.
42. Alvarez Mde.L., Debattista N.B., Pappano N.B. Synergism of flavonoids with bacteriostatic action against *Staphylococcus aureus* ATCC 25 923 and *Escherichia coli* ATCC 25 922. *Biocell.* (2006); 30(1):39-42.
43. Irina I. Koleva, Teris A. van Beek, Jozef P. H. Linssen, Aede de Groot and Lyuba N. Evstatieva, Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: a Comparative Study on Three Testing Methods, *Phytochem. Anal.* 13, 8–17 (2002)
44. Irina I Koleva, Jozef PH Linssen, Teris A van Beek, Lyuba N Evstatieva, Vessela Kortenska and Nedyalka Handjieva, Antioxidant activity screening of extracts from *Sideritis* species (Labiatae) grown in Bulgaria, *J Sci Food Agric* 83:809–819 (2003).
45. V. Bondet, W. Brand-Williams and C. Berset, Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH• Free Radical Method, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 30, 609–615 (1997)
46. Λιναρδάκη Ζ. Μελέτη βιοχημικών παραμέτρων σε εγκεφαλικές περιοχές μυών μετά από την πόση υδατικού αφεψήματος του *Sideritis clandestina* subsp. *Cyllenea*. Μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης. Πανεπιστήμιο Πατρών Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Βιολογίας, Εργαστήριο Φυσιολογίας Ανθρώπου και Ζώων. Πάτρα 2007.
47. Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Bioch.* (2002); 13:572-584.
48. Skibola C.F., Smith M.T. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radic. Biol. Med.* (2000); 29(3-4):375-383.

49. Krishnaiah, D., Sarbatly, R., Nithyanandam, R., 2011. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*. 89, 217-233.
50. Miguel, M.G., 2010. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavour and Fragrance Journal*. 25, 291-312.
51. Aruna Prakash, Fred Rigelhof and Eugene Miller, Antioxidant Activity, Medallion Laboratories Analytical Progress
52. Om P. Sharma , Tej K. Bhat, DPPH antioxidant assay revisited, *Food Chemistry* 113 (2009) 1202–1205
53. Ayres, G. H. (1949). Evaluation of accuracy in photometric analysis. *Analytical Chemistry*, 21, 652–657.
54. Kano, M., Takayanagi, T., Harada, K., Makino, K., & Ishikawa, F. (2005). Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 69, 979–988.
55. Ozcelik, B., Lee, J. H., & Min, D. B. (2003). Effects of light, oxygen, and pH on the absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Journal of Food Science*, 68, 487–490.
56. Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 4290-4302.
57. Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., 1998. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*. 299, 152-178.
58. Everette, J.D., Bryant, Q.M., Green, A.M., Abbey, Y.A., Wangila, G.W., Walker, R.B., 2010. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58, 8139-8144
59. Magalhães, L.M., Segundo, M.A., Reis, S., Lima, J.L.F.C., 2008. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*. 613, 1-19.
60. Vernon L. Singleton, Rudolf Orthofer, and Rosa M. Lamuela-Raventos, Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent, *POLYPHENOLS AND FLAVONOIDS* (1999), [14], 152
61. Peterson, G.L., *Anal. Biochem*(1979). 100, 201-220
62. Jessica Nilsson, Deepa Pillai, Gunilla Onning, Christine Persson, Ake Nilsson and Bjorn Akesson, Comparison of the 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods to assess the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables, *Mol. Nutr. Food Res.* (2005), 49, 239 – 246

63. Roberta Re, Nicoletta Pellegrini, Anna Proteggente, Ananth Pannala, Min Yang, and Catherine Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology & Medicine* (1999), Vol. 26, Nos. 9/10, pp. 1231-1237
64. Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., & Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89, 27–36.
65. Z. Tunalier, M. Kosar, N. Ozturk, K. H. C. Baser, H. Duman and N. Kirimer, Antioxidant properties and phenolic composition of *Sideritis* species, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 40, No. 3, 2004
66. Dejan Pljevljakušić, Katarina Šavikin, Teodora Jankovic, Gordana Zdunic, Mihailo Ristic, Dejan Godjevac, Aleksandra Konic-Ristic, Chemical properties of the cultivated *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. subsp. *Raeseri*, *Food Chemistry* 124 (2011) 226–233
67. F. A. T. Barberan, I. M. Nunez and F. Tomas, An HPLC study of flavones from some Spanish *Sideritis* species, *Phytochemistry* 24 (1985) 1285-1288.
68. F. A. T. Barberan, M. I. Gil, F. Ferreres, D. Rivera, C. Obon and F. T. Lorente, Distribution of 8-hydroxyflavone glycosides and flavonoid aglycones in some Spanish *Sideritis* species, *Biochem. Syst. Ecol.* 21 (1993) 487-497.
69. F. A. T. Barberan, M. Rejdali, J. B. Harborne and H. Heywood, External and vacuolar flavonoids from Ibero-North African *Sideritis* Species. A chemosystematic approach, *Phytochemistry* 27 (1988) 165-170.
70. C. N. Gabrieli, P. G. Kefalas and E. L. Kokkalou, Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri*, *J. Ethnopharmacol.* 96 (2005) 423-428.
71. B. Janeska et al.: Assay of flavonoid aglycones from the species of genus *Sideritis* (*Lamiaceae*) from Macedonia with HPLC-UV DAD, *Acta Pharm.* 57 (2007) 371–377.
72. Jasmina Petreska Stanoeva and Marina Stefova, Assay of Urinary Excretion of Polyphenols after Ingestion of a Cup of Mountain Tea (*Sideritis scardica*) Measured by HPLC-DAD-ESI-MS/MS, *J. Agric. Food Chem.* 2013, 61, 10488–10497
73. Francesca Danesi, Shikha Saha, Paul A Kroon, Marija Glibetić, Aleksandra Konić-Ristić, Luigi F D'Antuono and Alessandra Bordoni, Bioactive-rich *Sideritis scardica* tea (mountain tea) is as potent as *Camellia sinensis* tea at inducing cellular antioxidant defences and preventing oxidative stress, *J Sci Food Agric* (2013)
74. E. Kokkalou, *Constituents Entrainables A la Vapeur D'eau de Sideritis scardica* Gris. ssp. *scardica*. *Plant. Med. Phytother.*, 21, 262-266 (1987).
75. M. E. Komaitis, E. Melissari-Panagiotou and N. Infanti-Papatragianni, *Constituents of the essential oil of Sideritis scardica*. In: *Off-Flavors in Foods and Beverages*. Edit., G. Charalambous, pp411-415, Elsevier Sci. Publ. B.V., (1992).
76. K.H.C. Baser and Nese Kirlmer, Essential Oil of *Sideritis scardica* Griseb. subsp. *Scardica*, *J. & sent. Oil Res.*, 9, 205-207 (MadApr 1997)

77. T. Ozek, K.H.C. Baser and G. Tumen, The Essential Oil of *Sideritis athoa* Papanikolaou et Kokkini, J. Essent. Oil Res., 5,669-670 (Nov/Dec 1993)