

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

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΠΑΠΑΣΤΑΥΡΟΠΟΥΛΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ
ΑΜ:201200081**

Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων

**Επιβλέπων Καθηγητής: ΠΡΟΕΣΤΟΣ ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ, Επίκουρος Καθηγητής
ΕΚΠΑ**

ΑΘΗΝΑ 2017

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο του τομέα Χημείας Τροφίμων του τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Ο επιβλέπων καθηγητής 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 Μπαράν Μαριάνα, φοιτήτρια του τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την σημαντική βοήθειά της στο εργαστήριο για την εκπόνηση της εν λόγω εργασίας αλλά και για το άψογο κλίμα συνεργασίας που είχαμε. Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην Ροιδάκη Άννα, μεταπτυχιακή φοιτήτρια, για την βοήθειά της στο εργαστήριο. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον φίλο μου Διαμαντόπουλο Βασίλειο για την υποστήριξη και την πολύτιμη βοήθειά του και την οικογένεια μου για την στήριξη και την κατανόησή τους.

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*, *Sideritis clandestina*, *Sideritis scardica*, *Sideritis raeseri*, *Sideritis syriaca* L. και *Sideritis euboica* κ.α. Επίσης, χρησιμοποιείται από την αρχαιότητα κυρίως ως αφέψημα λόγω των σημαντικών φαρμακολογικών του ιδιοτήτων για ιαματικούς 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:

TUVUNU with honey and lemon > Όλυμπος με αρώνια > TUVUNU with lemon > Όλυμπος με λεμόνι

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

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΙΔΕΡΙΤΗ-ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΑ.....	7
1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ.....	8
1.1.1 Εισαγωγή.....	8
1.1.2 Ιστορική αναδρομή.....	9
1.1.3 Γεωγραφική κατανομή.....	10
1.1.4 Βοτανική περιγραφή.....	12
1.2 ΕΙΔΗ-ΥΠΟΕΙΔΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ.....	13
1.3 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ.....	17
1.3.1 Αιθέρια έλαια.....	18
1.3.2 Τερπένια.....	19
1.3.3 Πολυφαινολικες ενώσεις.....	20
1.4 Φαρμακολογικές ιδιότητες.....	24
1.5 ΣΤΑΔΙΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ.....	26
1.6 ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ.....	30
1.7 ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΑ.....	31
1.7.1 Ορισμός.....	31
1.7.2 Ταξινόμηση των φυτοχημικών.....	31
1.7.3 Πολυφαινόλες.....	32
1.7.4 Καροτενοειδή.....	39
1.7.5 Αλκαλοειδή-Τερπενοειδή.....	40

1.7.6 Θειούχες ενώσεις.....	40
1.8 ANΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ.....	41
1.8.1 Γενικά χαρακτηριστικά.....	41
1.8.2 Φυσκά-Συνθετικά.....	42
1.8.3 Μηχανισμοί Δράσης των Αντιοξειδωτικών.....	44
1.9 ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΣΙΔΕΡΙΤΗ.....	46
1.9.1 ΤΥΝΥΝΥ.....	46
1.9.2 Τσάι του βουνού, Όλυμπος.....	48
Σκοπός Εργασίας.....	51
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ – ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ.....	52
2.1 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	53
2.2 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ.....	54
2.2.1 ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ (TPC) Folin Ciocalteu.....	55
2.2.1.1 Αρχή Μεθόδου.....	55
2.2.1.2 Αντιδραστήρας – Διαλυτές & Πρότυπες ουσίες.....	56
2.2.1.3 Πειραματική πορεία.....	56
2.2.2 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ ΑΒΤS.....	57
2.2.2.1 Αρχή Μεθόδου.....	57
2.2.2.2 Αντιδραστήρας – Διαλυτές & Πρότυπες ουσίες.....	59
2.2.2.3 Πειραματική πορεία.....	59
2.2.3 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ ΔΡΡΗ.....	60

2.2.3.1 Αρχή Μεθόδου.....	60
2.2.3.2 Αντιδραστήρας – Διαλυτές & Πρότυπες ουσίες.....	61
2.2.3.3 Πειραματική πορεία.....	61
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	63
3.1 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΣΥΝΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ (TLC) FOLIN- CIOCALTEU.....	64
3.2 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ ABTS ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΣΙΔΕΡΙΤΗ.....	67
3.3 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ DPPH ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΣΙΔΕΡΙΤΗ.....	70
3.4 HPLC-DAD.....	73
3.5 Συμπεράσματα.....	75
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΓΚΡΙΣΗ.....	78
4.1 Αποτελέσματα διαφόρων μελετών.....	79
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	84

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΙΔΕΡΙΤΗ-ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΑ

1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

1.1.1 Εισαγωγή

Το τσάι του βουνού ή αλλιώς Σιδερίτης του Διοσκουρίδη είναι γνωστό βότανο το οποίο χρησιμοποιείται ευρύτατα στις μεσογειακές χώρες ως αφέψημα. Στην Ελλάδα είναι γνωστό από την αρχαιότητα και αναφέρεται από το Θεόφραστο (372-287 π.Χ.) και τον Διοσκουρίδη (10 μ.Χ. αιώνα).

Το επιστημονικό του όνομα *Sideritis* προέρχεται από τη λέξη σίδηρος και κατά μια εκδοχή δόθηκε στο φυτό, εξαιτίας της ικανότητάς του να θεραπεύει τις πληγές που προκαλούνται από σιδερένια αντικείμενα, είτε επειδή αποτελεί φυσική πηγή σιδήρου, αφού στα ροφήματα που παρασκευάζονται από αυτό περιέχεται αρκετός σίδηρος. Μια τρίτη άποψη υποστηρίζει ότι η ονομασία του οφείλεται στο σχήμα των δοντιών του κάλυκα, που μοιάζουν με αιχμή λόγχης. Τα είδη του Σιδερίτη που μας ενδιαφέρουν, αυτοφύονται στις παραμεσόγειες περιοχές και κυρίως στη χώρα μας. Στην Κρήτη είναι γνωστό και ως «μαλοτίρα», ονομασία που προέρχεται κατά την επικρατέστερη εκδοχή από τις ιταλικές λέξεις «male» (αρρώστια) και «tirare» (σύρω), επειδή στην ενετοκρατούμενη Κρήτη το θεωρούσαν πανάκεια για τα κρυολογήματα και τις παθήσεις του αναπνευστικού.^{[3][5][6][16][9][18]}

Τα φυτά του γένους *Sideritis spp* είναι δικοτυλήδονα και ανήκουν στην οικογένεια των χειλανθών (Lamiaceae). Πρόκειται για μονοετείς ή πολυετείς πόες, αποξυλωμένες ενίοτε στη βάση και χνουδωτές με άνθη κίτρινα ή λευκά, μικρά και πολύ αρωματικά λόγω του περιεχομένου αιθερίου ελαίου. Φυτρώνει σε βραχώδεις θέσεις σε μεγάλα υψόμετρα. Το μεγαλύτερο όμως μέρος των φυτών που καταναλώνονται προέρχεται από αυτοφυείς πληθυσμούς που κινδυνεύουν με εξαφάνιση. Τα φυτά ευδοκιμούν σε ξηρά πετρώδη, ασβεστολιθικά και γενικά υποβαθμισμένα εδάφη, σε διάφορες

περιοχές της χώρας, όπως στην Ήπειρο, στη Μακεδονία, στην Κρήτη, στα Ιόνια νησιά, στη Μεσσηνία, στο Πήλιο και στην Εύβοια.
[3][5][6][16][9][18]

1.1.2 Ιστορική αναδρομή

Ο Διοσκουρίδης περιγράφει τρεις Σιδερίτες, από τις οποίες όμως οι δύο δεν έχουν σχέση με το γένος :
[3][5][6][16][9][18]

1. Ο πρώτος ονομάζεται και Ηράκλεια. Η περιγραφή αντιστοιχεί πιθανόν στο *Sideritis scordioides* L ή στον Στάχυ 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 ροβερτιανό ή στην *Scrophularia lucida* L. ή στην *S. chrysanthemifolia* L. (*Scrophulariaceae*).

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

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 *Leucorhaea*. Ο Bentham το 1948 θεώρησε ότι αποτελούν μια Section του γένους *Sideritis* και τους ονόμασε *Marrubiastrum* (Mendoza-Hener 1977) και ο Bolle επανέφερε την κατά Λινναίον κατάταξη. Τέλος ο Mendoza-Hener πρότεινε ότι οι σιδερίτες μπορούν να διακριθούν σε δύο υπογένη, *Sideritis* και *Marrubiastrum* στα οποία μπορούν να καταταχθούν τα διάφορα είδη που απαντώνται στις παραμεσόγειες περιοχές και στα Κανάρια νησιά αντίστοιχα.
[3][5][6][16][9][18]

Γενικά στην αρχαιότητα το όνομα σιδηρίτης αναφερόταν σε διάφορα φυτά, που θεωρείτο ότι είχαν την ικανότητα να επουλώνουν τις σοβαρές πληγές από σιδερένια αντικείμενα, όπως τα βέλη ή τα ξίφη κλπ. Ο Διοσκουρίδης το χρησιμοποιούσε ως θεραπευτικό των πληγών.^{[3][5][6][16][9][18]}

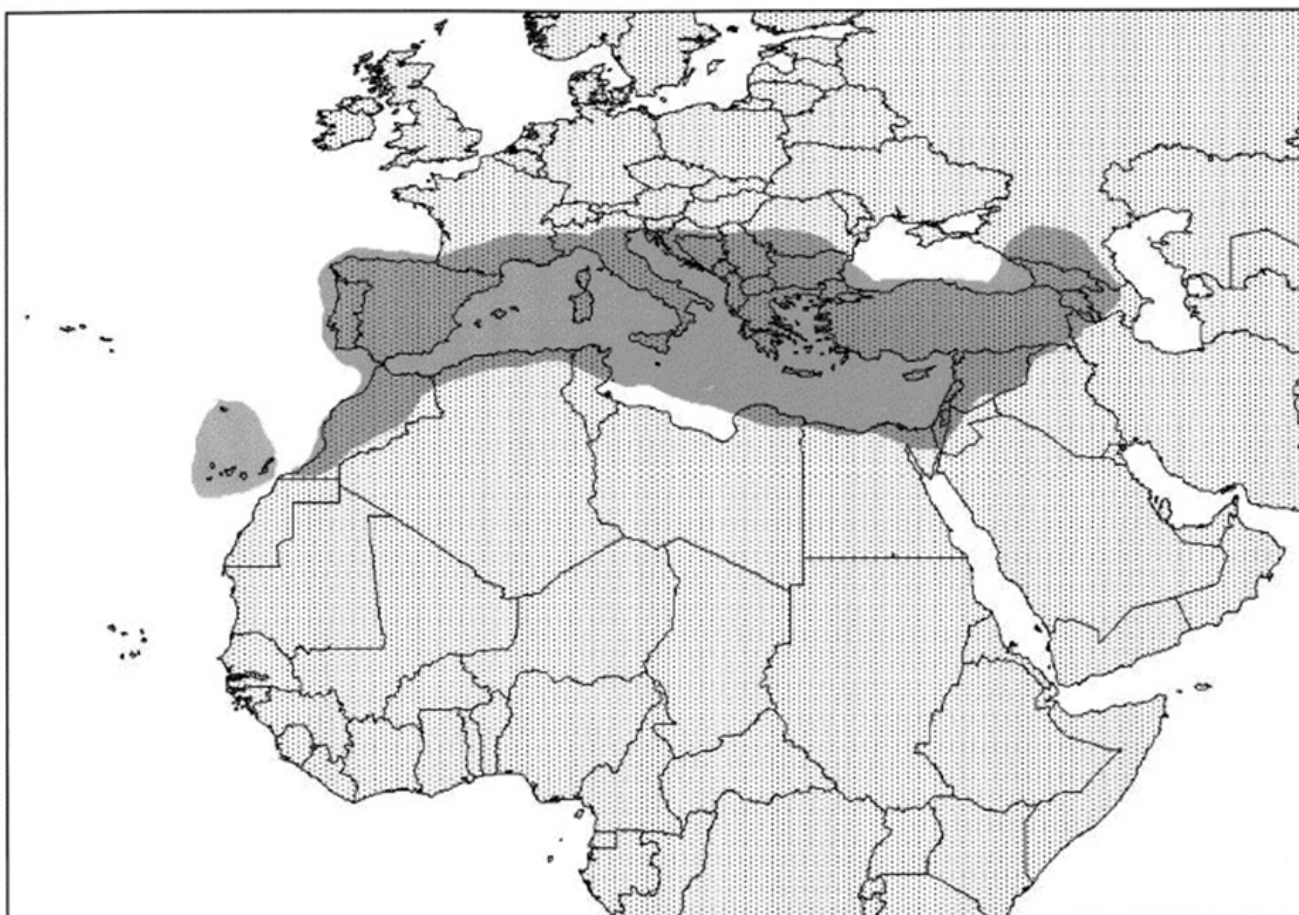
Μετά τη λήξη του δεύτερου παγκοσμίου πολέμου πολλοί κάτοικοι από τα ορεινά χωριά κατέφυγαν σε μεγαλύτερες πόλεις όπου διέδωσαν τη χρήση του τσαγιού. Έτσι κατά τις δεκαετίες του 50 και 60 όπου πολλοί πλέον κάτοικοι της επαρχίας είχαν συγκεντρωθεί στα αστικά κέντρα, η κατανάλωση του τσαγιού άρχισε να αυξάνει 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).

1.1.3 Γεωγραφική κατανομή

Το γένος Σιδηρίτης περιλαμβάνει περίπου 150 είδη που φύονται σε εύκρατες και τροπικές περιοχές του Βόρειου ημισφαιρίου και κυρίως στις παραμεσόγειες χώρες, τις Καναρίους Νήσους και την Βόρεια Ασία. Η Τουρκία και η Ισπανία έχουν τον μεγαλύτερο αριθμό διαφορετικών

ειδών, τα οποία εντοπίζονται στην περιοχή του Μαρμαρά και του Αιγαίου για την Τουρκία, ενώ για την Ισπανία στο νοτιοανατολικό τμήμα της Ιβηρικής Χερσονήσου. Σημαντικό χαρακτηριστικό του γένους είναι ότι περιέχει μεγάλο αριθμό ενδημικών ειδών αφού στην Τουρκία το ποσοστό ενδημισμού φτάνει το 77%, στο Μαρόκο 64% και στην Ιβηρική Χερσόνησο και τις Βαλεαρίδες Νήσους περίπου 74%. Τέλος η Ελλάδα και η Ισπανία είναι οι χώρες με τη μεγαλύτερη κατανάλωση τσαγιού του βουνού. Ενώ στα βουνά της Ελλάδας αυτοφύονται περίπου 17 είδη, τρία εκ των οποίων θα μελετήσουμε σε αυτήν την εργασία.^{[5][6][9][7][16][18][20]}

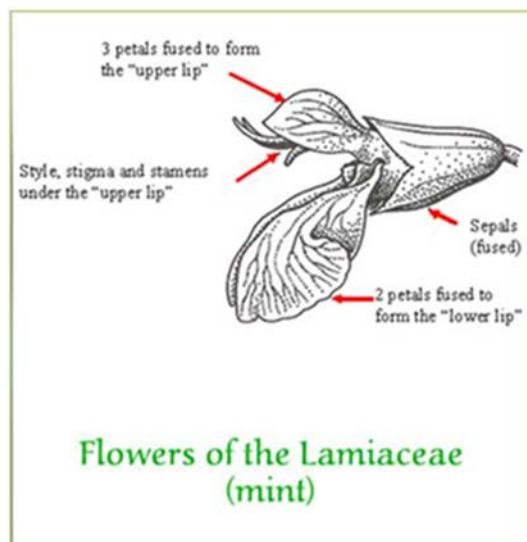


Εικόνα 1: Σκιαγραφημένη περιοχή Μεσογείου και Καναρίων νήσων, όπου απαντάται ο Σιδερίτης.

1.1.4 Βοτανική περιγραφή

Όσον αφορά την ανατομία του φυτού, τα φύλλα είναι ακέραια ή οδοντωτά και τα άνθη ερμαφρόδιτα και συνήθως σχηματίζουν στάχυ. Ο κάλυκας είναι κωνοειδής με 10 νευρώσεις και 5 οδόντες διαταγμένους σε δύο χείλη. Η στεφάνη είναι 3 δίχειλη, κίτρινη, κιτρινόλευκη, λευκή ή ροδόχροη. Το επάνω χείλος αποτελείται από δύο συμφυή πέταλα και συνήθως είναι δισχιδές, 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 ενώ η ωθήκη είναι δίχωρη και με ψευδή διαφράγματα γίνεται τετράχωρη. Οι καρποί είναι τέσσερα κάρυα που περικλείονται από ένα σπέρμα. Η δομή και τα χαρακτηριστικά του φυτού αλλάζουν ανάλογα το είδος, ενώ η σύστασή του επηρεάζεται και από την περιοχή που εβδοκιμεί το φυτό.^{[4][9]}

ΒΟΤΑΝΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ



1.2 ΕΙΔΗ – ΥΠΟΕΙΔΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Από τα 17 περίπου είδη που αυτοφύονται στην Ελλάδα, ιδιαίτερα γνωστά και με μεγάλη εξάπλωση είναι τα παρακάτω:

1. ***Sideritis athena***: Κοινώς λέγεται τσάι βλάχικο, και στο Άγιο Όρος μπεττόνικα. Είναι πολυετής πόα ύψους μέχρι 40 cm, όπου καλύπτεται ολόκληρο με μικρές αδενώδεις τρίχες. Ο βλαστός είναι όρθιος απλός ή διακλαδισμένος και ξυλώδης στη βάση του. 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 στην Σαμοθράκη. Είναι υποείδος του *Sideritis perfoliata*.^{[3][4][5]}



2. ***Sideritis clandestina***: Κοινώς λέγεται τσάι του Μαλεβού ή τσάι του Ταϋγέτου. Είναι πολυετής πόα ύψους μέχρι 40 cm. Ο βλαστός του είναι, όπως και στο προηγούμενο είδος, απλός ή διακλαδισμένος. Τα φύλλα του είναι χνουδωτά, σταχτόχρα, 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 σε βράχους στις υπαλπικές



και αλπικές περιοχές του Μαλεβού, του Ταυγέτου και της Κυλλήνης. Γνωστό υποείδος το *Sideritis peloronnensiaca*.^{[3][4][5]}

3. ***Sideritis syriaca***: Κοινώς λέγεται τσάι της Κρήτης, γνωστό ως μαλοτήρας ή καλοκοιμηθιά. Είναι πολυετής πόα, ύψους 50 cm. Έχει βλαστό συνήθως απλό, ισχυρό, όρθιο, που καλύπτεται με πυκνό άσπρο χνούδι. Αυτοφύεται στα βουνά της Κρήτης και κυρίως στα Λευκά Όρη και στον Ψηλορείτη σε υψόμετρο 1.300 – 2.000 μέτρα.^{[3][4][5]}



4. ***Sideritis euboica***: Κοινώς λέγεται τσάι της Εύβοιας ή τσάι απ' το Δέλφι. Είναι πολυετής πόα ύψους 30-50 cm, με πυκνό και λευκό χνούδι σε όλα τα μέρη του. Ο βλαστός του είναι ξυλώδης στη βάση, ισχυρός, 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 στην Εύβοια και κυρίως στα βουνά Δίρφου σε υψόμετρο 1.000 – 1.540m.^{[3][4][5]}

5. ***Sideritis scardica***: Κοινώς λέγεται τσάι του Ολύμπου. Είναι πολυετής πόα, έχει βλαστό απλό ή διακλαδισμένο, τετραγωνισμένο, λίγο ξυλώδη στην βάση. Τα φύλλα του είναι πράσινα λογχοειδή, ακέραια ή ελαφρώς πριονωτά, με λευκό χνούδι, τα κατώτερα έμμισχα και τα ανώτερα άμισχα. Ο κάλυκας είναι μάλλον κωδωνοειδής και καταλήγει σε δόντια, καλύπτεται από πυκνές τρίχες και τα πέταλα του άνθους έχουν χρώμα ζωηρό κίτρινο. Αυτοφύεται σε βραχώδη μέρη και σε υψόμετρο πάνω από 1.000μ., στον Όλυμπο, στον Κίσσαβο και στο Πήλιο.^{[3][4][5]}



6. ***Sideritis raeseri***: Κοινώς λέγεται τσάι του Παρνασσού ή τσάι του Βελουχιού. Είναι πολυετής πόα, ύψους μέχρι 40 εκ. Ο βλαστός είναι λεπτός, χνούδης, απλός και σπάνια διακλαδισμένος, λίγο ξυλώδης στη βάση. Τα κατώτερα φύλλα είναι έμμισχα και τα ανώτερα άμισχα λογχοειδή, λίγο πριονωτά με άσπρο χνούδι, και άνθη έντονα κίτρινα στις ακραίες ταξιανθίες.^{[3][4][5]}



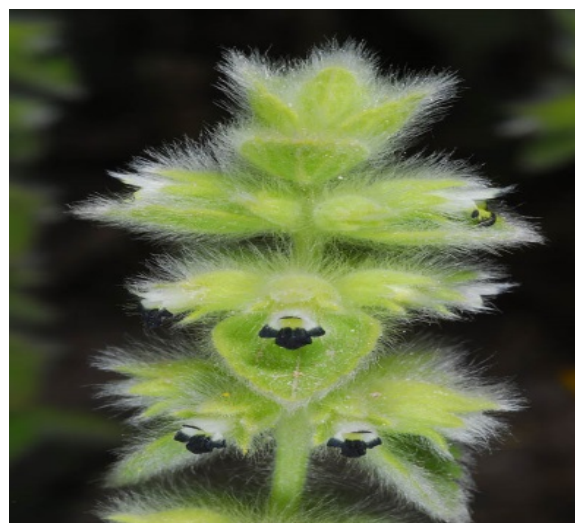
Έχουν χρώμα πράσινο ως λευκοπράσινο και είναι ακέραια ή ελαφρώς πριονωτά. Ο κάλυκας έχει λευκοπράσινο χρώμα, καταλήγει σε δόντια και τα πέταλα του άνθους έχουν χρώμα κίτρινο. Αυτοφύεται και καλλιεργείται στον Νομό Μαγνησίας. Ευδοκίμει σε ορεινές περιοχές και σε χωράφια ασβεστούχα, πετρώδη, μέτριας γονιμότητας, ξηρικά.

7. *Sideritis romana* subsp.

***Purpurea*:** Σιδηρίτης η ρωμαία υποείδ. η πορφυρά.



8. *Sideritis lanata* : Σιδηρίτης η εριώδης.



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, με άφθονο ήλιο. Συναντώνται

ιδιαίτερα σε σχισμές βράχων όπου ελάχιστα είδη φυτών θα μπορούσαν να επιβιώσουν.^[3]

Από τα παραπάνω είδη καλλιεργείται μόνο το *S. Raeseri* το οποίο αποτελεί βασική πηγή εισοδήματος για τους κατοίκους κυρίως του χωριού Βρύναινα και Κοκκωτοί, που βρίσκονται σε ορεινές περιοχές του όρους Όρθρυς. Χαρακτηριστικό της περιοχής είναι η ύπαρξη πολλών αρωματικών φυτών της Μεσογειακής χλωρίδας, τα οποία βρίσκονται σε σημαντικούς πληθυσμούς σε σχέση με την υπόλοιπη χλωρίδα. Όλα τα τσάγια του βουνού κινδυνεύουν να εξαφανιστούν λόγω της υπερκατανάλωσης.^[3]

1.3 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ

Τα τελευταία 20 χρόνια γίνεται προσπάθεια για απομόνωση και ταυτοποίηση των συστατικών των διαφόρων ειδών σιδεριτή, ώστε να εντοπιστούν οι κυριότερες ουσίες που παρουσιάζουν βοτανικό και φαρμακολογικό ενδιαφέρον.

Τα διάφορα είδη σιδεριτή είναι πλούσια σε διτερπενοειδή και флаβονοειδή, ωστόσο, τα τελευταία χρόνια έχουν απομονωθεί και άλλα συστατικά, όπως ιριδοειδή, κουμαρίνες, φαινυλοπροπάνια, μονοτερπένια, λιγνάνες και γλυκοσίδια φαινυλοπροπανοειδών και άλλες κατηγορίες μικρότερης σημασίας και περιεκτικότητας.^{[10][18][20]}

Τα συστατικά αυτά μελετώνται ως προς τη δομή και τη δράση και αποτελούν ένα καλό χημειοταξινομικό δείκτη για την αναγνώριση και ταξινόμηση των ειδών όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

Το *S. Syriaca* έχει δείξει ότι το εκχύλισμα των φυτών του γένους αυτού, περιέχει τρεις κύριες κατηγορίες ενεργών συστατικών:^{[10][18][20]}

- Αιθέρια έλαια
- Διτερπένια
- Πολυφαινόλες

1.3.1 Αιθέρια έλαια

Τα αιθέρια έλαια που απαντώνται στα φυτά του γένους *Sideritis*, είναι γνωστά κυρίως για τις αντιμικροβιακές τους ιδιότητες. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι τα έλαια του *Sideritis syriaca subsp. syriaca*, που χαρακτηρίζονται από τη παρουσία υψηλού ποσοστού της ένωσης καρβακρόλη, επέδειξαν την ισχυρότερη δραστικότητα ενάντια στα βακτήρια και στους παθογόνους μύκητες . Είναι σύνθετα μίγματα πτητικών ενώσεων με ισχυρό άρωμα, που συντίθενται σε διάφορα φυτικά όργανα. Οι ουσίες αυτές ανήκουν στην ομάδα των τερπενίων (μονοτερπένια, σεскиτερπένια, αλκοόλες, εστέρες κ.ά.). Τα πτητικά συστατικά των αιθερίων ελαίων κατατάσσονται σε 4 ομάδες: ^{[10][18][20]}

- Μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες
- Οξυγονούχα μονοτερπένια
- Σεскиτερπενικούς υδρογονάνθρακες
- Οξυγονούχα σεскиτερπένια

Η περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο είναι χαμηλή. Κυμαίνεται από 0,05 – 1%. Σύμφωνα με έρευνα στο φυτό Σιδερίτη της Τουρκίας, υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της απόδοσης σε αιθέριο έλαιο και των ομάδων των συστατικών του. Έτσι όσο υψηλότερη η απόδοση σε έλαιο, τόσο υψηλότερη η περιεκτικότητα των μονοτερπενίων σε υδρογονάνθρακες. Ενώ όσο χαμηλότερη η απόδοση, τόσο μεγαλύτερη η περιεκτικότητα του σε σεскиτερπένια. ^{[10][18][20]}

Τα κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου είναι μινθόλη, γερανιόλη, β-καρυοφυλλένιο και νερολιδόλη. Η δραστικότητα των αιθερίων ελαίων, μπορεί να αποδοθεί σε μεγάλο βαθμό, στη παρουσία των μονοτερπενίων α-πινένιου και β-πινενίου, αλλά κυρίως στη παρουσία της ένωσης καρβακρόλη, τα οποία εμφάνισαν την ισχυρότερη δράση ενάντια σε πολλούς μικροοργανισμούς. Στα αιθέρια έλαια των *Sideritis sipylea*, *Sideritis raeseri subsp. attica* και *Sideritis clandestine subsp. clandestina*, οι ενώσεις α-πινένιο και β-πινένιο, ήταν τα κύρια συστατικά, φτάνοντας τα ποσοστά 43,96%, 42,84% και 27,42%, αντίστοιχα. Στο δείγμα του *Sideritis raeseri subsp. raeseri* το ποσοστό των δύο παραπάνω πινενίων, ήταν 12,69%, αλλά το συνολικό ποσοστό των

μονοτερπενικών υδρογονανθράκων ήταν 30,18%. Το ποσοστό των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων στο *Sideritis syriaca* ήταν μικρότερο από αυτό που παρατηρήθηκε στα άλλα δείγματα (18,35%).^{[10][18][20]}

1.3.2 Τερπένια

Η κατηγορία των τερπενίων αποτελεί αντικείμενο ερευνών, αφού πέρα από τις φαρμακολογικές τους ιδιότητες, δίνουν σημαντικές πληροφορίες για την δομή τους και την περιεκτικότητά τους στα εκχυλίσματα των φυτών. Λειτουργούν δηλαδή ως χημειοταξινομικοί δείκτες. Τόσο τα μονοτερπένια και τα σεσκιτερπένια των αιθερίων ελαίων, όσο και τα άκυκλα διτερπένια, τα λαβδάνια, τα καουρένια και τα τετρα-, πεντακυκλικά διτερπένια και τριτερπένια, συντίθενται στα υπέργεια τμήματα των φυτών.^{[10][18][20]}

Τα είδη του γένους *Sideritis* εκτός από τη σύστασή τους σε αιθέρια έλαια, είναι πολύτιμα και λόγω του υψηλού περιεχομένου τους σε διτερπένια, που αποτελούν ενώσεις με 4 μονάδες ισοπρενίου. Στην ανατολική και κεντρική Μεσόγειο τα είδη του γένους αυτού περιέχουν αποκλειστικά, παράγωγα εντ-καουρένιου. Τα τερπενικά συστατικά εξανικών και μεθανολικών εκχυλισμάτων από 12 είδη του γένους *Sideritis*, που συλλέχθηκαν από διαφορετικές περιοχές της Ισπανίας, μελετήθηκαν με εφαρμογή χρωματογραφίας HPLC. Από τη μελέτη αυτή ταυτοποιήθηκαν ορισμένα διτερπένια όπως, η σεραδιόλη, λινεαρόλη, κονχιτριόλη, φολιόλη, ισοφολιόλη, ανδαλουσόλη, λαγασκατριόλη, τοβαρόλη, σιδόλη και σιδερόλη. Επιπλέον, η ανάλυση αυτή έδειξε άμεση συσχέτιση μεταξύ του περιεχομένου σε διτερπένια των ειδών που μελετήθηκαν και της χρήσης τους στην ιατρική. Συγκεκριμένα, το διτερπένιο ανδαλουσόλη, που παρουσιάζει σημαντική αντιφλεγμονώδη δράση, ήταν η κύρια ένωση στα είδη που είναι γνωστά για τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές τους, όπως τα *S. biflora*, *S. bourgeana*, *S. cillensis*, *S. leucantha*, *S. luteola* και *S. pusilla*.^{[10][18][20]}

Τα είδη *Sideritis* παρουσιάζουν έντονο υβριδισμό, ο οποίος μπορεί να λάβει χώρα ακόμα και μεταξύ πιο απομακρυσμένων ειδών (που ανήκουν ακόμα και σε διαφορετικά sections), γεγονός που δυσχεραίνει την ταξινόμηση

βάσει κλασικών μεθόδων, αλλά ακόμα και αυτήν την ίδια τη χημειοταξινόμηση. Ωστόσο ο συνδυασμός χημειοταξινομικών δεικτών του γένους (διτερπένια και флаβονοειδή) με συγκεκριμένα μορφολογικά χαρακτηριστικά έχει συνεισφέρει στη διαλεύκανση αρκετών περιπτώσεων στη συστηματική των ειδών *Sideritis*. Πέραν του γενετικού παράγοντα, η διαφοροποίηση στην ποσότητα αλλά και τη χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων, ακόμα και εντός του είδους, οφείλεται επιπλέον σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, στο χρόνο συγκομιδής και άλλες καλλιεργητικές πρακτικές, στο χημειότυπο του φυτού, καθώς και στην κατάσταση θρέψης του. Επίσης, έχει αναφερθεί η διαφορετική μέθοδος απομόνωσης των αιθερίων ελαίων, ως αίτιο της παραλλακτικότητας αυτής. [10][18][20]

1.3.3 Πολυφαινολικές ενώσεις

Εκτός από τα αιθέρια έλαια και τα διτερπένια υπάρχουν πολυφαινολικές ενώσεις και μάλιστα σε αρκετά μεγάλη αναλογία, στα φυτά του γένους *Sideritis*. Η φαινολική σύσταση 27 ειδών του γένους *Sideritis*, που συλλέχθηκαν από διαφορετικές περιοχές της Τουρκίας, μελετήθηκε από τους Tunalier. Από την ανάλυση αυτή ταυτοποιήθηκαν τρεις κατηγορίες φαινολικών ομάδων: [10][18][20]

- βενζοϊκά οξέα
- υδροξυκιναμμωμικά οξέα
- флаβονοειδή

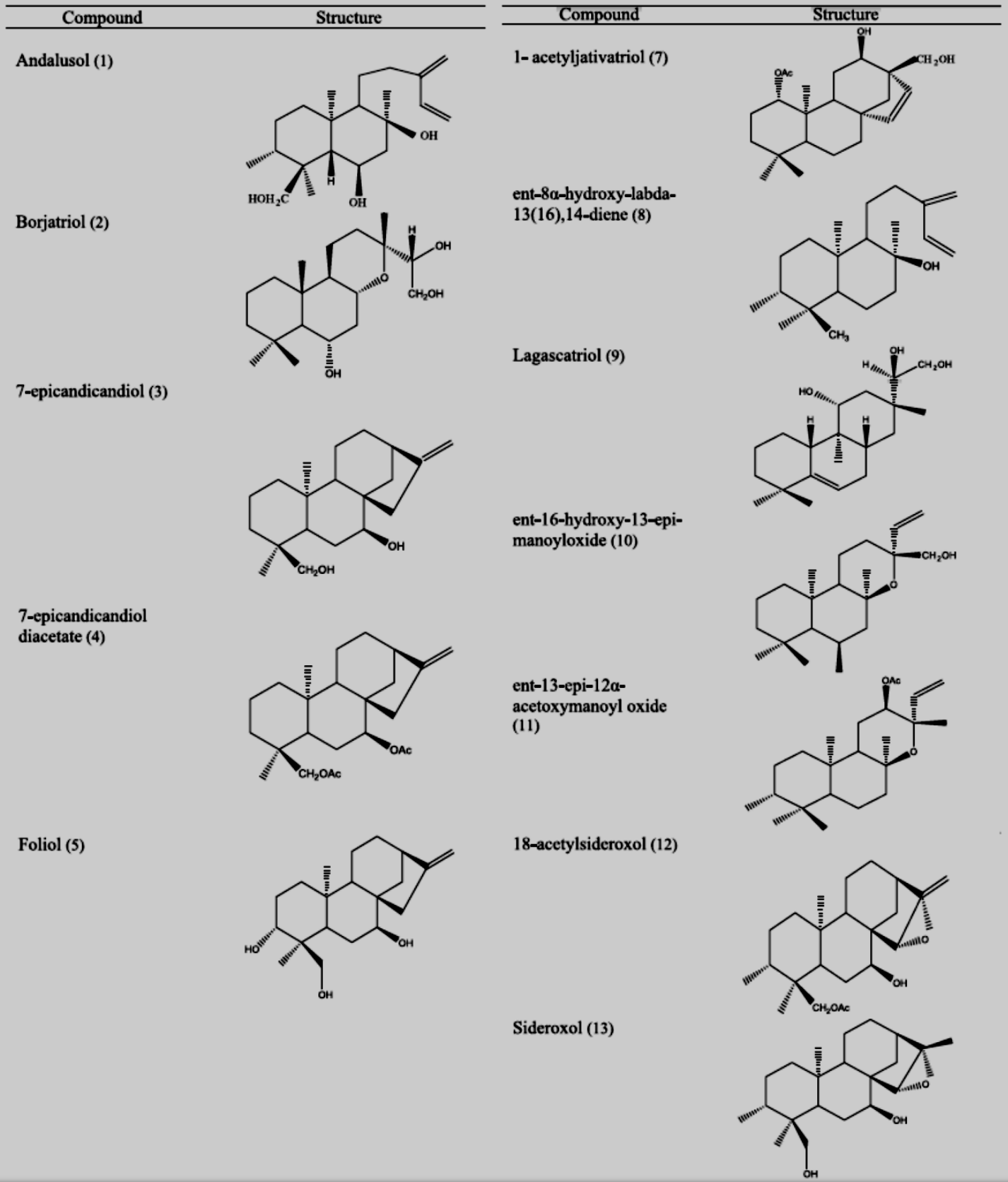
Σε όλα τα είδη εκτός των *S. amasiaca*, *S. argyrea*, *S. brevidens* και *S. niveotomentosa*, τα παράγωγα των флаβονοειδών αποτελούσαν το κύριο συστατικό. Τα είδη *S. amasiaca* και *S. germanicopolitana subsp. viridis* περιείχαν τα υψηλότερα ποσά флаβονοειδών και υδροξυκιναμμωμικών οξέων. Εννέα διαφορετικές δομές флаβονών του τύπου 5,8- dihydroxy-flavone- 7-*o*-allosylglucosides, απομονώθηκαν από το μεθανολικό εκχύλισμα του υποείδους *Sideritis raeseri subsp. raeseri*, από τους Gabrieli (2005). Οι ίδιες μορφές

φλαβονών απαντώνται και σε άλλα είδη του γένους *Sideritis* όπως στα, *S. hyssopifolia*, *S. scardica* και *S. syriaca*.^{[10][18][20]}

Οι φαινολικές ενώσεις τείνουν να είναι υδατοδιαλυτές, επειδή έχουν την τάση να συνδυάζονται με σάκχαρα ως γλυκοζίτες και συνήθως βρίσκονται στο χυμοτόπιο των κυττάρων. Η κύρια κατηγορία φαινολικών ενώσεων στο Σιδερίτη, τα φλαβονοειδή διακρίνονται στις εξής ομάδες:^{[10][18][20]}

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

Γενικά το άγλυκο μέρος θεωρείται ως πιο αξιόπιστος ταξινομικός δείκτης. Συγκεκριμένα τα άγλυκα μέρη που έχουν ανιχνευθεί στο *S. euboica* είναι η καμφερόλη και στο *S. raeseri* και στο *S. syriaca* L. η ισοσκουτελεραΐνη, η απιγενίνη και το π-κουμαρικό.^{[10][18][20]}



Εικόνα 2: Διτερπενικά συστατικά αιθερίου ελαίου του τσαγιού.

Compound	Structure	Compound	Structure
Hypolaetin (14)		Lavandulifolioside (20)	
Hypolaetin-8-glucoside (15)		Leucosceptoside (21)	
5-O-demethynobiletin (16)		Martynoside (22)	
Sideritoflavone (17)		Verbascoside (23)	
Cirsiliol (18)		Acteoside (24)	
Xanthomicrol (19)			

Εικόνα 3: Φλαβονοειδή και γλυκοζίτες του αιθερίου ελαίου του τσαγιού.

1.4 ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Παραδοσιακά στην Ελλάδα το τσάι του βουνού προτιμάται πολύ για τις ευεργετικές του επιδράσεις στα κρυολογήματα και τις φλεγμονές του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος, καθώς και για την καταπολέμηση της δυσπεψίας και των γαστρεντερικών διαταραχών, ενώ θεωρείται και αντισπασμωδικό, αναλγητικό και επουλωτικό. Οι παραδοσιακές του όμως αυτές χρήσεις επιβεβαιώνονται και επιστημονικά.^{[18][6][5][16]}

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 είναι οι παρακάτω:^{[18][6][5][16]}

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

- **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.

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.

Η ισχυρή του επουλωτική και ανανεωτική δράση, το καθιστά ιδανικό για χρήση σε τραύματα, ενώ παράλληλα προστατεύει από επιμολύνσεις των πληγών λόγω της αντιμικροβιακής αλλά και της αντιβακτηριακής του δράσης. Η αναλγητική του δράση σε συνδυασμό με την αντιφλεγμονώδη δράση του, το καθιστά από αρχαιοτάτους χρόνους ιδανικό για προστασία και πλύσιμο πληγών τόσο εξωτερικά όσο εσωτερικά, ως έγχυμα ή βάμμα. Το έγχυμα από τσάι του βουνού, είναι ιδιαίτερα τονωτικό και καταπολεμά την υπέρταση, ενώ παράλληλα, λόγω της αντιοξειδωτικής του δράσης, αναστέλλει την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων. Ακόμα προστατεύει από κοινά κρυολογήματα, ενώ επίσης είναι αντιπυρετικό και εφιδρωτικό. Ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα και το τονώνει, ενώ παράλληλα έχει αντική δράση καθώς και το αιθέριο έλαιο του τσαγιού του βουνού και ιδιαίτερα αυτό της μαλοτίρας είναι ιδιαίτερα δραστικό αντιμικροβιακό, λόγω της περιεκτικότητάς του σε καρβακρόλη. [18][6][5][16]

Πολλές βιολογικές δράσεις έχουν αναφερθεί για τα διτερπένια του γένους *Sideritis* και συγκεκριμένα παρουσιάζουν αντιβακτηριακή, αντιμυκητιακή, αντιφλεγμονώδη, κυτταροτοξική και αντικαρκινική δραστηριότητα. Επιπλέον, τα ent-καουρένια διτερπένια και τα ημι-συνθετικά παράγωγά τους, όπως η λινεαρόλη, έχουν μελετηθεί για τις αντι- HIV επιδράσεις τους, αλλά και για τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες. Τα ent-καουρένια, ent-καουρ-16-ενοϊκό οξύ και ent-καουρεν-19-οϊκό οξύ, έχουν επίσης εξεταστεί για τις αντιμικροβιακές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές τους. Τέλος, ένα άλλο γνωστό διτερπένιο, η σιδερόλη, που απομονώθηκε από φυτά της οικογένειας *Lamiaceae*, έχει

επιδείξει αντιβακτηριακή και αντι-ική ενεργότητα έναντι διαφορετικών βακτηρίων. ^{[18][6][5][16]}

Ο σιδερίτης, έχει ευεργετική δράση και στο αναπνευστικό σύστημα λειτουργώντας ως αποχρεμπτικό και ανακουφίζοντας από προβλήματα αναπνευστικής φύσης. Βελτιώνει την καρδιαγγειακή λειτουργία, ενώ λόγω των υψηλών ποσοστών σιδήρου που έχει, προλαμβάνει την αναιμία. Λειτουργεί στον οργανισμό ως αντιθρομβωτικό, προστατεύοντας από καρδιαγγειακά νοσήματα.

Σε σχέση με το στομάχι, το τσάι του βουνού, διεγείρει τις γαστρικές εκκρίσεις, οπότε λειτουργεί καλά ως χωνευτικό και οι στυπτικές του ιδιότητες το καθιστούν ιδανικό για αντιμετώπιση φλεγμονών του στομάχου, των εντέρων αλλά και του ουρογεννητικού συστήματος. Θεωρείται ότι η συστηματική χρήση του εγχύματος από τσάι του βουνού, προκαλεί αποτοξίνωση ζωτικών οργάνων όπως το συκώτι και τα νεφρά. Άξιο αναφοράς είναι ότι το τσάι του βουνού, είναι από τα ελάχιστα βότανα, για τα οποία δεν έχουν παρατηρηθεί αντενδείξεις ή παρενέργειες από υπερκατανάλωση. ^{[18][6][5][16]}

1.5 ΣΤΑΔΙΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Ο σημαντικός ρόλος του σιδερίτη ως παραδοσιακό αφέψημα στην περιοχή της ανατολικής Μεσογείου και της Ισπανίας, έχει αυξήσει την ανάγκη για καλλιέργειά του, καθότι η συλλογή των αυτοφυών φυτών δεν αρκεί για να καλύψει τις ανάγκες της αγοράς. Στην Ελλάδα η καλλιέργεια γίνεται σύμφωνα με τα ακόλουθα στάδια:

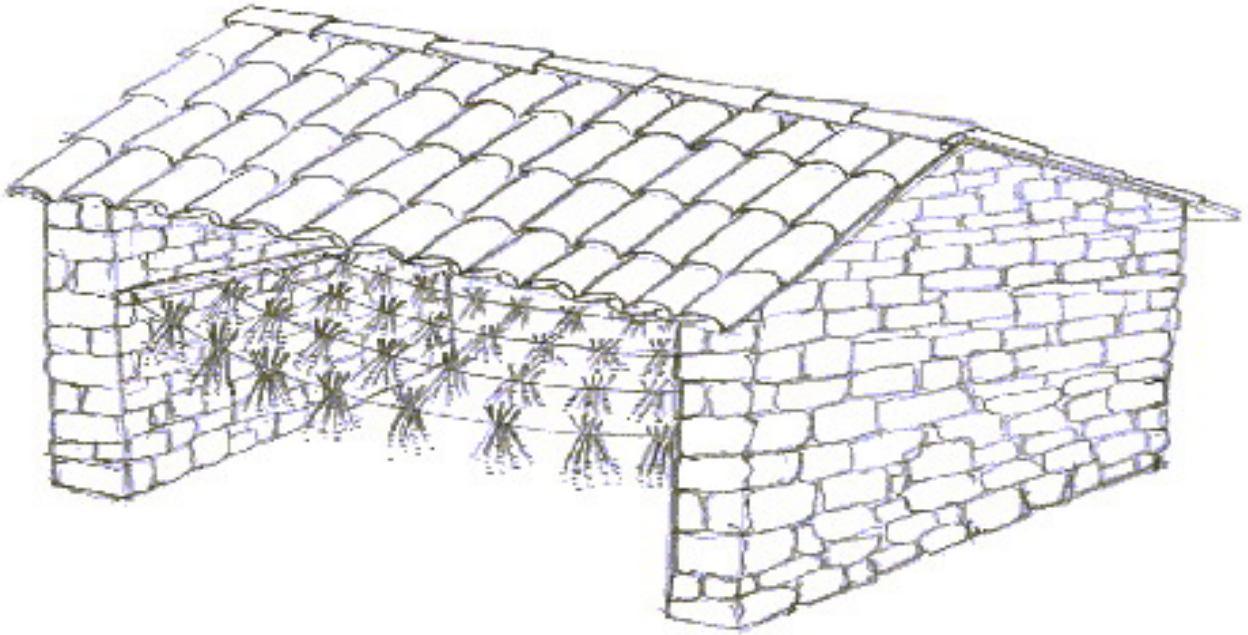
- **Εγκατάσταση φυτείας:** Δύο εποχές κρίνονται κατάλληλες για τη φύτευση. Η πρώτη είναι το Φθινόπωρο (Οκτώβρη -Νοέμβρη) και η δεύτερη τέλος του χειμώνα με αρχές άνοιξης (Φλεβάρης-Μάρτης). Για τις ελληνικές συνθήκες προτιμότερο είναι το φθινόπωρο μετά τα πρωτοβρόχια. Η φύτευση γίνεται σε γραμμές που απέχουν μεταξύ τους 50-60 cm. Πάνω στις γραμμές τα φυτά απέχουν μεταξύ τους 40 - 50 cm. Μπορεί να γίνει με φυτευτικές μηχανές (καπνού,ντομάτας), ύστερα από

κατάλληλη ρύθμιση της απόστασης των δίσκων, ή με το χέρι σε μικρούς λάκκους ή με το φυτευτήρι. Εάν μετά τη φύτευση δεν ακολουθήσει βροχή, καλό είναι να γίνει ριζοπότισμα, για καλύτερα αποτελέσματα.
[5][6][7][10][1][21]

- **Προετοιμασία εδάφους:** Το τσάι του βουνού είναι πολυετής ξηρική καλλιέργεια. Γι' αυτό πριν από τη φύτευση το χωράφι πρέπει απαραίτητα να προετοιμαστεί κατάλληλα. Έτσι το καλοκαίρι, πριν το φύτεμα, γίνεται ένα βαθύ όργωμα και λίγο πριν από τη φύτευση γίνεται, ανάλογα με τη φύση του εδάφους, ένα φρεζάρισμα ή ένα ελαφρό όργωμα και δισκοσβάρνισμα, για να καταστραφούν τα ζιζάνια, να σκεπαστεί το λίπασμα και να διευκολυνθεί το φύτεμα. [5][6][7][10][1][21]
- **Εδαφικές απαιτήσεις – Λίπανση:** Προσαρμόζεται καλά σε εδάφη πετρώδη, καλώς στραγγιζόμενα και απαιτεί υψηλό υψόμετρο μεγαλύτερο των 500 μέτρων. Αναπτύσσεται σε ποικιλία εδαφών με pH 6,0-8,0. Ακατάλληλες οι ζεστές περιοχές, με επίπεδα αγροτεμάχια που «νεροκρατούν». Δεν υπάρχουν πειραματικά δεδομένα για τη λίπανση στο τσάι του βουνού. Από δοκιμαστικές καλλιέργειες που έγιναν στη χώρα μας, καλά αποτελέσματα έδωσαν η προσθήκη στο στρέμμα 3 ως 4 μονάδες αζώτου και 4 ως 5 μονάδες φωσφόρου αργά το φθινόπωρο, όταν διαπιστωθεί ότι η φυτεία δεν είναι καλά αναπτυγμένη. Όταν η φυτεία είναι ζωηρή, πρέπει να αποφεύγεται η λίπανση για να μην υπάρχει μεγάλη ποσότητα αζώτου στο έδαφος, που έχει αποτέλεσμα τη μεγάλη ανάπτυξη των φυτών και τη μείωση της ποιότητας, του προϊόντος. Επίσης σε καμιά περίπτωση δεν γίνεται πότισμα της φυτείας, γιατί υποβαθμίζεται η ποιότητα του φυτού. [5][6][7][10][1][21]
- **Άρδευση:** Μπορεί να καλλιεργηθεί και ως ξηρικό, αξιοποιεί όμως πολύ καλά το νερό όταν του δοθεί αρκεί να είναι σε μικρές δόσεις και να μην παραμένει στο ριζικό σύστημα του φυτού καθώς είναι ευαίσθητο σε σηψηριζίες. [5][6][7][10][1][21]

- Καταπολέμηση ζιζανίων και ασθενειών:** Επειδή το τσάι του βουνού είναι ξηρικό και καλλιεργείται σε φτωχά εδάφη, έχει μεγάλη ανάγκη από την καταπολέμηση των ζιζανίων, για να μην έχουμε μειωμένη παραγωγή και να διατηρηθεί η παραγωγικότητα της φυτείας για περισσότερα χρόνια. Μέχρι σήμερα, παρ' όλες τις προσπάθειες και τα πειράματα που έγιναν, δεν βρέθηκε ακόμη το κατάλληλο ζιζανιοκτόνο που να καταστρέφει τα ζιζάνια στις καλλιέργειες. Έτσι ο καλύτερος τρόπος για να απαλλαγεί η φυτεία από τα ζιζάνια παραμένει το σκάλισμα. Συνήθως γίνονται δύο σκαλίσματα την άνοιξη, όπου εκτός από τα ζιζάνια αφαιρούνται και οι ξηροί βλαστοί που υπάρχουν. Όσο για τις ασθένειες λόγω του ότι το υψόμετρο είναι υψηλό συνήθως δεν αντιμετωπίζονται προβλήματα από εντομολογικές προσβολές. Αλλά η υπερβολική άρδευση μπορεί να είναι παράγοντας ανάπτυξης μυκητολογικών ασθενειών στο ριζικό σύστημα (σηψηριζίες).^{[5][6][7][10][1][21]}
- Συγκομιδή - Ξήρανση :** Η συγκομιδή γίνεται συνήθως τον Ιούλιο, στο στάδιο που τα φυτά βρίσκονται σε πλήρη άνθιση. Κατά τη συγκομιδή κόβεται ολόκληρη η ταξιανθία και κάτω από αυτή ένα μέρος του βλαστού, μήκους 5 ως 6 cm, με μαχαίρι ή δρεπάνι. Στη συνέχεια η ποσότητα που συγκομίστηκε μεταφέρεται για ξήρανση σε υπόστεγα που έχουν σκεπή από κεραμίδια, για να αποκτήσει ένα χρώμα πρασινοκίτρινο που είναι το καλύτερο. Εάν η ξήρανση δεν γίνει σε σκιά ή όταν το υπόστεγο είναι από λαμαρίνα, τότε τα φυτά αποχρωματίζονται, με αποτέλεσμα να υποβαθμιστεί η ποιότητά τους. Η ξήρανση στα υπόστεγα γίνεται, είτε με άπλωμα είτε με κρέμασμα σε ματσάκια. Τα δεματάκια συσκευάζονται σε δέματα βάρους 20 κιλών, που περιμετρικά καλύπτονται με λινάτσα, όπως ο καπνός. Σ' αυτή τη μορφή φυλάγεται σε αποθήκες που αερίζονται καλά, μέχρι να διατεθεί στο εμπόριο.^{[5][6][7][10][1][21]}
- Απόδοση:** Η καλλιέργεια στο ίδιο χωράφι διαρκεί 5-8 χρόνια. Η παραγωγή από το 2^ο-4^ο έτος αυξάνεται και από το 5^ο έτος αρχίζει να

μειώνεται. Από μια επιτυχημένη φυτεία με ευνοϊκές καιρικές συνθήκες μπορούμε να πάρουμε τις παρακάτω αποδόσεις: Τον πρώτο χρόνο περίπου 10 κιλά ξερό προϊόν, το δεύτερο 50-60 κιλά, τον τρίτο και τέταρτο 90-100 κιλά. Όταν στη φυτεία γίνουν όλες οι απαραίτητες καλλιεργητικές φροντίδες, αυτή μπορεί να διατηρηθεί παραγωγική για περισσότερα από 5 χρόνια.^{[5][6][7][10][1]}



Εικόνα 4 : Υπόστεγο ξήρανσης του τσαγιού.

1.6 ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ

Όλα τα είδη που έχουν αναφερθεί παραπάνω πολλαπλασιάζονται με δύο τρόπους: α) Εγγενώς (με σπόρο) και β) Αγενώς (με παραφυάδες).

α) Εγγενώς με σπόρο: Ο σπόρος συγκεντρώνεται από το αυτοφύομενο ή καλλιεργούμενο τσάι του βουνού. Τα φυτά από τα οποία θα πάρουμε το σπόρο πρέπει να είναι υγιή και εύρωστα, και ακόμα να έχει γίνει καλά η γονιμοποίηση των ανθέων και η ωρίμανση του σπόρου. Οι ταξιανθίες μαζεύονται, ξεραίνονται και ο σπόρος αποχωρίζεται με κτύπημα των σποροποιημένων ταξιανθιών, κυρίως τις μεσημεριανές ώρες, όταν η υγρασία τους θα έχει μειωθεί στο ελάχιστο. Χρειάζεται προσοχή ώστε ο σπόρος να σπέρνεται αραιά, γιατί σε αντίθετη περίπτωση τα φυτά φυτρώνουν πυκνά, δεν αερίζονται καλά και καταστρέφονται εύκολα από σηψιρριζία. Τα σπορόφυτα μεταφυτεύονται όταν αποκτήσουν 4-6 φύλλα.^[6]

β) Αγενώς με παραφυάδες: Ένα φυτό τσάι του βουνού, μετά το δεύτερο έτος δίνει αρκετές παραφυάδες, δηλαδή βλαστούς με λίγες ρίζες στη βάση. Όταν οι παραφυάδες αφαιρεθούν από τα μητρικά φυτά, φυτεύονται στο χωράφι, όπως και τα φυτά των σπορειών.^[6]

1.7 ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΑ

1.7.1 Ορισμός

Οι ευεργετικές δράσεις στην υγεία έχει βρεθεί ότι αποδίδονται σε ένα πλήθος ενώσεων, τα λεγόμενα φυτοχημικά. Με τον όρο αυτό εννοούμε τα χημικά συστατικά που απαντώνται με φυσικό τρόπο μόνο στα φυτά και τα φυτικά τρόφιμα. Ένα φυτικό προϊόν είναι πιθανό να διαθέτει πλήθος φυτοχημικών ουσιών, οι οποίες έχουν ως βασικό ρόλο να προστατεύουν το ίδιο το φυτό από κινδύνους όπως είναι διάφορα μικρόβια, παράσιτα, η ακτινοβολία UV, οι υψηλές θερμοκρασίες, ενώ είναι αυτές που προσδίδουν το χρώμα στα φυτά καθώς και άλλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά όπως είναι, το άρωμα και η γεύση. Το διατροφικό τους ενδιαφέρον έγκειται στο γεγονός ότι παρέχουν ειδικά οφέλη για την υγεία και τη διατήρηση της ευεξίας συμβάλλοντας στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης χρόνιων ασθενειών όπως είναι τα καρδιαγγειακά νοσήματα, ο σακχαρώδης διαβήτης, ο καρκίνος, η νόσος Alzheimer καθώς και η λειτουργική φθορά που επέρχεται λόγω ηλικίας. Ωστόσο, τα συστατικά αυτά, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες Οδηγίες του Αμερικάνικου Οργανισμού Τροφίμων και Φαρμάκων (US FDA Guidelines), θεωρούνται θρεπτικές ουσίες καθώς δεν είναι απαραίτητες για τη διατήρηση της ζωής.^{[8][2]}

1.7.2 Ταξινόμηση των φυτοχημικών

Τα φυτοχημικά κατατάσσονται στις ακόλουθες πέντε βασικές κατηγορίες:[2]

- Πολυφαινόλες (φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή, κουμαρίνες, ταννίνες, στιλβένια),
- Καροτενοειδή (α- και β- καροτένιο, λυκοπένιο, λουτεΐνη, ζεαξανθίνη, ασταξανθίνη)

- Αλκαλοειδή (αζωτούχες ενώσεις όπως, πυριδίνες, πουρίνες, κινολίνες, ισοκινολίνες, τερπενοειδή, στεροειδή)
- Θειούχες οργανικές ενώσεις (θειούχα αλλύλια, ινδόλες)
- Άλλες αζωτούχες ενώσεις

Από αυτές οι πολυφαινόλες και τα καροτενοειδή έχουν μελετηθεί περισσότερο.^[8]

1.7.3 Πολυφαινόλες

Ο όρος πολυφαινόλες χρησιμοποιείται ήδη από το 1894. Τα τελευταία χρόνια οι πολυφαινόλες της διατροφής έχουν προσελκύσει ιδιαίτερα το ενδιαφέρον πολλών επιστημόνων λόγω της σημασίας τους στην ανθρώπινη υγεία. Αποτελούν μια κατηγορία φυσικών συστατικών που συναντώνται στα φυτά και σε τρόφιμα φυτικής προέλευσης όπως τα φρούτα, τα λαχανικά, ο καφές, το τσάι, η σοκολάτα και το κόκκινο κρασί σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Σήμερα έχουν αναγνωριστεί τουλάχιστον 8000 πολυφαινολικές ενώσεις ως συστατικά των φυτικών οργανισμών.^{[8][11][12][17][2]}

Αν και οι πολυφαινόλες χημικά θεωρούνται ομάδα ενώσεων με φαινολικά χαρακτηριστικά, εντούτοις παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία και περιέχουν πολλές υπο-ομάδες φαινολικών ενώσεων. Δύο θεωρούνται οι πιθανές συνθετικές οδοί των φαινολικών ενώσεων, αυτή του οξικού άλατος και αυτή του σικιμικού. Διακρίνονται ανάλογα με την πηγή προέλευσης τους, τη βιολογική τους λειτουργία και τη χημική τους δομή στις παρακάτω κατηγορίες.^{[8][11][12][17]}

- I. Φαινολικά οξέα
- II. Φλαβονοειδή (φλαβόνες, φλαβονόλες, φλαβανόνες, ισοφλαβόνες, νεοφλαβονοειδή, χαλκόνες, ανθοκυανίνες, κατεχίνες)
- III. Κουμαρίνες
- IV. Στιλβένια

Οι φαινολικές ενώσεις μαζί με τα τερπένια (αλκαλοειδή) και τις αζωτούχες ενώσεις υπάρχουν στα φυτά ως δευτερογενείς μεταβολίτες με βασικό ρόλο να τα προστατεύουν από άλλους οργανισμούς. ^{[8][11][12][17]}

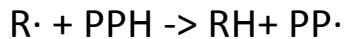
Θεωρούνται ισχυρά αντιοξειδωτικά που μπορούν να αδρανοποιούν τις ελεύθερες ρίζες παρέχοντας ηλεκτρόνιο ή άτομο υδρογόνου. Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι οι πολυφαινόλες που υπάρχουν στα φρούτα και τα λαχανικά είναι εκείνες που συμβάλλουν περισσότερο στην αντιοξειδωτική δράση αυτών των τροφίμων συγκριτικά με τη βιταμίνη C. ^{[8][11][12][17]}

Η αντιοξειδωτική δράση που εμφανίζουν οι περισσότερες από τις πολυφαινόλες (και ειδικότερα τα φλαβονοειδή) σχετίζεται με τη χημική τους δομή και αποδίδεται στην ικανότητά τους : ^{[8][11][12][17]}

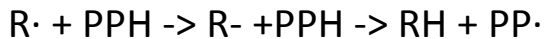
- Να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες
- Να είναι δότες ηλεκτρονίων
- Να είναι δότες ατόμων υδρογόνου
- Να προστατεύουν ενδογενή αντιοξειδωτικά του οργανισμού, όπως είναι η βιταμίνη E, το λυκοπένιο και το β-καροτένιο
- Να σχηματίζουν χηλικά σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα (όπως είναι ο σίδηρος, ο χαλκός, το χρώμιο και το κοβάλτιο) προκειμένου να αποτρέψουν την αντίδραση αυτών με ελεύθερες ρίζες ή άλλες ενεργές μορφές οξυγόνου (για παράδειγμα, H_2O_2) καθώς έχουν την ικανότητα να δρουν ως οξειδοαναγωγικοί παράγοντες, προσφέροντας ή προσλαμβάνοντας ηλεκτρόνια
- Να επάγουν τη δράση αντιοξειδωτικών ενζύμων
- Να αναστέλλουν τη δράση οξειδωτικών ενζύμων.

Οι περισσότερες από τις πολυφαινόλες ασκούν την αντιοξειδωτική τους δράση λειτουργώντας ως τερματιστές της αλυσιδωτής αντίδρασης που επάγει η οξείδωση των ελευθέρων ριζών, δεσμεύοντας τις ελεύθερες ρίζες που υπάρχουν στη συγκεκριμένη περιοχή. Ο μηχανισμός δέσμευσης των ελευθέρων ριζών από τις πολυφαινόλες πραγματοποιείται με δύο τρόπους:

(Α) είτε μέσω μιας άμεσης διαδικασίας μεταφοράς υδρογόνου



(B) είτε μέσω μιας συζευγμένης μεταφοράς πρωτονίου και ηλεκτρονίου



Όπου:

PPH = πολυφαινόλες

R• = δραστική ελεύθερη ρίζα [υπεροξειδικό ανιόν (O₂⁻), υδροξυλική ρίζα (OH⁻)]

PP• = φαινόξυ-ρίζα, ελεύθερη ρίζα πολυφαινόλης

Έχει αποδειχθεί ότι η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών μειώνεται κατά τη σειρά:

Προκυανιδίνες > φλαβανόλες > φλαβονόλες > υδροξυ-κινναμωμικά οξέα > απλά φαινολικά οξέα

1) Φαινολικά οξέα

Τα φαινολικά οξέα είναι μη φλαβονοειδείς πολυφαινολικές ενώσεις, οι οποίες μπορούν περαιτέρω να διαχωριστούν σε 2 υπο-κατηγορίες: τα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος (C1-C6) και τα παράγωγα του κινναμωμικού οξέος (C3-C6). Και οι δυο κατηγορίες έχουν έναν αρωματικό δακτύλιο ως βασικό σκελετό, ο οποίος είναι υποκατεστημένος με καρβοξύλιο στην περίπτωση των βενζοϊκών οξέων και από ένα προπενοϊκό οξύ στην περίπτωση του κινναμωμικού οξέος. ^[2]

Θεωρούνται μεταβολίτες του σικιμικού οξέος και, επομένως, παράγονται από την αντίστοιχη βιοσυνθετική οδό ενώ προέρχονται και από το αμινοξύ φαινυλαλανίνη, το οποίο είναι και το ίδιο παράγωγο του μονοπατιού του σικιμικού οξέος. Τα οξέα αυτά δε βρίσκονται σε ελεύθερη μορφή στα φυτά αλλά μπορούν να απελευθερωθούν ή να υδρολυθούν με όξινη ή αλκαλική υδρόλυση ή και από ένζυμα. Οι καρβοξυλομάδες τους μετασχηματίζονται σε εστέρες και αμίδια ενώ οι υδροξυλομάδες που φέρουν είναι πολύ δραστικές.

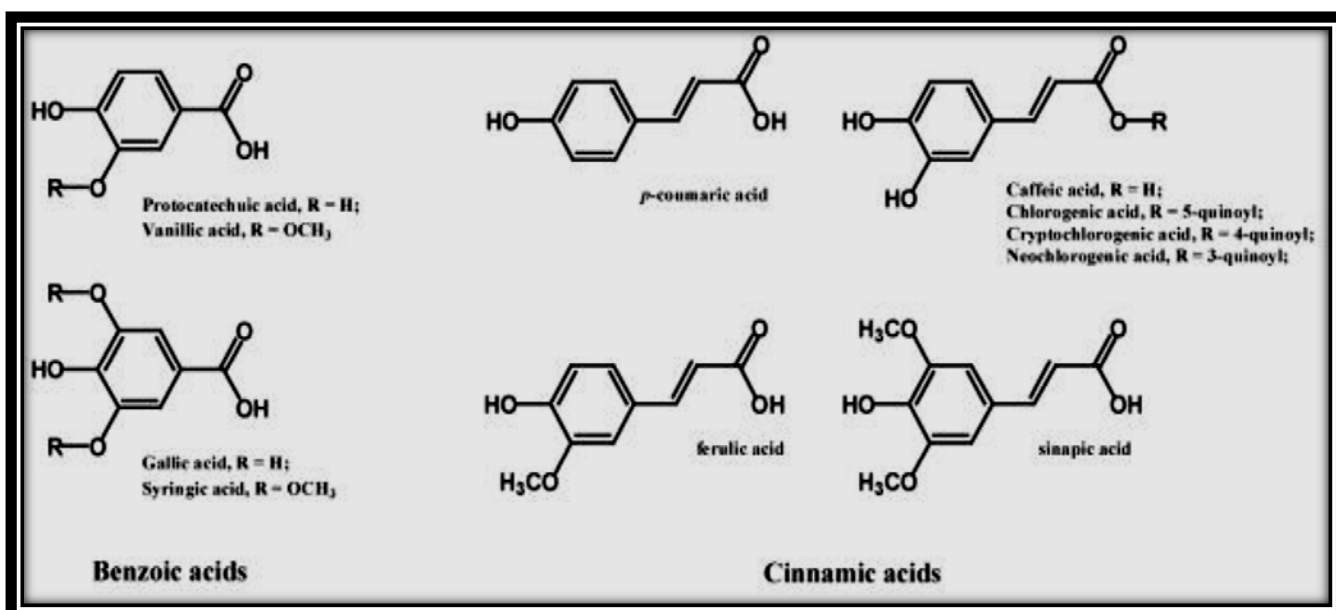
Παράγονται από εξειδικευμένα κύτταρα και χαρακτηρίζονται από αυξημένες αντιοξειδωτικές, αντιακές, αντιμικροβιακές και αντικαρκινικές ιδιότητες.^{[8][2]}

1α) Βενζοϊκά οξέα

Τα οξέα αυτά δε βρίσκονται ελεύθερα στη φύση. Συμμετέχουν στη δομή των ταννινών και αποτελούν ένα από τα κύρια συστατικά τους. Τα κύρια οξέα αυτής της κατηγορίας είναι το βανιλικό οξύ, το γαλλικό οξύ, το p- υδροξυβενζοϊκό οξύ, το πρωτοκατεχικό και το συριγγικό οξύ.^{[8][2]}

1β) Κινναμωμικά οξέα

Αυτά σχηματίζονται από τη φαινυλαλανίνη και την τυροσίνη και μπορούν να βρεθούν τόσο σε ελεύθερη μορφή όσο και εστεροποιημένα με τρυγικό οξύ. Επιπλέον, έχουν βρεθεί και γλυκοζίτες των κινναμωμικών οξέων στους οποίους το σάκχαρο είναι η γλυκόζη ενώ ορισμένοι εστέρες των κινναμωμικών οξέων με τρυγικό οξύ αποτελούν υποστρώματα οξειδωσης. Όταν σχηματίζουν εστέρες με κινικό οξύ, τρυγικό οξύ ή παράγωγα σακχάρων καλούνται χλωρογενικά οξέα. Τα πιο γνωστά κινναμωμικά οξέα είναι το καφεϊκό, το p-κουμαρικό, το φερουλικό και το σιναπικό οξύ.^{[8][2]}



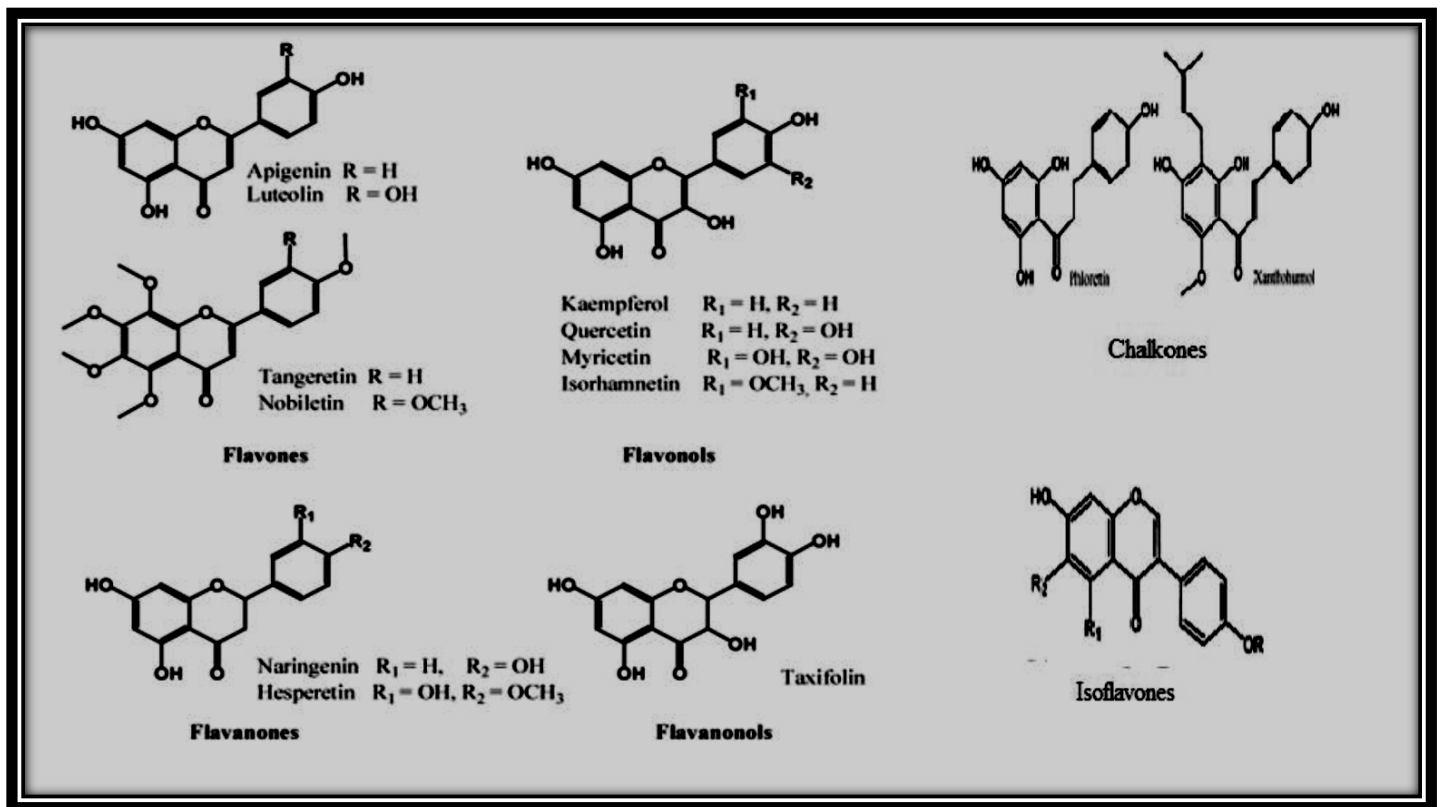
Εικόνα 5: Χαρακτηριστικές δομές ορισμένων φαινολικών οξέων.

II) Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή αποτελούν την πολυπληθέστερη κατηγορία πολυφαινολικών ενώσεων. Από τις 8000 πολυφαινόλες που είναι γνωστές σήμερα, οι 4000 κατατάσσονται στα φλαβονοειδή. Όλα τα φλαβονοειδή έχουν παρόμοιο βασικό σκελετό. Η γενική τους δομή είναι C₆-C₃-C₆, δηλαδή φέρουν 2 αρωματικούς δακτυλίους (Α και Β) στα άκρα οι οποίοι ενώνονται με 3 άτομα άνθρακα προς έναν οξυγονωμένο ετεροκυκλικό δακτύλιο (C). Λόγω της ύπαρξης διαφόρων τύπων υδροξυλίωσης στο δακτύλιο C προκύπτουν υποκατηγορίες των φλαβονοειδών: οι ανθοκυανίνες, οι φλαβόνες (απιγενίνη), οι φλαβονόλες (βρίσκονται κυρίως στα εσπεριδοειδή), οι φλαβανόλες (στις οποίες ανήκουν οι ταννίνες και προανθοκυανιδίνες) και οι φλαβονόλες (κερκετίνη, καμπφερόλη). Αν και τα φλαβονοειδή στην πλειοψηφία τους έχουν το δακτύλιο Β ενωμένο με τον C₂ του δακτυλίου C, μερικά όπως οι ισοφλαβόνες και τα νεοφλαβονοειδή έχουν ενωμένο το δακτύλιο Β με τον ετεροκυκλικό δακτύλιο C στις θέσεις 3 και 4 του δακτυλίου C αντίστοιχα και απαντώνται στα φυτά. Οι χαλκόνες αν και στερούνται ετεροκυκλικού δακτυλίου, κατατάσσονται στα φλαβονοειδή και στα φυτά ανευρίσκονται με τη μορφή γλυκοζιτών. Οι ταννίνες θεωρούνται ότι είναι συμπυκνωμένες μορφές, με Μοριακό Βάρος > 500, και όταν υδρολυθούν δίνουν γλυκόζη και γαλλικό οξύ. Ο καφές και το τσάι είναι πλούσια σε ταννίνες. Παρουσία μεταλλικών ιόντων (Ca²⁺, Fe²⁺, Mg²⁺) οι ταννίνες δίνουν σκούρα παράγωγα, ιδιότητα στην οποία αποδίδεται το σκούρο χρώμα των ροφημάτων.^{[8][11][12][17][2]}

Από τις υποκατηγορίες που αναφέρθηκαν παραπάνω, οι φλαβόνες, οι φλαβονόλες και οι φλαβανόλες αποτελούν τις πιο διαδεδομένες στη φύση. Οι φλαβανόλες συχνά αποκαλούνται κατεχίνες (κατεχίνη και επικατεχίνη). Οι δύο αυτές ομάδες κατεχινών μπορούν να σχηματίζουν πολυμερή, τα οποία καλούνται προανθοκυανιδίνες οι οποίες θεωρούνται συμπυκνωμένες ταννίνες.^[2]

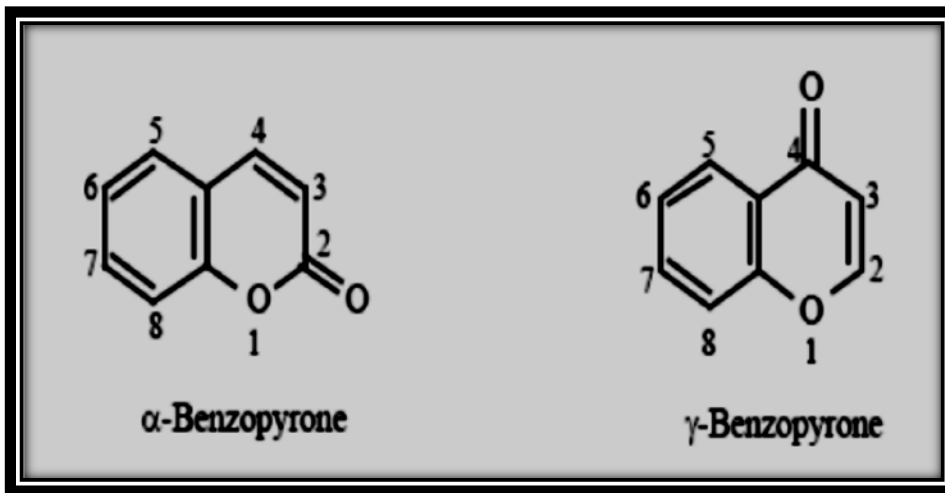
Εικόνα 6: Οι δομές διαφόρων υποκατηγοριών των φλαβονοειδών.



Οι φλαβανόλες και τα ολιγομερή αυτών πιστεύεται ότι έχουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση και κατ' επέκταση προσφέρουν σημαντικά οφέλη για την υγεία. [8][11][12][17]

III) Κουμαρίνες

Οι κουμαρίνες είναι αρωματικές ενώσεις οι οποίες ανήκουν στις διαιτητικές πολυφαινόλες. Χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός βενζοϊκού δακτυλίου ο οποίος συνδέεται με έναν πυρονικό δακτύλιο σχηματίζοντας τις βενζοπυρόνες. Οι βενζοπυρόνες με τη σειρά τους διακρίνονται σε α-βενζοπυρόνες και γ-βενζοπυρόνες, με τις κουμαρίνες να ανήκουν στην πρώτη υποκατηγορία και τα φλαβονοειδή στη δεύτερη (Lacy & O' Kennedy, 2004). Υπάρχουν σε σημαντικές ποσότητες στα φυτά, ωστόσο εντοπίζονται και σε αρκετούς μικροοργανισμούς και σε ζωικές πηγές (Borges et al., 2005).^[2]



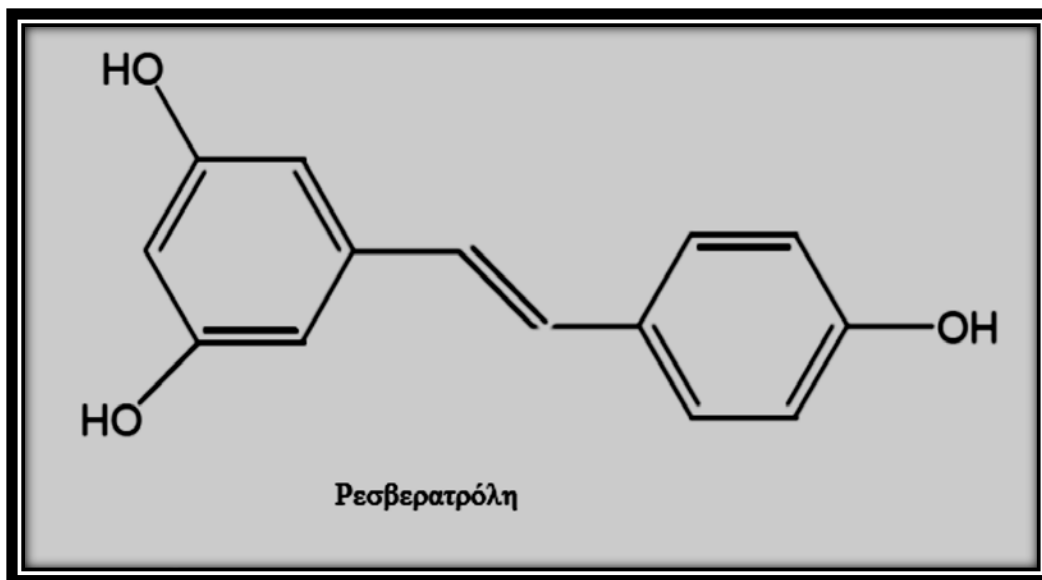
Εικόνα 7: Δομή βενζοπυρονών.

Οι κουμαρίνες έχουν μελετηθεί λόγω των βιολογικών δράσεων που φαίνεται να παρουσιάζουν. Τους αποδίδονται αντιπηκτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες (Kontogiorgis & Hatjiravliou-Litina, 2005 & Vilar et al., 2006) ενώ είναι πιθανό να μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως αντικαρκινικοί και αντι-HIV παράγοντες (Zhang et al., 2005).^{[8][11][12][17]}

IV) Στιλβένια

Πρόκειται για μη στεροειδή οιστρογόνα τα οποία εντοπίζονται στο φυτικό βασίλειο και συντίθενται από παράγωγα του κινναμωμικού οξέος. Ανάλογα με το παράγωγο του κινναμωμικού οξέος από το οποίο συντίθενται, τα στιλβένια φέρουν στο δακτύλιο Β αντίστοιχους υποκαταστάτες. Στα φυτά και στα τρόφιμα βρίσκονται σε μικρές ποσότητες ως μονομερή στιλβένια, ως διμερή, τριμερή ή και πολυμερή, οι λεγόμενες βινιφερίνες (Cassidy et al., 2000). Κύριος εκπρόσωπος της κατηγορίας αυτής είναι η ρεσβερατρόλη. [2]

Η ρεσβερατρόλη έχει φανεί να ρυθμίζει το μεταβολισμό των λιπιδίων και να αναστέλλει την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας. Επιπλέον, ως φυτοοιστρογόνο η ρεσβερατρόλη μπορεί να έχει καρδιοπροστατευτική δράση ενώ της έχουν αποδοθεί αντικαρκινικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις (Fremont, 2000) καθώς και προστατευτική δράση εναντίον της οξείδωσης των αμινοξέων (Gupta et al., 2002).^{[8][11][12][17][2]}



Εικόνα 8: Δομή ρεσβερατρόλης.

1.7.4 Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή είναι μια ομάδα φυτοχημικών που, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, έχουν μελετηθεί σημαντικά λόγω της ευρείας διάδοσης τους στο φυτικό βασίλειο αλλά και λόγω των οφελών τους στην υγεία. Πρόκειται για μια ομάδα κίτρινων και πορτοκαλόχρωων λιποδιαλυτών φυσικών χρωστικών που συναντώνται στα φύλλα και σε άλλα μέρη των φυτών αλλά και σε μεγάλο αριθμό φρούτων ενώ παράγονται και από ορισμένα είδη μικροοργανισμών. Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωριστεί τουλάχιστον 600 καροτενοειδή. Από χημική άποψη είναι είτε υδρογονάνθρακες είτε υδροξυλιωμένα παράγωγά τους και συνήθως έχουν 8 ισοπρενοειδείς ομάδες. Είναι συμμετρικά μόρια τα οποία μπορεί να είναι είτε κυκλοποιημένα, όπως το β-καροτένιο, ή μη κυκλοποιημένα, όπως το λυκοπένιο, ή και τα δύο. Μερικά μόρια αποτελούνται από μια ακόρεστη υδρογονανθρακική αλυσίδα με ένα δακτύλιο στα δύο άκρα με συζυγιακούς διπλούς δεσμούς, οι οποίοι αποτελούν και τη λειτουργική τους μονάδα. Η παρουσία αυτών των δεσμών έχει σαν αποτέλεσμα τα καροτενοειδή να έχουν χαρακτηριστικό σχήμα, χημική δραστηριότητα αλλά και την ικανότητα να απορροφούν το φως.^{[8][2]}

Τα φυσικά καροτενοειδή είναι αδιάλυτα στο νερό και συνεπώς οι απώλειες σε αυτό είναι μικρές. Τα καροτενοειδή είναι περισσότερο σταθερά

παρουσία πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, ενδεχομένως, επειδή τα λιπίδια μπορούν να δεχτούν πιο εύκολα τις ελεύθερες ρίζες. Έτσι, τα καροτενοειδή μπορούν να δράσουν ως προοξειδωτικά ή ως αντιοξειδωτικά. Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι ορισμένα καροτενοειδή, όπως το α-καροτένιο, το β-καροτένιο και η β-κρυπτοξανθίνη παρουσιάζουν προ-βιταμινική δράση και έχουν λειτουργία ανάλογη με την προ-βιταμίνη Α. ^{[8][2]}

1.7.5 Αλκαλοειδή- Τερπενοειδή

Τα τερπένια είναι υδρογονάνθρακες φυτικής προέλευσης με ανθρακικό σκελετό ισοπρενίου $H_2C=C(CH_3)-CH=CH_2$ ανοικτής αλύσου ή κυκλικό (μόνο- ή δικυκλικό). Μεγάλη ποικιλία τερπενίων περιέχονται στις ρητίνες και στα αιθέρια έλαια. Οι ρητίνες είναι μίγμα πτητικών και μη πτητικών τερπενίων ενώ τα αιθέρια έλαια αποτελούνται από πτητικά, χαμηλού μοριακού βάρους τερπένια. Σύμφωνα με τον αριθμό των ισοπρενικών ομάδων που υπάρχουν στο μόριό τους ταξινομούνται σε ημιτερπένια (1 ισοπρενική ομάδα), μονοτερπένια (2 ισοπρενικές ομάδες), σεσκιτερπένια (3 ισοπρενικές ομάδες), διτερπένια (4 ισοπρενικές ομάδες), τριτερπένια (6 ισοπρενικές ομάδες), τετρατερπένια (8 ισοπρενικές ομάδες), πολυτερπένια (>8 ισοπρενικές ομάδες). Με πολυμερισμό του ισοπρενίου σε κατάλληλες συνθήκες μπορεί να πραγματοποιηθεί χημική σύνθεση των τερπενίων. Για το λόγο αυτό τα τερπένια ονομάζονται και ισοπρενοειδή. Η βιοσύνθεσή τους απαιτεί τη μεταβολική οδό του μεβαλονικού οξέος ή εναλλακτικά, την οδό φωσφογλυκεριναλδεΐδης/πυροσταφυλικού οξέος. ^{[8][2]}

1.7.6 Θειούχες Ενώσεις

Οι θειούχες οργανικές ενώσεις όπως οι ινδόλες, τα ισοθειοκυανικά και οι αλλυλικές θειούχες ενώσεις βοηθούν στη μείωση της φλεγμονής σε καταστάσεις όπως η αρθρίτιδα, τα καρδιαγγειακά νοσήματα και η νόσος Alzheimer, στην ενίσχυση δραστηριότητας συγκεκριμένων ενζύμων που αποτοξινώνουν τον οργανισμό από τις καρκινογόνες ουσίες, στην αναστολή

του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων και στην απόπτωσή τους (κυτταρικός θάνατος) και στη μείωση των επιπέδων λιπιδίων, της αρτηριακής πίεσης και της τάσης δημιουργίας θρόμβων στο αίμα. Η δράση τους είναι ιδιαίτερα σημαντική σε περιπτώσεις καρκίνου του στομάχου και του παχέος εντέρου αναστέλλοντας τη μεταλλαξιογένη και εμποδίζοντας τη σύνθεση των N-νιτρωδο-ενώσεων.^{[8][2]}

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει πολλές έρευνες για την κατανόηση της προστατευτικής δράσης διαφόρων βοτάνων, η οποία αποδίδεται σε ποικίλα ενεργά συστατικά αυτών όπως τα φλαβονοειδή, τα αλκαλοειδή, τα τερπένια, διάφορες ενεργές πρωτεΐνες και άλλα. Οι φαρμακευτικές δράσεις που αποδίδονται στα βότανα και σχετίζονται με τη χημική τους δομή είναι:^{[8][2]}

- Αντιοξειδωτική
- Αντιαθηρογόνος
- Αντικαρκινική
- Αντισηπτική
- Αντιφλεγμονώδης
- Αντιμικροβιακή
- Αναλγητική

1.8 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

1.8.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Ως αντιοξειδωτικό μπορεί να χαρακτηριστεί κάθε ένωση που όταν υπάρχει σε χαμηλή συγκέντρωση σε σχέση με το ευοξειδωτο υπόστρωμα, μπορεί να καθυστερήσει ή και να παρεμποδίσει την οξείδωσή του. Στον παραπάνω ορισμό ανήκουν όλες οι ενώσεις που μπορούν να οξειδωθούν από τις ελεύθερες ρίζες και αυτές που παρεμποδίζουν συγκεκριμένα οξειδωτικά ένζυμα ή αντιδρούν με οξειδωτικές ενώσεις πριν αυτές καταστρέψουν καίρια βιολογικά μόρια.^{[11][12][19][17][8]}

Προκειμένου μια αντιοξειδωτική ουσία να μπορέσει να χρησιμοποιηθεί ως πρόσθετο σε τρόφιμα χρειάζεται να φέρει και κάποιες περαιτέρω ιδιότητες, οι οποίες είναι : ^[19]

- Να μην είναι βλαβερό για την υγεία του ανθρώπου.
- Να είναι έστω και ελάχιστα λιποδιαλυτό.
- Να είναι όσο το δυνατόν πιο σταθερό κατά τη διαδικασία επεξεργασίας του τροφίμου, προκειμένου να μην παρατηρείται απώλεια της ευεργετικής του δράσης.
- Να μην προσδίδει στο τρόφιμο δυσάρεστη οσμή και γεύση (αφορά κυρίως στα συνθετικά αντιοξειδωτικά που προστίθενται στα τρόφιμα από τις βιομηχανίες τροφίμων). ^[19]

Επιπρόσθετα, τα αντιοξειδωτικά των τροφίμων διακρίνονται σε κύρια και δευτερεύοντα. Ως **κύρια** χαρακτηρίζονται τα αντιοξειδωτικά που έχουν την ικανότητα να τερματίζουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες παρέχοντας άτομα υδρογόνου ή ηλεκτρόνια με αποτέλεσμα τη δημιουργία σταθερών και αδρανών προϊόντων. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν τα ΒΗΑ (βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη), ΒΗΤ (βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο), ΤΒΗQ (tert-βούτυλο-υδροκινόνη), ΡG (προπυλικός εστέρας γαλλικού οξέος), οι φαινόλες, οι τοκοφερόλες, το καφεϊκό οξύ, το ροσμαρινικό οξύ και άλλα. Τα **δευτερογενή αντιοξειδωτικά** έχουν την ικανότητα να δρουν ως δεσμευτές οξυγόνου, δηλαδή να αντιδρούν με το οξυγόνο και να ελαττώνουν τη συγκέντρωσή του σε ένα κλειστό σύστημα. Εδώ ανήκουν το ασκορβικό οξύ και οι εστέρες του, το θειώδες οξύ και τα άλατα αυτού αλλά και τα καρτενοειδή. ^{[11][12][19][17]}

1.8.2 Φυσικά-Συνθετικά

Ο πιο διαδεδομένος τρόπος σχηματισμού των αντιοξειδωτικών ουσιών είναι η σύνθεσή τους από τα φυτά. Οι ενώσεις αυτές ονομάζονται **φυσικά αντιοξειδωτικά**. Οι αντιοξειδωτικές ουσίες που μπορούν να βρεθούν στα φυτά

χωρίζονται σε 4 μεγάλες κατηγορίες: βιταμίνη C, βιταμίνη E, καροτενοειδή και φαινολικά. Από αυτά η βιταμίνη C και τα φαινολικά είναι υδατοδιαλυτά, ενώ τα καροτενοειδή και η βιταμίνη E λιποδιαλυτά. Σε γενικές γραμμές όλα τα φυτά διαθέτουν αντιοξειδωτικά συστήματα για την προστασία τους από τη δράση των ελευθέρων ριζών και ενεργών μορφών οξυγόνου. Τα συνήθη αντιοξειδωτικά που απαντώνται στα φρούτα και στα βότανα είναι η βιταμίνη C, η βιταμίνη E, τα φαινολικά και λιγότερο τα καροτενοειδή. Τα τελευταία χρόνια δίνεται ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη μελέτη των φαινολικών ενώσεων, και κυρίως των φλαβονοειδών, καθώς σύμφωνα με έρευνες οι ενώσεις αυτές φαίνεται να είναι περισσότερο αντιοξειδωτικές από τις βιταμίνες C και E. [11][12][19][17][8]

Αντίθετα οι ενώσεις που παράγονται μέσω σύνθεσης ή βιοσύνθεσης από ειδικούς της βιομηχανίας ονομάζονται **συνθετικά αντιοξειδωτικά**, από τα οποία τα πιο γνωστά που χρησιμοποιούνται στην Τεχνολογία τροφίμων είναι τα παρακάτω: [19]

1. Η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA), μίγμα δύο ισομερών της 2-τριπ. -βουτυλο-4-μεθοξυφαινόλης και της 3-τριπ. -βουτυλο-4-μεθοξυφαινόλης
2. Το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT)
3. Εστέρες του γαλλικού οξέως όπως ο προπυλικός (PG), ο οκτυλικός και ο δωδεκυλικός
4. Η δι-τριπ. -βουτυλο-υδροκινόνη (TBHQ)

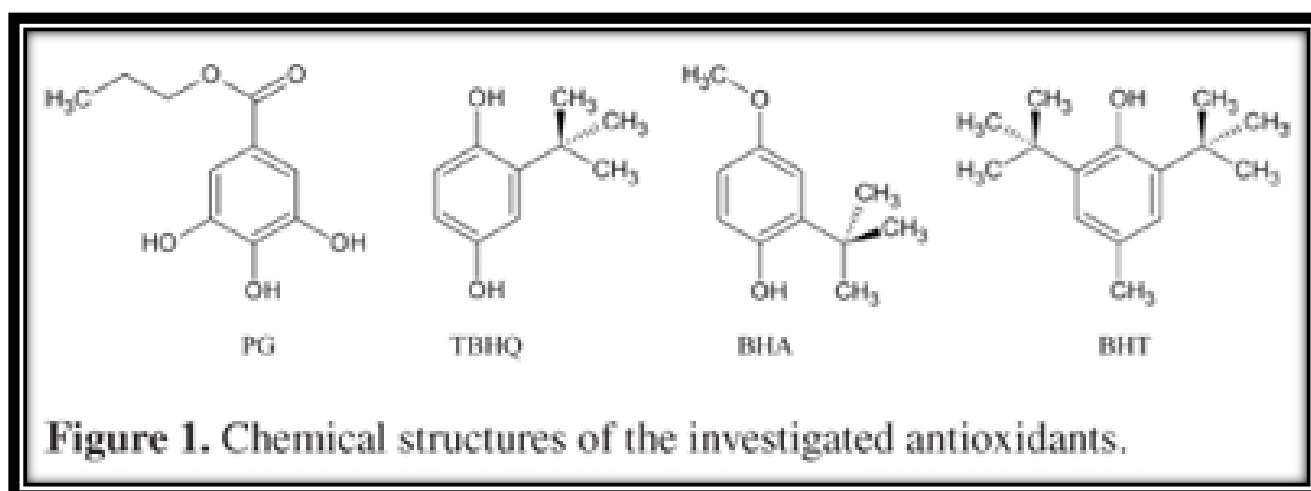


Figure 1. Chemical structures of the investigated antioxidants.

Εικόνα 8: Συνθετικά αντιοξειδωτικά.

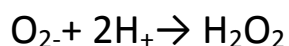
1.8.3 Μηχανισμοί Δράσης των Αντιοξειδωτικών

Η διαρκής ανάγκη αντιμετώπισης μιας πιθανής οξειδωτικής βλάβης στα κυτταρικά συστατικά υποχρεώνει τους αερόβιους οργανισμούς, μεταξύ αυτών και τα φυτά, στην ανάπτυξη ενός αντιοξειδωτικού μηχανισμού που περιλαμβάνει αντιοξειδωτικά ένζυμα και αντιοξειδωτικές ενώσεις.

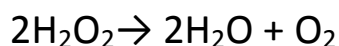
A) ΕΝΖΥΜΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ

Αφορά ένζυμα τα οποία χρησιμοποιούν τις ενεργές μορφές οξυγόνου και τις ελεύθερες ρίζες ως υποστρώματα στις αντιδράσεις που καταλύουν ή σχηματίζουν με τη δράση τους ενώσεις που λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά. Τα κυριότερα ένζυμα που εξουδετερώνουν τις ενεργές μορφές οξυγόνου είναι η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), η ασκορβική υπεροξειδάση (APX), η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPX), και η καταλάση (CAT). Ένζυμα που εμπλέκονται στη διατήρηση των αποθεμάτων των αντιοξειδωτικών ενώσεων είναι η αναγωγή (ρεδουκτάση) της γλουταθειόνης (GR), η μονοδιδροασκορβική ρεδουκτάση (MDHAR) και η διυδροασκορβική ρεδουκτάση (DHAR).^{[11][12][19][17][8]}

- 1 Η **υπεροξειδική δισμουτάση (SOD)**, υπάρχει σε δύο μορφές και περιέχει είτε χαλκό και ψευδάργυρο (Zn/ Cu-SOD, στο κυτταρόπλασμα) είτε μαγγάνιο (Mn-SOD, στα μιτοχόνδρια). Απομακρύνει το ανιόν του υπεροξειδίου και καταλύει την αντίδραση:



- 2 Η **καταλάση**, περιέχει σίδηρο και καταλύει την ακόλουθη αντίδραση μετατρέποντας το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο:

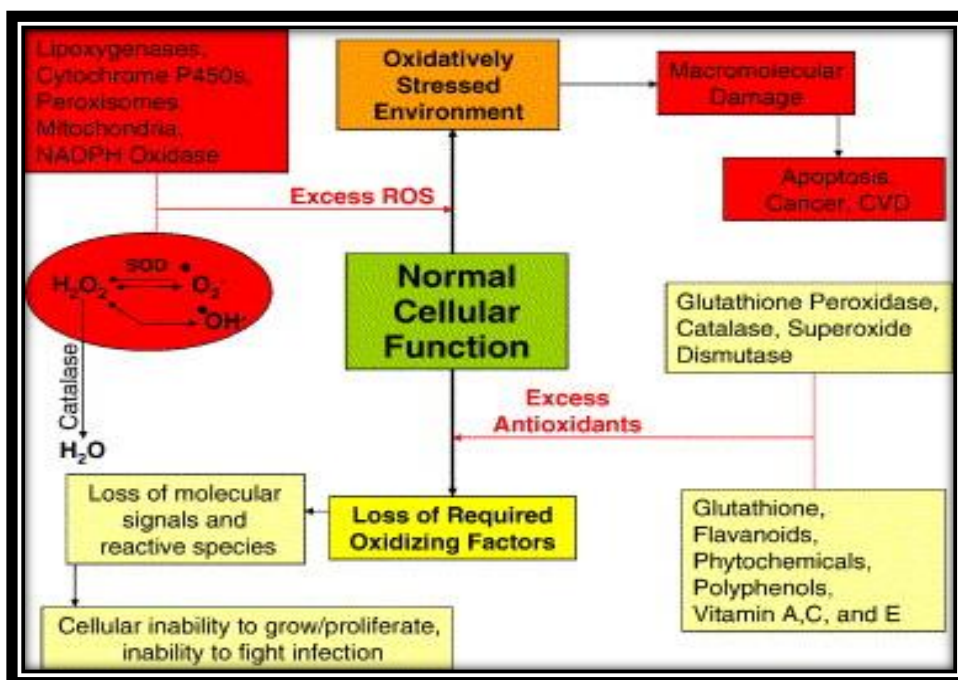


- 3 Η **υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx)**, περιέχει σελήνιο και απομακρύνει το υπεροξείδιο του υδρογόνου οξειδώνοντας την ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH) στην οξειδωμένη της μορφή (GSSG) μέσω της

αναγωγής της γλουταθειόνης που εξαρτάται από το NADPH. Καταλύει την αντίδραση:



Αρκετά ακόμη ένζυμα είναι γνωστό ότι έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες, όπως η τρανσφεράση S της γλουταθειόνης και οι αφυδρογονάσες των αλδεϋδών. Ως συλλέκτες ελευθέρων ριζών χαρακτηρίζονται μόρια που αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες και τις καθιστούν ακίνδυνες.



Εικόνα 9: Δημιουργία και αντιμετώπιση των ελευθέρων ριζών από το κύτταρο.

B) ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ

Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να ουδετεροποιήσουν τις ελεύθερες ρίζες δεχόμενα ή παρέχοντας το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Έτσι οι ενώσεις αυτές φαινομενικά παίρνουν την θέση των ελευθέρων ριζών. Αυτά τα μόρια όμως είναι πολύ λιγότερο δραστικά σε σχέση με τις ουδετεροποιημένες ελεύθερες ρίζες, γιατί είναι μεγάλου μοριακού βάρους και ουδετεροποιούνται ευκολότερα από ένα άλλο αντιοξειδωτικό μόριο. ^{[11][12][19][17][8]}

Οι αντιοξειδωτικές ενώσεις μπορούν να δράσουν κατά διάφορους τρόπους, όπως με συναγωνισμό στη δέσμευση ενεργών μορφών οξυγόνου και ελεύθερων ριζών, με επιβράδυνση του σταδίου έναρξης και παρεμπόδιση του σταδίου παρασκευής της αυτοοξειδωσης των λιπιδίων και με παρεμπόδιση της δράσης καταλυτών. Ο πιο σημαντικός μηχανισμός είναι αυτός κατά την διάρκεια του σταδίου παρασκευής και αυτοοξειδωσης των λιπιδίων.

Έτσι για τη περίπτωση των λιπιδίων τα αντιοξειδωτικά δρουν με δυο μηχανισμούς. Είτε αναστέλλοντας ή επιβραδύνοντας τη διαδικασία οξείδωσης των λιπιδίων, είτε ως δότες ατόμων υδρογόνου ή ως δότες ηλεκτρονίων. Η απόδοση του ατόμου υδρογόνου σε ένα σύστημα γίνεται παράλληλα με αυτήν του μονήρους ηλεκτρονίου αλλά με διαφορετική ταχύτητα. ^{[11][12][19][17][8]}

1.9 ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΣΙΔΕΡΙΤΗ

1.9.1 ΤΥΝΥΝΥ

Τον Φεβρουάριου του 2013, το πρώτο τσάι Τυνυνυ, έγινε πραγματικότητα στην Ζυθοποιία Μακεδονίας Θράκης στην Κομοτηνή. Πρόκειται για την παραγωγή ενός νέου, 100% φυσικού και υγιεινού αναψυκτικού, χωρίς συντηρητικά όπου μπορεί να καταναλωθεί και ζεστό και κρύο. Αποτελείται κυρίως από τρία είδη Σιδερίτη (*Sidetitis scardica*, *raeseri* και *athoa*) και φυσικό νερό Ροδόπης. ^[13]

Ο τρόπος παρασκευής είναι ο εξής : τα αποξηραμένα λουλούδια βράζονται ελαφρώς σε φυσικό νερό και στη συνέχεια προστίθεται μέλι και φρέσκος χυμός λεμονιού. Ο Σιδερίτης προέρχεται αποκλειστικά από καλλιέργειες της περιοχής και το μέρος του φυτού που χρησιμοποιείτε είναι η ταξιανθία σε πλήρη άνθηση μαζί με 5-6 εκατοστά βλαστού. ^[13]

Η συσκευασία των προϊόντων είναι είτε σε κουτί αλουμινίου ή σε γυάλινη φιάλη. Ενώ 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. Τα προϊόντα είναι τα εξής :^[13]

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



Εμείς μελετήσαμε τα προϊόντα “Tuvunu with honey and lemon” και “Tuvunu free with lemon” ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση. Τα δείγματα που εξετάστηκαν στο εργαστήριο αφορούν τις συσκευασίες σε αλουμινένιο κουτί.

A) Tuvunu with honey and lemon ^[13]

Συστατικά:

- Νερό
- Σιδερίτης
- Μαύρη ακατέργαστη ζάχαρη

- Μέλι ανθέων
- Φυσικός χυμός λεμονιού
- Βιταμίνη C
- Κιτρικό οξύ

B) Tuvunu free with lemon ^[13]

Συστατικά:

- Νερό
- Σιδερίτης
- Φυσικός χυμός λεμονιού
- Βιταμίνη C

1.9.2 ΤΣΑΙ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ, ΟΛΥΜΠΟΣ

Το ελληνικό τσάι του βουνού, ΟΛΥΜΠΟΣ, παράγεται αποκλειστικά από ελληνικό τσάι του βουνού (σιδερίτη), από την ΟΛΥΜΠΟΣ Α.Ε. στην Λάρισα. Ο Σιδερίτης που χρησιμοποιείτε καθώς και τα υπόλοιπα συστατικά και βότανα προέρχονται από τα βουνά της περιοχής, στηρίζοντας την ελληνική πρωτογενή παραγωγή. Έτσι, το τσάι του βουνού συλλέγεται προσεκτικά με το χέρι, αποξηραίνεται φυσικά για 7 ημέρες και το σημαντικότερο βράζεται παραδοσιακά και ήπια, ελευθερώνοντας τα αρώματα και τα βιοδραστικά συστατικά του ίδιου του φυτού με φυσικό τρόπο, χωρίς καμία περαιτέρω επεξεργασία. Δεν περιέχει συντηρητικά, χρωστικές, ρυθμιστές οξύτητας και

μέσα οξίνισης. Όλα τα παρακάτω προϊόντα πίνονται είτε ζεστά, είτε κρύα και διατίθενται σε συσκευασία Tetra Pak®, FSC μείγμα χαρτόνι από υπεύθυνες πηγές. Η διάρκεια ζωής τους είναι λιγότερη από έναν μήνα μετά την ημερομηνία παρασκευής τους και διατηρούνται στο ψυγείο. Όταν ανοιχτούν πρέπει να διατηρηθούν στο ψυγείο και να καταναλωθούν εντός 5 ημερών.^[14]



i. Τσάι του βουνού

Συστατικά: Νερό, τσάι του βουνού (σιδερίτης), ζάχαρη

Κυκλοφορεί σε συσκευασίες 1Lt και 250ml.^[14]

ii. Τσάι με Λεμόνι

Ελληνικό τσάι του βουνού με Λεμόνι & Stevia - Χωρίς ζάχαρη

Συστατικά: Νερό, τσάι του βουνού (σιδερίτης), φυσικός χυμός λεμονιού (0,3%),
Γλυκαντικά: Γλυκοζίτες της στεβιόλης και φυσικά σάκχαρα φρούτων από
σταφύλι και μήλο.^[14]

Κυκλοφορεί σε συσκευασίες 1Lt και 250ml.

iii. Τσάι με Αρώνια

Ελληνικό τσάι του βουνού με Αρώνια & Stevia - Χωρίς ζάχαρη

Συστατικά: Νερό, τσάι του βουνού (σιδερίτης), φυσικός χυμός αρώνιας (1,3%),
Γλυκαντικά: Γλυκοζίτες της στεβιόλης και φυσικά σάκχαρα φρούτων από
σταφύλι και μήλο.^[14]

Κυκλοφορεί σε συσκευασίες 1Lt και 250ml.

iv. Τσάι με Λουίζα

Ελληνικό τσάι του βουνού με Λουίζα & Stevia - Χωρίς προσθήκη ζάχαρης.

Συστατικά: Νερό, τσάι του βουνού (σιδερίτης), λουίζα. Γλυκαντικά: Γλυκοζίτες
της στεβιόλης και φυσικά σάκχαρα φρούτων από σταφύλι και μήλο.^[14]

Κυκλοφορεί σε συσκευασία 1Lt.

v. Τσάι με Μέντα

Ελληνικό τσάι του βουνού με Μέντα & Stevia - Χωρίς προσθήκη ζάχαρης.

Συστατικά: Νερό, τσάι του βουνού (σιδερίτης), μέντα. Γλυκαντικά: Γλυκοζίτες
της στεβιόλης και φυσικά σάκχαρα φρούτων από σταφύλι και μήλο.^[14]

Κυκλοφορεί σε συσκευασία 1Lt.

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

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. Τέλος, 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

Τα δείγματα των ξηρών δειγμάτων του γένους *Sideritis* που χρησιμοποιήσαμε για την εργασία ήταν τα *Sideritis raeseri*, *Sideritis scardica* και *Sideritis athoa*, απο τα οποία αποτελούνταν και τα εμπορικά σκευάσματα που εξετάστηκαν όπως αναφέρθηκε και παραπάνω για να μπορούν να συγκρηθούν μεταξύ τους. Η επεξεργασία τους έγινε μέσω εκχύλισης των ξηρών φυτών με απεσταγμένο νερό, ως εξής. Αρχικά, ζυγίστηκαν 2,5gr του ξηρού φυτού (λουλούδια, φύλα και κοτσάνι) σε ποτήρι ζέσεως των 150 ml, προστέθηκαν σε αυτό 100ml απεσταγμένου νερού με ογκομετρικό κύλινδρο των 100ml και σκεπάστηκαν με αλουμινόχαρτο για να μην υπάρξουν σημαντικές απώλειες νερού μέσω των υδρατμών κατά τον βρασμό. Στη συνέχεια τα μίγματα έβρασαν για 3,5 λεπτά ώστε να παραλάβουμε το προς ανάλυση αφέψημα. Τέλος, έγινε διήθηση του αφεψήματος με πτυχωτό ηθμό για τον διαχωρισμό του στερεού(φυτό) και του υγρού(δείγμα ανάλυσης) μέρους, το οποίο και αφέθηκε να κρυώσει έως ότου έρθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στα δείγματα του εμπορίου δεν έγινε καμία επεξεργασία πέραν της αραιώσης που χρειάστηκε ώστε η απορρόφηση του φωτομέτρου να είναι ανάμεσα στις τιμές 0,20 και 0,80.

Οι μέθοδοι που εφαρμόστηκαν ήταν οι DPPH, Folin-Ciocalteu και ABTS οι οποίες είχαν διαφορετική φωτομετρική ανταπόκριση απο τα δείγματα, ενώ οι αραιώσεις που γίνανε βρέθηκαν πειραματικά και εφαρμόστηκαν για το κάθε δείγμα ξεχωριστά. Σε όλα τα δείγματα έγινε η ίδια επεξεργασία και η μέτρηση της αντιοξειδωτικής τους δράσης έγινε την ημέρα της παρασκευής τους.

Οι συσκευές και τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν τόσο για την προκατεργασία των δειγμάτων όσο και για τις φασματοφωτομετρικές αναλύσεις είναι τα εξής:

- Ηλεκτρονικός ζυγός ακριβείας στο τέταρτο δεκαδικό ψηφίο του γραμμαρίου, AB204-S/FACT, Mettler Toledo, Switzerland
- Ποτήρια ζέσεως (50-150ml), ογκομετρικός κύλινδρος 100ml, σιφώνια (5-10ml), πουάρ, υάλινο χωνι, ογκομετρικές φυάλες και διηθητικό χαρτί

- Πλαστικές κυψελίδες για μέτρηση στο ορατό φάσμα, χωρητικότητας 2,5 ml $l=0.1$ dm, Karfell, Italy
- Υδρόλουτρο με θερμοστάτη, Mmmert, Germany
- Φασματοφωτόμετρο UV-Vis: Novaspek III visible spectrophotometer, Product code 80-2118-00, Amersham Biosdences, USA
- Ηλεκτρονικές πιπέττες ακριβείας

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
ΑΡΑΙΩΣΕΙΣ (ΜΕ ΑΝΑΛΟΓΙΑ)			
ΑΡΑΙΩΣΕΙΣ (ΜΕ ΑΝΑΛΟΓΙΑ)	Δειγμα : H ₂ O	Δειγμα : H ₂ O	Δειγμα : H ₂ O
TU VUNU with honey & lemon	1 : 1	1 : 0	1 : 1
TU VUNU with lemon	1 : 0	1 : 0	1 : 0
Όλυμπος με αρώνια	1 : 0	1 : 0	1 : 0
Όλυμπος με λεμόνι	1 : 0	1 : 0	1 : 0

Πίνακας 1: Οι αραιώσεις των προς ανάλυση δειγμάτων.

2.2 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Η αντιριζική δράση χαρακτηρίζει την ικανότητα των ενώσεων να αντιδράσουν με μια ρίζα *in vitro*, ενώ η αντιοξειδωτική δράση είναι η ικανότητα των ενώσεων να αναστέλλουν την διαδικασία οξείδωσης σε ένα σύστημα *in vivo*.

Μέσω της φασματοφωτομετρίας προσδιορίστηκαν η συγκέντρωση των ολικών φαινολών στα αφεψήματα του φυτού *Sideritis* και στα αναψυκτικά

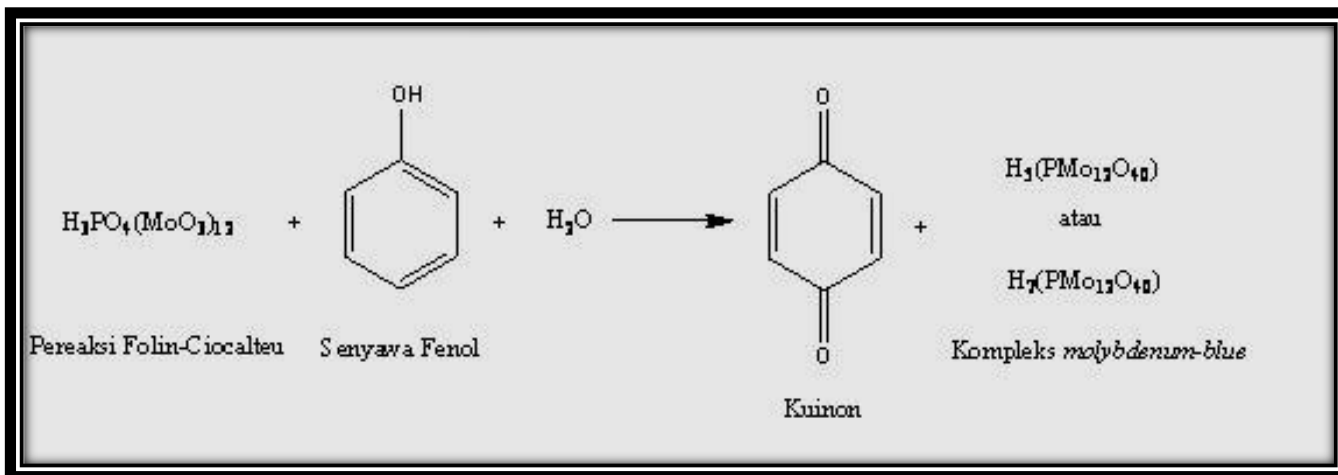
αυτού, όπως επίσης η ικανότητά τους να δεσμεύουν δύο διαφορετικές ρίζες (ABTS, DPPH).

2.2.1 ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ (Total Phenolic

Content, TPC) – Μέθοδος Folin-Ciocalteu

2.2.1.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Πρόκειται για φωτομετρική μέθοδο που βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ενώσεων του οίνου από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Χρησιμοποιείται για την μέτρηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου χωρίς να γίνεται διάκριση μεταξύ μονομερών, διμερών ή μεγαλύτερων φαινολικών συστατικών. Το κύριο αντιδραστήριο της μεθόδου, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu, είναι διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που σχηματίζονται από φωσφο-μολυβδαινικά ($H_3PMo_{12}O_{40}$) και φωσφο-βολφραμικά ($H_3PW_{12}O_{40}$) ετεροπολυμερή οξέα. Τα φαινολικά ιόντα οξειδώνονται με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων. Κατά την οξείδωση των φαινολών, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu ανάγεται προς μείγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου (W_8O_{23}) και του μολυβδαινίου (Mo_8O_{23}). Το σχηματιζόμενο κυανό χρώμα παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750 nm και είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με διάλυμα Na_2CO_3 . Οι φαινολικές ουσίες που προσδιορίζονται με τον δείκτη Folin-Ciocalteu εκφράζονται πολύ συχνά σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος.^{[15][19][20]}



Εικόνα 10: Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu ανάγεται προς μείγμα κυανών οξειδίων.

2.2.1.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ, ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΚΑΙ ΠΡΟΤΥΠΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

- Απεσταγμένο νερό (H_2O)
- Ανθρακικό νάτριο (Na_2CO_3): 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, $3H_2O.P_2O_5.14WO_3-4MoO_3.10H_2O$ & $3H_2O.P_2O_5-13WO_3-5MoO_3.10H_2O$, Merck KGaA, Germany
- Γαλλικό οξύ: 3,4,5-Trihydroxybenzoic acid anhydrous 99%, $C_7H_6O_5$, MW=170,12 g/mol, CAS: 149-91-7, Alfa Aesar GmbH&Co KG, Germany

2.2.1.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Για όλα τα εκχυλίσματα των δειγμάτων εφαρμόστηκε η ίδια μέθοδος προσδιορισμού του ολικού φαινόλικου περιεχομένου με τις ίδιες ποσότητες αντιδραστηρίων. Αρχικά, παρασκευάζεται το κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου Na_2CO_3 ως εξής: Σε 80,0 mL απεσταγμένου H_2O διαλύονται 20,00 g

άνυδρου ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3) με τη βοήθεια του βρασμού. Αφού το διάλυμα του ανθρακικού νατρίου επανέλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προστίθονται 8 g περίσσειας Na_2CO_3 , και το διάλυμα αφήνεται για 24 h στο σκοτάδι και καλά σφραγισμένο. Τέλος, φιλτράρεται με πτυχωτό ηθμό και αραιώνεται μέχρι τα 100 mL απεσταγμένου H_2O 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.

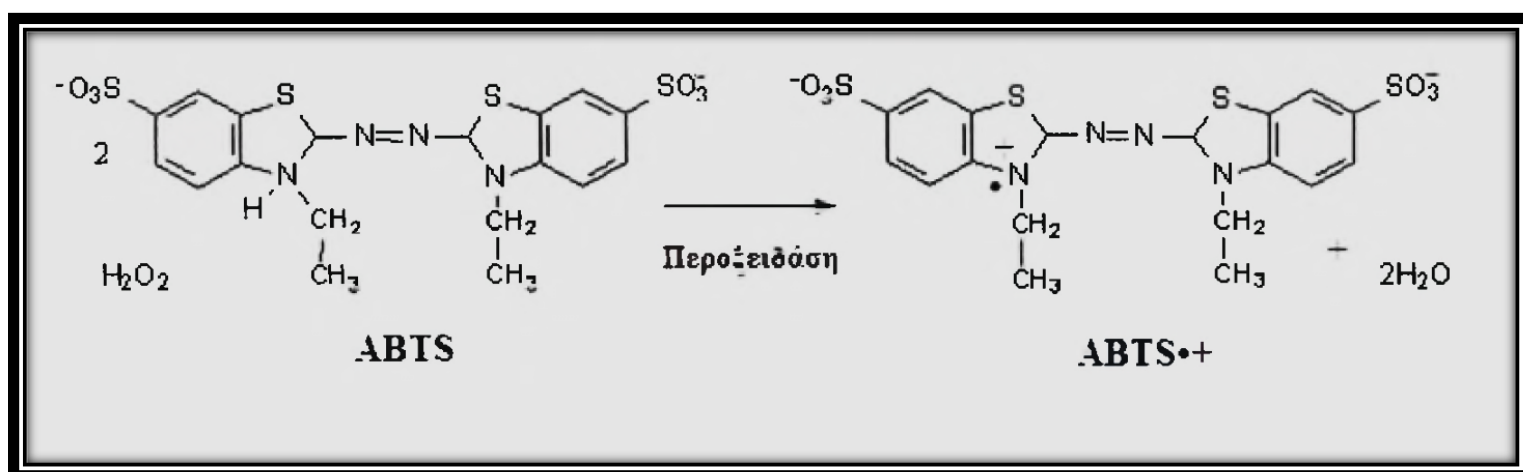
Αφού τα δείγματα του σιδερίτη αραιωθούν κατάλληλα όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα, σε πλαστικές κυψελίδες των 2,5 mL, με τη χρήση ηλεκτρονικών πιπετών τοποθετούνται 20,0 μL προτύπου ή αραιωμένου δείγματος, 1500,0 μL απεσταγμένου H_2O και 100,0 μL αντιδραστηρίου F-C (βιομηχανικά παρασκευασμένο). Ακολουθεί ισχυρή ανάδευση και μετά από αναμονή 8min, προστίθονται 300,0 μL κορεσμένου διαλύματος Na_2CO_3 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.

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

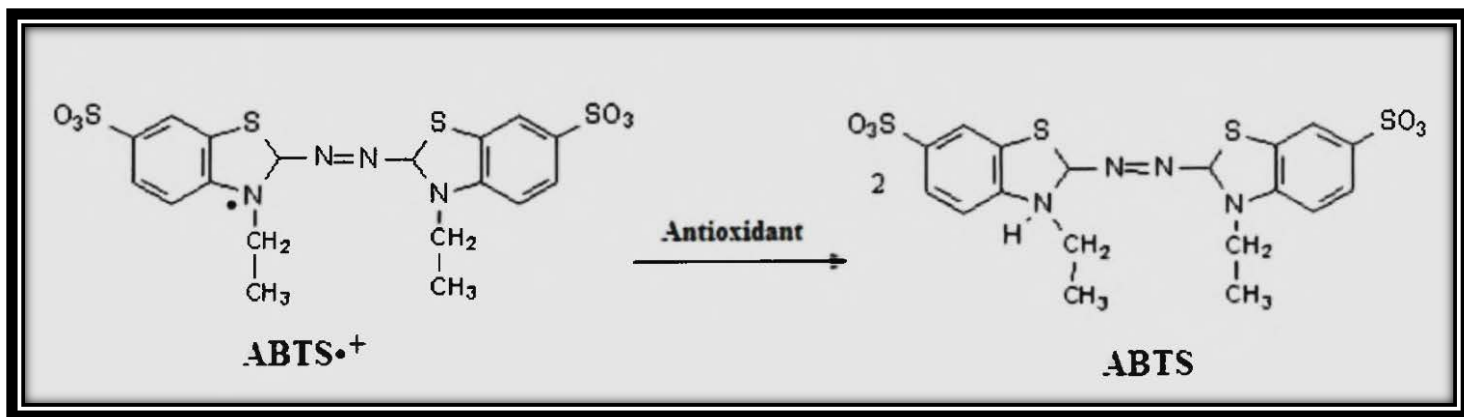
[2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]

2.2.1.1. Αρχή της μεθόδου

Η μέθοδος αυτή αναπτύχθηκε από το Miller το 1993 και βασίζεται σε μία αντίδραση αποχρωματισμού. Χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, βασιζόμενη στην ικανότητα αλληλεπίδρασης αντιοξειδωτικών μορίων με την σταθερή ρίζα ABTS^{*+}. Το ABTS (2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-sulphonic acid) παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) μέσω της δράσης του ενζύμου περοξειδάση (HRP), έχει σαν αποτέλεσμα την οξείδωση του (ABTS) και την δημιουργία μιας δραστηρικής ρίζας, του κατιόντος ABTS^{*+}. Η συγκεκριμένη ρίζα έχει κυανοπράσινο χρώμα και απορροφά στα 730 nm. Για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης μιας ουσίας πρέπει πρώτα να προηγηθεί ο σχηματισμός της ρίζας και στην συνέχεια να ακολουθήσει η προσθήκη της εξεταζόμενης ουσίας. Όταν στο διάλυμα προστεθεί μια ουσία με αντιοξειδωτική δράση τότε η ρίζα ABTS^{*+}, ανάγεται είτε μέσω προσθήκης ενός ηλεκτρονίου (single electron transfer, SET) είτε μέσω προσθήκης ενός ατόμου υδρογόνου (hydrogen atom transfer, HAT), με αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό του διαλύματος σε βαθμό ανάλογο της συγκέντρωσης του αντιοξειδωτικού και συνέπεια την μείωση της οπτικής απορρόφησης στα 730 nm.^{[17][15]}



Εικόνα 11: Η οξείδωση του ABTS σε δραστηρική ρίζα.



Εικόνα 12: Η αλληλεπίδραση του αντιοξειδωτικού με την ρίζα ABTS

2.2.2.2 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.

2.2.2.3 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 οξείδωση της ABTS από τα υπερθειικά ιόντα ξεκινά κατευθείαν, αλλά η στοιχειομετρία της αντίδρασης είναι 1:0,5, οπότε η οξείδωση 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 αντιριζικής ικανότητας των δειγμάτων το διάλυμα της ρίζας αραιώνεται κατάλληλα με αιθανόλη ώστε να δίνει τιμή απορρόφησης $0,70 \pm 0,02$. 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 Σιδερίτη αραιωθούν κατάλληλα όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα έπειτα σε πλαστικές κυψελίδες των 2,5 mL, με τη χρήση ηλεκτρονικών πιπετών τοποθετούνται 15,0 μ L προτύπου ή αραιωμένου δείγματος, 1500,0 μ L, 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.

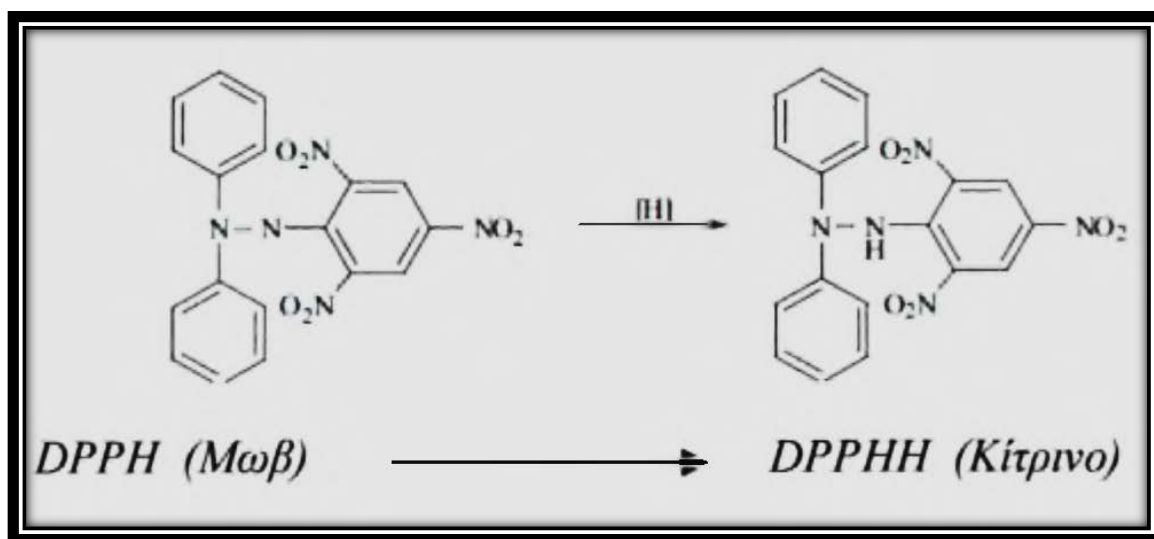
2.2.3 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ

DPPH(2,2-diphenyl-2-picryl-hydrazyl)

2.2.3.1 Αρχή της μεθόδου

Η μέθοδος παρουσιάστηκε το 1995 από τους Brand-Williams. Ανήκει στις ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυτικών δειγμάτων. Η μέθοδος χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, βασιζόμενη στην ικανότητα αλληλεπίδρασης των αντιοξειδωτικών μορίων με την σταθερή αζωτούχα ρίζα 1,1 διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH). Η ρίζα DPPH* μπορεί να αδρανοποιηθεί, είτε μέσω προσθήκης ενός ηλεκτρονίου (single electron transfer, SET) είτε μέσω προσθήκης ενός ατόμου υδρογόνου (hydrogen atom transfer, HAT). Η 1,1

διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH*) είναι μία σταθερή ρίζα, φέρει μωβ χρώμα και απορροφά στα 517nm. Όταν προστεθεί μια ουσία με αντιοξειδωτική δράση τότε η ρίζα 1,1 διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο (DPPH*) ανάγεται, και μετατρέπεται σε 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη (DPPH:H), όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα. Η αναγωγή της ρίζας έχει σαν αποτέλεσμα, την μεταβολή του χρώματος του διαλύματος, από μωβ σε κίτρινο, μεταβολή, που είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της αντιοξειδωτικής ουσίας και την αντίστοιχη μείωση της οπτικής απορρόφησης στα 517nm. Η μεταβολή της απορρόφησης προσδιορίζεται φωτομετρικά.^{[15][19][17][20]}



Εικόνα 13: Η αναγωγή του DPPH σε DPPH:H.

2.2.3.2 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(Vit C): L-Ascorbic acid, Analytical reagent grade, C₆H₈O₆, MW:176.12 g/mol, CAS:50-81-7, Fischer Chemical, UK

2.2.3.3 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 μ M 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 επιλεγθεί οι βέλτιστες.

Σε πλαστικές κυψελίδες, για κάθε δείγμα, τοποθετούνται 20,0 μ L από τα αραιωμένα δείγματα μαζί με 1500,0 μ L από το διάλυμα DPPH' 100 μ M. Γίνεται ανακίνηση στο σκοτάδι για 1 min και έπειτα μετράται η απορρόφηση στα 516 nm ανα 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 Tplateau, 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 καθάρου διαλύματος DPPH ώστε να γίνει ο υπολογισμός του ποσοστού ανασχέσης της στο plateau χρόνου. Επίσης μετράται 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 ασκό ρβικού οξέος σε 100,00 mL μεθανόλης. Έπειτα παρασκευάζονται τα αραιωμένα διαλύματα του ασκορβικού οξέος συγκεντρώσεων από 800 έως 1800 μ 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.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

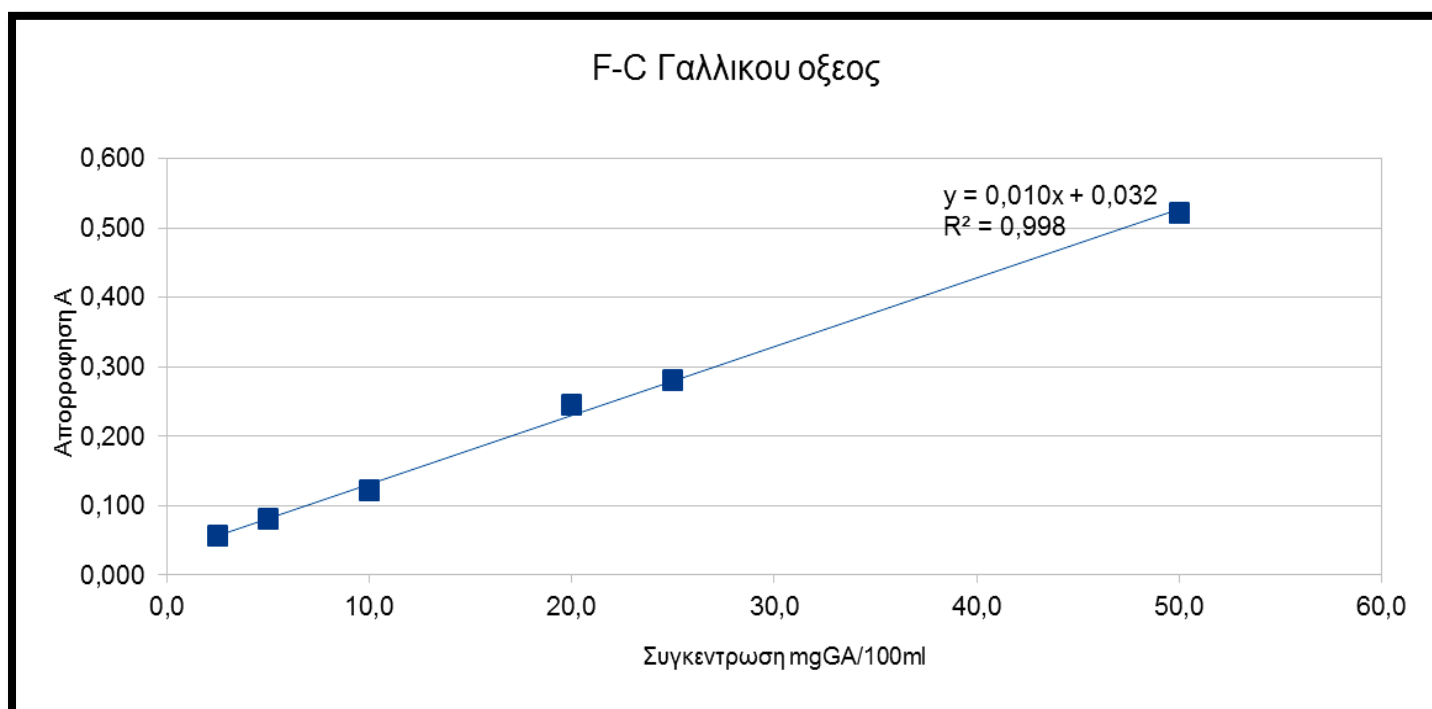
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

3.1 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΥΝΟΛΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ

ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ (TPC) Folin-Ciocalteu

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

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



ΔΕΙΓΜΑΤΑ	mgGA/100ml*	mgGA/100ml**
S.athoa	10,04±4,39	10,04±3,25
S.raeseri	12,26±4,83	12,26±3,34
S.scardica	19,68±7,52	19,68±6,02
TUVUNU with honey & lemon	20,44±0,32	20,44±0,36
TUVUNU with lemon	17,14±0,16	17,14±0,18
Όλυμπος με αρώνια	18,32±0,93	18,32±1,06
Όλυμπος με λεμόνι	10,80±0,35	10,80±0,39

Πίνακας 2: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο όλων των δειγμάτων.

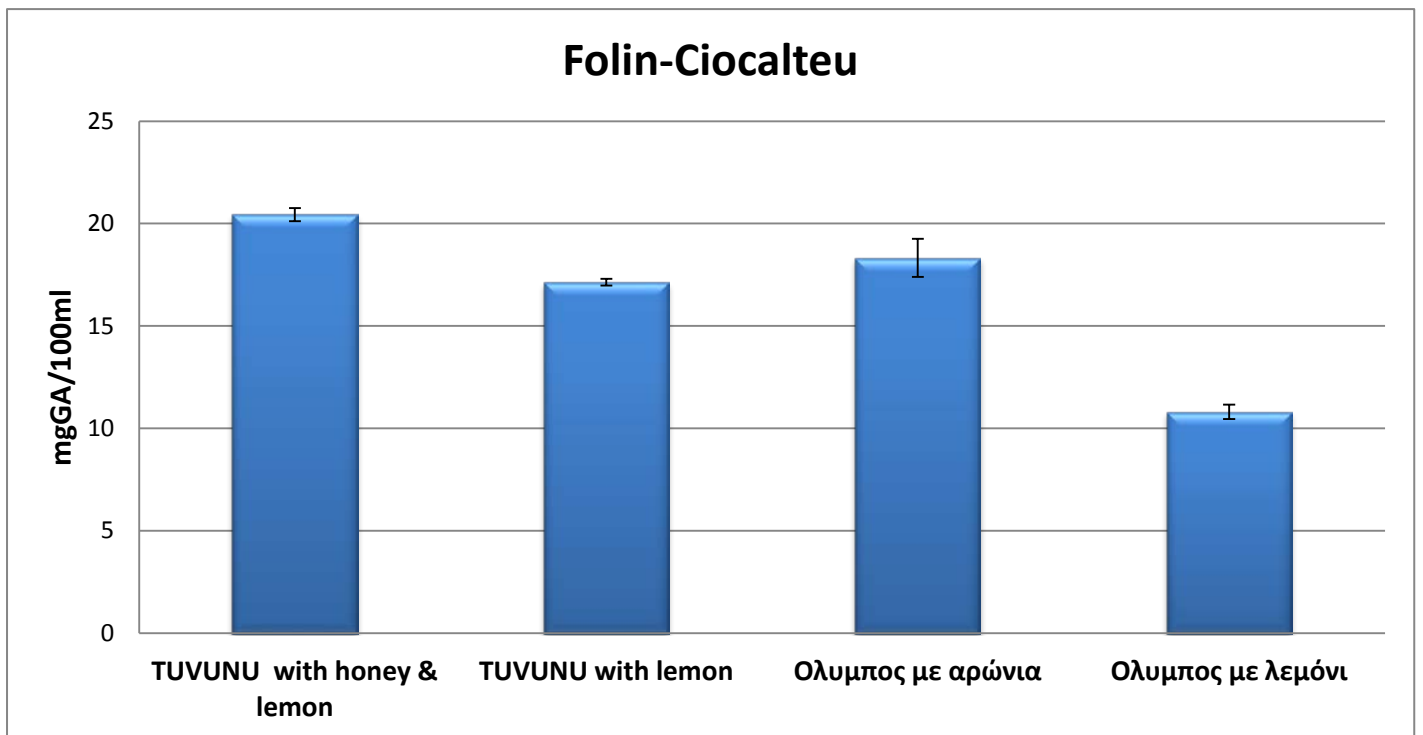
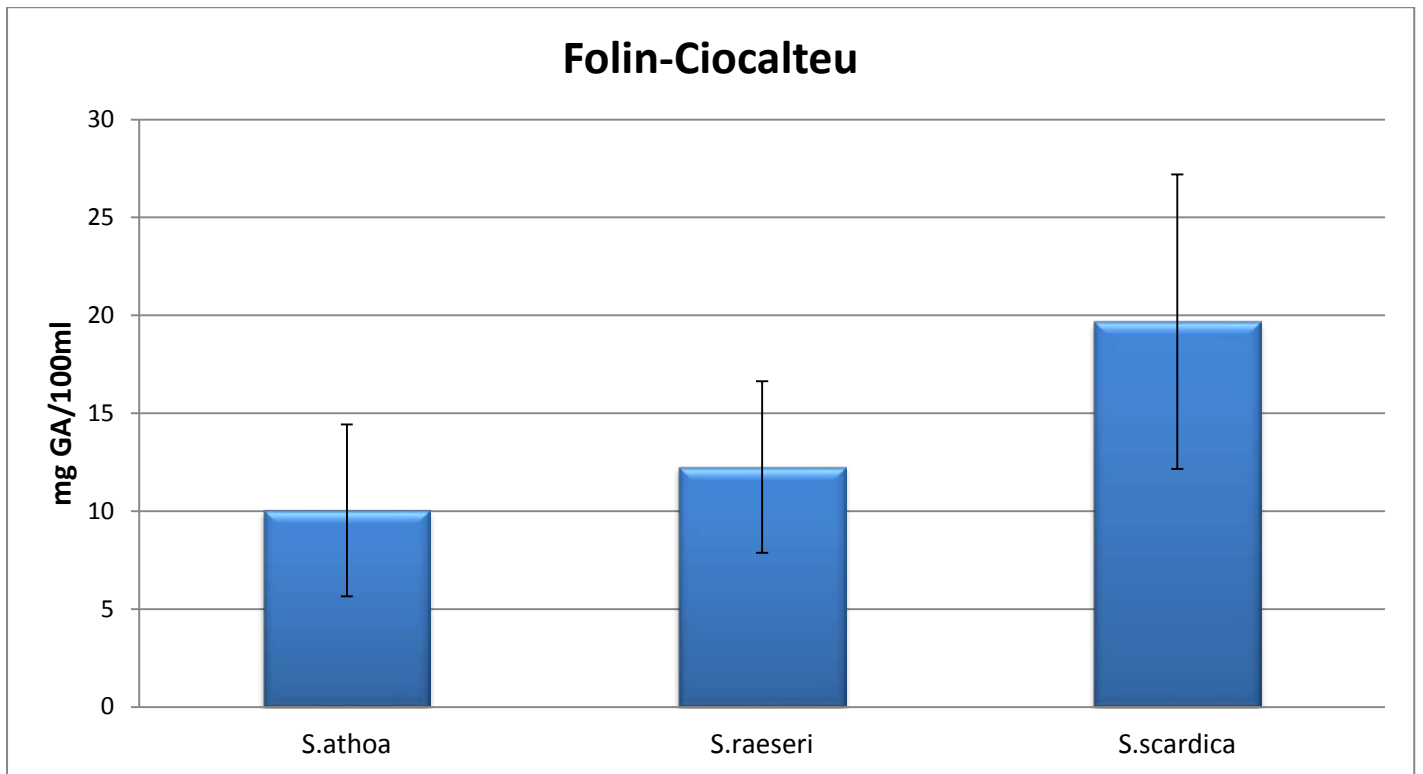
***± SD (τυπική απόκλιση)**

****± confidence (όριο εμπιστοσύνης 95%)**

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα τα δείγματα του *Sideritis scardica* έχουν την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά. Ενώ αυτά του *S. raeseri* έχουν αρκετά μικρότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά από του *S. scardica*. Τέλος τα δείγματα της ποικιλίας *S. athoa* παρουσιάζουν την μικρότερη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις και περίπου τα μισά από του *S. scardica*. Όσον αφορά τα δείγματα των εμπορικών σκευασμάτων σιδηρίτη η συγκέντρωση φαινολικών συστατικών έχει την εξής κατατάξη :

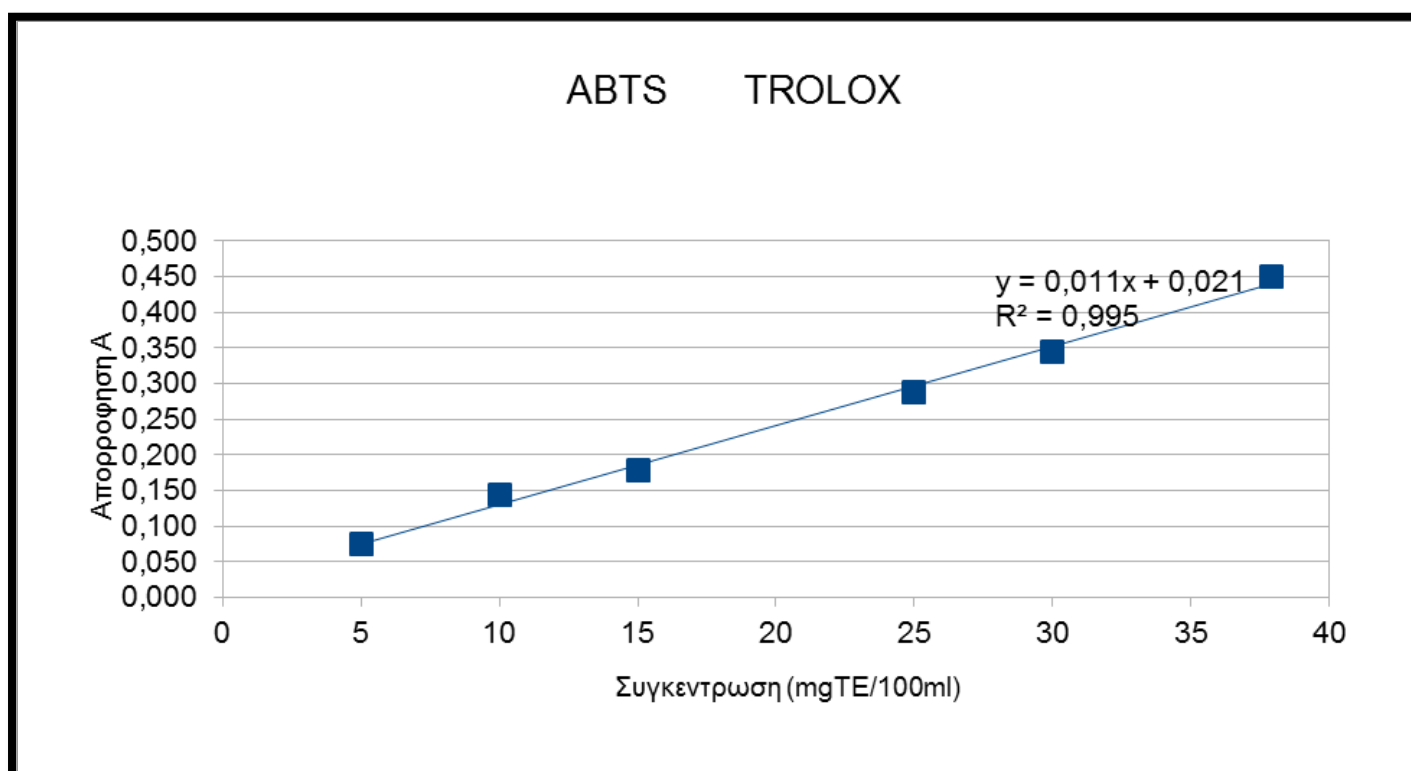
“TUVUNU with honey and lemon” > “Όλυμπος με αρώνια” > “TUVUNU with lemon” > “Όλυμπος με λεμόνι”

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ



3.2 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ ABTS ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΣΙΔΕΡΙΤΗ

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 της παρακατω πρότυπης καμπύλης trolox.



Επίσης υπολογίστηκε και η επι 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 $A_{734ABTS}$ 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.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ	mgTE/100ml*	mgTE/100ml**	Max % ανάσχεση
S.athoa	27,60±3,55	27,60±2,84	32,5
S.raeseri	41,54±1,74	41,54±1,39	41,5
S.scardica	49,71±3,23	49,71±2,58	54,8
TUVNU with honey&lemon	55,74±0,52	55,74±0,58	44,8
TUVUNU with lemon	32,55±0,06	32,55±0,07	54,6
Όλυμπος με αρώνια	43,99±0,27	43,99±0,31	67,2
Όλυμπος με λεμόνι	21,36±0,09	21,36±0,12	40,3

Πίνακας 3: Συγκεντρωτικά αποτελέσματα της αντιριζικής ικανότητας ABTS.

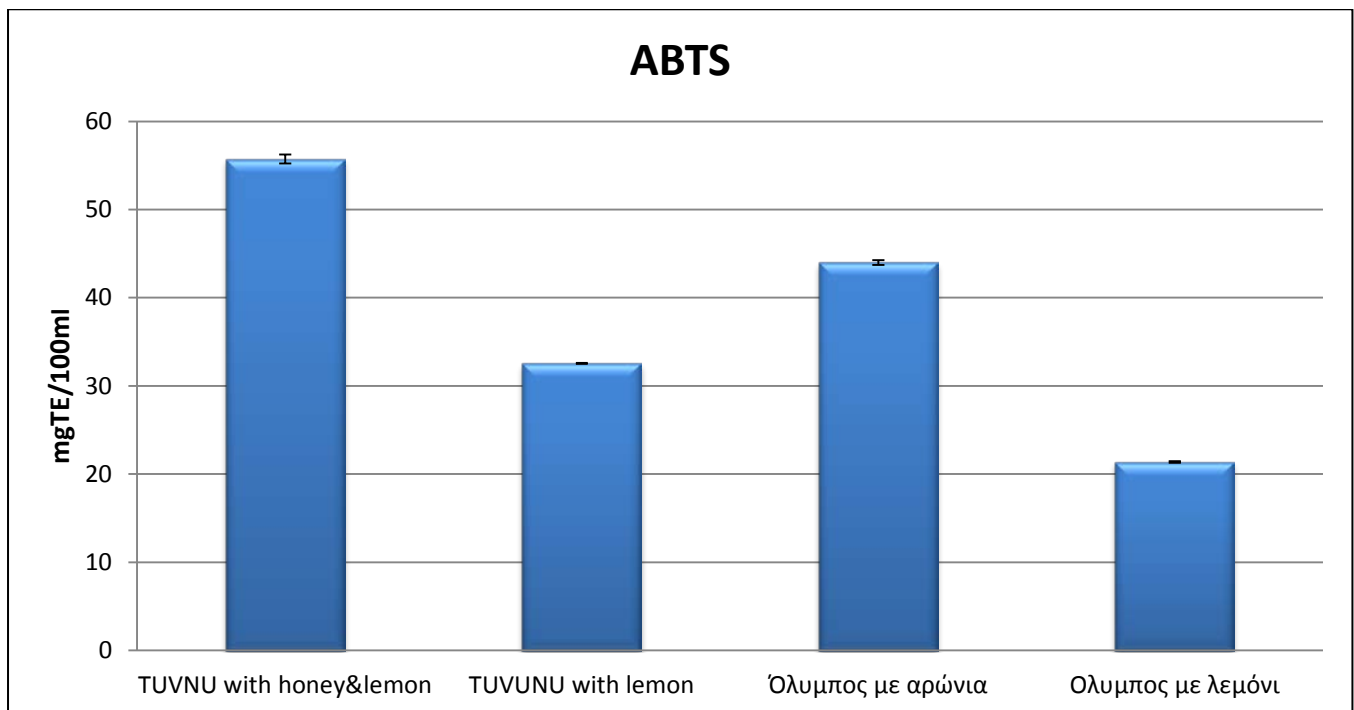
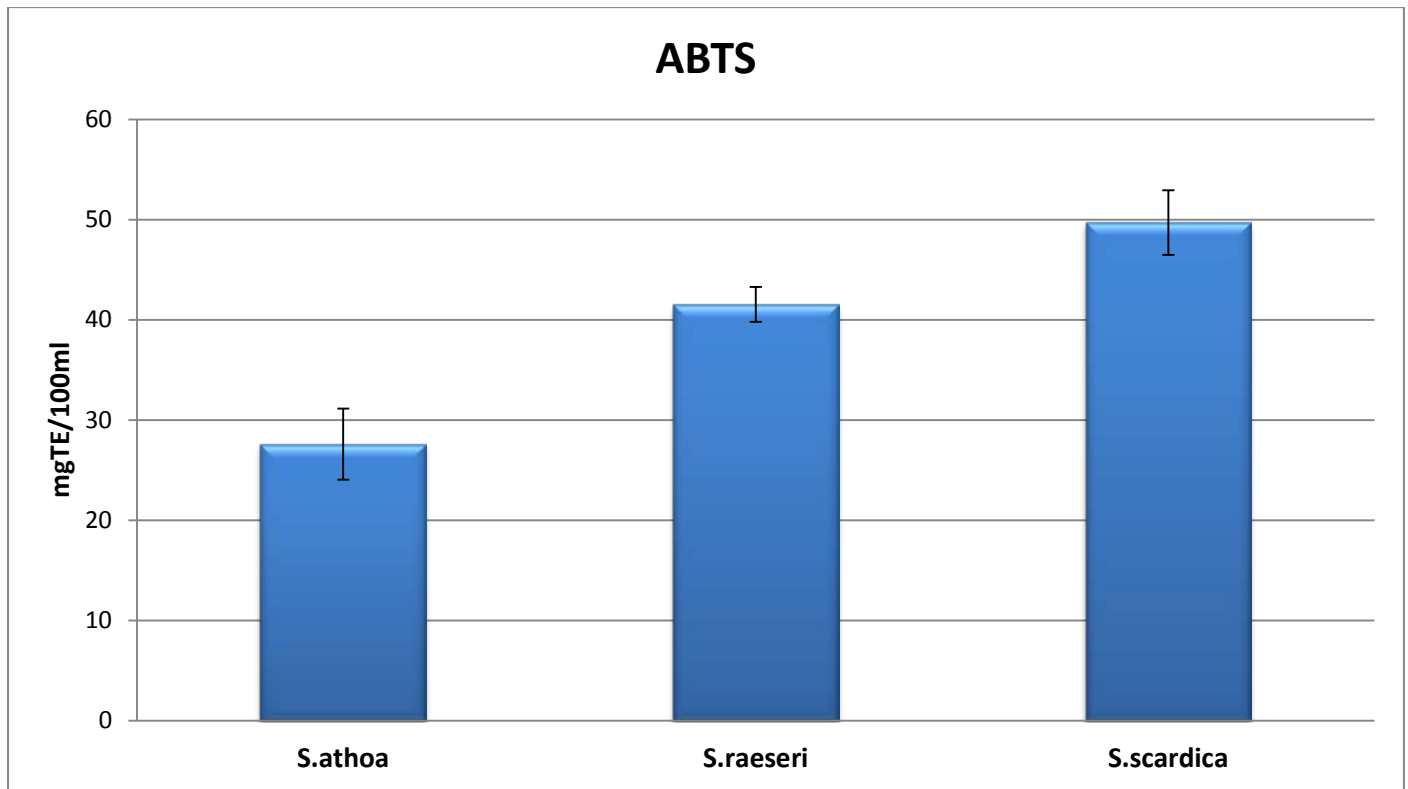
***± SD (τυπική απόκλιση)**

****± confidence (όριο εμπιστοσύνης 95%)**

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα η συγκέντρωση των αντιριζικών ενώσεων (αντιριζική ικανότητα) τόσο στα δείγματα των ποικιλιών Σιδερίτη όσο και στα εμπορικά αναψυκτικά αυτού έχει την εξής κατάταξη:

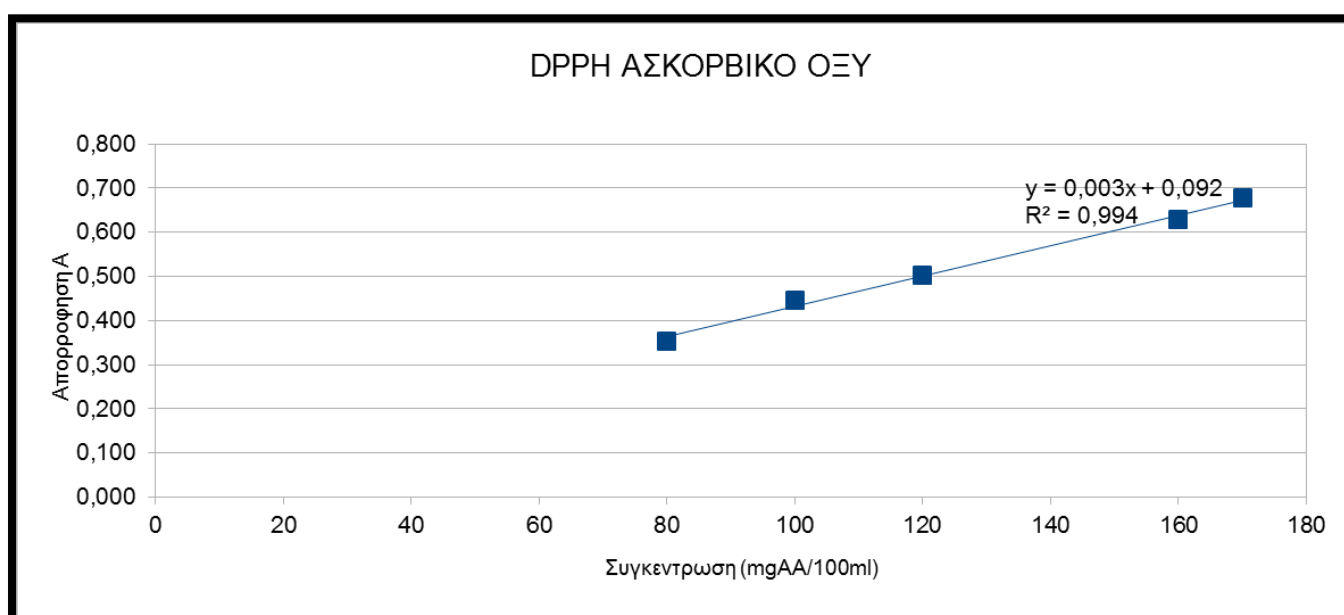
- **S. scardica > S.raeseri > S. athoa**
- **“TUVUNU with honey and lemon” > “Όλυμπος με αρώνια” > “TUVUNOU with lemon” > “Όλυμπος με λεμόνι”**

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ



3.3 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ DPPH ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΣΙΔΕΡΙΤΗ

Η εκτίμηση της ικανότητας δέσμευσης της ρίζας DPPH των δειγμάτων του σιδεριτή 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 την παρακάτω 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 EC_{50} (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 πμμή 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.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ	mgAA/100ml*	mgAA/100ml**	Max % ανάσχεση
S.athoa	138,22±32,04	138,22±22,2	33,1
S.raeseri	154,51±26,25	154,51±19,44	36,1
S.scardica	303,61±49,59	303,61±48,59	59,8
TUVUNU with honey&lemon	180,17±16,89	180,17±23,41	38,9
TUVUNU with lemon	96,17±0,39	96,17±0,54	42,2
Όλυμπος με αρώνια	112,99±0,55	112,99±0,76	40,3
Όλυμπος με λεμόνι	35,33±0,63	35,33±0,87	22,8

Πίνακας 3: Συγκεντρωτικά αποτελέσματα της δομής DPPH.

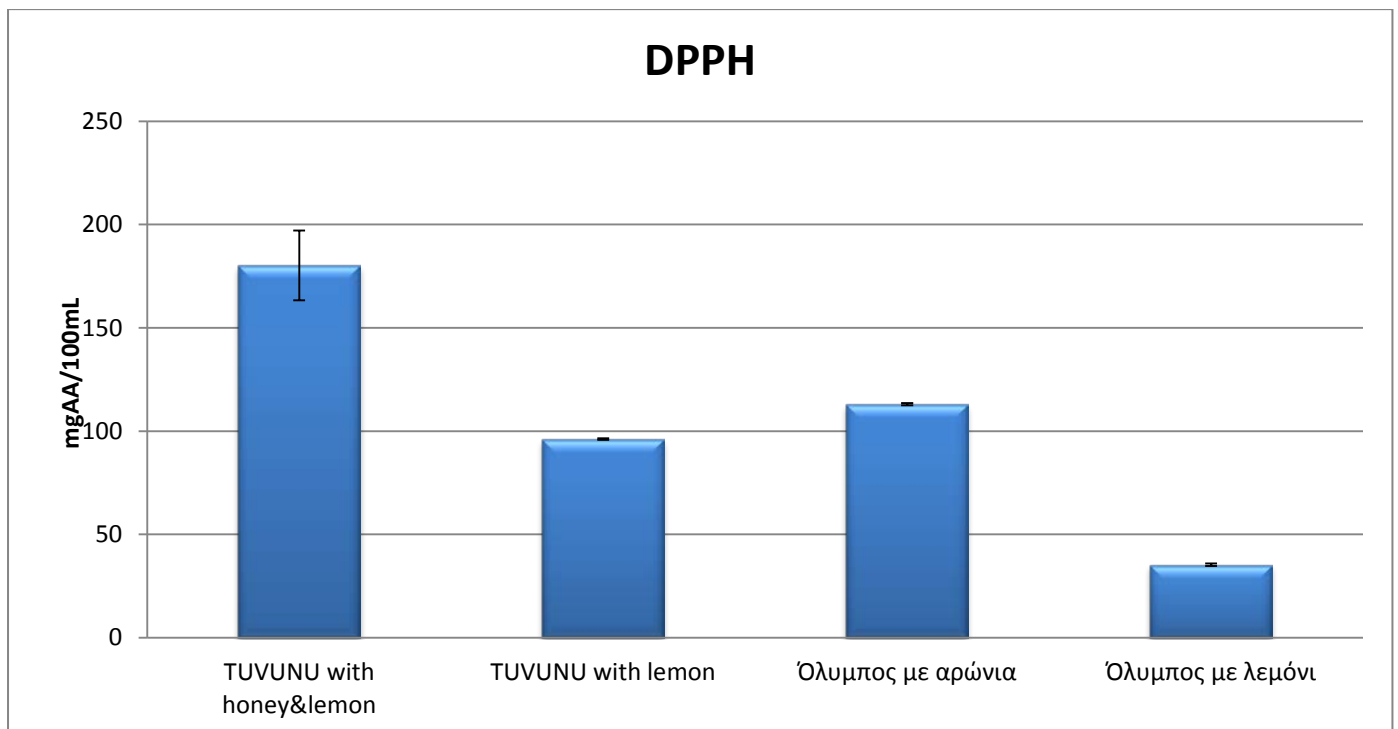
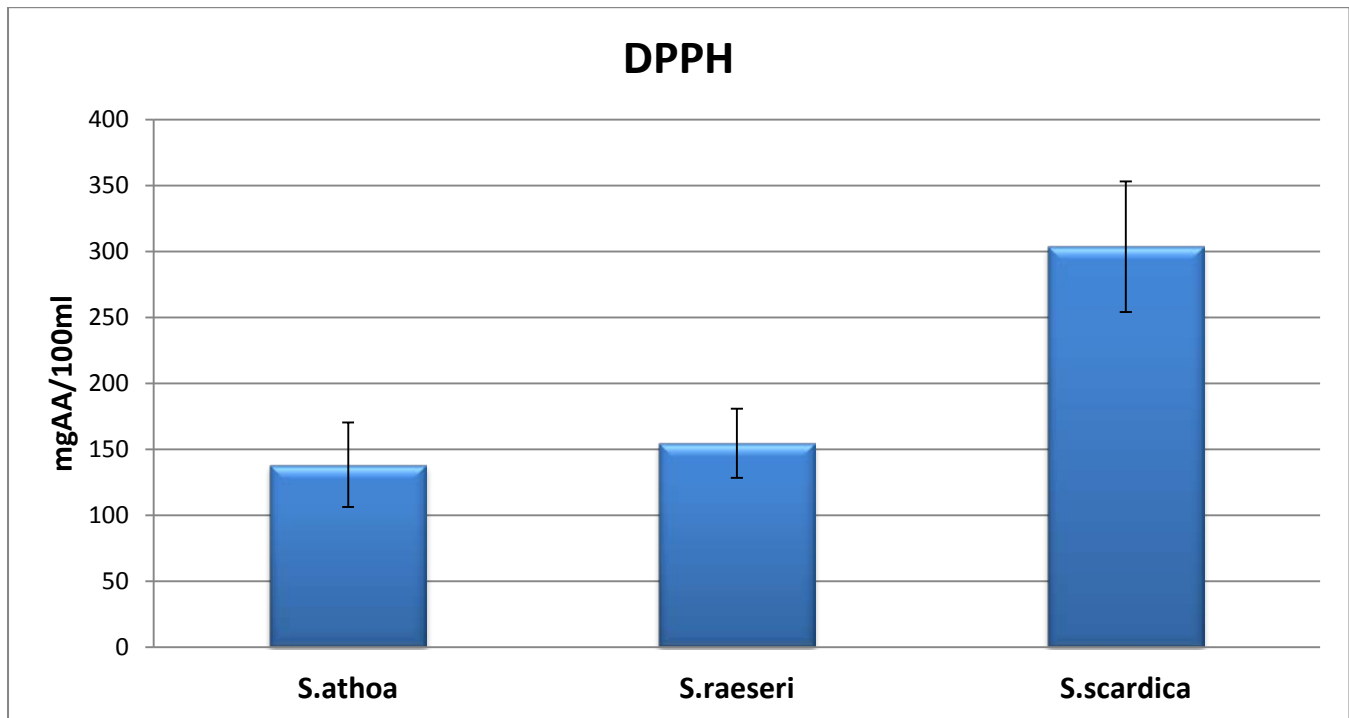
***± SD (τυπική απόκλιση)**

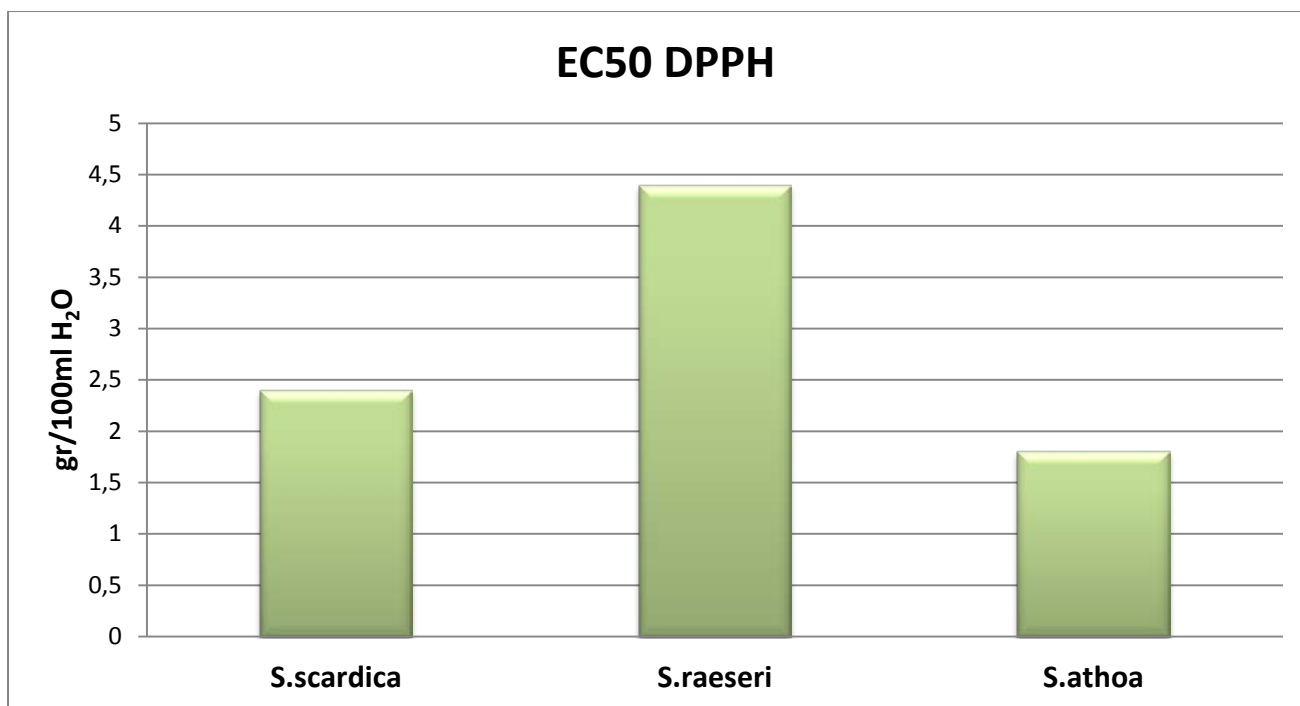
****± confidence (όριο εμπιστοσύνης 95%)**

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα η συγκέντρωση των αντιριζικών ενώσεων (αντιριζική ικανότητα) τόσο στα δείγματα των ποικιλιών Σιδερίτη όσο και στα εμπορικά αναψυκτικά αυτού έχει την εξής κατάταξη:

- **S. scardica > S.raeseri > S. athoa**
- **“TUVUNU with honey and lemon” > “Όλυμπος με αρώνια” > “TUVUNOU with lemon” > “Όλυμπος με λεμόνι”**

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ





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

Οι πλέον χρησιμοποιούμενες τεχνικές διαχωρισμού, ταυτοποίησης και ποσοτικού προσδιορισμού των φαινολικών ουσιών των τροφίμων είναι η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) και η υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC).^[22]

Η HPLC ονομάζεται υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης, η μέθοδος χρωματογραφίας στήλης, η οποία εκτελείται με τη βοήθεια ενός συγκροτήματος οργάνων (συσκευή υγρού χρωματογράφου). Ως κινητή φάση χρησιμοποιούνται διαλύτες (οργανικοί, νερό, ρυθμιστικά διαλύματα και άλλα) υπό ελεγχόμενη πίεση, ενώ η στατική φάση αποτελείται από πυριτική πηκτή ή από πολυμερείς ενώσεις. Ανάλογα με το είδος της στατικής φάσης, η μέθοδος HPLC αποδίδει χρωματογραφικούς διαχωρισμούς σύμφωνα με τις αρχές προσρόφησης ή της κατανομής ή συνδυασμού αυτών, ή της ιοντοανταλλαγής ή τέλος της μοριακής διήθησης. Η HPLC χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό πολύπλοκων ανόργανων και οργανικών μιγμάτων καθώς και στην ποιοτική και ποσοτική ανάλυση.^[22]

Πίνακας 4: Συγκεντρώσεις φαινολικών 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 Φαινυλεθανοιδική)	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 *S.scardica* 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 *S.athoa* και *S.raeseri*, κάτι το οποίο συμφωνεί με τα αποτελέσματα των προϋγούμενων μεθόδων.

Αντίθετα όμως με τις υπόλοιπες τρεις μεθόδους δεύτερη ποικιλία με τα περισσότερα συνολικά φαινολικά συστατικά είναι η *Sideritis athoa* και τελευταία στην κατάταξη είναι η *S.raeseri*. Ωστόσο, η διαφορά μεταξύ αυτών των δύο ποικιλιών είναι μόλις 238,6 mg/g ξηρού φυτού, αρκετά μικρή, ενώ η *S.scardica* έχει τα πενταπλάσια φαινολικά συστατικά από αυτά του *S.athoa*.

3.5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα των 3 φασματομετρικών αναλύσεων και της HPLC-DAD καταλύγουμε στα εξής συμπεράσματα:

Μετά την σύγκριση των τριών ποικιλιών *Sideritis* (*S.scardica*, *S.raeseri*, *S.athoa*) βλέπουμε πως το δείγμα *S.scardica* έχει την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και παρουσιάζει καλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών απ' ότι τα δείγματα *S.raeseri* και *Sideritis athoa*. Το ίδιο δαίνεται και από τον πίνακα της HPLC-DAD, αφού φαίνεται εκεί ξεκάθαρα η μεγάλη περιεκτικότητά του *Sideritis scardica* σε φαινολικές ενώσεις.

Ωστόσο σύμφωνα με τις μεθόδους F-C, DPPH και ABTS το δείγμα *Sideritis raeseri* παρουσιάζει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά και παρουσιάζει καλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών απ' ότι το δείγμα *Sideritis athoa*. Κάτι το οποίο έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα

της HPLC-DAD όπου φαίνεται ότι η *Sideritis athoa* περιέχει περισσότερα mg φαινολικών/g ξηρού φυτού σε σχέση με το *Sideritis raeseri*.

Το παραπάνω γεγονός μπορεί να οφείλεται, είτε στο ότι τα είδη του *Sideritis* παρουσιάζουν έντονο υβριδισμό, όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω. Ο οποίος μπορεί να λάβει χώρα ακόμα και μεταξύ πιο απομακρυσμένων ειδών, γεγονός που δυσχεραίνει την ταξινόμηση βάσει κλασικών μεθόδων, αλλά ακόμα και αυτήν την ίδια τη χημειοταξινόμηση. Έτσι πέραν του γενετικού παράγοντα, η διαφοροποίηση στην ποσότητα αλλά και τη χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων, ακόμα και εντός του είδους, οφείλεται επιπλέον σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, στο χρόνο συγκομιδής και άλλες καλλιεργητικές πρακτικές, στο χημειότυπο του φυτού, καθώς και στην κατάσταση θρέψης του. Επίσης, έχει αναφερθεί η διαφορετική μέθοδος απομόνωσης των αιθερίων ελαίων, ως αίτιο της παραλλακτικότητας αυτών. Είτε γιατί μέσα στα 3,5min βρασμού ποιά πολλές φαινολικές ενώσεις εκχυλίζονται στο νερό από το ξηρό φυτό *Sideritis raeseri* παρά από το *Sideritis athoa*.

Όσο για την σύγκριση των εμπορικών σκευασμάτων του Σιδερίτη αποδεικνύεται πως το “TUVUNU with honey and lemon” παρουσιάζει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά καλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών απ’ ότι τα άλλα τρία δείγματα. Αυτό οφείλεται όμως, σε μεγάλο βαθμό στην πρόσθετη βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) που περιέχει. Διότι η βιταμίνη C είναι ισχυρό αντιοξειδοτικό και δεσμεύει ακαριέα τις ελεύθερες ρίζες, αυξάνοντας 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 καλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών είναι το “Όλυμπος με αρώνια”. Το οποίο οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο χυμός αρώνιας περιέχει πιά πολλές φαινολικές ουσίες από τον χυμό λεμονιού που περιέχει το αφέψημα το “Όλυμπος με λεμόνι”. Επίσης, περιέχει πιά πολλές φαινολικές ενώσεις, σύμφωνα με τα φασματοφωτομετρικά αποτελέσματα, από το αφέψημα “TUVUNU with lemon”, το οποίο αν και περιέχει βιταμίνη C έχει μικρότερη περιεκτικότητα φαινολικών συστατικών 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 καλύτερη ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών απ' ότι το "Όλυμπος με λεμόνι". Άρα, το ασκορβικό οξύ που περιέχει το "TUVUNU with lemon" πρέπει να είναι λιγότερο από ότι στο "TU VUNU with honey and lemon".

Τέλος, από τα αποτελέσματα των 3 φασματοφωτομετρικών αναλύσεων (F-C, ABTS, DPPH), φαίνεται ότι το αφέψημα "TUVUNU 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 το ξηρό φυτό *Sideritis scardica*, ενώ στην μέθοδο DPPH το αφέψημα από ξηρό φυτό *Sideritis scardica* φαίνεται να έχει την διπλάσια αντιριζική ικανότητα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΜΕ ΑΛΛΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

4.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ

Σύμφωνα με την Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία της Ελένης Σπανίδη του Τμήματος Βιολογίας στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης προσδιορίστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα(με DPPH) και το φαινολικό περιεχόμενο (F-C) εκχυλισμάτων του *S. raeseri* subsp. *Raeseri* και του *S.scardica* τα αποτελέσματα ήταν τα εξής:

Η αντιοξειδωτική ικανότητα για το *S.raeseri* subsp. *raeseri* κυμαίνεται από 0.49 ± 0.07 έως $4,72\pm 0,46$ mM Trolox, ενώ για το *S.scardica* από 0.82 ± 0.51 έως $4,98\pm 0,05$ mM Trolox για τα υδατικά εκχυλίσματα - αφεψήματα που παρασκευάστηκαν με ολόκληρο το φυτικό υλικό και εκχυλίστηκαν για 2 λεπτά και για το υδρο- γλυκερινικό εκχύλισμα που παρασκευάστηκε με υγρό υπό πίεση (PLE), αντίστοιχα. ^[23]

Τα εκχυλίσματα του *S.raeseri* subsp. *raeseri* που παρασκευάστηκαν με εμφύσηση (infusion) παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά με τα εκχυλίσματα που παρασκευάστηκαν ως αφέψημα (decoction) για τον ίδιο χρόνο, ενώ για το *S.scardica* όχι. Τόσο για το *S.raeseri* subsp. *Raeseri* όσο και για το *S.scardica* τα εκχυλίσματα που παρασκευάστηκαν με την μέθοδο PLE παρουσιάζουν αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα με στατιστική διαφορά με τα υπόλοιπα εκχυλίσματα. Επίσης όταν το φυτικό υλικό είναι σε σκόνη, έχει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα και παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά από το φυτικό υλικό που τεμαχίστηκε με το χέρι. Ακόμα, παρατηρείται η αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με την αύξηση του χρόνου εκχύλισης και ιδιαίτερα μέχρι τα 10min, τόσο για το φυτικό υλικό που ήταν σε σκόνη όσο και για αυτό που εκχυλίστηκε ολόκληρο. ^[23]

Το φαινολικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων του *S.raeseri* subsp. *raeseri* κυμαίνεται από $99,90\pm 23$ έως $868,39\pm 55$ mgGA/L και του *S.scardica* από $101,28\pm 39$ έως $1057,02\pm 125$ mgGA/L για το υδατικό εκχύλισμα - αφέψημα που παρασκευάστηκε με ολόκληρο το φυτικό υλικό και εκχυλίστηκε για 2 λεπτά και για το υδρο-γλυκερινικό εκχύλισμα που παρασκευάστηκε με υγρό υπό πίεση (PLE), αντίστοιχα.

Τόσο τα εκχυλίσματα του *S. raeseri* subsp. *Raeseri* όσο και του *S. scardica*, που παρασκευάστηκαν με εμφύσηση (infusion) δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά με τα εκχυλίσματα που παρασκευάστηκαν ως αφέψημα (decoction) για τον ίδιο χρόνο ως προς το φαινολικό περιεχόμενο. Συγκρίνοντας τα φάνηκε ότι τα εκχυλίσματα που παρασκευάστηκαν με την μέθοδο PLE παρουσιάζουν αυξημένο φαινολικό περιεχόμενο με στατιστικά σημαντική διαφορά με όλα τα υπόλοιπα εκχυλίσματα. Όπως και στην αντιοξειδωτική ικανότητα, όταν το φυτικό υλικό βρίσκεται σε σκόνη, έχει μεγαλύτερο φαινολικό περιεχόμενο απ' ότι αυτό που εκχυλίστηκε ολόκληρο. Επίσης η αύξηση του φαινολικού περιεχομένου με την αύξηση του χρόνου εκχύλισης και συγκεκριμένα ότι πάνω από το 50% των υδατοδιαλυτών φαινολικών συστατικών απελευθερώνονται στα πρώτα 10 min. [23]

Από τα αποτελέσματα της παραπάνω εργασίας βλέπουμε ότι τα εκχυλίσματα του *S. scardica* έχουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα και ολικό φαινολικό περιεχόμενο από αυτά του *S. raeseri* κάτι το οποίο συμφωνεί με την παρούσα εργασία.

Έχει παρατηρηθεί ότι η υψηλότερη απόδοση του φαινολικού περιεχομένου επιτυγχάνεται με την κονιορτοποίηση του φυτικού υλικού που εκχυλίζεται (Gião et al., 2009). Διαφορετικά μέρη του φυτού περιέχουν διαφορετικά ποσοστά φαινολικών συστατικών (φύλλα > άνθη > στέλεχος) (Petreska et al., 2011) και ίσως σε αυτό να οφείλεται η μεγάλη διακύμανση που παρατηρήθηκε καθώς τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσος όρος τριών διαφορετικών εκχυλίσεων. [26][28]

Από μελέτες που έχουν γίνει σε είδη του γένους *Sideritis* φαίνεται να παρουσιάζουν μέτρια ως ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα ανάλογα με το ταχον που ανήκει, το είδος της εκχύλισης καθώς και την εποχή συγκομιδής και το υψόμετρο (Gabrieli et al., 2005). [25]

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε είδη του γένους *Sideritis*, που φύονται σε διαφορετικές περιοχές της Βουλγαρίας, τα είδη *S. syriaca* και *S. scardica* παρουσίασαν παρόμοια χημική σύσταση αλλά και δραστηριότητα ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα (Koleva et al. 2003) [27]. Οι

Karapandzova et al. (2013) παρατήρησαν ότι φαινολικό περιεχόμενο και η αντιοξειδωτική ικανότητα του είδους *S. raeseri* παρουσίασε χαμηλότερες τιμές από αυτές του *S. scardica* αλλά με μικρές διαφορές μεταξύ τους. Κάτι το οποίο συμφωνεί με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας.^[24]

Σύμφωνα με τους Dejan Pljevljakušic, Katarina Šavikin, Teodora Jankovic, Gordana Zdunic, Mihailo Ristic, Dejan Godjevac, Aleksandra Konic, η ποσότητα των συνολικών φαινολικών σε εκχυλίσματα *S. raeseri* από διαφορετικές φάσεις ανάπτυξης, καθώς και σε φυτική έγχυση / αφέψημα, μειώθηκε κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας. Η φάση εκβλάστησης περιείχε την υψηλότερη συνολική φαινολική περιεκτικότητα (34,1 mg GAE / g), ενώ η χαμηλότερη ήταν σε φάση υπερ-άνθησης (15,3 mg GAE / g). Σε σύγκριση με άλλα είδη *Sideritis*, όπως *S. scardica*, *Sideritis amasiaca*, *Sideritis serratifolia* (Tunalier et al., 2004), το *S. raeseri* περιείχε πολύ μικρότερη ποσότητα συνολικών φαινολικών. Το περιεχόμενο των συνολικών φαινολικών ήταν παρόμοια τόσο με έγχυση όσο και ως αφέψημα (46,5 και 43,9 mg GAE / 100 ml, αντίστοιχα). Όλα τα εκχυλίσματα του *S. raeseri* βρέθηκαν να είναι ισχυροί συλλέκτες ελεύθερων ριζών DPPH Με τιμές IC₅₀ που κυμαίνονται από 17,9 έως 45,1 lg / ml. Το πιο ενεργό ήταν το υπερβολικό εκχύλισμα άνθησης, ενώ η πρώιμη ανθοφορία και η πλήρης άνθησης ήταν τα ασθενέστερα, με παρόμοιες τιμές IC₅₀. Σε σύγκριση με τα άλλα είδη *Sideritis*, η δραστηριότητα ριζικής κατεργασίας DPPH του *S. raeseri* ήταν υψηλότερη από αυτή του *Sideritis libanotica* Subsp. *Linearis* και *Sideritis sipylea*.^[29]

Στη μελέτη των B. Janeska et al, επιβεβαιώθηκε η παρουσία πέντε αγλυκονών φλαβονοειδών στο *S. raeseri*. Τέσσερις από αυτές συνοδεύονται από την ομάδα των 8-OH φλαβονών (hypolaetin και isoscutellarein και τα παράγωγα μεθυλαιθέρα τους). Ταυτόχρονα, αποκαλύπτεται μεγαλύτερη ποικιλία φλαβονών 8-OH σε *S. raeseri* (hypolaetin, 3'-μεθυλαιθέρας της hypolaetin, isoscutellarein και 4'-μεθυλαιθέρας της isoscutellarein). Ενώ, μόνο η isoscutellarein και ο 3'-μεθυλαιθέρας της hypolaetin βρέθηκαν στο *S. scardica*. Επιπρόσθετα, η 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*.^{[30][31][32]}

Έχουν αναφερθεί δύο μελέτες σχετικά με το αιθέριο έλαιο του *Sideritis scardica* subsp. *Scardica* ελληνικής προέλευσης. Σε μια από αυτές ο Kokkalu ανέφερε ως βασικά συστατικά το α-πινένιο (52%), το β-πινένιο (13%), το μυρσένιο (13%) και το β-πελανδρένιο (4%). (9). Σε μια ξεχωριστή μελέτη, αναφέρθηκαν ως κύρια συστατικά η β-καρυοφιλίνη (8%), η θυμόλη (6%), η καρβακρόλη (6%), β-πινένιο (6%) και α-πινένιο (5%).^[33]

Στη ερευνητική εργασία για την απόκτηση Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης της Λιναρδάκη Ζαχαρούλας αρχικά προσδιορίστηκαν το πολυφαινολικό περιεχόμενο και οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των αφεψημάτων έξι πληθυσμών του είδους *Sideritis clandestina*, που συλλέχθηκαν από διαφορετικές περιοχές τις Πελοποννήσου. Ως πρότυπο χρησιμοποιήθηκε το αφέψημα του πράσινου τσαγιού. Από την ανάλυση αυτή διαπιστώθηκε ότι το είδος *Sideritis clandestina* subsp. *cyllenea* εμφανίζει την υψηλότερη πολυφαινολική σύσταση και αντιοξειδωτική δράση, μετά το πράσινο τσάι. Οι υπόλοιποι πληθυσμοί του είδους *Sideritis clandestina* παρουσιάζουν μικρότερα ποσά πολυφαινολών και ασθενέστερη αντιοξειδωτική ικανότητα, με μικρές βέβαια διαφορές μεταξύ τους. Επίσης η αντιοξειδωτική ικανότητα των αφεψημάτων των φυτικών δειγμάτων που εξετάστηκαν, είναι ανάλογη της πολυφαινολικής τους σύστασης.^[34]

Τα παραπάνω αποτελέσματα της μελέτης ήταν σύμφωνα και με άλλες εργασίες της διεθνούς βιβλιογραφίας. Στη μελέτη των Triantaphyllou et al. (2001), το υδατικό εκχύλισμα του πράσινου τσαγιού εμφάνισε υψηλότερο πολυφαινολικό περιεχόμενο και ισχυρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με το υδατικό εκχύλισμα του είδους *Sideritis raeseri*, που συλλέχθηκε από ορεινή περιοχή της Βόρειας Ελλάδας. Επίσης, τα υδατικά εκχυλίσματα διαφορετικών πληθυσμών του ίδιου είδους, φυτών του γένους *Sideritis* (*Sideritis scardica*, *Sideritis syriaca*, *Sideritis montana*), που συλλέχθηκαν από

διαφορετικές περιοχές της Βουλγαρίας, παρουσίασαν μικρές διαφορές μεταξύ τους, ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, όπως αποδεικνύεται από την εργασία των Koleva et al., (2003). Επίσης, στην εργασία των Tunalier et al., (2004), από τη μελέτη των μεθανολικών εκχυλισμάτων 27 ειδών του γένους *Sideritis*, που συλλέχθηκαν από διαφορετικές περιοχές της Τουρκίας, παρατηρείται μια γραμμική συσχέτιση μεταξύ του συνολικού πολυφαινολικού 117 περιεχομένου και της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων. Στην ίδια εργασία επιβεβαιώνεται επιπλέον, ότι τα φυτά του γένους *Sideritis* περιέχουν φλαβονοειδή σε υψηλότερη αναλογία, σε σχέση με τις άλλες κατηγορίες πολυφαινολών.^{[30][35][36]}

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Γκόλιαρης Α. (1984), Το Τσάι του βουνού, από αυτοφυές τώρα στην καλλιέργεια, Υπουργείο Γεωργίας " Τα Αγροτικά" Τεύχος 16 :29-31.
2. Κουνδουράκη Χ. , "Συγκριτική μελέτη αντιοξειδωτικής δράσης αφεψημάτων από Ελληνικά βότανα in vitro", (2013).
3. Γ. Χ. Σαμαρά, Βελτιστοποίηση της καλλιέργειας "τσάι του βουνού" (*Sideritis raeseri*) στο χωριό Βρύναινα του νομού Μαγνησίας, (2003).
4. Χρυσή Γαβριέλη, Φυσικοχημική και Φαρμακολογική Μελέτη του Φυτού *Sideritis raeseri* ssp. *raeseri* «Τσάι του Βουνού».
5. Γκόλιαρης Α., Το Τσάι του βουνού, από αυτοφυές τώρα στην καλλιέργεια. (1984) Υπουργείο Γεωργίας " Τα Αγροτικά" Τεύχος 16 : 29-31.
6. Γκόλιαρης Απόστολος, Καλλιέργεια, Αυτοφυή είδη και βελτίωση στο ελληνικό τσάι του βουνού (*Sideritis L.*).
7. ΗΜΕΡΙΔΑ, "Δημιουργία μητρικών φυτών με στόχο τη διατήρηση ex situ διαφόρων ειδών *Sideritis L.*- "Τσάι του Βουνού" με τη μέθοδο του μικροπολλαπλασιασμού".
8. Βελιβασάκη Μαρία-Ελένη, Καλοτεράκη Χρυσούλα , Τσουρδαλάκη Ελένη: «ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΑΓΡΙΩΝ ΧΟΡΤΩΝ ΚΑΙ ΑΦΕΨΗΜΑΤΩΝ ΒΟΤΑΝΩΝ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΕ ΚΑΤΟΙΚΟΥΣ ΑΣΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΓΡΟΤΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΤΗΣ ΚΡΗΤΗΣ»,(2016).
9. Ρωξάνη Τέντα, Ανάδειξη φυτικών εκχυλισμάτων της Ελληνικής χλωρίδας ως πιθανών θεραπειών για την οστεοπόρωση, (2009).
10. ΠΑΤΕΛΟΥ ΕΥΣΤΑΘΙΑ, Εκτίμηση της Γενετικής Ποικιλότητας Αυτοφυών Πληθυσμών Τσάι του Βουνού (*Sideritis raeseri*) με τη Χρήση Μοριακών Δεικτών, (2014).
11. Στέλλα Χ Γεωργουδέλλη, "Μελέτη ποιοτικών χαρακτηριστικών κατά τη συντήρηση μούρων.", (2011).
12. Μακαβέλου Μαριάννα, Αξιολόγηση ποιοτικών χαρακτηριστικών σε καρπούς μουργιας.", (2010).
13. ΤΥΒΥΝΟΥ, <http://www.tuvunu.com/el/products/greek-mountain-tea-menu>
14. ΤΣΑΙ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ, ΟΛΥΜΠΟΣ, <http://www.olympos.gr/proionta/tsai-vounisio/>
15. ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ Σ. ΜΗΝΙΩΤΑΚΗ, "ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΝΕΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΤΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ", (2009).
16. Δημήτριος Σιούλας, Αγορίτσα Σχιζοδήμου, Τσάι του Βουνού (*Sideritis* spp).
17. ΡΕΡΗ ΕΛΕΝΗ, " Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης εκχυλισμάτων από μέντα, φασκόμηλο και τσάι με συνδυασμό in vitro μεθόδων", (2010).
18. Καραχασάνη Αρχοντία, Γεωγραφική και βοτανική ταξινόμηση ειδών Σιδερίτη

- Αυτοφύομενων στην Ελλάδα, με χρήση της υπέρυθρης φασματοσκοπίας συνδυασμένη με χημειομετρικές μεθόδους, (2014).19.
19. Ροιδάκη Άννα, Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης και των φαινολικών συστατικών σε διαφορετικές ποικιλίες του φυτού ιπποφάες και Λουίζας με φασματοφωτομετρικές μεθόδους, (2014).
20. C. Dincera, M. Toruna, I. Tontula,b, A. Topuza,*, H. Sahin-Nadeema, R.S. Gokturkc,S. Tugrul-Ayd, F. Ozdemira, “ Phenolic composition and antioxidant activity of *Sideritis lycia* and *Sideritis libanotica* subsp. *linearis*: Effects of cultivation, year and storage”, (2016).
21. Ερασμία Π. Χίου, Τσάι του βουνού-Η καλλιέργεια του *Sideritis raeseri* στη Βρύναινα Ν. Μαγνησίας και Τρόποι αποξήρανσής του (2003).
22. Αλετράς Γ εώργιος, ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΕ ΟΙΝΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ,(2011).
23. Ελένη Σπανίδη Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία: Τα φυτά του γένους *Sideritis* «τσάι του βουνού» στην ελληνική αγορά βοτάνων- Ταξινομικός προσδιορισμός και αντιοξειδωτική ικανότητα εκχυλισμάτων, (2014).
24. Karapandzova, M., Qazimi, B., Stefkov, G., Baceva, K., Stafilov, T., Panovska, T.K., Kulevanova, S., 2013. Chemical characterization, mineral content and radical scavenging activity of *Sideritis scardica* and *S. raeseri* from R. Macedonia and R. Albania. *Natural Product Communications*. 8, 639-644.
25. Gabrieli, C.N., Kefalas, P.G., Kokkalou, E.L., 2005. Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri*. *Journal of Ethnopharmacology*. 96, 423-428.
26. Gião, M.S., Pereira, C.I., Fonseca, S.C., Pintado, M.E., Malcata, F.X., 2009. Effect of particle size upon the extent of extraction of antioxidant power from the plants *Agrimonia eupatoria*, *Salvia sp.* and *Satureja montana*. *Food Chemistry*. 117, 412-416.
27. Koleva, I.I., Linssen, J.P.H., Van Beek, T.A., Evstatieva, L.N., Kortenska, V., Handjieva, N., 2003. Antioxidant activity screening of extracts from *Sideritis* species (Labiatae) grown in Bulgaria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83, 809-819.
28. Petreska, J., Stefova, M., Ferreres, F., Moreno, D.A., Tomás-Barberán, F.A., Stefkov, G., Kulevanova, S., Gil-Izquierdo, A., 2011. Dietary burden of phenolics per serving of "mountain tea"(*Sideritis*) from macedonia and correlation to antioxidant activity. *Natural Product Communications*. 6, 1305- 1314.
29. Chemical properties of the cultivated *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. subsp. *Raeseri*. Dejan Pljevljakušić, Katarina Šavikin , Teodora Jankovic, Gordana Zdunic, Mihailo Ristic, Dejan Godjevac, Aleksandra Konic-Ristic, (2011).
30. I. I. Koleva, J. P. H. Linssen, T. A. van Beek, Lj. B. Evstatieva, V. Kortenska and N. Handjieva, Antioxidant activity of extracts from *Sideritis* species (Labiatae) grown in Bulgaria, *J. Sci. Food Agric*. 83 (2003) 809-819; DOI: 10.1002/jsfa.1415.
31. C. N. Gabrieli, P. G. Kefalas and E. L. Kokkalou, Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri*, *J. Ethnopharmacol*. 96 (2005) 423-428; DOI: 10.1016/j.jep.2004.09.031.

32. 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.
33. 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).
34. ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΕ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΜΥΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΟΣΗ ΥΔΑΤΙΚΟΥ ΑΦΕΨΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ *Sideritis clandestina* subsp. *Cyllenea*: Ερευνητική εργασία για την απόκτηση Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης της Λιναρδάκη Ζαχαρούλας, (2007).
35. K. Triantaphyllou et al. Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae. *International journal of food sciences and nutrition* (2001), 52, 313-317.
36. 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.