



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ**

## **Πτυχιακή Εργασία**

**Μελέτη της Αντιοξειδωτικής Επίδρασης των Βοτάνων**

**Αγριμόνιο – Αγγελική στον Οίνο**

**Του Χριστόδουλου Ξενοφώντος – Αγαθοκλή Παπααγαθοκλέους**

**Επιβλέπων Καθηγητής**

**Σεχάντε Αντνάν**

**ΑΘΗΝΑ 2021**

Αφιερωμένο στις οικογένειες και τους Δασκάλους μας

## Διασαφήσεις εξεταστικής επιτροπής

Οι υπογράφωντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη διπλωματική εργασία με τίτλο «Η αντιοξειδωτική επίδραση των βοτάνων αγελική και αγριμόνιο στον οίνο» και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

<b>Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα Καθηγητή (1ου Μέλους Επιτροπής)</b>	
<b>Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (2ου Μέλους Επιτροπής)</b>	
<b>Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (3ου Μέλους Επιτροπής)</b>	

### ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένοι **Ξενοφώντας Χριστόδουλος του Σάββα με αριθμό μητρώου 161116** και **Παπααγοθοκλέους Αγαθοκλής του Τρύφωνα με αριθμό μητρώου 161115**, φοιτητές του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών, δηλώνουμε υπεύθυνα ότι:

«Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μας».

### Ονοματεπώνυμο & Υπογραφή Συγγραφέων Πτυχιακής Εργασίας

**Ξενοφώντας Χριστόδουλος**



**Παπααγοθοκλέους Αγαθοκλής**



## Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή εργασία με θέμα: «Η αντιοξειδωτική επίδραση των βοτάνων αγγελική και αγριμόνιο στον οίνο», πραγματοποιήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2020-21, από τους προπτυχιακούς φοιτητές του Τμήματος Οίνου, Αμπέλου και Ποτών την Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, Χριστόδουλο Ξενοφώντος και Αγαθοκλή Παπααγαθοκλέους.

Αρχικά, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τον καθηγητή του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών, κ.Αντάν Σεχάντε, ο οποίος μας εμπιστεύτηκε και μας ανέθεσε το προαναφερθέν θέμα, με σκοπό την πραγματοποίηση και ολοκλήρωση της πτυχιακής μας εργασίας. Ευχαριστούμε, ακόμα, την καθηγήτρια κ.Αρχοντούλα Χατζηλαζάρου για τη άμεση βοήθεια που μας παρείχε, όποτε την χρειαζόμασταν, καθώς επίσης και για τα υλικά και τον εξοπλισμό που χρησιμοποιήσαμε. Θερμές ευχαριστίες οφείλουμε και στην υποψήφια διδάκτορα του Τμήματος, κ.Παρασκευή Ρούφα για τη βοήθεια και την καθοδήγηση κατά τις εργαστηριακές αναλύσεις, αλλά και για τη συνεχή συνεργασία μέχρι την ολοκλήρωση της εργασίας μας.

*Χριστόδουλος Ξενοφώντος*

*Αγαθοκλής Παπααγαθοκλέους*

## Περίληψη

Η εκπόνηση αυτής της εργασίας, σκοπό είχε να εξεταστεί κατά πόσον τα δύο βότανα, η «αγγελική» και το «αγριμόνιο», έχουν τη δυνατότητα να προστατέψουν τον οίνο από την οξείδωση, μέσω κάποιων στοιχείων που μπορεί να περιέχουν.

Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε με εκχύλιση των βοτάνων σε ήρεμο, λευκό οίνο, σε διαφορετικές φιάλες για το κάθε βότανο ξεχωριστά, με διαφορετικές συγκεντρώσεις. Αφού ολοκληρώθηκε η διαδικασία της εκχύλισης που διήρκεσε συνολικά δεκαπέντε ημέρες και στις δύο περιπτώσεις τα κρασιά φιλτραρίστηκαν με διηθητικό χαρτί, για απομάκρυνση των αρωματικών βοτάνων και ακολούθησε ανάλυση στο εργαστήριο.

Πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των φαινολικών συστατικών με τη φασματοσκοπική μέθοδο Folin-Ciocalteu και η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων προσδιορίστηκε με τη μέθοδο DPPH.

Στο τέλος, έγινε η σύγκριση των δειγμάτων των οίνων, τόσο με τον οίνο της Σχολής που χρησιμοποιήθηκε σαν μάρτυρας, όσο και αναμεταξύ τους.

## **Abstract**

The purpose of this study was to examine whether the two herbs, "angelica" and "agrimumonium", have the ability to protect wine from oxidation, through some elements that it may contain.

The process was performed by extracting the herbs in calm, white wine, in different bottles for each herb separately, with different concentrations. After the extraction process was completed, which lasted a total of fifteen days, in both cases the wines were filtered with filter paper, to remove the aromatic herbs, followed by analysis in the laboratory.

The phenolic components were determined by the Folin-Ciocalteu spectroscopic method and the antioxidant capacity of the samples was determined by the DPPH method.

In the end, the samples of the wines were compared, both with the wine of the school that was used as a control, and between them.



## Πίνακας Περιεχομένων

Ευχαριστίες.....	3
Περίληψη.....	4
Abstract.....	5
1 Εισαγωγή	
1.1 Οίνος.....	7
1.2 Ιστορική αναδρομή.....	8
1.3 Θεραπευτικές ιδιότητες του οίνου.....	9
1.4 Αντιοξειδωτικές ιδιότητες του οίνου.....	10
2 Φαρμακευτικά και αρωματικά φυτά	
2.1 Εισαγωγή.....	12
2.2 Ιστορική αναδρομή.....	13
2.3 Αγγελική.....	15
2.3.1 Χημική σύσταση με συντακτικούς τύπους.....	17
2.4 Αγριμόνιο.....	22
2.4.1 Χημική σύσταση με συντακτικούς τύπους.....	24
3 Αντιοξειδωτικά.....	27
3.1 Μηχανισμός δράσης αντιοξειδωτικών.....	29
3.2 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας.....	32
4 Πειραματική πορεία.....	34
5 Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό μέρος	
5.1 Μέθοδος Folin-Ciocalteu.....	35
5.2 Μέθοδος DPPH.....	36
5.3 Αντιδραστήρια και υλικά για τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.....	38
5.4 Όργανα για τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.....	38
5.5 Αντιδραστήρια και υλικά για τη μέθοδο DPPH.....	38
5.6 Όργανα για τη μέθοδο DPPH.....	38



6	Πειραματική διαδικασία κατασκευής πρότυπης καμπύλης μεθόδου Folin-Ciocalteu	
	6.1 Πειραματική διαδικασία μελέτης δειγμάτων.....	41
7	Πειραματική διαδικασία κατασκευής πρότυπης καμπύλης για τη μέθοδο DPPH	
	7.1 Παρασκευή διαλύματος DPPH/CH <sub>3</sub> OH 60μM.....	45
	7.2 Παρασκευή πρότυπου διαλύματος Trolox συγκέντρωσης 0,2mM.....	45
	7.3 Πειραματική διαδικασία δειγμάτων οίνου.....	47
8	Συμπεράσματα.....	
9	Βιβλιογραφία.....	

# 1 Εισαγωγή

## 1.1 Οίνος

Ο οίνος και γενικά τα παράγωγα του σταφυλιού ανάγονται στα βάθη της αρχαιότητας. Οίνος, σύμφωνα με τον Διεθνή Οργανισμό Οίνου (OIV), «είναι το ποτό που προκύπτει αποκλειστικά από τη μερική ή την ολική αλκοολική ζύμωση των φρέσκων σταφυλιών, είτε από σπασμένα είτε από ολόκληρα άσπαστα σταφύλια, είτε από γλεύκος σταφυλιών. Το πραγματικό περιεχόμενό του σε αλκοόλη δεν πρέπει να είναι κάτω από 8,5% vol. Ωστόσο, λαμβάνοντας υπόψη το κλίμα, το έδαφος, την ποικιλία της αμπέλου, ιδιαίτερους ποιοτικούς παράγοντες ή έθιμα ειδικά για συγκεκριμένους αμπελώνες, το ελάχιστο περιεχόμενο της ολικής αλκοόλης, μπορεί να μειωθεί σε 7% vol, σύμφωνα με τη νομοθεσία που ισχύει σε κάθε περιοχή». Είναι ένα γεωργικό προϊόν, που αντικατοπτρίζει και προβάλλει το *terroir* της περιοχής που το παράγει, έννοια που παραπέμπει στο σύνολο των παραγόντων που επηρεάζουν τον οίνο, οι οποίοι είναι: οι κλιματολογικές συνθήκες αυτής της περιοχής, η σύνθεση του εδάφους, η τοπολογία, δηλαδή η κλίση του εδάφους, το υψόμετρο και η έκθεση στον ήλιο, καθώς επίσης και οι καλλιεργητικές πρακτικές από τον άνθρωπο. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ορολογία *terroir*, δεν μεταφράζεται σε καμία άλλη γλώσσα.

Χρησιμοποιείται σε πολλές τελετές, κυρίως θρησκευτικού περιεχομένου, από τα αρχαία χρόνια, ενώ το εμπόριό του κατείχε και κατέχει σπουδαίο ρόλο στην ιστορία πολλών πολιτισμών.

Είναι ένα υδατοαλκοολικό διάλυμα διαφόρων ενώσεων, με τα κυριότερα συστατικά να διακρίνονται σε νερό, αλκοόλη, πτητικές ενώσεις, οργανικά οξέα, υδατάνθρακες, αζωτούχες και φαινολικές ενώσεις, βιταμίνες και άλλα ανόργανα συστατικά.

## 1.2 Ιστορική αναδρομή

Σύμφωνα με τους αρχαιολόγους, η πρώτη οινοποίηση πιθανόν να χρονολογείται μεταξύ 8000 π.Χ. με 6000 π.Χ. από την περιοχή νότια του Καυκάσου. Η διάδοση της αμπελοκαλλιέργειας και της οινοποίησης προχώρησε στην περιοχή της Μεσοποταμίας στα 5000 π.Χ. και κατόπιν διαδίδεται στην Αίγυπτο.

Στην Αρχαία Ελλάδα ο πρώτος αμπελώνας φαίνεται να καλλιεργήθηκε το 4000 π.Χ. Οι Αρχαίοι Έλληνες υμνούσαν τον οίνο μέσα από τον Θεό Διόνυσο, αφού διοργάνωναν τα Λήναια στην Αρχαία Αθήνα, μια εορτή προς τιμήν του Θεού προστάτη του οίνου και του γλεντιού, που πραγματοποιούνταν κατά τους μήνες Ιανουάριο και Φεβρουάριο. Επίσης, ο οίνος δεν έλειπε από κάθε είδους συμπόσιο ή γιορτή όπου στην αρχή τον έπιναν «άκρατο», ανέρωτο δηλαδή, αλλά στη συνέχεια διαπίστωσαν ότι αν τον αραιώναν με νερό, δεν θα επηρεάζονταν αρνητικά τόσο όσο με την κατανάλωση «άκρατου» οίνου. Έτσι έπιναν τον οίνο «κεκραμένο», δηλαδή αραιωμένο με νερό.

Έλιαζαν τα σταφύλια, ώστε να αφυδατωθούν και να συμπυκνωθούν τα σάκχαρα, για να φτιάξουν γλυκά κρασιά. Παραλάμβαναν το γλεύκος από τους ληνούς, πιέζοντας τα σταφύλια με τα πόδια, κάνοντας λευκή οινοποίηση με αυτόν τον τρόπο, ενώ η σταφυλομάζα που παρέμενε εξελισσόταν σε ένα είδος ερυθρής οινοποίησης. Οι οινοποιήσεις γίνονταν σε πήλινα δοχεία, των οποίων το εσωτερικό καλυπτόταν με μονωτικά υλικά, όπως η πίσσα.

Γύρω στα 1600 π.Χ. ανακάλυψαν ένα είδος πιεστηρίου με δοκό, από τον οποίο παραλάμβαναν το γλεύκος και το μετάφεραν στα πιθάκια, τα οποία θάβονταν στο χώμα, ώστε να υπάρχει σταθεροποίηση της θερμοκρασίας και να πραγματοποιηθεί η ζύμωση.

Κάποιες φορές ίσως να αρωμάτιζαν τον οίνο με διάφορα άνθη ή και φρούτα.

Η μεταφορά του οίνου γινόταν σε αμφορείς, ενώ τον διηθούσαν με πανιά πριν την κατανάλωσή του. Σε κάποιες περιοχές, ο οίνος είχε μεγάλη εμπορική σημασία, αφού σε πολλά δοχεία αναγραφόταν η προέλευση του οίνου που περιείχε, υποδεικνύοντας ότι ήταν κάποιοι οίνοι είχαν παραπάνω φήμη και υπήρχε κάποιο είδος προστατευόμενης ονομασίας. Αυτά τα κρασιά προέρχονταν κυρίως από τα νησιά του βόρειου Αιγαίου, όπως ήταν ο «Αριούσιος οίνος», που παραγόταν στη Χίο.

### 1.3 Θεραπευτικές ιδιότητες του οίνου

«Οίνος ευφραίνει καρδία» λέει η λαϊκή σοφία. Θεωρείται φάρμακο για πρόληψη και για αποφυγή ασθενειών, ή απλά για την καλή υγεία του ανθρώπου. Οι γιατροί, στην αρχαιότητα, συνιστούσαν σε ασθενείς την κατανάλωση κρασιού που ήταν αναμεμειγμένο με φαρμακευτικές ουσίες και ο λόγος ήταν ότι η αλκοόλη κάλυπτε τη γεύση που είχαν τα φάρμακα από μόνα τους. Επίσης, είχε αναγνωριστεί ότι ο οίνος είχε ιδιαίτερα ιατρικά οφέλη και θεραπευτικές ιδιότητες, για τις οποίες μίλησαν οι γιατροί της αρχαιότητας.

Ένα σουμερικό χειρόγραφο του 2200 π.Χ. είναι η πρώτη γραπτή ιστορική μαρτυρία για τη φαρμακευτική χρήση του οίνου, που συνιστάται η χορήγηση οίνου με μέλι για καταπολέμηση ασθενειών.

Ο Ιπποκράτης (460-370π.Χ.) συνιστούσε τον οίνο σαν φάρμακο, αντιπυρετικό, διουρητικό, καθαρτικό και αντισηπτικό.

Ο Διοσκουρίδης (40-90μ.Χ.) έγραψε για πάνω από 1000 φάρμακα της εποχής και στα βιβλία του αναφέρει ότι ο οίνος ζεσταίνει το σώμα γενικά, επιταχύνει την πέψη των τροφών, αυξάνει την όρεξη, βοηθά στον ύπνο και αναζωογονεί τον οργανισμό.

Ο Γαληνός (130-201μ.Χ.), που ήταν θεραπευτής των μονομάχων, επάλειφε τις πληγές με οίνο, χρησιμοποιώντας τον και ως τονωτικό και αντιπυρετικό.

Ο Arnaldus de Villa Nova (1235-1311μ.Χ.), που έγραψε το πρώτο βιβλίο για το κρασί, σημειώνει ότι αντιμετωπίζει πολλά προβλήματα της ρινικής κοιλότητας και την άνοια.

Κατά τα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα, σε μια επιδημία της χολέρας στην Ευρώπη, το πόσιμο νερό ήταν δυσεύρετο και έτσι το κρασί χρησιμοποιήθηκε ως εναλλακτική λύση ή με αυτό καθάριζαν το νερό, ενώ στο Αμβούργο της Γερμανίας χρησιμοποιήθηκε για αποστείρωση του νερού.

Η οινοποσία ήταν πάντα διαδεδομένη για την πρόληψη και θεραπεία διαφόρων ασθενειών, ιδιαιτέρως, με την προσθήκη βοτάνων, τα οποία αποκαλούνται θεραπευτικά ή δυναμωτικά

κρασιά. Έχουν ένα ευρύ φάσμα ιδιοτήτων που κυμαίνεται από τη βελτίωση της γενικής φυσικής κατάστασης του σώματος μέχρι αφροδισιακές και μακροβιοτικές ιδιότητες.

Σύμφωνα με έρευνες, η συνετή κατανάλωση κρασιού, προσφέρει διάφορα οφέλη χάρις στις ιδιότητές του. Είναι γνωστό ότι περιέχονται ουσίες που συμπεριφέρονται σαν ισχυροί αντιοξειδωτικοί παράγοντες που απορροφούνται κατά την κυκλοφορία του αίματος. Σε αυτές τις ουσίες περιλαμβάνονται και παίζουν σημαντικό ρόλο οι πολυφαινόλες ως αντιοξειδωτικό ενώ η ρεσβερατρόλη ως αντιφλεγμονώδες.

Με βάση τα πιο πάνω, η μέτρια κατανάλωση οίνου, μεγαλώνει τη διάρκεια ζωής, προστατεύει από τον καρκίνο, ωφελεί την καρδιά και βοηθά την καλή ψυχική υγεία.

## 1.4 Αντιοξειδωτικές ιδιότητες του οίνου

Η κυριότερη κατηγορία των αντιοξειδωτικών ουσιών του οίνου είναι τα φαινολικά συστατικά του. Επηρεάζουν το χρώμα του οίνου και συμμετέχουν στη διαμόρφωση ορισμένων χαρακτηριστικών του όπως είναι η στυπτικότητα και η τραχύτητα, ενώ προσφέρουν και αντιβακτηριδιακή προστασία. Παίζουν αποφασιστικό ρόλο στην παλαίωση και σε διάφορες τεχνολογικές επεξεργασίες που υπόκειται ο οίνος.

Προέρχονται από τον φλοιό και τα κουκούτσια των σταφυλιών, αλλά και από τα πράσινα μέρη του φυτού.

Από χημικής άποψης διακρίνονται σε απλές φαινόλες και σε φλαβονοειδείς ενώσεις, οι οποίες χωρίζονται σε φλαβονόλες, στις ανθοκυάνες και στις τανίνες.

Η περιεκτικότητά τους στους οίνους, εξαρτάται από το είδος της αμπέλου και το χρώμα του σταφυλιού. Το σύνολο των φαινολικών ενώσεων, ελεύθερων ή με τη μορφή ενώσεων, στους ερυθρούς οίνους φθάνει τα 100-150mg/Lt, ενώ στους λευκούς περιορίζεται στα 10-15mg/Lt.

## 2 Φαρμακευτικά και αρωματικά φυτά

### 2.1 Εισαγωγή

Από τα αρχαία χρόνια μέχρι και σήμερα, πολλά είδη του φυτικού κόσμου, λόγω των φαρμακευτικών και αρωματικών τους ιδιοτήτων, έχουν χρησιμοποιηθεί από τον άνθρωπο. Τα αρωματικά φυτά αποτελούν τα είδη του φυτικού βασιλείου που έχουν την ιδιότητα να συσσωρεύουν στα διάφορα τους μέρη αιθέρια έλαια, τα οποία, όταν ελευθερωθούν, δίνουν μια χαρακτηριστική οσμή. Ως φαρμακευτικά φυτά θεωρούνται αυτά που περιλαμβάνουν ένα ή περισσότερα δραστικά συστατικά, τα οποία δύνανται να ανακουφίσουν ή να προλάβουν είτε ακόμα και να θεραπεύσουν διάφορες ασθένειες<sup>1</sup>. Απαντώνται σε περίπου πενήντα οικογένειες φυτών (Abietaceae, Asteraceae, Labiatae, Geraniaceae, Iridaceae). Στην Ελλάδα βρίσκεται σε αφθονία ένας μεγάλος αριθμός τους με την οικογένεια Lamiales (Χειλάνθη) να είναι στην πρώτη θέση.

Όσα φυτά είναι αρωματικά είναι και φαρμακευτικά, ενώ δεν ισχύει το αντίθετο. Δηλαδή, κάποια φαρμακευτικά φυτά, όπως είναι το βαλσαμόχορτο, η δακτυλίδα και η μελαντόνα, δεν είναι αρωματικά, αλλά είναι πολύ λίγα σε σχέση με αυτά που ανήκουν και στις δύο κατηγορίες<sup>2</sup>. Οι χρήσεις τόσο των φαρμακευτικών, όσο και των αρωματικών φυτών, δεν περιορίζονται μόνο στη μαγειρική που χρησιμοποιούνται ως αρωματικά, σαν μπαχαρικά δηλαδή, αλλά συναντώνται και στη φαρμακευτική βιομηχανία, στη βιομηχανία καλλυντικών και στη φυτοπροστασία, είτε σε μορφή αιθέριων ελαίων ή εκχυλισμάτων, είτε αυτούσια. Πολλά από αυτά έχουν πολλές ιδιότητες, κυρίως αντιοξειδωτικές, αντιμυκητιακές και αντιμικροβιακές, ενώ παρουσιάζουν και σημαντική βιοδραστικότητα.

Αξίζει να σημειωθεί ότι, στις οικονομικά ανεπτυγμένες χώρες παρατηρείται αύξηση στη ζήτηση προϊόντων που αποτελούνται από φυσικά συστατικά, κυρίως φυτικής προέλευσης. Οι μεγαλύτεροι παραγωγοί στον κόσμο, από ποσοτικής πλευράς, εκτιμάται ότι είναι οι μεγάλες Ασιατικές χώρες, Κίνα και Ινδία, αλλά σημαντικό μέρος της παραγωγής δεν τυποποιείται ούτε εμπορεύεται. Αντιθέτως, η μεγαλύτερη αγορά, από άποψη οργανωμένης εμπορικής δομής, είναι η Ευρωπαϊκή Ένωση, ενώ αποτελεί τον μεγαλύτερο εισαγωγέα ακατέργαστων φαρμακευτικών

---

<sup>1</sup> Σαρή, 1994

<sup>2</sup> Κουτσός, 2006

και αρωματικών φυτών. Εκτός αυτού, παράγει και εμπορεύεται μεγάλη ποσότητα φυτικών αποσταγμάτων (αιθέριων ελαίων) κυρίως η Γαλλία και η Ισπανία.

## 2.2 Ιστορική αναδρομή

Από αρχαιοτάτων χρόνων, η χρήση των φαρμακευτικών και αρωματικών φυτών ή αλλιώς βοτάνων, κατείχε ιδιαίζουσα θέση στην καθημερινότητα του ανθρώπου. Ο ορισμός που δίνεται από το αγγλικό λεξικό της Οξφόρδης «*Βότανο είναι ένα φυτό του οποίου τα φύλλα, τα άνθη ή οι σπόροι, χρησιμοποιούνται σαν αρωματικά των τροφίμων, στα φάρμακα ή για το ευχάριστο άρωμά τους*». Οι Αρχαίοι Έλληνες πρώτοι ανακάλυψαν τη διατροφική αξία και τις θεραπευτικές ιδιότητες που παρείχαν τα βότανα και γι' αυτό τα χρησιμοποιούσαν καθημερινά. Το όρος Όλυμπος, η κατοικία των Αρχαίων Θεών, σύμφωνα με τη μυθολογία, καλυπτόταν με βότανα και άνθη, ώστε να εξυπηρετούνται τόσο οι Θεοί, όσο και οι θνητοί. Σε πολλούς μύθους αναφέρεται και τονίζεται ο σεβασμός που έτρεφαν οι άνθρωποι προς τα φυτά για την ομορφιά και τις θεραπευτικές τους ιδιότητες. Ουσιαστικά, στην Αρχαία Ελλάδα τέθηκαν τα θεμέλια για την ανάπτυξη της φαρμακοβιομηχανίας ανά το παγκόσμιο.

Έχουμε πληροφορίες από τα Ομηρικά έπη, ότι υπήρχαν τα «ανδροφόνα ή θυμοφθόρα φάρμακα», που ήταν δηλητηριώδη βότανα και με αυτά επάλειφαν τα βέλη πριν τις μάχες και δηλητηρίαζαν τις τροφές. Αναφέρονται, επίσης, τα «ήπια ή οδυνήφατα φάρμακα» που στην ουσία ήταν παυσίπονα.

Οι βοτανολόγοι ήταν οι πρώτοι γιατροί. «Κάνε την τροφή σου φάρμακο και το φάρμακο τροφή σου» ανέφερε ο πατέρας της Ιατρικής, ο Ιπποκράτης (460-370 π.Χ.), αφού πίστευε ακράδαντα στη δύναμη που είχε η φύση, ενώ παρότρυνε τον καθένα να εισαγάγει τα βότανα στη διατροφή του. Επίσης, υποστήριζε ότι το φαγητό έπρεπε να εμπλουτίζεται με βότανα, έτσι ώστε ο κορεσμός να επέρχεται με λιγότερο φαγητό. Μερικά από τα θεραπευτικά βότανα που χρησιμοποιούσε ήταν η αγριοτριανταφυλλιά, ως κατάπλασμα στα οιδήματα και στις φλεγμονές, το μάραθο, ως καταπραϊντικό στους πόνους της μήτρας και τη μητρορραγία και η δάφνη, για διευκόλυνση του τοκετού αλλά και σε φάσεις υστερίας. Ακόμη, το ιεροβότανο, για καταπολέμηση της στειρώσης, τη μαντζουράνα ως καθαρτικό και το φασκόμηλο για πνευμονικά νοσήματα και ως αναλγητικό της μήτρας.

Ακολούθως, ο Θεόφραστος (372-287π.Χ.) κατέγραψε στο σύγγραμμά του «Περί φυτών ιστορίας», αρκετές πληροφορίες σχετικά με τις αρωματικές και φαρμακευτικές ιδιότητες των



φυτών, ενώ αργότερα ο Διοσκουρίδης (40-90μ.Χ.), στο σύγγραμμα του, «Περί ύλης Ιατρικής», περιέγραψε τις ιδιότητες 600 περίπου φυτών. Ο επίσης φωτισμένος ιατρός Γαληνός (2<sup>ος</sup> αιώνας μ.Χ.), για το θεραπευτικό μέρος της ιατρικής όρισε τρεις τομείς: τη διαίτα, τη χειρουργική και τη «φαρμακεία», ενώ παράλληλα διαχώρισε τις τροφές σε θερμές και ψυχρές. Έλεγε ότι τα φυτά «Δεν είναι μόνο τροφές αλλά και φάρμακα». Για παράδειγμα, ο άνηθος, η ρίγανη, το φλισκούνι, η μέντα, η θρούμπα και το θυμάρι είναι όλα και τροφές αλλά και θερμά φάρμακα.

Οι Κινέζοι, πριν 6000-7000 χρόνια, δημιούργησαν ένα τεράστιο εμπόριο αρτυμάτων, που στη συνέχεια μεταφέρθηκε στην Ευρώπη μέσω των Αράβων.

Οι Ασσύριοι και οι Σουμέριοι, οι οποίοι ήταν από τους αρχαιότερους λαούς, ήξεραν τις θεραπευτικές ιδιότητες αρκετών φυτών, ανάμεσα στα οποία ήταν το θυμάρι, η ρίγανη, το κορίανδρον, τα οποία χρησιμοποιούνταν από τους ιατρούς της εποχής.

Στην Περσική αυτοκρατορία και συγκεκριμένα στη Βαβυλώνα, καλλιεργούνταν αρωματικά φυτά σε μεγάλους κήπους για παραγωγή αρτυμάτων, που αποτελούσε σημαντικό τροφοδότη της οικονομίας, ενώ στην Αρχαία Αίγυπτο τα χρησιμοποιούσαν κατά τις μумιοποιήσεις των νεκρών.

Αργότερα, κατά τον 15<sup>ο</sup> με 16<sup>ο</sup> αιώνα τα βότανα, αποτέλεσαν έναν από τους λόγους που άρχισε η εξερεύνηση του κόσμου.

Στα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα, όταν διεξήχθησαν οι πρώτοι σύγχρονοι Ολυμπιακοί αγώνες στην Αθήνα, επιβράβευαν τους νικητές με δάφνινο στεφάνι, που ήταν το σύμβολο της νίκης από την αρχαιότητα.

Ακολούθως, η αρωματοθεραπεία και τα αιθέρια έλαια, είχαν εντυπωσιακά αποτελέσματα στην περίθαλψη τραυμάτων και στους δύο Παγκόσμιους Πολέμους.

Και φτάνοντας στις μέρες μας, οι μεγάλες φαρμακευτικές εταιρείες, πραγματοποιούν συνεχείς έρευνες γύρω από τις φαρμακευτικές ιδιότητες των φυτών και των βοτάνων.

## Βότανα

### 2.3 Αγγελική

Βασίλειο: Φυτά

Σειρά: Αριαles

Οικογένεια: Apiaceae ή Umbelliferae

Γένος: Angelica

Είδος: *Angelica archangelica*



Η Αγγελική ανήκει στην οικογένεια Apiaceae, ενώ αλλού αναφέρεται ως Umbelliferae. Σύμφωνα με την παράδοση, οφείλει την ονομασία της στον Αρχάγγελο Μιχαήλ, επειδή συνήθως ανθίζει την 29<sup>η</sup> Σεπτεμβρίου, ημέρα που εορτάζεται από τη ρωμαιοκαθολική εκκλησία. Μια άλλη εκδοχή αναφέρει ότι ο Αρχάγγελος εμφανίστηκε σε έναν καλόγηρο και του αποκάλυψε τις φαρμακευτικές της ιδιότητες ως φάρμακο κατά της πανούκλας. Γι' αυτό δόθηκε σαν δεύτερο όνομα το archangelica, από τον Σουηδό βοτανολόγο Carl Linnaeus. Κατά τον 17<sup>ο</sup> αιώνα σε γραπτά ενός άλλου βοτανολόγου, του Nicholas Culpeper, αναφέρεται ότι «κάποιοι το ονόμαζαν βότανο του Αγίου Πνεύματος, ενώ άλλοι μετριοπαθείς το ονόμαζαν αγγελική, λόγω των αγγελικών αρετών του». Έχει μακρά ιστορία καλλιέργειας για φαρμακευτικές χρήσεις, για αρωματικούς σκοπούς αλλά και στην μαγειρική ως λαχανικό.

Όσον αφορά στο φυτό, είναι αρκετά ψηλό αφού μπορεί να φτάσει τα δύο μέτρα, ενώ ο μίσχος του είναι κούφιος με μεγάλα αυλάκια. Έχει φαρδιά και μυτερά φύλλα στο κατώτερο τμήμα του μίσχου, ενώ στην κορυφή του φέρει μια μεγάλη κυκλική ταξιανθία λευκών ή ελαφρά ροζ λουλουδιών, κατά τους καλοκαιρινούς μήνες. Αυτά πρόκειται να μετατραπούν σε επιμήκεις, επιπεδόκυρτους ή ωοειδείς καρπούς<sup>3</sup>.

<sup>3</sup> Αναστόπουλος, 1983

Το βότανο αυτό, παρέχει πολλαπλές θεραπευτικές ιδιότητες. Είναι τονωτικό, δυναμωτικό, βοηθά στην πέψη, είναι σπασμολυτικό, αποτρέπει τα φουσκώματα από αέρια και συντελεί στην κάθαρση του αίματος. Η χρήση του για εντριβές και καταπλάσματα, βοηθά σε παθήσεις του δέρματος και στην αρθρίτιδα. Θεραπεύει την ανορεξία, το έλκος του στομάχου ενώ, λόγω των πεπτικών της ιδιοτήτων, στην Βόρεια και Κεντρική Ευρώπη παρασκεύαζαν λικέρ από αυτό το είδος βοτάνου που το ονόμαζαν Βενεδικτίνη. Υπάρχουν πληροφορίες ότι το χρησιμοποιούσαν ως αντίδοτο στο δάγκωμα από λυσσασμένο σκύλο. Κατά τον μεσαίωνα, το χρησιμοποιούσαν ευρέως στις περισσότερες συνταγές και για τον λόγο αυτόν μέχρι τις μέρες μας θεωρείται το ελιξίριο της μακροζωίας.

Όσον αφορά τη σύστασή της, περιέχει κουμαρίνες και φουροκουμαρίνες, μεταξύ των οποίων η αρχαγγελικίνη, η ένυδρη οξυπροαδανίνη, το περγαπτένιο, η ιμπερατονίνη, η ισοπιμπινελλίνη, η οσθόλη, η οστρουθόλη, η οξυπιπεδανίνη, η φελλοτερίνη, η ψωραλένη και η ξανθοτοξίνη. Επιπλέον, περιέχονται πτητικά έλαια, τερπένια, συμπεριλαμβανομένων των α-πινενίου, β-πινενίου, καμφενίου, β-φελλανδρενίου, του λιμονενίου, του καρνοφυλλενίου, της βορνεόλης, της καρβόνης και της λιναλοόλης. Περιέχονται, ακόμη, φλαβονοειδείς ενώσεις και φλαβόνες, όπως η αρχαγγελινόνη και παλμιτικό οξύ, καφεϊκά και χλωρογενικά οξέα, το αγγελικό οξύ, τα αιθέρια έλαια φελανδρίνη και πινίνη, καθώς επίσης και σάκχαρα, φρουκτόζη, γλυκόζη και σακχαρόζη<sup>4</sup>.

---

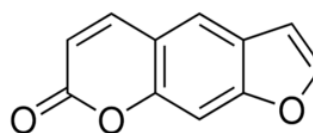
<sup>4</sup> Herbal medicines 3<sup>rd</sup> edition Joanne Barnes

### 2.3.1 Χημική σύσταση με συντακτικούς τύπους

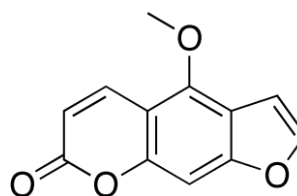
Σύμφωνα με ποιοτική και ποσοτική ανάλυση φυτικών εκχυλισμάτων της Αγγελικής με χρωματογραφία HPLC βρέθηκε ότι περιέχει:

#### Κουμαρίνες<sup>5</sup>

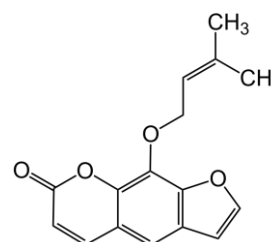
Αγγελικίνη



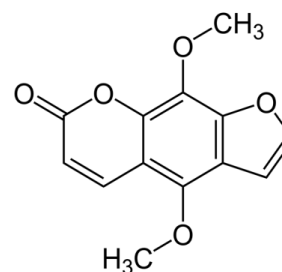
Περγαπτένιο



Ιμπερατονίνη



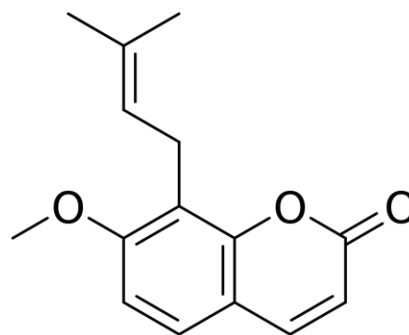
Ισοιμπινελίνη



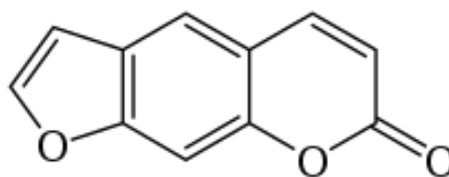
---

<sup>5</sup> P. Härmälä, 1992

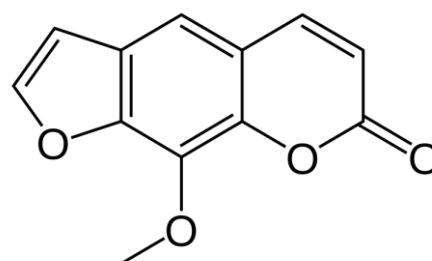
Οσθόλη



Ψωραλένη

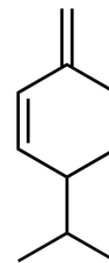


Ξανθοτοξίνη

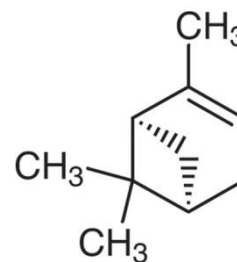


Τερπένια<sup>6</sup>

β-φελλανδρένιο



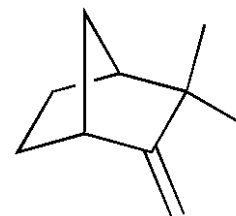
α-πινένιο



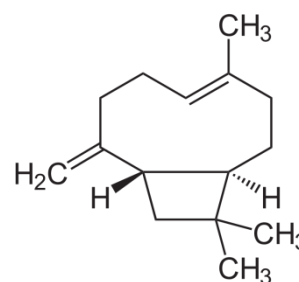
β-πινένιο



Καμφένιο



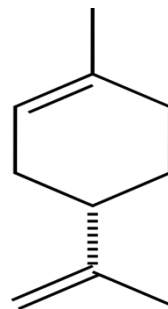
Καρυοφυλλένιο



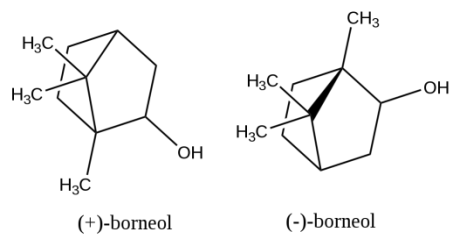

---

<sup>6</sup> Burdock, George A. 2016

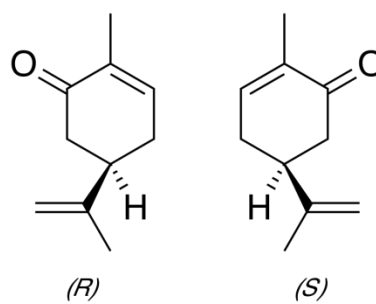
Λιμονένιο



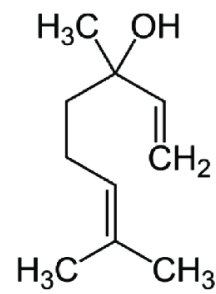
Βορνεόλη



Καρβόνη

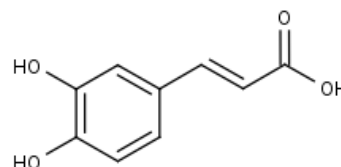


Λιναλοόλη

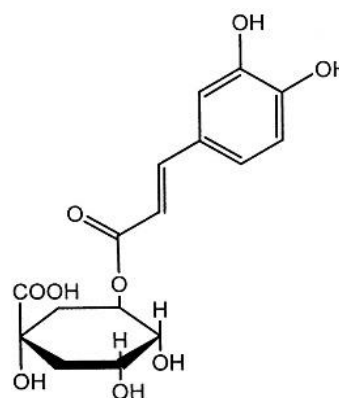


Οξέα

Καφεϊκό οξύ



Χλωρογενικό οξύ



Τα αποτελέσματα των αναλύσεων, όσον αφορά τα συστατικά των βοτάνων, διαφοροποιούνται, σύμφωνα με τους μελετητές, λόγω της διαφορετικής εκχυλισματικότητας που παρουσιάζουν σε οργανικούς διαλύτες από το νερό. Επιπλέον, επηρεάζουν περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως οι εδαφολογικές και κλιματολογικές συνθήκες, η εποχή συγκομιδής, η διεργασία της ξήρανσης και οι συνθήκες αποθήκευσης που δύνανται να αλλοιώσουν τα αποτελέσματα. Είναι σημαντικό όλα αυτά να λαμβάνονται υπόψη.



## 2.4 Αγριμόνιο

Βασίλειο: Φυτά

Σειρά: Rosales (Ροζάλες)

Οικογένεια: Rosaceae (Ροδοειδή)

Γένος: Agrimonia

Είδος: Agrimonia Eupatoria



Το βότανο αυτό οφείλει το όνομα του στη λέξη *Agremone*<sup>7</sup>, μian ονομασία που έδιναν οι Έλληνες σε διάφορα φυτά που θεραπεύαν τα μάτια, ενώ το *Eupatoria* παραπέμπει σε έναν βασιλιά του Πόντου, τον Μιθριδάτη Ευπάτωρ (135-63π.Χ), ο οποίος ήταν διάσημος σύμβουλος φυτικών φαρμάκων και αποτελεί ένα από τα διασημότερα βότανα. Ο Ρωμαίος συγγραφέας Πλίνιος (23-79 μ.Χ.), χαρακτήριζε αυτό το φυτό ως «βότανο θείας δύναμης», τονίζοντας πως «ο σπόρος του βοτάνου αυτού, όταν καταναλωθεί με κρασί, είναι μοναδική συνταγή για τη δυσεντερία». Σύμφωνα με τον Γαληνό (2<sup>ος</sup> αι. μ.Χ.) «ανοίγει και καθαρίζει τους ηπατικούς αγωγούς, βοηθά στον ίκτερο, δυναμώνει τα εσωτερικά όργανα και είναι ευεργετικό για τα έντερα». Χρησιμοποιούταν σε πολλές αλοιφές και καταπλάσματα, κυρίως για τη στυπτική του δράση και την ευχάριστη του μυρωδιά. Οι Αγγλοσάξονες το ονόμαζαν *Garclive*, ενώ θεωρούσαν ότι είναι ικανό να θεραπεύσει πληγές από δαγκώματα φιδιών, κονδυλώματα και άλλα πολλά. Σε άλλες περιοχές της Ευρώπης, ιδιαίτερα στη Β. Γαλλία συνηθίζουν να πίνουν αντί τσάι, ένα ρόφημα που γίνεται μετά από βράσιμο μερικών φύλλων αυτού του φυτού, το οποίο είναι ευεργετικό στις χρόνιες παθήσεις του ήπατος και της κύστης, ενώ παλαιότερα το χρησιμοποιούσαν σε συνταγές με άλλα αρωματικά βότανα, για θεραπεία κυρίως διαστρεμμάτων και μωλώπων, πρακτική την οποία χρησιμοποιούν μέχρι τις μέρες μας.

Παρ' όλα ταύτα, στη σύγχρονη ιατρική δεν αναγνωρίζονται οι αρετές του, αν και πρακτικά, στη βοτανολογία εκτιμάται ως ήπιο στυπτικό και τονωτικό, χρήσιμο στον βήχα, στη διάρροια και

<sup>7</sup> Chisholm, Hugh, ed. (1911)

στις εντερικές παθήσεις. Συνίσταται, ακόμη, για το άσθμα, την ουλίτιδα, την αμυγδαλίτιδα, τη χρόνια φαρυγγική πυώδη αμυγδαλίτιδα και για τις παθητικές απώλειες αίματος. Ωστόσο, για άτομα που παρουσιάζουν χρόνια εντερικά προβλήματα, καλύτερα να αποφεύγεται. Βοηθά στην επούλωση πληγών, στα κιρσώδη έλκη, τις θλάσεις και τα στραμπουλήγματα. Αξίζει να αναφερθεί ότι για τέτοιου είδους θεραπείες, χρησιμοποιείται και στα ζώα.

Τα φύλλα του φυτού είναι πράσινα στο πάνω τους τμήμα και λευκά στο κάτω, φτάνοντας σε μήκος τα είκοσι εκατοστά και έχουν στενές οδοντώσεις. Το φυτό έχει κίτρινα λουλούδια με πέντε πέταλα, που βρίσκονται στην κορυφή του, διευθετημένα σε μακρύ και ευθύ μίσχο. Το καλοκαίρι ανοίγουν τα άνθη διαδοχικά από το κάτω μέρος προς τα πάνω, αφήνοντας, με τη μορφή αγκαθωτής κάψας, δοχεία σπόρων και φτάνει σε ύψος 40-60 εκατοστά. Φύεται σχεδόν σε όλα τα εδάφη, σε δάση, σε λιβάδια και σε αγροσιμοποίητη γη<sup>8</sup>.

Το αγριμόνιο περιέχει флаβονοειδείς ενώσεις, κυρίως флаβόνες, όπως απιγενίνη, λουτεολίνη, λουτεολίνη-7-γλυκοσίδη και κουερκετίνη. Διάφορα οξέα, μεταξύ των οποίων νικοτινικό, πυριτικό, παλμιτικό, σαλικυλικό και το στεατικό οξύ. Επίσης περιέχονται τανίνες, συμπυκνωμένες υδρολύσιμες τανίνες, όπως οι ελλαγιτανίνες και κάποιες βιταμίνες, δηλαδή ασκορβικό οξύ, θειαμίνη και βιταμίνη K και αιθέρια έλαια<sup>9</sup>.

---

<sup>8</sup> Αναστόπουλος, 1983

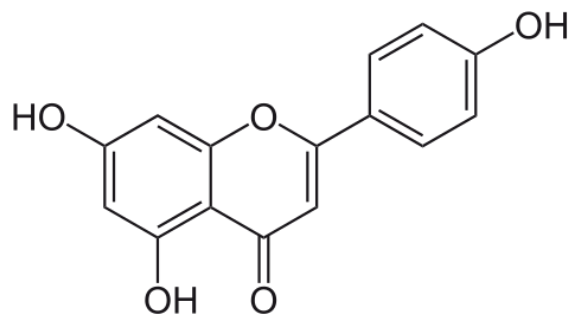
<sup>9</sup> Herbal medicines Third edition Joanne Barnes

### 2.4.1 Χημική σύσταση με συντακτικούς τύπους

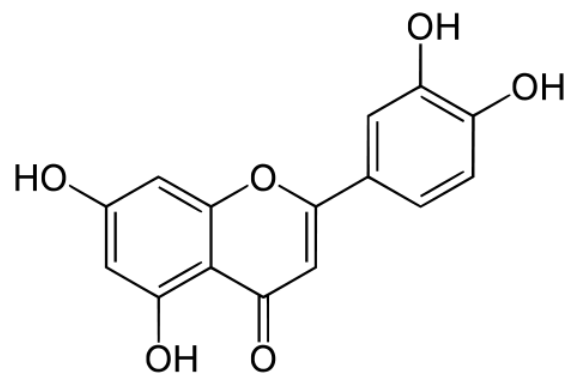
Βρέθηκε μέσω χρωματογραφικής ανάλυσης HPLC ότι στο Αγριμόνιο περιέχονται οι εξής χημικές ενώσεις<sup>10</sup>:

#### Φλαβονοειδείς ενώσεις/Φλαβόνες

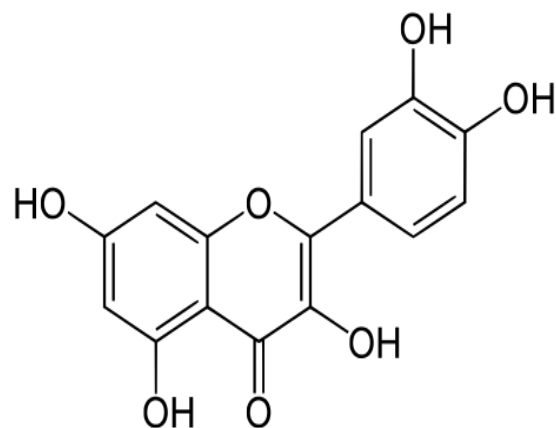
Απιγενίνη



Λουτεολίνη



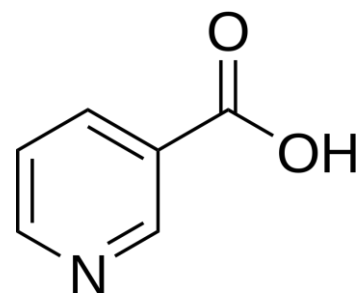
Κουερκετίνη



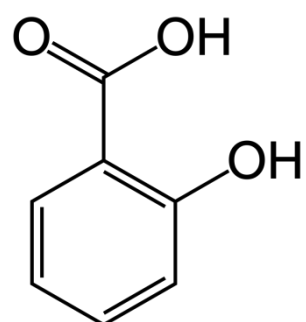
<sup>10</sup> Frances Watkins, 2012

Οξέα

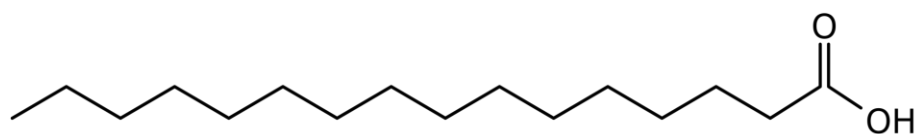
Νικοτινικό οξύ



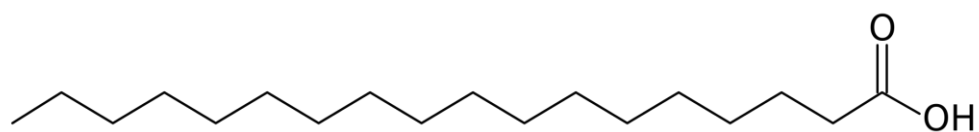
Σαλικυλικό οξύ



Παλμιτικό οξύ

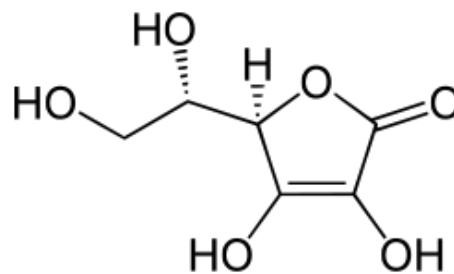


Στεατικό οξύ

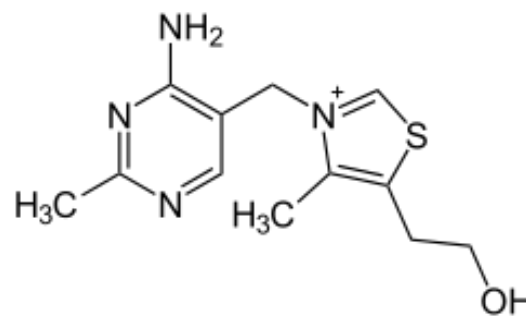


## Βιταμίνες

Ασκορβικό οξύ-  
Βιταμίνη C

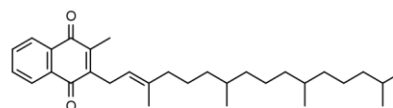


Θειαμίνη

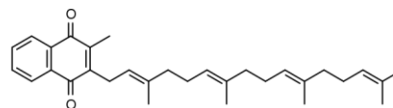


Βιταμίνη Κ

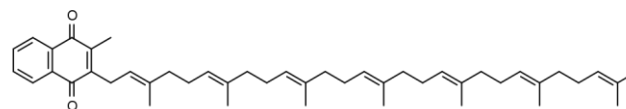
K1



MK-4



MK-7



### 3 Αντιοξειδωτικά

Αντιοξειδωτικά είναι «κάθε ουσία που όταν υπάρχει σε χαμηλές συγκεντρώσεις, σε σύγκριση με τη συγκέντρωση ενός οξειδώσιμου υποστρώματος, καθυστερεί σημαντικά ή αναστέλλει την οξείδωση αυτού του υποστρώματος», σύμφωνα με τους ερευνητές Halliwell και Gutteridge<sup>11</sup>.

Οι αντιδράσεις οξείδωσης παράγουν ελεύθερες ρίζες, οι οποίες μπορούν να δημιουργήσουν πολλαπλές αλυσιδωτές αντιδράσεις και αυτές με τη σειρά τους να προκαλέσουν βλάβη ή και θάνατο στα κύτταρα. Τα αντιοξειδωτικά απομακρύνουν τις ελεύθερες ρίζες και διακόπτουν τις επιβλαβείς αλυσιδωτές αντιδράσεις, αναστέλλοντας τις αντιδράσεις οξείδωσης.

Στη βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιούνται σύνθετα αντιοξειδωτικά, προκειμένου να παραταθεί η διάρκεια ζωής του προϊόντος, αποτρέποντας την οξείδωση των ακόρεστων διπλών δεσμών λιπαρών οξέων.

Στη φαρμακοβιομηχανία προστίθενται αντιοξειδωτικά, για την ενίσχυση της σταθερότητας κάποιων συστατικών που είναι επιρρεπείς σε χημική αποδόμηση με οξείδωση.

Δυστυχώς, υπάρχουν νέα δεδομένα που δείχνουν ότι τα σύνθετα αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία, θα μπορούσαν να επιφέρουν καρκινογόνες επιδράσεις στα ανθρώπινα κύτταρα. Γι' αυτό, υπάρχει μια έντονη αναζήτηση νέων, φυσικών και αποτελεσματικών αντιοξειδωτικών.

Τα φυτά περιέχουν μεγάλη ποικιλία αντιοξειδωτικών μορίων, όπως είναι οι φαινολικές ενώσεις, οι οποίες, όπως αποδείχθηκε, πολλές από αυτές παρουσιάζουν αντικαρκινικά, αντιφλεγμονώδη και αντιβακτηριδιακά αποτελέσματα στα κύτταρα. Σήμερα, η πρόσληψη φυσικών αντιοξειδωτικών βοηθά στην πρόληψη καρκίνου, καρδιακών παθήσεων και άλλων ασθενειών. Η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων των φυτών, επηρεάζεται από την πολικότητα του διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε για την παραλαβή τους και τις συνθήκες εκχύλισής τους. Γενικά, τα αρωματικά φυτά, αποτελούν τις κυριότερες πηγές φυσικών αντιοξειδωτικών<sup>12</sup>.

---

<sup>11</sup> Halliwell, Gutteridge, 1995

<sup>12</sup> Bozin et al, 2006

Δρουν με τους εξής τρόπους:

- Αναστέλλουν τις αντιδράσεις και εμποδίζουν τον σχηματισμό των ελεύθερων ριζών.
- Δεσμεύουν το οξυγόνο, ώστε να μην υπάρχει η απαιτούμενη ποσότητα για να οξειδωθούν τα λιπαρά συστατικά.
- Αποτελούν ουσίες που δημιουργούν χηλικά σύμπλοκα με μέταλλα, που αποτρέπουν την εκκίνηση της οξείδωσης.
- Προσφέροντας ηλεκτρόνια ή υδρογόνα στις ελεύθερες ρίζες, τερματίζουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις<sup>13</sup>.

---

<sup>13</sup> Heim,2002

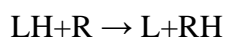
### 3.1 Μηχανισμός δράσης αντιοξειδωτικών

Ένας σημαντικός αριθμός φυσικών και χημικών φαινομένων, ενεργοποιεί την οξείδωση, η οποία πάνω σε κατάλληλο υπόστρωμα εξελίσσεται, ώσπου να μπλοκαριστεί η όλη διαδικασία από έναν αμυντικό μηχανισμό. Τον μηχανισμό αυτόν αποτελούν τα αντιοξειδωτικά. Συχνά, τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), η χοληστερόλη, τα φωσφορολιπίδια και το DNA, αποτελούν τα υποστρώματα-στόχο της οξείδωσης.

Ένας από τους κυριότερους παράγοντες αλλοίωσης των τροφίμων, είναι η οξειδωτική αποσύνθεση των λιπιδίων. Οι λιπαρές ύλες οξειδώνονται με τη μορφή αλυσιδωτής αντίδρασης, που διαχωρίζεται σε τρεις φάσεις:

- Έναρξη (Initiation)
- Διάδοση (Propagation)
- Τερματισμός (Termination)

Στο πρώτο στάδιο, στο οποίο συμμετέχουν το φώς, η θερμότητα και τα μέταλλα Cu, Fe ή μεταλλοπρωτεΐνες, σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες:

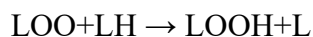
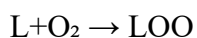


LH: λιπαρό υπόστρωμα

R: οξειδωτικός παράγοντας

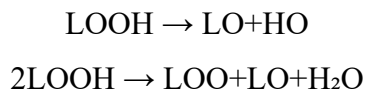
L: ρίζα

Ακολούθως, οι ρίζες (L) ενώνονται με το οξυγόνο, σχηματίζοντας υπεροξειδικές ρίζες ( $\text{LOO}^-$ ), από τις οποίες αποσπάται ένα μόριο υδρογόνου από ένα άλλο μόριο (LH) και δημιουργούν μια νέα ρίζα (L) και υπεροξείδιο ( $\text{LOOH}$ ). Αυτή η νέα ρίζα, μπορεί να αντιδράσει με το οξυγόνο και να δώσει υπεροξείδια και νέες ρίζες.

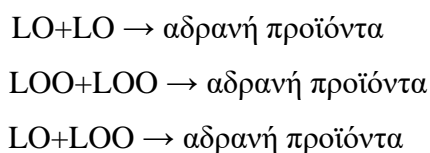




Τα υπεροξειδία, ενώ είναι άοσμα, διασπώνται σε αλκοόλες, κετόνες και αλδεΐδες που δίνουν τη χαρακτηριστική οσμή στις αλλοιωμένες λιπαρές ύλες, καθώς επίσης υδρογονάνθρακες και αλκοξυλ-ρίζες (LO).



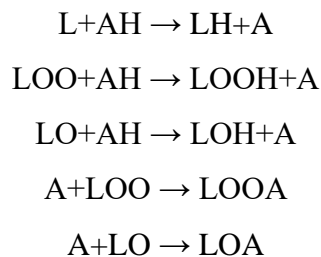
Κατά την τρίτη φάση, οι ρίζες αντιδρούν μεταξύ τους και παρέχουν αδρανή προϊόντα.



Με διάφορους τρόπους η προστατευτική δράση των αντιοξειδωτικών εφαρμόζεται σε πολλά στάδια της αλυσιδωτής αντίδρασης. Χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες:

- Σε παρεμποδιστές της αλυσιδωτής αντίδρασης ή αλλιώς σε πρωτεύοντα αντιοξειδωτικά.
- Σε προστατευτικά ή δευτερεύοντα αντιοξειδωτικά.<sup>14</sup>

Τα προστατευτικά καθυστερούν τον ρυθμό της οξειδωσης, ενώ τα πρωτεύοντα αντιδρώντας με τη ρίζα(L), είτε παρεμποδίζουν το στάδιο της έναρξης, είτε το στάδιο διάδοσης, αντιδρώντας με τις υπεροξειδικές (LOO) και αλκοξυλ-ρίζες(LO). Την ίδια στιγμή, σχηματίζεται ελεύθερη αντιοξειδωτική ρίζα (A), η οποία αδυνατεί να ξεκινήσει και να προάγει νέα αλυσιδωτή αντίδραση. Το μόνο που μπορεί να κάνει, είναι να αντιδράσει με τις ρίζες και να δώσει υπεροξυ-αντιοξειδωτικά συστατικά.




---

<sup>14</sup> Antolovich et al, 2002

Η οξείδωση αποτρέπεται από μηχανισμό, διαμέσου συμπλοκοποίησης των μεταλλικών ιόντων που καταλύουν την οξείδωση, στον οποίο δεν περιέχονται ελεύθερες ρίζες. Απλά εμποδίζει το μεταλλικό ιόν να συμμετέχει σε αποικοδομητικές αντιδράσεις των υδροϋπεροξειδίων(LOOH) και συνεπώς τον σχηματισμό ελεύθερων ριζών. Η αντιοξειδωτική δράση των αντιοξειδωτικών, που δρουν σύμφωνα με τον τρίτο μηχανισμό, οφείλεται στην καταστολή του οξυγόνου απλής κατάστασης. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με την αντίδραση με το οξυγόνο απλής κατάστασης και την παραγωγή σταθερών προϊόντων, είτε με μεταφορά ενέργειας από το οξυγόνο απλής κατάστασης στο μόριο του αντιοξειδωτικού.

Δυστυχώς, στις μέρες μας, οι διάφορες τοξικές ουσίες που ελευθερώνονται στη φύση, που αποτελούν προϊόντα της νέας τεχνολογίας, η ατμοσφαιρική πίεση, το κάπνισμα, τα φυτοφάρμακα και η ηλιακή ακτινοβολία, συμβάλλουν στη δημιουργία ελευθέρων ριζών στον οργανισμό. Γι' αυτόν τον λόγο, είναι απαραίτητη η κατανάλωση τροφών που περιλαμβάνουν αντιοξειδωτικά, τα οποία καταπολεμούν τις ελεύθερες ρίζες.

### 3.2 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί απευθείας, αλλά με μέτρηση της επίδρασης των αντιοξειδωτικών συστατικών πάνω στον έλεγχο της οξείδωσης. Είναι αδύνατο να προσδιοριστεί η αντιοξειδωτική δράση ενός μόνο συστατικού του φυτικού εκχυλίσματος, όπως επίσης και η συνεργιστική δράση μεταξύ των συστατικών.

Δεν υπάρχει καμία επίσημη μέθοδος προσδιορισμού αντιοξειδωτικής ικανότητας, αν και υπάρχουν αρκετές μέθοδοι μέτρησής της, με αποτέλεσμα να μην μπορεί να γίνει αξιολόγηση και σύγκριση των πειραματικών δεδομένων. Εξαιτίας, λοιπόν, αυτής της πολυπλοκότητας των συστημάτων, έχει επιβληθεί η χρήση αρκετών διαφορετικών μεθόδων μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας<sup>15</sup>.

Κάποιες μέθοδοι βασίζονται στη μεταφορά ατόμου υδρογόνου(Hydrogen Atom Transfer, HAT μέθοδοι), ενώ άλλες βασίζονται στη μεταφορά ηλεκτρονίου(Single Electron Transfer, SET μέθοδοι)

Οι παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά την αντιοξειδωτική δράση των συστατικών είναι<sup>16</sup>:

- ο χημικός τύπος
- η μέθοδος προσδιορισμού
- οι συνθήκες εκχύλισης, κατά την παραλαβή των εκχυλισμάτων
- η πολικότητα του διαλύτη
- η πολικότητα του υποστρώματος που χρησιμοποιήθηκε
- η συγκέντρωση του δείγματος

---

<sup>15</sup> Erkan, 2008

<sup>16</sup> Κυριτσάκης, 2007

## 4 Πειραματική πορεία

Για την εκχυλισματική διαδικασία των βοτάνων (αγγελική και αγριμόνιο), χρησιμοποιήθηκε λευκός ξηρός οίνος του Τμήματος Επιστημών οίνου, αμπέλου και ποτών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, που παρασκευάστηκε από τις ποικιλίες ροδίτης και μοσχάτο Αλεξανδρείας, από την πειραματική οινοποίηση του 2019.

Η διαδικασία της εκχύλισης πραγματοποιήθηκε σε δύο φάσεις.

Κατά την πρώτη φάση, υπολογίστηκαν οι τρεις διαφορετικές ποσότητες των βοτάνων, δηλαδή 6gr/L, 10gr/L και 15gr/L, έχοντας υπόψη ότι ο τελικός όγκος του εκχυλισμένου οίνου θα είναι 0,6L. Για μεγαλύτερη ακρίβεια και επαναληψιμότητα, όλα τα δείγματα έγιναν εις διπλούν.

Στον πιο κάτω πίνακα αναγράφονται οι υπολογισμένες μάζες του κάθε βοτάνου, σε σχέση με τον όγκο οίνου, στον οποίο πρόκειται να εκχυλιστούν.

Βότανο	Συγκέντρωση	6gr/L	10gr/L	15gr/L
	Αγγελική	3,6gr	6gr	9gr
	Αγριμόνιο	3,6gr	6gr	9gr

Ακολούθως, οι υπολογισμένες ποσότητες των βοτάνων, τοποθετήθηκαν σε γυάλινες φιάλες μύρας, χωρητικότητας 0,5L και προστέθηκαν 0,3L οίνου στη κάθε μια.

Στη συνέχεια, οι φιάλες πωματίστηκαν αεροστεγώς με πώματα μύρας και παρέμειναν για επτά ημέρες σε σκιερό μέρος, όπου γινόταν ανάδευση δύο φορές ημερησίως.

Με το πέρας των επτά ημερών, διαχωρίστηκε ο εκχυλισμένος οίνος από τα βότανα και εμφιαλώθηκε σε μπουκάλια χωρητικότητας 0,33L, ώστε να υπάρχει μικρότερη επαφή του οίνου με το οξυγόνο και φυλάχθηκε σε θερμοκρασίες 5-7°C.

Ακολούθησε η δεύτερη φάση της εκχύλισης, όπου προστέθηκαν ο υπόλοιπος όγκος του οίνου, δηλαδή 0,3L στο ήδη υπάρχον βότανο. Πωματίστηκαν και παρέμειναν για άλλες επτά ημέρες στο ίδιο μέρος με ανάδευση δύο φορές τη μέρα, όπως ακριβώς και στην πρώτη φάση.

Με αυτό τον τρόπο, επιτεύχθηκε η μέγιστη δυνατή εκχύλιση των βοτάνων στον οίνο.

Πραγματοποιήθηκε η απομάκρυνση των βοτάνων και κατόπιν έγινε διήθηση των εκχυλισμένων οίνων και των δύο φάσεων με διηθητικό χαρτί, πραγματοποιώντας ταυτόχρονα την

ανάμειξή τους. Ο εκχυλισμένος οίνος εμφιαλώθηκε σε μπουκάλια των 0,5L, απογεμίζοντας πλήρως, ώστε να αποφευχθεί η επαφή με το οξυγόνο.

Ακολούθησαν οι απαιτούμενες αναλύσεις, δηλαδή η ανάλυση των φαινολικών συστατικών των οίνων με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, όπως επίσης και ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των οίνων με τη μέθοδο DPPH.

## 5 Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό μέρος

### 5.1 Μέθοδος *Folin-Ciocalteu*

Τόσο ο οίνος, ειδικά ο ερυθρός, όσο και τα αφεψήματα των βοτάνων περιέχουν σημαντικά συστατικά, όπως είναι για παράδειγμα οι φαινολικές ενώσεις.

Για τον προσδιορισμό των πιο πάνω ενώσεων, αν και υπάρχουν αρκετές μέθοδοι, η ευκολότερη και πιο διαδεδομένη είναι η φασματοφωτομετρική μέθοδος με χρήση του αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu(F-C), που δημιουργήθηκε από τον Folin και τον Denis το 1912, ενώ αναθεωρήθηκε πάλι από τον Folin και τον Ciocalteu, κατά το 1927.

Κατ' αυτήν τη μέθοδο, στην οποία δεν γίνεται διάκριση των φαινολικών συστατικών ως μονομερών, διμερών ή μεγαλύτερων, προσδιορίζεται το ολικό φαινολικό δυναμικό με ικανοποιητική επαναληψιμότητα.

Όσον αφορά το συγκεκριμένο αντιδραστήριο, Folin-Ciocalteu, είναι διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που παράγονται από φωσφομολυβδαινικό και φωσφοβολφραμικό οξύ και έχει κίτρινο χρώμα. Αφού οξειδωθούν τα φαινολικά συστατικά από τα πιο πάνω οξέα, ανάγονται σε μείγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου( $W_8O_{23}$ ) και του μολυβδαινίου( $Mo_8O_{23}$ ), σε αλκαλικό περιβάλλον. Με κορεσμένο διάλυμα  $Na_2CO_3$ , ρυθμίζεται η αλκαλικότητα, η οποία δεν διαταράσσει τη σταθερότητα του αντιδραστήριου F-C και του προϊόντος της αντίδρασης, ενώ είναι αναγκαία για την παρουσία των φαινολικών ιόντων.

Η μέγιστη απορρόφηση του κυανού αυτού μείγματος μολυβδαινίου και βολφραμίου, γίνεται στην περιοχή 750nm, η οποία αναλογεί με τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων.

Συνήθως, η παρουσία φαινολικών ουσιών που προσδιορίζονται με αυτήν τη μέθοδο, εκφράζονται σε ισοδύναμα Γαλλικού οξέος. Οι παράγοντες που μπορεί να επηρεάζουν τα εν λόγω αποτελέσματα είναι άλλες μη φαινολικές ουσίες, δηλαδή το διοξείδιο του θείου, σάκχαρα και αρωματικές αμίνες, καθώς επίσης και οργανικά οξέα. Γι' αυτόν τον λόγο απαιτούνται οι απαραίτητες διορθώσεις<sup>1718</sup>.

---

<sup>17</sup> Ainsworth, 2007

<sup>18</sup> Prior, 2005

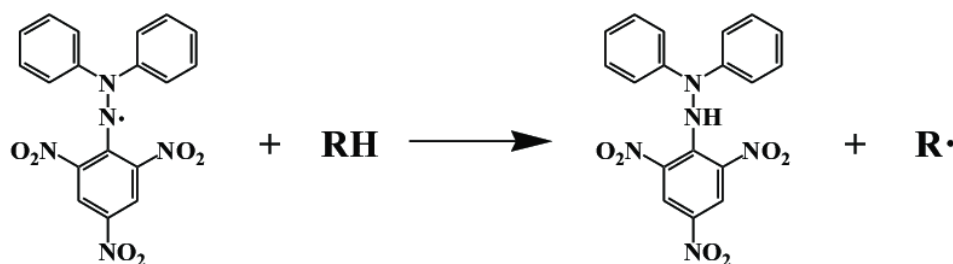
## 5.2 Μέθοδος DPPH

Διαμέσου της δέσμευσης της σταθερής ρίζας DPPH, γίνεται η εκτίμηση της εκτίμησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας, που πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1995 από τους Brand-Williams. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην αλληλεπίδραση μεταξύ των προς εξέταση μορίων και της σταθερής ρίζας DPPH.

Στο μόριο της σταθερής ρίζας DPPH, περιέχονται αρωματικοί δακτύλιοι, όπου εντοπίζονται οι συζυγικοί διπλοί δεσμοί, όπως και νιτροομάδες, οι οποίες έλκουν ηλεκτρόνια, με αποτέλεσμα το μονήρες ηλεκτρόνιο απεντοπίζεται σε όλο το μόριο. Η μονομερής και σταθερή μορφή της ρίζας οφείλεται στις πολλές δομές συντονισμού που παρουσιάζονται, χωρίς να μπορεί να διμερίζεται. Η μέγιστη απορρόφηση της ρίζας, πραγματοποιείται στα 520nm περίπου και σε διάλυμα μεθανόλης έχει χρώμα βαθύ βιολετί.

Η προσθήκη μιας ουσίας με αντιοξειδωτική δράση στο παραπάνω διάλυμα, προκαλεί την αναγωγή της ρίζας DPPH, με την προσθήκη ενός ηλεκτρονίου ή ενός ατόμου υδρογόνου, σε DPPH-H, όπου από βαθύ βιολετί χρώμα γίνεται κίτρινο και έτσι ελαττώνεται η οπτική απορρόφηση<sup>19</sup>.

Στον πίνακα πιο κάτω παρουσιάζεται η αντίδραση DPPH με την παρουσία αντιοξειδωτικών:



*Ρίζα DPPH μωβ χρώματος*

*Ανηγμένη μορφή ρίζας DPPH-H κίτρινου χρώματος*

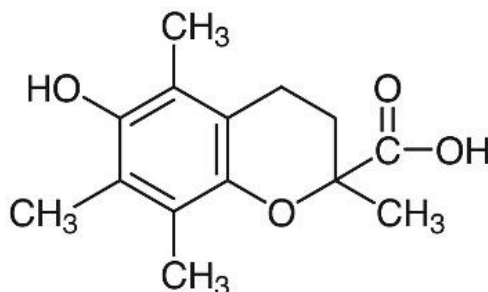
<sup>19</sup> Kedare S. B., 2011

Οι αντιοξειδωτικές ουσίες που προσδιορίζονται σε αυτήν τη μέθοδο με τον δείκτη DPPH, εκφράζονται σε ισοδύναμα Trolox, όπως γίνεται και με τη χρήση του Γαλλικού οξέος στη μέθοδο Folin-Ciocalteu.

Σε αυτό το σημείο προσδιορίζεται η εξουδετέρωση της ρίζας DPPH, που γίνεται από τα αντιοξειδωτικά, τόσο στις αντιοξειδωτικές ενώσεις που υπάρχουν στα δείγματα οίνου, όσο και στο διάλυμα Trolox και υπολογίζεται το ποσοστό της αρχικής συγκέντρωσης της ρίζας DPPH που αναστέλλεται, μέσω του τύπου:

$$\% \Delta A (515 \text{ nm}) = [(A_{\text{control (t=0)}} - A_{\text{δείγματος (t=30)}}) / A_{\text{control (t=0)}}] * 100$$

Όταν πρόκειται για δείγματα, η ποσοστιαία μείωση του DPPH σε σχέση με την ποσότητα των αντιοξειδωτικών που βρίσκονται στο δείγμα, εκφράζεται σε nmol Trolox, ενώ όταν πρόκειται για την καμπύλη αναφοράς, εκφράζεται η ποσοστιαία μείωση του DPPH σε συνάρτηση με τα nmol Trolox.



*Trolox*

6-Hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid



### **5.3 Αντιδραστήρια και υλικά για τη μέθοδο Folin-Ciocalteu**

- Απιονισμένο νερό
- Δείγματα οίνων
- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu
- Ανθρακικό νάτριο ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 20%(W/V)

### **5.4 Όργανα για τη μέθοδο Folin-Ciocalteu**

- Ογκομετρικές φιάλες
- Πιπέτες και σιφώνια
- Φασματοφωτόμετρο UV-Vis
- Γυάλινες κυψελίδες ( $b=1,00$ )

### **5.5 Αντιδραστήρια και υλικά για τη μέθοδο DPPH**

- Διάλυμα DPPH 60 $\mu\text{M}$
- Διάλυμα Trolox 0,2mM
- Μεθανόλη
- Δείγματα οίνων με βότανα

### **5.6 Όργανα για τη μέθοδο DPPH**

- Αναλυτικός ζυγός
- Γυάλινη ράβδος
- Ποτήρια ζέσεως
- Ογκομετρικές φιάλες
- Αυτόματες πιπέτες 20-100 $\mu\text{L}$  και 100-1000 $\mu\text{L}$
- Φασματοφωτόμετρο UV-Vis
- Πλαστικές κυψελίδες ( $b=1,00\text{cm}$ )

## 6 Πειραματική διαδικασία κατασκευής πρότυπης καμπύλης μεθόδου Folin-Ciocalteu

Για την παρασκευή του πρότυπου διαλύματος Γαλλικού οξέος 60mg/100ml, αρχικά ζυγίστηκαν 0,300gr Γαλλικού οξέος σε ποτήρι ζέσεως, όπου διαλύθηκαν με νερό. Στη συνέχεια, έγινε ποσοτική μεταφορά του σε ογκομετρική φιάλη των 500ml, αραιώθηκε μέχρι τη χαραγή και από αυτό με συνεχείς αραιώσεις, παρασκευάστηκαν πρότυπα υδατικά διαλύματα γαλλικού οξέος συγκεντρώσεων 5,10, 20, 30, 40, 50mg/100ml.

Ακολούθως, σε ογκομετρικές φιάλες των 50ml προστέθηκαν τα πιο κάτω με την ακόλουθη σειρά:

- 0,5ml από τα πιο πάνω πρότυπα διαλύματα γαλλικού οξέος
- 25ml απιονισμένου ύδατος
- 2,5ml του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu
- 10ml διαλύματος  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20% (W/V)

Όλες οι φιάλες συμπληρώθηκαν μέχρι τη χαραγή με απιονισμένο νερό, αναδεύτηκαν, ώστε να καταστούν ομοιόμορφα και αφέθηκαν σε ηρεμία, σε σκοτεινό μέρος για 30 λεπτά, ούτως ώστε να αναπτυχθεί και να σταθεροποιηθεί το χρώμα της αντίδρασης.

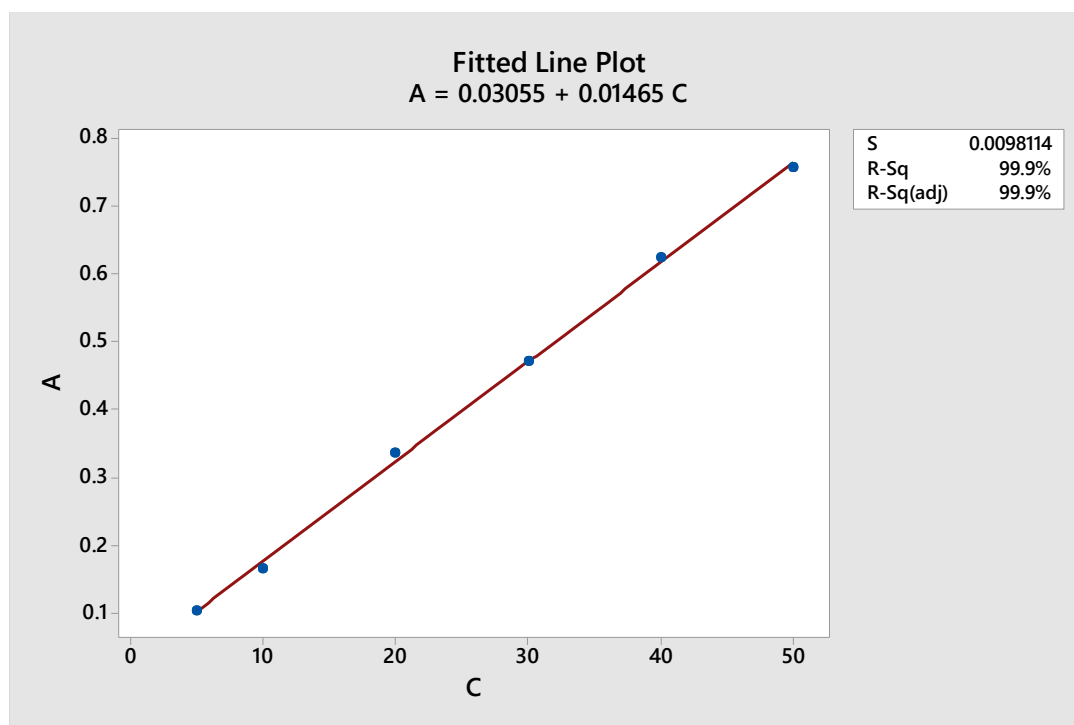
Στη συνέχεια, έγινε η φωτομέτρηση στα 750nm. Το φασματοφωτόμετρο μηδενίστηκε με απιονισμένο νερό. Για κάθε πρότυπο διάλυμα η φωτομέτρηση επαναλήφθηκε τρεις φορές και από τον μέσο όρο των τριών τιμών των απορροφήσεων, λήφθηκε η τελική απορρόφηση.

Οι συγκεντρώσεις των προτύπων διαλυμάτων με τις αντίστοιχες τιμές απορροφήσεων, αναγράφονται στον παρακάτω πίνακα:

Συγκέντρωση προτύπου διαλύματος Γαλλικού οξέος(mg/100ml)	Απορρόφηση A (750nm)
5	0,104
10	0,164
20	0,335
30	0,471
40	0,623
50	0,755

*Πίνακας μετρήσεων γαλλικού οξέος*

Στο παρακάτω σχήμα φαίνεται η γραφική παράσταση και η εξίσωση της ευθείας που προκύπτει από τα παραπάνω δεδομένα:



*Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος*

## 6.1 Πειραματική διαδικασία μελέτης δειγμάτων

Σε ογκομετρικές φιάλες χωρητικότητας 50ml προστέθηκαν με τη σειρά τα πιο κάτω:

- 0,5ml δείγματος οίνου με βότανα
- 25ml απιονισμένου νερού
- 2,5ml αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu
- 10ml διαλύματος  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20%(W/V)

Οι φιάλες συμπληρώθηκαν με απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή και για ομογενοποίηση των διαλυμάτων έγινε ανάδευση. Αφέθηκαν σε ηρεμία σε σκοτεινό μέρος για 30 λεπτά και πραγματοποιήθηκε η φωτομέτρηση. Όπως και πιο πάνω, ο μηδενισμός του οργάνου με νερό και έγιναν τρεις μετρήσεις για κάθε δείγμα και λήφθηκε ο μέσος όρος των τιμών αυτών, ως απορρόφηση.

Χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη του γαλλικού οξέος, υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις των ολικών πολυφαινόλων, από την καμπύλη βαθμονόμησης. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mgr gal/L οίνου/gr βοτάνου.

Εξίσωση καμπύλης αναφοράς:  $y=0.01465x+0.03055$

$x=(y-0.03055)/0.01465$  δηλαδή  $x=(A-0.03055)/0.01465$

Δείγματα οίνων με βότανα	Απορροφήσεις	Πολυφαινόλες αραιωμένου δείγματος εκφρασμένες σε mrgallic/100ml	Πολυφαινόλες δείγματος εκφρασμένες σε mrgallic/100ml	Πολυφαινόλες εκφρασμένες σε mrgallic/L
Αγρ1 6gr/L	<b>0,1567±0.0007</b>	8,63	86,3	863
Αγρ2 6gr/L	<b>0,1577±0.0015</b>	8,69	86,9	869
Αγρ1 10gr/L	<b>0,195±0.002</b>	11,22	112,2	1122
Αγρ2 10gr/L	<b>0,1973±0.0006</b>	11,36	113,6	1136
Αγρ1 15gr/L	<b>0,2347±0.0015</b>	13,95	139,5	1395
Αγρ2 15gr/L	<b>0,234±0.002</b>	13,88	138,8	1388
Αγγ1 6gr/L	<b>0,1060±0.001</b>	5,15	51,5	515
Αγγ2 6gr/L	<b>0,107±0.002</b>	5,21	52,1	521
Αγγ1 10gr/L	<b>0,1107±0.0015</b>	5,49	54,9	549
Αγγ2 10gr/L	<b>0,1123±0.0006</b>	5,56	55,6	556
Αγγ1 15gr/L	<b>0,1167±0.0006</b>	5,90	59	590
Αγγ2 15gr/L	<b>0,1177±0.0006</b>	5,97	59,7	597
Μάρτυρας	<b>0,28±0.0036</b>	17,02	34,04	340,4

Σαν μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε οίνος της σχολής, ο ίδιος που χρησιμοποιήθηκε και στις εκχυλίσεις. Παρατηρήθηκε ότι οι πολυφαινόλες του μάρτυρα, χωρίς εκχύλιση βοτάνων, βρίσκονται σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις από τα δείγματα.

Για τον προσδιορισμό των πολυφαινόλων του μάρτυρα, πάρθηκαν 0,250ml αντί για 0,500ml, που ήταν ο απαιτούμενος όγκος. Έτσι, η διόρθωση έγινε με τον συντελεστή 500/250.

	Πολυφαινόλες δείγματος εκφρασμένες σε mg gallic/L	Διόρθωση πολυφαινολών ως προς το μάρτυρα	Πολυφαινόλες δείγματος εκφρασμένες σε mg gallic/L/ gr βοτάνου	Μέγιστη εκχύλιση
Αγρ1 6gr/L	863	522,6	87,1	6
Αγρ2 6gr/L	869	528,6	88,1	6
Αγρ1 10gr/L	1122	781,6	78,16	8,97
Αγρ2 10gr/L	1136	795,6	79,56	9,03
Αγρ1 15gr/L	1395	1054,6	70,3	12,11
Αγρ2 15gr/L	1388	1047,6	69,84	11,89
Αγγ1 6gr/L	515	174,6	29,1	6
Αγγ2 6gr/L	521	180,6	30,1	6
Αγγ1 10gr/L	549	208,6	20,86	7,17
Αγγ2 10gr/L	556	215,6	21,56	7,16
Αγγ1 15gr/L	590	249,6	16,64	8,57
Αγγ2 15gr/L	597	256,6	17,11	8,52
Μάρτυρας	340,4			

Για το δείγμα οίνου με αγριμόνιο, περιεκτικότητας 6gr/L, διαπιστώθηκε ότι σύμφωνα με τη μέση τιμή, 1 gr αγριμονίου εκχυλίζει φαινολικές ενώσεις που αντιστοιχούν σε 87,6 mgr γαλλικού οξέος/L.

Για το δείγμα οίνου με αγριμόνιο, περιεκτικότητας 10gr/L, παρατηρήθηκε ότι σύμφωνα με τη μέση τιμή, 1 gr αγριμονίου εκχυλίζει φαινολικές ενώσεις, που αντιστοιχούν σε 78,86 mgr γαλλικού/L.

Για το δείγμα οίνου με αγριμόνιο, περιεκτικότητας 15 gr/L, παρατηρήθηκε με βάση τη μέση τιμή, ότι 1 gr βοτάνου εκχυλίζει φαινολικές ενώσεις που αντιστοιχούν σε 70,07 mgr γαλλικού οξέος /L.

(1054, 6 mgr gallice L/87, 1 mgr gallice L/gr βοτάνου= 12, 11 gr βοτάνου αγριμόνιου)

(1047, 6 mgr gallice L/88, 1 mgr gallice L/gr βοτάνου= 11, 89 gr βοτάνου αγριμόνιου)

Άρα, η μέγιστη ποσότητα αγριμονίου που μπορεί να εκχυλιστεί πλήρως, σύμφωνα με τη μέση τιμή είναι 12 gr βοτάνου.

Για το δείγμα οίνου με αγγελική, περιεκτικότητας 6 gr/L, παρατηρήθηκε ότι, σύμφωνα με τη μέση τιμή 1 gr βοτάνου αγγελικής εκχυλίζει φαινολικές ενώσεις που αντιστοιχούν σε 29,6 mgr γαλλικού οξέος/L.

Για το δείγμα περιεκτικότητας 10 gr/L, διαπιστώθηκε με βάση τη μέση τιμή, ότι 1 gr βοτάνου εκχυλίζει φαινολικές ενώσεις, που αντιστοιχούν σε 21,21 mgr γαλλικού οξέος/L.

Για τα δείγμα με περιεκτικότητα 15 gr/L, παρατηρήθηκε ότι σύμφωνα με τη μέση τιμή 1 gr βοτάνου εκχυλίζει φαινολικές ενώσεις, που αντιστοιχούν σε 16,875 mgr γαλλικού οξέος/L.

(249.6 mgr gallice L/29.1 mgr gallice L/gr βοτάνου= 8.57 gr βοτάνου αγγελικής)

(256.6 mgr gallice L/30.1 mgr gallice L/gr βοτάνου= 8.52 gr βοτάνου αγγελικής)

Άρα, η μέγιστη ποσότητα αγγελικής που μπορεί να εκχυλιστεί πλήρως, με βάση τη μέση τιμή τους είναι 8,55gr/L.

## **7 Πειραματική διαδικασία κατασκευής πρότυπης καμπύλης για τη μέθοδο DPPH**

### **7.1 Παρασκευή διαλύματος DPPH/CH<sub>3</sub>OH 60μM**

Σε αναλυτικό ζυγό, ζυγίστηκαν 0,0059gr της ουσίας DPPH σε ποτήρι ζέσεως, όπου διαλύθηκαν σε μεθανόλη. Στη συνέχεια, η διαλυμένη ουσία μεταφέρθηκε ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 250ml και αραιώθηκε με διαλύτη τη μεθανόλη μέχρι τη χαραγή.

### **7.2 Παρασκευή πρότυπου διαλύματος Trolox συγκέντρωσης 0,2mM**

Σε αναλυτικό ζυγό, ζυγίστηκαν 0,0125gr Trolox μέσα σε ποτήρι ζέσεως και διαλύθηκαν με μεθανόλη. Ακολούθως, το περιεχόμενο του ποτηριού μεταφέρθηκε ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 25ml και έγινε αραιώση μέχρι τη χαραγή, με διαλύτη τη μεθανόλη. (2,0mM)

Κατόπιν σε ογκομετρική φιάλη των 100ml, προστέθηκαν 10ml από το παραπάνω διάλυμα Trolox και αραιώθηκε μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη (0,2mM). Οι όγκοι του διαλύματος αυτού, επιλέχθηκαν έτσι ώστε το χρώμα του διαλύματος DPPH/CH<sub>3</sub>OH να μένει μωβ, αλλά πιο εξασθενημένο του αρχικού διαλύματος, χωρίς να μετατρέπεται σε κίτρινο, μια και το DPPH δεν καταναλώνεται πλήρως.

Στη συνέχεια κατασκευάστηκε η καμπύλη αναφοράς με πρότυπα διαλύματα Trolox, με τα αποτελέσματα να εκφράζονται σε ισοδύναμα Trolox.

Σε κυψελίδες πλαστικές, προστίθενται με τη σειρά οι παρακάτω ουσίες:

3000μL του διαλύματος 60μM DPPH/CH<sub>3</sub>OH και ακολούθως οι όγκοι μεθανόλης και Trolox, όπως αναγράφονται σε παρακάτω πίνακα, ανά 2 λεπτά. Έπειτα, οι κυψελίδες αναδεύτηκαν και παρέμειναν σε σκοτεινό μέρος για 30 λεπτά, ώστε να εξελιχθεί η αντίδραση.

Ακολούθησε η φωτομέτρηση σε φασματοφωτόμετρο στα 515nm, με το control να περιέχει 3000μL διαλύματος 60μM DPPH/CH<sub>3</sub>OH και 100μL CH<sub>3</sub>OH. Το όργανο μηδενίστηκε με



μεθανόλη και η κάθε μέτρηση επαναλήφθηκε εις τριπλούν, με τον μέσο όρο τους να αποτελεί την τελική τιμή της απορρόφησης.

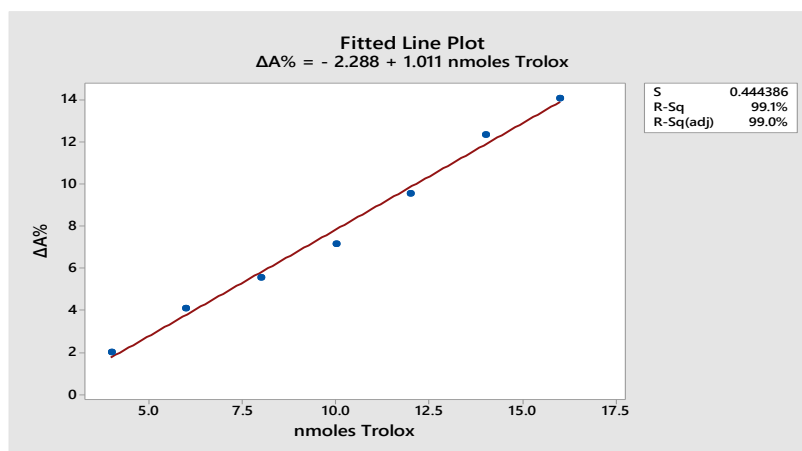
$$\text{Το } \Delta A\% \text{ ορίζεται ως: } \Delta A\% (515\text{nm}) = [(A_{\text{control}(t=0)} - A_{\text{sample}(t=30)})/A_{\text{control}(t=0)}]*100$$

A/A	Όγκος DPPH/CH <sub>3</sub> OH 60mM	Όγκος CH <sub>3</sub> OH	Όγκος διαλύματος Trolox	nmoles Trolox	Απορρόφηση $\lambda=515\text{nm}$ $t=30\text{min}$	$\Delta A\%$
1	3000 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$	0 $\mu\text{L}$	0	0.754	-
2	3000 $\mu\text{L}$	80 $\mu\text{L}$	20 $\mu\text{L}$	4	0.739	1.99%
3	3000 $\mu\text{L}$	70 $\mu\text{L}$	30 $\mu\text{L}$	6	0.723	4.11%
4	3000 $\mu\text{L}$	60 $\mu\text{L}$	40 $\mu\text{L}$	8	0.712	5.57%
5	3000 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	10	0.700	7.16%
6	3000 $\mu\text{L}$	40 $\mu\text{L}$	60 $\mu\text{L}$	12	0.682	9.55%
7	3000 $\mu\text{L}$	30 $\mu\text{L}$	70 $\mu\text{L}$	14	0.661	12.33%
8	3000 $\mu\text{L}$	20 $\mu\text{L}$	80 $\mu\text{L}$	16	0.648	14.06%

*Πίνακας πρότυπων διαλυμάτων Trolox*

Στο παρακάτω σχήμα φαίνεται η γραφική παράσταση και η εξίσωση της ευθείας που προκύπτει

από τα παραπάνω δεδομένα:



*Πρότυπη καμπύλη Trolox*

### 7.3 Πειραματική διαδικασία δειγμάτων οίνου

Σε ογκομετρική φιάλη, χωρητικότητας 20ml, προστέθηκαν 2ml δείγματος εκχυλισμένου οίνου και αραιώθηκε με μεθανόλη μέχρι τη χαραγή, ώστε να πραγματοποιηθεί αραιώση 1/10.

Στη συνέχεια, σε πλαστικές κυψελίδες ( $b=1,00\text{cm}$ ) τοποθετήθηκαν 3000 $\mu\text{L}$  του διαλύματος DPPH/ $\text{CH}_3\text{OH}$  60 $\mu\text{M}$ , 80 $\mu\text{L}$   $\text{CH}_3\text{OH}$  και στο τέλος 20 $\mu\text{L}$  από το παραπάνω αραιωμένο δείγμα. Έγινε ανάδευση και παρέμειναν στο σκοτάδι για 30 λεπτά, για πραγματοποίηση της αντίδρασης.

Με το πέρας του απαιτούμενου χρόνου, τα δείγματα φωτομετρήθηκαν στα 515nm με τη διαδικασία να επαναλαμβάνεται τρεις φορές και με τελική τιμή απορρόφησης το μέσο όρο των τριών απορροφήσεων. Για το τυφλό δείγμα προσθέσαμε 3000 $\mu\text{L}$  του διαλύματος DPPH/ $\text{CH}_3\text{OH}$  60 $\mu\text{M}$  και 100 $\mu\text{L}$   $\text{CH}_3\text{OH}$ , ενώ ο μηδενισμός του οργάνου έγινε με μεθανόλη.

Χρησιμοποιείται η εξίσωση:  $y = 1.011x - 2.288$

Άρα  $x = (y + 2.288) / 1.011$  δηλαδή  $x = (\Delta A\% + 2,288) / 1,011$

Έτσι μπορούμε να υπολογίσουμε τα nmoles Trolox που αντιστοιχούν στο κάθε δείγμα.

Λόγω του ότι έγινε αραιώση 2ml/20ml, τα αποτελέσματα δίνονται μέσα από τη σχέση:

$C = 20 * \text{nmoles Trolox αραιωμένου} / 2$ .

Δείγματα	A	$\Delta A\%$	nmoles Trolox αραιωμένου	nmoles Trolox δείγματος
Control	0,754			
Αγρ1 6gr/L	<b>0,701±0.001</b>	7,03	9,216	92,16
Αγρ2 6gr/L	<b>0,7033±0.0006</b>	6,76	8,950	89,5
Αγρ1 10gr/L	<b>0,6743±0.0012</b>	10,48	12,630	126,3
Αγρ2 10gr/L	<b>0,676±0.001</b>	10,34	12,603	126,03
Αγρ1 15gr/L	<b>0,6533±0.0012</b>	13,40	15,663	156,63
Αγρ2 15gr/L	<b>0,651±0.001</b>	13,66	15,923	159,2

Πίνακας μετρήσεων για Αγγιμόνιο με τη μέθοδο DPPH

Δείγματα	A	ΔA%	nmol Trolox αραιωμένου	nmoles Trolox δείγματος
Control	0,754			
Αγγ1 6gr/L	<b>0,7073±0.0006</b>	6,23	8,493	84,93
Αγγ2 6gr/L	<b>0,708±0.001</b>	6,10	8,363	83,63
Αγγ1 10gr/L	<b>0,684±0.001</b>	9,28	11,543	115,43
Αγγ2 10gr/L	<b>0,6863±0.0006</b>	9,02	11,283	112,83
Αγγ1 15gr/L	<b>0,6603±0.0006</b>	12,46	14,723	147,23
Αγγ2 15gr/L	<b>0,659±0.001</b>	12,60	14,863	148,63

*Πίνακας μετρήσεων για Αγγελική με τη μέθοδο DPPH*

Σαν μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε οίνος της σχολής, που χρησιμοποιήθηκε για τις εκχυλίσεις.

Απορροφήσεις	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A	ΔA%	nmoles Trolox
Μάρτυρας	<b>0,7017±0.0006</b>	0,698	0,695	0,698	7,43	9,61

*Πίνακας μετρήσεων για τον μάρτυρα*

Τα nmoles Trolox που αντιστοιχούν στον μάρτυρα, υπολογίστηκαν από την εξίσωση ευθείας :  $y = 1.011x - 2.288$

$$\text{Άρα, } x = (y + 2.288) / 1.011$$

$$\text{Δηλαδή, } x = (\Delta A\% + 2,288) / 1,011 = (7,43 + 2,288) / 1,011 = 9,61$$

Δείγματα	nmoles Trolox	$X_i - X$ μάρτυρα	nmole Trolox/gr βοτάνου	Μέγιστη εκχύλιση
Αγρ1 6gr/L	92,16	82,55	13,75	6
Αγρ2 6gr/L	89,5	79,89	13,32	6
Αγρ1 10gr/L	126,3	116,69	11,66	8,48
Αγρ2 10gr/L	126,03	116,42	11,64	8,73
Αγρ1 15gr/L	156,63	147,02	9,80	10,69
Αγρ2 15gr/L	159,2	149,59	9,97	11,23
Αγγ1 6gr/L	84,93	75,32	12,55	6
Αγγ2 6gr/L	83,63	74,02	12,34	6
Αγγ1 10gr/L	115,43	105,82	10,58	8,43
Αγγ2 10gr/L	112,83	103,22	10,32	8,36
Αγγ1 15gr/L	147,23	137,62	9,17	10,96
Αγγ2 15gr/L	148,63	139,02	9,26	11,26
Μάρτυρας	9,61			

*Πίνακας μετρήσεων για το Trolox*

Για το πρώτο δείγμα οίνου με αγριμόνιο, περιεκτικότητας 6gr/L, διαπιστώθηκε ότι 1 gr αγριμονίου εκχυλίζει αντιοξειδωτικές ουσίες, που αντιστοιχούν σε 13,75 nmoles Trolox/L, ενώ στο δεύτερο δείγμα 6gr/L, εκχυλίζει 13,32 nmoles Trolox/L. Για τα δείγματα οίνου με αγριμόνιο, περιεκτικότητας 10gr/L, παρατηρήθηκε ότι 1 gr αγριμονίου εκχυλίζει αντιοξειδωτικές ουσίες, που αντιστοιχούν σε 11,66 nmoles Trolox/L και 11,64 nmoles Trolox/L, αντίστοιχα. Για τα δείγματα οίνου με αγριμόνιο, περιεκτικότητας 15gr/L, διαπιστώθηκε ότι 1 gr αγριμονίου εκχυλίζει αντιοξειδωτικές ουσίες που αντιστοιχούν σε 9,80 nmoles Trolox/L και 9,97 nmoles Trolox/L αντίστοιχα (μικρότερη ποσότητα).

Διαπιστώθηκε ότι τα 6 gr αγριμονίου εκχυλίζονται πλήρως, ενώ η μέγιστη εκχυλισματικότητα του αγριμονίου είναι τα 10,69 gr και 11,23 gr.

(147.02 nmoles Trolox / 13.75 nmoles Trolox/gr βοτάνου = 10.69)

(149.59 nmoles Trolox / 13.32 nmoles Trolox/gr βοτάνου = 11.23)

Διαπιστώθηκε ότι τα 6 gr αγριμόνιου εκχυλίζονται πλήρως, ενώ η μέγιστη εκχυλισματικότητα του αγριμόνιου είναι, σύμφωνα με τη μέση τιμή τους, τα 10,96 gr.

Για το δείγμα οίνου με αγγελική, περιεκτικότητας 6 gr/L, παρατηρήθηκε ότι 1 gr βοτάνου αγγελικής εκχυλίζει αντιοξειδωτικές ουσίες που αντιστοιχούν σε 12,445 nmoles Trolox/L.

Για το δείγμα οίνου με αγγελική, περιεκτικότητας 10 gr/L, διαπιστώθηκε από τη μέση τιμή, ότι 1 gr βοτάνου εκχυλίζει αντιοξειδωτικές ουσίες, που αντιστοιχούν σε 10,45 nmoles Trolox/L.

Για το δείγμα με αγγελική, περιεκτικότητας 15 gr/L, παρατηρήθηκε ότι, σύμφωνα με τη μέση τιμή, 1 gr βοτάνου εκχυλίζει αντιοξειδωτικές ουσίες που αντιστοιχούν σε 9,215 nmoles Trolox/L.

$$(137.62 \text{ nmoles Trolox} / 12.55 \text{ nmoles Trolox/gr βοτάνου} = 10.96)$$

$$(139.02 \text{ nmoles Trolox} / 12.34 \text{ nmoles Trolox/gr βοτάνου} = 11.26)$$

Τα 6 gr του βοτάνου αγγελικής εκχυλίζονται πλήρως, ενώ η μέγιστη εκχυλισματικότητά της σύμφωνα με τη μέση τιμή τους, είναι 11,11 gr.

## 8 Συμπεράσματα

Κατά τη μέθοδο Folin-Ciocalteu προσδιορίστηκαν τα συνολικά φαινολικά που εκχυλίστηκαν από τα βότανα Αγριμόνιο και Αγγελική, εκφρασμένα σε mg γαλλικού οξέος/L/gr βοτάνου.

Διαπιστώθηκε ότι 1 gr αγριμονίου, εκχυλίζει φαινολικά που αντιστοιχούν σε 87,6 mg γαλλικού οξέος/L και η μέγιστη ποσότητα αγριμόνιου που μπορεί να εκχυλιστεί είναι 12 gr βοτάνου.

Επίσης, βρέθηκε ότι 1 gr αγγελικής, εκχυλίζει φαινολικά που αντιστοιχούν σε 29,6 mg γαλλικού οξέος/L, ενώ η μέγιστη ποσότητα αγγελικής που μπορεί να εκχυλιστεί είναι 8,55 gr βοτάνου.

Με τη μέθοδο DPPH εκτιμήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων που προέρχεται από τα δυο βότανα, αγριμόνιο και αγγελική, που εκφράζεται σε nmoles Trolox/L/gr βοτάνου.

Βρέθηκε ότι 1 gr αγριμονίου, εκχυλίζει αντιοξειδωτικές ουσίες που αντιστοιχούν σε 13,54 nmoles Trolox/L, ενώ η μέγιστη ποσότητα που μπορεί να εκχυλιστεί είναι 10,96 gr βοτάνου.

Για 1 gr αγγελικής βρέθηκε ότι εκχυλίζονται αντιοξειδωτικές ουσίες που αντιστοιχούν σε 12,45 nmoles Trolox/L και η μέγιστη ποσότητα που μπορεί να εκχυλιστεί είναι 11,11 gr βοτάνου.

Παρατηρήθηκε ότι το βότανο αγριμόνιο υπερέχει της αγγελικής, όσον αφορά την εκχυλισματικότητα φαινολικών, ενώ αντιθέτως, ως προς την αντιοξειδωτική ικανότητα, υπερέχει το βότανο αγγελική.

Διαπιστώθηκε ότι μεταξύ των δυο μεθόδων προσδιορισμού των φαινολικών συστατικών δεν βγαίνουν ίδιες τιμές. Αυτό οφείλεται στη διαφορά των μεθόδων προσδιορισμού των ολικών φαινολικών συστατικών.

## Βιβλιογραφία

- 1) Σαρλής Γ.(1994). Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα
- 2) Κουτσός Θεόδωρος Β. Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά(125-323). Εκδόσεις Ζήση, Θεσσαλονίκη
- 3) Αναστόπουλος Α. (1983). Τα βότανα της γιαγιάς (σελ.25-26). Εκδόσεις Κάκτος, Αθήνα
- 4) Barnes, J., Anderson, L.A. Phillipson, J. D. 2007. “Herbal medicines”. Pharmaceutical Press, 3<sup>rd</sup> edition
- 5) P. Härmälä, H. Vuorela, R. Hiltunen, Sz. Nyiredy, O. Sticher, K. Törnquist and S. Kaltia, (1992) Phytochemical analysis.
- 6) Burdock, George A. (2016). Fenaroli’s handbook of Flavor Ingredients, 6<sup>th</sup> edition
- 7) Chisholm, Hygh(1911) Encyclopædia Britannica, 11<sup>th</sup> edition
- 8) Αναστόπουλος Α. (1983). Τα βότανα της γιαγιάς (σελ.32-34). Εκδόσεις Κάκτος, Αθήνα
- 9) Barnes J, Linda Aderson, J. David Phillipson(2007). “Herbal medicines”. Pharmaceutical Press, third edition
- 10) Frances Watkins, Barbara Pendry, Alberto Sanchez-Medina, Olivia Corcoran (2012). Journal of ethnopharmacology
- 11) B. Halliwell and J.M. Gutteridge (1995). “The definition and measurement of antioxidants in biological systems”
- 12) B. Bozin, N. Mimica - Dukic, N. Simin and G. Anackov(2006) “Characterization of volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils”
- 13) Heim, K. E. Tagliaferro, A. R. and Bolilya D. J. (2002). “Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships.” The Journal of nutritional biochemistry, pages 572-584
- 14) Antolovich M., Paul D. Prenzler, Emilios Patsalides, Suzanne Mc Donald, Kevin Robards (2002) “Methods for testing antioxidant activity.” The analyst, pages 183-189
- 15) Erkan N., Ayranci G., (2008) “Antioxidant activities of rosemary extract” Food chemistry. Page 76-102
- 16) Κυριτσάκης Κ. Α. (2007). “Ελαιόλαδο συμβατικό και Βιολογικό, Βρώσιμη ελιά και πάστα ελιάς ”, Θεσσαλονίκη

- 17) Ainsworth E. A., and Gillespie K. M. (2007) “Estimation of total Phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent”, *Nature protocols*. Pages 875-877
- 18) Prior R. L., Wu X. and Schaich K. (2005). “Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements”. *Journal of agricultural and food chemistry*. Pages 4290-4302
- 19) Kedare S. B. and Singh R. P. (2011). “Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay”. *Journal of food science and technology*. Pages 412-422