



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΑΖΩΤΟΥΧΟΥ ΛΙΠΑΝΣΗΣ
ΣΤΗΝ ΟΛΙΚΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΤΗΣ
PORTULACA OLERACEA, ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΧΕΙΜΕΡΙΝΗ ΠΕΡΙΟΔΟ

Κωνσταντίνα Κλείτση

Δήμητρα Μακρυγιάννη

Επιβλέπων: Χαράλαμπος Καριπίδης, Γεωπόνος PhD, Καθηγητής ΤΕΙ
Ηπείρου

Άρτα, Ιούνιος 2019

**STANTY OF EFFECTS OF NITROGEN FERTILIZATION ON THE
TOTAL ANTIOXIDANT CARACITY OF RORTULACA OLERACEA
DURING THE WINTER PERIOD**

Εγκρίθηκε από τριμελή εξεταστική επιτροπή

Τόπος, Ημερομηνία

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Επιβλέπων καθηγητής

Χαράλαμπος Καριπίδης

Γεωπόνος PhD, Καθηγητής ΤΕΙ Ηπείρου

2. Μέλος επιτροπής

Δήμητρα Δούμα

3. Μέλος επιτροπής

Παρασκευή Υφαντή

Ο/Η Προϊστάμενος/η του Τμήματος

Όνομα Επίθετο,

Τίτλος, βαθμίδα

Υπογραφή

Κωνσταντίνα Κλείτση 2019

Δήμητρα Μακρυγιάννη 2019

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All right reserved

Δήλωση μη λογοκλοπής

Δηλώνουμε υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του Ν.2112/1993 περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι η παρούσα πτυχιακή πτυχιακή εργασία είναι έξ ολοκλήρου αποτέλεσμα δικής μας ερευνητικής εργασίας, δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές που χρησιμοποιήθηκαν(κάθε είδους,μορφής και προέλευσης) για την συγγραφή της περιλαμβάνονται στη βιβλιογραφία.

Κωνσταντίνα Κλείτση

Δήμητρα Μακρυγιάννη

Υπογραφή

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία έχει ως αντικείμενο τη μελέτη ενός σημαντικού ζιζανίου των αρδευομένων καλλιεργειών, της *Portulaca oleracea* (αντράκλα).

Ειδικότερα στο πρώτο μέρος της εργασίας (θεωρητικό) περιγράφονται τα βασικά χαρακτηριστικά του φυτού (μορφολογικά, βιο-οικολογικά), οι καλλιεργητικές απαιτήσεις σε λίπανση και η ωφελιμότητά της ως λαχανευόμενου φυτού που περιέχει αντιοξειδωτικές ενώσεις.

Στο δεύτερο μέρος, περιγράφονται οι πειραματικές εργασίες που έγιναν στο Εργαστήριο της Λαχανοκομίας και οι οποίες αφορούν την μελέτη της επίδρασης της αζωτούχου λίπανσης στην αύξηση του βάρους, την συσσώρευση νιτρικών στους ιστούς και την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών της *Portulaca oleracea* (αντράκλα, γλιστρίδα, τρέβλο), τα οποία καλλιεργήθηκαν κατά την χειμερινή εποχή σε μη θερμαινόμενο θερμοκήπιο. Τα φυτά υποβλήθηκαν σε μεταχείριση με 50 mgL^{-1} αζώτου, 200 mgL^{-1} και 350 mgL^{-1} αζώτου στο νερό του ποτίσματος.

Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι ο παράγοντας της λίπανσης δεν επέδρασε σημαντικά στο σύνολο των μετρήσεων που έγιναν αναφορικά με την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών της αντράκλας. Ωστόσο, τα φυτά με τη μικρότερη λίπανση σε άζωτο, παρουσίασαν σημαντικά μικρότερο βάρος από τα φυτά των δύο άλλων μεταχειρίσεων. Επίσης, κάθε αύξηση στην ποσότητα της αζωτούχου λίπανσης προκάλεσε πολύ σημαντική αύξηση στην περιεκτικότητα των ιστών της αντράκλας σε νιτρικά.

Λέξεις κλειδιά: Αντράκλα, αζωτούχος λίπανση, αντιοξειδωτική ικανότητα, νιτρικά.

ABSTRACT

This study deals with the study of a significant weed of irrigated crops, *Portulaca oleracea*.

In particular, the first part of the research (theoretical) describes the basic characteristics of the plant (morphological, bio-ecological), the crop requirements for fertilization and the use of the plant as a vegetable containing antioxidant compounds.

In the second part, we describe the experimental work carried out in the Laboratory of Horticulture, concerning the study of the effect of nitrogen fertilization on fresh weight, the accumulation of nitrates in the tissues and the total antioxidant capacity of the plants of *Portulaca oleracea*, which were grown during the winter season in a non-heated greenhouse. The plants were treated with 50 mgL⁻¹ nitrogen, 200 mgL⁻¹ and 350 mgL⁻¹ nitrogen fertilization in the water of watering.

The results showed that the fertilizer factor did not significantly affect all the measurements made with regard to the total antioxidant capacity of the purslane plants. However, the plants with the lowest nitrogen fertilization showed significantly less weight than the plants of the two other treatments. Also, any increase in the amount of nitrogen fertilization caused a very significant increase in nitrate content of the tissues.

Keywords: *Portulaca oleracea*, nitrogen fertilization, antioxidant, nitrate.

Πίνακας Περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
ABSTRACT	7
Εισαγωγή.....	9
Κεφάλαιο 1: Αντράκλα	15
1.1 Καλλιέργεια και λίπανση των λαχανικών	22
1.2 Λίπανση με αζωτούχα λιπάσματα	24
1.3 Τα νιτρικά και η σπουδαιότητά τους.....	26
1.3.1 Ρόλος του αζώτου στα φυτά.....	26
1.3.2 Συσώρευση νιτρικών στα φυτά.....	28
1.3.3 Συγκέντρωση νιτρικών στα φυτά και στον άνθρωπο.....	30
1.3.4 Συνέπεια της υψηλής συγκέντρωσης νιτρικών και νιτροδών στον άνθρωπο	32
1.3.5 Ευεργετικές επιδράσεις των διατροφικών νιτρικών	35
Κεφάλαιο 2: Αντιοξειδωτικές ενώσεις	36
2.1 Φαινολικές ενώσεις	37
2.2 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας.....	38
Κεφάλαιο 3: Πειραματικό Μέρος	40
3.1 Σκοπός του πειράματος.....	40
3.2 Υλικά και Μέθοδοι.....	40
3.2.1 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο του DPPH 42	
3.2.2 Προσδιορισμός Νιτρικών.....	44
Κεφάλαιο 4: Αποτελέσματα.....	50
4.1 Ολική Αντιοξειδωτική ικανότητα.....	50
4.2 Στατιστικός Έλεγχος.....	51
4.3 Βάρος υπέργειου μέρους των φυτών.....	52
4.4 Περιεκτικότητα των φυτών σε νιτρικά ανιόντα	54
Κεφάλαιο 5: Συμπεράσματα-Συζήτηση	56
Παράρτημα.....	57
Βιβλιογραφία.....	58
Ελληνική.....	58
Ξενόγλωσση	58

Εισαγωγή

Ένας από τους σπουδαιότερους τομείς ανάπτυξης της Ελλάδας είναι ο γεωργικός και απασχολεί συνεχώς και μεγαλύτερο αριθμό ανθρώπων. Ο σπουδαιότερος από τους παράγοντες που μπορεί να προκαλέσει ζημιά στις καλλιέργειες και να μειώσει την απόδοσή τους καθώς και την ποιότητα των προϊόντων τους είναι τα ζιζάνια. Τα ζιζάνια, οι αρρώστιες και τα έντομα αν δεν αντιμετωπιστούν αποτελεσματικά μπορούν να καταστρέψουν μια παραγωγή.

Ζιζάνια, καλούνται όλα τα φυτά, αυτοφυή ή καλλιεργούμενα, όταν μεγαλώνουν και αναπτύσσονται σε καλλιέργειες ή αγρούς που δε χρειάζεται ή μεγαλώνουν στη θέση ενός καλλιεργούμενου φυτού. Τα ζιζάνια έχουν τα παρακάτω χαρακτηριστικά:

1. Διαθέτουν αποτελεσματικούς μηχανισμούς πολλαπλασιασμού και διασποράς.
2. Προσαρμόζονται εύκολα σε διαφορετικά περιβάλλοντα και δρουν ανταγωνιστικά.
3. Επωφελούνται από τις καλλιεργητικές διαδικασίες και τις περιποιήσεις των ανθρώπων.
4. Εξαλείφονται δύσκολα μετά την εγκατάστασή τους.

Εκτός από τις άμεσες ζημιές που προκαλούν, τα ζιζάνια μεταφέρουν παθογόνα και ιούς βλάπτοντας ακόμα περισσότερο την καλλιέργεια. Είναι φανερό, πως η καταπολέμησή τους είναι κύριας σημασίας για τις γεωργικές παραγωγές.

Κατατάσσονται με βάση τον τύπο ανάπτυξής τους, σε ποώδη, θαμνώδη και δενδρώδη. Με βάση το είδος του φυτού, βοτανικά, σε μονοκοτυλήδονα και δικοτυλήδονα. Σύμφωνα, με τη μορφολογία του φύλλου, σε πλατύφυλλα και αγρωστώδη, με τις απαιτήσεις τους σε εδάφη, σε αλκαλικά, όξινα, θερμών και ψυχρών περιοχών, με βάση τον τρόπο πολλαπλασιασμού τους σε ζιζάνια εξαπλωνόμενα με σπόρο, ριζώματα, παραφυάδες, βολβόριζα, κονδυλόριζα. Ο πιο συνηθισμένος σήμερα τρόπος κατάταξής τους είναι με βάση την διάρκεια ζωής τους και την περίοδο που εμφανίζονται. Έτσι, τα διακρίνουμε σε:

1. Ετήσια ζιζάνια: Αυτά ολοκληρώνουν το βιολογικό κύκλο τους στη διάρκεια του ενός έτους ή σε λιγότερο. Τα ετήσια ζιζάνια χωρίζονται σε ανοιξιάτικα και χειμωνιάτικα. Τα πρώτα φυτρώνουν την άνοιξη και συμπληρώνουν τον βιολογικό τους κύκλο το φθινόπωρο. Μερικά από τα θερινά ζιζάνια είναι η λουβουδιά (*Chenopodium album*), τα βλίτα (*Amaranthus spp.*), η

Αγριοτομάτα (*Solanum nigrum*), ο τάτουλας (*Datura stramonium*), η αντράκλα (*Portulaca oleracea*), η μουχρίτσα (*Echinochloa crus-galli*). Τα δεύτερα, φυτρώνουν το φθινόπωρο ή το χειμώνα και σποροποιούν αργά την άνοιξη ή το καλοκαίρι. Από τα πιο σοβαρά χειμωνιάτικα ετήσια ζιζάνια μπορούν να θεωρηθούν η αγριοβρώμη (*Avena spp.*), η παπαρούνα (*Paraverthoeas*), η αλεπονουρά (*Alopecurus myosuroides*), η ήρα (*Lolium spp.*), η κολλιτσίδα (*Gallium spp.*).

2. Διετή ζιζάνια: Διετή καλούνται τα ζιζάνια που ολοκληρώνουν το βιολογικό τους κύκλο σε δύο έτη. Τα ζιζάνια αυτά αναπτύσσονται σε ροζέτα κατά την διάρκεια του πρώτου έτους και στο δεύτερο έτος ανθίζουν, παράγουν γύρη, σποροποιούν και πεθαίνουν. Είναι μικρότερη κατηγορία από τα παραπάνω και τα σπουδαιότερα από αυτά είναι το αγριοκαρότο (*Daucus carota*), το κουφάγκαθο (*Sylibum marianum*) και άλλα.
3. Πολυετή ζιζάνια: Πολυετή ζιζάνια είναι αυτά που συμπληρώνουν το βιολογικό τους κύκλο σε χρονική διάρκεια περισσότερο από δύο έτη. Αυτά είναι και τα περισσότερο δυσκολοεξόντωτα, δηλαδή, παρουσιάζουν δυσκολίες στην καταπολέμησή τους. Από τα σπουδαιότερα είναι η αγριάδα (*Cynodon dactylon*), ο βέλιουρας (*Sorghum halepense*), η περικοκλάδα (*Convolvulus arvensis*), η κύπερη (*Cyperus spp.*), το πολυετές κίρσιο (*Cirsium arvense*), και άλλα.
4. Παρασιτικά ζιζάνια: Παρασιτικά καλούνται τα ζιζάνια που δεν μπορούν να ζήσουν μόνα τους αλλά ζουν σε βάρος άλλων φυτών. Από αυτά παίρνουν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά ώστε να μεγαλώσουν. Διακρίνονται σε ολοπαράσιτα όπως η οροβάγχη (*Orobanche spp.*) που, δεν μπορούν να φωτοσυνθέσουν και έτσι και τα οργανικά και τα ανόργανα θρεπτικά τα παίρνουν από το φυτό που παρασιτούν και σε ημιπαράσιτα που φωτοσυνθέτουν, όπως η κουσκούτα (*Cuscuta spp.*).

Μειονεκτήματα των ζιζανίων:

Οι ζημιές που προκαλούν τα ζιζάνια και μειώνουν την απόδοση των καλλιεργειών αλλά και υποβαθμίζουν την ποιότητα των προϊόντων, δεν περιορίζονται μόνο στα καλλιεργούμενα φυτά αλλά επεκτείνονται και στα φυσικά λιβάδια (εξάπλωση δηλητηριωδών ζιζανίων), στον άνθρωπο (αλλεργίες-δηλητηριάσεις) και στα ζώα

(δηλητηριάσεις). Τα χαρακτηριστικά των ζιζανίων που τα καθιστούν ανεπιθύμητα είναι τα παρακάτω:

1. Ανταγωνισμός με τα καλλιεργούμενα φυτά.

Τα ζιζάνια ανταγωνίζονται τα καλλιεργούμενα φυτά ως προς το φως, το νερό, τα θρεπτικά στοιχεία και το χώρο. Το μέγεθος της ζημιάς της καλλιέργειας εξαρτάται από το είδος των ζιζανίων, την πυκνότητά τους, την ομοιομορφία κατανομής των ζιζανίων, το χρόνο εμφάνισης και παραμονής τους, το είδος του καλλιεργούμενου φυτού, την ποικιλία ή υβρίδιο του καλλιεργούμενου φυτού, την πυκνότητα του καλλιεργούμενου φυτού, τον τύπο του εδάφους, τη λίπανση και τέλος την άρδευση (Ελευθεροχωρινός, 1996).

2. Αλληλοπάθεια.

Αλληλοπάθεια είναι η απελευθέρωση χημικών ουσιών από ένα φυτό στο περιβάλλον του, οι οποίες επιδρούν με κάποιο τρόπο σ' ένα άλλο φυτό, εμποδίζοντας ή δυσχεραίνοντας την ανάπτυξή του στο ίδιο περιβάλλον (Λόλας, 2003). Αυτές οι χημικές ουσίες συντίθενται είτε από διαφορετικά μέρη ενός φυτού, είτε απελευθερώνονται μέσω διαδικασιών φυσικής αποσύνθεσης. Η αλληλοπάθεια αποτελεί έναν μηχανισμό επιβίωσης που επιτρέπει σε πολλά φυτά να ανταγωνιστούν γειτονικά για θρεπτικά στοιχεία. Στην περίπτωση των ζιζανίων, αυτές οι ουσίες απελευθερώνονται με εξάτμιση, έκπλυση, έκκριση και αποσύνθεση. Οι περισσότερες από αυτές τις τοξικές ουσίες είναι προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού και με βάση τη βιοσύνθεσή τους ανήκουν στα φαινυλοπροπάνια, ακετογενίτες τερπενοειδή, στεροειδή και αλκαλοειδή. Μερικά από τα ζιζάνια που εκκρίνουν τέτοιες ουσίες είναι η αγριοβρώμη (*Avena* spp.), το κίρσιο (*Cirsium* spp.), η κύπερη (*Cyperus* spp.), το βλίτο (*Amaranthus* spp.), η περικοκλάδα (*Convolvulus arvensis*) (Klingman και Ashton, 1982).

3. Υποβάθμιση ποιότητας

Εκτός από μείωση της απόδοσης της καλλιέργειας, τα ζιζάνια μειώνουν και την ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων. Έτσι, η μείωση των θρεπτικών έχει σα συνέπεια τη μείωση των σακχάρων, τον κακοσχηματισμό των φύλλων και την ανισόρροπη αναλογία των θρεπτικών συστατικών που καθορίζουν την ποιότητα του καπνού στην αντίστοιχη καλλιέργεια. Το αγριόσκορδο (*Allium vineale*), όταν αλεσθεί με το σιτάρι μεταδίδει τη μυρωδιά του στο αλεύρι, ενώ η ήρα (*Lolium temulentum*), επειδή είναι δηλητηριώδης, πρέπει να απομακρύνεται από το σιτάρι. Ακόμα, η

σετάρια (*Setaria spp.*), κολλά πάνω στο βαμβάκι και είναι αδύνατο να διαχωριστεί. Επίσης, άλλα χειροτερεύουν την ποιότητα ζωικών προϊόντων, όπως η γεύση αγριόσκορδου στο γάλα, ή κολλιτσίδες (*Xanthium strumarium*) στο μαλλί. Γι' αυτό και μερικά από αυτά θεωρούνται εξαιρετικά επιβλαβή για τον άνθρωπο (Λόλας, 2003).

4. Ζιζάνια φορείς εντόμων και ασθενειών

Πολλά ζιζάνια είναι φορείς εντόμων και ασθενειών. Σε πολλά είδη ζιζανίων υπάρχουν έντομα και ιώσεις που έχουν ξενιστές και τα καλλιεργούμενα φυτά. Έτσι, μεταφέρονται σε αυτά μολύνοντας και προκαλώντας τους, αρνητικές συνέπειες στην παραγωγή και στην μετέπειτα ζωή τους. Ο θρίπας του καπνού (*Thrips tabaci*), για παράδειγμα παρουσιάζεται την άνοιξη στα ζιζάνια και μετά προσβάλλει τα καπνόφυτα (Λόλας, 2003). Ακόμα η αγριοβρώμη μπορεί να προκαλέσει οίδιο στο σιτάρι, η αγριομελιτζάνα σκωρίαση στην τομάτα, το βλήτο σκωρίαση στην πατάτα, η κύπερη νηματώδεις στο βαμβάκι κ.α.

5. Αύξηση κόστους παραγωγής

Η καταπολέμηση των ζιζανίων, ιδιαίτερα στην περίπτωση που αυτό είναι δύσκολο, αυξάνει το κόστος παραγωγής. Ωστόσο η αντιμετώπισή τους είναι απαραίτητη ώστε να προστατευτούν οι καλλιέργειες από αρρώστιες και ιούς και να αποφευχθούν οι συνακόλουθες επιπλέον φροντίδες για τον έλεγχό τους και τη διευκόλυνση της συγκομιδής. Αυτό όμως, αυξάνει το κόστος παραγωγής ειδικά αν δεν καταπολεμηθούν έγκαιρα και αφεθούν να ευδοκιμήσουν.

6. Αναποτελεσματική χρησιμοποίηση γης και εργατικών χεριών

Τα χωράφια με έντονη προσβολή από ζιζάνια που δεν εξοντώνονται εύκολα, όπως η οροβάγχη, η κουσκούτα, ο βέλιουρας κ.α., δε νοικιάζονται εύκολα ή νοικιάζονται σε χαμηλότερη τιμή από άλλα που δεν έχουν αυτά τα ζιζάνια. Επίσης, δηλητηριώδη και αλλεργιογόνα ζιζάνια σε χωράφια απωθούν τους ανθρώπους.

7. Προβλήματα στο αρδευτικό νερό

Η παρουσία φυτών στο αρδευτικό νερό καθώς και ζιζανίων στα κανάλια, εμποδίζουν τη ροή του νερού και ανυψώνουν την στάθμη του υπόγειου νερού στα διπλανά χωράφια. Σε ακραίες περιπτώσεις μπορούν να φράξουν το δίκτυο και να κατακλύσουν με νερό τα γύρω χωράφια. Επομένως είναι προβληματική η παρουσία τους στο αρδευτικό δίκτυο και πρέπει να απομακρύνονται.

8. Ενοχλητική παρουσία ζιζανίων

Τα ζιζάνια στους δρόμους, στις γραμμές των τρένων, στα τηλεφωνικά-ηλεκτρικά δίκτυα, στους βιομηχανικούς χώρους και στους χώρους αναψυχής είναι ενοχλητικά και ανεπιθύμητα.

Πλεονεκτήματα ζιζανίων:

Αν και τα ζιζάνια, είναι επιζήμια για τις καλλιέργειες, σε διαφορετικό τόπο και χρόνο ή για διαφορετικό είδος φυτών, μπορούν να είναι και ωφέλιμα. Μερικές από τις ευεργετικές τους επιδράσεις είναι οι εξής:

1. Χρησιμοποιούνται σαν εδαφοκάλυψη, ώστε να προστατεύουν το έδαφος από τη διάβρωση.
2. Σε περιορισμένο πληθυσμό δημιουργούν ευεργετικό μικροκλίμα, συμβάλλοντας στην ισορροπία των οικολογικών συστημάτων.
3. Με τις ρίζες τους βελτιώνουν τη δομή και τη βιολογική δραστηριότητα του εδάφους και αυξάνουν τη γονιμότητά του.
4. Χημικές ουσίες που παράγονται από ζιζάνια έχουν ευεργετικά αποτελέσματα σε καλλιέργειες (η αγροστεμίνη που παράγεται από το ετήσιο ζιζάνιο γόγγολη (*Agrostemma githago*) αυξάνει την απόδοση και την περιεκτικότητα σε γλουτένη του σιταριού).
5. Προσφέρουν κατοικία σε ωφέλιμα έντομα.
6. Αποτελούν πηγή γενετικού υλικού.
7. Έχουν φαρμακευτικές και αρωματικές ιδιότητες.
8. Χρησιμοποιούνται ως λαχανικά και ως τροφή ζώων.

Τα ζιζάνια, με την ικανότητά τους να αντέχουν και να προσαρμόζονται εύκολα σε διαφορετικούς τύπους εδαφών μπορούν επίσης να λειτουργήσουν ως δείκτες ποιότητας του εδάφους ή και των καλλιεργειών. Έτσι το ζιζάνιο, οξαλίδα (*Oxalis* spp.) υποδεικνύει την έλλειψη ασβεστίου από το έδαφος. Η παρουσία, ενός χαμηλού ζιζανιοτάπητα σε ελαιώνες που βρίσκονται σε επικλινή εδάφη, εμποδίζει τη διάβρωση, την απομάκρυνση δηλαδή του γόνιμου επιφανειακού εδάφους με τις βροχές. Το φυτό *Inula* spp. (ακόνυζα) μπορεί να χρησιμοποιηθεί στο βιολογικό έλεγχο του δάκου των ελαιών. Η παρουσία του βαθύρριζου ζιζανίου βλήτο (*Amaranthus* spp), μπορεί να βοηθήσει ένα άγονο έδαφος γιατί όπως αναπτύσσεται μετακινεί θρεπτικά στοιχεία προς τα ανώτερα στρώματα του εδάφους. Στη συνέχεια με την αποσύνθεση του ριζικού του συστήματος, δημιουργεί διόδους για την κυκλοφορία του αέρα και του νερού.

Το ζιζάνιο, αγριάδα (*Cynodon dactylori*), που αναπτύσσεται με τα ριζώματά του επιφανειακά, τείνει να καλύψει την επιφάνεια του εδάφους προστατεύοντάς το από τη διάβρωση και ευνοώντας παράλληλα, την ανάπτυξη των ωφέλιμων οργανισμών του χώματος (μικρόβια, γαιοσκώληκες).

Σε γενικές γραμμές ισχύει πως όσο μεγαλύτερη είναι η ποικιλότητα ενός οικοσυστήματος τόσο πιο σταθερό είναι. Όσο εντονότερη είναι η διαταραχή που έχει επέλθει σε έναν καλλιεργούμενο αγρό (μονοκαλλιέργεια, γυμνό έδαφος), τόσο μεγαλύτερο θα είναι και το πρόβλημα των ζιζανίων ώστε με φυσικό τρόπο να αποκατασταθεί η γονιμότητα του εδάφους.

Η διατροφική αξία των ζιζανίων ως λαχανευόμενων (όπως για παράδειγμα η αντράκλα) είναι επίσης υψηλή. Οι φυτικές ίνες που περιέχουν είναι απαραίτητες για την πέψη και την ομαλή λειτουργία του εντέρου. Περιέχουν μεταλλικά στοιχεία (ασβέστιο, σίδηρο, κάλιο, νάτριο, μαγνήσιο, μαγγάνιο), βιταμίνες του συμπλέγματος Β, βιταμίνη C, προβιταμίνη Α (καροτίνη) και άλλες ουσίες απαραίτητες για τον οργανισμό μας (Παπούλιας 1999).

Τα άγρια χόρτα δεν επιβαρύνουν τον οργανισμό με λίπη. Η περιεκτικότητά τους σε υδατάνθρακες και πρωτεΐνες είναι χαμηλή, χωρίς να αποτελούν τη βάση της διατροφής μας, όμως τη συμπληρώνουν. Τα περισσότερα από τα άγρια χόρτα έχουν φαρμακευτικές ιδιότητες και είναι δυνατό να βελτιώσουν την υγεία μας ή να συμβάλλουν στην αποκατάστασή της (Vardavas, 2005).

Κεφάλαιο 1: Αντράκλα

Η αντράκλα (*Portulaca oleracea* L.) είναι ένα ετήσιο, ποώδες και δικοτυλήδονο ζιζάνιο που εμφανίζεται σε πολλές αρδευόμενες καλλιέργειες αλλά και σε ακαλλιέργητους αγρούς. Ανήκει στο γένος *Portulaca* και στο είδος *oleracea* της οικογένειας *Portulacaceae*. Στην οικογένεια περιλαμβάνονται περίπου 19 γένη και 580 είδη. Αντιπροσωπεύεται καλύτερα στη Βόρειο και τη Ν. Αμερική. Στην Αυστραλία και στις Η.Π.Α., καλείται *rigweed* (έχει χρησιμοποιηθεί ως τροφή χοίρων), αλλά και *purslane*, ενώ στην Γαλλία καλείται *rouquier potager*. Στην Ελλάδα η αντράκλα αποτελεί το 13^ο, κατά σειρά σπουδαιότητας, ζιζάνιο (Δαμανάκη Μ. Ε., 1979). Έχει αναφερθεί ότι εμφανίζεται σε εκτάσεις που καλλιεργούνται αραβόσιτος, βαμβάκι, σακχαρότευτλα, καπνός, λαχανικά, τομάτα, πατάτα, εσπεριδοειδή αλλά και σε ελαιώνες.

Γνωστή και ως αντράκλα, ανδράχλη, τρέβλα και χοιροβότανο, η γλιστρίδα καλλιεργείται, επίσης, ως λαχανικό (υποείδος *sativa*) σε ορισμένες περιοχές του κόσμου (Καββάδας 1956). Η μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα, έχει καταστήσει την γλιστρίδα (*Portulaca oleracea*) να θεωρείται ως ένα σύμπλεγμα ειδών ή υποειδών.

Ως ζιζάνιο, θεωρείται σημαντικό πρόβλημα σε πολλές καλλιέργειες. Αρέσκειται σε πλήρη ηλιοφάνεια και στις υψηλές θερμοκρασίες. Προσαρμόζεται σε όλα τα είδη εδάφους και ιδανικές είναι οι θερμοκρασίες 30° – 40° C. Αναπαράγεται με σπόρο και με τμήματα των χοντρών σαρκωδών στελεχών του (υπέργειοι βλαστοί). Όταν φυτρώνει την άνοιξη, το ζιζάνιο ανθίζει και καρπίζει τον Μάιο ή στις αρχές του επόμενου μήνα. Το ζιζάνιο έχει ύψος περίπου 20-40 cm. Ο βλαστός είναι λείος, έρπει στο έδαφος, είναι σαρκώδης με διακλαδώσεις κοντά στη βάση και συχνά είναι ερυθρόχρους. Τα φύλλα βρίσκονται κατ' εναλλαγή ή σχεδόν αντίθετα συχνότερα δε απαντώνται στο τελείωμα των βλαστών. Είναι λεία και στερούνται μίσχου. Τα άνθη είναι κίτρινα και μικρά, με 5-6 πέταλα χωρίς ποδίσκο, βρίσκονται στις μασχάλες των φύλλων ή στα σημεία διακλαδώσεων του βλαστού. Αργότερα εξελίσσονται σε σφαιροειδείς κάψες με πολλούς μικρούς, μαύρους και γυαλιστερούς σπόρους (Εικόνα 1).



Εικόνα 1: Αντράκλα

Παράγει πάνω από 10000 σπόρους ανά φυτό όπου τα σπόρια μπορεί να μείνουν αδρανή σε μία απόσταση κάποιων μέτρων από το φυτό. Μεταφέρονται με το νερό, τα μηχανήματα και τα περιττώματα ζώων. Τα σπόρια θα βλαστήσουν σταδιακά ενώ κάποια θα μπουκ σε λήθαργο και μόλις βρουν τις ιδανικές συνθήκες θα βλαστήσουν.

Επειδή η αντράκλα αναπτύσσεται σε μεγάλους πληθυσμούς, δημιουργεί πολλά προβλήματα, ιδιαίτερα σε αρδευόμενες καλλιέργειες. Θεωρείται έντονα ανταγωνιστικό ζιζάνιο για τις καλλιέργειες γιατί αφαιρεί από το έδαφος μεγάλες ποσότητες υγρασίας και θρεπτικών στοιχείων. Με τον τρόπο αυτό προκαλεί σοβαρή μείωση των αποδόσεων αλλά και υποβάθμιση της ποιότητας των προϊόντων όταν υπάρχει σε υψηλές πυκνότητες μέσα σε καλλιέργειες. Επιπλέον, αποτελεί ενδιάμεσο ξενιστή παθογόνων, εντόμων και νηματωδών που μπορεί να προκαλέσουν ασθένειες ή να προσβάλουν τα καλλιεργούμενα φυτά. Δύσκολα αντιμετωπίζεται και εμφανίζεται από τον Απρίλιο έως τον Σεπτέμβριο σε καλλιέργειες ψυχανθών (σόγια, φασόλι), και κηπευτικών (τομάτα, μελιτζάνα, πιπεριές, σπανάκι). Απομακρύνονται από το χωράφι, χειρωνακτικά, με μηχανικά μέσα (σβάρνα) αποφεύγοντας το πότισμα ώστε να ξεραθεί ή με καθολικά ζιζανιοκτόνα όταν βρίσκεται στις άκρες των χωραφιών, σε ακαλλιέργητα χωράφια είτε σε κανάλια. Επιπλέον, καταπολεμάται, με προφυτρωτικά ή με μεταφυτρωτικά ζιζανιοκτόνα όταν είναι νεαρό φυτό και ανάλογα με το στάδιο της καλλιέργειας.

Οι ποικιλίες της αντράκλας διακρίνονται στις παρακάτω:

1. Αντράκλα πράσινη, με φύλλα πιο μεγαλύτερα και χονδρότερα παρά ή αυτοφυής γριά.
2. Αντράκλα ωχρή, με φύλλα ωχρόλευκα.
3. Αντράκλα ωχρή πλατιά, με φύλλα φαρδιά κιτρινωπά, ή οποία θεωρείται και ως καλλίτερη για καλλιέργεια.

Εδαφικές απαιτήσεις

Η αντράκλα ευδοκιμεί σε εκτάσεις ποτιστικές αλλά και σε διαβρωμένες πλαγιές με υψόμετρο μέχρι 2.700 m. Προτιμά ανοικτό περιβάλλον, αλλά ευδοκιμεί και σε εδάφη με αρκετή υγρασία, χαλαρά αλλά και πλούσια σε θρεπτικά στοιχεία. Γενικά δεν αντιμετωπίζει πρόβλημα ανάπτυξης σε οποιοδήποτε έδαφος, αλλά τα πλούσια εδάφη, με διαθέσιμη υγρασία και ηλιακό φως, είναι εκείνα στα οποία το ζιζάνιο αναπτύσσεται καλύτερα.

Κλιματικές απαιτήσεις

Η αντράκλα, δεν ανέχεται πολλές βροχοπτώσεις, καθώς η ανάπτυξή της δυσχεραίνεται. Απαιτεί μακρά φωτοπερίοδο (φυτό μεγάλης ημέρας) και ο αριθμός των σπόρων που παράγει βρίσκεται σε συσχέτιση με τα ποσοστά φωτός που λαμβάνουν οι σπόροι. Το ζιζάνιο είναι ανεκτικό στην ένταση φωτός, στην μείωση της θερμοκρασίας και στους διαφόρους τύπους εδάφους. Τα φυτά παράγουν σπόρους ανάλογα με την επίδραση των παραπάνω παραγόντων.

Βιολογικός κύκλος

Ο βιολογικός της κύκλος, ολοκληρώνεται σε 2 έως 3,5 μήνες σε τροπικά κλίματα το ίδιο δε χρονικό διάστημα ισχύει και στην εύκρατη ζώνη όταν επικρατούν υψηλές θερμοκρασίες. Αντίθετα σε ήπιο καιρό ή σε περιόδους βροχοπτώσεων ο βιολογικός κύκλος είναι δυνατόν να διαρκέσει 4 μήνες.

Φύτρωμα

Το φύτρωμα ολοκληρώνεται σε μια ημέρα σε θερμοκρασία 30° C - 40° C. Σε θερμοκρασίες 10°C-20°C το φύτρωμα απαιτεί 2 ημέρες. Χρονικά το φύτρωμα εντοπίζεται κυρίως στα τέλη της άνοιξης με αρχές καλοκαιριού ιδιαίτερα μετά από άρδευση ή βροχόπτωση.

Άνθηση

Η αντράκλα ανθίζει όταν έχει αποκτήσει 10-12 φύλλα τα οποία χρονικά εκπύσσονται σε 1 μήνα και πραγματοποιείται τους μήνες Ιούλιο-Σεπτέμβριο. Στο Βόρειο τμήμα των ΗΠΑ η άνθηση και η μετατροπή του άνθους σε καρπό γίνεται,

τους μήνες Ιούνιο και Ιούλιο. Υπάρχει όμως και η περίπτωση να αρχίσει τον Απρίλιο στις νοτιότερες περιοχές.

Διασπορά

Οι σπόροι του ζιζανίου διαδίδονται με τον άνεμο, με το νερό αλλά και με τους σπόρους που έπεσαν στο χωράφι κατά τη διάρκεια της συγκομιδής. Ολόκληρα φυτά τα οποία εξήλθαν του εδάφους μπορούν να επιζήσουν για μεγάλο χρονικό διάστημα ενώ παράλληλα υπάρχει η δυνατότητα να εκπύξουν και πάλι ρίζα, γεγονός που οδηγεί στην επανεγκατάστασή τους στην ίδια ή και σε άλλη περιοχή. Στην αντράκλα παρατηρείται το φαινόμενο της δυνατότητας της ωρίμανσης των σπόρων ακόμα και από φυτά που εκριζώθηκαν πρόωρα και αφέθηκαν στον αγρό.

Βλάστηση

Οι σπόροι αρχίζουν να βλαστάνουν εντός 12 ωρών μετά την εμβάπτισή τους στο νερό. Αν και η βλάστηση λαμβάνει χώρα σε συνθήκες φωτός αλλά και σκοταδιού δεν υπάρχει συμφωνία σε ότι αφορά τη φύση και την έκταση του λήθαργου έτσι ώστε να είμαστε σίγουροι ότι μερικοί σπόροι θα μπορέσουν να βλαστήσουν εύκολα μετά την ωρίμανση. Για τη βλάστηση στο εργαστήριο, οι σπόροι απαιτούν υψηλές θερμοκρασίες. Ικανοποιητική θερμοκρασία για την έκπτυξη του φυτού θεωρείται αυτή των 30°C-40°C για χρονικό διάστημα μίας ημέρας. Γενικά όλοι οι σπόροι είναι βιώσιμοι, δηλαδή ικανοί να φυτρώσουν, αλλά από αυτούς βλαστάνουν μόνο εκείνοι που βρίσκονται στις κατάλληλες συνθήκες (Egley, 1990). Κατάλληλες συνθήκες θεωρούνται το μαλακό περίβλημα των σπόρων ή ότι αυτοί δεν βρίσκονται σε λήθαργο.

Έρευνες έχουν δείξει πως σε περίπτωση που οι σπόροι του ζιζανίου είναι σε λήθαργο και η βλάστηση δεν είναι εφικτή με φυσικές μεθόδους, είναι δυνατό να προαχθεί η βλάστησή τους με χρήση αιθυλενίου σε συνδυασμό με νιτρικό και νιτρώδες νάτριο (Egley, 1984). Πιο συγκεκριμένα το αιθυλένιο, σε συνδυασμό με το νιτρώδες νάτριο, μπορεί να διευκολύνει την βλάστηση των σπόρων αυξάνοντας την ευαισθησία τους σε κάθε επέμβαση. Επιπλέον, η αποθήκευση των σπόρων σε υγρό ή μη, περιβάλλον μπορεί να διακόψει το λήθαργο και να βοηθηθεί η βλάστηση.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση της βλάστησης του σπόρου είναι:

1. Φως, που απαιτείται για τη βλάστηση.

2. Περιοχή προέλευσης του σπόρου, με όσους προέρχονται από τα Ηνωμένα Αραβικά Εμιράτα να έχουν μικρό βαθμό λήθαργου και να βλαστάνουν σε μικρότερο χρόνο από αυτούς που προέρχονται από τον Καναδά.
3. Εποχή παραγωγής και ωρίμανσης του σπόρου. Το ποσοστό βλάστησης αναφέρεται σημαντικά υψηλότερο για σπόρους που συλλέγονται Μάιο και Νοέμβριο, ενώ η ταχύτητα βλάστησης είναι μεγαλύτερη για όσους συλλέγονται Μάιο και Αύγουστο. Οι απαιτήσεις σε φως και θερμοκρασία, εξαρτώνται από την τοποθεσία και το χρόνο ωρίμανσης του σπόρου. Έτσι οι σπόροι από τον Καναδά και τα Ηνωμένα Αραβικά Εμιράτα χρειάζονται φως και υψηλή θερμοκρασία για τη βλάστησή τους.
4. Ηλικία του σπόρου
5. Βάθος σποράς που σε γενικές γραμμές εξαρτάται από το μέγεθος του σπόρου. Σπόροι με μικρό μέγεθος όπως της αντράκλας, φυτεύονται σε μικρά βάθη (0,5-2 cm), αντίθετα από σπόρους με μεγάλα μεγέθη που φυτεύονται σε βάθη 6-8cm (Rubin and Benjamin, 1984). Σε βάθη 8-10cm, η βλαστικότητα του ζιζανίου μηδενίζεται.

Ως μονοετές λαχανικό, η αντράκλα καλλιεργείται εύκολα. Ευδοκίμει σε μέρη δροσερά, σύσκια και καλοκοπρισμένα. Η σπορά γίνεται αργά, κατά τον Απρίλιο-Μάιο, αφού ο καιρός ζεστάνει καλά. Οι σπόροι ρίχνονται στα πεταχτά ανακατεμένοι με λίγο χώμα ή με λεπτή άμμο και σκεπάζονται μόλις 1-2 mm με καλά κοσκινισμένο φυτόχωμα. Κατόπιν, πατιούνται ελαφρά και ραντίζονται συχνά, καθ' εκάστη, μέχρις ότου βλαστήσουν. Όταν προχωρήσει η ανάπτυξη των νεαρών φυτών, πρέπει να αραιώνονται, αν είναι πολύ πυκνά και να σκαλίζονται 1-2 φορές τουλάχιστο στην αρχή, πριν σκεπαστεί το μέρος.

Οι υπόλοιπες περιποιήσεις συνίστανται στα αναγκαία ποτίσματα, τα οποία πρέπει να είναι τακτικά και άφθονα, για να μη σκληρύνουν τα φύλλα από την ξηρασία. Η συγκομιδή αρχίζει μετά 1-1,2 μήνα από τη σπορά και, είτε διαλέγονται και κόβονται οι μεγαλύτεροι βλαστοί, καθ' όσον αναπτύσσονται για να γίνουν άλλοι ή ξεριζώνονται ολόκληρα τα φυτά. Οι σπόροι, για να είναι καλοί, πρέπει να μαζεύονται από τις ζωηρότερες και πλατύφυλλες μάνες και από τούς πρώτους καρπούς που γίνονται και ωριμάζουν.

Η *Portulaca oleracea* περιέχει αντιοξειδωτικά στοιχεία, πρωτεΐνες, ασκορβικό οξύ, β-καροτίνη, αλκαλοειδή, dopamine, γλουταθιόνη, αλανίνη β-κυανίνη και

αμινοξέα και έχει ιδιότητες στυπτικές. Επιπλέον, η αντράκλα αποτελεί μια από τις πιο πλούσιες πηγές σε Omega-3 λιπαρά οξέα, ανάμεσα στα πράσινα φυτά. Περιέχει δε και χαμηλά ποσοστά χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων. Αυξάνει την ωφέλιμη πυκνότητα σε λιποπρωτεΐνη, ελαττώνοντας ταυτόχρονα την πήξη του αίματος αλλά και μειώνοντας το σύνολο των αιμοπεταλίων. Ταυτόχρονα αποτελεί και μια καθαρή πηγή βιταμίνης C αλλά και ασβεστίου (Ca). Τα λιπαρά οξέα είναι βασικά για την ανάπτυξη και εξέλιξη του φυτού καθώς επίσης και ευεργετικά για τον άνθρωπο καθώς προστατεύουν από πολλές ασθένειες. Περιέχει σε σημαντικές ποσότητες μαγνήσιο, φαινυλαλανίνη και κάλιο. Αποδεδειγμένα επίσης στο φυτό περιέχονται δύο ουσίες που του προσδίδουν και φαρμακευτικές ιδιότητες. Η μια από αυτές είναι η dopamine που χρησιμοποιείται ευρέως στην ασθένεια του Parkinson. Η δεύτερη είναι η noradrenaline η οποία χρησιμοποιείται κατά της αναφυλαξίας από τσιμπήματα μελισσών. Η ποσότητα των συστατικών αυτών, που περιέχονται στο φυτό, ποικίλει ανάλογα με τις συνθήκες ανάπτυξης (έδαφος, κλίμα) αλλά και την ηλικία του φυτού.

Η αντράκλα περιέχει ακόμα εκατοντάδες, ενεργές βιολογικά, ενώσεις, που κάποιες φορές είναι ανταγωνιστικές. Από τα βιολογικά συστατικά τα οποία περιέχονται σε αυτό το ζιζάνιο, το ανθρώπινο σώμα επιλέγει αυτά που χρειάζεται περισσότερο. Περιέχει επίσης σπουδαίο αριθμό θρεπτικών στοιχείων, γεγονός που την καθιστά ικανή στην καταπολέμηση μερικών ασθενειών.

Ταυτόχρονα, αποδεδειγμένα αποτελεί πλούσια πηγή λινολεϊκού οξέος, το οποίο βρίσκεται στα φύλλα και είναι πρόδρομος μιας συγκεκριμένης ομάδας ορμονών οι οποίες ίσως να καταπολεμούν διάφορες ασθένειες, κάποιες μορφές καρκίνου αλλά και χρόνιες ασθένειες. Σε σύγκριση με άλλα λαχανικά, τα οποία έχουν εξετασθεί, η αντράκλα περιέχει υψηλότερα ποσοστά από το οξύ αυτό.

Από φαρμακευτικής απόψεως η αντράκλα χρησιμοποιείται από τα πολύ παλιά χρόνια. Στην Αρχαία Ελλάδα χρησιμοποιείται ως καθαρτικό. Πιστεύεται επίσης ότι ο χυμός του φυτού αυτού μπορεί να χρησιμοποιηθεί με τη μορφή σταγόνας στα μάτια, αλλά και ενάντια σε ασθένειες ορισμένων φυτών. Πιστεύεται ότι βοηθά στις ασθένειες του δέρματος, ως τονωτικό για τη καρδιά αλλά και για τη θεραπεία της σύφιλης. Επειδή περιέχει, όπως προαναφέρθηκε, υψηλά ποσά σε Omega-3 λιπαρά οξέα, βοηθά το σώμα στο να αναπτύξει μηχανισμούς οι οποίοι καταπολεμούν την αρτηριακή πίεση, την εμφάνιση θρομβώσεων, αποτρέπουν τις φλεγμονές ενώ παράλληλα μειώνουν την χοληστερόλη. Επίσης τα οξέα αυτά αποτρέπουν την εμφάνιση κάποιων μορφών καρκίνου και ελέγχουν τους στεφανιαίους σπασμούς.

Τελευταίες μελέτες προτείνουν ότι τα παραπάνω οξέα μπορεί να έχουν θετικά αποτελέσματα στον εγκέφαλο και ίσως να μπορούν να βοηθήσουν, υπό προϋποθέσεις, στην νόσο Αλτσχάϊμερ. Το γεγονός ότι η αντράκλα εντάσσεται στα C4 φυτά αλλά και η αποδοτικότητά της σε νερό, οδηγεί κάποιους στην υποστήριξη της άποψης, ότι το φυτό αυτό αποτελεί τροφή του μέλλοντος (<http://purslaneask.com/benefits.htm>).

Αν και είναι αποδεκτό ότι το ζιζάνιο αυτό περιέχει πολλά θρεπτικά στοιχεία και είναι ευχάριστο στη γεύση, έχει διαπιστωθεί ότι μπορεί να περιέχει και κάποιες τοξικές ουσίες, όπως νιτρικό νάτριο και οξαλικό οξύ, που μπορεί να είναι τοξικά όταν καταναλώνονται από κατοικίδια ζώα. Παρ' όλα αυτά, δεν έχει παρατηρηθεί κάποιο δηλητηριώδες σύμπτωμα σε ζώα, τα οποία τράφηκαν με αρκετά μεγάλες ποσότητες φύλλων και βλαστών αντράκλας. Στις περιπτώσεις αυτές στο ζιζάνιο δεν βρέθηκε κάποιο τοξικό στοιχείο (περιοχή Βόρειας Αμερικής).

Στην Αυστραλία εντοπίστηκαν περιπτώσεις δηλητηριάσεων στα πρόβατα και στα κατοικίδια ζώα, οπότε διεκόπη η τροφή τους με το φυτό αυτό, για αρκετό καιρό και έπειτα όταν το φυτό ήταν νόστιμο επετράπη ξανά η κατανάλωσή του. Οι δηλητηριάσεις συνδέονταν με αρκετά μεγάλα ποσά οξαλικού και νιτρικού οξέος που διαπιστώθηκε ότι υπήρχαν στο φυτό. Φυτά με τέτοιες ιδιότητες είναι δυνατόν να αναπτυχθούν σε εδάφη πλούσια σε άζωτο, αλλά και σε αργιλώδη εδάφη, όταν υπάρξει πλούσια ανάπτυξη λόγω καλής βροχής, η οποία σημειώθηκε μετά από μια παρατεταμένη περίοδο ξηρασίας. Πειράματα που έγιναν (Palaniswamy and Bible 2000) έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις του οξαλικού οξέος ήταν υψηλότερες στα φύλλα και τους μίσχους του φυτού, τα οποία αναπτύχθηκαν σε θρεπτικά διαλύματα χωρίς καθόλου αμμωνιακό άζωτο, χαμηλότερες σε θρεπτικό διάλυμα με 75% αμμωνιακό άζωτο, ενώ το ίδιο συνέβη όταν η αναλογία ήταν 75% αμμωνιακό άζωτο και 25% νιτρικό άζωτο.

Τα φύλλα της αντράκλας είχαν 40% μεγαλύτερη συγκέντρωση οξαλικού οξέος από αυτή που υπήρχε στους μίσχους. Από τα ίδια πειράματα προκύπτει ότι η συγκέντρωση του οξαλικού οξέος στα φύλλα και τους μίσχους του φυτού, μειώθηκε με την αύξηση των επιπέδων του αμμωνίου (NH_4^+). Παρ' όλα αυτά το αμμωνιακό άζωτο, ως η μοναδική πηγή αζώτου κάνει πιο όξινη τη ριζόσφαιρα, γεγονός που οφείλεται στην έκκριση H^+ από τις ρίζες του φυτού, με πιθανό αποτέλεσμα να είναι βλαβερό για την ανάπτυξη του φυτού.

Οι υψηλές συγκεντρώσεις οξαλικού οξέος οι οποίες παρατηρούνται στα φύλλα και τους μίσχους του φυτού, αυξάνονται με το νιτρικό νάτριο, όταν αυτό αποτελεί την μοναδική πηγή αζώτου. Παράλληλα δεν είναι εύκολο να βρεθούν καλλιεργητικοί τρόποι οι οποίοι θα μπορούσαν να μειώσουν τις συγκεντρώσεις του οξέος αυτού, στα φυτά της αντράκλας.

Πιθανή λύση αποτελεί ένα θρεπτικό διάλυμα 75% σε άζωτο το οποίο εάν χορηγηθεί με την μορφή αμμωνίου, ίσως να μειώσει τις συγκεντρώσεις του οξαλικού οξέος στα φύλλα του φυτού με αποτέλεσμα αυτό να γίνει μια πιο ωφέλιμη τροφή. Τελικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις οξαλικού οξέος και υψηλότερες συγκεντρώσεις ωμέγα-3 λιπαρών οξέων ίσως βελτιώσουν την θρεπτική αξία του φυτού.

1.1 Καλλιέργεια και λίπανση των λαχανικών

Τα φυτά προσλαμβάνουν από το περιβάλλον τους τα ανόργανα συστατικά που χρειάζονται ώστε να συνθέσουν τις απαραίτητες γι' αυτά ενώσεις (Taiz & Zeiger, 1991), (Δροσόπουλος, 1992). Τα απαραίτητα για τη ζωή των φυτών ανόργανα θρεπτικά στοιχεία, βρίσκονται στα διάφορα όργανά τους σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Τα θρεπτικά στοιχεία συμβάλλουν με πολλούς τρόπους στην ανάπτυξη και αποδοτικότητα των φυτών. Ταυτόχρονα όμως βοηθούν και στην ικανότητα των φυτών να αμύνονται αποτελεσματικά σε προσβολές παθογόνων μικροοργανισμών. Τα ανόργανα θρεπτικά στοιχεία που προσλαμβάνουν τα φυτά και χαρακτηρίζονται ως απαραίτητα είναι:

1. Μακροστοιχεία: Άνθρακας (C), υδρογόνο (H), οξυγόνο (O), άζωτο (N), φώσφορος (P), κάλιο (K), ασβέστιο (Ca), μαγνήσιο (Mg) και θείο (S).
2. Ιχνοστοιχεία, σίδηρος (Fe), μαγγάνιο (Mn), ψευδάργυρος (Zn), χαλκός (Cu), μολυβδαίνιο (Mo), βόριο (B) και χλώριο (Cl).

Τα μακροστοιχεία βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στους φυτικούς ιστούς αλλά επίσης είναι απαραίτητα σε μεγάλες σχετικά συγκεντρώσεις στο έδαφος. Τα ιχνοστοιχεία, αντίθετα, χρειάζονται για την καλή ανάπτυξη των φυτών σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, της τάξεως των μερικών ppm (Δροσόπουλος, 1992).

Υψηλή συγκέντρωση των μακροστοιχείων (γεγονός που δε συνηθίζεται στη φύση), μπορεί να αποβεί τοξική για τα φυτά. Επίσης και οι μεγάλες ποσότητες ιχνοστοιχείων δρουν τοξικά και προκαλούν δηλητηριάσεις στα φυτά. Σε περίπτωση, ωστόσο, που υπάρχει έλλειψη ιχνοστοιχείων στο έδαφος, τα φυτά δεν αναπτύσσονται κανονικά και εμφανίζονται χαρακτηριστικά συμπτώματα και μορφολογικές

αλλοιώσεις. Για να χαρακτηριστεί ένα στοιχείο ως απαραίτητο, θα πρέπει να ικανοποιούνται τα παρακάτω κριτήρια:

1. Η έλλειψή του να καθιστά αδύνατη τη συνέχιση του βιολογικού κύκλου του φυτού.
2. Η δράση του θρεπτικού αυτού στοιχείου να είναι ειδική και να μην μπορεί να αντικατασταθεί από άλλο θρεπτικό στοιχείο.
3. Η δράση του θρεπτικού στοιχείου να είναι άμεση και όχι έμμεση (Νιαβής, 1981).

Αξίζει να σημειώσουμε πως ορισμένα στοιχεία ικανοποιούν τα παραπάνω κριτήρια για ορισμένα μόνο είδη φυτών με αποτέλεσμα να θεωρούνται απαραίτητα μόνο για αυτά. Στα στοιχεία αυτά περιλαμβάνονται τα: Νάτριο (Na), Κοβάλτιο (Co), Βαννάδιο (V), Πυρίτιο (Si), Σελήνιο (Se), Γάλλιο (Ga), Αργίλιο (Al) και ιώδιο (I) (Δροσόπουλος, 1992).

Η επιδιωκόμενη απόδοση μιας καλλιέργειας καθώς και η επιθυμητή ποιότητα και χρήση του παραγόμενου προϊόντος, σε συνδυασμό με τις εδαφικές ιδιότητες και τις κλιματικές συνθήκες του καλλιεργούμενου αγρού, καθορίζουν την ποσότητα και το είδος των θρεπτικών στοιχείων που απαιτείται να προστεθούν μέσω της λίπανσης σε μια καλλιέργεια, προκειμένου να έχουν τα καλύτερα αποτελέσματα.

Η ποιότητα σε πολλά λαχανικά εξαρτάται από διάφορα χαρακτηριστικά, όπως από την τρυφερότητα των βλαστών και των φύλλων τους και το μέγεθος των εδώδιμων μερών τους που προϋποθέτουν την καλλιέργειά τους σε εδάφη με ικανοποιητική υγρασία και περιεκτικότητα σε διαθέσιμα θρεπτικά στοιχεία. Στα γεωργικά οικοσυστήματα επειδή τα προϊόντα μιας καλλιέργειας απομακρύνονται από το χώρο όπου υπάρχει η καλλιέργεια, είναι φανερό ότι μαζί απομακρύνονται και τα ανόργανα θρεπτικά στοιχεία, τα οποία παρέλαβαν τα φυτά από το έδαφος. Έτσι, είναι απαραίτητη η συνεχής ανανέωση και ο εμπλουτισμός του εδάφους με τα στοιχεία αυτά, ώστε να είναι δυνατή η διατήρηση αλλά και βελτίωση της γονιμότητας του εδάφους. Η ένταση της λίπανσης εξαρτάται από τη στάθμη των υπάρχοντων θρεπτικών στοιχείων στο έδαφος, καθώς επίσης και από τις απαιτήσεις των φυτών και τις αναμενόμενες αποδόσεις. Η σύγχρονη γεωργία απαιτεί πολύ υψηλές αποδόσεις και αυτό βασίζεται μεταξύ άλλων στη διασφάλιση άριστης διατροφής των φυτών μέσω της εντατικής λίπανσης. Ο βέλτιστος χρόνος εφαρμογής της λίπανσης, ώστε τα θρεπτικά στοιχεία να είναι διαθέσιμα για να καλύψουν τις ανάγκες της καλλιέργειας

σε όλα τα στάδια ανάπτυξής της, αποτελεί καθοριστικό παράγοντα επιτυχίας της παραγωγικής διαδικασίας. Παράλληλα, η προσθήκη της κατάλληλης ποσότητας λιπάσματος και των απαραίτητων θρεπτικών στοιχείων, τόσο στα αρχικά στάδια της καλλιέργειας όσο και κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των φυτών, εξασφαλίζει αυξημένη παραγωγή ποιοτικών προϊόντων.

Ο προσδιορισμός των εδαφικών ιδιοτήτων και των διαθέσιμων θρεπτικών στοιχείων και η γνώση της θρεπτικής κατάστασης των καλλιεργειών συνιστούν πολύτιμα εργαλεία για τον παραγωγό προκειμένου να επιτευχθούν οι στόχοι του, δηλαδή μεγάλη παραγωγή και υψηλή ποιότητα. Για τον λόγο αυτόν, συνιστάται πριν από τη λίπανση να πραγματοποιείται εδαφολογική ανάλυση και, όπου απαιτείται, φυλλοδιαγνωστική ανάλυση, ώστε να προσδιορίζονται τα διαθέσιμα θρεπτικά στοιχεία και να προγραμματίζεται με ακρίβεια το σχέδιο ορθολογικής λίπανσης.

Η λίπανση των φυτών γίνεται με προσθήκη οργανικής ουσίας φυτικής ή ζωϊκής προέλευσης και με προσθήκη φωσφορικών αλάτων, καλιούχων λιπασμάτων K_2SO_4 ή KCl , καθώς και αζωτούχων λιπασμάτων υπό μορφή νιτρικών αλάτων όπως $Ca(NO_3)_2$ $NaNO_3$, KNO ή αμμωνιακών αλάτων όπως $(NH_4)_2 SO_4$ (Νιαβής, 1981).

Όσον αφορά στο βασικότερο από τα τρία μακροστοιχεία, το άζωτο (N), αρκετές μελέτες συμφωνούν στο ότι η λάθος εφαρμογή αζωτούχου λίπανσης αυξάνει την ευπάθεια των καλλιεργειών σε έντομα και ασθένειες. Πιο συγκεκριμένα, υπό συνθήκες αφθονίας αζώτου οι φυτικοί ιστοί γίνονται μαλακότεροι, διότι οι υδατάνθρακες μετασχηματίζονται σε πρωτεΐνες πάρα σε ουσίες ενίσχυσης-κατασκευής κυτταρικών τοιχωμάτων. Εκτός των άλλων, η υψηλή συγκέντρωση αζώτου μειώνει τη σύνθεση κάποιων ουσιών, όπως οι λιγνίνες και οι φαινόλες, που συμμετέχουν στην άμυνα του φυτού. Έτσι λοιπόν γίνεται εύκολα σαφές πως όλα τα παραπάνω επιδρούν σημαντικά στην ωρίμανση των φυτών όπως και στη βλαστική περίοδο, χρονικά σημεία κατά τα οποία τα φυτά καθίστανται ευπαθή σε προσβολές από παθογόνα. Από την άλλη, τα φυτά που υποφέρουν από έλλειψη αζώτου είναι ασθενικά και ωριμάζουν γρηγορότερα, με συνέπεια να είναι περισσότερο ευπαθή σε προαιρετικά παράσιτα.

1.2 Λίπανση με αζωτούχα λιπάσματα

Το άζωτο κατέχει πρωταγωνιστικό ρόλο στον έλεγχο της βλάστησης και της καρποφορίας. Σε κάθε περίπτωση όμως, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η αρνητική επίδραση που μπορεί να έχει καθώς και η περιβαλλοντική ρύπανση που προκαλεί.

Σημαντικοί παράμετροι που πρέπει να ελέγχονται κατά τη χρήση αζωτούχων λιπασμάτων, είναι η ποσότητα, η εποχή, ο τρόπος εφαρμογής και ο τύπος του λιπάσματος.

Ποσότητα: Στη χώρα μας παρατηρείται υπερβολική χρήση των αντίστοιχων λιπασμάτων αν και τα τελευταία χρόνια μειώνονται οι αντίστοιχες ποσότητες. Η σωστή ποσότητα εξαρτάται από το είδος της καλλιέργειας και τη γονιμότητα του εδάφους.

Εποχή εφαρμογής: Σε γενικές γραμμές δεν ενδείκνυται η προσθήκη αζωτούχων λιπασμάτων πολύ πριν τη βλαστική ανάπτυξη των φυτών. Συνιστώμενη εποχή είναι αυτή της έντονης βλάστησης ώστε το άζωτο (νιτρικής ή αμμωνιακής μορφής) να διαλυθεί και να φτάσει γρήγορα στο ενεργό μέρος του ριζικού συστήματος. Κύριος άξονας για την εφαρμογή του λιπάσματος είναι το γεγονός πως κατά την άνθηση και στην αρχή της βλάστησης, οι ανάγκες των φυτών για άζωτο είναι μεγάλες. Αντίθετα, κατά τη συγκομιδή δε θα πρέπει να υπάρχει υψηλή συγκέντρωση αζώτου γιατί μειώνεται η ποιότητα των καρπών και δυσχεραίνεται η συντήρησή τους.

Τρόπος εφαρμογής: Συνήθως, το άζωτο χορηγείται στο έδαφος και μόνο κατά τους ψεκασμούς του φθινοπώρου στα φύλλα. Στο έδαφος εφαρμόζεται είτε σε στερεά μορφή, είτε με υδρολίπανση. Η τελευταία, δίνει καλύτερα αποτελέσματα με την ελάχιστη δυνατή ποσότητα λιπάσματος. Σε γραμμικές φυτεύσεις η εφαρμογή γίνεται στις γραμμές φύτευσης.

Τύποι αζωτούχων λιπασμάτων: Ανάλογα με το pH του εδάφους εφαρμόζονται όξινα ή αλκαλικά λιπάσματα. Το βέλτιστο όξινο λίπασμα είναι η θειική αμμωνία και το περισσότερο αλκαλικό, είναι η κυαναμίδη του ασβεστίου. Ο τύπος του εδάφους και η μηχανική του σύσταση, προσδιορίζουν επίσης το είδος του λιπάσματος, με αποτέλεσμα σε βαριά και υγρά εδάφη να μην προτιμάται το αμμωνιακό άζωτο. Άλλες σημαντικοί παράμετροι είναι η ηλικία του φυτού και η κατάσταση της βλάστησης για την οποία ισχύει πως τα αμμωνιακά λιπάσματα ευνοούν την καρποφορία και τα νιτρικά τη βλάστηση. Έτσι, φυτά νεαρής ηλικίας με μικρή βλάστηση ή γερασμένα χρειάζονται κυρίως νιτρικά λιπάσματα.

1.3 Τα νιτρικά και η σπουδαιότητά τους

1.3.1 Ρόλος του αζώτου στα φυτά

Το άζωτο (N) συνιστά ένα από τα κυριότερα συστατικά για την ανάπτυξη των φυτών και η πρόσληψή του από αυτά είναι απαραίτητη τόσο για τη σωστή ανάπτυξή τους όσο και για την ομαλή και φυσιολογική λειτουργία τους. Ο τριπλός δεσμός ανάμεσα στα δύο άτομα που αποτελούν το μόριο του αζώτου (N₂) θεωρείται από τους ισχυρότερους στη φύση, με αποτέλεσμα να είναι αδρανές αέριο, ιδιαίτερα σε συνηθισμένες θερμοκρασίες. Είναι κύριο συστατικό των αμινοξέων, των πρωτεϊνών, των νουκλεϊνικών οξέων και αρκετών ενζύμων, καθιστώντας το έτσι απαραίτητο για τα φυτά (Δροσόπουλος, 1992), (Διαμαντίδης, 1990). Επίσης, αποτελεί το βασικό συστατικό όλων των θεμελιωδών συστατικών του πρωτοπλάστη και λαμβάνει ενεργό μέρος στο σχηματισμό του πρωτοπλάσματος και είναι το στοιχείο στο οποίο τα φυτά αντιδρούν άμεσα. Το άζωτο βοηθά στην κανονική ανάπτυξη των φυτών, ιδιαίτερα των φυλλωδών λαχανικών και συντελεί στο σχηματισμό μεγάλων και τρυφερών πράσινων φύλων. Το άζωτο συντελεί στην ανάπτυξη των ριζών. Γι' αυτό τα κονδυλόριζα αφαιρούν τις μεγαλύτερες ποσότητες αζώτου από το έδαφος. Το πλάγιασμα των δημητριακών συσχετίζεται με την περίσσεια αζώτου και ελαττωμένη ξηρή ουσία. Περίσσεια αζώτου επιβραδύνει την ωρίμανση γιατί παρεμποδίζει την αφυδάτωση των φυτών.

Τα φυτά που υποφέρουν από έλλειψη αζώτου, παρουσιάζουν τα ώριμα φύλλα τους κίτρινα και απονεκρωμένα, ενώ τα νεώτερα φύλλα παραμένουν πρασινωπά. Γενικά, τα φυτά με τροφοπενία αζώτου περιέχουν μόνο πρωτεΐνες, οι οποίες και υδρολύονται για να προσφέρουν αμινοξέα στα τμήματα του φυτού που τα έχουν ανάγκη.

Στο έδαφος βρίσκεται είτε σε ανόργανη μορφή, δεσμευμένο σε ιζήματα και πετρώματα, είτε σε οργανική όπου μετά τις διεργασίες της αμμωνιοποίησης και νιτροποίησης καθίσταται άμεσα αφομοιώσιμο από τα φυτά. Το άζωτο επίσης υπάρχει στο έδαφος ως συστατικό του αέρα που είναι εγκλωβισμένο στους πόρους του εδάφους. Η αφομοίωση του N από τα φυτά είναι δυνατό να γίνει είτε άμεσα από το φυτό μέσω του ριζικού συστήματος, είτε μέσω μικροοργανισμών που συμβιώνουν με τις ρίζες των φυτών.

Η κυριότερη πηγή N για τα καλλιεργούμενα φυτά είναι αυτό που προστίθεται στο έδαφος με τη μορφή συνθετικών λιπασμάτων (θειική αμμωνία, νιτρική αμμωνία,

ουρία). Μέσω τις διαπνοής το άζωτο, οδηγείται διαμέσου του ξύλου στο υπέργειο τμήμα του φυτού, όπου υπόκειται περαιτέρω μεταβολικές διεργασίες για την δημιουργία πρωτεϊνών. Το νιτρικό άζωτο τείνει να μην διανέμεται ομοιόμορφα σε όλο το φυτό αλλά να συσσωρεύεται σε συγκεκριμένα φυτικά τμήματα με ιδιαίτερη προτίμηση τα γηραιότερα μέρη (Maynard et al., 1976).

Η παρουσία επαρκούς συγκέντρωσης ανοργάνου αζώτου, διασφαλίζει την επιθυμητή ανάπτυξη των φυτών, ιδιαίτερα κατά τα στάδια της βλαστικής ανάπτυξης. Επίσης είναι αναγκαίο για την ανάπτυξη των καρπών. Η έλλειψη ή ανεπάρκεια του ανοργάνου αζώτου σ' όλα τα στάδια της ζωής των φυτών, έχει δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη και την απόδοση τους. Σε ακραίες περιπτώσεις μεγάλης έλλειψης ανοργάνου αζώτου, προκαλείται γενική καχεξία και αποπρασινισμός των φυτών, ο οποίος αρχικά εμφανίζεται στα μεγαλύτερης ηλικίας φύλλα και προοδευτικά επεκτείνεται προς τα νεότερα. Όμως και περίσσεια αζώτου, ιδιαίτερα του αμμωνιακού κατά τις φάσεις της καρποφορίας, της ωρίμανσης των σπερμάτων, των καρπών ή αποθησαυριστικών οργάνων (υπόγειων ριζών ή βλαστών, όπως τεύτλα, γεώμηλα) δημιουργεί ανεπιθύμητες καταστάσεις για την παραγωγή και την αντοχή των φυτών. Έτσι, υπό συνθήκες υψηλής αζωτούχου λίπανσης, προκαλείται υπερβολική «ανάπτυξη ανώριμων, υδαρών και ευπαθών ιστών», δηλαδή ανεπιθύμητη βλαστική ανάπτυξη. Επίσης, δε δημιουργούνται ή δεν εξαντλούνται τα αποθέματα των φυτών σε υδατάνθρακες (Νιαβής, 1981). Αποτέλεσμα όλων αυτών είναι η ποσοτική και ποιοτική υποβάθμιση της παραγωγής.

Αν και, η ατμόσφαιρα είναι πλούσια σε μοριακό άζωτο (79%), αυτό δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί άμεσα, από την πλειοψηφία των οργανισμών. Αυτό συμβαίνει, γιατί στο μοριακό άζωτο (N₂), τα δύο άτομα αζώτου ενώνονται με τριπλό ομοιοπολικό δεσμό, ο οποίος παρουσιάζει εξαιρετική σταθερότητα και δημιουργεί ένα αδρανές μόριο. Η διάσπαση του δεσμού αυτού, απαιτεί υψηλές θερμοκρασίες και πιέσεις, οι οποίες δεν απαντώνται *in vivo* (Δροσόπουλος, 1992). Οι περισσότεροι οργανισμοί, προμηθεύονται το άζωτο από το άμεσο περιβάλλον τους σε αφομοιώσιμες μορφές, όπως τα αμμωνιακά και νιτρικά ιόντα, καθώς και οργανικές αζωτούχες ουσίες, όπως τα αμινοξέα. Η μετατροπή του μοριακού αζώτου σε αφομοιώσιμες από τους διάφορους οργανισμούς μορφές, μπορεί να γίνει με τους εξής τρόπους:

1. Δέσμευση του ατμοσφαιρικού αζώτου από μικροοργανισμούς που ζουν συμβιωτικά στις ρίζες (φυμάτια) ορισμένων φυτών.
2. Δέσμευση του ατμοσφαιρικού αζώτου από μικροοργανισμούς που διαβιούν ελεύθερα στο έδαφος και πιθανόν από μικροοργανισμούς εγκατεστημένους στο μικροπεριβάλλον των φύλλων ορισμένων τροπικών φυτών.
3. Χημική μετατροπή του ατμοσφαιρικού αζώτου στη μορφή οξειδίων, κατά την εκκένωση ατμοσφαιρικών ηλεκτρικών φορτίων.
4. Βιομηχανική παραγωγή συνθετικών αζωτούχων λιπασμάτων με τη μορφή ιόντων NH_4^+ , NO^- , H^+ , CN^- (Δροσόπουλος, 1992).

Οι βιοχημικές διεργασίες της δέσμευσης του αζώτου είναι κατά κύριο λόγο υπεύθυνες για τη γονιμότητα των γεωργικών εδαφών. Ακόμη και σήμερα, παρόλη τη μεγάλη ανάπτυξη των βιομηχανιών παραγωγής χημικών λιπασμάτων η συμβιωτική δέσμευση του ατμοσφαιρικού αζώτου μέσω φυματίων, εξακολουθεί να θεωρείται ως η κύρια διαδικασία εμπλουτισμού των γεωργικών εδαφών σε άζωτο (Δροσόπουλος, 1992).

1.3.2 Συσσώρευση νιτρικών στα φυτά

Οι συγκεντρώσεις των νιτρικών στους φυτικούς ιστούς επηρεάζονται από τη διαθεσιμότητα του αζώτου στο περιβάλλον του ριζικού συστήματος των φυτών, με κυριότερο παράγοντα την προσθήκη του με τη μορφή λιπασμάτων (Maynard et al., 1976). Σημαντικό επίσης ρόλο κατέχει και η μορφή με την οποία εφαρμόζεται το άζωτο. Έτσι, με τη μορφή νιτρικών ιόντων ευνοείται η συσσώρευση των νιτρικών στους φυτικούς ιστούς σε σύγκριση με τη χορήγησή του σε αμμωνιακή μορφή (Elia et al., 1998), Maynard & Barker, 1972; Santamaria et al., 1999). Επιπλέον, οι Maynard και Barker (1972) αναφέρουν ότι ο τρόπος και ο χρόνος εφαρμογής του αζώτου επηρεάζει τη συγκέντρωση νιτρικών σε πειράματα που έγιναν σε φυτά σπανακιού.

Ένας άλλος παράγοντας που επηρεάζει τη συσσώρευση νιτρικών είναι το φως. Η Blom-Zandstra (1989), αναφερόμενη στην επίδραση της έντασης του φωτός, τονίζει ότι η συγκέντρωση νιτρικών στα κενοτόπια μειώνεται όσο αυξάνεται η ένταση του φωτός. Το γεγονός αυτό σχετίζεται με την πολυπληθή παραγωγή υδατανθράκων λόγω της αυξημένης φωτοσυνθετικής δραστηριότητας και κατά

συνέπεια τις λιγότερες απαιτήσεις για κάλυψη των οσμωτικών αναγκών του φυτού από νιτρικά ιόντα, καθώς επίσης και με διαφορές στη δράση της ρεδουκτάσης των νιτρικών (Cantliffe, 1972a). Ο Quinche (1982) αναφέρει ότι η ηλιοφάνεια σε φυλλώδη λαχανικά όπως ο μαϊντανός και το σπανάκι, παρουσιάζει σημαντική επίδραση στη συγκέντρωση των νιτρικών στα φύλλα κατά τη διάρκεια της ημέρας. Η ένταση του φωτός σχετίζεται με την περιεκτικότητα των φύλλων σε νιτρικά, γεγονός που σημαίνει ότι η μείωση στην έντασης του φωτός προκαλεί αύξηση των νιτρικών. Επίσης, οι Amr και Hadidi (2001) αναφέρονται στην επίδραση που έχει η εποχή συγκομιδής στη συγκέντρωση νιτρικών ιόντων σε διάφορα είδη λαχανικών, που σχετίζονται προφανώς με τη διάρκεια της φωτοπεριόδου και το είδος του λαχανικού. Οι Siomos et al. (2002) σε πειράματα με μαρούλι αναφέρουν ότι η συγκέντρωση νιτρικών ιόντων στα φύλλα σχετίζεται με τη θέση του φύλλου (εσωτερικά, μεσαία, εξωτερικά) και ως εκ τούτου βρίσκεται σε άμεση συνάρτηση με το φως που δέχονται τα φύλλα. Η συγκέντρωση νιτρικών τείνει να είναι μεγαλύτερη στον μίσχο από ότι στα φύλλα (Maynard and Barker, 1979) και είναι συνήθως υψηλότερη τον χειμώνα από ότι τις άλλες εποχές (Burns et al., 2004); (Ysart et al., 1999) λόγω της μείωσης της νιτρικής αναγωγής στα φύλλα υπό χαμηλή ένταση φωτός και χαμηλές θερμοκρασίες (Riens and Heldt, 1992). Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος επηρεάζει και αυτή με τη σειρά της τη συσσώρευση των νιτρικών ιόντων στους φυτικούς ιστούς. Βέβαια η επίδραση της θερμοκρασίας είναι αλληλένδετη με την ένταση και διάρκεια του φωτισμού, την υγρασία και τη διαθεσιμότητα του αζώτου. Κατά συνέπεια υπάρχουν αναφορές οι οποίες δείχνουν ότι υπάρχει επίδραση της θερμοκρασίας στη συσσώρευση νιτρικών ιόντων που ποικίλει για τα διάφορα είδη (Maynard et al., 1976). Οι Amr και Hadidi (2001) αναφέρουν ότι θερμοκρασίες που προκαλούν στρες κατά την ανάπτυξη του φυτού έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης των νιτρικών ιόντων. Ο εμπλουτισμός με CO₂ σε περιβάλλον θερμοκηπίου έχει αναφερθεί ότι συντελεί στη μείωση της συγκέντρωσης των νιτρικών ιόντων στα φύλλα (Maynard et al., 1976). Η υδατική ισορροπία επηρεάζει επίσης την συγκέντρωση νιτρικών στο φυτό. Η έλλειψη νερού σχετίζεται τόσο με τη μειωμένη ανάπτυξη του φυτού όσο και με τη μειωμένη δραστηριότητα της ρεδουκτάσης των νιτρικών, έχοντας ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης των νιτρικών ιόντων για όσο χρόνο διαρκεί η καταπόνηση (Maynard et al., 1976).

Η ικανότητα συσσώρευσης νιτρικών ιόντων στους φυτικούς ιστούς φαίνεται να καθορίζεται γενετικά, αφού διαφοροποιείται μεταξύ των φυτικών ειδών αλλά και

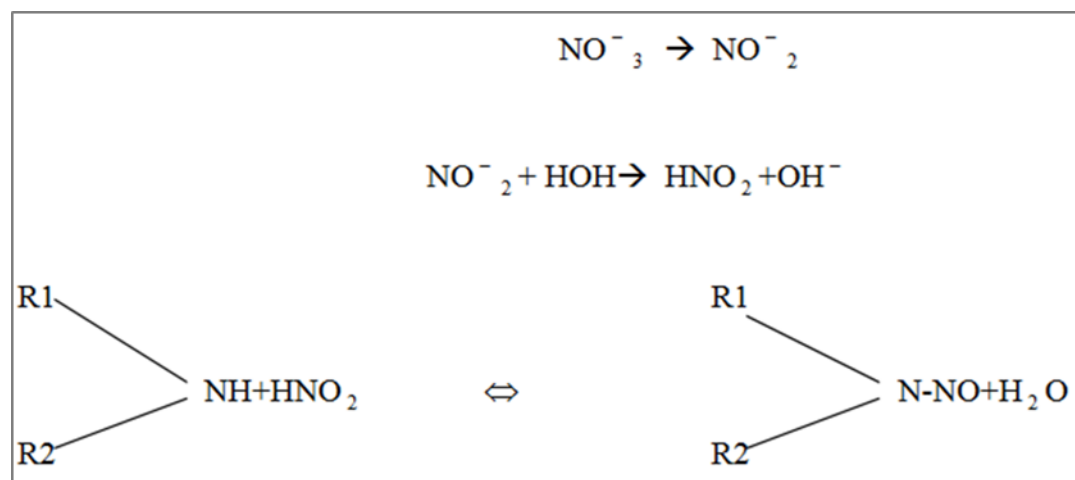
μεταξύ ποικιλιών του ίδιου είδους. Υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ των ειδών στην ικανότητα συσσώρευσης νιτρικών ιόντων στους φυτικούς ιστούς ενώ και σε επίπεδο ποικιλίας παρατηρούνται εξίσου σημαντικές διαφορές για κάποια είδη. Οι Amir και Hadidi (2001) αναφέρουν διαφορές στη συγκέντρωση νιτρικών σε ποικιλίες φυτών

τομάτας και κολοκυθιών που καλλιεργήθηκαν εντός θερμοκηπίου, ενώ για την καλλιέργεια στον αγρό, η επίδραση της ποικιλίας δεν ήταν σημαντική. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την περιεκτικότητα των φυτών σε νιτρικά, είναι η μηχανική σύσταση του εδάφους, η μέθοδος συγκομιδής, η ποικιλία, η εποχή συγκομιδής, οι διεργασίες αποθήκευσης, η θερμοκρασία και η υγρασία.

1.3.3 Συγκέντρωση νιτρικών στα φυτά και στον άνθρωπο

Η συγκέντρωση στους φυτικούς ιστούς συνδέεται άμεσα με το μεταβολισμό του αζώτου στα φυτά και προκύπτει από την απορρόφηση των νιτρικών ιόντων σε μεγαλύτερη ποσότητα από αυτή που ανάγεται. Η συγκέντρωση των νιτρικών εξαρτάται από α) το γονότυπο, β) την περιεκτικότητα του εδάφους σε νιτρικά και γ) τις κλιματικές συνθήκες κάτω από τις οποίες αναπτύσσονται τα φυτά.

Σε κανονικά επίπεδα, τα νιτρικά άλατα βοηθούν στη θεραπεία των πληγών και των εγκαυμάτων, ελέγχουν την πίεση του αίματος και ενισχύουν τη λειτουργία του εγκεφάλου. Σε υψηλές όμως συγκεντρώσεις, αφού πρώτα μετατραπούν σε νιτρώδη, αντιδρούν με τις αμίνες (παράγωγα αμμωνίας) δημιουργώντας τις νιτροζαμίνες, που οι περισσότερες μελέτες, τις κατατάσσουν στις επικίνδυνες και πιθανώς καρκινογόνες ουσίες για τον άνθρωπο (Εικόνα 3).



Εικόνα 3: Σχηματισμός νιτροζαμινών από δευτεροταγείς αμίνες και νιτρώδη άλατα

Η συγκέντρωση των νιτρικών στα λαχανικά μπορεί να μειωθεί οικολογικά, ως εξής:

1. Με χρήση ποικιλιών που συσσωρεύουν χαμηλές ποσότητες νιτρικών
2. Με αύξηση της έντασης και της διάρκειας του φωτός με την εφαρμογή τεχνητού φωτισμού
3. Συγκομιδή τον κατάλληλο χρόνο
4. Καλλιέργεια την κατάλληλη εποχή
5. Υδροπονική καλλιέργεια των λαχανικών
6. Βιολογική καλλιέργεια των λαχανικών.

Η αλόγιστη χρήση των αζωτούχων λιπασμάτων στη γεωργία τα τελευταία χρόνια, κυρίως με τη νιτρική μορφή του, που στοχεύει στις αυξημένες αποδόσεις των καλλιεργούμενων φυτών, έχει ως αποτέλεσμα αφ' ενός μεν την υποβάθμιση των προς κατανάλωση προϊόντων λόγω αυξημένης συγκέντρωσης νιτρικών στους φυτικούς ιστούς, αφετέρου δε την υποβάθμιση του υδροφόρου ορίζοντα μέσω της έκπλυσης των αζωτούχων λιπασμάτων από τα επιφανειακά στρώματα του εδάφους και της διείσδυσής τους στα βαθύτερα εδαφικά στρώματα μέχρι να καταλήξουν στον υπόγειο υδροφόρο ορίζοντα.

Τα ίδια τα νιτρικά ιόντα δεν έχουν καμία τοξική επενέργεια στον ανθρώπινο οργανισμό. Τα νιτρικά όμως μέσα στο πεπτικό σύστημα μπορούν να αναχθούν σε νιτρώδη τα οποία οξειδώνουν την αιμογλοβίνη μετατρέποντάς την σε μεθαιμογλοβίνη (Hord et al, 2009). Η μεθαιμογλοβίνη δεν επιτρέπει τη μεταφορά του αίματος από τους πνεύμονες στα διάφορα μέλη του ανθρώπινου σώματος με αποτέλεσμα ο ανθρώπινος οργανισμός να υφίσταται δηλητηρίαση (ασφυξία). Η ασθένεια αυτή είναι γνωστή με τον όρο «μεθαιμογλοβιναιμία». Σε έναν ενήλικα οι ποσότητες νιτρικών που προσλαμβάνονται μέσω της ανθρώπινης τροφής δεν είναι αρκετές για να προκαλέσουν τέτοια φαινόμενα στην πράξη. Στα βρέφη όμως η εμφάνιση ασφυξίας λόγω υπερβολικής κατανάλωσης νιτρικών είναι πιθανή. Η δηλητηρίαση των βρεφών με νιτρώδη προκαλεί ένα σύμπλεγμα συμπτωμάτων το οποίο είναι γνωστό με τον όρο "κυάνωση".

Σύμφωνα με ορισμένες επιστημονικές μελέτες φαίνεται ότι τα νιτρώδη, εκτός από τα άμεσα προβλήματα που μπορούν να προκαλέσουν στην ανθρώπινη υγεία, μπορούν κάτω από ορισμένες συνθήκες να μετατραπούν περαιτέρω σε νιτροζαμίνες μέσα στο πεπτικό σύστημα. Οι νιτροζαμίνες θεωρούνται καρκινογόνες, συνεπώς, η υπερβολική κατανάλωση νιτρικών μπορεί να έχει ιδιαίτερα δυσμενείς επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία. ή σε πολλές περιπτώσεις προκαλούν μεταλλάξεις και τερατογεννήσεις. Τα

νιτρώδη (από τις τροφές ή αυτά που σχηματίζονται με την αναγωγή των νιτρικών ή ενδογενώς) μπορούν να αντιδράσουν με αμίνες και να σχηματίσουν νιτροζαμίνες. Οι νιτροζαμίνες μπορεί να προέρχονται από τις τροφές στις οποίες προστίθενται κυρίως ως συντηρητικά, τον καπνό τσιγάρου και τα ορεκτικά.

Η κύρια επίδραση των νιτροζαμινών είναι κυρίως ζημιά στο συκώτι με την αλλοίωση που δημιουργείται να είναι ένας χαρακτηριστικός αιμορραγικός τύπος νέκρωσης. Αυτό, εξηγείται, λόγω της σχετικά επιλεκτικής δράσης στο συκώτι, αφού γενικά, τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τον μεταβολισμό χημικών ουσιών και άλλων ξένων συστατικών είναι παρόντα σε υψηλό ποσοστό στο συκώτι.

Σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας, η μέγιστη ασφαλής ποσότητα νιτρικών που μπορεί να προσλάβει ένας ενήλικας ανέρχεται στα 220 mg NO₃-ανά ημέρα. Η συνολική ποσότητα νιτρικών που προσλαμβάνει ένας άνθρωπος ανά ημέρα εξαρτάται από τις διατροφικές του συνήθειες και την περιεκτικότητα των λαχανικών και του πόσιμου νερού σε νιτρικά (Katan, 2009).

Ανάμεσα στις τροφές που καταναλώνονται, τα νωπά και τα κονσερβοποιημένα λαχανικά είναι οι κυριότερες πηγές νιτρικών για τον ανθρώπινο οργανισμό.

1.3.4 Συνέπεια της υψηλής συγκέντρωσης νιτρικών και νιτρωδών στον άνθρωπο

Η συσσώρευση νιτρικών ριζών στον ανθρώπινο οργανισμό σε πολλές περιπτώσεις είναι δυνατόν να προκαλέσει βλάβες στο θυρεοειδή, ταχυκαρδία και άλλες ηπιότερης μορφής παθολογικές ασθένειες.

Τα νιτρικά από μόνα τους δεν είναι τοξικά και όταν εισέλθουν στην κυκλοφορία του αίματος δεν παίρνουν μέρος στις κανονικές βιολογικές διεργασίες. Αντίθετα, αποβάλλονται σχετικά με τα ούρα, ή τα περιττώματα και ανακυκλώνονται με το σάλιο.

Πιο συγκεκριμένα, η τοξικότητα των νιτρικών είναι σχετικά χαμηλή και ποικίλλει ευρέως. Η μοιραία δόση για ενήλικες είναι 15-70 mg N₃-N/Kgr ζώντος βάρους. Τα νιτρώδη σχηματίζονται από αναγωγή των νιτρικών ή χορηγούνται με τα συντηρημένα τρόφιμα. Κατά την πέψη των τροφών όμως, τα νιτρικά είναι δυνατόν να αναχθούν εν μέρει με την βοήθεια των μικροοργανισμών σε νιτρώδη στο στόμα και στο γαστρο-εντερικό σύστημα. Τα νιτρώδη είναι βιολογικά δραστικά και δυναμικά τοξικά και

αποτελούν την πηγή των ανησυχιών για την υγεία του ανθρώπου. Υπάρχουν τρεις κύριες πιθανές επιδράσεις των νιτρικών στην υγεία του ανθρώπου:

1. Μεθαιμογλοβιναιμία (Σύνδρομο κυάνωσης των βρεφών)

Από τη φύση τους η δράση των νιτρικών δεν είναι τοξική, όταν όμως εισέλθουν στο αίμα, το δισθενές ιόν σιδήρου (Fe^{+2}) της αιμογλοβίνης μπορεί να οξειδωθεί στην τρισθενή μορφή (Fe^{+3}), με αποτέλεσμα τη δημιουργία μεθαιμογλοβίνης, η οποία σε υψηλά ποσοστά στο αίμα, μπορεί να οδηγήσει σε συμπτώματα ασφυξίας τον άνθρωπο, λόγω της αδυναμίας μεταφοράς οξυγόνου στους περιφερειακούς ιστούς.

Πρόκειται, λοιπόν, για μια ανωμαλία του αίματος που παρατηρείται σε βρέφη κάτω των 6 μηνών κατά την οποία η ικανότητα του αίματος να μεταφέρει οξυγόνο έχει καταστραφεί, με αποτέλεσμα την κυάνωση του δέρματος και το θάνατο του βρέφους. Η ασθένεια έχει σχεδόν εξαφανιστεί από τη Δ. Ευρώπη και τις Η.Π.Α. και μόνο ευκαιριακές περιπτώσεις υπάρχουν ακόμη στην Α. Ευρώπη, χωρίς να είναι γνωστή η αιτία της διαφοράς αυτής.

Στη Βρετανία καταγράφηκαν περίπου 15 τέτοιες περιπτώσεις τα τελευταία 40 χρόνια.

Το Υπουργείο Υγείας της χώρας αυτής αποδέχεται τα εξής:

- i. Τα νιτρικά και νιτρώδη καταστρέφουν την καροτίνη των τροφών και προκαλούν έλλειψη βιταμίνης Α σε άνθρωπο και ζώα, ενώ στον άνθρωπο μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στο θυρεοειδή.
- ii. Τα νιτρώδη προκαλούν ταχυκαρδίες, εμετούς και διάρροια.
- iii. Τα νιτρώδη οξέα στα ζώα αυξάνουν την ανάγκη για ιώδιο λόγω των ανωμαλιών που προκαλούνται στο θυρεοειδή αδένα.
- iv. Υψηλή συγκέντρωση NO_2 στις τροφές δίνει ανώμαλο ηλεκτροεγκεφαλογράφημα και πνευματική καθυστέρηση σε ασθενείς με κληρονομική μεθαιμογλοβιναιμία.
- v. Ανωμαλία στα έμβρυα από την νιτροζαμίνη που σχηματίζεται από αντίδραση νιτρωδών και ορισμένων οργανικών αμινών.

2. Καρκίνος του στομάχου

Σε μερικά πειράματα με ζώα, οι νιτροζαμίνες που προέρχονται από νιτρικά και νιτρώδη σε συνδυασμό με αμίνες, βρέθηκαν ότι έχουν καρκινογόνες ιδιότητες. Δεν υπάρχει ωστόσο καμία μαρτυρία που να υποστηρίζει τη θεωρία αυτή για τον άνθρωπο.

Οι περιπτώσεις καρκίνου του στομάχου στον βιομηχανικό κόσμο έχουν μειωθεί σταθερά, ενώ η έκθεση σε νιτρικά, με την μεγαλύτερη χρήση λαχανικών και σε μερικές περιοχές με το νερό, είναι πολύ πιθανό να έχει αυξηθεί. Η μείωση στις εμφανίσεις καρκίνου του στομάχου αποδίδεται στην πιο ισορροπημένη διατροφή, με περισσότερα φρούτα και λαχανικά και μικρότερη χρήση αλάτων ως συντηρητικά και άλλων παρόμοιων μέσων. Νιτρικά και νιτρώδη θα υπάρχουν πάντοτε στο στομάχι. Φαίνεται ότι η παρουσία τους εκεί δεν είναι ο κύριος παράγοντας που καθορίζει το ρυθμό σχηματισμού καρκίνου και τον προορισμό τους στην πράξη.

Το Εθνικό Συμβούλιο Έρευνας των ΗΠΑ, για τα νιτρικά και νιτρώδη, αναφέρει ότι η έκθεση σε συγκεντρώσεις νιτρικών στο πόσιμο νερό δεν είναι πιθανό να συμβάλλει στο κίνδυνο δημιουργίας καρκίνου του στομάχου.

3. Καρκίνος της ουροδόχου κύστης στις γυναίκες

Σε έρευνα που έγινε στην Iowa των ΗΠΑ (Epidemiology, 2001) διαπιστώθηκε ότι οι γυναίκες που έπιναν στο πόσιμο νερό, στο οποίο είχαν βρεθεί υψηλές συγκεντρώσεις νιτρικών αλάτων, είχαν 3 φορές περισσότερη πιθανότητα να παρουσιάσουν καρκίνο της ουροδόχου κύστης σε σύγκριση με αυτές που είχαν χαμηλότερα επίπεδα του τοξικού παράγοντα.

Επειδή ο κίνδυνος για την ανθρώπινη υγεία από τα νιτρικά είναι αρκετά σημαντικός, η Ε.Ε. το 1995 θέσπισε ανώτατο επιτρεπτό όριο ημερήσιας κατανάλωσης νιτρικών ίσο με 3,65mg/kg σωματικού βάρους του λήπτη, το οποίο αντιστοιχεί σε 255,5mg $\text{NO}_3\text{-N}$ την ημέρα για ένα άτομο του οποίου το βάρος είναι 70kg.

Στην Ε.Ε. προωθείται η θέσπιση των κανόνων της ορθής γεωργικής πρακτικής. Αυτό πρακτικά για τα αζωτούχα λιπάσματα σημαίνει ότι:

- i. Το αζωτούχο νιτρικό λίπασμα δεν εφαρμόζεται στην αρχή της βροχερής περιόδου (φθινόπωρο).
- i. Χρησιμοποιείται ακριβώς η δόση που απαιτείται από την καλλιέργεια.
- ii. Το αζωτούχο νιτρικό λίπασμα εφαρμόζεται μόνο όταν οι ανάγκες της καλλιέργειας το απαιτούν.
- iii. Σε αμμώδη εδάφη το αζωτούχο νιτρικό λίπασμα εφαρμόζεται σε πολλές και μικρές δόσεις.
- iv. Η καλλιέργεια διατηρείται σε καλή κατάσταση, ώστε τα φυτά να προσλαμβάνουν το νιτρικό άζωτο σε ικανοποιητικό βαθμό.

1.3.5 Ευεργετικές επιδράσεις των διατροφικών νιτρικών

Αντίθετα από τις επικρατούσες αντιλήψεις, σήμερα ενισχύονται οι ερευνητικές ενδείξεις ότι τα νιτρικά διατροφικής προελεύσεως συμμετέχουν σε ένα αμυντικό μηχανισμό, ο οποίος προστατεύει το γαστρο-εντερικό σύστημα από παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως το *Helicobacter pylori*, το οποίο προκαλεί γαστρίτιδες, έλκη και γαστρικό καρκίνο (αναφορά Θεριός Ι.), (Dykhuisen et al., 1998).

Περίληπτικά, ο μηχανισμός της θετικής αυτής επίδρασης έχει ως αφετηρία την αναγωγή των νιτρικών σε νιτρώδη στη στοματική κοιλότητα, από το ένζυμο νιτρική ρεδοκτάση, που προέρχεται από συμβιωτικά βακτήρια του στόματος. Πρόσφατες έρευνες που διεξήχθησαν *in vitro* απέδειξαν ότι η προσθήκη $\text{NO}_2\text{-N}$ στο όξινο περιβάλλον του στομάχου αυξάνει την αντιβακτηριακή και αντιμυκητιακή άμυνα του στομάχου κατά ενός ευρέως φάσματος παθογόνων, συμπεριλαμβανομένων των *Salmonella*, *Shigella* και *E. coli*.

Κεφάλαιο 2: Αντιοξειδωτικές ενώσεις

Είναι χημικές ενώσεις, που βρίσκονται στη σύσταση τροφίμων φυτικής προέλευσης. Προστατεύουν τις αδύναμες πρωτεΐνες και τα λιπίδια στις μεμβράνες των κυττάρων και εξουδετερώνουν τα αποτελέσματα της οξειδωσης, δεσμεύοντας και εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες, μετατρέποντάς τες σε ουσίες μη τοξικές και ακίνδυνες για τον ανθρώπινο οργανισμό (Μπόσκου, 2004).

Πιο συγκεκριμένα, όταν μια ελεύθερη ρίζα προσβάλει ένα κύτταρο, εισέρχεται στις μεταβολικές οδούς και μπορεί να προκαλέσει ανεπανόρθωτη βλάβη δημιουργώντας το λεγόμενο οξειδωτικό στρες. Έτσι, στρέφονται εναντίον των πρωτεϊνών, των λιπαρών οξέων, του DNA των κυττάρων ή ακόμη και ολόκληρων των κυττάρων του οργανισμού, προκαλώντας βλάβες. Τα αντιοξειδωτικά έρχονται να λειτουργήσουν ως αντίβαρο στη δράση των ελευθέρων ριζών, καθώς δίνουν (αναγωγή) ή αποσπούν (οξειδωση) ηλεκτρόνια από τις ελεύθερες ρίζες και τις απενεργοποιούν, σταματώντας την ανεπιθύμητη οξειδωση του οργανισμού.

Οι αντιοξειδωτικές ουσίες έχουν τις παρακάτω λειτουργίες:

1. Προστατεύουν τις κυτταρικές μεμβράνες: Η συγκεκριμένη δράση αφορά κυρίως τη βιταμίνη E και το βήτα-καροτένιο.
2. Δρουν καρδιοπροστατευτικά: Αυξάνουν την ανθεκτικότητα των αγγείων, περιορίζουν τους φλεγμονώδεις παράγοντες, αποτρέπουν την οξειδωση της LDL χοληστερίνης και συμβάλλουν στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης.
3. Μειώνουν σημαντικά τον κίνδυνο για εγκεφαλικό επεισόδιο: Μελέτες δείχνουν ότι η βιταμίνη C μπορεί να δράσει ευεργετικά σε ασθενείς που ήταν χρόνιαι καπνιστές, είχαν υπερχοληστερολεμία ή καρδιαγγειακή πάθηση.
4. Έχουν αντικαρκινική δράση: μπλοκάρουν ή εμποδίζουν την προσκόλληση επικίνδυνων ενζύμων στους ιστούς, αδρανοποιούν καρκινογόνες ουσίες και επιβραδύνουν τους μηχανισμούς καρκινογένεσης.
5. Βελτιώνουν τις πνευματικές ικανότητες και την ψυχική διάθεση, προστατεύοντας τους νευροδιαβιβαστές από την οξειδωση και συμβάλλοντας στην καλύτερη εγκεφαλική μικροκυκλοφορία.
6. Διατηρούν το δέρμα ελαστικό και το προφυλάσσουν από την πρόωγη γήρανση, περιορίζοντας τη διάσπαση του κολλαγόνου.
7. Προστατεύουν τα οστά και τις αρθρώσεις, περιορίζοντας τα οιδήματα, τις φλεγμονές και τις εκφυλιστικές αλλοιώσεις.

8. Ενισχύουν την όραση.
9. Δρουν αντιαλλεργικά. Υπάρχουν μελέτες που έδειξαν ότι οι αντιοξειδωτικές βιταμίνες A, E και C, καθώς και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα ω-3, συμβάλλουν στην πρόληψη ή και στη μείωση των συμπτωμάτων άσθματος, τοπικής δερματίτιδας και εκζέματος.
10. Διαφυλάσσουν τα αποθέματα άλλων απαραίτητων θρεπτικών ουσιών στον οργανισμό, αποτρέπουν την καταστροφή τους και, σε κάποιες περιπτώσεις, ενισχύουν τη δράση τους.

2.1 Φαινολικές ενώσεις

Σχεδόν όλα τα φυτά περιέχουν διάφορα είδη και διαφορετικές ποσότητες φαινολικών συστατικών που επιτελούν πολλές και σημαντικές λειτουργίες μέσα στο φυτικό κύτταρο (Καράταγλης, 1994). Πρόκειται για οργανικές ενώσεις των οποίων το μόριο περιλαμβάνει έναν τουλάχιστον αρωματικό δακτύλιο (C6), με ένα ή περισσότερα υδροξύλια. Μέσω αντιδράσεων συμπύκνωσης, προσθήκης ή πολυμερισμού του βασικού αρωματικού δακτυλίου, προκύπτει ένας μεγάλος αριθμός παραγώγων. Οι φαινολικές ενώσεις απαντώνται ως μονο- και πολυσακχαρίτες που συνδέονται με μια ή περισσότερες από τις υδροξυλομάδες τους με σάκχαρα και μπορούν επίσης να εμφανιστούν με την μορφή εστέρων και μεθυλεστέρων (Balasundram et al., 2006). Κύριες φαινολικές ενώσεις που είναι υπεύθυνες για την αντιοξειδωτική δράση είναι τόσο οι απλές μονοφαινόλες όπως η π-κρεσόλη, η 3-αιθυλοφαινόλη και η 3,4-διμεθυλοφαινόλη όσο και διφαινόλες όπως η υδροκινόνη που είναι η πιο διαδεδομένη, τα φαινολικά οξέα όπως τα υδροξυλιωμένα παράγωγα του βενζοϊκού, φαινυλοξικού και κινναμωμικού οξέος, τα φαινολικά διτερπένια και τα φλαβονοειδή. Μεταξύ των φαινολικών οξέων που εμφανίζονται σαν φυσικά αντιοξειδωτικά σε φυτικής προέλευσης τρόφιμα τα πιο διαδεδομένα είναι το καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ και το βανιλλικό οξύ (Zheng et al., 2001, Van Sumere, 1989).

Οι περισσότερες φαινολικές ενώσεις έχουν ως πρόδρομο μόριο τη φαινυλαλανίνη, η οποία συντίθεται μέσω της βιοσυνθετικής οδού του σικιμικού οξέος. Η σημαντικότερη από τις λειτουργίες των φαινολικών ενώσεων είναι η προστασία που παρέχουν στο φυτικό κύτταρο από την οξειδωτική καταπόνηση. Η δράση αυτή συσχετίζεται με τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες.

Η αντιοξειδωτική τους δράση αποδίδεται τόσο στην ικανότητά τους να χυλοποιούν τα μέταλλα, προστατεύοντας τα από την οξειδωτική επίδραση των

ελεύθερων ριζών, όσο και στην ικανότητά τους να προστατεύουν διάφορα μακρομόρια όπως DNA, σάκχαρα και λιπίδια, από τις τοξικές επιδράσεις των ενεργών μορφών οξυγόνου (Βασιλάκης, 2006). Οι ενώσεις αυτές έχουν αντιμικροβιακές, αντικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιγηραντικές ιδιότητες, βοηθούν στην ανανέωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και προσφέρουν έμμεση προστασία στον ανθρώπινο οργανισμό ενεργοποιώντας διάφορα ενδογενή αμυντικά συστατικά.

2.2 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας

Έχουν αναπτυχθεί ποικίλες μέθοδοι για τον προσδιορισμό της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας διαφόρων βιολογικών δειγμάτων, όπως το πλάσμα ή ο ορός, το κρασί, τα φρούτα και τα λαχανικά, ή ζωικοί ιστοί. Οι μέθοδοι αυτοί είναι απαραίτητοι λόγω: (α) της δυσκολίας της μέτρησης κάθε αντιοξειδωτικού συστατικού ξεχωριστά και (β) των πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των διαφόρων αντιοξειδωτικών συστατικών σε πολύπλοκα βιολογικά δείγματα. Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης ενός δείγματος περιλαμβάνει κυρίως την ικανότητα του δείγματος να δώσει ηλεκτρόνια (ή άτομα υδρογόνου) σε ένα ειδικό ΔΕΟ (δραστικό είδος οξυγόνου) ή σε κάθε δέκτη ηλεκτρονίων. Το προϊόν της αντίδρασης αυτής μετράται τελικά με μία αναλυτική μέθοδο. Παρακάτω αναφέρονται μερικές από τις σπουδαιότερες μεθόδους μέτρησης αντιοξειδωτικής δράσης (Rixao, 2007).

- i. Μέθοδοι που βασίζονται σε αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίου (Electron Transfer based assays-ET): Μετρούν την ικανότητα του αντιοξειδωτικού να αλλάζει χρώμα καθώς ανάγεται στην αντίδραση με οξειδωτικό (Packer., 1999). Σ' αυτές ανήκουν οι εξής:
 - A. Μέθοδος του Διφαινυλοπικρυλυδραζυλίου (DPPH)
 - B. Μέθοδος του 2,2-αζινοδι-(3-αιθυλβενζοδιαζολινο-6-σουλφονικού οξέος (ABTS) ή ισοδύναμα Trolox-Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC).
 - C. Μέθοδος της ικανότητας αναγωγής ιόντων σιδήρου Fe^{+3} (Ferric Ion Reducing Power Assay - FRAP).
 - D. Μέθοδος μέτρησης ικανότητας απορρόφησης ελεύθερων ριζών (Oxygen Radical Absorbance Capacity –ORAC).

- E. Μέθοδος της ικανότητας αναγωγής ιόντων χαλκού Cu^{+2} (Total Antioxidant Potential Assay using Cu(II)).
- ii. Μέθοδοι που βασίζονται σε αντιδράσεις μεταφοράς υδρογόνου (Hydrogen Atom Transfer based assays-HAT): Εξετάζουν την κινητική των αντιδράσεων και οι συγκεντρώσεις προκύπτουν από τις κινητικές καμπύλες. Περιλαμβάνουν τις ακόλουθες:
 - A. Θειοβαρβουρικά παράγωγα (Thiobarbutyric Acid Reactive Substances – TBARS).
 - B. Ολικές ρίζες υπεροξυλίου (Trapping Antioxidant Parameter Assay-TRAP).
 - C. Β-καροτένιο/λινολεϊκό οξύ.
 - D. Μέθοδος των κροκινών.
 - E. Παρεμπόδιση της αυτοοξειδωσης της LDL.

Κεφάλαιο 3: Πειραματικό Μέρος

1.1 Σκοπός του πειράματος

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στην αύξηση του βάρους, την συσσώρευση νιτρικών στους ιστούς και την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών της *Portulaca oleracea* (αντράκλα, γλιστρίδα, τρέβλο), τα οποία καλλιεργήθηκαν κατά την χειμερινή εποχή σε μη θερμαινόμενο θερμοκήπιο.

1.2 Υλικά και Μέθοδοι

Φυτά αντράκλας καλλιεργήθηκαν σε φυτοδοχεία και αναπτύχθηκαν με την χορήγηση θρεπτικών διαλυμάτων. Η καλλιέργεια των φυτών έγινε σε μη θερμαινόμενο θερμοκήπιο του αγροκτήματος του Τ.Ε.Ι. Ηπείρου από τα τέλη Νοεμβρίου του 2017 ως τα τέλη Φεβρουαρίου του 2018. Ένα μήνα μετά τη σπορά, τα φυτά μεταφυτεύτηκαν σε τριάντα φυτοδοχεία του ενός λίτρου περίπου, με μείγμα τύρφης-περλίτη σε αναλογία 1:1 Εικ (1)



Εικόνα (1) Τα νεαρά φυτά της γλιστρίδας κατά τη μεταφύτευση σε φυτοδοχεία

Η λίπανση των φυτών γινόταν με το νερό του ποτίσματος και τα φυτά υποβλήθηκαν σε τρεις μεταχειρίσεις-συγκεντρώσεις αζωτούχου λίπανσης, 50, 200 και 350 mgL⁻¹. Σε κάθε μεταχείριση χρησιμοποιήθηκαν 10 φυτά (επαναλήψεις). Στα φυτά χορηγήθηκαν θρεπτικά διαλύματα τα οποία αφορούσαν τρεις συνδυασμούς συγκεντρώσεων N (ως νιτρικά ανιόντα).

Τα θρεπτικά διαλύματα σε κάθε περίπτωση παρέρχονταν μέχρι απορροής. Συνολικά, μέχρι τη συγκομιδή έγιναν 19 ποτίσματα σε τρία από τα οποία έγινε και πρόσθετη χορήγηση μείγματος ιχνοστοιχείων. Για κάθε ένα συνδυασμό από τις τρεις λιπασματικές επεμβάσεις χρησιμοποιήθηκαν δέκα φυτά που αναπτύχθηκαν ανά ένα σε κάθε φυτοδοχείο Εικ(2) Το κάθε φυτό αποτελεί και ένα ανεξάρτητο πειραματικό τεμάχιο και συνεπώς, σε κάθε πειραματική επέμβαση ελήφθησαν δέκα επαναλήψεις για κάθε μεταβλητή του πειράματος.



Εικόνα 2: Τα φυτά γλυστρίδας στο στάδιο της συλλογής για επεξεργασία .

Κατά το τελικό στάδιο των μετρήσεων έγιναν αρχικά οι προσδιορισμοί της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυτών με την μέθοδο του DPPH. Αμέσως μετά έγινε προσδιορισμός του νωπού βάρους του υπέργειου μέρους των φυτών του πειράματος. Ειδικότερα, στο στάδιο της συγκομιδής μετρήθηκε το βάρος των φύλλων των φυτικών ιστών της αντράκλας, καθώς προσδιορίστηκε το νωπό τους βάρος. Κατόπιν τοποθετήθηκαν σε ξηραντήριο για 48 ώρες στους 70° C. Μετά την ξήρανση τα δείγματα ζυγίστηκαν έτσι ώστε να προσδιορισθεί το ξηρό τους βάρος και από την

σχέση νωπού / ξηρού βάρους να υπολογιστεί το ποσοστό της υγρασίας του κάθε δείγματος. Το ποσοστό υγρασίας είναι απαραίτητο κατά την αναγωγή των τιμών των νιτρικών σαν ποσότητα ανά χιλιόγραμμο νωπών φυτών.

Τα ξηρά δείγματα αλέστηκαν σε πορσελάνινη κάψα κονιοποίησης, σφραγίστηκαν σε αεροστεγή πλαστικά φιαλίδια (Eppendorf) Εικ(3) και αποθηκεύτηκαν σε κατάψυξη ψυγείου για να διατηρηθούν μέχρι να γίνει ο προσδιορισμός των νιτρικών. Επί της σκόνης αυτών των ξηρών ιστών έγινε ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας των δειγμάτων σε NO_3^- με τη μέθοδο του χρωμοτροπικού οξέος (Kawalenko, C.G. and Lowe, L.E., 1973).



Εικόνα 3. Αεροστεγή φιαλίδια Eppendorf

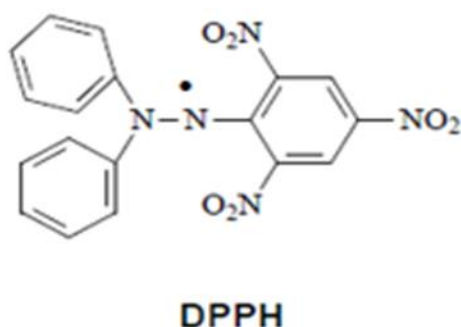
1.2.1 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας με την μέθοδο του DPPH

Η μέθοδος βασίζεται στη βαθμιαία εξαφάνιση της ιώδους απόχρωσης της σταθερής DPPH ρίζας στα 515 nm λόγω της δέσμευσής της από αντιοξειδωτικές ουσίες με ισχυρή ικανότητα αδρανοποίησης ελευθέρων ριζών.

Η μέθοδος στηρίζεται στην αντίδραση του αντιοξειδωτικού με μεθανολικό (MeOH) ή αιθανολικό (EtOH) διάλυμα της σταθερής 1,1-διφαινυλ-2-πικριλυδραζυλικής ρίζας (απορροφά στα 515 nm), η οποία με την προσφορά υδρογόνου/ηλεκτρονίου ανάγεται σε υδραζίνη με αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό του διαλύματος (Kumaran et al., 2005). Λόγω της παρουσίας του μονήρους ηλεκτρονίου, το DPPH έχει υψηλή απορρόφηση σε αιθανολικό διάλυμα στα 515 nm.

Όσο το ηλεκτρόνιο αυτό δεσμεύεται, η απορρόφηση μειώνεται και ο βαθμός αποχρωματισμού είναι στοιχειομετρικά ο αριθμός των ηλεκτρονίων που έχουν δεσμευτεί (Rahman, 1988).

Το DPPH (2,2-δι(4-tert-οκτυλφαινυλο)-1-πυκριλυδραζίλιο) αποτελεί μία από τις λίγες σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες οργανικές ρίζες αζώτου (Εικόνα 4). Η κατανάλωσή του από τα αντιοξειδωτικά, έχει ως αποτέλεσμα την εξασθένηση του πορφυρού χρώματος του διαλύματός του, η οποία παρακολουθείται στα 515 nm, όπου παρατηρείται το μέγιστο του φάσματος της ρίζας.



Εικόνα 4: Δομή του DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Liangli , 2007)

Παρασκευή:

- Αντιδραστήριο: Διάλυμα DPPH (60μM) - 2.36 mg DPPH σε 100 ml EtOH ή MeOH
- Δείγματα: Εκχυλίσματα φυτικών ιστών διαλυμένα κατάλληλα σε EtOH (ή MeOH). 100 mg ψιλοτεμαχισμένων φυτικών ιστών εκχυλίζονται για 1 ώρα σε 1 ml σε EtOH (ή MeOH).

Μετρήσεις: (3 επαναλήψεις για κάθε δείγμα)

- Τυφλό δείγμα – καθαρή EtOH ή MeOH, για τον μηδενισμό της κλίμακας του φασματοφωτόμετρου.
- Σε κάθε 25 μl δείματος-εκχυλίσματος (κατάλληλα διαλυμένο) προτίθενται 975 μl διαλύματος 60 μM DPPH. Ανάδευση και αποθήκευση σε σκοτάδι και θερμοκρασία περιβάλλοντος (30 min)
- Μετά από 30 min εκτελείται μέτρηση για της απορρόφησης στα **515nm (t=30min)**
- Επίσης γίνεται μέτρηση της απορρόφησης του διαλύματος DPPH (μόνο) στα **515nm (t=0 min)**

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων (Διαφορά απορρόφησης), εκφράζονται ως ποσοστό % μείωσης της απορρόφησης (%ΔΑ) του διαλύματος DPPH ($A_{t=0}$), λόγω των αντιοξειδωτικών που βρίσκονται στο εκχύλισμα του δείγματος ($A_{t=30}$) και υπολογίζονται από την ακόλουθη εξίσωση:

$$\% \Delta A = \frac{(A_{t=0} - A_{t=30})}{A_{t=0}} \times 100$$

Για παράδειγμα: Έστω ότι το βασικό διάλυμα DPPH των 60 μM έχει τιμή απορρόφησης 0,70 στα 515nm (απορρόφηση σε χρόνο $t=0$), και μετά την προσθήκη του δείγματος, η απορρόφηση ελαττώνεται στο 0,5 (η τιμή που καταγράφει το φωτόμετρο μετά από 30 min), το ποσοστό αντιοξειδωτικής ικανότητας του δείγματος αυτού θα είναι:

$$((0,7-0,5))/0,7 \times 100 = 28,6\%$$

Συνήθως τα αποτελέσματα των μετρήσεων αυτών εκφράζονται σε «ισοδύναμη» ποσότητα ασκορβικού οξέος ή διαλύματος Trolox. Αυτό δεν τίποτα άλλο από την ποσότητα του ασκορβικού οξέος ή του Trolox (σε mM) που προκαλεί το ίδιο αποτέλεσμα «ελάττωσης της απορρόφησης του διαλύματος DPPH» σε ποσοστό όπως το δείγμα που μετράμε. Για τις περιπτώσεις όμως σύγκρισης της αντιοξειδωτικής ικανότητας δεν είναι απαραίτητη η έκφραση της αντιοξειδωτικής ικανότητας σε ισοδύναμες τιμές πρότυπων αντιοξειδωτικών ουσιών (όπως το ασκορβικό οξύ ή το Trolox) αλλά αρκούν οι τιμές των ποσοστών της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, όπως στο παραπάνω παράδειγμα.

1.2.2 Προσδιορισμός Νιτρικών

Αμέσως μετά τους προσδιορισμούς της αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυτών, έγινε προσδιορισμός του νωπού βάρους του υπέργειου μέρους των φυτών του πειράματος. Στη συνέχεια οι νωποί ιστοί του κάθε δείγματος-φυτού τοποθετήθηκαν σε χάρτινες σακούλες και αφέθηκαν για ξήρανση σε ξηραντήριο για 48 ώρες στους 70° C. Αμέσως μετά τα ξηρά δείγματα ζυγίζονταν για να προσδιορισθεί το ξηρό βάρος τους και αλέθονταν σε πορσελάνινη κάψα κονιοποίησης. Τα κονιοποιημένα δείγματα σφραγίζονταν σε πλαστικά φιαλίδια Eppendorf και τοποθετούνταν σε κατάψυξη ψυγείου για να διατηρηθούν μέχρι να γίνει ο προσδιορισμός των νιτρικών. Επί της σκόνης αυτής των ξηρών ιστών έγινε ο προσδιορισμός της περιεκτικότητάς τους σε νιτρικά με την μέθοδο του χρωμοτροπικού οξέος.

Ο προσδιορισμός των νιτρικών στους ιστούς της αντράκλας στα πλαίσια της παρούσας εργασίας έγινε με την φωτομετρική μέθοδο του χρωμοτροπικού οξέος (Kowalenko, C.G. and. Lowe, L.E., 1973) επί εκχυλίσματος νιτρικών ιόντων από δείγματα ξηρών ιστών. Η επιλογή της ξήρανσης των δειγμάτων- φυτικών ιστών πριν την διαδικασία εκχύλισης και όχι η άμεση εκχύλιση των νιτρικών από νωπούς ιστούς, έγινε καθώς οι ξηροί ιστοί μπορούν να αποθηκεύουν στο ψυγείο για αρκετό διάστημα χωρίς την αλλοίωση της σύστασης των ανόργανων συστατικών τους, διευκολύνοντας έτσι την εκτέλεση του πειράματος.

Η διαδικασία των πειραματικών μετρήσεων ολοκληρωνόταν σε δύο στάδια:

1. Εκχύλιση των νιτρικών από τα ξηρά δείγματα

A. Αντιδραστήρια:

- Εκχυλιστικό διάλυμα. Παρασκευάζεται διαλύοντας 25 gr θεικού χαλκού ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) και 3,3 gr θεικού αργύρου (Ag_2SO_4) σε 5lt. Καλύτερα ο θεικός άργυρος να διαλύεται σε ζεστό νερό.
- Μίγμα υδροξειδίου του ασβεστίου ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) και ανθρακικού μαγνησίου-υδροξειδίου μαγνησίου ($\text{MgCO}_3 + \text{Mg}(\text{OH})_2$). Παρασκευάζεται με ένα μέρος ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) και δύο μέρη $\text{MgCO}_3 + \text{Mg}(\text{OH})_2$ μέσα σε γουδί με πάρα πολύ καλό ανακάτεμα.
- Ενεργός άνθρακας (Carcoal activated). Χρησιμοποιείται για τον αποχρωματισμό των εκχυλισμάτων.

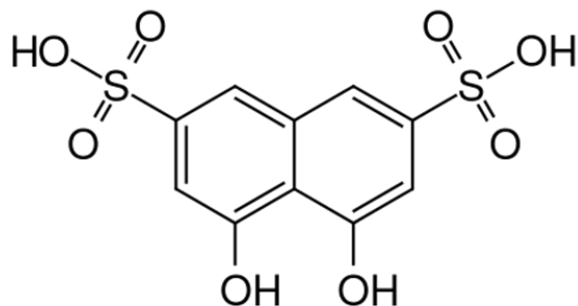
B. Εκτέλεση της διαδικασίας εκχύλισης

- Ποσότητα 100 mg ξηρών ιστών από το κάθε δείγμα προστίθεται σε ποτήρι ζέσεως των 50 ml.
- Στη συνέχεια προσθέτουμε 10 ml εκχυλιστικού διαλύματος [$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + (Ag_2SO_4)] και μια μικρή ποσότητα ενεργού άνθρακα (περίπου 20 mg).
- Ακολούθως γίνεται προσθήκη 100 mg μίγματος [$\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{MgCO}_3$],
- Ακολουθεί ανάδευση για 1 λεπτό με μηχανικό αναδευτήρα και το αφήνουμε στη συνέχεια σε ηρεμία για 20 min.
- Το διάλυμα διηθείται με ηθμό *Whatman No 2* ή κάποιο αντίστοιχο.

2. Ανάπτυξη χρώματος - Μέθοδος χρωμοτροπικού οξέος

Το χρωμοτροπικό οξύ (4,5-διυδροξυναφθαλινό-2,7-δισουλφονικό οξύ) (Εικόνα 5), είναι μια χημική ένωση, η οποία σε έντονα όξινο περιβάλλον αντιδρά εκλεκτικά με τα

νιτρικά ανιόντα προς παραγωγή κίτρινου προϊόντος, το οποίο απορροφά το φως στα 410 nm και παραμένει σταθερό για 24 h περίπου. Η αντίδραση είναι ποσοτική και σε συγκεντρώσεις νιτρικού αζώτου από 1 έως 30-35 mgL⁻¹ έχει γραμμική σχέση με την απορρόφηση στο παραπάνω μήκος κύματος.



Εικόνα 5: Συντακτικός τύπος του χρωμοτροπικού οξέος (4,5-dihydroxynaphthalene-2,7-disulfonic acid)

Τα φαινολικά συστατικά της αντράκλας δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH και η μείωσή της ελέγχεται με τη μείωση της απορρόφησης στα 515 nm. Το χρώμα από μώβ στο αρχικό διάλυμα, μετατρέπεται σε κίτρινο, όταν όλο το ποσό της ελεύθερης ρίζας έχει δεσμευτεί από τα αντιοξειδωτικά της αντράκλας.

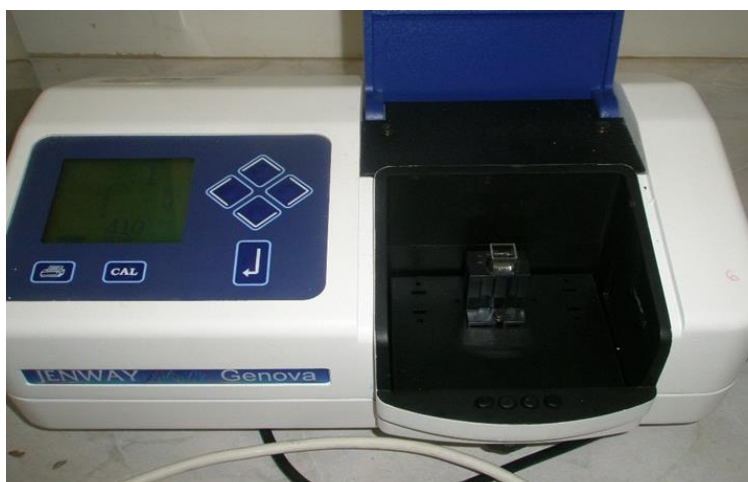
Χρωματομετρική μέθοδος

A. Αντιδραστήρια

- Διάλυμα Θεϊκής ουρίας: Παρασκευάζεται διαλύοντας 5 gr ουρίας και 4 gr Na₂SO₃ σε 100 ml απεσταγμένο νερό. Προστίθεται για την οξείδωση τυχών νιτρικών (NO₂) ανιόντων στο εκάστοτε δείγμα, σε νιτρικά.
- Αντιδραστήριο χρωμοτροπικού οξέος: Παρασκευάζεται διαλύοντας 0,1 gr χρωμοτροπικού οξέος σε 100 ml θεϊκού οξέος (H₂SO₄). Διατήρηση για 2 εβδομάδες σε σκούρα φιάλη.
- Standard Νιτρικών (με μορφή N στα νιτρικά): Παρασκευάζεται διάλυμα 1.000 ppm με την προσθήκη 0,720 gr νιτρικού καλίου (KNO₃) σε 100 ml νερό. Στη συνέχεια το διάλυμα αυτό αραιώνεται δέκα φορές ώστε να προκύψει διάλυμα των 100 mgL⁻¹. Με κατάλληλη αραιώση γίνεται η παρασκευή των standards διαλυμάτων. Χρησιμοποιούνται για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς.
- Πυκνό-θερμό Θεϊκό οξύ (H₂SO₄)

B. Εκτέλεση της διαδικασίας ανάπτυξης χρώματος

- ✓ Το εκάστοτε δείγμα εκχυλίσματος φυτικών ιστών αραιώνεται κατάλληλα έτσι ώστε η απορρόφηση του φασματοφωτόμετρου να βρίσκεται κάτω από την τιμή 1,5 που αντιστοιχεί σε συγκεντρώσεις αζώτου που βρίσκονται μέσα στο γραμμικό μέρος της καμπύλης αναφοράς (κάτω από $30 \text{ mgL}^{-1} \text{ N}$), όπως φαίνεται παρακάτω.
- ✓ Παίρνουμε 400 μl από το εκχύλισμα κάθε δείγματος (μετά από την αραιώση) και τα τοποθετούμε σε δοκιμαστικό σωλήνα.
- ✓ Προσθέτουμε μία σταγόνα από το αντιδραστήριο της θειικής ουρίας με συνεχή ανάδευση.
- ✓ Αφήνουμε το δείγμα σε ηρεμία για 4 min.
- ✓ Τοποθετούμε τον δοκιμαστικό σωλήνα μέσα σε υδατόλουτρο με παγωμένο νερό για την απορρόφηση της εκλυόμενης θερμότητας κατά την προσθήκη των οξέων που ακολουθεί.
- ✓ Προσθέτουμε 200 μl από το αντιδραστήριο του χρωμοτροπικού οξέος με συνεχή ανάδευση.
- ✓ Στη συνέχεια προσθέτουμε προσεκτικά 1400 μl πυκνού θειικού οξέος (H_2SO_4).
- ✓ Αναδεύουμε για λίγο.
- ✓ Τοποθετούμε το δείγμα σε υδατόλουτρο με θερμοκρασία $10\text{-}20^\circ \text{C}$ για 45 min.
- ✓ Το δείγμα τοποθετείται στο φασματοφωτόμετρο για την μέτρηση της απορρόφησης του, σε μήκος κύματος 410 nm (Εικόνα 6).



Εικόνα 6: Φασματοφωτόμετρο για την μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων, σε μήκος κύματος 410 nm

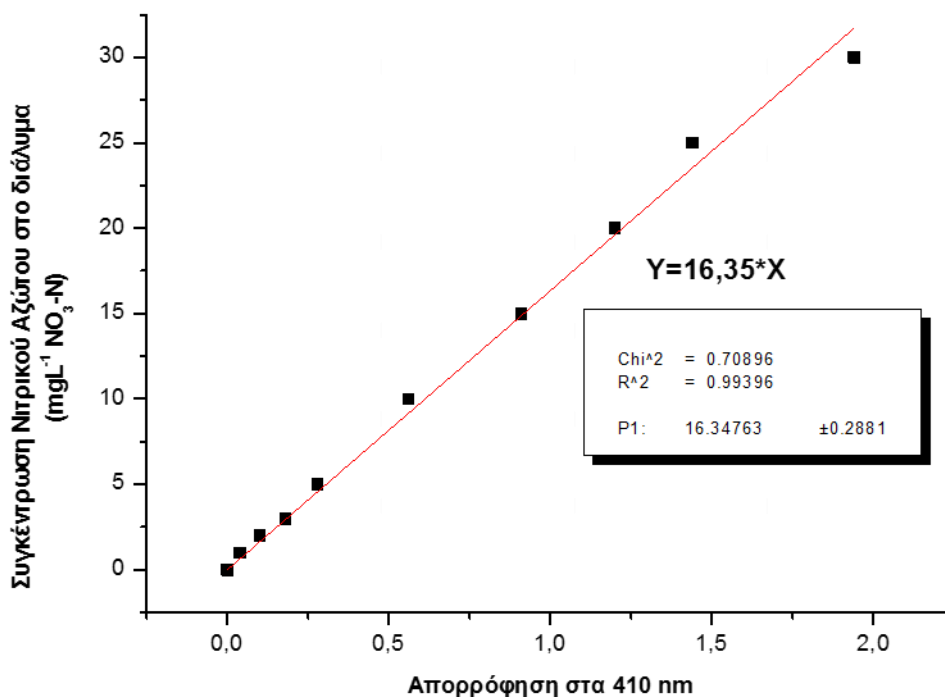
Γ. Κατασκευή καμπύλης αναφοράς

Αυτή αφορά την γραμμική σχέση μεταξύ της απορρόφησης του φασματοφωτόμετρου στα 410 nm και της συγκέντρωσης του νιτρικού αζώτου στα διαλύματα από 0 έως 30 mgL⁻¹. Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις δεν ισχύει η γραμμική σχέση. Για την κατασκευή της χρησιμοποιούνται διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων NO₃-N (παρασκευασμένο από νιτρικό κάλιο – KNO₃) με διαβάθμιση από 0 έως 30 mgL⁻¹ και προσδιορίζεται η απορρόφησή τους από το όργανο.

Πίνακας 2: Αντιστοίχιση τιμών απορρόφησης του φασματοφωτόμετρου σε μήκος κύματος 410 nm, με τις πρότυπες συγκεντρώσεις νιτρικού (NO₃-N) αζώτου από 1 έως 30 mgL⁻¹.

Συγκέντρωση NO ₃ -N (mgL ⁻¹)	Απορρόφηση οργάνου	Συγκέντρωση NO ₃ -N (mgL ⁻¹)	Απορρόφηση οργάνου
0	0	10	0,56
1	0,04	15	0,91
2	0,1	20	1,2
3	0,18	25	1,44
5	0,28	30	1,94

Στο παρακάτω διάγραμμα 1, παρουσιάζεται η καμπύλη αναφοράς που προσδιορίστηκε με βάση τα *standard* διαλύματα του πειράματός μας.



Διάγραμμα 1: Καμπύλη αναφοράς νιτρικού αζώτου στα 410 nm

Η παραπάνω καμπύλη αναφοράς αφορά την γραμμική σχέση, η οποία προκύπτει από την στατιστική επεξεργασία της γραμμικής παλινδρόμησης της συγκέντρωσης του νιτρικού αζώτου, πάνω στις ενδείξεις του φασματοφωτόμετρου και η οποία είναι :

$$Y = 16,35 \times X \quad (R^2=99,4\%)$$

όπου Y είναι η συγκέντρωση του νιτρικού αζώτου σε ppm που αντιστοιχεί στην τιμή X της ένδειξης του φασματοφωτόμετρου.

Επειδή στο εκάστοτε διάλυμα που εισάγεται προς μέτρηση στο φασματοφωτόμετρο η τιμές Y αφορούν τις συγκεντρώσεις του νιτρικού N σε mgL⁻¹, ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των NO₃⁻ στους ιστούς της αντράκλας και η επεξεργασία των αποτελεσμάτων, έγινε ύστερα από αναγωγή των mgL⁻¹ νιτρικού N σε mg NO₃/kg νωπού βάρους.

Για την μετατροπή των mgL⁻¹ νιτρικού N σε mg NO₃⁻/kg νωπού βάρους, υπολογίσθηκε αρχικά η περιεκτικότητα σε mg νιτρικών του δείγματος των 100mg ξηρών ιστών, τα οποία ανάγονται σε βάρος νωπών ιστών λαμβάνοντας υπόψη τον συντελεστή αφυδάτωσης. Από την τιμή αυτή αναλογικά προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε νιτρικά ανά χιλιόγραμμο νωπού βάρους.

Δηλαδή $Y=N \times d \times D \times 4,4$

Όπου:

Y: Νιτρικά (mg/kg νβ) στο κάθε φυτό

N: νιτρικό άζωτο (mgL^{-1}) σε κάθε δείγμα μετά την κατάλληλη αραίωση (ένδειξη οργάνου $\times 16,35$)

d: βαθμός αραίωσης του κάθε δείγματος

D: ποσοστό % της ξηρής ουσίας του εκάστοτε δείγματος

4,4: συντελεστής αντιστοίχισης του βάρους του νιτρικού αζώτου με το βάρος των νιτρικών ανιόντων.

Κεφάλαιο 4: Αποτελέσματα

4.1 Ολική Αντιοξειδωτική ικανότητα

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων των ποσοστών της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυτών της αντράκλας στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται στον παρακάτω Πίνακα 3.

Πίνακας 3: Ποσοστά ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυτών της *Portulaca oleracea* που καλλιεργήθηκαν σε φυτοδοχεία την περίοδο του χειμώνα με τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις αζωτούχου λίπανσης

	50 mgL ⁻¹	200 mgL ⁻¹	350 mgL ⁻¹
	83,64	48,48	70,79
	61,82	41,54	69,21
	56,36	44,78	74,08
	61,82	67,57	76,05
	61,82	49,58	72,89
	71,93	63,80	62,37
	71,93	76,81	64,21
	74,74	80,82	63,16
	68,42	72,92	
	68,42		
MO ± StEr	68,09 ± 2,52	60,7 ± 4,95	69,095 ± 1,86

Υπήρξε απώλεια ενός δείγματος στην δεύτερη και δύο δειγμάτων στην τρίτη μεταχείριση λόγω κλιματικών συνθηκών (αύξηση υγρασίας), αναπτύχθηκαν μυκητολογικές ασθένειες.

4.2 Στατιστικός Έλεγχος

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης ενός παράγοντα (one-way ANOVA) με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος Co-Stat 6.0.

Οι απαραίτητες προϋποθέσεις που πρέπει να ελεγχθούν πριν την εφαρμογή της ANOVA είναι:

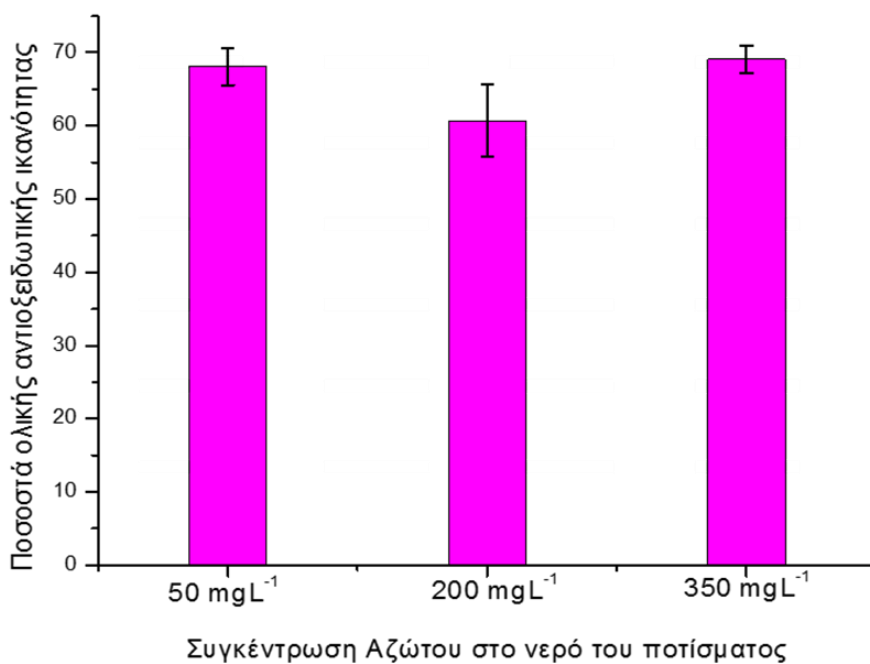
A. Να υπάρχει κανονικότητα. Ο έλεγχος της κανονικότητας έγινε για την κάθε μεταχείριση ξεχωριστά με τη δοκιμασία των D'Agostino- Pearson και την χρήση της στατιστικής K^2 .

B. Οι διακυμάνσεις όλων των ομάδων θα πρέπει να είναι ίσες μεταξύ τους. Για τον έλεγχο της ομοιογένειας των διακυμάνσεων, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία του Barlett.

Τα αποτελέσματα από τις παραπάνω δοκιμασίες έδειξαν ότι τα δεδομένα του πειράματος ακολουθούν την κανονική κατανομή και υπάρχει ομοιογένεια των διασπορών τους.

Η ανάλυση της διασποράς (διακύμανσης) (ANOVA) των παραπάνω τιμών φανερώνει ότι μεταξύ των τριών μεταχειρίσεων αζωτούχου λίπανσης δεν υφίστανται στατιστικά σημαντικές διαφορές ($F=1,77$ για 2 και 24 βαθμούς ελευθερίας, $P=0,19$), αναφορικά με την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών της αντράκλας.

Τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται και στο γράφημα της Εικόνας 7.



Εικόνα 7: Μέση ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών της αντράκλας που καλλιεργήθηκαν σε μείγμα τύρφης-περλίτη κατά τη διάρκεια του χειμώνα με τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις αζωτούχου λίπανσης

4.3 Βάρος υπέργειου μέρους των φυτών

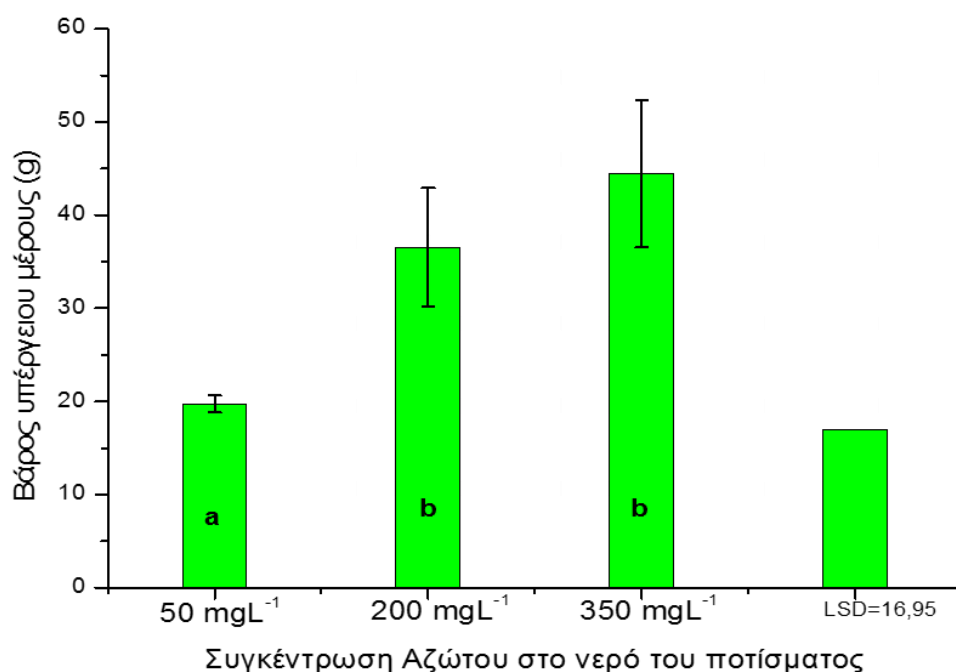
Στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων του νοπού βάρους του υπέργειου μέρους των φυτών του πειράματος

Πίνακας 4: Βάρος σε g του υπέργειου μέρους των φυτών της αντράκλας για τις τρεις μεταχειρίσεις του πειράματος

	50 mgL ⁻¹	200 mgL ⁻¹	350 mgL ⁻¹
	19,55	54,8	69,5
	18,4	57,1	46,58
	17,96	48,6	63,05
	17,5	14,9	59,2
	20,37	10,32	51,45
	27,09	29,9	9,13
	17,24	47,05	44,01
	19,4	15,03	12,6
	21,4	51,35	
	18,47		
MO ± StEr	19,74 ± 0,91	36,56 ± 6,34	44,44 ± 7,91

Η ανάλυση της διασποράς (βλέπε παράρτημα) των παραπάνω τιμών του βάρους των φυτών έδειξε ότι μεταξύ των τριών μεταχειρίσεων αζωτούχου λίπανσης υφίστανται στατιστικά σημαντικές διαφορές ($F=5,4$ για 2 και 24 βαθμούς ελευθερίας, $P=0,01$). Οι συγκρίσεις μεταξύ των τριών μέσων έδειξαν ότι τα φυτά που υποβλήθηκαν στην μεταχείριση με 50 mgL⁻¹ αζώτου στο νερό του ποτίσματος παρουσίασαν σημαντικά μικρότερο βάρος από τα φυτά των δύο άλλων μεταχειρίσεων και ότι μεταξύ των φυτών που ποτίζονταν με 200 και 350 mgL⁻¹ αζώτου δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές στο βάρος των φυτών.

Τα παραπάνω αποτελέσματα παρουσιάζονται και στο γράφημα της εικόνας 8.



Εικόνα 8: Βάρος του υπέργειου μέρους των φυτών της αντράκλας που καλλιεργήθηκαν σε μείγμα τύρφης-περλίτη κατά τη διάρκεια του χειμώνα με τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις αζωτούχου λίπανσης. Οι μέσοι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

4.4 Περιεκτικότητα των φυτών σε νιτρικά ανιόντα

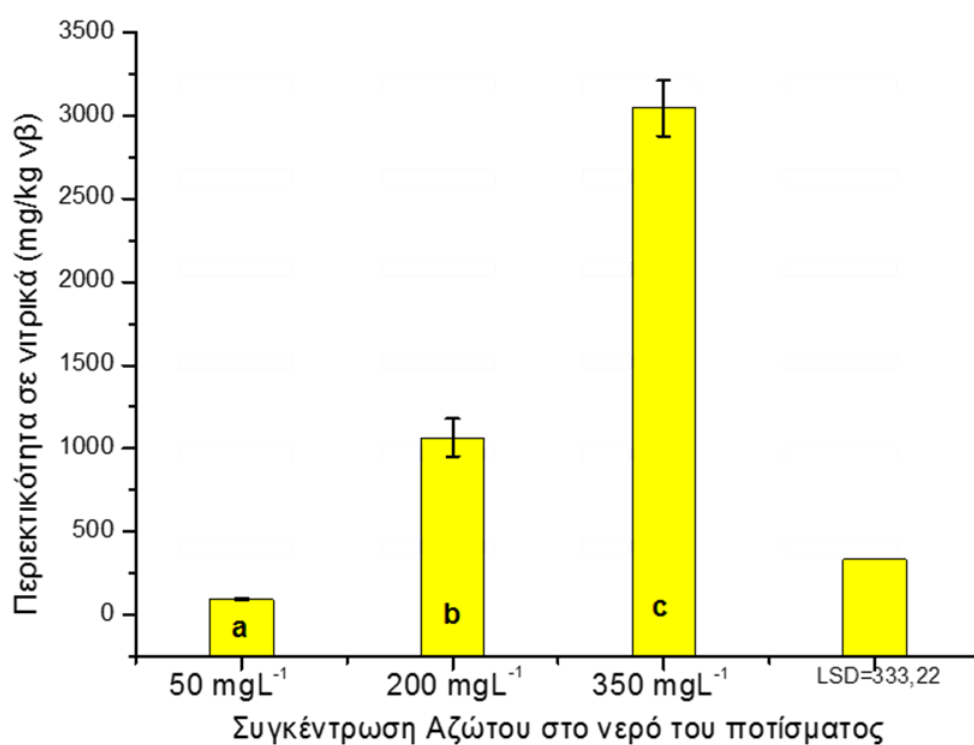
Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων της περιεκτικότητας σε νιτρικά των ιστών των φυτών του πειράματος, μετά από την αναγωγή των αρχικών μετρήσεων σε τιμές που αντιστοιχούν σε kg νωπού

Πίνακας 5: Περιεκτικότητα σε νιτρικά ανιόντα (mg/kg νβ) του υπέργειου μέρους των φυτών της αντράκλας για τις τρεις μεταχειρίσεις του πειράματος

	50 mgL ⁻¹	200 mgL ⁻¹	350 mgL ⁻¹
	116,58	641,21	2936,54
	133,91	1159,49	3852,76
	105,51	796,71	2924,03
	87,62	992,21	2451,51
	97,31	1303,80	3667,09
	77,31	1039,67	2926,27
	75,03	995,96	2911,87
	95,79	1800,40	2673,52
	78,64	859,61	
	82,07		
MO ± StEr	94,98 ± 6,05	1065,45 ± 112,5	3042,95 ± 168,39

Η ανάλυση της διασποράς (βλέπε παράρτημα) των παραπάνω τιμών περιεκτικότητας σε νιτρικά των φυτών της αντράκλας, έδειξε ότι μεταξύ των τριών μεταχειρίσεων αζωτούχου λίπανσης υφίστανται στατιστικά σημαντικές διαφορές ($F=188,5$ για 2 και 24 βαθμούς ελευθερίας, $P<0,001$).

Οι συγκρίσεις μεταξύ των τριών μέσων έδειξαν η περιεκτικότητα σε νιτρικά επηρεάζεται πολύ σημαντικά από την ποσότητα του χορηγούμενου αζώτου με το νερό τους ποτίσματος. Κάθε αύξηση στην ποσότητα της αζωτούχου λίπανσης προκαλεί πολύ σημαντική αύξηση στην περιεκτικότητα των ιστών της αντράκλας σε νιτρικά. Τα παραπάνω αποτελέσματα παρουσιάζονται και στο γράφημα της Εικόνας 9.



Εικόνα 9: Περιεκτικότητα σε νιτρικά του υπέργειου μέρους των φυτών της αντράκλας που καλλιεργήθηκαν σε μείγμα τύρφης-περλίτη κατά την διάρκεια του χειμώνα με τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις αζωτούχου λίπανσης. Οι μέσοι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Κεφάλαιο 5: Συμπεράσματα-Συζήτηση

Το άζωτο αποτελεί το κύριο θρεπτικό στοιχείο που καθορίζει την αύξηση της βιομάζας των φυτών. Η επάρκεια αζώτου στο θρεπτικό διάλυμα επιτρέπει την πλήρη εκδήλωση της αύξησης των φυτών, σύμφωνα με την γενετική τους καταβολή. Τα φυτά παραλαμβάνουν το άζωτο από το εδαφικό διάλυμα υπό μορφή κυρίως νιτρικών ανιόντων μέσω της διαπνοής και η παρουσία NO_3^- στο θρεπτικό διάλυμα καθορίζει σε μέγιστο βαθμό το ύψος της παραγωγής.

Η σταθερή ελεύθερη ρίζα DPPH έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης φυτοχημικών ενώσεων και εκχυλισμάτων φυτών όπως και εκχυλισμάτων πρόπολης (Moreno et al., 2000; Depkevicius et al., 2002; Dorman et al., 2004; Kumazawa et al., 2004; Capecka et al., 2005; Wong et al., 2006; Laskar et al., 2010). Μεταξύ των τριών μεταχειρίσεων αζωτούχου λίπανσης δεν υφίστανται στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών της αντράκλας γεγονός που υποστηρίζει την αντιοξειδωτική και γενικά την ευεργετική δράση του συγκεκριμένου βοτάνου της Ελληνικής μικροχλωρίδας.

Τα φυτά που υποβλήθηκαν στην μεταχείριση με 50 mgL^{-1} αζώτου στο νερό του ποτίσματος παρουσίασαν σημαντικά μικρότερο βάρος από τα φυτά των δύο άλλων μεταχειρίσεων καθώς μεταξύ των φυτών που ποτίζονταν με 200 και 350 mgL^{-1} αζώτου δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές στο βάρος των φυτών. Το γεγονός αυτό συμφωνεί και με τους Tei et al., (2000) σύμφωνα με τους οποίους το επίπεδο της αζωτούχου λίπανσης έχει τη μεγαλύτερη επίδραση στην ανάπτυξη και στην απόδοση των φυτών περισσότερο από οποιοδήποτε άλλο θρεπτικό στοιχείο.

Η περιεκτικότητα σε νιτρικά επηρεάζεται πολύ σημαντικά από την ποσότητα του χορηγούμενου αζώτου με το νερό τους ποτίσματος με κάθε αύξηση στην ποσότητα της αζωτούχου λίπανσης να προκαλεί πολύ σημαντική αύξηση στην περιεκτικότητα των ιστών της αντράκλας σε νιτρικά. Οι συγκεντρώσεις των νιτρικών ιόντων στην αντράκλα σε ποσοστά εφαρμογής N μέχρι 350 mgL^{-1} ήταν χαμηλότερες από τα ανώτατα αποδεκτά επίπεδα για κατανάλωση από τον άνθρωπο ($2000-4500 \text{ ppm v}\beta$). Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Siomos et al., (2002) που μελέτησαν τη συγκέντρωση των νιτρικών στο πλατύφυλλο λαχανικό μαρούλι καθώς και οι Στεργίου κ.α., (2004) που πραγματοποίησαν παρόμοια έρευνα για δυο διαφορετικές καλλιεργητικές εποχές (χειμώνα-άνοιξη).

Παράρτημα

Πίνακας 5: Ανάλυση της διασποράς των ποσοστών ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυτών της αντράκλας για τις τρεις συγκεντρώσεις αζώτου που χρησιμοποιήθηκαν για τη λίπανση

Προέλευση διακύμανσης	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο Τετράγωνο	F (πειράματος)	τιμή-P	κριτήριο F
Συγκεντρώσεις Αζώτου	373,0087	2	186,5043579	1,76918	0,19199	3,402826
Πειραματικό σφάλμα	2530,044	24	105,4185061			
Σύνολο	2903,053	26				

Πίνακας 6: Ανάλυση της διασποράς των τιμών του βάρους του υπέργειου μέρους των φυτών της αντράκλας για τις τρεις συγκεντρώσεις αζώτου που χρησιμοποιήθηκαν για τη λίπανση

Προέλευση διακύμανσης	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο Τετράγωνο	F (πειράματος)	τιμή-P	κριτήριο F
Συγκεντρώσεις Αζώτου	2916,895	2	1458,448	5,405182	0,011535	3,402826
Πειραματικό σφάλμα	6475,775	24	269,824			
Σύνολο	9392,671	26				

Πίνακας 7: Ανάλυση της διασποράς των τιμών της περιεκτικότητας σε νιτρικά του υπέργειου μέρους των φυτών της αντράκλας για τις τρεις συγκεντρώσεις αζώτου που χρησιμοποιήθηκαν για τη λίπανση

Προέλευση διακύμανσης	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο Τετράγωνο	F (πειράματος)	τιμή-P	κριτήριο F
Συγκεντρώσεις Αζώτου	39317109	2	19658555	188,5408	2,11E-15	3,402826
Πειραματικό σφάλμα	2502405	24	104266,9			
Σύνολο	41819514	26				

Βιβλιογραφία

Ελληνική

- Βασιλάκης, Μ. Δ. (2006). Μετασυλλεκτική Φυσιολογία-Μεταχείριση οπωροκηπευτικών και Τεχνολογία. Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα.
- Δαμανάκη, Μ. Ε. (1979). Επισκόπηση των κυριότερων ζιζανίων των καλλιεργειών της χώρας κατά το 1976. Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο. Κηφισιά. Αθήνα.
- Διαμαντίδης, Γ. Χ. (1990). Εισαγωγή στη βιοχημεία-University Studio Press.
- Δροσόπουλος, Β.Ι. (1992). Η Μορφολογία και η Ανατομία των Φυτών. Αθήνα: Εκδόσεις Γ.Π.Α.
- Ελευθεροχωρινός, Η.Γ. (1996). Ζιζανιολογία. Εκδόσεις ΑγρόΤυπος, Αθήνα 1996, σελ. 325.
- .Θερίος, Ι. (1996). Ανόργανη θρέψη και λιπάσματα Αθήνα.
- Καράταγλης Σ. Σ. (1994). Φυσιολογία Φυτών. Art of text, 391-407.
- Κουμιτζής, (1982). Φασματομετρία Υπεριώδους-Ορατού. Ενόργανη χημική ανάλυση,σελ.89-102,Δεύτερη έκδοση Γραφικές τέχνες. Θεσσαλονίκη.
- Λόλας, Π.Χ. (2003). Ζιζάνια-Ζιζανιοκτόνα, Τύχη και Συμπεριφορά στο περιβάλλον. Ζιζανιολογία Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη 2003, σελ 587.
- Νιαβής, Κ.Α. (1981). Μαθήματα φυσιολογίας φυτών. Ανόργανος διατροφή φυτών. Φωτοσύνθεση. Αθήνα, σελ.56-79.
- Παπούλιας, Θ. (1999). Τα άγρια φαγώσιμα χόρτα του βουνού και του κάμπου, Εκδόσεις Ψύχαλου, Αθήνα.
- Στέργιου, Β., Ακουμιανάκης, Κ., Μουστάκας, Ν., Ολύμπιος, Χ. και Πάσσαμ, Χ.Κ. (2004). Η επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στην περιεκτικότητα νιτρικών στα φύλλα δύο ποικιλιών μαρουλιού. Πρακτικά Ελληνικής Εταιρείας της Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών, 21^ο Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο, Ιωάννινα, 8-10 Οκτωβρίου, 2003, σελ.99-102.

Ξενόγλωσση

- Amr, A., Halidi, N. (2001). Effect of cultivar and harvest date on nitrate and nitrite content of selected vegetables grown under open field and green house conditions in Jordan. Journal of Food Composition and Analysis. 14: 59-67.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samsam, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry 99, 191-203.

- Bloom-Zandstra, M. (1989). Nitrate accumulation in vegetables and its relationship to quality. *Ann, Appl.Biol.*, 155:553-561.
- Cantliffe D. J. (1972a). Nitrate accumulation in spinach grown under different light intensities.
- Capeccka E, Mareczek A and Leja M (2005). Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. *Food Chem.*, 93: 223-226.
- Depkevicius, A., van Beek, T. A., Lelyveld, G. P., van Veldhuizen, A., de Groot, A., Linsen, J. P. H., et al. (2002). Isolation and structural elucidation of radical scavengers from *Thymus vulgaris* leaves. *Journal of Natural Products*, 65, 892–896.
- Dorman, H.J.D., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y. and Hiltunen, R. (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 4563-69.
- Egley, G. H. (1984). Ethylene, Nitrate and Nitrite Interactions in the Promotion of Dark Germination of Common Purslane Seeds. *Annals of Botany*. Volume 53. P. 833-840.
- Egley, G. H. (1990). High temperature effects on germination and survival of weed seeds in soil. *Weed Science*. Volume 38 p. 429-435.
- Elia, A., Santamaria, P., Serio, F. (1998). Nitrogen nutrition, yield and quality of spinach. *J. Sci. Food Agr.* 76(3): 341-346.
- Hord, N., Tang, Y., and Bryan, N. (2009). Food resources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. *Am J Clin Nutr.*; 90(1):1-10. doi: 10.3945/ajcn.2008.27131. Epub 2009 May 13...
- Klingman, G.C. and Ashton E.M. (1982). *Weed Science: Principles and Practices*. 2nd ed. John Willey and sons, Inc. N.York. σελ 399.
- Kumaran et al., (2005): Μελέτη των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων και της φαινολικής σύστασης πολικών εκχυλισμάτων ελληνικής πρόπολης..
- Kumazawa, S., Hamasaka, T., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, 84, 329–339.
- Maynard, D.N., Barker A.V. (1972). Nitrate Content of Vegetable Crops. *HortScience* 7, 224-226.
- Maynard D.N., Barker A.V., Minotti P.L., Peck N.H. (1976). Nitrate Accumulation in Vegetables, *Adv.Agron.*28, 71-118.

- Moreno, M.I. N., Isla, M., Sampietro, A.R., Vattuone, M.A. (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology* 71,109-114.
- Packer, L. (ed.). (1999). *Methods in Enzymology Vol 299, Oxidants and Antioxidants (Part A)*, Academic Press, San Diego.
- Palaniswamy, U. R, Bible B. B. (2002). Effect of nitrate: Ammonium nitrogen ratio on oxalate levels of Purslane, p. 453-455.
- Quinche, J.P. (1982). Fluctuations des teneurs en nitrates des ecosystems. *Annals of Botany* 77, 261-275 legumes au cours de la journée. *Revue Suisse de Viticulture*.
- Rixao N., Perestrelo R., Marques J.C., Camara J.S. (2007). Relationship between antioxidant capacity and total.
- Rubin, B., Benjamin, A., (1984). Solar heating of the soil involvement of environmental factors in the weed control process. *Weed Science*. Volume 32 p. 138-142..
- Santamaria, P., Elia, A., Serio, F., Todaro, E. (1999). A survey of nitrate and oxalate content in fresh vegetables, *J. Sci. Food Agric.* 79:1882-1888.
- Siomos, A.S., Papadopoulou, P.P., Dogras, C.C., Vasiliadis, E., Dosas, A., Georgiou, N. (2002). Lettuce composition as affected by genotype and leaf position. *Acta Hort.* 579, 635-639.
- Taiz, L. and Zeiger, E. (1998). *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc., Publishers Sunderland, Massachusetts.
- Tei F., Benincasa P., Guiducci M. (2002). Critical nitrogen concentration in processing tomato. *Europ. J. Agronomy*, 18: 45-55.
- Vardavas C.I. (2005). The antioxidant and phyloquinone content of wildy grown greens in Crete. *Food Chemistry*.
- Wong, C., Li, H., Cheng, K. and Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry* 97: 705-711.
- Zheng, W., Whang, Y. (2001). Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemitry*, 49, 5165-5170. (<http://purslaneask.com/benefits.htm>).

