



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

με θέμα:

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ
ΣΕ ΦΥΤΑ ΤΗΣ PORTULACA OLERACEA ΠΟΥ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΘΗΚΑΝ
ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΣΚΙΑΣΗΣ**

Φοιτήτριες :

ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΖΩΤΟΥ

ΕΛΠΙΣ ΣΤΕΦΟΥ

Επιβλέπων Καθηγητής : Χαράλαμπος Καριπίδης

Τομέας: Φυτικής Παραγωγής

ΑΡΤΑ 2019

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	5
Abstract	6
A. Θεωρητικό μέρος	7
1. Γενικά στοιχεία	7
1.1. Βοτανική περιγραφή	7
1.1.1. Συστηματική κατάταξη και προέλευση.....	7
1.1.2. Περιγραφή του φυτού.....	8
1.2. Εδαφικές και κλιματικές απαιτήσεις.....	9
1.2.1. Εδαφικές απαιτήσεις.....	9
1.2.2. Κλιματικές απαιτήσεις	10
1.3. Βιολογικός κύκλος.....	10
1.3.1. Φύτρωμα	10
1.3.2. Άνθηση	10
1.3.3. Φύτεμα	11
1.4. Θρεπτική αξία.....	11
2. Αντιοξειδωτικές ουσίες που βρίσκονται στα φυτά.....	13
2.1. Αντιοξειδωτικά	13
2.2. Ελεύθερες ρίζες	13
2.3. Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών στα φυτά	14
2.4. Κατηγορίες αντιοξειδωτικών που βρίσκονται στα φυτά	15
2.4.1. Β-καροτένιο	15
2.4.2. Λουτεΐνη	15
2.4.3. Βιταμίνη C- ασκορβικό οξύ	16
.....	17
2.4.4. Βιταμίνη A-Ρετινόλη	17

2.4.5. Βιταμίνη E- Τοκοφερόλη	18
2.4.6. Φλαβονοειδή.....	19
2.4.7. Ανθοκυανίνες	20
2.4.8. Φλαβονόλες	20
2.4.9. Χαλκόνες, αουρόνες και διϋδροχαλκόνες	21
2.4.10. Σουλφοραφάνη	21
2.4.11. Φαινόλες	21
2.4.12. Καφεϊκό οξύ.....	21
2.4.13. Φερουλικό οξύ	22
2.4.14. Λιποϊκό οξύ.....	22
3. Η φωτοσυνθετική λειτουργία ως κέντρο του φυτικού αναβολισμού	24
3.1. Φωτοσύνθεση	24
3.1.1. Φωτεινές αντιδράσεις φωτοσύνθεσης	25
3.1.2. Σκοτεινές αντιδράσεις φωτοσύνθεσης	26
3.2. Η φωτοσύνθεση ως κέντρο του φυτικού αναβολισμού	27
4. Η επίδραση του φωτός στα φυτά	28
5. Ο κύκλος του αζώτου	30
B. Πειραματικό μέρος	32
1. Σκοπός του πειράματος.....	32
2. Περιγραφή των μεθόδων προσδιορισμού των αντιοξειδωτικών ουσιών.....	33
2.1. Μέθοδος Folin – Ciocalteu	33
2.2. Μέθοδος αναστολής της ελεύθερης ρίζας DPPH (2,2diphenyl-1-picrylhydrazyl)	34
2.3. Φασματομετρία υπεριώδους ορατής ακτινοβολίας (UV/VIS).....	36
2.4. Αρχή λειτουργίας φασματοφωμετρου UV-VIS	37
3. Περιγραφή της πειραματικής διαδικασίας.....	40
3.1. Δείγματα.....	40
3.2. Αντιδραστήρια μεθόδου DPPH	42
3.3. Σκεύη	42

3.4. Όργανα	42
3.5. Πειραματική διαδικασία	42
3.5.1 Προετοιμασία δειγμάτων.....	42
3.5.2 Παρασκευή διαλύματος DPPH.....	44
3.5.3 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας	44
4. Αποτελέσματα και συζήτηση	47
4.1. Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα	47
Βιβλιογραφία	50
Παράρτημα Α.....	52

Περίληψη

Η γλιστρίδα ή αντράκλα (*Portulaca oleracea*), αν και θεωρείται ζιζάνιο, είναι ένα ιδιαίτερα θρεπτικό λαχανικό που καταναλώνεται κυρίως νωπή σε σαλάτες. Στην εργασία αυτή εξετάστηκε η επίδραση που έχουν τα δίχτυα σκίασης στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών της αντράκλας. Τα φυτά καλλιεργήθηκαν στο έδαφος κατά την ανοιξιάτικη περίοδο, σε τρεις συνθήκες σκίασης (χωρίς σκίαση, σκίαση με απλό δίχτυ, σκίαση με διπλό δίχτυ). Μετά από δύο μήνες έγινε προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυτών με την μέθοδο του DPPH. Από τα αποτελέσματα προκύπτει πως δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές, αναφορικά με την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών της αντράκλας

Λέξεις κλειδιά: Αντράκλα, σκίαση, αντιοξειδωτική ικανότητα, DPPH.

Abstract

The pursley or purslane (*Portulaca oleracea*), although considered a weed, is a highly nutritious vegetable mainly consumed fresh in salads. In this work, the effect of shading nets on the total antioxidant capacity of the purslane's plants was examined. The plants were cultivated in the soil during the spring, in three shading conditions (no shading, single shading net, double shading net). After two months the total antioxidant capacity of the plants was determined by the DPPH method. The results show that there are no significant differences regarding the total antioxidant capacity of the purslane's plants.

Key words: *Portulaca oleracea*, shadowing, antioxidant capacity, DPPH.

A. Θεωρητικό μέρος

1. Γενικά στοιχεία

1.1. Βοτανική περιγραφή

1.1.1. Συστηματική κατάταξη και προέλευση

Η Αντράκλα είναι ένα ιδιαίτερα σημαντικό ζιζάνιο και απαντάται σε πολλές αρδευόμενες καλλιέργειες, ιδιαίτερα σε λαχανόκηπους. Στον Πίνακα 1 παρουσιάζεται η συστηματική κατάταξη του φυτού. Η Αντράκλα ανήκει στο γένος *Portulaca* της οικογένειας Portulacaceae.

Πίνακας 1: Η συστηματική κατάταξη της Αντράκλα. (Πηγή: <https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=profile&symbol=POOL&display=3>
1)

Βασίλειο	Φυτά
Υποβασίλειο	Tracheobionta – Vascular plants
Άθροισμα	Spermatophyta – Seed plants
Υποάθροισμα	Magnoliophyta – Flowering plants
Κλάση	Magnoliopsida – Dicotyledons
Υπόκλαση	Caryophyllidae
Τάξη	Caryophyllales
Οικογένεια	Portulacaceae
Γένος	Portulaca L.
Είδος	Portulaca oleracea L.

Η εμφάνιση του φυτού χρονολογείται από τα αρχαία αιγυπτιακά χρόνια, καθώς σε κείμενα που έχουν διασωθεί φαίνεται ότι υπήρχε στα χρόνια των Φαραώ. Η καταγωγή του αμφισβητείται, αφού άλλες πηγές αναφέρουν ότι βρέθηκε στη δυτική Ασία και από εκεί εισήχθη στη νότια Ευρώπη και στις Ηνωμένες Πολιτείες, ενώ άλλα κείμενα αναφέρουν ότι η καλλιέργεια του ξεκίνησε το 1.400 π.Χ. στην Ευρώπη ως σαλατικό. Η συστηματική καλλιέργεια του ξεκίνησε παγκοσμίως περί τα μέσα του 17^{ου} αιώνα (Καββαδάς, 1956).

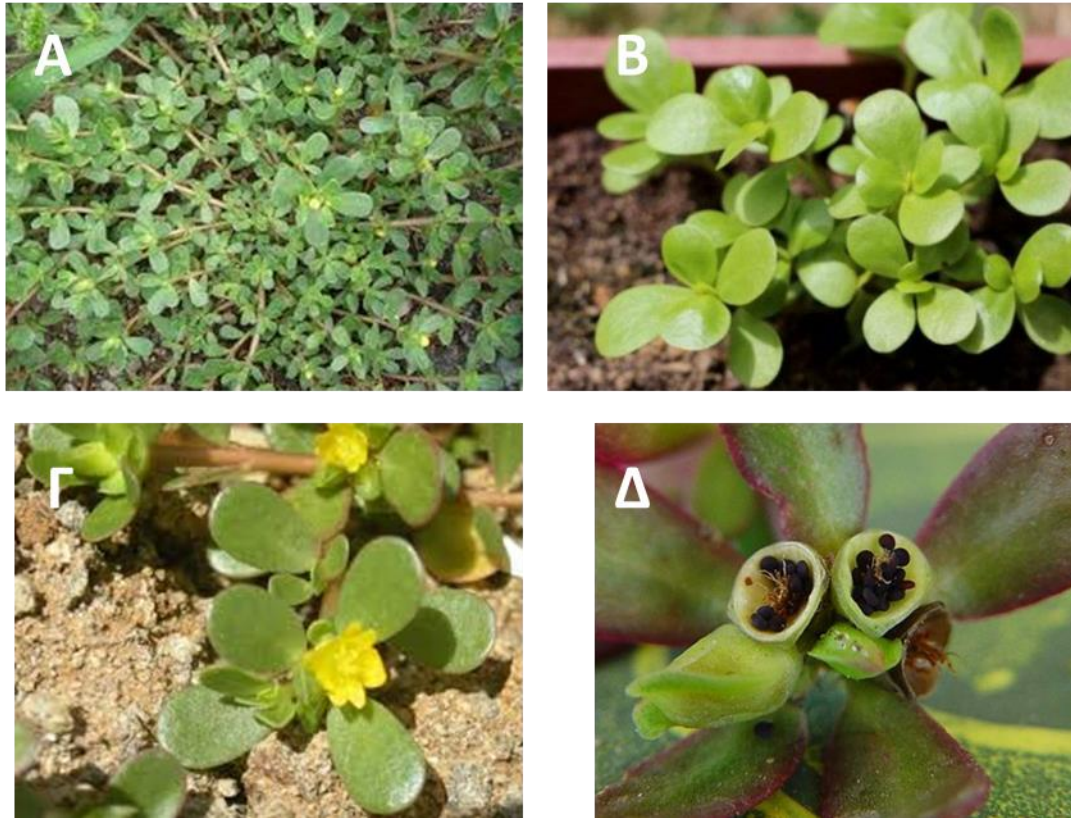
Συχνά χρησιμοποιείται σε σαλάτες, καθώς αναπτύσσεται συχνά ως ετήσιο ποώδες ζιζάνιο σε καλλιεργούμενους και μη αγρούς. Άλλες ονομασίες που χρησιμοποιούνται είναι το αντραχλίδα ή σκιμίτσα ή χοιροβότανο ή τρευλό ή γλυστρίδα (Καββαδάς, 1956).

1.1.2. Περιγραφή του φυτού

Εξωτερικά το φυτό ακολουθεί μέτρια ανάπτυξη, φτάνοντας σε ύψος έως και 40 πόντους και αναπτύσσει σαρκώδης βλαστούς και φύλλα. Συνήθως το φυτό είναι έρπον στο έδαφος, με σπανιότερη ανάπτυξη όρθιων βλαστών (Εικόνα 1) (Καλαϊτζή, 2004).

Ο βλαστός του φυτού είναι λείος και σαρκώδης, διακλαδιζόμενος, με μήκος 10 έως 0 πόντους και συνήθως έρπει στο έδαφος. Τα φύλλα βρίσκονται κατά εναλλαγή ή αντίθετα καθ' όλο το μήκος του βλαστού, με συχνή εξαίρεση το τέλος του βλαστού, που είναι γυμνό (Εικόνα 1B). Τα σποριόφυτα της Αντράκλα έχουν επιμήκεις, σαρκώδεις, ωοειδείς κοτυληδόνες και ωοειδή φύλλα. Και τα φύλλα και οι κοτυληδόνες της Αντράκλα είναι έμμισχα (Καλαϊτζή, 2004).

Το φυτό αναπτύσσει μικρά κίτρινα άνθη, χωρίς ποδίσκο, στις μασχάλες των φύλλων ή στα σημεία διακλαδώσεων του βλαστού (Εικόνα 1Γ). Τα άνθη στη συνέχεια εξελίσσονται σε σφαιροειδής κάψες, στις οποίες περιέχονται πολλοί μικροί μαύροι και γυαλιστεροί σπόροι. Ο σπόρος του φυτού είναι μαύρος με υπόλευκες ουλές στο ένα άκρο, σχεδόν στρογγυλός και λεπτός. Η επιφάνεια του σπόρου καλύπτεται από καμπυλωτές σειρές που αποτελούνται από πολύ λεπτές πτυχές (Εικόνα 1Δ) (Καλαϊτζή, 2004).



Εικόνα 1: Περιγραφή του φυτού Αντρακλα. Α. Το φυτό (Πηγή: <http://www.vegetablegardener.com/item/61630/purslane-portulaca-oleracea>). Β. Τα φύλλα του φυτού (Πηγή: <https://www.forwoman.gr/index.php/ygeia/diatrofi/16713-antrakla-poia-threptika-systatika-periexei>) Γ. Το άνθος (Πηγή: http://mediplantepirus.med.uoi.gr/pharmacology/plant_details.php?id=183) Δ.

1.2. Εδαφικές και κλιματικές απαιτήσεις

1.2.1. Εδαφικές απαιτήσεις

Η Αντράκλα ευδοκίμει σε υψόμετρο μέχρι 2.700 μέτρα, συνήθως σε ποτιστικές εκτάσεις, αλλά και σε διαβρωμένες πλαγιές. Είναι ένα φυτό με μικρές απαιτήσεις, με αποτέλεσμα να μπορεί να αναπτύσσεται σε οποιοδήποτε έδαφος, ωστόσο εδάφη πλούσια σε θρεπτικά, με διαθέσιμη υγρασία και ηλιακό φως είναι ιδιαίτερα ευνοϊκά για την ανάπτυξή του (Καλαϊτζή, 2004).

1.2.2. Κλιματικές απαιτήσεις

Η ανάπτυξη του φυτού δυσχεραίνει ιδιαίτερα σε περιόδους μεγάλων βροχοπτώσεων, ενώ ευδοκimeί κατά τη διάρκεια μεγάλων φωτοπεριόδων. Το κλίμα επιδρά σημαντικά στην ανάπτυξη των σπόρων, αφού ο αριθμός που παράγεται είναι ανάλογος του φωτός που λαμβάνει το ζιζάνιο. Ως φυτό είναι ιδιαίτερα ανεκτικό στην ένταση φωτός, στη μείωση της θερμοκρασίας, αλλά και σε διαφορετικούς τύπους εδάφους (Καλαϊτζή, 2004).

1.3. Βιολογικός κύκλος

Ο βιολογικός κύκλος της Αντράκλα ολοκληρώνεται σε δύο με τρεισήμισι μήνες όταν αναπτύσσεται σε τροπικό κλίμα ή σε εύκρατη ζώνη με υψηλές θερμοκρασίες.

1.3.1. Φύτρωμα

Η ανάπτυξη του σπόρου σε ήπιο καιρό ή σε περιόδους βροχοπτώσεων μπορεί να διαρκέσει έως και τέσσερις μήνες. Το φύτρωμα μπορεί να ολοκληρωθεί σε μόλις μία μέρα όταν η θερμοκρασία κυμαίνεται από 30 έως 40 βαθμούς Κελσίου, ενώ σε θερμοκρασίες από 10 έως 20 βαθμούς Κελσίου το φύτρωμα μπορεί να διαρκέσει ακόμη και δύο ημέρες. Συνήθως το φύτρωμα πραγματοποιείται στα τέλη της άνοιξης ή αρχές του καλοκαιριού μετά από άρδευση η βροχόπτωση.

1.3.2. Άνθηση

Περίπου ένα μήνα μετά το φύτρωμα η Αντράκλα έχει αποκτήσει 10 έως 12 φύλλα και αρχίζει η άνθηση της. Η άνθιση γίνεται συνήθως Ιούλιο έως Σεπτέμβριο και ανάλογα με τις καιρικές συνθήκες μπορεί να παραταθεί κατά ένα μήνα ακόμη, ανάλογα με τις καιρικές συνθήκες που επικρατούν. Η περιογή προέλευσης του σπόρου, σύμφωνα με έρευνες, δείχνει ότι η διάρκεια του λήθαργου διαφοροποιείται ανάλογα με την

προέλευση του σπόρου, επηρεάζοντας στη συνέχεια και τη βλαστικότητα των σπόρων αλλά και κατ'επέκταση την ανάπτυξη του φυτού.

1.3.3. Φύτεμα

Προκειμένου να φυτέψει κανείς Αντράκλα θα πρέπει να εμποτίσει τους πόρους και στη συνέχεια, εντός των πρώτων 12 ωρών, θα πρέπει να γίνει η μεταφύτευση των σπόρων. Σε συνθήκες εργαστηρίου συνήθως η φύτευση γίνεται σε θερμοκρασίες 30 έως 40 βαθμούς Κελσίου για διάστημα μίας ημέρας. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη δραστηριότητα ενός σπόρου είναι το φως - καθώς οι σπόροι της Αντράκλα απαιτούν φως για να βλαστήσουν.

1.4. Θρεπτική αξία

Παρότι φυτρώνει συχνά από μόνο του ως ζιζάνιο, το φυτό αυτό έχει ιδιαίτερη θρεπτική αξία και συχνά χρησιμοποιείται σε σαλάτες. Η Αντράκλα μπορεί να καταναλωθεί ωμή ή μαγειρεμένη σε σαλάτα όπως το σπανάκι και το μαρούλι ή μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε σάντουιτς. Η γεύση της είναι ελαφρώς ξινή και αλμυρή και μοιάζει με το σπανάκι και το κάρδαμο (<https://www.healthyliving.gr/2016/05/09/glistrida-antrakla-idiothtes/>).

Τα 100 γραμμάρια άντρακλας περιέχουν 93% νερό, για αυτό και περιέχουν μόλις 16 θερμίδες. Ωστόσο τα θρεπτικά συστατικά που περιέχονται σε αυτά είναι ιδιαίτερα σημαντικά (Πίνακας 2).

Πίνακας 2: Η θρεπτική αξία της Αντράκλα. (Πηγή: Uddin, 2014)

Συστατικό	Ποσότητα ανά 100γρ	Ποσοστό ΣΗΠ
Βιταμίνη Α	1.320 mg	44%
Βιταμίνη C	21 mg	35%
Μαγνήσιο	98 mg	17%
Μαγγάνιο	0,3 mg	13%
Κάλιο	494 mg	11%
Σίδηρος	2 mg	25%

Ασβέστιο	65 mg	7%
Χαλκός	65 mg	7%
Άλφα λινολεϊκό οξύ	300-400 mg	
Εικοσιπεντανοϊκό οξύ	1 mg	

Η σημαντικότητα του φυτού αποδεικνύεται από το γεγονός ότι η κατανάλωση μόλις 100 γραμμαριών φρέσκου φυτού καλύπτει την Συνιστώμενη Ημερήσια Παροχή (ΣΗΠ) σε Βιταμίνη Α κατά 44%, Βιταμίνη C κατά 35%, μαγνήσιο κατά 17%, μαγγάνιο κατά 13% και σίδηρο κατά 25% (Uddin, 2014).

Επίσης, τα 100 γραμμάρια Αντράκλας αντιστοιχούν στο 11% της ΣΗΠ σε κάλιο, ενώ μια κανονική μπανάνα παρέχει μόλις το 10%. Το φυτό περιέχει ιδιαίτερα σημαντικές ποσότητες βιταμινών Β1, Β2, Β3, φολικού οξέος και φωσφόρου, ενώ έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε ω-3 λιπαρά οξέα, καθώς τα 100 γραμμάρια φρέσκο χόρτο περιέχουν 300 με 400 mg ουρικού οξέος και 1 mg εικοσιπεντανοϊκού οξέος, πρόδρομες μορφές των ω-3 λιπαρών οξέων. Το εικοσιπεντανοϊκό οξύ περιέχεται στα ψάρια και σε ορισμένα μόνο φύκια, για αυτό και η Αντράκλα θεωρείται ένα ιδιαίτερα σημαντικό τρόφιμο για τους χορτοφάγους (Uddin, 2014).

Τέλος, είναι ιδιαίτερα πλούσια πηγή σε αντιοξειδωτικά, αφού περιέχει γλουταθειόνη (14 mg ανά 100 γραμμάρια) συστατικό που προστατεύει τα κύτταρα από βλάβες και μελατονίνη που βοηθάει τον οργανισμό στον ύπνο (Uddin, 2014).

2. Αντιοξειδωτικές ουσίες που βρίσκονται στα φυτά

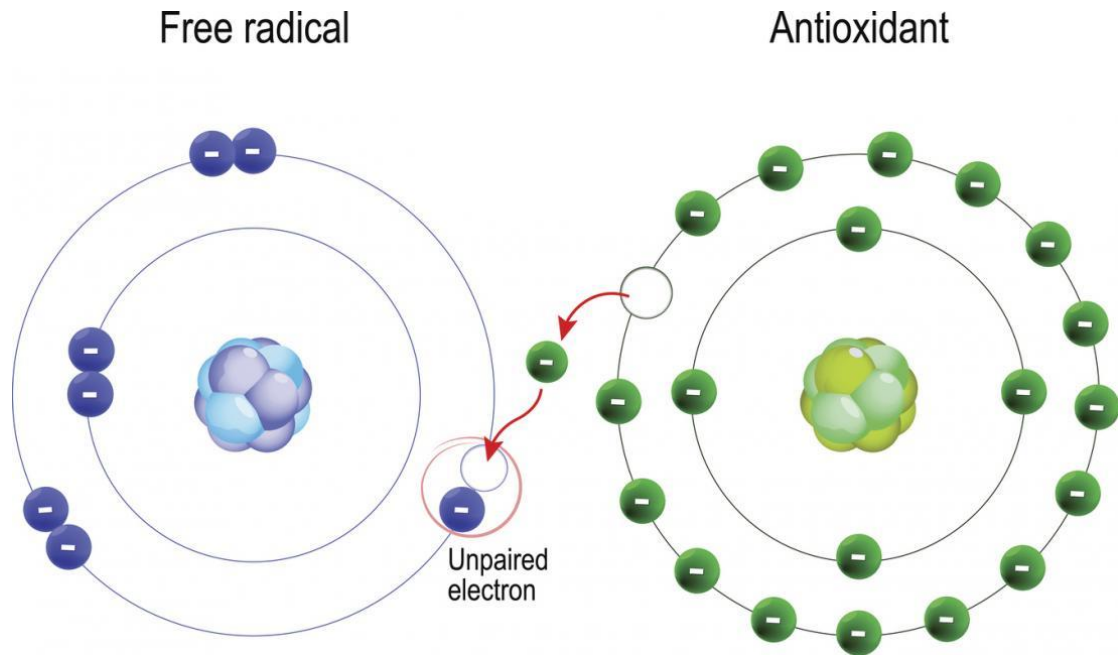
2.1. Αντιοξειδωτικά

Ως αντιοξειδωτικά χαρακτηρίζονται μόρια που έχουν την ικανότητα να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και αζώτου, προστατεύοντας τα κύτταρα από τις βλαπτικές δράσεις της οξειδωτικής καταπόνησης (Καλαντζή και Κατωπόδης, 2010). Η οξείδωση είναι η διαδικασία μεταφοράς ηλεκτρονίων που έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ελευθέρων ριζών (Εικόνα 2).

2.2. Ελεύθερες ρίζες

Ως ελεύθερες ρίζες ορίζονται άτομα ή ομάδες ατόμων που φέρουν ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Τα άτομα αυτά έχουν την τάση να σχηματίζουν δεσμούς με άλλα άτομα προκειμένου να περιέλθουν σε κατάσταση υψηλότερης ενεργειακής σταθερότητας, εμφανίζοντας αυξημένη δραστικότητα και αστάθεια (Jansen, 1971). Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου είναι πιο συχνά συναντούμενες και παίζουν σημαντικό ρόλο στην οξειδωτική καταπόνηση (Εικόνα 2).

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παράγονται μέσα από διάφορες βιολογικές διαδικασίες. Η κυριότερη πηγή παραγωγής είναι υπό τη μορφή σουπεροξειδίου ως παραπροϊόν κατά τη λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων και των κυττάρων. Επίσης, οι λιποξυγονάσες, οι κυκλοοξυγονάσες, οι υπεροξειδάσες και η αφυδρογονάση παράγονται ως παραπροϊόντα ενζυμικών αντιδράσεων. Τέλος, ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου μπορούν να παραχθούν από χημικές αντιδράσεις παρουσία μεταλλικών ιόντων (Droge, 2002).



Εικόνα 2: Οι ελεύθερες ρίζες είναι μόρια που έχουν στην εξωτερική τροχιά τους ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Το ηλεκτρόνιο αυτό το καθιστά ιδιαίτερα δραστικό, τείνοντας το μόριο να σχηματίζει συνεχώς δεσμούς με άλλα μόρια. Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών είναι να προσφέρει στην ελεύθερη ρίζα ένα ηλεκτρόνιο, ανάγοντάς το σε μη βλαπτική μορφή για τη κύτταρο (<http://newlife.com.cy/free-radicals/>).

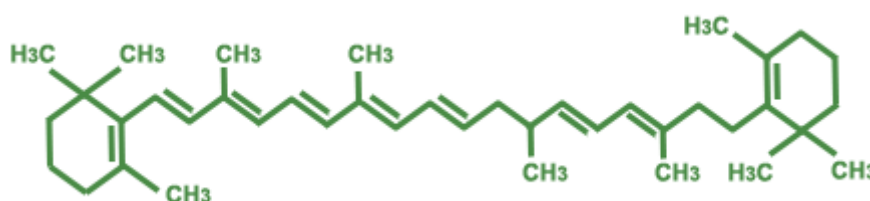
2.3. Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών στα φυτά

Είναι γεγονός ότι τα φυτά περιέχουν ιδιαίτερα υψηλές ποσότητες αντιοξειδωτικών. Αυτό συμβαίνει διότι τα φυτά δεν έχουν τη δυνατότητα μετακίνησης από τους βλαπτικούς παράγοντες όπως έχουν οι άνθρωποι και τα ζώα, για αυτό και υπόκειται σε πολύ μεγαλύτερη επιβάρυνση από το περιβάλλον τους. Μέσω των αντιοξειδωτικών τα φυτά έχουν τη δυνατότητα να προστατευτούν από βλαπτικούς παράγοντες, όπως είναι η ακτινοβολία, η θερμοκρασία, η ξηρασία, η αλατότητα και άλλοι παράγοντες πίεσης που προκαλούν τη δημιουργία και συσσώρευση ελεύθερων ριζών στα φυτικά κύτταρα (<https://www.quora.com/How-do-antioxidants-protect-plants>).

2.4. Κατηγορίες αντιοξειδωτικών που βρίσκονται στα φυτά

2.4.1. Β-καροτένιο

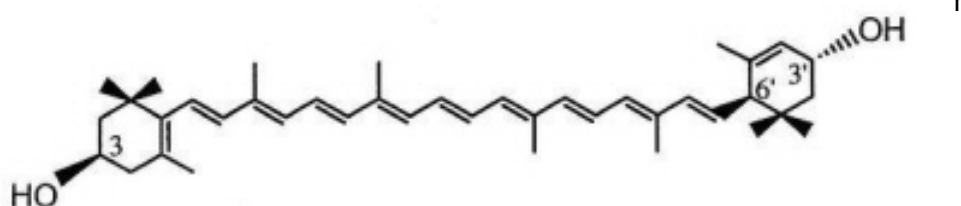
Ως καροτένια χαρακτηρίζονται παράγοντες με γενικό τύπο $C_{40}H_x$. Οι παράγοντες αυτοί συντίθενται κατά αποκλειστικότητα από τα φυτά και είναι απαραίτητοι για τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης. Χημικά ανήκουν στα τερπένια και για τη σύνθεση τους απαιτούνται οχτώ υπομονάδες ισοπρενίου. Υπάρχουν έξι μορφές καροτενίου, οι οποίες έχουν ονομαστεί με τα γράμματα α, β, γ, δ, ε και ζ. Τα καροτενοειδή είναι οι ουσίες που προσδίδουν το πορτοκαλί χρώμα στα καρότα, τις γλυκοπατάτες και άλλα λαχανικά. Έχουν σημαντική οξειδωτική δράση αφού έχουν την ικανότητα να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Επίσης, είναι σημαντικό συστατικό της



διατροφής του ανθρώπου, καθώς μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου. Τα καροτένια δρουν ανασταλτικά και στην καταστροφή των λιπιδίων από ιόντα δισθενούς σιδήρου (Καλαντζή και Κατωπόδης, 2010).

2.4.2. Λουτεΐνη

Και



λουτεΐνη ανήκει στην οικογένεια των καροτενοειδών, ανιχνεύεται στα πράσινα

λαχανικά, όπως είναι το σπανάκι και έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Είναι λιπόφιλο μόριο και είναι ενεργό όταν βρίσκεται στην υπό τη μορφή εστεροποιημένων λιπαρών οξέων. Το κύριο στερεοϊσομερές της λουτεΐνης είναι η β,ε-καροτένη-3,3-διόλη. Στον άνθρωπο η λήψη λουτεΐνης είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς έχει συνδεθεί με μειωμένη πιθανότητα εμφάνισης ηλιακής εκφύλισης της ωχράς κηλίδας (Καλαντζή και Κατωπόδης, 2010).

2.4.3. Βιταμίνη C- ασκορβικό οξύ

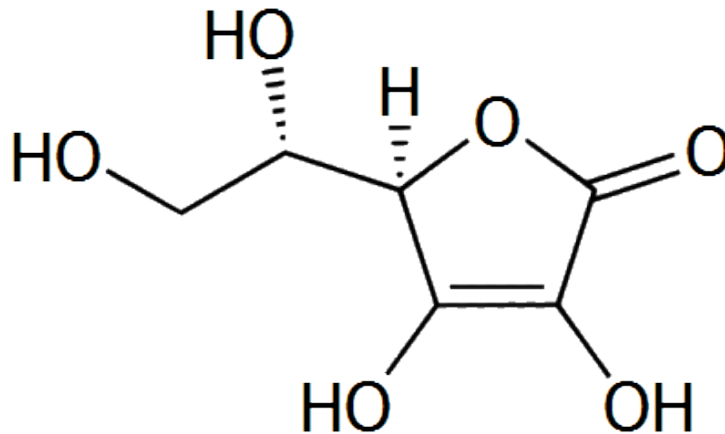
Η βιταμίνη C είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη που ανήκει στην κατηγορία των υδατανθράκων. Ο χημικός τύπος της βιταμίνης είναι $C_6H_8O_6$ (Μουντζούρης, 2002). Ο όρος βιταμίνη C δεν αναφέρεται σε ένα μόνο μόριο, αλλά περιλαμβάνει όλες τις ουσίες που παρουσιάζουν τη βιολογική δράση του ασκορβικού οξέος, ουσίες δηλαδή που περιλαμβάνουν το L-ασκορβικό οξύ και το L -δεϋδροασκορβικό οξύ (Ζερφυρίδης, 1995).

Μία από τις κυριότερες λειτουργίες του ασκορβικού οξέος είναι η σύνθεση και διατήρηση του κολλαγόνου, μιας εξωκυττάριας πρωτεΐνης που αποτελεί συστατικό των μεμβρανών, του συνδετικού ιστού και των ιστών. Λόγω της συμμετοχής του στο μεταβολισμό του κολλαγόνου, το ασκορβικό οξύ βοηθά στη διατήρηση και το σχηματισμό των δοντιών, των μυών, των οστών και στη διατήρηση της επιδερμίδας. Συμβάλλει σημαντικά στην επούλωση των πληγών, καθώς είναι απαραίτητο για τη σωστή λειτουργία των αιμοφόρων αγγείων.

Η αντιοξειδωτική του δράση προστατεύει τον οργανισμό από την αρτηριοσκλήρωση και τον καρκίνο. Η βιταμίνη C προλαμβάνει το σκορβούτο και την ουλίτιδα. Το ασκορβικό οξύ συμμετέχει στον αναβολικό μεταβολισμό μορίων, όπως είναι ορμόνες, η τυροσίνη, οι πουρίνες, η καρνιτίνη, η αδρεναλίνη, η νοραδρεναλίνη και η σεροτονίνη. Λειτουργεί ως συνένζυμο για το κολλαγόνο και συμμετέχει στην υδροξυλίωση της προλίνης και της λυσίνης. Επίσης, λειτουργεί ως ενεργοποιητής ενζύμων του ήπατος που έχουν αποτοξινωτικό ρόλο. Συμμετέχει στο μεταβολισμό του φολικού οξέος, της φαινυλαλανίνης, της τρυπτοφάνης, και της ισταμίνης. Συμβάλλει σημαντικά στην απορρόφηση του σιδήρου από το έντερο, ενώ λόγω της διευκόλυνσης των αντιδράσεων υδροξυλίωσης έχει τη δυνατότητα αποτοξίνωσης του οργανισμού από δηλητηριώδεις ουσίες. Η βιταμίνη C είναι απαραίτητη για την

απορρόφηση του ασβεστίου και του φωσφόρου από τον οργανισμό. Συμμετέχει στη σύνθεση της επινεφρίνης και των αντιφλεγμονωδών στεροειδών, όπως είναι η υδροκορτιζόνη. Είναι απαραίτητη για τη σωστή και εύρυθμη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς συμμετέχει στο σχηματισμό αντισωμάτων. Είναι απαραίτητη για τη φαγοκυττάρωτική ικανότητα των λευκοκυττάρων. Συμμετέχει στις οξειδωτικές αντιδράσεις των ζωικών ιστών και στη ρύθμιση της αναπνοής των κυττάρων.

πηγή
το
NADPH
adenine
συκώτι
(Säuberlich, 1999).



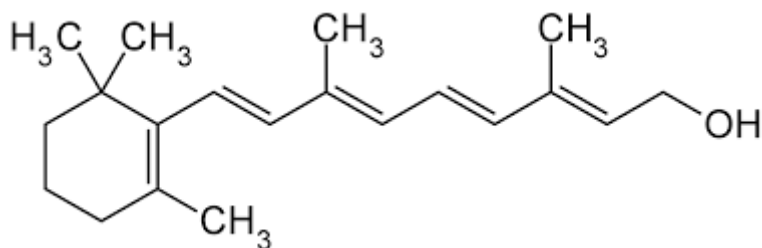
Λειτουργεί ως
ιόντων
υδρογόνου για
σχηματισμό
(nicotinamide
dinucleotide
phosphate) στο
και στο αίμα

Η βιταμίνη C συναντάται σε πολλά διαφορετικά τρόφιμα. Κύριες πηγές βιταμίνης C αποτελούν τα φρούτα και τα λαχανικά και κυρίως τα εσπεριδοειδή, οι φράουλες, το μπρόκολο, οι πιπεριές, τα σπαράγγια, το σπανάκι, το πεπόνι, τα βατόμουρα, οι ντομάτες, το γογγύλι, ο μαϊντανός, το ακτινίδιο, το κάρδαμο και ο άνηθος.

2.4.4. Βιταμίνη Α-Ρετινόλη

Η βιταμίνη Α είναι μια λιποδιαλυτή ακόρεστη αλκοόλη. Η ενεργή μορφή της βιταμίνης ονομάζεται ρετινόλη. Η βιταμίνη Α έχει τη δυνατότητα να σχηματίζεται από προβιταμίνες, γνωστές ως καροτενοειδή και κυρίως από το β-καροτένιο. Στον ανθρώπινο οργανισμό η βιταμίνη Α συναντάται με τη μορφή του ρετινοϊκού οξέος, μεταβολικό προϊόν της ρετινάλης (Williams, 2003).

Η ρετινάλη είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική λειτουργία του αμφιβληστροειδούς χιτώνα και

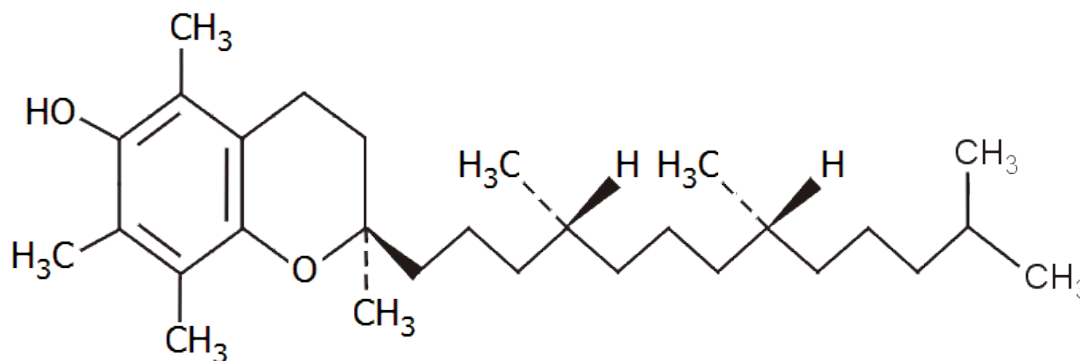


συγκεκριμένα για την προσαρμογή της όρασης στο σκοτάδι. Οι άλλες μορφές της βιταμίνης Α συμβάλλουν στη διατήρηση της δομικής και λειτουργικής ακεραιότητας του επιθηλιακού ιστού και του ανοσοποιητικού συστήματος, της κυτταρικής διαφοροποίησης και διαίρεσης, της λειτουργίας των γεννητικών οργάνων και της ανάπτυξης των ιστών κατά την ανάπτυξη του εμβρύου, αλλά και στην ενήλικη ζωή. Η βιταμίνη Α συμμετέχει σε διάφορες βιοχημικές αντιδράσεις, ενώ η πρόδρομη μορφή της, το β-καροτένιο, φαίνεται να έχει αντιοξειδωτικές δράσεις, παρέχοντας ποικίλα οφέλη στην υγεία (Guthie, 1995).

Οι πηγές πρόσληψης ρετινόλης είναι οι ιστοί των ζώων (ιδιαίτερα το συκώτι) και τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Η πλουσιότερη πηγή πρόσληψης βιταμίνης Α είναι τα έλαια από το συκώτι των ψαριών, ενώ η κατανάλωση μουρουνέλαιου και ελαίου από συκώτι βακαλάου επιταχύνουν την πρόσληψη της βιταμίνης. Η προβιταμίνη Α, ή αλλιώς καροτένιο, συναντάται στους ιστούς των φυτών και κυρίως στα σκούρα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, στα καρότα και στα κιτρινοπορτοκαλί φρούτα.

2.4.5. Βιταμίνη Ε- Τοκοφερόλη

Η ονομασία της βιταμίνης προέρχεται από τις λέξεις «τόκος» και «φέρω», λόγω του ότι οι επιδράσεις της στον οργανισμό είχαν συνδεθεί με τη γονιμότητα (Παπανικολάου, 1997). Η βιταμίνη E λειτουργεί ως λιποδιαλυτή αντιοξειδωτική ουσία στις κυτταρικές μεμβράνες.



Η κύρια δράση της βιταμίνης E είναι η προστασία της ακεραιότητας των κυτταρικών μεμβρανών από την καταστροφή συγκεκριμένων ενζύμων και ενδοκυττάρων συστατικών.

Έχει αντιοξειδωτική δράση, προστατεύοντας τα κύτταρα από τοξικές ενώσεις που σχηματίζονται από την οξείδωση πολυακόρεστων λιπών.

Δρα αντιοξειδωτικά στην προστασία της βιταμίνης A, της C, των ενζύμων που περιέχουν θείο και του ATP από οξείδωση. Είναι απαραίτητη για την κυτταρική αναπνοή. Είναι απαραίτητη για τη σύνθεση του DNA, ρυθμίζοντας την ενσωμάτωση πυριμιδινών μέσα στη δομή των νουκλεϊκών οξέων. Η βιταμίνη E προστατεύει την ακεραιότητα των ερυθροκυττάρων. Προφυλάσσει τους πνεύμονες από τον καπνό και άλλες βλάβες που προκαλούνται από τα οξειδωτικά συστατικά του μολυσμένου ατμοσφαιρικού αέρα, όπως είναι το όζον και το διοξείδιο του αζώτου. Δρα συνεργατικά με το σελήνιο και τη βιταμίνη C και άλλα ένζυμα, όπως είναι οι δισμουτάση υπεροξειδίου και η καταλάση (Παπανικολάου, 1997).

Η βιταμίνη E απαντάται στα φυτικά λίπη, τους ξηρούς καρπούς, σε σπόρους σιτηρών, στα δημητριακά, στο φοινικέλαιο, στη μαργαρίνη, στο φυστικοβούτυρο, στο βαμβακέλαιο, στο αβοκάντο, στις γαρίδες και τις γλυκοπατάτες. Επίσης, συναντάται στα σπαράγγια, το σέλινο και το καρότο (Παπανικολάου, 1997).

2.4.6. Φλαβονοειδή

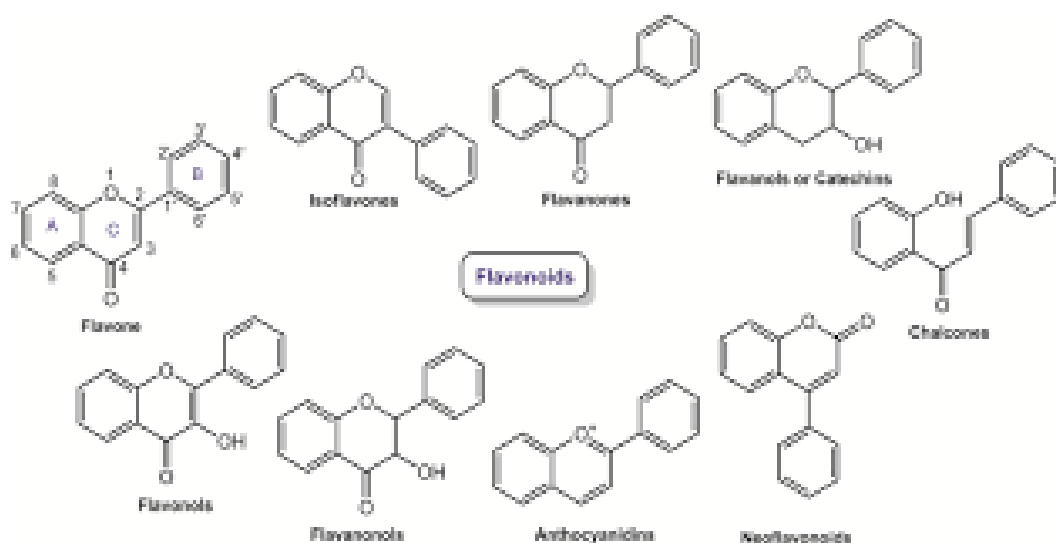
Τα φλαβονοειδή είναι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι κυανές και οι ερυθρές ανθοκυανιδίνες, ή χαλκόνες, οι αυροόνες, οι φλαβόνες και οι φλαβονόλες. Η αντιοξειδωτική δράση τους οφείλεται στο δακτύλιο των φλαβονοειδών. Τα φλαβονοειδή δρουν ανασταλτικά στο μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος και στην υπεροξειδωση των λιπαρών οξέων.

Τα φλαβονοειδή προέρχονται από τη συσσωμάτωση των αλάτων του χηλικού και μαλονικού οξέος.

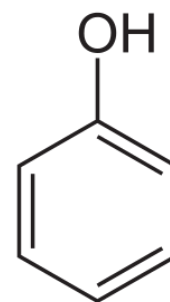
2.4.7. Ανθοκυανίνες

Οι ανθοκυανίνες ανήκουν στην ομάδα των φλαβονοειδών χρωστικών και είναι υπεύθυνες για τα κόκκινα, ροζ, ιώδη και μπλε χρώματα που παρατηρούνται στα φυτά, όπως είναι το χρώμα στα άνθη του τριαντάφυλλου, στις φράουλες και τις βιολέτες. Η βιοσύνθεση των ανθοκυανινών επηρεάζεται σημαντικά από την ακτινοβολία, ενώ η έλλειψη αζώτου και φωσφόρου προκαλεί συσσώρευση ανθοκυανών σε διάφορα φυτά. Επίσης, οι χαμηλές θερμοκρασίες αυξάνουν το ρυθμό βιοσύνθεσής τους προσδίδοντας το χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα στα φθινοπωρινά φύλλα (Καλαντζή και Κατωπόδης, 2010).

2.4.8. Φλαβονόλες



Οι φλαβονόλες είναι ιδιαίτερα σημαντικές, καθώς αυξάνουν την αντίσταση των τριχοειδών αιμοφόρων αγγείων, επηρεάζουν την έναρξη και την εξέλιξη της φλεγμονής, ενώ αναστέλλουν την απελευθέρωση ισταμίνης (Kris-Etherton, 2002).



2.4.9. Χαλκόνες, σουρόνες και διϋδροχαλκόνες

Οι Χαλκόνες, οι σουρόνες και οι διϋδροχαλκόνες είναι μικρές ομάδες χρωστικών που έχουν κίτρινο χρώμα και σε αλκαλικό περιβάλλον μετατρέπονται σε κόκκινες (Kris-Etherton, 2002). Οι χρωστικές αυτές είναι σημαντικές για το χρώμα των φυτών, ενώ παίζουν και σημαντικό αντιοξειδωτικό ρόλο (Coles, 1996).

2.4.10. Σουλφοραφάνη

Η σουλφοραφάνη βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στο μπρόκολο και είναι ιδιαίτερα σημαντική ένωση με αντικαρκινικές, αντιδιαβητικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες (Kall, 1997). Επίσης, ενεργοποιεί την πρωτεΐνη pif2 και άλλα αντιοξειδωτικά και αποτοξινωτικά ένζυμα, προστατεύοντας τους ιστούς και τα κύτταρα από αντιοξειδωτικό στρες (Yanaka, 2009).

2.4.11. Φαινόλες

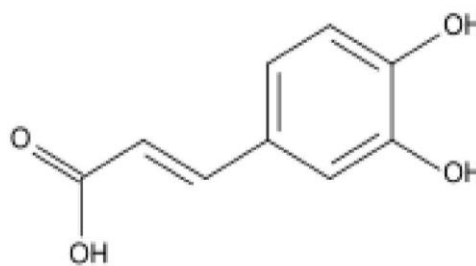
Οι φαινόλες είναι μία ομάδα μορίων που περιέχουν ένα υδροξύλιο συνδεδεμένο με έναν αρωματικό υδρογονικό δακτύλιο (Καλαντζή και Κατωπόδης, 2010). Οι ουσίες αυτές συναντώνται κυρίως στον καρπό της ελιάς, στο ελαιόλαδο και στον καφέ και έχουν αντιοξειδωτική δράση. Συχνή πρόσληψη τους έχει συνδεθεί με μείωση της πιθανότητας εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων (Kris-Etherton, 2002).

2.4.12. Καφεϊκό οξύ

Η ουσία αυτή ανευρίσκεται σε όλα τα φυτά και είναι απαραίτητος παράγοντας για τη βιοσύνθεση της λιγνίνης (Olthof, 2001). Το μόριο του φέρει μία φαινολική και μία ακρυλική λειτουργική ομάδα. Παράγεται μέσω της υδροξυλίωσης του κουμαρολικού εστέρα και έχει αντικαρκινικές, αντιμυκητιακές, αντίαντιφλεγμονώδεις, ανοσοτροποποιητικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Hirose, 1998). Η αντιφλεγμονώδης δράση του οφείλεται στην ανασταλτική επίδραση που έχει επί της λιποξυγενάσης, ενώ έχει και αντικαρκινική δράση, αφού αποτρέπει τη μεθυλίωση του DNA (Kall, 1997).

2.4.13. Φερουλικό οξύ

Το φερουλικό οξύ βρίσκεται στο κυτταρικό τοίχωμα των φυτικών κυττάρων, όπου προσδίδει σταθερότητα και αντοχή και αποτελεί πρόδρομη ένωση για τη σύνθεση αρωματικών ενώσεων (Shahadi, 2004). Η σύνθεσή του γίνεται από το καφεϊκό οξύ με τη δράση του ενζύμου ο μεθυλοτρανσφεράση του καφεϊκού οξέος (Liyama, 1994). Έχει την ιδιότητα να ελευθερώνει ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, ενώ έχει χαρακτηριστεί ως αντικαρκινικός παράγοντας έναντι του καρκίνου του μαστού και του ήπατος, αφού επάγει την απόπτωση καρκινικών κυττάρων (Boerjan, 2003).



Καφεϊκό οξύ

2.4.14. Λιποϊκό οξύ

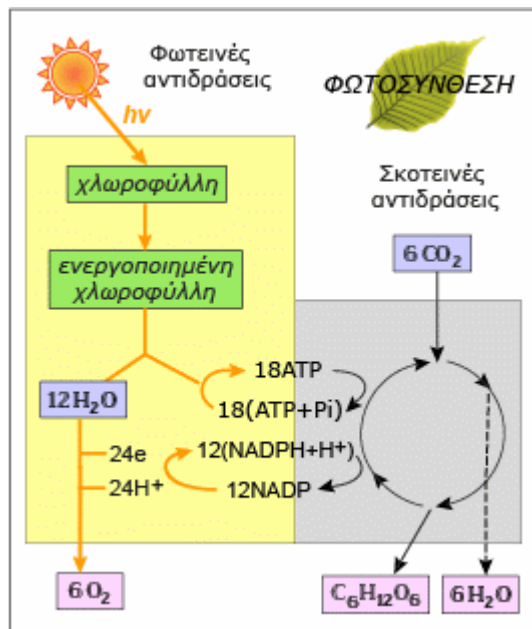
Το λιποϊκό οξύ αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας έναντι των ελεύθερων ριζών (Teichert, 2003), αποτελώντας ένα καθολικό αντιοξειδωτικό, αφού μπορεί και εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες και σε υδρόφοβα, αλλά και σε λιπόφιλα περιβάλλοντα. Το άλφα λιποϊκό οξύ αποτελεί το κύριο συστατικό της αφυδρογονάσης που συμβάλλει στην επιβράδυνση της φυσικής γήρανσης, ενώ παίζει σημαντικό ρόλο και στη μείωση της πιθανότητας ανάπτυξης της αθηροσκλήρωσης

και εμφάνισης νοσημάτων των πνευμόνων, σε χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους και νευρολογικές διαταραχές (Shahadi, 2004).

3. Η φωτοσυνθετική λειτουργία ως κέντρο του φυτικού αναβολισμού

3.1. Φωτοσύνθεση

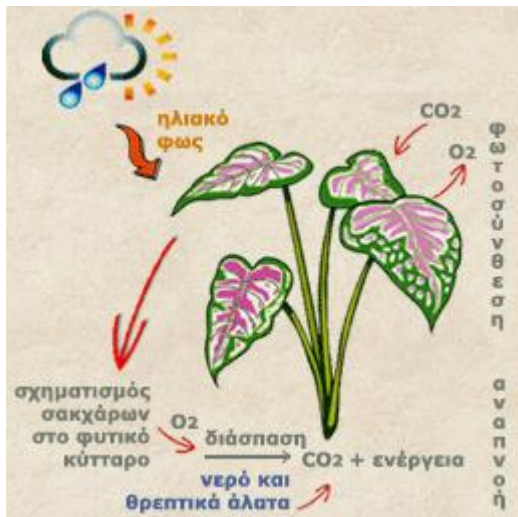
Η φωτοσύνθεση είναι η διαδικασία κατά την οποία η φωτεινή ενέργεια του ήλιου μετατρέπεται σε χημική. Μέσω της διεργασίας αυτής τα φυτά εξασφαλίζουν την ενέργεια που χρειάζονται για την επιβίωσή τους. Ουσιαστικά πρόκειται για ένα σύνολο αντιδράσεων που χωρίζονται σε φωτεινές αντιδράσεις -οι οποίες αποτελούν το φωτοεξαρτώμενο τμήμα της φωτοσύνθεσης- και σε σκοτεινές αντιδράσεις που αποτελούν το βίο συνθετικό τμήμα της φωτοσύνθεσης. Οι δύο ομάδες αντιδράσεων



συνδέονται στενά μεταξύ τους, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 3 (Μανέτας, 2005).

Εικόνα 3: Η φωτοσύνθεση αποτελείται από δύο ομάδες αντιδράσεων –τις φωτεινές και τις σκοτεινές- που είναι στενά συνδεδεμένες μεταξύ τους. (Πηγή: http://users.sch.gr/marbagana/eKef05/page05_3.html)

Σύμφωνα με την Εικόνα 4, κατά τη φωτοσύνθεση το διοξείδιο του άνθρακα αντιδρά και με σάκχαρο και οξυγόνο. Παράλληλα με τη φωτοσύνθεση τα φυτά αναπνέουν, επιτελώντας μία διεργασία αντιστροφή της φωτοσύνθεσης, κατά την οποία το σάκχαρο οξειδώνεται παράγοντας διοξείδιο του άνθρακα και νερό (Εικόνα 3) (Μανέτας, 2005).



Εικόνα 4: Κατά τη φωτοσύνθεση το διοξείδιο του άνθρακα αντιδρά και με σάκχαρο και οξυγόνο. Παράλληλα με τη φωτοσύνθεση τα φυτά αναπνέουν, επιτελώντας μία διεργασία αντιστροφή της φωτοσύνθεσης, κατά την οποία το σάκχαρο οξειδώνεται παράγοντας διοξείδιο του άνθρακα και νερό. (Πηγή:

<http://kpe->

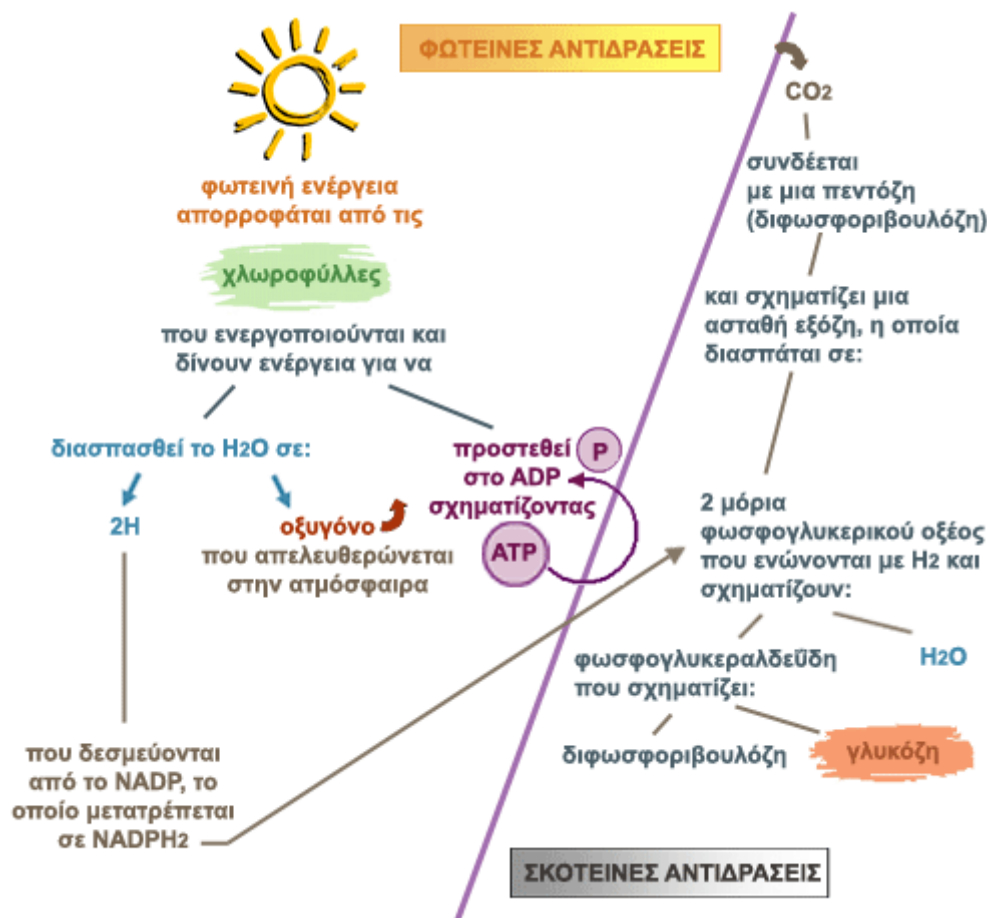
[kastor.kas.sch.gr/biodiversity_site/b/ecosystems.htm](http://kpe-kastor.kas.sch.gr/biodiversity_site/b/ecosystems.htm))

3.1.1. Φωτεινές αντιδράσεις φωτοσύνθεσης

Κατά τις φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης πραγματοποιείται απορρόφηση της ηλιακής ακτινοβολίας και μετατροπή της σε χημική ενέργεια. Η απορρόφηση γίνεται από τις φωτοσυλλεκτικές κεραίες, στις οποίες περιέχονται φωτοσυνθετικές χρωστικές που απορροφούν σε διάφορα μήκη φωτός. Συγκεκριμένα, υπάρχουν τριών ειδών φωτοσυνθετικές χρωστικές, η χλωροφύλλη α, η χλωροφύλλη β και τα καροτενοειδή. Η κυρία χρωστική που απορροφά το μεγαλύτερο ποσοστό της ηλιακής ενέργειας είναι η χλωροφύλλη α. Η χλωροφύλλη β και τα καροτενοειδή θεωρούνται ως βοηθητικές χρωστικές, καθώς απορροφούν σε χαμηλότερα μήκη κύματος από τη χλωροφύλλη α. Ωστόσο η παρουσία τους είναι απαραίτητη, αφού αυξάνουν το εύρος του ηλιακού φάσματος που μπορεί να απορροφηθεί για την παραγωγή ενέργειας (Μανέτας, 2005).

Στις φωτοσυλλεκτικές κεραίες εκτός από τις φωτοσυνθετικές χρωστικές περιέχονται και δομικές πρωτεΐνες. Η φωτοσυνθετική ροή των ηλεκτρονίων και η φωτοφωσφορυλίωση πραγματοποιούνται στις μεμβράνες στον θυλακοειδών των μιτοχονδρίων. Τα φωτοσυλλεκτικά σύμπλοκα εντοπίζονται κυρίως στις εσωτερικές μεμβράνες στον γκράνα που βρίσκονται σε στενή επαφή μεταξύ τους και δεν έρχονται σε επαφή με το στρώμα. Η φωτεινή ενέργεια που απορροφάται από τις χρωστικές οδηγείται στο ενεργό κέντρο του φωτοσυστήματος 2 (Μανέτας, 2005).

Για κάθε φωτόνιο που απορροφάται πραγματοποιείται μεταφορά ενός διεγερμένου ηλεκτρονίου σε ένα δέκτη ηλεκτρονίων του συστήματος 2. Στη συνέχεια, τα ηλεκτρόνια μεταφέρεται μέσω της πλαστοκινόνης στο σύμπλοκο των κυτοχρωμάτων b6 και f και στη συνέχεια στην πλαστοκυανίνη. Η τελευταία λειτουργεί ως δότης ηλεκτρονίων στο φωτοσύστημα 1. Το διεγερμένο ηλεκτρόνιο, μέσω της φερρεδοξίνης, οδηγείται στην αναγωγή του NADP, ανάγοντας το σε NADPH₂. Η κλίση της συγκέντρωσης των ηλεκτρονίων συσσωρεύεται στο εσωτερικό των θυλακοειδών και εκτονώνεται μέσω της ATP συνθέτασης, η οποία τη μετατρέπει σε



ATP. Με τον τρόπο αυτό παράγεται χρήσιμη για το φυτό ενέργεια (Μανέτας, 2005) (Εικόνα 5).

Εικόνα 5: Διαγραμματική απεικόνιση των φωτεινών και σκοτεινών αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης. (Πηγή: <http://kpe-kastor.kas.sch.gr/leaf/lexicon/f/light-reactions.htm>)

3.1.2. Σκοτεινές αντιδράσεις φωτοσύνθεσης

Η μετατροπή ανόργανων μορφών άνθρακα, όπως είναι το διοξείδιο του άνθρακα, σε οργανικές ενώσεις αποτελεί την κύρια μεταβολική δραστηριότητα των αυτότροφων οργανισμών, όπως είναι τα φυτά. Η διεργασία αυτή ονομάζεται κύκλος του Calvin ή κύκλος C3 (Μανέτας, 2005).

Κατά τον κύκλο αυτό το διοξείδιο του άνθρακα και το νερό αντιδρούν με ένα μόριο δεκτική που περιέχει 5 άνθρακες. Το προϊόν της αντίδρασης είναι ένα σάκχαρο το οποίο παράγεται μέσω της αναγωγικής δύναμης του NADPH_2 και του ATP . Ουσιαστικά ο κύκλος χωρίζεται σε τρία στάδια. Στο πρώτο στάδιο μετατρέπεται η διφωσφοριβουλόζη σε 3-φωσφογλυκερίνικο οξύ μέσω της δράσης του ενζύμου Rubisco. Στο δεύτερο στάδιο γίνεται αναγωγή του 3-φωσφογλυκερίνικου οξέος χρησιμοποιώντας ένα μόριο ATP και ένα μόριο NADPH_2 . Στο τρίτο στάδιο τα 5/6 των παραγόμενων μορίων τριόζης χρησιμοποιούνται για την αναγέννηση του μορίου δέκτη του διοξειδίου του άνθρακα, ενώ το υπόλοιπο 1/6 διατίθεται για τη βιοσύνθεση χρήσιμων τελικών προϊόντων, όπως είναι εξόζες, λιπαρά οξέα και αμινοξέα (Μανέτας, 2005).

3.2. Η φωτοσύνθεση ως κέντρο του φυτικού αναβολισμού

Το κύριο προϊόν του κύκλου του Calvin είναι η σακχαρόζη και το άμυλο. Η σακχαρόζη συντίθεται στο κυτταρόπλασμα και στη συνέχεια μεταφέρεται σε άλλα σημεία του φυτού, όπου καταναλώνεται ή αποθηκεύεται. Το άμυλο συντίθεται στους χλωροπλάστες σε περιπτώσεις που η ταχύτητα παραγωγής σακχαρόζης στο κυτταρόπλασμα ή η μεταφορά της προς το φλοιώμα είναι μικρότερη από την ταχύτητα της φωτοσύνθεσης. Στις περιπτώσεις αυτές το άμυλο αποθηκεύεται στο χλωροπλάστη και διασπάται σε γλυκόζη κατά τη διάρκεια της νύχτας. Για την παραγωγή των προϊόντων αυτών, ένα μόριο φωσφατριόζης μετατρέπεται σε 1-φωσφογλυκόζη. Η τελευταία ενεργοποιείται και μετατρέπεται σε άμυλο όταν αντιδρά με ATP ή σε σακχαρόζη όταν αντιδρά με UTP . Η φωσφατριόζη και το 3φωσφογλυκερίνικο αποτελούν τους δομικούς λίθους για τη βιοσύνθεση λιπαρών οξέων και αμινοξέων για τα φυτά. Τα λιπαρά οξέα συνθέτονται στους χλωροπλάστες των πράσινων φυτών ή στα πλαστίδια των μη πρασίνων φυτών (Raven, 2014).

4. Η επίδραση του φωτός στα φυτά

Πειράματα που πραγματοποιήθηκαν το 1926 από τον Henry William Pop είχαν σκοπό να ανακαλύψουν ποιες είναι οι επιδράσεις του φωτός στην ανάπτυξη και επιβίωση των φυτών. Για το λόγο αυτό καλλιεργήθηκαν φυτά υπό διαφορετικές συνθήκες φωτισμού και αυτό που παρατηρήθηκε είναι ότι τα φυτά τα οποία μεγάλωναν σε φως ημέρας, στο οποίο φως όμως είχαν απαλειφθεί όλα τα μήκη κύματος μικρότερα από το 529nm παρουσίαζαν σημαντική διαφοροποίηση στην ανάπτυξή τους σε σχέση με τα φυτά που μεγάλωναν σε φως πλήρους φάσματος. Οι κύριες διαφορές που παρατηρήθηκαν ήταν (Raven, 2014):

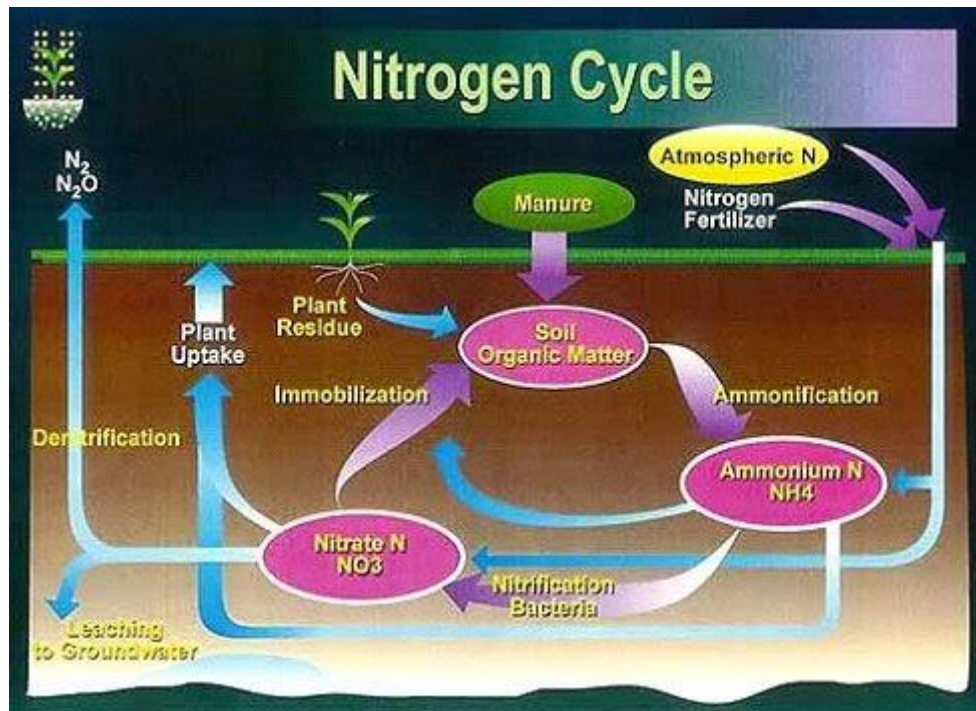
- Αυξημένος ρυθμός επιμήκυνσης του στελέχους του φυτού τις πρώτες δύο με τρεις εβδομάδες και αύξηση του τελικού μεγέθους κάποιων ειδών ή μείωσή του τελικού μεγέθους άλλων ειδών. Το γεγονός ότι ανάλογα με το είδος παρατηρούνταν διαφορετική απόκριση στο μέγεθος του φυτού δείχνει ότι κάθε είδος αντιδρά με τελείως διαφορετικό τρόπο στο φως. Το αποτέλεσμα εξαρτάται από τις ανάγκες που έχει το φυτό σε φως, το χρώμα των φύλλων και των ανθών του φυτού, δηλαδή ποιες χρωστικές έχει το φυτό και σε ποια μήκη κύματος απορροφούν αυτές.
- Μείωση του πάχους του στελέχους.
- Μείωση του αριθμού των διακλαδώσεων και των πλάγιων εκβολών, πιθανώς λόγω της προτίμησης του φυτού να βιοσυνθέσει προς την επιμήκυνση του βλαστού έναντι της δημιουργίας παρακλαδίων.
- Δίπλωμα και κατσάρωμα των φύλλων.
- Σχεδόν φυσιολογική παραγωγή χλωροφύλλης, αλλά μείωση της ποσότητας των ανθοκυανίνων που περιέχονται στα φύλλα και τα άνθη του φυτού.
- Λιγότερη διαφοροποίηση των ιστών του στελέχους και των φύλλων, μείωση της δυναμικότητας των ιστών, παραγωγή λιγότερο συμπαγών κυττάρων με λεπτότερα τοιχώματα.
- Καθυστέρηση στο χρόνο άνθισης και μείωση του αριθμού των ανθών που παράγονται.
- Ιδιαίτερα ασθενής ανάπτυξη σπόρων, φρούτων και γενικά αποθηκευτικών οργάνων.

- Μείωση του καθαρού βάρους και του στεγνού βάρους και αύξηση του ποσοστού της υγρασίας.
- Σημαντική μείωση του συνόλου των υδατανθράκων, αύξηση του αριθμού των νιτρικών και αύξηση των διαλυμένων παραγωγών νιτρικού.

5. Ο κύκλος του αζώτου

Το άζωτο βρίσκεται κατά κύριο λόγο ελεύθερο στην ατμόσφαιρα, αποτελώντας το 78% αυτής. Ωστόσο, παρά την αφθονία που έχει στον αέρα, οι περισσότεροι οργανισμοί δεν έχουν την δυνατότητα να το δεσμεύσουν και να το μετατρέψουν σε αμινοξέα ή άλλες αζωτούχες ενώσεις. Για το λόγο αυτό, οι οργανισμοί είναι υποχρεωμένοι να λαμβάνουν το άζωτο υπό τη μορφή ενεργών αζωτούχων ενώσεων, όπως είναι το αμμώνιο και το νιτρικό, ουσίες που ανιχνεύονται στο έδαφος (Raven, 2014).

Ο κύκλος του αζώτου κατά τον οποίο το άτομο κυκλοφορεί και επανακυκλοφορεί μέσα από τον κόσμο των ζωντανών οργανισμών περιγράφεται στην Εικόνα 6. Ο κύκλος αυτός αποτελείται από τρία κύρια στάδια: την αμμωνιοποίηση, τη νιτροποίηση και την αφομοίωση. Ένα μεγάλο ποσοστό του αζώτου που βρίσκεται στο έδαφος προέρχεται από νεκρά οργανικά υλικά τα οποία αποσυντίθεται. Έτσι, πρωτεΐνες, αμινοξέα, νουκλεϊκά οξέα και νουκλεοτίδια των ζωντανών οργανισμών διασπώνται γρήγορα σε απλούστερες ενώσεις από τα σαπροτροφικά βακτήρια και διάφορους μύκητες που διαβιούν στο έδαφος. Οι οργανισμοί αυτοί ενσωματώνουν το άζωτο που χρειάζονται σε αμινοξέα και πρωτεΐνες και αποδεσμεύουν το υπόλοιπο υπό τη μορφή ιόντων αμμωνίου. Η διεργασία αυτή είναι γνωστή ως αμμωνιοποίηση ή ανοργανοποίηση του αζώτου. Η αμμωνία που παράγεται μέσω της αμμωνιοποίησης διαλύεται στο εδαφικό νερό σχηματίζοντας ιόντα αμμωνίου. Κατά την απονιτροποίηση το νιτρικό ανάγεται σε πτητικές μορφές αζώτου, όπως είναι το αέριο άζωτο και το υποξείδιο του αζώτου, τα οποία στη συνέχεια αποδεσμεύονται στην ατμόσφαιρα (Raven, 2014).



Εικόνα 6: Ο κύκλος του αζώτου. (Πηγή: http://nanidio.blogspot.com/2014/10/blog-post_10.html)

B. Πειραματικό μέρος

1. Σκοπός του πειράματος

Στα πλαίσια της παρούσας πτυχιακής εργασίας μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα του φυτού της Αντράκλας (*Portulaca olerace*) σε τρία επίπεδα σκίασης (Εικόνα 7) με στόχο τη μελέτη της επίδρασης της ηλιακής ακτινοβολίας πάνω στα φυτά.

Σκοπός του πειράματος ήταν σε ποιο τμήμα ανάλογα με τη σκίαση παρουσιάστηκε μεγαλύτερη ποσότητα αντιοξειδωτικής ικανότητας και πως αυτό δικαιολογείται.

Προσδιορίστηκε η αντιοξειδωτική τους ικανότητα με τη μέθοδο της ελεύθερης ρίζας DPPH. Η μέθοδος είναι γρήγορη και εύκολα μπορεί να προσδιοριστεί η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων. Είναι μέθοδος που μπορεί εύκολα να εφαρμοστεί σε εργοστασιακές εγκαταστάσεις δίνοντας ένα αρκετά αξιόπιστο αποτέλεσμα.



Εικόνα 7: Τα τρία επίπεδα σκίασης.

2. Περιγραφή των μεθόδων προσδιορισμού των αντιοξειδωτικών ουσιών.

2.1. Μέθοδος Folin - Ciocalteu

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu (FC) αρχικά είχε προταθεί με σκοπό την ανάλυση πρωτεϊνών επωφελούμενη στην δραστικότητα την οποία το αντιδραστήριο έναντι στο πρωτεϊνικό κατάλοιπο της τυροσίνης, η οποία περιέχει μια φαινυλομάδα. Αρκετό καιρό μετά, οι Celeste και συνεργάτες εφάρμοσαν την μέθοδο στην ανάλυση ινών χρησιμοποιώντας την τεχνική της εκχύλισης σε ροή (FL). Αρκετοί εφαρμόζουν τη μέθοδο αυτή σε συνδυασμό με κάποια άλλη μέθοδο η οποία βασίζεται στη μεταφορά ηλεκτρονίων (Electron Transfer) (FRAP, ABTS κλπ.) και συχνά καταλήγει σε γραμμική συσχέτιση μεταξύ του περιεχομένου σε ολικές φαινόλες και της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων. Το γεγονός αυτό δεν αποτελεί έκπληξη εφόσον και οι δύο μέθοδοι βασίζονται σε παρόμοιες αρχές. Η αρχή αυτής της μεθόδου θεμελιώνονται στη μέτρηση της ολικής συγκέντρωσης των φαινολικών υδροξυλομάδων που περιέχονται στο αναλυόμενο δείγμα. Πρόκειται για φωτομετρική μέθοδο που βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ενώσεων από τον αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu.

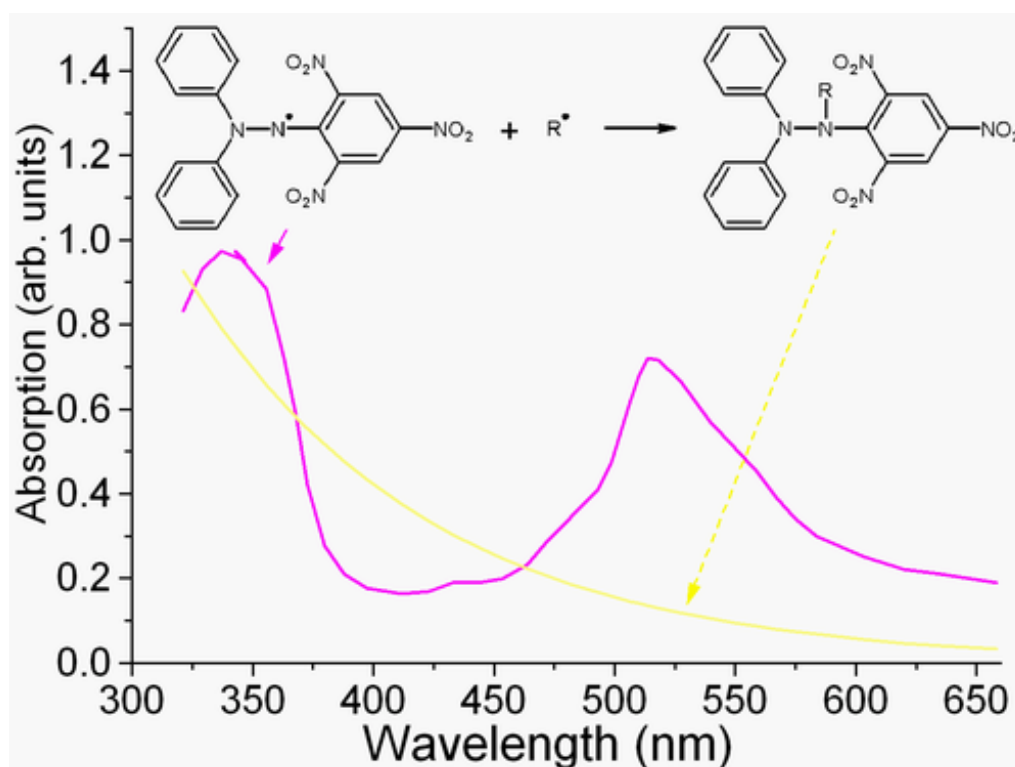
Μειονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι δεν προσδιορίζει μόνο τα φαινολικά συστατικά αλλά και πρωτεΐνες, που περιέχουν στο μόριο τους φαινολική υδροξυλομάδα. Επίσης σάκχαρα, νουκλεϊκά οξέα και αρωματικές αμίνες. Ακόμα ενώσεις όπως η βενζαλδεύδη, το αμινοβενζοϊκό οξύ και η γλυκίνη αντιδρούν με το αντιδραστήριο.

Παρόλα αυτά η μέθοδος των ολικών φαινολών με τη χρήση του Folin-Ciocalteu είναι εύκολη μέθοδος και επαναλήψιμη. Με αποτέλεσμα να έχει γίνει μία μέθοδος ρουτίνας τόσο για την μέτρηση ολικών φαινολικών, όσο και για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης. Για τον λόγο αυτό χρησιμοποιείται συχνά στη μελέτη των φαινολικών συστατικών.

2.2. Μέθοδος αναστολής της ελεύθερης ρίζας DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Μία από τις πιο γνωστές μεθόδους εκτίμησης της αντιοξειδωτικής δράσης είναι η δοκιμή δέσμευσης της DPPH, δηλαδή της ιώδους χρώματος ρίζας του 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλυδραζυλίου(DPPH·). Η DPPH· είναι μία από λίγες σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες οργανικές ρίζες αζώτου.

Η ρίζα αυτή δε διμερίζεται και ενώ δέχεται πολύ εύκολα μονήρη ηλεκτρόνια ή άτομα υδρογόνου, οξειδώνεται πολύ δύσκολα. Η κατανάλωση της ρίζας από τα αντιοξειδωτικά έχει ως αποτέλεσμα την εξασθένηση του ιώδους χρώματος του διαλύματος και μετράται στα 517 nm, όπου παρατηρείται το μέγιστο του φάσματος του μορίου της ρίζας (Εικόνα 8).



Εικόνα 8: Καμπύλη απορρόφησης διαλύματος DPPH στα διάφορα μήκη κύματος του ορατού φάσματος. Η ιώδης καμπύλη αφορά την μη δεσμευμένη ρίζα του DPPH από τα αντιοξειδωτικά Η κίτρινη καμπύλη αφορά την δεσμευμένη ρίζα του DPPH. Σε

μήκος κύματος 515 nm η απορρόφηση του φωτός από την δεσμευμένη ρίζα του DPPH είναι ελάχιστη, ενώ η μη δεσμευμένη παρουσιάζει μέγιστο απορρόφησης.

Ο χρόνος διάρκειας της μεθόδου ποικίλει από 10 λεπτά έως και 6 ώρες. Η συγκέντρωση της ρίζας σε οργανικούς διαλύτες μπορεί να προσδιοριστεί με τη μέτρηση της μείωσης της απορρόφησης στα 517 nm. Έτσι για τον υπολογισμό της αντιοξειδωτικής δράσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο δέκτης EC50 (Efficient Concentration), που εκφράζει τη συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού που απαιτείται για τη μείωση της ρίζας DPPH στο 50% και χρόνος TEC50 (χρόνος που χρειάζεται για την επίτευξη της σταθερής κατάστασης όταν η συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού είναι ίση με τη EC50). Η τιμή EC50 είναι αντιστρόφως ανάλογη της αντιοξειδωτικής δράσης. Επίσης τα αποτελέσματα μπορούν να εκφραστούν ως επί τοις εκατό αναστολή σχηματισμού DPPH (δηλαδή η εξουδετέρωση) της ρίζας DPPH που υπολογίστηκε από τον τύπο:

$$\% \text{ αναστολή DPPH} = 100(A_0 - A_d) / A_0$$

Όπου:

A₀: η απορρόφηση του θετικού μάρτυρα στα 517 nm

A_d: η απορρόφηση του δείγματος στα 517 nm

Η κινητική συμπεριφορά των αντιοξειδωτικών κατηγοριοποιείται σύμφωνα με τον χρόνο που απαιτείται για την εμφάνιση ενός πλατό, δηλαδή για να φτάσει η απορρόφηση του μείγματος της αντίδρασης σε σταθερή τιμή, διακρίνεται σε τρεις κατηγορίες:

1. Ισχυρά αντιοξειδωτικά, <5 min
2. Ενδιάμεσα αντιοξειδωτικά, 5-30 min
3. Ασθενή αντιοξειδωτικά, >30 min

Αν και η μέθοδος φαίνεται να περιλαμβάνει μία αντίδραση μεταφοράς ατόμου υδρογόνου, πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι η αντίδραση μεταξύ φαινολών και DPPH βασίζεται σε αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίου. Το κρίσιμο στάδιο για την

ταχύτητα της αντίδρασης αυτής περιλαμβάνει μια διαδικασία ταχείας μεταφοράς ηλεκτρονίου από τα φαινοξυανιότα (ArO^-) στη ρίζα DPPH. Η μεταφορά του ατόμου υδρογόνου από το ουδέτερο μόριο ArOH στη DPPH γίνεται πολύ αργά σε διαλύτες που είναι ισχυροί πρωτεϊνοδέκτες, όπως η μεθανόλη και η αιθανόλη. Αναφέρεται επίσης ότι παρουσία μικρών ποσοτήτων οξέων ή βάσεων μπορεί να επηρεάσει δραματικά την ισορροπία ιονισμού των φαινολών και να προκαλέσει τη μείωση ή την ενίσχυση αντίστοιχα των μετρούμενων σταθερών ταχύτητας.

Η μέθοδος DPPH είναι τεχνικά απλή αλλά παρουσιάζει μερικά μειονεκτήματα που περιορίζουν τη χρήση της. Η DPPH αποτελεί μία πολύ σταθερή ρίζα αζώτου, που δεν δείχνει όμως ομοιότητα με τις πολύ ενεργές υπεροξυ-ρίζες που παίρνουν μέρος στη λιπιδική υπεροξειδωση. Πολλά αντιοξειδωτικά που θα αντιδρούσαν γρήγορα με υπεροξυ-ρίζες, αντιδρούν αργά ή καθόλου με τη DPPH. η μέθοδος είναι απλή, ακριβής, ευαίσθητη και οικονομική καθώς η ρίζα είναι σταθερή και δε χρειάζεται να παραχθεί όπως σε άλλες δοκιμές. Οι περιορισμοί της μεθόδου απορρέουν από το γεγονός ότι η ρίζα είναι αδιάλυτη στο νερό και δεν έχει ομοιότητα με τις υπεροξυ-ρίζες που σχετίζεται με την οξείδωση των ακόρεστων λιπιδίων.

Η μέθοδος έχει βρει ίσως τις περισσότερες από κάθε άλλη μέθοδο εφαρμογές όπως:

1. η σύγκριση των ομόλογων σειρών αντιοξειδωτικών
2. η εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης φαινολικών ενώσεων, κρασιών, συστατικών καπνού
3. αντιοξειδωτικών στα φρούτα, λαχανικά, δημητριακά, φύκια καιμανιτάρια

Για όλους τους παραπάνω λόγους χρησιμοποιείται ευρύτατα στον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας φυτικής προέλευσης προϊόντων (φρούτα κλπ.).

2.3. Φασματομετρία υπεριώδους ορατής ακτινοβολίας (UV/VIS)

Γενικά οι φασματοσκοπικές μέθοδοι χημικής ανάλυσης, στις οποίες ανήκει και η φασματοφωτομετρία UV-VIS, χρησιμοποιούνται ευρύτατα για την επίλυση διαφόρων χημικών προβλημάτων, που σχετίζονται με την δομή, την κινητική, την ταυτοποίηση, την ποσοτική ανάλυση διαφόρων ενώσεων, κ.α. Τα πλεονεκτήματα αυτών των μεθόδων είναι τα εξής:

1. Χρησιμοποιείται μικρή ποσότητα δείγματος
2. δεν καταστρέφεται το δείγμα στο τέλος της ανάλυσης
3. μεγάλη ακρίβεια και ευαισθησία
4. μικρός χρόνος μέτρησης

Οι περισσότερες από τις φασματοφωτομετρικές μεθόδους βασίζονται στην επίδραση κατάλληλης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας σε ένα υπόστρωμα. Η οποία δεσμεύεται από τα άτομα, ή τα μόρια της ύλης και προκαλεί ηλεκτρονιακές διεγέρσεις, διεγέρσεις πυρήνων, αλλαγές στη περιστροφή και τη δόνηση των μορίων. Στη συνέχεια τα άτομα και τα μόρια επιστρέφουν συνήθως στην αρχική τους κατάσταση, αφού αποβάλλουν το ποσό της ενέργειας που απορρόφησαν. Η καταγραφή της έντασης της απορρόφησης σε συνάρτηση με το μήκος κύματος, ή τη συχνότητα της ακτινοβολίας αποτελεί το φάσμα απορρόφησης, που είναι γραμμικό στα άτομα και υπό μορφή ταινίας στα μόρια. Η απορρόφηση της ακτινοβολίας στην υπεριώδη περιοχή (ενέργεια περίπου 100 kcal/mole) προκαλεί μεταβολές ηλεκτρονιακές, δόνησης και περιστροφής. Εάν ο διαχωρισμός των ηλεκτρονιακών και των γειτονικών ταινιών δόνησης και περιστροφής δεν είναι δυνατός, το τελικό αποτέλεσμα είναι η λήψη ευρέων κορυφών. Στο υπεριώδες (UV) διακρίνουμε δύο περιοχές:

- 1) το εγγύς υπεριώδες σε μήκος κύματος 185-380 nm
- 2) το από υπεριώδες σε μήκος κύματος 100-185 nm

Ενώ στο ορατό (Vis) μία περιοχή με μήκος κύματος από 380-780nm τα συνήθη εργαστηριακά φασμετοφωτόμετρα UV-Vis μετρούν από 180-780nm.

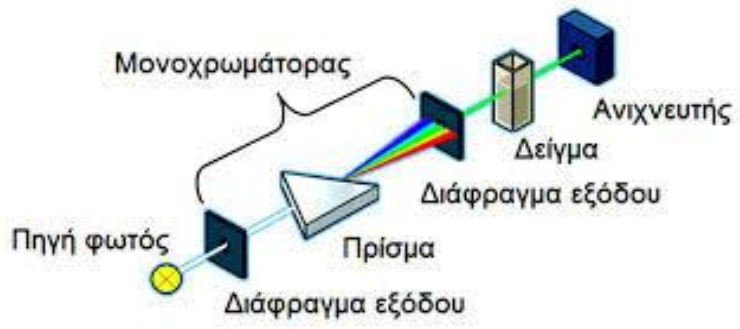
2.4. Αρχή λειτουργίας φασματοφωμετρου UV-VIS

Το φως που παράγεται από έναν λαμπτήρα κατευθύνεται με μία ορισμένη ισχύ (P_0) προς ένα διάλυμα που περιέχει μία ουσία σε ορισμένη συγκέντρωση (g/l). Το σύστημα διαχωρισμού είναι ένα κοινό πρίσμα ή συνηθέστερα ένα περιθλαστικό φράγμα το οποίο απομονώνει την επιθυμητή μονοχρωματικά ακτινοβολία (μία συχνότητα ορατή σαν κόκκινο, πράσινο, κίτρινο κ.λπ. φως). Το διάλυμα απορροφά τμήμα της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και έτσι η ακτινοβολία που απομακρύνεται από αυτό έχει ισχύ P μικρότερη από την αρχική P_0 ($P < P_0$).

Κυψελίδες είναι τα δοχεία μέσα στα οποία τοποθετούνται τα προς ανάλυση διαλύματα. Οι κυψελίδες κατασκευάζονται από γυαλί για την περιοχή του ορατού. Για την περιοχή του υπεριώδους χρησιμοποιούνται κυψελίδες χαλαζία (κρυσταλλικό πυρίτιο), επειδή οι προσμίξεις του γυαλιού απορροφούν στην περιοχή του υπεριώδους. Πριν χρησιμοποιηθούν οι κυψελίδες πρέπει να καθαρίζονται. Αν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για διαλύματα οργανικών ουσιών πρέπει να καθαρίζονται με αλκοόλη ή αιθέρα.

Τα βασικά μέρη ενός φασματοφωτόμετρου είναι τα εξής:

1. η λυχνία παραγωγής φωτός. Χρησιμοποιούνται διάφορες λυχνίες ανάλογα με το φάσμα του φωτός (UV, VIS, IR) που θέλουμε να παράγουμε
2. Το όργανο παραγωγής μονοχρωματικής ακτινοβολίας. Όπως αναφέρθηκε η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που θα διέλθει από το διάλυμα πρέπει να έχει συγκεκριμένο μήκος κύματος τέτοιο ώστε να απορροφάται από την ουσία που θέλουμε να μετρήσουμε. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση ειδικών οργάνων όπως είναι οι α)μονοχρωμάτορες, β)φίλτρα, γ)πρίσματα και δ)φράγματα περιθλασης.
3. Κυψελίδες. Οι κυψελίδες είναι μικρά γυάλινα κυλινδρικά ή ορθογώνια σωληνάκια μέσα στα οποία τοποθετείται το διάλυμα που θέλουμε να μετρήσουμε. Είναι συγκεκριμένου πάχους και διαμέτρου και κατασκευάζονται από διάφορα υλικά ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο μήκος κύματος. Οι κυψελίδες πρέπει να διατηρούνται σχολαστικά καθαρές αφού η παραμικρή ακαθαρσία θα επηρεάσει σημαντικά τη μέτρηση μας.
4. Φωτοκύτταρο. Είναι το όργανο που μετράει την ακτινοβολία P που διέρχεται μέσα από το διάλυμα.



Εικόνα 9: Σχηματική παράσταση φασματοφωτόμετρου UV-VIS.

3. Περιγραφή της πειραματικής διαδικασίας

3.1. Δείγματα

Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 48 φυτά αντράκλας (Εικόνα 10) τα οποία μεταφυτεύθηκαν (Εικόνα 11) σε τρία τμήματα μέσα σε θερμοκήπιο. Στο κάθε τμήμα φυτεύτηκαν από 16 αυτά. Ύστερα από μία εβδομάδα καθημερινού ποτίσματος τοποθετήσαμε τα δύο τμήματα φύλλα σκίασης (στο ένα μονό φύλλο και στο άλλο διπλό) (Εικόνα 12). Έπειτα αρχίσαμε το πότισμα το οποίο τις πρώτες τρεις εβδομάδες γινόταν σε καθημερινή βάση και αργότερα γινόταν τρεις φορές την εβδομάδα για τους επόμενους δύο μήνες μέχρι την ημέρα της πειραματικής διαδικασίας. Η περίοδος αυτή ξεκίνησε από τις 30 Απριλίου το 2018 και έληξε 27 Ιουνίου το 2018.



Εικόνα 10: Φυτά αντράκλας πριν τη φύτευση.



Εικόνα 11: Φυτά αντράκλας μετά τη φύτευση.



Εικόνα 12: Τοποθέτηση δύο τμημάτων φύλλων σκίασης.

3.2. Αντιδραστήρια μεθόδου DPPH

- διάλυμα DPPH συγκέντρωσης 0,1 mmol/L σε μεθανόλη.
- μεθανόλη (CH₃OH).

3.3. Σκεύη

- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Μικροπιπέτες των 20-200μl και των 100-1000 μl
- Αναδευτήρας -Vortex
- Κυψελίδες (πλαστικές με «ωφέλιμο όγκο» 2 ml)
- Ζυγός 4 δεκαδικών ψηφίων

3.4. Όργανα

- Φασματοφωτόμετρο UV-VIS Genova

3.5. Πειραματική διαδικασία

3.5.1 Προετοιμασία δειγμάτων

Σε καλά αναπτυγμένα φυτά αντράκλας, κάναμε συλλογή τριάντα από αυτά, (δέκα από την κάθε μεταχείριση) και τα μεταφέραμε στον χώρο του εργαστηρίου όπου θα γινόταν και η ανάλυση (Εικόνα 13). Αρχικά τεμαχίσαμε σε μικρά κομμάτια τμήματα φύλλων και ζυγίσαμε από το κάθε δείγμα 100 mg, τα οποία τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες. Ακολούθως προσθέσαμε 1 ml (χιλιοστόλιτρο) μεθανόλης και τα σφραγίσαμε με παραφίλμ (Εικόνα 14). Στη συνέχεια τα αναδεύσαμε για 30 δευτερόλεπτα στο Vortex και ακολούθως σε ηρεμία για 1 ώρα ώστε να πραγματοποιηθεί η εκχύλιση των κυτταρικών χυμών στην μεθανόλη.



Εικόνα 13: Αρχική κατάσταση δειγμάτων αντράκλας πριν την ανάλυση.



Εικόνα 14: Δείγματα κατά τη διάρκεια της ανάλυσης.



Εικόνα 15: Κυψελίδα πριν την τοποθέτησή της στο UV.

3.5.2 Παρασκευή διαλύματος DPPH

Για την παρασκευή του βασικού αντιδραστηρίου (standard), χρησιμοποιήθηκαν 2,36 mg DPPH, τα οποία διαλύθηκαν σε 100 ml μεθανόλης και το διάλυμα αυτό (60 μMol) τοποθετήθηκε στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου. Στην συγκεκριμένη συγκέντρωση το διάλυμα αυτό παρουσιάζει τιμές απορρόφησης 0,7 στο μήκος κύματος των 515 nm και έχει ένα έντονο ιώδη χρωματισμό.

3.5.3 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας

Λαμβάνουμε ποσότητα 50 μl (μικρόλιτρο) από το κάθε εκχύλισμα των δειγμάτων και 1950 μl αντιδραστήριο DPPH και τα τοποθετήσαμε μέσα σε πλαστικές κυψελίδες «ωφέλιμου» όγκου 2 ml, τις οποίες αφήσαμε σε σκιερό μέρος για μισή ώρα (Εικόνα 15).

Μετά από την παρέλευση του παραπάνω χρόνου, ο οποίος κρίνεται απαραίτητος ώστε να ολοκληρωθεί η αντίδραση του DPPH με τα υπάρχοντα αντιοξειδωτικά στο εκχύλισμα των φυτικών ιστών και να σταθεροποιηθεί ο αποχρωματισμός του εκάστοτε δείγματος-αντιδραστηρίου, μηδενίσαμε το φασματοφωτόμετρο UV-VIS με

καθαρή μεθανόλη. Ακολούθως κάναμε τη μέτρηση (τιμή απορρόφησης δείγματος σε χρόνο 30 min: A_{30}) στο φασματοφωτόμετρο, ενώ παράλληλα λαμβάναμε και μέτρηση από το standard διάλυμα του DPPH (μάρτυρας), η οποία αφορούσε την τιμή απορρόφησης σε χρόνο 0 min: A_0 .

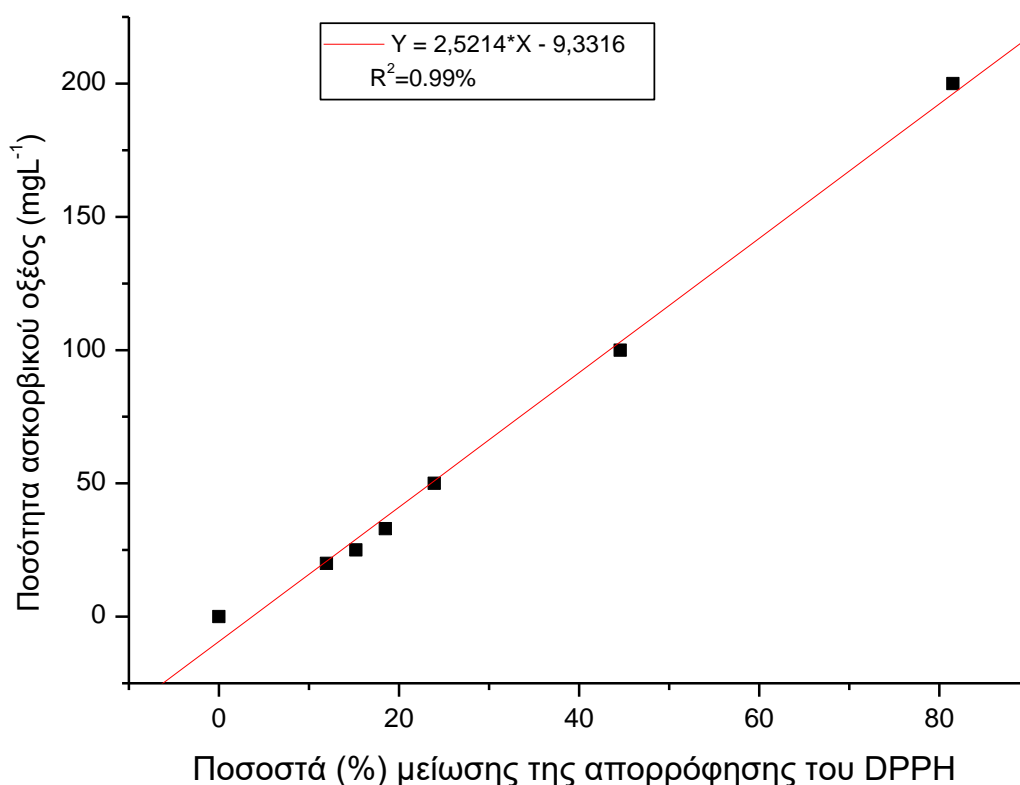
Οι μετρήσεις εκφράζονταν σε ποσοστό (%) μείωσης της απορρόφησης του αρχικού διαλύματος του DPPH (λόγω της παρουσίας των αντιοξειδωτικών) και μπορεί να θεωρηθεί ως ποσοστό αντιοξειδωτικής ικανότητας ($\Delta A_{\%}$). Οι τιμές αυτές προσδιορίζονται από την σχέση:

$$\Delta A_{\%} = \left(\frac{A_0 - A_{30}}{A_0} \right) \times 100$$

Οι τιμές αυτές, αν και μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την στατιστική ανάλυση και σύγκριση των διαφόρων πειραματικών μεταχειρίσεων, συνήθως εκφράζονται σε «ισοδύναμες ποσότητες» κάποιων ισχυρών αντιοξειδωτικών ουσιών αναφοράς, όπως είναι το trolox (ανάλογο της βιταμίνης E) ή το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C). Οι ποσότητες αυτές αφορούν την ποσότητα του αντιοξειδωτικού αναφοράς, η οποία έχει το ίδιο αποτέλεσμα (ποσοστό %) αποχρωματισμού στο βασικό διάλυμα DPPH (μάρτυρα).

Στην παρούσα εργασία ως αντιοξειδωτικό αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το ασκορβικό οξύ μέσω του οποίου καταρτίστηκε καμπύλη αναφοράς που σχετίζει τα ποσοστά μείωσης της απορρόφησης του DPPH με τις συγκεντρώσεις του ασκορβικού οξέος.

Για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν συγκεντρώσεις ασκορβικού οξέος της τάξεως των 0, 20, 25, 33, 50, 100 και 200 mgL^{-1} (χιλιοστογραμμάρια ανά λίτρο ή ppm). Από τα ανωτέρω διαλύματα ασκορβικού οξέος ελήφθησαν ποσότητες των 50 μl , οι οποίες αντέδρασαν με 1950 μl από το βασικό διάλυμα των 60 μMol του DPPH. Η καμπύλη αναφοράς που προέκυψε από τις μετρήσεις αυτές παρουσιάζεται στο γράφημα της παρακάτω εικόνας.



Εικόνα 16: Σχέση μεταξύ ποσότητας ασκορβικού οξέος και μείωσης του ποσοστού απορρόφησης του διαλύματος των 60 μMol του DPPH.

Η εξίσωση παλινδρόμησης,

$$Y = 2,5214 * X - 9,3316 \quad (R^2=0,99)$$

αποδίδει την μαθηματική σχέση μεταξύ των ποσοστών μείωσης της απορρόφησης του διαλύματος των 60 μMol του DPPH και των τιμών της ποσότητας του ασκορβικού οξέος που αντιστοιχούν σε αυτές.

Δεδομένου ότι για την παραγωγή 1 ml εκχυλίσματος φυτικών ιστών χρησιμοποιήθηκαν 100 mg νωπών ιστών, στο 1 λίτρο εκχυλίσματος (ίσος όγκος με τον όγκο αναφοράς των πρότυπων διαλυμάτων του ασκορβικού οξέος) αντιστοιχούν 100 g νωπών ιστών της αντράκλας. Συνεπώς οι τιμές αντιστοίχισης σε ισοδύναμα ασκορβικού οξέος που προκύπτουν από την παραπάνω γραμμική σχέση όταν πολλαπλασιαστούν επί 10 φορές, αποδίδουν την ισοδύναμη ποσότητα σε ασκορβικό οξύ που περιέχεται σε 1 kg νωπού βάρους των φυτών του πειράματος.

4. Αποτελέσματα και συζήτηση

4.1. Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα

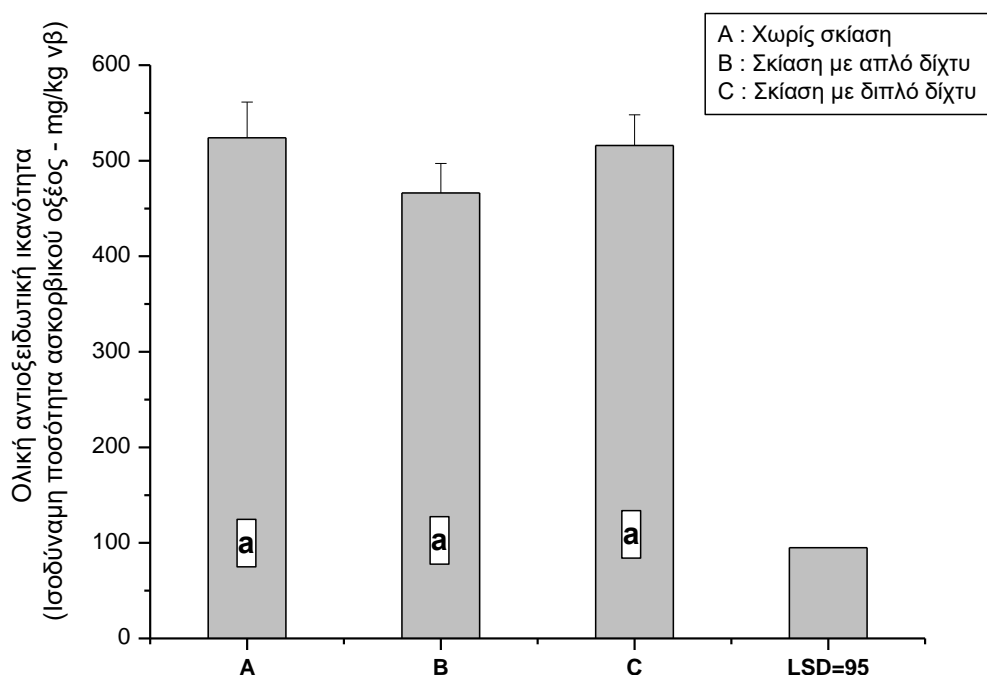
Τα αποτελέσματα των μετρήσεων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυτών της αντράκλας στην παρούσα εργασία παρουσιάζονται στο παρακάτω πίνακα 3.

Πίνακας 3: Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα εκπεφρασμένη σε ισοδύναμη ποσότητα ασκορβικού οξέως (mg/kg v.β.) των φυτών της αντράκλας (*Portulaca oleracea*) που καλλιεργήθηκαν στο έδαφος σε τρεις διαφορετικές συνθήκες σκίασης την περίοδο της άνοιξης σε μη θερμαινόμενο θερμοκήπιο.

	Χωρίς σκίαση	Σκίαση με απλό δίχτυ	Σκίαση με διπλό δίχτυ
	322	357	602
	668	460	316
	460	495	279
	426	298	760
	771	263	390
	412	369	353
	952	405	538
	412	334	760
	305	263	611
	365	463	598
	386	304	592
	475	488	471
	487	649	575
	510	553	342
	385	641	595
	657	670	617
	665	557	311
	538	563	527
	591	686	476
	694	508	606
MO ± StEr	524 ± 37	466 ± 30	516 ± 32

Η ανάλυση της διασποράς (διακύμανσης) (ANOVA) (βλέπε παράρτημα, πίνακας 4) των παραπάνω τιμών φανερώνει ότι μεταξύ των τριών μεταχειρίσεων σκίασης **δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές** ($F=0,87$ για 2 και 57 βαθμούς ελευθερίας, $P=0,4$), αναφορικά με την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών της αντράκλας.

Τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται και στο γράφημα της εικόνας 17.



Εικόνα 17. Μέση ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών της αντράκλας που καλλιεργήθηκαν στο έδαφος μη θερμαινόμενου θερμοκηπίου κατά την διάρκεια της άνοιξης, σε τρεις διαφορετικές συνθήκες σκίασης. Οι μέσοι που συνοδεύονται με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας φανερώνουν ότι οι συνθήκες φωτισμού που εφαρμόστηκαν κατά την ανάπτυξη των φυτών της αντράκλας στο συγκεκριμένο πείραμα, δεν έχουν σημαντική επίδραση στην βιοσύνθεση των ουσιών που έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες.

Το δίχτυα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιούνται για την σκίαση διαφόρων καλλιεργειών και τον περιορισμό της αύξησης της θερμοκρασίας των φυτών σε σχέση με τα ακάλυπτα. Σκοπός της εφαρμογής τους είναι η αποτροπή της δυσμενούς επίδρασης της αυξημένης θερμοκρασίας πάνω στα φυτά, όπως για παράδειγμα η ανθόρροια και καρπόπτωση στην τομάτα, η «ξηρή κορυφή» στα καρποδοτικά λαχανικά και ιδιαίτερα στα σολανώδη. Σύμφωνα δε με τα πειραματικά αποτελέσματα της παρούσας εργασίας η μερική σκίαση με μονό ή και διπλό δίχτυ σκίασης εκτός από τη προστασία των φυτών από την αυξημένη θερμοκρασία, δεν έχει αρνητική επίδραση στην βιοσύνθεση των αντιοξειδωτικών και συνεπώς δεν υποβαθμίζει και την θρεπτική αξία των φυτών της αντράκλας.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 4: Ανάλυσης της διασποράς των τιμών της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυτών της αντράκλας, εκπεφρασμένων σε ισοδύναμες τιμές ασκορβικού οξέος, για τις τρεις συνθήκες σκίασης που εφαρμόστηκαν κατά την ανάπτυξη των φυτών.

<i>Προέλευση διακύμανσης</i>	<i>Άθροισμα τετραγώνων</i>	<i>Βαθμοί ελευθερίας</i>	<i>Μέσο Τετράγωνο</i>	<i>F (πειράματος)</i>	<i>τιμή-P</i>	<i>κριτήριο F</i>
Συνθήκες σκίασης	39079,04	2	19539,5	0,867	0,43	3,159
Πειραματικό σφάλμα	1284708,3	57	22538,7			
Σύνολο	1323787,33	59				

Βιβλιογραφία

Καββάδας, Δ. Σ. (1956). Εικονογραφημένον Βοτανικόν Φυτολογικόν Λεξικόν. Αθήναι.

Καλαϊτζή Κ. (2004). Η αντράκλα (*Portulaca oleracea* L.) ως ζιζάνιο και λαχανεύομενο φυτό. Πτυχιακή εργασία. Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Καλαμάτας. Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας. Τμήμα Φυτικής Παραγωγής.

[Καλαντζή](#) Ε., Κατωπόδης Ι., (2010). Αντιοξειδωτικά: Κίνδυνοι και Οφέλη. Πτυχιακή εργασία. ΑΤΕΙ Σητείας. Τμήμα Διαιτολογίας-Διατροφολογίας.

Μανέτας Γ. (2005). Φυσιολογία Φυτών. Εκδόσεις Ίων.

Coles L, Harris S. (1996). Coenzyme Q-10 and Lifespan Extention. *Advances in Anti-Aging Medicine*. 1 (1): 205-215.

Jansen EG. Spin trapping. *Accounts of Chemical Research* 4: 31-39, 1971.

Iiyama K., Lam T. B.-L., Stone B. A. Covalent Cross-Links in the Cell Wall. *Plant Physiology*. 1994 volume 104, pp.315-320.

Kall MA, Vang O, Clausen J (1997). Effects of dietary broccoli on human drug metabolizing activity. *Cancer Lett*. 114 (1-2): 169-70.

Kris-Etherton PM, Keen CL. Evidence that the antioxidant flavonoids in the tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health. *Curr Opin Lipidol*. 2002 Feb; 13(1):41-9.

Olthof MR, Hollman PC, Katan MB (2001). Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *J. Nutr*. 131 (1): 66-71.

M Hirose, Y Takesada, H Tanaka, S Tamano, et al. (1998). Crcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination, and modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model. *Carcinogenesis* 19: 207-212.

Raven P., Evert R., Eichhorn S. (2014). Βιολογία των φυτών. Εκδόσεις Utopia.

Shahadi, Feredoon, Naczk, Marian (2004). Phenolics in food and nutraceuticals. Florida, USA: CRC Press LLC. p. 4.

Uddin K., Juraimi A. S. Hossain S., Nahar A., et al. (2014). Purslane Weed (*Portulaca oleracea*): A Prospective Plant Source of Nutrition, Omega-3 Fatty Acid, and Antioxidant Attributes. Hindawi Publishing Corporation *The Scientific World Journal* Volume 2014.

Wulf Droge. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*. Vol. 82. No. 1. January 2002, pp. 47-95.

Yanaka J. W., Fahey A. Fukumoto M., Nakayama S., Inoue S., et al. (2009). Dietary Sulforaphane-Rich Broccoli Sprouts Reduce Colonization and Attenuate Gastritis in *Helicobacter pylori*-infected Mice and Humans. *Cancer Prev. Res.* 2 (4): 353-360.

<https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=profile&symbol=POOL&display=3>
1

<https://www.quora.com/How-do-antioxidants-protect-plants>

Παράρτημα Α

CD με την εργασία.