



Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΑΖΩΤΟΥΧΟΥ
ΛΙΠΑΝΣΗΣ ΣΤΗΝ ΟΛΙΚΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ
ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΦΥΤΩΝ ΣΠΑΝΑΚΙΟΥ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΟΥΜΕΝΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΑΡΙΝΗ ΠΕΡΙΟΔΟ**

ΥΠΕΥΘΥΝΕΣ ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΕΣ: Αναργύρου Δήμητρα
Πανταζή Ιωάννα-Χαρούλα

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Χαράλαμπος Καριπίδης

Άρτα, 2020

**STUDY OF THE EFFECT OF NITROGEN
FERTILIZATION ON THE TOTAL ANTIOXIDAL
CAPACITY OF SPINACH PLANTS GROWED IN THE
SPRING**

© Αναγύρου Δήμητρα, Πανταζή Ιωάννα-Χαρούλα, 2020.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Δήλωση μη λογοκλοπής

Δηλώνουμε υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του Ν. 2121/1993 περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι η παρούσα πτυχιακή εργασία είναι έξω 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 τη συγγραφή της περιλαμβάνονται στη βιβλιογραφία.

Αναργύρου Δήμητρα
Πανταζή Ιωάννα-Χαρούλα

Υπογραφή

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το σπανάκι αποτελεί ένα από τα λαχανικά το οποίο χρησιμοποιείται ευρέως από τον άνθρωπο στην καθημερινή του διατροφή. Είναι πλούσιο σε βιταμίνες και ιχνοστοιχεία, επίσης παρουσιάζει υψηλή συγκέντρωση σε αντιοξειδωτικά. Φυτά σπανακιού (*Spinacea olerachea* L.) καλλιεργήθηκαν σε γλάστρες χωρητικότητας 1L με μείγμα τύρφη – περλίτη 1:1. Η λίπανση έγινε με τη χορήγηση θρεπτικών διαλυμάτων, με τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις αζώτου στο νερό του ποτίσματος (50, 200 και 350 mg/L). Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν να διαπιστωθεί αν η αύξηση στην ποσότητα του χορηγούμενου αζώτου έχει επίδραση στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών του σπανακιού. Για τον προσδιορισμό της, εφαρμόστηκε η μέθοδος DPPH σε νωπούς φυτικούς ιστούς φυτών σπανακιού, τα οποία αναπτύχθηκαν για διάστημα 6 εβδομάδων κατά την περίοδο της άνοιξης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αύξηση στην χορηγούμενη ποσότητα αζώτου προκαλεί αύξηση στο νωπό βάρος των φυτών του σπανακιού, αλλά δεν έχει σημαντική επίδραση στην ολική αντιοξειδωτική τους ικανότητα.

ABSTRACT

Spinach is one of the vegetables that is widely used by humans in their daily diet. It is rich in vitamins and trace elements, it also has a high concentration of antioxidants. Spinach plants (*Spinacea Olerachea L.*) were grown in pots with a capacity of 1L with a mixture of peat – perlite 1:1. The fertilization was done by the administration of nutrient solutions, with three different concentrations of nitrogen in the irrigation water (50, 200 and 350 mg/L). The purpose of this study was to determine whether the increase in the amount of nitrogen administered has an effect on the total antioxidant capacity of spinach plants. To determine it, the DPPH method was applied to fresh plant tissues of spinach plants, which were grown for 6 weeks during the spring period. The results showed that the young plants of spinach show significant differences in their content of antioxidants, which depend on the amount of nitrogen fertilizer provided. Increasing the administered nitrogen from 50 to 200 mg/L resulted in a decrease in the total antioxidant capacity of the plants, whereas when the administered nitrogen was increased (350 mg/L), the percentages of total antioxidant capacity were similar to those of plants that received limited nitrogen fertilization (50 mg/L).

Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	6
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ/ΠΙΝΑΚΩΝ	9
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	10
ΣΠΑΝΑΚΙ.....	10
1.1 Σημερινή εξάπλωση της καλλιέργειας.....	12
1.2 Μορφολογία του φυτού	13
1.4. Λίπανση	14
1.5 Θρεπτική αξία	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	19
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	19
2.1. Γενικά για τα αντιοξειδωτικά.....	19
2.1.1. Διάκριση αντιοξειδωτικών	20
2.2 Δημιουργία ελεύθερων ριζών.....	21
2.2.1. Βλάβες που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες	23
2.3. Δράση των αντιοξειδωτικών	23
2.3.1. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας	24
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	25
ΤΟ ΑΖΩΤΟ ΚΑΙ Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ	25
3.1 Το άζωτο ως στοιχείο	25
3.2 Φυσιολογική δράση.....	26
3.3. Λίπανση και συσσώρευση νιτρικών	28
3.4. Το πρόβλημα συγκέντρωσης νιτρικών στα φυτά και στον άνθρωπο	30
3.5 Κίνδυνοι στην υγεία από νιτρικά (NO ₃ ⁻)	30
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	33
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	33
4.1 Σκοπός του πειράματος	33
4.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	34
Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων	35
4.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	39

4.3.1 Βάρος φυτών	39
4.3.2 Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα (TAC)	41
4.4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	42
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	44
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	45

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ/ΠΙΝΑΚΩΝ

Εικόνα 1. Το φυτό Σπανάκι.....	10
Εικόνα 2. Η μορφολογία του φυτού	14
Εικόνα 3. Απεικόνιση χημικών στοιχείων στο Σπανακι.....	16
Εικόνα 4. Αντιοξειδωτικά	19
Εικόνα 5. Άζωτο	26
Εικόνα 6. Σχέση μεταξύ ποσότητας ασκορβικού οξέος και μείωσης του ποσοστού απορρόφησης του διαλύματος των 60 μΜol του DPPH.	37
Εικόνα 7. Φασματοφωτόμετρο για την μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων	38
Εικόνα 8. Νωπό βάρος των φυτών του σπανακιού που καλλιεργήθηκαν σε μείγμα τύρφης-περλίτη, με τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις αζωτούχου λίπανσης. Οι μέσοι που συνδέονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.	40
Εικόνα 9. Φυτά σπανακιού τα οποία έχουν ποτιστεί με το διάλυμα, των διαφορετικών συγκεντρώσεων των λιπασμάτων.	40
Εικόνα 10. Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών του σπανακιού που καλλιεργήθηκαν σε μείγμα τύρφης-περλίτη, με τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις αζωτούχου λίπανσης. Οι μέσοι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.....	42
Πίνακας 1. Οι κυριότερες χώρες παραγωγής σε παγκόσμια κλίμακα.....	12
Πίνακας 2. Δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου.....	22
Πίνακας 3. Ποσότητα των λιπασμάτων που διαλυόταν στα 2,5 λίτρα νερό του ποτίσματος για τις τρεις επεμβάσεις του πειράματος.....	35
Πίνακας 4. Πίνακας ανάλυσης της διασποράς των τιμών του βάρους του υπέργειου μέρους των φυτών του σπανακιού για τις τρεις συγκεντρώσεις αζώτου που χρησιμοποιήθηκαν για την λίπανση.....	44
Πίνακας 5. Πίνακας ανάλυσης της διασποράς των τιμών της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυτών του σπανακιού, για τις τρεις συγκεντρώσεις αζώτου που χρησιμοποιήθηκαν για την λίπανση.....	44

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΣΠΑΝΑΚΙ

Το σπανάκι *Spinacea olerachea L.* ή σπανάκιον το λαχανώδες ανήκει στην οικογένεια *Amarathaceae* (*Chenopodiaceae*) και είναι συγγενές με το παντζάρι, το σέσκουλο κ.ά. Το όνομα *Spinaceae* προέρχεται από το λατινικό *Spina*, το οποίο σημαίνει “άκανθα” ή “ακανθωτός καρπός” και το *Oleraceae* από τα Ισπανικά, που σημαίνει “βότανο της γλάστρας”. Υπάρχει και το σπανάκι της Νέας Ζηλανδίας (*Tetragonia tetragonioides*), το οποίο παρουσιάζει ομοιότητες με το κοινό σπανάκι, έχει το πλεονέκτημα ότι παρουσιάζει ανθεκτικότητα στις υψηλές θερμοκρασίες, αλλά ανήκει στην οικογένεια *Tetragoniaceae*.



Εικόνα 1. Το φυτό Σπανάκι

(Πηγή εικόνας: www.homestead-acres.com)

Η καλλιέργεια του σπανακιού παρουσιάζεται ευρέως στις περισσότερες χώρες του κόσμου, σε περιόδους - εποχές όπου οι θερμοκρασίες είναι χαμηλές και υπάρχει υψηλό

ποσοστό υγρασίας, δηλαδή σε ψυχρό και υγρό κλίμα. Στις περιοχές όπου το κλίμα είναι εύκρατο η καλλιέργεια του σπανακιού γίνεται από τα τέλη του καλοκαιριού ως τις αρχές του επόμενου καλοκαιριού, κυρίως γίνεται η καλλιέργεια του κατά τη διάρκεια του χειμώνα. Στις χώρες που είναι πιο βόρεια καλλιεργείται κυρίως κατά την άνοιξη έως το φθινόπωρο. Κατά τη διάρκεια του χειμώνα παρατηρείται ότι στις βορειότερες χώρες επιχειρούν να καλλιεργήσουν το σπανάκι σε θερμοκήπια χωρίς θέρμανση.

Αναφέρεται από τον Vanilov ότι το κέντρο διασποράς του σπανακιού βρίσκεται στην περιοχή της κεντρικής Ασίας, κατά πάσα πιθανότητα στην Περσία και επίσης παρατηρήθηκε ότι παρουσιάστηκε μόνο ως καλλιέργεια και όχι σαν αυτοφυές φυτό. Πιθανολογείται ότι η καλλιέργεια του ξεκίνησε κατά την περίοδο της ελληνικής και ρωμαϊκής κυριαρχίας, όμως το φυτό ήταν άγνωστο στους Ρωμαίους και τους Έλληνες. Το κοινό όνομα του σπανακιού παρουσιάζει ομοιότητα στην κοινή του ονομασία σε διάφορες γλώσσες, γεγονός το οποίο αποδεικνύει πρόσφατη διάδοση. Ο De Candolle υποστήριξε ότι το σπανάκι μπορεί να προήλθε από το *Spinacia tetrandra*, είδος το οποίο είναι αυτοφυές σε χώρες της κεντρικής και Ανατολικής Ασίας. Η παλαιότερη αναφορά συνάντησης του σπανακιού, μακριά από το κέντρο διασποράς του είναι στην Κίνα, όπου είχε μεταφερθεί μέσω του Νεπάλ το 647 μ.Χ. Προς Δυσμάς, μέσω της Βόρειας Αφρικής, μεταφέρθηκε στην Ισπανία από τους Μαυριτανούς το 1100 μ.Χ. Ο ακανθωτός σπόρος ήταν γνωστός στη Γερμανία τον 13ο αιώνα. Ο λείος σπόρος πιστεύεται ότι έχει προκύψει από μετάλλαξη και είχε διαδοθεί μετά το 1552. Στην Ελλάδα δεν είναι γνωστός ο χρόνος εισαγωγής του. Σε γραπτό κείμενο αναφέρεται ότι αρχικά καλλιεργήθηκε το 1647. Στην Αμερική το σπανάκι περιλαμβάνεται σε καταλόγους σπόρων από το 1806, αλλά πολύ πιθανόν το σπανάκι να μεταφέρθηκε από τους πρώτους εποίκους. Οι χαρακτήρες, όπως στρογγυλός, λείος σπόρος, φύλλα με λεία περιθώρια και απουσία χρωστικών, θεωρούνται ότι έχουν σχέση με τη συστηματική καλλιέργεια και επιλογή του φυτού σε διαφορετικές περιοχές που καλλιεργείται το σπανάκι με ανεξάρτητες προσπάθειες.

1.1 Σημερινή εξάπλωση της καλλιέργειας

Η παγκόσμια καλλιεργούμενη έκταση και παραγωγή, καθώς και η κατά ηπείρους, οι κυριότερες χώρες παραγωγής σε παγκόσμια κλίμακα και οι κυριότερες χώρες παραγωγής στην Ε.Ε. δίνονται στον πίνακα παρακάτω.

Κυριότερες χώρες παραγωγής	Έκταση (× 1000 στρ)	Παραγωγή (×1000 τον)	Ποσοστό της παγκόσμιας παραγωγής
1. Κίνα	7.500	19.500	90,0
2. Η.Π.Α.	170	354	1,8
3. Ιαπωνία	225	275	1,3
4. Τουρκία	238	222	1,
5 Ινδονησία	460	155	0,7
6. Ιράν	50	107	0,5
7. Πακιστάν	35	107	0,5
8. Γαλλία	56	107	0,5
9. Νότια Κορέα	61	97	0,4
10. Βέλγιο	40	79	0,4

Κυριότερες χώρες παραγωγής στην Ευρωπαϊκή Ένωση	Μέση απόδοση (τον/στρ)
1.Γαλλία	1,9
2. Βέλγιο	2,0
3. Γερμανία	2,3
4. Ιταλία	1,4
5. Ισπανία	1,9
6. Ελλάδα	1,6
7. Ολλανδία	1,6
8. Πορτογαλία	1,7
9. Αλβανία	1,2

Πηγή: FAOSTAT 20

Πίνακας 1. Οι κυριότερες χώρες παραγωγής σε παγκόσμια κλίμακα

Φαίνεται ότι στην περιοχή της Ασίας, η οποία αποτελεί και το κέντρο διασποράς του σπανακιού, παράγεται σε μεγάλες ποσότητες (94,9% της παγκόσμιας παραγωγής), με κυρίαρχη χώρα την Κίνα, η οποία παράγει το 90,9% της παγκόσμιας παραγωγής. Σε πολύ μικρότερη κλίμακα παράγεται στην Ευρώπη, με ποσοστά τα οποία ανέρχονται στο 2,5% της παγκόσμιας παραγωγής.

Στην Ελλάδα η παραγωγή σπανακιού είναι σημαντική (Πίνακας 1). Σε σύγκριση με τα μέσα της δεκαετίας του '80 (μέση συνολική παραγωγή 38.000 τόνοι), σήμερα (μέσος όρος πενταετίας 2008-2012, η παραγωγή 52.628 τόνοι) παρουσιάζεται μια αύξηση παραγωγής κατά 37%. Οι μεγαλύτερες ποσότητες παράγονται γύρω από τα μεγάλα αστικά κέντρα της χώρας, στους περιφερειακούς λαχανόκηπους. Σημαντικές ποσότητες παράγονται στη Βοιωτία 23%, στην Α & Δ Αττική 15% και στην περιοχή Θεσσαλονίκης 12%.

1.2 Μορφολογία του φυτού

Το σπανάκι είναι ετήσιο ποώδες φυτό, έχει ανάγκη από χαμηλές θερμοκρασίες για να αναπτυχθεί και ο χρόνος ανάπτυξης του κυμαίνεται από 1,5 – 2 μήνες, από τη σπορά μέχρι το στάδιο που θα είναι έτοιμο για γίνει συγκομιδή για να είναι εμπορεύσιμο (κυρίως τα φύλλα του). Αναπτύσσει βαθιά κεντρική ρίζα και πλήθος από επιφανειακές, δευτερεύουσες ρίζες.

Αρχικά το φυτό εμφανίζει ένα κυκλικό σύνολο από πολλά φύλλα, τα οποία αναπτύσσονται σε έναν υποτυπώδη ανεπτυγμένο βλαστό και στη συνέχεια, όταν ο βλαστός γίνεται πιο ανθεκτικός τότε αυξάνονται προοδευτικά και άλλα συμπλέγματα φύλλων. Τα φύλλα διαφοροποιούνται σε σχήμα και υφή, μπορεί να είναι με πιο στρογγυλή άκρη είτε με πιο έντονη γωνία, επίσης μπορεί να είναι πιο λεία ή πιο τραχιά με τα νεύρα τους να είναι πιο έντονα είτε να είναι πιο λεία.



Εικόνα 2. Η μορφολογία του φυτού

(Πηγή εικόνας: www.magicgardenseeds.com)

1.3 Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις

Οι απαιτήσεις του φυτού είναι οι ψυχρές εποχές και ευδοκιμεί σε περιοχές με μεσαίες θερμοκρασίες, δηλαδή από 16 -20 °C, όμως μπορεί να αποδώσει ικανοποιητικά και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Έως και -9 °C μπορεί να αποδίδει χωρίς να είναι σε μεγάλο βαθμό οι αλλοιώσεις του φυτού. Η ανθεκτικότητα του φύλλου φαίνεται από το πάχος του φύλλου και την πυκνότητα, δηλαδή, όταν είναι χαμηλή η θερμοκρασία τα φύλλα είναι μεν πιο αραιά αλλά είναι παχύτερα ώστε να είναι πιο ανθεκτικά.

Για να ευδοκιμήσει το φυτό του σπανακιού οι ιδανική θερμοκρασία στο έδαφος είναι από 10-15 °C. Σε περίπτωση που η θερμοκρασία του εδάφους είναι από 30 °C και πάνω, τότε ο σπόρος “πέφτει” σε λήθαργο και δεν αναπτύσσεται, γι’ αυτό το λόγο δεν παρουσιάζονται καλλιέργειες σε θερμές χώρες.

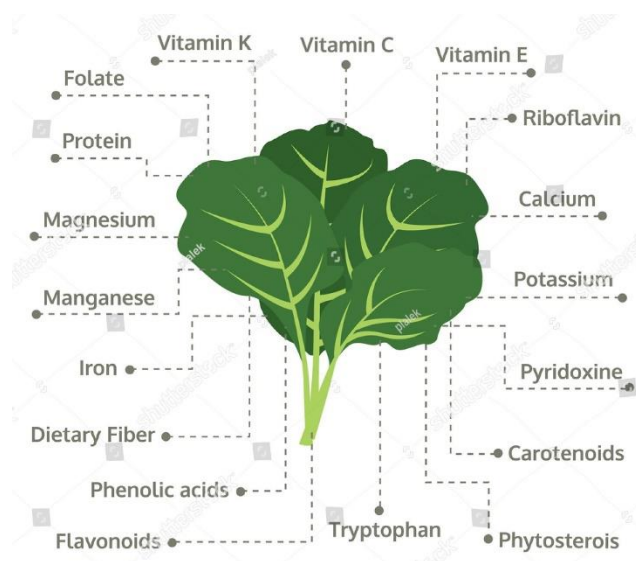
1.4. Λίπανση

Το σπανάκι είναι φυτό ταχείας ανάπτυξης και συμπληρώνει την ανάπτυξη του από τη σπορά μέχρι τη συγκομιδή σε σύντομο χρονικό διάστημα (35-70 ημέρες). Επομένως χρειάζεται αρκετές ποσότητες θρεπτικών στοιχείων σε σύντομο χρονικό διάστημα και ιδίως στο τελικό στάδιο της ανάπτυξής του. Πειράματα έδειξαν ότι τα φυτά απέκτησαν το 68% του νωπού βάρους τους τις τελευταίες 21 ημέρες πριν τη συγκομιδή. Επίσης σημειώνεται ότι σε πειράματα με ανοιξιάτικη καλλιέργεια στην Καλιφόρνια έχει υπολογισθεί ότι αφαιρούνται από το έδαφος συνολικά 15,0 κιλά N, 2,2 κιλά P, 21,9 κιλά K, 3,8 κιλά Ca, 4,1 κιλά Mg και 4,0 κιλά Na το στρέμμα. Για να υπολογισθεί η ποσότητα των λιπασμάτων που θα προστεθεί στο έδαφος, φρόνιμο είναι να προηγηθεί ανάλυση του εδάφους και προσθήκη λιπασμάτων με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης και θα πρέπει παράλληλα να συνυπολογιστεί ο τύπος του εδάφους, η λίπανση σε προηγούμενη καλλιέργεια, η εποχή κ.λπ. Γενικότερα, οι ποσότητες των λιπασμάτων σε κιλά/στρέμμα που συνιστώνται ανάλογα με τον τύπο του εδάφους παρουσιάζονται. Σημειώνεται ότι προσθήκη οργανικής ουσίας σε ποσότητες 4-5 τον./στρ. καλά χωνεμένης κοπριάς βοήθα σημαντικά στην ανάπτυξη και παραγωγή του σπανακιού. Η εφαρμογή κοπριάς συμβάλλει στη μείωση της ποσότητας των χημικών λιπασμάτων που προστίθενται. Για τον έλεγχο της θρεπτικής κατάστασης των φυτών κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης της καλλιέργειας μπορεί να εφαρμοστεί η φυλλοδιαγνωστική σε δείγμα μίσχων από νεαρά ώριμα φύλλα και ο προσδιορισμός των στοιχείων επί του ξηρού βάρους. Θεωρούνται επαρκείς οι ποσότητες 0,6% για το άζωτο, 0,3% για τον φώσφορο και 4% για το κάλιο. Σε περίπτωση χαμηλότερων συγκεντρώσεων θα πρέπει να προστεθούν ανάλογες ποσότητες των στοιχείων που είναι ελλειμματικά. Το σπανάκι έχει ανάγκη από αρκετές ποσότητες βορίου. Προσοχή από τις τροφοπενίες μαγνησίου, βορίου, χαλκού και μολυβδαινίου.

1.5 Θρεπτική αξία

Το σπανάκι είναι ένα από τα πλουσιότερα σε θρεπτικά συστατικά πράσινα φυλλώδη λαχανικά. Ένα φλιτζάνι βρασμένο σπανάκι υπερκαλύπτει τις ημερήσιες ανάγκες του οργανισμού μας σε βιταμίνες A και K. Επίσης, το σπανάκι είναι πλουσιότατη πηγή μαγανίου και φυλλικού οξέος, ενώ παρέχει μαγνήσιο και σίδηρο (αν και στη λιγότερο απορροφήσιμη από τον οργανισμό μας μορφή του), βιταμίνη C και βιταμίνες του

συμπλέγματος Β. Είναι λογικό, λοιπόν, που οι επιστημονικές έρευνες αποδεικνύουν πόσο ωφέλιμο είναι για την υγεία μας.



Εικόνα 3. Απεικόνιση χημικών στοιχείων στο Σπανακι.

(Πηγή εικόνας: image.shutterstock.com)

➤ Φιλικό με την καρδιά

Το σπανάκι είναι ιδιαίτερα πλούσιο σε αντιοξειδωτικά - μέχρι σήμερα έχουν βρεθεί σε αυτό 13 διαφορετικά είδη φλαβονοειδών, τα οποία έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Το σπανάκι θωρακίζει τα αγγεία και παρέχει προστασία από τα καρδιαγγειακά νοσήματα και τα εγκεφαλικά επεισόδια. Αυτό επιβεβαιώνεται από ευρύτατες επιδημιολογικές μελέτες του Πανεπιστημίου του Harvard, οι οποίες απέδειξαν ότι τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, όπως το σπανάκι, μαζί με τα φρούτα, που είναι πλούσια σε βιταμίνη C, είναι ιδιαίτερα καρδιοπροστατευτικά. Επιπλέον, σύμφωνα με τις ίδιες μελέτες, τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά (όπως το σπανάκι), τα κραμβοειδή (όπως το μπρόκολο) και τα εσπεριδοειδή συσχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης εγκεφαλικού. Ακόμη, σύμφωνα με έρευνα σε ποντίκια, που δημοσιεύτηκε στην επιθεώρηση «Journal of Agriculture and Food Chemistry», έχει διαπιστωθεί ότι το σπανάκι περιέχει 4 πεπτίδια που συμβάλλουν στη μείωση της αρτηριακής πίεσης.

➤ Αντικαρκινική προστασία

Οι επιστήμονες μελετούν εκτενώς τις αντικαρκινικές ιδιότητες του σπανακιού, κυρίως λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς του σε φλαβονοειδή και πολυφαινόλες (αντιοξειδωτικές ουσίες). Σε μια πρόσφατη μελέτη, που δημοσιεύτηκε στην έγκυρη επιστημονική επιθεώρηση «International Journal of Cancer» (Νοέμβριος 2007), βρέθηκε ότι ορισμένα είδη φλαβονοειδών που υπάρχουν στο σπανάκι συσχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου των ωθηκών. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι η αυξημένη πρόσληψη λουτεολίνης (φλαβόνης), καθώς και κεπφερόλης (φλαβονόλης), πηγή των οποίων είναι το σπανάκι, συσχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης αυτής της μορφής καρκίνου κατά 34% και κατά 40% αντίστοιχα. Επιπλέον, σε μια ακόμη έρευνα, που δημοσιεύτηκε στο ίδιο περιοδικό το Δεκέμβριο του 2007, διαπιστώθηκε μια ακόμη ιδιότητα του σπανακιού, ότι προστατεύει σημαντικά από την εμφάνιση καρκίνου του οισοφάγου.

➤ Προφυλάσσει τα μάτια

Σε έρευνα που δημοσιεύτηκε στην επιθεώρηση «Archives of Ophthalmology» παρατηρήθηκε ότι η πρόσληψη λουτεΐνης -του αντιοξειδωτικού που το σπανάκι περιέχει σε αφθονία- καθώς και βιταμίνης Ε συσχετίζονται με σημαντική μείωση του κινδύνου εμφάνισης καταρράκτη στις γυναίκες. Σε παρόμοια συμπεράσματα είχαν καταλήξει παλαιότερα και ερευνητές του Πανεπιστημίου του Harvard. Οι τελευταίοι διαπίστωσαν ότι η κατανάλωση σπανακιού, τουλάχιστον δύο φορές την εβδομάδα, μειώνει στο μισό την πιθανότητα να γίνει επέμβαση καταρράκτη στους άνδρες.

➤ Ωφέλιμο για τα οστά

Το σπανάκι αποτελεί μία από τις καλύτερες πηγές βιταμίνης Κ - ένα φλιτζάνι φρέσκο σπανάκι καλύπτει το 200% των ημερήσιων αναγκών μας. Η βιταμίνη Κ ενεργοποιεί την οστεοκαλσίνη, μια πρωτεΐνη που συμμετέχει στην εναπόθεση ασβεστίου στα οστά. Έχει παρατηρηθεί ότι η βιταμίνη Κ επενεργεί θετικά στην οστική πυκνότητα και μειώνει τον κίνδυνο καταγμάτων. Πρόσφατη έρευνα που δημοσιεύτηκε στην

επιθεώρηση «Nutrition in Clinical Practice» προτείνει την αύξηση της πρόσληψης βιταμίνης Κ στο πλαίσιο της προστασίας των οστών.

➤ **Δυναμώνει το μυαλό**

Η κατανάλωση σπανακιού φαίνεται ότι μπορεί να καθυστερήσει τον εκφυλισμό των νευρικών κυττάρων του εγκεφάλου που επέρχεται με την πάροδο των χρόνων. Αυτό ήταν το συμπέρασμα συμπίεσμα έρευνας που δημοσιεύτηκε στην επιθεώρηση «Journal of Neuroscience» και πραγματοποιήθηκε σε ποντίκια. Οι ερευνητές πειραματίστηκαν με το σπανάκι, τη φράουλα και τη βιταμίνη Ε, αλλά παρατήρησαν ότι η δράση του σπανακιού ήταν η πλέον εντυπωσιακή.

αυτές παίζουν το ρόλο του δότη ηλεκτρονίων. Παραδείγματα πρωτογενών αντιοξειδωτικών αποτελούν οι φυσικές και συνθετικές τοκοφερόλες, το ΒΗΑ (βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη), το ΒΗΤ (βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο), το ΤΒΗQ (tetr-βουτυλο-υδροκινόνη), κ.α.

Δευτερογενή αντιοξειδωτικά: Η δράση τους επικεντρώνεται στη διάσπαση των υδροϋπεροξειδίων των λιπιδίων (προϊόντα οξείδωσης), τους σταθερά τελικά προϊόντα, που δεν λαμβάνουν μέρος σε αλυσιδωτές αντιδράσεις. Τέτοια αντιοξειδωτικά είναι το διαρυλο-θειοδιπροπιονικό οξύ και ο αντίστοιχος εστέρας.

Ενώσεις που απομακρύνουν το οξυγόνο: Τα αντιοξειδωτικά αυτά αντιδρούν με το οξυγόνο και σχηματίζοντας ενώσεις με αυτό, εμποδίζουν την αντίδραση με τα λιπίδια που αποτελεί έναρξη τους αυτοοξείδωσης. Την ικανότητα αυτή παρουσιάζουν αντιοξειδωτικά τους το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), ο παλμιτικός εστέρας, το ερυθροβικό οξύ και τα άλατα του με νάτριο, κ.α..

Ενώσεις που δημιουργούν ενεργειακά σύμπλοκα (συνεργιστικές ενώσεις): Οι ενώσεις που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία σχηματίζουν χημικά σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα, τους του χαλκού και του σιδήρου. Με τον τρόπο αυτό δεσμεύουν σωματίδια που δρουν ως εκκινητές τους οξείδωσης. Παραδείγματα αποτελούν το κιτρικό οξύ, τα αμινοξέα, το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA), κ.α. ωστόσο για να εκδηλωθεί η αντιοξειδωτική τους δράση, πρέπει να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με άλλο αντιοξειδωτικό.

2.1.1. Διάκριση αντιοξειδωτικών

Τα αντιοξειδωτικά με βάση την προέλευση τους διακρίνονται στις παρακάτω κατηγορίες:

- **Συνθετικά αντιοξειδωτικά:** τα αντιοξειδωτικά αυτά συντίθενται βιομηχανικά. Πολλά από αυτά, αν και παρουσιάζουν ακόμη και έντονη αντιοξειδωτική δράση, δεν χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα τροφίμων, λόγω των αρνητικών επιπτώσεων τους στον ανθρώπινο οργανισμό. Συνθετικά αντιοξειδωτικά που επιτρέπονται ως πρόσθετα τροφίμων είναι το ΒΗΤ, το ΒΗΑ, το Trolox, το PG το ΤΒΗQ.

- Φυσικά αντιοξειδωτικά: η πλειοψηφία των φυσικών αντιοξειδωτικών είναι φαινολικές ενώσεις οι οποίες χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: τις τοκοφερόλες, τα φλαβονοειδή, και τα φαινολικά οξέα.

2.2 Δημιουργία ελεύθερων ριζών

Η πρόσφατη ανάπτυξη των γνώσεων στη βιολογία σχετικά με τις ελεύθερες ρίζες και τα δραστικά είδη οξυγόνου έστρεψε το ενδιαφέρον των ερευνητών σε νέες μελέτες προκειμένου να διευκρινισθούν τα συστήματα που εμπλέκονται στη δημιουργία των ελεύθερων ριζών καθώς και για τα τρόφιμα και τις ουσίες που τις προκαλούν ή τις αναστέλλουν. Τα μόρια αποτελούνται από έναν ή περισσότερους ατομικούς πυρήνες οι οποίοι περιβάλλονται από ηλεκτρόνια τα οποία περιστρέφονται γύρω από τον πυρήνα. Τα ηλεκτρόνια είναι διευθετημένα σε τροχιακά, τα οποία βρίσκονται σε διαφορετικές αποστάσεις από τον πυρήνα. Τα ηλεκτρόνια που καταλαμβάνουν ένα τροχιακό, μπορεί να είναι είτε σε ζεύγη είτε ασύζευκτα (μονήρη ηλεκτρόνια). Τα ηλεκτρόνια κάθε ζεύγους έχουν αντίρροπο spin. Η ύπαρξη συζευγμένων ηλεκτρονίων συμβάλλει στη σταθερότητα του μορίου - μικρότερη ενεργειακή κατάσταση - και ως εκ τούτου λιγότερο δραστικό. Όταν ένα ή περισσότερα ηλεκτρόνια, ιδιαίτερα αυτά που βρίσκονται στα εξωτερικά τροχιακά του ατόμου, είναι ασύζευκτα, τότε το μόριο γίνεται ασταθές - σε μμεγαλύτερη ενεργειακή κατάσταση - και συνεπώς πιο δραστικό από άλλα μόρια. Άτομα ή μόρια με ασύζευκτα ηλεκτρόνια ονομάζονται παραμαγνητικά, ενώ όταν δεν διαθέτουν τέτοια ηλεκτρόνια, διαμαγνητικά. Ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο ασκεί έλξη στα ηλεκτρόνια γειτονικών ατόμων με αποτέλεσμα την πρόκληση χημικών αντιδράσεων μεταξύ ατόμων ή μορίων, κατά τις οποίες έχουμε μεταφορά ηλεκτρονίων Ένα άτομο ή μόριο με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια και ανεξάρτητη παρουσία λέγεται ελεύθερη ρίζα και συμμετέχει πολύ εύκολα σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής με γειτονικά μόρια. Υπάρχουν και οι διρίζες όπου δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια βρίσκονται σε κάποια απόσταση μεταξύ τους αλλά στο ίδιο μόριο. Κατά τις αντιδράσεις αυτές όχι μόνο μεταβάλλονται σημαντικά τα γειτονικά μόρια στόχοι, αλλά μερικές φορές μεταβιβάζονται τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια

από στόχο σε στόχο, δημιουργώντας έτσι μία δεύτερη, τρίτη κ.ο.κ. ελεύθερη ρίζα υπό μορφή αλυσιδωτής αντίδρασης. Η πολύ μεγάλη βλαπτική επίδραση των ελευθέρων ριζών οφείλεται ακριβώς στον πολλαπλασιασμό των μεταβολών που προκαλούνται από παρόμοιες αλυσιδωτές αντιδράσεις. Μια ποικιλία ελευθέρων ριζών σχηματίζεται καθημερινά στον οργανισμό μας, από αιτίες όπως υψηλή συγκέντρωση οξυγόνου, έκθεση σε ουσίες όπως το όζον, η αιθαλομίχλη, χημικά και φάρμακα καθώς και κατά τη διάρκεια φυσιολογικών λειτουργιών. Οι πλέον σημαντικές ελεύθερες ρίζες είναι μοριακά είδη με κέντρο το οξυγόνο και μερικές φορές το άζωτο ή τον άνθρακα. Το ίδιο το οξυγόνο που αναπνέουμε αποτελεί μία ελεύθερη ρίζα, αφού περιέχει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια που βρίσκονται σε δύο διαφορετικά τροχιακά. Συνολικά όλα τα μοριακά είδη που περιλαμβάνουν οξυγόνο, είτε είναι ελεύθερες ρίζες είτε όχι, ονομάζονται δραστικά είδη οξυγόνου (ΔΕΟ).

ΕΝΩΣΗ	ΟΝΟΜΑ
Ελεύθερες Ρίζες	
$O_2^{\cdot -}$	ανιόν σουπεροξειδίου
HO_2^{\cdot}	υδροϋπεροξειδική ρίζα
OH^{\cdot}	ρίζα υδροξυλίου
RO^{\cdot}	ρίζα αλκοξειδίου
ROO^{\cdot}	ρίζα υπεροξειδίου
Μη Ελεύθερες Ρίζες	
H_2O_2	υπεροξείδιο του υδρογόνου
$ROOH$	οργανικά υπεροξείδια
O_2	μονήρες οξυγόνο
O_3	όζον
$HCIO$	υποχλωριώδες οξύ
Δραστικές Μορφές Αζώτου	
NO_2^{\cdot} και NO^{\cdot}	διοξείδιο και μονοξείδιο του αζώτου
$ONOO^-$	υπεροξυνιτρώδες

Πίνακας 2. Δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου

Οι ελεύθερες ρίζες αναπτύσσονται ενδογενώς στον οργανισμό σε ένα σύνολο μεταβολικών διαδικασιών και αυξάνονται από εξωτερικούς παράγοντες επιβαρυντικούς για την υγεία όπως η ατμοσφαιρική ρύπανση, το κάπνισμα, το άγχος της καθημερινότητας, η σωματική κόπωση, η κακή διατροφή, τα χημικά πρόσθετα των τροφών, η έκθεση στην έντονη ηλιακή ακτινοβολία καθώς και η λήψη φαρμάκων.

2.2.1. Βλάβες που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες

Οι ελεύθερες ρίζες είναι υψηλής δραστηριότητας μόρια, που μπορούν να αντιδράσουν με όλα τα βασικά συστατικά του κυττάρου και εύκολα να οξειδώσουν και να τροποποιήσουν ζωτικά βιολογικά μόρια όπως υδατάνθρακες, λίπη, πρωτεΐνες και DNA, όπως και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που είναι ενσωματωμένα στις κυτταρικές μεμβράνες και είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στην οξείδωση.

2.3. Δράση των αντιοξειδωτικών

Η δράση των αντιοξειδωτικών στηρίζεται στην απομάκρυνση ή την εξουδετέρωση των ROO* και R* ελεύθερων ριζών και σε ορισμένες περιπτώσεις στην πλήρη αναστολή της οξείδωσης (στα σουλφονικά, στη διάσπαση από τα υπεροξειδία). Επειδή τα περισσότερα αντιοξειδωτικά δημιουργούν αλυσιδωτές αντιδράσεις, επιταχύνουν την παραγωγή ελεύθερων ριζών ROO* και R*, με τη δημιουργία μιας ανενεργού και αντιοξειδωτικής ελεύθερης ρίζας.

Επιγραμματικά αποδεικνύεται, πως όλοι οι αναστολείς της οξείδωσης πρέπει αφ' ενός να είναι ενεργοί, ώστε να αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες και να διασπάσουν την αλυσίδα και αφετέρου μεταφορικά ενεργά, για να αποφευχθεί η άμεση αντίδραση του οξυγόνου με την ανταλασσόμενη ελεύθερη ρίζα. Η μεγάλη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών, σε συνδυασμό με τις υψηλές συγκεντρώσεις κατά τη φάση της διάδοσης, μπορεί για παράδειγμα να οδηγήσει στη λειτουργία των αντιοξειδωτικών ως

μεταφορέων και κατά συνέπεια στη δράση τους ως προοξειδωτικά. Όλοι αυτοί οι παράγοντες καθιστούν ολοφάνερο πως, η προσθήκη των αντιοξειδωτικών πρέπει να γίνεται πολύ πριν από το στάδιο της προαγωγής (διάδοση). Αν όμως στο υπόστρωμα αυξηθεί η συγκέντρωση των ελεύθερων ριζών, τότε το προστιθέμενο αντιοξειδωτικό ανταποκρίνεται γρήγορα και θα καταναλωθεί, οπότε είναι πλέον αδύνατον να επιβραδυνθεί με παρεμβολή η πρόοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης.

2.3.1. 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 ή σε κάθε δέκτη ηλεκτρονίων. Το προϊόν της αντίδρασης αυτής μετράται τελικά με μία αναλυτική μέθοδο όπως αυτές που αναφέρθηκαν στην περίπτωση προσδιορισμού των ΔΕΟ. Παρακάτω αναφέρονται μερικές από τις σπουδαιότερες μεθόδους μέτρησης αντιοξειδωτικής δράσης.

Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης καθαρών ενώσεων, συστατικών τροφίμων ή κυτταρικών εκχυλισμάτων χρησιμοποιείται η αντίδραση των αντιοξειδωτικών με σταθερές έγχρωμες ελεύθερες ρίζες (ABTS, DPPH) η οποία έχει ως αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό τους.

Η μέθοδος ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity / Ικανότητα Απορροφητικότητας Ριζών Οξυγόνου) στηρίζεται στην ελάττωση του φθορισμού ορισμένων ουσιών (φυκοερυθρίνες) με την προσθήκη ελευθέρων ριζών. Η δράση αυτή των ελευθέρων ριζών αναστέλλεται παρουσία των αντιοξειδωτικών.

Με τη μέθοδο EPR μπορούμε να προσδιορίσουμε την αντιοξειδωτική δράση ουσιών με βάση την ελάττωση του EPR σήματος συγκεκριμένων ελευθέρων ριζών μετά την αντίδραση τους με το αντιοξειδωτικό παρουσία μιας παγίδας σπιν.

Η μέθοδος FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power/Αντιοξειδωτική Ισχύς Αναγωγής Τρισθενούς Σιδήρου) στηρίζεται στην αναγωγή ενός συμπλόκου του τρισθενούς σιδήρου από το αντιοξειδωτικό προς ένα προϊόν με έντονο κυανού χρώμα.

Η μέθοδος TRAP (Total Peroxyl Radical-Trapping Potential/ Συνολικό Δυναμικό Παγίδευσης Ριζών Υπεροξειδίου) Βασίζεται στην αντίδραση ελευθέρων ριζών υπεροξειδίου με μία ουσία, τη λουμινόλη. Το προϊόν της αντίδρασης είναι μία ρίζα λουμινόλης η οποία εκπέμπει φως (χημειοφωταύγεια) το οποίο και μετράται. Παρουσία αντιοξειδωτικών, η χημειοφωταύγεια ελαττώνεται.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΤΟ ΑΖΩΤΟ ΚΑΙ Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ

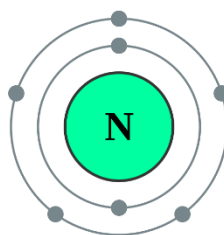
3.1 Το άζωτο ως στοιχείο

Το άζωτο είναι αέριο, άχρωμο, άοσμο, άγευστο, πιο ελαφρύ από τον αέρα και καταλαμβάνει το 78% του όγκου του. Ο τριπλός δεσμός που δημιουργείται ανάμεσα στα δύο άτομα που αποτελούν το μόριο του αζώτου (N_2), θεωρείται από τους ισχυρότερους στη φύση, με αποτέλεσμα να είναι αδρανές αέριο, ιδιαίτερα σε συνηθισμένες θερμοκρασίες. Διαλύεται ελάχιστα στο νερό, δεν είναι δηλητηριώδες αέριο αλλά ασφυκτικό. Δεν καίγεται αλλά έχει παρατηρηθεί ότι ορισμένα στοιχεία μπορούν να “καούν” σε άζωτο, όπως το μαγνήσιο στους $300^\circ C$ και το λίθιο ακόμα και σε θερμοκρασία δωματίου, παράγοντας κρυσταλλικά μεταλλικά νιτρίδια. Όταν θερμανθεί υπό πίεση με το υδρογόνο παρουσία καταλύτη, σχηματίζεται αμμωνία. Το άζωτο αποτελεί συστατικό πολλών βιομορίων όπως των νουκλεϊνικών οξέων, πρωτεϊνών, βιταμινών, πουρίνων, αλκαλοειδών και άλλα. Αν και το άζωτο αφθονεί στην ατμόσφαιρα, δεν μπορεί να αξιοποιηθεί από τους παραγωγούς στη μορφή με την οποία βρίσκεται σ' αυτή (μοριακό άζωτο). Για το λόγο αυτό η εισαγωγή του

ατμοσφαιρικού αζώτου στις τροφικές αλυσίδες των οικοσυστημάτων γίνεται με τη διαδικασία της αζωτοδέσμευσης, η οποία μετατρέπει το ατμοσφαιρικό άζωτο σε μορφές αξιοποιήσιμες από τους παραγωγούς.

7: Nitrogen

2,5



Εικόνα 5. Άζωτο

(Πηγή εικόνας: el.wikipedia.org)

3.2 Φυσιολογική δράση

Το άζωτο αποτελεί συστατικό όλων των ζωντανών κυττάρων. Αποτελεί μέρος στο μόριο των πρωτεϊνών, νουκλεοξέων, αμινοξέων, των ένζυμων και των συνενζύμων καθώς και της χλωροφύλλης. Πήρε το όνομα αυτό, άζωτο, επειδή χωρίς την ύπαρξη του δεν θα μπορούσε να υπάρξει ζωή.

Είναι, επομένως, καταφανής η σημασία του αζώτου για τη ζωή των κυττάρων και τη σύνθεση των πρωτεϊνούχων δομικών στοιχείων του πρωτοπλάστη, καθώς και της κληρονομικής ουσίας DNA και του μηχανισμού της πρωτεϊνοσύνθεσης (είδη RNA). Το άζωτο συντελεί στην ανάπτυξη των ριζών. Γι' αυτό τα κονδυλόριζα αφαιρούν τις μεγαλύτερες ποσότητες αζώτου από το έδαφος. Μεγάλες ποσότητες αζώτου

ελαττώνουν το σάκχαρο των τεύτλων, ενώ αυξάνουν την ποσότητα των νιτρικών σ' αυτά .

Το πλάγιασμα των δημητριακών συσχετίζεται με τη 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 νεότερα φύλλα παραμένουν πρασινωπά. Γενικά, τα φυτά με τροφопενία αζώτου περιέχουν μόνο πρωτεΐνες, οι οποίες και υδρολύονται για να προσφέρουν αμινοξέα στα τμήματα του φυτού που τα έχουν ανάγκη.

Σαν δείκτες για την έλλειψη αζώτου από το έδαφος χρησιμοποιούνται το καλαμπόκι, η μηλιά, η ροδακινιά και τα εσπεριδοειδή. Ο εφοδιασμός των καλλιεργειών σε άζωτο καθορίζει κατά μεγάλο μέρος την αύξηση, την ανάπτυξη και την παραγωγή των φυτών. Η έλλειψη του αζώτου από το έδαφος είναι πάντοτε πιθανή, γιατί οι καλλιέργειες απομακρύνουν μεγάλες ποσότητες από το στοιχείο. Το άζωτο επομένως είναι στοιχείο με το οποίο πάντοτε λιπαίνονται τα χωράφια.

Τα φυτά προσλαμβάνουν το άζωτο που χρειάζονται ως αμμωνιακό ή νιτρικό ιόν. Ποιο από τα δυο αυτά ιόντα θα προτιμήσει το φυτό εξαρτάται από εσωτερικούς και εξωτερικούς παράγοντες .

Καμία φορά, παρατηρείται συσσώρευση νιτρικών στα φυτά, όταν αυτά δεν μπορούν να τα χρησιμοποιήσουν όπως, στην περίπτωση που δεν υπάρχουν επαρκείς ποσότητες υδατανθράκων. Νιτρικά συσσωρεύονται περισσότερο στα ετήσια αγρωστώδη και λιγότερο στα διετή και πολυετή αγρωστώδη ή ψυχανθή. Επίσης, μεγαλύτερες ποσότητες παρατηρούνται στους μίσχους και στους βλαστούς, παρά στα φύλλα. Η ποσότητα των νιτρικών που υπάρχει στα φυτά και θα μπορούσε να προκαλέσει τοξικά φαινόμενα στα ζώα, δεν έχει ακριβώς καθοριστεί. Πιστεύεται ότι, όταν το ολικό άζωτο υπερβαίνει το 2,5% στα αγρωστώδη και το 3% στα ψυχανθή, είναι ενδεικτικό της πιθανότητας να εμφανιστούν τοξικά συμπτώματα.

Οι παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για την παρουσία αυξημένων ποσοτήτων νιτρικών στα φυτά, αναφέρονται παρακάτω:

A) η χρησιμοποίηση νιτρικών λιπασμάτων σε ποσότητες μεγαλύτερες από αυτές που χρειάζονται τα φυτά.

B) η χρήση του 2,4D (2,4-διχλωροφαινοξυξικού οξέος).

Γ) η έλλειψη αφομοιώσιμου μολυβδαινίου στο έδαφος.

Τα νιτρικά, όταν ανάγονται σε νιτρώδη, προκαλούν τοξικά φαινόμενα στους ζωικούς οργανισμούς, γιατί κατά την αναγωγή τους οξειδώνεται η αιμογλοβίνη και γίνεται ανίκανη να μεταφέρει οξυγόνο. Τα νιτρικά ανάγονται, επίσης, σε νιτρώδη από σαπροφυτικά και παρασιτικά βακτήρια. Μεγάλες ποσότητες νιτρωδών έχουν βρεθεί σε αποθηκευμένα λαχανικά, ιδίως σπανάκια, μαρούλια και σαλατικά.

Μεγάλη χρήση νιτρικών και νιτρωδών γίνεται κατά τη διατήρηση των κρεάτων και ψαριών. Στις Η.Π.Α οι ποσότητες που χρησιμοποιούνται ανέρχονται σε 200-500 ppm έτσι ο άνθρωπος παίρνει με τις κονσερβοποιημένες τροφές νιτρώδη σε ποσότητες που ανέρχονται στο 22 μmol ή 1,5mg NaNO_2 την ημέρα. Η ποσότητα των νιτρωδών εμφανίζει τελευταία ιδιαίτερο ενδιαφέρον, γιατί έχει διαπιστωθεί ότι τα νιτρώδη όταν αντιδρούν με ορισμένες δευτεροταγείς αμίνες, σχηματίζουν νιτροζαμίνες, που είναι ενώσεις καρκινογόνες για τον άνθρωπο.

3.3. Λίπανση και συσσώρευση νιτρικών

Η αποφυγή της συσσώρευσης των NO_3^- , σύμφωνα με τα όρια που έχουν θεσπιστεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση και τους διεθνείς οργανισμούς αποτελεί πλέον υποχρέωση των παραγωγών λαχανικών. Είναι προφανές ότι ο παράγοντας πάνω στον οποίο χρειάζεται να παρέμβουμε καταρχήν είναι το άζωτο. Τα αζωτούχα λιπάσματα (νιτρική αμμωνία, νιτρικό ασβέστιο, κ.λ.π.) ευνοούν τη συσσώρευση των νιτρικών μολονότι, διεγείροντας τη δράση της ρεδουκτάσης των νιτρικών, επιταχύνουν τους ρυθμιστές ανάπτυξης των φυτών (γνωρίζουμε ότι τα καλύτερα λαχανικά είναι εκείνα που παράγονται σε μικρό χρονικό διάστημα), με βάση το μέσο όρο του καλλιεργητικού κύκλου του κάθε είδους και της κάθε ποικιλίας.

Από έρευνες που έγιναν, βρέθηκε ότι η χρήση οργανικών ή αμμωνιακών λιπασμάτων ευνοούν τη συσσώρευση νιτρικών στα φυτά. Τα αμμωνιακά λιπάσματα (ουρία, θειικό

αμμώνιο, κ.λ.π.) περιορίζουν τον κίνδυνο της συσσώρευσης των νιτρικών, τουλάχιστον μέχρις ότου δε μετατρέπονται με τη σειρά τους σε νιτρικό άζωτο στο έδαφος.

Συνεπώς και στις δύο περιπτώσεις είναι βασικό να προσέξουμε τη δόση και την εποχή χορήγησης των αζωτούχων λιπασμάτων. Οι μειωμένες δόσεις και η εποχή χορήγησης της τελευταίας δόσης (να απέχει πολύ από τη συλλογή) μπορούν να αποτελέσουν μεθόδους μείωσης των ποσοστών συσσώρευσης του νιτρικού αζώτου στους ιστούς των πιο επικίνδυνων ειδών.

Δεν θα πρέπει να υποβαθμίζεται, ωστόσο, το νιτρικό άζωτο που περιέχει το έδαφος (το φυσικό) και που μπορεί να σχηματιστεί κατά τρόπο ανεξέλεγκτο μετά την αποσύνθεση της οργανικής ουσίας (λόγου χάριν μετά από αμειψισπορά ψυχανθών ή χλωρής λίπανσης). Γι' αυτό το λόγο αυτοί οι τύποι εδαφών θα πρέπει να αποκλείονται από την καλλιέργεια εκείνων των λαχανικών, που είναι ικανά να συγκεντρώσουν μεγάλες ποσότητες νιτρικών.

Ο ανταγωνισμός μεταξύ νιτρικού και αμμωνιακού αζώτου στο υπόστρωμα καλλιέργειας, παρέχει μια περαιτέρω ευκαιρία ελέγχου της συσσώρευσης των νιτρικών. Αλλά αυτό είναι δυνατόν μόνο στα φτωχά σε οργανική ουσία εδάφη (αμμώδη εδάφη, κοκκινοχώματα) όπου, με μια σωστή διαχείριση της ανόργανης λίπανσης, μπορούμε να ικανοποιήσουμε τις απαιτήσεις της καλλιέργειας.

Ορισμένες έρευνες απέδειξαν ότι τα αμμωνιακά λιπάσματα που χορηγούνται στα λαχανικά, τα οποία καλλιεργούνται σε φτωχά σε οργανική ουσία εδάφη, παρέχουν τη δυνατότητα παραγωγής μεγάλων ποσοτήτων προϊόντων με χαμηλά ποσοστά NO_3^- , ενώ στα πλούσια σε οργανική ουσία εδάφη το αμμωνιακό άζωτο δεν διακόπτει τη συσσώρευση των νιτρικών, λόγω υπερβολικής παρουσίας νιτρικού αζώτου στο έδαφος. Αυτό συμβαίνει γιατί τα φυτά απορροφούν αμμωνιακό άζωτο, χωρίς όμως να πειράζει, εάν στο μέσο καλλιέργειας υπάρχει και μια μέτρια ποσότητα νιτρικού αζώτου, που μπορεί να καλύψει τις ποσότητες εκείνες, που συνδέονται με το μεταβολισμό του αζώτου. Σύμφωνα με τα είδη, για να πραγματοποιηθεί αυτός ο μηχανισμός, η σχέση μεταξύ NO_3^- και NH_4 αζώτου, μπορεί να κυμαίνεται από 1 μέχρι 10.

Ο ανταγωνισμός μεταξύ του νιτρικού και του αμμωνιακού αζώτου μπορεί πιο εύκολα να ρυθμιστεί στις καλλιέργειες σε θρεπτικά υποστρώματα, όπου επίσης μπορούμε να μειώσουμε δραστικά τη συγκέντρωση των νιτρικών στους φυτικούς ιστούς, καταργώντας το άζωτο του θρεπτικού διαλύματος στα τελευταία στάδια της

καλλιέργειας, υποχρεώνοντας έτσι τα φυτά να χρησιμοποιήσουν τα μεγάλα ποσοστά νιτρικού αζώτου που ήδη έχουν συσσωρεύσει. Πιο δύσκολη είναι αντίθετα η ρύθμιση στο χωράφι.

Τέλος ο παράγοντας που φέρει την κύρια ευθύνη της εμφάνισης του προβλήματος στον ανησυχητικό βαθμό που υπάρχει σήμερα είναι η εφαρμοζόμενη αζωτούχος λίπανση. Κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες (συνθήκες εργαστηρίου) η συσσώρευση NO_3^- είναι συνάρτηση της ποσότητας και του τύπου της παρεχομένης λίπανσης.

3.4. Το πρόβλημα συγκέντρωσης νιτρικών στα φυτά και στον άνθρωπο

Η συγκέντρωση NO_3^- στους φυτικούς ιστούς αποτελεί φυσιολογικό φαινόμενο, που 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 NO_3^- εξαρτάται από :

- την περιεκτικότητα του εδάφους σε NO_3^-
- τον γονότυπο
- και τις κλιματικές συνθήκες κάτω από τις οποίες αναπτύσσονται τα φυτά

Τελευταία το ενδιαφέρον εστιάζεται στη συγκέντρωση NO_3^- στις τροφές. Η αναγωγή NO_3^- σε NO_2^- και οι δυσμενείς δράσεις αυτής της αναγωγής στον άνθρωπο και τα ζώα είναι υπεύθυνες γι' αυτό το ενδιαφέρον. Ανάμεσα στις τροφές που καταναλώνονται, τα νωπά και τα κονσερβοποιημένα λαχανικά είναι οι κυριότερες πηγές NO_3^- για τον ανθρώπινο οργανισμό.

3.5 Κίνδυνοι στην υγεία από νιτρικά (NO_3^-)

Τα νιτρικά από μόνα τους δεν είναι τοξικά και όταν εισέλθουν στον οργανισμό δεν παίρνουν μέρος στις κανονικές βιολογικές διεργασίες. Αντίθετα αποβάλλονται σχετικά

γρήγορα με τα ούρα κατά 80% περίπου ή με τα περιττώματα (σε ποσοστό 1-2%) και ανακυκλώνονται με το σάλιο.(18%).

Τα NO_3^- σε μικρές συγκεντρώσεις είναι ακίνδυνα για τον άνθρωπο, αλλά σε υψηλές συγκεντρώσεις ή κάτω από ειδικές συνθήκες μπορούν να γίνουν πολύ επικίνδυνα, που σε κάποιες περιπτώσεις μπορούν να επιφέρουν ακόμη και το θάνατο.

Η τοξικότητα NO_3^- είναι σχετικά χαμηλή και ποικίλλει ευρέως. Η μοιραία δόση για ενήλικες είναι 15-70 mg NO_3^- -N/kg ζώντος βάρους.

Κατά τη διάρκεια της πέψης των τροφών είναι πιθανόν τα νιτρικά να αναχθούν εν μέρει με τη βοήθεια των μικροοργανισμών σε νιτρώδη στο στόμα και στο γαστρεντερικό σύστημα. Υπάρχουν δυο 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.

Η μεθαιμογλοβίνη απαρτίζει το 1% της αιμογλοβίνης σε υγιή άτομα, το 4% στα νεογέννητα παιδιά και το 6% ή και περισσότερο σε μωρά με αναπνευστικά προβλήματα ή διάρροια. Η μικρή ποσότητα μεθαιμογλοβίνης, που κανονικά παράγεται, μπορεί να μετατραπεί ενθυματικά ξανά σε αιμογλοβίνη. Αν η ταχύτητα μετατροπής της μεθαιμογλοβίνης είναι μικρότερη από την ταχύτητα συγκέντρωσης, τότε έχουμε μεγάλη συγκέντρωση μεθαιμογλοβίνης στο αίμα με επιζήμιες συνέπειες για την υγεία.

Η αιμογλοβίνη των νεογέννητων παιδιών μετατρέπεται πολύ πιο εύκολα σε μεθαιμογλοβίνη, σε σύγκριση με την αιμογλοβίνη των μεγαλύτερων παιδιών. Η συγκέντρωση μεθαιμογλοβίνης μπορεί να προκληθεί και από πολλές ενώσεις όπως: μονοξείδιο του άνθρακα (CO), phenacetin, χρώματα ανιλίνης, και το λούστρο των επίπλων.

2. Εμφάνιση καρκίνου του στομάχου και της ουροδόχου κύστης

Τα νιτρικά στο όξινο περιβάλλον του στομάχου ανάγονται σε νιτρώδη, τα οποία μπορούν να αντιδράσουν με αμίνες και να παράγουν νιτροζαμίνες. Οι νιτροζαμίνες

θεωρούνται ύποπτες για καρκινογένεσεις στον άνθρωπο, αλλά δεν έχει αποδειχθεί ακόμα η σχέση μεταξύ νιτρικών και κρουσμάτων καρκίνου.

Στις προηγμένες χώρες οι πληθυσμοί είναι εκτεθειμένοι σε μεγαλύτερες ποσότητες νιτρικών σύμφωνα με την τάση για κατανάλωση φυλλωδών λαχανικών σε συνδυασμό με νερό αρκετά ρυπασμένο. Κλινικές έρευνες, όμως, αποδεικνύουν μικρότερη συχνότητα γαστρεντερικού καρκίνου, ενώ παρατηρείται σαφής τάση μείωσης των κρουσμάτων γαστρικού καρκίνου.

Σε έρευνα του πανεπιστημίου της Iowa σε 22.000 γυναίκες ηλικίας 55-69 ετών που άρχισε το 1986 (Epidemiology, 2001) η αύξηση της πιθανότητας εμφάνισης καρκίνου της ουροδόχου κύστης σχετίζεται με αυξημένες συγκεντρώσεις νιτρικών στο πόσιμο νερό, ενώ και η χρόνια κατανάλωση νερού με χαμηλή περιεκτικότητα μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα. Οι ερευνητές προτείνουν να συνεχιστούν οι έρευνες, αλλά και συνιστούν τη μείωση του ορίου παρουσίας νιτρικών στο πόσιμο νερό. Σύμφωνα με τον WHO, η μέγιστη ασφαλής ποσότητα νιτρικών που πρέπει να λαμβάνει ένας ενήλικας ανέρχεται στα 220mg/L NO_3^- την ημέρα καταναμεημένα κατά 70% από λαχανικά, 15% από άλλα τρόφιμα και 15% από το νερό (Σάββας, 2016).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1 Σκοπός του πειράματος

Το άζωτο αποτελεί ένα από τα κύρια θρεπτικά ανόργανα στοιχεία, το οποίο θεωρείται ότι παίζει τον σημαντικότερο ρόλο στην βλαστική ανάπτυξη και την αύξηση της βιομάζας των φυτών. Είναι γενικά αποδεκτό ότι σε συνθήκες επάρκειας των υπόλοιπων κύριων θρεπτικών στοιχείων και ιχνοστοιχείων, η αύξηση στην χορήγηση του αζώτου έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της φυτικής βιομάζας. Όμως η αύξηση στην ποσότητα της χορήγησης αζωτούχων λιπασμάτων μπορεί να προκαλέσει την αυξημένη συσσώρευση νιτρικών ανιόντων στους φυτικούς ιστούς, ιδιαίτερα στα φυλλώδη λαχανικά όπως το σπανάκι (Blom-Zandstra, 1989).

Το πρόβλημα των νιτρικών στα λαχανικά απασχολεί τη σύγχρονη κοινωνία, καθώς η συσσώρευσή τους στους ιστούς των φυλλωδών λαχανικών και η κατανάλωσή τους από τον άνθρωπο, θεωρείται ότι είναι επικίνδυνη για την υγεία των καταναλωτών. Σήμερα τα λαχανικά αποτελούν την κυριότερη πηγή εισροής νιτρικών στον οργανισμό των ενήλικων ανθρώπων. Εκτιμάται πως περισσότερο από 80% της μέσης ημερήσιας εισροής νιτρικών στον οργανισμό προέρχεται από τα λαχανικά. Έτσι στην Ευρωπαϊκή Ένωση έχουν οριστεί μέγιστα αποδεκτά ποσοστά νιτρικών για διάθεση των νωπών προϊόντων στην κατανάλωση, τόσο σε προϊόντα από θερμοκήπια, όσο και σε υπαίθριες καλλιέργειες φυλλωδών λαχανικών. Για τα σπανάκια στην Ε.Ε. έχουν καθοριστεί μέγιστα επιτρεπτά όρια για νιτρικά τόσο για τα νωπής κατανάλωσης όσο και ως κατεψυγμένο προϊόν (Κανονισμός Ε.Ε. 563/2002). Για τα νωπής κατανάλωσης σπανάκια οι επιτρεπτές τιμές νιτρικών ανέρχονται στα 3000 mg/kg νωπού βάρους για τις χειμερινές καλλιέργειες και 2500 mg/kg ν.β. για τις εαρινές καλλιέργειες.

Η περιεκτικότητα των λαχανικών σε αντιοξειδωτικές ουσίες αποτελεί σημαντικό παράγοντα που χαρακτηρίζει την διατροφική τους αξία. Όπως έχει εκτεθεί στα προηγούμενα, το σπανάκι είναι ένα λαχανικό υψηλής διαιτητικής αξίας, πλούσιο σε αντιοξειδωτικές ουσίες. Από την άλλη μεριά όμως είναι ένα λαχανικό που συσσωρεύει εύκολα νιτρικά ανιόντα στο ιστούς του.

Συνεπώς η περιεκτικότητα σε αντιοξειδωτικές ουσίες και η ποσότητα των νιτρικών ανιόντων που συσσωρεύονται στα σπανάκια, αποτελούν σημαντικούς παράγοντες της ποιότητάς τους. Η υψηλή περιεκτικότητά σε αντιοξειδωτικά σχετίζεται με την διατροφική τους αξία, ενώ η χαμηλή περιεκτικότητα σε νιτρικά σχετίζεται με την ασφάλεια από την κατανάλωσή τους, όπως εκτέθηκε στα προηγούμενα.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της αζωτούχου λίπανσης στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών του *Spinacia oleracea* (σπανάκι). Σκοπός της εργασίας ήταν βρεθεί αν η αύξηση στην χορηγούμενη αζωτούχο λίπανση επηρεάζει την ολική αντιοξειδωτική ικανότητά των φυτών του σπανακιού.

4.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Τα φυτά του πειράματος καλλιεργήθηκαν κατά την εαρινή περίοδο σε μη θερμαινόμενο θερμοκήπιο. Η καλλιέργειά του έγινε σε φυτοδοχεία χωρητικότητας ενός λίτρου σε μείγμα περλίτη-ξανθιάς τύρφης 1:1. Η σπορά των φυτών έγινε την 1η Μαρτίου, σε ομαδικό δίσκο σποράς με ατομικές θέσεις και ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε επεξεργασμένη ξανθιά τύρφη. Μέχρι τη μεταφύτευση των φυτών, για το πότισμα των φυτών στο σπορείο χρησιμοποιήθηκε το νερό του δικτύου της ύδρευσης. Στη συνέχεια στις 28 Μαρτίου έγινε η μεταφύτευση των φυτών στα φυτοδοχεία.

Μετά την μεταφύτευση των φυτών, η λίπανση 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).

Σε κάθε φυτό γινόταν πότισμα με ποσότητα 250 ml θρεπτικού διαλύματος. Συνολικά, μέχρι την διενέργεια των μετρήσεων του πειράματος, έγιναν 20 ποτίσματα και κάθε τρία ποτίσματα γινόταν προσθήκη και μείγματος ιχνοστοιχείων αρχίζοντας από το πρώτο πότισμα κατά την μεταφύτευση των φυτών.

Ποσότητα βασικών λιπασμάτων στα 2,5 λίτρα νερό

50 ppm N 200 ppm N 350 ppm N

Φωσφορικό Μονοκάλιο (KH ₂ PO ₄)	1,63 g	1,63 g	1,63 g
Νιτρικό Κάλιο (KNO ₃)	0,88 g	0,88 g	0,88 g
Θειικό Μαγνήσιο (MgSO ₄)	0,9 g	0,9 g	0,9 g
Νιτρική αμμωνία (NH ₄ NO ₃)	-	1,1gr	2,2gr
*Κάθε τρίτο πότισμα γινόταν προσθήκη και ιχνοστοιχείων σε ποσότητα 2 g (σκευάσματος) στα 2,5 λίτρα νερού			

Πίνακας 3. Ποσότητα των λιπασμάτων που διαλυόταν στα 2,5 λίτρα νερό του ποτίσματος για τις τρεις επεμβάσεις του πειράματος.

Μετά από 45 ημέρες καλλιέργειας στα φυτοδοχεία, έγινε ο προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, καθώς και η καταμέτρηση του νωπού βάρους των φυτών του πειράματος.

Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων

Στην παρούσα εργασία για τον προσδιορισμό της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας εφαρμόστηκε η μέθοδος του Διφαινυλο-πικρυλ-υδραζυλίου (DPPH). Η μέθοδος αυτή είναι η πιο χρησιμοποιούμενη μέθοδος προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης μιας ουσίας. Το DPPH είναι μια σταθερή ρίζα, το οργανικό διάλυμα του οποίου παρουσιάζει έντονο ιώδες (μοβ) χρώμα. Η μέθοδος βασίζεται στην ικανότητα των εκχυλισμάτων να αποχρωματίζουν το διάλυμα του DPPH.

Η μέθοδος στηρίζεται στην αντίδραση του αντιοξειδωτικού με μεθανολικό ή αιθανολικό 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.

Η φασματοφωτομετρική αυτή μέθοδος χρησιμοποιεί τη ρίζα DPPH* ως αντιδραστήριο (η συγκέντρωση του οποίου είναι 60 μM). Μετά από επώαση αντιδραστηρίου και δείγματος για 30 min, στους 25 °C μετράται η απορρόφηση στα 515 nm. Για την

εύρεση του ποσοστού της παρεμποδιστικής δράσης κάθε εκχυλίσματος χρησιμοποιείται ο παρακάτω τύπος:

$$I \% = [(A_0 - A)/A_0] * 100$$

Όπου I % = η % παρεμπόδιση της ελεύθερης ρίζας

A₀ = η απορρόφηση του τυφλού

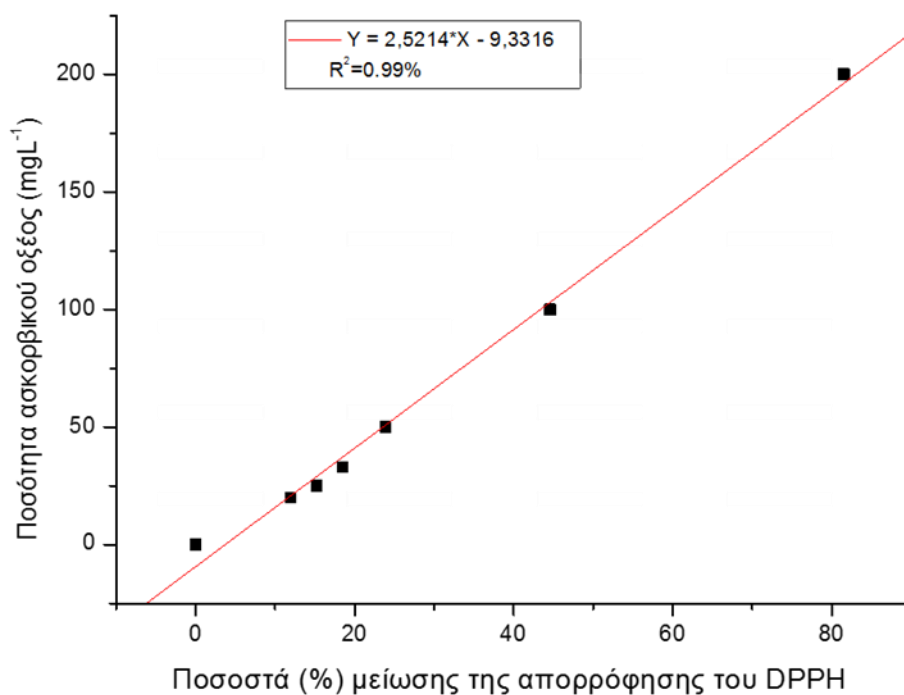
A = η απορρόφηση του δείγματος

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:

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), ή το Γαλλικό Οξύ. Οι ποσότητες αυτές αφορούν την ποσότητα του αντιοξειδωτικού αναφοράς, η οποία έχει το ίδιο αποτέλεσμα (ως 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, 35, 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 6. Σχέση μεταξύ ποσότητας ασκορβικού οξέος και μείωσης του ποσοστού απορρόφησης του διαλύματος των 60 μMol του DPPH.

Η εξίσωση παλινδρόμησης:

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

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 για την παραγωγή 1 L μεθανολικού εκχυλίσματος δυνητικά θα έπρεπε να χρησιμοποιηθούν 100 g νωπών ιστών, η παραπάνω γραμμική σχέση αποδίδει την ισοδύναμη ποσότητα σε ασκορβικό οξύ που περιέχεται σε 1 λίτρο εκχυλίσματος, που δυνητικά προκύπτει από 100 g νωπών φυτικών ιστών.



Εικόνα 7. Φασματοφωτόμετρο για την μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων

Η διαδικασία προσδιορισμού των ολικών αντιοξειδωτικών στην παρούσα εργασία ήταν η εξής:

1. Εκχύλιση αντιοξειδωτικών ουσιών: Αρχικά γινόταν η εκχύλιση των αντιοξειδωτικών ουσιών από τους φυτικούς ιστούς. Χρησιμοποιήθηκαν τμήματα φύλλων σπανακιού, τα οποία είχαν βάρος 100 mg και τα οποία τεμαχίζονταν σε όσο το δυνατό μικρά τεμαχίδια. Στην συνέχεια και μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα γινόταν προσθήκη 1 mL καθαρής μεθανόλης. Ακολούθως το μείγμα ιστών και μεθανόλης υφίστατο δόνηση (vortex) για 1 min. Έπειτα οι δοκιμαστικοί σωλήνες σφραγίζονταν με ελαστική ταινία (para-film) για την αποτροπή της εξάτμισης της μεθανόλης και αφήνονταν σε ηρεμία για 30 min. Εναλλακτικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί αντί της μεθανόλης η αιθανόλη (αλλά λόγω κόστους χρησιμοποιείται κυρίως μεθανόλη).

2. Παρασκευή διαλύματος DPPH: Για την παρασκευή του διαλύματος DPPH συγκέντρωσης 60μM διαλύονται 2,36mg σε 100 mL καθαρής μεθανόλης (ή αιθανόλης). Η απορρόφηση του διαλύματος αυτού είναι τυπικά $0,680 \pm 0,005$ στα 515 nm.

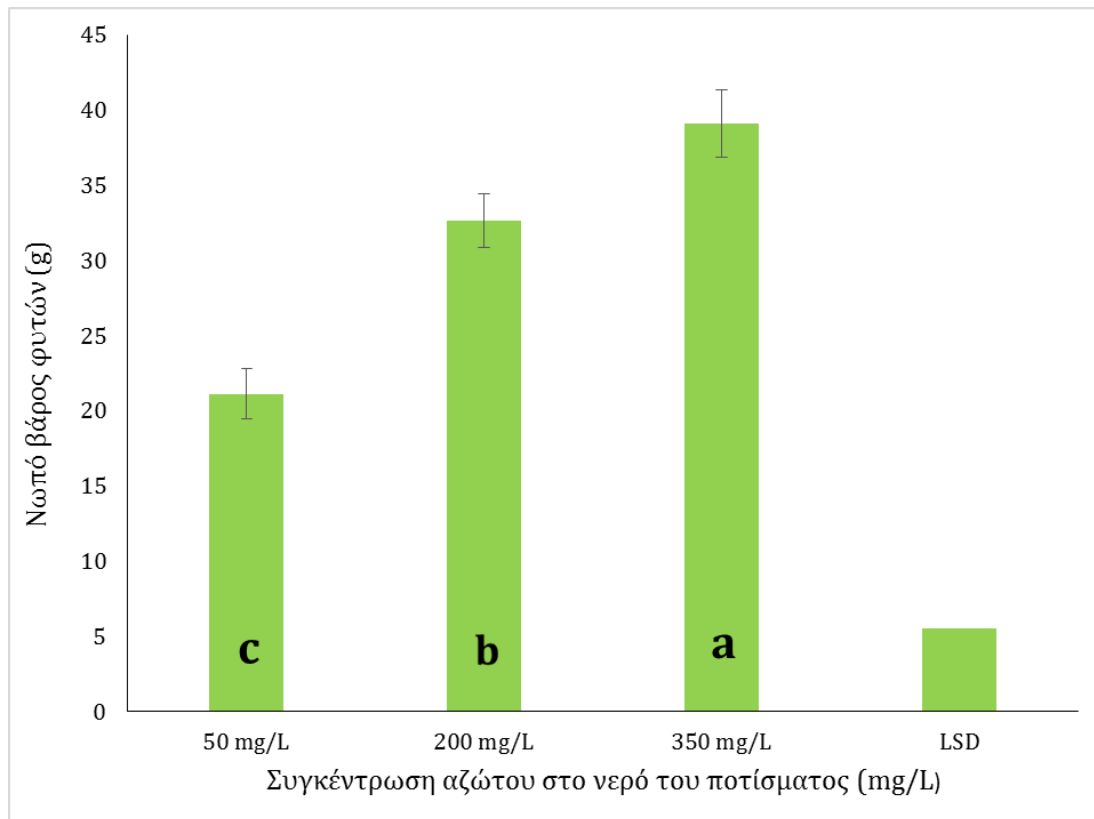
3. Προσδιορισμός ποσοστού αντιοξειδωτική ικανότητας: Σε κυψελίδα του φασματοφωτόμετρου προστίθενται 50 μL εκχυλίσματος από το εκάστοτε δείγμα. Προστίθενται 1950 μL από το διάλυμα των 60 μM του DPPH και σφραγίζεται με πλαστικό φιλμ η κυψελίδα για αποτροπή της εξάτμισης της μεθανόλης. Η κυψελίδα τοποθετείται σε σκοτεινό μέρος για 30 min και σε θερμοκρασία περίπου 25 °C. Μετά την παρέλευση των 30 min μετράται η απορρόφηση του δείγματος σε φασματοφωτόμετρο στα 515 nm. Επιπλέον μετράται και η απορρόφηση του «τυφλού» δείγματος στο ίδιο μήκος κύματος. Το τυφλό δείγμα ήταν διάλυμα 50 μL αιθανόλης και 1950 μL διαλύματος DPPH. Ο μηδενισμός του οργάνου έγινε με καθαρή αιθανόλη.

4.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.3.1 Βάρος φυτών

Στην εικόνα 2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων του βάρους των φυτών του πειράματος. Τα αποτελέσματα αφορούν τους μέσους και τα τυπικά σφάλματα από 10 επαναλήψεις (φυτά) για κάθε μεταχείριση (συγκέντρωση αζώτου στο νερό του ποτίσματος).

Όπως προκύπτει από την ανάλυση της διασποράς (ANOVA) των μετρήσεων του βάρους (παρατίθεται στο παράρτημα της εργασίας), η μεταβολή στην συγκέντρωση του χορηγούμενου αζώτου στο νερό του ποτίσματος, είχε σημαντική επίδραση ($F=22,75$ για 2 και 29 βαθμούς ελευθερίας, $P<0,001$). Το νωπό βάρος των φυτών του σπανακιού αυξήθηκε με την αύξηση της αζωτούχου λίπανσης. Το μέσο βάρος των φυτών που δέχθηκαν την χαμηλή συγκέντρωση αζώτου στο νερό του ποτίσματος (50 mg/L) ήταν $21,13\pm 1,7$ g, ενώ το βάρος των φυτών που δέχθηκαν 200 και 350 mg/L, ήταν $32,64\pm 1,8$ και $39,1\pm 2,2$ g αντίστοιχα. Οι διαφορές αυτές του νωπού βάρους ήταν στατιστικά σημαντικές σύμφωνα με την δοκιμασία της Ελάχιστης Σημαντικής Διαφοράς, για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ ($LSD=5,53$).



Εικόνα 8. Νωπό βάρος των φυτών του σπανακιού που καλλιεργήθηκαν σε μείγμα τύρφης-περλίτη, με τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις αζωτούχου λίπανσης. Οι μέσοι που συνδέονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

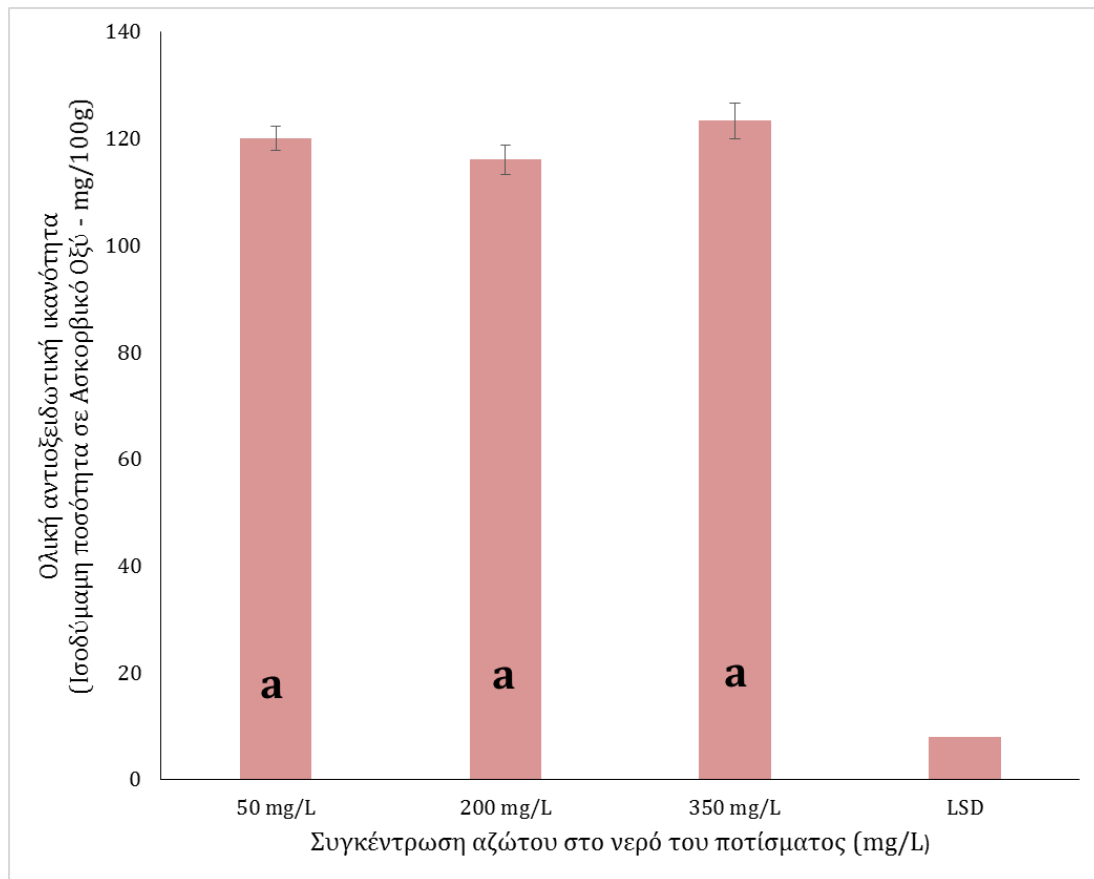


Εικόνα 9. Φυτά σπανακιού τα οποία έχουν ποτιστεί με το διάλυμα, των διαφορετικών συγκεντρώσεων των λιπασμάτων.

4.3.2 Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα (TAC)

Στην εικόνα 4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων της TAC των φυτών του πειράματος. Τα αποτελέσματα αφορούν τους μέσους και τα τυπικά σφάλματα από 25 επαναλήψεις (δείγματα νωπών ιστών) για κάθε μεταχείριση (συγκέντρωση αζώτου στο νερό του ποτίσματος). Η μέση τιμή της TAC, σε ισοδύναμη ποσότητα ασκορβικού οξέος, των φυτών που δέχθηκαν την χαμηλή συγκέντρωση αζώτου στο νερό του ποτίσματος (50 mg/L) ήταν $120 \pm 2,3$ mg/100g v.β., ενώ η TAC των φυτών που δέχθηκαν 200 και 350 mg/L, ήταν αντίστοιχα $116 \pm 2,7$ και $123,3 \pm 3,4$ mg/100g v.β.. Οι τιμές αυτές δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά.

Όπως προκύπτει από την ανάλυση της διασποράς των μετρήσεων της TAC (παρατίθεται στο παράρτημα της εργασίας), η μεταβολή στην χορηγούμενη ποσότητα αζώτου στο νερό του ποτίσματος δεν είχε σημαντική επίδραση στην TAC των φυτών του σπανακιού που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία ($F=1,66$ για 2 και 74 βαθμούς ελευθερίας, $P=0,2$).



Εικόνα 10. Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών του σπανακιού που καλλιεργήθηκαν σε μείγμα τύρφης-περλίτη, με τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις αζωτούχου λίπανσης. Οι μέσοι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους.

4.4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σύμφωνα με τα προηγούμενα εντεθέντα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, η αζωτούχος λίπανση, όπως ήταν αναμενόμενο, είχε σημαντική επίδραση στην αύξηση της βιομάζας των φυτών του σπανακιού. Η αύξηση στην ποσότητα της χορηγούμενης αζωτούχου λίπανσης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του νωπού βάρους των φυτών.

Όσον αφορά όμως την επίδραση της αζωτούχου λίπανσης πάνω στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών του σπανακιού, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι η αύξηση της χορηγούμενης ποσότητας αζώτου στα φυτά του σπανακιού δεν είχε καμία σημαντική επίδραση στην ποσότητα των αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχουν ανά μονάδα νωπού βάρους.

Με άλλα λόγια η επιπλέον η χορήγηση νιτρικής αμμωνίας στα φυτά του σπανακιού, ενώ αύξησε την παραγόμενη βιομάζα τους, δεν είχε σημαντική επίδραση στην αναλογία των περιεχόμενων αντιοξειδωτικών ουσιών που αυτά περιέχουν και κατ' επέκταση δεν είχε θετική επίδραση στην ποιότητα των φυτών αναφορικά με την παράμετρο της περιεκτικότητάς τους σε αντιοξειδωτικά.

Από την άλλη μεριά πρέπει να λάβουμε υπόψη ότι τα σπανάκια συσσωρεύουν εύκολα νιτρικά στους ιστούς τους. Ειδικά όταν η χορηγούμενη αζωτούχος λίπανση είναι αυξημένη, όπως στην περίπτωση της μεταχείρισης με 350 mg/L, η ποσότητα των νιτρικών που συσσωρεύονται στα σπανάκια πολύ εύκολα ξεπερνούν τα ανεκτά όρια (Τσιαντής, 2007). Αυτό έχει άμεση αρνητική επίπτωση στην ποιότητα των φυτών αναφορικά με την καταλληλότητά τους για κατανάλωση.

Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι η χορήγηση αυξημένης ποσότητας αζώτου στα σπανάκια αν και έχει μια θετική επίδραση στην αύξηση του βάρους των φυτών, δεν έχει θετική επίδραση στην ποιότητά τους, καθώς εκτός από την δεδομένη αύξηση στην περιεκτικότητά τους σε νιτρικά, δεν προκαλεί αύξηση της ποσοστιαίας περιεκτικότητας των φυτών σε ολικά αντιοξειδωτικά.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Προέλευση διακύμανσης	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο Τετράγωνο	F (πειράματος)	τιμή-P	κριτήριο F
Συγκεντρώσεις Αζώτου	1654,761	2	827,3803	22,75091	<0,001	3,354131
Πειραματικό σφάλμα	981,9067	27	36,36691			
Σύνολο	2636,667	29				

Πίνακας 4. Πίνακας ανάλυσης της διασποράς των τιμών του βάρους του υπέργειου μέρους των φυτών του σπανακιού για τις τρεις συγκεντρώσεις αζώτου που χρησιμοποιήθηκαν για την λίπανση.

Προέλευση διακύμανσης	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο Τετράγωνο	F (πειράματος)	τιμή-P	κριτήριο F
Συγκεντρώσεις Αζώτου	668,7675	2	334,3838	1,660694	0,197202	3,123907
Πειραματικό σφάλμα	14497,33	72	201,3518			
Σύνολο	15166,1	74				

Πίνακας 5. Πίνακας ανάλυσης της διασποράς των τιμών της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των φυτών του σπανακιού, για τις τρεις συγκεντρώσεις αζώτου που χρησιμοποιήθηκαν για την λίπανση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Πηγές από ιστοσελίδες

<https://www.vita.gr/2008/04/04/diatrofi/eating-healthing/sto-mikroskopio-to-spanaki/?fbclid=IwAR10gfxMxx4ZYk1VVTi0bvFhQTFU0oOsepxwdEaqbS5-emlA0QOT3DCYy5M>

http://www.gaiapedia.gr/gaiapedia/index.php/%CE%A3%CF%80%CE%B1%CE%BD%CE%AC%CE%BA%CE%B9_%CF%86%CF%85%CF%84%CF%8C?fbclid=IwAR0jXs-Py7e6oO5var3PYLNoeKlGr4Vutt9j2ExGuhN48MSYxablAjzdzW4

https://www.c-gaia.gr/news/newscategories/entry/2014-09-05-11-54-35?fbclid=IwAR2EBgmqwpye4QfrLZ0BU38aziyxR_-NnGrIYoVZRBpjqb06WhD8mC8GeXY

<https://eu.docworkspace.com/d/sAEMnNcyb7-dOxoalUjajnFA>

Πηγές από βιβλία

Σάββας Δημήτριος. 2016. Γενική Λαχανακομία. Εκδόσεις Πεδίο.

Χρίστος Μ. Ολύμπιος, 2015. Η τεχνική της καλλιέργειας των υπαίθριων κηπευτικών. Εκδ. Σταμούλης, Αθήνα.

Πηγές από πτυχιακές εργασίες

Λάγουρη, Β., Κρυστάλλη, Φ., Πρασιανάκη, Δ., 2011. Μελέτη των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων και της φαινολικής σύστασης πολικών εκχυλισμάτων ελληνικής πρόπολης. Πτυχιακή εργασία. ΤΕΙ Θεσσαλονίκης, Σχολή Τεχνολόγων Γεωπόνων και Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων.

- Μηνιώτη Α., 2009. Ανάπτυξη νέων μεθόδων προσδιορισμού ολικής αντιοξειδωτικής ενεργότητας και εφαρμογή στο ελαιόλαδο. Διδακτορική Διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Παπαδόπουλος, Α., Μπασιούρας, Σ., Παπαθανασοπούλου, Α., 2010. Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης και φαινολικών ενώσεων σε λευκά κρασιά με την μέθοδο ABTS, DPPH & FOLIN-CIOCALTEU. Πτυχιακή εργασία. ΤΕΙ Θεσσαλονίκης, Σχολή Τεχνολόγων Γεωπόνων και Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων.
- Προεστός Χ., 2005. Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών αρωματικών φυτών. Διδακτορική Διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων.
- Μακρή Αγγελική-Φίλη Γεωργία, 2017. Μελέτη της συσσώρευσης νιτρικών σε φυτά ρόκας σε σχέση με το στάδιο ανάπτυξης τους. Πτυχιακή Μελέτη. ΤΕΙ Ηπείρου, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας & Τεχνολογίας Τροφίμων, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής.
- Βίτσιου Ευαγγελή- Σιατερλή Καλλιόπη, 2019. Μελέτη της επίδρασης της αζωτούχου λίπανσης στην Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα φυτών βασιλικού κατά την εαρινή περίοδο.
- Τζιμπράκου Αμαρίλντ 2019. Μελέτη συσσώρευσης νιτρικών ανάλογα με τα στάδια ανάπτυξης του σπανακιού. Πτυχιακή Μελέτη. ΤΕΙ Ηπείρου, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας & Τεχνολογίας Τροφίμων, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής.
- Αδάμος Δημήτριος – Αλεξιάδης Αλέξανδρος 2018. Μελέτη συσσώρευσης νιτρικών σε νεαρά φυτά σπανακιού σε σχέση με το στάδιο ανάπτυξης τους. Πτυχιακή Μελέτη. ΤΕΙ Ηπείρου, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας & Τεχνολογίας Τροφίμων, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής.
- Blom-Zandstra., M., 1989. Nitrate accumulation in vegetables and its relationship to quality. *Ann. Appl. Biol.* 115: 553-561.
- Τσιαντής, Α., 2007. Η επίδραση στη συσσώρευση νιτρικών στους φυτικούς ιστούς σπανακιού με την χρήση οργανικών και ανόργανων λιπασμάτων σε συνδυασμό με την παρουσία θεικών ανιόντων στο έδαφος. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Δ.Π.Μ.Σ. «Αγροχημεία και Βιολογικές Καλλιέργειες».