



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΙΓΑΙΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

*«In vitro μελέτη λειτουργικών ιδιοτήτων κρίταμου
(Crithmum Maritimum) και μεταποιημένων προϊόντων του»*



ΕΡΜΕΙΔΟΥ ΙΣΜΗΝΗ

A.M. 611/2013027

ΤΑΡΑΣΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

A.M. 611/2013121

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΚΑΡΑΝΤΩΝΗΣ Χ. ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ *Αναπληρωτής Καθηγητής.*

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Καραντώνης Χαράλαμπος

Αναπληρωτής Καθηγητής.

Νασοπούλου Κωνσταντίνα

Λέκτορας Βάσει ΠΔ407/80

Κουτελιδάκης Αντώνιος

Λέκτορας Βάσει ΠΔ407/80

Ευχαριστίες

Θα θέλαμε να εκφράσουμε τις θερμότερες ευχαριστίες μας στον επιβλέπων καθηγητή Κ. Καραντώνη Χαράλαμπο Αναπληρωτή Καθηγητή Χημείας Τροφίμων και Πρόεδρο του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής, για τον χρόνο, την βοήθεια, την καθοδήγηση και την εμπιστοσύνη του, καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων και τις συγγραφές της εργασίας.

Ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ ανήκει στις οικογένειες μας και στους φίλους μας οι οποίοι μοιράστηκαν τις χαρές, τον ενθουσιασμό, τις αγωνίες αλλά και τις απογοητεύσεις μας που επιφύλασσε η διαδικασία περάτωσης της πτυχιακής μας εργασίας, καθώς και για την στήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια .

Επίσης θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τους ανθρώπους που είχαν την ευγενή καλοσύνη να διαθέσουν τον πολύτιμο χρόνο τους για να διαβάσουν την παρούσα πτυχιακή εργασία, η οποία αποτελεί προέκταση για προσφορά πολύτιμων παρατηρήσεων, σχολίων και συμβουλών: την κα .Νασοπούλου Κωνσταντίνα, Καθηγήτρια Τεχνολογίας και Ποιότητας Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης και τον κ. Κουτελιδάκη Αντώνιο, Επίκουρο Λέκτορα Διατροφής του Ανθρώπου.

Τέλος, ευχαριστούμε όλους τους καθηγητές του Πανεπιστημίου μας, που μας μετέφεραν κάποιες από τις γνώσεις και ιδεολογίες τους, τα οποία μας διαμόρφωσαν ως μελλοντικοί επιστήμονες.

Περίληψη

Το κρίταμο είναι ένα βρώσιμο φυτό το οποίο ευδοκίμει σε εδάφη με υψηλή αλατότητα. Ήδη από την αρχαιότητα χρησιμοποιείται στην μαγειρική αλλά και στην φαρμακευτική και η χρήση του τα τελευταία χρόνια γίνεται πιο διαδεδομένη σε διάφορους κλάδους της επιστήμης χάρη στην υψηλή διατροφική του αξία. Βέβαια σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι το κρίταμο είναι μία πολύ καλή πηγή φαινολικών συστατικών, τα οποία όπως γνωρίζουμε από την βιβλιογραφία προάγουν την υγεία του ανθρώπινου οργανισμού και προλαμβάνουν τις καρδιαγγειακές ασθένειες. Καταναλώνονται ως ισχυρή πηγή βιταμινών C, αιθέρων ελαίων και άλλων βιομορίων. Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται σε σαλάτες, σαν τουρσί ή σαν μπαχαρικό. Περιορισμένες είναι προς το παρόν οι μελέτες και τα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με την αντιοξειδωτική και αντιαθηρογόνο δράση του εκχυλίσματος κρίταμου, σε αντίθεση με τις πολυάριθμες έρευνες που έχουν διεξαχθεί στο αιθέριο έλαιο του.

Σκοπό της παρούσας πτυχιακής μελέτης αποτελεί ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής και αντιαθηρογόνου δράσης του κρίταμου ως γλυκό του κουταλιού, τουρσί και νωπού. Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονται από το νησί της Σύρου. Η εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν μέσω των δοκιμασιών DPPH και CUPRAC. Για την εκτίμηση της *in vitro* αντιαθηρογόνου δράσης, μετρήθηκε η αναστολή της οξείδωσης πλάσματος από αίμα ανθρώπου προκαλούμενη από ιόντα Cu^{2+} .

Όλα τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν έδειξαν αντιοξειδωτική και αντιαθηρογόνο δράση, σε διαφορετικές ωστόσο ποσότητες το καθένα.

Λέξεις – Κλειδιά

- *Crithmum Maritimum*
- Εκχύλιση
- Αντιοξειδωτικά – Αντιοξειδωτική δράση
- Αντιθηρογόνος δράση

Abstract

Crithmum Maritimum is an edible plant that thrives in soils with high salinity. Since the ancient times, it has been used in cooking and for medical purposes and its use in recent years has become more widespread in many fields of science thanks to its high nutritional value. Of course, it is important to mention that Sea fennel is a very good source of phenolic components, which as we know from bibliography, promote the health of human and prevent from cardiovascular diseases. It is consumed as a powerful source of vitamins C, essential oils and other biomolecules. Nowadays it is used in salads, as a pickle or as a spice. The studies and bibliographic data on the antioxidant and antiatherogenic activity of the Crithmum M. extract are limited, as opposed to the numerous researches carried out in its essential oil.

The aim of this study is to determine the antioxidant and antiatherogenic action of raw ,jam and pickled sea fennel . For the experiment, the samples that used were grown on Syros island. Initially, DPPH and CUPRAC tests were used for the measurement of the antioxidant activity of samples and then evaluated for in vitro anti-atherogenic activity by measuring the inhibition of oxidation of plasma from human blood induced by Cu²⁺ ions.

All samples used, showed antioxidant and anti-athirogenic activity in different amounts each.

Key Words

- *Crithmum Maritimum*
- Extraction
- Antioxidants- Antioxidant acticity
- Anti-atherogenic activity

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	3
Περίληψη.....	4
Λέξεις-Κλειδιά.....	5
Abstract.....	6
Key Words.....	7
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	10
Εισαγωγή.....	11
Κεφάλαιο 1^ο : Αντιοξειδωτικά,οξειδωτικό στρες και ο ρόλος του στην υγεία.....	13
1.1 Εισαγωγή	13
1.2 Αιτίες και πηγές οξειδωτικού στρες.....	13
1.2.1 Ενδογενείς πηγές.....	13
1.2.2 Εξωγενείς πηγές.....	14
1.3 Επίδραση του οξειδωτικού στρες στην υγεία του ανθρώπου.....	15
1.3.1 Καρδιαγγειακές παθήσεις.....	16
1.4 Αντιοξειδωτικά.....	16
1.4.1 Μηχανισμός Δράσης των Αντιοξειδωτικών.....	16
1.4.2 Καρδιαγγειακά νοσήματα και αντιοξειδωτικά.....	17
1.4.3 Πηγές Αντιοξειδωτικών.....	18
Κεφάλαιο 2^ο : Το Κρίταμο.....	20
2.1 Ιστορικά στοιχεία.....	20
2.2 Προοπτικές για την ανάπτυξη της καλλιέργειας του κρίταμου.....	20
2.3 .Παραγωγή κρίταμου.....	21
2.4 Ονομασίες.....	22
2.4.1 Επιστημονική Ονομασία.....	22
2.4.2 Οικογένεια.....	22
2.4.3 Ονομασίες στις κυριότερες γλώσσες.....	22
2.5 Βοτανολογικά Χαρακτηριστικά.....	22
2.5.1 Βοτανολογική ταξινόμηση.....	22
2.5.2 Μορφολογικά Χαρακτηριστικά.....	23

2.5.3 Γονιμοποίηση.....	24
2.5.4 Αγρο-οικολογία.....	24
2.6 Οι χρήσεις του φυτού.....	25
2.6.1 Διατροφική.....	25
2.6.2 Θεραπευτική.....	25
Κεφάλαιο 3^ο : Σύσταση του φυτού του κρίταμου και του αιθέριου ελαίου.....	27
3.1 Σύσταση του φυτού κρίταμου.....	27
3.1.1 Φαινολικές ενώσεις.....	28
3.1.2 Πτητικές ενώσεις.....	29
3.1.3 Λιπίδια.....	33
3.1.4 Ανόργανα Συστατικά	34
3.2 Αιθέριο έλαιο κρίταμου.....	34
3.2.1 Λιπίδια αιθέριου ελαίου κρίταμου.....	34
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	35
Κεφάλαιο 4^ο : Μεθοδολογία.....	36
4.1 Σκοπός.....	36
4.2 Προετοιμασία δειγμάτων.....	36
4.3 Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης.....	37
4.3.1 Δοκιμασία της σταθερής ελεύθερης ρίζας 1,1- διφαινύλο-2-πικρυλο-υδραζύλιο (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH).....	37
4.3.2 Δοκιμασία CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity).....	40
4.4 Εκτίμηση της αντιαθηρογόνου δράσης των δειγμάτων μέσω αναστολής της In vitro οξειδωσης πλάσματος αίματος από ιόντα Cu²⁺	43
Κεφάλαιο 5^ο : Αποτελέσματα και Συζήτηση.....	47
5.1 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων μέσω της δοκιμασίας DPPH.....	50
5.2 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων μέσω της δοκιμασίας CUPRAC.....	52
5.3 Εκτίμηση της αντιαθηρογόνου δράσης των δειγμάτων , μέσω αναστολής της in vitro οξειδωσης πλάσματος αίματος από ιόντα Cu²⁺	52
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	54
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	55

Θεωρητικό Μέρος

Εισαγωγή

Από τα αρχαία ακόμη χρόνια ο άνθρωπος είχε καταλάβει την αξία της διατροφής και πώς αυτή επηρεάζει την υγεία και ευεξία του. Όπως χαρακτηριστικά αναφέρει ο Ιπποκράτης, πατέρας της Ιατρικής, τον 4^ο αιώνα π.Χ. :

“Η τροφή σου ας γίνει το φάρμακό σου και το φάρμακό σου ας γίνει η τροφή σου”

Οι συστάσεις για τη δημόσια υγεία συνεχίζουν να παρέχουν καθοδήγηση για υγιεινά διατροφικά πρότυπα που συμβάλουν στην βελτίωση της υγείας και στην ελαχιστοποίηση του κινδύνου για χρόνια νοσήματα. (Lichtenstein A., Carson J et al., 2014). Οι προστατευτικοί μηχανισμοί των φρούτων και λαχανικών σχετίζονται με γνωστές βιοδραστικότητες όπως η αντιοξειδωτική, η αντιφλεγμονώδης, η δράση ηλεκτρολυτών καθώς και με λειτουργικές ιδιότητες, όπως το χαμηλό γλυκαιμικό φορτίο. (Alissa, E.M., Ferns, G.A. 2017).

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι τα φρούτα και τα λαχανικά είναι σημαντικά συστατικά μιας υγιεινής διατροφής και ότι η κατανάλωσή τους βοηθά στην πρόληψη ενός ευρέως φάσματος ασθενειών. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι άτομα που υιοθετούν διατροφή με υψηλή κατανάλωση φρούτων και λαχανικών έχουν χαμηλότερη επικινδυνότητα εμφάνισης διάφορων τύπων καρκίνου, καρδιαγγειακής νόσου (CVD) και εγκεφαλικών επεισοδίων συγκριτικά με άτομα που ακολουθούν διατροφή χαμηλή σε κατανάλωση φρούτων και λαχανικών (Agudo, A., Cabrera, L., Amiano, P., et al., 2007).

Έχουν γίνει προσπάθειες για τον προσδιορισμό των παραγόντων που είναι υπεύθυνοι για τις θετικές ενδείξεις στην παθοφυσιολογία πολλών χρόνιων ασθενειών. Η πιο δημοφιλής εξήγηση είναι οι αντιοξειδωτικές ουσίες, συμπεριλαμβανομένων των βιταμινών C και E, των καροτενοειδών (π.χ. β-καροτένιο, λυκοπένιο και λουτεΐνη), του σεληνίου και των φλαβονοειδών (π.χ. κερκετίνη, καμπφερόλη, μυρικετίνη, λουτεολίνη και απιγενίνη) (Stanner SA., Hughes J., et al., 2003).

Ένα υγιές διατροφικό πρότυπο αποτελεί δομικό λίθο για την πρόληψη και θεραπεία της καρδιαγγειακής νόσου. Υπάρχουν επιστημονικά δεδομένα που δείχνουν ότι μεμονωμένα τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων βοτάνων μπαχαρικών και

αφεψημάτων, περιέχουν θρεπτικά και βιοενεργά συστατικά που επιδρούν στην υγεία του ανθρώπου επηρεάζοντας την εμφάνιση χρόνιων ασθενειών, επιδρώντας σε συσχετιζόμενους με αυτές παράγοντες κινδύνου (Sikand G, Kris-Etherton P. et al., 2015). Ειδικότερα, η Μεσογειακή διατροφή με πρόσληψη ακόρεστου λίπους, υδατανθράκων με χαμηλό γλυκαιμικό δείκτη, υψηλή περιεκτικότητα σε διαιτητικές ίνες, αντιοξειδωτικά και αντιφλεγμονώδεις ενώσεις αποτελεί ένα διαιτητικό προφίλ που μειώνει την επικινδυνότητα για ανάπτυξη ορισμένων παθήσεων όπως η καρδιαγγειακή νόσος (Renna M., Rinaldi V., Gonnella M. 2015).

Το κρίταμο είναι ένα άγριο-αλόφιλο φυτό που αναπτύσσεται σε θαλάσσιους βράχους κατά μήκος της Μεσογείου και των ακτών της Ατλαντικής θάλασσας. Χρησιμοποιείται παραδοσιακά σε χώρες όπως η Ελλάδα ή η Ιταλία ως συστατικό σε σαλάτες, σούπες, σάλτσες, σαν τουρσί ή μπαχαρικό (Pereira C, Barreira L. Et al., 2017). Επίσης, το φυτό είναι βρώσιμο και καταναλώνεται στην παραδοσιακή διατροφή των πρώτων αγροτών ως ισχυρή πηγή μετάλλων, βιταμίνης C, αιθέριων ελαίων και άλλων βιομορίων. Ο καρπός του κρίταμου είναι πλούσιος σε λιπίδια περίπου 44% επί ξηρού βάρους με κυριότερο το ελαϊκό οξύ (78,6% των συνολικών λιπαρών οξέων). (Atia A., Barhoumi Z. et al., 2011)

Από μελέτες έχει αποδειχθεί ότι το κρίταμο είναι πλούσιο σε μη πτητικές ενώσεις όπως το ασκορβικό οξύ, τα καροτενοειδή, τα φλαβονοειδή και γενικά σε βιοδραστικά συστατικά, τα οποία θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σαν αρωματικά, αντιμικροβιακά και εντομοκτόνα. Ακόμα, είναι γνωστό ότι το κρίταμο είναι πολύ καλή πηγή φαινολικών συστατικών, τα οποία είναι γνωστό ότι έχουν θετική επίδραση στην υγεία και διαθέτουν πολλές βιολογικές δραστηριότητες όπως αντιοξειδωτικές, αντικαρκινογόνες, αντιμικροβιακές και αντιμεταλλαξιογόνες. (Siracusa L., Kulisic-Bilusic T. et al., 2011). Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει ότι ένα ευρύ φάσμα τέτοιων ενώσεων εισέρχεται στην κυκλοφορία και στο πλάσμα του αίματος και στη συνέχεια εκκρίνεται στα ούρα. Η παρουσία τους στο πλάσμα είναι παροδική, παρόλο που ένας σύντομος χρόνος ημιζωής δεν αποκλείει ότι αυτές οι ενώσεις παίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόσληψη ασθενειών. (Morton L., Cacceta R. Et al., 2000)

Κεφάλαιο 1^ο : Αντιοξειδωτικά, οξειδωτικό στρες και ο ρόλος τους στην υγεία.

1.1. Εισαγωγή

Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή μόρια με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species; ROS) και οι δραστικές μορφές αζώτου (Reactive Nitrogen Species; RNS) είναι προϊόντα του φυσιολογικού μεταβολισμού. Οι ROS και RNS είναι γνωστές για το διττό ρόλο τους κατέχοντας τόσο επιβλαβή όσο και ωφέλιμο ρόλο.

Ευεργετικές επιδράσεις των ROS συμβαίνουν σε χαμηλές σχετικά συγκεντρώσεις και βοηθούν στην άμυνα του οργανισμού ενάντια μολυσματικών παραγόντων, καθώς και στην επαγωγή μιας μιτογόνου απόκρισης. Η βλαβερή επίδραση των ελευθέρων ριζών που προκαλεί πιθανές βιολογικές βλάβες ονομάζεται οξειδωτικό στρες ή οξειδωτική καταπόνηση. Αυτό συμβαίνει σε βιολογικά συστήματα όταν υπάρχει μια υπερπαραγωγή ROS/RNS και ανεπάρκεια από ενζυμικά και μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά. Έτσι προκαλείται μια διαταραχή στην κατάσταση ισορροπίας οξειδωτικών/ αντιοξειδωτικών αντιδράσεων. Η περίσσεια ROS μπορεί να βλάψει τα κυτταρικά λιπίδια, πρωτεΐνες, ή DNA αναστέλλοντας την κανονική τους λειτουργία. Εξαιτίας αυτού, το οξειδωτικό στρες έχει εμπλακεί σε έναν αριθμό ασθενειών του ανθρώπου (Valko M., Leibfritz D. et al., 2007). Έχουν μια σημαντική συμβολή στην γήρανση και σε εκφυλιστικές ασθένειες της γήρανσης, όπως ο καρκίνος, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, πτώση του ανοσοποιητικού συστήματος, δυσλειτουργία του εγκεφάλου καταρράκτη και άλλα (Ames B., Shigenaga M., Hagen T. 1993).

1.2 Αιτίες και πηγές οξειδωτικού στρες

Οι ελεύθερες ρίζες παράγονται ενδοκυτταρικός ως αποτέλεσμα του μεταβολισμού από διάφορα ένζυμα ή άλλα βιομόρια στα μιτοχόνδρια ή σε άλλα σημεία του κυττάρου. Η υπερπαραγωγή ελευθέρων ριζών οδηγούν σε μία αλυσίδα αντιδράσεων στον ανθρώπινο οργανισμό (οξειδωση της κυτταροπλασματικής μεμβράνης) που είναι γνωστή ως οξειδωση. Οι οξειδώσεις που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες στα κυτταρικά συστατικά προκαλούν υπολειτουργία των κυττάρων, η οποία είναι πιθανό να οδηγήσει στον κυτταρικό θάνατο. Δύναται να δρουν καταστροφικά ενάντια σε βιολογικά

κυτταρικά μακρομόρια (DNA, λιπίδια) και με βάση αυτά η επιστημονική κοινότητα θεωρεί το οξειδωτικό στρες ως ένα καταλυτικό παράγοντα για την εμφάνιση πληθώρας εκφυλιστικών ασθενειών (Benzie I.F.F., Choi, S.W., 2014).

1.2.1 Ενδογενείς πηγές

Οι ενδογενείς πηγές του οξειδωτικού στρες φαίνεται να είναι οι παρακάτω 4:

- i)** Ως συνέπεια της κανονικής αερόβιας αναπνοής, τα μιτοχόνδρια καταναλώνουν το O_2 , μειώνοντάς το σιγά σιγά προκειμένου να παραχθεί H_2O . Αναπόφευκτα προϊόντα αυτής της διαδικασίας είναι O_2^- , το υπεροξειδίο του υδρογόνου και η ρίζα υδροξυλίου.
- ii)** Τα φαγοκύτταρα καταστρέφουν βακτήρια ή κύτταρα μολυσμένα από ιό χρησιμοποιώντας μονοξειδίο του αζώτου (NO), O_2^- , H_2O_2 και OCl $^-$. Χρόνιες μολύνσεις από ιούς, βακτήρια ή παράσιτα έχουν αποτέλεσμα χρόνια φαγοκυτταρική δραστηριότητα και ως συνέπεια χρόνια φλεγμονή, που είναι ο βασικός παράγοντας κινδύνου του καρκίνου. Μολύνσεις τέτοιου τύπου είναι διαδεδομένες στις χώρες του τρίτου κόσμου.
- iii)** Τα υπεροξεισωμάτια είναι οργανίδια υπεύθυνα για την αποδόμηση λιπαρών οξέων και άλλων μορίων, και παράγουν υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) ως υπό-προϊόν, το οποίο στη συνέχεια αποδομείται από καταλάση. Έρευνες έχουν δείξει ότι σε συγκεκριμένες συνθήκες, ποσότητα υπεροξειδίου του υδρογόνου δραπετεύει από την αποδόμηση και προκαλεί βλάβη στο DNA.
- iv)** Τα ένζυμα του κυτοχρώματος P450 αποτελούν ένα από τα πρωτογενή συστήματα άμυνας των ζώων κατά των φυσικών τοξικών χημικών από τα φυτά, την κύρια πηγή διαιτητικών τοξινών. Όμως υπάρχουν φάρμακα που επάγουν αυτά τα ένζυμα αποτρέπουν οξείες τοξικές επιδράσεις από ξένες χημικές ουσίες, αλλά επίσης οδηγούν σε οξειδωτικά υπό-προϊόντα που προκαλούν βλάβες στο DNA (Benzie I.F.F., Choi, S.W., 2014).

1.2.2 Εξωγενείς πηγές

Εκτός από τις διεργασίες του ίδιου του οργανισμού, υπάρχουν και εξωτερικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ενδογενή οξείδωση, όπως :

- i)** Τα οξείδια του αζώτου στον καπνό του τσιγάρου αποτελούν αιτία οξείδωσης μακρομορίων και προκαλούν καταστροφή αντιοξειδωτικών. Για αυτό το λόγο το κάπνισμα είναι παράγοντας επικινδυνότητας για ανάπτυξη καρκίνων ή ασθενειών του καρδιαγγειακού συστήματος.

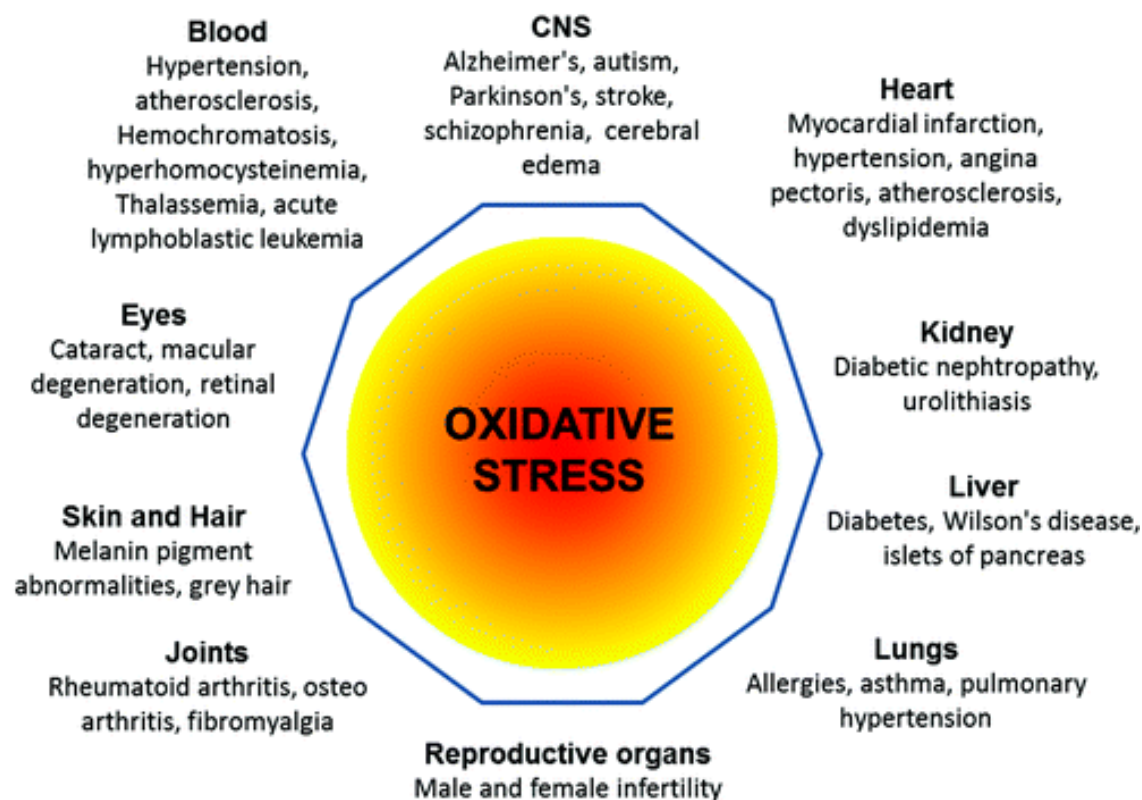
ii) Τα άλατα σιδήρου και χαλκού προκαλούν παραγωγή οξειδωτικών ριζών από υπεροξείδια. Επομένως, δίαιτες με υπερβολικά επίπεδα χαλκού και σιδήρου, μπορούν να προκαλέσουν καρδιαγγειακή νόσο και καρκίνο σε φυσιολογικά άτομα.

iii) Δίαιτες που περιέχουν τρόφιμα με μεγάλες ποσότητες φαινολών, όπως χλωρογενικό και καφεϊκό οξύ μπορούν να δημιουργήσουν δραστικές μορφές οξυγόνου μέσω οξειδοαναγωγής (Ames B., Shigenaga M., Hagen T. 1993).

iv) Οι σημαντικότεροι παράγοντες που οδηγούν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών είναι η έκθεση του κυττάρου σε υπεριώδη ακτινοβολία, σε χημικές ουσίες και σε στρεσογόνους παράγοντες κ.α. (Κουτελιδάκης Α. 2015).

1.3 Επίδραση του οξειδωτικού στρες στην υγεία του ανθρώπου

Υπάρχουν πληθώρα αποτελέσματα ερευνών που αποδεικνύουν ότι το οξειδωτικό στρες επηρεάζει όλες τις πτυχές της ανθρώπινης ζωής. Αυτό περιλαμβάνει όλα τα όργανα και τα συστήματά τους. Υπάρχουν επίσης πολλές άλλες ασθένειες, οι οποίες είτε επάγονται από το οξειδωτικό στρες ή στα οποία οι ROS/RNS παίζουν ένα ρόλο στην εξέλιξη της νόσου.



Εικόνα 1.1: Παθήσεις που προκαλούνται από το οξειδωτικό στρες

Το οξειδωτικό στρες έχει συσχετιστεί με αθηροσκλήρωση, αλτσχάιμερ (Alzheimer), αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση, άσθμα, αυτισμό, βλάβες στον εγκέφαλο, διαβήτη, καρκίνο, καταράχτη, πάρκινσον (Parkinson), ρευματοειδή αρθρίτιδα, σύνδρομο Down κ.α. (Hepel M., Andreescu S.,2015)

1.3.1 Καρδιαγγειακές παθήσεις

Το οξειδωτικό στρες σε καρδιαγγειακά κύτταρα έχει συνδεθεί με βλάβες του ιστού. Συγκεκριμένα παίζει ρόλο σε διάφορες καρδιαγγειακές παθήσεις όπως αθηροσκλήρωση, ισχαιμική καρδιακή νόσος, υπέρταση, καρδιομυοπάθειες, καρδιακή υπερτροφία και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια (Pham-Huy L., He H., Pham-Huy C. 2008). Τα καρδιοαγγειακά νοσήματα σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας εκτιμάται ότι αντιπροσώπευαν στις περισσότερες αναπτυγμένες χώρες και σε πολλές αναπτυσσόμενες, αποτελούν τον κύριο όγκο τόσο της θνησιμότητας όσο και της νοσηρότητας των ανθρώπων το 2010. (Horotn R. 2010)

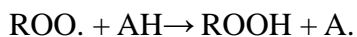
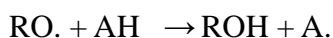
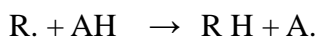
1.4 Αντιοξειδωτικά

Τα αντιοξειδωτικά μειώνουν κατά κύριο λόγο το οξειδωτικό στρες. Υπάρχουν ενδογενή και εξωγενή αντιοξειδωτικά. Τα ενδογενή αντιοξειδωτικά παράγονται μόνα τους από τα ζωντανά κύτταρα του οργανισμού και αποτελούν αναπόσπαστο μέρος του αμυντικού συστήματος του ανθρώπινου οργανισμού. Υπάρχουν διάφορα ένζυμα που αντιπροσωπεύουν αυτή τη κατηγορία αντιοξειδωτικών, όπως η υπεροξειδική δισμουτάση, η καταλάση, η υπεροξειδάση αλλά και αντιπροσωπευτικές αντιοξειδωτικές ουσίες όπως η βιταμίνη E, το ουρικό οξύ και οι αλβουμίνες ορού. Επιπλέον, η κατανάλωση εξωγενών ή διαιτητικών αντιοξειδωτικών συμβάλει σημαντικά στην καταπολέμηση του οξειδωτικού στρες και πολλών ασθενειών. (Das S., Mitra I., Batuta S. et al., 2014)

1.4.1 Μηχανισμός Δράσης των Αντιοξειδωτικών

Ο σημαντικότερος μηχανισμός που εξηγεί τη συνεισφορά των αντιοξειδωτικών στην ενίσχυση της αντιοξειδωτικής άμυνας του κυττάρου αφορά τη δυνατότητα τους να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες καθιστώντας αυτές ανενεργές. Ουσιαστικά λειτουργούν ως ισχυροί αναγωγικοί παράγοντες που αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες δίνοντας

άλλες αδρανείς ρίζες, οι οποίες σταθεροποιούνται μέσω συντονισμού, λόγω του ακόρεστου συζυγιακού συστήματος, όπως φαίνεται παρακάτω:



Όπου R=λιπαρή αλυσίδα και A=ρίζα, η οποία όμως είναι σταθερή λόγω του συντονισμού της δομής της (Κουτελιδάκης Α. 2015).

1.4.2 Καρδιαγγειακά νοσήματα και αντιοξειδωτικά

Τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερες επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν μία ξεκάθαρα αντίστροφη σχέση ανάμεσα στην κατανάλωση τροφίμων πλούσιων σε φυτοχημικά αντιοξειδωτικά και στην εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων.

Οι μηχανισμοί επίδρασης των πολυφαινολών σε τέτοιες παθήσεις βασίζονται στην αποτροπή της οξειδωσης της LDL, τη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, την αναστολή της αθηρωματικής και της φλεγμονώδους διαδικασίας, την επίδραση στα λιπίδια του αίματος και την αποτροπή συσσωμάτωσης αιμοπεταλίων. Ο σημαντικότερος ρόλος των φαινολικών στη πρόσληψη καρδιαγγειακών παθήσεων έγκειται στην αντιοξειδωτική τους δράση στα ενδοθηλιακά κύτταρα, δεδομένου ότι οι καταστροφικές επιπτώσεις των ελεύθερων ριζών αποτελούν προωθητικό παράγοντα της αθηροσκλήρυνσης.

Πληθώρα επιστημονικών μελετών *in vivo* και *in vitro* έχουν καταλήξει σε ασφαλή συμπεράσματα που καταδεικνύουν συγκεκριμένους μηχανισμούς δράσης των φαινολικών ενώσεων κατά της οξειδωσης της LDL. Από τους μηχανισμούς αυτούς οι κυριότεροι είναι οι παρακάτω:

1. Δεσμεύουν και σταθεροποιούν τις ελεύθερες ρίζες, μέσω προσφοράς ενός ατόμου H από το OH⁻ στην αρνητικά φορτισμένη ρίζα.
2. Δρουν ως παράγοντες συμπλοκοποίησης, δεσμεύοντας ιόντα όπως ο χαλκός και ο σίδηρος, τα οποία μπορούν να οδηγήσουν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών.

3. Αποτρέπουν την οξειδωση της βιταμίνης E και των καρποτενοειδών εντός της LDL προστατεύοντας από την οξειδωση.

4. Διατηρούν ή αυξάνουν τη δραστικότητα της παραοξονάσης (POX), ενός ενδογενούς ενζύμου της LDL, προωθώντας την υδρόλυση των λιποειδικών υπεροξειδίων από τα οποία προκύπτουν οι ελεύθερες ρίζες.

5. Βελτιώνουν την ενδοκυτταρική ισορροπία μειώνοντας την παραγωγή O₂ και υπεροξειδίου και αυξάνοντας τα επίπεδα εσωτερικών αντιοξειδωτικών ενζύμων (υπεροξειδάση, γλουταθειόνη).

Ένας άλλος μηχανισμός δράσης των φαινολικών αντιοξειδωτικών στην πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων, αφορά την βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας μέσω προαγωγής της αγγειοδιαστολής. Τα φαινολικά αντιοξειδωτικά φαίνεται ότι επιδρούν και στο μηχανισμό της αιμόστασης, μειώνοντας την πιθανότητα θρομβογένεσης. Ακόμα, πολλές μελέτες συμπεραίνουν ότι τα φαινολικά συστατικά πιθανών να επηρεάζουν την απορρόφηση και το μεταβολισμό της χοληστερόλης, μειώνοντας τη συγκέντρωσή της στο αίμα (Κουτελιδάκης Α. 2015).

1.4.3. Πηγές Αντιοξειδωτικών

Ο ανθρώπινος οργανισμός έχει αρκετούς μηχανισμούς που τον βοηθά στην καταπολέμηση του οξειδωτικού στρες. Ένας από αυτούς είναι τα αντιοξειδωτικά τα οποία είτε υπάρχουν ενδογενώς (ενζυμικά –μη ενζυμικά), είτε τα προσλαμβάνει μέσω της διατροφής. Τα αντιοξειδωτικά από τη διατροφή παίζουν σημαντικό ρόλο αφού πολλές φορές δεν παράγονται από τον ίδιο τον οργανισμό και συγχρόνως βοηθούν τη δράση των ενδογενών αντιοξειδωτικών.

Βιταμίνη E: Λιποδιαλυτή βιταμίνη με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση που βρίσκεται σε έλαια λαχανικών, σε σπόρους, κρέατα, ψάρια, φρούτα και λαχανικά. Από τα οκτώ στεροϊσομερή, η α-τοκοφερόλη είναι η πιο βιοενεργή μορφή στον άνθρωπο. Προστατεύει τις κυτταρικές μεμβράνες από βλάβες των ελευθέρων ριζών και από την υπεροξειδωση των λιπιδίων.

Σελήνιο: Είναι ιχνοστοιχείο που βρίσκεται σε θαλασσινά ,οστρακοειδή ,κρέας λαχανικά και σιτηρά ολικής. Αποτελεί την ενεργό θέση αρκετών αντιοξειδωτικών ενζύμων και δρά προστατευτικά για την βιταμίνη E.

β-καροτένιο: Ανήκει στα καροτενοειδή τα οποία είναι προβιταμίνες της βιταμίνης A και έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και συναντάται σε πολλά φρούτα , σπόρους ,λάδι και λαχανικά (καρότα,πράσινα λαχανικά όπως σπανακι).

Λυκοπένιο: Ανήκει στην οικογένεια των καροτενοειδών και έχει βρεθεί ότι μειώνει τη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Κύρια πηγή θεωρείται η τομάτα.

Βιταμίνη C: Υδατοδιαλυτή βιταμίνη που βρίσκεται σε όξινα φρούτα, πράσινα λαχανικά και τομάτες. Έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες και αυξάνει την απορρόφηση του σιδήρου.

ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα: Είναι πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που ο οργανισμός δεν δύναται να τα συνθέσει από μόνος του. Τα ω-3 βρίσκονται σε λιπαρά ψάρια, λιναρόσπορο και καρύδια ενώ τα ω-6 σε λαχανικά, έλαια, ξηρούς καρπούς, δημητριακά, αυγά και πουλερικά (Pham-Huy L. ,He H et al.,2008).

Φλαβονοειδή: Είναι πολυφαινολικές ενώσεις που υπάρχουν στα περισσότερα φυτά. Πάνω από 4.000 φλαβονοειδή έχουν εντοπιστεί και ταξινομούνται σε: φλαβονόλες, φλαβανόνες, φλαβόνες, ισοφλαβόνες, κατεχίνες, ανθοκυανίνες και προανθοκυανιδίνες. Χαρακτηρίζονται για την ισχυρή αντιοξειδωτική φράση. Φλαβονοειδή περιέχονται στα: πράσινο τσάι, σταφύλια, μήλο, κακάο, σόγια, κουρκουμά, μούρα, κρεμμύδι, μπρόκολο κ.α.

Κεφάλαιο 2^ο : Το Κρίταμο

2.1 Ιστορικά στοιχεία

Το κρίταμο ή κρίθαμο είναι ένα πανάρχαιο και πολύτιμο συστατικό της διατροφής των παράλιων λαών της Μεσογείου. Η επιστημονική ονομασία του είναι *Crithmum maritimum* της οικογένειας *Apiaceae*. Συγκεκριμένα, το όνομα του φυτού είναι ελληνικής προελεύσεως και οφείλεται στην ομοιότητα του καρπού που παράγει με αυτό του φυτού *Hordeum vulgare* (*Poaceae*), δηλαδή του κριθαριού (κριθάρι → *crithmum*), ενώ η λέξη *maritimum* είναι λατινικής προελεύσεως και δηλώνει ότι ευδοκμεί σε παραθαλάσσιες περιοχές. Βέβαια, είναι γνωστό και με τα κοινά ονόματα κρίταμο, κρίθμο, κρίθαμο, ακρίθαμος, αρμύρα και τσίμπαλα. Γεγονός αποτελεί, ότι χαρακτηρίζεται από την αρχαιότητα για τις θεραπευτικές του ιδιότητες αλλά και για την ιδιαίτερη χαρακτηριστική του γεύση. Συγκεκριμένα, ο Διοσκουρίδης και ο Πλίνιος είχαν σε μεγάλη εκτίμηση το Κρίταμο, που περιέχει αιθέρια έλαια, μεταλλικά άλατα, ιώδιο και βιταμίνες. Από την εποχή του Ιπποκράτη, το κρίταμο θεωρείται ένα από τα πιο σημαντικά φάρμακα και μέχρι σήμερα χρησιμοποιείται για τις διουρητικές και αποτοξινωτικές του ιδιότητες.

Οι ναυτικοί σε παλαιότερες εποχές το είχαν μαζί τους για να καταπολεμούν το σκορβούτο αφού η περιεκτικότητά του σε βιταμίνη C είναι μεγάλη. Το φυτό αυτό αποτελεί το μοναδικό είδος του γένους και κατατάσσεται στα αλόφιλα, διότι ευδοκμεί σε εδάφη με υψηλή αλατότητα, γι' αυτό τα πιθανά μέρη όπου το συναντάμε είναι κυρίως παραθαλάσσια και αμμουδερά (σε μεγάλες αμμώδεις εκτάσεις, στα γλαρονήσια και στις κοιλάτες των απόκρημων βράχων της Ελλάδος) (Ventura¹ Y., Eshel² A. et al., 2014).

2.2. Προοπτικές για την ανάπτυξη της καλλιέργειας του Κρίταμου

Τα αποτελέσματα των ερευνών δείχνουν ότι το *C.maritimum* αποτελεί ένα φυτικό είδος που μπορεί να αξιοποιηθεί τόσο στην βιομηχανία τροφίμων όσο και στην παρασκευή φαρμακευτικών, καλλυντικών και αρωματικών σκευασμάτων. Την τελευταία δεκαετία κυρίως πολιορκεί το επιστημονικό ενδιαφέρον των δερματολόγων και των επιστημών υγείας που ασχολούνται με καλλυντικά του δέρματος. Λόγω της σύστασής τους, εκχυλίσματα και αιθέριο έλαιο του κρίταμου χρησιμοποιούνται στην

κοσμητολογία. Κυρίως περιλαμβάνονται σε σκευάσματα που στοχεύουν στην προστασία του δέρματος. Τα αιθέρια έλαια και τα εκχυλίσματα παρέχουν αντισηπτική και αντιφλεγμονώδη δράση. Οι βιοενεργές τους ουσίες ενεργοποιούν την πρωτεϊνική σύνθεση των συνδετικών ιστών, όπως κολλαγόνο και ελαστίνη με αποτέλεσμα την βελτίωση του τόνου και της ελαστικότητας του δέρματος. Παίζουν ρόλο στη διέγερση του μηχανισμού επούλωσης του δέρματος και βοηθούν στη ρύθμιση της παραγωγής κερατίνης, προσφέροντας λάμψη στην επιδερμίδα και βελτιώνοντας τον τόνο της επιδερμίδας (Λάζαρη Δ., Τσιφτσόγλου Ο., Μαλούπα Ε. 2015).

2.3 Παραγωγή κρίταμου



Εικόνα 2.1: Περιοχές εξάπλωσης κρίταμου

Αναπτύσσεται στις χώρες :

ΑΦΡΙΚΗΣ : Αίγυπτος, Αλγερία, Λιβύη, Μαρόκο, Τυνησία

ΑΣΙΑΣ : Γεωργία, Ισραήλ, Λίβανο, Συρία, Τουρκία

ΕΥΡΩΠΗΣ: Αλβανία, Βέλγιο, Βουλγαρία, Γαλλία, Ελλάδα, Ηνωμένο Βασίλειο, Ισπανία, Ιταλία, Κροατία, Κύπρο, Μαυροβούνιο, Ουκρανία, Πορτογαλία, Ρουμανία, Σλοβακία.

Ενώ συστηματικές καλλιέργειες υπάρχουν σε Γαλλία, Η.Π.Α. και Ιταλία.

Πρόκειται για ένα εδώδιμο άγριο φυτό που αυτοφύεται σε παραθαλάσσιες περιοχές της Ευρώπης όπως σε χώρες της Μεσογείου και των δυτικών ακτών της Ευρώπης όπως η Ελλάδα και οι Κανάριοι Νήσοι αντίστοιχα, στις νότιες και δυτικές ακτές της Μεγάλης Βρετανίας και της Ιρλανδίας, στη Βόρεια Αφρική και στη Μαύρη Θάλασσα (Pateira L., Nogueira T. et al., 1999).

2.4 Ονομασίες (Βάση δεδομένων; ΒΔ1)

2.4.1 Επιστημονική ονομασία:

Crithmum maritimum L.

2.4.2 Οικογένεια:

Ανήκει στην οικογένεια *Apiaceae* (alt *Umbelliferae*)

2.4.3 Ονομασίες στις κυριότερες γλώσσες:

Αγγλικά: *rock samphire, samphire, sea-fennel*

Γαλλικά: *fenouil marin*

Γερμανικά: *Meerfenchel*

Ισπανικά: *hinojo marino*

Σουηδικά: *saltmärke*

Πορτογαλικά: *funcho-do-mar*

2.5 Βοτανολογικά χαρακτηριστικά

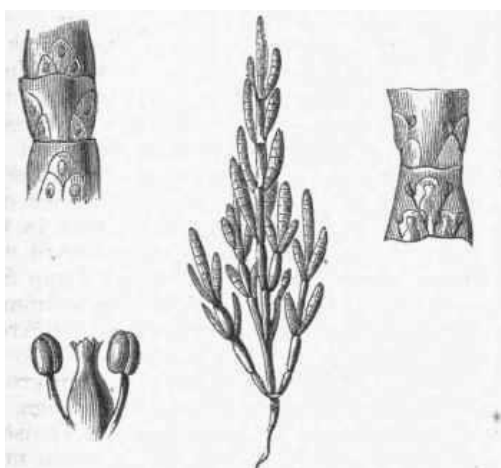
2.5.1 Βοτανική ταξινόμηση

Το κρίταμο ανήκει στην ομάδα φυτών *Magnoliopsida*. Είναι της τάξης του *Apiales*. Αυτός ο πολυετής-ποώδης θάμνος αποτελεί το μοναδικό είδος του γένους *Crithmum* που κατατάσσεται στα αλόφυλα.

CLASSIFICATION	
Kingdom	Plantae
Subkingdom	Viridaeplantae
Infrakingdom	Streptophyta
Pylum	Tracheophyta
Subdivision	Spermatophytina
Class	Magnoliopsida
Superorder	Astreranae
Order	Apiales
Family	Apiaceae
Genus	Crithnnum
Species	<i>Crithnnum maritimum</i> Linnaeus

Εικόνα 2.2: Ταξινόμηση του φυτού Κρίταμου (BΔ2)

2.5.2 Μορφολογικά χαρακτηριστικά



Εικόνα 2.3: Το άνθος του Κρίταμου (BΔ4)

Είναι μικρό πολυετές-ποώδες φυτό (παχύφυτο), ξυλώδες στη βάση του και χαμηλής ανάπτυξης, το οποίο καλύπτει σταδιακά το γύρω του έδαφος. Επίσης, διαθέτει μπλε-πράσινα κλαδιά και φύλλα και κίτρινα-πράσινα λουλούδια. Γενικά, τα φύλλα και οι βλαστοί του είναι παχιά, λεία και έχουν ανοιχτό πράσινο χρώμα. Ειδικότερα, οι βλαστοί του είναι γραμμωτοί, διακλαδισμένοι που ξυλοποιούνται στη βάση και έχουν ύψος έως 60 εκατοστά, ενώ τα φύλλα του έχουν κυανοπράσινο χρώμα, είναι λεία, επιμήκη, σαρκώδη, πολύ στιλπνά και υπόλευκα όπως της γλιστρίδας, αλλά πιο πλατιά, πιο επιμήκη και με αλμυρή γεύση. Ο καρπός του αποτελείται από δύο μερικάρπια. Τα άνθη του έχουν κιτρινοπράσινη απόχρωση, βγαίνουν το καλοκαίρι και σχηματίζουν "σκιάδιο" και ο βλαστός και τα φύλλα του αναδίδουν μια ευχάριστη μυρωδιά (Ciccarelli¹ D., Picciarelli² P. et al., 2015).

2.5.3 Γονιμοποίηση

Τα άνθη είναι ερμαφρόδιτα (έχουν και αρσενικά και θηλυκά όργανα) και το άνθος τους γονιμοποιείται από έντομα. (ΒΔ3)

2.5.4 Αγρο-οικολογία

Το κρίταμο είναι ένα αιωνόβιο φυτό. Ανθεί τους καλοκαιρινούς μήνες (Ιούνιο – Αύγουστο) και οι σπόροι του ωριμάζουν από Αύγουστο μέχρι Οκτώβριο. Αναπτύσσεται σε αμμώδη ή χαλικιώδη εδάφη και μπορεί να αναπτυχθεί και σε φτωχό σε θρεπτικά συστατικά έδαφος. Απαιτεί ένα ζεστό και ξηρό έδαφος σε ηλιόλουστη θέση και σκιά μόνο τις μεσημεριανές ώρες. Μπορεί να αναπτυχθεί σε όξινο, ουδέτερο, ή αλκαλικό pH αλλά και αλατούχα εδάφη. Έτσι παρουσιάζει ανεκτικότητα στις θαλάσσιες συνθήκες έκθεσής του. Όταν αναπτυχθεί μακριά από θαλάσσια ακτή, απαιτεί ζεστό κλίμα και μόνο κάποια προστασία τους κρύους χειμώνες, αφού μπορεί να αντέξει σε θερμοκρασίες μέχρι -15°C (5°F). Όταν η καλλιέργεια του κρίταμου γίνεται σε εξωτερικούς χώρους είναι απαλλαγμένη από επιβλαβείς οργανισμούς ενώ τα άνθη προσελκύουν τα ωφέλιμα έντομα. Αντίθετα, σε περιβάλλον θερμοκηπίου υπόκειται σε προσβολές από ψευδόκοκκο (*mealybug*, κοινώς βαβμακάδα, που είναι ένας από τους πιο κοινούς τύπους κοκκοειδών. (ΒΔ3)

2.5.4.1 Προετοιμασία εδάφους στον αγρό

Για την καλλιέργεια απαιτείται βαθύ όργωμα κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού. Σε περίπτωση συμβατικής καλλιέργειας, απαιτείται λίπανση (50 kg/στρ.) με λίπασμα σύστασης σε N-P-K, 11-15-15. Για βιολογικές καλλιέργειες μπορεί να χρησιμοποιηθεί καλά χωνεμένη κοπριά ή σκευάσματα εγκεκριμένα για βιολογικές καλλιέργειες.

2.5.4.2 Πολλαπλασιασμός

Μπορεί να πολλαπλασιαστεί με “σπόρο”, πρέπει όμως να δημιουργηθούν μητρικές φυτείες για τη συλλογή σπερμάτων με σκοπό την αγνή αναπαραγωγή καθώς δεν είναι εύκολη η εύρεση του αριθμού των σπόρων που απαιτούνται για την εγκατάσταση ενός αγροτεμαχίου. Ως υπόστρωμα ριζοβολίας χρησιμοποιείται μίγμα τύρφης και περλίτη (1:3). Ο πολλαπλασιασμός με μοσχεύματα είναι εφικτός, αλλά το ποσοστό ριζοβολίας κυμαίνεται γύρω στο 60-70% με τη χρήση ορμόνης ριζοβολίας για ποώδη μοσχεύματα. Αναπαράγεται με επιτυχία με τη μέθοδο της ιστοκαλλιέργειας. Η

μέθοδος αυτή δίνει γρήγορα φυτά που είναι απολύτως υγιή για την εγκατάστασή τους στον αγρό, ωστόσο λόγω του υψηλού κόστους του μπορεί να είναι ασύμφορο να φυτευτεί όλη η έκταση με τέτοιο υλικό. Μετά την εγκατάσταση μέρους της καλλιέργειας, οι παραγωγοί μπορούν να δημιουργήσουν δικά τους φυτά είτε με “σπόρο” είτε με παραφυάδες.

2.5.4.3 Συγκομιδή –Ξήρανση

Συλλέγονται οι τρυφερές κορυφές, που αποτελούν το εδώδιμο τμήμα όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για κονσερβοποίηση ή νωπή κατανάλωση και όλο το υπέργειο τμήμα με τις ταξιανθίες όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για παραγωγή εκχυλίσματος. Είναι εφικτή η συγκομιδή σε δύο ή τρεις περιόδους: η πρώτη τον Μάιο-Ιούνιο, η δεύτερη τον Ιούλιο-Αύγουστο και το φθινόπωρο (Μαλούπα Ε.,Γρηγοριάδου Κ. ,Λάζαρη Δ.,Κρίγκας Ν. 2013).

2.6 Οι χρήσεις του φυτού

2.6.1 Διατροφική

Οι αρχαίοι Έλληνες πριν από την άνθηση, μάζευαν τα νεαρά φύλλα, τα έβραζαν σε κρασί και τα έτρωγαν σε σαλάτα. Γινόταν ακόμα και τουρσί, πράγμα που συνηθίζεται και σήμερα. Έτσι, τα φύλλα που είναι εδώδιμα συλλέγονται πριν από την άνθηση και διατηρούνται στην άλμη ως τουρσί. Σε αυτή τη μορφή το έπαιρναν μαζί τους οι ναυτικοί στα μεγάλα θαλάσσια ταξίδια, καθώς ήταν γνωστό φάρμακο για την πρόληψη του σκορβούτου.

2.6.2 Θεραπευτική

Τα φύλλα του φυτού έχουν τη φήμη ότι είναι χρήσιμα για την απώλεια βάρους και για τη θεραπεία της παχυσαρκίας, αποτέλεσμα που εξηγείται εν μέρει από την περιεκτικότητα του βοτάνου σε ιώδιο.

2.6.3 Μαγειρική

Το Κρίταμο σε παραθαλάσσιες περιοχές είναι γνωστό ως «λαχανικό της θάλασσας», όπου οι άνθρωποι γνωρίζουν τις ιδιότητες και τα οφέλη του, οπότε εξακολουθεί να συλλέγεται και να χρησιμοποιείται στη μαγειρική. Τα σαρκώδη φύλλα και τα κοτσάνια του μπορούν να βράσουν ή να ατμοποιηθούν και να καταναλωθούν με τον ίδιο τρόπο

όπως τα σπαράγγια. Τα εξαιρετικά αρωματικά και αλμυρά φύλλα του φυτού μπορούν να χρησιμοποιηθούν νωπά σε σαλάτες. Επιπλέον, τα φύλλα του, τα κοτσάνια και οι σπόροι του μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην παρασκευή τουρσί. (ΒΔ5)

Κεφάλαιο 3ο :Σύσταση του φυτού του κρίταμου και του αιθέριου ελαίου

3.1 Σύσταση του φυτού κρίταμου

Το κρίταμο αποτελεί μέρος της Μεσογειακής διατροφής, η οποία είναι γνωστή για τις ευεργετικές δράσεις της που αφορούν κυρίως την προστασίας από καρδιαγγειακές ασθένειες (Ruano *et al.* 2005). Πρόσφατες μελέτες συσχετίζουν τα ευεργετικά αποτελέσματα της Μεσογειακής διατροφής με τα συνεργιστικά αποτελέσματα διάφορων θρεπτικών συστατικών που περιέχονται στα τρόφιμα. Η παρουσία αντιοξειδωτικών σε φυτικής προέλευσης τρόφιμα είναι ιδιαίτερα σημαντική λόγω του ρόλου τους σε οξειδωαναγωγικούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην παθογένεση διαφόρων ανθρώπινων ασθενειών και στην γήρανση (Aguoma 2003). Πολλά αιθέρια έλαια, καθώς και συστατικά τους, παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση. Η τάση να χρησιμοποιούνται αιθέρια έλαια ως συντηρητικά στα τρόφιμα τα οποία μπορούν να λειτουργήσουν ως φυσικά αντιοξειδωτικά μπορούν να επιδράσουν στην υγεία των καταναλωτών καθώς και να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής συγκεκριμένων παραγόμενων τροφίμων (Kulisic-Bilusic T., Blazevic I., et al., 2010)

Το κρίταμο είναι εδώδιμο φυτό που αποτελεί πηγή βιταμινών, ιχνοστοιχείων, αλάτων και περιέχει ένα ευρύ φάσμα από αντιοξειδωτικά με κυριότερα τις πολυφαινόλες. Τα εκχυλίσματα του φυτού (αλκοολικά, υδατικά) είναι πλούσια σε πολλά θρεπτικά συστατικά, όπως αμινοξέα, βιταμίνες C, E, και K, ιώδιο και μεταλλικά άλατα. Το μέρος του φυτού που είναι πλούσιο σε βιταμίνες C, E και K είναι τα φύλλα του τονώνοντας το ανοσοποιητικό και προσφέροντας αντιοξειδωτική δράση. Επίσης, περιέχουν καροτενοειδή και φαινολικά παράγωγα (α. φαινολικά οξέα: χλωρογενικό οξύ και παράγωγά του, β. φλαβονοειδή: διοσμίνη, εσπεριδίνη και γ. ταννίνες). Έχει αποδειχθεί ότι η περιεκτικότητα των εκχυλισμάτων του σε φαινολικά παράγωγα επηρεάζεται από την εποχή συγκομιδής. Όταν τα υπέργεια τμήματα του φυτού συλλεχθούν στις αρχές του καλοκαιριού φέρουν συγκριτικά μεγαλύτερη περιεκτικότητα φαινολικών από αυτά των οποίων η συγκομιδή έγινε την άνοιξη. Τα πλούσια σε φαινολικές ουσίες εκχυλίσματα του φυτού παρουσίασαν αντιμικροβιακή δράση έναντι ευρέως φάσματος ανθρώπινων παθογόνων βακτηρίων (Λάζαρη Δ., Τσιφτηγόλου Ο., Μαλούπα Ε. 2015).

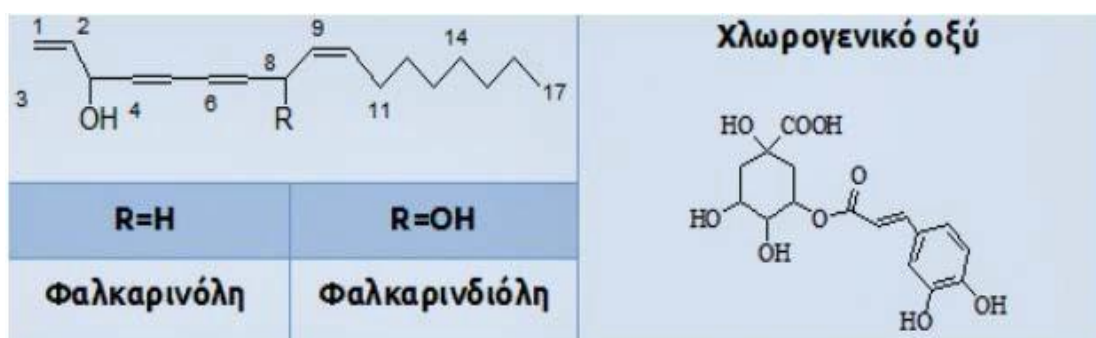
Επιπλέον, υπάρχουν πολλές αναφορές σχετικά με την περιεκτικότητα των φύλλων του σε πολυακετυλένια με τα δύο επικρατέστερα την φαλκαρινόλη και την φαλκαρινδιόλη, ουσίες που παρουσιάζουν ισχυρή αντιμικροβιακή και κυτταροτοξική

δράση. Ακόμα, έχει υψηλή περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο καθώς τα σπέρματά του περιέχουν αξιόλογες ποσότητες σε έλαιο, δυνητικώς βρώσιμο λόγω της υψηλής σύστασης του σε ω -3 και ω -6 λιπαρά οξέα, τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του μεταβολισμού έχοντας αντιγηραντική δράση.

Βάσει εθνοφαρμακολογικών δεδομένων το κρίταμο δηλώνεται ως αντισκορβουτικό και διουρητικό, λόγω της μεγάλης περιεκτικότητάς του σε βιταμίνη C, καροτενοειδή και φαινολικές ενώσεις (φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα) υποστηρίζουν ότι τα υδατικά εκχυλίσματα του κρίταμου περιέχουν μεταξύ άλλων φαινολικών ουσιών κυρίως χλωρογενικό οξύ (υδροξυκινναμικό οξύ) και παράγωγά του (Λάζαρη Δ., Τσιφτηγόλου Ο., Μαλούπα Ε. 2015).

3.1.1 Φαινολικές ενώσεις

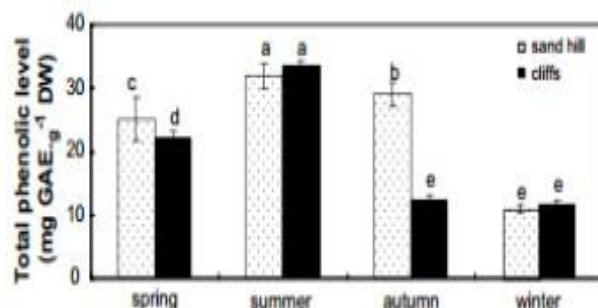
Η κύρια φαινολική ένωση του κρίταμου είναι το χλωρογενικό οξύ με 6,366 mg ανά κιλό ξηρού βάρους, ενώ βρέθηκαν ενώσεις όπως: γαλλικό οξύ, ρουτίνη, κατεχίνη, επιγαλλοκατεχίνη, βανιλικό οξύ, ροζμαρινικό οξύ, 3-γαλακτοζυλο κερκετίνη, κουμαρικό οξύ και trans-2-υδροξυκινναμονικό οξύ (Nabet N., Boudries H. et al., 2016)



Compound	Abbreviation	Content (mg/kg dw)
3-caffeoylquinic acid	3-CQA	629 ± 54
3-coumaroylquinic acid	3-CoQA	121 ± 10
5-caffeoylquinic acid	5-CQA	6366 ± 531
1-caffeoylquinic acid	1-CQA	1033 ± 78
5-coumaroylquinic acid	5-CoQA	1040 ± 84
5-feruloylquinic acid	5-FQA	1045 ± 78
cis-5-coumaroylquinic acid	cis-5-CoQA	243 ± 19
3,4-dicaffeoylquinic acid	3,4-DCQA	753 ± 55
3,5-dicaffeoylquinic acid	3,5-DCQA	1637 ± 99
4,5-dicaffeoylquinic acid	4,5-DCQA	1033 ± 73

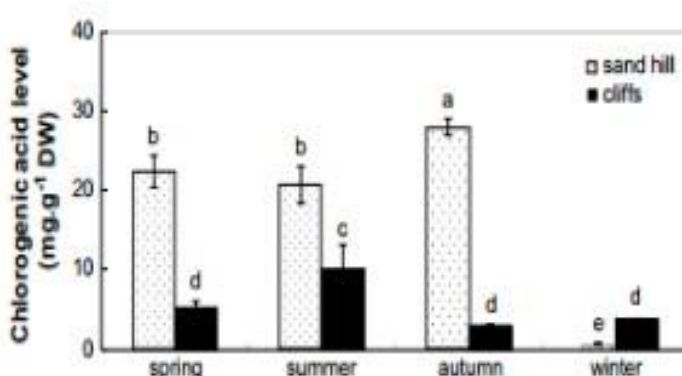
Εικόνα 3.1: Περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις του κρίταμου (Nabet N., Boudries H. et al., 2016).

Όσον αφορά τη σύσταση σε φαινολικά συστατικά του κρίταμου σε βραχώδης ακτές και σε αμμόλοφους, παρουσιάζουν υψηλότερη συγκέντρωση σε ολικά φαινολικά το καλοκαίρι και έχουν την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα.



Εικόνα 3.2: Επίπεδο ολικών φαινολών σε φύλλα *Crithmum maritimum* σε αμμόλοφους και βραχώδης ακτές (Meot-Duros L., Magne C. 2009).

Υδροξυκιναμομικά οξέα όπως το χλωρογενικό είναι ευρέως διαδεδομένα φαινολικά σε φυτά. Σύμφωνα με μελέτες, η περιεκτικότητα του χλωρογενικού οξέος στα φύλλα του κρίταμου στους αμμόλοφους την περίοδο ανθοφορίας είναι υψηλότερη και φθάνει τα 30 mg/g ξηρής ύλης. Ακόμα, και το χειμώνα η συγκέντρωση του χλωρογενικού οξέος φθάνει τα 3 mg/g ξηρής ύλης), μία συγκέντρωση που φαίνεται να είναι τρεις φορές μεγαλύτερη από αυτή του καρότου και παρόμοιων ειδών της οικογενείας *Ariaceae*. Έτσι, συμπεραίνουμε ότι το κρίταμο που συναντάμε σε αμμόλοφους είναι μία πλούσια και πολύτιμη πηγή σε χλωρογενικό οξύ (Meot-Duros L., Magne C. 2009).



Εικόνα 3.3: Ποσότητα χλωρογενικού οξέος σε φύλλα *Crithmum maritimum* που αναπτύσσονται σε αμμόλοφους και βραχώδης ακτές (Meot-Duros L., Magne C. 2009).

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, εκτός από χλωρογενικό οξύ, το κρίταμο περιέχει κινικό οξύ και τον αρωματικό αιθέρα 3-O-γερανυλοβανιλίνη (3-O-geranylvanillin), ενώ υπάρχουν ενδείξεις για ύπαρξη 4-μεθυλοβενζοϊκού οξέος (crithmic or p-toluic acid). Επιπλέον, περιέχονται δυο βιοδραστικά φλαβονοειδή: Η διοσμίνη (3', 5, 7-trihydroxy-4'-methoxyflavone 7-rutinoside) και η εσπεριδίνη (3', 5, 7-trihydroxy-4'-ethoxyflavanone 7-rhamnoglucoside) (Atia A., Barhoumi Z. et al., 2011).

Οι μελέτες σχετικά με την περιεκτικότητα του κρίταμου σε φλαβονοειδή και ταννίνες είναι περιορισμένες και αποτελούν ανοικτό πεδίο έρευνας. Ωστόσο μια μελέτη που δημοσιεύτηκε στο Acta Pharm το 2003 έδειξε πως η περιεκτικότητα των συνολικών φλαβονοειδών του κρίταμου κυμάνθηκε από 0,08 με 0,42%. Σημαντικές διαφορές στο περιεχόμενο μπορεί να οφείλονται στο στάδιο της ανάπτυξης και της θέσης. Η ποσότητα των φλαβονοειδών στα δείγματα που συλλέχθηκαν κατά την πλήρη άνθηση είναι υψηλότερη. Η χαμηλότερη περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή βρέθηκε στα δείγματα που συλλέγονται στο στάδιο καρποφορίας. Η περιεκτικότητα των ταννινών βρέθηκε από 0,12 έως 2,65% και η περιεκτικότητα σε ολικές πολυφαινόλες από 4,72 έως 9,48%. Οι μεγάλες διακυμάνσεις οφείλονται στο ότι τα δείγματα συλλέχθηκαν σε διαφορετικές τοποθεσίες (Males Z., Zuntar I. et al., 2003).

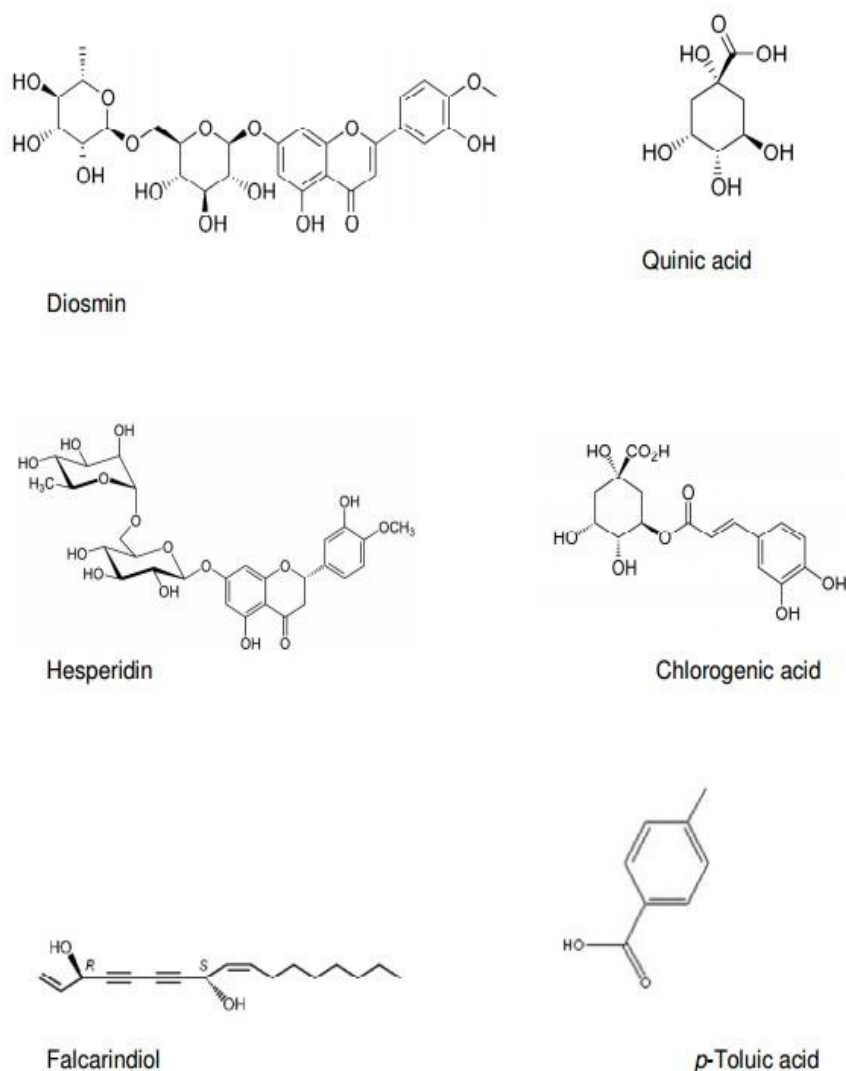
3.1.2 Πτητικές ενώσεις

Οι βλαστοί και ο καρπός του *C. maritimum* L. είναι πλούσιοι σε πτητικές ενώσεις. Οι πτητικές ενώσεις στα άνθη αγγίζουν το 0.8% ενώ στα φύλλα του κρίταμου ξεκινούν από 0,15 % και φτάνουν το 0,3% επί ξηρού βάρους. Τα κύρια πτητικά συστατικά στο αιθέριο έλαιο που προσδιορίζονται στα φύλλα του κρίταμου είναι τα: σαβινένιο, διλλαπιόλη (dillapiole), α-πινένιο, γ-τερπινένιο (Crithmen), 1-ισοπροπυλο-4-μεθυλοβενζόλιο (p-cymol), απιόλη (apiole), (Z)-β-οκιμένιο, θυμόλη και τερπινεν-4-όλη. Σε μικρότερες συγκεντρώσεις υπάρχουν επίσης: α-θαγένιο (α-Thujene), καμφένιο, α-φελανδρένιο (α-Phellandrene), λιμονένιο, κινεόλη, trans-α-οκιμένιο, trans-2-Οκτεν-1-όλη, Τερπινολένιο, λιναλοόλη, trans-p-μενθεν-1-όλη, και Μυριστικήνη. Στα φύλλα, το ποσοστό των πτητικών συστατικών του αιθαίριου ελαίου είναι εξαιρετικά μεταβλητό: π.χ. α-πινένιο (0,8 έως 1,2%), σαβινένιο (33 έως 40%), μυρκένιο (1,6 σε 1,8%), α-τερπινένιο (1,1 σε 2,2%), p-κυμένιο (3,7 σε 9,3%), (Z)-β-οκιμένιο (2 έως 2,7%), γ-τερπινένιο (22,3 έως 28%), τερπινεν-4-όλη (5 έως 7,3%), η μεθυλαιθέρας της θυμόλης

(12,9 - 15,5%) και διλλαπιόλη (1,1 σε 3,1%) (Pateira et al., 1999). Όσον αφορά τα άνθη του κρίταμου, έχει αναφερθεί ότι περιέχουν περίπου 8 έως 40% διλλαπιόλη, 12% α-πινένιο και έως 48% γ-τερπινένιο (Atia A., Barhoumi Z. et al., 2011).

Compounds	Portugal	France	Italy
Sabinene	24.4	-	0.7
α-Pinen	0.2	-	0.1
Cis-β-Ocimen	3.9	-	-
γ-Terpinene	35.0	1%	22.9
4-allylanisol	-	25%	-
Terpinen-4-ol	4.9	-	0.2
Tymol methyl ether	15	-	25.5
Dillapiol	1.5	25%	0.1

Εικόνα 3.3: Ποσοστά πτητικών ενώσεων του *Crithmum maritimum* σε Πορτογαλία, Γαλλία και Ιταλία



Εικόνα 3.4: Χημικές δομές από κάποιες βιοδραστικές ενώσεις του Κρίταμου.

3.1.3 Λιπίδια

Τα έλαια που εξάγονται από τα φύλλα του κρίταμου περιέχουν υψηλή συγκέντρωση σε ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα. Με βάση το ξηρό βάρος του *Crithmum Maritimum* βρέθηκαν μικρές ποσότητες γλυκολιπιδίων (0,57%), φωσφολιπιδίων (0,26%) και άλλα λιπίδια σε ποσοστό 2,02%. Ακόμα, αξίζει να σημειωθεί ότι το ποσοστό των λιπιδίων στο άνθος του κρίταμου φτάνει το 44,4%, ενώ το αιθέριο έλαιο του περιέχει ελαϊκό (78,6%), χαμηλά επίπεδα παλμιτικού οξέος (4,8%), υψηλά επίπεδα σε λινελαϊκό (15,4%). Η σύνθεση αυτή είναι παρόμοια με του ελαιόλαδου, επιβεβαιώνοντας την καλή ποιότητα του *Crithmum Maritimum*. (Atia A., Barhoumi Z. et al., 2011)

3.1.4 Ανόργανα Συστατικά

Mineral content of infusions and decoctions (mg or µg/cup-of-tea) from stems, leaves and flowers of *C. maritimum*.

Mineral	Stems		Leaves		Flowers	
	Infusion	Decoction	Infusion	Decoction	Infusion	Decoction
Essential elements	Macro-elements (mg/cup-of-tea)					
Na	33.3 ± 0.32 ^b	32.7 ± 2.80 ^b	40.1 ± 5.44 ^{ab}	49.3 ± 0.20 ^a	21.9 ± 1.00 ^c	19.8 ± 0.35 ^c
Ca	2.93 ± 0.01 ^b	3.10 ± 0.14 ^b	17.8 ± 1.93 ^a	19.9 ± 0.51 ^a	4.13 ± 0.15 ^b	4.11 ± 0.19 ^b
K	3.40 ± 0.18 ^{cd}	3.64 ± 0.02 ^c	2.18 ± 0.25 ^d	4.58 ± 0.46 ^c	22.6 ± 0.26 ^a	19.3 ± 0.60 ^b
Mg	1.69 ± 0.03 ^c	1.81 ± 0.00 ^{bc}	5.03 ± 0.40 ^a	5.55 ± 0.08 ^a	2.40 ± 0.03 ^b	2.41 ± 0.04 ^b
	Micro and trace-elements (µg/cup-of-tea)					
Fe	18.6 ± 0.78 ^b	15.6 ± 3.12 ^{bc}	18.9 ± 2.30 ^b	27.3 ± 0.41 ^a	11.0 ± 0.49 ^c	16.0 ± 2.25 ^{bc}
Mn	2.62 ± 0.01 ^d	2.53 ± 0.12 ^d	12.7 ± 0.17 ^b	17.4 ± 0.38 ^a	4.00 ± 0.23 ^c	4.28 ± 0.07 ^c
Zn	35.9 ± 1.46 ^a	17.4 ± 9.57 ^a	12.3 ± 0.20 ^a	11.3 ± 0.27 ^a	12.8 ± 0.74 ^a	28.3 ± 17.0 ^a
Cu	5.00 ± 0.15 ^{ab}	3.81 ± 1.00 ^{ab}	3.39 ± 0.24 ^b	5.47 ± 0.11 ^a	4.26 ± 0.13 ^{ab}	4.02 ± 0.02 ^{ab}
Cr	0.16 ± 0.07 ^a	0.20 ± 0.00 ^a	0.61 ± 0.49 ^a	0.49 ± 0.12 ^a	0.27 ± 0.16 ^a	0.22 ± 0.02 ^a
Ni	< LOD	< LOD	< LOD	0.44 ± 0.00	< LOD	< LOD
Non-essential elements	Pb					
	< LOD	< LOD	< LOD	2.66 ± 0.00	< LOD	< LOD
	Cd					
	0.52 ± 0.00 ^a	< LOD	0.22 ± 0.00 ^a	< LOD	< LOD	< LOD

Εικόνα 3.5: Ανόργανα συστατικά του *Crithmum maritimum* (Pereira C, Barreira L., et al., 2017)

Λαμβάνοντας υπόψη τον αυξανόμενο παγκόσμιο πληθυσμό ο οποίος είναι συνδεδεμένος με κλιματικές αλλαγές, είναι επιτακτική η ανάγκη να βρεθούν εναλλακτικοί πόροι τροφίμων που μπορούν να ξεπεράσουν την απειλή της αλάτωσης του εδάφους κατά τη γεωργία. Υπό αυτή την έννοια, βρώσιμα αλόφυλα όπως το κρίταμο μπορούν να καλλιεργηθούν σε θαλάσσια περιβάλλοντα μπορεί να είναι μία πιθανή εναλλακτική λύση για καλλιέργεια. Μέχρι στιγμής, λίγα φυτά με ανθεκτικότητα στο αλάτι παρουσιάζουν τις δυνατότητες που έχει το φυτό του κρίταμου και πρόσφατα προϊόντα αυξημένης αλατότητας έχουν εστιάσει την προσοχή στις προτιμήσεις των καταναλωτών σε όλο τον κόσμο.

Ειδικά, φυτικά τσάγια έχουν αναλυθεί από τα μέρη του κρίταμου για την περιεκτικότητά τους σε ανόργανα άλατα. Βρέθηκε ότι το νάτριο (Na) ήταν το πιο άφθονο στοιχείο στο κρίταμο (19,8-49,3 mg/1 φλιτζάνι τσάι). Ιδιαίτερα στα φύλλα του

φυτού οι ποσότητες του νατρίου είναι υψηλότερες απ' ότι οι ποσότητες που ανιχνεύθηκαν σε διάφορα τσάγια βοτάνων από κοινώς χρησιμοποιούμενα φυτά όπως το χαμομήλι ή το τζίντζερ. Γενικά, το νάτριο είναι μία βασική θρεπτική αξία όπου η συνιστώμενη πρόσληψη του δεν πρέπει να ξεπερνά τα 2000 mg. Επομένως, λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω ένα φλιτζάνι τσάι προερχόμενο από φύλλα κρίταμου θεωρείται ασφαλές ρόφημα για να καταναλώνεται σε μία καθημερινή διατροφή. (Pereira C, Barreira L., et al., 2017)

3.1.4.1 Περιεκτικότητα σε νερό

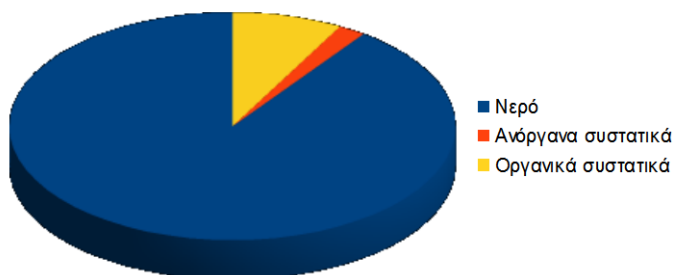
Σύμφωνα με την βιβλιογραφία το φρέσκο φυτό Κρίταμου αποτελείται κατά 90% από νερό. (Coiffard L., Alliot A. et al., 1992)

3.1.4.2 Ολική περιεκτικότητα σε τέφρα

Το *Crithmum maritimum* L. είναι αρκετά πλούσιο σε ανόργανες ενώσεις σε σύγκριση με άλλα φυτά της ίδιας οικογένειας. Η συνολική περιεκτικότητα του σε τέφρα (ξηρό βάρος) μεταβάλλεται μεταξύ 16.0 και 25.8% (Εικόνα 3.5) που αντιστοιχεί σε 1.6 έως 2.6% ανόργανων ουσιών στο φρέσκο φυτό. Σύμφωνα με τον Albert (1975), αυτό είναι ένα από τα χαρακτηριστικά των αλόφιλων φυτών. (Albert, R. 1977).

3.1.4.3 Μικροθρεπτικά συστατικά

Η περιεκτικότητα του κρίταμου σε μικροθρεπτικά συστατικά παρουσιάζονται στην Εικόνα 3.5. Οι μειώσεις των επιπέδων τους, τους μήνες του χειμώνα σε σχέση με τους μήνες του καλοκαιριού πιθανόν να οφείλεται στο ξηρό κλίμα του καλοκαιριού. (L. Coiffard et al., 1992). Τα αποτελέσματα των παραπάνω συνοψίζονται στο παρακάτω διάγραμμα.



Γράφημα 3.1: Σύσταση του *Crithmum maritimum*

Τέλος, αποτελέσματα δείχνουν ότι το κρίταμο μπορεί να θεωρηθεί ως μία πολύτιμη πηγή αντιοξειδωτικών ιδιαίτερα του γλωρογενικού οξέος. Αυτή η ένωση, εκτός από την ισχυρή της αντιοξειδωτική ικανότητα, είναι γνωστή για τις αντιιικές, αντιφλεγμονώδεις και ανοσολογικές της ιδιότητες, έτσι ώστε χρησιμεύσει σε μία σειρά από βιομηχανικές εφαρμογές ιδίως στον φαρμακευτικό τομέα (Meot-Duros L., Magne C. 2009).

3.2 Αιθέριο έλαιο κρίταμου

Κάποιες μελέτες έχουν διεξαχθεί για τη σύνθεση του αιθέριου ελαίου και τα αποτελέσματά τους έχουν καταγραφεί στη βιβλιογραφία. Το αιθέριο έλαιό του είναι ένα υγρό με ελαφρώς κιτρινωπό χρώμα και χαρακτηριστική οσμή. Η απόδοση του αιθέριου ελαίου από διαφορετικά μέρη του φυτού ποικίλουν από 0,15% έως 0.90% ,καθώς εξαρτώνται και από την εποχή και την τοποθεσία. Ως χαρακτηριστικές ενώσεις του έχουν αναφερθεί οι: α-πινένιο, c-τερπινένιο, διλλαπιόλη (dillapiole), μεθυλαιθέρας της θυμόλης, σαβινένιο, λιμονένιο (Z)-β-οκίμνιο. (Özcan M., Akgül. A et al., 2001)

Ποσοστά σε χαρακτηριστικές ενώσεις αποτελούν τα μονοτερπένια (95%) όπως το γ-τερπένιο (36,6 %), το p-κυμένιο (9,6%), το p-πινένιο (7,5%) και το α-πινένιο (4,7%).

3.2.1 Λιπίδια αιθέριου ελαίου κρίταμου

Το έλαιο του σπόρου είναι πλούσιο σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, ιδιαίτερα σε ελαϊκό οξύ (C18: 1) τα οποία αντιπροσωπεύουν το 81% των συνολικών του λιπαρών οξέων. Σε μικρότερη ποσότητα περιέχει λινολεϊκό οξύ (C18: 2) το οποίο ανιχνεύεται σε ποσοστό 12% επί ξηρού βάρους, ενώ κορεσμένα λιπαρά όπως το παλμιτικό (C16: 0) και το στεατικό (C18: 0) δεν υπερβαίνουν το 6% του ξηρού βάρους. (Ksouri R., Ksouri W.M et al., 2011).

Πειραματικό Μέρος

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο : ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

4.1 Σκοπός

Σκοπό της παρούσας πτυχιακής μελέτης αποτελεί η *in vitro* μελέτη της αντιοξειδωτικής και αντιαθηρογόνου δράσης του κρίταμου (*Crithmum maritimum*). Πιο συγκεκριμένα, για την αντιοξειδωτική δράση χρησιμοποιήθηκαν οι μέθοδοι DPPH και CUPRAC. Ενώ για την αντιαθηρογόνο η δοκιμασία αναστολής της οξείδωσης πλάσματος που προκαλείται από Cu^{2+}

4.2 Προετοιμασία δειγμάτων

4.2.1 Υλικά και αντιδραστήρια

Δείγμα φύλλων νωπού κρίταμου (N)

Δείγμα φύλλων γλυκού του κουταλιού κρίταμου (K)

Δείγμα φύλλων από τουρσί κρίταμου (T)

Διαλύτης $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$ (70/29/1) (v/v/v)

4.2.2 Όργανα και εξοπλισμός

1. Απορροφητικό χαρτί
2. Ζυγός ακριβείας
3. Κυκλοαναδευτήρας (vortex)
4. Λαβίδα
5. Ομογενοποιητής IKA T10 ULTRA-TURRAX
6. Πουάρ
7. Σιφώνι των 10mL
8. Στατώ
9. Φυγόκεντρος
10. Χαρτί ζύγισης
11. Ψαλίδι
12. Φυαλίδια πολυπροπυλενίου με πόμα των 1.5 mL
13. Σωλήνες φυγοκέντρωσης πολυπροπυλενίου με βιδωτό πόμα των 50 mL

4.2.3 Πειραματική πορεία

1. Το δείγμα του φυτικού ιστού μεταφέρεται με τη βοήθεια λαβίδας σε απορροφητικό χαρτί για την απομάκρυνση της περίσσειας της υγρασίας.
2. Τα δείγματα του φυτικού ιστού στη συνέχεια τεμαχίζονται σε μικρά τεμάχια για την διευκόλυνση της ομογενοποίησης.
3. Ζυγίζεται μέσα σε ένα φυγοκεντρικό σωλήνα πολυπροπυλενίου με βιδωτό πώμα με τη βοήθεια ζυγού ακριβείας ποσότητα ίση με 1,00 g.
4. Στη συνέχεια προστίθεται ποσότητα μίγματος διαλύτη $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}$ (70/29/1) (v/v/v) σε αναλογία 20/1 (v/w)
5. Ακολουθεί ομογενοποίηση των δειγμάτων με τη βοήθεια εργαστηριακού ομογενοποιητή.
6. Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρούνται στα $500\times g$ για 5 min.
7. Το υπερκείμενο της φυγοκέντρωσης μοιράζεται σε φιαλίδια πολυπροπυλενίου με καπάκι όγκου 1,5 mL ανά 1,0 mL και αποθηκεύονται στους -40°C έως περαιτέρω επεξεργασία.

4.3 Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης

4.3.1 Δοκιμασία της σταθερής ελεύθερης ρίζας 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλο-υδραζύλιο (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH)

4.3.1.1 Αρχή μεθόδου

Το DPPH (2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζύλιο) αποτελεί μια πορφυρού χρώματος ρίζα αζώτου, η οποία όταν δεσμεύεται από αντιοξειδωτικές ουσίες, εξασθενεί το χρώμα της. Η εξασθένιση αυτή παρακολουθείται στα 515 nm όπου δίνει μέγιστη απορρόφηση.

4.3.1.2 Υλικά και αντιδραστήρια

1. Μεθανόλη (CH_3OH)
2. Υπερκάθαρο H_2O
3. DPPH (2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζύλιο)
4. Trolox (M.W: 290,29 g/mol)

5. Υπό μελέτη δείγματα

4.3.1.3 Όργανα και εξοπλισμός

1. Αυτόματες πιπέτες μεταβλητού όγκου 0,5-10 μL , 5-50 μL , 20-200 μL και 100-1000 μL
2. Σωλήνες φυγοκέντρου πολυπροπυλενίου με βιδωτό πώμα των 50 mL
3. Πλαστικοί δοκιμαστικοί σωλήνες
4. Ζυγός ακριβείας
5. Κυκλοαναδευτήρας (Vortex)
6. Κωνικές φιάλες των 50 και 100 mL
7. Κυψελίδες πολυστυρενίου οπτικής διαδρομής 1 cm και όγκου 1 mL
8. Σπάτουλα ζύγισης
9. Στατώ
10. Υδροβολέας
11. Φασματοφωτόμετρο (515nm)
12. Χαρτί ζύγισης
13. Αλουμινόχαρτο

4.3.1.4 Παρασκευή διαλυμάτων

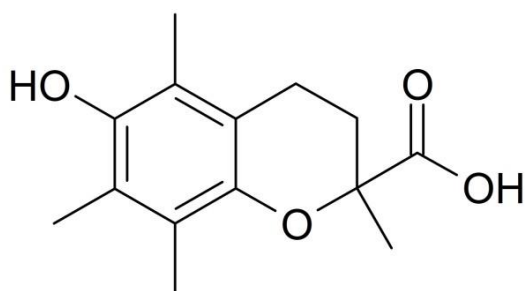
4.3.1.4.1. Διάλυμα φύλαξης DPPH συγκέντρωσης 600 μM

Ζυγίζονται 0,0118 g DPPH (m.w: 394.32 g/mol) και αναδιαλύονται σε 50 mL CH_3OH . Το διάλυμα αποθηκεύεται σε συνθήκες σκότους και στους -40°C .

4.3.1.4.2. Διάλυμα φύλαξης Trolox συγκέντρωσης 6,2 mM

Ζυγίζονται 0,0160g Trolox 97% (m.w.: 250,29 g/mol) και αναδιαλύονται σε 10 mL CH₃OH/H₂O, 1/1 (v/v) δίνοντας συγκέντρωση 6.2 Mm.

Ακολουθεί αραιώση 1/10 (v/v) για την παρασκευή του διαλύματος εργασίας



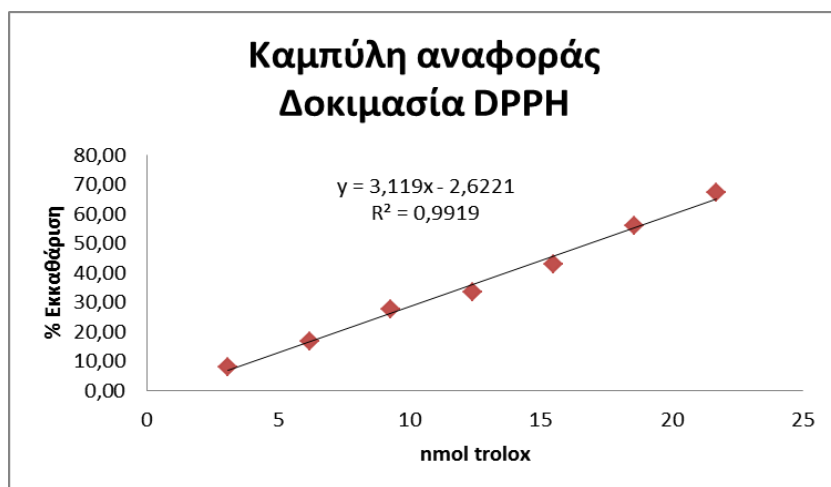
Σχήμα 4. 1: Δομή Trolox

4.3.1.5 Πειραματική πορεία

1. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες μεταφέρονται κατάλληλοι όγκοι δείγματος και συμπληρώνεται ο όγκος με CH₃OH έως τα 900 μL.
2. Ακολουθεί ανάδευση σε κυκλοαναδευτήρα.
3. Ακολουθεί προσθήκη 200μL DPPH ανά 60 s στο κάθε δείγμα.
4. Ακολουθεί καλή ανάδευση σε κυκλοαναδευτήρα.
5. Ακολουθεί επώαση σε σκοτεινό μέρος για 15min ακριβώς.
6. Μετά την επώαση γίνεται φωτομέτρηση στα 515nm και καταγραφή των τιμών απορρόφησης.
7. Παράλληλα κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς με Trolox (ανάλογο της Βιταμίνης E με ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH) και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox. Χρησιμοποιείται ένας επιπλέον δοκιμαστικός σωλήνας για να παρασκευαστεί το διάλυμα αναφοράς που περιέχει 900 μL CH₃OH και 100 μL DPPH.

4.3.1.6 Δημιουργία πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς Trolox παρασκευάζονται διαλύματα με ποσότητες 3.1 ,6.2, 9.3 ,12.4 ,15.5 ,18.6 και 21.7 nmol trolox.



Διάγραμμα 4.1 : Πρότυπη Καμπύλη Αναφοράς Δοκιμασίας DPPH

4.3.2. Δοκιμασία CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity)

4.3.2.1 Αρχή Μεθόδου

Η δοκιμασία CUPRAC αποτελεί δοκιμασία μεταφοράς ηλεκτρονίου και βασίζεται στην οξειδοαναγωγική αντίδραση μεταξύ των αντιοξειδωτικών και των ελευθέρων ριζών και τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης μέσω της αναγωγής των ιόντων του χαλκού από τα αντιοξειδωτικά με παρακολούθηση της απορρόφησης στα 450 nm.

4.3.2.2 Υλικά και αντιδραστήρια

1. Διϋδρικός χλωριούχος χαλκός ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, M.W.: 170.48 g/mol)
2. Ρυθμιστικό διάλυμα οξικού αμμωνίου ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) 1M, pH=7,0
3. 2,9-διμέθυλο-1,10-φαινανθρολίνη (νεοκουπροΐνη) Nc
4. Διάλυμα εργασίας CUPRAC
5. Αιθανόλη ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$)
6. Διάλυμα φύλαξης trolox 6,2 mM
7. Απεσταγμένο νερό (dH_2O)
8. Ρυθμιστικά διαλύματα του pHαμέτρου pH=4 και pH=7
9. Αέριο άζωτο (N_2)
10. Υπό μελέτη δείγματα

4.3.2.3 Όργανα και εξοπλισμός

1. Πλαστικοί δοκιμαστικοί σωλήνες των 10 mL
2. Ποτήρια ζέσεως των 100 mL
3. Κωνικές φιάλες των 250 mL
4. Υάλινο χωνί
5. Υδροβολέας
6. Πλαστικό παστέρ
7. Πλαστικές κυψελίδες οπτικής διαδρομής 1 cm και όγκου 1 mL
8. Ζυγός ακριβείας
9. Μαγνήτης ανάδευσης
10. Μαγνητικός αναδευτήρας
11. Κυκλοαναδευτήρας (Vortex)
12. Αυτόματες πιπέτες των 0,5-5 mL, 0,5-10 μ L, 5-50 μ L και 20-200 μ L
13. pHμετρο
14. Φιαλίδια μικρού όγκου από πολυπροπυλένιο
15. Φασματοφωτόμετρο (450 nm)

4.3.2.4. Παρασκευή διαλυμάτων

4.3.2.4.1. Διάλυμα διϋδρικού χλωριούχου χαλκού $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ συγκέντρωσης 10 mM

Ποσότητα ίση με 0,4262 g $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (M.W.: 170.48 g/mol) διαλύεται σε 100 mL dH_2O και στη συνέχεια μεταφέρεται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 250 mL και συμπληρώνεται ο όγκος με dH_2O έως τα 250,0 mL.

4.3.2.4.2. Ρυθμιστικό διάλυμα οξικού αμμωνίου ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) 1M, pH=7,0

Ποσότητα $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ίση με 19,27 g (M.W.: 77,08) διαλύεται σε 200 mL dH_2O , ρυθμίζεται το pH στο 7,0 και στη συνέχεια μεταφέρεται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 250 mL και συμπληρώνεται ο όγκος με dH_2O έως τα 250,0 mL.

4.3.2.4.3. Διάλυμα νεοκουπροΐνης (Neocuproine, Nc) συγκέντρωσης 7,5 mM

Το διάλυμα παρασκευάζεται την ημέρα χρήσης του. Ποσότητα νεοκουπροΐνης ίση με 0,0326 g (M.W.: 217,27 g/mol) μεταφέρεται σε falcon των 50 mL και διαλύεται με 20 mL με αιθανόλη 96%.

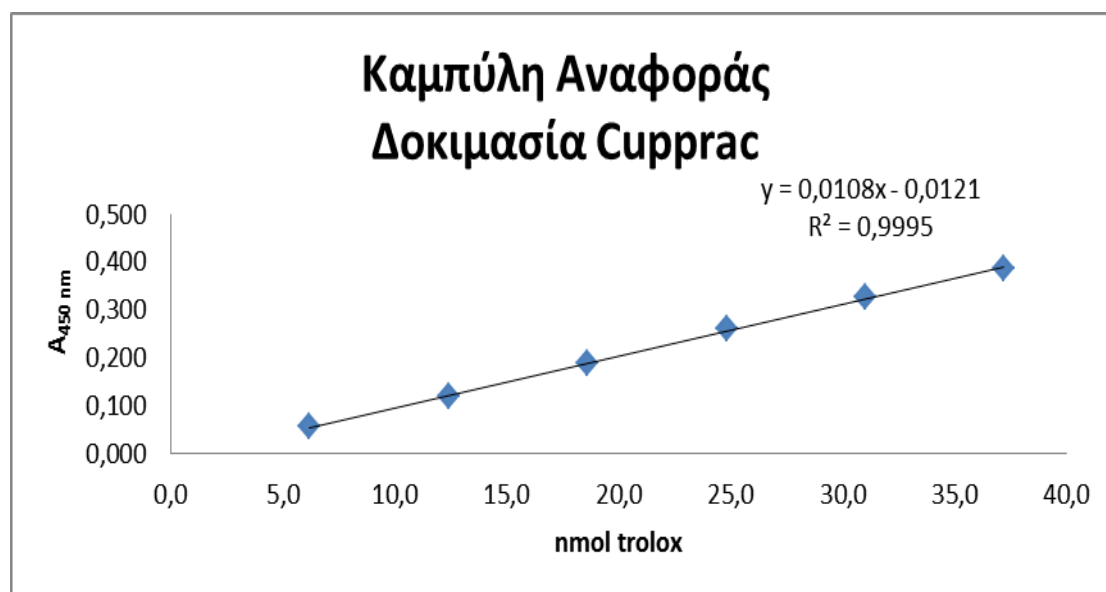
4.3.2.5. Πειραματική πορεία

1. Τοποθετούνται σε πλαστικούς δοκιμαστικούς σωλήνες κατάλληλες ποσότητες δειγμάτων.

2. Ακολουθεί προσθήκη 300 μL διαλύματος $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 mM, 300 μL διαλύματος νεοκουρποΐνης 7,5 mM, 300 μL ρυθμιστικού διαλύματος $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 1M pH=7,0 και συμπληρώνεται ο όγκος με dH_2O έως τελικού όγκου 1200 μL .
3. Ακολουθεί καλή ανάδευση και επώαση για 30 min στους 25 $^\circ\text{C}$.
4. Τα δείγματα φωτομετρούνται στα 450 nm
5. Παράλληλα με τα υπό μελέτη δείγματα ετοιμάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς με χρήση διαλύματος trolox συγκέντρωσης 0.62 mM, καθώς και διάλυμα αναφοράς ώστε τα αποτελέσματα να εκφραστούν ως ισοδύναμα trolox.

4.3.2.6. Δημιουργία πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Για την κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς Trolox παρασκευάζονται με διαδοχικές αραιώσεις από το διάλυμα φύλαξης του trolox συγκέντρωσης 0.62 mM διαλύματα με συγκεντρώσεις 6.2, 12.4, 18.6, 24.8, 31.0, και 37.2 nmol trolox.



Διάγραμμα 4.2 : Πρότυπη Καμπύλη Αναφοράς Δοκιμασίας CUPRAC

4.4 Εκτίμηση της αντιαθηρογόνου δράσης των δειγμάτων μέσω αναστολής της

In vitro οξείδωσης πλάσματος αίματος από ιόντα Cu^{2+}

4.4.1. Σκοπός

Ο προσδιορισμός της ικανότητας των δειγμάτων να αναστέλλουν την οξείδωση του πλάσματος από αίμα ανθρώπου.

4.4.2. Αρχή Μεθόδου

Η μέτρηση της *in vitro* οξείδωσης του πλάσματος από αίμα ανθρώπου προκαλούμενη από ιόντα Cu^{2+} , βασίζεται στη συνεχή καταγραφή της απορρόφησης στα 245 nm. Η απορρόφηση σε αυτό το μήκος κύματος οφείλεται κυρίως στα συζυγή διένια των υδροπεροξειδίων και κατά μικρότερο βαθμό σε άλλες ενώσεις όπως συζυγή διένια υδροξυδίων, που παράγονται κατά την οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) που απαντούν στις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος, όταν προστίθενται ιόντα Cu^{2+} .

Καταγράφοντας την απορρόφηση στα 245 nm παρέχεται η δυνατότητα παρακολούθησης της κινητικής της οξείδωσης που λαμβάνει χώρα στο πλάσμα του αίματος. Η κινητική αυτή είναι περίπλοκη καθώς οι λιποπρωτεΐνες του πλάσματος περιέχουν πληθώρα αντιοξειδωτικών τα οποία οξειδώνονται πρώτα εκδηλώνοντας την αντιοξειδωτική τους δράση. Στο διάστημα της οξείδωσης των αντιοξειδωτικών η απορρόφηση στα 245 nm αυξάνεται ελάχιστα. Ο χρόνος που απαιτείται για να οξειδωθούν τα αντιοξειδωτικά καλείται χρόνος λανθάνουσας φάσης και αποτελεί μέτρο της αντίστασης του πλάσματος στην οξείδωση. Μόνο όταν οξειδωθούν τα αντιοξειδωτικά αρχίζουν να παράγονται τα συζυγή διένια και να αυξάνεται η απορρόφηση στα 245 nm. Η καταγραφή της απορρόφησης παρέχει μια σιγμοειδή καμπύλη με κύριο χαρακτηριστικό το χρόνο της λανθάνουσας φάσης (lag time).

Άλλα χαρακτηριστικά των καμπυλών οξείδωσης του πλάσματος είναι τα εξής:

Μέγιστη ταχύτητα (V_{\max}) της συσσώρευσης των προϊόντων που απορροφούν στα 245 nm που εκφράζεται σε μονάδες απορρόφησης ανά min χρόνος (t_{\max}) κατά τον οποίο παρατηρείται η V_{\max} .

Μέγιστη συσσώρευση προϊόντων που απορροφούν που εκφράζεται σε μονάδες απορρόφησης.

4.4.3. Υλικά και Αντιδραστήρια

1. Αντιπηκτικό διάλυμα κιτρικών
2. Πλάσμα από αίμα ανθρώπου
3. Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PBS) pH=7,4, με 145 mM NaCl
4. Υδατικό διάλυμα $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1 mM)
5. Υπό μελέτη δείγματα

4.4.4. Όργανα και Εξοπλισμός

1. Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 10 mL
2. Ποτήρια ζέσεως των 100 mL
3. Φασματοφωτόμετρο (245 nm)
4. Κυψελίδες από χαλαζία των 3 mL και οπτικής διαδρομής 1 cm
5. Αυτόματες πιπέτες των 0,5-5 mL, 0,5-10 μL 5-50 μL και 20-200 μL

4.4.5. Παρασκευή διαλυμάτων

4.4.5.1. Αντιπηκτικό διάλυμα κιτρικών (AC)

Σε 100 mL dH_2O διαλύονται 1,365 g ένυδρου κιτρικού οξέος ($\text{H}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) και 2,5 g διυδρικού κιτρικού νατρίου ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

4.4.5.2. Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PBS) pH = 7,4, 146 mM σε NaCl

Σε 240 mL dH_2O που βρίσκονται υπό συνεχή ανάδευση με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα προστίθενται προς διαλυτοποίηση 0,2269 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,0602 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ και 2,1332 g NaCl. Στη συνέχεια ρυθμίζεται το pH στο 7,4 και προστίθεται dH_2O έως τελικό όγκο 250 mL.

4.4.5.3. Υδατικό διάλυμα $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ συγκέντρωσης 1mM

Σε 200 mL dH_2O που βρίσκονται υπό συνεχή ανάδευση με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα, προστίθενται προς διαλυτοποίηση 49,939 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

4.4.5.4. Πλάσμα από αίμα ανθρώπου

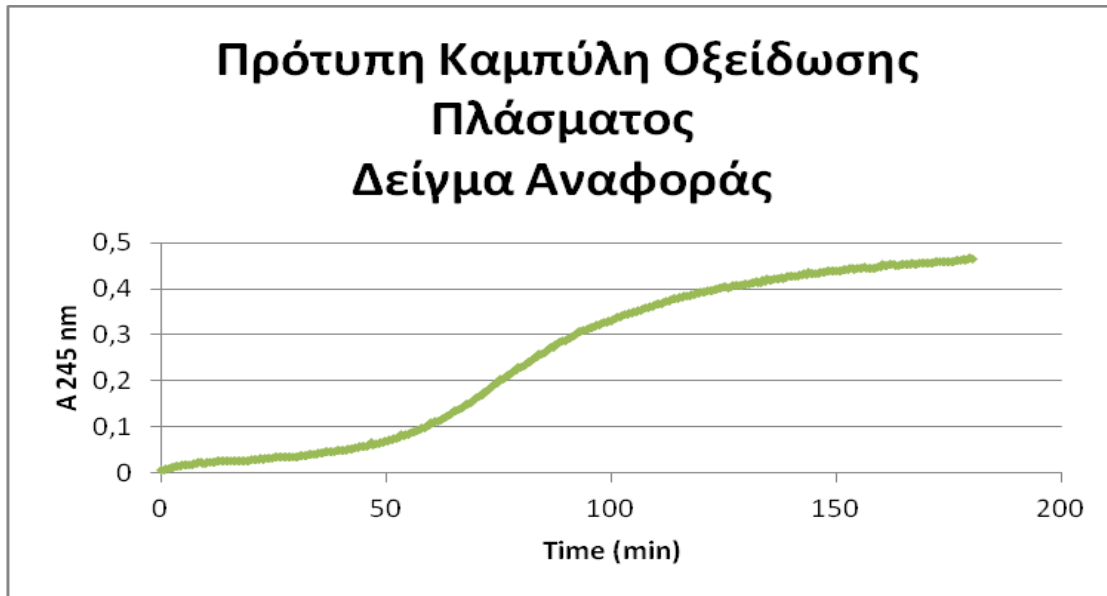
Με αποστειρωμένη σύριγγα λαμβάνονται 20,0 mL αίματος και τοποθετούνται σε σωλήνα πολυπροπυλενίου των 50 mL με βιδωτό πώμα που περιέχει 2,0 mL αντιπηκτικού διαλύματος κιτρικών. Ακολουθεί ήπια ανάδευση για 1 min και φυγοκέντρηση στα 1500Xg για 20 min. Το υπερκείμενο της φυγοκέντρησης αποτελεί το πλάσμα του αίματος και αποθηκεύεται ανά 500 μL σε φιαλίδια πολυπροπυλενίου με καπάκι στους -40°C .

4.5.6. Πειραματική Πορεία

1. Σε υάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετούνται με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας κατάλληλες ποσότητες δειγμάτων.
2. Γίνεται προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών (PBS), $\text{pH}=7,4$ και δείγματος, όπου και τα δυο θα έχουν άθροισμα 2200 μL (Ανάλογα με την ποσότητα δείγματος που χρησιμοποιείται κάθε φορά).
3. Ακολουθεί καλή ανάδευση με κυκλοαναδευτήρα.
4. Αφού ολοκληρωθεί η προσθήκη του PBS σε όλα τα δείγματα, ετοιμάζουμε και δείγμα αναφοράς που δεν περιέχει δείγματα.
5. Στη συνέχεια γίνεται προσθήκη 50 μL πλάσματος σε όλα τα δείγματα. Ακολουθεί ήπια ανάδευση και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για μία ώρα.
6. Μετά την επώαση, τα δείγματα μεταφέρονται σε κυψελίδες κατάλληλες για μέτρηση στην υπεριώδη περιοχή.
7. Ακολουθεί η προσθήκη 250 μL υδατικού διαλύματος $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1,0 mM και ήπια ανάδευση και τοποθέτηση στο φωτόμετρο για καταγραφή της απορρόφησης στα 245 nm για χρονικό διάστημα 3 ωρών.

Σημείωση:

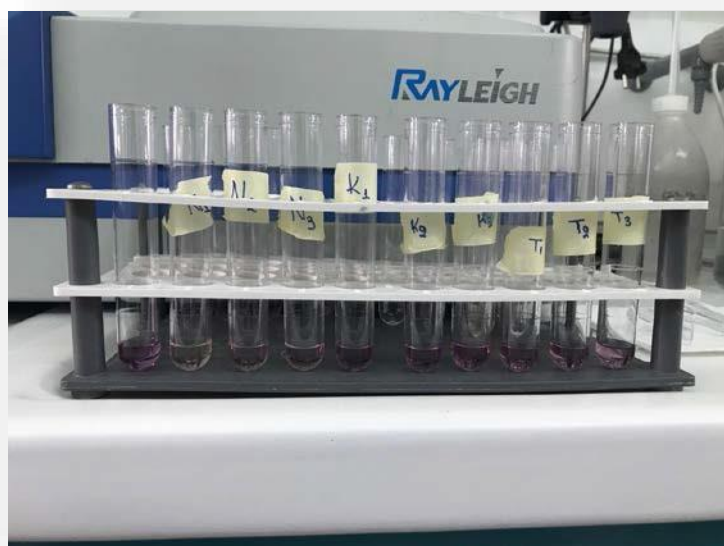
1. Τα τρία δείγματα μας (Νωπό, Γλυκό του κουταλιού και Τουρσί) συγκρίνονται ως προς το δείγμα αναφοράς το οποίο περιέχει PBS pH 7,4, πλάσμα αίματος και $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1mM.
2. Παρασκευάζεται δείγμα αναφοράς



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων μέσω της δοκιμασίας DPPH

Η καμπύλη αναφοράς Trolox για τη δοκιμασία DPPH χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να εκφραστεί το ποσοστό εκκαθάρισης της ρίζας από τα εκχυλίσματα των δειγμάτων κρίταμου ως ισοδύναμα nmol Trolox .



Εικόνα 5.1: Οι πλαστικοί σωλήνες με τα διαφορετικά δείγματα ,τα οποία εξετάστηκαν εις τριπλούν για τη δοκιμασία DPPH.

Ο πίνακας 5.1 παρουσιάζει τα αποτελέσματα της δοκιμασίας DPPH του κάθε δείγματος για την 50% εκκαθάριση της ρίζας, εκφρασμένα σε nmol Trolox και mg κρίταμου αντίστοιχα. Έγινε έλεγχος διαφορετικών ποσοτήτων κάθε φορά , καθώς και τριπλή μέτρηση για την κάθε ποσότητας.

Πίνακας 5.1 : Αποτελέσματα της ποσότητας κρίταμου που δεσμεύει το 50% της ρίζας\

Δείγματα	nmol Trolox που απαιτούνται για 50% εκκαθάριση DPPH	mg κρίταμου που απαιτούνται για 50% εκκαθάριση DPPH
N	124,09	6,32
K	628,53	10,03
T	281,82	8,56

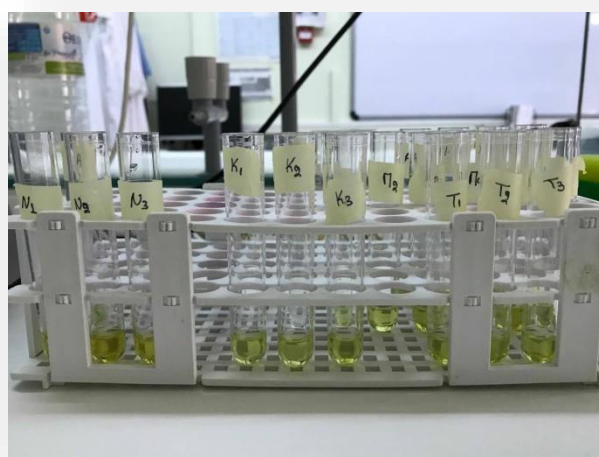
N: νωπό κρίταμο , K :γλυκό του κουταλιού , T: τουρσί.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το νωπό κρίταμο είναι αυτό με την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση, και ακολουθεί το τουρσί και τέλος το γλυκό του κουταλιού. Συγκεκριμένα απαιτείται 1,3 φορές περισσότερη ποσότητα από το κρίταμο τουρσί και 1,6 φορές περισσότερη ποσότητα από το κρίταμο γλυκό κουταλιού για την ίδια αντιοξειδωτική δράση που φανερώνει το νωπό.

Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων μέσω της δοκιμασίας CUPRAC

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων μέσω της δοκιμασίας CUPRAC, πραγματοποιήθηκε φασματοφωτομετρικά με βάση την αναγωγική δύναμη των δειγμάτων, τα οποία οξειδώνονται, ανάγοντας τον χαλκό από δισθενή σε μονοσθενή και εμποδίζοντας την οξείδωσή του. Το κάθε δείγμα μελετήθηκε τρεις φορές.



Εικόνα 5.2: Οι πλαστικοί σωλήνες με τα διαφορετικά δείγματα, τα οποία εξετάστηκαν εις τριπλούν για τη δοκιμασία CUPRAC.

Στον πίνακα 5.2 παρουσιάζονται οι ποσότητες των εκχυλισμάτων κρίταμου που χρησιμοποιήθηκαν εκφρασμένες ως ισοδύναμα nmol trolox/mg κρίταμου, παρουσιάζοντας έτσι την αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων.

Πίνακας 5.2 : Αποτελέσματα δοκιμασίας CUPRAC

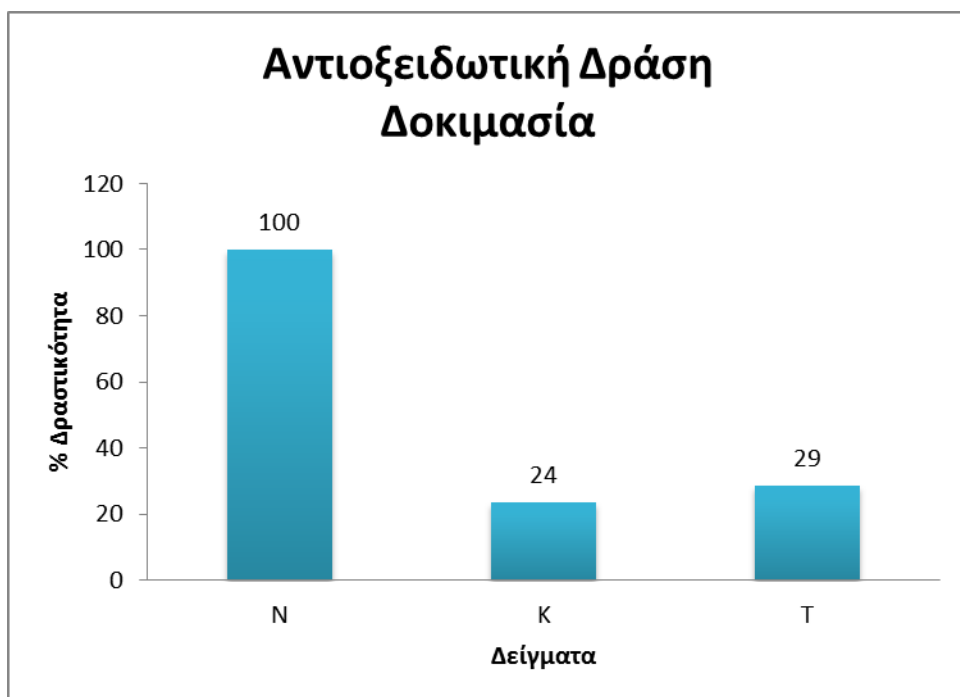
Δείγμα	mg Δοκιμασίας	nmol trolox/mgκρίταμου
N	3	22.2
K	3	5.3
T	3	6.3

Στο διάγραμμα 5.2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής δράσης του κρίταμου εκφρασμένα ως nmol trolox/mg κρίταμου για το κάθε δείγμα.



Διάγραμμα 5.2: Αποτελέσματα Μέτρησης Αντιοξειδωτικής δράσης με δοκιμασία CUPRAC. N: νωπό κρίταμο, K :γλυκό του κουταλιού, T: τουρσί

Στο διάγραμμα 5.3 θεωρήθηκε ως 100% δραστηριότητα η δραστηριότητα του νωπού, προκειμένου να παρατηρηθεί η ποσοστιαία διαφορά με τα υπόλοιπα δυο δείγματα για να είναι πιο εμφανής η σύγκριση τους.



Διάγραμμα 5.3: Εμφάνιση της διαφοράς της % Αντιοξειδωτικής δραστηριότητας του νωπού σε σχέση με το γλυκό του κουταλιού και τουρσί

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Και τα τρία δείγματα εμφάνισαν αντιοξειδωτική ικανότητα.

Παρόλα αυτά το νωπό δείγμα είναι αυτό που εμφάνισε την μεγαλύτερη δραστικότητα σε σχέση με το γλυκό του κουταλιού και το τουρσί, όπως φαίνεται και στα *διαγράμματα 5.2 και 5.3*

Το αποτέλεσμα από αυτή τη δοκιμασία , συμφωνεί με την δοκιμασία DPPH στην οποία πάλι το νωπό κρίταμο ήταν αυτό που υπερτερούσε.

5.3 Εκτίμηση της αντιαθηρογόνου δράσης των δειγμάτων, μέσω αναστολής της *in vitro* οξειδωσης πλάσματος αίματος από ιόντα Cu^{2+} .

Η εκτίμηση της αντιαθηρογόνου δράσης του νωπού, τουρσί και γλυκό του κουταλιού κρίταμο, πραγματοποιήθηκε μέσω μέτρησης της *in vitro* αναστολής της οξειδωσης του πλάσματος από αίμα ανθρώπου, η οποία προσδιορίστηκε φασματοφωτομετρικά στα 245 nm με συνεχή καταγραφή της απορρόφησης για διάστημα τριών ωρών.

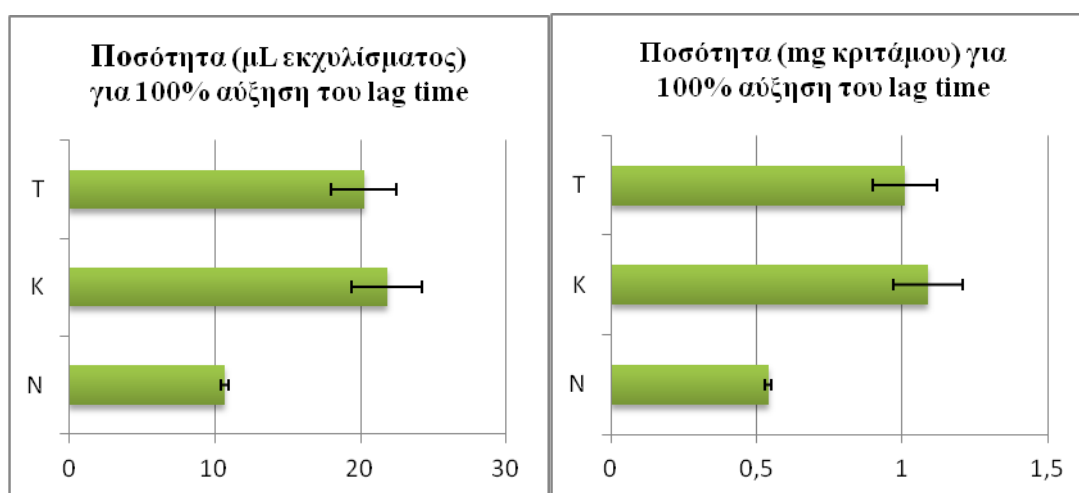
Μετά από διάφορες μετρήσεις για το κάθε δείγμα, οι καταληκτικές τιμές παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.3.

Πίνακας 5.3: Ποσότητα σε μL και mg για κάθε δείγμα για 100% αύξηση χρόνου λανθάνουσας φάσης (Lag time)

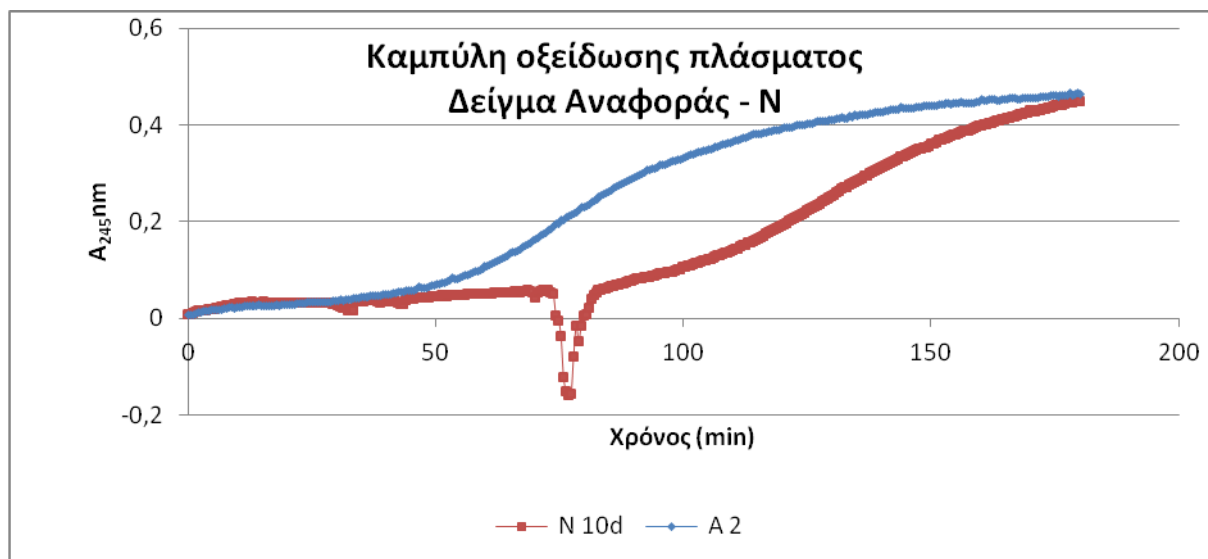
Δείγματα*	Ποσότητα (μL εκχυλίσματος) για 100% αύξηση του Lag time	Ποσότητα (mg κρίταμου) για 100% αύξηση του Lag time
N	10,7 (\pm 0,27)	0,54 (\pm 0,01)
K	21,82 (\pm 2,40)	1,09 (\pm 0,12)
T	20,24 (\pm 2,23)	1,01 (\pm 0,11)

*N= Νωπό κρίταμο, K= Γλυκό του κουταλιού, T= Τουρσί

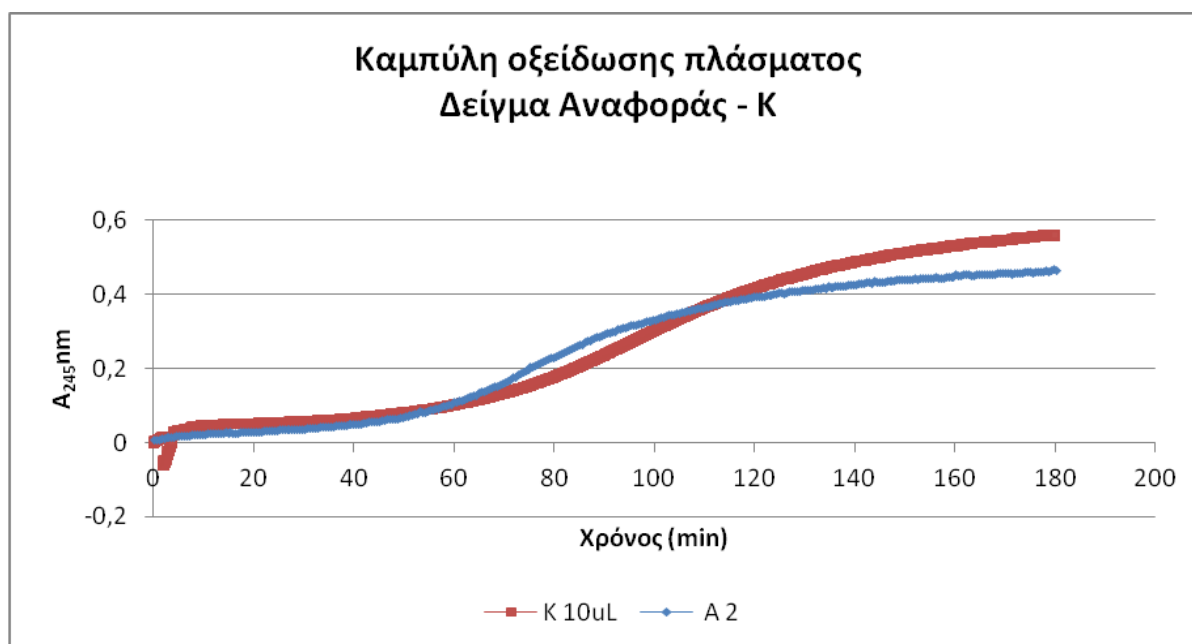
Με βάση τον Πίνακα 5.3 δημιουργούνται τα παρακάτω ραβδογράμματα :



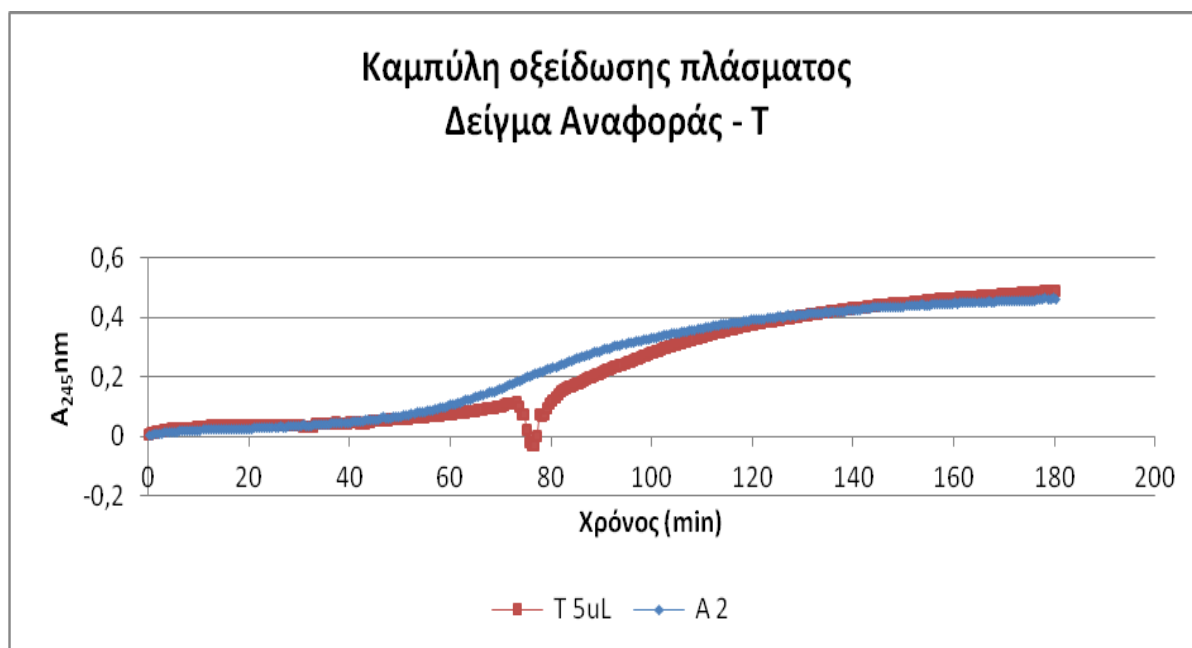
Στα γραφήματα που ακολουθούν, παρουσιάζεται το διάγραμμα απορρόφησης κάθε δείγματος ξεχωριστά συγκριτικά με το δείγμα Αναφοράς.



Διάγραμμα 5.4: Καμπύλη Οξείδωσης Πλάσματος (Δείγμα Αναφοράς – N)



Διάγραμμα 5.5: Καμπύλη Οξείδωσης Πλάσματος (Δείγμα Αναφοράς – K)



Διάγραμμα 5.6: Καμπύλη Οξείδωσης Πλάσματος (Δείγμα Αναφοράς – T)

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η οξείδωση των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος αποτελεί βασικό αίτιο της αθηροσκλήρωσης. Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να επιβραδύνουν αυτή τη διαδικασία, διότι επιβραδύνουν την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών. Ο χρόνος που απαιτείται για την οξείδωσή τους, αποτελεί μέτρο σύγκρισης της αντιαθηρογόνου δράσης. Μεγαλύτερη αντιαθηρογόνο δράση έχει το δείγμα με τον μεγαλύτερο χρόνο λανθάνουσας φάσης (Lag time) ως προς το δείγμα αναφοράς, γιατί αυτό είναι που καθυστέρησε περισσότερο την έναρξη της οξείδωσης.

Οι τρεις διαφορετικές εκδοχές του κρίταμου που χρησιμοποιήθηκαν στο συγκεκριμένο πείραμα, εμφάνισαν αντιαθηρογόνο δράση, εφόσον όλα είχαν μεγαλύτερο Lag time από το δείγμα αναφοράς.

Το δείγμα του Νωπό είναι αυτό που ξεπέρασε τα υπόλοιπα και είχε τον μεγαλύτερο χρόνο λανθάνουσας φάσης. Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 5.3, χρειάζονται λιγότερα μL εκχυλίσματος και mg κρίταμου για να εμφανίσει αντιαθηρογόνο δράση σε σχέση με τις κατεργασμένες μορφές του.

Αυτό σημαίνει πως το Νωπό έχει μεγαλύτερο ποσοστό αντιοξειδωτικών από το γλυκό του κουταλιού και το τουρσί και οι κατεργασίες που γίνονται για να ληφθούν αυτά τα προϊόντα καταστρέφουν ένα μέρος των αντιοξειδωτικών που έχει το φυτό αρχικά, αλλά δεν τα καταστρέφουν ολοκληρωτικά.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το νωπό δείγμα κρίταμου εμφάνισε τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική και αντιαθηρογόνο ικανότητα σε σχέση με το κρίταμο-γλυκό του κουταλιού και το τουρσί.

Η επεξεργασία μπορεί να μεταβάλει τα αντιοξειδωτικά των φρούτων και των λαχανικών. Η θερμική επεξεργασία, τα διάφορα στάδια διαχωρισμού και μουλιάσματος, μπορούν να οδηγήσουν σε οξείδωση, θερμική υποβάθμιση, έκπλυση και σε άλλα γεγονότα τα οποία οδηγούν σε χαμηλότερα επίπεδα αντιοξειδωτικών στα επεξεργασμένα τρόφιμα σε σύγκριση με τα νωπά. Αυτό ισχύει ιδιαίτερα στην περίπτωση της βιταμίνης C και των φαινολικών αντιοξειδωτικών, τα οποία περιέχει και το κρίταμο. (Kalt W. 2005)

Το προϊόν του γλυκού του κουταλιού, όπως και αυτό για το τουρσί βρίσκονται συσκευασμένα σε ένα υδάτινο περιβάλλον προκειμένου να διατηρήσουν τη γεύση και τη διάρκεια ζωής τους. Τα φαινολικά συστατικά όμως του κρίταμου, εφόσον διαθέτουν έναν αρκετά υδρόφιλο χαρακτήρα, απομακρύνονται από το φυτό προς το υδατικό τους περιβάλλον και έτσι παρουσιάζουν μικρότερα ποσοστά φαινολικών, σε σχέση με το νωπό, το οποίο δεν είναι σε επαφή με τέτοιο περιβάλλον (Kalt W. 2005).

Το κρίταμο με τη μορφή τουρσί παρουσίασε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με το κρίταμο με παρασκευή γλυκού του κουταλιού. Αυτό πιθανώς οφείλεται στο ότι το μίγμα του τουρσί περιείχε καρότο, σκόρδο, κρεμμύδι και πιπεριά τα οποία αυξάνουν την αντιοξειδωτική δράση στο κρίταμο τουρσί μέσω μετανάστευσης αντιοξειδωτικών στη μάζα του επεξεργασμένου φυτικού ιστού του κρίταμου, ενώ το σιρόπι του γλυκού δεν περιέχει κάποιο συστατικό που να αυξάνει την αντιοξειδωτική του δύναμη. Αντίθετα η γλυκόζη αποτελεί ένα μόριο που έχει φανεί ότι δρα ως καταλύτης στις οξειδώσεις.

Η συγκέντρωση αλλά και η φύση των βιοδραστικών μορίων επηρεάζουν τις αντιοξειδωτικές ικανότητες. Βέβαια, και τα ίδια τα μόρια μπορούν να επηρεαστούν τόσο από εξωτερικούς παράγοντες όπως ο χρόνος συγκομιδής, οι κλιματικές συνθήκες και η μέθοδος εκχύλισης (θερμοκρασία, χρόνος κ.τλ) όσο και από φυσικούς όπως η πολικότητα των χρησιμοποιούμενων διαλυτών, η δομή των ενώσεων που περιέχονται στο υπό εξέταση δείγμα (δηλαδή οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες). Έτσι, ανάλογα με αυτούς τους παράγοντες τα τρία είδη κρίταμου που εξετάστηκαν μπορεί να διαφέρουν σε σχέση με τη συγκέντρωσή τους σε βιοδραστικές ενώσεις.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

Agudo, A., Cabrera, L., Amiano, P., et al. (2007). Fruit and vegetable intakes, dietary antioxidant nutrients, and total mortality in Spanish adults: Findings from the Spanish cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition

Albert, R. (1977). Salt regulation in halophytes. *Oecologia*, 21, 1:57-71

Alissa, E.M., Ferns, G.A. (2017) Dietary fruits and vegetables and cardiovascular diseases risk. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* ,57(9), pp. 1950-1962. (EPIC-Spain). *Am. J. Clin. Nutr.* 85:1634–1642.

Ames B., Shigenaga M., Hagen T. (1993) Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging – *Proc Natl Acad Sci USA (PNAS)*

Atia A., Barhoumi Z., Mokded R., Abdelly C., Smaoui A. (2011) Environmental eco-physiology and economical potential of the halophyte *Crithmum maritimum L.*(Apiaceae). *Medicinal Plants Research* Vol. 5(16), pp. 3564-3571.

Benzie, I.F.F. and Choi, S.-W. (2014) Antioxidants in food: Content, measurement, significance, action, cautions, caveats, and research needs - *Advances in Food and Nutrition Research*

Ciccarelli1 D., Picciarelli2 P., Bedini1 G. and Sorcel1 C. (2015) Mediterranean sea cliff plants: morphological and physiological responses to environmental conditions - *Journal of Plant Ecology*

Coiffard L., Alliot A. & Piron-Frenet M. (1992). *Seasonal and geographical adaption of crithmum aritimum L.: Variations in inorganic content, Ecology of Food and Nutrition*, 28 4, 261 269

Das S., Mitra I., Batuta S., Niharul Alam M., Roy K., Begum N.A. (2014) Design, synthesis and exploring the quantitative structure-activity relationship of some antioxidant flavonoid analogues- *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*

Hepel M., Andreescu S. (2015) Oxidative Stress and Human Health – *Oxidative Stress:Diagnosics, Prevention and Therapy Volume 2*

Horton R. (2010) Understanding disease, injury, and risk - *The Lancet*

Kalt W. (2005) Effects of Production and Processing Factors on Major Fruit and Vegetable Antioxidants. *Journal of food Science* Vol. 70, Nr. 1

- Ksouri R., Ksouri W.M, Jallali I., Debez A., Magne C., Hiroko I., and Abdely C.** (2011) Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications - *Critical Reviews in Biotechnology*
- Kulisc-Bilusic T., Blazevic I., Dejanovic B., Milos M. , Pifat G.** (2010). Evaluation of the antioxidant activity of essential oils from caper (*Capparis Spinosa*) and sea fennel (*Crithmum maritimum*) by different methods. *Journal of Food Biochemistry* .
- Lichtenstein A., Carson J., Johnson R., Kris-Ertheton P., Pappas A., Stitzel L., Vafiadis D., Fulgoni V** (2014) Food-intake patterns assessed by using front-of-pack labeling program criteria associated with better diet quality and lower cardiometabolic risk – *The American Journal of Clinical Nutrition*
- Males Z., Zuntar I., Nigovic B., Plazibat M., Vundac V.B.** (2003) . Quantitative analysis of the polyphenols of the aerial parts of rock samphire – *Crithmum maritimum L. Acta Pharm.* 53 .
- Meot-Duros L., Magne C.** (2009). Antioxidant activity and phenol content of *Crithmum maritimum L.* leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 47
- Morton L., Cacceta R., Puddey I., Croft K.** (2000) Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease - *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 27, 152–159
- Nabet N., Boudries H., Chougui N, Loupassaki S., Souagui S., Burlo F., Hernadez F., Cardonell-Barrachina A .,Madani K . , Larbat R.**(2016) Biological activities and secondary compound composition from *Crithmum maritimum* aerial parts. *International Journal of Food Properties*.
- Özcan M., Akgül A., Basr K., Özck.T and Tabanca.N** (2001) Essential oil composition of sea fennel (*Crithmum maritimum*) from Turkey. *Nahrung/Food*
- Pateira L., Nogueira T., Antunes A., Vena Ãncio F., Tavares R. and Capelo J** (1999) Two Chemotypes of *Crithmum maritimum L.* from Portugal – *Flavour and Fragrance Journal*
- Pereira C, Barreira L., Neng N., Nogueira J., Marques C., Santos T., Varela J. and Custodio L.** (2017) Searching for new sources of innovative products for the food industry within halophyte aromatic plants: In vitro antioxidant activity and phenolic and mineral contents of infusions and decoctions of *Crithmum maritimum L.* - *Food and Chemical Toxicology*
- Pham-Huy L., He H., Pham-Huy C.** (2008) Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health – *International Journal of Biochemical Science*

Renna M., Rinaldi V., Gonnella M. (2015) The Mediterranean Diet between traditional foods and human health: The culinary example of Puglia (Southern Italy)- *International Journal of Gastronomy and Food Science*

Sikand G, Kris-Etherton P, Boulos N.M . (2015) Impact of Functional Foods on Prevention of Cardiovascular Disease and Diabetes . *Current Cardiology Reports* Volume 17, Issue 6, 1 June, 16p

Siracusa L., Kulisic-Bilusic T., Politeo O., Krause I., Dejanovic B., Ruberto G. (2011) Phenolic composition and antioxidant activity of aqueous infusions from Capparis spinosa L. and Crithmum maritimum L. before and after submission to a two-step in vitro digestion model. - *J Agric Food Chem*

Stanner SA, Hughes J, Kelly CN, Buttriss J.(2003) A review of the epidemiological evidence for the 'antioxidant hypothesis'. *Public Health Nutr* .

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M., Mazur M., Telser J. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease – *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Κουτελιδάκης Α. (2015) Λειτουργικά τρόφιμα: Ο ρόλος τους στην προαγωγή της υγείας *Εκδόσεις ΖΗΤΗ*

Λάζαρη Δ., Τσιφτσόγλου Ο., Μαλούπα Ε. (2015). *Crithmum maritimum L.* (οικογένεια *Apiaceae*): Αλόφυτο στην υπηρεσία της Κοσμητολογίας. *Το καλλυντικό τεύχος* 34

Μαλούπα Ε., Γρηγοριάδου Κ., Λάζαρη Δ., Κρίγκας Ν. (2013) Καλλιέργεια, Μεταποίηση και Διασφάλιση ποιότητας των Ελληνικών Αρωματικών- Φαρμακευτικών φυτών : Βασικές Αρχές καθετοποιημένης παραγωγής. *Εκδόσεις βιβλίων Γεώργιος Κ. Λουπέλης* .

ΒΑΣΕΙΣ ΔΕΛΔΟΜΕΝΩΝ

(ΔΒ1) <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=402237>

(ΔΒ2) <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=browser&id=426077#ct>

(ΔΒ3) <http://www.pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Crithmum+maritimum>

(ΔΒ4) <http://chestofbooks.com/reference/American-Cyclopaedia-10/images/Marsh-Samphire-Salicornia-herbacea.jpg>

(ΔΒ5) <https://www.herbal-supplement-resource.com/rock-samphire-herb-uses.html>