

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΗΡΟΤΡΟΦΙΑΣ ΚΑΙ ΜΕΛΙΣΣΟΚΟΜΙΑΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ:
Επιστήμη και σύγχρονα συστήματα φυτικής παραγωγής
φυτοπροστασίας και αρχιτεκτονικής τοπίου**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΧΡΙΣΤΙΝΑ Γ. ΤΡΑΚΑ

**Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών και
αντιοξειδωτικής δράσης σε πρόπολη διαφόρων περιοχών
της Ελλάδος.**



Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Επιβλέπων: Πασχάλης Χαριζάνης, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Μέλη: Μόσχος Πολυσιού, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Πέτρος Ταραντίλης, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α.

Αθήνα 2012

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η πρόπολη είναι ένα από τα πολυτιμότερα προϊόντα της μέλισσας με πολλές θεραπευτικές ιδιότητες. Έχει αποδειχθεί ότι κατέχει ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δραστηριοτήτων (αντιμικροβιακή, αντιϊική, αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική, κ.λπ.), λόγω των διαφορετικών συστατικών της. Η χημική σύνθεση της πρόπολης είναι ιδιαίτερα μεταβλητή και εξαρτάται κυρίως από την τοπική χλωρίδα.

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός των ολικών πολυφαινολών με τη μέθοδο Folin- Ciocalteu, και εκτιμήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα αιθανολικών εκχυλίσματων πρόπολης με τις μεθόδους DPPH και ABTS, κατά τη διάρκεια δύο περιόδων, από 15 περιοχές της Ελλάδας (Ν. Αρκαδίας (Τρίπολη), Ν. Λακωνίας (Ρηχιά), Ν. Χανίων (Χανιά), Νήσος Χίου (Βαβιλοί), Νήσος Σκόπελος (Σκόπελος), Ν. Βοιωτίας (Πέτρα), Ν. Αττικής (Γ.Π.Α. Βοτανικός), Νήσος Κύθνος (Μέριχας), Ν. Λάρισας (Πλατύκαμπος), Ν. Ιωαννίνων (Ιωάννινα), Ν. Βοιωτίας (Δόμβραινα), Νήσος Κεφαλληνίας (Αργοστόλι), Ν. Πέλλας (Έδεσσα), Ν. Έβρου (Άγιοι Θεόδωροι) και Ν. Εύβοιας (Παγώντας).

Εξετάστηκαν συνολικά 123 δείγματα. Τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικές φαινολικές ενώσεις, παρουσιάζει το δείγμα πρόπολης από την Δόμβραινα Βοιωτίας και τη μικρότερη το δεύτερο δείγμα από την Κύθνο. Τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση και με τις δύο μεθόδους παρουσιάζει το πρώτο δείγμα από την Πέτρα Βοιωτίας. Ενώ τη μικρότερη αντιοξειδωτική δράση παρουσιάζει με τη μέθοδο DPPH το δεύτερο δείγμα από την Σκόπελο ενώ με τη μέθοδο ABTS το δεύτερο δείγμα από την Κύθνο.

ABSTRACT

Propolis (bee glue) is one of the most valuable bee products with healing properties. It has been proven to possess wide range of biological activity (antimicrobial, antiviral, antiinflammatory, antitumor, etc.), due to different propolis constituents. Chemical composition of propolis is highly variable and depends mainly on the local flora.

In this thesis the total polyphenol content was determined, by Folin-Ciocalteu method, and evaluated the antioxidant capacity of propolis ethanol extracts by the methods DPPH and ABTS, during two periods, from 15 regions of Greece (region of Arcadia (Tripoli), region of Lakonia (Richia), island of Crete (Chania), island of Chios (Vavili), island of Skopelos (Skopelos), region of Biotia (Petra), region of Attici (A.U.A Botanikos), island of Kithnos (Merichas), region of Larisa (Platikambos), region of Ioannina (Ioannina), region of Biotia (Domvrena), island of Kefalonia (Argostoli), region of Pella (Edessa), region of Evro (Agioi Theodori) και region of Evia (Pagodas)).

A total of 123 samples were examined. The highest content of total phenolic compounds present in propolis sample were from Domvrena Biotias and the smaller the second sample from Kythnos. The highest antioxidant activity in both methods shows the first sample from Petra Biotias. While the smaller antioxidant activity with method DPPH posses the second sample from Skopelos and with method ABTS the second sample from Kythnos.

Περιεχόμενα

Πρόλογος.....	6
Κεφάλαιο 1 ^ο Εισαγωγή.....	8
1.1 Η μελισσοκομία στην Ελλάδα.....	8
1.1.1 Μέλι.....	8
1.1.2 Κερί.....	8
1.1.3 Βασιλικός πολτός.....	9
1.1.4 Γύρη.....	9
1.1.5 Πρόπολη.....	9
1.1.6 Δηλητήριο.....	10
1.1.7 Επικονίαση.....	10
1.2 Η μελισσοκομία στην Ευρωπαϊκή Ένωση και στον κόσμο.....	10
1.3 Προϊόντα της κυψέλης και οι χρήσεις τους.....	12
1.3.1 Μέλι.....	12
1.3.2 Κερί.....	14
1.3.3 Γύρη.....	14
1.3.4 Βασιλικός πολτός.....	15
1.3.5 Δηλητήριο.....	16
Κεφάλαιο 2 ^ο Η πρόπολη.....	17
2.1 Από την ιστορία της πρόπολης.....	18
2.2 Προέλευση της πρόπολης.....	19
2.3 Συλλογή πρόπολης.....	20
2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τη συλλογή πρόπολης.....	21
2.5 Καθαρισμός πρόπολης.....	22
2.6 Συσκευασία και αποθήκευση της πρόπολης.....	22
2.7 Βοτανική προέλευση της πρόπολης.....	23
2.7.1 Πηγές πρόπολης στην εύκρατη ζώνη.....	24
2.7.2 Πηγές πρόπολης στην τροπική ζώνη.....	24
2.8 Χημική σύνθεση της πρόπολης.....	25
2.9 Κύρια συστατικά της πρόπολης από την Ελλάδα.....	27
2.9. 1 Φαινολικά συστατικά.....	30
2.9. 2 Τερπενικά οξέα.....	30
2.10 Βιολογική αξία της πρόπολης.....	32

2.10.1 Αντιοξειδωτική δράση της πρόπολης.....	32
2.10.2 Αντιβακτηριακή δράση της πρόπολης.....	34
2.10.3 Αντιϊική δράση της πρόπολης.....	35
2.10.4 Αντιμυκητιακή δράση της πρόπολης.....	35
2.10.5 Αντιπαρασιτική δράση της πρόπολης.....	36
2.10.6 Αντικαρκινική δράση της πρόπολης.....	36
2.10.7 Αντιφλεγμονώδης δράση της πρόπολης.....	38
2.10.8 Ηπατοπροστατευτική δράση της πρόπολης.....	39
2.11 Αλλεργικά φαινόμενα.....	40
2.12 Τοξικότητα της πρόπολης.....	40
2.13 Χρήσεις της πρόπολης.....	40
Κεφάλαιο 3 ^ο Πειραματικό μέρος.....	42
3.1 Συλλογή ακατέργαστης πρόπολης.....	42
3.2 Εκχύλιση της πρόπολης.....	44
3.3 Μελέτη προσδιορισμού του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.....	44
3.4 Μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας.....	47
3.4.1 Μελέτη αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH).....	48
3.4.2 Μελέτη αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS ^{•+}).....	50
Κεφάλαιο 4 ^ο Αποτελέσματα.....	54
4.1 Προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu.....	54
4.2 Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH).....	55
4.3 Μελέτη αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS ^{•+}).....	55
4.4 Μετρήσεις από κάθε περιοχή.....	56
4.4.1 Δείγματα Ν. Αρκαδίας (Τρίπολη).....	57
4.4.2 Δείγματα Ν. Λακωνίας (Ρηχιά).....	59
4.4.3 Δείγματα Ν. Χανίων (Γαλατάς).....	61
4.4.4 Δείγματα Νήσου Χίου (Βαβίλοι).....	63
4.4.5 Δείγματα Νήσου Σκοπέλου (Σκόπελος).....	65
4.4.6 Δείγματα Ν. Βοιωτίας (Πέτρα).....	68

4.4.7 Δείγματα Ν. Αττικής (Γ.Π.Α. Βοτανικός)	71
4.4.8 Δείγματα Νήσου Κύθνος (Μέριχας)	73
4.4.9 Δείγματα Ν. Ιωαννίνων (Ιωάννινα)	75
4.4.10 Δείγματα Ν. Λάρισας (Πλατύκαμπος).....	77
4.4.11 Δείγματα Ν. Βοιωτίας (Δόμβραινα).....	79
4.4.12 Δείγματα Νήσου Κεφαλληνίας (Αργοστόλι)	81
4.4.13 Δείγματα Ν. Έβρου (Άγιοι Θεόδωροι).....	83
4.4.14 Δείγματα Ν. Πέλλας (Έδεσσα) και Ν. Φλωρίνης (Φλώρινα)	85
4.4.15 Δείγματα Ν. Εύβοιας (Παγώντας)	87
Κεφάλαιο 5 ^ο Συζήτηση.....	89
5.1 Συγκεντρωτικά αποτελέσματα	89
5.1.1 Μέθοδος Folin – Ciocalteu.....	90
5.1.2 Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH.....	91
5.1.3 Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο ABTS	92
5.2 Σύγκριση των μεθόδων DPPH και ABTS.....	93
5.3 Αποτελέσματα σε σταθερά μελισσοκομεία.....	96
5.4 Συσχέτιση των μεθόδων	98
Κεφάλαιο 6 ^ο Συμπεράσματα.....	102
Βιβλιογραφία	105
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	109

Πρόλογος

Η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Διπλώματος « Επιστήμη και σύγχρονα συστήματα φυτικής παραγωγής φυτοπροστασίας και αρχιτεκτονικής τοπίου» στην κατεύθυνση «Φυτοπροστασία και περιβάλλον» στο Εργαστήριο Σηροτροφίας και Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών κατά το ακαδημαϊκό έτος 2010-2011, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Γ.Π.Α. Πασχάλη Χαριζάνη.

Σε αυτό το κομμάτι θα ήθελα να ευχαριστήσω μέσα από την ψυχή μου όλους τους ανθρώπους που συνέβαλλαν με τον ένα ή τον άλλο τρόπο στην πραγματοποίηση αυτής της μελέτης.

Κατά κύριο λόγο θερμές ευχαριστίες οφείλω στον επιβλέποντα Καθηγητή κ. Πασχάλη Χαριζάνη, για την ανάθεση αυτής της μελέτης, την καθοδήγηση του, την ανάγνωση και διόρθωση της μελέτης αυτής, καθώς και για την πολύτιμη βοήθεια του και την ηθική στήριξη και συμπαράσταση που μου προσέφερε, σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στο Δημήτρη Λαζαράκη για την συλλογή των δειγμάτων τόσο στο μελισσοκομείο του Γ.Π.Α. όσο και στο προσωπικό του μελισσοκομείο στη Ρηχιά Λακωνίας. Επίσης θα ήθελα να τον ευχαριστήσω και για την ηθική στήριξη και συμπαράσταση που μου προσέφερε, σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και στα υπόλοιπα μέλη της συμβουλευτικής μου επιτροπής Καθηγητή κ. Μόσχο Πολυσιού και τον Επίκουρο Καθηγητή Πέτρο Ταραντίλη, για τις πολύτιμες συμβουλές και υποδείξεις τους καθώς και για την ανάγνωση και διόρθωση της μελέτης αυτής.

Τις θερμότερες μου ευχαριστίες θα ήθελα να αποδώσω στην υποψήφια διδάκτορα Ειρήνη Αναστασάκη για τη βοήθειά της, σε όλη τη διάρκεια της μεταπτυχιακής μου εργασίας και κυρίως κατά την εκπόνηση του πειραματικού μέρους. Θεωρώ ότι η συμβολή της, συνέβαλε καθοριστικά στην ολοκλήρωση της διατριβής μου.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους παραγωγούς για την προμήθεια των δειγμάτων πρόπολης, που παραχώρησαν αφιλοκεδώς και συγκεκριμένα τον κ. Σωτήριο Ρουμελιώτη (Ν. Αρκαδίας), τον κ. Νίκο Ορφανουδάκη (Ν. Χανίων), τον κ. Στέλιο Καμπούρη (Νήσος Χίου), τον κ. Σπυρίδων Κοσμά (Νήσος Σκοπέλου), τον κ. Παναγιώτη Αδάμο (Ν. Βοιωτίας), τον κ. Φίλιππο Πατέστο (Νήσος Κύθνου), τον κ. Απόστολο Παππά (Ν. Ιωαννίνων), τον κ. Ευάγγελο Καλαντζή (Ν. Λαρίσης), τον κ. Αθανάσιο Αθανασάκη (Νήσος Κεφαλληνίας), τον κ. Σεραφείμ Γκίκα (Ν. Βοιωτίας), τον κ. Γεώργιο Ναζίρη (Ν. Έβρου), τον κ. Δημήτριο Ρουμελιώτη (Νήσος Εύβοιας), τους κ. Σταύρο Ρέπα, κ. Φώτη Δασκαλόπουλο και κ. Ιωάννη Γιάννου (Ν. Πέλλας). Χωρίς την ευγενική τους προσφορά και την συνεργασία τους η εκπόνηση αυτής της μελέτης θα ήταν αδύνατη.

Η εκπόνηση της μελέτης αυτής θα ήταν σίγουρα πιο κουραστική και λιγότερο ευχάριστη αν δεν είχα στο πλευρό μου τους καλούς μου φίλους και «βοηθούς» τους προπτυχιακούς φοιτητές Αγγελική Πανταλέου, Αλεξόπουλο Παναγιώτη, Μαυρονάσιο Δημήτριο και Ελισάβετ Ιωάννα Ταμπαξή, τους

οποίους ευχαριστώ τόσο για τη βοήθειά τους όσο και για την παρέα, τη φιλία και την αγάπη τους.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Ελένη Μηλιώτη καθώς και όλο το προσωπικό του εργαστηρίου που ήταν πρόθυμο να με βοηθήσει σε ότι πρόβλημα προέκυπτε.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους του περιβάλλοντός μου για την συμπαράσταση, εμπύχωση και στήριξή τους καθ' όλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Κεφάλαιο 1^ο

Εισαγωγή

Η μέλισσα φαίνεται ότι προϋπήρχε στον πλανήτη πολύ πριν εμφανισθεί ο άνθρωπος. Οι πρωτόγονοι άνθρωποι έπαιρναν το μέλι από τις φωλιές των μελισσών που βρίσκονταν σε κουφάλες δέντρων ή σε σχισμές βράχων. Η μελισσοκομία ξεκίνησε όταν ο άνθρωπος έμαθε να εξασφαλίζει το μέλλον μιας αποικίας που έβρισκε, με κατάλληλες φροντίδες και επίβλεψη. Έτσι σταδιακά δημιουργήθηκαν οι κυψέλες. Έπειτα για μεγαλύτερη ασφάλεια και άνεση οι κυψέλες συγκεντρώνονταν σε ένα χώρο (μελισσοκομείο). Εκτός από το μέλι υπάρχουν και άλλα μελισσοκομικά προϊόντα όπως κεριά, βασιλικός πολτός, γύρη, πρόπολη και δηλητήριο. Τα προϊόντα αυτά έχουν μικρή συμμετοχή στο εισόδημα η οποία όμως θα μπορούσε να αυξηθεί και να το διαμορφώσει διαφορετικά.

1.1 Η μελισσοκομία στην Ελλάδα

Σύμφωνα με τις τελευταίες απογραφές του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων η ελληνική μελισσοκομία αριθμεί περίπου 1,5 εκατομμύριο μελίσσια. Η μελισσοκομία είναι διαδεδομένη σε όλη τη χώρα, υπάρχουν όμως και περιοχές με αυξημένο μελισσοκομικό ενδιαφέρον όπως η Στερεά Ελλάδα, η Κεντρική Μακεδονία, η Πελοπόννησος και η Κρήτη (Πίν. 1).

Ένα μεγάλο ποσοστό του συνόλου των μελισσοκόμων (45%) είναι μέλη συνεταιριστικών οργανώσεων. Το μεγαλύτερο μέρος των συνεταιρισμών είναι μέλη της Κοινοπραξίας Μελισσοκομικών Συνεταιρισμών Ελλάδας. Επιπλέον 30 περίπου μελισσοκομικοί σύλλογοι υπάγονται στην Ομοσπονδία Μελισσοκομικών Συλλόγων Ελλάδος. Τέλος αρχίζουν να δημιουργούνται ομάδες παραγωγών σε διάφορα μέρη της Ελλάδος.

1.1.1 Μέλι

Η συνολική ετήσια παραγωγή μελιού στην Ελλάδα κυμαίνεται από 12.000 – 17.000 τόνους. Το μεγαλύτερο ποσοστό (60%) προέρχεται από πεύκο και έλατο, και μετά ακολουθεί το θυμαρίσιο μέλι (15%) και από άλλα άνθη (25%) (βαμβάκι, πορτοκαλιά, ρείκι, ηλιάνθο κλπ.).

1.1.2 Κερί

Η παραγωγή κεριού για τα έτη 2003, 2004 και 2005 ήταν 402, 407 και 432 τόνοι αντίστοιχα σύμφωνα με την Εθνική Στατιστική Υπηρεσία της Ελλάδος. Η ποσότητα αυτή καλύπτει περίπου το 45% των αναγκών της χώρας μας, το υπόλοιπο εισάγεται από άλλες χώρες και κυρίως από την Κίνα (Χαριζάνης, 2010).

Πίνακας 1: Κατανομή μελισσοκομικών μονάδων και μελισσιών κατά γεωγραφικό διαμέρισμα (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων, 2005).

Περιφέρεια	Μελισσοκομικές μονάδες		Μελίσσια	
	Αριθμός	(%)	Αριθμός	(%)
Αν. Μακεδονία & Θράκη	1.658	8,7	120.854	8,2
Κεντρική Μακεδονία	2.622	13,8	277.371	18,6
Δυτική Μακεδονία	481	2,5	23.464	1,6
Θεσσαλία	1.492	7,8	129.381	8,8
Ήπειρος	1.143	6,0	55.380	3,8
Ιόνια Νησιά	605	3,2	32.512	2,2
Δυτική Ελλάδα	1.724	9,1	80.145	5,5
Στερεά Ελλάδα	2.724	14,3	218.628	14,9
Πελοπόννησος	2.251	11,8	197.367	13,4
Βόρειο Αιγαίο	542	2,8	41.061	2,8
Νότιο Αιγαίο	867	4,6	51.812	3,5
Κρήτη	2.300	12,1	201.600	13,7
Αττική	631	3,3	39.730	2,7
Σύνολο :	19.040		1.496.305	

1.1.3 Βασιλικός πολτός

Δεν υπάρχουν επίσημα στοιχεία για την ετήσια συνολική παραγωγή, υπολογίζεται όμως ότι είναι περίπου 400 – 600 kg. Χώρες όπως η Κίνα παράγουν τεράστιες ποσότητες. Σε διεθνή διάσκεψη, εκπρόσωπος του Υπουργείου Γεωργίας της Κίνας ανέφερε ότι η παραγωγή βασιλικού πολτού για το 2007 ήταν 2.000 τόνοι. Η τιμή του στην Ελλάδα είναι αρκετά υψηλή και τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αθρόα εισαγωγή βασιλικού πολτού από την Κίνα σε πολύ χαμηλή τιμή (Χαριζάνης, 2010).

1.1.4 Γύρη

Δεν υπάρχουν στοιχεία για την ετήσια συνολική παραγωγή γύρης στην Ελλάδα. Παρόλα αυτά τα τελευταία χρόνια παρατηρείται ότι συλλέγονται αρκετοί τόνοι γύρης κάθε χρόνο για παρασκευή τροφής για της μέλισσες και για πώληση ως βιταμινούχο συμπλήρωμα για τον άνθρωπο (Χαριζάνης, 2010).

1.1.5 Πρόπολη

Στην Ελλάδα δεν συλλέγονται μεγάλες ποσότητες πρόπολης και δεν υπάρχουν στοιχεία για την συνολική ετήσια παραγωγή. Στην Νορβηγία, Δανία, Ρουμανία, και χώρες της πρώην Σοβιετικής Ένωσης παράγονται μεγαλύτερες ποσότητες. Χρησιμοποιείται στη βιομηχανία φαρμάκων και καλλυντικών (Χαριζάνης, 2010).

1.1.6 Δηλητήριο

Χρησιμοποιείται στη φαρμακοβιομηχανία. Στην Ελλάδα δε γίνεται συλλογή δηλητηρίου μέχρι σήμερα (Χαριζάνης, 2010).

1.1.7 Επικονίαση

Η επικονίαση αποτελεί τη βασική προσφορά της μέλισσας τόσο στα φυσικά οικοσυστήματα όσο και στη γεωργία και είναι βασική προϋπόθεση για την επιβίωση των φυτών. Αν δεν υπήρχαν οι μέλισσες, θα κινδύνευε η αναπαραγωγή των μελιτόφιλων ειδών, η ικανότητά τους να καρποφορούν και ως εκ τούτου και η επιβίωσή τους. Ως αίτιο της μη κανονικής παραγωγής ορισμένων φυτών και δένδρων είναι η σταδιακή μείωση του αριθμού των εντόμων επικονιαστών (εκχερνώσεις, πυρκαγιές, χρήση ζιζανιοκτόνων κ.ά.). Εκτός από την ποσότητα των καρπών και των σπόρων που παράγονται, μια καλή επικονίαση επηρεάζει θετικά και την ποιότητα αυτών (μέγεθος, γεύση, κ.ά.). Τα τελευταία χρόνια, βλέπουμε ότι πολλοί καλλιεργητές συνεργάζονται με μελισσοκόμους, με σκοπό την εξασφάλιση οικονομικού οφέλους και για τους δύο. Υπολογίζεται ότι υπάρχει οικονομικό όφελος 150 φορές μεγαλύτερο από την επικονίαση των φυτών από τη συνολική αξία των άλλων μελισσοκομικών προϊόντων που παράγονται. Εκτός όμως από τα καλλιεργούμενα φυτά, η μέλισσα φαίνεται ότι έχει παίξει και σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της άγριας χλωρίδας. Αυτό πιστεύεται γιατί καθώς εξελίσσεται μια φυτοκοινωνία, υπερισχύουν τα φυτά που εξαρτάται η επικονιάσή τους από την μέλισσα (Χαριζάνης, 2010, Clement, 2002).

1.2 Η μελισσοκομία στην Ευρωπαϊκή Ένωση και στον κόσμο

Η Ελλάδα κατέχει τη δεύτερη θέση σε μελίση με ποσοστό 10,8% μετά την Ισπανία (17,1%) στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Ο πίνακας 2 παρουσιάζει τον αριθμό των μελισσιών των 27 χωρών της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Βλέποντας όμως και την έκταση που καταλαμβάνουν τα μελίση αυτά σε σχέση με την έκταση της κάθε χώρας, η Ελλάδα προηγείται με 11,1 μελίση ανά Km² από όλες τις ευρωπαϊκές χώρες και έπονται η Ουγγαρία (9,7), η Σλοβενία (8,4), η Τσεχία (6,7) κλπ.

Στον πίνακα 3 βλέπουμε την παραγωγή μελιού κατά ηπείρους. Τα έτη 2003-2007, η ήπειρος με τη μεγαλύτερη παραγωγή μελιού στον κόσμο είναι η Ασία ακολουθούμενη από την Ευρώπη και την Αμερική. Όσο αφορά το εμπόριο μελιού η Αργεντινή είναι ο μεγαλύτερος εξαγωγέας στον κόσμο μπροστά από την Κίνα ενώ η Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ) είναι ο μεγαλύτερος εισαγωγέας. Η παγκόσμια παραγωγή μελιού έφτασε στους 1.438.000 τόνους το 2006. Κατά την περίοδο 2003-2006 παρατηρήθηκε αύξηση κατά 7,8%, ενώ από το 1996 έχει αυξηθεί κατά 25%.

Πίνακας 2: Αριθμός μελισσιών ανά χώρα (με σειρά μεγέθους) και η πυκνότητα μελισσιών στην Ευρωπαϊκή Ένωση των 27 (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2007).

α/α	Χώρα	Αριθμός μελισσιών	Ποσοστό της Ε.Ε.	Έκταση km ²	Μελίσσια ανά km ²
1	Ισπανία (ES)	2.320.949	17,1	504.030	4,6
2	Ελλάδα (EL)	1.467.690	10,8	131.990	11,1
3	Γαλλία (FR)	1.360.973	10,0	547.030	2,5
4	Ιταλία (IT)	1.157.333	8,5	301.338	3,8
5	Πολωνία (PL)	1.091.930	8,0	312.679	3,5
6	Ρουμανία (RO)	975.062	7,2	238.391	4,1
7	Ουγγαρία (HU)	900.000	6,6	93.030	9,7
8	Γερμανία (DE)	751.000	5,5	357.021	2,1
9	Βουλγαρία (BG)	671.674	4,9	110.910	6,1
10	Πορτογαλία (PT)	555.049	4,1	92.345	6,0
11	Τσεχία (CZ)	525.560	3,9	78.866	6,7
12	Αυστρία (AT)	311.000	2,3	83.872	3,7
13	Μ. Βρετανία (UK)	274.000	2,0	244.820	1,1
14	Σλοβακία (SK)	246.259	1,8	49.035	5,0
15	Σλοβενία (SL)	170.682	1,3	20.273	8,4
16	Δανία (DK)	170.000	1,2	43.098	3,9
17	Σουηδία (SE)	150.000	1,1	449.964	0,3
18	Βέλγιο (BE)	110.000	0,8	32.528	3,4
19	Λιθουανία (LT)	85.015	0,6	65.200	1,3
20	Ολλανδία (NL)	80.000	0,6	41.526	1,9
21	Λετονία (LV)	62.200	0,5	64.589	1,0
22	Φινλανδία (FI)	56.000	0,4	338.145	0,2
23	Κύπρος (CY)	44.338	0,3	9.251	4,8
24	Εσθονία (EE)	33.000	0,2	45.228	0,7
25	Ιρλανδία (IE)	22.000	0,2	70.273	0,3
26	Λουξεμβούργο (LU)	9.267	0,1	2.586	3,6
27	Μάλτα (MT)	1.938	0,01	316	6,1
Σύνολο:		13.602.719			

Από το 2004, η ΕΕ έχει γίνει ο δεύτερος μεγαλύτερος παραγωγός στον κόσμο, ως συνέπεια της διεύρυνσης με τα 10 νέα κράτη μέλη. Το 2005, η ΕΕ παρήγαγε 174.000 τόνους μελιού, (δηλαδή το 12% της παγκόσμιας παραγωγής), ενώ η Κίνα σταθεροποιήθηκε στη θέση του μεγαλύτερου παραγωγού παγκοσμίως με την παραγωγή της να ανέρχεται στους 305.000 τόνους, που σημαίνει αύξηση κατά 20% από το 2001. Οι άλλοι κυριότεροι παραγωγοί είναι οι Ηνωμένες Πολιτείες και η Αργεντινή με την παραγωγή τους να ανέρχεται στους 85.000 τόνους για κάθε μια από αυτές.

Ο συνολικός αριθμός των μελισσοκόμων στην Κοινότητα ανέρχεται σε 593.000, εκ των οποίων οι 17.986 είναι επαγγελματίες (τουλάχιστον 150

μελίσις). Από το συνολικό αριθμό των μελισσιών (13.602.719), τα 4.321.901 ανήκουν σε επαγγελματίες μελισσοκόμους. Δηλαδή το 3% των επαγγελματιών μελισσοκόμων, κατέχουν το 32% των μελισσιών (Χαριζάνης, 2010).

Πίνακας 3: Η παγκόσμια παραγωγή μελιού κατά ήπειρο και σειρά μεγέθους παραγωγής σε χιλιάδες τόνους (Πηγή: F.A.O.).

Ήπειρος	2003	2004	2005	2006	2007	Μέσος όρος	%
Ασία	513	519	542	558	248	476,0	35,9
Ευρώπη	317	337	343	353	321	334,2	25,2
Αμερική	322	330	345	334	314	329,0	24,9
Αφρική	153	156	155	164	161	157,8	11,9
Ωκεανία	29	26	27	29	28	27,8	2,1
Κόσμος	1.334	1.368	1.410	1.438	1.073	1.324,6	100,0

1.3 Προϊόντα της κυψέλης και οι χρήσεις τους

Τα προϊόντα της κυψέλης είναι το μέλι, η γύρη, ο βασιλικός πολτός, το κερι, το δηλητήριο και φυσικά η πρόπολη. Στο σημείο αυτό περιγράφονται τα προϊόντα αυτά και οι χρήσεις τους εκτός από την πρόπολη, για την οποία γίνεται εκτενέστερη αναφορά στο κεφάλαιο 2.

1.3.1 Μέλι

Μέλι, είναι η φυσική γλυκιά ουσία που παράγεται από τις μέλισσες του είδους *Apis mellifera*. Οι μέλισσες για να παράγουν μέλι χρησιμοποιούν ανθικό νέκταρ ή μελίτωμα που προέρχεται από τις εκκρίσεις που αφήνουν πάνω στα φυτά τα μυζητικά έντομα. Τις ουσίες αυτές τις μεταποιούν, τις εμπλουτίζουν με δικές τους ουσίες και τις αποθηκεύουν στις κηρήθρες τους. Η συμπύκνωση του νέκταρος και των γλυκών εκκριμάτων γίνεται κατά την επεξεργασία τους στα στοματικά μόρια των οικιακών μελισσών και μέσα στα ανοιχτά κελιά. Έτσι όταν το μέλι των κελιών είναι πλέον ώριμο οι μέλισσες το σφραγίζουν με κερι (εικ. 1).

Οι μέλισσες είναι ικανές να ενσωματώνουν τις διάφορες γεύσεις μέσα στο μέλι, γιατί το νέκταρ περιέχει αρωματικές ουσίες οι οποίες διατηρούνται στο μέλι παρά την πάροδο του χρόνου. Αυτό εξηγεί γιατί υπάρχουν τόσες πολλές διαφορετικές γεύσεις μελιού. Κάθε άνθος που έχει τρυγηθεί αφήνει στο μέλι την ταυτότητά του (εικ. 2), μέσα από τις ζάχαρες του νέκταρός του, αλλά κυρίως των ιχνοστοιχείων (χρωστικές, αρώματα κ.ά.).



Εικόνα 1: Ωριμο σφραγισμένο μέλι.

Ένα ώριμο μέλι μπορεί να περιέχει πάνω από είκοσι διαφορετικά σάκχαρα. Η φρουκτόζη και η γλυκόζη είναι τα κύρια σάκχαρα του μελιού. Επίσης το μέλι περιέχει σε μικρότερες ποσότητες σακχαρόζη, δισακχαρίτες και ανώτερα σάκχαρα. Η ισορροπία ανάμεσα στα δύο κυρίαρχα σάκχαρα (φρουκτόζη, γλυκόζη) καθορίζει την ταχύτητα κρυστάλλωσης του μελιού. Αν σε ένα μέλι υπερισχύει η γλυκόζη, τότε το μέλι αυτό κρυσταλλώνει γρήγορα, ενώ το αντίθετο ισχύει στην περίπτωση που υπερισχύει η φρουκτόζη.

Το μέλι χρησιμοποιείται στην διατροφή του ανθρώπου είτε ως έχει είτε σαν υλικό κάποιας συνταγής. Χρησιμοποιείται πολύ στη ζαχαροπλαστική για την παρασκευή διαφόρων γλυκισμάτων καθώς και στην αρτοποιία για την παρασκευή ψωμιού με μέλι. Επίσης παρασκευάζονται και κρασιά χρησιμοποιώντας σαν πρώτη ύλη το μέλι.

Εκτός από τις προφανείς χρήσεις του μελιού, το συναντάμε επίσης και στη φαρμακευτική για την παρασκευή διαφόρων σκευασμάτων, όπως αντιβηχικά σιρόπια κλπ. Επίσης το μέλι είναι άριστο καρδιοτονωτικό, και αποτελεί ιδανικό καύσιμο για τους αθλητές πριν από μια έντονη και παρατεταμένη προσπάθεια. Το μέλι σε συνδυασμό με τη γύρη και την πρόπολη χρησιμοποιείται στα πλαίσια της «μελισσοθεραπείας» για διάφορες παθήσεις όπως πεπτικές, αναπνευστικές, καρδιοαγγειακές κ.ά. (Χαριζάνης, 1996, Clement, 2002).



Εικόνα 2: Μέλια διαφορετικής βοτανικής προέλευσης.

1.3.2 Κερί

Το κερί συντίθεται από τέσσερα ζεύγη κηρογόνων αδένων που βρίσκονται κάτω στην κοιλιακή χώρα της μέλισσας και βγαίνει από τους δακτύλιους της κοιλιάς. Οι αδένες αυτοί υπάρχουν μόνο στις νεαρές εργάτριες και παράγουν το μέγιστο ανάμεσα στη 12^η και 18^η ημέρα της ζωής τους. Οι μέλισσες συνθέτουν το κερί καταναλώνοντας νέκταρ ή μέλι και μία μικρή ποσότητα πρωτεϊνών. Για να παραχθεί 1 κιλό κερί, οι μέλισσες καταναλώνουν κατά μέσο όρο 8,5 κιλά μέλι. Το καθαρό κερί, όπως είναι στα λέπια που εκκρίνουν οι μέλισσες, έχει χρώμα άσπρο και είναι ελαφρά διαφανές. Το κίτρινο χρώμα του στις κηρήθρες οφείλεται στα λιποδιαλυτά καροτινοειδή που προσθέτουν οι μέλισσες. Το κερί συλλέγεται από το λιώσιμο των παλιών κηρηθρών.

Το κερί έχει πολλές πρακτικές εφαρμογές. Οι σπουδαιότερες χρήσεις του είναι:

1. Η παρασκευή καλλυντικών. Παράγονται κρέμες προσώπου και χεριών, αλοιφές, λοσιόν, κραιγιόν και ρούζ.
2. Η παρασκευή λαμπάδων και κεριών.
3. Η κατασκευή φύλλων κηρήθρας.
4. Στη φαρμακοβιομηχανία για αλοιφές, επίχρισμα χαπιών κλπ.
5. Στη ζωγραφική τέχνη (π.χ. εγκαυστική ζωγραφική).
6. Άλλες χρήσεις: οδοντοτεχνική, χυτήρια για κατασκευή καλουπιών, μονωτικό υλικό, παρκέ δαπέδων, επίπλων και αυτοκινήτων, κατασκευή δοξαριών (τόξων), στη σαγματοποιία (κατασκευή σαμαριών), εξοπλισμοί κ.λ.π. (Χαριζάνης, 1996, Clement, 2002).

1.3.3 Γύρη

Η γύρη έχει μεγάλη σημασία στην επικοινωνία των λουλουδιών και χρησιμοποιείται στη διατροφή της μέλισσας, σαν πηγή πρωτεϊνών, λιπών, βιταμινών και ανόργανων αλάτων (εικ. 3). Η μέλισσα κινείται μέσα στο άνθος ενώ ταυτόχρονα με τα στοματικά της όργανα δουλεύει τους ανθήρες με σκοπό να πέσει η γύρη πάνω στο σώμα της. Όταν καλυφθεί ολόκληρη από γύρη, βουρτσίζεται μεθοδικά με τα πόδια της και συγκεντρώνει όλη την γύρη στα καλάθια γύρης που βρίσκονται στο τρίτος ζεύγος ποδιών της. Η γύρη λόγω της σύνθεσής της τονώνει τις φυσικές άμυνες του ανθρώπινου οργανισμού (προστασία από βακτήρια και ιούς) και συστήνεται ως τονωτικό σε περιπτώσεις κοπώσεων και εξασθένησης. Βοηθάει επίσης στην ρύθμιση του μεταβολισμού που διέπει τις εντερικές λειτουργίες. Στη «μελισσοθεραπεία» χρησιμοποιείται σε παθήσεις του ήπατος, του νευρικού συστήματος, του ουρογεννητικού κ.ά. (Clement, 2002). Η γύρη χρησιμοποιείται και για άλλους σκοπούς όπως (Χαριζάνης, 1996):

1. Προγράμματα βελτίωσης φυτών.
2. Επικοινωνία φρούτων και λαχανικών.
3. Έρευνα για τις αλλεργίες.
4. Κατασκευή υποκατάστατων γύρης για τη διατροφή των μελισσών.

5. Διατροφή του ανθρώπου (υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, ανόργανα άλατα, ιχνοστοιχεία και βιταμίνες) και οικιακών ζώων.
6. Βιομηχανία καλλυντικών.
7. Φαρμακοβιομηχανία.



Εικόνα 3 : Παγίδα συλλογής γύρης.

1.3.4 Βασιλικός πολτός

Ο βασιλικός πολτός παράγεται στους υποφαρυγγικούς αδένες των νεαρών εργατριών. Με βασιλικό πολτό τρέφονται όλες οι προνύμφες κατά τη διάρκεια των τριών πρώτων ημερών της ζωής τους. Από εκεί και μετά μόνο οι προνύμφες της βασίλισσας τρέφονται με βασιλικό πολτό (Χαριζάνης, 1996).

Ο βασιλικός πολτός έχει χρώμα λευκό προς το κίτρινο, είναι κρεμώδης, και έχει ιδιάζουσα οσμή και μια ιδιαίτερα στυφή γεύση (εικ. 4). Αποτελείται από γλυκίδια, λιπίδια, πρωτεΐδια νερό και ιχνοστοιχεία.



Εικόνα 4 : Βασιλικό κελί που περιέχει την προνύμφη και βασιλικό πολτό.

Ο βασιλικός πολτός αποτελεί μέρος διατροφικών συμπληρωμάτων. Είναι ένα ισχυρό αναζωογονητικό, που μπορεί να επιδράσει σε ζωτικές λειτουργίες του ανθρώπινου οργανισμού. Τονώνει την ψυχική διάθεση και βοηθάει στην

αντιμετώπιση της σωματικής και της νευρικής κόπωσης. Στα πλαίσια της «μελισσοθεραπείας» χρησιμοποιείται προληπτικά για ρευματικές παθήσεις και παθήσεις του αναπνευστικού αλλά και για καρδιο-αγγειακές παθήσεις (Clement, 2002).

1.3.5 Δηλητήριο

Το δηλητήριο της μέλισσας παράγεται στον αδένα του δηλητηρίου, αποθηκεύεται στο σάκο (κύστη) του δηλητηρίου και εκτοξεύεται μέσω του κεντρίου κατά το τσίμπημα. Μόνο τα θηλυκά άτομα παράγουν δηλητήριο. Η παραγωγή του δηλητηρίου αρχίζει κατά την εκκόλαψη ή λίγο πριν την εκκόλαψη της εργάτριας. Η ποσότητα του δηλητηρίου μέσα στο σάκο αυξάνει κάθε μέρα, για να φθάσει στη μέγιστη ποσότητα (0,3 mg), όταν έχει ηλικία 12 περίπου ημερών. Το δηλητήριο σταματάει να παράγεται στην ηλικία των 20 περίπου ημερών.

Το δηλητήριο (εικ. 5) έχει φανεί πολύ χρήσιμο στη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και στην απευαισθητοποίηση ατόμων που είναι υπερευαίσθητα στο τσίμπημα των μελισσών. Η ιδέα αυτή θεραπείας της ρευματοειδούς αρθρίτιδας είναι πολύ παλιά και βασίζεται κατά ένα μέρος στο γεγονός ότι οι μελισσοκόμοι σπάνια πάσχουν από την πάθηση αυτή (Χαριζάνης, 1996). Όμως εξακολουθεί να μην είναι γνωστοί οι μηχανισμοί της επίδρασης του δηλητηρίου στις ρευματικές παθήσεις. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι το δηλητήριο της μέλισσας μειώνει τις θανατηφόρες επιπτώσεις των ακτινών Χ. χρησιμοποιείται από τη χημική βιομηχανία ως βασικό στοιχείο στην παραγωγή της φωσφολιπάσης, που είναι ένα πολύ δραστικό πεπτικό (Clement et al., 2002). Στη «μελισσοθεραπεία» συνιστάται ενάντια και σε αυτό-άνοσες ασθένειες, όπως η σκλήρυνση κατά πλάκας.



Εικόνα 5: Δηλητήριο σε κεντρί μέλισσας.

Κεφάλαιο 2°

Η πρόπολη

Πολλά φυτά παράγουν ρητίνες και κόμμεα στα προκληθέντα τραύματα ή γύρω από τους φυλλοβόλους οφθαλμούς. Αυτές οι ουσίες καθιστούν αδιαπέραστα τα σημεία αυτά στο νερό και τα προστατεύουν από πιθανούς εισβολείς, όπως βακτήρια, μύκητες, έντομα και άλλους εχθρούς. Οι μέλισσες συχνά συλλέγουν αυτές τις ρητίνες και τα κόμμεα και τα χρησιμοποιούν μέσα στην κυψέλη, όπου παρέχουν στις μέλισσες και τη φωλιά τους την ίδια προστασία που παρέχουν και στα φυτά. Στις ουσίες αυτές έχει δοθεί το όνομα πρόπολη που προέρχεται από τις ελληνικές λέξεις "προ" και "πόλις" (προ της πόλης), επειδή οι μέλισσες τη χρησιμοποιούν, για να μειώνουν το άνοιγμα της εισόδου της κυψέλης.

Οι μέλισσες μέσα στην κυψέλη ή τη φυσική φωλιά τους χρησιμοποιούν την πρόπολη, για να επιχρίουν τα εσωτερικά τοιχώματα ή να κλείνουν όλες τις σχισμές και χαραμάδες τόσο καλά, που κάθε είδος ζωντανού που πιθανόν να κρύβεται εκεί μέσα να μη δημιουργεί κίνδυνο για τις μέλισσες (εικόνα 6). Επίσης οι μέλισσες ταριχεύουν με την πρόπολη μεγάλωσυμα ζώα, όπως ποντίκια, που πέθαναν μέσα στην κυψέλη και δεν είναι σε θέση να τα μεταφέρουν έξω. Η πρόπολη δεν επιτρέπει την ανάπτυξη δυσσομιών και μικροβίων. Οι μέλισσες χρησιμοποιούν ακόμη την πρόπολη για να επιχρίουν τα κελιά των κηρήθρων μετά την εκκόλαψη των μελισσών και να τα αποστειρώνουν ώστε αυτά να είναι έτοιμα, για να γεννήσει η βασίλισσα (Χαριζάνης, 1996).



Εικόνα 6: Το πάνω μέρος μιας κυψέλης επικαλυμμένο με πρόπολη.

Υπάρχει μεγάλη διαφορά μεταξύ των διαφόρων φυλών των μελισσών ως προς την ποσότητα πρόπολης που συλλέγουν. Άλλες φυλές συλλέγουν πολλή πρόπολη ενώ άλλες ελάχιστη.

Οι μέλισσες εκτός από την πρόπολη μπορούν να συλλέξουν και πίσσα από τους πρόσφατα ασφαλοστρωμένους δρόμους ή ακόμη και λαδομπογιά.

Οι μέλισσες μεταφέρουν την πρόπολη στα καλαθάκια γύρης. Ένα φορτίο πρόπολης έχει περίπου το μέγεθος και το σχήμα του φορτίου της γύρης. Οι εργάτριες δεν μπορούν να ξεφορτώσουν το φορτίο μόνες, αλλά χρειάζονται και τη βοήθεια άλλων εργατριών. Η φορτωμένη εργάτρια πηγαίνει στο σημείο της κυψέλης, όπου χρειάζεται πρόπολη και περιμένει τις άλλες εργάτριες να την αφαιρέσουν από τα πόδια της χρησιμοποιώντας τα σαγόνια τους. Αναφέρεται ότι μία εργάτρια χρειάστηκε να περιμένει 7 ώρες, μέχρι να αφαιρέσουν την πρόπολη από τα πόδια της οι άλλες εργάτριες. Κατά τη διάρκεια αυτής της αναμονής δεν έκανε καμία προσπάθεια να αφαιρέσει την πρόπολη μόνη της. Όπως και με το νερό, οι μέλισσες δεν αποθηκεύουν την πρόπολη στα κελιά των κηρήθρων.

Η πρόπολη είναι μία πολύπλοκη ουσία και υπάρχει μεγάλη παραλλαγή στα διάφορα δείγματα. Το χρώμα ποικίλλει από καφέ - πράσινο ως καφέ - κόκκινο. Στη συνηθισμένη θερμοκρασία (20° C) είναι μαλακή και κολλάει, ενώ σε χαμηλότερη θερμοκρασία γίνεται σκληρή και είναι εύθραυστη. Τήκεται στους 66° C περίπου. Διαλύεται στην ακετόνη, βενζίνη και σε διάλυμα 2% (w/v) υδροξειδίου του Νατρίου (NaOH). Όμως τα διαλύματα αυτά είναι καυστικά και δεν πρέπει να έρχονται σε επαφή με το δέρμα. Διαλύεται λιγότερο στο οινόπνευμα, αλλά η χρήση τού δεν είναι επικίνδυνη (Χαριζάνης, 1996).

2.1 Από την ιστορία της πρόπολης

Τα θεραπευτικά χαρακτηριστικά της πρόπολης ήταν ευρέως γνωστά από τους παλαιούς χρόνους.

Η πρόπολη χρησιμοποιήθηκε στην αρχαιότητα κυρίως στην Αίγυπτο. Εκεί, περίπου χίλια έτη π.Χ. , η πρόπολη ήταν γνωστή στους ιερείς που είχαν μονοπωλήσει την ιατρική, τη χημεία και την τέχνη της μουμιοποίησης των σωμάτων.

Το γεγονός ότι η πρόπολη ήταν γνωστή επίσης στους αρχαίους Έλληνες φαίνεται κάλλιστα από το ελληνικό της όνομα. Υπάρχει μια αρχαία αναφορά που αναφέρεται στην πρόπολη. Ο διάσημος έλληνας φιλόσοφος Αριστοτέλης, που επιθυμεί να μελετήσει πολύ τη δραστηριότητα των μελισσών, έχτισε μια διαφανή κυψέλη. Αλλά οι μέλισσες δεν θέλησαν να αποκαλύψουν τα «μυστικά τους» και κάλυψαν εσωτερικά το διαφανή τοίχο με μια σκουρόχρωμη ουσία.

Η προέλευση της πρόπολης αποτέλεσε το αντικείμενο μιας διαμάχης μεταξύ δύο ρωμαίων συγγραφέων – του Πλίνιου και του Διοσκορίδη. Ο πρώτος, διατυπώνει την άποψη ότι οι μέλισσες συγκομίζουν πρόπολη από τη ρητίνη των οφθαλμών της ιτιάς, της λεύκας, της άγριας κάστανιας και άλλων φυτών και ο άλλος συγγραφέας υποθέτει ότι οι μέλισσες συγκομίζουν πρόπολη από τον στύραξ τον φαρμακευτικών. Στοιχεία για την πρόπολη εμφανίζονται επίσης στη συνέχεια, σε εργασίες των Κλαύδιου Γαληνού και Μάρκου Τερέντιου Βάρρο.

Ο Abu Ali ibn Sina (Avicenna, 980-1037 μ.Χ.) διακρίνει δύο είδη κεριού στη γνωστή εργασία του «Ο Κανόνας της ιατρικής επιστήμης» - το καθαρό και το μαύρο κεριό. Το καθαρό κεριό από το οποίο αποτελούνται οι κηρήθρες όπου οι μέλισσες εκτρέφουν το γόνο και αποθηκεύουν το μέλι, και το μαύρο κεριό είναι η βρωμιά της κυψέλης. Είναι αρκετά σαφές ότι «το μαύρο κεριό» είναι η πρόπολη, το οποίο κατά την μαρτυρία του Avicenna «έχει το χαρακτηριστικό της εξάλειψης των ακίδων των πασσάλων. Επίσης καθαρίζει και ενυδατώνει». Επίσης γράφει ότι «από την ισχυρή μυρωδιά του, το μαύρο κεριό προκαλεί φτέρνισμα».

Μαζί με άλλα προϊόντα της κυψέλης, η πρόπολη αναφέρεται συχνά στις ιατρικές πραγματείες της Γεωργίας από των 12^ο -15^ο αιώνα. Στη λαϊκή ιατρική της Γεωργίας, χρησιμοποιούσαν αλοιφές με πρόπολη για να θεραπεύσουν μερικές ασθένειες (Makashvili Z.A., 1978)

Η πρόπολη χρησιμοποιήθηκε αποτελεσματικά σε πληγές από γιατρούς κατά τη διάρκεια του Άγγλο-Ν. Αφρικανικού πολέμου (1899-1902), και κατά τη διάρκεια του 2^{ου} Παγκοσμίου πολέμου χρησιμοποιήθηκε σε νοσοκομεία.

2.2 Προέλευση της πρόπολης

Υπάρχουν δυο θεωρίες για την προέλευση της πρόπολης. Σύμφωνα με τον γερμανό ερευνητή Kustenmacher (1907), η πρόπολη προέρχεται από τους κόκκους γύρης. Δηλαδή είναι ένα ρητινώδες κατάλοιπο που προέρχεται από την πρώτη φάση της πέψης της γύρης, που συντελείται σε ένα μικρό όργανο που βρίσκεται μεταξύ του στομάχου και του εντέρου. Το κατάλοιπο αυτό οι μέλισσες το αναμιγνύουν με κεριό, με άλλα συστατικά που προέρχονται από τη γύρη και με ακαθαρσίες σε διάφορες ποσότητες (Cizmarik et. al.,1978 Caillas, 1978).

Η δεύτερη θεωρία για την προέλευση της πρόπολης εκφράστηκε αρχικά από τον Rosch (1927). Σύμφωνα με τη θεωρία του Rosch οι μέλισσες συλλέγουν την πρώτη ύλη για τη σύνθεση της πρόπολης από τις ρητίνες και τις εκκρίσεις των οφθαλμών, και από το φλοιό των ρητινούχων δέντρων, γύρω από το μελισσοκομείο. Οι μέλισσες χρησιμοποιούν τα σαγόνια τους για να αφαιρέσουν ένα κομμάτι της ρητίνης ή της έκκρισης, το οποίο παράλληλα το επεξεργάζονται. Έπειτα, η πρόπολη υποβάλλεται σε επεξεργασία από τα μπροστινά πόδια, κατόπιν μεταφέρεται στα μεσαία πόδια και καταλήγει σε ένα από τα καλαθάκια γύρης των οπίσθιων ποδιών. Η μέλισσα διαμορφώνει έτσι σβόλους ακριβώς όπως με τη γύρη. Με αυτό το φορτίο της ρητίνης, η μέλισσα πετά πίσω στην κυψέλη όπου άλλες μέλισσες παίρνουν το σβόλο και τον χρησιμοποιούν όπου είναι απαραίτητο (Cizmarik et. al.,1978).

Σε παλιότερες εποχές ερευνητές των μελισσών πίστευαν ότι οι συλλέκτριες μέλισσες συγκομίζουν πρόπολη μόνο από μπουμπούκια δέντρων, κυρίως από λεύκες και σκλήθρα. Διαπιστώθηκε ωστόσο, ότι συγκομίζουν πρόπολη και από άλλα φυτά, αφού βρέθηκε πρόπολη σε κυψέλες, όπου στον περιβάλλοντα χώρο δεν υπήρχαν ούτε λεύκες ούτε σκλήθρα (Caillas,1978).

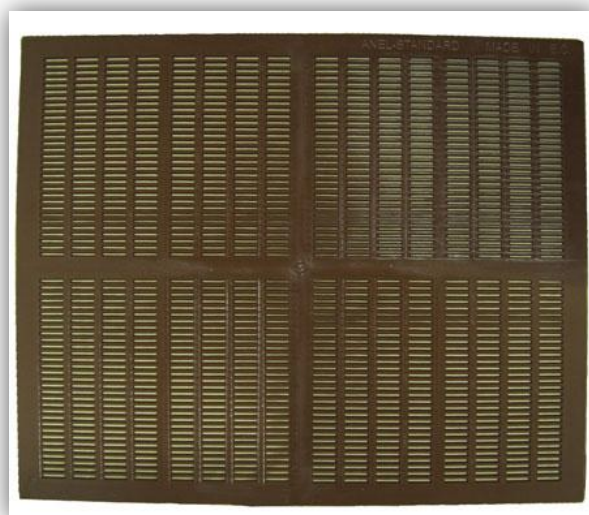
Η σημερινή άποψη συνδυάζει και τις δυο θεωρίες. Οι μέλισσες κυρίως παράγουν την πρόπολη, ξεκινώντας από φυτικές ρητίνες που εκκρίνονται από

τους οφθαλμούς των φυτών και από το φλοιό ορισμένων δέντρων, κυρίως από τις λεύκες, τα κωνοφόρα και την ιτιά. Συλλέγουν τις ρητίνες, τις οποίες προσροφούν και αναμειγνύουν με τα ένζυμα της σιέλου τους. Αυτή η θεωρία ενισχύεται από το γεγονός ότι τα περισσότερα φλαβονοειδή, που έχουν αναγνωριστεί και απομονωθεί από την πρόπολη, βρέθηκαν ως ελεύθερα συστατικά, ως αγλυκόνες και όχι ως γλυκοζίτες, όπως ανευρίσκονται σε φυτικά υποστρώματα (Cizmarik et. al.,1978).

2.3 Συλλογή πρόπολης

Ο μελισσοκόμος, για τον οποίο συχνά η πρόπολη αποτελεί μια ενόχληση, αρκείται στο να ξύνει τις κεφαλές των πλαισίων. Συχνά, κάνει τον κόπο να τη συλλέξει, αλλά η πρόπολη αυτή που προέρχεται από το ξύσιμο δεν είναι καλής ποιότητας, γιατί περιέχει κερί, μόρια ξύλου και σιδήρου κ.λ.π. Επιπλέον, μπορεί να είναι πολύ παλιά (πολύ σκούρα) και εν μέρει υποβαθμισμένη.

Για μια συστηματική συλλογή πρόπολης χρησιμοποιείται ειδικό πλαστικό ή μεταλλικό εύκαμπτο πλέγμα το οποίο τοποθετείται πάνω από τους κηρηθοφορείς (εικόνα 7). Το πλέγμα μοιάζει με το βασιλικό διάφραγμα, έχει στενές ορθογώνιες τρύπες, που σε αντίθεση μ' εκείνες του διαφράγματος είναι πολύ μικρές για να χωρέσουν οι μέλισσες. Τοποθετείται πάνω από τους κηρηθοφορείς. Μόλις οι μέλισσες κλείσουν με πρόπολη τα μικρά ανοίγματα, το πλέγμα αφαιρείται και τοποθετείται στον καταψύκτη, όπου η πρόπολη σκληραίνει, γίνεται εύθραυστη και ξεκολλά εύκολα. Έτσι με το πλέγμα λαμβάνεται καθαρή πρόπολη, σε μικρά κομμάτια, έτοιμη να χρησιμοποιηθεί ή να πωληθεί υπό αυτή την ακατέργαστη μορφή.



Εικόνα 7: Πλαστικό εύκαμπτο πλέγμα για συλλογή πρόπολης.

Μια παραλλαγή του τύπου αυτού είναι ένα ελαφρό και εύκαμπτο πλαστικό δίχτυ που χρησιμοποιείται στην Κούβα, Πολωνία και Γιουγκοσλαβία. Το δίχτυ αυτό τοποθετείται στην κορυφή των πλαισίων (εικόνα 8). Πιθανό μειονέκτημα ο μεγάλος χρόνος που απαιτεί για να γεμίσει και η μικρή ποσότητα

παραγωγής. Πλεονέκτημα της ελαστικής πλαστικής σχάρας είναι η καθαρότητα της πρόπολης.



Εικόνα 8: Μεταλλικό δίκτυο τοποθετημένο πάνω στους κηρηθοφορείς.

Μετά τη συλλογή της η πρόπολη φυλάσσεται σε νάιλον σακούλες σε σκοτεινό μέρος. Κατ' αυτό τον τρόπο η πρόπολη διατηρείται για μεγάλο χρονικό διάστημα χωρίς να χάσει τις θεραπευτικές της ιδιότητες.

2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τη συλλογή πρόπολης

Η τάση συλλογής πρόπολης είναι άμεσα συσχετισμένη με το είδος της μέλισσας. Πρόπολη συλλέγουν οι μέλισσες του είδους *Apis mellifera*, ενώ η *Apis cerana* δεν συλλέγει. Παρόλα αυτά υπάρχουν και υποείδη της *Apis mellifera* που δεν χρησιμοποιούν πρόπολη όπως η *Apis mellifera lamarkii* Cockerell (Clement, 2007). Επίσης παρατηρείται διαφορετική τάση για συλλογή στο ίδιο είδος καθώς διαπιστώθηκε ότι η *Apis mellifera anatoliaca* παράγει μεγαλύτερες ποσότητες πρόπολης απ' ότι η *Apis mellifera caucasica*, η *Apis mellifera ligustica* και *Apis mellifera carnica* (Sahinler and Gul, 2005).

Οι μέλισσες χωρίς κεντρί (*Melipona*, *Trigona*, κ.λπ.) φαίνεται να συλλέγουν παρόμοιας μορφής ρητινώδεις εκκρίσεις τις οποίες χρησιμοποιούν όχι μόνο για να κλείνουν οπές αλλά και να κατασκευάζουν κελιά για την αποθήκευση τροφών αλλά και γόνου. Οι μέλισσες συλλέγουν μεγάλες ποσότητες φυτικών ρητινών, και κόμμεων τα οποία τα ενσωματώνουν με κερί για να κάνουν το «cerumen». Το «cerumen» χρησιμοποιείται για την κατασκευή σωλήνων εισόδου στη φωλιά και για την ένωση και τη σταθεροποίηση των κελιών και των διάφορων δομών μέσα στη φωλιά. Το «batumen», στρώμα που περιλαμβάνει λάσπη, ρητίνη και μπορεί να προστεθεί και κερί χρησιμοποιείται από τις μέλισσες χωρίς κεντρί ως δομικό υλικό της φωλιάς και σαν προστατευτικό ενάντια στους εισβολείς και στο περιβάλλον (Graham et al., 1992).

Η απόδοση κάθε κυψέλης σε πρόπολη κυμαίνεται από 10g έως 300g. Γενετική επιλογή μπορεί να αυξήσει την απόδοση, καθώς υπάρχουν μελίσσια που εμφανίζουν την προδιάθεση να συλλέγουν μεγαλύτερη ποσότητα πρόπολης. Θα πρέπει βέβαια να σημειωθεί ότι η απόδοση εξαρτάται από τις κλιματικές συνθήκες, την ύπαρξη ρητινοφόρων φυτών και τη μέθοδο συλλογής (Τανανάκη, 2010). Σε σχετική εργασία που έγινε στην Βραζιλία μεγαλύτερη απόδοση των μελισσιών σε πρόπολη σημειώθηκε κατά τη χρονική διάρκεια καλοκαίρι-φθινόπωρο και ακολουθούσε η παραγωγή του διαστήματος άνοιξη-καλοκαίρι. Γενικά παρατηρήθηκε ότι οι μέλισσες συλλέγουν ρητινώδεις εκκρίσεις όταν οι θερμοκρασίες κυμαίνονται από 19 °C έως 31 °C (Peres de Moura Pontara et al., 2003).

2.5 Καθαρισμός πρόπολης

Το πιο σημαντικό στάδιο κατά την προετοιμασία της πρόπολης, είναι ο καθαρισμός και η απομάκρυνση των κομματιών πέτρας, ακίδων ξύλου, τμημάτων εντόμων, κομματιών κεριού, λαδομπογιάς και άλλων ξένων ουσιών. Αρχικά τα ξύσματα χωρίζονται και ταξινομούνται ανάλογα με την καθαρότητα τους. Στη συνέχεια τοποθετούνται σ' ένα δοχείο με κρύο νερό ανακατεύονται και απομακρύνονται οι ξένες ύλες οι οποίες επιπλέουν στην επιφάνεια. Το πλύσιμο αυτό γίνεται επανειλημμένα με νερό μέχρι το νερό να γίνει εντελώς καθαρό. Έπειτα τα υπολείμματα ξηραίνονται και κάθε κομμάτι πρόπολης εξετάζεται προσεκτικά μήπως περιέχει κάποιο ξένο υλικό.

Σε περίπτωση που για την συλλογή της πρόπολης έχουν χρησιμοποιηθεί πλαστικές ή μεταλλικές σήτες, τότε το στάδιο αυτό πρέπει να γίνει πριν τοποθετηθούν οι σήτες στον καταψύκτη. Απομακρύνονται τμήματα εντόμων, κομμάτια κεριού, και άλλες ξένες ουσίες που πιθανόν έχουν κολλήσει πάνω στην σήτα. Σε περίπτωση που δεν γίνει καθαρισμός της σήτας, μετά το τίναγμα, θα παραλάβουμε μαζί με τα κομμάτια πρόπολης και διάφορες ακαθαρσίες. Συνεπώς με ένα καθαρισμό της σήτας πριν τοποθετηθεί στον καταψύκτη, παραλαμβάνουμε καθαρή πρόπολη και αποφεύγουμε περαιτέρω διαδικασίες.

Για να αποχωριστεί η πρόπολη από το κεριό ακολουθείται η εξής διαδικασία (Χαριζάνη, 1992). Η καθαρή πρόπολη τοποθετείται σε Μπεν Μαρί με νερό που η στάθμη του να βρίσκεται 5 εκατοστά πάνω από την επιφάνεια της πρόπολης και θερμαίνεται στους 70° C ενώ συγχρόνως ανακατεύεται. Μετά 2-3 λεπτά αφαιρείται το δοχείο και αφήνεται να κρυώσει. Το κεριό που έλιωσε σχηματίζει κρούστα στην επιφάνεια και αφαιρείται. Επαναλαμβάνεται η διαδικασία μέχρι να απαλλαγεί η πρόπολη από όλο το κεριό που περιέχει.

2.6 Συσκευασία και αποθήκευση της πρόπολης

Η πρόπολη μετά τον καθαρισμό της από ξένες ύλες ξηραίνεται και αποβάλλεται σε ένα τελευταίο έλεγχο για την απομάκρυνση τυχόν υπολειμμάτων ξένων υλών. Τα μεγάλα κομμάτια πρόπολης μπορούν να

σπάσουν αφού διατηρηθούν στο ψυγείο για όλη τη νύχτα. Στην συνέχεια συσκευάζεται πρώτα σε πλαστικές σακούλες οι οποίες αργότερα τοποθετούνται σε βάζα και διατηρείται σε ξηρό και δροσερό περιβάλλον μέχρι να χρησιμοποιηθεί ή διατεθεί.

Η πρόπολη μπορεί επίσης να κονιορτοποιηθεί και να φυλαχθεί στο ψυγείο ως σκόνη. Η διαδικασία αυτή γίνεται καλύτερα με μίξερ, στη συνέχεια απαιτείται καλό κοσκίνισμα από λεπτή σήτα αναμειγνύεται με απλή βάση πούδρας σε αναλογία 1:2 για να δώσει τη πρόπολη-πούδρα, η οποία χρησιμοποιείται στις πληγές (Χαριζάνης, 1992).

Αν και η πρόπολη είναι σχετικά σταθερή ουσία, η σωστή αποθήκευσή της είναι κρίσιμης σημασίας. Τόσο η πρόπολη όσο και τα εκχυλίσματά της θα πρέπει να φυλάσσονται σε αεροστεγή δοχεία στο σκοτάδι σε θερμοκρασίες κάτω από 10°C-12°C, μακριά από πηγές θερμότητας. Μέσω της σωστής συντήρησης η πρόπολη μπορεί να διατηρείται για περισσότερο από 12 μήνες, χωρίς να χάνει τις περισσότερες αντιβακτηριακές ιδιότητες που εκδηλώνει. Αναφέρεται επίσης ότι τα αιθανολικά εκχυλίσματα μπορούν να διατηρηθούν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Μέσω της μελέτης της περιεκτικότητας των ΡΕ σε επιμέρους και ολικές πολυφαινόλες με τις μεθόδους αέριας χρωματογραφίας, και Folin-Ciocalteu και της αντιοξειδωτικής ικανότητας που επιδεικνύουν, βρέθηκε ότι από την στιγμή της συλλογής της πρόπολης και αφού ικανοποιούνται οι προϋποθέσεις για την συντήρηση και αποθήκευση των ακατέργαστων δειγμάτων, η παρέλευση του χρόνου, μέχρι τουλάχιστον 3 χρόνια, όταν μελετήθηκαν τα δείγματα, δεν προκάλεσε μείωση στην περιεκτικότητα της σε πολυφαινόλες, οπότε δεν είχε ως αποτέλεσμα υποβάθμιση της ποιότητας του ακατέργαστου δείγματος (Τρουλλίδου, 2007).

2.7 Βοτανική προέλευση της πρόπολης

Η γνώση για τη βοτανική προέλευση της πρόπολης είναι όχι μόνο ακαδημαϊκού ενδιαφέροντος. Θα μπορούσε να είναι χρήσιμη σαν βάση για τη χημική τυποποίηση της πρόπολης. Η πρόπολη θα μπορούσε να χαρακτηριστεί εύκολα χρησιμοποιώντας την βοτανική προέλευση της, η οποία να καθιερωθεί με απλή σύγκριση χρησιμοποιώντας τις μεθόδους TLC, HPLC ή GC. Δεδομένου ότι η σύνθεση των αντίστοιχων εκκριμάτων των φυτών είναι γνωστή, αυτές οι μέθοδοι δίνουν πληροφορίες για την ποιοτική σύνθεση του δείγματος. Παραδείγματος χάριν, μιλώντας για πρόπολη «τύπου λευκών» (prolar type), είναι σαφές ότι το προϊόν είναι ένα μίγμα φλαβονοειδών αγλυκονών, υδροξυκινναμικών οξέων και των εστέρων τους.

Επιπλέον, η γνώση για τη βοτανική προέλευση της πρόπολης είναι σημαντική στους μελισσοκόμους για να είναι σίγουροι ότι οι μέλισσές τους έχουν τα κατάλληλα φυτά στην ακτίνα πτήσης τους. Είναι γνωστό ότι οι αποικίες υποφέρουν όταν δεν μπορούν να συλλέξουν πρόπολη, λέγεται ακόμη ότι οι μέλισσες μπορεί να χρησιμοποιήσουν «υποκατάστατα πρόπολης» όπως χρώματα, άσφαλτο και ορυκτέλαια που θα μπορούσαν να απειλήσουν σοβαρά τις φαρμακευτικές χρήσεις της πρόπολης (Bankova et al. 2000).

Η Bankova et al. (1992) έδειξε ότι η σύνθεση της πρόπολης είναι πολύ παρόμοια με τα εκκρίματα των οφθαλμών. Ποιοτική σύνθεση πολλών συστατικών, όπως αγλυκόνες φλαβονοειδών σε πρόπολη διαφορετικών ειδών δέντρων έχει δείξει ότι η πρόπολη έχει συλλεχθεί από *Populus fremontii* (ΗΠΑ), *P. uramericana* (Μεγάλη Βρετανία), *Dalechampia spp* και *Clusia spp* (Εκουαδόρ) (Greenaway et al, 1990), *P. nigra*, *P. italica*, *P. tremula* (Βουλγαρία) και *P. Suaveolens* (Μονγκολία) (Bankova et al, 1992), *Betula*, *Populus*, *Pinus*, *Prunus*, *Acacia*, *Aesculus hypocastane* (Ουγκαρία) (Nagy et al, 1985), *Clusia minor* (Βενεζουέλα) (Tomás- Barberán et al, 1993), *Plumeria acuminata* και *P. acutifolia* (Νησιά της Χαβάης) (König, 1985) και *Betula* και *Alnus* (Περιοχές της Πολωνίας) (Warakomska and Maciejewicz, 1992) (Marcucci, 1995).

2.7.1 Πηγές πρόπολης στην εύκρατη ζώνη

Οι πρώτες εργασίες όπου έγινε ανάλυση της πρόπολης βάση χημικών αποδείξεων εμφανίστηκαν τη δεκαετία του '70: ο Lavie στη Γαλλία και ο Porgranκο στη Ρωσία ανέλυσαν τη σύνθεση των φλαβονοειδών της πρόπολης και την σύγκριναν με τις εκκρίσεις των οφθαλμών της λεύκας και της σημύδας, αντίστοιχα. Πολλές άλλες δημοσιεύσεις ακλούθησαν και τώρα είναι γενικά αποδεκτό και χημικά αποδεδειγμένο ότι στις εύκρατες ζώνες οι εκκρίσεις των οφθαλμών των ειδών *Populus* και τα υβρίδιά τους είναι η κύρια πηγή της πρόπολης. Αυτό ισχύει για την Ευρώπη, την Βόρεια Αμερική, και τις μη-τροπικές περιοχές της Ασίας. Ακόμη και στη Νέα Ζηλανδία, τα εισαχθέντα είδη λευκών είναι οι πηγές πρόπολης. Στη Ρωσία εντούτοις, και ειδικά στις βόρειες περιοχές της, οι οφθαλμοί των σημύδων (*Betula verrucosa*) παρέχουν στις μέλισσες την πολυπόθητη πρόπολη (Bankova et al. 2000).

2.7.2 Πηγές πρόπολης στην τροπική ζώνη

Στις τροπικές περιοχές δεν υπάρχουν λεύκες και σημύδες, και οι μέλισσες πρέπει να βρουν άλλες φυτικές πηγές για να φτιάξουν πρόπολη. Προσδιορίζοντας τα κύρια φλαβονοειδή της πρόπολης σε δείγματα από «παραμεθόριες περιοχές» με σχεδόν τροπικό κλίμα, όπου οι λεύκες δεν είναι πάντα διαθέσιμες, βρέθηκε ότι το έκκριμα των φύλλων κάποιου *Cistus spp.* να είναι μια φυτική πηγή της πρόπολης στην Τυνησία. Ανάλογα, στην έρημο της Σονόρα το *Ambrosia deltoidea* ήταν η φυτική πηγή της πρόπολης. Από δείγματα πρόπολης από την τροπική Βενεζουέλα, απομονώθηκαν πολυπρενυλιωμένες βενζοφαινόνες. Αυτές οι ενώσεις είναι κύρια συστατικά της ρητίνης που εκκρίνεται από τα λουλούδια μερικών ειδών *Clusia* και, βασιζόμενοι σε χρωματογραφική σύγκριση, οι μελετητές κατέδειξαν ότι το *Clusia major* και το *Clusia minor* (Guttiferae) ήταν οι κύριες πηγές πρόπολης στη συγκεκριμένη περιοχή.

Δεν υπάρχουν χημικές μελέτες για τη βοτανική προέλευση της πρόπολης στην Αυστραλία (*Xanthorrhoea spp.*) και στη Βραζιλία (*Araucaria spp.* ,

Baccharis spp.) αλλά σε αυτές τις περιπτώσεις επειδή δεν έγινε καμία άμεση σύγκριση μεταξύ της πρόπολης και του φυτικού ιστού θα πρέπει να θεωρηθούν μόνο ως κατευθύνσεις για μελλοντική εργασία (Bankova et al. 2000).

Πίνακας 4 Χαρακτηριστικά συστατικά που περιέχονται σε δείγματα πρόπολης από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές (Bankova et al. 2000, Bankova 2005).

Γεωγραφική προέλευση	Φυτική πηγή	Τυπικά-κύρια συστατικά
Ευρώπη, Ασία, Βόρεια Αμερική	<i>Populus spp.</i> (poplar) λεύκα	Πινοσεμπρίνη, πινομπανκσίνη, 3-Ο-αιθυλεστέρας πινομπανκσίνης, χρυσίνη, γκαλαγκίνη, καφεϊκά άλατα
Βόρεια Ρωσία	<i>Betula verrucosa</i> (birch) σημύδα	Ακακετίνη, απιγενίνη, ερμανίνη, ραμνοσιπρίνη, α-ακετόξυβετουλινόλη
Βραζιλία	<i>Baccharis spp.</i> <i>Araucaria spp.</i>	Πρενυλιωμένα π-κουμαρικά οξέα και ακετοφαινόνες, διτερπενικά οξέα, λιγνάνες, φλαβονοειδή
Κούβα	<i>Clusia rosea</i>	Πρενυλιωμένες βενζοφαινόνες
Κανάριοι Νήσοι	Άγνωστο	Φουροφουρανικές λιγνάνες

2.8 Χημική σύνθεση της πρόπολης

Η σύνθεση της πρόπολης διαφέρει, ανάλογα με την βοτανική και γεωγραφική της προέλευση καθώς και από την εποχή συλλογής της. Ωστόσο είναι εύκολο να αναγνωριστούν ορισμένα από τα 150 διαφορετικά συστατικά, όπως πολυφαινόλες (φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα και οι εστέρες τους), τερπενοειδή, στεροειδή και αμινοξέα. Μερικές από τις βιολογικές της ιδιότητες που παρατηρούνται, πιθανόν να αποδίδονται σε χημικά συστατικά που έχουν ήδη ταυτοποιηθεί και σχετίζονται με την υψηλή περιεκτικότητα της πρόπολης σε φλαβονοειδή.

Αξίζει να σημειωθεί η παρουσία πάνω από 40 φλαβονοειδών, αλειφατικών αρωματικών οξέων, φαινολικών στοιχείων, αρωματικών αλδευδών, αμινοξέων, σακχάρων και πολλών βιταμινών.

Συγκεκριμένα, οι κύριες κατηγορίες ενώσεων που περιέχονται στη πρόπολη, ως ποσοστιαία αναλογία είναι τα ακόλουθα:

- 50 με 55% πολυφαινόλες (φλαβονοειδή και φαινολικά οξέα και εστέρες τους)
- 20 με 35% κηροί και λιπαρά οξέα
- 2 με 10% αιθέρια έλαια
- 5% γύρη (πρωτεΐνες και ελεύθερα αμινοξέα)
- 5% από άλλες, οργανικές ουσίες και ιχνοστοιχεία.

Οι κυριότερες ενώσεις, με πιθανό ενδιαφέρον σε θέματα υγείας, που έχουν ανιχνευθεί σήμερα στην πρόπολη είναι (Τρουλλίδου, 2007):

- **Αμινοξέα:** έχει ανιχνευθεί το πυρογλουταμινικό οξύ
- **Αλειφατικά οξέα και εστέρες τους:** έχουν ταυτοποιηθεί περίπου 22 οξέα (βουτυρικό οξύ, παλμιτικό οξύ, στεατικό οξύ, ελαϊκό οξύ, φουμαρικό οξύ, λιγνολικό οξύ, ισοβουτυρικό οξύ, ακετοξικό οξύ, μυριστικό οξύ, λιγνοκερικό οξύ κ.α.). Τα μεγάλης ανθρακικής αλυσίδας προέρχονται από το κερί ενώ τα μικρής αλυσίδας και οι εστέρες τους από τη ρητίνη.

- **Αρωματικά οξέα και οι εστέρες τους:** ανιχνεύθηκαν πάνω από 40 ενώσεις οι οποίες περιέχονται στις ρητίνες (βενζοϊκό οξύ, βανιλλικό οξύ, καφεϊκό οξύ, κουμαρικό οξύ, φερουλικό οξύ, κινναμικό οξύ κ.α.). Αρκετά εμφανίζουν μυκητοκτόνες και βακτηριοκτόνες δράσεις.

- **Αλκοόλες:** ανιχνεύθηκαν οι υδροκινόνη, βενζυλική αλκοόλη, πρενυλική αλκοόλη, ισοβουτενόλη, φαιαιθύλ-αιθανόλη, α και β- γλυκεροφωσφατάση, γλυκερόλη, κινναμική αλκοόλη. Από αυτές, εκτός από τις α- και β- γλυκεροφωσφατάση που παράγεται από την μέλισσα και τη γλυκερόλη που περιέχεται στο κερί, όλες οι άλλες περιέχονται στις ρητίνες.

- **Αλδεΐδες:** οι π-υδροξυβενζαλδεΐδη, βανιλίνη, ισοβανιλίνη περιέχονται στις ρητίνες.

- **Φλαβονόλες:** μαζί με τις φλαβόνες τους αποδίδονται αντιμικροβιακές ιδιότητες. Ταυτοποιήθηκαν οι: πινοστρομπίνη, πινοσεμπρίνη, 3-Ο-αίθυλ-εστέρας της πινομπανκσίνης, πινομπανκσίνη, ναριγκενίνη κ.α.

- **Φλαβόνες:** ανιχνεύθηκαν οι ενώσεις τεκτοχρυσίνη, 7-4'-διμέθυλ-εστέρας της καμφερόλης, χρυσίνη, 3-μέθυλ-αιθέρας της γκαλαγκίνης, 7-μέθυλ-αιθέρας της απιγενίνης, γκαλαγκίνη, κερκετίνη, καμφερόλη, 3-μέθυλ-αιθέρας της καμφερόλης, κ.α. στις περισσότερες από αυτές αποδίδονται αντιμικροβιακές ιδιότητες.

- **Υδρογονάνθρακες:** βρέθηκαν υδρογονάνθρακες με περιττό αριθμό ανθράκων C21- C33. Οι C25 και C27 περιέχονται στις ρητίνες αλλά παράγονται και προστίθενται στη πρόπολη από τη μέλισσα. Πρόσφατα αναλύθηκε το κερί της πρόπολης από δείγματα της Βραζιλίας. Οι υδρογονάνθρακες και οι μονοεστέρες που βρέθηκαν ήταν παρόμοιοι με εκείνους των ευρωπαϊκών δειγμάτων. Σύμφωνα με αυτήν την εργασία, η σύσταση του κεριού της πρόπολης είναι παρόμοια με αυτή του κεριού της κηρήθρας, το οποίο δείχνει ότι το κερί της πρόπολης μάλλον εκκρίνεται από τις μέλισσες, και δεν προέρχεται από τα φυτά (Bankova, 2005).

- **Κετόνες:** έχουν ανιχνευθεί η ακετοφαινόνη και η π-ακετοφαινόλη.

- **Τερπενοειδή και άλλα συστατικά:** ανιχνεύθηκαν οι ενώσεις βενζόλιο, μέθυλο-κυκλοεξάνιο, αιθυλένιο, φαινυλ-εξανολακτόνη, 4-μενθάνιο, 1,8-επόξυ-ναφθαλένιο, αλκοόλες σεσκιτερπενίων κ.α.

- **Βιταμίνες:** βιταμίνες B1 (θειαμίνη), B5 (νικοτινικό οξύ) και προβιταμίνη A.

- **Μέταλλα:** Σε πρόσφατες μελέτες που αφορούν τα μεταλλικά στοιχεία που εμπεριέχονται στη πρόπολη, βρέθηκαν τα εξής στοιχεία Ca, Mg, K, Na, Fe και Zn σε δείγματα από τα Σκόπια και τα Fe, Mn, Zn, Cu σε αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από την Κούβα (Bankova et al., 2000).

Η ποσοτική σύνθεση της πρόπολης παρουσιάζει μεγάλες διαφορές. Για παράδειγμα το καφεϊκό οξύ και οι εστέρες τους, που παίζουν σημαντικό ρόλο

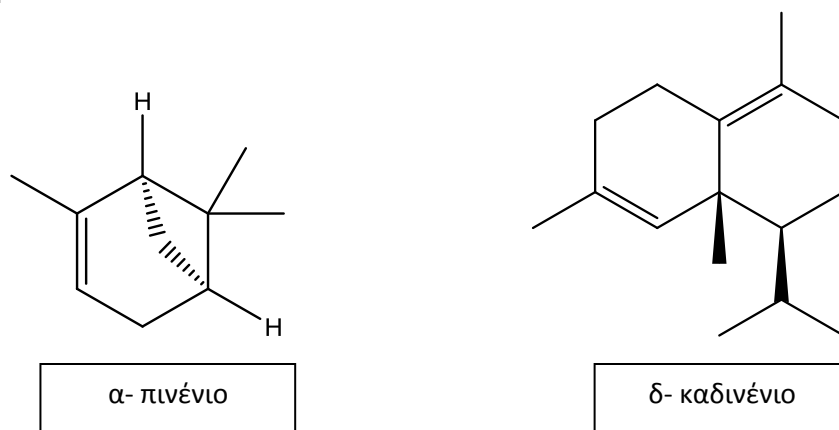
στις αντιμικροβιακές και τις αλλεργικές ιδιότητες της πρόπολης συμμετέχουν κατά 20% στα διαλύματα πρόπολης που μαζεύονται από την περιοχή του ζωολογικού κήπου στην Οξφόρδη και μόνο κατά 2% στα διαλύματα που συλλέγονται από το Πανεπιστημιακό μουσείο της ίδιας πόλης που απέχει 400 μέτρα. Η ποσοτική διαφοροποίηση της πρόπολης εξαρτάται από την περιοχή, την εποχή και τη φυλή της μέλισσας (Marcucci, 1995).

2.9 Κύρια συστατικά της πρόπολης από την Ελλάδα

Σε ανάλυση έξι δειγμάτων από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας (Σφακιά, Χανιά, Ζάρος Κρήτης, Μάνη, Επίδαυρος) προσδιορίστηκαν περισσότερες από 50 μεμονωμένες ενώσεις μεταξύ τους σάκχαρα, φλαβονοειδή, λιπαρά οξέα, και 37 διτερπένια. Είκοσι από τα διτερπένια ανιχνεύθηκαν στην πρόπολη για πρώτη φορά. Όλα τα δείγματα πρόπολης ανήκουν σε έναν σαφή μεσογειακό τύπο πρόπολης, πλούσιο σε διτερπένια, που έχει περιγραφεί μέχρι τώρα μόνο για πρόπολη από την Σικελία και την Βορειοδυτική Ελλάδα. Αυτός ο τύπος πρόπολης κατέχει ένα συγκεκριμένο διτερπενικό προφίλ, που χαρακτηρίζεται από την παρουσία μιας ουσιαστικής ποσότητας κομμουνικών, κυπρεσσικών, και ισοκυπρεσσικών οξέων και τοταρόλης. Η βοτανική προέλευσή της είναι ακόμα μη αναγνωρισμένη, αλλά βάσει του διτερπενικού προφίλ, η φυτική πηγή πρέπει να είναι μερικά είδη κωνοφόρων της οικογένειας Cupressaceae. Το συμπέρασμα είναι βασισμένο στο γεγονός ότι αυτά τα δείγματα πρόπολης περιέχουν φερρουγκινόλη, τοταρόλη, οξυγονωμένα παράγωγα φερρουγκινόλης και τοταρόλης, και σεμπερβιρόλη, τα οποία είναι χαρακτηριστικά για τα φυτά της οικογένειας Cupressaceae αλλά όχι για τα φυτά της οικογένειας Pinaceae. Τέσσερα από τα δείγματα περιέχουν επίσης μερικές φαινολικές ενώσεις σε χαμηλές συγκεντρώσεις που είναι δείκτες λευκών: πινοσεμπρίνη, οξικό άλας της πινομπανσκίνης, και πεντενυλ-καφεϊκό οξέα. Αυτό το γεγονός θα μπορούσε να εξηγηθεί από την περιστασιακή πρόσβαση των μελισσών σε λεύκες. Ο προσδιορισμός παραγώγων σουκινικού οξέος οδηγεί στην υπόθεση ότι υπάρχουν δύο φυτικές πηγές πρόπολης, φυτά της οικ. Pinaceae και της οικ. Cupressaceae σε αυτήν την θέση, γιατί τέτοια παράγωγα έχουν απομονωθεί μόνο από αντιπροσώπους της οικ. Pinaceae. Επιπλέον, ο μεσογειακός τύπος πρόπολης είναι κάπως συγκρίσιμος με τον βραζιλιανό τύπο που προέρχεται από είδη αροκαριών, το οποίο είναι επίσης πλούσιο σε διτερπενικά οξέα λαδάνου (Porona et al. 2009, 2010).

Οι πτητικές ουσίες πέντε δειγμάτων ελληνικής πρόπολης αναλύθηκαν με αέριο χρωματογράφο, με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας συνδεδεμένο με φασματόμετρο μαζών. Ενενήντα τέσσερα συστατικά προσδιορίστηκαν από τα πέντε αιθέρια έλαια. Τα σημαντικότερα συστατικά από κάθε δείγμα ήταν το γιουνιπένιο (11,7%), α-πινένιο (7,9%), οξείδιο του μανουόλιου (7,1%) (δείγμα Χαλκιδικής), α-πινένιο (45,8%), trans-β τερπενεόλιο (6,6%) (δείγμα Άνδρου), α-πινένιο (17,7%), α-ευδεσμόλιο (12,1%), η-δεκανάλη (6,2%), γκουαϊόλη (5,0%) (δείγμα Αγρινίου), α-πινένιο (18,2%), δ-καδινένιο (8,4%) και α-μουουρολένιο (5,0%) (δείγμα Άρτας), α-πινένιο (10,9%), η-δεκανάλη

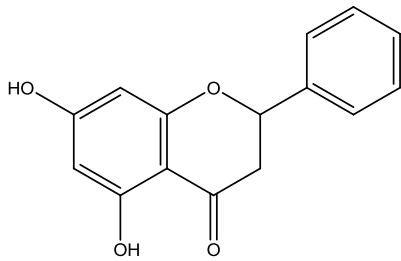
(10,3%), κεδρόλη (6,3%), ν-νονανάλη (5,4%), και μανούλη (5,2%) (δείγμα Πρέβεζας) (Εικ.9). Είναι πολύ ενδιαφέρον ότι το α-πινένιο προσδιορίστηκε ως σημαντικότερο συστατικό σε τέσσερα από τα πέντε δείγματα (7,9-45,8%). Αυτή η ένωση έχει αναφερθεί μέχρι τώρα μόνο ως ίχνος μεταξύ των πτητικών ουσιών σε λίγα Ευρωπαϊκά και τροπικά δείγματα πρόπολης. Το συνολικό προφίλ των πτητικών συστατικών σε όλα τα δείγματα, αποκαλύπτει την υπεροχή των τερπενοειδών έναντι των αρωματικών ενώσεων (Melliou et al., 2007).



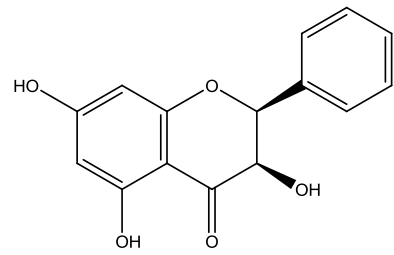
Εικόνα 9: Τερπένια αιθέριου ελαίου ελληνικής πρόπολης.

Σε δείγματα από 7 περιοχές της Ελλάδας (Καλάβρυτα Αχαΐας, Μεγαλόπολη Αρκαδίας, Αρφαρά και Τρίκορφο Μεσσηνίας, Αλοΐδες Ρεθύμνου, Πύργος Τήνου, Λουτρό Καρδίτσας, Γλώσσα Σκόπελου) και 1 από την Λάρνακα Κύπρου οι σημαντικότερες πολυφαινόλες (Εικ.10) που ταυτοποιήθηκαν, κατά σειρά μειούμενων συγκεντρώσεων σε όλα τα αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης ήταν: η χρυσίνη, η πινοσεμπρίνη, ο 3-Ο-αιθυλεστέρας της πινομπανκσίνης, η πινομπανκσίνη, το καφεϊκό οξύ, η καμφερόλη, το φερουλλικό οξύ και η ναριγκενίνη, ενώ το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο κυμάνθηκε από 10 μέχρι 265 mg/g καθαρής πρόπολης. Η χρυσίνη ήταν η σημαντικότερη πολυφαινόλη που προσδιορίστηκε στα περισσότερα χερσαία αιθανολικά εκχυλίσματα και στο δείγμα από τη Σκόπελο, ενώ η σημαντικότερη πολυφαινόλη που ποσοτικοποιήθηκε στα νότια νησιωτικά δείγματα και την Καρδίτσα, ήταν η πινοσεμπρίνη. Φαίνεται επίσης ότι η απιγενίνη απουσίαζε από τα νησιωτικά δείγματα. Όσον αφορά στα τερπενικά οξέα (Εικ.11), παρατηρούνται σε όλα τα αιθανολικά εκχυλίσματα αυξημένες συγκεντρώσεις του ολεανολικού οξέος, του διυδρο-αβιετικού οξέος και του ισοπιμαρικού οξέος, με εξαίρεση το δείγμα από τη Μεγαλόπολη. Η συγκέντρωση του αβιετικού οξέος ήταν επίσης αυξημένη σε όλες τις περιπτώσεις και ιδιαίτερα στο δείγμα από τα Καλάβρυτα κάτι που πιθανώς οφείλεται σε φυτογεωγραφικές παραμέτρους, όπως η ύπαρξη πεύκων (*Pinus*), αφού είναι γνωστό ότι στο ρετσίνι του πεύκου περιέχονται τερπενικά οξέα και κυρίως αβιετικό οξύ. Η ολική συγκέντρωση τερπενικών οξέων κυμάνθηκε από 6 μέχρι 634 mg/g καθαρής πρόπολης (Τρουλλίδου, 2007).

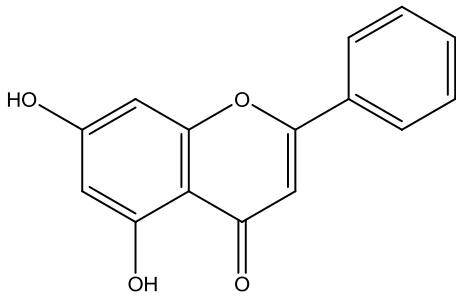
Τα σημαντικότερα συστατικά της πρόπολης από την Ελλάδα είναι οι πολυφαινόλες (φλαβονοειδή) και τα τερπενικά οξέα. Για το λόγο αυτό παρουσιάζονται παρακάτω οι δύο αυτές ομάδες.



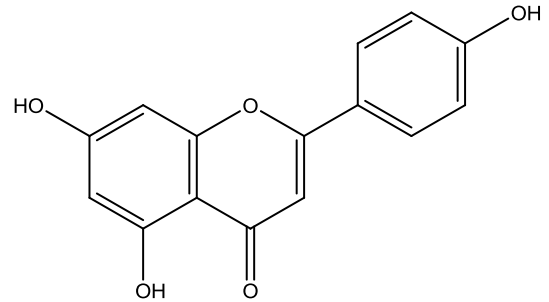
Πινοσεμπρίνη



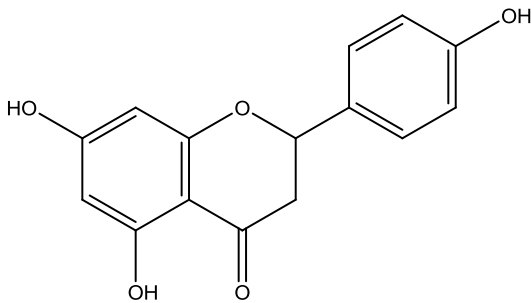
Πινομπασκίνη



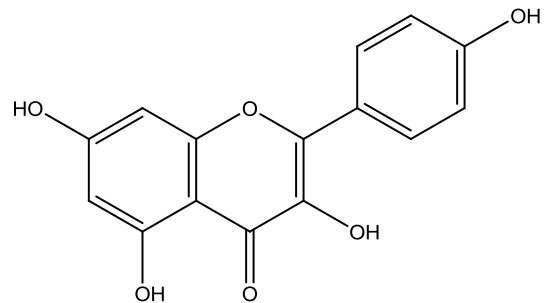
Χρυσίνη



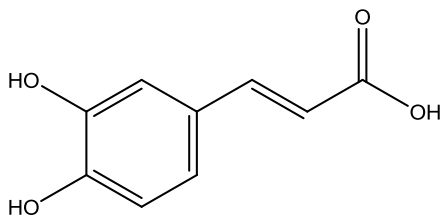
Απιγενίνη



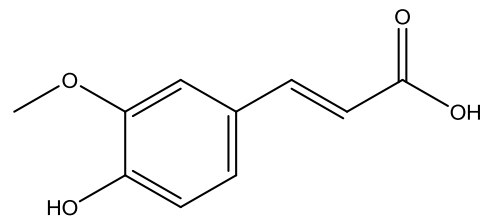
Ναριγενίνη



Καμφερόλη



Καφεϊκό οξύ



Φερουλικό οξύ

Εικόνα 10: Φλαβονοειδή και φαινολικά οξέα που έχουν ταυτοποιηθεί σε ελληνική πρόπολη.

2.9. 1 Φαινολικά συστατικά

Η πλειονότητα των αρωματικών φυσικών προϊόντων που υπάρχουν στα φυτά είναι οι φαινόλες. Οι φαινόλες είναι ουσίες ευρέως διαδεδομένες στο φυτικό βασίλειο καθώς αποτελούν χαρακτηριστικό συστατικό των φυτών ή ακόμα και κάποιου συγκεκριμένου οργάνου ή ιστού του φυτού. Έχουν στο μόριο τους έναν τουλάχιστον αρωματικό δακτύλιο υποκατεστημένο με ένα ή περισσότερα υδροξύλια. Οι φαινολικές ενώσεις τείνουν να είναι υδατοδιαλυτές, δεδομένου ότι εμφανίζονται πολύ συχνά συνδεδεμένες με σάκχαρα ως γλυκοζίτες. Η δομή τους ποικίλει από απλή (π.χ στα φαινολικά οξέα) έως πολύπλοκη, πολυμερή δομή (ταννίνες). Οι πολυφαινολικές ενώσεις κατατάσσονται κατά τον Harborne σε 15 κύριες τάξεις:

Απλές φαινόλες (τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη), βενζοκινόνες, φαινολικά οξέα (βανιλλικό), ακετοφαινόλες, φαινυλοξικά οξέα, φαινυλοπροπανοειδή, υδροξυκιναμμομικά οξέα (καφεϊκό, κουμαρικό), κουμαρίνες και ισοκουμαρίνες, χρωμόνες, ναφθοκινόνες, ξανθόνες, σπιλβένια, ανθρακινόνες, φλαβονοειδή, λιγνάνες, νεολιγνάνες και λιγνίνες.

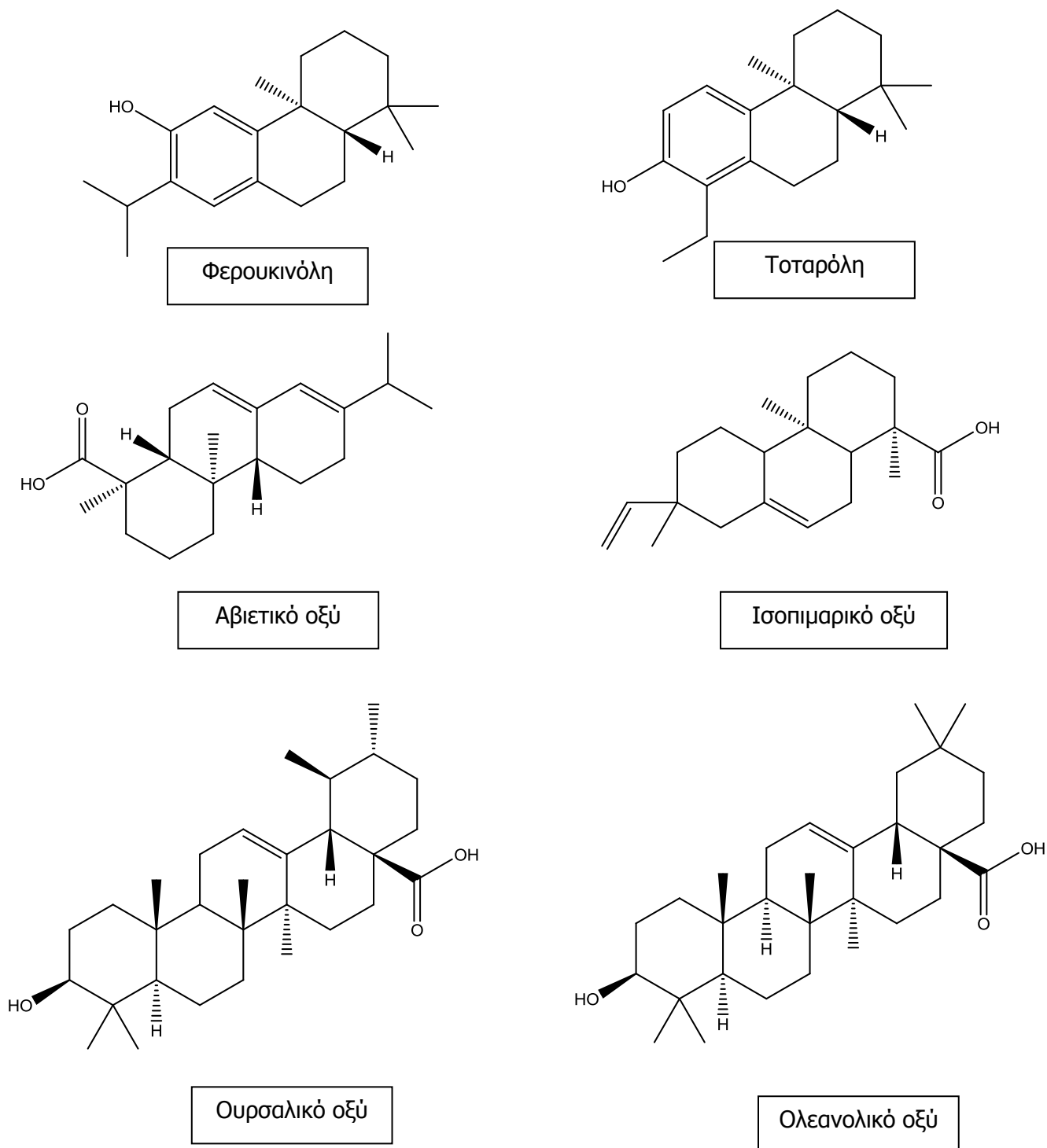
Από τις παραπάνω κατηγορίες η σημαντικότερη είναι αυτή των φλαβονοειδών η οποία διαιρείται περαιτέρω σε 13 υποκατηγορίες διαθέτοντας συνολικά περισσότερα από 5000 μέλη. Αυτές είναι οι χαλκόνες, οι διϋδροχαλκόνες, οι χρυσόνες, οι φλαβόνες, οι φλαβονόλες, οι διϋδροφλαβονόλες, οι φλαβονόνες, οι φλαβανόλες, οι φλαβανοδιόλες, οι ανθοκυανιδίνες, τα ισοφλαβονοειδή και τέλος τα διφλαβονοειδή, οι προανθοκυανιδίνες.

Τα φλαβονοειδή αποτελούν μία μεγάλη ομάδα πολυφαινολικών ενώσεων χρωστικών που βρίσκονται σε όλα σχεδόν τα φυτά και αποτελούν τα δραστικά συστατικά πολλών φαρμάκων φυτικής προέλευσης. Στα ανώτερα φυτά, απαντώνται υπό μορφή γεννινών ή γλυκοσιδών. Επειδή είναι ευρέως διαδεδομένα στη φύση συνιστούν μέρος της διατροφής του ανθρώπου. Παρουσιάζουν πλήθος βιολογικών ιδιοτήτων, αντικαρκινικών, αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών, αντιβακτηριακών, αντιαλλεργικών και αντιϊικών. Χρησιμοποιούνται ως συστατικά τροφίμων και καλλυντικών. Υπολογίζεται ότι ο άνθρωπος παίρνει με την τροφή του 1 g ημερησίως (Τρουλλίδου, 2007).

2.9. 2 Τερπενικά οξέα

Στα τερπενικά οξέα που ανευρίσκονται στη πρόπολη, συγκαταλέγονται τα υδρόξυ-πεντακυκλικά τερπενικά οξέα (HTPA) και τα ρητινώδη οξέα (resin acids). Τα πιο συχνά απαντώμενα HTPA είναι το ουρσολικό οξύ και το ολεανολικό οξύ, τα οποία εκδηλώνουν ποικίλες ευεργετικές επιδράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό και θεωρούνται ηπατοπροστατευτικά, αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινικά, αντι-υπερλιπιδαιμικά, ενώ το ουρσολικό οξύ εμφανίζει και προστατευτική δράση έναντι του HIV ιού (Liu, 1995; Xu *et al.*, 1996). Τα πιο συχνά απαντώμενα ρητινώδη οξέα είναι τα τρικυκλικά διτερπένια τα οποία διακρίνονται σε 2 κατηγορίες: τις αβιετάνες, που διαθέτουν ισοπρόπυλ-υποκατεστημένη ομάδα στον C-13, και τις πιμαράνες, που διαθέτουν μέθυλ- και βινυλ-υποκατεστημένες ομάδες στον C-13 (Mohn, 1995). Στην κατηγορία

των αβιετανών συγκαταλέγονται το αβιετικό οξύ και το διυδροαβιετικό οξύ, ενώ στην κατηγορία των πιμαρανών συγκαταλέγονται το πιμαρικό οξύ και το ισοπιμαρικό οξύ. Τόσο οι αβιετάνες όσο και οι πιμαράνες εκδηλώνουν αντιμυκησιακές, αντιπαρασιτικές, αντιβακτηριακές και αντικαρκινικές δράσεις (Τρουλλίδου, 2007).



Εικόνα 11: Διτερπένια και τερπενικά οξέα που έχουν ταυτοποιηθεί σε ελληνική πρόπολη.

2.10 Βιολογική αξία της πρόπολης

Η ποιότητα και η βιολογική αξία της πρόπολης σχετίζεται με τη χημική της σύνθεση. Οι φαρμακολογικώς ενεργές ουσίες της πρόπολης διαλύονται σε διαλύτες όπως οι αλκοόλες. Τα πιο σημαντικά συστατικά είναι τα φλαβονοειδή και διάφορες φαινολικές και αρωματικές ουσίες. Στον πίνακα 5 παρουσιάζονται οι ιδιότητες των διάφορων δραστικών συστατικών ανάλογα με το είδος της πρόπολης. Οι διάφορες φαρμακολογικές και θεραπευτικές ιδιότητες της πρόπολης αναφέρονται αναλυτικά παρακάτω.

Πίνακας 5: Δραστικά συστατικά που περιέχονται σε διαφορετικά είδη πρόπολης (Bankova, 2005).

Είδη πρόπολης ανάλογα με την προέλευση	Αντιβακτηριακή δράση	Αντιφλεγμονώδης δράση	Αντικαρκινική δράση	Ηπατο-προστατευτική δράση	Αντιοξειδωτική δράση	Πρόκληση αλλεργιών
Ευρώπη (είδος <i>poplar</i>)	Φλαβανόνες, φλαβόνες, φαινολικά οξέα και οι εστέρες τους	Φλαβανόνες, φλαβόνες, φαινολικά οξέα και οι εστέρες τους	Φαιναιθύλ-εστέρας του καφεϊκού οξέος (CAPE)	Καφεϊκό οξύ, φερρουλικό οξύ, φαιναιθύλ-εστέρας του καφεϊκού οξέος (CAPE)	Φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα και οι εστέρες τους	3,3-dimethylallyl caffeate
Βραζιλία (είδος <i>Baccharis</i>)	Πρενυλιωμένα p-κουμαρικά οξέα, διπερπένια	Δεν έχει ταυτοποιηθεί	Πρενυλιωμένα p-κουμαρικά οξέα, διπερπένια, βενζοφουράνια	Κινικό οξύ	Πρενυλιωμένα p-κουμαρικά οξέα, φλαβονοειδή	Δεν έχει δοκιμαστεί
Κούβα	Πρενυλιωμένες βενζοφαινόνες	Δεν έχει δοκιμαστεί	Πρενυλιωμένες βενζοφαινόνες	Δεν έχει ταυτοποιηθεί	Πρενυλιωμένες βενζοφαινόνες	Δεν έχει δοκιμαστεί
Ταϊβάν	Δεν έχει δοκιμαστεί	Δεν έχει δοκιμαστεί	Πρενυλιωμένες φλαβανόνες	Δεν έχει δοκιμαστεί	Πρενυλιωμένες φλαβανόνες	Δεν έχει δοκιμαστεί

2.10.1 Αντιοξειδωτική δράση της πρόπολης

Λαμβάνοντας υπόψη τις βιολογικές δράσεις της πρόπολης, αξίζει να επικεντρωθούμε ιδιαίτερα στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες που εκδηλώνει, μέσω των οποίων αναφέρεται ότι μπορεί να προστατεύσει ή και να θεραπεύσει βλάβες που εμφανίζονται στο δέρμα μέσω της επίδρασης των ελευθέρων ριζών (Reactive Oxygen Species, ROS). Το δέρμα βρίσκεται σε συνεχή έκθεση στις ελεύθερες ρίζες οι οποίες παράγονται μέσω της εξελικτικής διαδικασίας γήρανσης καθώς και μέσω εξωτερικών ερεθισμάτων όπως ιονίζουσας και υπεριώδους ακτινοβολίας. Είναι ευρέως γνωστό ότι η ηλιακή ακτινοβολία, σε συνδυασμό με άφθονη παροχή οξυγόνου (το οποίο μεταβολίζεται σε ROS), προκαλεί ανεπιθύμητες και επιβλαβείς επιπτώσεις στο δέρμα μέσω του οξειδωτικού στρες (ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών ουσιών σε βάρος των δεύτερων), καθιστώντας τα ενδογενή αντιοξειδωτικά συστήματα ανεπαρκή. Επομένως, η ανάπτυξη ενός σκευάσματος για τοπική χρήση που να περιλαμβάνει εκχύλισμα πρόπολης θεωρείται απόλυτα δικαιολογημένη και χρηστική.

Έχει αναφερθεί, επίσης, ότι όταν χορηγείται η πρόπολη ως συμπλήρωμα διατροφής, ρυθμίζει τη δράση των ενδογενών αντιοξειδωτικών ενζύμων (AOE) και οδηγεί σε μείωση της υπεροξειδωσής του λίπους στο πλάσμα, το ήπαρ, τους πνεύμονες και τον εγκέφαλο των πειραματόζων στα οποία χορηγήθηκαν. Η επίδραση αυτή είναι δόσο-εξαρτώμενη. Σε μια μελέτη όπου η κατώτερη δόση πρόπολης ήταν 100 mg/kg ΣΒ και η μέγιστη δόση ήταν 300 mg/kg ΣΒ, βρέθηκε ότι με την πρόσληψη της μικρότερης δόσης, εκδηλωνόταν προστατευτική δράση, παρεμποδίζοντας την οξειδωση του πλάσματος, ενώ η πρόσληψη της μεγαλύτερης δόσης είχε ως αποτέλεσμα προ-οξειδωτική δράση. Στην ίδια ερευνητική εργασία, αναφέρεται ότι η πρόπολη είχε και προστατευτική δράση στους πνεύμονες παρεμποδίζοντας την υπεροξυγόνωση, μέσω διέγερσης της δράσης της καταλάσης (CAT). Αυτό έχει μεγάλη σημασία, αφού οι πνεύμονες των ενηλίκων είναι ιδιαίτερα ευάλωτοι στην πρόκληση οξειδωτικού στρες εξαιτίας της ανικανότητας να αυξήσουν την δραστηριότητα των AOE (Τρουλλίδου, 2007).

Το εκχύλισμα πρόπολης παρουσιάζει την ιδιότητα της δέσμευσης των ελεύθερων ριζών (scavenging effect) αναλογική προς τη δόση, της σημαντικής αναστολής της δραστηριότητας της ξανθοξειδίας καθώς και τη δυνατότητα αποτροπής της οξειδωσης των λιπιδίων. Πρέπει να σημειωθεί ότι το εκχύλισμα πρόπολης με το φαινοθυλεστέρα του καφεϊκού οξέος είναι πιο ενεργό. Το τελευταίο αυτό, χρησιμοποιημένο απομονωμένο, παρουσιάζει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, η οποία είναι πιο ισχυρή από εκείνης της γαλαγγίνης. Τα πειράματα απέδειξαν ότι ο φαινοθυλεστέρα του καφεϊκού οξέος συμβάλλει σημαντικά στην αντιοξειδωτική δράση της πρόπολης (Roch, 2008).

Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των διαφορετικών εκχυλισμάτων φυτών και των καθαρών ενώσεων μπορούν να αξιολογηθούν χρησιμοποιώντας διάφορες τεχνητές δοκιμές. Οι αντιοξειδωτικές δοκιμές στα τρόφιμα και τα βιολογικά συστήματα μπορούν να διαιρεθούν σε δύο ομάδες: (α) εκείνες που αξιολογούν την υπεροξειδωση των λιπιδίων, και (β) εκείνες που μετρούν τη δυνατότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών. Εντούτοις μια ένωση μπορεί επίσης να ενεργήσει ως αντιοξειδωτική με το σχηματισμό χηλικής ένωσης με ιόντα μετάλλων ή με την παρεμπόδιση ενός συγκεκριμένου οξειδωτικού ενζύμου, όπως η οξειδάση της ξανθίνης (Miguel et al.2010).

Η αντιοξειδωτική ικανότητα της πρόπολης μπορεί να προσδιοριστεί και μέσω φασματοφωτομετρικών μεθόδων, όπως ο αποχρωματισμός της ρίζας ABTS^{•+}, μέσω του συστήματος β-καροτενίου-λινελαϊκού οξέος με εκδήλωση αποχρωματισμού του β-καροτενίου, η αναστολή της οξειδωσης του λίπους, η αποικοδόμηση της δεοξυριβόζης, η ικανότητα δέσμευσης της ρίζας DPPH και της δοκιμής χημειοφωταύγειας μέσω της χρησιμοποίησης του συστήματος H₂O₂/λουμινόλης/HRP και της αναστολής εκπομπής φωτός στη δοκιμή χημειοφωταύγειας μέσω του συστήματος ξανθίνης/λουμινόλης/ οξειδάσης της ξανθίνης.

Συμπερασματικά, η αντιοξειδωτική δραστηριότητα της πρόπολης οφείλεται στα φαινολικά συστατικά της, τα οποία έχουν επίσης αντικαρκινικές και αντιηπατοτοξικές δράσεις, επειδή οι ελεύθερες ρίζες που συνδέονται με την ανάπτυξη των όγκων θεωρούνται ότι ενεργούν ως δεύτεροι αγγελιοφόροι στη μεταβίβαση σημάτων που ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό κυττάρων. Κατά

συνέπεια, με τη μείωση των ενδοκυτταρικών υπεροξειδίων, τα αντιοξειδωτικά αναμένονται να εμποδίζουν την καρκινογένεση. Ομοίως, η αντιοξειδωτική δραστηριότητα φαίνεται επίσης να έχει σχέση και με την ηπατοπροστατευτική δραστηριότητα (Banskota et al., 2001).

2.10.2 Αντιβακτηριακή δράση της πρόπολης

Η in vitro δράση της πρόπολης έναντι ενός μεγάλου φάσματος βακτηρίων έχει αποτελέσει αντικείμενο πολλών ερευνητών. Υψηλή ευαισθησία παρουσίασαν 75 στελέχη βακτηρίων (69 *Staphylococcus spp* και 1 *Streptococcus spp.*) σε εκχυλίσματα πρόπολης. Η αντιβακτηριακή δραστηριότητα της πρόπολης ενάντια στο *S. aureus* 209P είχε την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) και τις ελάχιστες βακτηριοκτόνες τιμές συγκέντρωσης (MBC) 10 και 120 mg/mL, αντίστοιχα. Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι τα εκχυλίσματα πρόπολης αναστέλλουν την ανάπτυξη πολλών βακτηρίων θετικών κατά Gram (αερόβιων και αναερόβιων), όπως στελέχη των *Streptococcus* και *Bacillus*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Escherichia coli* αλλά έχουν περιορισμένη δράση έναντι στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια όπως το *Klebsiella pneumoniae* (Marcucci, 1995).

Οι Hashimoto et al. (1998) εξέτασαν την επίδραση της ακατέργαστης πρόπολης και των επιμέρους συστατικών της ενάντια στο *Helicobacter pylori*, τα εντερικά βακτηρίδια που είναι γνωστό ότι συνδέονται με το γαστρικό έλκος. Οι συντάκτες διαπίστωσαν ότι το εκχύλισμα αιθανόλης είχε δραστηριότητα κατά του *H. pylori*, και απομονώθηκαν ως ενεργές ενώσεις το π-κουμαρικό οξύ, το 3 πρενυλ-4-διυδροκινναμοιλοξικινναμωμικό οξύ και η αρτεπιλλίνη C. Οι Banskota et al. (2001) ανέφεραν ότι μερικές από τις απομονωμένες ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων των διτερπενίων τύπου λαβδάνου και των φαινολικών ενώσεων, έχουν σε κάποιο βαθμό δραστηριότητα έναντι του *H. pylori* (Banskota et al., 2001).

Τα εκχυλίσματα πρόπολης έχει παρατηρηθεί ότι έχουν συνεργιστική επίδραση με ορισμένα αντιβιοτικά όπως η στρεπτομυκίνη και η οξακυλλίνη ενάντια στον *Staphylococcus aureus* και με αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται ενάντια στα μυκοβακτήρια. Η παρουσία της πρόπολης αποτρέπει ή μειώνει οποιαδήποτε βαθμιαία αύξηση της ανθεκτικότητας των σταφυλόκοκκων στα αντιβιοτικά. Η αλληλεπίδραση μεταξύ της πρόπολης και των αντιμικροβιακών παραγόντων θα μπορούσαν να μειώσουν τις κλινικές συγκεντρώσεις αυτών των φαρμάκων μειώνοντας έτσι την εμφάνιση παρενεργειών. Επίσης μπορούν να συμβάλλουν στον έλεγχο των ανθεκτικών στελεχών των βακτηρίων και να ενδυναμώσουν την αντιβιοτική θεραπεία (Orsi et al., 2012).

Η αντιμικροβιακή δράση της πρόπολης, οφείλεται στα περιεχόμενα συστατικά της που εξαρτώνται από τη χημική της σύνθεση και μπορεί να διαφέρει ανάλογα με την περιοχή και την εποχή. Τα κύρια συστατικά τα οποία εκδηλώνουν αντιμικροβιακές ιδιότητες είναι τα φλαβονοειδή, ορισμένα αρωματικά οξέα και οι εστέρες. Η πρόπολη και μερικά από τα κινναμωμικά οξέα και τα φλαβονοειδή που περιέχει βρέθηκαν ότι αποσυνδέουν τη μεταγωγική ενεργεια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης και εμποδίζουν την κινητικότητα

του βακτηρίου (Banskota et al., 2001). Οι Kedzia et al., (1990), αναφέρουν ότι ο μηχανισμός με τον οποίο εκδηλώνεται η αντιμικροβιακή δράση της πρόπολης είναι περίπλοκος και μπορεί να αποδοθεί στη συνέργεια των υδρόξυ-οξέων των φλαβονοειδών και των σεσκιτερπενίων.

2.10.3 Αντιϊική δράση της πρόπολης

Σε ιολογικές μελέτες που έχουν διεξαχθεί με εκχυλίσματα πρόπολης που λαμβάνονται με διάφορους διαλύτες, μερικά είχαν επιπτώσεις στην αναπαραγωγή των ιών της γρίπης Α και Β, του ιού της δαμαλίτιδας και του ιού της ψευδοπανώλης. Οι Amoros et al. (1992a, 1992b) ερεύνησαν την *in vitro* επίδραση της πρόπολης σε διάφορους DNA και RNA ιούς. Παρατηρήθηκε με σαφήνεια η αναστολή του πολλαπλασιασμού του ιού της πολιομυελίτιδας. Εκτός από την επίδρασή της πρόπολης στον πολλαπλασιασμό των ιών, βρέθηκε ότι ασκεί μια ιοκτόνο δράση στον ιό του έρπητα (HSV) και στον ιό της φουσαλιδώδους στοματίτιδας (VSV).

Τα φλαβονοειδή και τα παράγωγα των αρωματικών οξέων παρουσιάζουν αντιϊική δράση. Οι Serkedjiena et al. (1992) έδειξαν ότι ο φερουλικός ισοπεντυλ-εστέρας ανέστειλε την μολυσματική δράση του ιού της γρίπης Α/Hong Kong (H3N2). Οι Debiaggi et al. (1990) εξέτασαν τη δράση διαφόρων φλαβονοειδών που ανευρίσκονται στη πρόπολη (ακακετίνη, καμφερόλη, χρυσίνη, κερκετίνη και γκαλαγκίνη). Δυο από αυτά, η χρυσίνη και η καμφερόλη, είχαν ισχυρή ανασταλτική δράση εμποδίζοντας τον πολλαπλασιασμό διαφόρων τύπων ερπητοϊών, αδενοϊών και ενός ροταϊού. Αναφέρεται επίσης ότι η ακακετίνη και η γκαλαγκίνη δεν εκδήλωσαν ισχυρή αντιϊκή δράση, ενώ η κερκετίνη ήταν η λιγότερο αποτελεσματική. Ορισμένοι συγγραφείς υποστήριξαν ότι η αντιϊική δράση της πρόπολης οφείλεται τόσο στα κύρια συστατικά όσο και στα δευτερεύοντα συστατικά όπως το 3-μεθυλοβουτ-2-ενυλο καφεϊκό οξύ και το 3-μεθυλοβουτυλο φερουλικό οξύ (Marcucci, 1995).

Έχει αναφερθεί ότι η πρόπολη μπορεί να επιδείξει ισχυρότερη δράση στην θεραπεία του έρπητα γεννητικών οργάνων, από ότι η αντιϊκή φαρμακευτική αγωγή με ακυκλοβίρη και υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για τη χρησιμοποίηση της πρόπολης στη θεραπεία του HIV (De Clercq, 2000).

2.10.4 Αντιμυκητιακή δράση της πρόπολης

Οι Millet-Clerc et al. (1987) ανέφεραν ότι η πρόπολη παρουσίασε σημαντική αντιμυκητιακή δραστηριότητα ενάντια σε *Trichophyton* και *Mycrosporium* παρουσία γλυκόλης προπυλενίου, η οποία αλληλεπιδρά συνεργικά σε μια συγκέντρωση 5%. Συνδυασμοί μερικών μυκητοκτόνων με πρόπολη (10%) αύξησαν τη δραστηριότητά τους ενάντια στις ζύμες *Candida albicans*. Η μέγιστη συνεργιστική επίδραση ενάντια στα περισσότερα στελέχη λήφθηκε όταν προστέθηκε πρόπολη στα αντιμυκητιακά φάρμακα (Holderna και Kedzia, 1987). Οι Lisa et al. (1989) έλεγξαν την αντιμυκητιακή

δραστηριότητα εκχυλισμάτων πρόπολης (10% σε αιθανόλη) ενάντια σε 17 παθογόνους μύκητες. Το εκχύλισμα πρόπολης εμπόδισε τον *Candida* και όλα τα δερματόφυτα που εξετάστηκαν. Fernandes Junior et al. (1994) αξιολόγησαν την αντιμυκητιακή δραστηριότητα των εκχυλισμάτων πρόπολης ενάντια στο *C. albicans*, το *C. parapsilosis*, το *C. tropicalis* και το *C. guilliermondii*, το 98% των δειγμάτων των μυκήτων ήταν ευαίσθητοι σε συγκεντρώσεις εκχυλίσματος λιγότερο από 5.0%. Ο Lori (1990) παρατήρησε ότι σε *in vitro* δοκιμές, συγκεντρώσεις πρόπολης 5 ή 10% απέτρεψαν την αύξηση του *Trichophyton verrucosum* (Marcucci, 1995).

Σε Ελληνική πρόπολη από την Πρέβεζα, βρέθηκε ότι η χρυσίνη η οποία είναι γνωστή για την αντιφλεγμονώδη της δράση, έδειξε ισχυρή δράση έναντι παθογόνων μυκήτων (όπως *P. aeruginosa*) (Melliou & Chinou, 2004).

2.10.5 Αντιπαρασιτική δράση της πρόπολης

Η πρόπολη είναι αποτελεσματική και στην αναστολή των παρασίτων, όπως Τριχομονάδες, Τρυπανοσώματα κτλ. Η αντιπαρασιτική της δράση οφείλεται στην αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης. Έχει αναφερθεί η μελέτη των αντιπαρασιτικών ιδιοτήτων της πρόπολης έναντι των: *Trypanosoma cruzi*, *Trichomonas vaginalis*, *Eimeria magna*, *E. media*, *E. perforans* και του κοκκίτη. Η κοκκιδιοστατική δράση της πρόπολης ήταν υψηλότερη από άλλα φάρμακα. Η πρόπολη ταξινομήθηκε ως καλό αντικοκκιδιακό ενάντια στο *Chilomonas paramecium*. Σε μια κλινική μελέτη καταγράφηκε η δράση της κατά των παρασίτων του γένους *Giardia* και η *in vitro* παρεμπόδιση της ανάπτυξης των *G. duodenalis trophozoites* (Marcucci, 1995).

2.10.6 Αντικαρκινική δράση της πρόπολης

Σε πολλές χώρες, οι αντικαρκινικές ιδιότητες της πρόπολης είναι αντικείμενο πολυάριθμων επιστημονικών μελετών και οι οποίες έχουν σε μεγάλο βαθμό αποδειχθεί. Η πρόπολη καταπολεμά την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων με διάφορους μηχανισμούς.

Η οξειδωση των κυττάρων είναι μία από τις πιο συχνές αιτίες καρκίνου. Τα φλαβονοειδή και άλλα συστατικά της πράσινης πρόπολης έχουν σε μεγάλο βαθμό αντιοξειδωτική δράση. Έχει αποδειχθεί η ικανότητά τους να αιχμαλωτίζουν τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου και να προστατεύουν από την οξειδωση τα λιπίδια της μεμβράνης και τη βιταμίνη C. Αυτό οφείλεται σε δύο από τα συστατικά της, κυρίως στο φαινολικό εστέρα του καφεϊκού οξέος και τη γαλαγγίνη.

Όσο αφορά την άμεση αντικαρκινική δράση, το αιθυλικό εκχύλισμα της πράσινης πρόπολης έδειξε *in vitro* ότι μετατρέπει τα καρκινικά ανθρώπινα κύτταρα του ήπατος και των ωοθηκών, αναστέλλοντας κατά τον τρόπο αυτόν την ανάπτυξή τους (Matsuno, 1992). Η κυτταροτοξική αυτή επίδραση οφείλεται στις ουσίες της πρόπολης: κερκετίνη, καφεϊκό οξύ και διτερπένια τύπου κλεροδανίου. Η τελευταία ουσία παρουσιάζει ενισχυμένη τοξικότητα έναντι των κυττάρων που είναι υπεύθυνα για τη δημιουργία όγκων. Επίσης,

άλλες μελέτες *in vitro* κατέληξαν σε κυτταροτοξικά και κυτταροστατικά αποτελέσματα έναντι των καρκινικών κυττάρων των ωοθηκών και του σαρκόματος σε ποντίκια. (Ross, 1990).

Ο καφεϊκός όξινος φαινολικός εστέρας παρουσιάζει κυτταροτοξική δράση σε ανθρώπινα και ζωικά καρκινικά κύτταρα: καρκίνωμα του μαστού, μελάνωμα, καρκίνος του εντέρου και καρκίνωμα των νεφρών (Grunberger et al, 1988). Η κυτταροτοξική δράση του καφεϊκού όξινου φαινολικού εστέρα έγκειται σε πολλούς μηχανισμούς (επαγωγή απόπτωσης των αλλοιωμένων κυττάρων, αναστολή του παράγοντα μεταγραφής NF-kB). Πρόσφατα, ανακαλύφθηκε η δράση του στην αποκατάσταση της διακυτταρικής επικοινωνίας δια των χασματοσυνδέσεων (Gap Junctional Intercellular communication /GJIC), παράγοντας που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της ομοιόστασης των πολυκυτταρικών οργανισμών και στη ρύθμιση του πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης και της απόπτωσης των κυττάρων. Η ανεπάρκεια του GJIC παίζει σημαντικό ρόλο κατά την αρχική περίοδο της καρκινογένεσης. Εντούτοις, η παρουσία του είναι στενά συνδεδεμένη με την καταστολή των καρκινικών φαινοτύπων.

Μία άλλη απομονωμένη ουσία της πράσινης πρόπολης, η Anterpiline C, παρουσιάζει *in vitro* κυτταροτοξική αποτελεσματικότητα έναντι των ανθρώπινων κυττάρων του γαστρικού καρκινώματος, του καρκινώματος των πνευμόνων, καθώς και των καρκινικών κυττάρων του εντέρου, όπως αποδεικνύουν μελέτες σε ποντίκια. (Kimoto, et al, 1995). Γενικότερα, τα μονοτερπένια, και ιδιαίτερα αυτά που βρίσκονται στο βασικό έλαιο της *Melaleuca alternifolia* (α-πινένιο, β-πινένιο) έχουν αντικαρκινική δράση. Αναστέλλουν το μηχανισμό μεταγραφής της μικρής πρωτεΐνης G, αναστέλλοντας έτσι τη μετατροπή και αλλοιώνοντας την έκφραση των γονιδίων. Μία μελέτη αποδεικνύει τη συμβολή τους στη μείωση των όγκων του μαστού.

Η πρόπολη μπορεί να ενισχύσει την αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος σε ποντίκια (Manolova et al, 1987). Πρόσφατα, Ιάπωνες ερευνητές απέδειξαν τη σχέση του εκχυλίσματος της πρόπολης με την ενεργοποίηση των μακροφάγων που συνδέονται με τις ανοσοποιητικές λειτουργίες του ανθρώπινου οργανισμού (Moriyasu, et al, 1993). Επίσης, η πρόπολη ενεργοποιεί τα κύτταρα που ευθύνονται για την παραγωγή κυτταροκινών. Άλλες μελέτες απέδειξαν ότι η πρόπολη είναι δυνατό να καταστείλει το διπλασιασμό του HIV-1 και να διαμορφώσει *in vitro* την ανοσοποιητική αντίδραση (Harish, et al, 1997).

Σε μια μελέτη η πρόπολη αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική από ότι μεμονωμένα τα συστατικά της. Συγκεκριμένα συστατικά, γνωστά για την αντικαρκινική τους δράση και τα οποία περιέχονται στην πρόπολη, αποδείχτηκαν λιγότερο αποτελεσματικά στον έλεγχο της εκδήλωσης μεταστάσεων όταν χορηγούνται μεμονωμένα από ότι όταν δίνονται άμεσα με την πρόπολη σε ποντίκια. Τα ποντίκια χωρίς θεραπεία εκδήλωσαν κατά μέσο όρο 62 μεταστάσεις. Με ενέσεις καφεϊκού οξέος, ο αριθμός έπεσε σε 43 κατά μέσο όρο, και σε 22 με την πρόπολη. Οι ερευνητές κατέληξαν ότι υπάρχει σε μεγάλο βαθμό συνέργεια ανάμεσα στα διαφορετικά συστατικά και η οποία μεγιστοποιεί τη δράση τους. (Να σημειωθεί ότι αν η αγωγή χορηγηθεί

προληπτικά, δηλαδή πριν την εμφάνιση του καρκίνου, τα αποτελέσματα είναι ακόμα πιο θεαματικά).

Η πρόπολη επίσης ενισχύει την αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας. Δύο είδη μελετών έρχονται να ενισχύσουν το παραπάνω συμπέρασμα. Η πρώτη πραγματοποιήθηκε από ομάδα του Ζάγκρεμπ. Αρχικά, η μελέτη, επισημαίνει ότι η πρόπολη αποδείχτηκε πιο αποτελεσματική από ότι ένα προϊόν που συνήθως χρησιμοποιείται στη χημειοθεραπεία, την επιρουμπικίνη. Για 62 μεταστάσεις που εκδηλώθηκαν κατά μέσο όρο σε ποντίκια χωρίς χορήγηση θεραπείας, η χημειοθεραπεία πέτυχε να μειώσει τον αριθμό τους σε 28 κατά μέσο όρο, και η πρόπολη σε 15. Βέβαια, δεν τίθεται το ζήτημα της αντικατάστασης της πρώτης με τη δεύτερη, καθώς στη συνέχεια, οι Κροάτες ερευνητές αποδεικνύουν ότι συνδυάζοντας τη χημειοθεραπεία και την πρόπολη, ο αριθμός των μεταστάσεων πέφτει σε 4!

Μία άλλη έρευνα, προερχόμενη από Ιάπωνες, καταλήγει σε ανάλογο αποτέλεσμα όσον αφορά το μέγεθος των όγκων. Ο συνδυασμός της μιτομυκίνης ή της 5-FU, δύο παραγόντων της θεραπείας του καρκίνου, με την πρόπολη είναι δυνατό να εμποδίσει την ανάπτυξη των όγκων σε περίοδο μόλις τριών εβδομάδων, ενώ η χημειοθεραπεία αυτό που κάνει δεν είναι παρά να την επιβραδύνει.

Τέλος η πρόπολη βελτιώνει την ποιότητα του αίματος κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Οι παρενέργειες της χημειοθεραπείας είναι ευρέως γνωστές. Μεταξύ αυτών, οι επιπτώσεις στην ποιότητα του αίματος, και ιδιαίτερα η μείωση του αριθμού των λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων θέτει κάποιες φορές σε κίνδυνο τη συνέχιση της θεραπείας. Ή αλλιώς θα λέγαμε ότι είναι μία καταστροφική συνέπεια στις περισσότερες των υποθέσεων. Ακόμα και σε αυτήν την περίπτωση, αν συνδυαστεί η πρόπολη και η χημειοθεραπεία, τα αποτελέσματα είναι εντυπωσιακά. Τα λευκά αιμοσφαίρια εξακολουθούν να μειώνονται, μόνο που τώρα ο ρυθμός μείωσης είναι κατά το ήμισυ μικρότερος. Όσον αφορά τα ερυθρά αιμοσφαίρια, ο αριθμός τους επανέρχεται συνήθως στο φυσιολογικό έπειτα από περίοδο 35 ημερών θεραπείας.

Συνοπτικά, είναι δυνατό να επιβεβαιωθεί ότι η χρήση της πρόπολης συμβάλλει σημαντικά και είναι αναπόσπαστος παράγοντας της πρόληψης και της θεραπείας του καρκίνου, χωρίς, βέβαια, ποτέ να καταργείται η κλασική ιατρική (Roch, 2008).

2.10.7 Αντιφλεγμονώδης δράση της πρόπολης

Μια από τις παραδοσιακά ευεργετικές ιατρικές ιδιότητες της πρόπολης είναι η αντιφλεγμονώδης δράση της, αφού η πρόπολη χρησιμοποιείται συνήθως για τη θεραπεία μερικών φλεγμονωδών δερματικών ασθενειών (Marcucci, 1995). Η φλεγμονή είναι συνδεδεμένη με διάφορες ασθένειες. Οι Ivanovska et al. (1995) παρατήρησε μια σημαντική μείωση οξείας φλεγμονής που προκλήθηκε σε ποντίκια μετά από του στόματος εφαρμογή υδροδιαλυτών συστατικών πρόπολης σε μια δόση 150 mg/kg. Το αιθανολικό εκχύλισμα πρόπολης βρέθηκε να καταστέλλει την παραγωγή προσταγλαδίνης και της λευκοτριένης από τα περιτοναϊκά μικροφάγα ποντικών *in vitro* και κατά τη διάρκεια

προκληθείσας οξείας φλεγμονής *in vivo*. Η αντιφλεγμονώδης δράση της πρόπολης οφείλεται στα φλαβονοειδή και στον φαιναιθυλεστέρα του καφεϊκού οξέος λόγω κυρίως της αντιοξειδωτικής τους δράσης (Banskota et al., 2001).

2.10.8 Ηπατοπροστατευτική δράση της πρόπολης

Τα παράγωγα του δικαφεουλκινικού οξέος έχουν μια σημαντική ηπατοπροστατευτική δραστηριότητα έναντι του CCl₄ που προκαλεί κυτταρική βλάβη. Τα δικαφεούλ-κινικά οξέα είναι πιθανοί και εκλεκτικοί αναστολείς της ιντεγκράσης του ανθρώπινου ιού ανοσοανεπάρκειας τύπου 1 (HIV-1) και αναφέρεται επίσης ότι εμποδίζουν την αντιγραφή του HIV-1 σε μη τοξικές συγκεντρώσεις. Οι ενώσεις αυτές έχουν ισχυρότερα ηπατοπροστατευτικά αποτελέσματα από τη γλυκυρριζίνη. Τόσο τα υδατικά όσο και τα αλκοολικά εκχυλίσματα πρόπολης έχουν επιπτώσεις στην προστασία του ήπατος από βλάβες που προκαλούνται είτε χημικά (CCl₄, acetoaminophen και D-GalN), είτε ανοσολογικά (D-GalN/LPS). Οι βλάβες του ήπατος που προκαλούνται χημικά οφείλονται σε διαταραχή της μεμβράνης του πλάσματος λόγω της παραγωγής κυτταρικών ριζών ή σε ανεπάρκεια στη σύνθεση των συστατικών της μεμβράνης. Έτσι, οι δεσμευτές ελεύθερων ριζών θα πρέπει να είναι πιθανοί αντιηπατοτοξικοί παράγοντες σε βλάβη του ήπατος που προκαλείται από χημικά μοντέλα. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες της πρόπολης και το φαινολικό περιεχόμενο της φαίνεται να είναι κρίσιμα για την ηπατοπροστατευτική της δράση. Παρά το γεγονός ότι, δεν είναι σαφής ο μηχανισμός της ηπατοπροστατευτικής δράσης των διτερπενοειδών που έχουν απομονωθεί από πρόπολη Βραζιλίας, και αυτά συμβάλλουν στην ηπατοπροστατευτική δράση της πρόπολης (Banskota et al., 2001).

2.10.9 Αναισθητική δράση της πρόπολης

Οι αναισθητικές ιδιότητες της πρόπολης οφείλονται στα πτητικά της έλαια (αιθέρια έλαια) και συνιστάται για τοπική αναισθητική χρήση, π.χ. για δείγματα εντόμων. Έχει αναφερθεί ότι μερικά από τα συστατικά που περιέχονται στη πρόπολη εκδηλώνουν αναισθητική δράση 3 φορές ισχυρότερη από αυτή που επιδεικνύει η κοκαΐνη και 52 φορές μεγαλύτερη από την προκαΐνη, όταν εισήχθησαν στον κερατοειδή χιτώνα λαγών. Τα σημαντικότερα συστατικά που είναι υπεύθυνα για την πρόκληση αναισθησίας είναι η πινοσεμπρίνη, το καφεϊκό οξύ και η πινοστρομπίνη. Εξαιτίας αυτής της επίδρασης, η πρόπολη χρησιμοποιείται εδώ και αιώνες στη θεραπεία στοματικών ερεθισμών και πονόλαιμου. Επίσης χρησιμοποιείται και ως αλοιφή στην οδοντιατρική (Τρουλλίδου, 2007).

2.10.10 Επούλωτική δράση της πρόπολης

Η πρόπολη επιταχύνει την επούλωση των κατεστραμμένων ιστών, επίδραση που οφείλεται κυρίως στα περιεχόμενα αιθέρια έλαια. Μελέτες έχουν

αποδειξεί την προστατευτική δράση της πρόπολης στους ιστούς, που έχουν υποβληθεί σε ραδιενέργεια. Η αντιοξειδωτική δράση της πρόπολης έχει μεγάλη επίδραση στην αναγέννηση κατεστραμμένων κυττάρων, η οποία οφείλεται στα φλαβονοειδή που περιέχει και τα οποία δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (Τρουλλίδου, 2007).

2.11 Αλλεργικά φαινόμενα

Η πρόπολη πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή, εάν υπάρχει ένδειξη αλλεργικής αντίδρασης. Ο αριθμός των αλλεργικών ατόμων στην πρόπολη είναι 1 στους 2000. Στην επιδερμίδα αυτό φαίνεται με την εμφάνιση κόκκινων κηλίδων εκεί όπου είναι λεπτή ή/και ευαίσθητη. Βέβαια οι κηλίδες αυτές εξαφανίζονται μέσα σε μερικές μέρες. Όταν γίνεται εσωτερική χρήση της πρόπολης η εμφάνιση αλλεργικής αντίδρασης είναι πιο σπάνια. Σ' αυτή την περίπτωση εμφανίζονται μικρές κόκκινες κηλίδες στο στήθος και μια ελαφρά φαγούρα. Για τους παραπάνω λόγους, η πρόπολη θα πρέπει να χρησιμοποιείται σε μικρές συγκεντρώσεις στην αρχή και σε μεγαλύτερες αργότερα (Τρουλλίδου, 2007).

Υπάρχουν διάφορες εκθέσεις σχετικά με την επίπτωση της αλλεργικής επίδρασης της πρόπολης και το 1,1 διμεθυλαλλυλ-καφεϊκό οξύ έχει προσδιοριστεί ως συστατικό αρμόδιο για την αλλεργία (Marcucci, 1995).

2.12 Τοξικότητα της πρόπολης

Εκτός από τις ευεργετικές χρήσεις της, η πρόπολη έχει επίσης μερικά μειονεκτήματα όπως η τοξική δράση της. Έχει διαπιστωθεί ότι η πρόπολη είναι σχετικά μη τοξική, μέχρι ένα επίπεδο 1440 mg/kg/ημέρα σε ποντίκια δεν εμφανίστηκε καμία επίδραση σύμφωνα με μια μελέτη που έγινε σε 90 ποντίκια. Ήδη έχει αναφερθεί ότι παρόλο που η πρόπολη αποτελείται πρώτιστα από διάφορες φυτικές ουσίες, περιστασιακά οι μέλισσες μπορεί να ενσωματώσουν σε αυτήν επικίνδυνες ουσίες π.χ. άσφαλτος από σημεία που φτιάχνονται δρόμοι κ.λ.π. Ομοίως, μέταλλα όπως ο σίδηρος (Fe), ο ψευδάργυρος (Zn), ο χαλκός (Cu) και το μαγνήσιο (Mn) έχουν βρεθεί σε κουβανική πρόπολη και ακόμη και βαριά μέταλλα όπως ο μόλυβδος (Pb) ανιχνεύθηκαν σε βραζιλιανή πρόπολη. Το περιβάλλον είναι ο κύριος παράγοντας που επηρεάζει την παρουσία αυτών των μετάλλων (Banskota et al., 2001).

2.13 Χρήσεις της πρόπολης

Η πρόπολη κυκλοφορεί στο εμπόριο σε σκευάσματα διαφόρων μορφών όπως ταμπλέτες, κάψουλες, κόκκοι, σκόνη, βάμμα, καραμέλες, μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλα προϊόντα όπως γύρη, βασιλικό πολτό, μέλι κ.λ.π.

Η πρόπολη χρησιμοποιείται πολύ στα καλλυντικά σα συστατικό στις λοσιόν, στις κρέμες προσώπου και χεριών, στα σαπούνια, στα σαμπουάν, στα κραγιόν, στις μαστίχες, στις οδοντόκρεμες, στις αντηλιακές κρέμες, στα υγρά για το πλύσιμο της στοματικής κοιλότητας και σε ρινικά σπρέι.

Επίσης χρησιμοποιήθηκε στην αρχαία Κρεμόνα της Ιταλίας, από τον Στραντιβάριους και από άλλους φημισμένους κατασκευαστές βιολιών, σαν το κύριο συστατικό των βερνικιών τους (Χαριζάνης, 1996).

Κεφάλαιο 3^ο

Πειραματικό μέρος

3.1 Συλλογή ακατέργαστης πρόπολης

Για τη συλλογή πρόπολης χρησιμοποιήθηκαν ειδικές σήτες συλλογής πρόπολης της ANEL Standard. Τοποθετήθηκαν σήτες στα μελίσσια του Εργαστηρίου Σηροτροφίας και Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Εικόνα 12) και παράλληλα απεστάλησαν 5 σήτες ανά μελισσοκόμο στις εξής περιοχές της Ελλάδας :

1. Ν. Αρκαδίας (Τρίπολη),
2. Ν. Λακωνίας (Ρηχιά),
3. Ν. Χανίων (Χανιά),
4. Νήσος Χίου (Βαβιλοί),
5. Νήσος Σκόπελος (Σκόπελος),
6. Ν. Βοιωτίας (Πέτρα),
7. Ν. Αττικής (Γ.Π.Α. Βοτανικός),
8. Νήσος Κύθνος (Μέριχας),
9. Ν. Λάρισας (Πλατύκαμπος),
10. Ν. Ιωαννίνων (Ιωάννινα),
11. Ν. Βοιωτίας (Δόμβραϊνα),
12. Νήσος Κεφαλληνίας (Αργοστόλι),
13. Ν. Πέλλας (Έδεσσα),
14. Ν. Έβρου (Άγιοι Θεόδωροι)
15. Ν. Εύβοιας (Παγώντας)



Εικόνα 12: Σήτα συλλογής πρόπολης τοποθετημένη πάνω από τους κηρηθοφορείς.

Στο μελισσοκομείο του Γ.Π.Α. τοποθετήθηκαν σήτες κατά τη διάρκεια του Χειμώνα, του Καλοκαιριού και του Φθινοπώρου του 2011. Στα υπόλοιπα μελισσοκομεία τοποθετήθηκαν σήτες σε 2 περιόδους Καλοκαίρι και Φθινόπωρο του 2011.

Μετά το τέλος κάθε περιόδου οι μελισσοκόμοι έστειλαν τις σήτες στο Εργαστήριο Σηροτροφίας και Μελισσοκομίας. Εκεί τοποθετούνταν οι σήτες στον καταψύκτη για ένα εικοσιτετράωρο και έπειτα ξεκινούσε ο καθαρισμός της σήτας για να παραλειφθεί η πρόπολη (Εικόνα 13). Η κάθε σήτα αφού είχε παραμείνει στην κατάψυξη και είχε παγώσει η πρόπολη, τοποθετήθηκε σε μια μεγάλη πλαστική σακούλα και με τη βοήθεια ενός ξύλου τινάχτηκε η σήτα και η πρόπολη μαζεύτηκε εντός της σακούλας. Σε περίπτωση που κομμάτια πρόπολης παράμεναν πάνω στη σήτα, με τη βοήθεια ενός λεπτού ξύλου απομακρύνθηκε όλη την ποσότητα πρόπολης από τη σήτα (Εικόνα 14). Η πρόπολη που συλλέγεται από μια σήτα αποτελεί και ένα ξεχωριστό δείγμα. Κάθε δείγμα πρόπολης ζυγίζεται και έπειτα τοποθετείται στον καταψύκτη στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Εικόνα 13: Σήτα με πρόπολη.



Εικόνα 14: Λεπτομερής καθαρισμός της σήτας μετά το τινάγμα.

3.2 Εκχύλιση της πρόπολης

Υλικά:

- Ογκομετρικές φιάλες των 50 mL.
- Κωνικές φιάλες τύπου Erlenmayer των 100 mL.
- Πιπέτες γυάλινες βαθμονομημένες των 20 mL, GDR.
- Διηθητικό χαρτί.
- Φιαλίδια υγρού σπινθηριστή.
- Χωνί.

Διαλύτες:

- Αιθανόλη $\geq 99,9$ % καθαρότητας, EMSURE , Merck.

Όργανα:

- Ζυγός ακριβείας, , Mettler Toledo, Max. 220 g, Min. 10 mg, AB 204.
- Λουτρό υπερήχων Transonic T 460, Elma.

Πειραματική πορεία

Ζυγίζουμε 2 g από το δείγμα ακατέργαστης πρόπολης και τα τοποθετούμε σε μια κωνική φιάλη τύπου Erlenmayer με 20 mL αιθανόλη : νερό (70% : 30%). Έπειτα τοποθετούμε την κωνική φιάλη στο λουτρό υπερήχων για 30 λεπτά όπου το νερό του λουτρού βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου (21-22°C). Μετά το πέρας των 30 λεπτών η θερμοκρασία του νερού μέσα στο λουτρό υπερήχων έχει ανέβει στους 32°C. Στη συνέχεια το διάλυμα της πρόπολης διηθείται, με την χρήση διηθητικού χαρτιού, σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL για την απομάκρυνση κηρών και ξένων ουσιών. Τέλος συμπληρώνουμε με αιθανόλη 70% έως την χαραγή της φιάλης και καλύπτουμε την φιάλη με αλουμινόχαρτο.

Στη συνέχεια το διάλυμα της πρόπολης τοποθετείται στην κατάψυξη (-20°C) επί 24 ώρες. Ακολουθεί και πάλι διήθηση του διαλύματος ώστε να απομακρυνθούν καλύτερα οι κήροι που έχουν παραμείνει στο διάλυμα. Έπειτα φυλάσσεται το δείγμα σε φιαλίδιο υγρού σπινθηριστή, το οποίο καλύπτεται με αλουμινόχαρτο και τοποθετείται στην κατάψυξη.

3.3 Μελέτη προσδιορισμού του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

Το Folin-Ciocalteu είναι μίγμα μολυβδενικού νατρίου (Na_2MoO_4), βολφραιμικού νατρίου (Na_2WO_4) και φωσφορικού οξέος (H_3PO_4) και προκαλεί οξειδωση των φαινολικών ιόντων με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων. Το προϊόν της αντίδρασης του Folin-Ciocalteu με τα φαινολικά συστατικά είναι ένα σύμπλεγμα μολυβδενίου-βολφραμίου

χαρακτηριστικής μπλε χρώσης που απορροφά στο ορατό (725nm). Να σημειωθεί ότι δεν γίνεται διαχωρισμός μεταξύ μονομερών, διμερών και ανώτερων φαινολικών συστατικών.

Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι:

α) το αντιδραστήριο της Folin- Ciocalteu είναι διαθέσιμο στο εμπόριο, και η διαδικασία είναι μάλλον τυποποιημένη.

β) η απορρόφηση σε μεγάλο μήκος κύματος (730 nm) ελαχιστοποιεί την παρέμβαση των χρωμοφόρων από το υπόστρωμα των δειγμάτων, το οποίο συχνά είναι χρωματισμένο.

γ) είναι μια συνήθως αποδεκτή μέθοδος και εφαρμόζεται συνήθως σε ερευνητικά εργαστήρια που ασχολούνται με τα αντιοξειδωτικά σε όλο τον κόσμο.

δ) έχει εξαχθεί ένας μεγάλος όγκος συγκρίσιμων στοιχείων.

Πρέπει να σημειωθεί ότι η μέθοδος προσδιορισμού των ολικών πολυφαινολών Folin- Ciocalteu διεξάγεται σε αρκετά βασικές συνθήκες (pH 10, απαραίτητο για τις φαινόλες να αποχωριστούν πρωτόνια). Οι απλές φαινόλες (π.χ., C₆H₅OH, η φαινολική ομάδα της τυροσίνης) αντιδρούν με την Folin- Ciocalteu, αν και δεν είναι αποτελεσματικές στη δέσμευση των ελεύθερων ριζών. Επομένως, μπορεί να μην υπάρξει απαραίτητως ένας καλός συσχετισμός μεταξύ της «συνολικής περιεκτικότητας σε πολυφαινόλες» και στην αντιοξειδωτική ικανότητα ενός δείγματος.

Η μέθοδος προσδιορισμού των ολικών πολυφαινολών Folin- Ciocalteu πραγματοποιείται στο νερό, μια υδάτινη φάση. Για τα λιπόφιλα αντιοξειδωτικά, αυτή η δοκιμή με την τρέχουσα μορφή της δεν μπορεί να εφαρμοστεί. Μάλιστα, έχουν γίνει προσπάθειες αλλά δεν ήταν δυνατόν να μετρηθούν οι ολικές πολυφαινόλες του λιποδιαλυτού κλάσματος της γύρης των μελισσών δεδομένου ότι το δείγμα δεν είχε ικανοποιητική διαλυτότητα στο νερό (Huang et al., 2005).

Δείγματα προς ανάλυση

- Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης

Υλικά

- Ογκομετρικές φιάλες των 10 mL.
- Πιπέτες γυάλινες βαθμονομημένες των 2 mL και του 1 mL, GDR.
- Γυάλινο μπουκάλι με πώμα.
- Αλουμινόχαρτο.
- Φιαλίδια με πώμα.

Χημικά - διαλύτες

- Απιονισμένο νερό.
- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu's Phenol reagent.

- Κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 , 20% w/v).
- Αιθανόλη $\geq 99,9$ % καθαρότητας, EMSURE , Merck.
- Καφεϊκό οξύ.

Όργανα

- Αναδευτήρας (Vortex).
- Ζυγός ακριβείας, , Mettler Toledo, Max. 220 g, Min. 10 mg, AB 204.
- Φασματοφωτόμετρο, Hitachi U1100 (UV, VIS).
- Πιπέτες Erpendorf 1000 μL και 100 μL .

Δημιουργία πρότυπης καμπύλης αναφοράς καφεϊκού οξέος

Για τη δημιουργία πρότυπης καμπύλης αναφοράς φτιάχνουμε 8 πρότυπα διαλύματα καφεϊκού οξέος με γνωστή συγκέντρωση σε mg/mL (0, 0,1 , 0,2 , 0,4 , 0,5 , 0,8 , 1,0). Η μέγιστη συγκέντρωση καφεϊκού οξέος είναι 1 mg/mL . Επομένως σε μια ογκομετρική φιάλη των 10 mL τοποθετώ 10 mg καφεϊκού οξέος και τα διαλύω αρχικά με 1 mL αιθανόλη 99,9%. Έπειτα προσθέτω απιονισμένο νερό μέχρι τα 10 mL. Από το διάλυμα αυτό δημιουργώ και τα υπόλοιπα πρότυπα διαλύματα με κατάλληλες αραιώσεις με απιονισμένο νερό.

Έπειτα ακολουθεί η διαδικασία που περιγράφεται παρακάτω (πειραματική πορεία Folin-Ciocalteu) εις τριπλούν για κάθε συγκέντρωση. Από τις απορροφήσεις που παίρνουμε σχηματίζεται η πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

Πειραματική πορεία Folin-Ciocalteu

Αρχικά παρασκευάζεται το κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 , 20% w/v). Στο ζυγό ακριβείας ζυγίζουμε 40 g άνυδρου ανθρακικού νατρίου σε ένα ποτήρι ζέσεως. Έπειτα προσθέτουμε 200 mL απιονισμένου νερού και αναδεύουμε έως ότου το διάλυμα να γίνει διαυγές. Έπειτα τοποθετούμε το διάλυμα σε ένα γυάλινο μπουκάλι με πώμα και φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου.

Έπειτα πραγματοποιείται αραιώση των διαλυμάτων πρόπολης σε διάφορες συγκεντρώσεις με αιθανόλη 70%. Η αραιώση που γίνεται σε κάθε δείγμα εξαρτάται από την ένταση του χρώματος του διαλύματος. Όσο πιο έντονο χρώμα έχει το διάλυμα τόσο μεγαλύτερη αραιώση γίνεται, έτσι ώστε η τιμή που θα προκύψει να είναι εντός των ορίων της πρότυπης καμπύλης του καφεϊκού οξέος.

Σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL τοποθετούνται 6 mL απιονισμένου νερού και προστίθενται 100 μL από κάθε δείγμα και 0,5 mL αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Αναδεύουμε σε vortex και τυλίγουμε την φιάλη με αλουμινόχαρτο. Μετά από 3 λεπτά προστίθεται 1,5 mL κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3 , 20% w/v) και συμπληρώνεται μέχρι τελικού όγκου 10 mL με

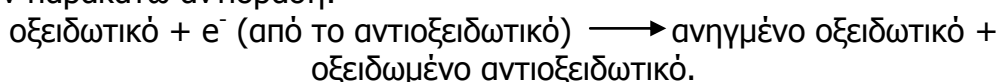
απιονισμένο νερό (1,9 mL απιονισμένο νερό). Τα δείγματα ανακινούνται, τοποθετούνται σε φιαλίδιο με πάμα και σημειώνουμε την ώρα. Έπειτα παραμένουν στο σκοτάδι για 2 ώρες, ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση. Μετά το πέρας των 2 ωρών ακολουθεί ανάδευση των δειγμάτων, τοποθέτηση σε κυψελίδες και φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 725 nm, ως προς τυφλό δείγμα (αιθανόλη 70%). Η διαδικασία αυτή ακολουθείται εις τριπλούν για το κάθε δείγμα.

Η συγκέντρωση των πολυφαινολών στο δείγμα υπολογίζεται με τη χρήση της καμπύλης αναφοράς καφεϊκού οξέος και εκφράζεται ως ισοδύναμα καφεϊκού οξέος (Caffeic Acid Equivalent, CAE).

3.4 Μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας

Ανάλογα με το είδος των χημικών αντιδράσεων, οι μέθοδοι για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας μπορούν να διαχωριστούν σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει τις αναλύσεις που βασίζονται στην αντίδραση μεταφοράς ατόμου υδρογόνου (hydrogen atom transfer, HAT), ενώ η δεύτερη περιλαμβάνει την αντίδραση που βασίζεται στη μεταφορά ενός ηλεκτρονίου (single electron transfer, ET). Οι μέθοδοι που βασίζονται στο ET περιλαμβάνουν μία αντίδραση οξειδοαναγωγής με το οξειδωτικό.

Κατά την πειραματική διαδικασία όλες οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν είτε για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας (DPPH, ABTS) είτε για τη μέτρηση των φαινολικών συστατικών των δειγμάτων (Folin-Ciocalteu reagent) είναι αναλύσεις ET. Οι μέθοδοι αυτοί περιλαμβάνουν δύο συστατικά στο αντιδρών μίγμα, το αντιοξειδωτικό και το οξειδωτικό, όπως παρουσιάζονται στην παρακάτω αντίδραση:



Το οξειδωτικό αποσπά ένα ηλεκτρόνιο από το αντιοξειδωτικό, προκαλώντας αλλαγή του χρώματος του πρώτου. Ο βαθμός της αλλαγής του χρώματος σχετίζεται αναλογικά με τη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών. Το τελικό σημείο της αντίδρασης λαμβάνει μέρος όταν η αλλαγή του χρώματος σταματά. Το διάγραμμα της αλλαγής της απορρόφησης συναρτήσει της συγκέντρωσης του αντιοξειδωτικού είναι ευθεία καμπύλη, όπου η κλίση της αντιστοιχεί στη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας και η οποία εκφράζεται είτε σε ισοδύναμα Trolox είτε σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Huang *et al.*, 2005) καθώς και καφεϊκού οξέος.

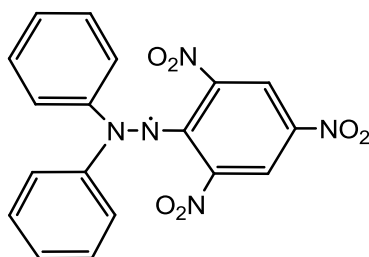
Η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας πραγματοποιήθηκε με τη χρήση δύο μεθόδων: του ABTS και του DPPH. Αυτό έγινε γιατί ενώ υπάρχουν πολλές και διαφορετικές μέθοδοι για τη μέτρηση αυτή, δεν υπάρχει κάποια εγκεκριμένη και τυποποιημένη μέθοδος. Πλέον έχουν δημοσιευτεί πολλές και γρήγορες μέθοδοι για τον έλεγχο αυτό καθώς και πολλά *in vitro* αντιοξειδωτικά πρωτόκολλα, τα οποία χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας (Packer *et al.*, 1998, Armstrong, 1998, Rajalakshmi *et al.*, 1996). Είναι φανερό ότι η σημασία και η αξιολόγηση των

αντιοξειδωτικών σε τρόφιμα και βιολογικά συστήματα εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο. Υπάρχουν πολλά αντιφατικά αποτελέσματα για διάφορα αναγνωρισμένα αντιοξειδωτικά, ανάλογα με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται. Σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα είναι ιδιότητες των αντιοξειδωτικών μεταξύ λιπιδίων και υδατικής φάσης (Frankel *et al.*, 1994, Frankel *et al.*, 1996, Schwarz *et al.*, 1996, Porter, 1993), οι συνθήκες οξείδωσης και η φυσική κατάσταση του οξειδωμένου υποστρώματος.

Έτσι λοιπόν τα δεδομένα που προκύπτουν από διαφορετικούς ερευνητές είναι πολύ δύσκολο να συγκριθούν και να ερμηνευθούν. Για την αντιμετώπιση τέτοιων προβλημάτων είναι καλύτερο να χρησιμοποιούνται περισσότεροι από μία μέθοδοι για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας.(Frankel *et al.*, 2000).

3.4.1 Μελέτη αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH)

Η μέθοδος DPPH* (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) είναι μια μέθοδος εκτίμησης του πολυφαινολικού περιεχομένου που βαίζεται στη μέτρηση της ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών. Στην ικανότητα αυτή των πολυφαινολών αποδίδεται η αντιοξειδωτική τους δράση με αποτέλεσμα η μέθοδος αυτή να δίνει μετρήσεις της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των πολυφαινολών του δείγματος. Αποτελεί *in vitro* τεχνική και πλεονεκτεί ως προς το ότι η δέσμευση των ελευθέρων ριζών του DPPH (Εικ.15) από τις πολυφαινόλες του δείγματος και η φασματοφωτομέτρηση του συνολικού διαλύματος αντίδρασης δεν είναι χρονοβόρες διαδικασίες. Η μείωση της συγκέντρωσης της ρίζας DPPH παρουσίας των πολυφαινολών φαίνεται στην μείωση της απορρόφησης από τις ελεύθερες ρίζες στα 515 nm επιτρέποντας την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης.



Εικόνα 15: Το DPPH.

Τα περισσότερα φαινολικά αντιοξειδωτικά αντιδρούν αργά με το DPPH, φθάνοντας σε μια σταθερή κατάσταση σε 1-6 ώρες ή περισσότερο. Αυτό δείχνει ότι η εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας με τη μέθοδο DPPH πρέπει να αξιολογείται με την πάροδο του χρόνου. Η μέθοδος έχει επίσης καλή επαναληψιμότητα και χρησιμοποιείται συχνά. Εντούτοις, όπως η ABTS, έχει περιορισμένη σχετικότητα σε βιολογικά συστήματα. Επίσης, η παρέμβαση του χρώματος του DPPH με τα δείγματα που περιέχουν

ανθοκυάνες οδηγεί στην υποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης. Βασικό πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι το DPPH είναι μια σταθερή ελεύθερη ρίζα που είναι έτοιμη να χρησιμοποιηθεί. Ενώ τα μειονεκτήματά της είναι α) η αργή αντίδραση, ως εκ τούτου δύσκολο να ληφθούν απόλυτες αντιοξειδωτικές τιμές, β) η παρέμβαση του χρώματος που μπορεί να οδηγήσει σε υποτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης, γ) είναι ευαίσθητη στο pH και δ) δεν είναι τυποποιημένη (Awika et al., 2003).

Δείγματα προς ανάλυση

- Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης

Υλικά

- Πιπέτα γυάλινη βαθμονομημένη των 10 mL, GDR.
- Ογκομετρική φιάλη των 100 mL.
- Γυάλινο μπουκάλι με πώμα.
- Αλουμινόχαρτο.
- Φιαλίδια με πώμα.

Διαλύτες

- 1,1- διφαινυλο-2-πικρυλοϋδράζυλο ελεύθερη ρίζα, Aldrich.
- Αιθανόλη, $\geq 99,9$ % καθαρότητας, EMSURE , Merck.
- Trolox (ισοδύναμο βιταμίνης E), (\pm)-6-υδροξυ-2,5,7,8,- τετραμεθυλοχρωμάνιο-2-καρβοξυλικό οξύ, Aldrich.

Όργανα

- Αναδευτήρας (Vortex).
- Ζυγός ακριβείας, , Mettler Toledo, Max. 220 g, Min. 10 mg, AB 204.
- Φασματοφωτόμετρο, Hitachi U1100 (UV, VIS).
- Πιπέτες Eppendorf 1000 μ L και 100 μ L.

Δημιουργία πρότυπης καμπύλης αναφοράς Trolox

Για τη δημιουργία πρότυπης καμπύλης αναφοράς φτιάχνουμε 9 πρότυπα διαλύματα Trolox με γνωστή συγκέντρωση σε μ M (0, 2,5 , 5,0 , 7,5 , 10,0 , 12,5 , 15,0 , 17,5 , 20,0). Η μέγιστη συγκέντρωση Trolox είναι 20 μ M. Επομένως σε μια ογκομετρική φιάλη των 10 mL τοποθετώ 5 mg Trolox και τα διαλύω με αιθανόλη 70%. Από το διάλυμα αυτό δημιουργώ και τα υπόλοιπα πρότυπα διαλύματα με κατάλληλες αραιώσεις με αιθανόλη 70%.

Έπειτα ακολουθεί η διαδικασία που περιγράφεται παρακάτω (πειραματική πορεία DPPH) εις τριπλούν για κάθε συγκέντρωση. Από τις απορροφήσεις που παίρνουμε σχηματίζεται η πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

Πειραματική πορεία DPPH

Αρχικά προετοιμάζεται το διάλυμα DPPH 60 μM . Ζυγίζουμε 2,36 mg DPPH και προστίθεται σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL, μαζί με αιθανόλη 70% μέχρι τη χαραγή. Ανακινούμε πολύ καλά μέχρι να διαλυθεί όλο το DPPH. Έπειτα τοποθετούμε το διάλυμα σε ένα μπουκάλι με πώμα και το καλύπτουμε με αλουμινόχαρτο.

Έπειτα πραγματοποιείται αραιώση των διαλυμάτων πρόπολης σε διάφορες συγκεντρώσεις με αιθανόλη 70%. Η αραιώση που γίνεται σε κάθε δείγμα εξαρτάται, κατά κανόνα, από τις τιμές που προέκυψαν κατά τη μέτρηση του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Για απορροφήσεις πάνω από 0,550 με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu γίνεται αραιώση στο μισό, έτσι ώστε η τιμή που θα προκύψει να είναι εντός των ορίων της πρότυπης καμπύλης Trolox.

Σε φιαλίδιο με πώμα τοποθετούνται 30 μL από το κάθε προς μελέτη διάλυμα. Ακολουθεί προσθήκη 3 mL DPPH 60 μM και ανάδευση σε Vortex. Τα φιαλίδια καλύπτονται με αλουμινόχαρτο και παραμένουν για 30 min στο σκοτάδι, ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση. Μετά το πέρας των 30 λεπτών, τα δείγματα αναδεύονται και τοποθετούνται σε κυψελίδες. Ακολουθώς φωτομετρούνται στα 515 nm. Η διαδικασία αυτή ακολουθείται εις τριπλούν για το κάθε δείγμα.

Πριν προχωρήσουμε στη φωτομέτρηση μηδενίζουμε το φωτόμετρο με αιθανόλη. Παράλληλα γίνεται φωτομέτρηση ενός τυφλού δείγματος που περιέχει 30 μL αιθανόλη 70%, αντί δείγματος, και 3 mL διάλυμα DPPH 60 μM . Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα Trolox (TRE: Trolox Equivalents), με τη βοήθεια της πρότυπης καμπύλης αναφοράς Trolox (ανάλογο βιταμίνης E).

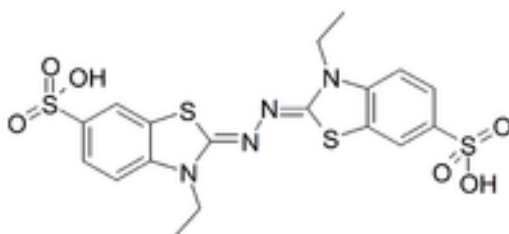
3.4.2 Μελέτη αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS^{•+})

Η τεχνική για την παραγωγή ABTS^{•+} (Εικ. 16) περιλαμβάνει την άμεση παραγωγή του μπλε/πράσινου ABTS^{•+} χρωμοφόρου μέσω της αντίδρασης μεταξύ ABTS και υπεροξειδίου του καλίου. Η προσθήκη των αντιοξειδωτικών στο προσχηματισμένο ριζικό κατιόν το μειώνει σε ABTS, σε τέτοια έκταση και σε χρόνο ανάλογα με την αντιοξειδωτική δραστηριότητα, τη συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού και τη διάρκεια της αντίδρασης. Κατά συνέπεια, αποχρωματισμός του ABTS^{•+} κατιόντος (που ακολουθείται με μείωση της απορρόφησης στα 734 nm) καθορίζεται ως λειτουργία της συγκέντρωσης του αντιοξειδωτικού και του χρόνου.

Η μέθοδος αυτή είναι μία ανάλυση αποχρωματισμού, κατάλληλη για λιπόφιλα (και υδατικά) συστήματα στα οποία τα αντιοξειδωτικά προστίθενται για το σχηματισμό κατιοντικής ρίζας. Η ρίζα αυτή παράγεται κατά την οξείδωση ενός ηλεκτρονίου του ABTS και χρησιμοποιείται για τη μέτρηση των

λιπόφιλων αντιοξειδωτικών όπως τα καροτενοειδή και λιπόφιλα εκχυλίσματα συστατικών της διατροφής.

Η μέθοδος εκφράζεται συνήθως ως ισοδύναμη Trolox αντιοξειδωτική ικανότητα (TEAC). Η μέθοδος είναι γρήγορη και μπορεί να χρησιμοποιηθεί πέρα από ένα ευρύ φάσμα τιμών pH, και σε συστήματα υδατικών και οργανικών διαλυτών. Έχει επίσης καλή επαναληψιμότητα και είναι απλό να εκτελεσθεί ως εκ τούτου, αναφέρεται ευρέως. Η μέθοδος, εντούτοις, δεν έχει συσχετιστεί με βιολογικά αποτελέσματα ως εκ τούτου, η πραγματική σχετικότητα της με την *in vivo* αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα είναι άγνωστη (Awika et al., 2003). Μειονεκτήματα της μεθόδου είναι α) ότι απαιτείται ένα επιπλέον βήμα για τη δημιουργία της ελεύθερης ρίζας από το άλας ABTS, β) η παραγόμενη ελεύθερη ρίζα ABTS δεν είναι σταθερή για μεγάλες χρονικές περιόδους και γ) δεν είναι τυποποιημένη, ως εκ τούτου είναι δύσκολο να συγκριθούν τα αποτελέσματα από τα διάφορα εργαστήρια (Awika et al., 2003).



Εικόνα 16: Το ABTS.

Δείγματα προς ανάλυση

- Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης

Υλικά

- Πιπέτα γυάλινη βαθμονομημένη των 10 mL, GDR.
- Γυάλινο μπουκάλι με πώμα.
- Αλουμινόχαρτο.
- Φιαλίδια με πώμα.

Διαλύτες

- ABTS, AppliChem.
- Υπεροξειδίο του καλίου, pro analysi, Merck.
- Αιθανόλη, $\geq 99,9$ % καθαρότητας, EMSURE, Merck.
- Trolox (ισοδύναμο βιταμίνης E), (\pm)-6-υδρόξυ-2,5,7,8,-τετραμεθυλοχρωμάνιο-2-καρβοξυλικό οξύ, Aldrich.
- Δισαπασταγμένο νερό, Water for chromatography, LiChrosolv, Merck.

Όργανα

- Αναδευτήρας (Vortex).
- Ζυγός ακριβείας, , Mettler Toledo, Max. 220 g, Min. 10 mg, AB 204.
- Φασματοφωτόμετρο, Hitachi U1100 (UV, VIS).
- Φούρνος, Επωαστήρας, Στεγνωτήρας, Helena Laboratories, Model IOD.
- Πιπέτες Eppendorf 1000 μ L και 100 μ L.

Δημιουργία πρότυπης καμπύλης αναφοράς Trolox

Για τη δημιουργία πρότυπης καμπύλης αναφοράς φτιάχνουμε 9 πρότυπα διαλύματα Trolox με γνωστή συγκέντρωση σε μ M (0, 2,5 , 5,0 , 7,5 , 10,0 , 12,5 , 15,0 , 17,5 , 20,0). Η μέγιστη ποσότητα Trolox είναι 20 μ M. Επομένως σε μια ογκομετρική φιάλη των 10 mL τοποθετώ 5 mg Trolox και τα διαλύω με αιθανόλη 70%. Από το διάλυμα αυτό δημιουργώ και τα υπόλοιπα πρότυπα διαλύματα με κατάλληλες αραιώσεις με αιθανόλη 70%.

Έπειτα ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφεται παρακάτω (πειραματική πορεία ABTS^{•+}) εις τριπλούν για κάθε συγκέντρωση. Από τις απορροφήσεις που παίρνουμε σχηματίζεται η πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

Πειραματική πορεία ABTS^{•+}

Το διάλυμα ABTS^{•+} προετοιμάζεται από την αντίδραση 7 μ M ABTS και 2,45 mM υπεροξειδίου του καλίου μετά από επώαση 16 ωρών σε θερμοκρασία δωματίου.

Ζυγίζουμε 38,4 mg ABTS και προστίθεται σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL, μαζί με δισαπισταγμένο νερό μέχρι τη χαραγή. Ανακινούμε πολύ καλά μέχρι να διαλυθεί όλο το ABTS. Έπειτα τοποθετούμε το διάλυμα σε ένα φιαλίδιο με πώμα και το καλύπτουμε με αλουμινόχαρτο.

Στη συνέχεια ζυγίζουμε 337,7 mg υπεροξειδίου του καλίου και προστίθεται σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL, μαζί με δισαπισταγμένο νερό μέχρι τη χαραγή. Ανακινούμε πολύ καλά μέχρι να διαλυθεί όλο το υπεροξειδίου του καλίου. Έπειτα τοποθετούμε το διάλυμα σε ένα φιαλίδιο με πώμα και το καλύπτουμε με αλουμινόχαρτο. Τέλος από το διάλυμα αυτό παίρνουμε με μια πιπέτα Eppendorf 0,2 mL και τα ρίχνουμε στο φιαλίδιο που περιέχει το διάλυμα ABTS για να αρχίσει η αντίδραση. Το νέο διάλυμα αφήνεται για επώαση 16 ώρες προτού χρησιμοποιηθεί.

Μετά τη πάροδο των 16 ωρών παίρνουμε μια ποσότητα από το διάλυμα ABTS^{•+} και την αραιώνουμε με αιθανόλη 70% έως ότου η απορρόφηση του διαλύματος που σχηματίζεται να είναι $0,700 \pm 0,005$ στα 734 nm. Καλύπτουμε το γυάλινο μπουκάλι που περιέχει το διάλυμα με αλουμινόχαρτο και το τοποθετούμε σε φούρνο στους 30°C.

Έπειτα πραγματοποιείται αραιώση των διαλυμάτων πρόπολης σε διάφορες συγκεντρώσεις με αιθανόλη 70%. Η αραιώση που γίνεται σε κάθε δείγμα εξαρτάται, κατά κανόνα, από τις τιμές που προέκυψαν κατά τη μέτρηση του

συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Κρίθηκε απαραίτητο να γίνουν μεγαλύτερες αραιώσεις σε σχέση με αυτές που έγιναν με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu. Αυτό συνέβει γιατί η τιμή της απορρόφησης μειωνόταν με ταχύ ρυθμό όταν γινόταν φωτομέτρηση, που οφειλόταν στη διέργεια των μορίων του αντιοξειδωτικού από τα ήδη οξειδωμένα μόριά του. Συνεπώς με τις μεγαλύτερες αραιώσεις των δειγμάτων το φαινόμενο αυτό περιορίστηκε σημαντικά.

Σε φιαλίδιο με πώμα τοποθετούνται 30 μL από το κάθε προς μελέτη διάλυμα. Ακολουθεί προσθήκη 3 mL ABTS^+ και ανάδευση σε Vortex. Τα φιαλίδια καλύπτονται με αλουμινόχαρτο και παραμένουν για 6 λεπτά στο φούρνο στους 30°C και στο σκοτάδι, ώστε να πραγματοποιηθεί η αντίδραση. Μετά το πέρας των 6 λεπτών, τα δείγματα αναδεύονται και τοποθετούνται σε κυψελίδες. Ακολούθως φωτομετρούνται στα 734 nm. Η διαδικασία αυτή ακολουθείται εις τριπλούν για το κάθε δείγμα.

Πριν προχωρήσουμε στη φωτομέτρηση μηδενίζουμε το φωτόμετρο με αιθανόλη. Παράλληλα γίνεται φωτομέτρηση ενός τυφλού δείγματος που περιέχει 30 μL αιθανόλη 70%, αντί δείγματος, και 3 mL διάλυμα ABTS^+ . Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε ισοδύναμα Trolox (TRE: Trolox Equivalentents), με τη βοήθεια της πρότυπης καμπύλης αναφοράς Trolox (ανάλογο βιταμίνης E).

Κεφάλαιο 4°

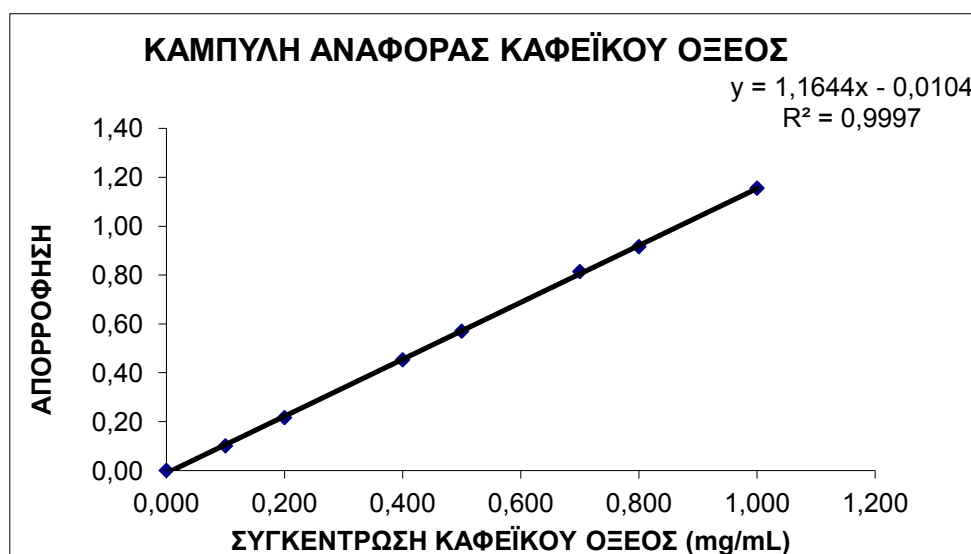
Αποτελέσματα

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την διεξαγωγή των τριών μεθόδων. Αρχικά παρουσιάζονται οι καμπύλες αναφορές που προέκυψαν για την κάθε μέθοδο. Έπειτα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα και από τις τρεις μεθόδους για τα δείγματα που μελετήθηκαν ταξινομημένα βάση της περιοχής της οποίας προήλθαν. Οι τιμές των μετρήσεων της κάθε περιοχής, καθώς και οι αραιώσεις των δειγμάτων παρατίθενται αναλυτικά στο παράρτημα.

4.1 Προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

Με βάση την ποσότητα σε mg καφεϊκού οξέος που περιείχαν τα οκτώ πρότυπα διαλύματα και την απορρόφησή τους στα 725nm, σχηματίστηκε η ακόλουθη πρότυπη καμπύλη αναφοράς (Εικόνα 17), με συνάρτηση $y = 1,1644x - 0,0104$ και συντελεστή συσχέτισης $R^2 = 0,9997$. Τοποθετώντας στην τετμημένη την απορρόφηση των διαλυμάτων και λαμβάνοντας υπόψη την αραιώση, υπολογίστηκε η ποσότητα των ολικών φαινολικών (x), στο κάθε δείγμα.

Στις εικόνες που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα εκφρασμένα σε mg ισοδύναμα καφεϊκού οξέος (caffeic acid equivalents, CAE) για τα δείγματα κάθε περιοχής.

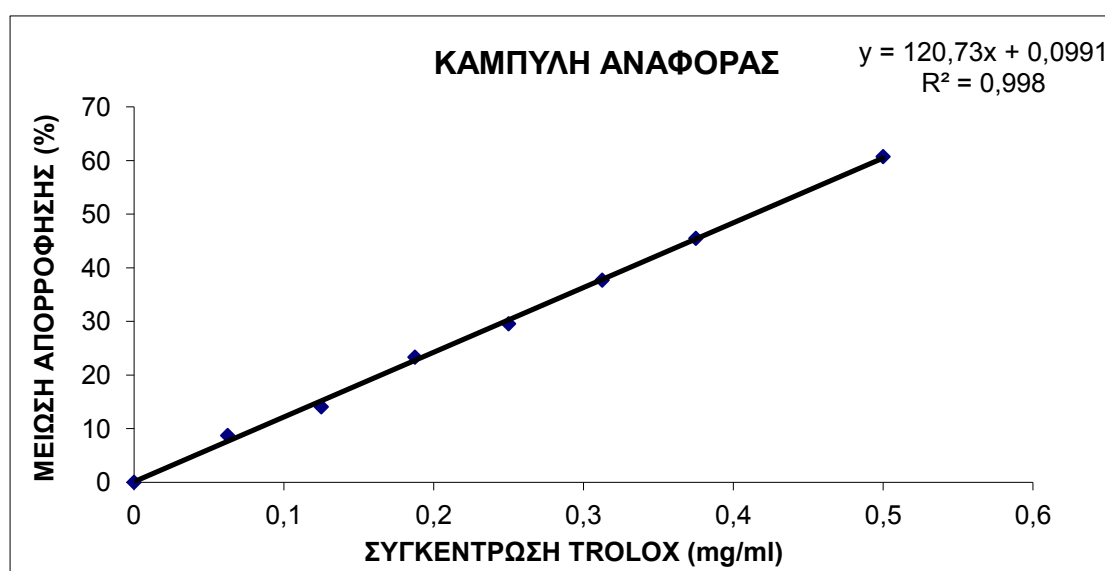


Εικόνα 17: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς καφεϊκού οξέος

4.2 Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλοϋδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH)

Με βάση την ποσότητα σε mg Trolox που περιείχαν τα 9 πρότυπα διαλύματα και την απορρόφησή τους στα 515nm, σχηματίσθηκε η ακόλουθη πρότυπη καμπύλη αναφοράς (Εικ. 18) με συνάρτηση $y = 120,73x + 0,0991$ και συντελεστή συσχέτισης $R^2 = 0,998$. Τοποθετώντας στην τετμημένη, την απορρόφηση των διαλυμάτων και λαμβάνοντας υπόψη τις αραιώσεις, υπολογίστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα (x).

Στις εικόνες που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα εκφρασμένα σε mg ισοδύναμα Trolox για τα δείγματα κάθε περιοχής.

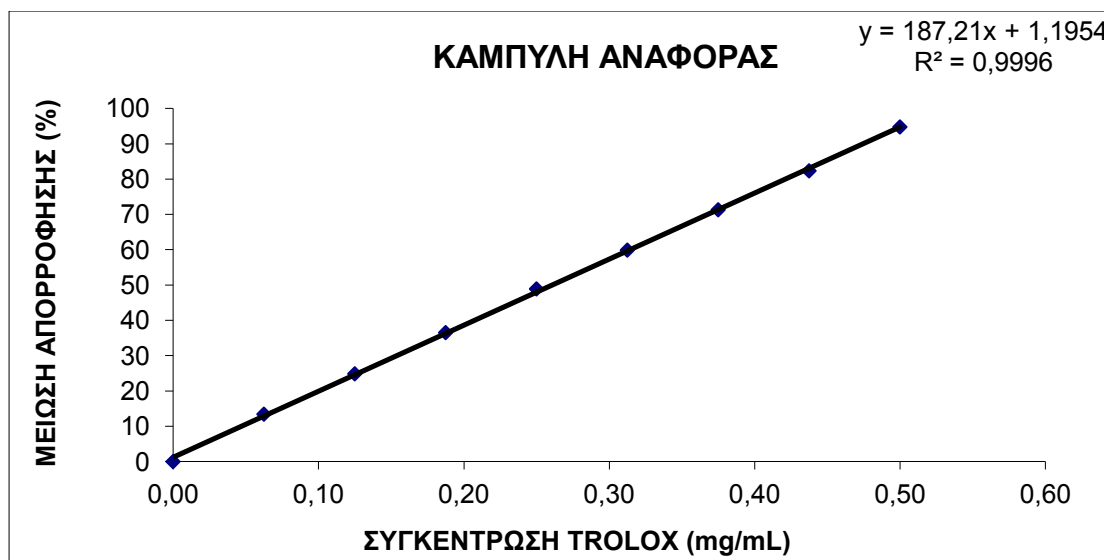


Εικόνα 18: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς Trolox για τη μέθοδο DPPH

4.3 Μελέτη αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS·+)

Με βάση την ποσότητα σε mg Trolox που περιείχαν τα 9 πρότυπα διαλύματα και την απορρόφησή τους στα 734 nm, σχηματίσθηκε η ακόλουθη πρότυπη καμπύλη αναφοράς (Εικόνα 19) με συνάρτηση $y = 187,21x + 1,1954$ και συντελεστή συσχέτισης $R^2 = 0,9996$. Τοποθετώντας στην τετμημένη, την απορρόφηση των διαλυμάτων και λαμβάνοντας υπόψη τις αραιώσεις, υπολογίστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα (x).

Στους πίνακες που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα εκφρασμένα σε mg ισοδύναμα Trolox για τα δείγματα κάθε περιοχής.



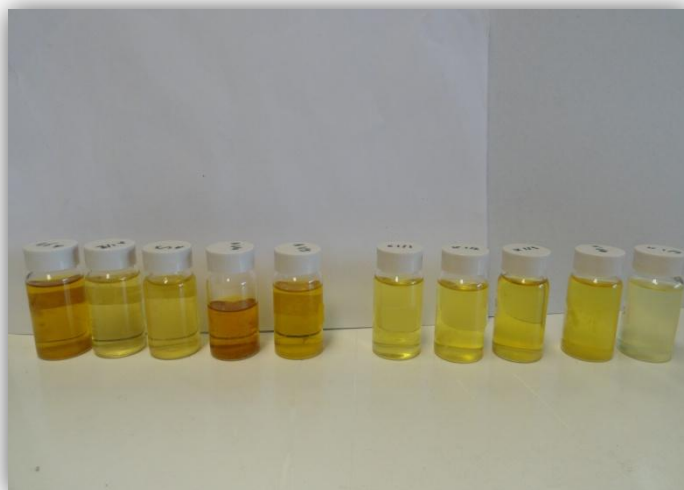
Εικόνα 19: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς Trolox για τη μέθοδο ABTS

4.4 Μετρήσεις από κάθε περιοχή

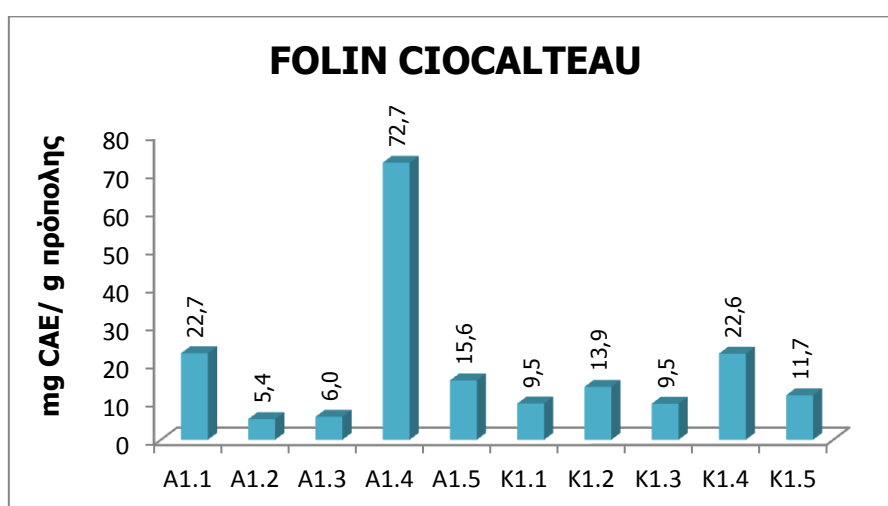
Στα παρακάτω κεφάλαια παρουσιάζονται αναλυτικά οι μετρήσεις που πάρθηκαν και με τις τρεις μεθόδους που ακολουθήθηκαν ταξινομημένες ανά περιοχή συλλογής των δειγμάτων. Όλες οι μετρήσεις απεικονίζονται με σχεδιαγράμματα. Αξίζει να παρατηρηθεί η διακύμανση των τιμών ακόμα και για δείγματα που πάρθηκαν την ίδια εποχή από το ίδιο μελισσοκομείο. Οι τιμές που προέκυψαν από τις μεθόδους εκτίμησης της αντιοξειδωτικής δράσης DPPH και ABTS απεικονίζονται μαζί ώστε να είναι εμφανή η διαφορά των τιμών στο ίδιο δείγμα. Οι τιμές των απορροφήσεων καθώς και η αραιώση του κάθε δείγματος, για την κάθε μέθοδο, παρουσιάζονται σε πίνακες για την κάθε περιοχή στο παράρτημα.

4.4.1 Δείγματα Ν. Αρκαδίας (Τρίπολη)

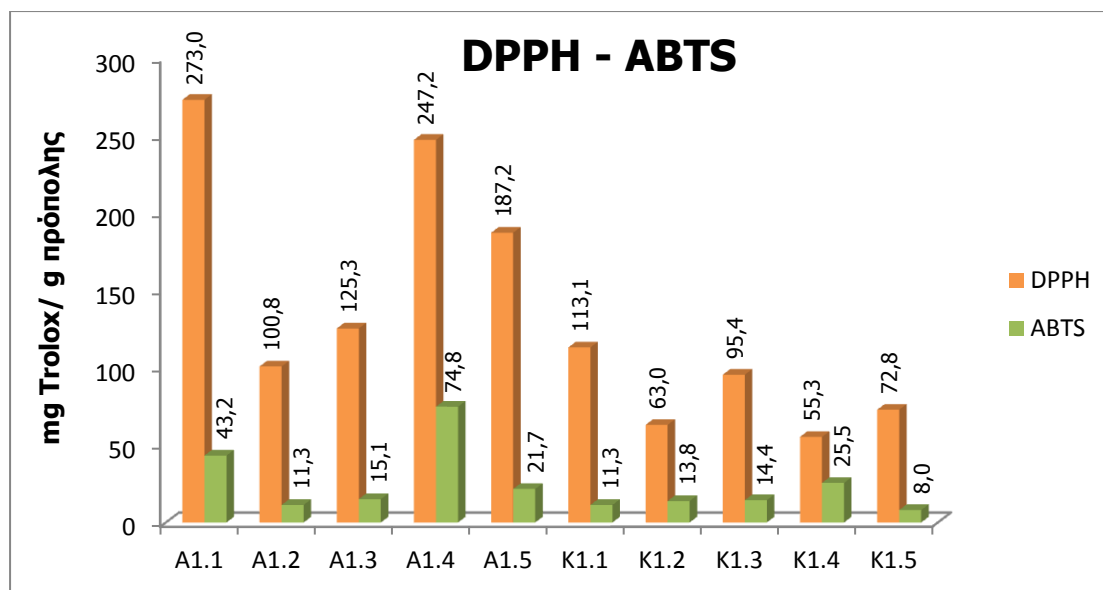
Από το Ν. Αρκαδίας συλλέχτηκαν συνολικά 10 δείγματα. Τα 5 πρώτα δείγματα (Α1.1, Α1.2, Α1.3, Α1.4, Α1.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Μαΐου του 2011, όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στον δρυμό της Σκυρίτιδας. Εκεί η βλάστηση που επικρατεί είναι *Pinus sp.*, *Castanea sativa* και *Quercus alba*. Τα υπόλοιπα 5 δείγματα (Κ1.1, Κ1.2, Κ1.3, Κ1.4, Κ1.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Ιουνίου του 2011 όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στην περιοχή του Λεβιδίου. Εκεί η βλάστηση που επικρατεί είναι *Abies cephalonica*, *Cedrus sp.*, *Fraxinus ornus*, *Arbutus unedo*, *Quercus coccifera*, *Cistus sp.*, *Sideritis scardica*, *Mentha sp.*, *Trifolium sp.* Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 21, 22).



Εικόνα 20: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από το Ν. Αρκαδίας.



Εικόνα 21: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων του Ν. Αρκαδίας με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.



Εικόνα 22: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Αρκαδίας με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Τα δείγματα και από τις δυο περιόδους συλλογής εμφανίζουν χαμηλές τιμές ολικών φαινολικών συστατικών 5,4 -22,7 mg CAE/ g πρόπολης εκτός του δείγματος A 1.4 που έχει 72,7 mg CAE/ g πρόπολης. Γεγονός που πιθανόν να οφείλεται στο ότι οι μέλισσες της συγκεκριμένης κυψέλης συλλέξανε την πρώτη ύλη από διαφορετικά φυτά. Συνεπώς στα πλαίσια του ίδιου μελισσοκομείου την ίδια χρονική περίοδο συλλέγεται πρόπολη με διαφορετικά χαρακτηριστικά από κυψέλη σε κυψέλη. Οι χαμηλές τιμές των ολικών φαινολικών των δειγμάτων μπορούν να εξηγηθούν από το γεγονός ότι και στις δύο περιοχές που ήταν τα μελίσσια η βλάστηση που επικρατούσε ήταν είδη της οικογένειας Pinaceae, που δίνουν πρόπολη πλούσια σε τερπένια.

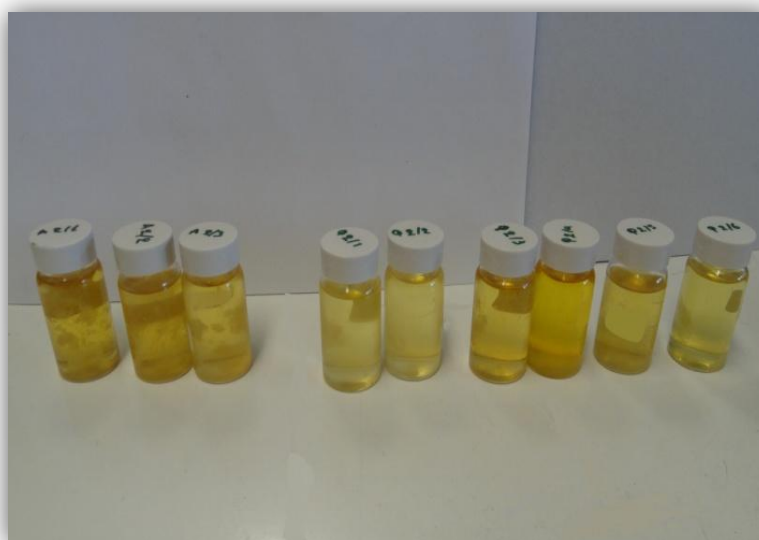
Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin-Ciocalteu με τη μέθοδο DPPH δεν παρατηρούμε καμία απολύτως συσχέτιση ($R^2=0,347$)* μεταξύ των αποτελεσμάτων. Ενώ η μέθοδος Folin-Ciocalteu σε σύγκριση με την ABTS παρουσιάζουν πολύ καλή συσχέτιση ($R^2=0,8998$)*.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρούμε πολύ μεγάλες διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων. Οι τιμές που προέκυψαν με τη μέθοδο DPPH είναι πολλαπλάσιες των τιμών που προέκυψαν με τη μέθοδο ABTS και σε ορισμένες περιπτώσεις (π.χ. A1.2 , K1.1, K1.5) είναι 9 φορές μεγαλύτερες. Δεν υπάρχει καλή συσχέτιση ($R^2=0,5997$)* μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων. Ποιοτική ανάλυση των δειγμάτων για ταυτοποίηση των ενώσεων που υπάρχουν, πιθανόν θα μπορούσε να εξηγήσει το λόγο που παρατηρείται αυτή η μεγάλη διαφορά.

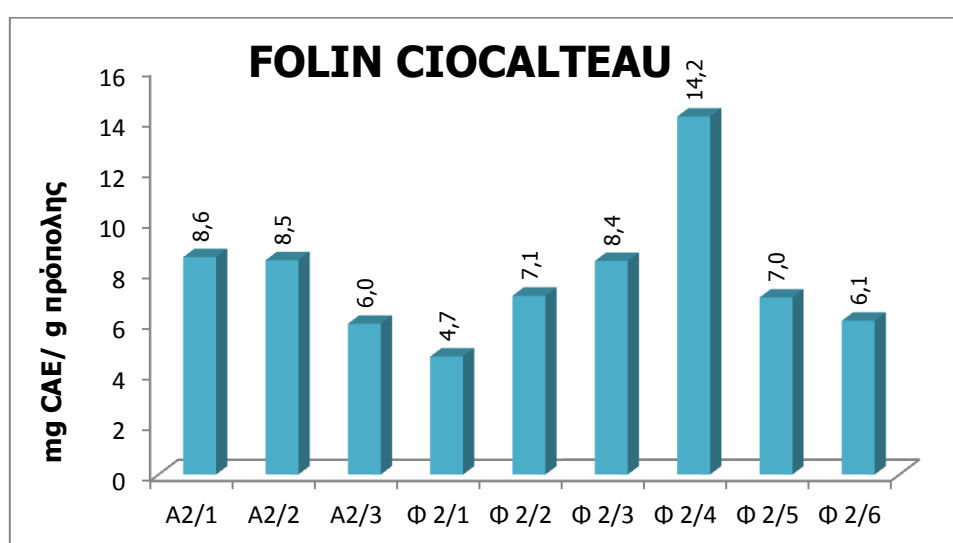
*Τα σχεδιαγράμματα των συσχετίσεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.2 Δείγματα Ν. Λακωνίας (Ρηχιά)

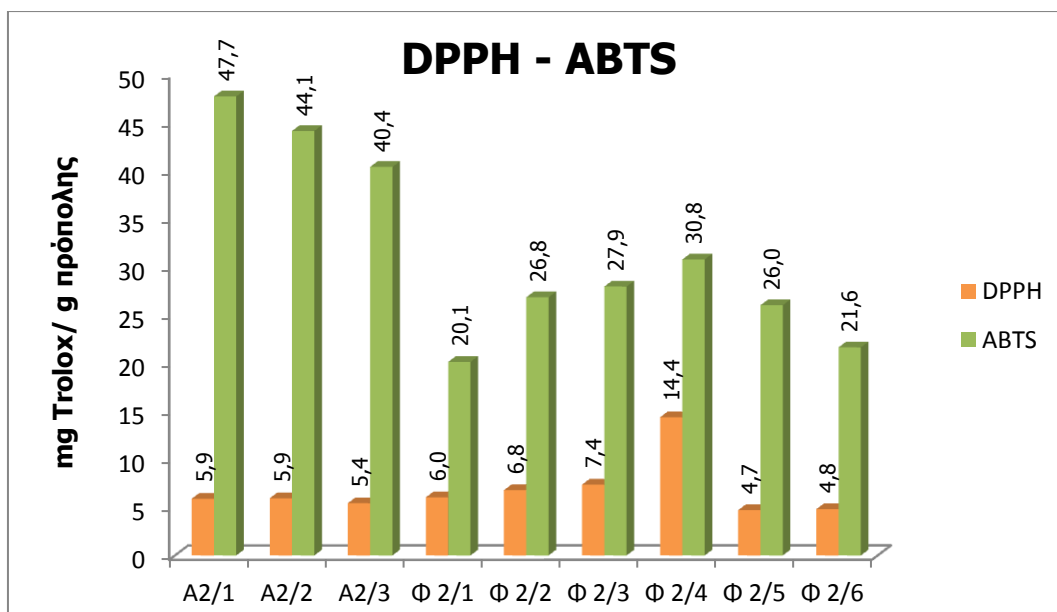
Από το Ν. Λακωνίας συλλέχθηκαν συνολικά 9 δείγματα. Τα 3 πρώτα δείγματα (Α2.1 ,Α2.2, Α2.3) συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια του Μαΐου-Ιουνίου του 2011, όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στη Ρηχιά Λακωνίας. Τα υπόλοιπα 6 δείγματα (Κ2.1 ,Κ2.2, Κ2.3, Κ2.4, Κ2.5, Κ2.6) συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια του Ιουλίου-Αυγούστου του 2011 όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στην ίδια περιοχή. Στην περιοχή αυτή η βλάστηση που επικρατεί είναι *Origanum sp.*, *Corydothymus capitatus*, *Satureja thymbra*, *Arbutus unedo*, *Quercus coccifera*, *Quercus alba*, *Cupressus sempervirens* κ.ά. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 24, 25).



Εικόνα 23: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από το Ν. Λακωνίας.



Εικόνα 24: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων του Ν. Λακωνίας με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.



Εικόνα 25: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Λακωνίας με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή της Λακωνίας τα δείγματα και από τις δυο περιόδους συλλογής εμφανίζουν χαμηλές τιμές ολικών φαινολικών συστατικών 4,7 -14,2 mg CAE/ g πρόπολης. Στην περιοχή αυτή προφανώς δεν υπάρχουν φυτά από τα οποία οι μέλισσες συλλέγουν πρόπολη πλούσια σε φαινολικά συστατικά.

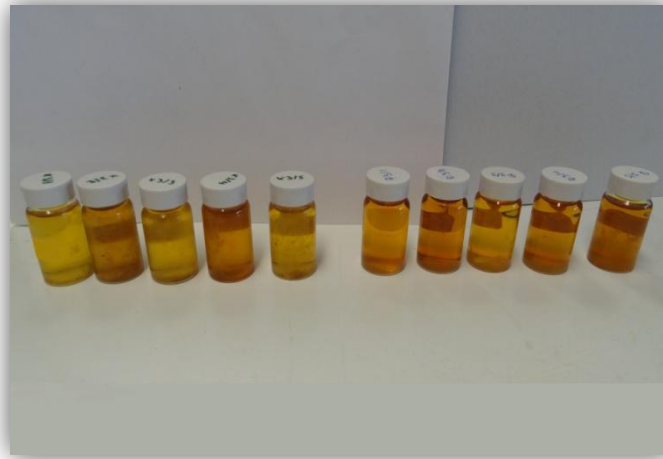
Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin-Ciocalteu με τη μέθοδο ABTS δεν παρατηρούμε καμία απολύτως συσχέτιση ($R^2=0,0731$)* μεταξύ των αποτελεσμάτων. Ενώ η μέθοδος Folin-Ciocalteu σε σύγκριση με την DPPH παρουσιάζουν καλή συσχέτιση ($R^2=0,789$)*.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρούμε πολύ μεγάλες διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων. Οι τιμές που προέκυψαν με τη μέθοδο ABTS είναι πολλαπλάσιες των τιμών που προέκυψαν με τη μέθοδο DPPH. Δεν υπάρχει καμία συσχέτιση ($R^2=0,0005$)* μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων. Αυτό ίσως να οφείλεται σε λιπόφιλα μη φαινολικά συστατικά τα οποία αντιδρούν καλύτερα με τη μέθοδο ABTS. Σε ορισμένες περιπτώσεις οι τιμές της ABTS είναι 7 φορές μεγαλύτερες, όπως συμβαίνει με τα δείγματα A2.1 , A2.2, A2.3. Χαρακτηριστικό είναι ότι αυτά τα τρία δείγματα συλλέχθηκαν την ίδια χρονική περίοδο (Μάιο – Ιούνιο). Πιθανόν την εποχή αυτή οι μέλισσες συνέλεξαν ουσίες από κάποιο φυτό που ήταν σε μεγαλύτερη αφθονία σε σχέση με την περίοδο Ιουλίου – Αυγούστου.

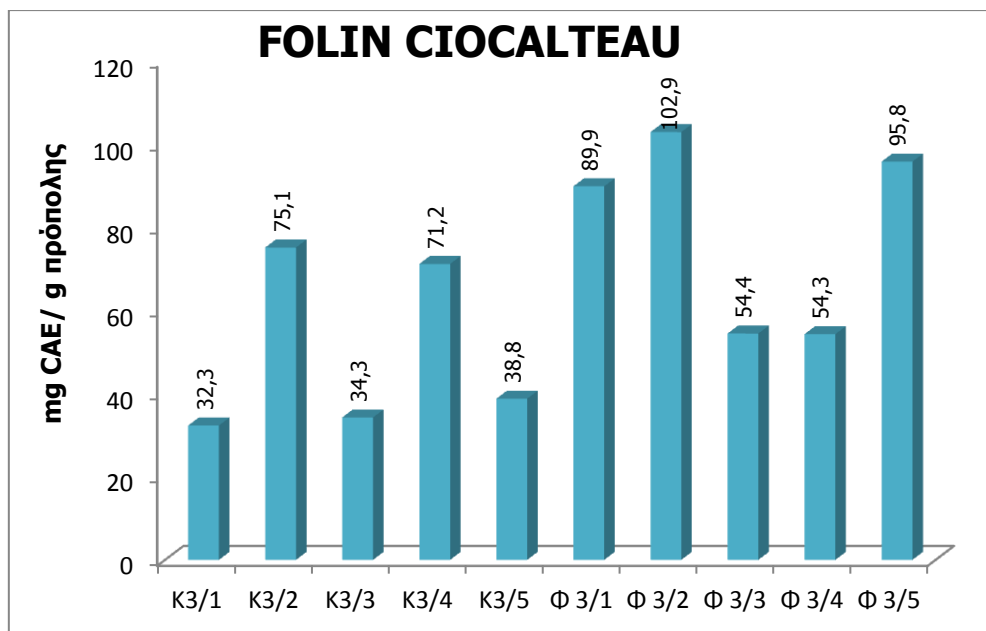
*Τα σχεδιαγράμματα των συσχετίσεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.3 Δείγματα Ν. Χανίων (Γαλατάς)

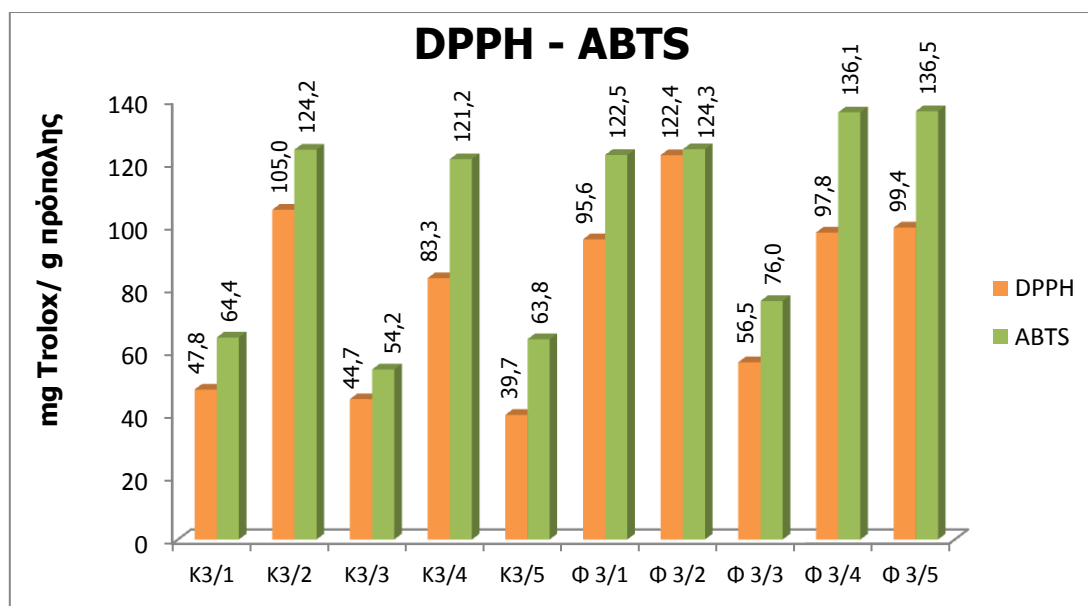
Από το Ν. Χανίων συλλέχτηκαν συνολικά 10 δείγματα. Τα 5 πρώτα δείγματα (Κ3.1, Κ3.2, Κ3.3, Κ3.4, Κ3.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Μαΐου-Ιουνίου του 2011, όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στον Γαλατά Χανίων. Τα υπόλοιπα 5 δείγματα (Φ3.1, Φ3.2, Φ3.3, Φ3.4, Φ3.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Σεπτεμβρίου-Οκτωβρίου του 2011 στην ίδια περιοχή. Στην περιοχή αυτή η βλάστηση που επικρατεί είναι *Eucalyptus sp.*, *Olea europea*, *Citrus sp.*, *Satureja thymbra*, *Populus sp.* κ.ά. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 27, 28).



Εικόνα 26: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από το Ν. Χανίων.



Εικόνα 27: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων του Ν. Χανίων με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.



Εικόνα 28: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Χανίων με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή των Χανίων τα δείγματα από την πρώτη περίοδο συλλογής εμφανίζουν συγκριτικά πιο χαμηλές τιμές ολικών φαινολικών συστατικών 32,3 -75,1 mg CAE/ g πρόπολης σε σχέση με την δεύτερη περίοδο 54,3 -102,9 mg CAE/ g πρόπολης. Προφανώς την εποχή του Σεπτεμβρίου – Οκτωβρίου στην περιοχή αυτή η βλάστηση που επικρατεί δίνει περισσότερα φαινολικά συστατικά σε σχέση με την περίοδο Μαΐου - Ιουνίου. Συνεπώς ακόμα και στην ίδια περιοχή η σύσταση της πρόπολης διαφοροποιείται ανάλογα με την εποχή. Οι υψηλές τιμές των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων οφείλονται ύπαρξη λεύκων στην περιοχή.

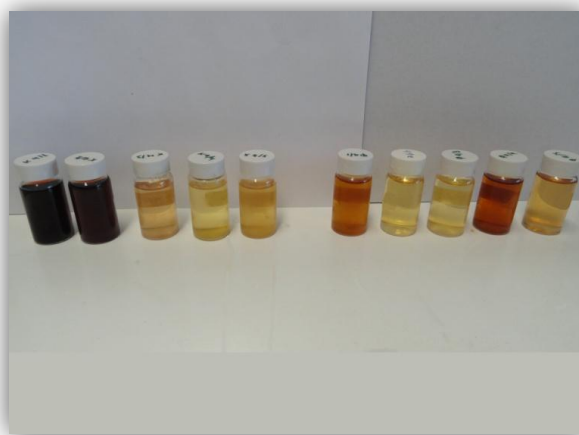
Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin–Ciocalteu με τη μέθοδο DPPH παρατηρούμε καλύτερη συσχέτιση ($R^2=0,7878$)* μεταξύ των αποτελεσμάτων από ότι με τη μέθοδο ABTS ($R^2=0,6713$)*.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρούμε διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων. Οι τιμές που προέκυψαν με τη μέθοδο ABTS είναι μεγαλύτερες από τις τιμές που προέκυψαν με τη μέθοδο DPPH, αλλά υπάρχει καλή συσχέτιση ($R^2=0,8646$)* μεταξύ των αποτελεσμάτων. Αυτό ίσως να οφείλεται σε λιπόφιλα μη φαινολικά συστατικά τα οποία αντιδρούν καλύτερα με τη μέθοδο ABTS ή στο ότι με τη μέθοδο DPPH υπάρχουν παρεμβάσεις των χρωμοφώρων συστατικών των υποστρωμάτων, που οδηγούν σε υποτιμημένες τιμές αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων, γιατί όλα τα εκχυλίσματα των δειγμάτων έχουν σκούρο κίτρινο χρώμα. Το πρόβλημα αυτό εντοπίζεται σε χαμηλά μήκη κύματος και επηρεάζει κυρίως την μέθοδο DPPH όπου γίνεται η φωτομέτρηση στα 515 nm.

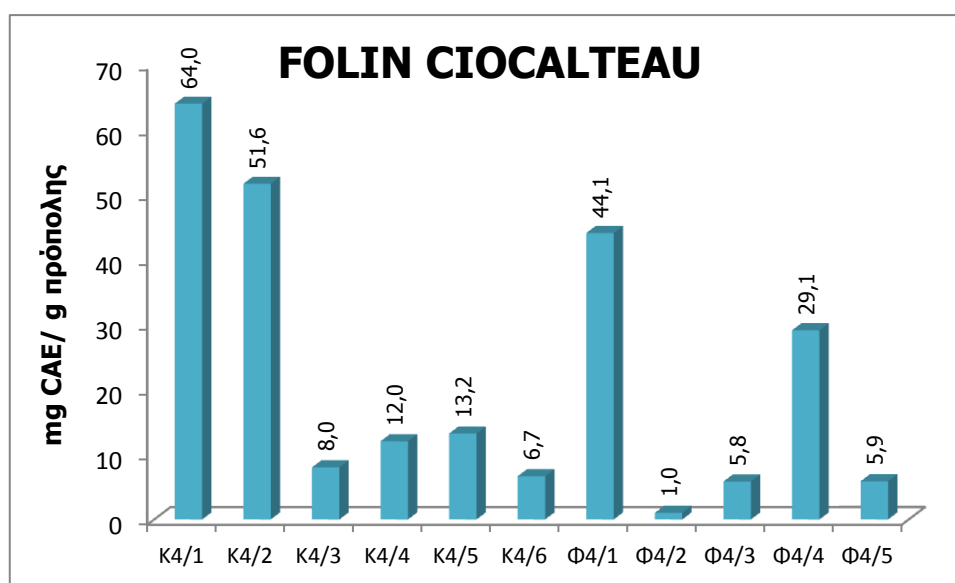
*Τα σχεδιαγράμματα των συσχετίσεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.4 Δείγματα Νήσου Χίου (Βαβίλοι)

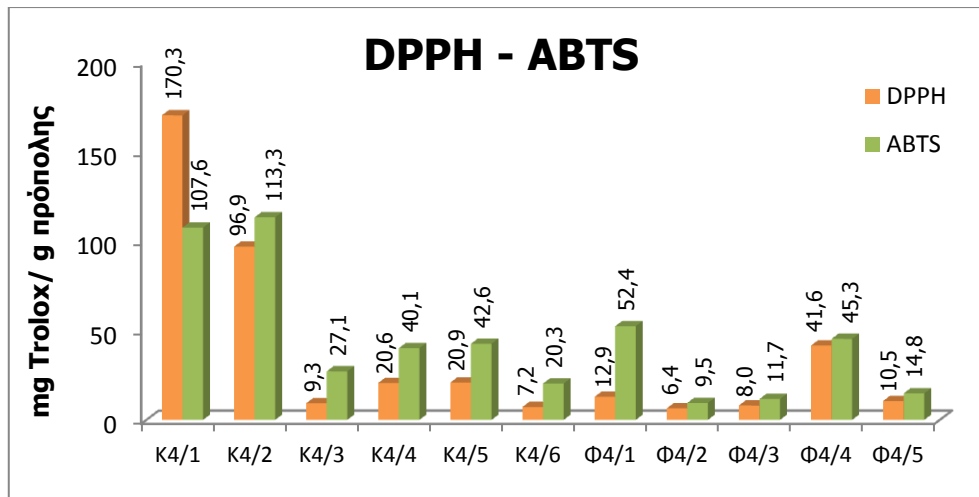
Από το νησί της Χίου συλλέχτηκαν συνολικά 11 δείγματα. Τα 6 πρώτα δείγματα (A4.1 ,A4.2, A4.3, A4.4, A4.5, A4.6) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Μαΐου-Ιουνίου του 2011, όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στα Θυμαριανά Χίου. Εκεί η βλάστηση που επικρατεί είναι *Citrus sp.*, *Cistus sp.*, *Satureja thymbra*. Τα υπόλοιπα 5 δείγματα (K4.1 ,K4.2, K4.3, K4.4, K4.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Ιουνίου-Ιουλίου του 2011 στην περιοχή Δότια Χίου. Εκεί η βλάστηση που επικρατεί είναι *Corydothymus capitatus*, *Pistacia lentiscus* κ.ά. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 30, 31).



Εικόνα 29: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από τη νήσο Χίο.



Εικόνα 30: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων της Νήσου Χίου με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.



Εικόνα 31: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Χίου με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή της Χίου παρατηρούμε μεγάλες διακυμάνσεις των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων τόσο στην πρώτη περίοδο συλλογής 8,0 - 64,0 mg CAE/ g πρόπολης όσο και στην δεύτερη 1,0 - 44,1 mg CAE/ g πρόπολης. Συνεπώς στα πλαίσια του ίδιου μελισσοκομείου την ίδια χρονική περίοδο συλλέγεται πρόπολη με διαφορετικά χαρακτηριστικά από κυψέλη σε κυψέλη. Παράλληλα την πρώτη περίοδο τα δείγματα έχουν περισσότερα φαινολικά συστατικά σε σχέση με την δεύτερη. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι οι ρητίνες από το *Pistacia lentiscus* είναι πλούσιες σε τερπένια και όχι σε φαινόλες.

Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin–Ciocalteu με τη μέθοδο ABTS παρατηρούμε καλύτερη συσχέτιση ($R^2=0,8689$)* μεταξύ των αποτελεσμάτων από ότι με τη μέθοδο DPPH ($R^2=0,7228$)*.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρούμε σε ορισμένες περιπτώσεις πολύ μεγάλες διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων. Οι τιμές που προέκυψαν με τη μέθοδο ABTS, στα περισσότερα δείγματα είναι μεγαλύτερες από τις τιμές που προέκυψαν με τη μέθοδο DPPH, παρόλα αυτά έχουν καλή συσχέτιση ($R^2=0,7902$)* οι δύο μέθοδοι μεταξύ τους. Τα δείγματα K4.1 και K4.2 έχουν ένα σκούρο κόκκινο χρώμα και τα Φ4.1 και Φ4.4 ένα σκούρο πορτοκαλί. Ενώ θα περιμέναμε οι τιμές με τη μέθοδο DPPH να είναι υποτιμημένες λόγω της παρέμβασης των χρωμοφώρων, παρατηρούμε ότι στο K4.1 είναι αρκετά μεγαλύτερη από ότι με τη μέθοδο ABTS (170,3 mg Trolox/ g πρόπολης έναντι 107,6 mg Trolox/ g πρόπολης). Ενώ στα υπόλοιπα τρία δείγματα είναι πράγματι μικρότερες οι τιμές με τη μέθοδο DPPH. Ειδικά στο Φ4.1 παρατηρείται πολύ μικρότερη τιμή με τη μέθοδο DPPH, που πιθανόν έχει να κάνει και με τη μικρή αραιώση που έγινε στο δείγμα αυτό (1:2) σε σχέση με την αραιώση που έγινε (1:20) με τη μέθοδο ABTS, συνεπώς δεν μεταβλήθηκε πολύ το χρώμα, λόγω της αραιώσης. Ενώ στα υπόλοιπα δείγματα έγιναν οι ίδιες αραιώσεις και για τις δύο μεθόδους. Περαιτέρω ανάλυση των δειγμάτων θα μπορούσε να εξηγήσει το λόγο που συμβαίνει αυτό.

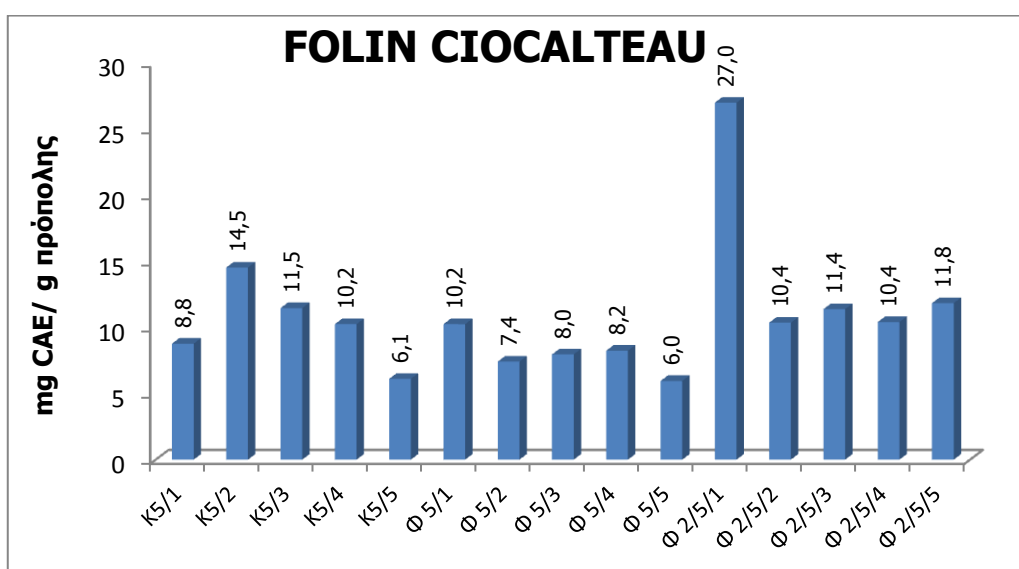
*Τα σχεδιαγράμματα των συσχετίσεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.5 Δείγματα Νήσου Σκοπέλου (Σκόπελος)

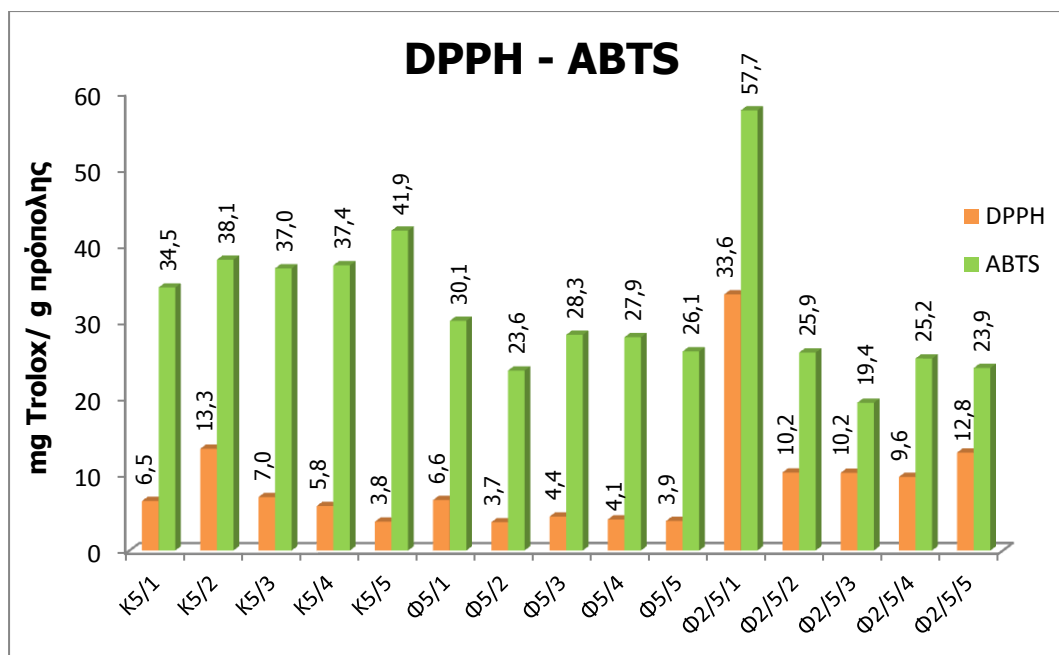
Από το νησί της Σκοπέλου συλλέχτηκαν συνολικά 15 δείγματα. Τα 5 πρώτα δείγματα (Κ5.1, Κ5.2, Κ5.3, Κ5.4, Κ5.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Ιουνίου-Ιουλίου του 2011, όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στην περιοχή Πύργος Σκοπέλου. Τα επόμενα 5 δείγματα (Φ5.1, Φ5.2, Φ5.3, Φ5.4, Φ5.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Αυγούστου-Σεπτεμβρίου του 2011 στην ίδια περιοχή. Τα 5 τελευταία δείγματα (Φ2.5.1, Φ2.5.2, Φ2.5.3, Φ2.5.4, Φ2.5.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Σεπτεμβρίου-Οκτωβρίου του 2011 στην ίδια περιοχή. Στην περιοχή αυτή η βλάστηση που επικρατεί είναι *Rubus spp.*, *Castanea sativa*, *Cistus sp.*, κ.ά. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 33, 34).



Εικόνα 32: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από τη νήσο Σκόπελο.



Εικόνα 33: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων της Νήσου Σκοπέλου με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.



Εικόνα 34: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Σκοπέλου με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή της Σκοπέλου παρατηρούμε μικρές διακυμάνσεις των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων σε όλες τις περιόδους συλλογής (1^η περίοδος: 6,1 - 14,5 mg CAE/ g πρόπολης, 2^η περίοδος: 6,0 - 10,2 mg CAE/ g πρόπολης 3^η περίοδος: 10,4 – 27,0 mg CAE/ g πρόπολης). Τα ολικά φαινολικά είναι ελαφρώς αυξημένα την 3^η περίοδο. Συνεπώς και σε αυτήν την περίπτωση, που το μελισσοκομείο παρέμεινε σταθερό κατά την διάρκεια όλων των εποχών συλλογής, υπάρχει μια μικρή επίδραση της εποχής της συλλογής στην ποιότητα της πρόπολης που συλλέγεται.

Σε εργασία της Τρουλλίδου (2007) σε GC- MS ανάλυση δείγματος από την Γλώσσα Σκοπέλου βρήκε ότι υπερτερούν τα τερπενικά οξέα έναντι των πολυφαινολών (163,5 mg/g αιθανολικού εκχυλίσματος πρόπολης - 105,4 mg/g αιθανολικού εκχυλίσματος πρόπολης). Οι σημαντικότερες πολυφαινόλες κατά σειρά μειούμενων συγκεντρώσεων ήταν η χρυσίνη, η πινοσεμπρίνη, ο 3-Ο-αιθυλεστέρας της πινομπανκσίνης, η πινομπανκσίνη, όπου τα τρία τελευταία είναι δείκτες λευκών. Ενώ τα σημαντικότερα τερπενικά οξέα ήταν το ισοπιμαρικό οξύ και το διυδροαβιετικό οξύ. Η περιοχή Πύργος από όπου συλλέχθηκαν τα δείγματα της παρούσας εργασίας απέχει αρκετά από την Γλώσσα (περίπου 12 Km), και επειδή είναι κοντά στην πόλη της Σκοπέλου πιθανόν δεν υπάρχουν κατάλληλα φυτά για συλλογή πρόπολης. Το δείγμα από την περιοχή της Γλώσσας είχε αρκετά υψηλό φαινολικό περιεχόμενο και παρουσίασε υψηλή αντιοξειδωτική δράση με την μέθοδο DPPH. Αντίθετα στην παρούσα εργασία τόσο το φαινολικό περιεχόμενο όσο και η αντιοξειδωτική δράση που εκτιμήθηκε με την μέθοδο DPPH, ήταν πολύ χαμηλή.

Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin-Ciocalteu με τη μέθοδο DPPH παρατηρούμε πολύ καλή συσχέτιση ($R^2=0,9523$)* μεταξύ των αποτελεσμάτων ενώ δεν υπάρχει καλή συσχέτιση με τη μέθοδο ABTS ($R^2=0,4507$)*. Αυτό πιθανώς να

οφείλεται στο ότι υπάρχουν τερπένια που παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση με την ABTS, και δεν μπορούν να εκτιμηθούν με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρούμε πολύ μεγάλες διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων. Οι τιμές που προέκυψαν με τη μέθοδο ABTS, σε όλα τα δείγματα είναι μεγαλύτερες από τις τιμές που προέκυψαν με τη μέθοδο DPPH, και δεν έχουν καλή συσχέτιση ($R^2=0,3855$)*οι δύο μέθοδοι μεταξύ τους. Όλα τα δείγματα σχεδόν έχουν ένα ανοικτό κίτρινο χρώμα, επομένως δεν υπάρχει μεγάλη παρεμβολή χρωμοφώρων ώστε να δικαιολογεί τις πολύ χαμηλές τιμές με το DPPH. Πιθανόν η διαφορά των τιμών να οφείλεται σε λιπόφιλα αντιοξειδωτικά που αντιδρούν καλύτερα με το ABTS.

*Τα σχεδιαγράμματα των συσχετίσεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.6 Δείγματα Ν. Βοιωτίας (Πέτρα)

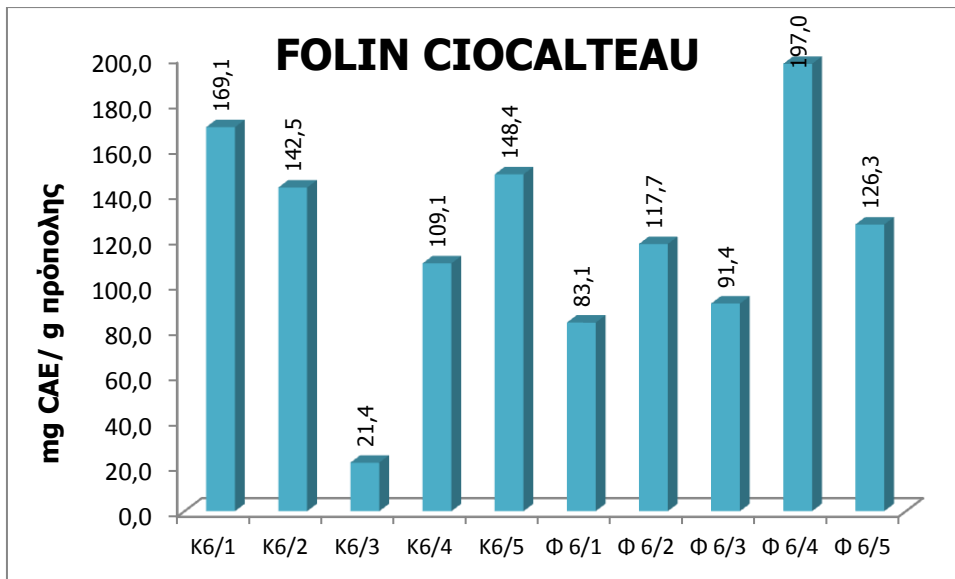
Από το Ν. Βοιωτίας συλλέχτηκαν συνολικά 10 δείγματα. Τα 5 πρώτα δείγματα (Κ6.1, Κ6.2, Κ6.3, Κ6.4, Κ6.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Ιουνίου-Ιουλίου του 2011. Τα δείγματα Κ6.1 και Κ6.2 συλλέχτηκαν από τις 5/6/2011 έως τις 25/6/2011 όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στην περιοχή Ευαγγελίστρια Βοιωτίας, όπου κυρίαρχη βλάστηση είναι *Abies cephalonica*, *Quercus alba* και *Populus sp.* Το δείγμα Κ6.3 συλλέχτηκε από τις 4/6/2011 έως τις 24/6/2011 όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στην περιοχή Αλυκή Βοιωτίας, όπου κυρίαρχη βλάστηση είναι *Corydothymus capitatus*, *Anthyllis hermaniae*, *Olea europea* και *Citrus sp.* Το δείγμα Κ6.4 συλλέχτηκε από τις 2/6/2011 έως τις 26/6/2011 όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στην περιοχή Πέτρα Βοιωτίας, όπου κυρίαρχη βλάστηση είναι *Olea europea* και άγρια βλάστηση όπως *Quercus coccifera*, *Populus sp.*, *Paliurus spina-christi*, *Cistus sp.*, *Corydothymus capitatus*, *Pistacia terebinthus*, *Phlomis fruticosa* κ.ά. Το δείγμα Κ6.5 συλλέχτηκε από τις 2/7/2011 έως τις 17/7/2011 όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στην ίδια περιοχή με το Κ6.4.

Τα επόμενα 5 δείγματα (Φ6.1, Φ6.2, Φ6.3, Φ6.4, Φ6.5) συλλέχτηκαν από τις 25/8/2011 έως τις 4/10/2011. Τα δείγματα Φ6.1 και Φ6.2 συλλέχτηκαν από την περιοχή Πέτρα Βοιωτίας, όπου κυρίαρχη βλάστηση είναι *Olea europea*, *Quercus coccifera*, *Gossypium hirsutum*, *Populus sp.*, *Medicago sativa*, και *Heliotropium europaeum*. Τα δείγματα Φ6.3, Φ6.4 και Φ6.5 συλλέχτηκαν από την περιοχή της Κωπαΐδας Βοιωτίας, όπου κυρίαρχη βλάστηση είναι *Gossypium hirsutum*, *Medicago sativa*, *Zea mays*, *Populus sp.*, *Polygonum aviculare* και *Rubus spp.*

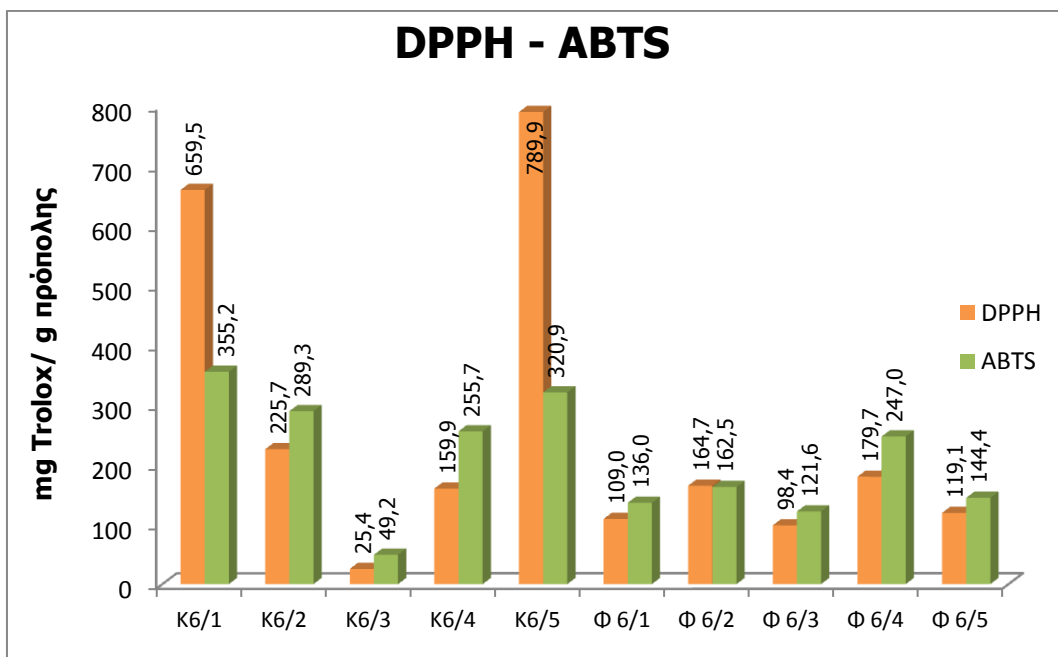
Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 36, 37).



Εικόνα 35: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από το Ν. Βοιωτίας.



Εικόνα 36: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων του Ν. Βοιωτίας με τη μέθοδο Folin–Ciocalteau.



Εικόνα 37: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Βοιωτίας με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή της Βοιωτίας παρατηρούμε μεγάλες διακυμάνσεις των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων τόσο στην πρώτη περίοδο συλλογής 21,4 - 169,1 mg CAE/ g πρόπολης όσο και στην δεύτερη 83,1 - 197,0 mg CAE/ g πρόπολης. Τα δείγματα όμως δεν ήταν στην ίδια ακριβώς περιοχή. Χαρακτηριστικό είναι ότι το δείγμα K6.3 που πάρθηκε από την περιοχή Αλυκή

που απέχει πολύ από τις άλλες περιοχές είχε την χαμηλότερη τιμή 21,4 mg CAE/ g πρόπολης. Η χαμηλή τιμή του δείγματος σε πολυφαινόλες σε σχέση με όλα τα υπόλοιπα δείγματα εξηγείται από την απουσία λευκών στην περιοχή αυτή. Τα δείγματα K6.1, K6.5 και Φ6.4 έχουν από τις υψηλότερες τιμές σε φαινολικά συστατικά σε σχέση με όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη.

Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin–Ciocalteu με τη μέθοδο ABTS παρατηρούμε μέτρια συσχέτιση ($R^2=0,6438$)* μεταξύ των αποτελεσμάτων ενώ δεν υπάρχει συσχέτιση με τη μέθοδο DPPH ($R^2=0,2948$)*. Επίσης τα δείγματα K6.1 και K6.5 παρουσιάζουν ασυνήθιστα υψηλές τιμές με τη μέθοδο DPPH, και είναι οι μεγαλύτερες τιμές που λήφθηκαν από όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν στην παρούσα εργασία. Επίσης τα δείγματα αυτά συλλέχτηκαν από διαφορετικές περιοχές που έχουν όμως μικρή χιλιομετρική απόσταση μεταξύ τους (4,5 Km περίπου). Η ποιοτική ανάλυση των δειγμάτων, πιθανόν να μπορέσει να εξηγήσει ποιες είναι οι ουσίες αυτές που προσδίδουν τόσο μεγάλες τιμές αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των υπόλοιπων δειγμάτων παρατηρούμε διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων. Οι τιμές που προέκυψαν με τη μέθοδο ABTS για τα δείγματα, εκτός του K6.1 και του K6.5, είναι μεγαλύτερες από τις τιμές που προέκυψαν με τη μέθοδο DPPH. Μεταξύ των μεθόδων παρατηρούμε μέτρια συσχέτιση ($R^2=0,641$)* των αποτελεσμάτων, η οποία όμως αυξάνεται σημαντικά αν αφαιρέσουμε τα δείγματα K6.1 και K6.5. Επίσης όλα τα εκχυλίσματα έχουν κίτρινο - πορτοκαλί χρώμα, στο οποίο μπορεί να οφείλονται οι χαμηλότερες τιμές με τη μέθοδο DPPH.

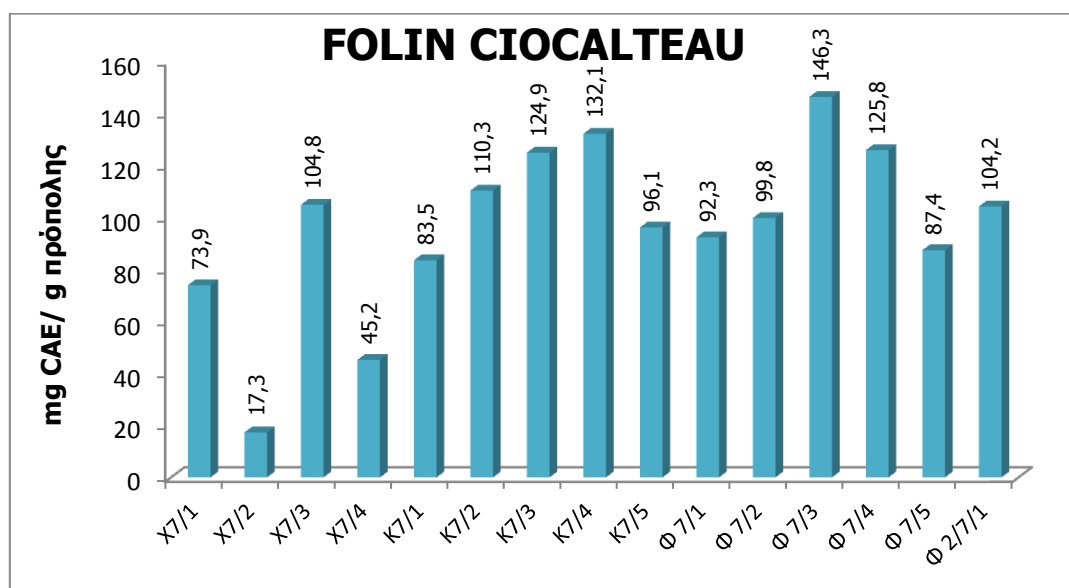
*Τα σχεδιαγράμματα των συσχετίσεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.7 Δείγματα Ν. Αττικής (Γ.Π.Α. Βοτανικός)

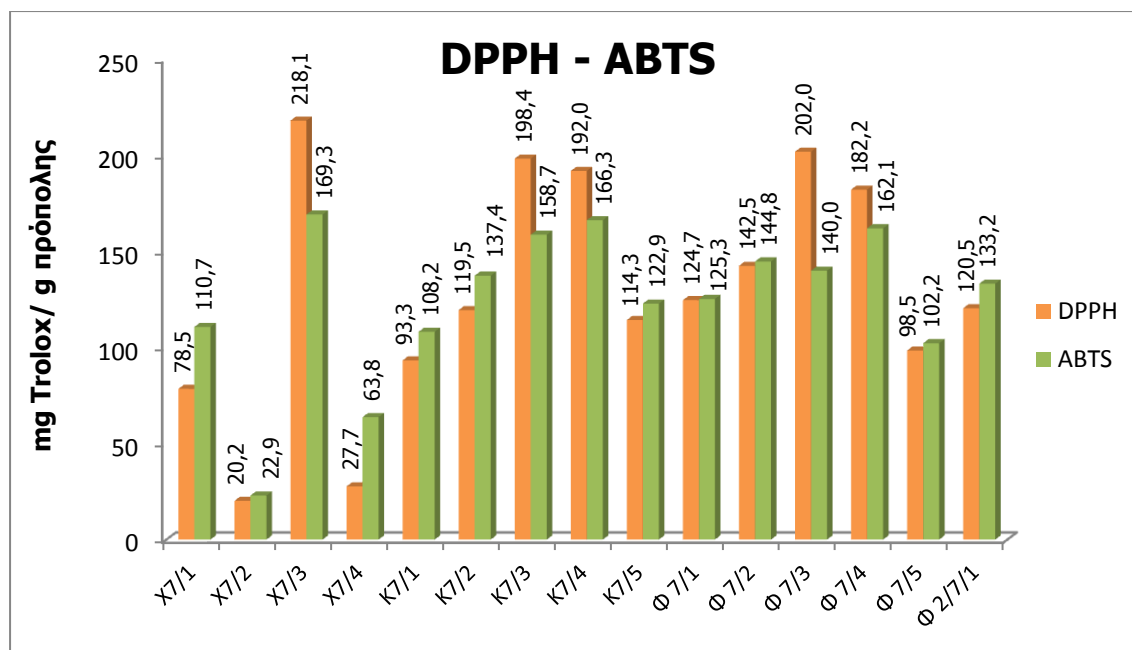
Από το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών συλλέχτηκαν συνολικά 15 δείγματα. Τα 4 πρώτα δείγματα (Χ7.1, Χ7.2, Χ7.3, Χ7.4) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Φεβρουαρίου-Απριλίου του 2011. Τα επόμενα 5 δείγματα (Κ7.1, Κ7.2, Κ7.3, Κ7.4, Κ7.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Ιουνίου-Ιουλίου του 2011. Άλλα 5 δείγματα (Φ7.1, Φ7.2, Φ7.3, Φ7.4, Φ7.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Αυγούστου-Σεπτεμβρίου του 2011. Και τέλος συλλέχτηκε ένα δείγμα (Φ2.7.1) κατά τη διάρκεια του Οκτωβρίου του 2011. Στο μελισσοκομείο του Γ.Π.Α. υπάρχουν πολλά είδη καλλιεργούμενων φυτών και δέντρων καθώς και πολλά καλλωπιστικά. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 39, 40).



Εικόνα 38: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.



Εικόνα 39: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων του Γ.Π.Α. με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.



Εικόνα 40: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Γ.Π.Α. με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή της Αττικής παρατηρούμε διακυμάνσεις των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων σε όλες τις περιόδους συλλογής (1^η περίοδος: 17,3 - 104,8 mg CAE/ g πρόπολης, 2^η περίοδος: 83,5 - 132,1 mg CAE/ g πρόπολης 3^η περίοδος: 87,4 - 146,3 mg CAE/ g πρόπολης). Οι μεγαλύτερες διακυμάνσεις παρουσιάζονται κατά τη διάρκεια του χειμώνα, όπου ο μέσος όρος των τιμών των ολικών φαινολικών συστατικών είναι μικρότερος από αυτούς των άλλων δυο περιόδων. Συνεπώς και σε αυτήν την περίπτωση, που το μελισσοκομείο παρέμεινε σταθερό κατά την διάρκεια όλων των εποχών συλλογής, υπάρχει επίδραση της εποχής της συλλογής στην ποιότητα της πρόπολης που συλλέγεται. Επίσης οι υψηλές τιμές φαινολικών συστατικών στα δείγματα οφείλονται στην ύπαρξη λευκών στον κήπο του Γ.Π.Α.

Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin-Ciocalteu με τη μέθοδο DPPH ($R^2=0,8194$)* και με τη μέθοδο ABTS ($R^2=0,8343$)* παρατηρούμε καλή συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρούμε κάποιες διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων. Υπάρχει καλή συσχέτιση των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων ($R^2=0,8485$)* που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης. Εφτά δείγματα παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές με τη μέθοδο ABTS, ενώ πέντε δείγματα με τη μέθοδο DPPH, και τα υπόλοιπα τρία δείγματα έχουν παρόμοιες τιμές και με τις δύο μεθόδους.

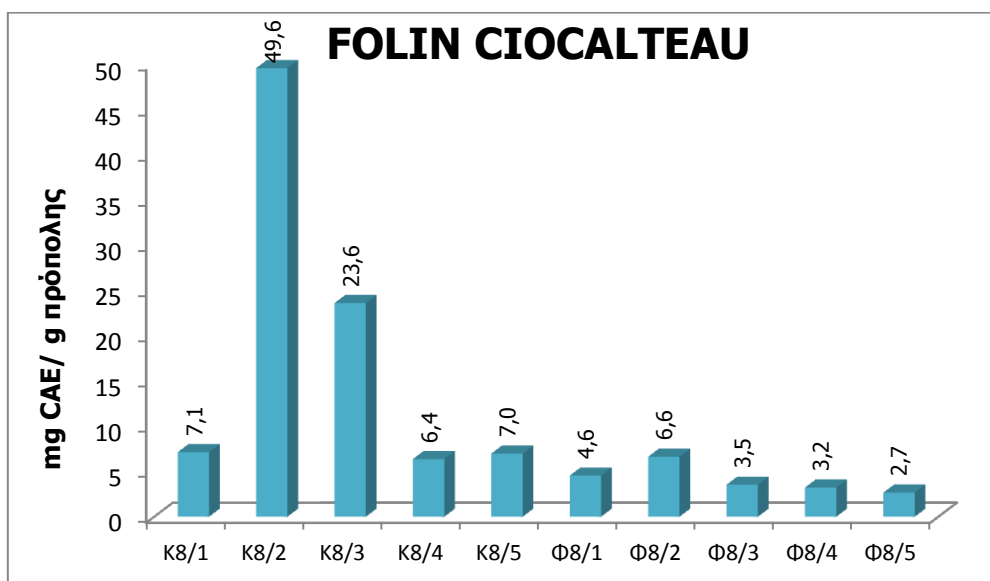
*Τα σχεδιαγράμματα των συσχέτισεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.8 Δείγματα Νήσου Κύθνος (Μέριχας)

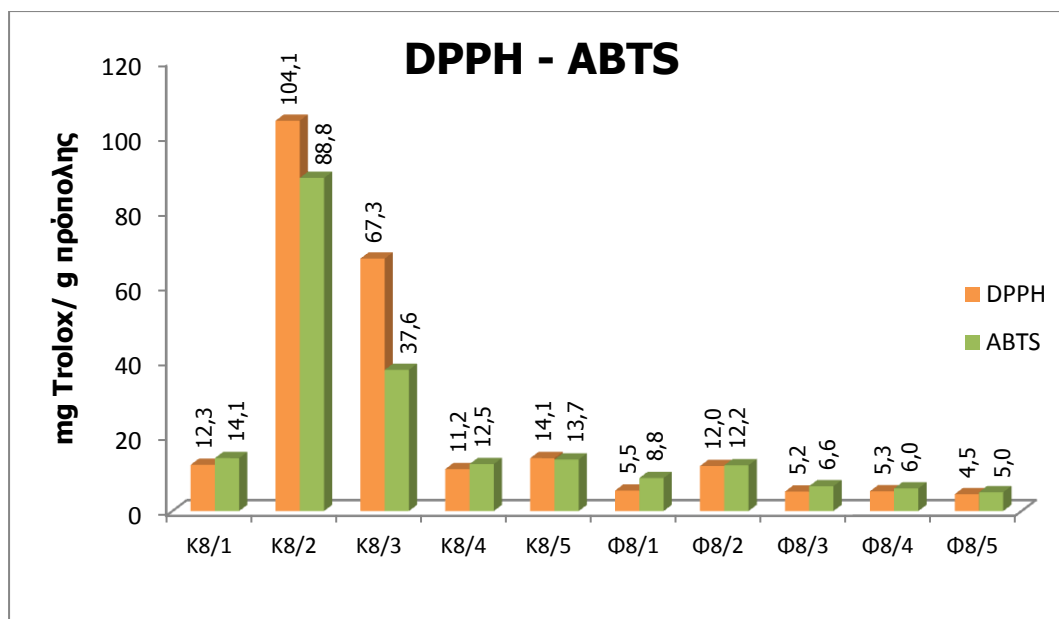
Από το νησί της Κύθνου συλλέχτηκαν συνολικά 10 δείγματα. Τα 5 πρώτα δείγματα (Κ8.1, Κ8.2, Κ8.3, Κ8.4, Κ8.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Ιουλίου-Αυγούστου του 2011, όπου τα μελίτσια του παραγωγού βρίσκονταν στην περιοχή Παναγιά Κύθνου. Τα 5 τελευταία δείγματα (Φ8.1, Φ8.2, Φ8.3, Φ8.4, Φ8.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Οκτωβρίου-Νοεμβρίου του 2011 στην ίδια περιοχή. Στην περιοχή αυτή κυρίαρχη βλάστηση είναι τα *Corydorthymus capitatus* το καλοκαίρι ενώ το φθινόπωρο η βλάστηση είναι πολύ φτωχή. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 42, 43).



Εικόνα 41: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από τη νήσο Κύθνος.



Εικόνα 42: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων της Νήσου Κύθνου με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.



Εικόνα 43: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Κύθνου με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή της Κύθνου παρατηρούμε μεγάλες διακυμάνσεις των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων στην πρώτη περίοδο συλλογής 6,4 - 49,6 mg CAE/ g πρόπολης. Την περίοδο του Οκτωβρίου - Νοεμβρίου οι τιμές των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων κυμάνθηκαν μεταξύ 2,7 – 6,6 mg CAE/ g πρόπολης. Οι χαμηλές τιμές την περίοδο του Φθινοπώρου οφείλονται στην ελάχιστη βλάστηση που υπάρχει στο νησί τους μήνες αυτούς. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα οι μέλισσες να συλλέξουν ελάχιστες ποσότητες πρόπολης, η οποία ήταν και πολύ φτωχή σε πολυφαινόλες. Συνεπώς και σε αυτήν την περίπτωση, που το μελισσοκομείο παρέμεινε σταθερό κατά την διάρκεια όλων των εποχών συλλογής, υπάρχει επίδραση της εποχής της συλλογής στην ποιότητα της πρόπολης που συλλέγεται.

Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin–Ciocalteu με τη μέθοδο DPPH ($R^2=0,9704$)* και με τη μέθοδο ABTS ($R^2=0,996$)* παρατηρούμε πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρούμε μόνο στα δείγματα K8.2 και K8.3 διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων. Υπάρχει καλή συσχέτιση ($R^2=0,9466$)* των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης, αφού στα οκτώ από τα δέκα δείγματα οι τιμές ήταν παρόμοιες και με τις δύο μεθόδους. Τα δείγματα της πρώτης περιόδου έχουν σκούρο πορτοκαλί έως κόκκινο χρώμα, γεγονός που δεν οδήγησε σε χαμηλότερες τιμές με τη μέθοδο DPPH, όπως θα περιμέναμε. Αντιθέτως τα δείγματα K8.2 και K8.3 έχουν αρκετά υψηλότερες τιμές με τη μέθοδο DPPH.

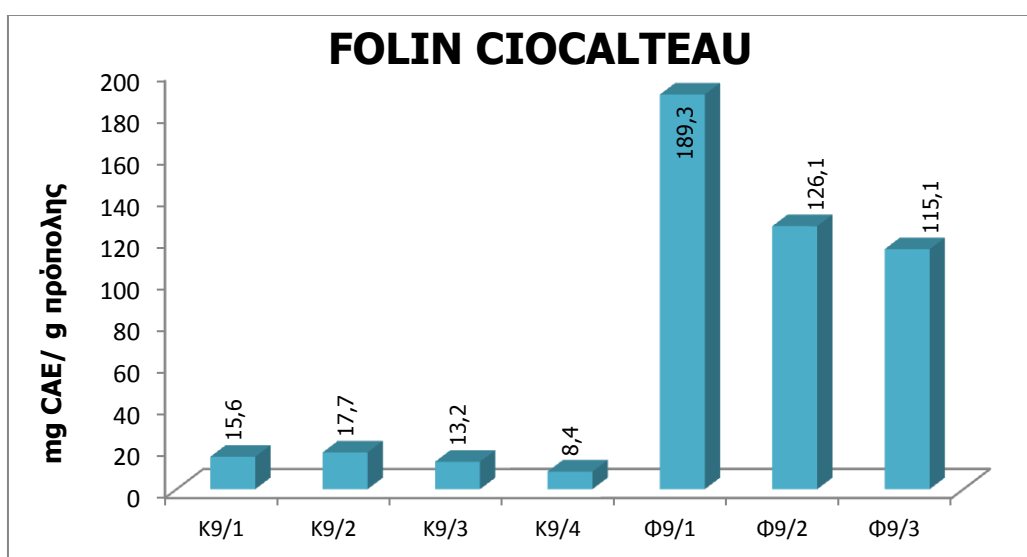
*Τα σχεδιαγράμματα των συσχετίσεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.9 Δείγματα Ν. Ιωαννίνων (Ιωάννινα)

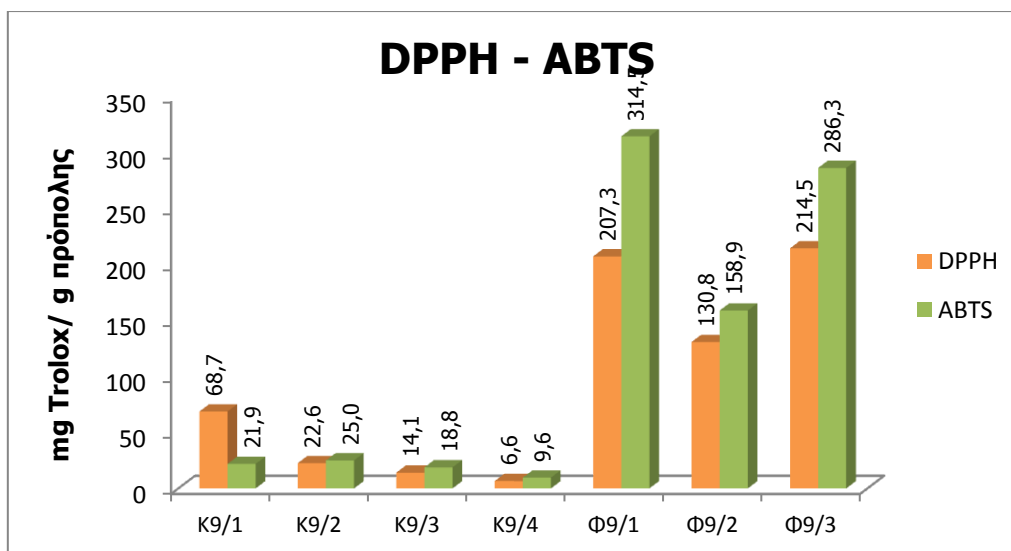
Από το Ν. Ιωαννίνων συλλέχτηκαν συνολικά 7 δείγματα. Τα 4 πρώτα δείγματα (Κ9.1, Κ9.2, Κ9.3, Κ9.4) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Ιουλίου-Αυγούστου του 2011, όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στο δρυμό της Βάλιας Κάλντας. Στην περιοχή αυτή κυρίαρχη βλάστηση είναι τα *Pinus nigra*, *Pinus silvestris*, *Pinus leucodermis* και *Fagus sylvatica* κ.ά.. Τα 3 τελευταία δείγματα (Φ9.1, Φ9.2, Φ9.3) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Οκτωβρίου του 2011 στην περιοχή Ιωαννίνων, όπου κυρίαρχη βλάστηση ήταν *Robinia pseudacacia*, *Trifolium sp.*, και κάποια *Populus sp.* κ.ά. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 45, 46).



Εικόνα 44: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από το Ν. Ιωαννίνων.



Εικόνα 45: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων του Ν. Ιωαννίνων με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.



Εικόνα 46: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Ιωαννίνων με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή των Ιωαννίνων παρατηρούμε διακυμάνσεις των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων στην δεύτερη περίοδο συλλογής 115,1 – 189,3 mg CAE/ g πρόπολης. Την περίοδο του Ιουλίου - Αυγούστου οι τιμές των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων ήταν πολύ μικρές και κυμάνθηκαν μεταξύ 8,4 – 17,7 mg CAE/ g πρόπολης. Οι χαμηλές τιμές την περίοδο του Καλοκαιριού οφείλονται στην βλάστηση που υπάρχει στο δρυμό της Βάλιας Κάλντας, που απαρτίζεται κυρίως από είδη του *Pinus sp.*, των οποίων οι ρητινώδεις εκκρίσεις αποτελούνται κυρίως από τερπένια. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα η πρόπολη που συλλέχθηκε ήταν πολύ φτωχή σε πολυφαινόλες. Αντιθέτως την περίοδο του Φθινοπώρου, που τα μελίτσια ήταν σε άλλη περιοχή, μη δασική, η πρόπολη που συλλέχθηκε ήταν πλούσια σε πολυφαινόλες. Στην περιοχή αυτή υπάρχουν λεύκες, επομένως να οφείλονται σε αυτές η υψηλή περιεκτικότητα των δειγμάτων σε πολυφαινόλες.

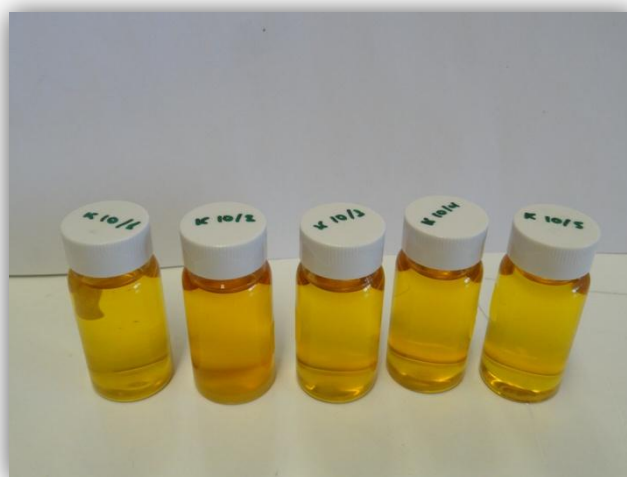
Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin-Ciocalteu με τη μέθοδο DPPH ($R^2=0,8348$)* και με τη μέθοδο ABTS ($R^2=0,8948$)* παρατηρούμε πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρούμε διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων, όμως υπάρχει καλή συσχέτιση ($R^2=0,9492$)* των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης. Στο δείγμα K9.1 παρατηρείται τριπλάσια τιμή αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH σε σχέση με τη μέθοδο ABTS. Ενώ στα υπόλοιπα τρία δείγματα της περιόδου αυτής, οι τιμές των δύο μεθόδων είναι παρόμοιες. Αντιθέτως και στα τρία δείγματα του φθινοπώρου παρατηρούνται μεγαλύτερες τιμές με τη μέθοδο ABTS. Αυτά τα δείγματα έχουν πορτοκαλί χρώμα, γεγονός που μπορεί να οδήγησε σε χαμηλότερες τιμές με τη μέθοδο DPPH στα δείγματα αυτά ή μπορεί να υπάρχουν λιπόφιλα αντιοξειδωτικά που αντέδρασαν με το ABTS και όχι με το DPPH.

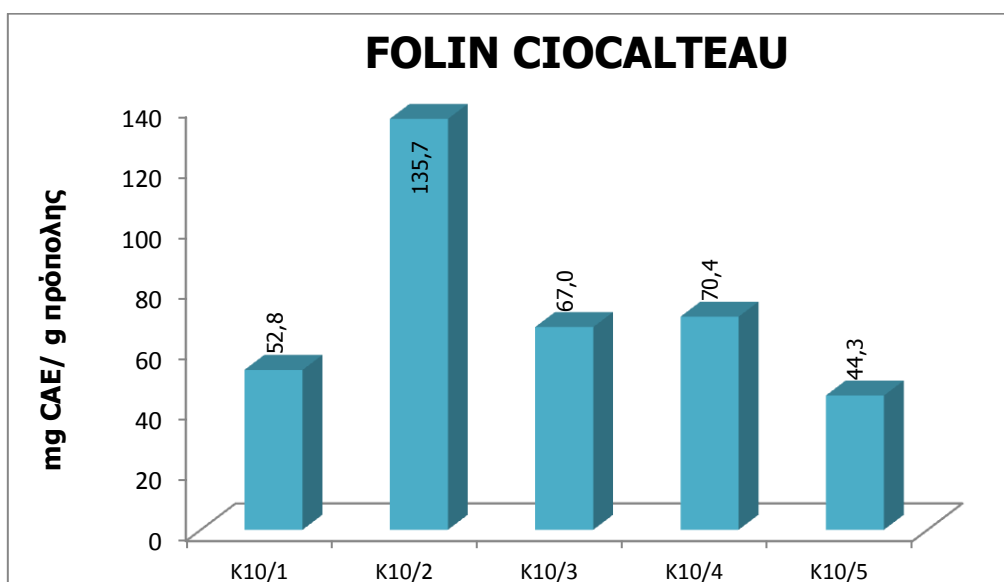
*Τα σχεδιαγράμματα των συσχετίσεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.10 Δείγματα Ν. Λάρισας (Πλατύκαμπος)

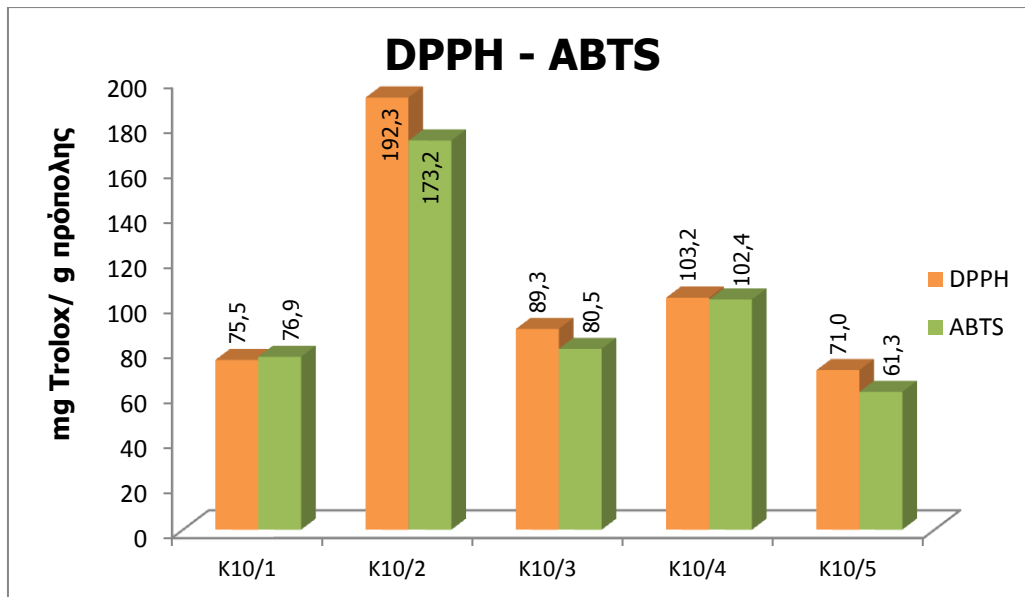
Από το Ν. Λάρισας συλλέχθηκαν συνολικά 5 δείγματα. Τα δείγματα (Κ10.1, Κ10.2, Κ10.3, Κ10.4, Κ10.5) συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια του Ιουλίου-Αυγούστου του 2011, όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στην περιοχή Γλαύκη Λαρίσης, όπου η κυρίαρχη βλάστηση ήταν *Gossypium hirsutum*, *Zea mays*, *Trifolium sp.* κ.ά. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω και εικόνες (Εικ. 48, 49).



Εικόνα 47: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από το Ν. Λάρισας.



Εικόνα 48: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων του Ν. Λαρίσης με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.



Εικόνα 49: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Λαρίσης με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή της Λάρισας παρατηρούμε διακυμάνσεις των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων που κυμαίνονται μεταξύ 44,3 – 135,7 mg CAE/ g πρόπολης. Επομένως στα πλαίσια του ίδιου μελισσοκομείου την ίδια χρονική περίοδο συλλέγεται πρόπολη με διαφορετικά χαρακτηριστικά από κυψέλη σε κυψέλη. Οι τιμές των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων είναι αρκετά υψηλές. Στην περιοχή αυτή δεν υπάρχουν λεύκες, γεγονός που δείχνει ότι κάποιο άλλο φυτό ήταν πηγή της πρόπολης αυτής που είχε υψηλό φαινολικό περιεχόμενο.

Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin–Ciocalteu με τη μέθοδο DPPH ($R^2=0,990$)* και με τη μέθοδο ABTS ($R^2=0,9771$)* παρατηρούμε πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρούμε διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων, όμως υπάρχει καλή συσχέτιση ($R^2=0,9848$)* των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης. Στα τρία δείγματα παρατηρείται μεγαλύτερη τιμή (10%-13%) αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH σε σχέση με τη μέθοδο ABTS, ενώ στα υπόλοιπα δύο οι τιμές των δύο μεθόδων είναι παρόμοιες.

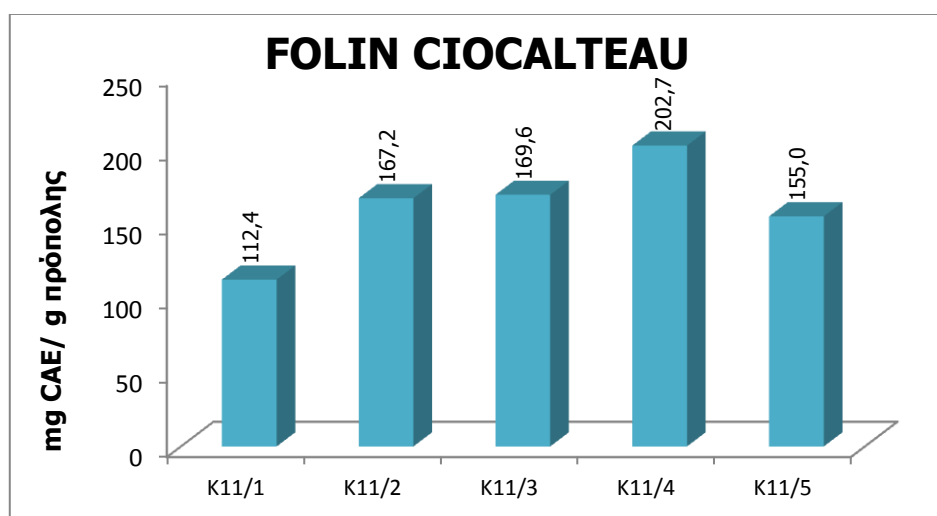
*Τα σχεδιαγράμματα των συσχετίσεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.11 Δείγματα Ν. Βοιωτίας (Δόμβραϊνα)

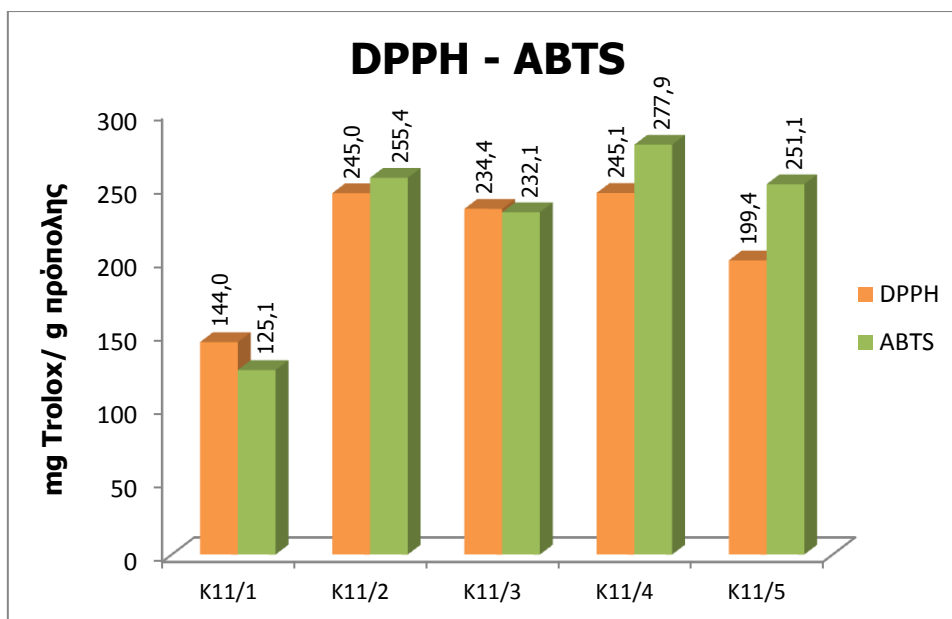
Από το Ν. Βοιωτίας συλλέχτηκαν συνολικά 5 δείγματα. Τα δείγματα (Κ11.1, Κ11.2, Κ11.3, Κ11.4, Κ11.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Ιουλίου-Αυγούστου του 2011, όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στην περιοχή Ελικώνας Βοιωτίας από την 1/7 έως την 27/7, όπου η κυρίαρχη βλάστηση ήταν *Abies cephalonica* και *Corydothymus capitatus*. Επειδή στην περιοχή αυτή δεν είχαν βάλει αρκετή πρόπολη στις σήτες, ο παραγωγός όταν μετακίνησε τα μελίσσια στην περιοχή της Κωπαΐδας άφησε τις σήτες στις κυψέλες μέχρι της 22/8. Στην περιοχή της Κωπαΐδας η κυρίαρχη βλάστηση ήταν *Gossypium hirsutum*, *Trifolium sp.*, *Populus sp.* κ.ά. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 51, 52).



Εικόνα 50: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από το Ν. Βοιωτίας.



Εικόνα 51: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων του Ν. Βοιωτίας με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.



Εικόνα 52: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Βοιωτίας με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή της Βοιωτίας παρατηρούμε διακυμάνσεις των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων που κυμαίνονται μεταξύ 112,4 – 202,7 mg CAE/ g πρόπολης. Επομένως στα πλαίσια του ίδιου μελισσοκομείου την ίδια χρονική περίοδο συλλέγεται πρόπολη με διαφορετικά χαρακτηριστικά από κυψέλη σε κυψέλη. Οι τιμές των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων είναι από τις υψηλότερες που βρέθηκαν κατά την εξέταση όλων των δειγμάτων στην παρούσα εργασία. Στην περιοχή της Κωπαΐδας υπάρχουν λεύκες, γεγονός που δείχνει ότι σε αυτές οφείλεται το υψηλό φαινολικό περιεχόμενο της πρόπολης. Επίσης αν λάβουμε υπόψη μας και τα δείγματα του άλλου παραγωγού από την Βοιωτία, βλέπουμε ότι στην περιοχή της Κωπαΐδας και των κοντινών χωριών Πέτρα και Ευαγγελίστρια, παράχθηκε πρόπολη με το υψηλότερο φαινολικό περιεχόμενο σε σχέση με όλες τις άλλες περιοχές της Ελλάδας, που μελετήθηκαν.

Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin–Ciocalteu με τη μέθοδο DPPH ($R^2=0,8391$)* και με τη μέθοδο ABTS ($R^2=0,8369$)* παρατηρούμε πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρούμε διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων, όμως υπάρχει καλή συσχέτιση ($R^2=0,8157$)* των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης. Στα τρία δείγματα παρατηρείται μεγαλύτερη τιμή αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο ABTS σε σχέση με τη μέθοδο DPPH, στο δείγμα K11.1 παρατηρείται μεγαλύτερη τιμή αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH ενώ στο K11.3 οι τιμές των δύο μεθόδων είναι παρόμοιες.

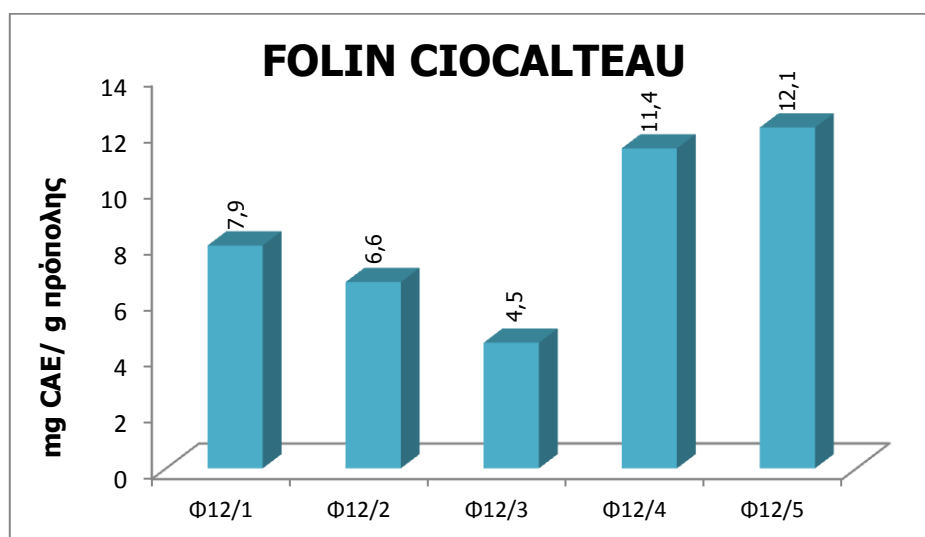
*Τα σχεδιαγράμματα των συσχέτισεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.12 Δείγματα Νήσου Κεφαλληνίας (Αργοστόλι)

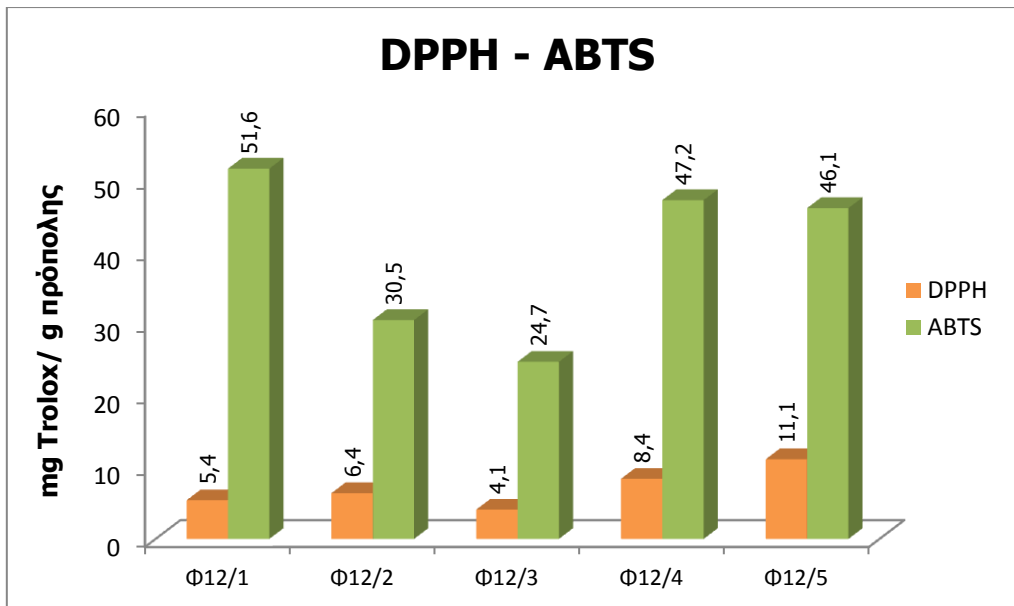
Από το νησί της Κεφαλονιάς συλλέχτηκαν συνολικά 5 δείγματα. Τα δείγματα (Φ12.1, Φ12.2, Φ12.3, Φ12.4, Φ12.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Ιουλίου-Αυγούστου (20/7 έως 14/8) του 2011, όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στην περιοχή Διλινάτα Κεφαλληνίας, όπου η κυρίαρχη βλάστηση ήταν το *Corydorthymus capitatus*. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 54, 55).



Εικόνα 53: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από τη νήσο Κεφαλονιά.



Εικόνα 54: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων της Νήσου Κεφαλληνίας με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.



Εικόνα 55: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Κεφαλληνίας με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή της Κεφαλονιάς τα δείγματα εμφανίζουν χαμηλές τιμές ολικών φαινολικών 4,5 -12,1 mg CAE/ g πρόπολης. Στην περιοχή αυτή προφανώς δεν υπάρχουν φυτά από τα οποία οι μέλισσες συλλέγουν πρόπολη πλούσια σε φαινολικά συστατικά.

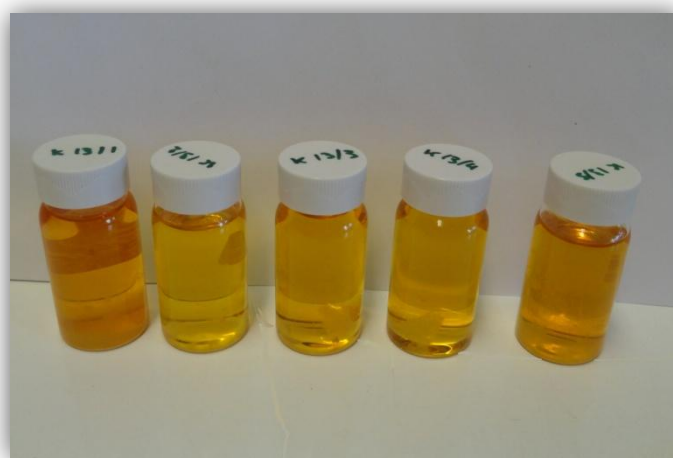
Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin–Ciocalteu με τη μέθοδο ABTS παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει καλή συσχέτιση ($R^2=0,5882$)* μεταξύ των αποτελεσμάτων. Ενώ η μέθοδος Folin–Ciocalteu σε σύγκριση με την DPPH παρουσιάζουν καλή συσχέτιση ($R^2=0,8522$)*.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρούμε πολύ μεγάλες διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων. Δεν υπάρχει συσχέτιση ($R^2=0,2706$)* μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων. Οι τιμές που προέκυψαν με τη μέθοδο ABTS είναι πολλαπλάσιες των τιμών που προέκυψαν με τη μέθοδο DPPH, και στην περίπτωση του δείγματος Φ12.1 η τιμή της ABTS είναι σχεδόν 10 φορές μεγαλύτερες από εκείνη της DPPH. Αυτό ίσως να οφείλεται σε λιπόφιλα μη φαινολικά συστατικά τα οποία αντιδρούν μόνο με τη μέθοδο ABTS.

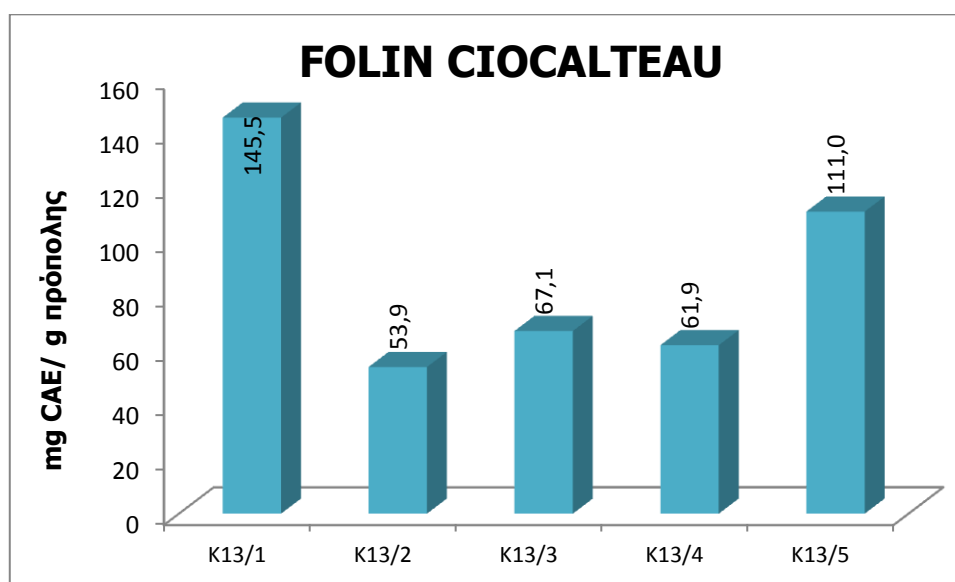
*Τα σχεδιαγράμματα των συσχετίσεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.13 Δείγματα Ν. Έβρου (Άγιοι Θεόδωροι)

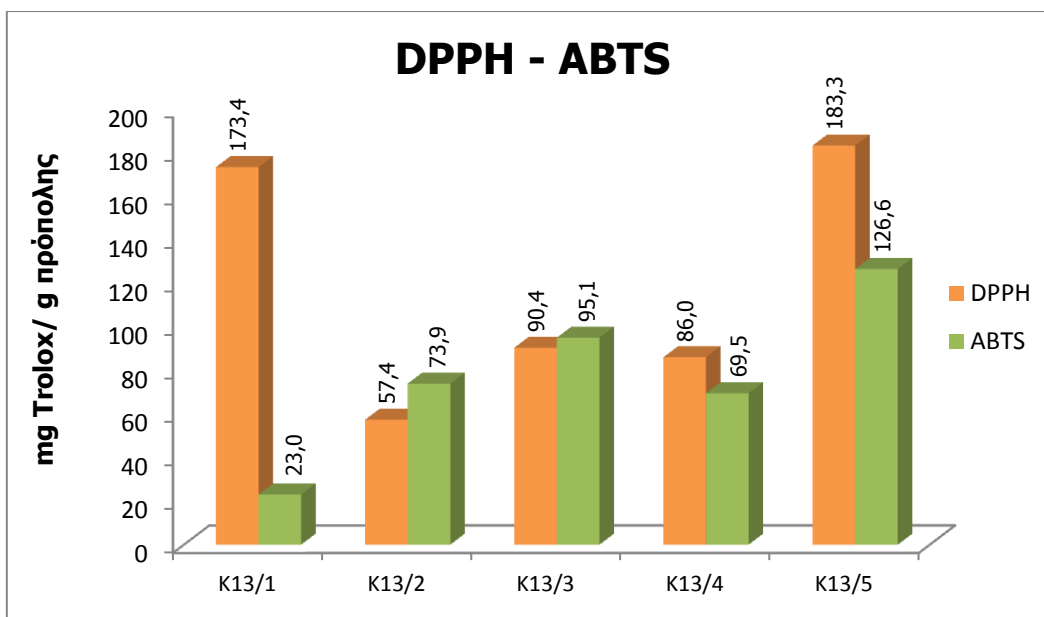
Από το Ν. Έβρου συλλέχτηκαν 5 δείγματα. Τα δείγματα (Κ13.1, Κ13.2, Κ13.3, Κ13.4, Κ13.5) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Ιουλίου-Αυγούστου του 2011, όπου τα μελίτσια του παραγωγού βρίσκονταν στο Διδυμότειχο Έβρου. Κατά την περίοδο αυτή η βλάστηση που επικρατούσε ήταν το *Gossypium hirsutum*, *Helianthus annuus* L. και κάποια *Populus sp.* κ.ά. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 57, 58).



Εικόνα 56: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από το Ν. Έβρου.



Εικόνα 57: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων του Ν. Έβρου με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.



Εικόνα 58: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Έβρου με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή του Έβρου τα δείγματα εμφανίζουν αρκετά υψηλές τιμές ολικών φαινολικών που κυμαίνονται από 53,9 -145,5 mg CAE/ g πρόπολης. Επομένως στα πλαίσια του ίδιου μελισσοκομείου την ίδια χρονική περίοδο συλλέγεται πρόπολη με διαφορετικά χαρακτηριστικά από κυψέλη σε κυψέλη.

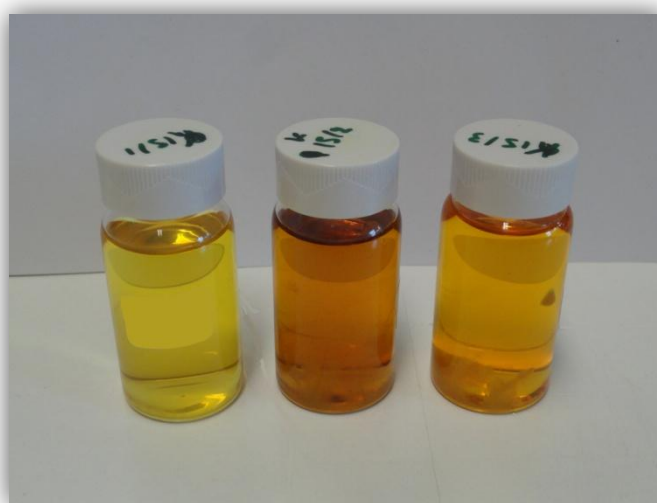
Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin–Ciocalteu με τη μέθοδο ABTS παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει συσχέτιση ($R^2=0,1182$)* μεταξύ των αποτελεσμάτων. Αυτό οφείλεται κυρίως στο δείγμα K13.1, του οποίου η τιμή είναι πολύ χαμηλή σε σχέση με τις δυο άλλες μεθόδους. Αν αφαιρεθεί το δείγμα αυτό υπάρχει καλή συσχέτιση ($R^2=0,8952$)* μεταξύ των τιμών των άλλων δειγμάτων. Αντιθέτως η μέθοδος Folin–Ciocalteu σε σύγκριση με την DPPH παρουσιάζουν καλή συσχέτιση ($R^2=0,8522$)*.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρούμε πολύ μεγάλες διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων κυρίως στα δείγματα K13.1 και K13.5, με αποτέλεσμα να μην υπάρχει συσχέτιση ($R^2=0,0004$)* μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων. Και σε αυτή την περίπτωση αν αφαιρεθεί το δείγμα K13.1 υπάρχει καλή συσχέτιση ($R^2=0,8539$)* μεταξύ των τιμών των άλλων δειγμάτων. Ποιοτική ανάλυση του δείγματος K13.1 θα μπορούσε να εξηγήσει το λόγο που δεν επέδειξε ισχυρή αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο ABTS.

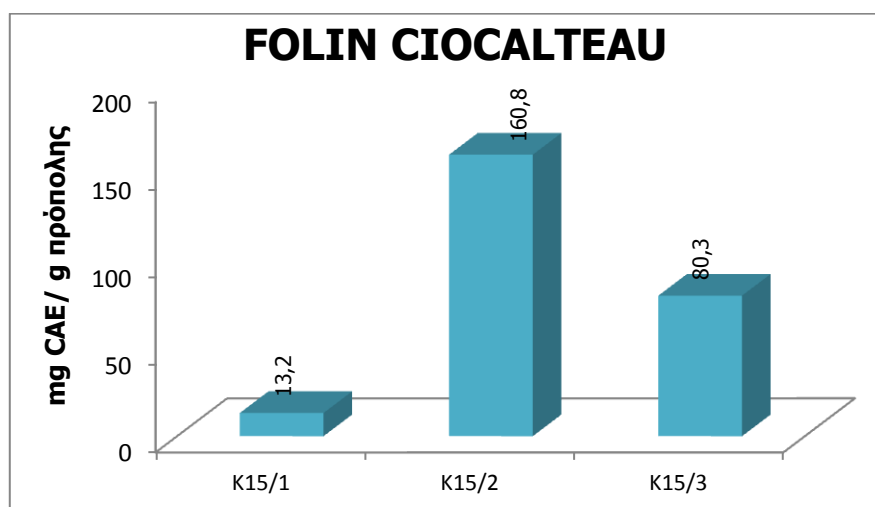
*Τα σχεδιαγράμματα των συσχετίσεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.14 Δείγματα Ν. Πέλλας (Έδεσσα) και Ν. Φλωρίνης (Φλώρινα)

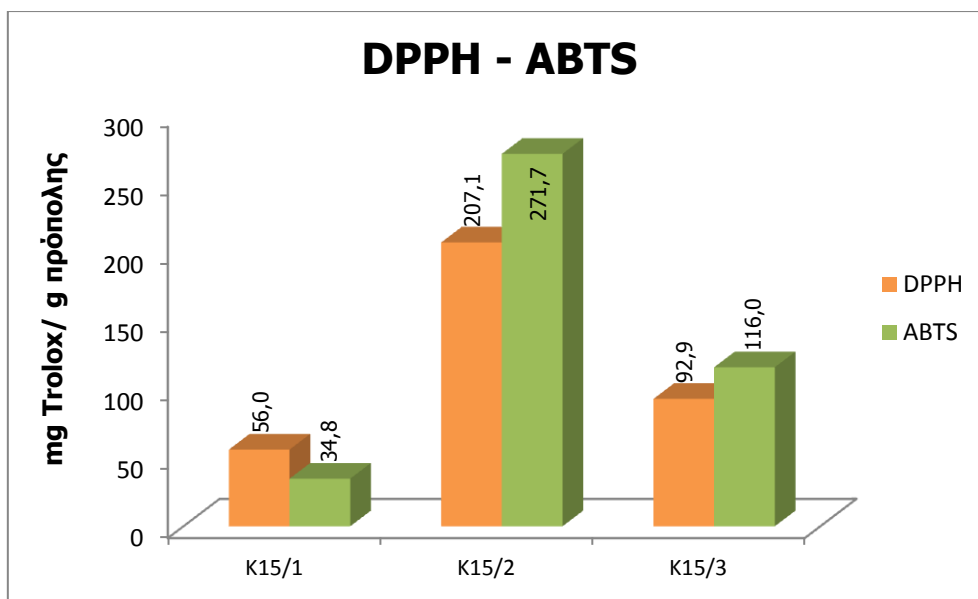
Από το Ν. Πέλλας και το Ν. Φλωρίνης συλλέχτηκαν συνολικά 3 δείγματα. Το πρώτο και το τρίτο δείγμα (Κ15.1 , Κ15.3) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Ιουνίου-Ιουλίου του 2011, όπου τα μελισσοσμήνη των παραγωγών βρίσκονταν στην Έδεσσα. Στην περιοχή αυτή η βλάστηση που επικρατεί είναι *Castanea sativa*, *Pinus sp.*, *Populus sp.* κ.ά. Το δεύτερο δείγμα Κ15.2 συλλέχτηκε από την περιοχή της Φλώρινας το ίδιο χρονικό διάστημα. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 60, 61).



Εικόνα 59: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από τους νομούς Πέλλας και Φλωρίνης.



Εικόνα 60: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων του Ν. Πέλλας και του Ν. Φλωρίνης (Κ15/2) με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.



Εικόνα 61: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Πέλλας και του Ν. Φλωρίνης (K15/2) με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή της Έδεσσας τα δείγματα K15.1 και K15.3 εμφανίζουν διαφορές στις τιμές ολικών φαινολικών 13,2 και 80,3 mg CAE/ g πρόπολης. Τα δείγματα αυτά προέρχονται από δύο διαφορετικά μελισσοκομεία τα οποία όμως απέχουν 500m μεταξύ τους. Ενώ το δείγμα K15.2 είχε υψηλή τιμή ολικών φαινολικών 160,8 mg CAE/ g πρόπολης. Δεν μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα ασφαλή για την περίπτωση αυτών των δειγμάτων, μιας και δεν έχουμε αρκετά δείγματα από όλους τους μελισσοκόμους.

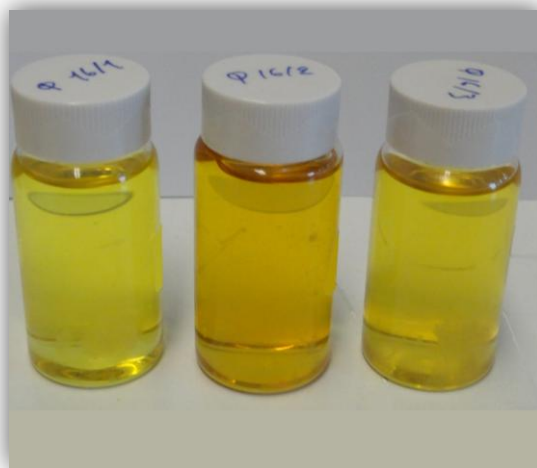
Παρόλα αυτά αν συγκρίνουμε τη μέθοδο Folin–Ciocalteu με τη μέθοδο ABTS ($R^2=0,984$)* και με τη μέθοδο DPPH ($R^2=0,9462$)* βλέπουμε ότι υπάρχει καλή συσχέτιση μεταξύ των τιμών της κάθε μεθόδου. Το ίδιο ισχύει και για τις δύο μεθόδους εκτίμησης της αντιοξειδωτικής δράσης μεταξύ τους ($R^2=0,9885$)*.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης παρατηρούμε διαφορές μεταξύ των δύο μεθόδων. Στα δείγματα K15.2 και K15.3 παρατηρείται μεγαλύτερη τιμή αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο ABTS σε σχέση με τη μέθοδο DPPH, ενώ το αντίθετο συμβαίνει με το δείγμα K15.1. Τα δείγματα K15.2 και K15.3 έχουν σκούρο πορτοκαλί χρώμα, και πιθανόν οι χαμηλές τιμές με τη μέθοδο DPPH να οφείλονται στην παρεμβολή χρωμοφώρων.

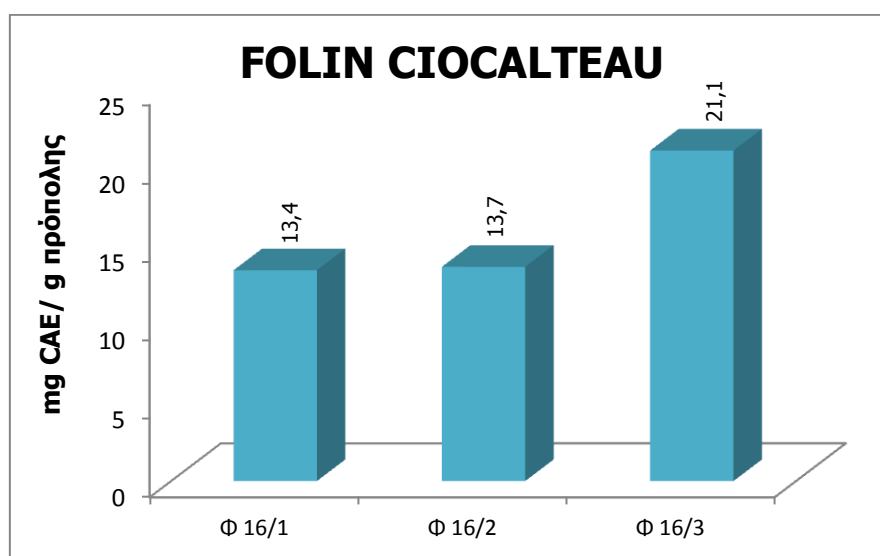
*Τα σχεδιαγράμματα των συσχετίσεων παρατίθενται στο παράρτημα.

4.4.15 Δείγματα Ν. Εύβοιας (Παγώντας)

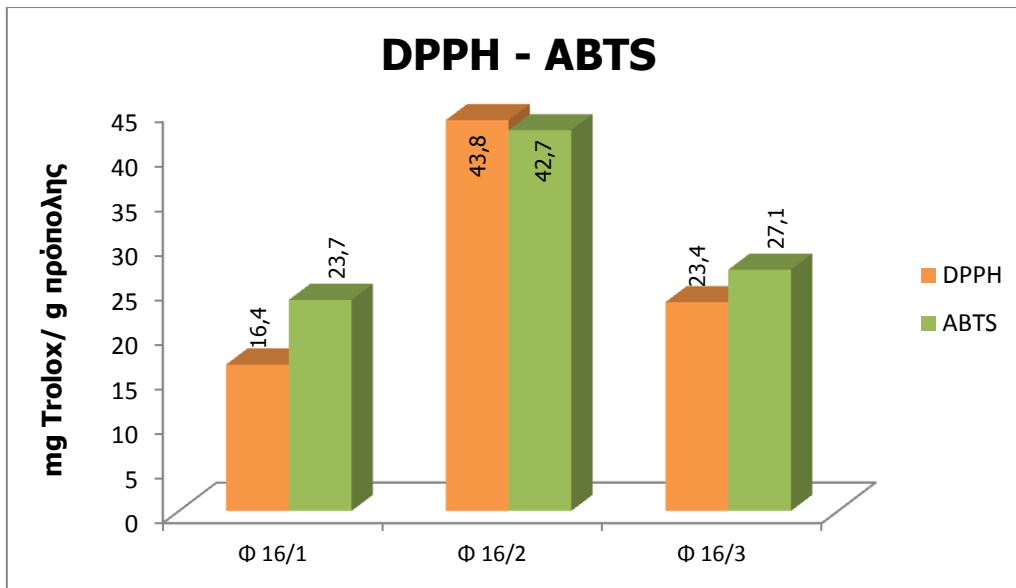
Από το νησί της Εύβοιας συλλέχτηκαν συνολικά 3 δείγματα. Τα δείγματα (Κ16.1 ,Κ16.2, Κ16.3) συλλέχτηκαν κατά τη διάρκεια του Οκτωβρίου του 2011, όπου τα μελίσσια του παραγωγού βρίσκονταν στον Παγώντα Ευβοίας. Στην περιοχή αυτή η βλάστηση που κυριαρχεί είναι *Pinus sp.*, *Erica manipuliflora*, *Arbutus unedo* κ.ά. Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες (Εικ. 63, 64).



Εικόνα 62: Αιθανολικά εκχυλίσματα πρόπολης από τη νήσο Εύβοια.



Εικόνα 63: Φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων της Νήσου Εύβοιας με τη μέθοδο Folin–Ciocalteau.



Εικόνα 64: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Εύβοιας με τις μεθόδους DPPH και ABTS.

Στην περιοχή της Εύβοιας τα δείγματα εμφανίζουν χαμηλές τιμές ολικών φαινολικών που κυμαίνονται από 13,4 - 21,1 mg CAE/ g πρόπολης. Στην περιοχή αυτή προφανώς δεν υπάρχουν φυτά από τα οποία οι μέλισσες συλλέγουν πρόπολη πλούσια σε φαινολικά συστατικά.

Συγκρίνοντας τη μέθοδο Folin–Ciocalteu με τη μέθοδο ABTS ($R^2=0,1055$)* και με τη μέθοδο DPPH ($R^2=0,0614$)* παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων. Αυτό οφείλεται κυρίως στο δείγμα Φ16.2, το οποίο έχει ολικά φαινολικά συστατικά 13,7 mg CAE/ g πρόπολης αλλά παρουσιάζει υψηλή αντιοξειδωτική δράση και με τις δύο μεθόδους. Αν αφαιρεθεί το δείγμα αυτό υπάρχει πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ των τιμών των άλλων δυο δειγμάτων. Η περιοχή από όπου συλλέχθηκε η πρόπολη είχε *Pinus sp.*, των οποίων οι ρητινώδεις εκκρίσεις αποτελούνται κυρίως από τερπενοειδή. Πιθανόν στο δείγμα Φ16.2 υπάρχουν τερπένια που εκδηλώνουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και αντιδρούν και με τη ρίζα DPPH και με το ABTS⁺ εξίσου καλά.

Στην εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης υπάρχει πολύ καλή συσχέτιση ($R^2=0,9935$)* μεταξύ των τιμών όλων των δειγμάτων και για τις δύο μεθόδους. Τα δείγματα Φ16.1 και Φ16.3 έχουν μεγαλύτερη τιμή αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο ABTS σε σχέση με τη μέθοδο DPPH, ενώ οι τιμές και των δύο μεθόδων είναι παρόμοιες στο δείγμα Φ16.2.

*Τα σχεδιαγράμματα των συσχετίσεων παρατίθενται στο παράρτημα.

Κεφάλαιο 5°

Συζήτηση

5.1 Συγκεντρωτικά αποτελέσματα

Ο πίνακας 6 δείχνει συγκεντρωτικά την περίοδο όπου τοποθετήθηκαν οι σήτες στις κυψέλες από τον κάθε παραγωγό. Όπως είναι εμφανές υπάρχει μεγάλη παραλλακτικότητα τόσο στο χρόνο και στη διάρκεια που τοποθετήθηκαν όσο και στην επανάληψη της συλλογής. Αυτό συνέβη γιατί κάποιοι παραγωγοί δεν τοποθέτησαν έγκαιρα τις σήτες, ενώ άλλοι δεν έστειλαν δεύτερα δείγματα και σε κάποιες περιπτώσεις επειδή οι μέλισσες δεν είχαν τοποθετήσει αρκετή πρόπολη, παρατάθηκε ο χρόνος που παρέμειναν οι σήτες στις κυψέλες. Στην περίπτωση του πρώτου δείγματος από το νησί της Κεφαλονιάς, χάθηκε με δική μας υπαιτιότητα. Συνεπώς σε κάποιες περιπτώσεις δεν έχουμε και δεύτερη τιμή για κάποιες περιοχές και παράλληλα δεν μπορούμε να συγκρίνουμε τις τιμές ανά εποχή συλλογής. Τέλος στην περιοχή της Έδεσσας τοποθετήθηκαν 3 σήτες από 3 παραγωγούς. Οι δύο παραγωγοί είχαν κοντά τα μελισσοκομεία τους οπότε διεξήχθη μέσος όρος των τιμών των 2 αυτών δειγμάτων ενώ αποκλείστηκε το δείγμα του ενός παραγωγού επειδή είχε τοποθετήσει τη σήτα στην περιοχή της Φλώρινας.

Πίνακας 6: Εποχή και διάρκεια συλλογής των δειγμάτων από κάθε περιοχή και ο αριθμός των δειγμάτων.

Περιοχή	Αρ. δειγμάτων	Φεβρουάριος -Απρίλιος	Μάιος	Ιούνιος	Ιούλιος	Αύγουστος	Σεπτέμβρης	Οκτώβρης	Νοέμβρης
Αρκαδία	5-5		X	X					
Λακωνία	3-6			X		X			
Χανιά	5-5			X				X	
Χίος	6-5		X		X				
Σκόπελος	5-5-5				X		X		X
Βοιωτία	5-5				X		X		
Αττική	4-5-5-1	X			X		X		X
Κύθνος	5-5					X			X
Ιωάννινα	4-3					X			X
Λάρισα	5					X			
Βοιωτία	5					X			
Κεφαλονιά	5					X			
Ορεσιτιάδα	5					X			
Έδεσσα	3				X				
Εύβοια	3								X

Οι τιμές που παρουσιάζονται για την κάθε περιοχή είναι μέσος όρος των τιμών της κάθε περιόδου. Για τη διεξαγωγή του μέσου όρου των τιμών συμπεριλήφθηκε και το βάρος της ακατέργαστης πρόπολης που συλλέχθηκε από την κάθε σήτα. Δηλαδή οι τιμές αυτές συμπεριλαμβάνουν και το ποσοστό

συμμετοχής του κάθε δείγματος στο σύνολο της ακατέργαστης πρόπολης που συλλέχθηκε από τον κάθε παραγωγό ανά περίοδο συλλογής.

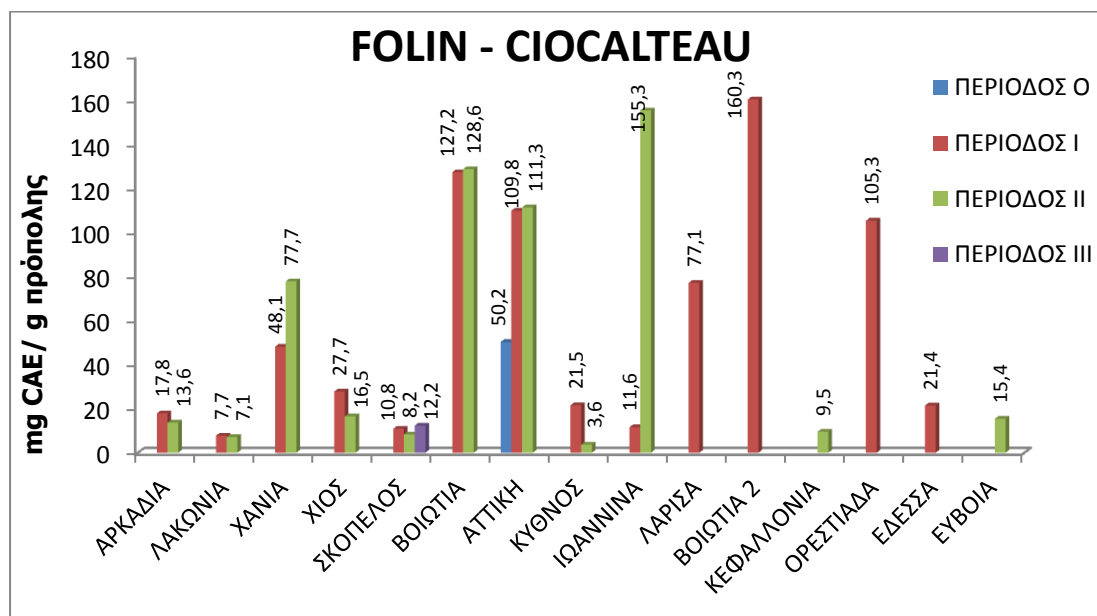
5.1.1 Μέθοδος Folin – Ciocalteu

Το συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο, όπως εκτιμήθηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, για τα αιθανολικά εκχυλίσματα κυμάνθηκε από 1 έως 202 mg CAE/g πρόπολης ανάλογα με την προέλευση. Στην εικόνα 65 βλέπουμε τα αποτελέσματα που εξήχθησαν από την εφαρμογή της μεθόδου Folin - Ciocalteu. Αξίζει να παρατηρήσει κανείς τις μεγάλες διαφορές των τιμών τόσο μεταξύ των περιοχών όσο και σε ορισμένες περιπτώσεις μεταξύ των δύο περιόδων συλλογής. Αυτό οφείλεται στη διαφορετική βοτανική προέλευση της πρόπολης. Το δείγμα πρόπολης από τη Δόμβραινα Βοιωτίας (Βοιωτία 2) παρουσιάζουν την μεγαλύτερη ποσότητα πολυφαινολών και μετά ακολουθεί το δεύτερο δείγμα από την περιοχή των Ιωαννίνων. Έπειτα ακολουθούν και τα δύο δείγματα από την Πέτρα Βοιωτίας, τα δείγματα του καλοκαιριού και φθινοπώρου από το Γ.Π.Α., και το δείγμα από την Ορεστιάδα. Χαρακτηριστικό όλων των παραπάνω περιοχών είναι ότι υπήρχαν φυτά του γένους *Populus sp.*, στα οποία οφείλεται η παραγωγή πρόπολης με υψηλό φαινολικό περιεχόμενο. Ενώ το δείγμα από την Λάρισα και το δεύτερο δείγμα από τα Χανιά έχουν την μισή περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες σε σχέση με το δείγμα της Δόμβρεινας Βοιωτίας. Αντιθέτως το δεύτερο δείγμα από την Κύθνο έχει την μικρότερη ποσότητα πολυφαινολών και αυτό μπορεί να εξηγηθεί λόγω της ελάχιστης βλάστησης στο νησί κατά τη διάρκεια του φθινοπώρου, που είχε και ως αποτέλεσμα να συλλεχθούν και μικρές ποσότητες πρόπολης.

Χαμηλές συγκεντρώσεις σε πολυφαινόλες παρουσιάζουν και τα δύο δείγματα της Αρκαδίας και της Λακωνίας καθώς και τα τρία δείγματα της Σκοπέλου, το δείγμα της Κεφαλονιάς, της Εύβοιας, και το πρώτο δείγμα από τα Ιωάννινα. Οι χαμηλές τιμές οφείλονται ότι στις περιοχές αυτές δεν υπάρχουν φυτά που προσδίδουν στην πρόπολη που παράγεται υψηλό φαινολικό περιεχόμενο. Επιπρόσθετα στις περιοχές από όπου πάρθηκαν τα δείγματα της Αρκαδίας, της Εύβοιας και το πρώτο δείγμα από τα Ιωάννινα, η βλάστηση που επικρατούσε ήταν κυρίως φυτά του γένους *Pinus sp.*, των οποίων οι ρητινώδεις εκκρίσεις είναι πλούσιες σε τερπενοειδή και όχι σε πολυφαινόλες.

Σε εργασία της Τρουλλίδου (2007) όπου πραγματοποίησε τη μέθοδο Folin – Ciocalteu σε δείγματα από περιοχές της Ελλάδας και της Κύπρου (Αχαΐα: Καλάβρυτα, Αρκαδία: Μεγαλόπολη, Μεσσηνία: Αρφαρά και Τρίκορφο, Ρέθυμνο: Αλοΐδες, Τήνος: Πύργος, Καρδίτσα: Λουτρό, Σκόπελος: Γλώσσα και Κύπρος: Λάρνακα), τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικές φαινολικές ενώσεις παρουσίασε το δείγμα πρόπολης από την Αρκαδία (Μεγαλόπολη) και ακολούθησαν τα δείγματα από την Καρδίτσα (Λουτρό), ενώ τη μικρότερη περιεκτικότητα παρουσίασε το δείγμα πρόπολης από την Κρήτη (Ρέθυμνο). Επίσης στην ίδια εργασία ταυτοποιήθηκαν τα κύρια συστατικά μέσω GC-MS όπου έδειξε ότι στο δείγμα από την Μεγαλόπολη υπερτερούν οι πολυφαινόλες ενώ στο δείγμα από το Ρέθυμνο υπερτερούν τα τερπενικά οξέα σε σχέση με

τις συγκεντρώσεις των πολυφαινολών. Τα αποτελέσματα από την παρούσα μελέτη δεν μπορούν να συγκριθούν με τα ευρήματα της Τρουλλίδου διότι αν και πάρθηκαν δείγματα από ίδιους νομούς (Αρκαδία) ή νησια (Σκόπελος, Κρήτη), οι περιοχές δεν ήταν παραπλήσιες και υπήρχε διαφορετική βλάστηση στη κάθε περιοχή.



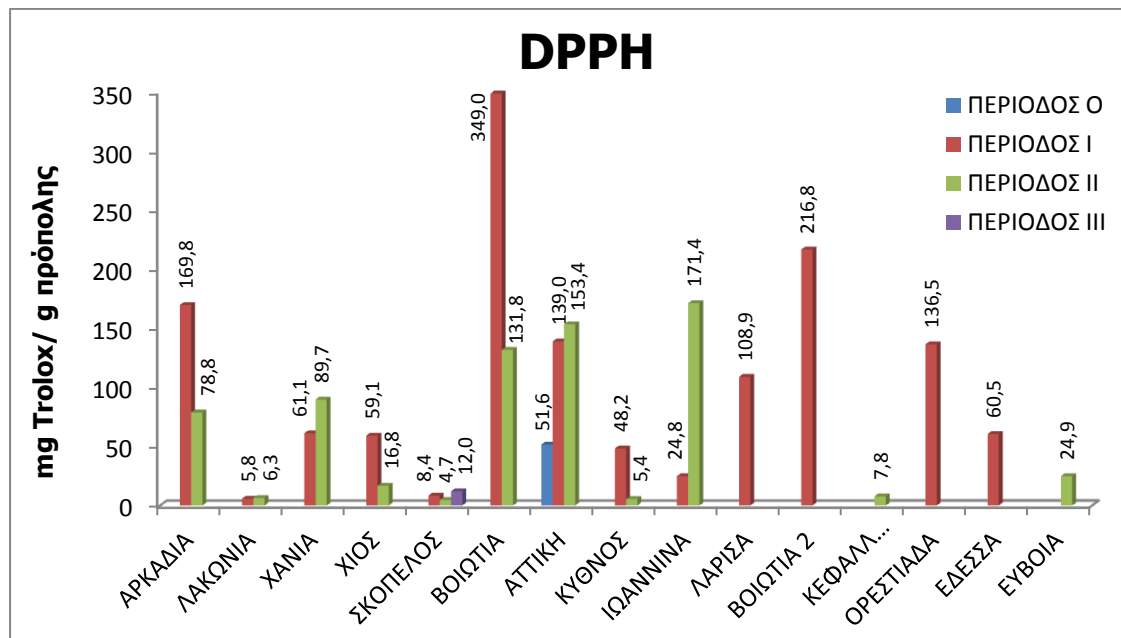
Εικόνα 65: Μέσοι όροι των τιμών που προέκυψαν με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu για όλες τις περιοχές και περιόδους.

5.1.2 Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH

Η αντιοξειδωτική δράση, όπως εκτιμήθηκε με τη μέθοδο DPPH για τα αιθανολικά εκχυλίσματα κυμάνθηκε από 3 έως 789 mg Trolox/g πρόπολης. Παρατηρώντας την εικόνα 66 βλέπουμε κάποιες διαφορές στην αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων σε σύγκριση με την εικόνα 65. Εδώ παρατηρούμε ότι το πρώτο δείγμα από την Πέτρα Βοιωτίας έχει σαφώς μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε σύγκριση με όλα τα άλλα δείγματα. Αυτό όμως οφείλεται στις απροσδόκητα υψηλές τιμές των δειγμάτων K6.1 και K6.5. Επίσης και τα δύο δείγματα από την Αρκαδία παρουσιάζουν υψηλή αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με το φαινολικό τους περιεχόμενο και σε σχέση με τη μέθοδο ABTS. Στην περιοχή της Εύβοιας το δείγμα παρουσιάζει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με το φαινολικό του περιεχόμενο, αυτό οφείλεται κυρίως στο δείγμα K16.2, στο οποίο πιθανόν υπάρχουν τερπένια που εκδηλώνουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Ποιοτική ανάλυση των δειγμάτων για ταυτοποίηση των ενώσεων που υπάρχουν, πιθανόν θα μπορούσε να εξηγήσει το λόγο που παρατηρούνται μεγάλες διαφορές.

Στην εργασία της Τρουλλίδου (2007) όπου πραγματοποίησε τη μέθοδο DPPH το δείγμα πρόπολης από την Αρκαδία (Μεγαλόπολη) παρουσίασε τη

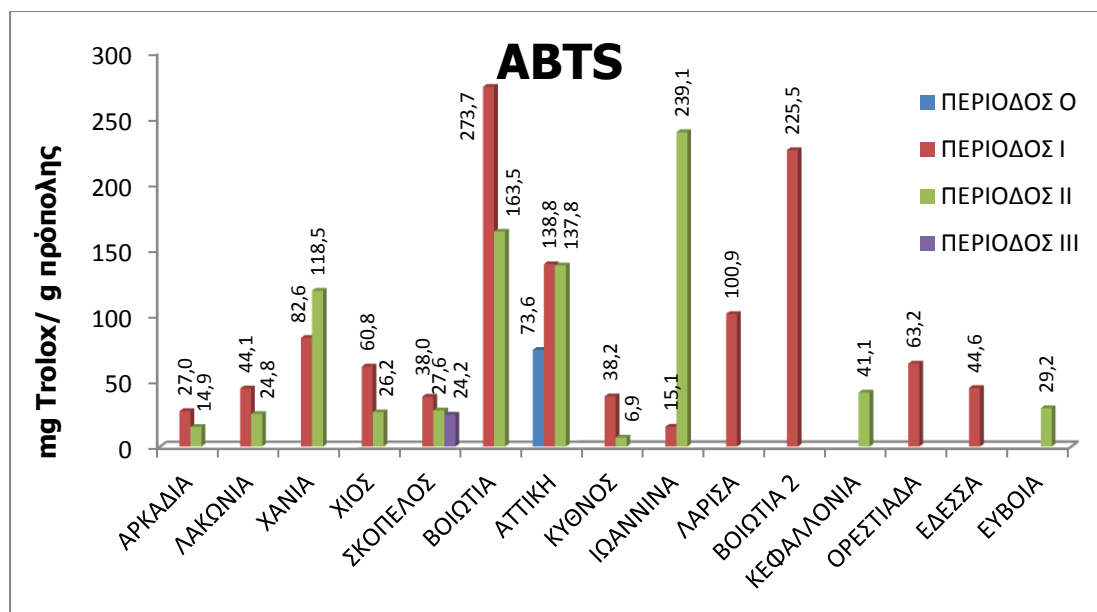
μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα και ακολούθησαν τα δείγματα από την Καρδίτσα (Λουτρό), και την Σκόπελο (Γλώσσα), παρόλο που το φαινολικό περιεχόμενο του δείγματος από την Σκόπελο ήταν περίπου το μισό από ότι των άλλων δειγμάτων. Ενώ τη μικρότερη ικανότητα δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH, παρουσίασε το δείγμα πρόπολης από την Κρήτη (Ρέθυμνο).



Εικόνα 66: Μέσοι όροι των τιμών που προέκυψαν με τη μέθοδο DPPH για όλες τις περιοχές και περιόδους.

5.1.3 Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο ABTS

Στην εικόνα 67 παρατηρούμε το πρώτο δείγμα από την Πέτρα Βοιωτίας έχει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση αλλά όχι με τόσο μεγάλη διαφορά με τα δείγματα που ακολουθούν. Είναι προφανές ότι στο δείγμα αυτό υπάρχουν μη φαινολικά αντιοξειδωτικά που αντιδρούν και με τις δύο μεθόδους. Όσο για τα δείγματα της Αρκαδίας έχουν μικρότερες τιμές σε σχέση με την μέθοδο DPPH. Επίσης τα δείγματα από τη Λακωνία, τη Σκόπελο και την Κεφαλονιά έχουν πολύ μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με τη μέθοδο DPPH. Επιπρόσθετα το δείγμα της Ορεστιάδας έχει τη μισή τιμή με τη μέθοδο ABTS σε σχέση με τη τιμή της DPPH. Αυτό οφείλεται κυρίως στο δείγμα K13.1 το οποίο είχε πολύ χαμηλή τιμή με τη μέθοδο ABTS, παρόλο που είχε υψηλό φαινολικό περιεχόμενο. Στην περιοχή της Εύβοιας το δείγμα παρουσιάζει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση και με τη μέθοδο ABTS, σε σχέση με το φαινολικό του περιεχόμενο. Αυτό οφείλεται κυρίως στο δείγμα K16.2, στο οποίο πιθανόν υπάρχουν τερπένια που εκδηλώνουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, τα οποία δεν εκτιμούνται με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu.



Εικόνα 67: Μέσοι όροι των τιμών που προέκυψαν με τη μέθοδο ABTS για όλες τις περιοχές και περιόδους.

5.2 Σύγκριση των μεθόδων DPPH και ABTS

Από την σύγκριση των αποτελεσμάτων από τις μεθόδους DPPH και ABTS παρατηρούμε στην εικόνα 68 ότι σε ορισμένα δείγματα η διαφορά των τιμών είναι πολύ μικρή ενώ σε άλλα δείγματα η διαφορά είναι αρκετά μεγάλη υπέρ της μιας ή της άλλης μεθόδου. Από το σύνολο των δειγμάτων (123) το 66% εμφάνισε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο ABTS, το 24% εμφάνισε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο DPPH και ένα 10% περίπου των δειγμάτων είχε παρόμοια τιμή και με τις δύο μεθόδους. Αυτό πιθανώς συμβαίνει γιατί η μέθοδος ABTS είναι κατάλληλη για λιπόφιλα συστήματα, συνεπώς το ABTS⁺ αντιδρά και με λιπόφιλα αντιοξειδωτικά, με τα οποία δεν αντιδρά η ρίζα DPPH.

Οι μεγαλύτερες διαφορές μεταξύ των μεθόδων παρατηρούνται και στα δύο δείγματα από την Αρκαδία, στο πρώτο δείγμα από την Πέτρα Βοιωτίας και στο δείγμα από την Ορεστιάδα, όπου οι τιμές με τη μέθοδο DPPH είναι πολύ μεγαλύτερες σε σχέση με της μεθόδου ABTS. Ενώ το αντίθετο συμβαίνει στα δύο δείγματα από τη Λακωνία, στα τρία δείγματα από τη Σκόπελο, στο δεύτερο δείγμα από τα Ιωάννινα και στο δείγμα από την Κεφαλονιά.

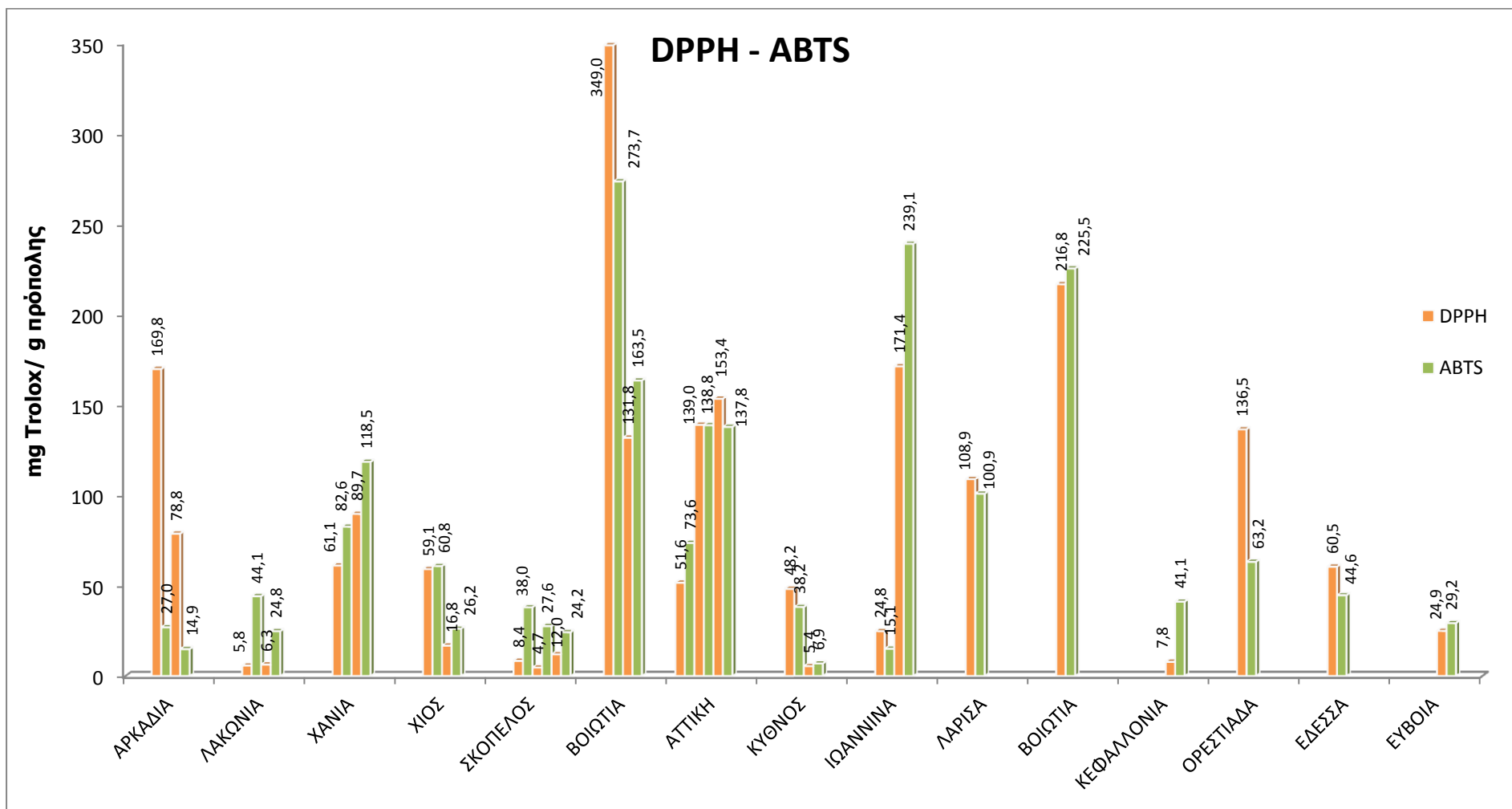
Σε εργασία του Αρναο (2000) όπου εφάρμοσε τις μεθόδους αυτούς σε χυμούς και σε κρασιά, παρατήρησε ότι υπήρχαν παρεμβάσεις των χρωμοφώρων συστατικών των υποστρωμάτων, που οδηγούσαν σε υποτιμημένες τιμές αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων. Το πρόβλημα αυτό εντοπίζεται σε χαμηλά μήκη κύματος και επηρεάζει κυρίως την μέθοδο DPPH όπου γίνεται η φωτομέτρηση στα 515 nm. Ενώ το πρόβλημα αυτό μειώνεται στην μέθοδο ABTS όταν γίνεται η φωτομέτρηση σε υψηλά μήκη κύματος (730 nm). Αντιθέτως στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε ότι τα

πρώτα δείγματα από την Κύθνο και τη Χίο που είχαν έντονο κόκκινο χρώμα προέκυψαν μεγαλύτερες τιμές με τη μέθοδο DPPH στα περισσότερα από αυτά από ό,τι με τη μέθοδο ABTS.

Έχει αναφερθεί ότι η αντίδραση του DPPH με την ευγενόλη είναι αντιστρέψιμη. Αυτό οδηγεί σε λανθασμένες χαμηλές τιμές για την αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων που περιέχουν ευγενόλη και άλλων φαινολών που έχουν παρόμοια δομή (ο-μεθοξυφαινόλες) (Huang et al., 2005). Μπορεί η ύπαρξη φαινολών με αυτή τη δομή να είναι άλλος ένας λόγος για τις χαμηλές τιμές αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH.

Τέλος η διαφορά στις τιμές που προέκυψε με τη μία ή την άλλη μέθοδο μπορεί να οφείλεται και σε άλλους παράγοντες όπως ότι στη μέθοδο DPPH η αντίδραση είναι αργή, και ως εκ τούτου είναι δύσκολο να ληφθούν απόλυτες αντιοξειδωτικές τιμές, ή το γεγονός ότι η μέθοδος DPPH είναι ευαίσθητη στο pH (Awika et al., 2003).

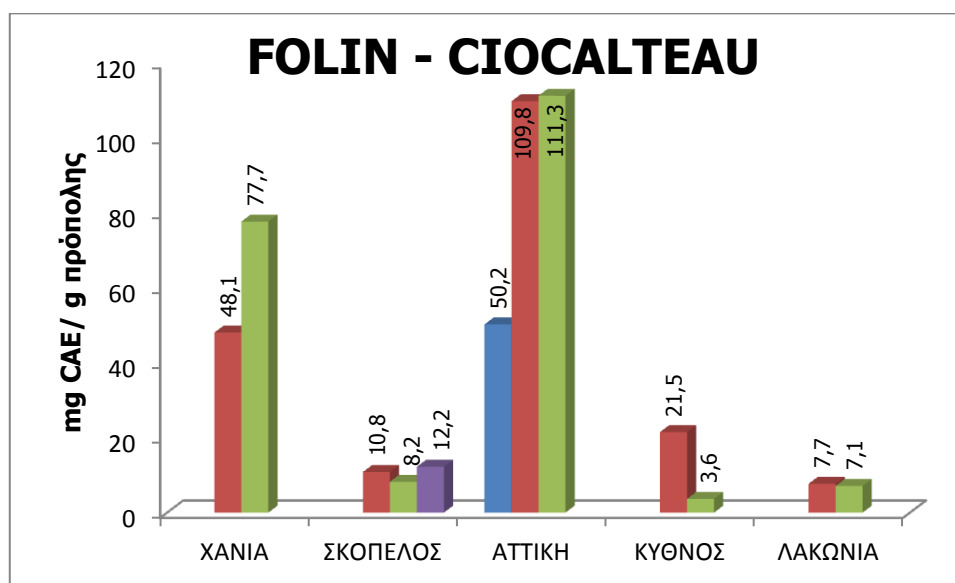
Είναι φανερό ότι η σημασία και η αξιολόγηση των αντιοξειδωτικών στην πρόπολη εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο. Υπάρχουν πολλά αντιφατικά αποτελέσματα για διάφορα αναγνωρισμένα αντιοξειδωτικά, ανάλογα με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται. Σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα είναι ιδιότητες των αντιοξειδωτικών μεταξύ λιπιδίων και υδατικής φάσης, οι συνθήκες οξειδωσης και η φυσική κατάσταση του οξειδωμένου υποστρώματος. Για την αντιμετώπιση τέτοιων προβλημάτων είναι καλύτερο να χρησιμοποιούνται περισσότεροι από μία μέθοδοι για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας.



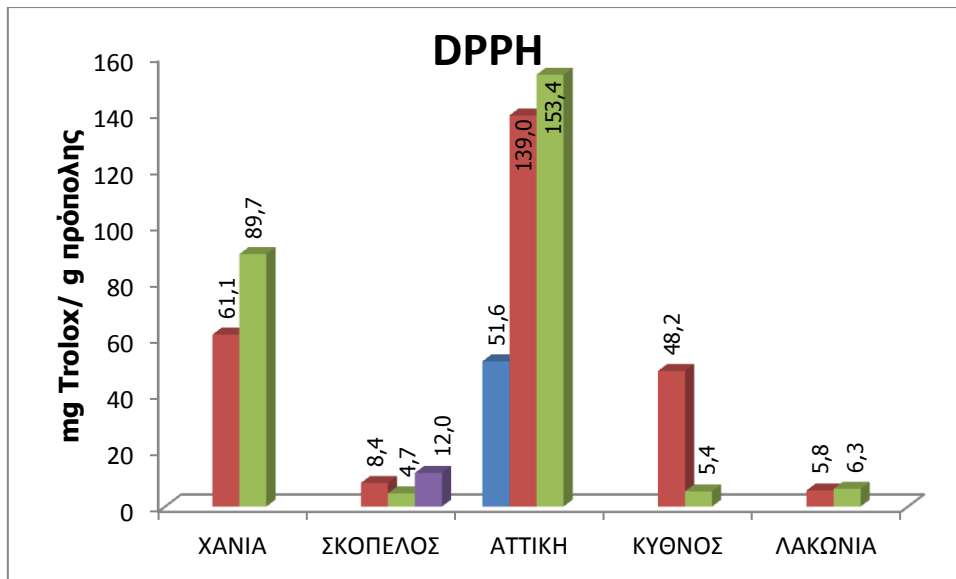
Εικόνα 68: Μέσοι όροι των τιμών που προέκυψαν με τη μέθοδο DPPH και ABTS για όλες τις περιοχές και περιόδους.

5.3 Αποτελέσματα σε σταθερά μελισσοκομεία

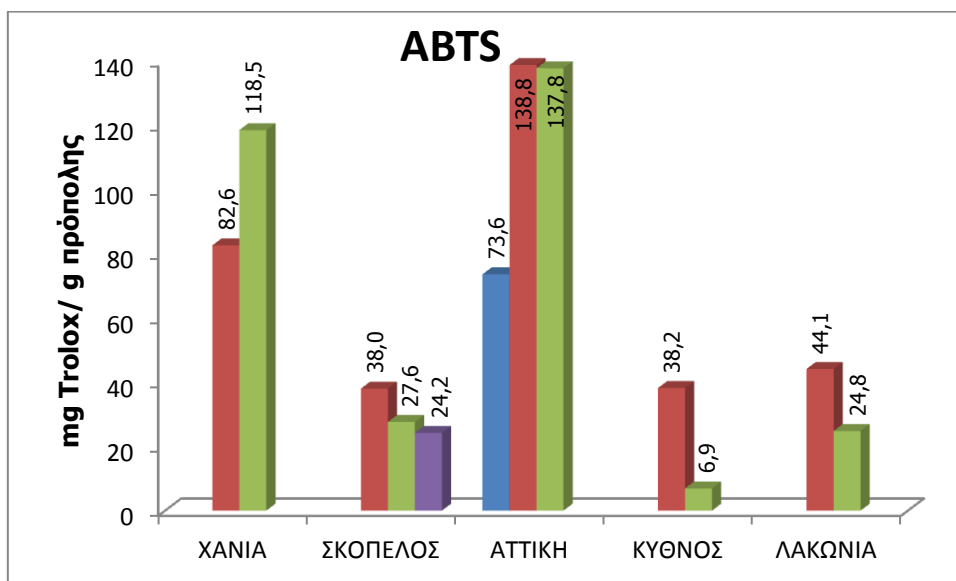
Στο σημείο αυτό παραθέτω τις εικόνες 69, 70 και 71 που απεικονίζουν τους μέσους όρους των τιμών που προέκυψαν με την κάθε μέθοδο που εφαρμόστηκε για τις περιοχές όπου τα μελισσοκομεία ήταν σταθερά κατά τη διάρκεια όλων των περιόδων συλλογής των δειγμάτων πρόπολης. Στην περιοχή της Σκοπέλου παρατηρούμε παρόμοιες τιμές με την μέθοδο Folin – Ciocalteu και DPPH και στις τρεις περιόδους συλλογής (Ιούνιο - Οκτώβριο) και διαφοροποιούνται οι τιμές που προέκυψαν με τη μέθοδο ABTS. Στην περιοχή της Αθήνας οι τιμές που προέκυψαν από τη συλλογή κατά τη διάρκεια Φεβρουαρίου- Απριλίου ήταν πολύ μικρότερες σε σχέση με αυτές του Ιουνίου – Σεπτεμβρίου. Στα Χανιά οι τιμές από την περίοδο Σεπτεμβρίου - Οκτωβρίου ήταν μεγαλύτερες σε σχέση με τις τιμές του Μαΐου – Ιουνίου. Ενώ στην Κύθνο οι τιμές τις περιόδου Ιουλίου- Αυγούστου ήταν πολύ υψηλότερες σε σχέση με τις τιμές τις περιόδου Οκτωβρίου - Νοεμβρίου. Στη Λακωνία παρατηρούμε παρόμοιες τιμές και τις δύο εποχές συλλογής με την μέθοδο Folin – Ciocalteu και την DPPH, ενώ με τη μέθοδο ABTS οι τιμές είναι αυξημένες και τις δύο περιόδους και κυρίως την εποχή του Μαΐου – Ιουνίου. Αυτό δείχνει ότι ακόμα και σε μια συγκεκριμένη περιοχή η σύσταση της πρόπολης αλλάζει ανάλογα με την εποχή γιατί εξαρτάται από την διαθέσιμη βλάστηση και συμφωνεί με τα αποτελέσματα της εργασίας των Teixeira et al. (2010).



Εικόνα 69: Μέσοι όροι των τιμών που προέκυψαν με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu για τις περιοχές με σταθερά μελισσοκομεία.



Εικόνα 70: Μέσοι όροι των τιμών που προέκυψαν με τη μέθοδο DPPH για τις περιοχές με σταθερά μελισσοκομεία.



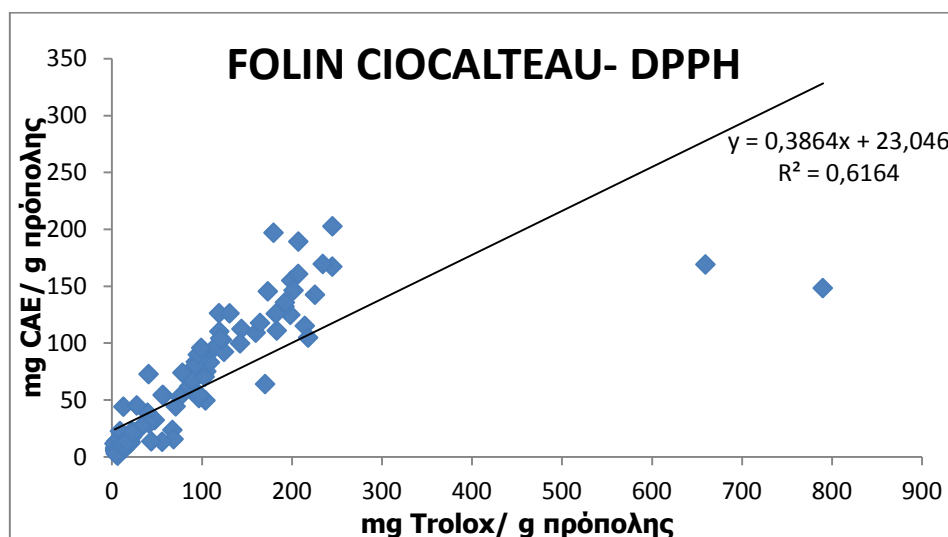
Εικόνα 71: Μέσοι όροι των τιμών που προέκυψαν με τη μέθοδο ABTS για τις περιοχές με σταθερά μελισσοκομεία.

5.4 Συσχέτιση των μεθόδων

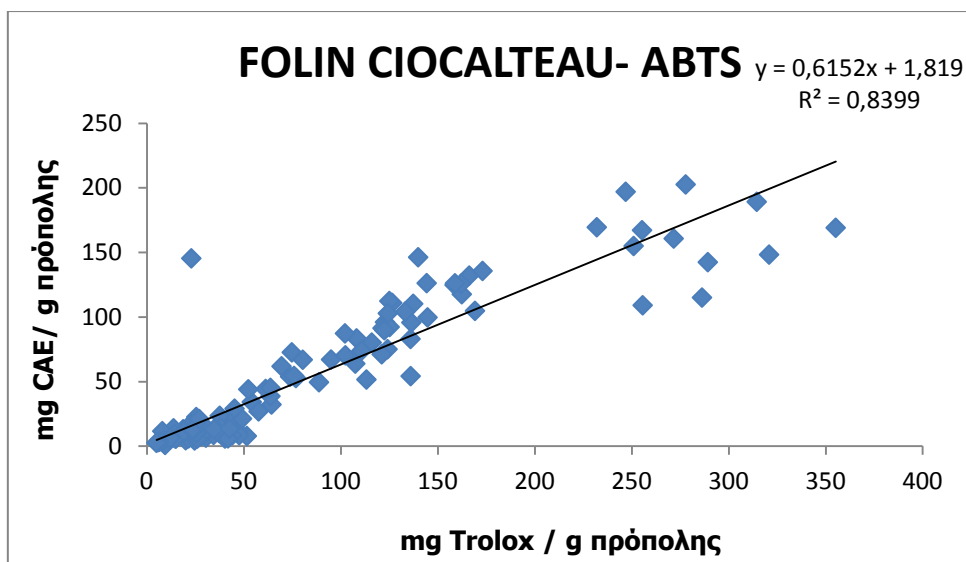
Για την καλύτερη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων ελέχθη η σχέση που έχουν οι μέθοδοι μέτρησης των ολικών φαινολικών συστατικών και η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με ABTS και DPPH. Για την πραγματοποίηση του συσχετισμού αυτού δημιουργήθηκαν τρεις καμπύλες: Folin Ciocalteau-DPPH, Folin Ciocalteau -ABTS, και DPPH-ABTS (Εικόνες 72, 73 και 74). Στην κατασκευή των καμπυλών χρησιμοποιήθηκαν όλα τα δείγματα. Με τη βοήθεια των παρακάτω διαγραμμάτων υπολογίστηκε ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ της αντιοξειδωτικής ικανότητας και των ολικών φαινολικών συστατικών, καθώς συγκρίθηκαν και οι δύο τεχνικές μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Ο αριθμός των δειγμάτων και το εύρος των τιμών των παραμέτρων που εξετάζονται μπορούν να επηρεάσουν το συντελεστή αυτό (R^2) γι' αυτό, περισσότερα δείγματα μπορούν να δώσουν λογικές τιμές του R^2 και πιο αντιπροσωπευτική συσχέτιση. Η σχέση των φαινολικών συστατικών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας για όλα τα εξεταζόμενα δείγματα (123 δείγματα) ήταν θετική και γραμμική, πράγμα που δηλώνει ότι υψηλότερο φαινολικό περιεχόμενο των αιθανολικών εκχυλισμάτων πρόπολης, έχει ως αποτέλεσμα την υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα.

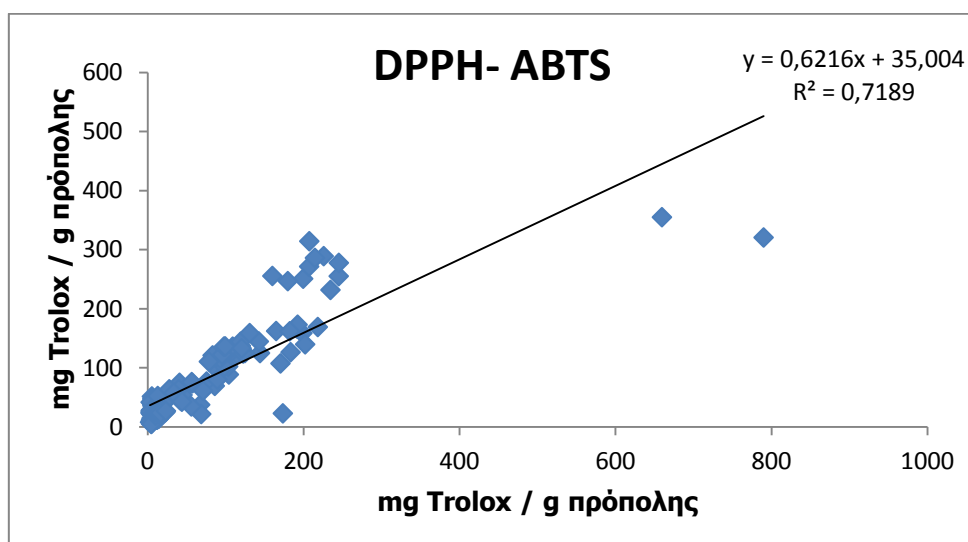
Οι μέθοδοι Folin- Ciocalteau και ABTS έχουν καλύτερη συσχέτιση όπου το $R^2 = 0,8399$, ακολουθούν οι μέθοδοι DPPH και ABTS όπου το $R^2 = 0,7189$ ενώ μέτρια συσχέτιση παρουσιάζουν οι μέθοδοι Folin- Ciocalteau και DPPH όπου το $R^2 = 0,6164$.



Εικόνα 72: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteau και DPPH.



Εικόνα 73: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 74: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

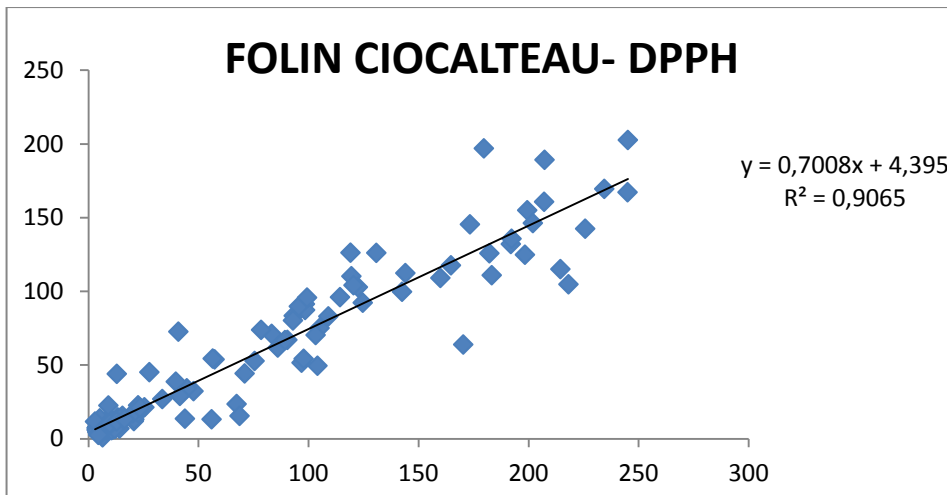
Αν και βλέπουμε συχνά σε ερευνητικές εργασίες που αφορούν αντιοξειδωτικά, να βρίσκουν άριστο συσχετισμό ($R^2 > 0.99$) μεταξύ του συνολικού φαινολικού περιεχομένου (που μετρείται με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu) και της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας (που μετρείται με τις μεθόδους ABTS ή DPPH) επειδή αυτές οι μέθοδοι είναι βασισμένες σε παρόμοιες οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις (Huang et al. 2005, Awika et al. 2003).

Αυτό όμως δεν φαίνεται να ισχύει με την περίπτωση της πρόπολης. Η αντιοξειδωτική δράση εξαρτάται από τις δομές των φαινολικών ενώσεων. Παραδείγματος χάριν, η αντιοξειδωτική δράση των παραγώγων των φαινολικών οξέων εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά και της πλευρικής

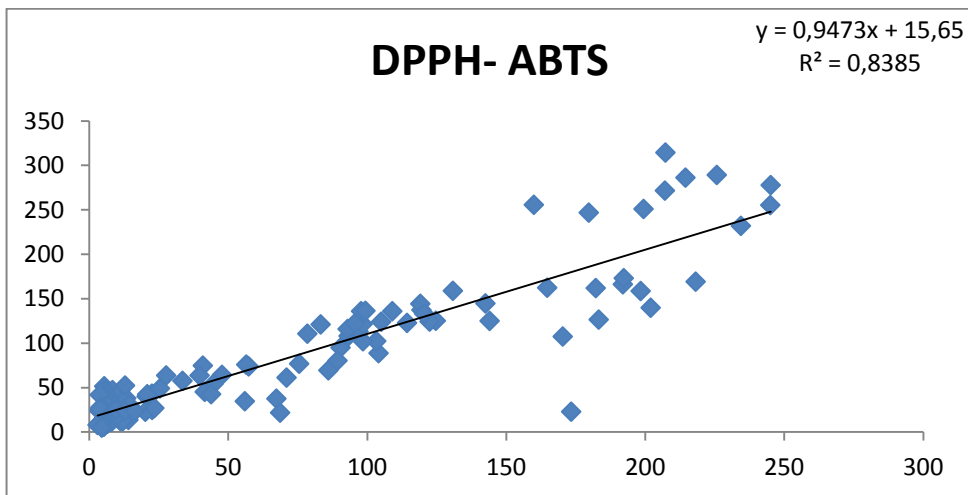
αλυσίδας προπανίου και των φαινολικών υδροξυλίων. Κατά συνέπεια, οι δομικές πτυχές είναι σημαντικές στον καθορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης, οι οποίες καθιστούν το θέμα της αντιοξειδωτικής δράσης πάρα πολύ σύνθετο για να εξηγηθεί ακριβώς μόνο από την άποψη της ποσότητας των φαινολικών ενώσεων. Επίσης οι απλές φαινόλες (π.χ., C_6H_5OH , η φαινολική ομάδα της τυροσίνης) αντιδρούν με την Folin-Ciocalteu, αν και δεν είναι αποτελεσματικές στη δέσμευση των ελεύθερων ριζών. Επομένως, μπορεί να μην υπάρξει απαραίτητως ένας καλός συσχετισμός μεταξύ της «συνολικής περιεκτικότητας σε πολυφαινόλες» και στην αντιοξειδωτική ικανότητα ενός δείγματος.

Είναι δύσκολο να οριστεί η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα σε ένα περιορισμένο σύνολο συστατικών στα σύνθετα μίγματα, όπως στην περίπτωση των εκχυλισμάτων της πρόπολης. Άλλα συστατικά εκτός από τα προφανέστερα ισχυρά αντιοξειδωτικά πιθανώς διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο τελικό αποτέλεσμα που παρατηρείται. Ακόμα και η συνέργια δεν μπορεί να αποκλειστεί σε τέτοιες περιπτώσεις (Teixeira et al., 2010). Η ελληνική πρόπολη περιέχει και τερπένια εκτός από πολυφαινόλες. Ανάλογα με την περιοχή που συλλέγεται η πρόπολη, μπορεί να υπερισχύουν τα τερπένια έναντι των πολυφαινολών. Τα τερπένια μπορούν να έχουν αντιοξειδωτική δράση ανάλογα με τη δομή τους και με τη θέση του διπλού δεσμού. Συνεπώς ορισμένα δείγματα επιδεικνύουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση που δεν είναι ανάλογη με το φαινολικό τους περιεχόμενο.

Αν αφαιρέσουμε τα δείγματα K6.1 και K6.5 που είχαν μεγάλες τιμές με τη μέθοδο DPPH και δεν είχαν συσχέτιση με τις άλλες δυο μεθόδους παρατηρούμε στις εικόνες 75 και 76 ότι βελτιώνεται σημαντικά η συσχέτιση των μεθόδων Folin-Ciocalteu και DPPH όπου το $R^2 = 0,9065$ αλλά και η συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS όπου το $R^2 = 0,8385$. Τα δυο δείγματα αυτά είναι από την περιοχή της Βοιωτίας όπου το K6.1 πάρθηκε από την περιοχή της Ευαγγελίστρια ενώ το K6.5 από την περιοχή της Πέτρας, χωριά που απέχουν λιγότερο από 5 Km μεταξύ τους. Το K6.1 με τη μέθοδο DPPH είχε 659,5 mg Trolox/g πρόπολης ενώ με τη ABTS 355,2 mg Trolox/g πρόπολης. Αντίστοιχα το K6.5 με τη μέθοδο DPPH είχε και 789,9 mg Trolox/g πρόπολης ενώ με τη ABTS 320,9 mg Trolox/g πρόπολης. Δηλαδή οι τιμές με τη μέθοδο DPPH είναι διπλάσιες σε σχέση με τη μέθοδο ABTS. Πιθανόν η ποιοτική ταυτοποίηση των δειγμάτων αυτών θα μπορούσε να εξηγήσει γιατί συμβαίνει αυτό.



Εικόνα 75: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteau και DPPH.



Εικόνα 76: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

Κεφάλαιο 6°

Συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία έγινε μια προσπάθεια να συλλεχτούν 5 διαφορετικά δείγματα από κάθε παραγωγό, κατά τη διάρκεια δύο περιόδων, από 15 περιοχές της Ελλάδας: (Ν. Αρκαδίας (Τρίπολη), Ν. Λακωνίας (Ρηχιά), Ν. Χανίων (Χανιά), Νήσος Χίου (Βαβιλοί), Νήσος Σκόπελος (Σκόπελος), Ν. Βοιωτίας (Πέτρα), Ν. Αττικής (Γ.Π.Α. Βοτανικός), Νήσος Κύθνος (Μέριχας), Ν. Λάρισας (Πλατύκαμπος), Ν. Ιωαννίνων (Ιωάννινα), Ν. Βοιωτίας (Δόμβραϊνα), Νήσος Κεφαλληνίας (Αργοστόλι), Ν. Πέλλας (Έδεσσα), Ν. Έβρου (Άγιοι Θεόδωροι) και Ν. Εύβοιας (Παγώντας). Τα δείγματα πρόπολης από την Ελλάδα φαίνεται να έχουν μικτή βοτανική προέλευση, από πεύκα και λεύκες, αφού περιέχουν τόσο τις χαρακτηριστικές πολυφαινόλες που εκκρίνονται από τους οφθαλμούς της λεύκας, όσο και τα χαρακτηριστικά τερπενικά οξέα του ρετσινιού του πεύκου.

Εφαρμόστηκαν οι μέθοδοι Folin – Ciocalteu για τον προσδιορισμό των ολικών πολυφαινολών, η μέθοδος DPPH και η ABTS για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των αιθανολικών εκχυλισμάτων πρόπολης, οι οποίες είναι εύκολα εφαρμόσιμες και χρησιμοποιούνται ευρέως ανά τον κόσμο σε εργασίες που αφορούν τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες.

Αρχικά παρατηρούμε ότι στο πλαίσιο ενός μελισσοκομείου υπάρχουν διαφορές στις τιμές που προκύπτουν από την εφαρμογή των τριών μεθόδων. Παρόλο που οι κυψέλες απέχουν η μια από την άλλη μερικά μέτρα, εντούτοις τα δείγματα που συλλέχτηκαν είχαν σε ορισμένες περιπτώσεις αξιοσημείωτες διαφορές. Η βοτανική προέλευση καθορίζει την ποιοτική σύσταση της πρόπολης, αλλά αυτός ο παράγοντας δεν είναι απόλυτα ελεγχόμενος από τον παραγωγό.

Στις περιπτώσεις που το μελισσοκομείο παρέμεινε σταθερό κατά την διάρκεια όλων των εποχών συλλογής, παρατηρήθηκε επίδραση της εποχής της συλλογής στην ποιότητα της πρόπολης που συλλέγεται.

Το συνολικό πολυφαινολικό περιεχόμενο, όπως εκτιμήθηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, για τα αιθανολικά εκχυλίσματα κυμάνθηκε από 1 έως 202 mg CAE/g πρόπολης ανάλογα με την προέλευση. Τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ολικές φαινολικές ενώσεις παρουσίασαν τα δείγματα πρόπολης σε περιοχές που υπάρχουν λεύκες. Εντυπωσιακό επίσης είναι ότι το δείγμα K6/3 από την Βοιωτία, που ήταν το μόνο, που συλλέχθηκε από περιοχή όπου δεν υπήρχαν λεύκες η τιμή του πολυφαινολικού περιεχόμενου του ήταν 21 mg CAE/g πρόπολης ενώ των υπόλοιπων δειγμάτων την ίδια χρονική περίοδο κυμάνθηκε από 109 έως 169 mg CAE/g πρόπολης. Αυτό δείχνει ότι ακόμα και στα πλαίσια ενός νομού ή ενός νησιού υπάρχει παραλλακτικότητα ως προς την ποιοτική σύνθεση της πρόπολης που παράγεται, που οφείλεται κυρίως στην χλωρίδα της περιοχής όπου είναι εγκατεστημένο το μελισσοκομείο. Συνεπώς δεν είναι εφικτό να τυποποιηθεί η πρόπολη με βάση τη γεωγραφική προέλευση, παρά μόνο με βάση τη βοτανική της προέλευση.

Αντιθέτως παρατηρούμε ότι τα δείγματα από την Αρκαδία, το δείγμα από την Εύβοια και το πρώτο δείγμα από την περιοχή των Ιωαννίνων, όπου τα μελισσοκομεία ήταν εγκατεστημένα σε δασικές περιοχές όπου υπήρχαν πεύκα και έλατα, είχαν χαμηλό πολυφαινολικό περιεχόμενο. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι η πρόπολη που έχει προέλευση τις ρητίνες των φυτών της οικογένειας *Pinaceae* αποτελείται κυρίως από τερπενοειδή. Η ίδια εξήγηση μπορεί να δοθεί και για τα δεύτερα δείγματα από το νησί της Χίου όπου το μελισσοκομείο ήταν εγκαταστημένο κοντά σε μαστιχόδεντρα, γιατί η ρητίνη των μαστιχόδεντρων αποτελείται κυρίως από τριτερπενοειδή και λιγότερο από πολυφαινόλες.

Τέλος στην περιοχή της Λάρισας οι τιμές των ολικών φαινολικών συστατικών των δειγμάτων είναι αρκετά υψηλές. Στην περιοχή αυτή δεν υπάρχουν λεύκες, γεγονός που δείχνει ότι κάποιο άλλο φυτό ήταν πηγή της πρόπολης αυτής που είχε υψηλό φαινολικό περιεχόμενο.

Η αντιοξειδωτική δράση, όπως εκτιμήθηκε με τη μέθοδο DPPH, για τα αιθανολικά εκχυλίσματα κυμάνθηκε από 3 έως 789 mg Trolox/g πρόπολης. Όλα τα δείγματα από την Αρκαδία είχαν υψηλή αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο DPPH, παρόλο που είχαν χαμηλό φαινολικό περιεχόμενο και χαμηλή αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο ABTS. Επίσης δύο δείγματα από τη Δόμβραινα Βοιωτίας είχαν ασυνήθιστα υψηλές τιμές αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH (659,5 και 789,9 mg Trolox/g πρόπολης), που δεν σχετίζονταν με τα αποτελέσματα των άλλων δύο μεθόδων που εφαρμόστηκαν. Τέλος ένα δείγμα από την Εύβοια είχε υψηλή αντιοξειδωτική δράση και με τις δύο μεθόδους και χαμηλό φαινολικό περιεχόμενο.

Η αντιοξειδωτική δράση, όπως εκτιμήθηκε με τη μέθοδο ABTS, για τα αιθανολικά εκχυλίσματα κυμάνθηκε από 5 έως 355 mg Trolox/g πρόπολης ανάλογα με την προέλευση. Όλα τα δείγματα από τη Λακωνία, τη Σκόπελο και την Κεφαλονιά είχαν υψηλή αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο ABTS, παρόλο που είχαν χαμηλό φαινολικό περιεχόμενο και χαμηλή αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο DPPH. Αυτό πιθανόν οφείλεται σε μη φαινολικά λιπόφιλα αντιοξειδωτικά που αντιδρούν μόνο με το ABTS⁺. Τέλος ένα δείγμα από την Ορεστιάδα ενώ έχει υψηλό φαινολικό περιεχόμενο και υψηλή αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο DPPH 136,48 mg Trolox/g πρόπολης, με τη μέθοδο ABTS παρουσιάζει αντιοξειδωτική δράση 63,17 mg Trolox/g πρόπολης, δηλαδή το μισό από ότι με τη μέθοδο DPPH.

Από το σύνολο των δειγμάτων (123) το 66% εμφάνισε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο ABTS, το 24% εμφάνισε μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο DPPH και ένα 10% περίπου των δειγμάτων είχε παρόμοια τιμή και με τις δύο μεθόδους. Αυτό πιθανώς συμβαίνει γιατί η μέθοδος ABTS είναι κατάλληλη για λιπόφιλα συστήματα, συνεπώς το ABTS⁺ αντιδρά και με λιπόφιλα αντιοξειδωτικά, με τα οποία δεν αντιδρά η ρίζα DPPH.

Υψηλή αντιοξειδωτική δράση και χαμηλό φαινολικό περιεχόμενο ορισμένων δειγμάτων εξηγείται με την ύπαρξη τερπενίων στην πρόπολη. Τα τερπένια μπορούν να έχουν αντιοξειδωτική δράση ανάλογα με τη δομή τους και με τη θέση του διπλού δεσμού, αλλά δεν μπορούν να εκτιμηθούν με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu. Συνεπώς δεν μπορούμε να έχουμε ακριβή εικόνα για την

αντιοξειδωτική δράση ενός δείγματος πρόπολης εκτιμώντας μόνο το φαινολικό της περιεχόμενο αλλά θα πρέπει να διερευνείται και η συμβολή των τερπενίων.

Τα ερωτήματα που γεννιούνται, πιθανόν να μπορούν να απαντηθούν με περαιτέρω έρευνα τόσο για την ταυτοποίηση των συστατικών των δειγμάτων όσο και για τον τρόπο που αντιδρούν τα συστατικά αυτά με τις μεθόδους που εφαρμόζονται για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης. Η πρόπολη αποτελεί ένα σύνθετο μείγμα ουσιών, γι αυτό άλλωστε είναι δύσκολο να εξακριβωθεί ο τρόπος με τον οποίο λειτουργούν τα συστατικά της.

Παρόλα αυτά οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν στη διατριβή αυτή, αποτελούν απλές μεθόδους για ένα γρήγορο έλεγχο της ποιότητας της πρόπολης που παράγεται από έναν παραγωγό. Με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu μπορούμε να έχουμε μια καλή και ακριβή εικόνα του φαινολικού περιεχομένου ενός δείγματος πρόπολης. Τα τελευταία χρόνια, οι φασματοφωτομετρικές μέθοδοι εφαρμόζονται και στην παραγωγή καλλυντικών (Aprivita) που περιέχουν πρόπολη με σκοπό να σταθεροποιήσουν τη σύσταση του τελικού προϊόντος ως προς το φαινολικό του περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική του δράση.

Βιβλιογραφία

Αγγλική

1. Amoros, M., F. Sauvager, L. Girre and M. Cormier 1992a. In vitro antiviral activity of propolis. *Apidologie* (23):231-240.
2. Amoros, M., C.M.O. Simões, L. Girre, F. Sauvager and M. Cormier 1992b. Synergistic effect of flavones and flavonols against Herpes Simplex virus Type1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. *Journal of Natural Products* (55):1732-1740.
3. Amoros, M., E. Lurton, J. Boustie, L. Girre, F. Sauvager and M. Cormier 1994. Comparison of the Anti-Herpes Simplex Virus Activities of Propolis and 3-Methyl-but-2-enyl Caffeate. *Journal of Natural Products* (57):644-647.
4. Arnao, M. B. 2000. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science & Technology* (11):419–421.
5. Awika, J. M., L. W. Rooney, X. Wu, R. L. Prior and L. Cisneros-Zevallos 2003. Screening Methods To Measure Antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (51):6657-6662.
6. Bankova, V., A. Dyulgerov, S. Popov, L. Evstatieva, L. Kuleva, O. Pureb and Z. Zamjansan 1992. Propolis produced in Bulgaria and Mongolia: phenolic compounds and plant origin. *Apidologie* (23):79-85.
7. Bankova, V., R. Christov and A. Tejera 1998. Lignans and other constituents of propolis from the Canary Islands. *Phytochemistry*, (49):1411-1415.
8. Bankova, V. 2005. Recent trends and important developments in propolis research. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2(1):29-32.
9. Bankova, V., S. L. De Castro and M. C. Marcucci 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* (31):3-15.
10. Banskota, A. H., Y. Tezuka and S. Kadota 2001. Recent Progress in Pharmacological Research of Propolis. *Phytotherapy Research* (15):561–571.
11. Biscaia, D. and R.S.S. Ferreira 2009. Propolis extracts obtained by low pressure methods and supercritical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*(51):17–23.
12. Byers, J. Catalog Phenomenex, 2009, <<http://www.chemicalecology.net/java/solvents.htm>>, (16/3/2010).
13. Caillas, A. 1978. Propolis. In: V. Harnaj (ed.) A remarkable hive product: Propolis. Scientific data and suggestions concerning its composition, properties and possible use in therapeutics. Apimondia, Bucharest 249pp.
14. Chen, C.-R. Y.N. Lee, C.M. J. Chang, M.R. Lee. and I.C. Wei 2007. Hot-pressurized fluid extraction of flavonoids and phenolic acids from

- Brazilian propolis and their cytotoxic assay in vitro. *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers* (38):191–196.
15. Cizmarik, J., M. Macicka and I. Matel 1978. Analysis and considerations on theories concerning production of propolis. In: V. Harnaj (ed.) *A remarkable hive product: Propolis. Scientific data and suggestions concerning its composition, properties and possible use in therapeutics.* Apimondia, Bucharest 249pp.
 16. Clement, H. (Ed.) 2002. *Le traite rustica de l' apiculture.* Editions Rustica, Paris, p:40-50, 373-374, 389-417.
 17. Debiaggi, M., F. Tateo, L. Pagani, M. Luini and E. Romero 1990. Effects of propolis flavonoids on virus infectivity and replication. *Microbiologica* (13):207-213.
 18. De Clercq, E. 2000. Current lead natural products for the chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Medicinal Research Reviews* (20):323-349.
 19. Graham, J. M. 1992. *The hive and the honey bee.* Dadant & Sons, Hamilton, Illinois p:943-952.
 20. Geckil, H. B. Ates, G. Durmaz, S. Erdogan and I. Yilmaz 2005. Antioxidant, Free Radical Scavenging and Metal Chelating Characteristics of Propolis. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 1 (1):27-31.
 21. Huang, D., B. Ou and R. L. Prior 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (53):1841-1856.
 22. Jang, M.J. S.R. Sheu, C.C. Wang, Y. L. Yeh and K.H. Sung 2009. Optimization Analysis of the Experimental Parameters on the Extraction Process of Propolis. *Proceedings of the International Multi Conference of Engineers and Computer Scientists 2009 Vol II.*
 23. Jasprica, I. M. Bojic , A. Mornar , E. Besic , K. Bucan and M. Medic-Saric 2007. Evaluation of Antioxidative Activity of Croatian Propolis Samples Using DPPH[·] and ABTS^{·+} Stable Free Radical Assays. *Molecules* (12):1006-1021.
 24. Jongjitvimol, T. and W. Wattanachaiyingcharoen 2007. Distribution, Nesting Sites and Nest Structures of the Stingless Bee Species, *Trigona collina* Smith, 1857 (Apidae, Meliponinae) in Thailand. *The Natural History Journal of Chulalongkorn University* 7 (1):25-34.
 25. Kedzia, B., B. Geppert and J. Iwaszkiewicz 1990. Pharmacological investigations of ethanolic extract of propolis. *Phytothérapie* (6):7–10.
 26. Kujungiev, A., I. Tsvetkova, Y. Serkedjieva, V. Bankova, R. Christov and S. Popov 1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology* (64):235–240.
 27. Makashvili, Z. A. 1978. From the history of propolis. In: V. Harnaj (ed.) *A remarkable hive product: Propolis. Scientific data and suggestions concerning its composition, properties and possible use in therapeutics.* Apimondia, Bucharest 249pp.
 28. Marcucci, M.C. 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* (26):83-99.

29. Melliou, E., E. Stratis and I. Chinou 2007. Volatile constituents of propolis from various regions of Greece – Antimicrobial activity. *Food Chemistry* (103):375–380.
30. Miguel, M. G., S. Nunes, S. A. Dandlen, A. M. Cavaco and M. D. Antunes 2010. Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal. *Food and Chemical Toxicology* (48):3418–3423.
31. Orsi, R.O., A. Fernandes, V. Bankova and J.M. Sforcin 2012. The effects of Brazilian and Bulgarian propolis in vitro against *Salmonella Typhi* and their synergism with antibiotics acting on the ribosome. *Natural Product Research* (26):430-437.
32. Peres de Moura Pontara, L., R. H. Nogueira Couto, V. Bett, M.R. Nanni, S. L. Franco, F. Do Lago Ramos and R. Alvarez 2003. Performance of Africanized workers bees *Apis mellifera* hives and propolis productivity total and by parts of the box, evaluated by four techniques of production in the four seasons of the year. <http://www.apimondia.com/apiacta/slovenia/en/peres_de_moura_pontara.pdf> Apimondia Journal.
33. Popova, M. P., I. Chinou, I. Marekov and V. Bankova 2009. Terpenes with antimicrobial activity from Cretan propolis. *Phytochemistry* (70):1262–1271.
34. Popova, M. P., K. Graikou, I. Chinou and V. Bankova 2010. GC-MS Profiling of Diterpene Compounds in Mediterranean Propolis from Greece. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* (58):3167–3176.
35. Sahinler, N. and A. Gul 2005. The Effects of Propolis Production Methods and Honeybee Genotypes on Propolis Yield, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, p:1212-1214.
36. Serkedjieva, J., N. Manolova and V. Bankova 1992. Antiinfluenza virus effect of some propolis constituents and their analogues (esters of substituted cinnamic acids). *Journal of Natural Products* (55):294-297.
37. Sforcin, J.M., A. J. Fernandes, C.A.M. Lopes, V. Bankova and S.R.C. Funari 2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* (73):243–249.
38. Teixeira, E. W., D. Message, G. Negri, A. Salatino and P. C. Stringheta 2010. Seasonal Variation, Chemical Composition and Antioxidant activity of Brazilian Propolis Samples. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 7 (3):307–315.
39. Trusheva, B., D. Trunkova and V. Bankova 2007. Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. *Chemistry Central Journal* (1):13.

Ελληνική

1. Θρασυβούλου, Α. και Α. Αδαμούδη 2005. Προϊόντα κυψέλης. Παραγωγή, χημική σύσταση και χρήσεις της πρόπολης των μελισσών. <<http://www.melinet.gr/>>, (13/02/2011).

2. Πέτσιος, Δ. 2003. Ανάλυση πολυφαινολών και εκτίμηση αντιοξειδωτικής δράσης της Μαστίχας Χίου. Πτυχιακή διατριβή, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, Αθήνα.
3. Roch, D. 2008. Πρόπολη και καρκίνος. Μελίαμα (8):35-37.
4. Τανανάκη Χ. 2010. Συλλογή πρόπολης. Μελισσοκομική επιθεώρηση (2):89-91.
5. Τρουλλίδου, Ε. 2007. Πρόπολη: Χαρακτηρισμός εκχυλισμάτων της και αξιολόγηση ενθυλακωμένων μορφών της σε βιοπολυμερή, με έμφαση στις αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητές της και την απελευθέρωσή της. Μεταπτυχιακή διατριβή, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, Αθήνα.
6. Χαριζάνης, Π. Χ. 1996. Μέλισσα και Μελισσοκομική Τεχνική. Μελισσοκομική Επιθεώρηση, Θεσσαλονίκη, σελ. 210-212.
7. Χαριζάνης, Π. Χ. 1992. Η πρόπολη και πως την προετοιμάζουμε για προσωπική χρήση. Μελισσοκομική επιθεώρηση (6):101-104.
8. Χαριζάνης, Π. Χ. 2011. Συμπληρωματικές σημειώσεις Στατιστικά Στοιχεία Μελισσοκομίας – Σηροτροφίας. Αθήνα, σελ:1-6.
9. Χαριζάνης, Π. Χ. 2010. Εργαστηριακές ασκήσεις Παθολογίας παραγωγικών εντόμων. Αθήνα, σελ:17-30.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

1. Μετρήσεις των δειγμάτων του Ν. Αρκαδίας

Πίνακας 1: Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων του Ν. Αρκαδίας με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

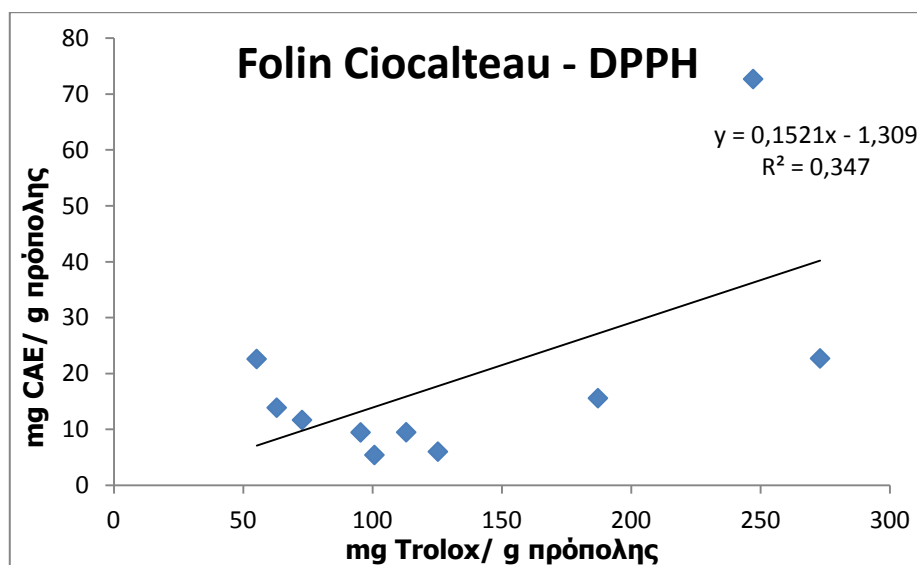
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
A1.1	1:2	0,529	0,549	0,540	0,539	22,7
A1.2	-	0,262	0,267	0,261	0,263	5,4
A1.3	-	0,288	0,294	0,292	0,291	6,0
A1.4	1:4	0,845	0,845	0,881	0,857	72,7
A1.5	1:2	0,358	0,389	0,374	0,374	15,6
K1.1	1:2	0,238	0,224	0,233	0,232	9,5
K1.2	1:2	0,338	0,306	0,358	0,334	13,9
K1.3	1:2	0,225	0,239	0,229	0,231	9,5
K1.4	1:2	0,541	0,548	0,522	0,537	22,6
K1.5	1:2	0,285	0,286	0,277	0,283	11,7

Πίνακας 2: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Αρκαδίας με τη μέθοδο DPPH.

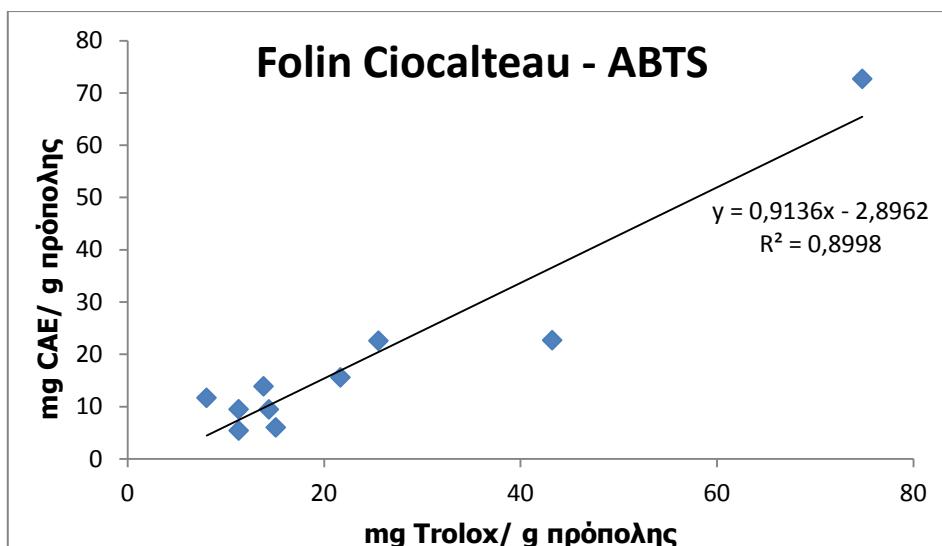
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
A1.1	1:2	0,294	0,296	0,295	0,295	273,0
A1.2	-	0,497	0,505	0,495	0,499	100,8
A1.3	-	0,479	0,468	0,458	0,468	125,3
A1.4	1:4	0,306	0,318	0,324	0,316	247,2
A1.5	1:2	0,390	0,389	0,394	0,391	187,2
K1.1	-	0,513	0,504	0,492	0,503	113,1
K1.2	1:2	0,510	0,501	0,507	0,506	63,0
K1.3	1:2	0,478	0,462	0,480	0,473	95,4
K1.4	1:4	0,524	0,514	0,523	0,520	55,3
K1.5	-	0,549	0,558	0,559	0,555	72,8

Πίνακας 3: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Αρκαδίας με τη μέθοδο ABTS.

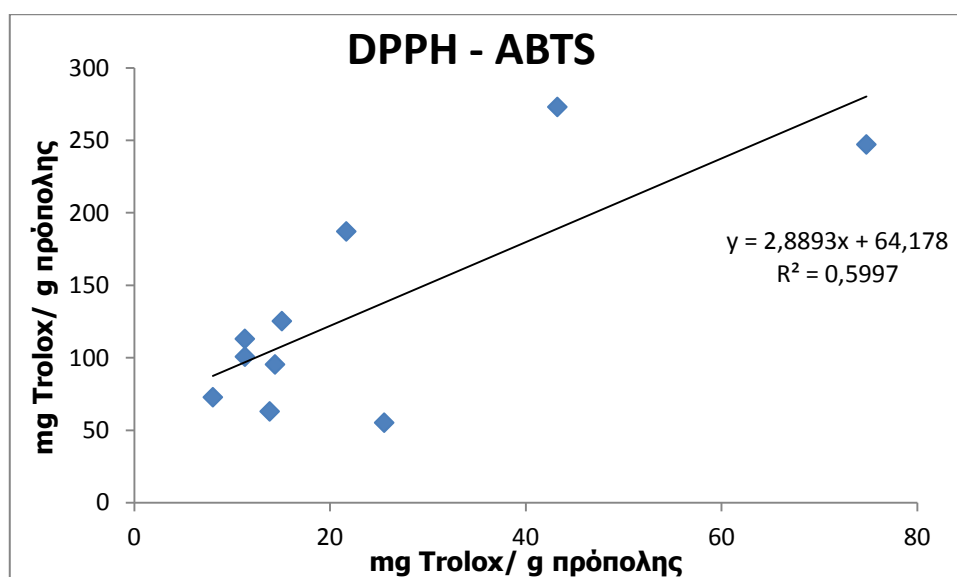
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/ g πρόπολης
A1.1	1:10	0,472	0,450	0,431	0,451	43,2
A1.2	1:4	0,523	0,527	0,531	0,527	11,3
A1.3	1:4	0,489	0,479	0,469	0,479	15,1
A1.4	1:20	0,476	0,478	0,488	0,481	74,8
A1.5	1:10	0,557	0,560	0,565	0,561	21,7
K1.1	1:4	0,539	0,518	0,543	0,533	11,3
K1.2	1:4	0,516	0,496	0,49	0,501	13,8
K1.3	1:4	0,489	0,479	0,513	0,494	14,4
K1.4	1:10	0,528	0,562	0,552	0,547	25,5
K1.5	1:4	0,591	0,546	0,589	0,575	8,0



Εικόνα 1: Συσχέτιση των μεθόδων Folin - Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 2: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 3: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

2. Μετρήσεις των δειγμάτων του Ν. Λακωνίας

Πίνακας 4: Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων του Ν. Λακωνίας με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

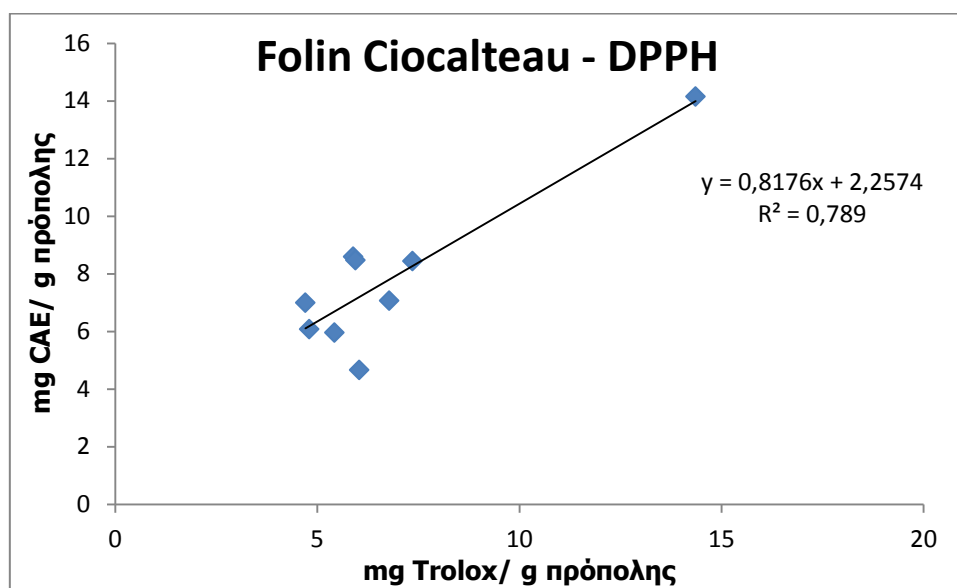
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
A2.1	-	0,411	0,425	0,396	0,411	8,6
A2.2	-	0,413	0,429	0,373	0,405	8,5
A2.3	-	0,308	0,280	0,276	0,288	6,0
K2.1	1:2	0,120	0,128	0,109	0,119	4,7
K2.2	1:2	0,170	0,176	0,179	0,175	7,1
K2.3	1:2	0,196	0,218	0,207	0,207	8,4
K2.4	1:2	0,333	0,343	0,344	0,340	14,2
K2.5	1:2	0,173	0,181	0,166	0,173	7,0
K2.6	1:2	0,144	0,162	0,150	0,152	6,1

Πίνακας 5: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Λακωνίας με τη μέθοδο DPPH.

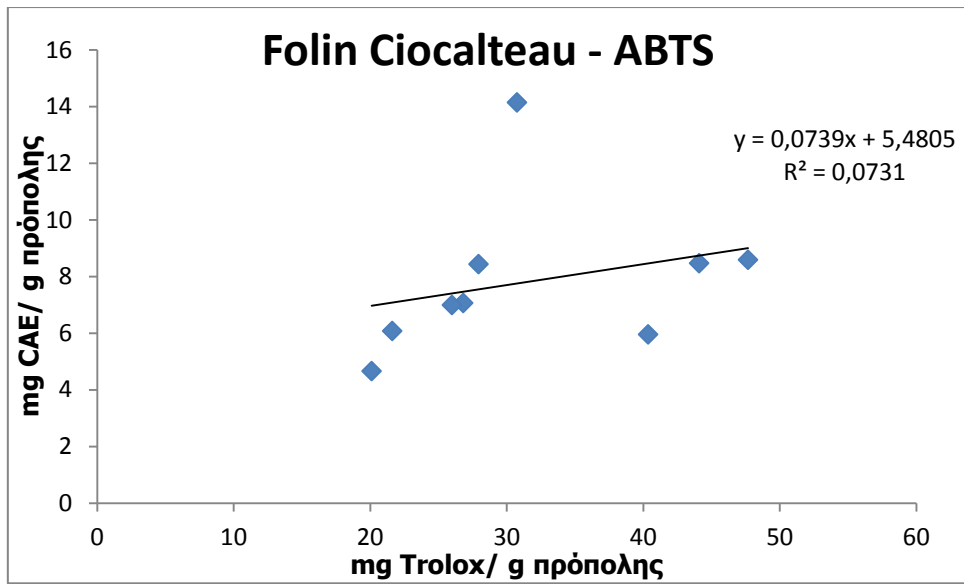
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
A2.1	-	0,466	0,442	0,432	0,447	5,9
A2.2	-	0,434	0,464	0,437	0,445	5,9
A2.3	-	0,460	0,467	0,455	0,461	5,4
K2.1	1:2	0,569	0,570	0,576	0,572	6,0
K2.2	1:2	0,556	0,567	0,556	0,560	6,8
K2.3	1:2	0,551	0,550	0,550	0,550	7,4
K2.4	1:2	0,337	0,398	0,398	0,378	14,4
K2.5	1:2	0,493	0,509	0,536	0,513	4,7
K2.6	-	0,500	0,520	0,476	0,499	4,8

Πίνακας 6: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Λακωνίας με τη μέθοδο ABTS.

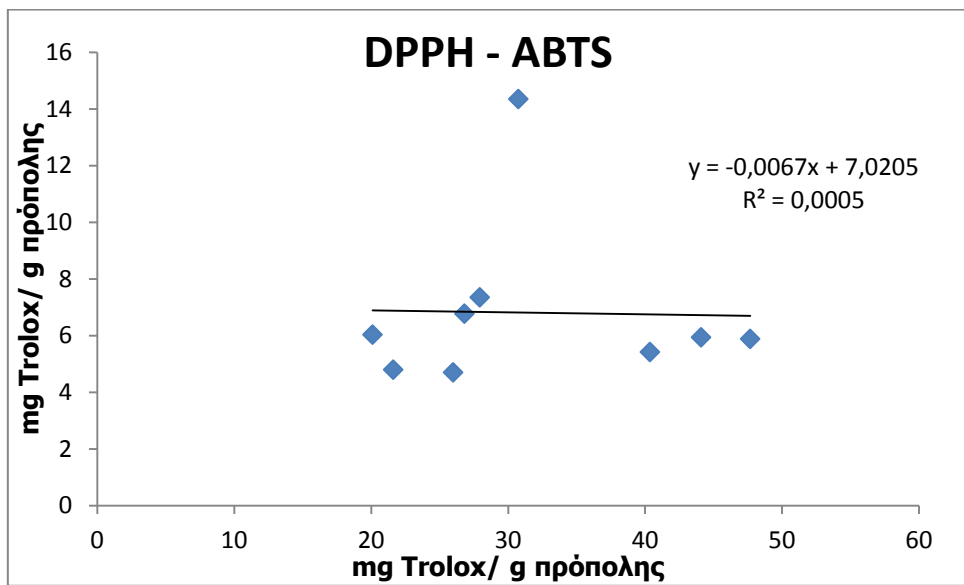
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/ g πρόπολης
A2.1	1:10	0,401	0,434	0,452	0,429	47,7
A2.2	1:10	0,458	0,444	0,44	0,447	44,1
A2.3	1:10	0,479	0,462	0,458	0,466	40,4
K2.1	1:4	0,408	0,408	0,406	0,407	20,1
K2.2	1:4	0,338	0,308	0,325	0,324	26,8
K2.3	1:4	0,309	0,337	0,283	0,310	27,9
K2.4	1:4	0,266	0,298	0,267	0,277	30,8
K2.5	1:4	0,345	0,311	0,355	0,337	26,0
K2.6	1:4	0,389	0,410	0,377	0,392	21,6



Εικόνα 4: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 5: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 6: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

3. Μετρήσεις των δειγμάτων του Ν. Χανίων

Πίνακας 7: Προσδιορισμός συνολικού φαιολικού περιεχομένου των δειγμάτων του Ν. Χανίων με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

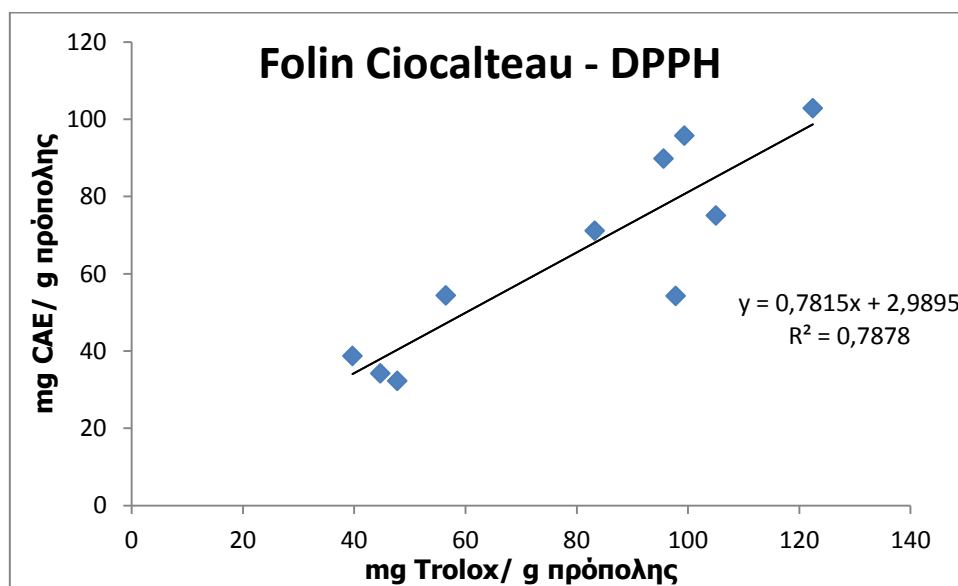
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
K3.1	1:2	0,768	0,736	0,785	0,763	32,3
K3.2	1:10	0,368	0,357	0,356	0,360	75,1
K3.3	1:10	0,162	0,182	0,166	0,170	34,3
K3.4	1:10	0,337	0,354	0,335	0,342	71,2
K3.5	1:10	0,188	0,196	0,189	0,191	38,8
Φ3.1	1:10	0,412	0,440	0,435	0,429	89,9
Φ3.2	1:10	0,482	0,510	0,477	0,490	102,9
Φ3.3	1:10	0,262	0,263	0,267	0,264	54,4
Φ3.4	1:10	0,271	0,267	0,252	0,263	54,3
Φ3.5	1:10	0,461	0,471	0,438	0,457	95,8

Πίνακας 8: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Χανίων με τη μέθοδο DPPH.

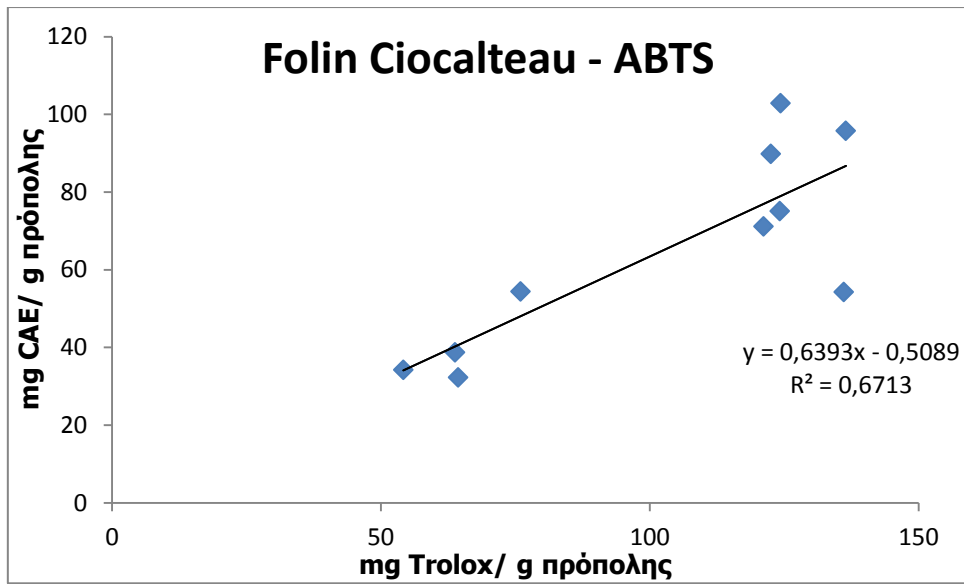
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
K3.1	1:10	0,482	0,474	0,487	0,481	47,8
K3.2	1:10	0,305	0,316	0,304	0,308	105,0
K3.3	1:10	0,482	0,501	0,49	0,491	44,7
K3.4	1:10	0,390	0,378	0,353	0,374	83,3
K3.5	1:10	0,503	0,504	0,509	0,505	39,7
Φ3.1	1:10	0,38	0,356	0,392	0,376	95,6
Φ3.2	1:20	0,485	0,496	0,496	0,492	122,4
Φ3.3	1:10	0,500	0,510	0,515	0,508	56,5
Φ3.4	1:10	0,382	0,373	0,351	0,369	97,8
Φ3.5	1:20	0,529	0,540	0,525	0,531	99,4

Πίνακας 9: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Χανίων με τη μέθοδο ABTS.

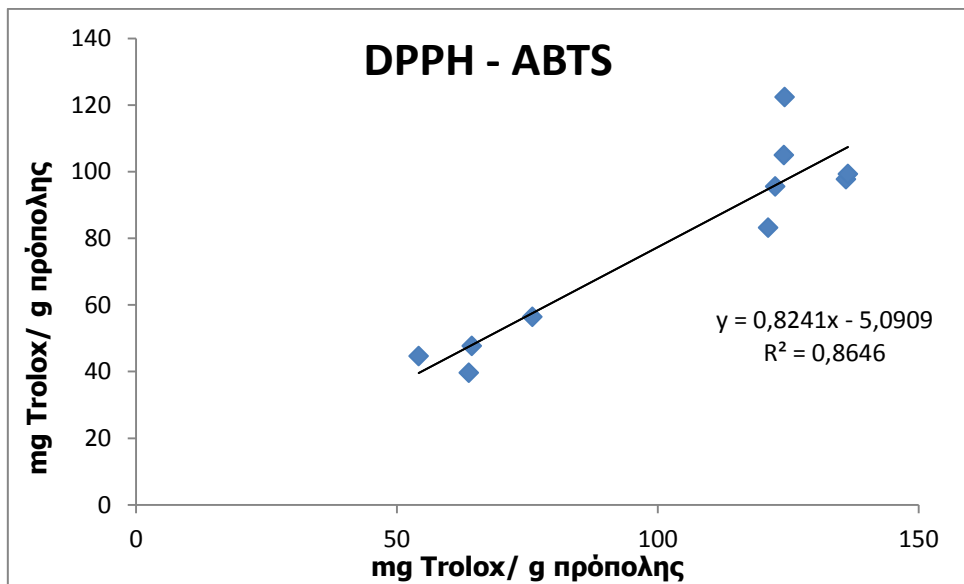
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/ g πρόπολης
K3.1	1:20	0,508	0,496	0,520	0,508	64,4
K3.2	1:20	0,397	0,335	0,335	0,356	124,2
K3.3	1:10	0,377	0,405	0,406	0,396	54,2
K3.4	1:20	0,367	0,376	0,347	0,363	121,2
K3.5	1:10	0,359	0,341	0,341	0,347	63,8
Φ3.1	1:20	0,357	0,374	0,374	0,368	122,5
Φ3.2	1:20	0,355	0,338	0,398	0,364	124,3
Φ3.3	1:20	0,491	0,489	0,489	0,490	76,0
Φ3.4	1:20	0,348	0,307	0,344	0,333	136,1
Φ3.5	1:20	0,34	0,329	0,327	0,332	136,5



Εικόνα 7: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 8: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 9: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

4. Μετρήσεις των δειγμάτων της Νήσου Χίου

Πίνακας 10: Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων της Νήσου Χίου με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

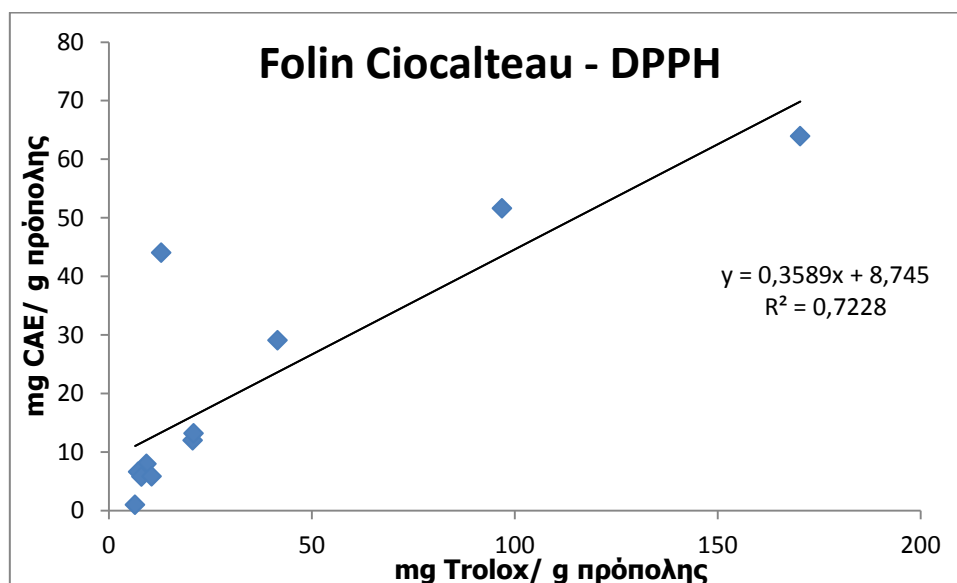
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
A4.1	1:10	0,307	0,300	0,318	0,308	64,0
A4.2	1:10	0,245	0,248	0,260	0,251	51,6
A4.3	-	0,379	0,390	0,382	0,384	8,0
A4.4	-	0,558	0,565	0,589	0,571	12,0
A4.5	-	0,630	0,640	0,609	0,626	13,2
A4.6	1:2	0,167	0,163	0,166	0,165	6,7
K4.1	1:10	0,212	0,225	0,210	0,216	44,1
K4.2	-	0,057	0,062	0,055	0,058	1,0
K4.3	1:2	0,144	0,152	0,143	0,146	5,8
K4.4	1:10	0,146	0,138	0,154	0,146	29,1
K4.5	1:2	0,147	0,149	0,146	0,147	5,9

Πίνακας 11: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Χίου με τη μέθοδο DPPH.

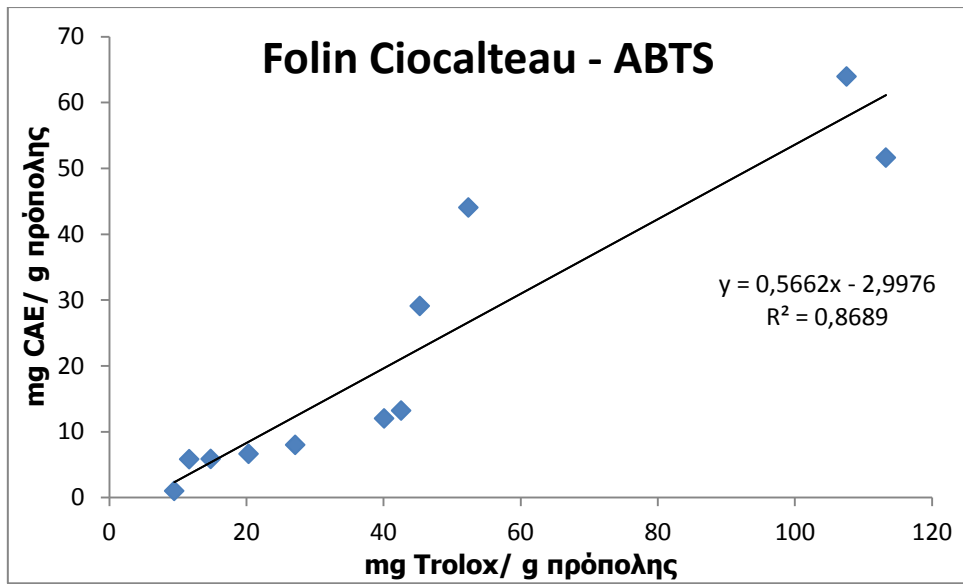
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
A4.1	1:20	0,382	0,379	0,385	0,382	170,3
A4.2	1:20	0,467	0,480	0,476	0,474	96,9
A4.3	1:2	0,370	0,348	0,358	0,359	9,3
A4.4	1:4	0,340	0,319	0,317	0,325	20,6
A4.5	1:4	0,316	0,314	0,304	0,311	20,9
A4.6	1:2	0,429	0,421	0,419	0,423	7,2
K4.1	1:2	0,445	0,445	0,451	0,447	12,9
K4.2	-	0,429	0,461	0,391	0,427	6,4
K4.3	1:2	0,469	0,475	0,469	0,471	8,0
K4.4	1:10	0,472	0,467	0,462	0,467	41,6
K4.5	1:2	0,419	0,440	0,448	0,436	10,5

Πίνακας 12: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Χίου με τη μέθοδο ABTS.

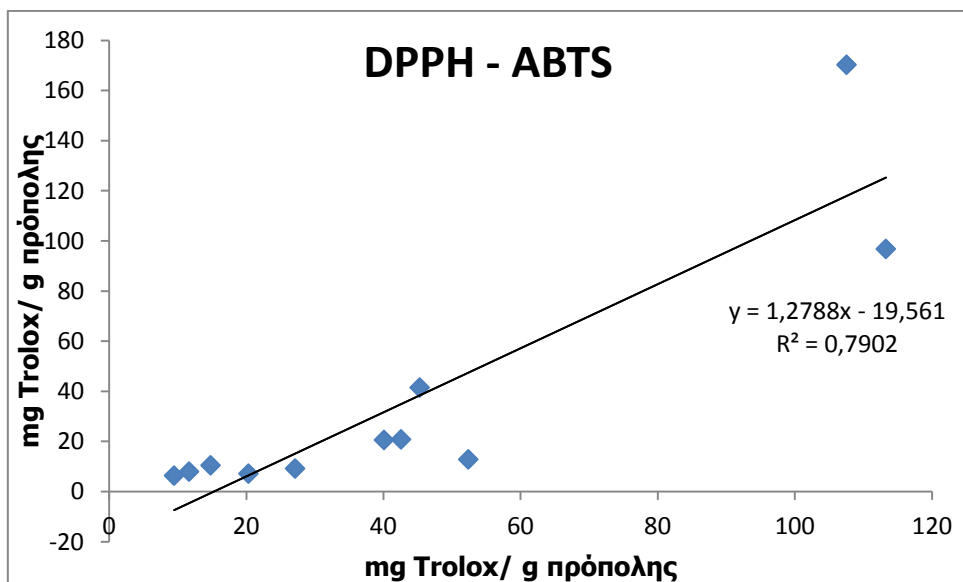
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/ g πρόπολης
A4.1	1:20	0,396	0,403	0,395	0,398	107,6
A4.2	1:20	0,346	0,385	0,419	0,383	113,3
A4.3	1:10	0,548	0,529	0,524	0,534	27,1
A4.4	1:10	0,425	0,491	0,487	0,468	40,1
A4.5	1:10	0,461	0,465	0,439	0,455	42,6
A4.6	1:10	0,566	0,566	0,573	0,568	20,3
K4.1	1:20	0,536	0,552	0,544	0,544	52,4
K4.2	1:4	0,542	0,549	0,543	0,545	9,5
K4.3	1:4	0,531	0,531	0,524	0,529	11,7
K4.4	1:10	0,451	0,448	0,438	0,446	45,3
K4.5	1:4	0,487	0,492	0,486	0,488	14,8



Εικόνα 10: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 11: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 12: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

5. Μετρήσεις των δειγμάτων της Νήσου Σκοπέλου

Πίνακας 13: Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων της Νήσου Σκοπέλου με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

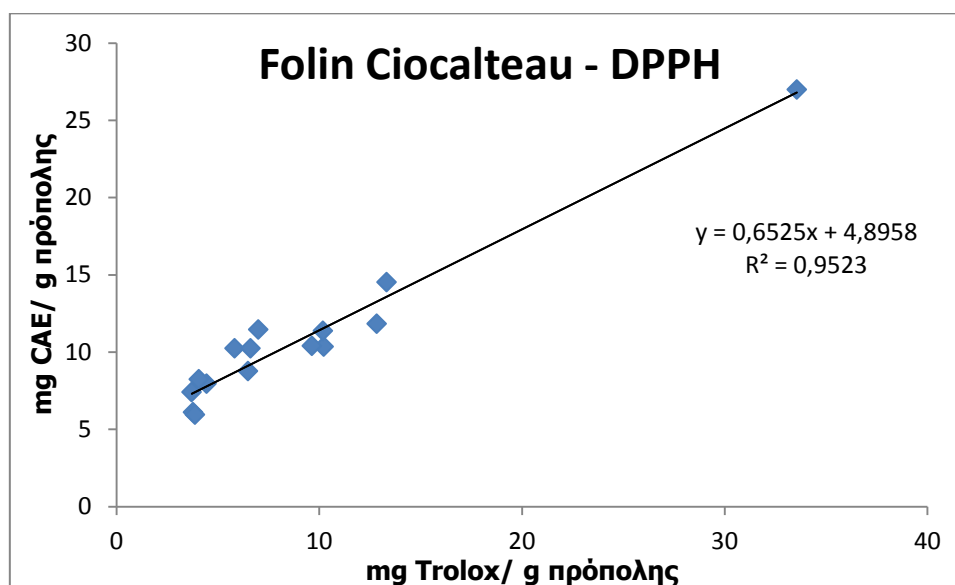
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
K5.1	1:2	0,245	0,198	0,201	0,215	8,8
K5.2	1:2	0,344	0,364	0,338	0,349	14,5
K5.3	1:2	0,278	0,301	0,253	0,277	11,5
K5.4	1:2	0,245	0,267	0,235	0,249	10,2
K5.5	1:2	0,160	0,135	0,163	0,153	6,1
Φ5.1	1:2	0,256	0,235	0,256	0,249	10,2
Φ5.2	1:2	0,185	0,184	0,180	0,183	7,4
Φ5.3	1:2	0,192	0,195	0,200	0,196	8,0
Φ5.4	1:2	0,200	0,210	0,197	0,202	8,2
Φ5.5	1:2	0,145	0,152	0,150	0,149	6,0
Φ2.5.1	1:2	0,637	0,627	0,653	0,639	27,0
Φ2.5.2	-	0,476	0,512	0,490	0,493	10,4
Φ2.5.3	-	0,536	0,542	0,543	0,540	11,4
Φ2.5.4	-	0,498	0,549	0,438	0,495	10,4
Φ2.5.5	-	0,515	0,625	0,545	0,562	11,8

Πίνακας 14: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Σκοπέλου με τη μέθοδο DPPH.

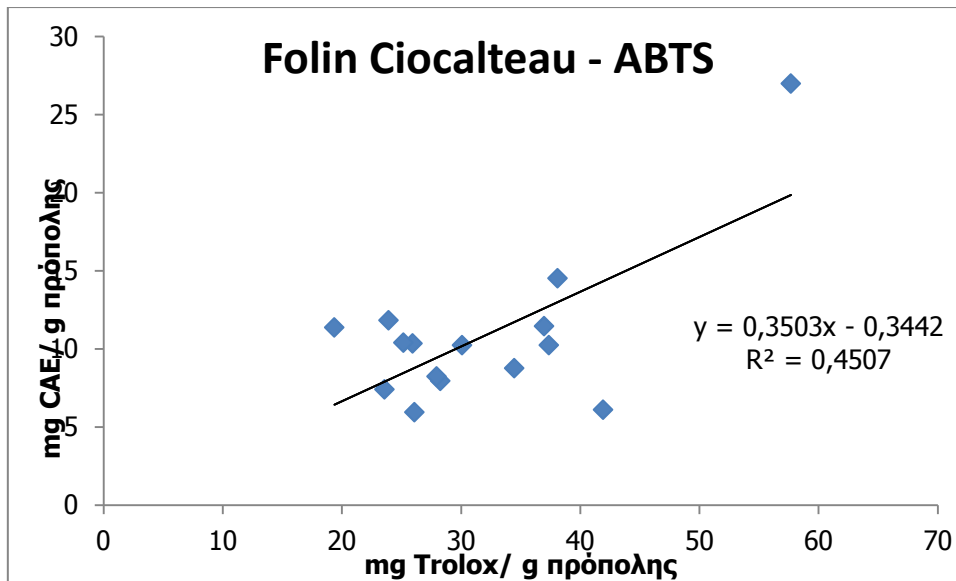
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
K5.1	1:2	0,529	0,530	0,523	0,527	6,5
K5.2	1:2	0,422	0,430	0,420	0,424	13,3
K5.3	1:2	0,514	0,535	0,510	0,520	7,0
K5.4	1:2	0,537	0,539	0,536	0,537	5,8
K5.5	1:2	0,569	0,567	0,569	0,568	3,8
Φ5.1	1:2	0,469	0,501	0,488	0,486	6,6
Φ5.2	1:2	0,528	0,518	0,534	0,527	3,7
Φ5.3	1:2	0,521	0,513	0,515	0,516	4,4
Φ5.4	1:2	0,519	0,527	0,519	0,522	4,1
Φ5.5	1:2	0,519	0,525	0,529	0,524	3,9
Φ2.5.1	1:4	0,388	0,414	0,420	0,407	33,6
Φ2.5.2	1:2	0,519	0,512	0,517	0,516	10,2
Φ2.5.3	1:2	0,529	0,513	0,508	0,517	10,2
Φ2.5.4	1:2	0,526	0,518	0,533	0,526	9,6
Φ2.5.5	1:2	0,477	0,473	0,468	0,473	12,8

Πίνακας 4.15: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Σκοπέλου με τη μέθοδο ABTS.

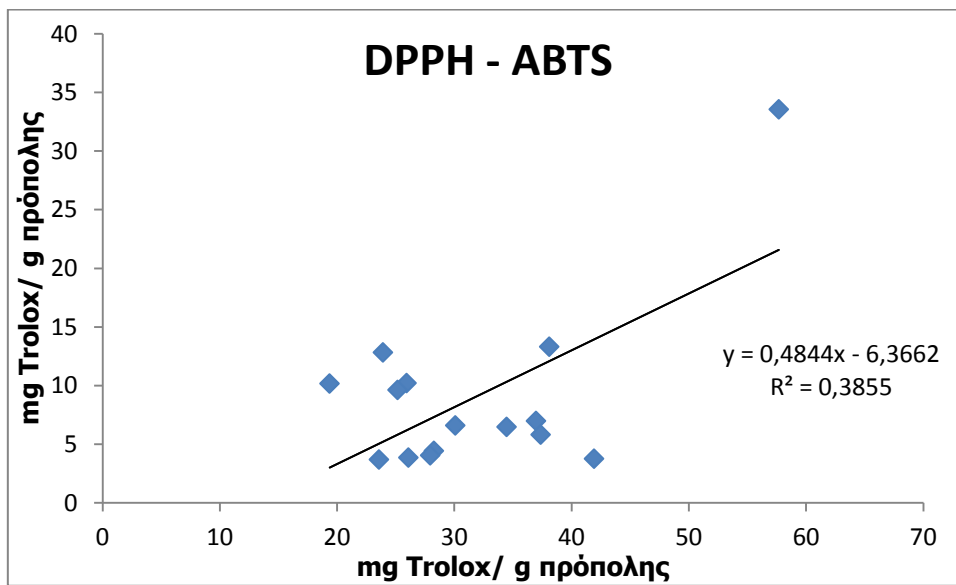
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/ g πρόπολης
K5.1	1:10	0,483	0,495	0,500	0,493	34,5
K5.2	1:10	0,460	0,478	0,485	0,474	38,1
K5.3	1:10	0,469	0,496	0,475	0,480	37,0
K5.4	1:10	0,489	0,472	0,473	0,478	37,4
K5.5	1:10	0,455	0,429	0,481	0,455	41,9
Φ5.1	1:4	0,292	0,307	0,257	0,285	30,1
Φ5.2	1:4	0,385	0,376	0,341	0,367	23,6
Φ5.3	1:4	0,303	0,299	0,323	0,308	28,3
Φ5.4	1:4	0,333	0,304	0,300	0,312	27,9
Φ5.5	1:4	0,358	0,317	0,332	0,336	26,1
Φ2.5.1	1:10	0,346	0,391	0,384	0,374	57,7
Φ2.5.2	1:4	0,348	0,327	0,338	0,338	25,9
Φ2.5.3	1:4	0,448	0,422	0,391	0,420	19,4
Φ2.5.4	1:4	0,357	0,358	0,327	0,347	25,2
Φ2.5.5	1:4	0,393	0,336	0,36	0,363	23,9



Εικόνα 13: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 14: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 45: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

6. Μετρήσεις των δειγμάτων του Ν. Βοιωτίας

Πίνακας 16: Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων του Ν. Βοιωτίας με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

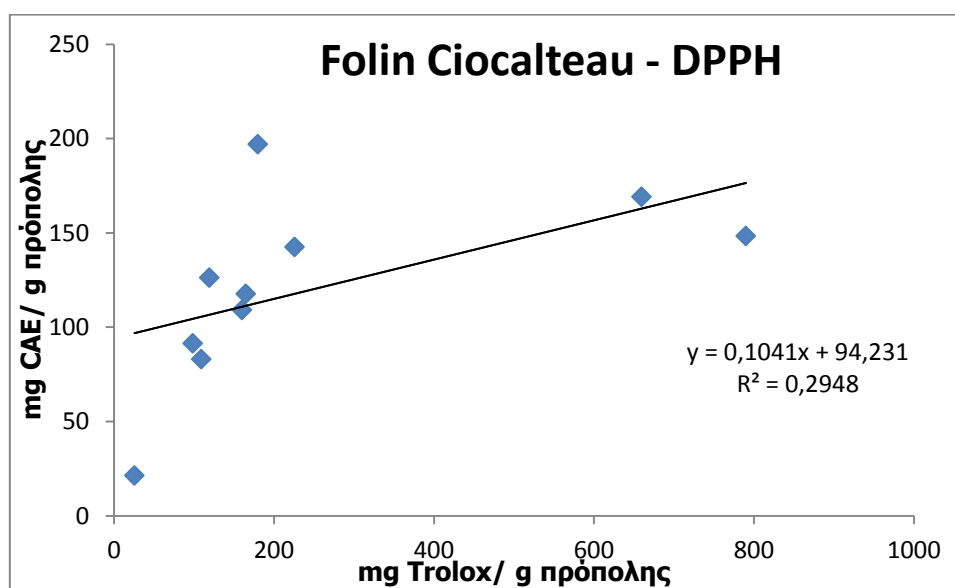
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
K6.1	1:10	0,800	0,801	0,794	0,798	169,1
K6.2	1:10	0,680	0,658	0,685	0,674	142,5
K6.3	1:10	0,111	0,105	0,114	0,110	21,4
K6.4	1:10	0,529	0,513	0,514	0,519	109,1
K6.5	1:10	0,758	0,740	0,607	0,702	148,4
Φ 6.1	1:10	0,388	0,385	0,419	0,397	83,1
Φ 6.2	1:10	0,549	0,58	0,547	0,559	117,7
Φ 6.3	1:10	0,431	0,443	0,435	0,436	91,4
Φ 6.4	1:10	0,949	0,915	0,920	0,928	197,0
Φ 6.5	1:10	0,608	0,574	0,614	0,599	126,3

Πίνακας 17: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Βοιωτίας με τη μέθοδο DPPH.

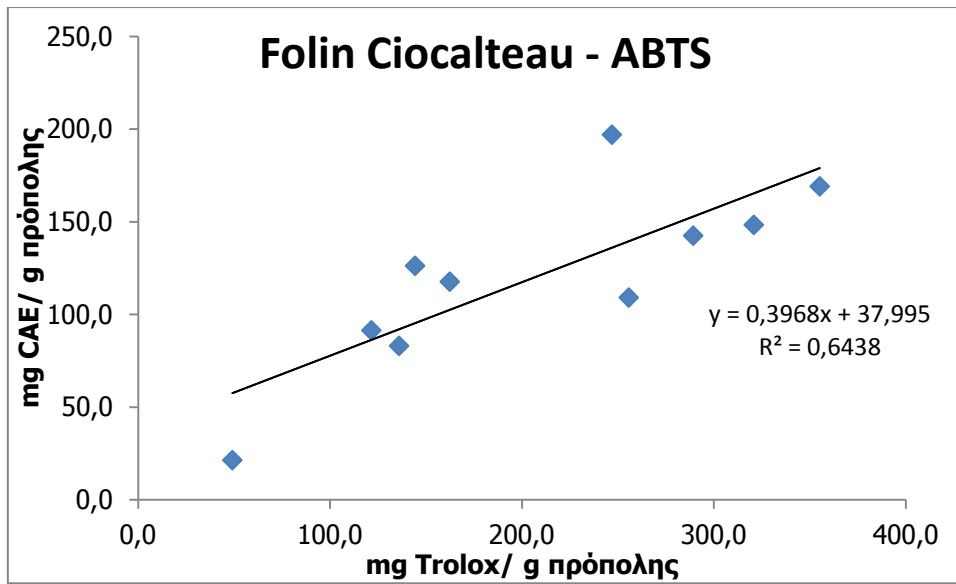
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
K6.1	1:100	0,432	0,432	0,420	0,428	659,5
K6.2	1:20	0,285	0,277	0,323	0,295	225,7
K6.3	1:10	0,552	0,539	0,557	0,549	25,4
K6.4	1:20	0,397	0,402	0,396	0,398	159,9
K6.5	1:100	0,396	0,394	0,375	0,388	789,9
Φ 6.1	1:10	0,287	0,277	0,265	0,276	109,0
Φ 6.2	1:20	0,344	0,360	0,351	0,352	164,7
Φ 6.3	1:10	0,357	0,356	0,365	0,359	98,4
Φ 6.4	1:20	0,371	0,377	0,354	0,367	179,7
Φ 6.5	1:10	0,302	0,283	0,287	0,291	119,1

Πίνακας 18: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Βοιωτίας με τη μέθοδο ABTS.

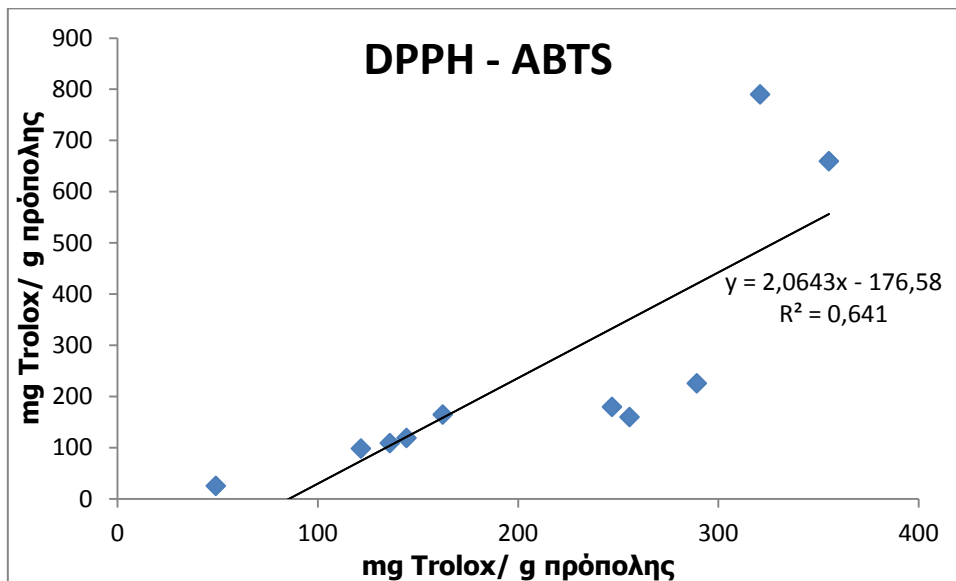
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/ g πρόπολης
K6.1	1:100	0,485	0,488	0,489	0,487	355,2
K6.2	1:100	0,519	0,523	0,520	0,521	289,3
K6.3	1:20	0,543	0,531	0,554	0,543	49,2
K6.4	1:100	0,543	0,539	0,531	0,538	255,7
K6.5	1:100	0,509	0,502	0,503	0,505	320,9
Φ 6.1	1:20	0,330	0,330	0,322	0,327	136,0
Φ 6.2	1:20	0,286	0,237	0,256	0,260	162,5
Φ 6.3	1:20	0,378	0,349	0,366	0,364	121,6
Φ 6.4	1:100	0,560	0,544	0,544	0,549	247,0
Φ 6.5	1:20	0,312	0,314	0,292	0,306	144,4



Εικόνα 16: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 17: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 18: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

7. Μετρήσεις των δειγμάτων του Ν. Αττικής

Πίνακας 19: Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων του Γ.Π.Α. με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

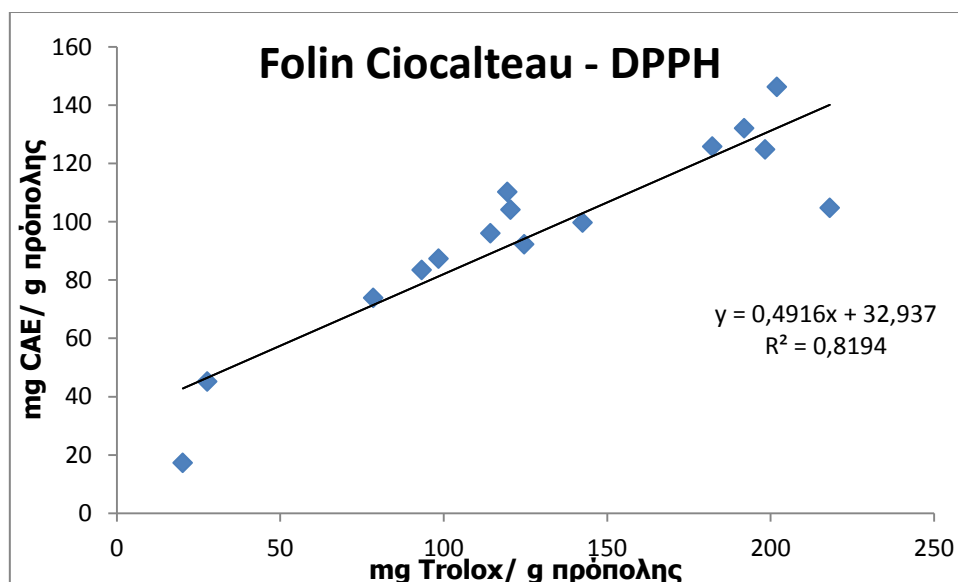
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
X7.1	1:10	0,356	0,356	0,352	0,355	73,9
X7.2	1:2	0,415	0,425	0,400	0,413	17,3
X7.3	1:10	0,473	0,536	0,487	0,499	104,8
X7.4	1:10	0,180	0,192	0,291	0,221	45,2
K7.1	1:10	0,401	0,397	0,400	0,399	83,5
K7.2	1:10	0,511	0,541	0,520	0,524	110,3
K7.3	1:10	0,605	0,590	0,581	0,592	124,9
K7.4	1:10	0,617	0,626	0,635	0,626	132,1
K7.5	1:10	0,452	0,450	0,472	0,458	96,1
Φ 7.1	1:10	0,429	0,446	0,446	0,440	92,3
Φ 7.2	1:10	0,480	0,460	0,485	0,475	99,8
Φ 7.3	1:10	0,676	0,717	0,683	0,692	146,3
Φ 7.4	1:10	0,602	0,605	0,583	0,597	125,8
Φ 7.5	1:10	0,419	0,412	0,421	0,417	87,4
Φ 2.7.1	1:10	0,496	0,487	0,504	0,496	104,2

Πίνακας 20 : Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Γ.Π.Α. με τη μέθοδο DPPH.

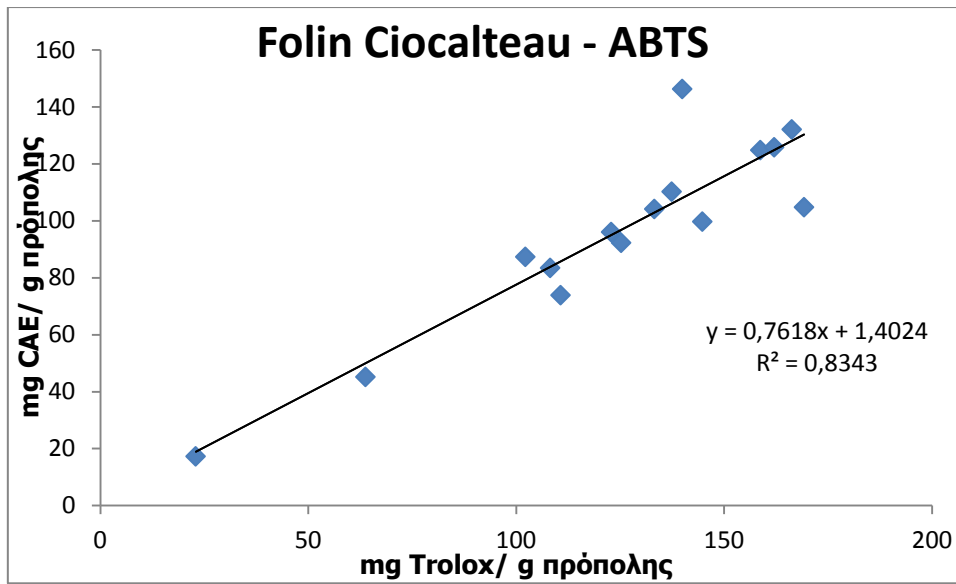
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
X7.1	1:10	0,463	0,427	0,440	0,443	78,5
X7.2	1:2	0,370	0,341	0,342	0,351	20,2
X7.3	1:20	0,294	0,313	0,284	0,297	218,1
X7.4	1:10	0,630	0,605	0,621	0,619	27,7
K7.1	1:10	0,400	0,383	0,362	0,382	93,3
K7.2	1:10	0,311	0,297	0,273	0,294	119,5
K7.3	1:20	0,343	0,338	0,333	0,338	198,4
K7.4	1:20	0,356	0,333	0,355	0,348	192,0
K7.5	1:10	0,301	0,311	0,321	0,311	114,3
Φ 7.1	1:10	0,285	0,257	0,275	0,272	124,7
Φ 7.2	1:20	0,417	0,418	0,442	0,426	142,5
Φ 7.3	1:20	0,316	0,345	0,336	0,332	202,0
Φ 7.4	1:20	0,380	0,360	0,350	0,363	182,2
Φ 7.5	1:10	0,384	0,380	0,359	0,374	98,5
Φ 2.7.1	1:20	0,496	0,487	0,504	0,496	120,5

Πίνακας 21: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Γ.Π.Α. με τη μέθοδο ABTS.

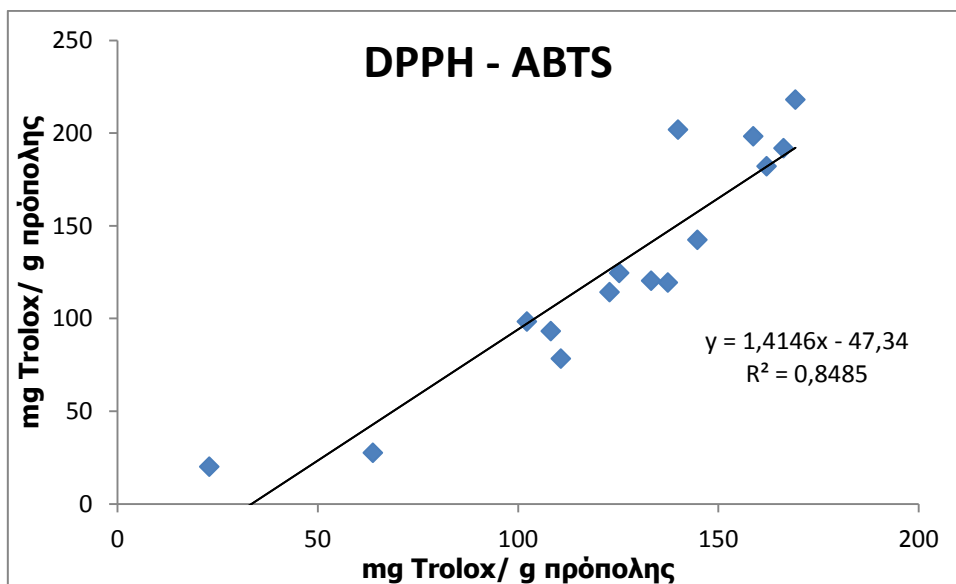
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/ g πρόπολης
X7.1	1:20	0,408	0,388	0,386	0,394	110,7
X7.2	1:4	0,396	0,368	0,387	0,384	22,9
X7.3	1:20	0,235	0,252	0,243	0,243	169,3
X7.4	1:20	0,519	0,502	0,523	0,515	63,8
K7.1	1:20	0,395	0,394	0,400	0,396	108,2
K7.2	1:20	0,336	0,310	0,320	0,322	137,4
K7.3	1:20	0,257	0,275	0,271	0,268	158,7
K7.4	1:20	0,257	0,235	0,253	0,248	166,3
K7.5	1:20	0,378	0,337	0,362	0,359	122,9
Φ 7.1	1:20	0,355	0,362	0,348	0,355	125,3
Φ 7.2	1:20	0,307	0,304	0,304	0,305	144,8
Φ 7.3	1:20	0,312	0,302	0,338	0,317	140,0
Φ 7.4	1:20	0,246	0,264	0,272	0,261	162,1
Φ 7.5	1:20	0,409	0,417	0,416	0,414	102,2
Φ 2.7.1	1:20	0,338	0,321	0,327	0,329	133,2



Εικόνα 19: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 20: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 21: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

8. Μετρήσεις των δειγμάτων της νήσου Κύθνου

Πίνακας 22: Προσδιορισμός συνολικού φαιολικού περιεχομένου των δειγμάτων της νήσου Κύθνου με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

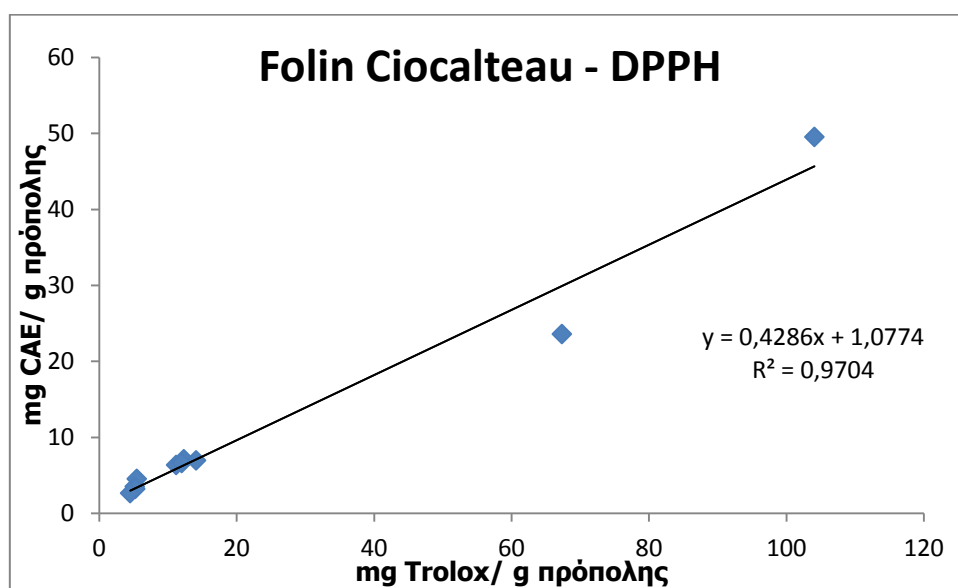
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
K8.1	-	0,337	0,342	0,349	0,343	7,1
K8.2	1:10	0,229	0,250	0,245	0,241	49,6
K8.3	1:4	0,281	0,294	0,281	0,285	23,6
K8.4	-	0,311	0,301	0,310	0,307	6,4
K8.5	1:4	0,095	0,094	0,086	0,092	7,0
Φ 8.1	-	0,227	0,223	0,217	0,222	4,6
Φ 8.2	-	0,337	0,317	0,304	0,319	6,6
Φ 8.3	-	0,179	0,169	0,178	0,175	3,5
Φ 8.4	-	0,154	0,161	0,167	0,161	3,2
Φ 8.5	-	0,143	0,133	0,128	0,135	2,7

Πίνακας 23: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Κύθνου με τη μέθοδο DPPH.

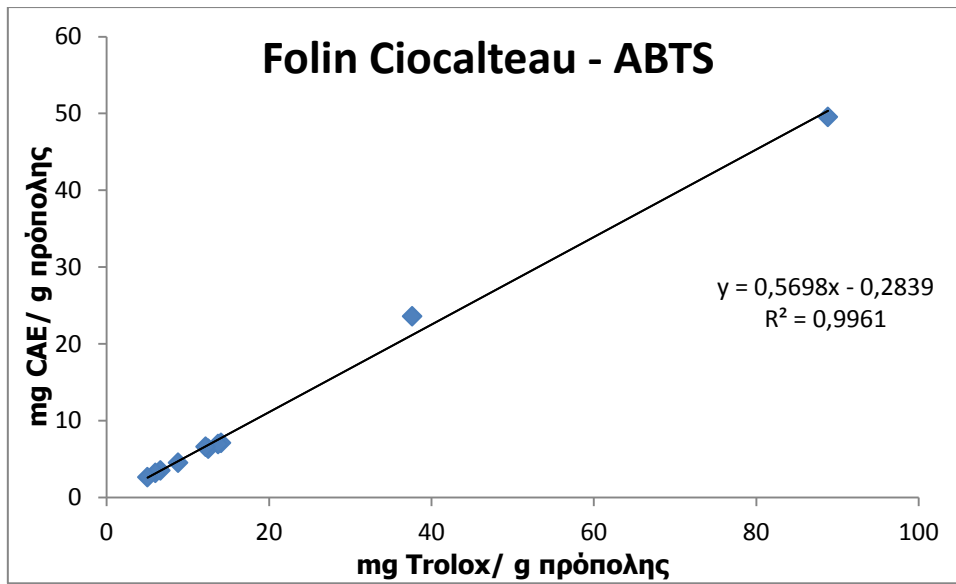
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
K8.1	-	0,256	0,243	0,263	0,254	12,3
K8.2	1:10	0,354	0,338	0,344	0,345	104,1
K8.3	1:20	0,539	0,546	0,546	0,544	67,3
K8.4	-	0,272	0,298	0,289	0,286	11,2
K8.5	1:2	0,420	0,438	0,426	0,428	14,1
Φ 8.1	-	0,529	0,519	0,528	0,525	5,5
Φ 8.2	-	0,295	0,292	0,275	0,287	12,0
Φ 8.3	-	0,518	0,516	0,507	0,514	5,2
Φ 8.4	-	0,516	0,510	0,508	0,511	5,3
Φ 8.5	-	0,552	0,537	0,519	0,536	4,5

Πίνακας 24: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Κύθνου με τη μέθοδο ABTS.

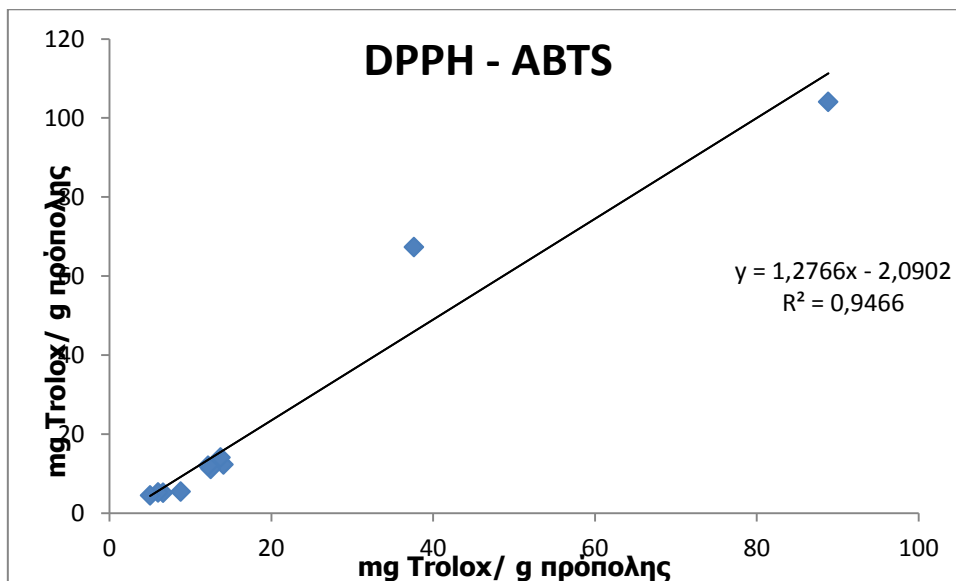
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/ g πρόπολης
K8.1	1:4	0,481	0,490	0,495	0,489	14,1
K8.2	1:20	0,451	0,447	0,429	0,442	88,8
K8.3	1:10	0,465	0,486	0,479	0,477	37,6
K8.4	1:4	0,509	0,500	0,517	0,509	12,5
K8.5	1:4	0,505	0,492	0,483	0,493	13,7
Φ 8.1	1:2	0,455	0,429	0,443	0,442	8,8
Φ 8.2	1:2	0,37	0,347	0,354	0,357	12,2
Φ 8.3	1:2	0,517	0,497	0,477	0,497	6,6
Φ 8.4	1:2	0,511	0,514	0,513	0,513	6,0
Φ 8.5	1:2	0,544	0,537	0,531	0,537	5,0



Εικόνα 22: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 23: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 24: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

9. Μετρήσεις των δειγμάτων του Ν. Ιωαννίνων

Πίνακας 25: Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων του Ν. Ιωαννίνων με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

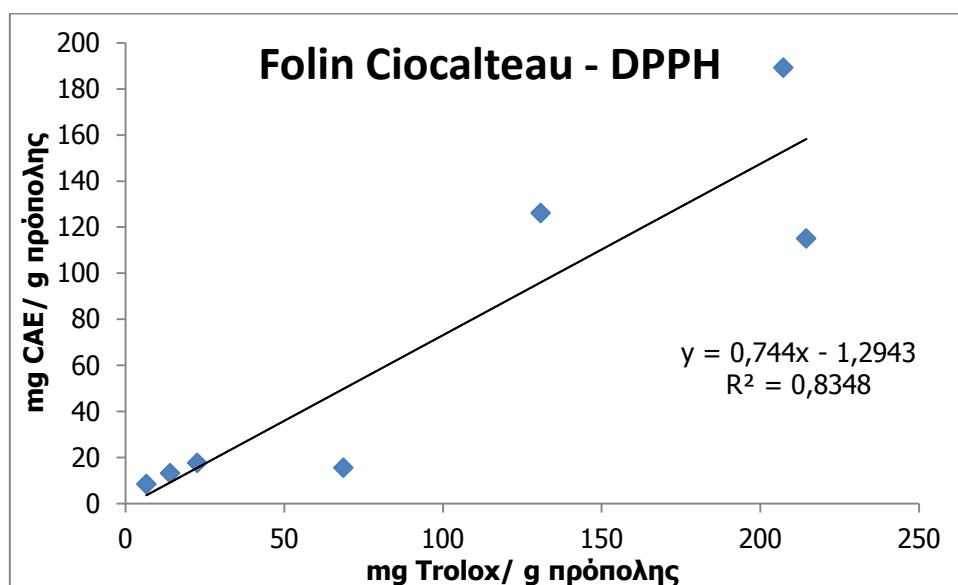
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
K9.1	1:2	0,366	0,377	0,375	0,373	15,6
K9.2	1:10	0,095	0,090	0,093	0,093	17,7
K9.3	1:2	0,320	0,321	0,310	0,317	13,2
K9.4	1:2	0,206	0,203	0,212	0,207	8,4
Φ 9.1	1:10	0,888	0,896	0,892	0,892	189,3
Φ 9.2	1:10	0,580	0,600	0,614	0,598	126,1
Φ 9.3	1:10	0,559	0,529	0,552	0,547	115,1

Πίνακας 26: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Ιωαννίνων με τη μέθοδο DPPH.

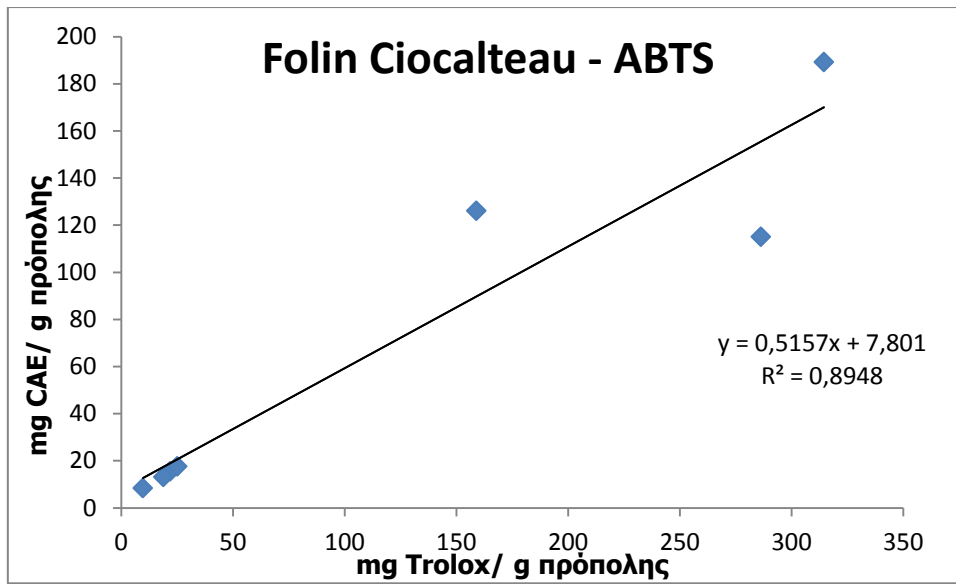
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
K9.1	1:10	0,345	0,334	0,332	0,337	68,7
K9.2	1:10	0,450	0,447	0,451	0,449	22,6
K9.3	1:2	0,433	0,455	0,437	0,442	14,1
K9.4	1:2	0,555	0,567	0,566	0,563	6,6
Φ 9.1	1:20	0,331	0,334	0,307	0,324	207,3
Φ 9.2	1:20	0,440	0,452	0,440	0,444	130,8
Φ 9.3	1:20	0,522	0,513	0,519	0,518	214,5

Πίνακας 27: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Ιωαννίνων με τη μέθοδο ABTS.

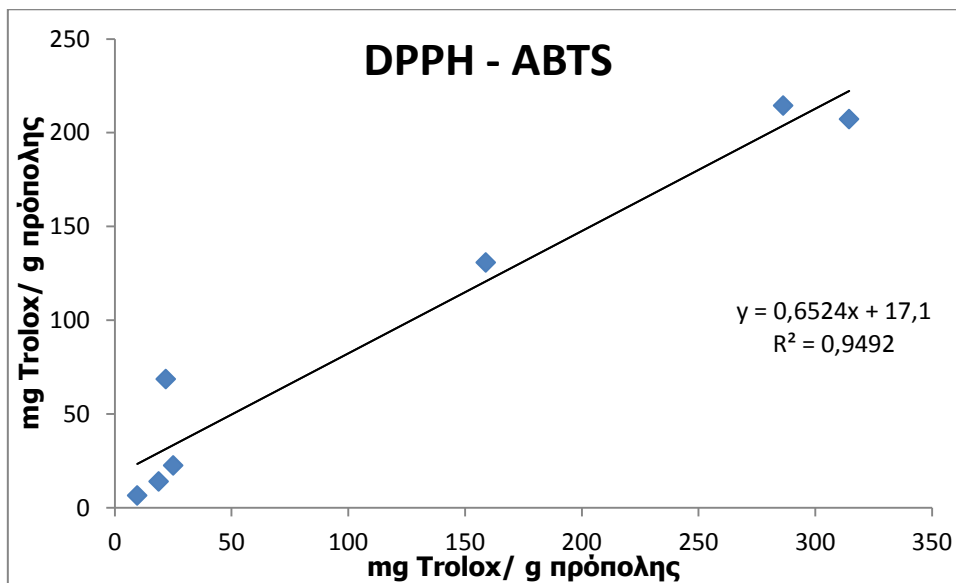
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/ g πρόπολης
K9.1	1:4	0,405	0,403	0,372	0,393	21,9
K9.2	1:4	0,358	0,368	0,333	0,353	25,0
K9.3	1:4	0,433	0,433	0,431	0,432	18,8
K9.4	1:4	0,542	0,561	0,545	0,549	9,6
Φ 9.1	1:100	0,514	0,504	0,499	0,506	314,5
Φ 9.2	1:20	0,285	0,24	0,267	0,264	158,9
Φ 9.3	1:20	0,329	0,293	0,289	0,304	286,3



Εικόνα 25: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 26: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 27: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

10. Μετρήσεις των δειγμάτων του Ν. Λαρίσης

Πίνακας 28: Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων του Ν. Λαρίσης με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

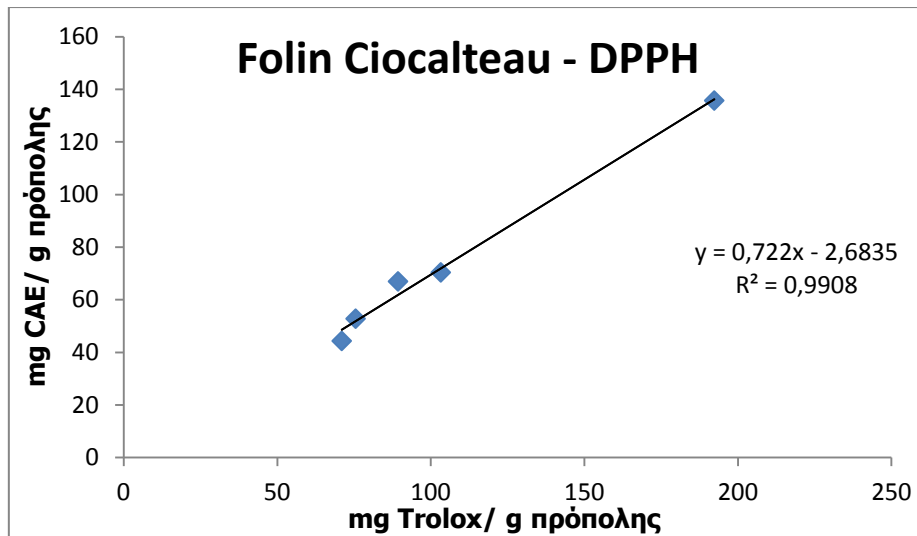
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
K10.1	1:10	0,262	0,247	0,260	0,256	52,8
K10.2	1:10	0,648	0,630	0,650	0,643	135,7
K10.3	1:10	0,329	0,330	0,308	0,322	67,0
K10.4	1:10	0,346	0,332	0,337	0,338	70,4
K10.5	1:10	0,211	0,227	0,213	0,217	44,3

Πίνακας 29: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Λαρίσης με τη μέθοδο DPPH.

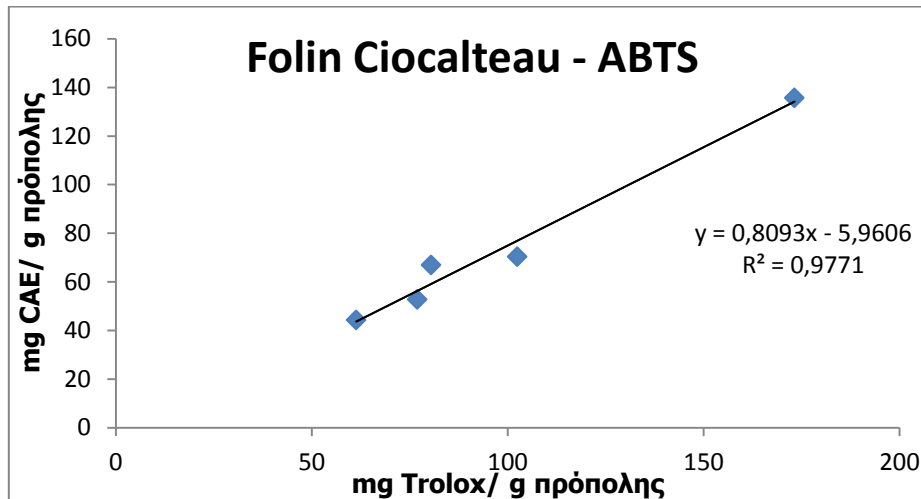
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
K10.1	1:10	0,320	0,309	0,332	0,320	75,5
K10.2	1:20	0,266	0,267	0,277	0,270	192,3
K10.3	1:10	0,284	0,282	0,294	0,287	89,3
K10.4	1:10	0,264	0,249	0,245	0,253	103,2
K10.5	1:10	0,312	0,344	0,338	0,331	71,0

Πίνακας 30: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Λαρίσης με τη μέθοδο ABTS.

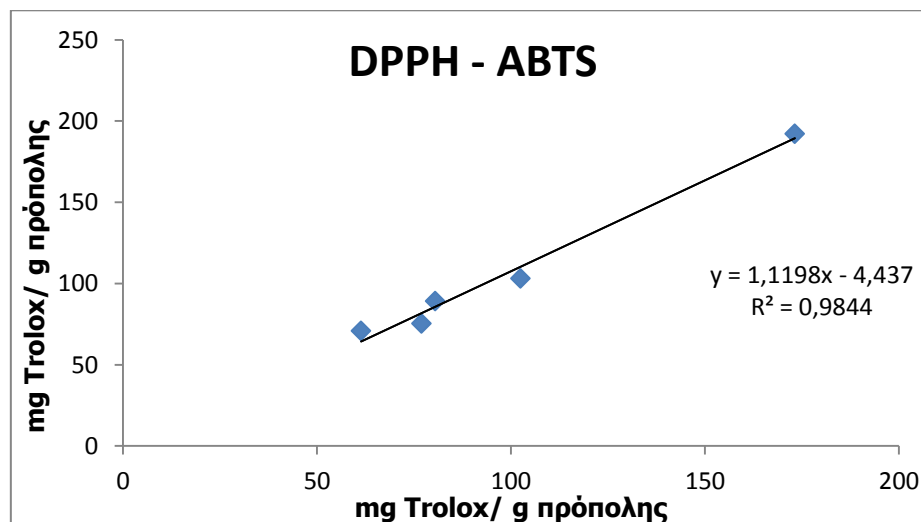
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
K10.1	1:20	0,499	0,459	0,470	0,476	76,9
K10.2	1:100	0,575	0,571	0,569	0,572	173,2
K10.3	1:20	0,477	0,445	0,479	0,467	80,5
K10.4	1:20	0,435	0,398	0,400	0,411	102,4
K10.5	1:20	0,530	0,518	0,499	0,516	61,3



Εικόνα 28: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 29: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 30: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

11. Μετρήσεις των δειγμάτων του Ν. Βοιωτίας

Πίνακας 31: Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων του Ν. Βοιωτίας με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

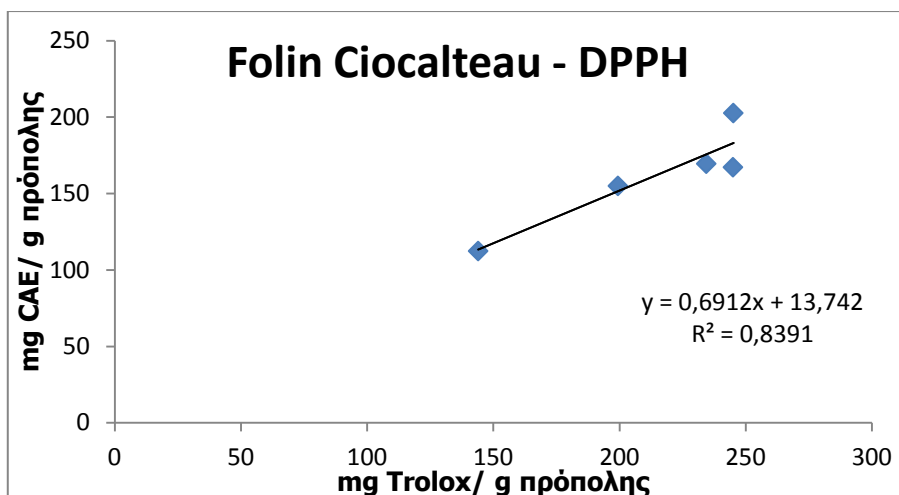
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
K11.1	1:10	0,525	0,539	0,538	0,534	112,4
K11.2	1:10	0,776	0,801	0,791	0,789	167,2
K11.3	1:10	0,801	0,819	0,781	0,800	169,6
K11.4	1:10	1,000	0,944	0,920	0,955	202,7
K11.5	1:10	0,739	0,721	0,738	0,733	155,0

Πίνακας 32: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Βοιωτίας με τη μέθοδο DPPH.

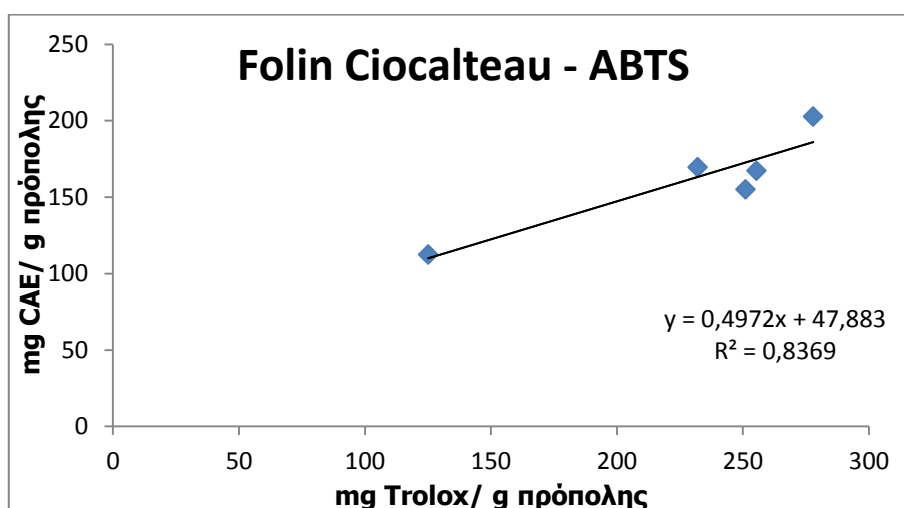
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
K11.1	1:20	0,471	0,419	0,419	0,436	144,0
K11.2	1:20	0,269	0,273	0,277	0,273	245,0
K11.3	1:20	0,294	0,277	0,299	0,290	234,4
K11.4	1:20	0,280	0,258	0,280	0,273	245,1
K11.5	1:20	0,365	0,332	0,343	0,347	199,4

Πίνακας 33: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Βοιωτίας με τη μέθοδο ABTS.

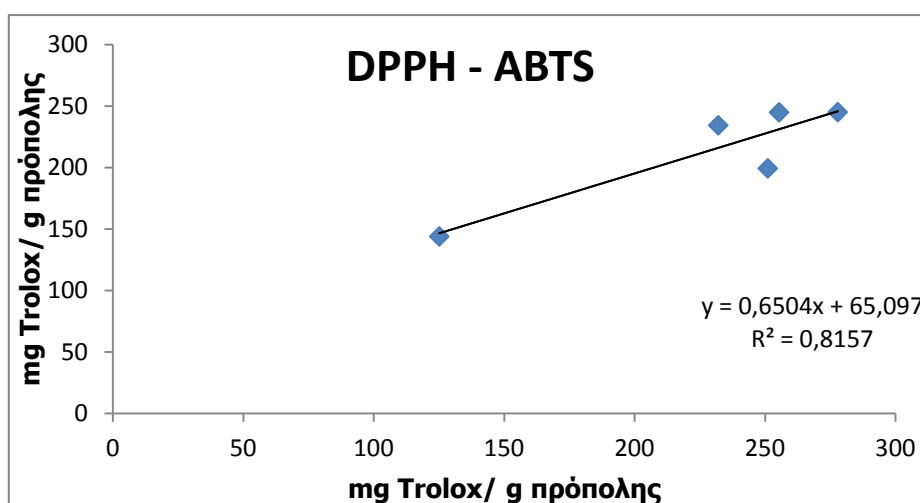
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
K11.1	1:20	0,356	0,376	0,328	0,353	125,1
K11.2	1:100	0,537	0,535	0,520	0,531	255,4
K11.3	1:100	0,551	0,558	0,552	0,554	232,1
K11.4	1:100	0,539	0,526	0,526	0,530	277,9
K11.5	1:100	0,548	0,559	0,525	0,544	251,1



Εικόνα 19: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 20: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 21: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

12. Μετρήσεις των δειγμάτων της Νήσου Κεφαλληνίας

Πίνακας 34: Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων της Νήσου Κεφαλληνίας με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

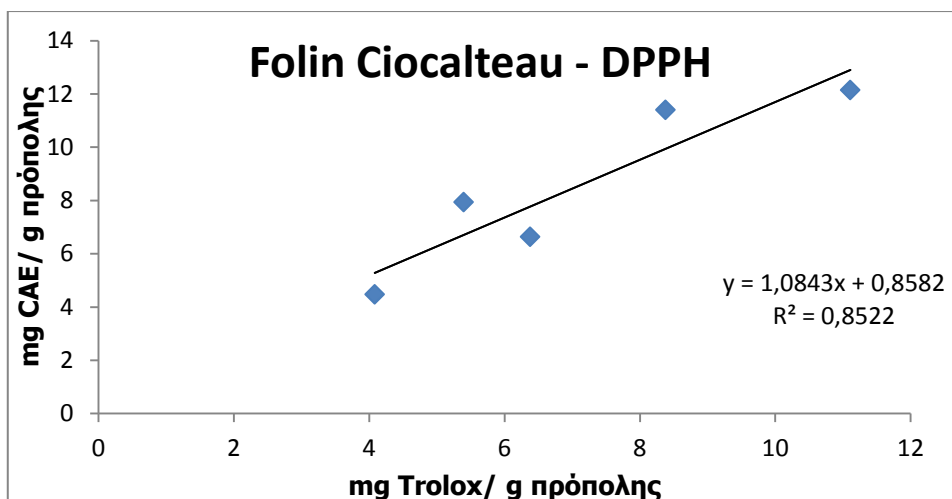
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
Φ12.1	-	0,352	0,381	0,408	0,380	7,9
Φ12.2	-	0,306	0,321	0,332	0,320	6,6
Φ12.3	-	0,218	0,223	0,216	0,219	4,5
Φ12.4	-	0,560	0,544	0,521	0,542	11,4
Φ12.5	-	0,542	0,581	0,606	0,576	12,1

Πίνακας 35: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Κεφαλληνίας με τη μέθοδο DPPH.

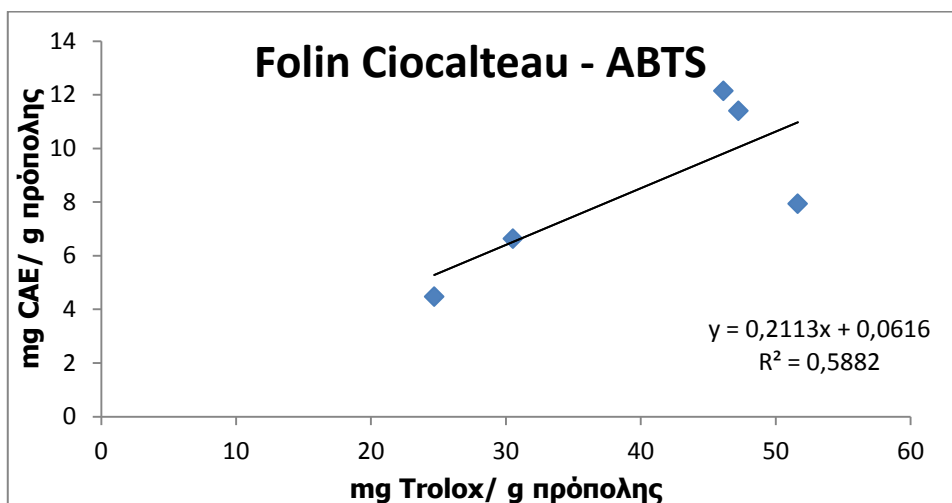
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
Φ12.1	-	0,429	0,413	0,496	0,446	5,4
Φ12.2	-	0,398	0,438	0,416	0,417	6,4
Φ12.3	-	0,505	0,471	0,477	0,484	4,1
Φ12.4	-	0,362	0,367	0,348	0,359	8,4
Φ12.5	1:2	0,472	0,502	0,451	0,475	11,1

Πίνακας 36: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Κεφαλληνίας με τη μέθοδο ABTS.

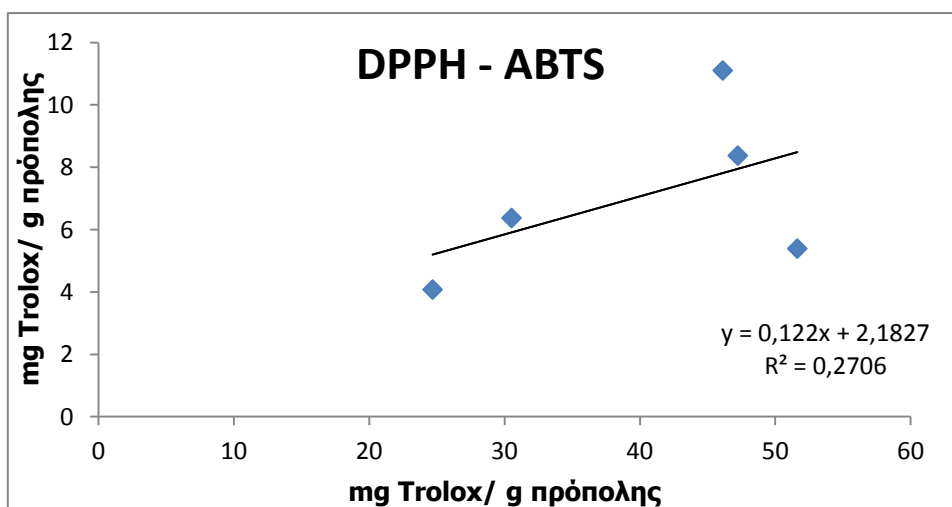
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
Φ12.1	1:10	0,411	0,401	0,413	0,408	51,6
Φ12.2	1:10	0,524	0,501	0,522	0,516	30,5
Φ12.3	1:10	0,560	0,557	0,519	0,545	24,7
Φ12.4	1:10	0,430	0,430	0,432	0,431	47,2
Φ12.5	1:10	0,447	0,439	0,423	0,436	46,1



Εικόνα 34: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 35: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 36: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

13. Μετρήσεις των δειγμάτων του Ν. Έβρου

Πίνακας 37: Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων του Ν. Έβρου με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

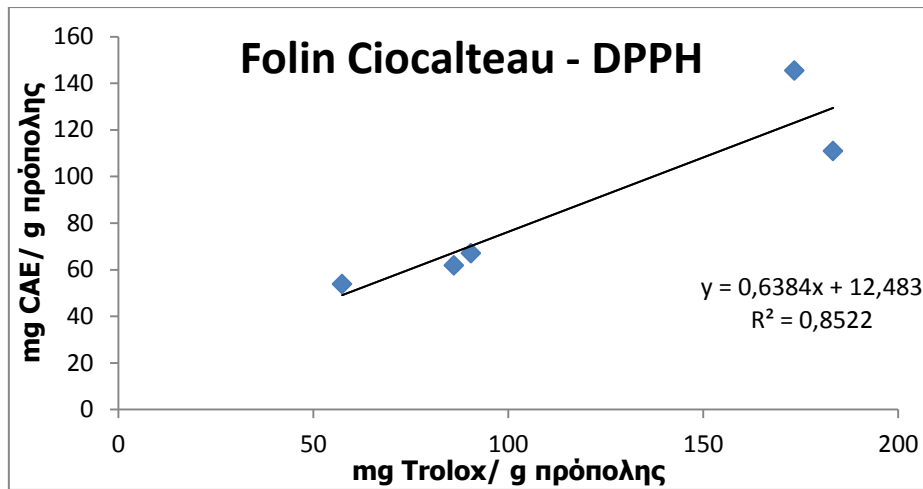
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
K13.1	1:10	0,690	0,688	0,686	0,688	145,5
K13.2	1:10	0,261	0,258	0,265	0,261	53,9
K13.3	1:10	0,322	0,321	0,326	0,323	67,1
K13.4	1:10	0,317	0,295	0,284	0,299	61,9
K13.5	1:10	0,515	0,528	0,539	0,527	111,0

Πίνακας 38: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Έβρου με τη μέθοδο DPPH.

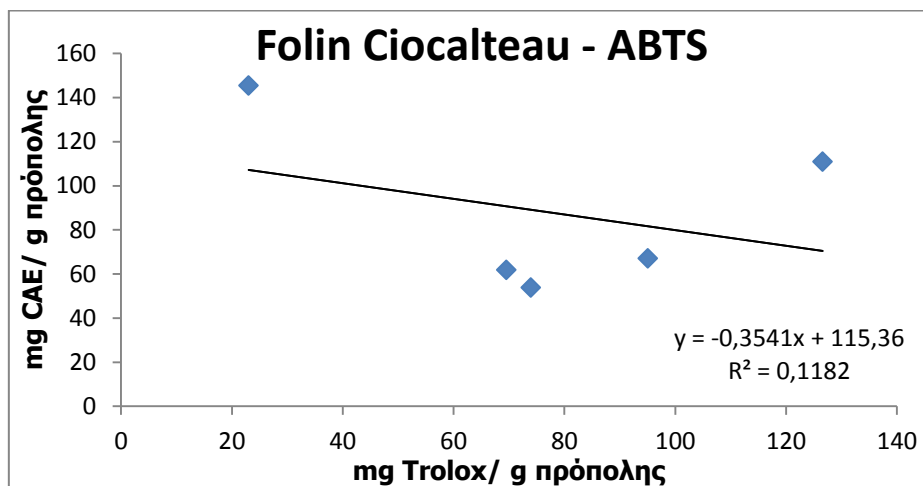
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
K13.1	1:20	0,367	0,357	0,366	0,363	173,4
K13.2	1:10	0,457	0,439	0,460	0,452	57,4
K13.3	1:10	0,290	0,280	0,282	0,284	90,4
K13.4	1:10	0,298	0,303	0,283	0,295	86,0
K13.5	1:20	0,285	0,281	0,277	0,281	183,3

Πίνακας 39: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Έβρου με τη μέθοδο ABTS.

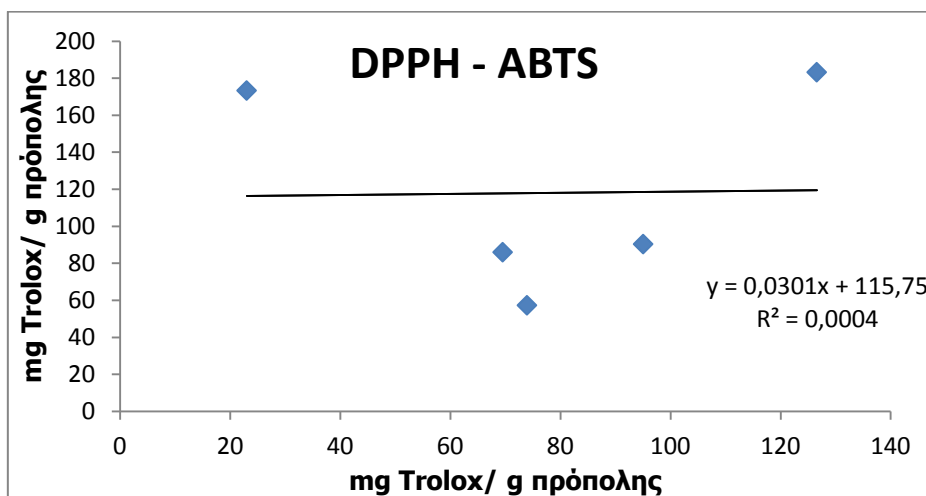
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
K13.1	1:10	0,536	0,551	0,543	0,536	23,0
K13.2	1:20	0,484	0,447	0,490	0,484	73,9
K13.3	1:20	0,428	0,415	0,420	0,428	95,1
K13.4	1:20	0,460	0,495	0,499	0,460	69,5
K13.5	1:20	0,344	0,335	0,348	0,344	126,6



Εικόνα 37: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 38: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 39: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

14. Μετρήσεις των δειγμάτων του Ν. Πέλλας και του Ν. Φλωρίνης

Πίνακας 40: Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων του Ν. Πέλλας και του Ν. Φλωρίνης με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

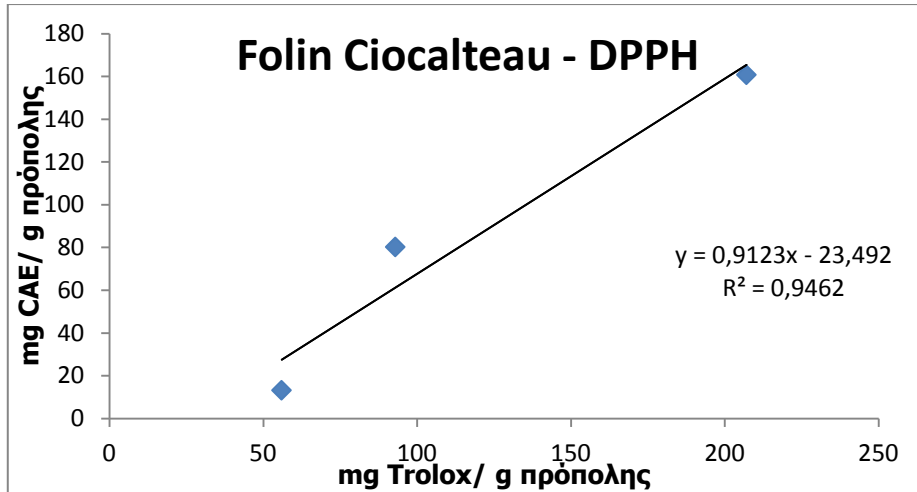
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
K15.1	-	0,632	0,608	0,642	0,627	13,2
K15.2	1:10	0,769	0,738	0,771	0,759	160,8
K15.3	1:10	0,367	0,398	0,388	0,384	80,3

Πίνακας 41: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Πέλλας και του Ν. Φλωρίνης με τη μέθοδο DPPH.

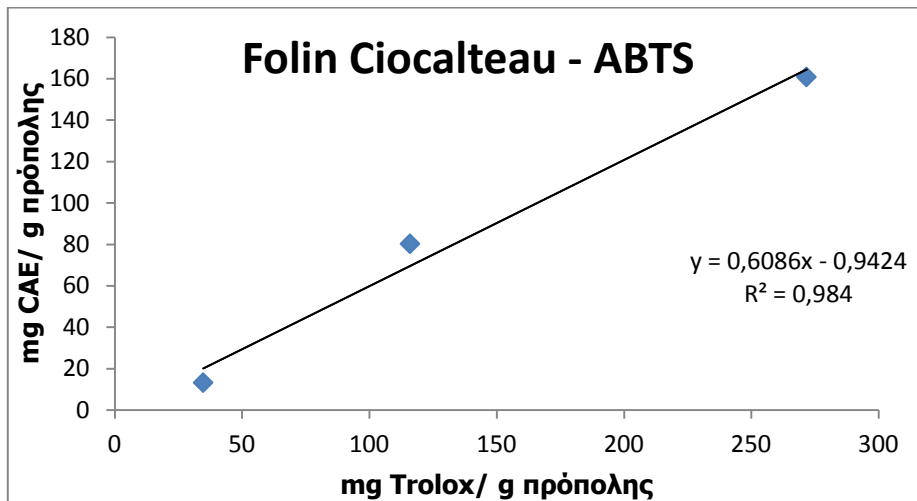
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
K15.1	1:10	0,465	0,455	0,455	0,458	56,0
K15.2	1:20	0,314	0,326	0,333	0,324	207,1
K15.3	1:10	0,407	0,388	0,385	0,393	92,9

Πίνακας 42: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων του Ν. Πέλλας και του Ν. Φλωρίνης με τη μέθοδο ABTS.

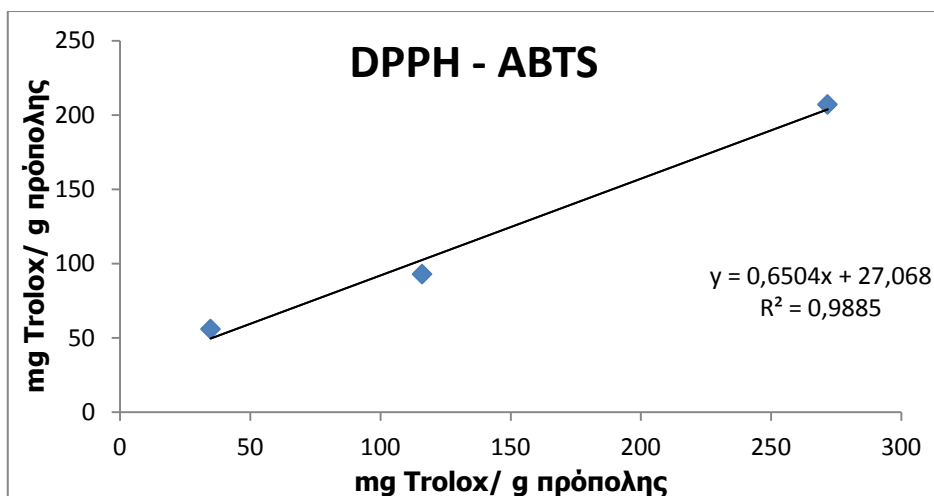
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
K15.1	1:4	0,233	0,23	0,232	0,232	34,8
K15.2	1:100	0,539	0,536	0,542	0,539	271,7
K15.3	1:20	0,351	0,401	0,389	0,380	116,0



Εικόνα 40: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 41: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 42: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.

15. Μετρήσεις των δειγμάτων της Νήσου Εύβοιας

Πίνακας 43: Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου των δειγμάτων της Νήσου Εύβοιας με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

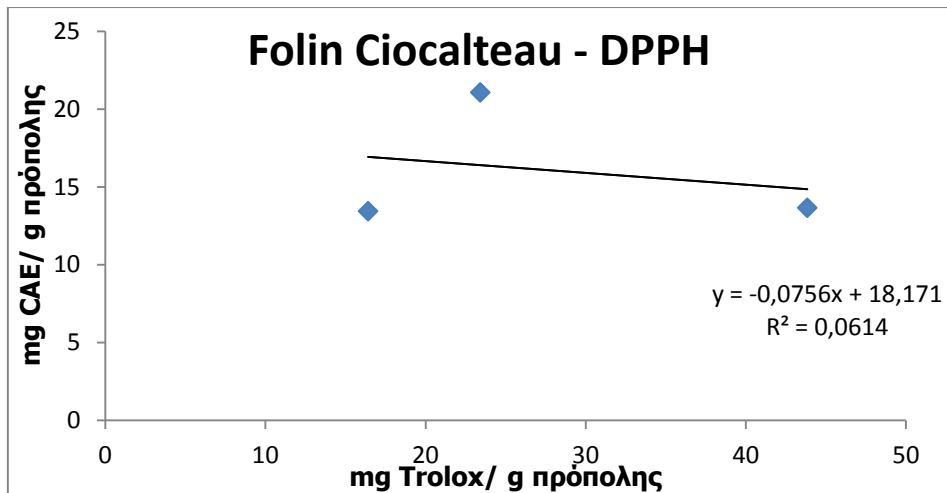
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg CAE/g πρόπολης
Φ 16.1	-	0,640	0,632	0,638	0,637	13,4
Φ 16.2	1:2	0,327	0,317	0,342	0,329	13,7
Φ 16.3	1:2	0,501	0,502	0,501	0,501	21,1

Πίνακας 44: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Εύβοιας με τη μέθοδο DPPH.

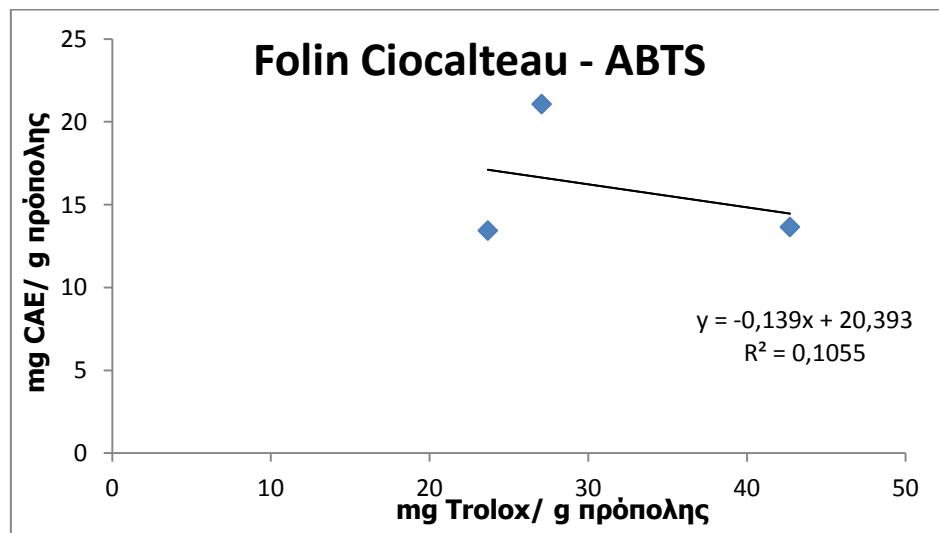
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
Φ 16.1	1:2	0,374	0,380	0,383	0,379	16,4
Φ 16.2	1:4	0,327	0,317	0,342	0,329	43,8
Φ 16.3	1:4	0,501	0,502	0,501	0,501	23,4

Πίνακας 45: Εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων της Νήσου Εύβοιας με τη μέθοδο ABTS.

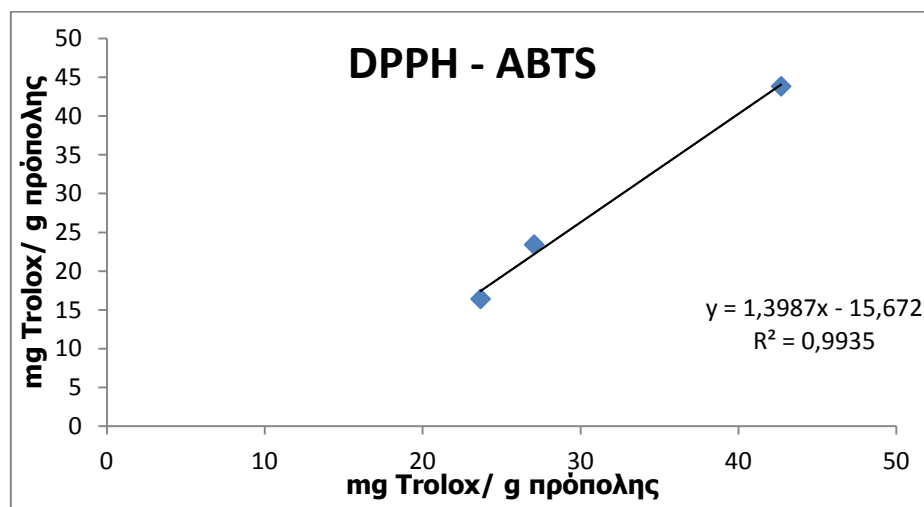
Δείγμα	Αραίωση	1 ^η μέτρηση (Abs)	2 ^η μέτρηση (Abs)	3 ^η μέτρηση (Abs)	Μέσος όρος (Abs)	mg Trolox/g πρόπολης
Φ 16.1	1:4	0,371	0,342	0,41	0,374	23,7
Φ 16.2	1:4	0,153	0,113	0,122	0,129	42,7
Φ 16.3	1:4	0,335	0,331	0,326	0,331	27,1



Εικόνα 43: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και DPPH.



Εικόνα 44: Συσχέτιση των μεθόδων Folin- Ciocalteu και ABTS.



Εικόνα 45: Συσχέτιση των μεθόδων DPPH και ABTS.