



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ**  
**ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ**  
**ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ**

**Θέμα Πτυχιακής Εργασίας**

«Αξιολόγηση της περιεκτικότητας σε σιλυμαρίνη γονοτύπων του φαρμακευτικού φυτού *Silybum marianum* (L.) Gaertn. από περιοχές της Νότιας Ελλάδας»

**Αγγελική Γκιώνη**



**Επιβλέπων Καθηγητής:** Νικόλαος Τσιρόπουλος (Καθηγητής)

**Βόλος, 2021**

## Θέμα πτυχιακής εργασίας

«Αξιολόγηση της περιεκτικότητας σε σιλυμαρίνη γονοτύπων του φαρμακευτικού φυτού *Silybum marianum* (L.) Gaertn. από περιοχές της Νότιας Ελλάδας»

**Αγγελική Γκιώνη**

**Επιβλέπων Καθηγητής: Νικόλαος Τσιρόπουλος (Καθηγητής)**

### **Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:**

1. Νικόλαος Τσιρόπουλος, Καθηγητής, Επιβλέπων
2. Νικόλαος Δαναλάτος, Καθηγητής, Μέλος
3. Ανέστης Καρκάνης, Επίκουρος Καθηγητής, Μέλος

## Πρόλογος

Σκοπός της πτυχιακής εργασίας ήταν η αξιολόγηση του περιεχόμενου, σε σπόρους του φυτού *Silybum marianum*, ποσοστού σιλυμαρίνης. Συγκεκριμένα έγινε ανάλυση σπόρων τεσσάρων αυτοφυών πληθυσμών και σύγκριση μεταξύ τους, καθώς και συζήτηση σε σχέση με αποτελέσματα από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Καθηγητή κ. Τσιρόπουλο Νικόλαο για την ανάθεση του θέματος της πτυχιακής εργασίας, καθώς και για την πολύτιμη βοήθειά του κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής των πειραμάτων. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή Ζιζανιολογίας κ. Καρκάνη Ανέστη για τις συμβουλές και την καθοδήγηση κατά την εκπόνηση της πτυχιακής μου εργασίας. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Δαναλάτο Νικόλαο για τον χρόνο που διέθεσε για την αξιολόγηση της εργασίας μου.

Τέλος, θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω τον κ. Αραμπατζή Δημήτριο για τη συνεισφορά του στις πειραματικές διαδικασίες στο εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας, καθώς και για την αναλυτική επεξήγηση των εργαστηριακών τεχνικών που εφαρμόστηκαν.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη .....	6
<b>Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup>: Εισαγωγή</b> .....	7
1.1.Γαϊδουράγκαθο- Γενικά .....	8
1.2.Μορφολογία του φυτού.....	8
1.3.Χρήσεις του <i>Silybum marianum</i> .....	14
1.4.Σιλυμαρίνη .....	19
1.4.1.Χημική σύσταση .....	19
1.4.2.Φαρμακευτικές ιδιότητες και χρήσεις σιλυμαρίνης.....	20
1.4.3.Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή σιλυμαρίνης .....	24
<b>Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup>: Υλικά και μέθοδοι</b> .....	25
2.1.Μορφολογικές παράμετροι φυτών και σπόρων .....	25
2.2.Συλλογή φυτών.....	26
2.3.Περιοχές δειγματοληψίας και κλιματικές συνθήκες .....	27
2.4.Μεθοδολογία και μετρήσεις.....	28
2.4.1.Εκχύλιση σιλυμαρίνης και ανάλυση .....	28
2.4.2.Αντιοξειδωτική ικανότητα .....	30
2.5.Μετεωρολογικά δεδομένα.....	31
2.6.Στατιστική ανάλυση .....	31
<b>Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup>: Αποτελέσματα</b> .....	33
3.1.Μορφολογικές μετρήσεις σπόρων .....	33
3.1.1.Χρώμα σπόρων.....	33
3.1.1.α.Σχετική φωτεινότητα (L*).....	33
3.1.1.β.Χρωματική πυκνότητα (C*).....	34
3.1.1.γ..Χροιά (h*) .....	34
3.1.2.Βάρος 1000 σπόρων .....	35
3.2.Περιεκτικότητα σιλυμαρίνης.....	35

3.3.Περιεκτικότητα ελαίου.....	37
3.4.Περιεκτικότητα επιμέρους συστατικών σιλυμαρίνης .....	37
3.4.1.Περιεκτικότητα ταξιφολίνης .....	38
3.4.2.Περιεκτικότητα σιλυχριστίνης .....	38
3.4.3.Περιεκτικότητα σιλυδιανίνης και ισοσιλυχριστίνης .....	39
3.4.4.Περιεκτικότητα σιλυβίνης Α.....	40
3.4.5.Περιεκτικότητα σιλυβίνης Β .....	40
3.4.6.Περιεκτικότητα ισοσιλυβίνης Α.....	41
3.4.7.Περιεκτικότητα ισοσιλυβίνης Β.....	42
3.5.Μετρήσεις DPPH .....	43
<b>Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup>: Συζήτηση.....</b>	<b>45</b>
4.1.Μορφολογικές παράμετροι .....	45
4.2.Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της περιεκτικότητας των σπόρων σε σιλυμαρίνη και έλαιο.....	47
4.3.Αξιολόγηση των επιμέρους συστατικών της σιλυμαρίνης.....	48
4.4.Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH στους τέσσερις πληθυσμούς .....	50
4.5.Συμπεράσματα .....	51
<b>Βιβλιογραφία .....</b>	<b>52</b>

## Περίληψη

Το γαϊδουράγκαθο (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) αποτελεί ένα σημαντικό φαρμακευτικό φυτό που καλλιεργείται σε αρκετές περιοχές του κόσμου, ενώ παράλληλα θεωρείται ζιζάνιο για διάφορες φθινοπωρινές καλλιέργειες. Η σιλυμαρίνη, που αναφέρεται να είναι το κύριο φαρμακευτικό προϊόν των σπόρων του φυτού, αποτελείται από επτά φλαβονολιγνάνες και ένα φλαβονοειδές, συναντάται στο πολικό εκχύλισμα των σπόρων και χρησιμοποιείται κυρίως για τη θεραπεία παθήσεων του ήπατος. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η αξιολόγηση αυτοφυών πληθυσμών της Πελοποννήσου από διάφορες περιοχές της Αχαΐας ως προς την περιεκτικότητα των ώριμων σπόρων τους σε σιλυμαρίνη. Μελετήθηκαν τέσσερις πληθυσμοί από τις περιοχές: Καλάβρυτα, Πετροβούνι, Νερατζιές και Βουλωμένο. Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε περιλάμβανε εκχύλιση κονιοποιημένων σπόρων με εξάνιο για την αφαίρεση των λιπαρών συστατικών και κατόπιν εκχύλιση με μεθανόλη για την παραλαβή των συστατικών της σιλυμαρίνης. Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός της σιλυμαρίνης στο μεθανολικό εκχύλισμα πραγματοποιήθηκε με την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή υπεριώδους (HPLC-UV). Η περιεκτικότητα των σπόρων σε έλαιο κυμάνθηκε από 22,39 έως 24,65%, με τον μέσο όρο να είναι 23,57%. Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη μετρήθηκε στον πληθυσμό Καλάβρυτα (4,71%), ενώ η μικρότερη στον πληθυσμό Βουλωμένο (2,15%). Η μέση τιμή της σιλυμαρίνης από τους τέσσερις πληθυσμούς ήταν 3,87%. Όσον αφορά τη σύσταση της σιλυμαρίνης στα επιμέρους συστατικά της ήταν κατά μέσο όρο περίπου 8% σιλυβίνη (A και B), 21% ισοσιλυβίνη (A και B) και 55% σιλυδιανίνη. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι ο πληθυσμός Καλάβρυτα περιέχει αξιοσημείωτα ποσοστά σιλυμαρίνης, η οποία όμως περιέχει σε μικρό ποσοστό τις φλαβονολιγνάνες σιλυβίνη A και B.

## Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup>: Εισαγωγή

### 1.1. Γαϊδουράγκαθο- Γενικά

Το φυτό *Silybum marianum* (L.) Gaernt, γνωστό στην Ελλάδα ως «γαϊδουράγκαθο» ή «κουφάγκαθο». Το συγκεκριμένο είδος αποτελεί ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο φυτό από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα με σκοπό την καταπολέμηση διάφορων παθήσεων (Karkanis et al. 2011). Σε έρευνα του 1998 σύμφωνα με το Αμερικανικό Συμβούλιο Βοτανικής, τα εκχυλίσματα του *Silybum marianum* ήταν μεταξύ στα πιο ευπώλητα στις Ηνωμένες Πολιτείες και τη Γερμανία. Το 2000 παρουσιάστηκε αύξηση στις πωλήσεις γαϊδουράγκαθου για θεραπευτικούς σκοπούς στην Αμερική κατά 14% σε σχέση με το 1999 και οι απολαβές των πωλήσεων του λιανικού εμπορίου ήταν της τάξεως των 8,9 εκ. δολαρίων (Post-White et al. 2007). Οι Koumprouros & Birbas (2013) αναφέρουν ότι η ζήτηση για φαρμακευτικά φυτά στην αγορά συνεχίζει να αυξάνεται και ενώ η φαρμακευτική στις αναπτυγμένες χώρες είναι πλέον αρκετά εξελιγμένη, εξακολουθεί να υπάρχει μια τάση προς τις παραδοσιακές μορφές θεραπείας όπως η κατανάλωση σπόρων ή αφεψημάτων. Αναφορές στις θεραπευτικές ιδιότητες του γαϊδουράγκαθου, σύμφωνα με διάφορους συγγραφείς, εντοπίζονται πάνω από 2000 χρόνια πριν. Κατά τον 4<sup>ο</sup> αι. π.Χ., ο Θεόφραστος, γνωστός και ως «πατέρας της βοτανολογίας» αναφέρεται σε αυτό ως «πτέρνυξ», ενώ αρκετά αργότερα ο Διοσκουρίδης (1<sup>ος</sup> αι. μ.Χ.), ο οποίος απέδωσε και το όνομα στο φυτό, το αποκαλεί «σίλυβον» (*Silybum*) (Corchete 2008, Abenavoli et al. 2010, Karkanis et al. 2011). Το όνομα που δόθηκε στο είδος (milk thistle) λέγεται να έχει προκύψει από θρύλο, ο οποίος αναφέρει πως κατά τον θηλασμό του θείου βρέφους μια σταγόνα γάλακτος έπεσε από την Παρθένο Μαρία και έτσι δημιουργήθηκαν οι λευκές νευρώσεις που εκτείνονται στα φύλλα του φυτού (Ross 2008). Με βάση την ίδια συγγραφέα, επειδή το γαϊδουράγκαθο χρησιμοποιούνταν και ως γαλακταγωγό πιθανότατα το γεγονός αυτό να συνέβαλε στην προέλευση του πλέον χρησιμοποιούμενου, από την επιστημονική κοινότητα, ονόματος “milk thistle”. Σύμφωνα με πρόσφατη έρευνα από τους Aziz et al. (2021), ο λόγος για τον οποίο το φυτό αυτό ονομάστηκε έτσι αποδίδεται στο γεγονός ότι κατά την κοπή των φύλλων, που διαθέτουν τις λευκές νευρώσεις, παρατηρείται έκκριση ενός γαλακτώδους υγρού. Αναφορές στις φαρμακευτικές ιδιότητες του *Silybum marianum* έγιναν και από τον Πλίνιο τον Πρεσβύτερο κατά την Ρωμαϊκή Εποχή (77μ.Χ.) (Luper 1998). Επίσης, κατά τον Μεσαίωνα εντοπίστηκαν αρκετές ιστορικές πηγές στη βιβλιογραφία περί βοτάνων (Flora et al. 1998, Corchete 2008). Σχετικά πρόσφατα όμως, τον 20<sup>ο</sup> αι., ξεκίνησαν να

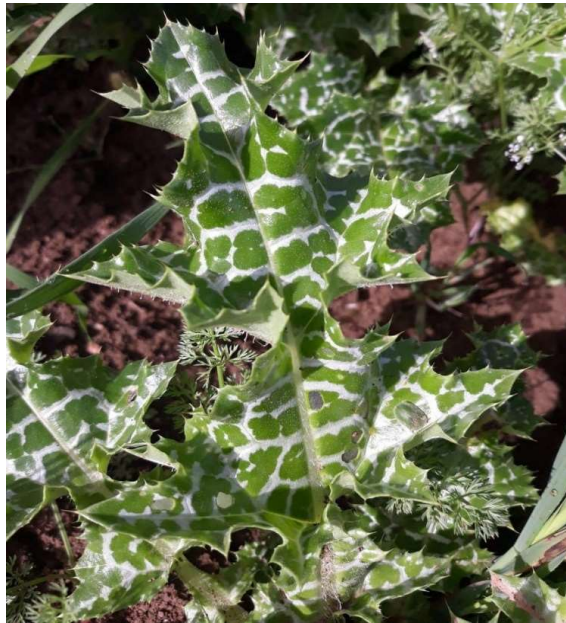
πραγματοποιούνται έρευνες για να αποδειχθεί η αποτελεσματικότητα του φυτού έναντι σε ασθένειες, το οποίο φαίνεται να κατέχει σημαντική θέση στην καταπολέμηση ασθενειών του ήπατος αλλά και προστασία αυτού από τοξικότητα (Luper 1998).

Το γαϊδουράγκαθο συναντάται κατά κύριο λόγο ως αυτοφυές φυτό σε εύκρατα μεσογειακά κλίματα όπως η λεκάνη της Μεσογείου, παρόλα αυτά πλέον έχουν καταγραφεί άφθονες αναφορές για το συγκεκριμένο είδος σε πολλά μέρη του κόσμου όπως Αυστραλία, Βόρεια και Νότια Αμερική, Βόρεια Αφρική, Πολωνία, Πακιστάν και κάποια άλλα μέρη της Ασίας (Young et al. 1978, Karkanis et al. 2011, Andrzejewska et al. 2015, Drouet et al. 2018, Soleimani et al. 2019, Gupta 2020). Το *Silybum marianum* καλλιεργείται στην Ευρώπη, την Αίγυπτο, την Κίνα και την Αργεντινή ως φαρμακευτικό φυτό, ενώ αναφέρεται και ως δύσκολο αντιμετώπισιμο ζιζάνιο (Khan et al 2009). Σε χώρες όπως η Πολωνία, η οποία θεωρείται μια σημαντική παραγωγός χώρα γαϊδουράγκαθου στην Ευρώπη, το φυτό καλλιεργείται για τους σπόρους του, που περιέχουν την ουσία σιλυμαρίνη, αλλά και για χρήση αυτών από την φαρμακοβιομηχανία με σκοπό την παραγωγή φαρμάκων (Andrzejewska 2011). Στην Ελλάδα εντοπίζεται σε τοπικούς πληθυσμούς κατά μήκος των διαφόρων οδών, σε χωράφια και καλλιέργειες, και θεωρείται δύσκολο αντιμετώπισιμο ζιζάνιο (Karkanis et al. 2011). Σε ελληνικές μελέτες προτείνεται η καλλιέργεια του φυτού για παραγωγή σιλυμαρίνης, ελαίου και βιομάζας (Arampatzis et al. 2019, Tsiaousi et al. 2019).

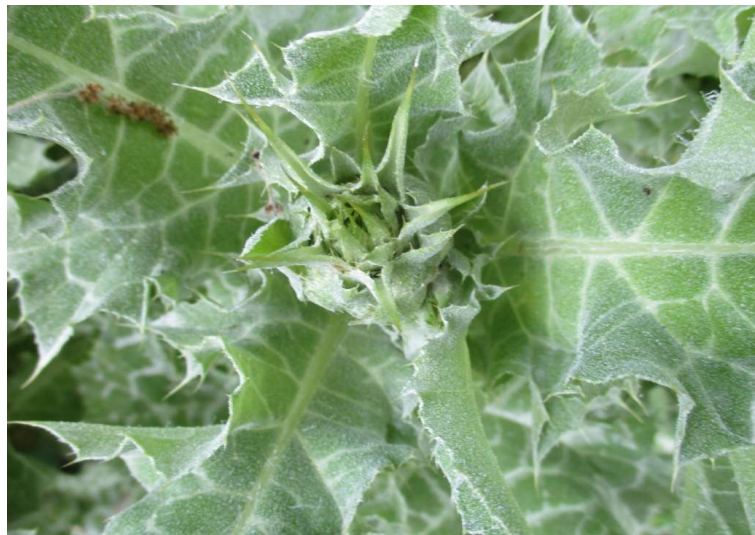
## 1.2. Μορφολογία του φυτού

Το *Silybum marianum*, σύμφωνα με τον Young (1978), ανήκει στην οικογένεια Asteraceae και είναι ένα χειμερινό ετήσιο ή διετές φυτό, το οποίο φτάνει μέχρι και τα 2 μέτρα σε ύψος. Στα αρχικά στάδια ανάπτυξης αναπτύσσεται σε μορφή ροζέτας με ακανθώδη φύλλα, τα οποία παρουσιάζουν τις χαρακτηριστικές για το συγκεκριμένο είδος λευκές νευρώσεις (Εικόνα 1) κατά μήκος ολόκληρης της επιφάνειάς τους (Shelef et al. 2019). Η ανάπτυξη της ροζέτας (Εικόνα 2), που πραγματοποιείται κατά το βλαστικό στάδιο του φυτού, με βάση έρευνας που είχε πραγματοποιηθεί το 1994 από τον Gabay et al., καθιστά το γαϊδουράγκαθο ένα σημαντικά ανταγωνιστικό φυτό έναντι άλλων ετήσιων φυτών που αναπτύσσονται την ίδια περίοδο. Οι Kaur et al. (2011) αναφέρουν ότι τα φύλλα στη βάση της ροζέτας δημιουργούν έντονες λοβούς, ενώ μπορούν να φτάσουν από 25 έως και 50 εκατοστά σε μήκος.





**Εικόνα 1.** Χαρακτηριστικό δερματώδες, οδοντωτό, πλατύ φύλλο του φυτού *Silybum marianum* με λευκές νευρώσεις.



**Εικόνα 2.** Έκπτυξη κεφαλής στο άκρο του βλαστού σε νεαρό φυτό *Silybum marianum*.

Στην ίδια έρευνα (Kaur et al. 2011) σημειώνεται ότι τα φύλλα επί του στελέχους δεν παρουσιάζουν τόσο έντονους λοβούς, είναι μικρότερα από αυτά της βάσης και εναλλάσσονται γύρω απ' τον βλαστό, ενώ παράλληλα είναι περίβλαστα στη βάση

(Εικόνα 3). Σε πρόσφατη έρευνα που πραγματοποίησαν οι Shelef et al. (2019) σχετικά με τις λευκές νευρώσεις του *Silybum marianum*, απέδειξαν πως οι νευρώσεις αυτές έχουν την δυνατότητα να παρέχουν πλεονεκτήματα στην επιβίωση του φυτού παρέχοντάς του θερμότητα μέσω υποδερμικών αέριων θυλάκων όταν υπόκεινται σε χαμηλές θερμοκρασίες.



**Εικόνα 3.** Κατανομή φύλλων *S. marianum* επί του κεντρικού βλαστού με φορά αντίθετη του ρολογιού.

Ακόμη, στα κεντρικά νεύρα των φύλλων αλλά και των βλαστών εντοπίζονται μικροσκοπικές τρίχες λεπτές σαν ίνες, οι οποίες καλύπτουν την επιφάνεια αυτών των τμημάτων του φυτού (Sharova et al. 2020). Τα τριχίδια αυτά φαίνονται στις Εικόνες 3 και 4.



**Εικόνα 4.** Τριχίδια στα κεντρικά αγγεία των φύλλων και του βλαστού φυτών *S. marianum* και σχηματισμός ωτίων περιμετρικά του βλαστού από τα φύλλα.

Όσον αφορά τους βλαστούς του *Silybum marianum*, το φυτό αναπτύσσεται σε όρθια θέση με έναν κύριο άξονα να στηρίζει την δομή του φυτικού σώματος, αναπτύσσοντας στη συνέχεια και δευτερεύοντες βλαστούς (Sabir et al. 2014). Ο αριθμός των δευτερευόντων βλαστών ποικίλει ανάλογα με την πυκνότητα των φυτών, τις κλιματικές συνθήκες και την γονιμότητα του εδάφους, ενώ μπορεί να αναπτύσσονται ανά φυτό από 3 έως και 30 βλαστοί (Andrzejewska et al. 2015, Martinelli et al. 2015). Στο άκρο του κάθε βλαστού (κύριου ή δευτερεύοντος) φύεται μία και μοναδική ανθοκεφαλή, η οποία διαφέρει από τις αντίστοιχες άλλων ειδών γαϊδουράγκαθου καθώς περιβάλλεται από επιμήκη βράκτια φύλλα με αγκάθια και το μέγεθός της μπορεί να κυμανθεί από 2,5 έως 8 εκατοστά (WHO 1999, Ram et al. 2005, Kaur et al. 2011, Martinelli et al. 2015). Στην βιβλιογραφία επίσης αναφέρεται ότι οι ανθοκεφαλές που αναπτύσσονται στους δευτερεύοντες βλαστούς φυτών με μεγάλη βιομάζα παρουσιάζουν μειωμένη παραγωγή σπόρων σε σχέση την ανθοκεφαλή του

κύριου βλαστού (Andrzejewska et al. 2015). Στην παρούσα εργασία οι ανθοκεφαλές που συλλέχθηκαν με σκοπό την διεξαγωγή του πειράματος συλλέχθηκαν από φυτά που δεν είχαν μεγάλη πυκνότητα μεταξύ τους και το φυτικό σώμα αποτελούνταν από επιμέρους βλαστούς (Εικόνα 5).



**Εικόνα 5:** Κύριος βλαστός και δευτερεύοντες βλαστοί *Silybum marianum* με ανθοκεφαλές στα άκρα τους. Πληθυσμός «Πετροβούνι».

Το άνθος του φυτού αποτελείται από μια κεφαλή που παρουσιάζεται να έχει λευκά ή μωβ ερμαφρόδιτα ανθίδια (Εικόνα 5) με σωληνοειδείς ανθήρες (WHO 1999). Ο συνολικός αριθμός ανθοκεφαλών ανά φυτό εξαρτάται από τις συνθήκες κάτω από τις οποίες αναπτύσσεται το φυτό και ποικίλει σημαντικά (Andrzejewska 2015). Σύμφωνα με τους Karkanis et al. (2011) τα φυτά του είδους *Silybum marianum* θεωρούνται φυτά μακράς ημέρας. Συνήθως, το κεντρικό άνθος αποτελείται από περίπου 170-250

ανθίδια, χαρακτηριστικό που ποικίλει αναλόγως με τον γονότυπο του φυτού αλλά και τις περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξης (Martinelli et al. 2015).



**Εικόνα 6.** Μωβ ανθοκεφαλή του φυτού *Silybum marianum*.

Όσον αφορά τους σπόρους, που είναι γνωστοί και ως αχαίνια αποτελούνται από 2 κοτυληδόνες γυαλιστερού μαύρου χρώματος, είναι επίπεδοι με μήκος από 5 έως 8 mm (Karkanis et al. 2011, Sabir et al. 2014). Βοτανικά ορθώς, σύμφωνα με τους Bijak et al. (2017), το όνομά τους θεωρείται να είναι «αχαίνια», τα οποία μοιάζουν με σπόρους αλλά στην ουσία είναι καρποί. Το χρώμα τους κυμαίνεται από ανοιχτό κίτρινο, καφέ έως μαύρο, ενώ συσχετισμός με την ωριμότητα και το χρώμα των σπόρων έχει παρατηρηθεί σε εργασίες που υπάρχουν στη βιβλιογραφία (Martinelli et al. 2015, Rosinska et al. 2017). Ο κάθε σπόρος φέρει ως μέσο διασποράς μακριούς πάππους λευκού κρεμώδους χρώματος, οι οποίοι έχουν πολύ ελαφριά και απαλή υφή (Sidhu and Saini 2014, Martinelli et al. 2015). Οι σπόροι που προέρχονται από κεφαλές των επιμέρους βλαστών φαίνεται να έχουν μικρότερο βάρος 1000 σπόρων από αυτούς των κύριων κεφαλών (Porwal et al. 2019). Η εκβλάστηση των σπόρων μπορεί να

πραγματοποιηθεί ακριβώς μετά την πλήρη ωρίμανσή τους και επίσης η βιωσιμότητά τους στο έδαφος κυμαίνεται από 3 έως 9 χρόνια (Young 1978, Martinelli et al. 2015).

Το *Silybum marianum* κατά την ανάπτυξή του περνά από διάφορα στάδια, σύμφωνα με τους Martinelli et al. (2015), τα οποία παρουσιάζουν διαφορετικές μεταβολές ανά φυτικό όργανο. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1) αναφέρονται ονομαστικά τα κύρια στάδια ανάπτυξης του φυτού, ξεκινώντας από την έκπτυξη του σπόρου (Στάδιο 0) και καταλήγοντας στον γηρασμό του φυτού (Στάδιο 9).

**Πίνακας 1:** Κύρια στάδια ανάπτυξης του φυτού *Silybum marianum* σύμφωνα με τους Martinelli et al. (2015).

Στάδιο ανάπτυξης	Ονομασία σταδίου
0	Βλάστηση σπόρου
1	Ανάπτυξη φύλλων
2	Σχηματισμός πλάγιων ριζών
3	Ανάπτυξη ροζέτας
4	Ανάπτυξη βιομάζας και φυτικών οργάνων
5	Έκπτυξη ανθικών στελεχών
6	Άνθιση
7	Ανάπτυξη σπόρων (αχαινίων)
8	Ωρίμανση
9	Γηρασμός

### 1.3. Χρήσεις του *Silybum marianum*

Η διεθνής αγορά που αφορά τα φαρμακευτικά φυτά αυξάνεται συνεχόμενα, αντιπροσωπεύοντας έτσι την προτίμηση του καταναλωτικού κοινού για φυσικά προϊόντα και για έναν υγιεινό τρόπο ζωής (Petrahou et al. 2020). Στην Αρχαία Ελλάδα το φυτό *Silybum marianum* χρησιμοποιούνταν με σκοπό τηνθεραπεία ασθενειών του ήπατος και της χοληδόχου κύστης, ενώ έρευνες αναφέρουν αντικαρκινικές ιδιότητες του φυτού (Rainone 2005). Από τα τέλη της δεκαετίας του '90 πολλά φυτικά προϊόντα σε μορφή σκόνης ή τμήματα φυτών, εκχυλίσματα ή άλλα σκευάσματα που περιείχαν

κάτι το φυτικό, επονομάστηκαν ως βοτανικά, χαρακτηρίζοντας έτσι τα μη φαρμακευτικά προϊόντα που έχουν θετικές επιδράσεις στην υγεία όπως τα συμπληρώματα διατροφής. Όπως κάθε φαρμακευτικό φυτό, έτσι και το *Silybum marianum* υπόκειται στο νομικό πλαίσιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τα βότανα, τα οποία χρησιμοποιούνται είτε ως τρόφιμα, είτε ως συστατικά, είτε ως φάρμακα, γεγονός που εμποδίζει την ρύθμιση της παραγωγής αυτών των βοτανικών προϊόντων στη αγορά (Arroyo-Manzanares et al. 2013). Στην Ελλάδα τα φαρμακευτικά φυτά πωλούνται σε διάφορα καταστήματα όπως καταστήματα με βιολογικά προϊόντα, καρυκεύματα και λαϊκές αγορές (Hanlidou et al. 2004). Σύμφωνα με τους ίδιους ερευνητές, οι οποίοι μελέτησαν το ποια φυτά πωλούνται στην αγορά της Θεσσαλονίκης, αναφέρουν ότι οι πωλητές προτείνουν ανάλογα με την περίπτωση, χωρίς να διαθέτουν εξειδικευμένες γνώσεις βοτανολογίας, συγκεκριμένα βότανα για τη θεραπεία ασθενειών. Οι ουσίες που περιέχονται στο γαϊδουράγκαθο και έχουν φαρμακευτική αξία συναντώνται στους σπόρους του φυτού (Harrabi et al. 2016) αν και σύμφωνα με τους Nowak et al. (2021) αυτό εξαρτάται από τον τρόπο της εκχύλισης τους, καθώς φαίνεται οι αντιοξειδωτικές ουσίες να περιέχονται ακόμη και σε φύλλα και σε άνθη του φυτού. Υποπροϊόντα της εκχύλισης των σπόρων όπως το έλαιο έχει προταθεί και ως βιοκαύσιμο (Takase et al. 2014), εκτός από τα θετικά αποτελέσματα που επιφέρει μέσω της διατροφής (Zhang et al. 2020). Σύμφωνα με την Andrzejewska et al. (2015), το *Silybum marianum* εκτός της συνήθους χρήσης του για την υγεία του ανθρώπου ή για την παραγωγή φαρμάκων (Petrahou et al. 2020), χρησιμοποιείται στη διατροφή του ανθρώπου και των ζώων, στην βιομηχανία καλλυντικών, στην απομάκρυνση από το έδαφος βαρέων μετάλλων, στην παραγωγή βιοενέργειας καθώς και σε άλλες περιπτώσεις. Παρακάτω αναλύονται οι χρήσεις του φυτού ξεχωριστά.

- Διατροφή του ανθρώπου

Σύμφωνα με τους Pickova et al. (2020) η κατανάλωση συμπληρωμάτων διατροφής με βότανα θεωρείται να έχει θετικά αποτελέσματα και προτιμάται απ' το καταναλωτικό κοινό παγκοσμίως. Στις Ηνωμένες Πολιτείες περισσότεροι από τον μισό πληθυσμό ενηλίκων καταναλώνουν τουλάχιστον ένα συμπλήρωμα διατροφής ανά ημέρα (Chum et al. 2010). Ως συμπλήρωμα διατροφής αναφέρεται ότι χαρακτηρίζεται μια ποικιλία προϊόντων που, λόγω των θρεπτικών στοιχείων που περιέχουν, αποφέρουν θετικά αποτελέσματα στον οργανισμό (Fibigr et al. 2018). Στα συμπληρώματα περιέχονται

σημαντικές για τον οργανισμό ενώσεις, γνωστές ως πολυφαινόλες, που φαίνεται να παρουσιάζουν αντιοξειδωτικές ικανότητες (Proteggente et al. 2002). Το γαϊδουράγκαθο περιλαμβάνεται στα φυτά τα οποία χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία συμπληρωμάτων διατροφής με αντιοξειδωτική ικανότητα (Henning et al. 2014). Ωστόσο, σε έρευνα που πραγματοποίησαν οι Choe et al. (2019) βρέθηκε ότι αλεύρι που δημιουργήθηκε από σπόρους *Silybum marianum*, λόγω των ευεργετικών πολυφαινολικών ενώσεων που περιέχει, φαίνεται να προκαλεί πολλά θετικά αποτελέσματα στην υγεία και προτείνεται για την ενίσχυση της διατροφής του ανθρώπου. Επίσης, τα άνθη και τα νεαρά φύλλα του φυτού αντικαθιστούν το σπανάκι σε σαλάτες, ενώ οι σπόροι μετά από ψήσιμο αναφέρεται να χρησιμοποιούνται ως υποκατάστατο του καφέ (Rahal et al. 2015). Σύμφωνα με τους Porwal et al. (2019), οι ρίζες του φυτού καταναλώνονται μετά από βρασμό και οι σπόροι τρώγονται ωμοί για την θεραπεία του ίκτερου, της λιθίασης του ήπατος ή της χοληδόχου κύστης, καθώς επίσης χρησιμεύουν και στη διαχείριση αιμορραγιών. Ακόμη, επειδή το έλαιο που λαμβάνεται κατά την εκχύλιση των σπόρων διαθέτει χαμηλά επίπεδα σε χοληστερόλη, προτείνεται σε διατροφές πρόληψης των καρδιαγγειακών νοσημάτων (El-Mallah et al. 2003, Zhang et al. 2020). Επιπλέον, λόγω των λιπαρών οξέων που περιέχονται στο έλαιο του *Silybum marianum* έχει προταθεί η χρήση του στην παραγωγή υποκατάστατων του μητρικού γάλακτος (Brys et al 2017).

- Ζωοτροφή

Η ραγδαία αύξηση του πληθυσμού παγκοσμίως έχει προκαλέσει ανάγκη περαιτέρω παραγωγής κρέατος και ειδικά λευκού, το οποίο είναι υψηλής διατροφικής αξίας για τον άνθρωπο (Çeribaşı et al. 2020). Στις φάρμες πουλερικών προτιμάται η διατροφή υψηλής ενέργειας, η οποία προκαλεί γρήγορη ανάπτυξη των ζώων αλλά παράλληλα επιφέρει επιζήμια αποτελέσματα όπως η λιπώδης νόσος του ήπατος (Rozenboim et al. 2016). Η προσθήκη *Silybum marianum* στη διατροφή των πουλερικών αποδείχθηκε ότι μειώνει τα προβλήματα που προκύπτουν από τη διατροφή υψηλής ενέργειας λόγω της αντιοξειδωτικής του ικανότητας (Çeribaşı et al. 2020). Η προσθήκη κέικ σπόρων *Silybum marianum* σε αναπτυσσόμενα προς κατανάλωση κοτόπουλα φάνηκε να προκαλεί ασήμαντη μείωση στο βάρος των ζώων (Suchý et al. 2008). Ακόμη, τα κουνέλια που θεωρούνται ως κρέας υψηλής διατροφικής αξίας λόγω της χαμηλής περιεκτικότητάς του κρέατος σε χοληστερόλη και λιπαρά, παρουσιάζουν



ευαισθησία σε διάφορες ασθένειες, οι οποίες προκαλούνται από ιούς, βακτήρια και πρωτόζωα (Kosina et al.2017). Σύμφωνα με την ίδια έρευνα, η χρήση σπόρων *Silybum marianum* στη διατροφή αύξησε τους βάρους των εκτρεφόμενων κουνελιών είχε θετικά αποτελέσματα στην πρόληψη και διαχείριση των ασθενειών που προέκυψαν. Το γαϊδουράγκαθο αναφέρεται να αποτελεί ένα υποσχόμενο φυσικό πρόσθετο ζωοτροφών με σκοπό τη βελτίωση της υγείας των αναπτυσσόμενων κουνελιών (Cullere et al. 2016). Σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε σε φάρμα με πάπιες παρατηρήθηκε ότι η προσθήκη *Silybum marianum* στη διατροφή των ζώων δεν επηρέασε την ανάπτυξη τους, αλλά συνεισέφερε στη βελτίωση της ποιότητας του κρέατος αλλά και στη συντήρησή του (Egresi et al. 2020). Ακόμη, η κατανάλωση ποσοτήτων σιλυμαρίνης από αγελάδες σε μονάδες παραγωγής γάλακτος εντοπίστηκε να προωθούν τη συντομότερη χρονικά συλλογή των υψηλών ποσοτήτων γάλακτος και η εφαρμογή της θεωρείται χρήσιμη (Ulger et al. 2017).

- Βιομηχανία καλλυντικών

Στη βιομηχανία των καλλυντικών οι αντιγηραντικές ιδιότητες των εκχυλισμάτων από το φυτό *Silybum marianum* σχετίζονται με την ικανότητα να μειώνεται η δερματική βλάβη που προκαλείται από δραστικά είδη οξυγόνου και αζώτου, συνδυαστικά με την ικανότητα να ελέγχεται η δραστηριότητα διαφόρων ενζύμων που εμπλέκονται στην διαδικασία γήρανσης του δέρματος (Drouet et al. 2019). Σε έρευνα του 2016 από τους Hahn et al. προτάθηκε ότι η χρήση σκευάσματος που περιέχει ορισμένα πεπτίδια (palmitoyl), έλαιο από τους σπόρους γαϊδουράγκαθου και βιταμίνη E σε διάστημα τεσσάρων εβδομάδων μπορεί να επιφέρει κάποια αντιγηραντικά αποτελέσματα. Η χρήση του φυτού προτείνεται και ως πιθανός μη τοξικός παράγοντας θεραπείας δερματικών φλεγμονωδών καταστάσεων καθώς και ως προληπτικός παράγοντας για τον καρκίνο του δέρματος (Dunaway et al. 2018).

- Φυτική αποκατάσταση του εδάφους

Ως φυτική αποκατάσταση του εδάφους με βάση τους Sabir et al. (2015) χαρακτηρίζεται η φιλική προς το περιβάλλον, αποτελεσματική, ενεργειακά και οικονομικά αποδοτική τεχνολογία «εξαγνισμού» των ρυπασμένων εδαφών. Η

διαδικασία αυτή στηρίζεται στη χρήση φυτών, εδαφικών τροποποιήσεων και αγρονομικών πρακτικών με σκοπό την εξάλειψη ή μείωση της τοξικότητας των εδαφικών ρυπαντών (Bernal et al. 2019). Σε έρευνα των Hammami et al. (2018) βρέθηκε ότι το *Silybum marianum* αποτελεί ένα αρκετά αποδοτικό φυτό στην απομάκρυνση καδμίου και υπολειμμάτων πετρελαίου από το έδαφος. Η εγκατάσταση φυτικών ειδών για εδαφική κάλυψη σε ρυπασμένα εδάφη είναι σημαντική για τη βελτίωση της ποιότητας του εδάφους και για τη μείωση της διασποράς των ρυπαντών μέσω της εδαφικής διάβρωσης (Domínguez et al. 2017). Με τον τρόπο αυτό αποκατάστασης του εδάφους προωθείται η περιβαλλοντική προστασία, η ασφάλεια τροφίμων, ο εμπλουτισμός του εδάφους με αποθέματα άνθρακα και η βελτίωση της υγείας του εδάφους (Bernal et al. 2019).

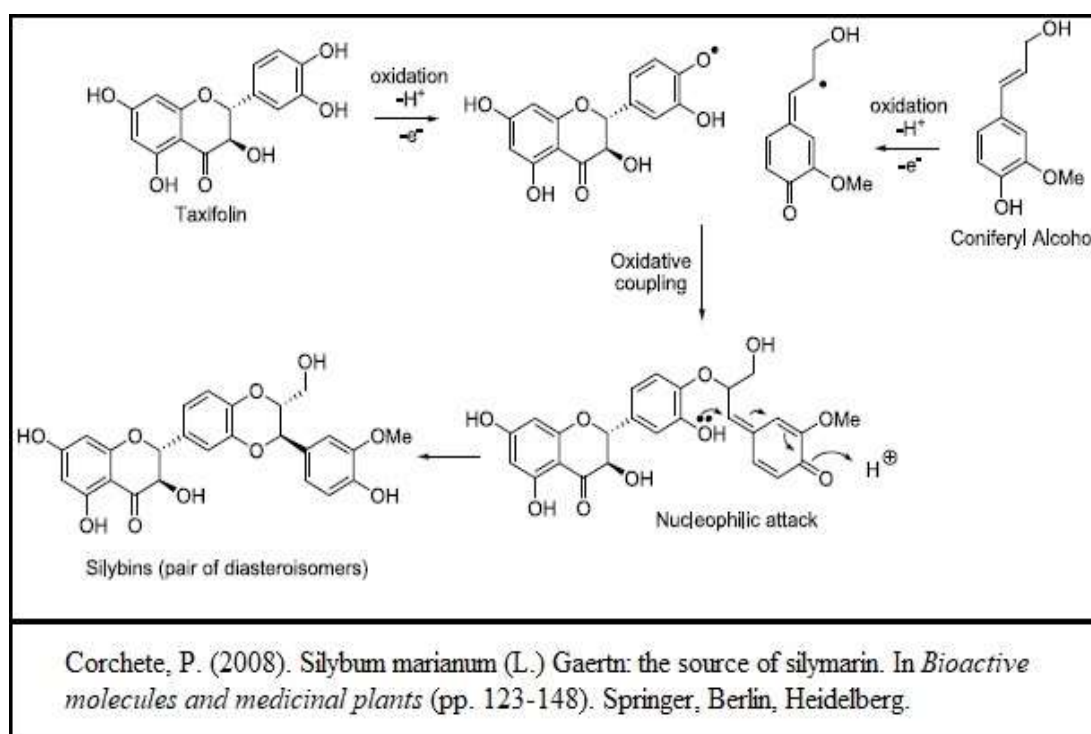
- Παραγωγή βιοενέργειας

Το υψηλό ποσοστό ανάπτυξης του γαϊδουράγκαθου σε Μεσογειακά κλίματα όπου τα είδη έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται σε συνθήκες ελάχιστων ή μέτριων εισροών χωρίς άρδευση και ελάχιστη προσθήκη αζώτου ή αγροχημικών, κατατάσσει το *Silybum marianum* μεταξύ των φυτών που θεωρούνται αποτελεσματικά στην παραγωγή βιοενέργειας (Andrzejewska et al. 2015). Το βιοντίτζελ, που λαμβάνεται από εστέρες λιπαρών οξέων φυτικών ελαίων ή ζωικών λιπαρών, αποτελεί την πιο πολλά υποσχόμενη εναλλακτική λύση αντί του πετρελαίου (Takase et al. 2014). Σύμφωνα με τους Andrzejewska et al. (2015) το έλαιο του *Silybum marianum* μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην παραγωγή καυσίμου με σκοπό τη θέρμανση και την κίνηση, όντας ένα μη τοξικό, ανανεώσιμο, φιλικό προς το περιβάλλον και βιοδιασπώμενο υλικό. Σύμφωνα με έρευνα που πραγματοποιήθηκε για την εξέταση της παραγωγής ενέργειας από τα φυτά *Silybum marianum* και *Helianthus annuus* προέκυψε ότι οι υψηλότερες ενεργειακές απολαβές από τα δύο αυτά φυτά προέρχονται από την καύση της βιομάζας (Hunce et al. 2019). Λαμβάνοντας υπόψη τις ενθαρρυντικές ποσότητες και ιδιότητες του καυσίμου, συνδυαστικά με την αφθονία του ελαίου από το φυτό *Silybum marianum* ως υποπροϊόν κατά την παραγωγή σιλυμαρίνης, το έλαιο θα μπορούσε να προταθεί ως νέα μη-βρώσιμη πρώτη ύλη σε χώρες όπου η καλλιέργεια του φυτού αναπτύσσεται ευρέως (Takase et al. 2014).

## 1.4. Σιλυμαρίνη

### 1.4.1. Χημική σύσταση

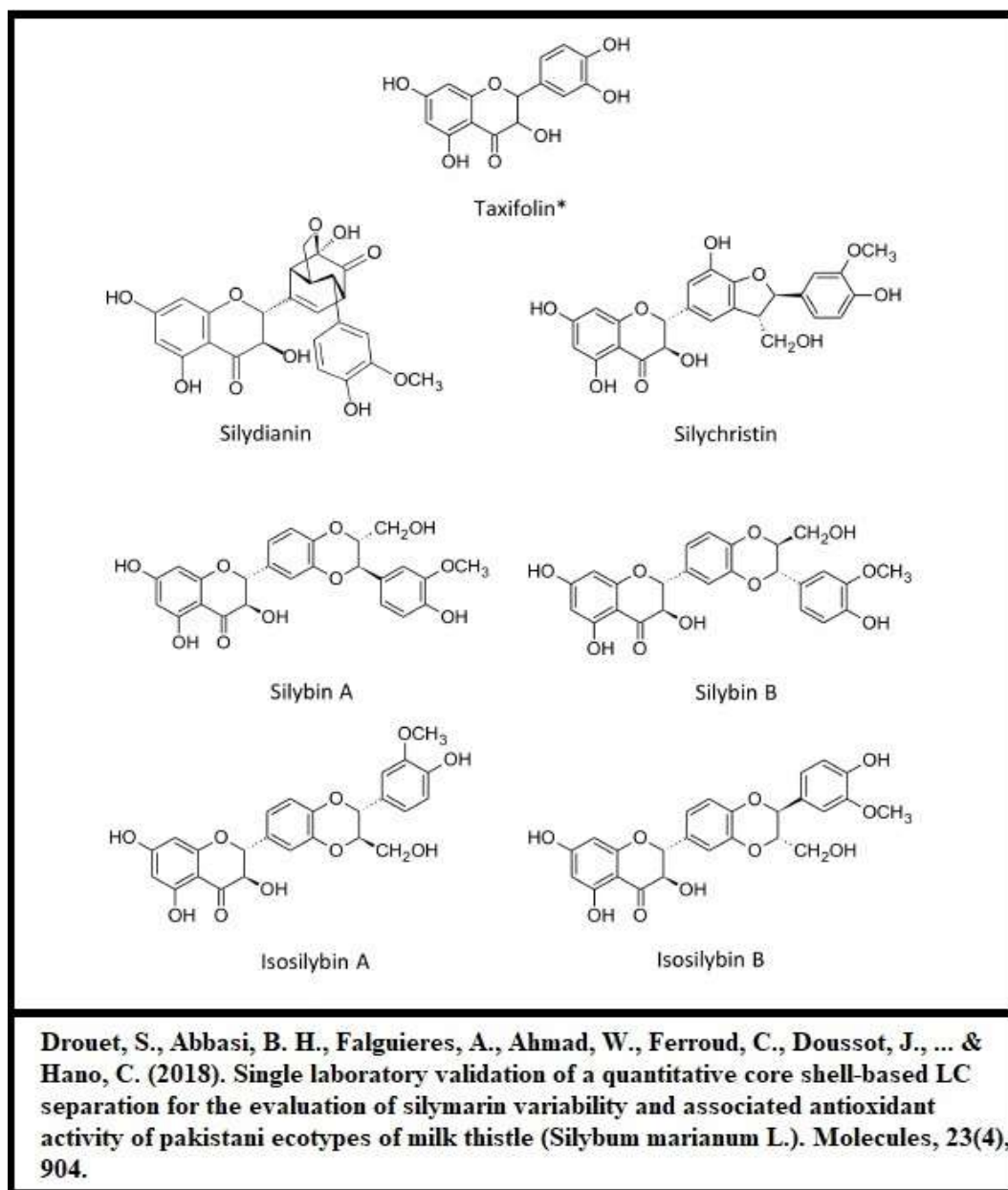
Το *Silybum marianum* και συγκεκριμένα οι σπόροι αυτού αποτελούν πηγή ενός μοναδικού μείγματος πολυφαινολικών ενώσεων, μεταξύ των οποίων οι σημαντικότερες είναι οι φλαβονολιγνάνες σιλυχριστίνη, σιλυδιανίνη, σιλυβίνη και ισοσιλυβίνη, οι οποίες αποτελούν τη σιλυμαρίνη (Calani et al. 2012, Zhang et al 2020). Σε αυτή την ομάδα ενώσεων, τα επιμέρους συστατικά της σιλυμαρίνης σχηματίζονται από μια αντίδραση οξειδωτικής σύζευξης μεταξύ του φλαβονοειδούς ταξιφολίνη και ενός φαινυλοπροπανοειδούς (Εικόνα 7) (Corchete 2008).



**Εικόνα 7:** Σχηματισμός επιμέρους συστατικών σιλυμαρίνης μέσω οξειδωτικής σύζευξης (Corchete 2008).

Η χημική σύνθεση των σπόρων του γαϊδουράγκαθου εκτός από φλαβονολιγνάνες συμπεριλαμβάνει και φλαβονοειδή όπως η ταξιφολίνη (Bijak et al. 2017), η οποία αναφέρθηκε στη διαδικασία οξειδωτικής σύζευξης προηγουμένως σύμφωνα με την Corchete (2008). Το κύριο συστατικό της σιλυμαρίνης είναι η φλαβονολιγνάνη σιλυβίνη, η οποία συναντάται σε δύο ισομερείς ενώσεις A και B, και θεωρείται ως η πιο βιολογικά ενεργή (Kvasnička et al. 2003, Kaur et al. 2011, Bijak et al. 2017). Στην Εικόνα 8 παρουσιάζονται οι χημικές δομές των επιμέρους συστατικών της

σιλυμαρίνης: ταξιφολίνη, σιλυδιανίνη, σιλυχριστίνη, σιλυβίνη (Α και Β) και ισοσιλυβίνη (Α και Β) σύμφωνα με τους Drouet et al. (2018).



**Εικόνα 8:** Η δομή των επιμέρους συστατικών της σιλυμαρίνης σύμφωνα με τους Drouet et al. (2018).

#### 1.4.2. Φαρμακευτικές ιδιότητες και χρήσεις σιλυμαρίνης

Σύμφωνα με τους Rambaldi et al. (2005) το γαϊδουράγκαθο έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για τη θεραπεία διαφόρων δυσλειτουργιών του ήπατος και της χοληδόχου κύστης, καθώς και για τη θεραπεία της ηπατίτιδας, της κίρρωσης, του

ίκτηρου και για την προστασία του ήπατος από δηλητηριάσεις χημικών ή περιβαλλοντικών τοξινών, δάγκωμα από φίδι, τσιμπήματα εντόμων, δηλητηρίαση από μανιτάρια και αλκοόλ. Η προστατευτική δράση που αναφέρεται να έχει το *Silybum marianum* οφείλεται στην αντιοξειδωτική ικανότητα της σιλυμαρίνης και των επιμέρους συστατικών της που αδρανοποιούν τις επιβλαβείς ελεύθερες ρίζες που μπορούν να βλάψουν κυτταρικά μόρια και συστατικά (Ross 2008). Ακόμη, έχουν εντοπιστεί ιδιότητες κατά των δερματικών και πνευμονικών παθήσεων, των διαταραχών της χοληδόχου κύστης και του γαστρεντερικού συστήματος, καθώς και δυνατότητες βελτίωσης της κατάστασης πασχόντων της νόσου Αλτσχάιμερ (Corchete 2008). Εκτός από τα πολλά θετικά αποτελέσματα της σιλυμαρίνης, κάποιες έρευνες έδειξαν πως τα επιμέρους συστατικά της μεταβολίζονται στον οργανισμό και στα τελικά σημεία οι ουσίες που καταλήγουν είναι διαφορετικές από αυτές που εκχυλίστηκαν από τους σπόρους (Calani et al. 2012). Σύμφωνα με έρευνα των Post-White et al. (2007), οι κύριες φαρμακευτικές ιδιότητες της σιλυμαρίνης είναι αντικαρκινικές, αντικαταθλιπτικές, αντιοξειδωτικές, καρδιο-προστατευτικές, πεπτικές, προστατευτικές και διεγερτικές για το ήπαρ, ανοσοδιεγερτικές, και νευροπροστατευτικές. Παρακάτω αναλύονται οι κύριες φαρμακευτικές ιδιότητες και χρήσεις της σιλυμαρίνης και των επιμέρους συστατικών της.

- Προστασία ήπατος

Το ήπαρ αποτελεί ένα σημαντικό όργανο που διαδραματίζει βασικό ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης στον οργανισμό, καθώς είναι υπεύθυνο για πολλαπλές μεταβολικές διεργασίες και φυσιολογικές λειτουργίες όπως η παραγωγή ενέργειας και χολής, η αποθήκευση βιταμινών και ο μεταβολισμός πρωτεϊνών, υδατανθράκων και λιπιδίων (Vargas-Mendoza et al. 2014). Η σιλυμαρίνη έχει τη δυνατότητα να αδρανοποιεί του διάφορους παράγοντες τοξικότητας που μεταφέρονται στο ήπαρ, συμπεριλαμβανομένων της παρακεταμόλης (acetaminophen), της αιθανόλης και του τετραχλωριδίου του άνθρακα (στα ζώα) (Fraschini et al. 2002). Ακόμη, έχει αποδειχθεί η θεραπεία δηλητηριάσεων από το μανιτάρι *Amanita phalloides* έως και 24 ώρες μετά την κατανάλωση των δηλητηριωδών τοξινών amanitin και phalloidin του μανιταριού με 100% αποτελεσματικότητα από τη χρήση σιλυμαρίνης (Luper 1998). Ακόμη, κλινικές μελέτες αποδεικνύουν τις προστατευτικές δράσεις της σιλυμαρίνης σε οξεία ιογενή ηπατίτιδα, και τοξική ηπατίτιδα επαγόμενη από ψυχότροπες ουσίες, καθώς και

σε σχετιζόμενες με το αλκοόλ παθήσεις, συμπεριλαμβανομένης της κίρρωσης του ήπατος (Fraschini et al. 2002). Σύμφωνα με τους Lucena et al. (2002), η καθημερινή κατανάλωση 150 mg σιλυμαρίνης για 6 μήνες απέφερε θετικά αποτελέσματα σε ασθενείς που έπασχαν από κίρρωση του ήπατος. Επιπλέον, έχουν εντοπιστεί ιδιότητες κατά των λοιμώξεων του ήπατος και υπέρ της ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού, ιδιότητες ενίσχυσης της πρωτεϊνικής σύνθεσης και ιδιότητες για την καταπολέμηση της ίνωσης του ήπατος (Abenavoli et al. 2010).

- Αντικαρκινικές ιδιότητες

Η καρκινογένεση αποτελεί μια πολύπλευρη διαδικασία που ενεργοποιείται με την έκφραση μεταγραφικών παραγόντων και πρωτεϊνών προκαλώντας έτσι απορρύθμιση του κυτταρικού κύκλου (Ramasamy & Agarwal 2008). Η σιλυμαρίνη διαθέτει υψηλή αντικαρκινική ικανότητα έναντι των κυττάρων του ηπατικού καρκινώματος τροποποιώντας τον κυτταρικό κύκλο και τις σχετικές πρωτεΐνες, προκαλώντας καταστολή ανάπτυξης και αποπτωτικό θάνατο, όπως και σε άλλες μορφές καρκινικών κυττάρων (προστάτης, δέρμα, νεφρό, κόλον) (Radko & Cybulski 2007). Το *Silybum marianum* έχει τις δυνατότητες για έναν ιδανικό αντικαρκινικό παράγοντα όντας μη τοξικό, υψηλά αποτελεσματικό, με γνωστό τρόπο δράσης, χαμηλό κόστος και συμβατό με τον ανθρώπινο οργανισμό (Sidhu et al. 2011). Συγκεκριμένα, σε έρευνα από τους Vaid & Katiyar (2010) βρέθηκε ότι η σιλυμαρίνη αποτελεί πιθανό παράγοντα καταπολέμησης της φωτοκαρκινογένεσης, ικανότητα που προκύπτει από τις αντιοξειδωτικές και ανοσορυθμιστικές της δράσεις σε δέρμα ερεθισμένο από UVB ακτινοβολία. Επίσης, σύμφωνα με τους ίδιους συγγραφείς η χρήση σιλυμαρίνης σε συνδυασμό με αντιηλιακά μπορεί να αποβεί ως θετική στρατηγική παρεμπόδισης των δυσμενών επιδράσεων της ακτινοβολίας UV. Ακόμη, σύμφωνα με μελέτη που εξέταζε ξεχωριστά τα επιμέρους συστατικά της σιλυμαρίνης στην αντιμετώπιση του καρκίνου του προστάτη, βρέθηκε ότι η ισοσιλυβίνη B ήταν ο πιο πιθανός καταστολέας αυτού του τύπου καρκίνου (Davis-Searles et al. 2015).

- Αντιϊκός παράγοντας

Η αυξημένη σημασία των ιών, σύμφωνα με τους Liu et al. (2019) στην ανθρώπινη υγεία και τα αυξανόμενα φαινόμενα επιδημιών παγκοσμίως λόγω της

αύξησης του πληθυσμού και των μετακινήσεων, υποδεικνύουν τη συνεχή ανάγκη για τον εντοπισμό αντιϊκών στρατηγικών εναντίον μολυσματικών παραγόντων. Σύμφωνα με τους ίδιους ερευνητές, η σιλυμαρίνη και τα επιμέρους στοιχεία της έχουν αναφερθεί να διαθέτουν πιθανές αντιϊκές ιδιότητες εναντίον αρκετών ιών στοχεύοντας στα πολλαπλά στάδια της ανάπτυξής τους. Η δράση της σιλυμαρίνης είναι γνωστή στην καταπολέμηση ιών, όπως η ηπατίτιδα Β και C, ο ιός της γρίπης (Influenza A virus), ο ιός HIV και θεωρείται ότι μπορεί να φέρει θετικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση και άλλων ιών (Liu et al. 2019). Ακόμη, βρέθηκε ότι η σιλυμαρίνη και τα επιμέρους συστατικά λειτουργούν πιθανώς παρεμποδιστικά στην νόσο Ζίκα (da Silva et al. 2020). Σύμφωνα με πρόσφατη έρευνα για την καταπολέμηση του Covid-19, που εξέταζε τη δράση φυτικών εκχυλισμάτων έναντι της νόσου, προέκυψαν αποτελέσματα που έδειξαν ότι η σιλυβίνη αποτελεί έναν πολλά υποσχόμενο καταστολέα που στοχεύει στις πρωτεΐνες του SARS-COV-2 και παρουσιάζει καλύτερη συγγένεια από τα συνθετικά φάρμακα, όπως η υδροξυχλωροκίνη που έχει προταθεί για την αντιμετώπιση της λοίμωξης από Covid-19 (Pandit & Latha 2020). Σε άλλη έρευνα προτείνεται η χρήση της σιλυμαρίνης ως υποστήριξη θεραπείας σε περιπτώσεις επιδείνωσης ή ανεπάρκειας της ηπατικής λειτουργίας σε ασθενείς της Covid-19 (Akbas & Akcakaya 2020).

- Αντικαταθλιπτικές ιδιότητες και ψυχική υγεία

Σύμφωνα με τους Kosari-Nasab et al. (2018) βρέθηκε ότι σε σύγκριση με τις ουσίες fluoxetine και diazepam η σιλυμαρίνη λειτουργεί θετικά, με αγχολυτικά και αντικαταθλιπτικά αποτελέσματα σε ποντίκια με εγκεφαλική βλάβη. Ακόμη, σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε αναφορικά με το σύνδρομο OCD καταγράφηκε ότι εκχυλίσματα από το *Silybum marianum* απέφεραν θετικά αποτελέσματα στην εμμονή και τον ψυχαναγκασμό από την πέμπτη εβδομάδα χρήσης των σκευασμάτων, ενώ παράλληλα δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές παρενέργειες (Sayyah et al. 2010).

#### **1.4.3. Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή σιλυμαρίνης**

Η ζήτηση για την παραγωγή σιλυμαρίνης είναι συνεχώς αυξανόμενη (18-20 t ανά χρόνο), καθώς φαίνεται να λειτουργεί θετικά στην καταπολέμηση παθήσεων του ήπατος (Ram et al. 2005). Ακόμη, λόγω των οικονομικών, οικολογικών και αποδοτικών

χαρακτηριστικών της χρησιμοποιείται συχνά από τις βιομηχανίες καλλυντικών και φαρμακοποιίας για τα πολύτιμα εκχυλίσματά της (Nowak et al. 2021). Για τους λόγους αυτούς και για πολλούς ακόμη που αναφέρθηκαν προηγουμένως, σημαντικό ρόλο στην παραγωγή σιλυμαρίνης διαδραματίζουν οι παράγοντες που επηρεάζουν την περιεκτικότητά της στο σπόρο. Οι παράγοντες αυτοί αναφέρονται παρακάτω.

Με βάση διάφορες έρευνες, η σύνθεση της σιλυμαρίνης αλλά και η περιεκτικότητά της εξαρτάται από την ποικιλία, την τοποθεσία της καλλιέργειας, καθώς και από τις συνθήκες ανάπτυξης (Martin et al. 2006, Alemardan et al. 2013, Poppe & Petersen 2016 ). Σε εργασία που εκπονήθηκε με σκοπό την μελέτη της προσαρμοστικής παραλλαγής σε φυτά *Silybum marianum* στη Μεσόγειο, βρέθηκε ότι οι πληθυσμοί που αναπτύσσονταν σε νοτιότερες περιοχές ολοκλήρωναν τον κύκλο ζωής τους νωρίτερα, ήταν ψηλότερα, πιο αραιά και παρήγαγαν περισσότερα και πιο μικρά αχάινια με υψηλότερο ποσοστό σε πολυφαινόλες σε σχέση με φυτά που αναπτύσσονταν σε βορειότερες περιοχές, παρατηρώντας έτσι συσχέτιση του ποσοστού σιλυμαρίνης με τη γεωγραφική κατανομή του πληθυσμού (Vaknin & Mogilevski 2019). Οι Hammouda et al. (1993) αναφέρουν ότι το ποσοστό σιλυμαρίνης αυξήθηκε σε πληθυσμούς που καλλιεργούνταν, συγκριτικά με αυτοφυείς πληθυσμούς.

Σύμφωνα με τους Chambers et al. (2017), η μέθοδος εκχύλισης των σπόρων αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην απομόνωση των φλαβονολιγνανών, η οποία πραγματοποιείται σε πρώτο στάδιο συνήθως με τη χρήση εξανίου ή πετρελαϊκού αιθέρα για την απομάκρυνση του ελαίου και στη συνέχεια η σιλυμαρίνη εκχυλίζεται με ακετόνη ή μεθανόλη. Σε πρόσφατη έρευνα που εξετάστηκε η σύγκριση μεταξύ των συνήθων μεθόδων εκχύλισης και της εκχύλισης με χρήση φούρνου μικροκυμάτων, βρέθηκε πως η δεύτερη ήταν πιο αποτελεσματική σε σχέση με τις συνήθεις μεθόδους (Saleh et al. 2017).

Ένας ακόμη παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει την περιεκτικότητα της σιλυμαρίνης σύμφωνα με τους Chambers et al. (2017) είναι ο πολυμερισμός που μπορεί να πραγματοποιηθεί κατά την επεξεργασία και την αποθήκευση της σιλυμαρίνης



## Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup>: Υλικά και μέθοδοι

### 2.1. Μορφολογικές παράμετροι φυτών και σπόρων

Το χαρακτηριστικό μορφολογικό γνώρισμα του *Silybum marianum* που το διαφοροποιεί από το κοινό γαϊδουράγκαθο, είναι κυρίως οι λευκές διακριτές νευρώσεις που καλύπτουν τα φύλλα του φυτού (Εικόνα 2.1). Το γνώρισμα αυτό επέτρεψε τη συλλογή δειγμάτων από τους κατάλληλους αυτοφυείς πληθυσμούς για τη διεξαγωγή του πειράματος.



**Εικόνα 9.** Χαρακτηριστικές λευκές νευρώσεις στα φύλλα φυτών *Silybum marianum*.

Επιπλέον, μετρήθηκαν και υπολογίστηκαν οι μορφολογικές παράμετροι του βάρους 1000 σπόρων και του χρώματος για τους σπόρους που εξάχθηκαν από τις κεφαλές των φυτών. Ο τρόπος με τον οποίο προσδιορίστηκε το βάρος 1000 σπόρων ήταν το τυχαίο ζύγισμα 4 x 100 σπόρων για τον κάθε πληθυσμό γαϊδουράγκαθου. Στη συνέχεια για τη μέτρηση του χρώματος των σπόρων υπολογίστηκαν οι παράμετροι  $L^*$ ,  $c^*$ ,  $h^*$  μέσω μετρητή χρώματος CR-400 και μέσω των παρακάτω εξισώσεων:

$$1. \quad c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

$$2. \quad h^* = \left( \frac{\arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)}{6.2832} \right) \times 360$$

όπου  $L^*$ : η φωτεινότητα [0 (μαύρο) έως 100 (λευκό)],  $c^*$ : η χρωματική πυκνότητα,  $h^*$ : η χροιά,  $a^*$ : η τιμή κόκκινο/πράσινο,  $b^*$ : η τιμή κίτρινο/μπλε.

## 2.2. Συλλογή δειγμάτων

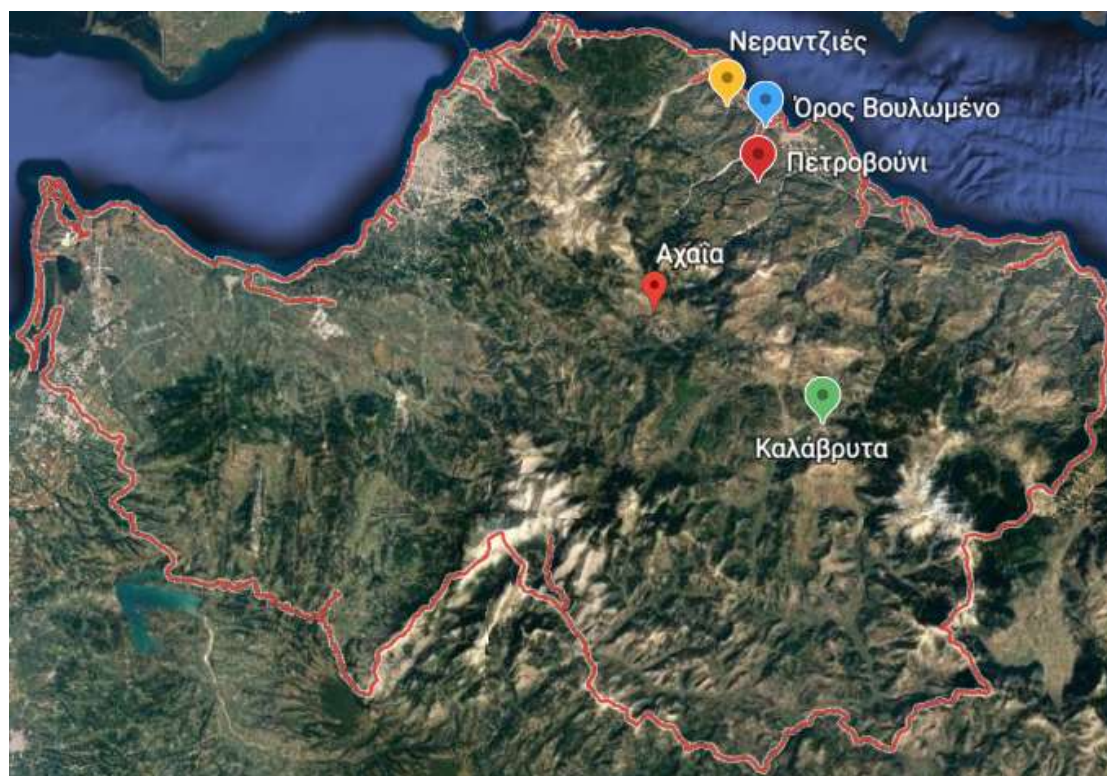
Η συλλογή των κεφαλών των φυτών πραγματοποιήθηκε κατά τον μήνα Μάιο του έτους 2018. Οι πληθυσμοί βρίσκονταν στο στάδιο της πλήρους ωρίμανσής τους και τα βλαστικά τους μέρη είχαν διακόψει τις εισροές νερού στα φυτικά τμήματα. Από τον κάθε πληθυσμό συλλέχθηκαν περίπου 30 κεφαλές. Τα άνθη της κάθε κεφαλής είχαν αποχρωματιστεί, δεδομένο που παραπέμπει στην καταλληλόλητα λήψης δειγμάτων τη συγκεκριμένη χρονική στιγμή για εργαστηριακή επεξεργασία (Εικόνα 2.2).



**Εικόνα 10.** Τα βλαστικά μέρη βρίσκονται σε στάδιο μάρανσης και οι ανθοκεφαλές έχουν αποχρωματιστεί.

### 2.3. Περιοχές δειγματοληψίας και κλιματικές συνθήκες

Τα δείγματα των αυτοφυών πληθυσμών *Silybum marianum* λήφθηκαν από τέσσερις διαφορετικές περιοχές του Νομού Αχαΐας, ήτοι Πετροβούνι, Νερατζιές, Βουλωμένο και Καλάβρυτα. Όπως φαίνεται στον χάρτη της εικόνας 2.3, οι περιοχές βρίσκονται στα δυτικά της Αχαΐας και πέραν των Καλαβρύτων που βρίσκονται προς τα νότια και κεντρικά του νομού, οι υπόλοιπες τρεις εντοπίζονται στο βορειότερο τμήμα της. Η διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών των περιοχών Νερατζιές, Βουλωμένο και Πετροβούνι, οι οποίες χιλιομετρικά δεν απέχουν σημαντικά, έγκειται στην απόσταση αυτών από την επιφάνεια της θάλασσας, δηλαδή στο υψόμετρο (Πίνακας). Το χωριό Νερατζιές και η περιοχή Βουλωμένο, βρίσκονται σχετικά πλησίον της θάλασσας όπου το κλίμα παρουσιάζεται πιο ήπιο, σε σύγκριση με τις ορεινές περιοχές Πετροβούνι και Καλάβρυτα όπου οι θερμοκρασίες που προκύπτουν είναι χαμηλότερες και οι βροχοπτώσεις πιο έντονες.



**Εικόνα 11.** Γεωγραφική κατανομή των αυτοφυών πληθυσμών *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν.

**Πίνακας 2.** Ονομασία περιοχής, γεωγραφικές συντεταγμένες και υψόμετρο.

Ονομασία περιοχής	Γεωγραφικό πλάτος	Γεωγραφικό μήκος	Υψόμετρο (m)
Βουλωμένο	38°14'	22°03'	155
Καλάβρυτα	38°02'	22°07'	728
Νερατζιές	38°16'	22°01'	58
Πετροβούνι	38°12'	22°02'	514

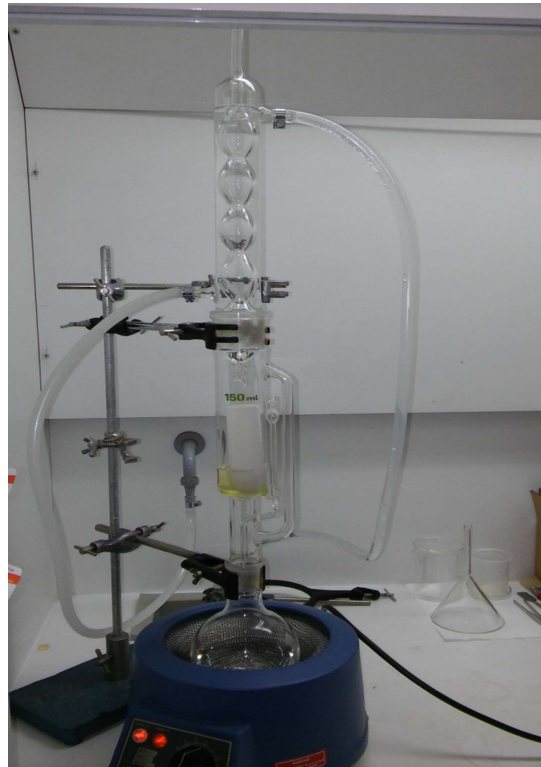
## 2.4. Μεθοδολογία και μετρήσεις

### 2.4.1. Εκχύλιση σιλυμαρίνης και ανάλυση

Κατά την έναρξη του πειράματος στο εργαστήριο, πραγματοποιήθηκε αποξήρανση όλων των σπόρων σε ειδικό ξηραντήρα και 5 g σπόρου από κάθε βιότυπο αλέστηκαν με ειδικό αλεστικό μηχάνημα. Με τη χρήση συσκευής πολλαπλής εκχύλισης Soxhlet (Εικόνα 2.4), η οποία είναι κατάλληλη για εκχύλιση στερεών, πραγματοποιήθηκε εκχύλιση των σπόρων με 200 mL εξανίου. Το εκχύλισμα που λήφθηκε μετά το πέρας τεσσάρων ωρών τοποθετήθηκε σε περιστροφικό εξατμιστήρα, στους 40 °C, με σκοπό την απομάκρυνση του διαλύτη και την απομόνωση του ελαίου. Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν 200 mL μεθανόλης για να εκχυλιστούν τα περιεχόμενα στο υπόλειμμα των αλεσμένων σπόρων συστατικά της σιλυμαρίνης με πολλαπλή εν θερμώ εκχύλιση σε συσκευή Soxhlet για τέσσερις ώρες. Αφού ολοκληρώθηκε η εκχύλιση, το εκχύλισμα τοποθετήθηκε σε περιστροφικό εξατμιστήρα (Εικόνα 2.6) για την απομάκρυνση της μεθανόλης σε κενό και στους 40°C. Με τον τρόπο αυτό τα συστατικά της σιλυμαρίνης απομονώθηκαν στο στερεό υπόλειμμα. Το στερεό υπόλειμμα επαναδιαλύθηκε με 25 mL μεθανόλης, παραλήφθηκε 1 mL του διαλύματος και αραιώθηκε με μεθανόλη έως τα 25 mL για τον προσδιορισμό της σιλυμαρίνης σε σύστημα υγρής χρωματογραφίας.

Η ανάλυση για τον διαχωρισμό των συστατικών της σιλυμαρίνης, πραγματοποιήθηκε σε σύστημα υγρής χρωματογραφίας HP 1100 της εταιρίας Agilent. Σε σταθερό ρυθμό ροής της τάξεως του 1 mL/min και σε ρυθμισμένη θερμοκρασία 40 °C, εγχύθηκαν στη συσκευή, σε μορφή ενέσιμων διαλυμάτων, οι ποσότητες των προς εξέταση δειγμάτων. Η συνολική συγκέντρωση της σιλυμαρίνης στα δείγματα

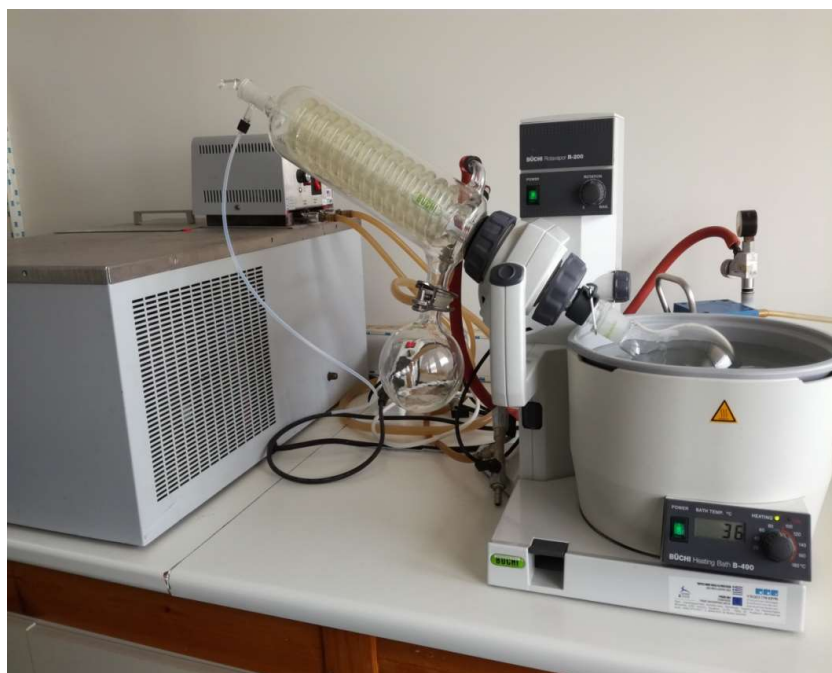
υπολογίστηκε ως το άθροισμα των τιμών των μεμονωμένων συστατικών της σιλυμαρίνης (φλαβονολιγνάνες και ταξιφολίνη), που προήλθαν από την HPLC ανάλυση.



**Εικόνα 12.** Συσκευή πολλαπλής εν θερμώ εκχύλισης Soxhlet



**Εικόνα 13.** Σφαιρικές φιάλες με το εξανικό (1) και με το μεθανολικό (2) εκχύλισμα, αντίστοιχα



**Εικόνα 14.** Περιστροφικός εξατμιστήρας.

#### **2.4.2. Αντιοξειδωτική ικανότητα**

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε, κατόπιν τροποποιήσεων, για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας της σιλυμαρίνης, προτάθηκε το 1958 από τον Blois και αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα μέσω δέσμευσης της ρίζας DPPH<sup>•</sup>. Πρόκειται για μια απλή και γρήγορη μέθοδο κατά την οποία η ρίζα 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλδραζύλιο (DPPH<sup>•</sup>) αλληλεπιδρά με τα εξεταζόμενα φυτικά εκχυλίσματα. Η συγκέντρωση DPPH που χρησιμοποιήθηκε, με τροποποίηση της προτεινόμενης δοσολογίας, ήταν 60 μM σε μεθανόλη. Κατά την πειραματική διαδικασία 3 mL από διάλυμα DPPH, που παρασκευάστηκε την ίδια ημέρα, αναμίχθηκαν με 200 μL φυτικού εκχυλίσματος, με ασκορβικό οξύ (0,1-1,0 mM) ή με μεθανόλη και παράχθηκαν τα εξής διαλύματα αντίστοιχα: δείγμα, πρότυπο και μάρτυρας. Τα μείγματα ανακινήθηκαν και παρέμειναν σε συνθήκες σκότους για 30 min. Η μέτρηση της απορρόφησης του κάθε δείγματος έγινε στα 517 nm. Τα αποτελέσματα της αντιοξειδωτικής ικανότητας του κάθε δείγματος λήφθηκαν από την εξής εξίσωση:

$$\%DPPH^{\bullet} = [1 - (A_{\text{δείγματος}} / A_{\text{μάρτυρα}})] \times 100$$

Η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας πραγματοποιήθηκε τον Αύγουστο του 2018.

**Πίνακας 3.** Μεθοδολογίες και συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν.

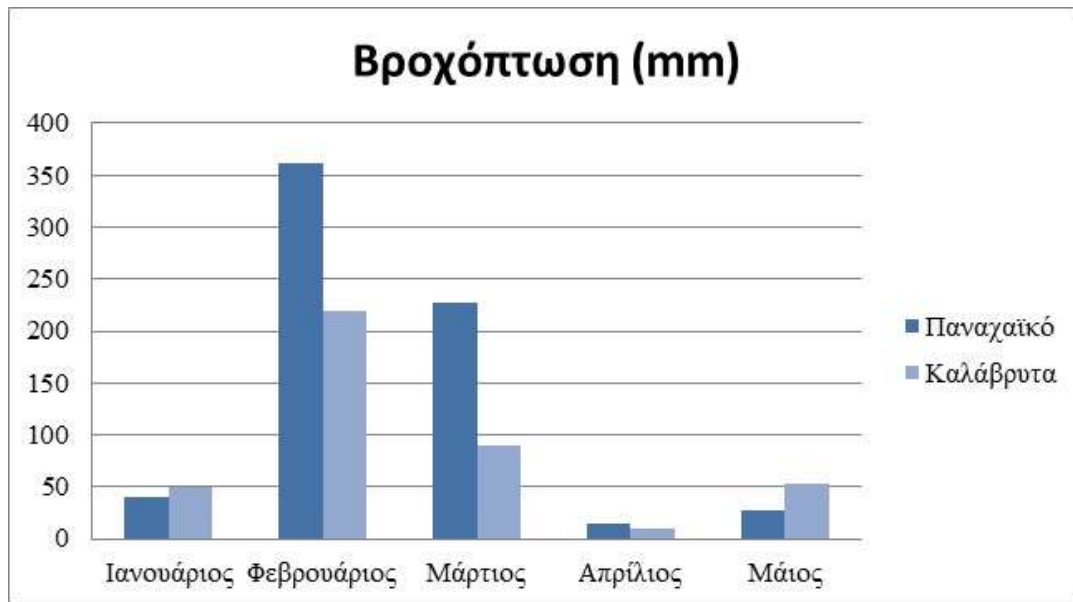
Μεθοδολογία	Χημικές ενώσεις	Ποσότητα	Θερμοκρασία	Συσκευή
Εκχύλιση	Εξάνιο	200 mL		Soxhlet
Ξήρανση (σε κενό)	Εξάνιο		40 °C	Περιστροφικός εξατμιστήρας
Εκχύλιση	Μεθανόλη	200 mL		Soxhlet
Ξήρανση (σε κενό)	Μεθανόλη		40 °C	Περιστροφικός εξατμιστήρας
Χρωματογραφία	Αραιό Μεθανολικό δ/μα σιλυμαρίνης			HPLC-UV
Αντιοξειδωτική ικανότητα	Αραιό Μεθανολικό δ/μα σιλυμαρίνης + DPPH	1 mL		Φασματοφωτόμετρος

## 2.5. Μετεωρολογικά Δεδομένα

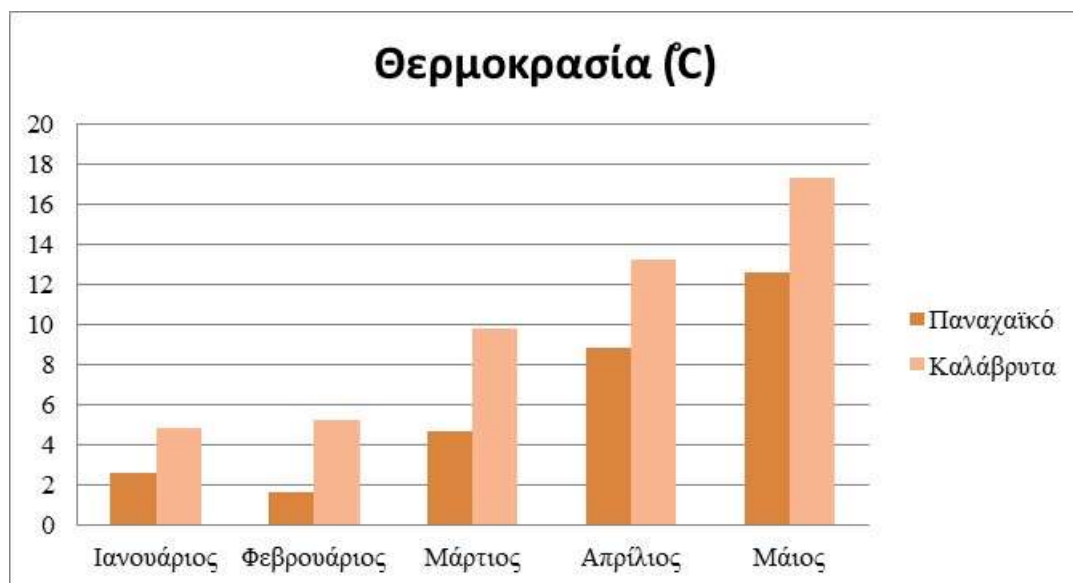
Τα μετεωρολογικά δεδομένα λήφθηκαν από την ιστοσελίδα [www.meteo.gr](http://www.meteo.gr). Τα δεδομένα αφορούν τους μετεωρολογικούς σταθμούς Παναχαϊκό και Καλάβρυτα και είναι κοντά στις περιοχές δειγματοληψίας των κεφαλών του γαιδουράγκαθου. Στα διαγράμματα 1 και 2 παρουσιάζονται η μηνιαία και μέση μηνιαία θερμοκρασία κατά την κύρια περίοδο ανάπτυξης (Ιανουάριος-Μάιος 2018) του γαιδουράγκαθου.

## 2.6. Στατιστική ανάλυση

Στην παρούσα εργασία τα αποτελέσματα παρουσιάστηκαν ως μέσες τιμές τριών επαναλήψεων. Επίσης, από όλους τους συλλεχθέντες πληθυσμούς υπολογίστηκαν και οι συντελεστές διακύμανσης (CV) με τη χρήση του υπολογιστικού φύλλου Excel.



**Διάγραμμα 1.** Μηνιαία βροχόπτωση στις περιοχές Καλάβρυτα και Παναχαϊκό κατά το διάστημα (Ιανουάριος έως Μάιος 2018) της κύριας ανάπτυξης των φυτών του γαϊδουράγκαθου.



**Διάγραμμα 2.** Μέση μηνιαία θερμοκρασία στις περιοχές Καλάβρυτα και Παναχαϊκό κατά το διάστημα (Ιανουάριος έως Μάιος 2018) της κύριας ανάπτυξης των φυτών του γαϊδουράγκαθου.



## Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup>: Αποτελέσματα

### 3.1. Μορφολογικές παράμετροι σπόρων

#### 3.1.1. Χρώμα σπόρων

Για τη μέτρηση του χρώματος των σπόρων υπολογίστηκαν οι παράμετροι  $L^*$ ,  $c^*$  και  $h^*$ . Για τον υπολογισμό των παραγόντων  $c^*$  και  $h^*$ , χρησιμοποιήθηκαν οι εξισώσεις (1) και (2) που αναφέρθηκαν στο υποκεφάλαιο 2.1. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις μετρήσεις των τριών παραγόντων αναλύονται ξεχωριστά για τον κάθε παράγοντα παρακάτω.

##### 3.1.1.α. Φωτεινότητα ( $L^*$ )

Η μικρότερη τιμή της παραμέτρου  $L^*$  (33,24) διαπιστώθηκε στον πληθυσμό Πετροβούνι, ενώ η μεγαλύτερη τιμή (48,89) μετρήθηκε στον πληθυσμό Καλάβρυτα (Πίνακας 4). Η μέση τιμή των μετρήσεων για τη φωτεινότητα των σπόρων στους τέσσερις πληθυσμούς γαϊδουράγκαθου ήταν 39,65, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (CV) ήταν της τάξης του 15,16%.

**Πίνακας 4.** Τιμές φωτεινότητας  $L^*$  των σπόρων του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i>	$L^*$
Καλάβρυτα	48,89*±0,33
Πετροβούνι	33,24±0,03
Νερατζιές	39,13±0,17
Βουλωμένο	37,35±0,10
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	39,65
Τυπική απόκλιση	6,01
CV%	15,16
*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα.	

### 3.1.1.β. Χρωματική πυκνότητα (C\*)

Μεταξύ των τιμών της παραμέτρου C\* που μετρήθηκαν για τους σπόρους των πληθυσμών υπήρξαν σημαντικές διαφορές. Η μικρότερη τιμή του παράγοντα C\* (5,85) παρατηρήθηκε στον πληθυσμό Πετροβούνι, ενώ η μεγαλύτερη τιμή (12,66) μετρήθηκε στον πληθυσμό Καλάβρυτα (Πίνακας 5). Η μέση τιμή των μετρήσεων για την παράμετρο C\* των σπόρων των τεσσάρων πληθυσμών *Silybum marianum* ήταν 9,39, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (CV) ήταν της τάξης του 27,06%.

**Πίνακας 5.** Τιμές χρωματικής πυκνότητας (C\*) στους σπόρους του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i>	C*
Καλάβρυτα	12,66*±0,08
Πετροβούνι	5,85±0,02
Νερατζιές	9,97±0,11
Βουλωμένο	9,08±0,07
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	9,39
Τυπική απόκλιση	2,54
CV%	27,06

\*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα.

### 3.1.1.γ. Χροιά (h°)

Η μικρότερη τιμή του παράγοντα h° (64,40) παρατηρήθηκε στον πληθυσμό Πετροβούνι, ενώ η μεγαλύτερη τιμή (81,40) μετρήθηκε στον πληθυσμό Καλάβρυτα (Πίνακας 6). Η μέση τιμή των μετρήσεων για την χροιά των τεσσάρων πληθυσμών γαϊδουράγκαθου ήταν 73,03, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (CV) ήταν της τάξης του 9,12%.

**Πίνακας 6.** Τιμές χροιάς (h°) στους σπόρους του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

<b>Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i></b>	<b>*h°</b>
<b>Καλάβρυτα</b>	81,40±0,43
<b>Πετροβούνι</b>	64,40±0,34
<b>Νερατζιές</b>	76,05±0,26
<b>Βουλωμένο</b>	70,26±0,46
<b>Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών</b>	73,03
<b>Τυπική απόκλιση</b>	6,66
<b>CV%</b>	9,12

\*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα.

### 3.1.2. Βάρος 1000 σπόρων

Κατά τη μέτρηση του βάρους των σπόρων *Silybum marianum* παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις, γεγονός που προκύπτει από το αποτέλεσμα της σχετικής απόκλισης (CV), η οποία ήταν της τάξης του 14,92%. Η μικρότερη τιμή του βάρους 1000 σπόρων (15,20 g) παρατηρήθηκε στον πληθυσμό Καλάβρυτα, ενώ η μεγαλύτερη τιμή (22,26 g) μετρήθηκε στον πληθυσμό Νερατζιές (Πίνακας 7). Η μέση τιμή των μετρήσεων για το βάρος 1000 σπόρων των τεσσάρων πληθυσμών γαϊδουράγκαθου ήταν 18,64g.

### 3.2. Περιεκτικότητα σιλυμαρίνης

Τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της περιεκτικότητας σε σιλυμαρίνη στους σπόρους διαφόρων πληθυσμών γαϊδουράγκαθου έδειξαν αξιόλογες διαφορές μεταξύ των 4 πληθυσμών. Η μικρότερη περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη (2,15%), η οποία ήταν αρκετά χαμηλή, καταγράφηκε στον πληθυσμό Βουλωμένο, ενώ η μεγαλύτερη

περιεκτικότητα (4,71%) προσδιορίστηκε στον πληθυσμό Καλάβρυτα (Πίνακας 8). Η μέση τιμή της σιλυμαρίνης των τεσσάρων πληθυσμών γαϊδουράγκαθου ήταν 3,87%, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (CV) ήταν της τάξης του 27,63%.

**Πίνακας 7.** Μετρήσεις βάρους 1000 σπόρων για τους πληθυσμούς του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i>	*Βάρος 1000 σπόρων (g)
Καλάβρυτα	15,20±0,47
Πετροβούνι	18,06±0,59
Νερατζιές	22,26±0,77
Βουλωμένο	19,04±0,55
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	18,64
Τυπική απόκλιση	2,78
CV%	14,92

\*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα.

**Πίνακας 8.** Περιεκτικότητα σιλυμαρίνης (%) στους σπόρους του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i>	*Σιλυμαρίνη %
Καλάβρυτα	4,71±0,16
Πετροβούνι	4,21±0,15
Νερατζιές	4,40±0,13
Βουλωμένο	2,15±0,03
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	3,87
Τυπική απόκλιση	1,07
CV%	27,63

\*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα.

### 3.3. Περιεκτικότητα ελαίου

Διαφορές παρατηρήθηκαν και κατά τον προσδιορισμό του ποσοστού περιεχόμενου ελαίου σε σπόρους *Silybum marianum*, οι οποίες όμως δεν ήταν σημαντικές. Η μικρότερη περιεκτικότητα σε έλαιο (22,39%) παρατηρήθηκε στον πληθυσμό Καλάβρυτα, ενώ η μεγαλύτερη περιεκτικότητα (24,65%) εντοπίστηκε στον πληθυσμό Νερατζιές (Πίνακας 9). Η μέση τιμή του ελαίου των τεσσάρων πληθυσμών γαϊδουράγκαθου ήταν 23,57%, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (CV) ήταν 4,48%.

**Πίνακας 9.** Περιεκτικότητα ελαίου (%) στους σπόρους του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i>	* Έλαιο %
Καλάβρυτα	22,39±0,34
Πετροβούνι	24,28±0,22
Νερατζιές	24,65±0,36
Βουλωμένο	22,95±0,19
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	23,57
Τυπική απόκλιση	1,06
CV%	4,48

\*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα.

### 3.4. Περιεκτικότητα επιμέρους συστατικών σιλυμαρίνης

Πέραν του προσδιορισμού της σιλυμαρίνης συνολικά πραγματοποιήθηκε και ο προσδιορισμός των επιμέρους συστατικών της στους σπόρους ((mg ουσία/g σπόρων). Συγκεκριμένα, καταγράφηκαν οι περιεκτικότητες των παρακάτω ουσιών: ταξιφολίνη, σιλυχριστίνη, σιλυδιανίνη + ισοσιλυχριστίνη, σιλυβίνη Α, σιλυβίνη Β, ισοσιλυβίνη Α και ισοσιλυβίνη Β.

Στις παρακάτω παραγράφους παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν ξεχωριστά για την κάθε ουσία.

### 3.4.1. Περιεκτικότητα ταξιφολίνης

Κατά την καταγραφή της περιεκτικότητας της ταξιφολίνης παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές στα αποτελέσματα των δειγμάτων των πληθυσμών γαϊδουράγκαθου στην Αχαΐα. Συγκεκριμένα, η μικρότερη περιεκτικότητα σε ταξιφολίνη (2,40 mg/g) παρατηρήθηκε στον πληθυσμό Βουλωμένο, ενώ η μεγαλύτερη περιεκτικότητα (4,53 mg/g) μετρήθηκε στον πληθυσμό Πετροβούνι (Πίνακας 10). Η μέση τιμή της ταξιφολίνης των τεσσάρων πληθυσμών *Silybum marianum* ήταν 3,64 mg/g, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (CV) ήταν της τάξης του 25,76%.

**Πίνακας 10.** Περιεκτικότητα ταξιφολίνης (mg/g) στους σπόρους του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i>	*Ταξιφολίνη (mg/g)
Καλάβρυτα	3,18±0,08
Πετροβούνι	4,53±0,09
Νερατζιές	4,44±0,05
Βουλωμένο	2,40±0,04
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	3,64
Τυπική απόκλιση	0,94
CV%	25,76

\*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα.

### 3.4.2. Περιεκτικότητα σιλυχριστίνης

Οι τιμές περιεκτικότητας σε σιλυχριστίνη, παρουσίασαν ακόμη πιο σημαντικές διαφορές μεταξύ των πληθυσμών σε σχέση με την περιεκτικότητα των σπόρων σε ταξιφολίνη. Συγκεκριμένα, η μικρότερη περιεκτικότητα σε σιλυχριστίνη (1,21 mg/g) παρατηρήθηκε στον πληθυσμό Βουλωμένο, ενώ η μεγαλύτερη περιεκτικότητα (2,84 mg/g) εντοπίστηκε στον πληθυσμό Νερατζιές (Πίνακας 11). Η μέση τιμή της

σιλυχριστίνης των τεσσάρων πληθυσμών ήταν 2,32 mg/g, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (CV) ήταν της τάξης του 29,68%.

**Πίνακας 11.** Περιεκτικότητα σιλυχριστίνης (mg/g) στους σπόρους του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i>	*Σιλυχριστίνη (mg/g)
Καλάβρυτα	2,77±0,04
Πετροβούνι	2,46±0,02
Νερατζιές	2,84±0,06
Βουλωμένο	1,21±0,04
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	2,32
Τυπική απόκλιση	0,69
CV%	29,68

\*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα.

### 3.4.3. Περιεκτικότητα σιλυδιανίνης + ισοσιλυχριστίνης

Κατά τον προσδιορισμό των τιμών περιεκτικότητας στις ουσίες σιλυδιανίνη + ισοσιλυχριστίνη καταγράφηκαν διαφορές στα αποτελέσματα των δειγμάτων των πληθυσμών. Η μικρότερη περιεκτικότητα στις δύο αυτές ουσίες (11,63 mg/g) παρατηρήθηκε στον πληθυσμό Βουλωμένο, ενώ η μεγαλύτερη περιεκτικότητα (26,83 mg/g) μετρήθηκε στον πληθυσμό Καλάβρυτα (Πίνακας 12). Η μέση τιμή των επιμέρους συστατικών σιλυμαρίνης, δηλαδή σιλυδιανίνης + ισοσιλυχριστίνης των τεσσάρων πληθυσμών ήταν 21,34 mg/g, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (CV) ήταν της τάξης του 28,50%.

**Πίνακας 12.** Περιεκτικότητα σιλυδιανίνης + ισοσιλυχριστίνης (mg/g) στους σπόρους του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

<b>Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i></b>	<b>*Σιλυδιανίνη + ισοσιλυχριστίνη (mg/g)</b>
<b>Καλάβρυτα</b>	26,83±0,68
<b>Πετροβούνι</b>	22,79±0,34
<b>Νερατζιές</b>	24,12±0,26
<b>Βουλωμένο</b>	11,63±0,25
<b>Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών</b>	21,34
<b>Τυπική απόκλιση</b>	6,08
<b>CV%</b>	28,50

\*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα.

#### **3.4.4. Περιεκτικότητα σιλυβίνης Α**

Διαφορές παρουσιάστηκαν και στα αποτελέσματα περιεκτικότητας σε σιλυβίνη Α, των δειγμάτων των πληθυσμών γαϊδουράγκαθου στην Αχαΐα. Συγκεκριμένα, η μικρότερη περιεκτικότητα σε σιλυβίνη Α (0,47 mg/g) παρατηρήθηκε στον πληθυσμό Βουλωμένο, ενώ η μεγαλύτερη περιεκτικότητα (0,98 mg/g) μετρήθηκε στον πληθυσμό Πετροβούνι (Πίνακας 13). Η μέση τιμή της σιλυβίνης Α των τεσσάρων πληθυσμών *Silybum marianum* ήταν 0,82 mg/g, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (CV) ήταν της τάξης του 26,82%.

#### **3.4.5. Περιεκτικότητα σιλυβίνης Β**

Κατά τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σιλυβίνης Β στους σπόρους, παρουσιάστηκαν διαφορές στα αποτελέσματα των δειγμάτων των πληθυσμών γαϊδουράγκαθου. Συγκεκριμένα, η μικρότερη περιεκτικότητα σε σιλυβίνη Β (1,42



mg/g) παρατηρήθηκε στον πληθυσμό Βουλωμένο, ενώ η μεγαλύτερη περιεκτικότητα (2,93 mg/g) μετρήθηκε στον πληθυσμό Καλάβρυτα (Πίνακας 14). Η μέση τιμή της σιλυβίνης Β των τεσσάρων πληθυσμών ήταν 2,38 mg/g, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (CV) έφτασε το 25,29%.

**Πίνακας 13.** Περιεκτικότητα σιλυβίνης Α (mg/g) στους σπόρους του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i>	*Σιλυβίνη Α (mg/g)
Καλάβρυτα	0,97±0,03
Πετροβούνι	0,98±0,03
Νερατζιές	0,84±0,02
Βουλωμένο	0,47±0,01
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	0,82
Τυπική απόκλιση	0,22
CV%	26,82

\*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα.

#### 3.4.6. Περιεκτικότητα ισοσιλυβίνης Α

Οι τιμές της περιεκτικότητας ισοσιλυβίνης Α στους σπόρους των τεσσάρων πληθυσμών παρουσίασαν σημαντικές διακυμάνσεις. Συγκεκριμένα, η μικρότερη περιεκτικότητα σε ισοσιλυβίνη Α (2,48 mg/g) καταγράφηκε στον πληθυσμό Βουλωμένο, ενώ η μεγαλύτερη περιεκτικότητα (5,77 mg/g) μετρήθηκε στον πληθυσμό Καλάβρυτα (Πίνακας 15). Η μέση τιμή της ισοσιλυβίνης Α των τεσσάρων πληθυσμών γαϊδουράγκαθου ήταν 4,60 mg/g, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (CV) ήταν της τάξης του 28,70%.

**Πίνακας 14.** Περιεκτικότητα σιλυβίνης B (mg/g) στους σπόρους του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i>	*Σιλυβίνη B (mg/g)
Καλάβρυτα	2,93±0,04
Πετροβούνι	2,66±0,03
Νερατζιές	2,50±0,04
Βουλωμένο	1,42±0,03
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	2,38
Τυπική απόκλιση	0,60
CV%	25,29

\*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα.

**Πίνακας 15.** Περιεκτικότητα ισοσιλυβίνης A (mg/g) στους σπόρους του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i>	*Ισοσιλυβίνη A (mg/g)
Καλάβρυτα	5,77
Πετροβούνι	4,91
Νερατζιές	5,24
Βουλωμένο	2,48
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	4,60
Τυπική απόκλιση	1,32
CV%	28,70

\*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων.

### 3.4.7. Περιεκτικότητα ισοσιλυβίνης B

Κατά την καταγραφή των περιεκτικοτήτων ισοσιλυβίνης B παρουσιάστηκαν οι σημαντικότερες διακυμάνσεις στα αποτελέσματα των δειγμάτων των πληθυσμών γαϊδουράγκαθου στην Αχαΐα, σε σχέση με τα υπόλοιπα επιμέρους συστατικά της σιλυμαρίνης. Η μικρότερη περιεκτικότητα σε ισοσιλυβίνη B (1,91 mg/g)

παρατηρήθηκε στον πληθυσμό Βουλωμένο, ενώ η μεγαλύτερη περιεκτικότητα (4,70 mg/g) μετρήθηκε στον πληθυσμό Καλάβρυτα (Πίνακας 16). Η μέση τιμή της ισοσιλβίνης των τεσσάρων πληθυσμών *Silybum marianum* ήταν 3,61 mg/g, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (CV) ήταν της τάξης του 30,08%.

**Πίνακας 16.** Περιεκτικότητα ισοσιλβίνης B (mg/g) στους σπόρους του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i>	*Ισοσιλβίνη B (mg/g)
Καλάβρυτα	4,70±0,07
Πετροβούνι	3,78±0,05
Νερατζιές	4,03±0,08
Βουλωμένο	1,91±0,04
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	3,61
Τυπική απόκλιση	1,08
CV%	30,08

\*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα.

### 3.5. Μετρήσεις DPPH

Η μικρότερη τιμή της αντιοξειδωτικής ικανότητας (3865  $\mu\text{mol}$  ασκορβικού οξέος/ 100g ξηρού βάρους) παρατηρήθηκε στον πληθυσμό Βουλωμένο, ενώ η μεγαλύτερη τιμή (4408  $\mu\text{mol}$  ασκορβικού οξέος/ 100g ξηρού βάρους) μετρήθηκε στον πληθυσμό Νερατζιές (Πίνακας 17). Η μέση τιμή των μετρήσεων για την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH των τεσσάρων πληθυσμών ήταν 4214  $\mu\text{mol}$  ασκορβικού οξέος/ 100g ξηρού βάρους, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (CV) ήταν της τάξης του 6,0%.

**Πίνακας 17.** Τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας DPPH στους σπόρους του φυτού *Silybum marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Αχαΐας.

<b>Πληθυσμοί <i>Silybum marianum</i></b>	<b>*DPPH (μmol ασκ. ο./ 100g ξηρού βάρους)</b>
<b>Καλάβρυτα</b>	4265±81,47
<b>Πετροβούνι</b>	4319±103,93
<b>Νερατζιές</b>	4408±82,53
<b>Βουλωμένο</b>	3865±72,37
<b>Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών</b>	4214
<b>Τυπική απόκλιση</b>	251,6
<b>CV%</b>	6,0

\*τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή των τριών επαναλήψεων ± τυπικό σφάλμα.

## 4. Συζήτηση

### 4.1. Μορφολογικές παράμετροι

Στην παρούσα εργασία παράμετροι όπως το χρώμα και το βάρος 1000 σπόρων παρουσίασαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των συλλεχθέντων σπόρων των πληθυσμών *Silybum marianum* της Νότιας Πελοποννήσου. Συγκεκριμένα, όσον αφορά το χρώμα των σπόρων, τη μεγαλύτερη σχετική απόκλιση (27,06%) απ' τους τρεις παράγοντες που αποτελούν το χρώμα, παρουσίασε ο παράγοντας της χρωματικής πυκνότητας (C\*). Εν συνεχεία, μέτρια σχετική απόκλιση (15,16%), σε σχέση με τη χρωματική πυκνότητα, εντοπίστηκε στον παράγοντα της φωτεινότητας (L\*), όπου το πιο ανοιχτό χρώμα σπόρων είχε ο πληθυσμός Καλάβρυτα (48,89), ενώ το πιο σκούρο ο πληθυσμός Πετροβούνι (33,24). Ακόμη, ο παράγοντας χροιά h<sup>o</sup> δεν παρουσίασε μεγάλη σχετική απόκλιση (9,12%). Αναφορικά με το βάρος των σπόρων, οι Rosińska et al. (2017) έδειξαν σε εργασία τους πως το χρώμα σχετίζεται με το βάρος 1000 σπόρων, καθώς σπόροι με πιο σκούρο περικάρπιο ήταν βαρύτεροι από αυτούς με πιο ανοιχτό χρώμα περικαρπίου. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν εν μέρει με τα αποτελέσματα των Rosińska et al. (2017) καθώς ο πληθυσμός Καλάβρυτα μετρήθηκε να έχει την χαμηλότερη τιμή βάρους 1000 σπόρων (15,20 g). Παρόλα αυτά, διαφωνούν παράλληλα, καθώς ο πληθυσμός με το υψηλότερο βάρος 1000 σπόρων, ήταν ο πληθυσμός Νερατζιές (22,26 g), και όχι ο πληθυσμός Πετροβούνι (18,06g) που φαίνεται να αποτελούνταν από τους πιο σκούρους σπόρους γαϊδουράγκαθου. Συνεπώς, δεν καταγράφηκε συσχέτιση μεταξύ χρώματος των σπόρων και βάρους 1000 σπόρων.

### 4.2. Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της περιεκτικότητας των σπόρων σε σιλυμαρίνη και έλαιο

Στα δείγματα από τους τέσσερις πληθυσμούς που μελετήθηκαν, τα ποσοστά σιλυμαρίνης στα μεθανολικά εκχυλίσματα των σπόρων έδειξαν διαφοροποιήσεις, καθώς κυμάνθηκαν από 2,09 έως 4,98%. Το ποσοστό διακύμανσης υπολογίστηκε να είναι της τάξης του 27,63%, γεγονός που δικαιολογείται από τα αρκετά χαμηλά επίπεδα σιλυμαρίνης που βρέθηκαν στον πληθυσμό Βουλωμένο (2,09-2,21%), ενώ οι υπόλοιποι πληθυσμοί σημείωσαν σημαντικά υψηλότερες τιμές περιεκτικότητας σιλυμαρίνης (3,96-4,98%). Σύμφωνα με πρόσφατη έρευνα σε ελληνικούς πληθυσμούς

*Silybum marianum*, οι Arampatzis et al. (2019) αναφέρουν ότι η περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη των σπόρων των πληθυσμών που αναλύθηκαν κυμάνθηκε σε ποσοστά χαμηλότερα του 4%, με μόνο δύο πληθυσμούς να συγκεντρώνουν υψηλότερα ποσοστά (5,04-7,71%). Τα πιο συνήθη ποσοστά σιλυμαρίνης σε σπόρους γαϊδουράγκαθου, με βάση σχετική εργασία των Greenlee et al. (2017), υπολογίζονται μεταξύ 4 και 6%. Παρόλα αυτά, αξίζει να αναφερθούν και τα αποτελέσματα εργασίας πάνω σε αυτοφυείς αιγυπτιακούς πληθυσμούς *Silybum marianum* (AbouZid et al. 2016) όπου τα ποσοστά σιλυμαρίνης βρέθηκαν αρκετά χαμηλά και συγκεκριμένα 0,06-2,19%. Ακόμη, σε δοκιμές βρέθηκε ότι οι σπόροι που διέθεταν το πιο σκούρο χρώμα και συνεπώς ήταν πιο ώριμοι, διέθεταν το υψηλότερο ποσοστό σιλυμαρίνης σε σχέση με αυτούς που είχαν πιο ανοικτό χρώμα και ήταν λιγότερο ώριμοι (Elwekeel et al. 2013). Στην παρούσα εργασία, συσχέτιση μεταξύ χρώματος σπόρων και ποσοστού σιλυμαρίνης δεν εντοπίστηκε, καθώς ο πληθυσμός Καλάβρυτα που διέθετε τους πιο ανοικτού χρώματος σπόρους ήταν αυτός στον οποίο καταγράφηκαν τα υψηλότερα επίπεδα σιλυμαρίνης κατά μέσο όρο (4,71%). Σε αυτό το σημείο να αναφερθεί πως με εξαίρεση τον πληθυσμό Βουλωμένο, οι υπόλοιποι τρεις πληθυσμοί δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στα ποσοστά σιλυμαρίνης, ενώ, όπως προαναφέρθηκε, καταγράφηκε απόκλιση μεταξύ του χρώματος των σπόρων των πληθυσμών. Επιπλέον, ποικίλοι μπορούν να είναι οι λόγοι για τους οποίους τα καταγεγραμμένα ποσοστά σιλυμαρίνης διαφέρουν, όπως ο χρόνος συλλογής των φυτών, η τοποθεσία και οι κλιματικές συνθήκες (Chambers et al. 2013). Σύμφωνα με τους Rosińska et al. (2017) υψηλές θερμοκρασίες, ηλιοφάνεια και μειωμένες βροχοπτώσεις επάγουν την παραγωγή σκούρων σπόρων, εν αντιθέσει με χαμηλές θερμοκρασίες και υψηλά ποσοστά υγρασίας που οδηγούν στην παραγωγή ανοιχτόχρωμων σπόρων. Αυτό θα μπορούσε ίσως να επεξηγεί και το γιατί οι ανοιχτού χρώματος σπόροι του πληθυσμού Καλάβρυτα παρουσίασαν τα υψηλότερα ποσοστά σε σιλυμαρίνη, ενώ η βιβλιογραφία αναφέρει πως υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του σκούρου χρώματος και της ωριμότητας, αλλά και επιπλέον της περιεκτικότητας σε σιλυμαρίνη (Elwekeel et al. 2013).

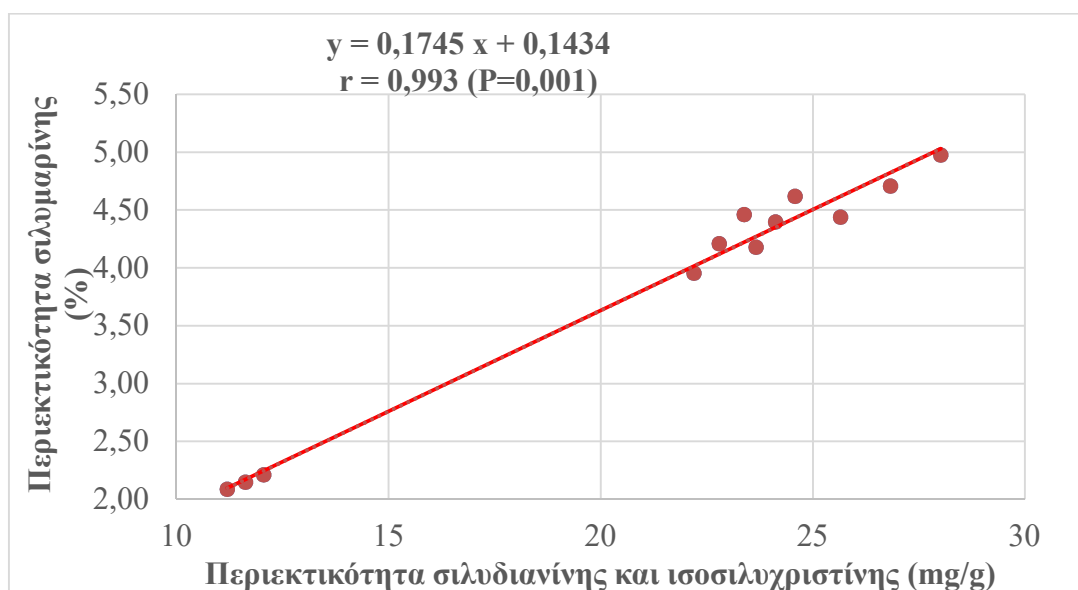
Εκτός από τη σιλυμαρίνη που περιέχεται στους σπόρους του *Silybum marianum*, σημαντικές είναι και οι ποσότητες ελαίου, το οποίο λαμβάνεται κατά την εκχύλιση και βρίσκει εφαρμογή ως βιοκαύσιμο (Chambers et al. 2013). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, τα ποσοστά ελαίου που μετρήθηκαν στους επιλεγμένους πληθυσμούς δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά καθώς κυμάνθηκαν

κατά μέσο όρο από 22,39 έως 24,65%. Αξιοσημείωτο δε, είναι το γεγονός ότι ο πληθυσμός Καλάβρυτα, που όπως προαναφέρθηκε παρουσίασε το υψηλότερο κατά μέσο όρο ποσοστό σε σιλυμαρίνη (4,71%), ήταν ο πληθυσμός στον οποίο εντοπίστηκε η χαμηλότερη περιεκτικότητα σε έλαιο (22,39%). Στο σημείο αυτό να αναφερθεί ότι σε πολύ πρόσφατη έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε φυτά *Silybum marianum* που υπέστησαν υδατικό stress οι Estaji and Niknam (2020) αναφέρουν πως συνεχείς επεμβάσεις άρδευσης, μεταξύ άλλων παραγόντων, μείωσαν σημαντικά την περιεκτικότητα των σπόρων των εξεταζόμενων φυτών σε έλαιο. Επίσης, στο ίδιο πείραμα οι ερευνητές προτείνουν διαφυλλικούς ψεκασμούς με σαλικυλικό οξύ σε πληθυσμούς που αναπτύσσονται σε συνθήκες έλλειψης υγρασίας ώστε να αυξηθεί η περιεκτικότητα και η ποιότητα του ελαίου.

#### **4.3. Αξιολόγηση της περιεκτικότητας των επιμέρους συστατικών της σιλυμαρίνης**

Επιπλέον, από τη σιλυμαρίνη συνολικά, μετρήθηκαν οι ποσότητες των επιμέρους συστατικών της και προσδιορίστηκε η περιεκτικότητάς τους για κάθε πληθυσμό ξεχωριστά. Το πιο αξιόλογο αποτέλεσμα που προέκυψε κατά την αξιολόγηση των φλαβονολιγνάνων ήταν το ποσοστό περιεκτικότητας των ουσιών σιλυδιανίνη + ισοσιλυχριστίνη. Το ποσοστό αυτό κυμάνθηκε μεταξύ 54 έως 56,9% της σιλυμαρίνης που δείχνει ότι η σιλυδιανίνη + ισοσιλυχριστίνη αποτελούν τα κυρίαρχα συστατικά της, αποτέλεσμα που συμφωνεί με τα αποτελέσματα για αρκετούς αυτοφυείς ελληνικούς πληθυσμούς που αξιολόγησαν οι Grampatzis et al. (2019). Η υψηλότερη περιεκτικότητα σιλυδιανίνης + ισοσιλυχριστίνης που μετρήθηκε, βρέθηκε στον πληθυσμό Καλάβρυτα, ενώ η χαμηλότερη στον πληθυσμό Βουλωμένο. Σημαντική ήταν και η αναλογία της ταξιφολίνης και της ισοσιλυβίνης (A+B) στη σιλυμαρίνη, με τα παραπάνω συστατικά να αποτελούν το 6,75-11,16% και το 20,42-22,23% της σιλυμαρίνης, αντίστοιχα. Το υψηλότερο ποσοστό ταξιφολίνης εντοπίζεται στον πληθυσμό Βουλωμένο, ενώ το χαμηλότερο στον πληθυσμό Καλάβρυτα. Η ουσία που ήταν σχεδόν απύσχα συγκριτικά με τις υπόλοιπες, ήταν η σιλυβίνη A η οποία εντοπίστηκε σε ποσοστό της τάξεως του 2%. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε αναφορικά με τις φλαβονολιγνάνες στο *Silybum marianum* από τους Porpe and Petersen (2016), βρέθηκαν τρεις διαφορετικοί χημειότυποι, ένας εκ των οποίων (τύπος 1) φαίνεται να συνάδει με τα αποτελέσματα που βρέθηκαν για τους τέσσερις αυτοφυείς

πληθυσμούς της εργασίας. Συγκεκριμένα αναφέρουν πως στον συγκεκριμένο χημειότυπο εντοπίζονται αρκετά σημαντικά ποσοστά σιλυδιανίνης, χαμηλά ποσοστά σιλυχριστίνης και σιλυβίνης, καθώς και περιεκτικότητες σε ισοσιλυβίνη (A+B) της τάξης του 10 με 20%. Στην παρουσία συγκεκριμένων χημειοτύπων αναφέρεται και η εργασία των Giulliani et al. (2018), με τον ένα εξ αυτών (χημειότυπος B) να παρουσιάζει υψηλότερα ποσοστά σιλυδιανίνης σε σχέση με τα υπόλοιπα συστατικά της σιλυμαρίνης, όπως συμβαίνει και με τα ποσοστά που βρέθηκαν στην παρούσα εργασία. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της εργασίας με τις προηγούμενες δύο έρευνες, προκύπτει ότι οι τέσσερις πληθυσμοί που εξετάστηκαν ανταποκρίνονται στα χαρακτηριστικά ενός συγκεκριμένου χημειότυπου. Επιπρόσθετα, στο παρακάτω διάγραμμα (Διάγραμμα 2) σκιαγραφείται η θετική συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού σιλυμαρίνης (%) και των πιο άφθονων επιμέρους συστατικών της, της σιλυδιανίνης και της ισοσιλυχριστίνης (mg/g).

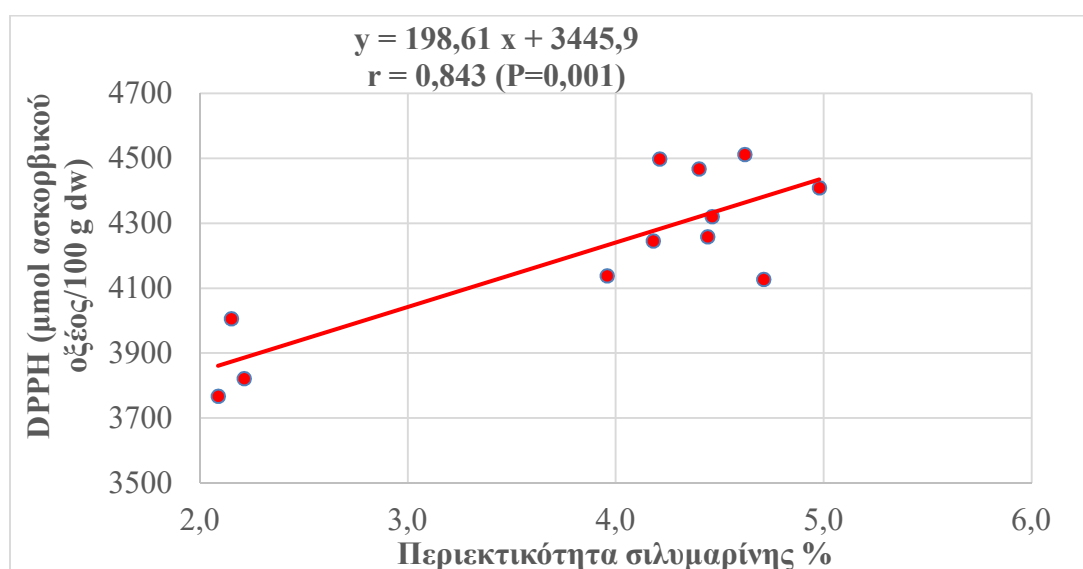


**Διάγραμμα 3.** Συσχέτιση περιεκτικότητας σιλυμαρίνης (%) και των επιμέρους συστατικών σιλυδιανίνη + ισοσιλυχριστίνη (mg/g).

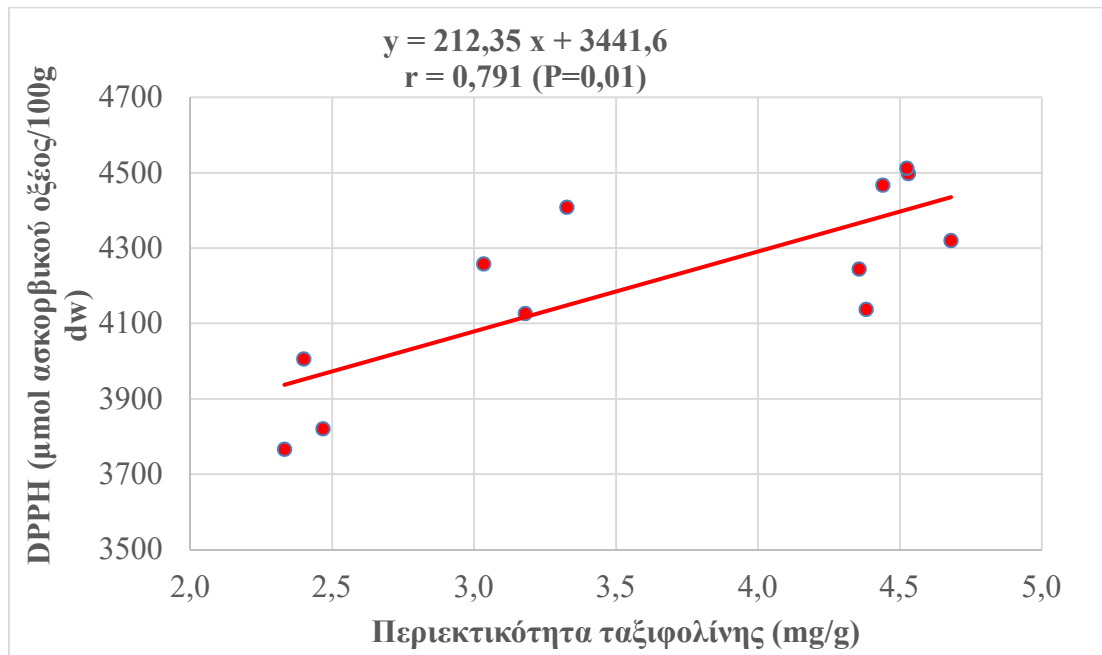
#### 4.4. Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας (DPPH) στους τέσσερις πληθυσμούς



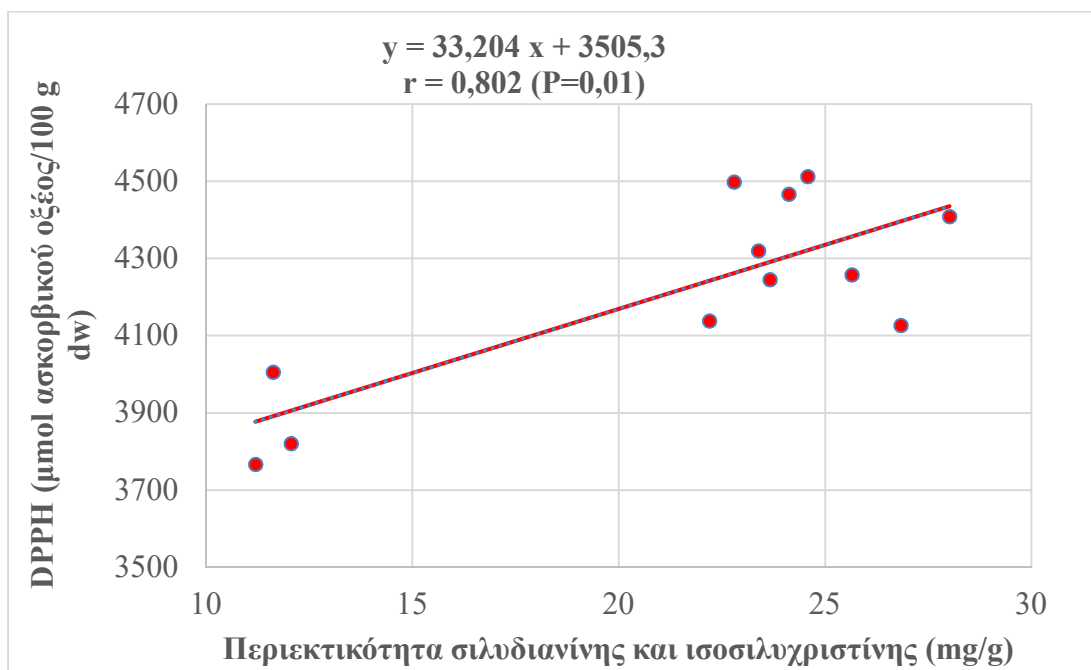
Η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των σπόρων στους πληθυσμούς της Αχαΐας δεν παρουσίασε σημαντικές διακυμάνσεις μεταξύ των πληθυσμών (CV= 6%) και υπολογίστηκε ότι ο μέσος όρος ήταν 4.214  $\mu\text{mol}$  ασκορβικού οξέος/100 g  $\xi.$ β. Σύμφωνα με παρόμοια έρευνα σε ελληνικούς πληθυσμούς γαϊδουράγκαθου, οι Agampatzis et al. (2019) βρήκαν ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα των επιλεγμένων πληθυσμών κατά μέσο όρο ήταν 3.489  $\mu\text{mol}$  ασκορβικού οξέος./100 g  $\xi.$ β., συγκριτικά χαμηλότερη από τους εξεταζόμενους πληθυσμούς που εντοπίστηκαν στην Αχαΐα σε αυτή την εργασία. Θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ της σιλυμαρίνης και των επιμέρους συστατικών της με την αντιοξειδωτική ικανότητα. Σε έρευνα των Abbasi et al. (2010) επίσης βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της σιλυμαρίνης και των συστατικών της με την αντιοξειδωτική ικανότητα με τη μέθοδο DPPH και σύμφωνα με τους ίδιους υπάρχουν αρκετές έρευνες στην βιβλιογραφία που συμφωνούν με αυτό το αποτέλεσμα, όπως η εργασία των Vaknin et al. (2008) που εντόπισε σε πληθυσμούς του Ισραήλ με υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα. Στα παρακάτω διαγράμματα απεικονίζονται οι θετικές συσχετίσεις της σιλυμαρίνης (Διάγραμμα 4) με  $r=0,843$ , της ταξιφολίνης (Διάγραμμα 5) με  $r=0,791$  και των κυρίαρχων ουσιών σιλυδιανίνη + ισοσιλυσχριστίνη (Διάγραμμα 6) με  $r=0,802$ , με την αντιοξειδωτική ικανότητα του εκχυλίσματος των σπόρων.



**Διάγραμμα 4.** Συσχέτιση περιεκτικότητας σιλυμαρίνης (%) και αντιοξειδωτικής ικανότητας ( $\mu\text{mol}$  ασκορβικού οξέος/100g dw).



**Διάγραμμα 5.** Συσχέτιση περιεκτικότητας ταξιφολίνης (mg/g) και αντιοξειδωτικής ικανότητας (μmol ασκορβικού οξέος/100g dw).



**Διάγραμμα 6.** Συσχέτιση περιεκτικότητας σιλυδιανίνης + ισοσιλυχριστίνης (mg/g) και αντιοξειδωτικής ικανότητας (μmol ασκορβικού οξέος/100g dw).

#### 4.5. Συμπεράσματα

Κατά την ολοκλήρωση της εργασίας και της καταγραφής των δεδομένων που λήφθηκαν από την πειραματική διαδικασία τα συμπεράσματα που προέκυψαν με βάση τα αποτελέσματα των μετρήσεων και της επεξεργασίας τους είναι τα εξής:

- Δεν παρουσιάστηκε συσχέτιση μεταξύ του χρώματος των εξεταζόμενων σπόρων και του βάρους 1000 σπόρων, όπως αναφέρουν άλλες έρευνες.
- Τα ποσοστά σιλυμαρίνης που βρέθηκαν στα εκχυλίσματα των πληθυσμών ήταν ικανοποιητικά και κυμάνθηκαν κατά προσέγγιση από 2 έως 5%.
- Δεν φάνηκε να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του χρώματος των σπόρων και του ποσοστού σιλυμαρίνης.
- Ο πληθυσμός Καλάβρυτα, στον οποίο καταγράφηκε το υψηλότερο κατά μέσο όρο ποσοστό σιλυμαρίνης, ήταν ο πληθυσμός στον οποίο εντοπίστηκε η χαμηλότερη περιεκτικότητα σε έλαιο.
- Το ποσοστό συνολικής περιεκτικότητας σε флаβονολιγνάνες που μετρήθηκε στον πληθυσμό Καλάβρυτα ήταν αρκετά υψηλό, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό του πληθυσμού Βουλωμένο ήταν σημαντικά χαμηλό.
- Οι флаβονολιγνάνες σιλυδιανίνη + ισοσιλυχριστίνη ήταν τα πλέον άφθονα συστατικά της σιλυμαρίνης με ποσοστά μεγαλύτερα του 50% της συνολικής περιεκτικότητας των σπόρων σε σιλυμαρίνη.
- Η συσχέτιση της σιλυμαρίνης και των επιμέρους συστατικών της με την αντιοξειδωτική ικανότητα DPPH ήταν θετική και στατιστικά σημαντική.

## Βιβλιογραφία

- Abbasi, B. H., Khan, M. A., Mahmood, T., Ahmad, M., Chaudhary, M. F., & Khan, M. A. (2010). Shoot regeneration and free-radical scavenging activity in *Silybum marianum* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *101*(3), 371-376.
- Abenavoli, L., Capasso, R., Milic, N., & Capasso, F. (2010). Milk thistle in liver diseases: past, present, future. *Phytotherapy Research*, *24*(10), 1423-1432.
- AbouZid, S. F., Chen, S. N., & Pauli, G. F. (2016). Silymarin content in *Silybum marianum* populations growing in Egypt. *Industrial crops and products*, *83*, 729-737.
- Akbas, M. N., & Akcakaya, A. (2020). COVID-19 and Phytotherapy. *Bezmi Alem Science*, *8*, 428-37.
- Alemardan, A., Karkanis, A., & Salehi, R. (2013). Breeding objectives and selection criteria for milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] improvement. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *41*(2), 340-347.
- Andrzejewska, J., Martinelli, T., & Sadowska, K. (2015). *Silybum marianum*: non-medical exploitation of the species. *Annals of Applied Biology*, *167*(3), 285-297.
- Arampatzis, D. A., Karkanis, A. C., & Tsiropoulos, N. G. (2019). Impact of plant density and mepiquat chloride on growth, yield, and silymarin content of *Silybum marianum* grown under Mediterranean semi-arid conditions. *Agronomy*, *9*(11), 669.
- Arampatzis, D. A., Karkanis, A. C., & Tsiropoulos, N. G. (2019). Silymarin content and antioxidant activity of seeds of wild *Silybum marianum* populations growing in Greece. *Annals of Applied Biology*, *174*(1), 61-73.
- Arroyo-Manzanares, N., García-Campaña, A. M., & Gámiz-Gracia, L. (2013). Multiclass mycotoxin analysis in *Silybum marianum* by ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry using a procedure based on QuEChERS and dispersive liquid–liquid microextraction. *Journal of chromatography A*, *1282*, 11-19.
- Aziz, M., Saeed, F., Ahmad, N., Ahmad, A., Afzaal, M., Hussain, S., & Anjum, F. M. (2021). Biochemical profile of milk thistle (*Silybum marianum* L.) with special reference to silymarin content. *Food Science & Nutrition*, *9*(1), 244-250.

- Bernal, M. P., Gómez, X., Chang, R., Arco-Lázaro, E., & Clemente, R. (2019). Strategies for the use of plant biomass obtained in the phytostabilisation of trace-element-contaminated soils. *Biomass and Bioenergy*, *126*, 220-230.
- Bijak, M., Synowiec, E., Sitarek, P., Sliwiński, T., & Saluk-Bijak, J. (2017). Evaluation of the cytotoxicity and genotoxicity of flavonolignans in different cellular models. *Nutrients*, *9*(12), 1356.
- Bryś, J., Górska, A., Wirkowska-Wojdyła, M., Ostrowska-Ligęza, E., & Bryś, A. (2017). Use of GC and PDSC methods to characterize human milk fat substitutes obtained from lard and milk thistle oil mixtures. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, *130*(1), 319-327.
- Çeribaşı, S., Türk, G., Özçelik, M., Doğan, G., Çeribaşı, A. O., Mutlu, S. İ., & Şimşek, Ü. G. (2020). Negative effect of feeding with high energy diets on testes and metabolic blood parameters of male Japanese quails, and positive role of milk thistle seed. *Theriogenology*, *144*, 74-81.
- Chambers, C. S., Holečková, V., Petrásková, L., Biedermann, D., Valentová, K., Buchta, M., & Křen, V. (2017). The silymarin composition... and why does it matter???. *Food Research International*, *100*, 339-353.
- Choe, U., Li, Y., Gao, B., Yu, L., Wang, T. T., Sun, J., & Yu, L. L. (2019). The chemical composition of a cold-pressed milk thistle seed flour extract, and its potential health beneficial properties. *Food & function*, *10*(5), 2461-2470.
- Chun, O. K., Floegel, A., Chung, S. J., Chung, C. E., Song, W. O., & Koo, S. I. (2010). Estimation of antioxidant intakes from diet and supplements in US adults. *The Journal of nutrition*, *140*(2), 317-324.
- Corchete, P. (2008). *Silybum marianum* (L.) Gaertn: the source of silymarin. In *Bioactive molecules and medicinal plants* (pp. 123-148). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Cullere, M., Dalle Zotte, A., Celia, C., Renteria-Monterrubbio, A. L., Gerencsér, Z., Szendrő, Z. & Matics, Z. (2016). Effect of *Silybum marianum* herb on the productive performance, carcass traits and meat quality of growing rabbits. *Livestock Science*, *194*, 31-36.

- da Silva, T. F., Ferraz, A. C., Almeida, L. T., da Silva Caetano, C. C., Camini, F. C., Lima, R. L. S., & de Brito Magalhães, C. L. (2020). Antiviral effect of silymarin against Zika virus in vitro. *Acta Tropica*, *211*, 105613.
- Davis-Searles, P. R., Nakanishi, Y., Kim, N. C., Graf, T. N., Oberlies, N. H., Wani, M. C., & Kroll, D. J. (2005). Milk thistle and prostate cancer: differential effects of pure flavonolignans from *Silybum marianum* on antiproliferative end points in human prostate carcinoma cells. *Cancer research*, *65*(10), 4448-4457.
- Domínguez, M. T., Madejón, P., Madejón, E., & Diaz, M. J. (2017). Novel energy crops for Mediterranean contaminated lands: Valorization of *Dittrichia viscosa* and *Silybum marianum* biomass by pyrolysis. *Chemosphere*, *186*, 968-976.
- Drouet, S., Abbasi, B. H., Falguieres, A., Ahmad, W., Ferroud, C., Doussot, J., & Hano, C. (2018). Single laboratory validation of a quantitative core shell-based LC separation for the evaluation of silymarin variability and associated antioxidant activity of pakistani ecotypes of milk thistle (*Silybum marianum* L.). *Molecules*, *23*(4), 904.
- Drouet, S., Leclerc, E. A., Garros, L., Tungmunnithum, D., Kabra, A., Abbasi, B. H., & Hano, C. (2019). A Green ultrasound-assisted extraction optimization of the natural antioxidant and anti-aging flavonolignans from milk thistle *Silybum marianum* (L.) gaertn. Fruits for cosmetic applications. *Antioxidants*, *8*(8), 304.
- Dunaway, S., Odin, R., Zhou, L., Ji, L., Zhang, Y., & Kadekaro, A. L. (2018). Natural antioxidants: multiple mechanisms to protect skin from solar radiation. *Frontiers in Pharmacology*, *9*, 392.
- Egresi, A., Süle, K., Szentmihályi, K., Blázovics, A., Fehér, E., Hagymási, K., & Fébel, H. (2020). Impact of milk thistle (*Silybum marianum*) on the mycotoxin caused redox-homeostasis imbalance of ducks liver. *Toxicon*, *187*, 181-187.
- El-Mallah, M. H., El-Shami, S. M., & Hassanein, M. M. (2003). Detailed studies on some lipids of *Silybum marianum* (L.) seed oil. *Grasas y Aceites*, *54*(4), 397-402.
- Elwekeel, A., Elfishawy, A., & AbouZid, S. (2013). Silymarin content in *Silybum marianum* fruits at different maturity stages. *Journal of Medicinal Plants Research*, *7*(23), 1665-1669.

- Estaji, A., & Niknam, F. (2020). Foliar salicylic acid spraying effects on growth, seed oil content, and physiology of drought-stressed *Silybum marianum* L. plant. *Agricultural Water Management*, 234, 106116.
- Fibigr, J., Šatínský, D., & Solich, P. (2018). Current trends in the analysis and quality control of food supplements based on plant extracts. *Analytica chimica acta*, 1036, 1-15.
- Flora, K., Hahn, M., Rosen, H., & Benner, K. (1998). Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 93(2), 139-143.
- Fraschini, F., Demartini, G., & Esposti, D. (2002). Pharmacology of silymarin. *Clinical drug investigation*, 22(1), 51-65.
- Gabay, R., Plitmann, U., & Danin, A. (1994). Factors affecting the dominance of *Silybum marianum* L. (Asteraceae) in its specific habitats. *Flora*, 189(3), 201-206.
- Giuliani, C., Tani, C., Bini, L. M., Fico, G., Colombo, R., & Martinelli, T. (2018). Localization of phenolic compounds in the fruits of *Silybum marianum* characterized by different silymarin chemotype and altered colour. *Fitoterapia*, 130, 210-218.
- Greenlee, H., Abascal, K., Yarnell, E., & Ladas, E. (2007). Clinical applications of *Silybum marianum* in oncology. *Integrative cancer therapies*, 6(2), 158-165.
- Gupta, M. (2020). Effect of nutrient management on yield attributes and yield of milk thistle (*Silybum marianum*). *Environment Conservation Journal*, 21(1&2), 163-166.
- Hahn, H. J., Jung, H. J., Schrammek-Drusios, M. C., Lee, S. N., Kim, J. H., Kwon, S. B., & Ahn, K. J. (2016). Instrumental evaluation of anti-aging effects of cosmetic formulations containing palmitoyl peptides, *Silybum marianum* seed oil, vitamin E and other functional ingredients on aged human skin. *Experimental and therapeutic medicine*, 12(2), 1171-1176.

- Hammami, H., Alaie, E., & Dastgheib, S. M. M. (2018). The ability of *Silybum marianum* to phytoremediate cadmium and/or diesel oil from the soil. *International journal of phytoremediation*, 20(8), 756-763.
- Hanlidou, E., Karousou, R., Kleftoyanni, V., & Kokkini, S. (2004). The herbal market of Thessaloniki (N Greece) and its relation to the ethnobotanical tradition. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(2-3), 281-299.
- Harrabi, S., Curtis, S., Hayet, F., & Mayer, P. M. (2016). Changes in the sterol compositions of milk thistle oil (*Silybum marianum* L.) during seed maturation. *Grasas y Aceites*, 67(1), 123.
- Henning, S. M., Zhang, Y., Rontoyanni, V. G., Huang, J., Lee, R. P., Trang, A., & Heber, D. (2014). Variability in the antioxidant activity of dietary supplements from pomegranate, milk thistle, green tea, grape seed, goji, and acai: effects of in vitro digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(19), 4313-4321.
- Hunee, S. Y., Clemente, R., & Bernal, M. P. (2019). Energy production potential of phytoremediation plant biomass: *Helianthus annuus* and *Silybum marianum*. *Industrial Crops and Products*, 135, 206-216.
- Karkanis, A., Bilalis, D., & Efthimiadou, A. (2011). Cultivation of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.), a medicinal weed. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 825-830.
- Kaur, A. K., Wahi, A. K., Brijesh, K., Bhandari, A., & Prasad, N. (2011). Milk thistle (*Silybum marianum*): A review. *IJPRD*, 3, 1-10.
- Khan, M. A., Blackshaw, R. E., & Marwat, K. B. (2009). Biology of milk thistle (*Silybum marianum*) and the management options for growers in north-western Pakistan. *Weed Biology and Management*, 9(2), 99-105.
- Kosari-Nasab, M., Shokouhi, G., Ghorbanihaghjo, A., Abbasi, M. M., & Salari, A. A. (2018). Anxiolytic-and antidepressant-like effects of silymarin compared to diazepam and fluoxetine in a mouse model of mild traumatic brain injury. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 338, 159-173.



- Kosina, P., Dokoupilová, A., Janda, K., Sládková, K., Silberová, P., Pivodová, V., & Ulrichová, J. (2017). Effect of *Silybum marianum* fruit constituents on the health status of rabbits in repeated 42-day fattening experiment. *Animal Feed Science and Technology*, 223, 128-140.
- Koumpouros, Y., & Birbas, K. (2013). Use of information and communication technologies (ICTs) to support diffusion of traditional medicine across European and Asian countries: The Greek perspective. *Health Science Journal*, 7(4), 356.
- Kvasnička, F., Biba, B., Ševčík, R., Voldřich, M., & Kratka, J. (2003). Analysis of the active components of silymarin. *Journal of Chromatography A*, 990(1-2), 239-245.
- Liu, C. H., Jassey, A., Hsu, H. Y., & Lin, L. T. (2019). Antiviral activities of silymarin and derivatives. *Molecules*, 24(8), 1552.
- Lucena, M. I., Andrade, R. J., De la Cruz, J. P., Rodriguez-Mendizabal, M., Blanco, E., & de la Cuesta, F. S. (2002). Effects of silymarin MZ-80 on oxidative stress in patients with alcoholic cirrhosis. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*, 40(1), 2-8.
- Martin, R. J., Lauren, D. R., Smith, W. A., Jensen, D. J., Deo, B., & Douglas, J. A. (2006). Factors influencing silymarin content and composition in variegated thistle (*Silybum marianum*). *New Zealand journal of crop and horticultural science*, 34(3), 239-245.
- Martinelli, T., Andrzejewska, J., Salis, M., & Sulas, L. (2015). Phenological growth stages of *Silybum marianum* according to the extended BBCH scale. *Annals of Applied Biology*, 166(1), 53-66.
- Nathan, M., & Scholten, R. (1999). The complete german commission e monographs: Therapeutic guide to herbal medicines.
- Nowak, A., Florkowska, K., Zielonka-Brzezicka, J., Duchnik, W., Muzykiewicz, A., & Klimowicz, A. (2021). The effects of extraction techniques on the antioxidant potential of extracts of different parts of milk thistle (*Silybum marianum* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 20(1): 37-46.

- Pandit, M., & Latha, N. (2020). In silico studies reveal potential antiviral activity of phytochemicals from medicinal plants for the treatment of COVID-19 infection. *Research Square*, DOI: 10.21203/rs.3.rs-22687/v1.
- Petrakou, K., Iatrou, G., & Lamari, F. N. (2020). Ethnopharmacological survey of medicinal plants traded in herbal markets in the Peloponnisos, Greece. *Journal of Herbal Medicine*, 19, 100305.
- Pickova, D., Ostry, V., Toman, J., & Malir, F. (2020). Presence of Mycotoxins in Milk Thistle (*Silybum marianum*) Food Supplements: A Review. *Toxins*, 12(12), 782.
- Poppe, L., & Petersen, M. (2016). Variation in the flavonolignan composition of fruits from different *Silybum marianum* chemotypes and suspension cultures derived therefrom. *Phytochemistry*, 131, 68-75.
- Porwal, O., Ameen, M. S. M., Anwer, E. T., Uthirapathy, S., Ahamad, J., & Tahsin, A. (2019). *Silybum marianum* (Milk Thistle): Review on Its chemistry, morphology, ethno medical uses, phytochemistry and pharmacological activities. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(5), 199-206.
- Post-White, J., Ladas, E. J., & Kelly, K. M. (2007). Advances in the use of milk thistle (*Silybum marianum*). *Integrative Cancer Therapies*, 6(2), 104-109.
- Proteggente, A. R., Pannala, A. S., Paganga, G., Buren, L. V., Wagner, E., Wiseman, S., & Rice-Evans, C. A. (2002). The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radical Research*, 36(2), 217-233.
- Radko, L., & Cybulski, W. (2007). Application of silymarin in human and animal medicine. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 1(1). 22-26.
- Rahal, N. B., Barba, F. J., Barth, D., & Chevalot, I. (2015). Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of oil, fatty acids and flavonolignans from milk thistle seeds: Evaluation of their antioxidant and cytotoxic activities in Caco-2 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 83, 275-282.
- Rainone, F. (2005). Milk thistle. *American family physician*, 72(7), 1285-1288.

- Ram, G., Bhan, M. K., Gupta, K. K., Thaker, B., Jamwal, U., & Pal, S. (2005). Variability pattern and correlation studies in *Silybum marianum* Gaertn. *Fitoterapia*, 76(2), 143-147.
- Ramasamy, K., & Agarwal, R. (2008). Multitargeted therapy of cancer by silymarin. *Cancer Letters*, 269(2), 352-362.
- Rosińska, A., Dorna, H., Szopińska, D., & Seidler-Łożykowska, K. (2017). Experimental Paper. The effect of colour grading of milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) seeds on their quality for sowing. *Herba Polonica*, 63(1), 7-19.
- Ross, S. M. (2008). Milk thistle (*Silybum marianum*): an ancient botanical medicine for modern times. *Holistic Nursing Practice*, 22(5), 299-300.
- Rozenboim, I., Mahato, J., Cohen, N. A., & Tirosh, O. (2016). Low protein and high-energy diet: a possible natural cause of fatty liver hemorrhagic syndrome in caged White Leghorn laying hens. *Poultry Science*, 95(3), 612-621.
- Sabir, S., Arsshad, M., Asif, S., & Chaudhari, S. K. (2014). An insight into medicinal and therapeutic potential of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. *Int J Biosci*, 4(11), 104-115.
- Saleh, I. A., Vinatoru, M., Mason, T. J., Abdel-Azim, N. S., Shams, K. A., Aboutabl, E., & Hammouda, F. M. (2017). Extraction of silymarin from milk thistle (*Silybum marianum*) seeds—a comparison of conventional and microwave-assisted extraction methods. *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 51(2), 124-133.
- Sayyah, M., Boostani, H., Pakseresht, S., & Malayeri, A. (2010). Comparison of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. with fluoxetine in the treatment of Obsessive–Compulsive Disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 34(2), 362-365.
- Scott Luper, N. D. (1998). A review of plants used in the treatment of liver disease: part 1. *Alternative Medicine Review*, 3(6), 410-421.

- Sharova, E. A., Slovesnova, N. V., Petrov, A. Y., & Flagin, E. N. (2020, November). Influence of mineral fertilizers on the accumulation of biologically active substances in *Silybum marianum* (L.) Gaertn. leaves in the middle urals. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2280, No. 1, p. 030015). AIP Publishing LLC.
- Shelef, O., Summerfield, L., Lev-Yadun, S., Villamarin-Cortez, S., Sadeh, R., Herrmann, I., & Rachmilevitch, S. (2019). Thermal benefits from white variegation of *Silybum marianum* Leaves. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 688.
- Sidhu, M. C., & Saini, P. (2011). Anatomical investigations in *Silybum marianum* (L.) Gaertn. *J Res Biol*, *8*, 603-608.
- Soleimani, V., Delghandi, P. S., Moallem, S. A., & Karimi, G. (2019). Safety and toxicity of silymarin, the major constituent of milk thistle extract: An updated review. *Phytotherapy Research*, *33*(6), 1627-1638.
- Suchý, P., Straková, E., Kummer, V., Herzig, I., Písaříková, V., Blechová, R., & Mašková, J. (2008). Hepatoprotective effects of milk thistle (*Silybum marianum*) seed cakes during the chicken broiler fattening. *Acta Veterinaria Brno*, *77*(1), 31-38.
- Takase, M., Feng, W., Wang, W., Gu, X., Zhu, Y., Li, T., & Wu, X. (2014). *Silybum marianum* oil as a new potential non-edible feedstock for biodiesel: A comparison of its production using conventional and ultrasonic assisted method. *Fuel Processing Technology*, *123*, 19-26.
- Tsiaousi, A., Vasilakoglou, I., Gravalos, I., & Koutroubas, S. D. (2019). Comparison of milk thistle (*Silybum marianum*) and cardoon (*Cynara cardunculus*) productivity for energy biomass under weedy and weed-free conditions. *European Journal of Agronomy*, *110*, 125924.
- Ulger, I., Onmaz, A. C., & Ayaşan, T. (2017). Effects of silymarin (*Silybum marianum*) supplementation on milk and blood parameters of dairy cattle. *South African Journal of Animal Science*, *47*(6), 758-765.
- Vaid, M., & Katiyar, S. K. (2010). Molecular mechanisms of inhibition of photocarcinogenesis by silymarin, a phytochemical from milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.). *International Journal of Oncology*, *36*(5), 1053-1060.

- Vaknin, Y., Hadas, R., Schafferman, D., Murkhovsky, L., & Bashan, N. (2008). The potential of milk thistle (*Silybum marianum* L.), an Israeli native, as a source of edible sprouts rich in antioxidants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(4), 339-346.
- Vaknin, Y., & Mogilevski, I. (2019). Adaptive variation in vegetative, reproductive and chemical traits of the Mediterranean *Silybum marianum* L., under desert-adjacent conditions, *Israel Journal of Plant Sciences*, 66(1-2), 112-126.
- Vargas-Mendoza, N., Madrigal-Santillán, E., Morales-González, Á., Esquivel-Soto, J., Esquivel-Chirino, C., y González-Rubio, M. G. L., & Morales-González, J. A. (2014). Hepatoprotective effect of silymarin. *World journal of hepatology*, 6(3), 144.
- World Health Organization. (1999). *WHO monographs on selected medicinal plants* (Vol. 2). World Health Organization.
- Young, J. A., Evans, R. A., & Hawkes, R. B. (1978). Milk thistle (*Silybum marianum*) seed germination. *Weed Science*, 395-398.
- Zhang, Z. S., Wang, S., Liu, H., Li, B. Z., & Che, L. (2020). Constituents and thermal properties of milk thistle seed oils extracted with three methods. *LWT*, 126, 109282.