



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ - ΑΓΡΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

**ΠΜΣ: «Τεχνολογίες Διαχείρισης Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών:
Καλλιέργεια, Μεταποίηση και Παραγωγή Προϊόντων Υψηλής Προστιθέμενης
Αξίας»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΒΡΑΣΜΟΥ ΣΤΗΝ ΣΥΣΤΑΣΗ
ΤΩΝ ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΥΝΑΜΗΣ ΤΟΥ
ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΧΑΜΟΜΗΛΙΟΥ**



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ: ΣΟΥΦΛΙΑΓΚΑ ΧΡΥΣΟΥΛΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΓΚΟΥΓΚΟΥΛΙΑΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

ΛΑΡΙΣΑ 2022

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

1. Γκουγκουλιάς Νικόλαος: Επιβλέπων Καθηγητής
2. Βογιατζή – Καμβούκου Ελένη: Καθηγήτρια
3. Παπαχατζής Αλέξανδρος: Καθηγητής

**EFFECT OF TEMPERATURE AND BOILING TIME ON POLYPHENOL CONTENT
AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CHAMOMILE EXTRACTS**

	ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	Σελ.
	Περίληψη	5
	Abstract	6
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ	
	ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΦΥΤΑ	
1.1.	Εισαγωγή	7
1.2.	Ιστορική αναδρομή	7
1.3.	Ποια φυτά ονομάζονται φαρμακευτικά	8
1.4.	Ποια φυτά ονομάζονται αρωματικά	9
1.5.	Οικογένειες αρωματικών φαρμακευτικών φυτών	9
1.6.	Καλλιεργούμενα - αυτοφυή είδη	11
1.7.	Χρήσεις των αρωματικών – φαρμακευτικών φυτών	12
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ	
	ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ	
2.1.	Γενικά	14
2.2.	Τρόποι εξαγωγής και απομόνωσης αιθέριων ελαίων	14
2.2.1.	Απόσταξη	14
2.2.2.	Εκχύλιση	15
2.2.3.	Μηχανική παραλαβή ή Έκθλιψη	17
2.3.	Χημική σύνθεση των αιθέριων ελαίων	17
2.3.1.	Τερπένια	17
2.3.2.	Αρωματικές ενώσεις	19
2.4.	Ιδιότητες και χαρακτηριστικά των αιθέριων ελαίων	19
2.5.	Βιολογικές επιδράσεις των αιθέριων ελαίων	19
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ	
	ΧΑΜΟΜΗΛΙ	
3.1.	Γενικά	21
3.2.	Προέλευση	21
3.3.	Βοτανική περιγραφή και ταξινόμηση	22
3.4.	Χρήσεις	24
3.5.	Ποικιλίες	25
3.6.	Καλλιέργεια	27
3.7.	Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις	27
3.8.	Λίπανση	28
3.9.	Άρδευση	28
3.10.	Ζιζανιοκτονία	28
3.11.	Εχθροί και ασθένειες	29
3.12.	Ωρίμανση - συλλογή	29
3.13.	Συντήρηση του Φυτικού Υλικού	30

3.14.	Ξήρανση	30
3.15.	Αποθήκευση	31
3.16.	Χημική σύνθεση χαμομηλιού	31
3.17.	Βιολογικές ιδιότητες	33
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ	
	ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	
4.1.	Βιοδραστικά συστατικά των φυτών	38
4.2.	Δομή των πολυφαινολών	38
4.3.	Βιοσυνθετικοί οδοί των πολυφαινολών	39
4.4.	Φαινολικά συστατικά	40
4.5.	Φλαβονοειδείς φαινόλες	40
4.6.	Μη φλαβονοειδείς φαινόλες	48
4.7.	Στιλβένια	52
4.8.	Λιγνάνια	53
4.9.	Κουμαρίνες	54
4.10.	Ταννίνες	55
4.11.	Βιολογικές ιδιότητες των πολυφαινολών	56
4.12.	Παραλαβή φαινολών	57
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ	
	ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ - ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	
5.1.	Ελεύθερες ρίζες - Ιδιότητες ελευθερων ριζών	59
5.2.	Οξειδωση	61
5.3.	Αντιοξειδωτικά	62
5.4.	Δράση των φαινολών ως αντιοξειδωτικά	64
5.5.	Μέθοδοι μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας	65
	ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ	
	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
6.1.	Υλικά και μέθοδοι	68
6.2.	Παραλαβή Φαινολικών Εκχυλισμάτων	68
6.3.	Προσδιορισμός των Ολικών Φαινολών	69
6.4.	Προσδιορισμός της Αντιριζικής Ενεργητικότητας με το Ελεύθερο Σταθερό ριζικό DPPH•	70
6.5.	Αποτελέσματα και Συζήτηση	73
6.6.	Συμπεράσματα	79
	Βιβλιογραφία	80

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα φαρμακευτικά και αρωματικά φυτά είναι ευρέως διαδεδομένα σε όλο τον κόσμο και αποτελούν άφθονες πηγές φαινολικών ενώσεων. Το χαμομήλι χρησιμοποιείται κυρίως ως αφέψημα λόγω των ευεργετικών του ιδιοτήτων. Γενικά, η παρασκευή του αφεψήματος διαφέρει, ανάλογα με την παράδοση της κάθε περιοχής όπου παρασκευάζεται με νερό σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Συνήθως, σύμφωνα με την παραδοσιακή χρήση, η θερμοκρασία του νερού σε οικιακές συνθήκες παρασκευής έγχυσης κυμαίνεται συνήθως από 80 έως 100 °C. Στην παρούσα διπλωματική εργασία αρχικά γίνεται αναφορά στα αρωματικά φαρμακευτικά φυτά, τις χρήσεις και τις ιδιότητές τους. Δίνεται έμφαση στο χαμομήλι, μελετώντας τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του, τις ποικιλίες και τον τρόπο καλλιέργειας, καθώς επίσης, την χημική σύσταση, τα δραστικά συστατικά και τις βιολογικές ιδιότητες, που οφείλονται κυρίως στην αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινόλων του. Επίσης αναλύονται γενικά οι πολυφαινόλες, η δομή και η δράση τους έτσι ώστε να γίνει πιο εύκολη η μελέτη τους. Στην συνέχεια με την πειραματική μέθοδο Folin διερευνήθηκε ο χρόνος βρασμού του χαμομηλιού στους 27°, 40°, 80°, 100° C και η επίδραση της αύξησης της θερμοκρασίας για 5min, 10min, 20 min, 40 min, και βρέθηκε ποιος είναι ο κατάλληλος χρόνος και η κατάλληλη θερμοκρασία με την υψηλότερη φαινολική σύσταση και την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση του εκχυλίσματος. Επίσης το πείραμα έδειξε τη βέλτιστη θερμοκρασία εκχύλισης, με τη μέγιστη αντιοξειδωτική δράση και την υψηλότερη συνολική περιεκτικότητα σε φαινολικά. Ακόμη βρέθηκαν τα κύρια φαινολικά συστατικά του χαμομηλιού.

ABSTRACT

Medicinal and aromatic plants are widely distributed throughout the world and are abundant sources of phenolic compounds. Chamomile is mainly used as a decoction due to its beneficial properties. In general, the preparation of the decoction differs, depending on the tradition of each region where it is prepared with water at different temperatures. Typically, according to traditional usage, the temperature of water in home brewing conditions is usually between 80⁰C and 100 °C. In this paper, firstly, there is a reference to the aromatic medicinal plants, their uses and properties. Emphasis is placed on chamomile, studying its morphological characteristics, varieties and cultivation method, as well as its chemical composition, active ingredients and biological properties, which are mainly due to the antioxidant effect of its polyphenols. Polyphenols, their structure and action are also generally analyzed in order to make their study easier. Then, with the Folin experimental method, the boiling time of chamomile at 27°, 40°, 80°, 100° C and the effect of increasing the temperature for 5 min, 10 min, 20 min, 40 min were investigated, and it was found which is the appropriate time and the appropriate temperature with the highest phenolic composition and the strongest antioxidant activity of the extract. Also, the experiment showed the optimal extraction temperature, with the maximum antioxidant activity and the highest total phenolic content. The main phenolic components of chamomile were also found.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΦΥΤΑ

1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι φυσικές ενώσεις που λαμβάνονται από τα αρωματικά φαρμακευτικά φυτά χρησιμοποιούνται σαν πρώτη ύλη σε διάφορες εφαρμογές και έχουν κερδίσει άξια μια θέση στις εναλλακτικές θεραπείες. Αρχικά, τα φαρμακευτικά φυτά είναι πηγή βιοδραστικών ενώσεων που δρουν ως φάρμακα στις παραδοσιακές θεραπείες, ενώ τα αρωματικά φυτά αντιπροσωπεύουν μια πλούσια πηγή αιθέριων ελαίων, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το άρωμα και τη γεύση τους.

Τα αρωματικά φυτά είναι μία ομάδα του φυτικού βασιλείου που διαχωρίζεται από τα υπόλοιπα λόγω της περιεκτικότητας τους σε αιθέρια έλαια. Τα αιθέρια έλαια μπορεί να είναι ταυτόχρονα και φαρμακευτικά. Ο κόσμος των φυτών περιλαμβάνει 350.000 διαφορετικά είδη από τα οποία τα 18.000 έχουν χαρακτηριστεί αρωματικά [1,10].

1.2. Ιστορική αναδρομή

Ένα μεγάλο ποσοστό, αν όχι τα περισσότερα, φυτικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται ως φάρμακα ή για την παραγωγή διαφόρων φαρμάκων προέρχονται από τα φυτά. Ο άνθρωπος, από την προϊστορική περίοδο ακόμη, στην προσπάθειά του να βρει τροφή ανακάλυψε γρήγορα τις διάφορες ιαματικές ή δηλητηριώδεις ιδιότητες των φυτών που είχαν σαν αποτέλεσμα είτε δραματικές επιπτώσεις στην υγεία του είτε σε άλλες περιπτώσεις, να δρουν θεραπευτικά. Η εμπειρική αυτή γνώση που συσσωρεύτηκε, μεταφέρθηκε από γενιά σε γενιά και μετατράπηκε σε εμπειρία που αφορά τα φάρμακα που μπορεί να παραλάβει ο άνθρωπος από φυτά του περιβάλλοντος χώρου [1,25,30]. Η μετάδοση όλων των γνώσεων έγινε σκοπός όλων εκείνων που ασχολήθηκαν με τις ιδιότητες των φυτών όπως ιερείς, διανοούμενοι, μελετητές, δημιουργώντας έτσι, είτε πέπλο μυστηρίου και μαγείας, είτε μέρος της ιατρικής επιστήμης. Οι αρχαιότερες μαρτυρίες χρήσης αρωματικών φαρμακευτικών φυτών προέρχονται από τους Ασσύριους και τους Σουμερίους γεγονός που αποδεικνύεται από τα έργα τέχνης και γραπτά των πολιτισμών αυτών. Οι Αιγύπτιοι χρησιμοποιούσαν τα αρωματικά φυτά και τα αιθέρια έλαια τους είτε για λόγους αισθητικής και θεραπευτικής είτε για να αρωματίζουν την ατμόσφαιρα αλλά και ως συντηρητικά τροφίμων [1,10,25,41]. Ο πάπυρος Ebers που χρονολογείται το 1500π.Χ. γίνεται αναφορά σε μεγάλο είδος δρογών με θεραπευτικές ιδιότητες όπως το αραβικό κόμμι. Πολλοί συγγραφείς της αρχαιότητας όπως ο Ιπποκράτης «πατήρ της ιατρικής» (460-377π.Χ.), ο Θεόφραστος (370-287π.Χ.), ο Διοσκουρίδης (40-80μ.Χ.), και ο Γαληνός (130-210μ.Χ.), περιέγραψαν τις ιδιότητες φυτών που μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σαν φάρμακα. Μάλιστα ο Διοσκουρίδης στο «Περί Ύλης Ιατρικής» ή αλλιώς, de Materia medica, περιέγραψε πάνω από 600 φαρμακευτικά φυτά [1]. Στην Παλαιά διαθήκη συγκαταλέγονται ανάμεσα στα προϊόντα μεγάλης αξίας όπως ο χρυσός και οι πολύτιμοι λίθοι. Στην αρχαία Βαβυλώνα δεν ήταν μόνο οι κρεμαστοί κήποι στους οποίους καλλιεργούνταν τα αρωματικά φυτά, που έκαναν την πόλη γνωστή αλλά και οι μεγάλοι κήποι

στους οποίους καλλιεργούνταν για την παραγωγή αρτυμάτων [1,25,10]. Στην αρχαία Ελλάδα πολλοί φιλόσοφοι όπως ο Αριστοτέλης και ο Θεόφραστος έγραψαν δύο από τα σπουδαιότερα έργα τους στην βοτανική και ιατρική. Κατά τον Μεσαίωνα τα αρωματικά φαρμακευτικά φυτά χρησιμοποιήθηκαν στην λαϊκή ιατρική και δεν σημειώθηκε αξιοσημείωτη πρόοδος στη φαρμακογνωσία [1]. Κατά τον 16ο-17ο αιώνα με τις υπερατλαντικές εξερευνήσεις εισάχθηκαν στην Ευρώπη νέες δρόγες όπως ο καφές, το τσάι, το κακάο, κ.ά. Κατά τα τέλη του 18ου αιώνα οι δρόγες ακόμη χρησιμοποιούνταν σαν σκόνη, βάμμα ή εκχύλισμα ενώ η απομόνωση της μορφίνης από το όπιο και έπειτα της στρυχνίνης, η κινίνη, η καφεΐνη, η νικοτίνη, η ατροπίνη, η κοκαΐνη, και το μίγμα καρδιακών γλυκοζιδίων από φύλλα δακτυλίδας, εισάγει μια νέα περίοδο στην ιατρική που χαρακτηρίζεται από την απομόνωση και τη χημική ταυτοποίηση δραστικών ουσιών από τις δρόγες. Το διάστημα 18ο-20ο αιώνα παρατηρείται ανάπτυξη της φαρμακογνωσίας και της οργανικής χημείας, και αποσαφηνίζεται η δομή πολλών ενώσεων. Τον 20ο αιώνα εμφανίζονται τα χημικά σκευάσματα και τα αρωματικά φαρμακευτικά φυτά αντικαθίστανται από τα φαρμακευτικά παρασκευάσματα [1,25,10]. Βέβαια έως και τον Β΄ Παγκόσμιο πόλεμο οι δρόγες χρησιμοποιούνταν σαν σκόνη ή εκχύλισμα και τα περισσότερα φαρμακεία διατηρούσαν αποθηκευμένες πολλές δρόγες για την επιτόπου παρασκευή σκευασμάτων. Αυτό απαιτούσε ο φαρμακοποιός να είναι γνώστης της βοτανικής- μορφολογικής μεθοδολογίας. Μετά τον Β΄ Παγκόσμιο πόλεμο η χρήση των δρογών γίνεται από τις φαρμακοβιομηχανίες και η φαρμακογνωσία μετατοπίζεται στην χημική θεώρηση με ελάττωση του βοτανικού μέρους και αλματώδη ανάπτυξη της συνθετικής οργανικής χημείας. Παρόλα αυτά πολλά σπουδαία και ευρέως χρησιμοποιούμενα φάρμακα είναι φυσικά προϊόντα για οποία δεν υπάρχουν συνθετικά υποκατάστατα [1]. Τελευταία παρατηρείται μια αναζωπύρωση του ενδιαφέροντος για την καλλιέργεια αρωματικών φαρμακευτικών φυτών κυρίως ως εναλλακτική πρόταση για την αντικατάσταση παλιών καλλιεργειών [10]. Επίσης υπολογίζεται πως το 40% των σημερινών φαρμακευτικών σκευασμάτων είναι φυσικά προϊόντα ή προέρχονται από φυσικά προϊόντα. Πάνω από 50.000 είδη φυτών χρησιμοποιούνται για ιατρικούς σκοπούς (Αναλγητικό (π.χ. μορφίνη), αντιβηχικό (π.χ. κωδεΐνη), αντιυπερτασικό (π.χ. ρεζερπίνη), καρδιοτονωτικό (π.χ. διγοξίνη), αντινεοπλασματικό (π.χ. βινβλαστίνη και πακλιταξέλη) ή αντιελκυσιακό Πάνω από το 25% των νέων φαρμάκων που εγκρίθηκαν τα τελευταία 30 χρόνια βασίζονται σε ένα μόριο φυτικής προέλευσης και περίπου το 50% των χημικών με τις μεγαλύτερες πωλήσεις προέρχεται από τη γνώση για τον δευτερογενή μεταβολισμό των φυτών. Επτά ενώσεις φυτικής προέλευσης με αντικαρκινική δράση έχουν λάβει έγκριση για κλινική χρήση: Ταξόλη/Πακλιταξέλη (*Taxus brevifolia*), βινβλαστίνη και βινκριστίνη (*Catharanthus roseus*), τοποτεκάνη και ιρινοτεκάνη (*Camptotheca acuminata*) και ετοποσιδή και τενιποσιδή (*Peltatumdoli*) [30].

1.3. Ποια φυτά ονομάζονται φαρμακευτικά

Τα φυτά που κάποιο τμήμα τους παράγει χημικές ενώσεις με θεραπευτικές ιδιότητες οι οποίες μετά από απομόνωση παράγουν φάρμακα αυτούσια ή μετά από επεξεργασία ονομάζονται φαρμακευτικά [1,10,25,29]. Τα οργανικά συστατικά (ορμόνες, χρωστικές, φαινολικά συστατικά, τερπένια, αλκαλοειδή) που βιοσυντίθενται κατά τις μεταβολικές διαδικασίες των πρωτογενών

μεταβολιτών αποτελούν τους δευτερογενείς μεταβολίτες και βρίσκονται σε ιδιαίτερα όργανα (άνθη, φύλλα, ρίζες, βλαστοί) των φυτών και έπειτα από κατάλληλα στάδια ανάπτυξης των φυτών [29,30]. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες των φαρμακευτικών φυτών αποτελούν την υλική βάση των κλινικά θεραπευτικών τους αποτελεσμάτων. Αποτελούν επίσης σημαντικούς δείκτες για την αξιολόγηση της ποιότητας των φαρμακευτικών υλικών [29]. Επίσης, δεν είναι απαραίτητοι για την αύξηση των φυτών, δεν αποτελούν δομικά συστατικά κυττάρων και πολλοί μπορούν να ξαναχρησιμοποιηθούν από τα φυτά που τα παράγουν. Χαρακτηρίζονται από ποικίλες ιδιότητες όπως είναι η χρησιμοποίησή τους για τη βιοσύνθεση βασικών ουσιών όπως φυτορμόνες, συνένζυμα. Ακόμη, δεν βρίσκονται σε όλα τα μέλη του φυτικού βασιλείου αλλά σε ένα είδος και επιπλέον επικαλύπτουν φυτικά μέρη εμποδίζοντας την είσοδο παθογόνων π.χ. κητίνη, σουβερίνη, κηροί. Επιπρόσθετα χρησιμοποιούνται σαν φάρμακα, καρυκεύματα, διεγερτικά, δηλητήρια και προστατεύουν την επιφάνεια των φυτών από φυτοφάγα είδη εντόμων. Ωστόσο, η σύνθεση και η συσσώρευσή τους είναι πολύ περίπλοκες, και επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των εσωτερικών αναπτυξιακών γενετικών κυκλωμάτων (ρυθμιζόμενο γονίδιο, ένζυμο) και από παράγοντες εξωτερικού περιβάλλοντος (φως, θερμοκρασία, νερό, αλατότητα κ.λπ. [29].

1.4. Ποια φυτά ονομάζονται αρωματικά

Το χαρακτηριστικό των αρωματικών φυτών είναι η περιεκτικότητα υψηλής συγκέντρωσης πτητικών ουσιών στη σύστασή τους, οι οποίες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος εξαερώνονται και προσδίδουν ένα ιδιαίτερο άρωμα. Οι πτητικές αυτές ουσίες που προσδίδουν χαρακτηριστική οσμή στα φυτά ονομάζονται αιθέρια έλαια [1,10,25].

1.5. Οικογένειες αρωματικών φαρμακευτικών φυτών

Τα καταγεγραμμένα φυτά, αρωματικά – φαρμακευτικά φυτά από τα οποία παραλαμβάνονται αιθέρια έλαια, δεν απαντώνται σε μόνο μια ταξινομική ομάδα αλλά είναι κατανεμημένα σε ένα μεγάλο εύρος οικογενειών. Κάποια από τα κυριότερα αρωματικά φυτά, λοιπόν, ανήκουν στις οικογένειες Lamiaceae (Χειλανθή), Umbelliferae (Σκιαδιοφόρα), Lauraceae (Δαφνοειδή), Myrtaceae (Μυρτώδη) και Compositae (Σύνθετα) Abietaceae, Anacardiaceae, Apiaceae, Asteraceae, Geraniaceae, Lamiaceae, Labiatae, Rutaceae, Iridaceae, Rosaceae κλπ. Συνολικά ταξινομούνται σε πενήντα περίπου οικογένειες [25].

Οικογένεια Asteraceae: Η πλειοψηφία των μελών της οικογένειας Asteraceae έχει θεραπευτικές εφαρμογές και έχει μακρά ιστορία στην παραδοσιακή ιατρική: ορισμένα μέλη έχουν καλλιεργηθεί για περισσότερα από 3000 χρόνια για εδώδιμους και ιατρικούς σκοπούς. Είναι πιο κοινά σε άνυδρες και ημίξηρες περιοχές υποτροπικών περιοχών, αλλά είναι γνωστά και κατανεμημένα σε όλο τον κόσμο [31]. Η μορφολογία των φυτών είναι ποικίλη, όμως ο μεγαλύτερος αριθμός των ειδών της τάξης είναι πόες, αλλά υπάρχουν και είδη που είναι δένδρα θάμνοι ή ξυλώδη αναρριχώμενα. Τα φύλλα σχεδόν πάντα εκφύονται κατ' εναλλαγή. Κύριο και κοινό χαρακτηριστικό των ειδών της οικ. Asteraceae που κάνει αναγνωρίσιμα τα μέλη με την πρώτη ματιά είναι η ταξιανθία κεφάλιο [10,25]. Πολλά είδη Asteraceae επιδεικνύουν διάφορες

φαρμακολογικές δραστηριότητες, οι οποίες έχουν αποδοθεί στα φυτοχημικά συστατικά τους, όπως αιθέρια έλαια, λιγνάνες, σαπωνίνες, πολυφαινολικές ενώσεις, φαινολικά οξέα, στερόλες και πολυσακχαρίτες. Τα μέλη της οικογένειας Asteraceae παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα αντιφλεγμονωδών, αντιμικροβιακών, αντιοξειδωτικών και ηπατοπροστατευτικών δράσεων. Εκχυλίσματα από τα φυτά της οικογένειας Asteraceae επιδεικνύουν την ικανότητα δέσμευσης των ελεύθερων ριζών, η οποία έχει αποδοθεί στην περιεκτικότητά τους σε φαινολικές ενώσεις. Οι φαινολικές ενώσεις δρουν βελτιώνοντας το ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα, χηλώνοντας τα μεταλλικά ιόντα και αποφεύγοντας το σχηματισμό ελεύθερων ριζών. Η οικογένεια Asteraceae, συχνά γνωστή ως οικογένεια ηλίανθων, είναι μία από τις μεγαλύτερες οικογένειες ανθοφόρων φυτών, που περιλαμβάνει περισσότερα από 1600 γένη και 25.000 είδη παγκοσμίως. Περιλαμβάνει μια σειρά από γνωστά είδη, όπως κιχώριο, ηλίανθο, μαρούλι, coreopsis, ντάλιες και μαργαρίτα, καθώς και μια σειρά από φυτά φαρμακευτικής σημασίας, όπως η αψιθιά, το χαμομήλι και η πικραλίδα [25,31].

Οικογένεια Iridaceae: Η οικογένεια Iridaceae περιλαμβάνει περίπου 2000 είδη ταξινομημένα περίπου σε 65 γένη. Μεταξύ των φαρμακευτικών φυτών υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για το *Crocus Sativus* L., γνωστό για τις διάφορες φαρμακολογικές του ιδιότητες για πάνω από 3.600 χρόνια πριν. Είναι ένα πολυετές βότανο χωρίς στελέχη, που ανήκει στην οικογένεια Iridaceae, που καλλιεργείται σε διάφορες χώρες όπως Ελλάδα, Ιταλία, Ισπανία, Ισραήλ, Μαρόκο, Τουρκία, Ιράν, Ινδία, Κίνα, Αίγυπτο και Μεξικό [25,33]. Το σαφράν, το χρυσό μπαχαρικό, είναι το αποξηραμένο στίγμα του λουλουδιού και είναι γνωστό για τις φαρμακευτικές του ιδιότητες, καθώς διαθέτει αντικαρκινικό, γονοπροστατευτικό, αντιοξειδωτικό, αντιφλεγμονώδες, αντιδιαβητικό, αντιαθηροσκληρωτικό, υπολιπιδαιμικό, υποτασικό, ηπατοπροστατευτικό, αντικαταθλιπτικό, αντισπασμωδικό, αγχολυτικά και υπνωτικά αποτελέσματα, βελτιώνει τη μάθηση, τη γνωστική απόδοση και την εξασθένηση της μνήμης [33]. Το φυτό χαρακτηρίζεται από τα τρία μακριά κόκκινα στίγματα του, τα οποία ενώνονται με το στυλ, τους τρεις κίτρινους στήμονες και τα έξι μωβ πέταλα. Έχει διακριτικό χρώμα, γεύση και οσμή, που περιέχει περισσότερες από 150 πτητικές και μη πτητικές ενώσεις. Τα πτητικά αποτελούνται από περισσότερα από 34 συστατικά, κυρίως τερπενικές αλκοόλες, τερπένια και τους εστέρες τους, ενώ τα μη πτητικά περιλαμβάνουν κροκίνες, καροτίνες, κροκετίνη και πικροκροκίνη [25,33].

Οικογένεια Lamiaceae: Η οικογένεια Lamiaceae περιέχει πολλά πολύτιμα φαρμακευτικά φυτά. Στην οικογένεια υπάρχουν 236 γένη και μεταξύ 6900 και 7200 είδη. Στα πιο άφθονα γένη ανήκουν τα *Salvia* (900 είδη). Τα φυτά Lamiaceae πλούσια σε αιθέρια έλαια έχουν μεγάλη αξία στη φυσική ιατρική, τη φαρμακολογία, την κοσμετολογία και την αρωματοθεραπεία [25,35]. Τα αιθέρια έλαια υπάρχουν κυρίως στα φύλλα, ωστόσο, μπορούν να βρεθούν σε άνθη, μπουμπούκια, φρούτα, σπόρους, φλοιό, ξύλο ή ρίζες. Ορισμένα έλαια, που λαμβάνονται από *Lavandula*, *Geranium* ή *Rosmarinus*, περιέχουν 450 έως 500 χημικές ουσίες. Μεταξύ των δραστικών ενώσεων των αιθέριων ελαίων είναι διάφορες χημικές κατηγορίες, αλκοόλες, αιθέρες, αλδεΐδες, κετόνες, εστέρες, φαινόλες, τερπένια (μονοτερπένια, σεσκιτερπένια) και κουμαρίνες [35]. Πολλά μέλη της οικογένειας Lamiaceae καλλιεργούνται για να χρησιμοποιηθούν ως βότανα και ως πηγή αιθέριων

ελαίων. Τα περισσότερα αιθέρια έλαια αυτής της οικογένειας αποτελούνται από μονοτερπένια και σεσκιτερπένια. Παρουσιάζουν αντιμικροβιακή και αντιμυκητιακή δράση εξαιτίας της περιεκτικότητάς τους σε καρβακρόλη και θυμόλη. Παρουσιάζουν, επίσης, μεγάλη δραστηριότητα εναντίον των εντόμων που προσβάλουν προϊόντα αποθηκευμένα και τα οποία δύσκολα καταπολεμούνται [25,35].

Οικογένεια Anacardiaceae: Περιλαμβάνει περίπου 800 είδη ταξινομημένα σε 82 γένη. Είναι δένδρα ή θάμνοι, μέτρια σε αριθμό φυτών οικογένεια, αλλά πολύ σημαντική από οικονομικής (καλλιεργούμενα είδη) και περιβαλλοντολογικής πλευράς (βιοποικιλότητα, δασικά είδη) [25]. Σημαντικό είναι το γένος *Schinus* περιλαμβάνει περίπου 29 είδη και κυρίως το είδος *Pistacia leutiscus* (μαστίχα Χίου), που προέρχονται από τη Νότια Αμερική, διανέμονται στο Περού, τη Χιλή, την Αργεντινή, τη Βραζιλία και την Παραγουάη και καλλιεργούνται στην Αίγυπτο και στη μεσόγειο. Παραδοσιακά, χρησιμοποιούνται για την ανακούφιση πολλών και ποικίλων ασθενειών, όπως ρευματισμοί, υπέρταση, έλκη, γαστρική δυσφορία, διαταραχές εμμήνου ρύσεως, γονόρροια, βρογχίτιδα, ουλίτιδα, επιπεφυκίτιδα, δυσεντερία, πληγές, ουροποιητικές λοιμώξεις και οφθαλμικές λοιμώξεις [36]. Αρκετές φυτοχημικές μελέτες αποκάλυψαν την παρουσία ποικίλων βιοδραστικών ενώσεων όπως φλαβονοειδή, βιοφλαβονοειδή, φαινολικά οξέα, τανίνες, κατεχίνες, τερπενοειδή και αιθέρια έλαια. Επιπλέον, ορισμένα είδη και οι μεμονωμένες δραστικές ενώσεις τους παρουσίασαν σημαντικές βιολογικές δράσεις όπως αντιβακτηριδιακές, αντιμυκητιακές, εντομοκτόνες, αντιπαρασιτικές, αναλγητικές, κυτταροτοξικές, αντικαρκινικές, αντιοξειδωτικές, αντιυπερτασικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιμυκητιακές, αντι-παρκινσονικές, αντιαλλεργικές, αντιακές, επούλωση πληγών, χημειοπροστατευτικό, ηπατοπροστατευτικό [25,36].

1.6. Καλλιεργούμενα - αυτοφυή είδη

Κάποια από τα αρωματικά φαρμακευτικά φυτά είναι ευρέως διαδεδομένα, εξαιτίας των σπουδαίων βιολογικών ιδιοτήτων τους. Η καλλιέργειά τους βοηθάει στην προστασία του περιβάλλοντος από αλόγιστη και άναρχη συλλογή και εκμετάλλευση [10,25]. Οι στρεμματικές αποδόσεις όσων φυτών από αυτά καλλιεργούνται διαφέρουν από έτος σε έτος αφού εξαρτώνται από τις κλιματολογικές συνθήκες της κάθε χρονιάς [25]. Η Ελλάδα λόγω των εδαφοκλιματικών συνθηκών της, απαρτίζεται από πολυάριθμα αρωματικά φυτά. Από τα 6308 συνολικά είδη ανώτερων φυτών που υπάρχουν στην Ελλάδα, 500 – 600 περίπου είδη περιλαμβάνονται στην κατηγορία των αρωματικών. Σύμφωνα με τα διαθέσιμα στοιχεία της Διεύθυνσης Αγροτικής Πολιτικής και Τεκμηρίωσης του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων τα κυρίαρχα καλλιεργούμενα φυτά στην Ελλάδα σήμερα είναι τα εξής: η ρίγανη (*Origanum vulgare*), ο δίκταμος (*Origanum dictamnus*), το τσάι του βουνού (*Sideritis* sp.) και το χαμομήλι (*Chamomilla* sp.) [39].

	<i>Βοτανικό είδος</i>	<i>Κατηγορία</i>	<i>Κοινή ονομασία</i>
1	Crocus sativus L.	Καλλιεργούμενο	Κρόκος
2	Lavandula angustifolia	Καλλιεργούμενο	Λεβάντα
3	Chamomile	Καλλιεργούμενο/Αυτοφυές	Χαμομήλι
4	Menta piperita	Καλλιεργούμενο/Αυτοφυές	Μέντα
5	Ocimum basilicum	Καλλιεργούμενο	Βασιλικός
6	Origanum dictamnus	Καλλιεργούμενο/Αυτοφυές	Δίκταμο
7	Origanum	Καλλιεργούμενο/Αυτοφυές	Ρίγανη
8	Pistacia lentiscus L.	Καλλιεργούμενο	Μαστίχα
9	Salvia	Καλλιεργούμενο/Αυτοφυές	Φασκόμηλο
10	Sideritis	Καλλιεργούμενο/Αυτοφυές	Τσάι βουνού
11	Thymus vulgaris	Άγριο	Θυμάρι

Πίνακας 1: Καλλιεργούμενα/ αυτοφυή είδη της Ελλάδας. Τα κυριότερα εμπορικά και αρωματικά φυτά στην Ελλάδα είναι το τσάι του βουνού, τα φασκόμηλο, η ρίγανη, ο βασιλικός, το χαμομήλι, η μέντα, η λεβάντα, το μελισσόχορτο και τα τοπικά προϊόντα όπως η μαστίχα Χίου, ο κρόκος Κοζάνης και το δίκταμο της Κρήτης [25].

1.7. Χρήσεις των αρωματικών – φαρμακευτικών φυτών

Εκτός από τις παραδοσιακές ιατρικές εφαρμογές των φαρμακευτικών και αρωματικών φυτών, υπάρχει η δυνατότητα χρήσης τους σε καλλυντικά προϊόντα, πρόσθετα και συντηρητικά ζωοτροφών ή τροφίμων ή ως βιώσιμο εργαλείο για βιοτεχνολογικές εφαρμογές, όπως η ενίσχυση δευτερογενών μεταβολιτών με γενετική μηχανική [11]. Τρόποι χρήσης των αρωματικών φαρμακευτικών φυτών είναι ως: αφέψημα, δρόγη, άρτυμα [25].

Αφέψημα: είναι η παρασκευή ροφήματος με ζεστό ή κρύο νερό ανάλογα με το σκοπό που θα εξυπηρετήσει και μπορεί να περιλαμβάνει ένα ή περισσότερα φυτά. Το αφέψημα μπορεί να παρασκευασθεί για κατάποση ή ως καταπραϊντικό σε ευαίσθητες επιδερμίδες ή για πλύσεις. Οι αποξηραμένες δρόγες χρησιμοποιούνται είτε ολόκληρες είτε τεμαχισμένες και είτε μεμονωμένα φυτά είτε μίγμα φυτών [10,13].

Άρτυμα: είναι οι ουσίες που προσθέτουμε για ιδιαίτερη γεύση στα φαγητά και για το λόγο αυτό τα φαρμακευτικά αρωματικά φυτά που χρησιμοποιούνται σαν αρτύματα περιέχουν αρωματικές, πικρές, καυτερές δραστικές ουσίες. Χρησιμοποιούνται χλωρές ή αποξηραμένες δρόγες οι οποίες βελτιώνουν τη γεύση των φαγητών ή βοηθούν στην πέψη [10,25].

Δρόγη: Η δρόγη των αρωματικών φαρμακευτικών φυτών χρησιμοποιείται χλωρή ή ξηρή και θα πρέπει εκτός από την περιεκτικότητα σε αιθέρια έλαια να μην έχει υποστεί κακή διαχείριση. Για παράδειγμα τα άνθη του χαμομηλιού να μην είναι τριμμένα αλλά ολόκληρα, να αποθηκεύονται σε γυάλινα δοχεία και ο χρόνος αποθήκευσης να μην ξεπερνά τα δύο χρόνια, γιατί χάνεται η ευεργετική τους δράση [10,25].

Συντηρητικό: Το σίγουρο είναι ότι η χρήση αρωματικών πιάτων με «βότανα» ξεκίνησε πιθανότατα ως συνέπεια της ικανότητάς τους να αλλοιώνουν ή να αποκρύπτουν οτιδήποτε μυρίζει ή έχει δυσάρεστη γεύση. Η παρουσία άφθονων και πολύπλοκων μειγμάτων μπαχαρικών στις συνταγές σχετίζονταν με την ικανότητά τους να επιβραδύνουν και να καλύπτουν διαδικασία αποικοδόμησης, από την πλευρά της λιπιδικής υπεροξειδωσης, της ενζυμικής αποικοδόμησης των πρωτεϊνών και της μικροβιακής αλλοίωσης [32].

Ιατρικές εφαρμογές: Η κυτταροτοξική ικανότητα των αιθέριων ελαίων που βασίζεται σε μια προοξειδωτική δράση μπορεί να τα κάνει εξαιρετικούς αντισηπτικούς και αντιμικροβιακούς παράγοντες για προσωπική χρήση, δηλαδή για καθαρισμό του αέρα, προσωπική υγιεινή ή ακόμη και εσωτερική χρήση μέσω της στοματικής κατανάλωσης και για εντομοκτόνο χρήση για τη διατήρηση των καλλιεργειών ή αποθέματα τροφίμων [28].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

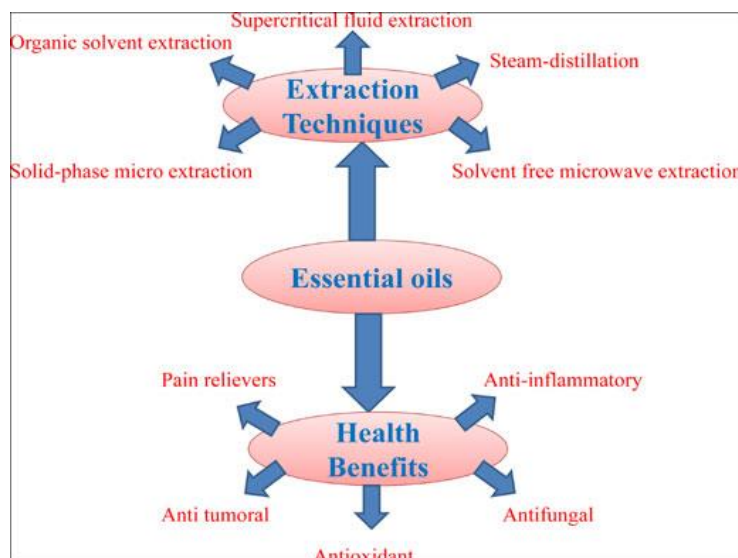
ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ

2.1. Γενικά

Τα αιθέρια έλαια είναι ένα μείγμα υδρογονανθράκων, τερπενίων, φαινολών και αλδεϋδων. Ένα λάδι μπορεί να περιέχει 80 έως 300 διαφορετικούς υδρογονάνθρακες . Ιστορικά, τα αιθέρια έλαια έχουν χρησιμοποιηθεί σε ποικίλες εφαρμογές, όπως αρώματα, αρώματα τροφίμων, αρωματικά, χρώματα, καθαριστικά και φάρμακα [35,37].

2.2. Τρόποι εξαγωγής και απομόνωσης αιθέριων ελαίων

Οι τρόποι απομόνωσης του αιθέριου ελαίου είναι κυρίως : α) με απόσταξη β) με εκχύλιση αλλά και με έκθλιψη, με οργανικούς διαλύτες ή με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα [1,10,25,34]. Η διαδικασία λήψης διαφορετικών βιοδραστικών ενώσεων των κλασικών μεθόδων περιλάμβανε μόνο νερό, βότανα και ενέργεια. Αντί για διαβροχή, αφέψημα ή έγχυση, οι ερευνητές ανέπτυξαν μεθόδους όπως Soxhlet, Clevenger, Kumagawa ή ταυτόχρονη απόσταξη-εκχύλιση Likens–Nickerson, οι οποίες, με τη σειρά τους, αντικαθίστανται στις μέρες μας με σύγχρονο εξοπλισμό όπως ο φούρνος μικροκυμάτων, υποβοηθούμενη εξαγωγή, εκχύλιση υπερκρίσιμου υγρού ή υποβοηθούμενη εξαγωγή με υπερήχους [11].



Σχήμα 1: Απεικόνιση των μεθόδων απομόνωσης αιθέριου ελαίου(υπερκρίσιμου υγρού, με οργανικούς διαλύτες, ατμού, μικροεκχύλιση, μικροκύμματα) και βιολογικών ιδιοτήτων του (ανακούφιση πόνων, αντιφλεγμονώδεις,κατά των όγκων, αντιμυκητιακές, και αντιοξειδωτικές ιδιότητες [34].

2.2.1. Απόσταξη

Η μέθοδος της απόσταξης είναι η πιο διαδεδομένη και οικονομική μέθοδος. Διακρίνεται στην υδροαπόσταξη,υδροατμοαπόσταξη,απόσταξη με υδρατμούς [34,46].

Υδροαπόσταξη: Το φυτικό υλικό, τοποθετείται σε σφαιρική φιάλη με νερό, η οποία συνδέεται με ψυκτήρα και με θερμαντική συσκευή. Το χαρακτηριστικό της μεθόδου αυτής είναι ότι το νερό και το φυτικό υλικό είναι σε άμεση επαφή. Στην υδροαπόσταξη πρέπει να αποφεύγεται η υπερθέρμανση του φυτικού υλικού, ώστε να μην γίνεται θερμική διάσπαση διαφόρων συστατικών του αιθερίου ελαίου. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι: μεγάλος χρόνος, μικρή απόδοση σε αιθέριο έλαιο, παραλαβή κατώτερης ποιότητας αιθερίου ελαίου [46,51].

Υδροατμοαπόσταξη: Το φυτικό υλικό δεν έρχεται σε άμεση επαφή με το νερό, αλλά τοποθετείται σε πλέγμα που βρίσκεται πιο ψηλά από την επιφάνεια του νερού. Ο ατμός που σχηματίζεται από την θέρμανση του νερού, έρχεται σε επαφή με τη μάζα του φυτικού υλικού και παρασύρει το αιθέριο έλαιο [44,51].

Απόσταξη με υδρατμούς: Εδώ εισάγεται ατμός, ο οποίος παράγεται σε ειδικό ατμολέβητα και ο ατμός παρασύρει το αιθέριο έλαιο [44,51].

2.2.2. Εκχύλιση

Η συνήθης περίπτωση διαχωρισμού με εκχύλιση, είναι η υγρό- υγρό εκχύλιση. Η εκχύλιση αυτή με υγρούς διαλύτες (συνήθως νερό – οργανικός διαλύτης) βασίζεται στην κατανομή της διαλυμένης ουσίας μεταξύ δύο υγρών, τα οποία είναι πρακτικώς μη αναμίξιμα (υδατική – οργανική φάση). Στην υδατική φάση κατά κύριο λόγο συλλέγονται οι πολικές ουσίες και τα ανόργανα συστατικά, ενώ στην οργανική οι μη πολικές ουσίες. Η μέθοδος της εκχύλισης χρησιμοποιείται για την παραλαβή του αιθερίου ελαίου από φυτικά υλικά, τα οποία είναι ευπαθή στην απόσταξη. Ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο εκχυλιστικό υλικό, διακρίνεται σε εκχύλιση με ψυχρό λίπος, εκχύλιση με θερμό λίπος, με πτητικούς διαλύτες και σε υπερκρίσιμη εκχύλιση [46,49,51].

Εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες: Χρησιμοποιείται κυρίως ο πετρελαϊκός αιθέρας, το βενζόλιο, η αιθυλική αλκοόλη. Το προϊόν που λαμβάνεται, μετά την απομάκρυνση του πτητικού διαλύτη, περιέχει και άλλες ουσίες, όπως κύρους και χρωστικές. Μετά από επεξεργασία με αιθυλική αλκοόλη λαμβάνεται τελικά το αιθέριο έλαιο [48,51].

Εκχύλιση με ψυχρό λίπος: Η εκχύλιση με ψυχρό λίπος αποτελεί βελτίωση του τρόπου παρασκευής αρωματικών αλοιφών. Το λίπος που χρησιμοποιείται πρέπει να είναι καθαρό και ημίσκληρο. Το λίπος έχει την ικανότητα να απορροφά και να συγκρατεί τις πτητικές ουσίες με τις οποίες έρχεται σε επαφή. Η εκχύλιση διαρκεί 24-30 ώρες [49,51]. Ορισμένα υψηλής ποιότητας άνθη όπως το γιασεμί, και η γαρδένια δίνουν μικρές ποσότητες λαδιού και δεν μπορούν να αποσταχθούν με υδροαπόσταξη. Επιπλέον, τα συστατικά του λαδιού είναι θερμοευαίσθητα και τέτοια άνθη, ακόμη και μετά το μάδημα, συνεχίζουν να εκπέμπουν μικρές ποσότητες αρώματος. Το λάδι από αυτούς τους τύπους λουλουδιών εξάγεται με ψυχρή εκχύλιση λίπους. Το εκχύλισμα κορεσμένου αρωματικού λίπους είναι γνωστό ως πομάδα [49].

Εκχύλιση με θερμό λίπος: Η εκχύλιση αυτή μοιάζει με την εκχύλιση με ψυχρό λίπος, με τη διαφορά ότι τα άνθη και το λίπος τοποθετούνται σε δοχεία που θερμαίνονται στους 800 °C. Η μέθοδος χρησιμοποιείται για την παραλαβή αιθέριων ελαίων από άνθη που έχουν φυσιολογική δράση στην παραγωγή και διάχυση του αρώματος τους στο περιβάλλον. Τέτοια είναι τα τριαντάφυλλα, εσπεριδοειδή, μιμόζα, βιγόνια κ.ά. [51].

Εκχύλιση με υδρόφιλους διαλύτες: Χρησιμοποιούνται υδατοδιαλυτοί διαλύτες ως εκχυλιστικά μέσα ή σε ανάμιξη με το νερό, για την παραλαβή των περισσοτέρων φυτικών συστατικών, που χρησιμοποιούνται στην κοσμετολογία. Τέτοιοι διαλύτες είναι η αιθυλενογλυκόλη, προπυλενογλυκόλη, η βουτεενογλυκόλη [11,49,51].

Υπερκρίσιμη Εκχύλιση (SFE): Κάθε συστατικό σε θερμοκρασία και πίεση πάνω από το κρίσιμο σημείο (εκεί που αλλάζει φάση) βρίσκεται σε υπερκρίσιμη κατάσταση. Πάνω από την κρίσιμη θερμοκρασία ένα συστατικό που είναι αέριο δεν μπορεί να υγροποιηθεί παρόλη την εφαρμογή υψηλής πίεσης. Η κρίσιμη πίεση είναι των ατμών του αερίου σε κρίσιμη θερμοκρασία. Το ρευστό σε υπερκρίσιμο περιβάλλον διατηρεί τις ιδιότητες τόσο της υγρής όσο και της αέριας φάσης. Η υπερκρίσιμη εκχύλιση είναι μια ραγδαίως αναπτυσσόμενη μέθοδος διαχωρισμού, όπου χρησιμοποιούνται διαλύτες όπως το CO₂ σε υπερκρίσιμες συνθήκες. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την πλήρη απομάκρυνση του CO₂ από το εκχύλισμα, με μια απλή εκτόνωση σε ατμοσφαιρική πίεση. Βασικό μειονέκτημα της μεθόδου είναι οι μεγάλες πιέσεις λειτουργίας, που συνεπάγεται μεγάλο κόστος, καθώς επίσης και η πολυπλοκότητά της [34,42].

Εκχύλιση με υπερήχους: Το δείγμα τοποθετείται με κατάλληλο οργανικό διαλύτη σε λουτρό υπερήχων. Η διάδοση των υπερήχων χαρακτηρίζεται από ελάχιστη συχνότητα 16kHz και προκαλεί κίνηση του υγρού λόγω συμπίεσης και αραιώσης. Με την αύξηση της πίεσης επιτυγχάνονται φαινόμενα διείσδυσης και μεταφοράς, ενώ με την αύξηση της θερμοκρασίας επιταχύνονται φαινόμενα διάχυσης και διαλυτοποίησης. Με τη χρήση των υπερήχων μειώνεται ο χρόνος εκχύλισης, χρησιμοποιούνται μικρότεροι όγκοι διαλυτών και εκχυλίζονται ταυτόχρονα πολλά δείγματα. Η εκχύλιση με υπερήχους εφαρμόζεται στον προσδιορισμό ενώσεων που είναι θερμικά ασταθείς [46]. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η εφαρμογή υπερήχων βελτιώνει την απόδοση εκχύλισης διαλυτών που έχουν κακή ικανότητα εκχύλισης χρησιμοποιώντας συμβατικές μεθόδους. Παρατηρήθηκε βελτιωμένη ικανότητα εκχύλισης των αντιοξειδωτικών από το *Rosmarinus officinalis* χρησιμοποιώντας αιθανόλη ως διαλύτη με υπερήχηση σε σύγκριση με τη συμβατική εκχύλιση, επιτρέποντας το περιθώριο επιλογής διαλύτη, οδηγώντας σε μια πιο οικονομική διαδικασία και ένα βήμα προς την καθαρή, πράσινη εκχύλιση [50].

Εκχύλιση με μικροκύματα (MAE: microwave assisted extraction): Η χρήση των μικροκυμάτων (MW) στην εκχύλιση συμβάλει στη σημαντική μείωση στο χρόνο εκχύλισης, σε σχέση με τις κλασσικές μεθόδους (Soxhlet). Με τις συμβατικές μεθόδους η θερμότητα μεταδίδεται από την θερμαντική πλάκα στο δοχείο θέρμανσης και από εκεί στο διάλυμα. Αντίθετα με τα μικροκύματα η θέρμανση ξεκινάει από το δείγμα, μιας και το δοχείο δεν απορροφά την ακτινοβολία των μικροκυμάτων. Η θερμότητα, που παράγεται από τα MW, είναι εξάρτηση του

διαλύματος. Αυτό συμβαίνει μιας και υπάρχουν διαλύτες που απορροφούν τα MW (π.χ μεθανόλη) και άλλοι που δεν την απορροφούν και επομένως δεν θερμαίνονται (π.χ εξάνιο). Με την MAE υπάρχει επίσης και σημαντική μείωση στον όγκο δείγματος και διαλύτη, σε σχέση με την Soxhlet, λόγω της αποδοτικότερης εκχύλισης [43,46].

Solvent Free Microwave Extraction (SFME): Η τεχνική αυτή συνδυάζει την ακτινοβολία των μικροκυμάτων και την ξηρή απόσταξη. Με την τεχνική αυτή το φυτικό μέρος τοποθετείται σε δοχείο, μέσα σε φούρνο μικροκυμάτων, χωρίς την προσθήκη νερού ή κάποιου οργανικού διαλύτη. Τα μικροκύματα αλληλεπιδρούν με το εγκλωβισμένο (εσωτερικό) νερό, που υπάρχει στο φυτό, προκαλώντας την θέρμανσή του. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη διαστολή των κυττάρων του φυτού, τη ρήξη των αδένων των ελαιοφόρων υποδοχέων και τελικά την απελευθέρωση του αιθέριου ελαίου. Το αιθέριο έλαιο, στη συνέχεια εξατμίζεται μαζί με το 'εσωτερικό' νερό και παραλαμβάνεται με την βοήθεια ψυκτήρα [11,23,43,46].

2.2.3. Μηχανική παραλαβή ή Έκθλιψη

Τα αιθέρια έλαια παραλαμβάνονται με μηχανικά μέσα. Τα μηχανήματα για τους ξηρούς καρπούς είναι πιεστήρια, που μοιάζουν με αυτά που χρησιμοποιούνται στα ελαιοτριβεία. Τα μηχανήματα για τους φλοιούς των εσπεριδοειδών, είτε ξύνουν είτε τρυπούν τους φλοιούς με αποτέλεσμα την απελευθέρωση των αιθερίων ελαίων, που στη συνέχεια διαχωρίζονται από το στερεό υπόλειμμα. Η φλούδα τοποθετείται σε ένα κοίλο σφουγγάρι προσαρτημένο με άλλα σφουγγάρια σε μια πλάκα που ενεργοποιείται από το μοχλό και στερεώνεται από κάτω με επιπλέον σφουγγάρια στη βάση. Το σφουγγάρι είναι τοποθετημένο με χωνί από το οποίο το λάδι και το υδατικό υλικό περνούν στο δοχείο υποδοχής [49,51].

2.3. Χημική σύνθεση των αιθερίων ελαίων

Τα αιθέρια έλαια είναι πολύ σύνθετα φυσικά μείγματα που μπορούν να περιέχουν περίπου 20-60 συστατικά σε αρκετά διαφορετικές συγκεντρώσεις. Χαρακτηρίζονται από δύο ή τρία κύρια συστατικά σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις (20-70%) σε σύγκριση με άλλα συστατικά που υπάρχουν σε ίχνη. Για παράδειγμα, η καρβακρόλη (30%) και η θυμόλη (27%) είναι τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου *Origanum compactum*, η λιναλόλη (68%) του αιθέριου ελαίου *Coriandrum sativum* κ.ά. Γενικά, αυτά τα κύρια συστατικά καθορίζουν τις βιολογικές ιδιότητες των αιθερίων ελαίων. Τα συστατικά περιλαμβάνουν δύο ομάδες διακριτής βιοσυνθετικής προέλευσης. Η κύρια ομάδα αποτελείται από τερπένια και τερπενοειδή και η άλλη από αρωματικά και αλειφατικά συστατικά, όλα χαρακτηρίζονται από χαμηλό μοριακό βάρος [28].

2.3.1. Τερπένια

Τα τερπένια σχηματίζουν δομικά και λειτουργικά διαφορετικές κατηγορίες. Κατασκευάζονται από συνδυασμούς πολλών μονάδων με βάση 5 άτομα άνθρακα (C5) που ονομάζονται ισοπρένιο. Τα κύρια τερπένια είναι τα μονοτερπένια (C10) και τα σεσκιτερπένια (C15), αλλά υπάρχουν

επίσης ημιτερπένια (C₅), διτερπένια (C₂₀), τριτερπένια (C₃₀) και τετρατερπένια (C₄₀). Ένα τερπένιο που περιέχει οξυγόνο ονομάζεται τερπενοειδή [28]. Ένας αριθμός από πτητικά τερπενοειδή εμπλέκονται στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ φυτών και φυτοφάγων εντόμων και εμπλέκονται επίσης σε γενικές αποκρίσεις άμυνας ή στρες. Πολλά τερπενοειδή είναι εμπορικά σημαντικά και βρίσκουν εφαρμογές ως γευστικοί παράγοντες, αρώματα, εντομοκτόνα και αντιμικροβιακά μέσα [30].

Μονοτερπένια: Είναι διακλαδισμένες αλυσίδες υδρογονανθράκων C₁₀, με δυο μονάδες ισοπρενίου, που σχηματίζουν έναν δεσμό δύο ισομερών, είναι ευρέως διανεμημένα σε φυτικά φυτά με περισσότερα από 400 φυσικά μονοτερπένια, και μεγάλο ποσοστό σε αιθέρια έλαια. Διακρίνονται σε: **άκυκλα** μονοτερπένια λόγω του ότι δεν κλείνει ο δακτύλιος, περιλαμβάνει τη λιναλόλη, γερανιόλη, κιτρονελλόλη, νερόλη, κιτρονελλόλη, σε **μονοκυκλικά** μονοτερπένια με ένα κύκλο C, όπως μενθόλη, λιμονένιο, και **δικυκλικά** μονοτερπένια όπως πινένιο, καμφορά, καρβακρόλη, θυμόλη [30,34]. Πολλά φυτικά προϊόντα που περιέχουν αιθέρια έλαια τύπου μονοτερπενίων έχουν μεγάλη οικονομική σπουδαιότητα και χρησιμοποιούνται σαν καρυκεύματα, στην βιομηχανία αρωμάτων, καθώς και ορισμένα οξειδωμένα παράγωγα μονοτερπενίων χρησιμοποιούνται στη φαρμακευτική και ιατρική ως επιχρίσματα, ηρεμιστικά, και ως βελτιωτικά μέσα της γεύσης και της οσμής των φαρμάκων. Τα μονοτερπένια ταξινομούνται ανάλογα με τον βαθμό οξειδώσεως σε υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, φαινόλες, και οξείδια [1].

Σεσκιτερπένια: Χαρακτηρίζονται από δυο δομικές μονάδες ισοπρενίου C₁₅. Τα σεσκιτερπένια απομονώνονται βιογενετικά από το πυροφωσφορικό farnesyl, ένα ενδιάμεσο στη μεβαλονική οδό που χρησιμοποιείται από τους οργανισμούς στη βιοσύνθεση των τερπενοειδών, τις στερόλες και τα τερπένια. Η βιοσύνθεση των σεσκιτερπενίων λαμβάνει χώρα κυρίως στους χλωροπλάστες και στην κατηγορία αυτή ανήκουν πολλά φυσικά προϊόντα από τα οποία όμως περιορισμένος αριθμός παρουσιάζει ιατρικό και φαρμακευτικό ενδιαφέρον. Οι δομές των σεσκιτερπενίων μπορεί να είναι γραμμική, **μονοκυκλική** ή **δι- και τρικυκλική** [1,34]. Σε μονοκυκλικές ενώσεις σεσκιτερπενίων, υπάρχουν ομάδες βισαβολόλης με δομές δακτυλίου C₆ και τα ισομερή τους όπως Z--βισαβολένιο, -βισαβολένιο, E--βισαβολένιο και απαντώνται στο χαμομήλι δίνοντας μπλε χρώμα στο αιθέριο έλαιο [1,30].

Διτερπένια: Αυτά τα συστατικά αποτελούνται από το συνδυασμό τεσσάρων μονάδων του ισοπρενίου. Τα διτερπένια βρίσκονται σε όλες τις οικογένειες φυτών με χημική δομή C₂₀. Θεωρούνται ως πολύ βαριά συστατικά που δεν εξατμίζονται εύκολα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας εκχύλισης με ατμό. Ως εκ τούτου, είναι αδύνατο να βρεθεί σε μεμονωμένα αιθέρια έλαια. Ανακαλύφθηκαν σχεδόν 2500 γνωστά διτερπένια τα οποία ανήκουν σε 20 κύριους δομικούς τύπους. Τα διτερπενικά παράγωγα μπορεί να βρίσκονται στις φυτικές ορμόνες και στη φυτόλη, όπου εμφανίζονται σαν πλευρική αλυσίδα χλωροφύλλης [30,34]. Διακρίνονται σε **άκυκλα** διτερπένια όπως η φυτόλη, και έχοντας εντομοαπωθητική δράση, σε κυκλικά όπως οι γιββερελίνες (γιββερικό οξύ, υπεύθυνο για την ανάπτυξη- επιμήκυνση των κυττάρων, με επιμέρους διάκριση **μονοκυκλικά** διτερπένια, που περιλαμβάνουν την ρετινόλη του φυτού μάνγκο

και δικυκλικά διτερπένια που περιλαμβάνουν την μανουνοόλη στο φλοιό ρίζας του φυτού ινδικός κολεός [1].

2.3.2. Αρωματικές ενώσεις

Προερχόμενες από φαινυλοπροπάνιο, οι αρωματικές ενώσεις εμφανίζονται λιγότερο συχνά από τα τερπένια. Οι βιοσυνθετικές οδοί σχετικά με τα τερπένια και τα φαινυλοπροπανικά παράγωγα γενικά διαχωρίζονται σε φυτά, αλλά μπορεί να συνυπάρχουν σε ορισμένα, με μία κύρια οδό [28]. Οι αρωματικές ενώσεις περιλαμβάνουν: Αλδεϋδη: π.χ. κινναμαλδεϋδη, Αλκοόλ: π.χ.κινναμικό οινόπνευμα, Φαινόλες: π.χ. ευγενόλη, Παράγωγα μεθοξυ: π.χ. ανηθόλη, Μεθυλενοδιοξυ ενώσεις: π.χ. απιόλη, μυριστίνη, σαφρόλη [28].

2.4. Ιδιότητες και χαρακτηριστικά των αιθέριων ελαίων

Πρόκειται για τερπενικές ουσίες χαμηλού μοριακού βάρους (κυρίως μονο- (C10) και σεσκιτερπένια (C15). Με την επίδραση φυσικών εξωτερικών ερεθισμάτων, όπως ο άνεμος, αυξάνεται η ποσότητα των πτητικών ενώσεων που απελευθερώνονται στο περιβάλλον. Οι πτητικές ενώσεις παράγονται και συσσωρεύονται σε φυτικούς μικροσκοπικούς ελαιοφόρους αδένες, κυτόπλασμα, και εξειδικευμένα κύτταρα, που βρίσκονται στα διάφορα μέρη των φυτών, όπως τα άνθη, τα φύλλα, οι βλαστοί, οι καρποί, οι ρίζες και δεν μετακινούνται [1]. Τα αιθέρια έλαια έχουν μικρή διαλυτότητα στο νερό αλλά διαλύονται εύκολα σε οργανικούς διαλύτες, επίσης χαρακτηριστικό τους είναι η ιδιότητα να παραμένουν στο σημείο που παράγονται μίγματα πτητικών ουσιών όπως τερπενοειδή, φωσφολιπίδια, φαινυλοπροπάνια [1]. Από βιοσυνθετικής και χημικής άποψης δεν αποτελούν ομοιογενή ομάδα. Τα πιο συνηθισμένα συστατικά είναι τα φαινυλοπροπάνια (από το σικιμικό οξύ) και τα τερπένια (από το οξικό). Φυτά που είναι πλούσια σε αιθέρια έλαια βρίσκονται στο 30% των οικογενειών των φυτών. Τα αιθέρια έλαια από διαφορετικά είδη φυτών περιέχουν περισσότερα από 200 συστατικά τα οποία αποτελούνται από πτητικά και μη πτητικά συστατικά. Μέλη των οικογενειών Aπiaceae, Laminaceae, Asteraceae, έχουν υψηλά ποσοστά σε αιθέρια έλαια [1,10,25,34]. Η σύνθεση και η ισχύς κάθε αιθέριου ελαίου μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με το τμήμα του φυτού από το οποίο εξάγεται. Η δράση των αιθέριων ελαίων είναι αντιβακτηριακή, αντιφλεγμονώδη, ηρεμιστική, σπασμολυτική, και κατασταλτική. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την περιεκτικότητα των φυτών σε αιθέρια έλαια είναι: α) Γενετικοί παράγοντες β) Θερμοκρασία γ) Το στάδιο ανάπτυξης του φυτού δ) Το υψόμετρο ε) Ο φωτισμός στ) Το γεωγραφικό πλάτος [1,10,25]. Επίσης οι περιβαλλοντικές συνθήκες (ηλιοφάνεια, βροχοπτώσεις,) και οι συνθήκες καλλιέργειας(άρδευση λίπανση), οι μηχανικές πληγές, η εποχή συλλογής, η γεωγραφική θέση, το στάδιο ανάπτυξης οργάνων και παραλαβής αιθέριων ελαίων, διάφοροι γενετικοί παράγοντες, είναι κάποιοι από τους παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση και σύσταση των αιθέριων ελαίων [1,25].

2.5. Βιολογικές επιδράσεις των αιθέριων ελαίων

Στα αιθέρια έλαια οφείλονται διάφορες βιολογικές επιδράσεις είτε λόγω των κύριων συστατικών κάποιων φυτών είτε δευτερευόντων ή λόγω συνέργειας αυτών. Οι επιδράσεις αφορούν:

Κυτταροτοξικότητα: Λόγω του μεγάλου αριθμού συστατικών, τα αιθέρια έλαια φαίνεται να μην έχουν συγκεκριμένους κυτταρικούς στόχους. Ως τυπικά λιπόφιλα, περνούν από το κυτταρικό τοίχωμα και την κυτταροπλασματική μεμβράνη, διαταράσσουν τη δομή των διαφορετικών στρωμάτων πολυσακχαριτών, λιπαρών οξέων και φωσφολιπιδίων και τα διαπερατούν. Η κυτταροτοξικότητα φαίνεται να περιλαμβάνει τέτοια βλάβη της μεμβράνης [28].

Αντιοξειδωτική δράση: Πολύπλοκα φυσικά θρεπτικά συστατικά όπως λαχανικά, φρούτα, βότανα και μπαχαρικά περιέχουν πολυάριθμα αντιοξειδωτικά μόρια όπως καροτενοειδή, ρετινοειδή, τοκοφερόλες, ασκορβικό οξύ, φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή και πολυφαινόλες [28].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

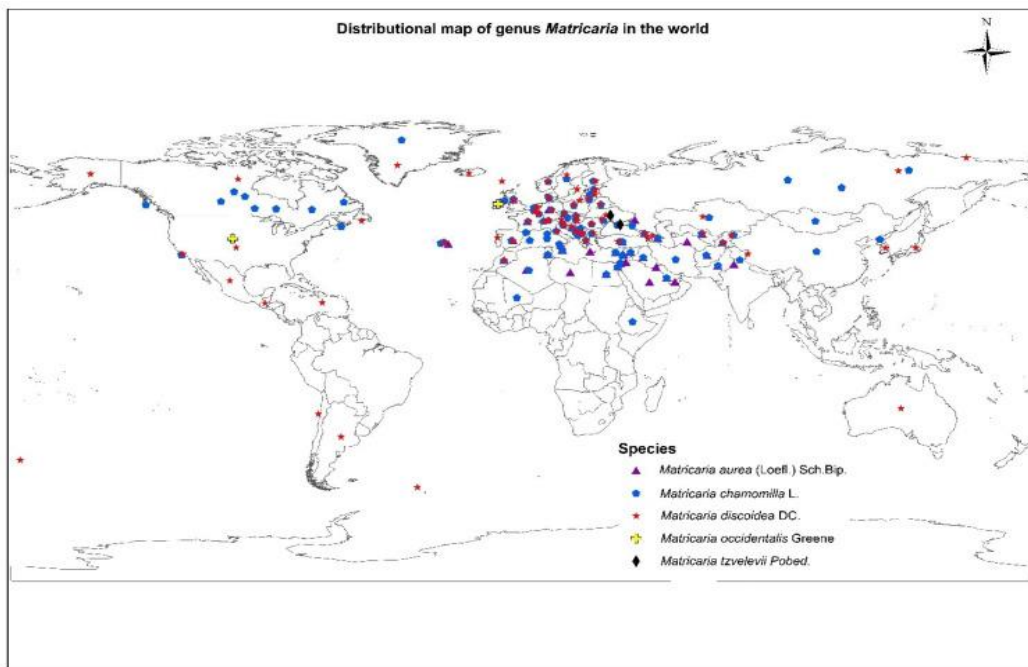
ΧΑΜΟΜΗΛΙ

3.1. Γενικά

Το Χαμομήλι είναι ένα πολύ γνωστό είδος φαρμακευτικών φυτών από την οικογένεια των Asteraceae που συχνά αναφέρεται ως «το αστέρι μεταξύ των φαρμακευτικών ειδών» [9,20,21,24,25]. Η ονομασία προήλθε από το αρχαίο ελληνικό χαμαί που σημαίνει κάτω και το μήλο(πιθανόν λόγω της οσμής του), δηλαδή μήλο της γης. Σήμερα είναι ένα ιδιαίτερα ευνοημένο και πολύ χρησιμοποιούμενο φαρμακευτικό φυτό στη λαϊκή και παραδοσιακή ιατρική. Οι θεραπευτικές, καλλυντικές και διατροφικές του αξίες έχουν εδραιωθεί μέσα από χρόνια παραδοσιακής και επιστημονικής χρήσης και έρευνας [9,20,21,24,25,41].

3.2. Προέλευση

Το χαμομήλι (*Matricaria chamomilla* L.) είναι ένα από τα σημαντικά φαρμακευτικά βότανα που προέρχονται από τη νότια και ανατολική Ευρώπη. Καλλιεργείται επίσης στη Γερμανία, την Ουγγαρία, τη Γαλλία, τη Ρωσία, τη Γιουγκοσλαβία και τη Βραζιλία. Επίσης φυτά βρίσκονται στη Βόρεια Αφρική, την Ασία, τη Βόρεια και Νότια Αμερική, την Αυστραλία και τη Νέα Ζηλανδία καθώς επίσης η Ουγγαρία είναι ο κύριος παραγωγός της φυτικής βιομάζας [5,9,10,13]. Στην Ελλάδα το χρησιμοποιούμενο χαμομήλι προέρχεται από το αυτοφύες. Η διπλοειδής μορφή του βρίσκεται αυτοφύες στην νότια και ανατολική Ευρώπη ενώ η τετραπλοειδής (γερμανικό χαμομήλι) μορφή του καλλιεργείται. Το χαμομήλι φύεται σχεδόν σε όλα τα μέρη της Ελλάδας, ευδοκimeί καλύτερα σε εδάφη πεδινά με εύκρατο κλίμα. Η έκταση που καταλαμβάνει η καλλιέργεια του χαμομηλιού είναι μικρή συγκριτικά με τα άλλα καλλιεργούμενα είδη. Στην Ελλάδα καλλιεργήθηκε από το 1984-1990 ενώ έπειτα εγκαταλείφθηκε η συστηματική του καλλιέργεια [5,9,10,13,26,39,40,41].



Εικόνα 1: Περιοχές όπου φύεται ή καλλιεργείται το χαμομήλι, είδη του γένους *matricaria* [5].

Κάνει την επανεμφάνισή του το 2005, ιδιαίτερα την τετραετία 2005-2008, έχοντας ανοδική τάση η στρεμματική απόδοση του χαμομηλιού. Ένα μέρος της εμπορίας των αρωματικών φυτών προέρχεται από την αυτοφυή παραγωγή των ειδών αυτών η οποία συλλέγεται από φυσικά οικοσύστημα. Η αυτοφυής παραγωγή των αρωματικών φυτών ήταν μηδενική για ορισμένα είδη κάποια έτη. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι στην Ελλάδα υπάρχει έλλειψη στοιχείων στον τομέα της παραγωγής και της συλλογής αρωματικών φυτών. Το χαμομήλι είχε χαμηλή αυτοφυή παραγωγή, όμως οι εκτιμήσεις είναι επισφαλής λόγω της απουσίας στοιχείων για πολλά έτη [39].

3.3. Βοτανική περιγραφή και ταξινόμηση

Το χαμομήλι ανήκει στην **Οικογένεια** : Asteraceae **γένος**: *matricaria*, **είδος**: *chamomilla* [8,20,21,,24,25,27,41]. Συνώνυμα είδη είναι το *matricaria chamomilla* και *recutita*. Πολλές φορές γίνεται σύγχυση με άλλα είδη της οικογένειας. Το πιο γνωστό βοτανικό όνομα για το αληθινό χαμομήλι είναι *Matricaria recutita* (συν. *Matricaria chamomilla*, *Chamomilla recutita* (L.) [5,8,9,26]. Το χαμομήλι είναι ένα ετήσιο φυτό, πόα, με λεπτές ατρακτοειδείς ρίζες που δεν διεισδύουν βαθιά στο έδαφος. Το διακλαδισμένο στέλεχος είναι όρθιο, βαριά διακλαδισμένο και μεγαλώνει σε ύψος 10–80 cm [9,10,13,21,26,41]. Το φυτό έχει λεπτές ατρακτοειδείς ρίζες και όρθιους διακλαδισμένους μίσχους, που έχουν μήκος 3-6 cm.. Τα φύλλα είναι εναλλακτικά και σύνθετα πολυσχιδή, σχεδόν τριχοειδή, διηρημένα και στην κορυφή των βλαστών φέρει ταξιανθίες. Τα άνθη είναι διατεταγμένα σε κεφαλές ή σε κεφαλή, όπως η εξωτερική δακτυλιοειδής ακτίνα και ο εσωτερικός δίσκος ανθίζουν. Τα κεφάλια είναι ετερόγαμα, ακτινοβολούν, τερματικά και αναπτύσσονται μοναχικά, με διάμετρο 1–3 cm. Το κεφάλι περιβάλλεται από κυπέλλους στη βάση

τους. Τα γλωσσανθή ανθίδια των ταξιανθιών είναι λευκά με μήκος 8 cm ενώ τα σωληνανθή ανθίδια είναι κίτρινα, μήκος 1,5–2,5 mm. Η ανθοδόχη έχει πλάτος 6–8 mm, επίπεδη στην αρχή και κωνική, στη συνέχεια κοίλη, και είναι πολύ σημαντικό διακριτικό χαρακτηριστικό της *Matricaria* [9,10,25]. Οι καρποί είναι κιτρινωποί, καφέ αχάινιο, οι οποίοι είναι κυλινδρικοί, μήκους 0,8–1 mm και πλάτους περίπου 0,5 mm, με 3 αξονικές και 2 σχεδόν οριακές λεπτές νευρώσεις. Ο σπόρος διατηρεί τη φυτρωτική του ικανότητα 2-3 χρόνια στην αποθήκη και 10-15 χρόνια στο έδαφος. Η ανθοδόχη και το ιδιαίτερο μηλοειδές άρωμα είναι το χαρακτηριστικό γνώρισμα του χαμομηλιού το οποίο το διαφοροποιεί από τα άλλα είδη που συχνά συγγέεται όπως φυτά του γένους *Anthemis*. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί για να αποφευχθεί η σύγχυση με το *Anthemis cotula* L., ένα δηλητηριώδες φυτό με απίστευτη μυρωδιά [5,8,9,10].

Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Super division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Order	Asterales
Family	Asteraceae
Genus	<i>Matricaria</i>
Species	<i>chamomilla</i>
Synonyms	<i>Matricaria recutita</i> L.;
	<i>Chamomilla vulgaris</i> Gray
	<i>Chamaemelum chamomilla</i> (L.) E.H.L.Krause
	<i>Chrysanthemum chamomilla</i> (L.) Bernh

Πίνακας 2: Βοτανική ταξινόμηση του χαμομηλιού [5].



Εικόνα 2: Διακρίνουμε τα μέρη του φυτού και του άνθους: a) φυτό χαμομηλιού b) άνθος c) σωληνανθής ανθός d) δίσκος e) ανθοδόχη κεφάλιο f) πέταλα g) ανθήρας h) στίγμα i) σπόρος j) συσκομιδή φρέσκων λουλουδιών [5].

3.4. Χρήσεις

Το χαμομήλι χρησιμοποιείται με δύο τρόπους: σαν **αφέψημα** και σαν **εκχύλισμα**. Πολύ διαδεδομένη είναι η χρήση του χαμομηλιού ως αφέψημα το οποίο για να διατηρεί αναλλοίωτες τις θεραπευτικές του ιδιότητες πρέπει να παρασκευάζεται χωρίς να βράζεται μαζί με το νερό. Το τμήμα του φυτού που χρησιμοποιείται είναι οι αποξηραμένες ανθοταξίες. Στην περίπτωση που χρησιμοποιείται σαν αφέψημα (αποξηραμένες ανθοταξίες) θα πρέπει να πληρούν τις απαραίτητες προϋποθέσεις όπως το μέγεθος του άνθους και η ακεραιότητά του δηλαδή τα άνθη να μην είναι τριμμένα. Στην περίπτωση του εκχυλίσματος σημαντικό ρόλο παίζουν οι δραστικές ουσίες, μπιζαμπολόλη και τα φλαβονοειδή απιγενίνη και απιγενίνη -7-γλυκοζίδης [5,10,24,26,41]. Το τσάι χαμομηλιού χρησιμοποιείται επίσης σε παραδοσιακές οικιακές θεραπείες για τη θεραπεία αρκετών στομαχικών διαταραχών, πόνους στο σώμα και για τη μείωση του στρες. Το αιθέριο έλαιο χρησιμοποιείται επίσης ως θεραπευτικό και αρωματικό συστατικό σε σαπούνια μπάνιου, σαμπουάν και άλλα σκευάσματα περιποίησης μαλλιών. Επιπλέον, εκχύλισμα χαμομηλιού, αιθέριο έλαιο και ξηρές κεφαλές λουλουδιών χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων για να προσθέσουν γεύση, χρώμα και γεύση σε προϊόντα διατροφής. Για την παρασκευή εκχυλισμάτων χαμομηλιού με αντιφλογιστική αποτελεσματικότητα, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο τύποι χαμομηλιού που παρουσιάζουν υψηλή περιεκτικότητα σε (-)-α-βισαβολόλη και τη συνθετική ρακεμική βισαβολόλη. Το χαμομήλι μιας συγκεκριμένης χημικής σύνθεσης χρησιμοποιείται ως φάρμακο καθώς παρουσιάζει ειδική φαρμακολογική δράση [5,9,24]. Η Γερμανική επιτροπή Ε εγκρίνει (German Standard License) αφεψήματα ή ειδικά σκευάσματα, για εξωτερικές χρήσεις σε ερεθισμούς του δέρματος και εσωτερικές χρήσεις σε ερεθιστικές καταστάσεις του στόματος, του φάρυγγα, του πεπτικού και αναπνευστικού συστήματος (εισπνοές). Η Βρετανική Ιατρική Εταιρεία Βοτάνων (Bradley British Herbal Medicine Association) αναφέρει επίσης ότι το χαμομήλι μπορεί

να χρησιμοποιείται επιπλέον για εκζέματα ενώ έχει ευεργετικές επιδράσεις στο πεπτικό έλκος και βοηθά σε ελαφρές περιπτώσεις αϋπνίας. Το αιθέριο έλαιο του χαμομηλιού χρησιμοποιείται στην αρωματοθεραπεία, την κοσμετολογία και την αρωματοποιία [41].

3.5. Ποικιλίες

Το χαμομήλι, ένα πολύ γνωστό φάρμακο της παλιάς εποχής, είναι γνωστό με μια σειρά ονομάτων, όπως Baboonig, Babuna, Babuna camornile, Babunj, γερμανικό χαμομήλι, ουγγρικό χαμομήλι, ρωμαϊκό χαμομήλι, αγγλικό χαμομήλι, Camomilla, χαμομήλι Flos, Single chamomile, γλυκό ψεύτικο χαμομήλι, κεφαλές καρφίτσας και αρωματικό αγριόχορτο, γεγονός που υποδηλώνει την ευρεία χρήση του. Τα τρία φυτά, συγκεκριμένα, *A. nobilis* Linn, *Corchorus depressus* Linn, και *M. chamomilla* Linn. αναφέρονται με ένα ομόφωνο όνομα Babuna σε διαφορετικά σημεία της βιβλιογραφίας. Τελικά αποδείχθηκε ότι η Babuna ανήκει στην οικογένεια Compositae (Asteraceae) και ότι η σωστή επιστημονική ονομασία του Babuna είναι *M. chamomilla* L [9]. Η φαρμακευτική αξία του χαμομηλιού αξιολογήθηκε από την περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο και την περιεκτικότητα σε χαμαζουλένιο κ.λπ. Η ποιότητα του αιθέριου ελαίου καθορίζεται από το χρώμα του. Όσο πιο μπλε το λάδι τόσο καλύτερη είναι η ποιότητα, γιατί το μπλε χρώμα χρησιμεύει ως χημικός δείκτης για την παρουσία τερπενοειδών και φλαβονοειδών, κυρίως χαμαζουλενίου και α-βισαβολόλης [9,10,40]. Καθώς έχουν αναπτυχθεί αποτελεσματικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό των συστατικών και της αποτελεσματικότητας του φαρμάκου, η περιεκτικότητα σε-α βισαβολόλη και τα οξείδια της στα άνθη έχει γίνει ένας σημαντικός δείκτης ποιότητας και αξίας του φαρμάκου. Ως αποτέλεσμα, αναγνωρίζονται τέσσερις βασικοί τύποι χαμομηλιού A,B,C,D σύμφωνα με την ποιοτική και ποσοτική σύνθεση του αιθέριου ελαίου.

- Χημειότυπος A, μεγάλη περιεκτικότητα σε οξύ α-μπιζαμπολόλη, παρουσιάζεται σε όλη την Ευρωπαϊκή ήπειρο,
- Χημειότυπος B, μεγάλη περιεκτικότητα σε οξύ β-μπιζαμπολόλη, παρουσιάζεται μόνο στην Αργεντινή,
- Χημειότυπος C, μεγάλη περιεκτικότητα σε α-μπιζαμπολόλη, παρουσιάζεται στην Ισπανία, και στην Πορτογαλία, όμως η καλλιέργειά του είναι διαδεδομένη και σε άλλες χώρες,
- Χημειότυπος D, κανένα συστατικό δεν υπερτερεί έναντι των άλλων, έχει ομοιόμορφη περιεκτικότητα σε α-μπιζαμπολόλη και οξείδια μπιζαμπολόλης που το καθιστούν σπάνιο, και βρίσκεται σε καλλιεργούμενα είδη και σπάνια σε αυτοφυή,
- Χημειότυπος E, έχει σημαντική περιεκτικότητα οξειδίου της μπιζαμπολόλης A, παρουσιάζεται στην Τουρκία και στη Βουλγαρία.
- Χημειότυπος κατά τον οποίο το χρώμα του αιθέριου ελαίου είναι πρασινωπό εξαιτίας της μικρής σύστασης της ματρικίνης(matricine).

Επιθυμητές είναι οι ποικιλίες με υψηλή περιεκτικότητα σε α-μπιζαμπολόλη και χαμαζουλένιο, γιατί [9,10,40]. Το Chamazulene είναι ένα τεχνούργημα που σχηματίζεται από matricine, το οποίο υπάρχει φυσικά στα άνθη κατά την υδροαπόσταξη ή την απόσταξη με ατμό. Το χρώμα του λαδιού

καθορίζει την ποιότητά του. Το μπλε χρώμα του λαδιού οφείλεται στο σεσκιτερπένιο. Η περιεκτικότητα των διαφόρων χαμομηλίων σε χαμαζουλένιο εξαρτάται από την προέλευση και την ηλικία του υλικού. Μειώνεται κατά την αποθήκευση των λουλουδιών [9]. Οι ποικιλίες του χαμομηλιού προήλθαν κυρίως από γενετικές βελτιώσεις και επιλογές με στόχο τη δημιουργία παραγωγικότερων ποικιλιών και χημειοτύπων. Οι ποικιλίες διακρίνονται σε δυο κατηγορίες, τις **διπλοειδείς** και τις **τετραπλοειδείς** [9,40]. Χαρακτηριστικό γνώρισμα των διπλοειδών ποικιλιών σε αντίθεση με τις τετραπλοειδείς, είναι το μικρό μέγεθος ανθοκεφαλών, οι οποίες δίνουν μικρότερης ποσότητας δρόγη, αλλά είναι αυξημένης αντοχής στους συλλεκτικούς και μετασυλλεκτικούς χειρισμούς δίνοντας έτσι μεγαλύτερη ποσότητα premium κατηγορίας ανθοκεφαλές. Οι τετραπλοειδείς ποικιλίες παρουσιάζουν μεγαλύτερα ή ισόποσα ποσοστά χαμαζουλένιου και μπιζαμπολόλης στο αιθέριο έλαιό τους [9,40]. Οι κυριότερες **τετραπλοειδείς ποικιλίες** που καλλιεργούνται στην Ευρώπη είναι οι : η **Mazana**, τετραπλοειδής, χημειοτύπου A, και προήλθε από μεταλλάξεις ενός αυτοφυή ισπανικού πληθυσμού, η **Bodegold**, τετραπλοειδής, με μεγάλες αποδόσεις σε ανθοκεφαλές μεγάλης εμπορικής αξίας, οι **Bona**, **New** και **Goral**, επίσης τετραπλοειδής, χημειοτύπου A, με μεγάλες ανθοκεφαλές και περιεκτικότητα 65% οξείδιο μπιζαμπολόλης και 35% σε α- μπιζαμπολόλη στο αιθέριο έλαιο, η **Lutea** είναι χημειοτύπου A, τετραπλοειδής, ανθεκτική στην ξηρασία, με υψηλή απόδοση σε αιθέριο έλαιο 1.0%-1,2%, μεγάλης περιεκτικότητας σε χαμαζουλένιο 24% και 40%-50% σε α- μπιζαμπολόλη, η **Tiberina**, ποικιλία που καλλιεργείται στην Ιταλία, με πλούσιο αιθέριο έλαιο σε χαμαζουλένιο και μπιζαμπολόλη και άνθη πλούσια σε απιγενίνη, η **Hungarian BK-2**, με αιθέριο έλαιο πλούσιο σε χαμαζουλένιο, η Βουλγάρικη **Lazur**, η Ουγγρική **Budakalaszi 2**, οι Ρουμάνικες **Margaritar**, και **Bohemia**, η Πολωνική **Zlotylan**, και η Τσέχικη **Flora**. Οι **διπλοειδείς ποικιλίες** είναι: η **Degumil**, η **Banatska** Σέρβικης προέλευσης, η **Mandirituba**, προέλευση Βραζιλία, η **Soroksari 40**, Ουγγρικής προέλευσης, οι πολωνικές **Promyk** και **Tonia** και η Γαλλική **VSI** [9,40].

Characteristics	Variety/line/origin
High matricin/chamazulene	Olanda Sregez Turkey
Low matricin/chamazulene	Egypt Turkey
High matricin/chamazulene and bisabolol	Adzet Bona Camextrakt Degumill Goral (Kosice-II) Lutea Mabamille Manzana Novbona Robumille
High matricin/chamazulene and bisabolol oxide	Bodegold Bohemia Budakalaszi 2 (BK-2) Camoflora Flora Tetra Tonia Zloty Lan Argentina Mexico
High matricin/chamazulene and bisabolone	Lazur rkey Bulgaria

Πίνακας 3: Ποικιλίες χαμομηλιού και τα χαρακτηριστικά τους. Η διάκριση γίνεται ανάλογα με την περιεκτικότητα σε χαμαζουλένιο και οξύ μπιζαμπολόλης [9].

Οι ελληνικές ποικιλίες διαπιστώθηκε πως κατατάσσονται στους χημικούς τύπους A, AD,D, C, καθώς επίσης και κάποιες που δεν κατατάσσονται σε καμία από αυτές και αποτελούν ένα νέο τύπο με κύριο συστατικό το χαμαζουλένιο και συγχρόνως με υψηλή περιεκτικότητα σε μπιζαμπολόλη ή οξέα της, και κάποιες με μεγάλη διαφοροποίηση στα συστατικά του αιθέριου ελαίου [10].

3.6. Καλλιέργεια

Τρόποι πολλαπλασιασμού

Το φυτό πολλαπλασιάζεται με σπόρους. Οι σπόροι της καλλιέργειας είναι πολύ μικροί σε μέγεθος (χίλιοι σπόροι ζυγίζουν 0,088–0,153 g). Η καλλιέργεια μπορεί να αναπτυχθεί με δύο μεθόδους, δηλαδή απευθείας σπορά στο χωράφι και μεταφύτευση. Με σπόρο που σπέρνεται στο χωράφι στα πεταχτά ή με μηχανές και η απαιτούμενη ποσότητα είναι 1-2 kg/στρέμμα, η οποία ανακατεύεται με τριπλάσια ποσότητα ποταμίσιας άμμου [9,10,25,41].

Προετοιμασία εδάφους - φύτευση - σπορά

Για την καλλιέργεια του χαμομηλιού, το χωράφι θα πρέπει να οργωθεί δύο έως τρεις φορές με άροτρο για να επιτευχθεί ένα επίπεδο χωράφι με βέλτιστη κλίση. Επιπλέον, όλα τα αγριόχορτα και οι καλαμιές της προηγούμενης καλλιέργειας θα πρέπει να αφαιρεθούν από το χωράφι. Εάν δεν υπάρχει επαρκής υγρασία στο έδαφος, θα πρέπει να εφαρμόζεται άρδευση πριν τη σπορά. Κατά τη διάρκεια της βλαστικής φάσης, ένα ελαφρύ σκάλισμα αρκεί για να κάνει το έδαφος χαλαρό και απαλλαγμένο από ζιζάνια για την καλύτερη ανάπτυξη της καλλιέργειας [5,41]. Για τα ελληνικά δεδομένα η μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι απευθείας σπορά στον αγρό, με καταλληλότερη εποχή σποράς το φθινόπωρο (Οκτώβριος – Νοέμβριος). Η μεταφύτευση γίνεται σε καλλιέργειες κυρίως στην κεντρική Ευρώπη (Γερμανία) [9,10,25]. Η σποροκλίση πρέπει να είναι καλά προετοιμασμένη, ψιλοχωματισμένη, καλά συμπιεσμένη και το έδαφος να είναι απαλλαγμένο από υπολείμματα της προηγούμενης καλλιέργειας. Επίσης η υγρασία του εδάφους πρέπει να είναι πολύ καλή χωρίς όμως φαινόμενα πλημμύρας [9,10,25]. Η σπορά γίνεται κατά γραμμές που απέχουν μεταξύ τους 30-40 cm και έπειτα απαιτείται ξανά συμπίεση με κύλινδρο. Το φύτευμα αρχίζει μετά από 5 ημέρες. Σε ότι αφορά την μεταφύτευση, είναι καλύτερη από την απευθείας σπορά και η καλύτερη στιγμή για τη μεταφύτευση της καλλιέργειας βρέθηκε από τις 10 έως τις 18 Οκτωβρίου για να ληφθούν υψηλότερες αποδόσεις. Τα φυτά δεν πρέπει να έχουν ηλικία πάνω από 5 εβδομάδες για να μεταφυτευθούν. Επίσης η μεταφύτευση της καλλιέργειας σε στενές αποστάσεις 15, 20 και 30 cm, έδωσε τις υψηλότερες αποδόσεις λουλουδιών [9,10]. Καθώς η απευθείας σπορά των σπόρων συνήθως οδηγεί σε κακή βλάστηση, θα πρέπει να ακολουθείται γενικά η μέθοδος μεταφύτευσης. Η θνησιμότητα των δενδρυλλίων είναι σχεδόν αμελητέα στη μεταφύτευση [9].

3.7. Εδαφοκλιματικές απαιτήσεις

Το γερμανικό χαμομήλι μπορεί να καλλιεργηθεί σε οποιοδήποτε είδος εδάφους, αλλά η καλλιέργεια του σε πλούσια, βαριά και υγρά εδάφη θα πρέπει να αποφεύγεται [9,10,25]. Ειδικότερα το χαμομήλι ευδοκιμεί σε ουδέτερα έως ελαφρά εδάφη, αλκαλικά, ακόμη και με pH 9,

θερμά μέσης υγρασίας, καλύτερες αποδόσεις σε άνθη και αιθέριο έλαιο παρατηρήθηκαν με pH 5-6. Το χαμομήλι έχει υψηλό βαθμό ανοχής στην αλκαλικότητα του εδάφους. Τα φυτά χαμομηλιού συσσωρεύουν αρκετά μεγάλη ποσότητα νατρίου (66 mg/100 g ξηρού υλικού), το οποίο βοηθά στη μείωση της συγκέντρωσης αλατιού στο πάνω μέρος του εδάφους [9]. Οι συνθήκες υγρασίας στο χωράφι για την άμεση σπορά των σπόρων πρέπει να είναι πολύ καλές, διαφορετικά επιτυγχάνεται ένα αποσπασματικό και φτωχό φύτρωμα. Μπορεί επίσης να αντέξει τον κρύο καιρό με θερμοκρασία που κυμαίνεται από 2°C έως 20°C, αλλά είναι ευαίσθητο στους παγετούς της άνοιξης, που επιδρούν αρνητικά στο πρώτο κύμα άνθισης, καθώς και υπό ψυχρότερες συνθήκες, η ποσότητα του τύπου οξειδίου στο αιθέριο έλαιο είναι χαμηλότερο [9,10].

3.8. Λίπανση

Δεν απαιτείται ιδιαίτερη λίπανση για την καλλιέργεια χαμομηλιού όμως για την επίτευξη ιδανικής παραγωγής προτείνεται η λίπανση 4-6 μονάδες N/στρ, 6-7 μονάδες P/στρ. και 5-7 μονάδες K/ στρ. [40]. Η λίπανση με άζωτο έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών, επιδρά όμως αρνητικά στην απόδοση. Η λίπανση με κάλιο αυξάνει την ανθοφορία και τον αριθμό των ανθέων [9,10]. Προτείνεται λίπανση αζώτου καλίου σε αναλογία 1:2 [9,10]. Η επίδραση του αζώτου (N) είναι πολύ έντονη στα φρέσκα άνθη και στην απόδοση του λαδιού, ενώ αυτή του φωσφόρου (P) και του καλίου (K) είναι αμελητέα. Έχει παρατηρηθεί ότι η εφαρμογή του N με τη μορφή θειικού αμμωνίου στα 40 kg/ha αύξησε σημαντικά την απόδοση φρέσκου άνθους και λαδιού, ενώ η περιεκτικότητα σε λάδι μειώθηκε από 0,64 σε 0,59%. Η προσθήκη οργανικής ύλης αυξάνει την περιεκτικότητα σε χούμο αυτού του εδάφους και ως εκ τούτου βελτιώνει την απόδοση της καλλιέργειας. Η εφαρμογή του N σε υψηλότερο επίπεδο προκάλεσε μια αξιοσημείωτη μείωση στο ποσοστό χαμαζουλένιου. Το N αύξησε σημαντικά τις περιεκτικότητες σε α-βισαβολόλη και χαμαζουλένιο, αλλά μείωσε σημαντικά τις περιεκτικότητες των οξειδίων της βισαβολόλης A και B στο αιθέριο έλαιο [9].

3.9. Άρδευση

Καθώς οι ρίζες του φυτού είναι ρηχές, το φυτό δεν μπορεί να αντλήσει υγρασία από τον χαμηλότερο υγρό ορίζοντα του εδάφους και επομένως χρειάζεται συχνό πότισμα για να διατηρήσει το βέλτιστο επίπεδο υγρασίας. Η άρδευση κατά την περίοδο της ανθοφορίας είναι χρήσιμη για την αύξηση της απόδοσης των λουλουδιών [5,9]. Σε αλκαλικά εδάφη, η καλλιέργεια αρδεύεται συχνότερα και απαιτούνται περίπου 6-8 αρδεύσεις κατά τη διάρκεια του καλλιεργητικού κύκλου. Καλή απόδοση επιτυγχάνεται εάν το έδαφος διατηρείται υγρό, αλλά πρέπει να αποφεύγονται οι πλημμύρες [5,9].

3.10. Ζιζανιοκτονία

Η ζιζανιοκτονία πρέπει να γίνεται κυρίως με ενδεδειγμένες ξεβοτάνισμα. Ένα τουλάχιστον βοτάνισμα το Φεβρουάριο ή Μάρτιο ή η χρήση κατάλληλου ζιζανιοκτόνου, συμβάλλει στην καλύτερη ανάπτυξη [9,10,25]. Ένας λόγος είναι ότι μόλις το φυτό αρχίσει να αδελφώνει καταπνίγει τα ζιζάνια έτσι ώστε να μην χρειάζεται χημική επέμβαση και ένας άλλος λόγος είναι ότι η

καλλιέργεια που υποβλήθηκε σε επεξεργασία με ζιζανιοκτόνο είχε χαμηλότερη περιεκτικότητα σε χαμαζουλένιο και σε βισαβολόλη στη δεύτερη συγκομιδή καθώς τα ζιζανιοκτόνα παρεμβαίνουν στο μεταβολισμό των δευτερογενών προϊόντων παρόλο που ορισμένα ζιζανιοκτόνα έχουν μικρή επίδραση στη συνολική περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο [9,41]. Σε αλατούχα-αλκαλικά εδάφη, μπορεί να είναι αρκετό μόνο ένα διεξοδικό ξεβοτάνισμα και σκάλισμα ένα μήνα μετά τη μεταφύτευση, καθώς το φυτό μόλις δημιουργηθεί, πνίγει το ζιζάνιο και δεν απαιτείται περαιτέρω ξεβοτάνισμα. Αναφέρθηκε ότι η αφαίρεση ζιζανίων κατά τη διάρκεια 5-11 εβδομάδων μετά τη φύτευση της καλλιέργειας ήταν απαραίτητη για να επιτευχθεί υψηλότερη απόδοση του λουλουδιού και του ελαίου. Η ανεξέλεγκτη ανάπτυξη ζιζανίων προκάλεσε 34,4% μείωση στην απόδοση του ξηρού άνθους σε σύγκριση με την κατάσταση χωρίς ζιζάνια [5].

3.11. Εχθροί και ασθένειες

Έχουν αναφερθεί διάφορα έντομα, μύκητες και ιοί, που επιτίθενται στην καλλιέργεια του χαμομηλιού. Οι ακόλουθοι μύκητες είναι γνωστό ότι επιτίθενται σε αυτό το φυτό: *Albugo tragorogonis* (λευκή σκουριά), *Cylindrosporium matricariae*, *Erysiphe cichoracearum* (ωίδιο), *E. polyphaga*, *Halicobasidium purpureum*, *Peronospora leptosperma*, *Peronospora radii*, *Phytophthora matricaria*, *Alternaria* spp., *Puccinia chamomillae* και *Sphaerotheca macularis* (ωίδιο). Επίσης, ο κίτρινος ιός (*Chlorogenus callistephi* var. *californicus* Holmes, *Callistephus virus* 1A) προκαλεί σοβαρές βλάβες στο φυτό [5,9,10]. Οι αφίδες μαύρων φασολιών (*Aphis fabae*) τρέφονται με *M. Chamomilla* προσβάλλοντας τα φύλλα και τους βλαστούς. Το έντομο *Nysius minor* προκαλεί την αποβολή των ανθέων του *M. chamomilla*, ενώ το *Autographa chryson* προκαλεί φυλλόπτωση του φυτού [5,9,10]. Οι μύκητες και τα έντομα προκαλούν επίσης εκτεταμένες ζημιές στα ξερά άνθη κατά την αποθήκευση και μειώνουν την ποιότητα του αποξηραμένου ακατέργαστου προϊόντος. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το αποξηραμένο χαμομήλι, τα άνθη ιδιαίτερα, περιέχουν μεγάλη ποσότητα υδρόφιλων συστατικών (σάκχαρα, φλαβονοειδή, βλεννώδη, φαινυλοκαρβονικά οξέα, αμινοξέα, χολίνη, άλατα), και επίσης τα βότανα του χαμομηλιού είναι υγροσκοπικά. Η μικροβιολογική φθορά που προκαλείται από μυκητιακούς παράγοντες συμβαίνει σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα. Το αποξηραμένο προϊόν είναι επίσης αγαπημένος βιότοπος για ορισμένα έντομα. Οι προνύμφες και τα σκαθάκια γενικά βλάπτουν το αποθηκευμένο προϊόν τρώγοντάς το και μολύνοντάς το με περιττώματα και ιστούς. Αυτό μειώνει σημαντικά την ποιότητα και οδηγεί σε ολική φθορά σε σύντομο χρονικό διάστημα [9].

3.12. Ωρίμανση - συλλογή

Η συγκομιδή είναι η πιο εντατική εργασία στην καλλιέργεια χαμομηλιού, η οποία αντιπροσωπεύει ένα μεγάλο μέρος του κόστους παραγωγής. Η επιτυχία της καλλιέργειας *M. chamomilla* ως εμπορικής επιχείρησης έγκειται στο πόσο αποτελεσματικά μπορεί κανείς να συλλέξει τα άνθη στο σωστό στάδιο κατά τη διάρκεια της περιόδου αιχμής της ανθοφορίας [5,9]. Η ανάπτυξη της καλλιέργειας είναι αργή μέχρι τα μέσα Ιανουαρίου και αυξάνεται σταδιακά μέχρι τις αρχές Φεβρουαρίου. Ανάλογα με τις εδαφολογικές και κλιματικές συνθήκες, η ανθοφορία ξεκινά τον Μάρτιο και συνεχίζεται μέχρι τον Απρίλιο [5,9,40]. Εάν η σπορά γίνει άνοιξη, η συγκομιδή γίνεται

τρεις μήνες μετά [40]. Μόλις ζεστάνει ο καιρός υπάρχει υψηλή δραστηριότητα στην ανάπτυξη των καλλιεργειών (αύξηση ύψους, διακλάδωση, σχηματισμός μπουμπουκιών). Τον Μάρτιο έχουμε τον σχηματισμό των οφθαλμών, τα πρώιμα σχηματισμένα μπουμπουκία ανοίγουν σε άνθη, επομένως το μάδημα των λουλουδιών πρέπει επίσης να είναι επιλεκτικό σε όλη τη διάρκεια του κύκλου της καλλιέργειας. Με ξαφνική άνοδο της θερμοκρασίας από 33°C σε 39°C εντός λίγων ημερών, θα παρατηρηθεί έντονη ανάπτυξη και ωρίμανση των σπόρων με αποτέλεσμα να πέσουν στο έδαφος και να ξαναφυτρώσουν τον επόμενο χρόνο [5,9,10,40]. Ο ιδανικός χρόνος για συλλογή είναι όταν έχουν ανοίξει τα 2/3 των κύκλων των σωληνανθών πάνω στην υπερυψωμένη ανθοδόχη [5,9,10]. Οι κεφαλές των λουλουδιών έχουν 4–5 εκπτώξεις. Η 2η, η 3η και η 4η έκπτυξη είναι οι κύριοι συνεισφέροντες στην απόδοση των κεφαλών ανθέων [5,9]. Η συλλογή γίνεται με δύο τρόπους: με τα χέρια και με συλλεκτικές μηχανές.

- ✓ Με τα χέρια, που ενδείκνυται για μικρές εκτάσεις και φθηνά εργατικά χέρια. Το βασικό εργαλείο που χρησιμοποιείται από τους συλλέκτες του άγριου χαμομηλιού είναι τσουγκράνες που αφαιρούν τα άνθη από τα φυτά με τράβηγμα.
- ✓ Με συλλεκτικές μηχανές, για μεγάλες εκτάσεις (35 στρ. την ημέρα, 25kg /h) Το χαμομήλι που καλλιεργείται συλλέγεται με ειδικές μηχανές ύστερα από ένα ή δύο περάσματα.

Η συγκομιδή πρέπει να γίνεται αμέσως με το άνοιγμα των ανθέων και να μη ξεκινάει πολύ πρώι, γιατί πρέπει να έχει απομακρυνθεί η δροσιά. Μετά την συλλογή, σε λιγότερο από δύο ώρες γίνεται η ξήρανση, ώστε να διατηρηθούν και να μην αλλοιωθούν τα συστατικά του αιθέριου ελαίου και κατόπιν αποθηκεύονται [9,10,41].

3.13. Συντήρηση του Φυτικού Υλικού

Σε ορισμένες περιπτώσεις είναι δυνατή η άμεση επεξεργασία του φυτικού υλικού που έχει συλλεγεί ώστε να παραληφθούν καθαρές ενώσεις ή συμπυκνωμένα συστατικά. Τις περισσότερες όμως φορές η διαδικασία αυτή δεν είναι δυνατόν να γίνει επί τόπου οπότε το φυτικό υλικό πρέπει να συντηρηθεί κατάλληλα ώστε οι δραστικές ενώσεις να παραμείνουν αναλλοίωτες κατά τη διάρκεια της μεταφοράς και της αποθήκευσης. Στα κύτταρα των ζωντανών φυτών παράγονται ένζυμα και ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους, που με την ένωσή τους έχουμε δημιουργία χημικών αντιδράσεων, όπως οξειδώσεις και υδrolύσεις, αλλά και φραγμοί διαφόρων τύπων που εμποδίζουν την επαφή αυτών των συστατικών [1]. Με την συλλογή όμως των φυτών επέρχεται καταστροφή των φραγμών ώστε να μην αποφεύγεται η δημιουργία αντιδράσεων. Για την αποφυγή σχηματισμού αυτών των αντιδράσεων θα πρέπει να γίνει συντήρηση του φυτικού υλικού με συντηθέστερη μέθοδο συντήρησης την ξήρανση.

3.14. Ξήρανση

Μετά τη συγκομιδή ακολουθεί προσεκτική ξήρανση σε ξηραντήρια ελεγχόμενης θερμοκρασίας ή υπό σκιά πάνω σε δικτυωτά πλαίσια. Ο χρόνος από τη συγκομιδή ως την ξήρανση δεν θα πρέπει να ξεπερνά τις δύο ώρες για να μην αλλοιωθούν τα συστατικά του αιθέριου ελαίου [5,10]. Η

απόδοση σε νωπές κεφαλίδες μπορεί να φθάσει τα 300-400 κιλά στο στρέμμα και όταν ξεραθούν κανονικά, χάνουν το 70-75% του βάρους τους. Η μέση παραγωγή σε ξηρό άνθος είναι περίπου 70 κιλά ανά στρέμμα [41]. Η υψηλότερη περιεκτικότητα σε λάδι (0,44%) και περιεκτικότητα σε φαρνεζένιο (15,16%) στο λάδι έχει παρατηρηθεί όταν οι κεφαλές των λουλουδιών στέγνωσαν στη σκιά, ενώ οι αποξηραμένες στον ήλιο κεφαλές λουλουδιών είχαν ως αποτέλεσμα την υψηλότερη περιεκτικότητα σε χαμαζουλένιο (22,77%) εκτός από την κακή απόδοση λαδιού [5]. Η ξήρανση επιτυγχάνεται στους 35°-45° C και διακρίνεται σε δύο τρόπους: **Φυσική** υπό σκιά πάνω σε δικτυωτά πλαίσια, σε καλά αεριζόμενους χώρους, με συνεχόμενη ροή αέρα για 24 ώρες. Το στρώμα των ανθέων πρέπει να έχει πάχος 7-12mm και να είναι ομοιόμορφα στρωμένα ώστε να επιτύχουμε γρήγορη και ομοιόμορφη ξήρανση. Η υγρασία στο τέλος δεν θα πρέπει να ξεπερνά το 7-10% [10,41]. **Τεχνητή** σε ξηραντήρια ελεγχόμενης θερμοκρασίας και διάρκεια 6-7 ώρες. Η θερμοκρασία 35 °-50° C στο ξηραντήριο δεν είναι επαρκής και υπάρχει απώλεια αιθέριου ελαίου ενώ η άριστη θερμοκρασία 80 ° – 95 ° C επιφέρει αλλοίωση των ανθοκεφαλών και της ποιότητάς τους. Η αναλογία μεταξύ χλωρών και αποξηραμένων ανθέων κυμαίνεται μεταξύ 4,5:1 και 5,8:1 [5,10,40,41].

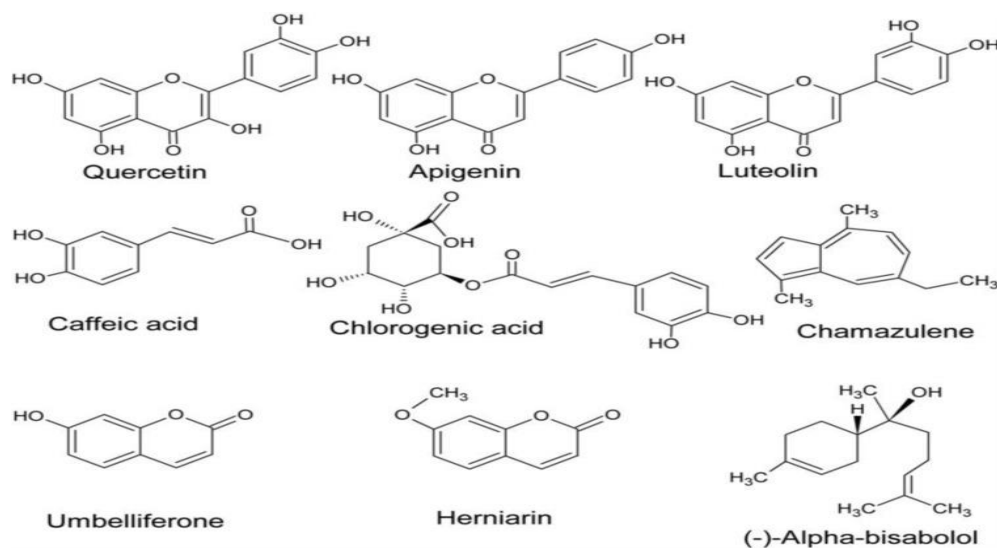
3.15. Αποθήκευση

Το αιθέριο έλαιο μειώνεται όσο αυξάνεται ο χρόνος της αποθήκευσης των ξηρών κεφαλίδων. Το χρώμα του αιθέριου ελαίου είναι βαθύ μπλε και οφείλεται στο χαμαζουλένιο. Όταν όμως εκτεθεί για πολύ ώρα στον αέρα αλλοιώνεται οπότε πρασινίζει και τελικά αποκτά καστανό χρώμα [41]. Το αποξηραμένο φυτικό υλικό αποθηκεύεται σε χώρο δροσερό, ξηρό, απαλλαγμένο και προστατευμένο από έντομα και τρωκτικά και σε θερμοκρασία κάτω των 25 ° C. Το αιθέριο έλαιο αποθηκεύεται σε γυάλινα σκουρόχρωμα δοχεία στους 5° C, ενώ το αρωματικό νερό σε food grade βαρέλια [40]. Η μείωση της περιεκτικότητας σε αιθέριο έλαιο είναι μικρότερη στους 2 ° C από ότι στους 16°C σε σχέση με το μέγεθος των ανθικών κεφαλών. Επίσης παρατηρείται μείωση της περιεκτικότητας του αιθέριου ελαίου σε αποξηραμένα άνθη σε διάστημα 10 μηνών καθώς και της δραστικής ουσίας του προαζουλενίου στο αιθέριο έλαιο από άνθη χαμομηλιού σε διάστημα 10 μηνών. Το χαμομήλι που προορίζεται για φαρμακευτικούς σκοπούς επιτρέπεται να συσκευάζεται μόνο σε χαρτόνια και σε καμία περίπτωση σε συνθετικά κουτιά [10].

3.16. Χημική σύνθεση χαμομηλιού

Το χαμομήλι ανήκει σε μια μεγάλη ομάδα καλλιεργούμενων φαρμακευτικών φυτών. Περιέχει μια μεγάλη ομάδα από θεραπευτικά ενδιαφέροντες και δραστικές κατηγορίες ενώσεων. Στο χαμομήλι υπάρχουν διάφορες κατηγορίες βιοδραστικών συστατικών, τα οποία έχουν απομονωθεί και χρησιμοποιηθεί ως φαρμακευτικά σκευάσματα και καλλυντικά [24]. Τα άνθη του χαμομηλιού περιέχουν αιθέρια έλαια και άλλα τερπένια, φαινολικές ενώσεις (φλαβονοειδή, κουμαρίνες και φαινολικά οξέα), οργανικά οξέα, πολυσακχαρίτες, στερόλες και μεταλλικές ενώσεις [20,21]. Επίσης περιλαμβάνονται διάφορες φαινολικές ενώσεις, κυρίως τα φλαβονοειδή απιγενίνη, κερσετίνη, πατουλετίνη ως γλυκοζίτες και διάφορα ακετυλιωμένα παράγωγα. Μεταξύ των

φλαβονοειδών, η απιγενίνη είναι η πιο πολλά υποσχόμενη ένωση. Υπάρχει σε πολύ μικρές ποσότητες ως ελεύθερη απιγενίνη, αλλά υπάρχει κυρίως με τη μορφή διάφορων γλυκοσιδών [24]. Τα σεσκιτερπένια, τα φλαβονοειδή, οι κουμαρίνες και τα πολυακετυλένια θεωρούνται τα πιο σημαντικά συστατικά του φαρμάκου του χαμομηλιού [9,20]. Περισσότερα από 120 χημικά συστατικά έχουν αναγνωριστεί στο άνθος του χαμομηλιού ως δευτερογενείς μεταβολίτες, συμπεριλαμβανομένων 28 τερπενοειδή, 36 φλαβονοειδή, και 52 επιπλέον ενώσεις με πιθανή φαρμακολογική δράση. Συστατικά, όπως η α-μπιζαμπολόλη και οι κυκλικοί αιθέρες έχουν αντιμικροβιακή δράση, η ουμπελιφερόνη είναι μυκητοστατική, ενώ το χαμαζουλένιο και η α-μπιζαμπολόλη είναι αντισηπτικά [9,20,21,22,24,26]. Τα αποξηραμένα άνθη χαμομηλιού περιέχουν έως και 2% αιθέριων ελαίων, έως και 50 % των φαινολικών ουσιών και 10-26 % των ορυκτών μεταξύ των οποίων τα K, Ca, Mg υπάρχουν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις [20]. Άλλα οργανικά οξέα και πολυσακχαρίτες αποτελούν το 10 % της μάζας των ξηρών ανθέων. Μεταξύ των στερολών, η στιγμαστερόλη και η β-σιτοστερόλη απομονώθηκαν σε άνθη χαμομηλιού [21]. Έντεκα βιοδραστικές φαινολικές ενώσεις, όπως η ερνιαρίνη και η ουμπελιφερόνη (κουμαρίνη), το χλωρογενικό οξύ και το καφεϊκό οξύ (φαινυλοπροπανοειδή), η απιγενίνη, η απιγενίνη-7-O - γλυκοσίδη, λουτεολίνη και λουτεολίνη-7-O-γλυκοσίδη (φλαβόνες), κερσετίνη και ρουτίνη (φλαβονόλες) και ναρινγενίνη (φλαβανόνη) βρίσκονται στο εκχύλισμα χαμομηλιού [6,20]. Επίσης οι κουμαρίνες έχουν αναφερθεί ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στη δημιουργία συγκεκριμένου αρώματος ορισμένων αιθέριων ελαίων. Έχουν βρεθεί ότι είναι βιολογικά ενεργά. Η Herniarin έχει δείξει μια ποικιλία βιολογικών δραστηριοτήτων, συμπεριλαμβανομένων των αιμοστατικών, αντιμυκητιασικών, αντισπασμωδών. Στα άνθη του χαμομηλιού εντοπίστηκε herniarin σε υψηλή συγκέντρωση (0,08%) [4]. Τα κύρια συστατικά των αιθέριων ελαίων είναι σεσκιτερπένια και σπειροαιθέρες. Στα σεσκιτερπένια περιλαμβάνονται κυρίως αζουλένια (1-15 %) με το χαμαζουλένιο να είναι το πιο άφθονο, η α βισαβολόλη και τα οξείδια της (έως 78 %), και trans-β-φαρνεσένιο (12-28 %) [57]. Η Bisabolol, ένα μονοκυκλικό σεσκιτερπένιο, και τα οξείδια της βισαβόλης A-D είναι τα κύρια συστατικά που παρέχουν το άρωμα. Η βισαβολόλη υπάρχει και σε άλλα φυτά αλλά στο χαμομήλι τα ποσά είναι υψηλότερα. Το trans-β-φαρνεσένιο εμπλέκεται σε χημική επικοινωνία μεταξύ των φυτών και προστατεύει το χαμομήλι από τα παράσιτα. Παρουσιάζονται οι σπειροαιθέρες χαμομηλιού από cis- και trans-en-in-δικυκλοαιθέρες (έως 20 %). Οι σπειροαιθέρες είναι λιπόφιλες ενώσεις και είναι σημαντικές για την αξιολόγηση της ποιότητας των εκχυλισμάτων χαμομηλιού, αλλά αποσυντίθενται εύκολα, ιδιαίτερα με θέρμανση. Το φυτό περιέχει 0,24%–1,9% πτητικό λάδι, που αποτελείται από μια ποικιλία ξεχωριστών ελαίων. Όταν εκτίθεται σε απόσταξη με ατμό, το χρώμα του λαδιού κυμαίνεται από λαμπρό μπλε έως βαθύ πράσινο όταν είναι φρέσκο, αλλά μετατρέπεται σε σκούρο κίτρινο μετά την αποθήκευση. Παρά το ξεθώριασμα, το λάδι δεν χάνει την ισχύ του [24]. Τα φλαβονοειδή και οι γλυκοσίδες τους, οι κουμαρίνες και τα φαινολικά οξέα είναι οι κύριες ομάδες φαινολικών ενώσεων στα άνθη του χαμομηλιού [9,20,21,26].



Εικόνα 3: Μοριακή δομή των σπουδαιότερων συστατικών του χαμομηλιού [21].

3.17. Βιολογικές ιδιότητες

Στη λαϊκή ιατρική, το chamomile χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της πέψης, διάφορα γυναικολογικά και δερματικά προβλήματα, λοιμώξεις των ματιών και του στόματος και χρησιμοποιείται επίσης ως ηρεμιστικό και αναλγητικό [21,22,24]. Τα αιθέρια έλαια χαμομηλιού είναι ευρέως διαδεδομένα και χρησιμοποιούνται στην κοσμετολογία, την αρωματοθεραπεία και στην αρωματοποιία [3,24]. Πολυάριθμες μελέτες *in vitro* και *in vivo* έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητα του χαμομηλιού στην επούλωση πληγών, καθώς και τις αντιφλεγμονώδεις και αντιμικροβιακές ιδιότητες των παρασκευασμάτων χαμομηλιού [3,22]. Επίσης διαπιστώθηκαν οι ευεργετικές επιδράσεις του χαμομηλιού για προβλήματα πέψης, τη λειτουργία του νευρικού συστήματος, όπως επίσης τα σκευάσματα χαμομηλιού συνιστώνται για το στρες και τις ψυχικές διαταραχές, την απνία, το άγχος και την υστερία [21,24]. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του χαμομηλιού αποδίδονται κυρίως στις φαινολικές ουσίες του ιδιαίτερα στα φλαβονοειδή (απιγενίνη, λουτεολίνη, κερκετίνη κ.λπ.). Αρκετά φλαβονοειδή και άλλες φαινολικές ενώσεις έχουν ταυτοποιηθεί σε διάφορα μέρη των ανθέων χαμομηλιού [6,20]. Οι αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις των σκευασμάτων chamomile ή των μεμονωμένων ενώσεων τους έχουν εντοπιστεί σε μελέτες πολλαπλών πειραματικών μοντέλων όταν χρησιμοποιήθηκαν για τη θεραπεία διαφόρων ασθενειών που σχετίζονται με την ανάπτυξη και την εξέλιξη της φλεγμονώδους διαδικασίας [3,9,20,21,22,24,26].

Αντιφλεγμονώδεις και αντιφλογιστικές ιδιότητες

Τα άνθη του χαμομηλιού περιέχουν 1-2% πτητικά έλαια, συμπεριλαμβανομένης της Α-βισαβολόλης, των οξειδίων της Α-βισαβολόλης Α & Β και της ματρικίνης (συνήθως μετατρέπονται σε χαμαζουλένιο και άλλα φλαβονοειδή που διαθέτουν αντιφλεγμονώδεις και αντιφλογιστικές ιδιότητες. Μελέτες σε ανθρώπους εθελοντές έδειξαν ότι τα φλαβονοειδή και τα

αιθέρια έλαια χαμομηλιού διεισδύουν κάτω από την επιφάνεια του δέρματος στα βαθύτερα στρώματα του δέρματος. Αυτό είναι σημαντικό για τη χρήση τους ως τοπικοί αντιφλογιστικοί και αντιφλεγμονώδεις παράγοντες [24]. Σε κλινικές μελέτες εξετάστηκαν τα αποτελέσματα του χαμομηλιού στη συστηματική φλεγμονή. Η μηχανική λειτουργία της άρθρωσης βελτιώθηκε και ο πόνος στο γόνατο και στη μέση μειώθηκε, χωρίς να παρατηρηθούν σημαντικές αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις. Επίσης εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα των εκχυλισμάτων χαμομηλιού ως στοματικό διάλυμα και έδειξε ότι τα φυτικά στοματικά διαλύματα ήταν ευεργετικά, καθώς έχουν αντιμικροβιακές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες [38]. Η ένωση που σχετίζεται με τα αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα είναι η απιγενίνη, ένα φλαβονοειδές που βρίσκεται κυρίως στη γλυκοζυλιωμένη μορφή του, την απιγενίνη-7-γλυκοσίδη (APG), σε φυσικές πηγές. Τα παράγωγα οξέος είναι άλλες κύριες ενώσεις που εμπλέκονται σε αυτό το αποτέλεσμα [24,38,54]. Επίσης η φλεγμονή σχετίζεται με πολλές καταγγελίες γαστρεντερικών διαταραχών, όπως η παλινδρόμηση του οισοφάγου, η εκκολπωματίτιδα και η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, ακόμη το χαμομήλι χρησιμοποιείται συχνά για θεραπεία ήπιων ερεθισμών του δέρματος, συμπεριλαμβανομένων ηλιακών εγκαυμάτων, εξανθημάτων, πληγών, ακόμη και οφθαλμικών φλεγμονών [54].

Analgesic – αναλγητικό	Antistress -κατά του στρες	Wound healing property - ιδιότητα επούλωσης πληγών
Antiallergic - Αντιαλλεργικό	Antiulcer – κατά του έλκους	Common cold – κοινό κρυολόγημα
Anticancer – αντικαρκινικό	Anxiolytic – αγχολυτικό	Prevent osteoporosis – πρόληψη οστεοπόρωσης
Antihyperglycemic – Αντιυπεργλυκεμικό	Antispasmodic – αντισπασμωδικό	Solative – καταπραΰντικό
Antimicrobial – αντιμικροβιακό	Gastrointestinal disorders – γαστρεντερικές διαταραχές	Treatment of oral mucositis – θεραπεία κατά της στοματικής βλεννογόνου
Antipruritic – κατά του κνησμού	Hepatoprotective – ηπατοπροστατευτικό	Treatment of infant botulism – θεραπεία κατά της βρεφικής αλλαντίασης
Antisolar – αντιηλιακό	Immunomodulatory – ανοσοτροποποιητικό	Hemorrhoids -Αιμορροΐδες
Virucidal agent – Ιοκτόνος παράγοντας	Eczema - έκζεμα	

Πίνακας 4: Στον παραπάνω πίνακα διακρίνονται μερικές βιολογικές ιδιότητες του χαμομηλιού.

Κοινό κρυολόγημα

Το κοινό κρυολόγημα (οξεία ιογενής ρινοφαρυγγίτιδα) είναι η πιο κοινή ασθένεια στον άνθρωπο. Είναι μια ήπια ιογενής λοιμώδης νόσος του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος. Τυπικά το κοινό κρυολόγημα δεν είναι απειλητικό για τη ζωή, αν και οι επιπλοκές του (όπως η πνευμονία) μπορεί να οδηγήσουν σε θάνατο, εάν δεν αντιμετωπιστούν σωστά. Μελέτες δείχνουν ότι η εισπνοή ατμού με εκχύλισμα χαμομηλιού ήταν χρήσιμη στα συμπτώματα του κοινού κρυολογήματος [24,54].

Αντικαρκινική δράση

Οι περισσότερες αξιολογήσεις της αναστολής ανάπτυξης όγκου από το χαμομήλι περιλαμβάνουν μελέτες με απιγενίνη που είναι ένα από τα βιοενεργά συστατικά του χαμομηλιού. Μελέτες σε προκλινικά μοντέλα καρκίνου δέρματος, προστάτη, μαστού και ωοθηκών έχουν δείξει πολλά υποσχόμενα ανασταλτικά αποτελέσματα της ανάπτυξης. Η εφαρμογή χαμομηλιού προκάλεσε απόπτωση σε καρκινικά κύτταρα αλλά όχι σε φυσιολογικά κύτταρα σε παρόμοιες δόσεις [24]. Σε προκλινικές μελέτες μελετήθηκε ο πολλαπλασιασμός του έσω χιτώνα της αρτηρίας, όπου φάνηκε η αντικαρκινική δράση αυτού του φυτού μέσω των δυναμικών εκφράσεων των πρωτεϊνών μετά από τραυματισμούς με μπαλόνι. Υπήρξε δηλαδή άμεση ανάπλαση των κυττάρων [38,53,54].

Γαστρεντερικές διαταραχές

Το χαμομήλι χρησιμοποιείται παραδοσιακά για πολλές γαστρεντερικές παθήσεις, όπως πεπτικές διαταραχές, «σπασμός» ή κολικούς, στομαχικές διαταραχές, μετεωρισμός (αέρια), έλκη και γαστρεντερικό ερεθισμό. Μελέτες σε προκλινικά μοντέλα υποδεικνύουν ότι το χαμομήλι αναστέλλει το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού, το βακτήριο που μπορεί να συμβάλει στο έλκος στομάχου. Το χαμομήλι είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για την αποβολή αερίων, καταπραϋντικό του στομάχου και χαλάρωση των μυών που μετακινούν την τροφή μέσω των εντέρων [24,54]. Το εκχύλισμα σε συνδυασμό με άλλων φυτών εκχυλίσματα δίνει καλά αποτελέσματα σε περιπτώσεις διάρροιας και κολικού [54]. Το εκχύλισμα του φυτού μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της υγείας και στη θεραπεία ασθενειών λόγω των πτητικών οργανικών ενώσεων και των ενεργών συστατικών του όπως τερπενοειδή, флаβονοειδή, κερκετίνη, ρουτίνη, κερκιτρίνη, γαλλικό οξύ [24,38,54].

Βοήθημα ύπνου και κατά του στρες

Παραδοσιακά, παρασκευάσματα χαμομηλιού όπως το τσάι και η αρωματοθεραπεία με αιθέρια έλαια έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της αϋπνίας και για την πρόκληση καταστολής (ηρεμιστικά αποτελέσματα). Το χαμομήλι θεωρείται ευρέως ως ήπιο ηρεμιστικό και επαγωγέας ύπνου. Τα καταπραϋντικά αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται στο флаβονοειδές, την απιγενίνη που συνδέεται με τους υποδοχείς βενζοδιαζεπίνης στον εγκέφαλο. Μελέτες σε προκλινικά μοντέλα έχουν δείξει αντισπασμωδικά και κατασταλτικά του ΚΝΣ αντίστοιχα. Επίσης μελέτη, έδειξε ότι η εισπνοή του ατμού του ελαίου χαμομηλιού μείωσε την επαγόμενη από το στρες αύξηση των επιπέδων της αδρενοκορτικοτροπικής ορμόνης (ACTH) στο πλάσμα [24]. Σε μελέτη

αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα του τσαγιού χαμομηλιού στην κατάθλιψη, την αϋπνία και την πλήξη στις γυναίκες μετά τον τοκετό και αποδείχθηκε ότι το τσάι χαμομηλιού μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μείωση της κατάθλιψης και τη βελτίωση των προβλημάτων ύπνου για τις γυναίκες μετά τον τοκετό [38].

Αιμορροΐδες

Μελέτες δείχνουν ότι η αλοιφή χαμομηλιού μπορεί να βελτιώσει τις αιμορροΐδες. Βάμματα χαμομηλιού, δηλαδή διαβροχή με αλκοόλη και νερό του φυτικού διαλύματος, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθούν για πλύσεις, σε μορφή μπάνιου sitz. Το βάμμα από ρωμαϊκό χαμομήλι μπορεί να μειώσει τη φλεγμονή που σχετίζεται με τις αιμορροΐδες [54].

Έκζεμα

Η χρήση του χαμομηλιού με τοπική εφαρμογή για δερματικές παθήσεις έχει εξουσιοδοτηθεί από τη Γερμανική Επιτροπή. Τοπικές εφαρμογές χαμομηλιού έχουν αποδειχθεί ότι είναι μέτρια αποτελεσματικά στη θεραπεία της ατοπικής δερματίτιδας. Βρέθηκε ότι είναι περίπου 60% εξίσου αποτελεσματικό με το 0,25% της υδροκορτιζονούχας κρέμας. Ρωμαϊκό χαμομήλι τύπου Manzana μπορεί να ανακουφίσει την ενόχληση που σχετίζεται με το έκζεμα όταν εφαρμόζεται ως κρέμα που περιέχει εκχύλισμα χαμομηλιού. Ο τύπος χαμομηλιού Manzana είναι πλούσιος σε δραστικά συστατικά και δεν παρουσιάζει αλλεργιογόνα σχετιζόμενα με το χαμομήλι [54].

Αντιμικροβιακή δράση

Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των αιθανολικών εκχυλισμάτων χαμομηλιού επιβεβαιώθηκαν μέσω της παρουσίας υψηλής συγκέντρωσης ροσμαρινικού οξέος. Η αντιβακτηριακή δράση των κλασμάτων του χαμομηλιού αξιολογήθηκε έναντι δύο gram -αρνητικών βακτηρίων. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν την αντιβακτηριδιακή του δράση μέσω των κύριων συστατικών του αιθέριου ελαίου, όπως η κουμαρίνη, τα φλαβονοειδή, τα φαινολικά οξέα και τα λιπαρά οξέα [38].

Αντιοξειδωτικές ιδιότητες

Η αντιοξειδωτική δράση του *M. chamomilla* σε μελέτες για το ζωικό μοντέλο σφαιρικής εγκεφαλικής ισχαιμίας/επαναιμάτωσης (I/R) βλάβης με το μεθανολικό εκχύλισμα έδειξε τη δοσοεξαρτώμενη νευροπροστατευτική δράση, που επιβεβαιώθηκε από σημαντική μείωση στην υπεροξειδωση των λιπιδίων, αυξημένη δραστηριότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων (υπεροξειδική δισμουτάση και καταλάση), ενισχυμένο επίπεδο γλουταθειόνης και ολικών θειόλων στις ομάδες που έλαβαν το εκχύλισμα, σε σύγκριση με το ομάδα ισχαιμίας/επαναιμάτωσης. Βρέθηκε όμως αδύναμο αποτέλεσμα σάρωσης κατά των ελεύθερων ριζών του chamazulene, μιας από τις δραστικές ενώσεις του χαμομηλιού [56]. Τα αποτελέσματα μελετών για την αντιοξειδωτική ικανότητα του χαμομηλιού υποδηλώνουν ότι το αιθέριο έλαιο χαμομηλιού μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως φυσικό αντιοξειδωτικό αντί συνθετικά πρόσθετα που παρουσιάζουν τοξικές και καρκινογόνες επιδράσεις, και μάλιστα ως η ασφαλέστερη εναλλακτική των συνθετικών αντιοξειδωτικών, στην βιομηχανία τροφίμων και φαρμάκων [57]. Τα εκχυλίσματα από τις

κεφαλές και τα φύλλα του χαμομηλιού είναι η πλουσιότερη πηγή αντιοξειδωτικής δράσης και μεταξύ των χημικών τους ενώσεων. Η βισαβολόλη και το χαμαζουλένιο έχουν υψηλά ποσοστά σε αντιοξειδωτικά. Το εκχύλισμα αυτού του φυτού είναι σε θέση να αποτρέψει την παραγωγή χημικά ενεργών ειδών και μπορεί να εμποδίσει την υπεροξειδωση των λιπιδίων μέσω διαφόρων διεργασιών [38].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

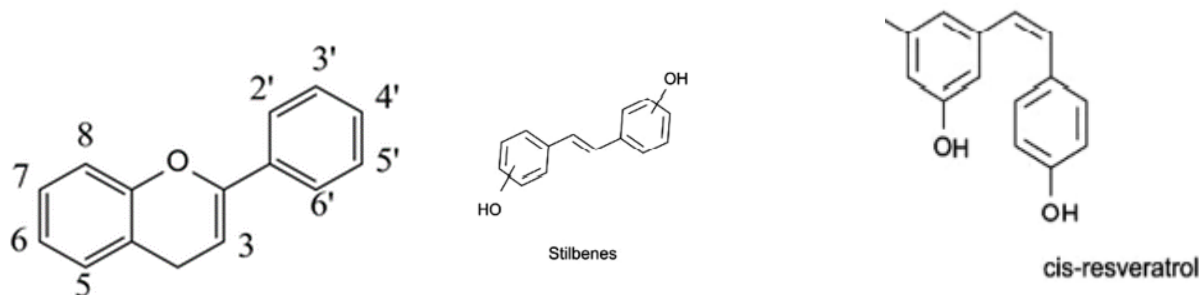
ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

4.1. Βιοδραστικά συστατικά των φυτών

Τα φυτά παράγουν σε όλα τα μέλη του φυτικού βασιλείου, υδατάνθρακες, αμινοξέα, και λίπη, που είναι απαραίτητα για τη βιωσιμότητά τους, και αποτελούν τους πρωτογενείς μεταβολίτες. Βιοδραστικά είναι τα οργανικά συστατικά, ορμόνες, χρωστικές, φαινολικά συστατικά, τερπένια, αλκαλοειδή, που βιοσυντίθενται κατά τις μεταβολικές διαδικασίες των πρωτογενών μεταβολιτών και αποτελούν τους δευτερογενείς μεταβολίτες [1,29]. Διαφορετικές κατηγορίες βιοδραστικών συστατικών υπάρχουν στο χαμομήλι, που έχουν απομονωθεί και χρησιμοποιούνται ως φάρμακα και καλλυντικά. Περίπου 120 δευτερεύοντες μεταβολίτες έχουν αναγνωριστεί στο χαμομήλι, συμπεριλαμβανομένων 28 τερπενοειδών και 36 флаβονοειδών [3,24]. Στους δευτερογενείς μεταβολίτες διακρίνουμε: Φαινολικά συστατικά, Τερπένια, Αλκαλοειδή [1,3,12]. Ο όρος «φαινολικές ουσίες» μπορεί να ερμηνευθεί ως ενώσεις που διαθέτουν έναν αρωματικό δακτύλιο που φέρει μία ομάδα υδροξυλίου, ενώ οι «πολυφαινόλες» μπορούν να έχουν έναν ή περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους που φέρουν περισσότερες από μία υδροξυλομάδες [62]. Οι πολυφαινόλες είναι μια κατηγορία χημικών ουσιών που συναντώνται στα φυτά και για αυτό είναι πιο γνωστές ως φυτοχημικές ουσίες. Οι πολυφαινόλες είναι ευρέως κατανομημένες στους φυτικούς ιστούς όπου υπάρχουν κυρίως σε μορφή γλυκοσιδών ή αγλυκόνες [71]. Υπάρχουν περισσότερες από 500 μοναδικές πολυφαινόλες. Αποτελούν μια μεγάλη ομάδα βιοδραστικών φυτοχημικών ουσιών που περιλαμβάνουν πολλαπλές υποκατηγορίες όπως флаβονοειδή, στιλβένια, φαινολικά οξέα και λιγνάνες [19]. Μελετώντας τα φαινολικά συστατικά διακρίνουμε τις флаβονοειδείς φαινόλες, μη флаβονοειδείς φαινόλες, λιγνάνια, ταννίνες [3,12,19].

4.2. Δομή των πολυφαινολών

Η βασική δομή των φαινολικών ενώσεων χαρακτηρίζεται από την παρουσία τουλάχιστον μιας υδροξυλομάδας άμεσα συνδεδεμένης με έναν φαινυλικό δακτύλιο. Η διάκριση σε φαινολικά οξέα, флаβονοειδή, ταννίνες, κουμαρίνες, λιγνάνες, κινόνες, στιλβένια και κουρκουμινοειδή γίνεται με βάση τον βασικό δομικό σκελετό [3,17].

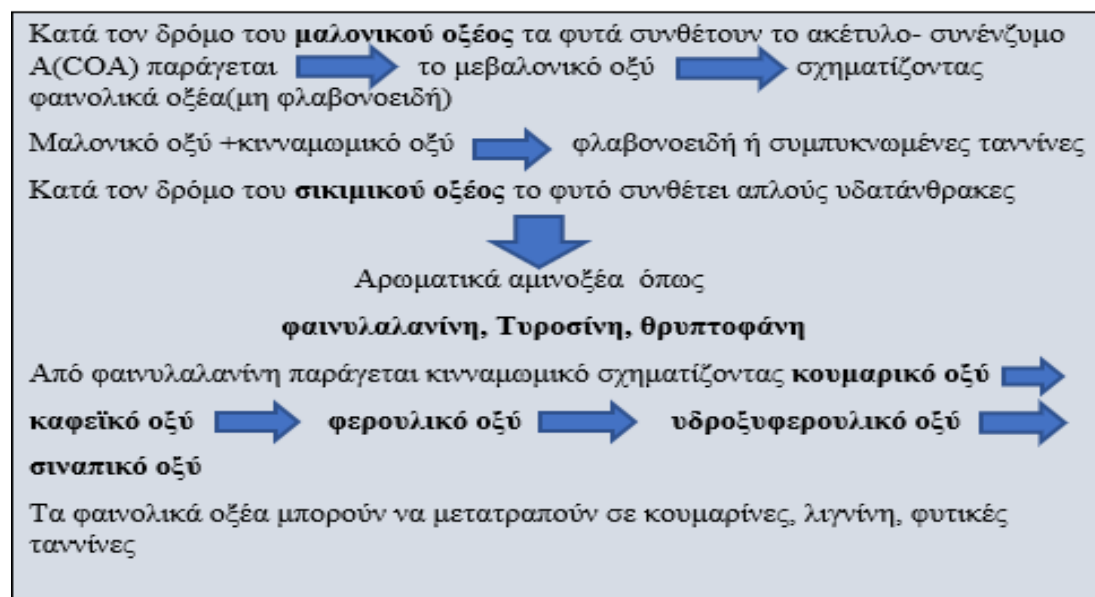


Εικόνα 5: Βασική δομή των флаβονοειδών [17] και των μη флаβονοειδών [71].

Αν και ο δομικός σκελετός πολυφαινόλης περιέχει αρκετές υδροξυλομάδες σε αρωματικούς δακτυλίους, η βασική δομή των μη φλαβονοειδών είναι ένας ενιαίος αρωματικός δακτύλιος. Η κύρια κατηγορία αυτής της ομάδας αντιπροσωπεύεται από φαινολικά οξέα, κυρίως παράγωγα βενζοϊκού οξέος και κινναμωμικού οξέος. Αυτά τα μόρια σπάνια υπάρχουν στην ελεύθερη μορφή τους αλλά τα περισσότερα βρίσκονται συνήθως σε σύζευξη με άλλες πολυφαινόλες, γλυκόζη, κινικό οξύ ή δομικά συστατικά του αρχικού φυτού. Μια άλλη σχετικά μικρή κατηγορία μη φλαβονοειδών, τα στυλβένια (1,2-διαρυλαιθένια), χαρακτηρίζεται από δύο τμήματα φαινυλίου που συνδέονται μεταξύ τους με μια ομάδα μεθυλενίου δύο άνθρακα [71].

4.3. Βιοσυνθετικοί οδοί πολυφαινολών

Η φωτοσύνθεση μετατρέπει CO_2 και H_2O σε υδατάνθρακες οι οποίοι εκπληρούν πολλές σημαντικές λειτουργίες στο φυτό όπως για παράδειγμα η κυτταρίνη που αποτελεί δομικό υλικό. Όλα τα συστατικά των φυτών σχηματίζονται μέσω ορισμένων οδών. Η βιοσύνθεση των πολυφαινολών πραγματοποιείται με δύο τρόπους. Τον μεταβολικό δρόμο του άλατος του σικιμικού οξέος και τον δρόμο του μαλονικού οξέος [1,72].



Πίνακας 5: Περιγραφή των βιοσυνθετικών δρόμων των πολυφαινολών

Ο μεταβολισμός των υδατανθράκων στη γλυκόλυση και στον κύκλο του κιτρικού οξέος απελευθερώνει τη απαιτούμενη ενέργεια για όλες τις βιολογικές αντιδράσεις ενώ οι υδατάνθρακες αποτελούν την πηγή άνθρακα για τη σύνθεση των οργανικών ενώσεων στα φυτά. Κάθε στάδιο βιοσυνθετικής αντίδρασης καταλύεται από ένα ένζυμο. Οι υδατάνθρακες αποικοδομούνται προς πυροσταφυλικό οξύ και αυτό οξειδώνεται προς οξικό. Μια βιοσυνθετική οδός κατευθύνεται από το οξικό μέσω του μαλονικού οξέος προς τερπένια και στεροειδή [1,72]. Μια άλλη οδός καταλήγει στον σχηματισμό ορισμένων αμινοξέων ενώ άλλα αμινοξέα σχηματίζονται απευθείας από το πυροσταφυλικό οξύ. Η οδός **σικιμικού οξέος** είναι απαραίτητη οδός για τη σύνθεση αρωματικών

ενώσεων. Επίσης οδηγεί από υδατάνθρακες σε αμινοξέα, όπως φαινυλαλανίνη, τυροσίνη, θρυπτοφάνη. Το σικιμικό οξύ αποτελεί την πρώτη ύλη για τη βιοσύνθεση των ταννινών και είναι σε θέση επίσης μέσω του χορισμικού οξέος να παράγει αρωματικά αμινοξέα. Το άζωτο που χρειάζεται για τη βιοσύνθεση των αμινοξέων, αρχικά, προέρχεται από τον ατμοσφαιρικό αέρα. Η φωτοσύνθεση είναι η μόνη διαδικασία για τη μετατροπή του CO₂ σε οργανικές ενώσεις [70]. Η **οδός του μαλονικού οξέος** ξεκινά από το ακετύλο – CoA καθώς μετατρέπεται σε μαλονικό οξύ δίνοντας στη συνέχεια φαινολικά οξέα. Φλαβονοειδή ή συμπυκνωμένες τανίνες προέρχονται από την προσθήκη κινναμωμικού οξέος στο μαλονικό οξύ. Ωστόσο στα ανώτερα φυτά λειτουργεί και μια εναλλακτική **οδός μέσω της φαινυλαλανίνης και φαινυλοπροπανίων**, που είναι πρόδρομες μορφές βιοσύνθεσης κουμαρινών, παράγεται κινναμωμικό οξύ και στη συνέχεια σχηματίζεται π-κουμαρικό οξύ, καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ, υδροξυφερουλικό οξύ και σιναπικό οξύ. Το καφεϊκό οξύ είναι το πιο κοινό και αντιπροσωπεύει έως και το 70% των συνολικών υδροξυκινναμωμικών οξέων στα φρούτα. Το φερουλικό οξύ είναι το πιο άφθονο φαινολικό οξύ που βρίσκεται στους κόκκους των δημητριακών που αποτελούν την κύρια διατροφική του πηγή [3,67].

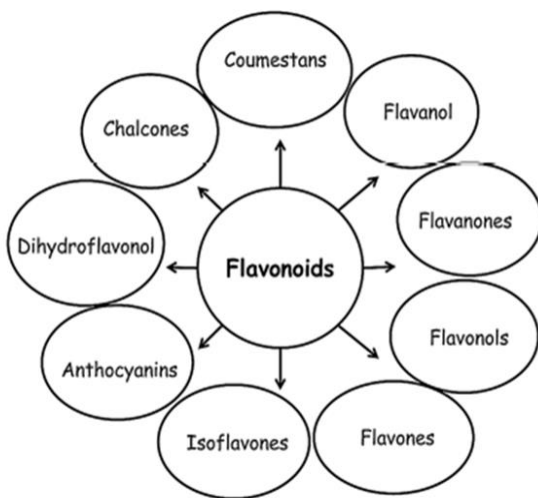
4.4. Φαινολικά συστατικά

Τα φαινολικά συχνά παράγονται και συσσωρεύονται στα υποεπιδερμικά στρώματα των φυτικών ιστών που εκτίθενται σε στρες και προσβολή παθογόνων. Η συγκέντρωση μιας συγκεκριμένης φαινολικής ένωσης μέσα σε έναν φυτικό ιστό εξαρτάται από την εποχή και μπορεί επίσης να ποικίλλει σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης και ανάπτυξης. Αρκετοί εσωτερικοί και εξωτερικοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου του τραύματος, των τραυματισμών, της ξηρασίας και της επίθεσης παθογόνων, επηρεάζουν τη σύνθεση και τη συσσώρευση φαινολικών. Επιπλέον, η βιοσύνθεση των φαινολών στους χλωροπλάστες και η συσσώρευσή τους στα κενοτόπια ενισχύονται με την έκθεση στο φως [17]. Η φωτοαναστολή, καθώς και οι πιέσεις σε θρεπτικά συστατικά, όπως ελλείψεις σε άζωτο, φωσφορικά, κάλιο, θείο, μαγνήσιο, βόριο και σίδηρο, πυροδοτούν επίσης τη σύνθεση φαινυλοπροπανοειδών ενώσεων σε ορισμένα φυτικά είδη. Αυτά μπορεί να περιλαμβάνουν μέλη της βιοσυνθετικής οδού των φλαβονοειδών. Τα φαινολικά έχουν διπλή λειτουργία τόσο απώθησης όσο και προσέλκυσης διαφορετικών οργανισμών στο περιβάλλον του φυτού. Δρουν ως προστατευτικοί παράγοντες, αναστολείς, φυσικά τοξικά για τα ζώα και φυτοφάρμακα έναντι εισβολέων οργανισμών, δηλαδή φυτοφάγων, νηματωδών, φυτοφάγων εντόμων και μυκητιακών και βακτηριακών παθογόνων [17]. Οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να χωριστούν σε πολλές υποομάδες ανάλογα με τα δομικά τους χαρακτηριστικά, ωστόσο, αυτές που βρίσκονται συνήθως στα φυτικά τρόφιμα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις κύριες υποομάδες: φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή και μη φλαβονοειδή [3,62].

4.5. Φλαβονοειδείς φαινόλες

Η πιο γνωστή ομάδα φαινολών είναι τα φλαβονοειδή. Τα φλαβονοειδή περιέχουν δύο φαινολικούς δακτυλίους (Δακτύλιος Α και Δακτύλιος Β) που συνδέονται με μια γέφυρα τριών άνθρακα που είναι συνήθως ένας οξυγονωμένος ετερόκυκλος γιατί δεν έχει μόνο άτομα C αλλά και O₂.

πυρανικός (Δακτύλιος C), με κοινή δομή σκελετού C6-C3-C6 [62]. Δηλαδή δομικά βασίζονται σε έναν σκελετό 15 άνθρακα ενός δακτυλίου χρωμάνης που συνδέεται με έναν δεύτερο αρωματικό δακτύλιο. Βιοσυντίθενται με τη βοήθεια και των δυο βιοσυνθετικών δρόμων, του σικιμικού μέσω της φαινυλοπροπανοειδούς ομάδας, του μαλονικού μέσω του αρωματικού δακτυλίου. Η βιοσύνθεση των φλαβονοειδών λαμβάνει χώρα στη διασταύρωση της οδού σικιμικού (μονοπάτι πολυκετιδίου) και της οδού οξικού, με το μονοπάτι σικιμικού να παρέχει το υπόστρωμα σύνθεσης CoA κουμαρίνης και το μονοπάτι οξικού να παρέχει τμήματα μηλονυλο-CoA για την αντίδραση επιμήκυνσης C2 που καταλύεται από τη σύνθεση χαλκόνης [72]. Στα φλαβονοειδή ο δακτύλιος A σχηματίζεται από τα οξικά ενώ ο δακτύλιος B προέρχεται από το σικιμικό οξύ και τα τρία άτομα άνθρακα τα οποία συνδέουν του δακτυλίου A και B από το φωσφοενολοπυροσταφυλικό. Διαδοχικές υδροξυλιώσεις και αναγωγές οδηγούν στα διάφορα φλαβονοειδή [1]. Πρώτα σχηματίζεται χαλκόνη η οποία δίνει στη συνέχεια φλαβανόνη, φλαβανόλες, φλαβόνες, ανθοκυανίνες [1,2,3,12,19]. Οι χαλκόνες(1,3-διαρυλ-2-προπεν-1-όνες) είναι φυσικά φλαβονοειδή ανοιχτής αλυσίδας, που φέρουν έως και τρία τροποποιημένα ή μη τροποποιημένα τμήματα C5-, C10- και C15-πρενυλίου και στους δύο δακτυλίους A και B. Είναι πρόδρομες ουσίες για τα φλαβονοειδή και τα ισοφλαβονοειδή. Τα δομικά τους χαρακτηριστικά κατασκευάζονται εύκολα από απλές αρωματικές ενώσεις [72]. Τα φλαβονοειδή εμφανίζονται στα φυτά ως αγλυκόνες και συχνά η πλειοψηφία εμφανίζεται ως γλυκοσίδες εκτός από τις φλαβαν-3-όλες, οι οποίες σπάνια γλυκοζυλιώνονται. Τα διαφορετικά μοτίβα υδροξυλίωσης και μεθυλίωσης των δακτυλίων A και B έχουν ως αποτέλεσμα μια ποικιλία ενώσεων για κάθε κατηγορία φλαβονοειδών [3]. Τα φλαβονοειδή που απαντώνται στη φύση αποθηκεύονται στα φυτά ως γλυκοζίδια και μη γλυκοζυλιωμένα συζεύγματα και η φύση του τμήματος μπορεί να επηρεάσει τη μετέπειτα βιοδιαθεσιμότητά τους στον άνθρωπο. Τα φλαβονοειδή μπορούν να απορροφηθούν στο λεπτό έντερο, όπου μεταβολίζονται συχνά από ένζυμα φάσης II πριν εισέλθει στη συστηματική κυκλοφορία [19].



Σχήμα 2: Διακρίνονται οι διάφορες κατηγορίες φλαβονοειδών φαινολών [2].

Η μέση ανθρώπινη διατροφή περιέχει σημαντική ποσότητα φλαβονοειδή, οι κύριες διατροφικές πηγές των οποίων περιλαμβάνουν φρούτα όπως πορτοκάλι, γκρέιπφρουτ, μήλο και φράουλα, λαχανικά όπως κρεμμύδι, μπρόκολο, πράσινο πιπέρι και ντομάτα, σόγια και ποικιλία βοτάνων [65]. Τα φλαβονοειδή από μόνα τους αντιπροσωπεύουν περίπου τα δύο τρίτα των συνολικών διαιτητικών φαινολικών σε φυτικά τρόφιμα [68]. Τα φλαβονοειδή είναι κίτρινες χρωστικές ουσίες. Ορισμένες από τις ερυθρές και κυανές χρωστικές οι οποίες συναντώνται στη φύση είναι γλυκοζίτες παραγώγων της ανθοκυανίνης [1]. Στα φυτά, τα φλαβονοειδή παίζουν κρίσιμους ρόλους σε πολλές βιολογικές διεργασίες. Συμμετέχουν στην ανάπτυξη, και την ωρίμανση των φυτών. Τα φυτά χρησιμοποιούν φλαβονοειδή για να αντισταθούν σε διάφορες βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις. Τα φλαβονοειδή μπορούν να αποτρέψουν τις βλάβες στα φυτά από ιούς, μύκητες, βακτήρια και φυτοφάγα, λειτουργούν ως χημικοί αγγελιοφόροι σε συνδυασμό ή σε σχέση με μυκόρριζα και βακτήρια, συμβάλλουν στα χρώματα των λουλουδιών να προσελκύουν επικονιαστές και επιδεικνύουν αλληλοπαθητικές λειτουργίες [1,72]. Από την άλλη πλευρά, τα φλαβονοειδή έχουν θετικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία κυρίως λόγω των ισχυρών βιοδραστηριοτήτων τους. Επίσης μπορούν να δράσουν ως ρυθμιστές lncRNA και microRNA σε διάφορες ασθένειες όπως π.χ. καρκίνους μαστού, παχέος εντέρου, νεφρού και παγκρέατος. Τα φλαβονοειδή όπως η κουρκουμίνη, η βερβερίνη, η γενιστεΐνη, η κερσετίνη, η σιλιβινίνη και η καλυκοσίνη έχουν τη δυνατότητα να στοχεύουν τα lncRNAs για την αναστολή της επιβίωσης, του πολλαπλασιασμού, της μετανάστευσης, της εισβολής και της μετάστασης των καρκινικών κυττάρων [72]. Πολλά συστατικά των φλαβονοειδών έχουν επιδείξει υπογλυκαιμικές ή βοηθητικές επιδράσεις in vitro και in vivo μελέτες. ειδικά ως βοηθητικά. Για παράδειγμα, η απιγενίνη, η βαϊκελαΐνη και η κατεχίνη μειώνει κυρίως τη γλυκόζη του αίματος μέσω της αντιοξειδωτικής [73]. Τα φλαβονοειδή έχουν σημαντική συμμετοχή στην πρόληψη των καρδιαγγειακών παθήσεων, κυρίως λόγω των αντιαθηρογόνων, αντιθρομβωτικών και αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων τους. Μελέτες in vitro και in vivo έχουν δείξει ότι τα φλαβονοειδή μπορούν να ρυθμίσουν τη δραστηριότητα πολλών φλεγμονωδών μεσολαβητών και μπορούν επίσης να αναστείλουν τα ανοσοκύτταρα, αντιπροσωπεύοντας έτσι μια εναλλακτική στην ανάπτυξη νέων αντιφλεγμονωδών φαρμάκων [74]. Τα φλαβονοειδή έχουν λάβει μεγάλη προσοχή από ειδικούς για την ποικιλία των πιθανών πλεονεκτημάτων που προσφέρουν. Είναι μια σύνθετη και μακροχρόνια μελέτη λόγω της ετερογένειας των μοριακών δομών, αλλά πολυάριθμες μελέτες έχουν προτείνει ότι οι διατροφικές πολυφαινόλες μπορεί να είναι ωφέλιμες ως συμπληρωματική θεραπεία για την πρόληψη και τη θεραπεία χρόνιων φλεγμονωδών ασθενειών [73,74]. Επίσης έχουν εντοπιστεί πιθανοί βιοχημικοί και μοριακοί μηχανισμοί, όπως ρύθμιση παραγόντων πυρηνικής μεταγραφής και μεταβολισμού λίπους και ρύθμιση της σύνθεσης φλεγμονωδών μεσολαβητών, ορισμένα φλαβονοειδή έχει αποδειχθεί ότι παίζουν ρόλο στη ρύθμιση της γλυκόζης, την αντίσταση στην ινσουλίνη, τη φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες στους μυς και σε άλλα κύτταρα. Ως αποτέλεσμα, τα φλαβονοειδή πιστεύεται ότι έχουν ευεργετικές επιδράσεις στην παχυσαρκία και τον διαβήτη [19]. Επίσης η αντιοξειδωτική δράση των φλαβονοειδών μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα ουρικού οξέος, τη δραστηριότητα χηλοποίησης μετάλλων και την αντιοξειδωτική δράση χαμηλού μοριακού βάρους για την ανακούφιση του οξειδωτικού στρες.

Μία μέθοδος ταξινόμησης των φλαβονοειδών βασίζεται στο βαθμό οξειδωσης του κεντρικού ετερόκυκλου. Οι θέσεις των ομάδων μεθυλίου και υδροξυλίου στους άλλους δύο δακτυλίους οδηγούν σε διάφορες τροποποιήσεις γλυκοσιδών φλαβονοειδών όπως η γλυκοζυλίωση και η ακυλίωση. Στην κατηγορία των φλαβονοειδών φαινολών ανήκουν οι φλαβόνες, φλαβονόλες, φλαβανόλες, φλαβανόνες, ισοφλαβόνες, ανθοκυανίνες [1,2,3,12,19,72].

Φλαβόνες

Οι φλαβόνες είναι μια από τις μεγαλύτερες κατηγορίες φλαβονοειδών. Η χημική δομή των φλαβονών αποτελείται από 4H-χρωμεν-4-όνη, η οποία φέρει έναν υποκαταστάτη φαινυλίου στη θέση 2. δηλαδή υπάρχει μια ομάδα καρβονυλίου στο θέση C4, και ο δακτύλιος B συνδέεται με τον ετεροκυκλικό δακτύλιο στο η θέση C2. Επιπλέον, υπάρχει διπλός δεσμός μεταξύ των C2 και C3 άτομα [71]. Οι περισσότερες φλαβόνες είναι 7-O-γλυκοσίδες, οι οποίες υπάρχουν σε τρόφιμα όπως το σέλινο, το σκόρδο και το χαμομήλι,, το τσάι, το κόκκινο πιπέρι και τα πορτοκάλια και τα δημητριακά όπως το κεχρί και το σιτάρι περιέχουν C-γλυκοσίδες φλαβονών [3,64,72,74,75]. Οι δύο κύριες βρώσιμες φλαβόνες είναι η απιγενίνη και η λουτεολίνη. Η **απιγενίνη** εμφανίζεται τυπικά σε γλυκοζυλιωμένη μορφή, με τη δομή του τρικυκλικού πυρήνα συνδεδεμένη με ένα τμήμα σακχάρου μέσω ομάδων υδροξυλίου (O-γλυκοσίδες) ή απευθείας με άνθρακα (C-γλυκοσίδες). Η ομάδα απιγενίνης περιλαμβάνει απίνη, απιγενιν-7-O-γλυκοσίδη, βιτεξίνη, ισοβιτεξίνη, ροϊφολίνη και σαφτοζίδη. Η απιγενίνη είναι ένας καθαριστής ελεύθερων ριζών και ένας ρυθμιστής της αντιοξειδωτικής άμυνας στα παγκρεατικά κύτταρα. Η προκαταρκτική θεραπεία με απιγενίνη μπορεί να μειώσει αποτελεσματικά τη φλεγμονή κατά του καρκίνου, των καρδιαγγειακών παθήσεων και της νευροφλεγμονής [72]. Επιδημιολογικά, in vitro και in vivo μελέτες έχουν επιβεβαιώσει το ρόλο της απιγενίνης στην πρόληψη και θεραπεία του διαβήτη. Η απιγενίνη είχε σημαντικές επιδράσεις στη μείωση της γλυκόζης στο αίμα, στη ρύθμιση των λιπιδίων. Η απιγενίνη και τα παράγωγά της έπαιξαν θετικό ρόλο στην πρόληψη της παχυσαρκίας και του διαβήτη. Τα μονομερή των οξειδωμένων φλαβονών επί του παρόντος αναφέρεται ότι έχουν αντιδιαβητικά αποτελέσματα κυρίως όταν περιλαμβάνουν απιγενίνη, λουτεολίνη [73]. Η **λουτεολίνη** είναι ένα φυσικό φλαβονοειδές που βρίσκεται σε πολλά φυτά στη φύση. Φυτά που είναι πλούσια σε λουτεολίνη χρησιμοποιούνται συχνά για τη θεραπεία ασθενειών και έχουν διάφορες φαρμακολογικές επιδράσεις. Η λουτεολίνη έχει υπολιπιδαιμικές και υπογλυκαιμικές επιδράσεις. Μελέτες έχουν δείξει ότι η λουτεολίνη θα μπορούσε να βελτιώσει σημαντικά τη δυσανεξία στη γλυκόζη και την αντίσταση στην ινσουλίνη που προκαλείται με δίαιτα πλούσια σε λιπαρά [73]. Μεταξύ των ευεργετικών επιδράσεων της λουτεολίνης, που παρατηρήθηκαν σε διάφορες μελέτες, είναι η ικανότητα μείωσης της αρτηριακής πίεσης σε υπερτασικούς αρουραίους, η βελτίωση της αγγειοδιαστολής στους αορτικούς δακτυλίους [74]. Η λουτεολίνη είναι γνωστή ως αντικαρκινικός παράγοντας μέσω της επαγωγής απόπτωσης και της διακοπής του κυτταρικού κύκλου και της επιμελούς αναστολής της μετάστασης και της αγγειογένεσης σε πολλαπλές καρκινικές κυτταρικές σειρές όπως μαστός, κόλον, πάγκρεας, πνεύμονας, μεταξύ άλλων. Επίσης, μπορεί να είναι ένα σημαντικό συμπληρωματικό φάρμακο για την πρόληψη και τη θεραπεία διαφορετικών τύπων

καρκίνου, λόγω της φυσικής προέλευσης, της ασφάλειας και του χαμηλού κόστους σε σχέση με τα συνθετικά αντικαρκινικά φάρμακα [76]. Οι φλαβόνες και τα 3-υδροξυ παράγωγά τους φλαβονόλες, συμπεριλαμβανομένων των γλυκοσιδίων, των μεθοξειδίων και άλλων ακυλιωμένων προϊόντων και στους τρεις δακτυλίους, την καθιστούν τη μεγαλύτερη υποομάδα μεταξύ όλων των πολυφαινόλων [75].

Φλαβονόλες

Οι φλαβονόλες είναι φλαβόνες που φέρουν μια ομάδα υδροξυλίου στο C-3 και βρίσκονται στα κρεμμύδια, το μπρόκολο, το τσάι και τα φρούτα και αντιπροσωπεύονται από γλυκοσίδες. Τα κύρια παραδείγματα είναι οι πιο κοινές αγλυκόνες φλαβονόλης, η κερσετίνη και η καμπερόλη, που έχουν από μόνες τους τουλάχιστον 279 και 347 διαφορετικούς γλυκοσιδικούς συνδυασμούς, αντίστοιχα και η μυρικετίνη [3,19,74,75]. Αυτά τα μονομερή σχετίζονται με διαβήτη και διαβητικές επιπλοκές [73]. Η **κερκετίνη** είναι ένα φυσικό φλαβονοειδές που έχει διάφορες βιολογικές ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένων κατά του διαβήτη και μπορεί να διασταυρωθεί ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός. Γιατί ο εγκέφαλος είναι ένα από τα όργανα επηρεάζονται από την επαγόμενη από τον διαβήτη υπεργλυκαιμία, διατροφικοί παράγοντες που προσφέρουν νευροπροστασία βοηθούν να μετριάσει τις επιβλαβείς συνέπειες του διαβήτη [73]. Η κερκετίνη ασκεί την αντιυπερτασική της δράση με την ικανότητα να βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία, να ρυθμίζει το σύστημα ρενίνης – αγγειοτενσίνης - αλδοστερόνης, ρυθμίζοντας τον μηχανισμό συστολής των λείων μυών στα αιμοφόρα αγγεία, προκαλεί αγγειοδιαστολή σε νεφρικό επίπεδο και μειώνει την αρτηριακή πίεση σε ασθενείς με διαβήτη ή μεταβολικό σύνδρομο [74]. Η κερκετίνη μειώνει επίσης το οξειδωτικό στρες στην καρδιά και τα νεφρά. Η **Kaempferol**, γνωστή και ως καμπερόλη και εκχύλισμα *Baiguicao III*, ανήκει στη φλαβονόλη κατηγορία ενώσεων και βρίσκεται κυρίως σε ριζώματα του *Kaempferia galangal*, φυτού από την οικογένεια τζίντζερ. Επίσης η καμπερόλη, μια ένωση τροφών όπως το μπρόκολο, το πράσινο τσάι, οι φράουλες και τα φασόλια, έχει αντιυπερτασικές ιδιότητες, επιδράσεις που εκδηλώνονται με τη δράση του ενδοθηλιακού μονοξειδίου του αζώτου. Εκτός από την αντιυπερτασική δράση, η καμπερόλη έχει την ικανότητα να μειώνει τη λευκωματουρία και την πρωτεϊνουρία, όντας πιθανός υποψήφιος για τη βελτίωση αυτών των δύο καταστάσεων [74]. Μελέτες έχουν δείξει ότι η καμπερόλη μπορεί να μειώσει το σάκχαρο και το αίμα επίπεδα λιπιδίων. Η **μυρικετίνη** είναι ένα φυσικό φλαβονοειδές που έχει προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον λόγω του αντιοξειδωτικού και των ελεύθερων ριζών του δραστηριοτήτων της. Έχει σαφώς ισχυρή αντιοξειδωτική δράση λόγω των ιδιοτήτων καθαρισμού ριζών και χηλίωσης μετάλλων σε έλαια και γαλακτώματα [77]. Επίσης θα μπορούσε να βελτιώσει τις αλλοιωμένες νεφρικές λειτουργίες και ασκεί πιθανές προστατευτικές επιδράσεις στη διαβητική μυοκαρδιοπάθεια [73].

Φλαβανόλες

Οι φλαβανόλες (φλαβαν-3-όλες) περιέχουν έναν κορεσμένο ετεροκυκλικό δακτύλιο, χωρίς διπλό δεσμό μεταξύ C2 και C3, και μια ομάδα υδροξυλίου στη θέση C3. Σε αντίθεση με άλλες

κατηγορίες φλαβονοειδών, οι φλαβανόλες βρίσκονται στα τρόφιμα μόνο ως αγλυκόνες. Οι φλαβανόλες, επίσης γνωστές ως φλαβαν-3-όλες. Η έλλειψη διπλού δεσμού μεταξύ των θέσεων 2 και 3 διαφέρει από πολλά άλλα φλαβονοειδή. Οι διαφορετικές φλαβανόλες παρουσιάζουν διαφορές στις υδροξυλομάδες που υπάρχουν στους δακτυλίους A, B και Γ. Επιπλέον, μπορούν να βρεθούν ως μονομερείς μονάδες, αναφέρονται ως κατεχίνες και επικατεχίνες, ή αλλιώς, των φλαβαν-3-ολών, και ως πολυμερικές μορφές, που αναφέρονται ως τανίνες [71,72]. Οι **κατεχίνες** είναι τα κύρια δομικά στοιχεία των **ταννινών**, όταν ενώνονται, είναι επίσης γνωστές ως προκυανιδίνες. Διακρίνονται σε (+)-Catechin, (-)-Epicatechin, (+)-Gallocatechin, (-)-Epicatechin-3-gallate, (-)-Epigallocatechin-3-gallate και βρίσκονται στο πράσινο και μαύρο τσάι, στο κόκκινο κρασί, ξηρούς καρπούς, μαύρη σοκολάτα, μήλα μούρα γκρέιπφρουτ κ.ά. [2]. Όσον αφορά τα οφέλη για την ανθρώπινη υγεία, οι φλαβανόλες λειτουργούν κυρίως μέσω των μεταβολικών τους προϊόντων. Τόσο η φάση-II της φλαβανόλης όσο και οι μικροβιοτικοί μεταβολίτες εισέρχονται στη συστηματική κυκλοφορία και μεταφέρονται σε διάφορα όργανα και ιστούς, ενώ οι φλαβανόλες προκαλούν την απελευθέρωση μονοξειδίου του αζώτου (NO) στο αίμα. Στους καπνιστές, οι φλαβανόλες μπορούν να ανακουφίσουν κάποια βλάβη που προκαλείται από τον καπνό στα αιμοφόρα αγγεία μέσω αυτής της αύξησης του NO μετά την κατάποση ποτών που περιέχουν φλαβανόλες. Αυτή η επίδραση έχει επιβεβαιωθεί ότι σχετίζεται με τους μεταβολίτες της φλαβανόλης. Επιπλέον, η μακροχρόνια κατανάλωση τροφών πλούσιων σε φλαβανόλη διευκολύνει τη μόνιμη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας και αποτρέπει την ανάπτυξη καρδιαγγειακών παθήσεων [72]. Μελέτες για τις κατεχίνες δείχνουν προστασία από εκφυλιστικές ασθένειες. Δρουν ως αντιογκογόνοι παράγοντες και ως ανοσοδιαμορφωτές σε ανοσολογική δυσλειτουργία που προκαλείται από μεταφυτευμένους όγκους ή από θεραπεία καρκινογόνου [2]. Η κατεχίνη δεν έχει μόνο διακριτά αποτελέσματα στην πρόληψη και τη θεραπεία της υπεργλυκαιμίας αλλά επίσης εμφανίζει συγκεκριμένα ανασταλτικά αποτελέσματα στις επιπλοκές που σχετίζονται με τον διαβήτη. Ειδικότερα, η κατεχίνη προστατεύει το DNA και ανακουφίζει την οξειδωτική βλάβη, η οποία είναι ένα κοινό σημείο εισόδου για τη θεραπεία του διαβήτη και του καρκίνου και έχει σημαντική ιατρική ερευνητική αξία [73].

Φλαβανόνες

Σε αντίθεση με τις φλαβονόλες και τις φλαβόνες, με την ομάδα καρβονυλίου στη θέση C4, ο ετεροκυκλικός δακτύλιος στις φλαβανόνες έχει κορεσμένη αλυσίδα τριών ατόμων άνθρακα χωρίς ομάδα υδροξυλίου στη θέση C3. Οι φλαβανόνες χαρακτηρίζονται από μεγάλο αριθμό υποκατεστημένων παραγώγων π.χ., πρενυλιωμένες φλαβανόνες και βενζυλιωμένες φλαβανόνες λόγω των μοναδικών μοτίβων υποκατάστασής τους. Η υποκατάσταση στη θέση C7 από έναν δισακχαρίτη είναι η κοινή μορφή γλυκοζυλιωμένων φλαβανονών. Οι φλαβανόνες, επίσης γνωστές ως διυδροφλαβόνες, έχουν κορεσμένο δακτύλιο C [72]. Η δομική διαφορά μεταξύ της φλαβανόνης και άλλων φλαβονοειδών είναι ο κορεσμός του διπλού δεσμού μεταξύ των θέσεων C2 και C3. Οι φλαβανόνες βρίσκονται κυρίως σε υψηλές συγκεντρώσεις σε εσπεριδοειδή όπως τα πορτοκάλια και λεμόνια και τα περισσότερα υπάρχουν ως μορφές αγλυκόνης [71]. Ο τύπος αγλυκόνης είναι χαρακτηριστικός των φλαβανονών εσπεριδοειδών και η ίδια αγλυκόνη μπορεί να

συνδυαστεί με πολλαπλούς γλυκοζίτες για να ληφθούν διαφορετικές φλαβανόνες. Αυτές οι ενώσεις κάνουν τον χυμό και τη φλούδα των εσπεριδοειδών να έχουν πικρή γεύση [72]. Μεταξύ των φλαβανονών, οι πιο αντιπροσωπευτικές φλαβανόνες είναι η εσπεριδίνη και η ναρινγκενίνη στα πορτοκάλια, η εριοδικτυόλη στα λεμόνια και η ναρινγκενίνη στο γκρέιπφρουτ [19,73]. Γενικά, η περιεκτικότητα σε φλαβανόνες στα φρούτα διαφέρει μεταξύ των ποικιλιών εσπεριδοειδών. Στις κόκκινες ποικιλίες εσπεριδοειδών, οι φλαβανόνες είναι άφθονες, όπως και οι ανθοκυανίνες. Οι φλαβανόνες μπορούν να παρέχουν φαινολικό υδρογόνο, λειτουργώντας έτσι ως αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό. Η **ναρινγκενίνη** μπορεί να αυξήσει τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων, ενισχύοντας σημαντικά τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και αποφεύγοντας ασθένεια ή βλάβη σε εσωτερικά όργανα ή ιστούς που προκαλούνται από οξείδωση. Τα ευεργετικά θεραπευτικά αποτελέσματα της ναρινγκενίνης επιτυγχάνονται εν μέρει μέσω των αντιοξειδωτικών της ιδιοτήτων και της ικανότητας σάρωσης των ελεύθερων ριζών. Η ναρινγκενίνη και η **εσπεριδίνη**, βοηθούν στην αποκατάσταση της μειωμένης λειτουργίας του θυρεοειδούς [72].

Ισοφλαβόνες

Οι ισοφλαβόνες είναι μια κατηγορία μορίων με χημική δομή που βασίζεται στη ραχοκοκαλιά της 3-φαινυλοχρωμεν-4-όνης. Οι ισοφλαβόνες συσσωρεύονται συνήθως στα ψυχανθή φυτά [72]. Οι ισοφλαβόνες μπορεί να εμφανιστούν ως αγλυκόνες ή ως γλυκοσίδες. Η κύρια πηγή των ισοφλαβονών είναι όσπρια από την οικογένεια Fabaceae, συγκεκριμένα η σόγια (*Glycine max*) ως πηγή **Daidzein**, **Genistein** και **Glycitein**. Οι ισοφλαβόνες σόγιας περιλαμβάνουν 12 ισομερή, όπως γενιστεΐνη και daidzein. Μικρές ποσότητες ισοφλαβονών βρίσκονται σε πολλά φρούτα, λαχανικά, ξηρούς καρπούς και δημητριακά [72,78]. Στην τάξη των ισοφλαβονών ανήκουν τα Genistein (7,40 -διυδροξυ-6-μεθοξυισοφλαβόνη), δαϊδζεΐνη (7,40 -διυδροξυισοφλαβόνη), γλυκιστίνη (7,40 -διυδροξυ-6-μεθοξυισοφλαβόνη), βιοχανίνη Α (5,7-διυδροξυ-40 -μεθοξυισοφλαβόνη) και η φορμονονετίνη (7-υδροξυ-4'-μεθοξυισοφλαβόνη) ανήκει στα φυτοοιστρογόνα ισοφλαβόνης. Οι ισοφλαβόνες κατατάσσονται μεταξύ των πιο οιστρογονικών ενώσεων. Καθώς οι ισοφλαβόνες είναι δομικά παρόμοιες με την οιστραδιόλη-17β και έχουν μοριακή δομή παρόμοια με τα ζωικά οιστρογόνα, λειτουργούν και ως φυτοοιστρογόνα [72]. Η λέξη «φυτοοιστρογόνο» προέρχεται από τον ελληνικό όρο φυτό και από τον όρο οιστρογόνο, δηλαδή μια ορμόνη που επηρεάζει τη θηλυκή γονιμότητα στα σπονδυλωτά. Τα φυτοοιστρογόνα είναι ενώσεις που βρίσκονται σε φυτά που, λόγω της μοριακής τους δομής και μεγέθους, μοιάζουν με οιστρογόνα, και που ασκούν οιστρογονικές και αντιοιστρογόνες επιδράσεις. Οι ποσότητες φυτοοιστρογόνων που παράγονται από ένα φυτό εξαρτώνται κυρίως από τις συνθήκες ανάπτυξης και στην ποικιλία φυτών. Η συγκέντρωση ισοφλαβόνης αυξάνεται απότομα κατά τη διάρκεια του στρες (π.χ υγρασία, προσβολή παθογόνων ή φυτικές ασθένειες) και επηρεάζεται, σε μεγάλο βαθμό, από το περιβάλλον και κλιματικές συνθήκες όπως η θερμοκρασία, η βροχόπτωση, η περίοδος συγκομιδής ή η γονιμότητα του εδάφους. Η τελική συγκέντρωση ισοφλαβόνης επηρεάζεται επίσης από τη μετασυλλεκτική επεξεργασία [19,78]. Τα μονομερή ισοφλαβόνης περιλαμβάνουν το daidzein, το daidzin και το **puerarin**. Ωστόσο, η έρευνα έχει επικεντρωθεί στο puerarin. Το Puerarin είναι μια

γλυκοσίδη ισοφλαβόνη που εξάγεται από τις ρίζες του λοβού *Pueraria*, ένα φυτό της οικογένειας των φασολιών ή *Pueraria thomsonii* Benth. Ο μοριακός μηχανισμός δράσης που βασίζεται στις σημαντικές αντιδιαβητικές επιδράσεις αυτής της ένωσης αποσαφηνίστηκε σταδιακά σε πειραματικές και κλινικές μελέτες, οι οποίες πρότειναν ότι η *Pueraria lobata*, η οποία χρησιμοποιείται συνήθως στη θεραπεία του διαβήτη, έχει το πλεονέκτημα ότι είναι φυσικό φάρμακο, και η εφαρμογή της θεωρείται το πιο κρίσιμο χαρακτηριστικό στην πρόληψη και τον έλεγχο του διαβήτη. Άλλωστε, το daidzein και το daidzin παίζουν επίσης ρόλο στον διαβήτη, αλλά μόνο λίγες μελέτες σχετικά με αυτές τις δύο ενώσεις έχουν δημοσιευτεί [73]. Στα φυτά, τα φυτοοιστρογόνα δεν λειτουργούν ως ορμόνες, αλλά ως φυτοαλεξίνες, δηλαδή, χαμηλού μοριακού βάρους ενώσεις που συντίθενται και συσσωρεύονται στα φυτά κατά τη διάρκεια του στρες και των επιθέσεων μικροβίων. Αυτά οι ενεργές αμυντικές ενώσεις έχουν μυκητοστατικές, αντιβακτηριακές, αντιικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες [78]. Οι ισοφλαβόνες θεωρούνται χημειοπροστατευτικές και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εναλλακτική θεραπεία σε ένα ευρύ φάσμα ορμονικών διαταραχών, συμπεριλαμβανομένων πολλών τύπων καρκίνου, δηλαδή του καρκίνου του μαστού και καρκίνος προστάτη, καρδιαγγειακές παθήσεις, οστεοπόρωση, ή συμπτώματα εμμηνόπαυσης. Με βάση *in vitro* και *in vivo* μελέτες της ισχύος των φυτοοιστρογόνων, η ακόλουθη σειρά κατάταξης εκτιμήθηκε η οιστρογονική ισχύς: οιστραδιόλη > γενιστεΐνη και ισοζόλη > γλυκιτεΐνη > δαιδζεΐνη > φορμονονετίνη και βιοχανίνη Α. Σε σχέση με τα οιστρογόνα, τα φυτοοιστρογόνα συμπεριφέρονται ως αγωνιστές ή ως ανταγωνιστές, οι οποίοι, σε περίπτωση ελλείμματος οιστρογόνων, λειτουργούν ως αδύναμα οιστρογόνα [78].

Ανθοκυανίνες

Οι ανθοκυανίνες είναι γλυκοζίτες των ανθοκυανιδίων, είναι ασταθείς και γενικά οι ανθοκυανίνες είναι φυτικές χρωστικές που συνήθως προσδίδουν κόκκινα, μωβ και μπλε χρώματα στα λουλούδια και τα φρούτα. Χημικά, οι ανθοκυανίνες είναι γλυκοσίδες πολυυδροξυ και πολυμεθοξυ παραγώγων. Ο αριθμός και η θέση των ομάδων υδροξυλίου και μεθοξυλίου που υπάρχουν ως υποκαταστάτες στη δομή του φλαβυλίου έχουν ως αποτέλεσμα διαφορετικές ανθοκυανίνες [72,79]. Συγκεκριμένα οι ανθοκυανίνες προκύπτουν από τις ανθοκυανιδίνες με προσκόλληση ενός μορίου γλυκόζης στην θέση 3 του πυριλικού δακτυλίου. . Οι ανθοκυανίνες χημικά είναι παράγωγα του φαινυλ – 2 βενζοπυρυλίου ή φλαβυλίου. Το Πυρύλιο είναι ιόν οξωνίου στο οποίο το άτομο του οξυγόνου είναι τετρασθενές. Από το μόριο του φαινυλ-2 βενζοπυρυλίου προκύπτουν οι ανθοκυανιδίνες με προσκόλληση ενός υδροξυλίου στη θέση 3 του βενζοπυρυλίου και διαφόρων ομάδων στον πλάγιο δακτύλιο. Οι ομάδες είναι -H₂, -OH, -OCH₃. Τα ανθοκυανία σχηματίζουν μέσω συμπύκνωσης με άλλα φλαβονοειδή και με φαινόλες πιο σύνθετα πολυμερή. Μέχρι σήμερα, περισσότερες από 650 ενώσεις ανθοκυανίνης έχουν εντοπιστεί στα φυτά. Μόνο έξι ανθοκυανιδίνες είναι κοινές στα ανώτερα φυτά **πελαργονιδίνη** (Pg), **πεονιδίνη** (Pn), **κυανιδίνη** (Cy), **μαλβιδίνη** (Mv), **πετονιδίνη** (Pt) και **δελφινιδίνη** (Dp). Οι γλυκοσίδες των τριών μη μεθυλιωμένων ανθοκυανιδινών (Cy, Dp και Pg) είναι οι πιο διαδεδομένοι στη φύση, καθώς υπάρχουν στο 80% των χρωματισμένων φύλλων, στο 69% στους καρπούς και στο 50% στα άνθη. Η κατανομή των έξι πιο κοινών ανθοκυανιδινών στα εδώδιμα μέρη των φυτών είναι η κυανιδίνη

(50%), η πελαργονιδίνη (12%), η πεονιδίνη (12%), η δελφινιδίνη (12%), η πετονιδίνη (7%) και η μαλβιδίνη (7%) [79]. Οι ανθοκυανίνες είναι άφθονες στα φρούτα και τα λαχανικά π.χ. μύρτιλα, κόκκινο λάχανο, ντομάτα, μωβ γλυκοπατάτα και μελιτζάνα [19,72,79]. Σπουδαιότερη ανθοκυανίνη είναι ο μονογλυκοζίτης 3 της μαλβιδίνης η οποία συνήθως είναι η γλυκόζη. Η μαλβιδίνη προκύπτει αν προσκολληθεί στο πλάγιο δακτύλιο της ανθοκυανιδίνης θέση 3 και 5 η ομάδα -COH₃. Οι ανθοκυανίνες παίζουν καθοριστικό ρόλο στην έλξη των ζώων για επικονίαση και διασπορά σπόρων, και ως εκ τούτου έχουν σημαντική αξία στη συνεξέλιξη αυτών των αλληλεπιδράσεων φυτού – ζώου επίσης οι ανθοκυανίνες μπορεί να είναι σημαντικοί παράγοντες μαζί με άλλα φλαβονοειδή στην αντοχή των φυτών στην επίθεση εντόμων αλλά μπορούν και να δράσουν ως εξωγενή ή εγγενή αντιοξειδωτικά [79]. Διαφορετικές ανθοκυανίνες έχουν διαφορετικές δραστηριότητες για τον καθαρισμό ROS ή ειδών αζώτου. Η αντιοξειδωτική τους ικανότητα εξαρτάται από τον προσανατολισμό του δακτυλίου, τον αριθμό των ελεύθερων υδροξυλίων γύρω από τον πυρονικό δακτύλιο και τις θέσεις τους. Επιπλέον, η γλυκοζυλιωμένη δομή του δακτυλίου B των ανθοκυανινών προάγει την ισχυρή αντιοξειδωτική δράση μέσω της ορθοϋδροξυλίωσης και της μεθοξυλίωσης. Σε σύγκριση με τις ανθοκυανίνες, οι ανθοκυανιδίνες έχουν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση λόγω της δομής τους. Η ακυλίωση της ανθοκυανίνης μπορεί να βελτιώσει σημαντικά την αντιοξειδωτική της δράση, ενώ η γλυκοζυλίωση της έχει σχετικά μικρότερη δράση. Εκτός από την αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα, οι ανθοκυανίνες διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στην αποσύνθεση της χοληστερόλης, στην οπτική οξύτητα και στην πρόληψη των καρδιαγγειακών παθήσεων στον άνθρωπο. Οι ανθοκυανίνες χρησιμοποιούνται επίσης ως χρωστικές τροφίμων. Για παράδειγμα, τα καρότα περιέχουν μεγάλες ποσότητες μονοακυλιωμένων ανθοκυανινών που εφαρμόζονται στη βιομηχανία χρωστικών τροφίμων και οι ανθοκυανίνες από το μπιζέλι παράγουν φυσικές μπλε χρωστικές [72]. Τα τελευταία χρόνια, έχει υπάρξει αυξανόμενος αριθμός μελετών σχετικά με τη χρήση της ανθοκυανίνης στη θεραπεία του διαβήτη. Η ανθοκυανίνη είχε ευεργετικές επιδράσεις στις επαγόμενες από την παχυσαρκία μεταβολικές διαταραχές και φλεγμονές και θα μπορούσαν να ενισχύσουν την ευαισθησία της ινσουλίνης στους ιστούς. Οι ανθοκυανίνες αναμένεται να είναι πιθανές ευαισθητοποιητές ινσουλίνης μια κατηγορία φαρμάκων που χρησιμοποιούνται επί του παρόντος για τη θεραπεία του διαβήτη και σχετικών διαταραχών του μεταβολισμού [73]. Μελέτες έδειξαν ότι οι ανθοκυανίνες είναι αποτελεσματικές στην αναστροφή των ελλειμμάτων που σχετίζονται με την ηλικία σε διάφορες νευρικές και συμπεριφορικές παραμέτρους [79].

4.6. Μη φλαβονοειδείς φαινόλες

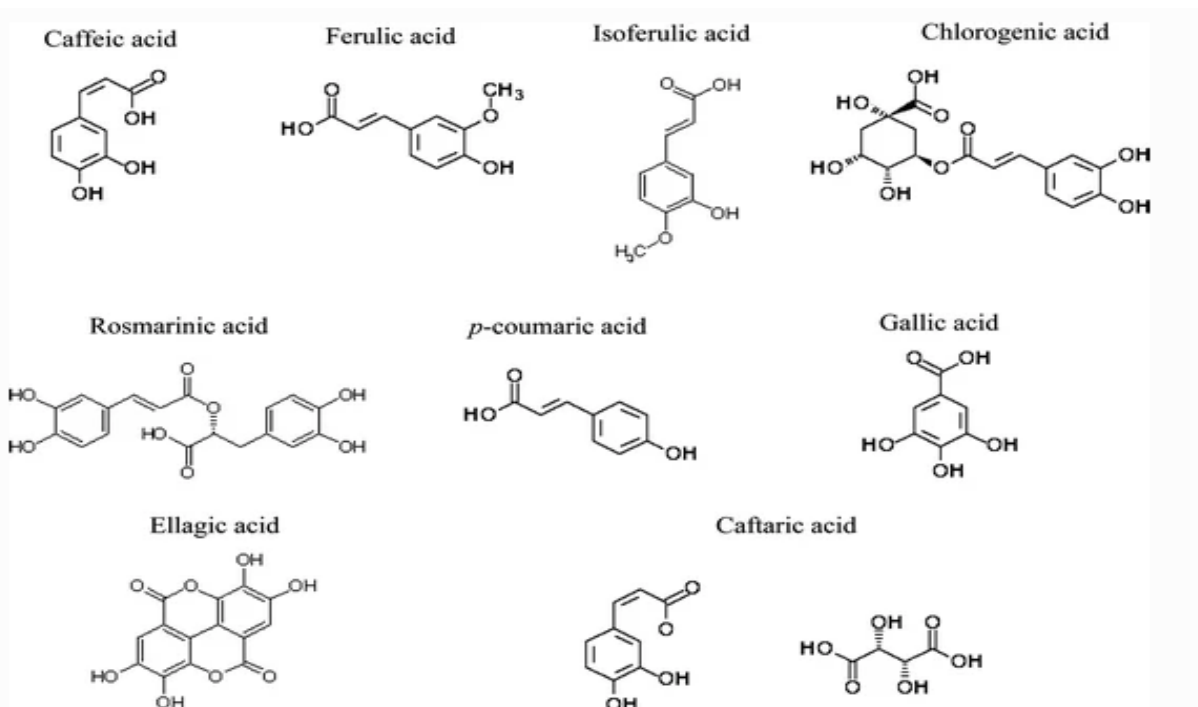
Αν και ο δομικός σκελετός πολυφαινόλης περιέχει αρκετές υδροξυλομάδες σε αρωματικούς δακτύλιους, η βασική δομή των μη φλαβονοειδών είναι ένας ενιαίος αρωματικός δακτύλιος. Οι μη φλαβονοειδείς ενώσεις περιλαμβάνουν φαινολικά οξέα (C6-C1), στιλβένια (C6-C2-C6) και λιγνάνες (C6-C3), η τυροσίνη (C6-C2). Η κύρια κατηγορία αυτής της ομάδας αντιπροσωπεύεται από φαινολικά οξέα, κυρίως παράγωγα βενζοϊκού οξέος και κινναμωμικού οξέος. Αυτά τα μόρια σπάνια υπάρχουν στην ελεύθερη μορφή τους αλλά είναι τα περισσότερα που βρίσκεται συνήθως σε σύζευξη με άλλες πολυφαινόλες, γλυκόζη, κινικό οξύ ή δομικά συστατικά του αρχικού φυτού.

Αν και η διακύμανση στον αριθμό και τη θέση του υδροξυλίου Πρέπει να ληφθούν υπόψη ομάδες στους αρωματικούς δακτυλίου αυτών των οξέων, υπάρχουν δύο διακριτοί μητρικοί σκελετοί φαινολικών οξέων: υδροξυκιναμικό και υδροξυβενζοϊκό οξύ. Το καφεϊκό, το φερουλικό, το πικουμαρικό και το σιναπικό οξύ είναι τα περισσότερα κοινά υδροξυκιναμικά οξέα που βρίσκονται ευρέως στα τρόφιμα. Μια άλλη σχετικά μικρή κατηγορία μη φλαβονοειδών, τα στιλβένια (1,2-διαρυλαιθένια), χαρακτηρίζεται από δύο τμήματα φαινυλίου συνδέονται μεταξύ τους με μια ομάδα μεθυλενίου δύο άνθρακα. Ένα από τα πιο γνωστά στιλβένια είναι η ρεσβερατρόλη. Τα παράγωγα του κιναμωμικού οξέος λέγονται λιγνάνια και αντιπροσωπεύουν μια κατηγορία μη φλαβονοειδών που περιλαμβάνει δύο μονάδες προπυλοβενζολίου (C6-C3) συνδεδεμένες μεταξύ τους στη β-θέση στο C8 των πλευρικών αλυσίδων προπανίου [71]. Αν και άχρωμα, τα μη φλαβονοειδή, τα συστατικά τους είναι γνωστό ότι ενισχύουν και σταθεροποιούν το χρώμα των ερυθρών κρασιών με ενδο- και διαμοριακές αντιδράσεις. Επιπλέον, συμβάλλουν στη γέυση του κρασιού (πηκτικά φαινολικά οξέα) και μερικά από αυτά (π.χ. η ρεσβερατρόλη) παρουσιάζουν ισχυρές βιολογικές δραστηριότητες [80]. Αρκετά μη φλαβονοειδή έχουν αναφερθεί ότι παρουσιάζουν αντικαρκινικές ιδιότητες. Τα μη φλαβονοειδή στοχεύουν τα καρκινικά βλαστοκύτταρα. Μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική οδός καθώς αναστέλλουν την αυτοανανέωση και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων (CSCs-Cancer Stem Cells) σε διάφορες μορφές του καρκίνου. Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι ορισμένα μη φλαβονοειδή μπορούν επίσης να ενισχύσουν τη θεραπεία κατά του CSC ευαισθητοποιώντας τα σε συμβατικές θεραπείες [81].

Φαινολικά οξέα

Τα φαινολικά οξέα περιέχουν μια ομάδα καρβοξυλικού οξέος επιπλέον της βασικής φαινολικής δομής και διαιρούνται κυρίως στα υδροξυβενζοϊκά και υδροξυκιναμικά οξέα δηλαδή υπάρχουν δύο διακριτοί μητρικοί σκελετοί φαινολικών οξέων: υδροξυκιναμικό και υδροξυβενζοϊκό οξύ [71]. Πιο συγκεκριμένα τα φαινολικά οξέα είναι υδροξυλικά παράγωγα αρωματικών καρβοξυλικών οξέων που έχουν έναν μόνο φαινολικό δακτύλιο και μπορούν περαιτέρω να χωριστούν σε δύο κύριους τύπους, τα βενζοϊκά οξέα και τα κιναμωμικά οξέα, με βάση τη ραχοκοκαλιά C1-C6 ή C3-C6 [62]. Ανάλογα δηλαδή με τη δομή τους διακρίνονται δύο κατηγορίες φαινολικών οξέων: παράγωγα βενζοϊκού οξέος και παράγωγα κιναμωμικού οξέος. Αποτελούνται από βενζόλιο ως δεσμό βάσης με μια καρβοξυλική ομάδα (βενζοϊκά οξέα) ή με προπενοϊκό οξύ (κιναμωμικά οξέα). Και οι δύο δομές μπορούν να βρεθούν με διαφορετικά επίπεδα υδροξυλίωσης [67]. Τα υδροξυβενζοϊκά οξέα βασίζονται σε έναν σκελετό C6-C1 και συχνά βρίσκονται δεσμευμένα σε μικρά οργανικά οξέα, γλυκοζυλομάτες ή κυτταρικά δομικά συστατικά [3]. Τα υδροξυκιναμικά οξέα βασίζονται σε σκελετό C6-C3 και συνδέονται επίσης συχνά με άλλα μόρια όπως το κινικό οξύ και η γλυκόζη [1,3]. Το 30% των ελεύθερων ή δεσμευμένων μορφών διαιτητικών φαινολικών στα φυτά είναι φαινολικά οξέα [62]. Τα φαινολικά οξέα συντίθενται από την οδό σικιμικού από 1-φαινυλαλανίνη ή 1-τυροσίνη. Η φαινυλαλανίνη και η τυροσίνη είναι πολύ σημαντικά αμινοξέα σε αυτό το μονοπάτι, καθώς αυτά τα αμινοξέα είναι οι συνήθεις πρόδρομοι για την πλειοψηφία των φυσικών φαινολικών προϊόντων. Τα φαινολικά οξέα μπορούν να

μετατραπούν σε α) κουμαρίνες, β) λιγνίνη, γ) να ενωθούν με εστερικό δεσμό και να δώσουν ταννίνες [66]. Η συγκέντρωση υδροξυβενζοϊκού οξέος στα φρούτα και τα λαχανικά είναι γενικά χαμηλή εκτός από ορισμένα κόκκινα φρούτα, μαύρο ραπανάκι, κρεμμύδι και φλούδα πατάτας. Τα κύρια υδροξυβενζοϊκά οξέα είναι το γαλλικό, το ελλαγικό, το πρωτοκατεχοϊκό και το 4-υδροβενζοϊκό οξύ [67]. Τα φαινολικά οξέα που συναντούμε και μελετώνται πιο συχνά είναι το **καφεϊκό** και το **φερουλικό οξύ**. Το καφεϊκό οξύ βρίσκεται επίσης με τη μορφή εστέρων, με το χλωρογενικό οξύ να είναι εκείνο που συναντούμε πιο συχνά [66]. Το καφεϊκό οξύ είναι το πιο κοινό και αντιπροσωπεύει έως και το 70% των συνολικών υδροξυκινναμωμικών οξέων στα φρούτα. Το φερουλικό οξύ είναι το πιο άφθονο φαινολικό οξύ που βρίσκεται στους κόκκους των δημητριακών που αποτελούν την κύρια διατροφική του πηγή. Αυτά τα οξέα σπάνια βρίσκονται σε ελεύθερη μορφή και γενικά εστεροποιούνται με κινικό, τρυγικό οξύ ή παράγωγα υδατανθράκων. Οι εστέρες των υδροξυκινναμωμικών οξέων και των κινικών οξέων ονομάζονται χλωρογενικά οξέα. Ωστόσο, το πιο κοινό, το 5-καφεοϋλοκινικό οξύ ονομάζεται επίσης χλωρογενικό οξύ. Τα υδροξυκινναμωμικά οξέα που απαντώνται σε πολλά φρούτα και λαχανικά συνεισφέρουν σημαντικά στη συνολική πρόσληψη πολυφαινόλης σε σχέση με τα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος ή των φλαβονοειδών όπως οι φλαβανόλες ή οι φλαβόνες [67]. Τις τελευταίες δεκαετίες, τα μανιτάρια έχουν λάβει ιδιαίτερη προσοχή επειδή περιγράφονται ως πλούσιες πηγές φαινολικών οξέων που είναι από τους κύριους παράγοντες που συμβάλλουν στις φαρμακευτικές τους ιδιότητες. Η εκτεταμένη γνώση της βιοδιαθεσιμότητας του φαινολικού οξέος είναι απαραίτητη για την κατανόηση των συζεύξεων και των βιοδραστηριοτήτων στον οργανισμό.



Εικόνα 4: Κύρια φαινολικά οξέα [67].

Τα φαινολικά οξέα είναι μια σημαντική ομάδα μέσα στην οικογένεια των πολυφαινολών και υπάρχουν ενδείξεις ότι όταν απορροφώνται σε ελεύθερη μορφή όπως απαντώνται για παράδειγμα στα μανιτάρια, η απορρόφηση και η σύζευξή τους, ακολουθεί τις ίδιες οδούς με φλαβονοειδή και άλλες πολυφαινόλες [66]. Γενικά, το καφεϊκό και το φερουλικό οξύ είναι τα πιο άφθονα φαινολικά οξέα που βρίσκονται στα περισσότερα φρούτα και δημητριακά, αντίστοιχα [68]. Το φερουλικό και το καφεϊκό οξύ ενώ μεταβολίζονται εκτενώς μετά την απορρόφηση, οι γλυκουρονωμένοι μεταβολίτες τους μπορούν να διατηρήσουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και να εξακολουθούν να ασκούν σημαντική αντιοξειδωτική δράση *in vivo*. Αυτά τα δύο φαινολικά οξέα είναι τα πιο αντιπροσωπευτικά στη διατροφή του ανθρώπου και, μετά την απορρόφησή τους, μεταβολίζονται και κυκλοφορούν στο ανθρώπινο πλάσμα σε συζευγμένες μορφές. Έτσι, η ισχυρή αντιοξειδωτική δράση που επιδεικνύεται από ορισμένους από αυτούς τους μεταβολίτες μπορεί να συμβάλει στην αύξηση των αντιοξειδωτικών ενεργειών του πλάσματος που μετρώνται μετά την πρόσληψη τροφών πλούσιων σε φαινολικά οξέα (π.χ. μανιτάρια) [66]. Αρκετές πειραματικές και επιδημιολογικές μελέτες πρότειναν ότι οι διατροφικές πολυφαινόλες συνέβαλαν στην προστασία από διάφορες εκφυλιστικές ασθένειες. Οι επιπτώσεις τους στην υγεία έχουν αποδοθεί πιο συγκεκριμένα στις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες και ακόμα κι αν τα φαινολικά οξέα είναι οι κύριες πολυφαινόλες που καταναλώνονται, η βιοδιαθεσιμότητά τους δεν έχει λάβει τόση προσοχή όσο αυτή των φλαβονοειδών [67]. Τα φαινολικά οξέα επιβεβαιώνεται ότι έχουν ποικίλη χρησιμότητα, συμπεριλαμβανομένου του ρόλου στην πρόσληψη θρεπτικών ουσιών, δομικά συστατικά, ενζυμική δραστηριότητα, πρωτεϊνική σύνθεση, φωτοσύνθεση και αλληλοπάθεια. Τα φαινολικά οξέα, γνωστά για ποικίλες βιολογικές εφαρμογές, είναι οι κύριες πολυφαινόλες που παράγονται από τα φυτά και λειτουργούν ως πρόγονοι για βιοενεργά μόρια που χρησιμοποιούνται τακτικά στη θεραπευτική, τα καλλυντικά και τις βιομηχανίες τροφίμων. Το βασικό πλεονέκτημα της χρήσης φαινολικών οξέων είναι η ικανότητα μεταβολισμού τους από φυσικά μικρόβια. Έχουν χρησιμοποιηθεί για την ενίσχυση των οργανοληπτικών (άρωμα, στυπτικότητα και σκληρότητα), χρώματος, αισθητηριακών ιδιοτήτων, θρεπτικών και αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων σε τρόφιμα. Επίσης, έχει διερευνηθεί η επίδραση των φαινολικών οξέων στην ωρίμανση των καρπών, στην πρόληψη του ενζυματικού μαυρίσματος και ο ρόλος τους ως συντηρητικά τροφίμων [68]. Ο διαβήτης αναγνωρίζεται ως μια διαταραχή οξειδωτικού στρες, συνέπεια λόγω ανισορροπίας μεταξύ του σχηματισμού ελεύθερων ριζών και της ικανότητας του ατόμου να τις οξειδώσει. Τα αντιοξειδωτικά παρεμποδίζουν τη δραστηριότητα των ελεύθερων ριζών με πολλούς μηχανισμούς και φαινολικές ενώσεις, ιδιαίτερα τα φαινολικά οξέα που διαθέτουν υψηλό αντιοξειδωτικό και δυναμικό σάρωσης ελεύθερων ριζών δρουν ενάντια στο οξειδωτικό στρες και τα εμπόδια του αναστέλλοντας τα ένζυμα που παράγουν ελεύθερες ρίζες. Τα φαινολικά οξέα επηρεάζουν τη λειτουργία των υποδοχέων γλυκόζης και ινσουλίνης παίζοντας έτσι καθοριστικό ρόλο στον διαβήτη. Το χλωρογενικό και το φερουλικό οξύ έχουν τον ίδιο μηχανισμό διέγερσης μεταφορέα και λειτουργούν με τους αντιδιαβητικούς παράγοντες [68,69]. Παρουσιάζουν αντιμικροβιακή δράση και λειτουργούν επίσης ως συντηρητικά τροφίμων. Τα αντιμικροβιακά δυναμικά των φαινολικών οξέων έχουν προσδιοριστεί μέσω της χημικής δομής ιδιαίτερα από το μήκος της κορεσμένης αλυσίδας, τη θέση και τον αριθμό υποκατάστασης στον πυρήνα του βενζολικού

δακτυλίου [68]. Επίσης, τα απλά φαινολικά οξέα, στην επιφάνεια του φυτού αποτρέπουν τα πουλιά αλληλεπιδρώντας με τη μικροχλωρίδα του εντέρου και μειώνοντας την πεπτική τους ικανότητα [17].

Φαινυλο- προπανοειδή

Όλες οι κατηγορίες φαινυλοπροπανοειδών ενώσεων δεν υπάρχουν σε όλα τα φυτικά είδη. Αν και οι κατηγορίες υδροξυκιναμωμικού οξέος και φλαβονοειδών εμφανίζονται σε όλα τα ανώτερα φυτά, τα μέλη αυτών των κατηγοριών με συγκεκριμένα πρότυπα υποκατάστασης μπορεί να είναι ιδιόμορφα σε ορισμένα γένη ή είδη. Άλλες κατηγορίες φαινυλοπροπανοειδών, περιορίζονται σε συγκεκριμένες οικογένειες φυτών. Στα φαινυλο- προπανοειδή ανήκουν τα **παράγωγα του υδροξυκιναμωμικού οξέος**, το **π- κουμαρικό οξύ**, το **καφεϊκό οξύ**, το **φερουλικό οξύ**, το **κουταρικό οξύ**, και το **καφταρικό οξύ** [90].

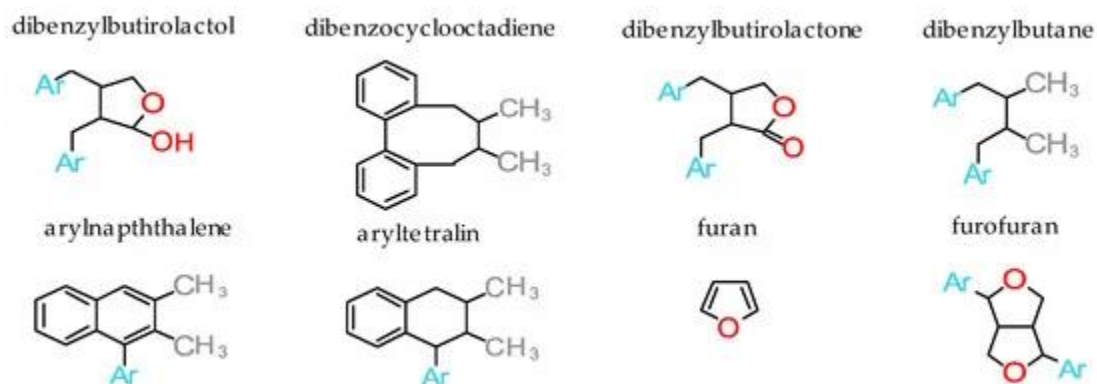
4.7. Στιλβένια

Τα στιλβένια είναι μια υποκατηγορία φαινολικών ενώσεων που απαντώνται φυσικά σε διάφορες οικογένειες φυτών, αλλά τα σταφύλια και το κρασί θεωρούνται οι πιο σημαντικές διατροφικές πηγές από αυτές τις ουσίες [80]. Τα στιλβένια βασίζονται σε 1,2-διφαινυλαιθυλενίου, το οποίο έχει σκελετό C6-C2-C6. Τα στιλβενοειδή προέρχονται από το κιναμωμικό οξύ και τρεις μονάδες οξικού από το μαλονικό συνένζυμο Α. Το πρώτο μέρος της βιοσύνθεσης είναι κοινό με τα φλαβονοειδή. Συχνά είναι υδροξυλιωμένα (στιλβενοειδή) και μπορούν να βρεθούν ως αγλυκόνες, μονομερή, ολιγομερή ή γλυκοζυλιωμένα παράγωγα. Λόγω της αντιοξειδωτικής, αντικαρκινογόνου και αντιμεταλλαξιογόνου δράσης τους, τα στιλβένια θεωρούνται ότι διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην ανθρώπινη διατροφή. Στη φύση, η ρεσβερατρόλη υπάρχει σε δύο ισομερείς μορφές (cis- και trans-διαμορφωμένη) στο ελεύθερο καθώς και σε β-γλυκοσυζευγμένη μορφή. Η τρανς-ρεσβερατρόλη είναι το πιο κοινό στιλβένιο και είναι πρόδρομος για πολλά μεγαλύτερα στιλβένια. Τα στιλβένια μπορούν επίσης να εμφανιστούν σε ολιγομερείς και πολυμερείς μορφές, τις λεγόμενες βινιφερίνες. Τα στιλβένια προστατεύουν από εισβολή βακτηρίων, μούχλας ή μυκήτων. Επιπλέον, προστατεύουν από πολλές χρόνιες ασθένειες όπως ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές και νευροεκφυλιστικές παθήσεις [1,3,80,81]. Η **ρεσβερατρόλη** βρίσκεται κυρίως στα σταφύλια, στο κόκκινο κρασί και στα μούρα. Η ρεσβερατρόλη έχει μελετηθεί ευρέως και έχουν προταθεί αρκετοί μηχανισμοί δράσης, συμπεριλαμβανομένης της αναστολής της απελευθέρωσης κυτοκίνης και της ρύθμισης της σύνθεσης του NO, με αποτέλεσμα αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση. Ένας σχετικός μηχανισμός δράσης της ρεσβερατρόλης έχει συσχετιστεί με καθυστέρηση της γήρανσης. Μια μετα-ανάλυση τυχαιοποιημένων, ελεγχόμενων δοκιμών ανέφερε ότι η λήψη συμπληρωμάτων ρεσβερατρόλης μείωσε σημαντικά τη γλυκόζη νηστείας, την ολική χοληστερόλη, την C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) και συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση. Αυτές οι επιδράσεις ήταν ιδιαίτερα έντονες σε άτομα με προϋπάρχοντα περιστατικά του διαβήτη τύπου 2, καρδιαγγειακή νόσο [19]. Τα στιλβένια έχουν δείξει μια πολλά υποσχόμενη επίδραση στην

καταπολέμηση προκλητικών ασθενειών όπως ο καρκίνος, λόγω της αντιφλεγμονώδους δράσης του, της ενεργοποίησης του κυτταρικού θανάτου και της αντιοξειδωτικής του δράσης, η οποία συνδυάζεται με μειωμένη τοξικότητα υπό συνθήκες *in vivo*. Τώρα η έννοια της χημειοπρόληψης είναι δημοφιλής παγκοσμίως η οποία προάγει τη χορήγηση παραγόντων που έχουν ισχυρή προστασία ή πρόληψη, αναστολή ή καθυστέρηση της εξέλιξης διαδικασία καρκινογένεσης. Τα στυλβένια έχουν τη δυνατότητα να περιορίσουν το ογκογένεση αλληλεπιδρώντας με όλα τα στάδια καρκινογένεσης σε μοριακό επίπεδο [81].

4.8. Λιγνάνια

Τα λιγνάνια είναι πολυφαινόλες που λαμβάνονται ως δευτερογενής μεταβολίτης της φαινυλντανίνης. Οι λιγνάνες μοιράζονται κοινές βιοσυνθετικές οδούς, αποτελούνται από δύο μονάδες προπυλ-βενζολίου που συνδέονται με έναν β,β'-δεσμό, και επομένως ανήκουν στην ομάδα των διφαινολικών ενώσεων [83]. Προκύπτουν από την ένωση δυο κιναιμωμικών οξέων [81]. Τα λιγνάνια ταξινομούνται σε οκτώ υποομάδες, συμπεριλαμβανομένου του φουράνιου, του διβενζυλβουτανίου, και αρυλτετραλίνης. Κάθε υποομάδα μπορεί περαιτέρω να υποδιαιρεθεί ανάλογα με το επίπεδο οξείδωσης του μορίου της λιγνάνης και τις ταυτότητες των μη προπυλ αρωματικών δακτυλίων που υπάρχουν στις πλευρικές αλυσίδες. Χαρακτηριστικά μέλη είναι η **εντεροδιόλη, εντερολακτόνη, σεσαμινόλη, ματαιρεσινόλη**. Τα λιγνάνια βρίσκονται στα όσπρια, στο φυτό λινάρι, τους σπόρους και φυτικά έλαια και απαντώνται κυρίως στις ελεύθερες μορφές τους, ενώ η γλυκοζυλιωμένη δομή δεν είναι άφθονη [71,83].



Εικόνα 5: Δομικές υποομάδες λιγνανών [83].

Μεταξύ των δημητριακών, η σίκαλη έχει σχετικά υψηλή περιεκτικότητα στις φυτικές λιγνάνες *matairesinol* και *secoisolariciresinol*. Όσον αφορά τους κόκκους δημητριακών, οι λιγνάνες συγκεντρώνονται σε μεγάλο βαθμό στα εξωτερικά τους στρώματα. Στους κόκκους δημητριακών, η υψηλότερη συγκέντρωση λιγνάνης βρίσκεται στις πλούσιες σε φυτικές ίνες εξωτερικές στοιβάδες, καθώς και στο στρώμα αλευρόνης, ενώ η χαμηλότερη συγκέντρωση βρίσκεται στο εσωτερικό ενδοσπέρμιο. Υπάρχουν μόνο λίγες μελέτες σχετικά με τη βιοδιαθεσιμότητα λιγνάνης μετά την κατανάλωση, μεταξύ των οποίων πολύ περιορισμένες φαρμακοκινητικές μελέτες σε ανθρώπους. Η βιοδιαθεσιμότητα της λιγνάνης εξαρτάται από τη διατροφή. Για παράδειγμα, δίαιτες

πλούσιες σε λιναρόσπορο αυξάνουν την παραγωγή εντερολιγνάνων που προέρχονται από μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου (μελέτη σε μοντέλο ποντικού) και οδηγούν σε υψηλές συγκεντρώσεις θεικών και συζυγών γλυκουρονιδίων στους ιστούς και στο πλάσμα (η κύρια λιγνάνη προέρχεται από μεταβολίτες λιναριού) [83]. Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι οι φυτικές λιγνάνες, όπως η σησαμίνη, απορροφώνται γρήγορα, προφανώς από το λεπτό έντερο και γίνονται ανιχνεύσιμα στη συστηματική κυκλοφορία μέσα σε λίγες ώρες μετά την κατάποση. Μετά την κατάποση, οι φυτικές λιγνάνες μεταβολίζονται από εντερικά βακτήρια, που υφίστανται μετασχηματισμό σε λιγνάνια θηλαστικών (εντερολακτόνες και εντεροδιόλες πριν από την απορρόφηση. Αυτό προφανώς μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο διαφορετικών ειδών καρκίνου, ιδιαίτερα του παχέος εντέρου, του προστάτη και του μαστού. Μετά την κατανάλωση ψωμιού σίκαλης, η απέκκριση εντερολακτόνης και εντεροδιόλης στα ούρα αυξάνεται [82,83]. Τα λιγνάνια είναι φυτοοιστρογόνα και οι μεταβολίτες τους λειτουργούν ως αντιοξειδωτικά και δεσμευτές ελεύθερων ριζών, μειώνει τις πιθανότητες ανάπτυξης καρκίνου. Έχουν επίσης αντιπαρκινσονική, αντιυπερτασική δράση. Λιγνάνες λιναρόσπορου έχουν αναφερθεί ότι επιδεικνύουν προληπτική καθώς και θεραπευτική δράση κατά του καρκίνου, συγκεκριμένα του καρκίνου του μαστού. Τα λιγνάνια διαθέτουν αντικαρκινική δραστηριότητα και σημαντικές βιολογικές λειτουργίες, όπως αντιυπερτασική, αντιφλεγμονώδη, αντιβακτηριακή, νευροπροστατευτική δράση [81].

4.9. Κουμαρίνες

Οι κουμαρίνες είναι παράγωγα βενζο-2-πυρόνης που συμβαίνουν σε όλα τα μέρη των φυτών, αλλά κυρίως βρίσκονται στα λουλούδια των φυτών που ανήκουν σε αρκετές οικογένειες [1,3]. Τα φυτά περιέχουν κουμαρίνες σε ελεύθερη μορφή καθώς και σε μορφή γλυκοσιδών. Αυτοί κατηγοριοποιούνται με βάση τον βαθμό οξυγόνωσής τους της μερίδας βενζοπυρανίου τους και επίσης για τη μεγάλη χημική τους ποικιλότητα. Οι κουμαρίνες που έχουν δακτυλίους πυρόνης και βενζόλιο σε συντηγμένη μορφή ανήκουν στην ομάδα των φαινολικών με χαμηλό μοριακό βάρος και αυτές οι κουμαρίνες χρησιμοποιούνται ευρέως για την πρόληψη και τη θεραπεία πολλών ασθενειών [81]. Οι κουμαρίνες παίζουν σημαντικό ρόλο στη δημιουργία συγκεκριμένου αρώματος ορισμένων αιθέριων ελαίων, αν και υπάρχουν σε ίχνη. Έχει βρεθεί ότι είναι βιολογικά ενεργά. Κυρίως συστατικά όπως η **herniarin** έχει δείξει μια ποικιλία βιολογικών δραστηριοτήτων, συμπεριλαμβανομένων των αιμοστατικών, ανθελμινθικών, αντιμυκητιασικών, αντιβακτηριακών, αντισπασμωδικών και σπασμολυτικών. Απομονώθηκε από *Herniaria* sp. για πρώτη φορά και δόθηκε το τετριμμένο όνομα *herniarin*. Μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι εμφανίζεται σε πολλά φυτά ποικίλης προέλευσης [4]. Έχουν μεγάλη παρουσία σε φαρμακευτικά και αρωματικά φυτά με διάφορες οικογένειες που έχουν ταυτοποιηθεί, όπως οι *Apiaceae*, *Rutaceae*, *Asteraceae*, *Fabaceae* και *Thymelaeaceae* [1,3]. Οι κουμαρίνες διαθέτουν μεγάλο αριθμό σημαντικών φαρμακολογικών δράσεων όπως αντιοξειδωτική δράση, αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδη, αντιαλβινική, κ.λπ. Έχουν επίσης επίδραση στο «Κεντρικό Νευρικό Σύστημα» (ΚΝΣ). Σε πολλές έρευνες, η επίδραση της 7-υδροξυκουμαρίνης έχει προσδιοριστεί ως αντιοξειδωτικό [81]. Μελέτες έδειξαν ότι το *auraptene* έχει επίσης αντικαρκινική δράση στο δέρμα του ποντικού και στη γλώσσα του

αρουραίου, στο κόλον και στον οισοφάγο. Οι κουμαρίνες που υπάρχουν εμφανίζουν φυσικά την αντικαρκινική τους δράση με την επαγωγή πολλών ενζύμων που είναι υπεύθυνα για την αποτοξίνωση καρκινογόνων όπως η S-Transferase, η Glutathione [81].

4.10. Ταννίνες

Οι ταννίνες είναι τα μη φλαβονοειδή που αντιπροσωπεύουν μια ομάδα υδατοδιαλυτών πολυφαινόλων. Έχουν κατηγοριοποιηθεί χημικά σε δύο κατηγορίες: Η μία είναι οι υδρολυόμενες ταννίνες και η άλλη είναι οι μη υδρολυόμενες ταννίνες που ονομάζονται επίσης συμπυκνωμένες ταννίνες. Οι υδρολυόμενες ταννίνες αποτελούνται από την οδό σικιμικού οδηγούν στον σχηματισμό εστέρων γαλλικού οξέος ή γαλλοταννινών, εστεροποιημένες από γλυκοζυλιωμένο ελλαγικό οξύ (ελλαγταννίνες) και γαλλικό οξύ. Οι υδρολυόμενες ταννίνες βρίσκονται κυρίως ως σύμπλοκο με αλκαλοειδή, πολυσακχαρίτες ή πρωτεΐνες και κατηγοριοποιούνται σε δύο μεγάλες ομάδες, τις **γαλλοταννίνες** οι οποίες μετά την υδρόλυση δίνουν σάκχαρο και γαλλικό οξύ και τις **ελλαγταννίνες** οι οποίες παρέχουν επί πλέον ελλαγικό οξύ. Οι ελλαγταννίνες είναι πολυμερή ελλαγικά οξέα, που βρίσκονται στο ρόδι (*Punica granatum*), καρύδια (*Juglans*) και μούρα. Παρόμοια με το ελλαγικό οξύ, έχουν δείξει οι ελλαγταννίνες σημαντικές βιολογικές επιδράσεις, συμπεριλαμβανομένης της πρόληψης από διάφορες ασθένειες όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης, οι καρδιαγγειακές παθήσεις και οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Οι ελλαγταννίνες, τα ταννικά οξέα και η κοριλαγίνη έχουν αναφερθεί ότι παρέχουν προληπτικές καθώς και θεραπευτικές δραστηριότητες κατά καρκίνου συμπεριλαμβανομένων των καρκινικών βλαστοκυττάρων (Cancer stem cells, CSC) [1,81,84]. Οι συμπυκνωμένες ταννίνες είναι πολύπλοκα πολυμερή, των οποίων οι δομικοί λίθοι περιλαμβάνουν κατεχίνες και φλαβονοειδή, εστεροποιημένα συνήθως με γαλλικό οξύ, και έχουν ευεργετικές επιδράσεις στον μεταβολισμό των πρωτεϊνών σε μηρυκαστικά, μειώνοντας την αποικοδόμηση της πρωτεΐνης της διατροφής στην κοιλιά και αυξάνοντας την απορρόφηση των αμινοξέων στο λεπτό έντερο. Βιοσυνθετικά, τα φλαβονοειδή και οι κατεχίνες είναι δυνατόν να προέρχονται είτε από το οξικό ή από το σικιμικό οξύ [1,84]. Οι ταννίνες αποτελούν μια ιδιαίτερα ετερογενή ομάδα φυσικών προϊόντων, που εμφανίζεται σε όλα σχεδόν τα φυτά σε μεγάλες ή μικρές ποσότητες. οι ταννίνες μπορούν να βρεθούν σε όλα σχεδόν τα όσπρια, τους θάμνους, τα λαχανικά και τα φρούτα στον κόσμο όπως, σόργο, τσάι, κρασί και ρόδι. Στα φυτά που περιέχουν μεγάλες ποσότητες εντοπίζονται σε συγκεκριμένα όργανα όπως τα φύλλα, καρποί, φλοιός, ή ξυλώδες τμήμα. Έχουν συνδεθεί στενά με τους αμυντικούς μηχανισμούς των φυτών έναντι των φυτοφάγων θηλαστικών, πτηνών και εντόμων [84]. Ο ρόλος του φαίνεται να είναι προστατευτικός έναντι των μικροοργανισμών. Οι ταννίνες παρέχουν κολλοειδή, όξινα υδατικά διαλύματα, με αποτέλεσμα τη στυφή γέυση ορισμένων φύλλων, φρούτων και κρασιών που οφείλεται στην παρουσία ταννίνης [84]. Με άλατα σιδήρου σχηματίζουν βαθύ μπλε ή βαθύ πράσινες διαλυτές ενώσεις, μελάνι. Με καταβύθιση με βασικό οξικό μόλυβδο απομακρύνονται οι ταννίνες από τα φυτικά εκχυλίσματα. Η σημαντικότερη ιδιότητά τους είναι η ικανότητά τους να σχηματίζουν αδιάλυτες ενώσεις με πρωτεΐνες και για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται στη βυρσοδεψία καθώς και στην ιατρική για τη θεραπεία της διάρροιας, αιμορραγίας των ούλων, και των τραυματισμών του δέρματος [1]. Οι υδρολυόμενες ταννίνες όταν υπερβαίνουν το 20% στη

διατροφή είναι τοξικές και μπορεί να προκαλέσουν νέκρωση στο συκώτι, νεφρική βλάβη με εγγύς σαλπινγική νέκρωση, βλάβες που σχετίζονται με αιμορραγική γαστρεντερίτιδα και υψηλή θνησιμότητα, η οποία παρατηρήθηκε σε πρόβατα και βοοειδή. Οι υδρολυόμενες τανίνες μπορούν επίσης να μειώσουν τους ρυθμούς ανάπτυξης, τη χρήση πρωτεϊνών και να προκαλέσουν βλάβες στον βλεννογόνο του πεπτικού σωλήνα και αύξηση της απέκκρισης πρωτεϊνών και αμινοξέων [84].

4.11. Βιολογικές ιδιότητες των πολυφαινολών

Οι διατροφικές πολυφαινόλες είναι μία από τις πιο σημαντικές ομάδες φυτικών αντιοξειδωτικών παραγόντων που βρίσκονται στη δίαιτα του ανθρώπου, συμπεριλαμβανομένων των φρούτων, των λαχανικών, των δημητριακών, του τσαγιού, των αιθέριων ελαίων και των παραγόμενων τροφών και ποτών τους [62,64]. Οι πολυφαινόλες δεν είναι θρεπτικές ουσίες όμως είναι εκείνα τα συστατικά που δίνουν χρώμα, γεύση και άρωμα στα φρούτα και λαχανικά, και έχουν προστατευτικό ρόλο σε ότι αφορά εχθρούς και ασθένειες των φυτών. Αν και οι ελλείψεις στην πρόσληψη πολυφαινολών δεν οδηγούν σε συγκεκριμένες ασθένειες ανεπάρκειας, η επαρκής πρόσληψη πολυφαινολών θα μπορούσε να αποφέρει οφέλη για την υγεία, ειδικά όσον αφορά τις χρόνιες ασθένειες. Το τσάι, το κακάο, τα φρούτα και τα μούρα, καθώς και τα λαχανικά, είναι πλούσια σε πολυφαινόλες [19,63]. Οι πολυφαινόλες μεταβολίζονται από το μικροβίωμα για να δημιουργήσουν ενώσεις με πιθανή βιοδραστικότητα. Για παράδειγμα, το χλωρογενικό οξύ και οι σχετικές ενώσεις είναι μερικές από τις κύριες βιοδραστικές φαινολικές ενώσεις που υπάρχουν σε σημαντικές ποσότητες στη διατροφή. Μεταβολίζονται στο έντερο από την κατοικημένη μικροχλωρίδα, η οποία είναι υπεύθυνη για την απελευθέρωση του καφεϊκού οξέος και τον περαιτέρω μεταβολισμό, παράγοντας παράγωγα φαινυλο-προπιονικού, φαινυλο-οξικού και βενζοϊκού οξέος που στη συνέχεια απορροφώνται. Έχουν ευνοϊκή επίδραση σε ιογενείς λοιμώξεις, επιβραδύνουν την λιποοξίνη, κατά του καρκίνου, καθώς και σε καρδιαγγειακές παθήσεις [19,62]. Ο κύριος μηχανισμός δράσης των πολυφαινολών αρχικά θεωρήθηκε ότι έγκειται στην άμεση αντιοξειδωτική τους δράση. Οι αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις καθώς και άλλες βιολογικές λειτουργίες των πολυφαινολών έχουν αποδοθεί σε μεγάλο βαθμό στις συγκεκριμένες χημικές δομές. Το αρωματικό χαρακτηριστικό και το εξαιρετικά συζευγμένο σύστημα με πολλαπλές ομάδες υδροξυλίου καθιστούν αυτές τις ενώσεις καλούς δότες ηλεκτρονίων ή ατόμων υδρογόνου, εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες και άλλα δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) [62]. Οι πολυφαινόλες καταστέλλουν τη δημιουργία ελεύθερων ριζών, μειώνοντας έτσι τον ρυθμό οξειδωσης αναστέλλοντας ή απενεργοποιώντας τα ενεργά είδη και πρόδρομες ουσίες των ελεύθερων ριζών. Συχνότερα, δρουν ως άμεσοι σαρωτές ριζών των αλυσιδωτών αντιδράσεων υπεροξειδωσης λιπιδίων (διακοπή αλυσίδας). Οι διακόπτες αλυσίδας δωρίζουν ένα ηλεκτρόνιο στην ελεύθερη ρίζα, εξουδετερώνοντας τις ρίζες και γίνονται οι ίδιοι σταθερές, λιγότερο αντιδραστικές ρίζες, σταματώντας έτσι τις αλυσιδωτές αντιδράσεις [75]. Ωστόσο, αυτές οι επιδράσεις δεν θεωρούνται πλέον τόσο σημαντικές in vivo, καθώς αυτές οι ενώσεις δεν φθάνουν σε συγκεντρώσεις στους περισσότερους ιστούς που είναι αρκετά υψηλές ώστε να έχουν σημαντική επίδραση από την άποψη της δέσμευσης των ελεύθερων ριζών. Όμως, οι πολυφαινόλες

βρίσκονται σε φυτικές πηγές που καταναλώνονται τακτικά ή που χρησιμοποιούνται στην παραδοσιακή ιατρική, με σπουδαίες ευεργετικές ιδιότητες όπως αντιφλεγμονώδεις, αντιπολλαπλασιαστικές και προστασία του παχέος εντέρου [65]. Οι πολυφαινόλες, όλο και περισσότερο, χρησιμοποιούνται ως φυσικά πρόσθετα τροφίμων, συντηρητικά, και αρωματικούς παράγοντες για τη βελτίωση της ποιότητας, της γεύσης και των μέτρων προστασίας των τροφίμων κατά της αλλοίωσης των τροφίμων [81]. Η βιοδιαθεσιμότητα των πολυφαινολών είναι ζωτικής σημασίας για τις βιολογικές τους ιδιότητες [66].

4.12. Παραλαβή φαινολών

Παρόλο, που οι πολυφαινόλες μοιράζονται κοινά φαινολικά χαρακτηριστικό, λόγω της δομικής ποικιλομορφίας, αυτά τα φυτοχημικά ποικίλλουν σημαντικά στις φυσικοχημικές τους ιδιότητες. Λόγω της χημικής πολυπλοκότητας και της συχνής εμφάνισης πολυφαινολών στα φυτά, η εκχύλιση, ο διαχωρισμός, η ταυτοποίηση και η ανάλυση των πολυφαινολών είναι δύσκολη, αλλά έχει αναπτυχθεί ένα πρωτόκολλο για τις πολυφαινόλες, και υπάρχουν ορισμένες γενικές προσεγγίσεις. Πριν από την εκχύλιση των πολυφαινολών, τα δείγματα που περιέχουν αυτές τις ενώσεις πρέπει να συλλέγονται, να κρατούνται και να προετοιμάζονται κατάλληλα. Για να αποφευχθεί η αποδόμηση των φυσικών πολυφαινολών, τα δείγματα συχνά ξηραίνονται, καταψύχονται ή λυοφιλοποιούνται πριν από την εκχύλιση, επειδή η υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία ή νερό βοηθά τις ενζυμικές δραστηριότητες. Η θέρμανση και η έκθεση στο φως και το οξυγόνο μπορεί να επηρεάσουν την φαινολική σύνθεση σε πολλές περιπτώσεις [75]. Οι φαινολικές ενώσεις στα δείγματα συνήθως εκχυλίζονται με διαλύτες ποικίλης πολικότητας, όπως νερό, μεθανόλη, αιθανόλη, ακετόνη, οξικό αιθυλεστέρα ή μίγματα αλκοόλης-νερού και ακετόνης-νερού ανάλογα με τις ενώσεις ενδιαφέροντος. Η επιλογή του διαλύτη είναι ιδιαίτερα σημαντική, διότι ανάλογα με τη χημεία των φαινολικών ενώσεων, θα έχουν διαφορετική διαλυτότητα στους διάφορους διαλύτες και επομένως η φύση των ενώσεων και η απόδοση που λαμβάνεται θα διαφέρει με τον τύπο διαλύτη [3,75]. Τα εκχυλίσματα νερού και αλκοόλ από άνθη χαμομηλιού έχουν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες [14]. Η περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις που εξάγονται μπορεί επίσης να εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες όπου αναπτύχθηκε το εκχυλισμένο φυτικό υλικό, συμπεριλαμβανομένης της σύνθεσης του εδάφους, του φωτός, της βροχόπτωσης και της θερμοκρασίας [3,6]. Η μέθοδος εκχύλισης και η επιλογή διαλύτη είναι γενικά κρίσιμες όπως και ο χρόνος εκχύλισης και η θερμοκρασία που αντικατοπτρίζουν τις αντικρουόμενες δράσεις της διαλυτοποίησης και της αποδόμησης της αναλυόμενης ουσίας με οξείδωση για παράδειγμα. Κανένας μόνος διαλύτης δεν θα παρέχει τη βέλτιστη ανάκτηση όλων των φαινολών ή ακόμη και μιας περιορισμένης σειράς φαινολών [85]. Για την πλειονότητα των δειγμάτων τροφίμων φυτικής προέλευσης, οι εκχυλίσματα με διαλύτες όπως ο διαχωρισμός υγρού/υγρού και η εκχύλιση στερεών/υγρού χρησιμοποιούνται συχνότερα στο εργαστήριο. Η εκχύλιση με υπερκρίσιμο υγρό προσφέρει ορισμένα πλεονεκτήματα σε σχέση με τη συμβατική εκχύλιση, ιδιαίτερα για χημικά ή θερμικά ασταθείς ενώσεις. Επιπλέον, η ισχύς του διαλύτη μπορεί να ελεγχθεί μεταβάλλοντας την πίεση διευκολύνοντας έτσι τη διαδοχική εκχύλιση φαινολών αυξανόμενης πολικότητας [85]. Επίσης σημαντικό είναι το pH του διαλύτη

εκχύλισης. Για τις πολυφαινόλες, οι περισσότερες εκχυλίσσεις πραγματοποιούνται υπό όξινες συνθήκες επειδή είναι γενικά πιο σταθερές σε χαμηλό pH και η όξινη κατάσταση βοηθά τις πολυφαινόλες να παραμείνουν ουδέτερες, και έτσι εκχυλίζονται εύκολα σε οργανικούς διαλύτες. Αυτό γίνεται με χρήση ασθενούς οξέος ή χαμηλών συγκεντρώσεων ισχυρού οξέος. Η υψηλή συγκέντρωση οξέος μπορεί να προκαλέσει υδρόλυση γλυκοζιτών ή ακυλογλυκοσιδών και έτσι μπορεί να δώσει διαφορετικές εικόνες φυσικών προφίλ πολυφαινόλης. Τα φαινολικά οξέα όπως το φερουλικό οξύ και οι λιγνάνες στους κόκκους συχνά συνδέονται με δομικά υλικά. Η υδρόλυση με χρήση οξέος ή αλκαλίου απελευθερώνει αυτές τις φαινολικές ουσίες που κατανέμονται σε οξικό αιθυλεστέρα ή η-βουτανόλη [75,85]. Οι φασματοφωτομετρικές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί και εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της περιεκτικότητας ολικών φαινολικών, ολικών φλαβονοειδών και ολικών ανθοκυανινών. Προκειμένου να ποσοτικοποιηθούν και να αναγνωριστούν με ακρίβεια οι μεμονωμένες πολυφαινόλες, αυτές οι ενώσεις πρέπει πρώτα να διαχωριστούν. Η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντίστροφης φάσης (HPLC) σε συνδυασμό με έναν ανιχνευτή διάταξης διόδων (DAD) ή/και τον φασματομετρικό ανιχνευτή μάζας (LC-MS) είναι το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο αναλυτικό εργαλείο για τον ποσοτικό προσδιορισμό των πολυφαινολών. Επίσης, οι ισοφλαβόνες σε μεθυλεστέρες αναλύθηκαν με αέρια χρωματογραφία (GC) ή στήλη κανονικής φάσης για τον διαχωρισμό των προκυανιδινών. Συζευγμένες τεχνικές, ιδιαίτερα διάφορες μέθοδοι φασματικής μάζας, χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο για εργασίες ρουτίνας, αν και η συλλογή αναλυτών με χρήση προπαρασκευαστικής κλίμακας HPLC και η ταυτοποίηση εκτός γραμμής συχνά χρειάζονται ακόμη για δείγματα μη ρουτίνας. Σε πολλές περιπτώσεις, ενδέχεται να απαιτούνται διαφορετικές διαδικασίες ανάκτησης για το εύρος των φαινολών που συναντώνται σε ένα μόνο δείγμα. Πολλά εκχυλίσματα περιέχουν σημαντικές ποσότητες υδατανθράκων και/ή λιποειδούς υλικού που δυνητικά παρεμποδίζουν τον μετέπειτα ποσοτικό προσδιορισμό. Έχουν σχεδιαστεί διάφορες στρατηγικές για την αντιμετώπιση αυτής της κατάστασης, συγκεκριμένα, διαδοχική εκχύλιση ή διαχωρισμός υγρού- υγρού ή και SPE [75,79,85].

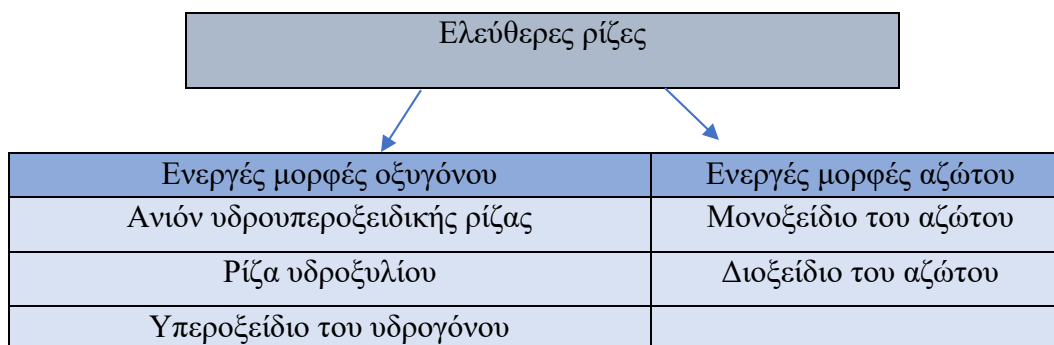
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ - ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

5.1. Ελεύθερες ρίζες - Ιδιότητες ελεύθερων ριζών

Υψηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου στους αερόβιους οργανισμούς και ιδιαίτερα στον άνθρωπο προκαλούν αλλοιώσεις στον μεταβολισμό. Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα μόρια ή ιόντα που περιέχουν ένα ή περισσότερα μονήρη ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στοιβάδα με αποτέλεσμα την τάση να αποσπασουν ηλεκτρόνια από άλλα μόρια. Η ιδιότητά τους αυτή τα καθιστά ικανά να προκαλούν αλλοιώσεις στον οργανισμό [63,87]. Είναι προϊόντα αερόβιου οξειδωτικού μεταβολισμού και είναι ενεργές σε χημικές αντιδράσεις με άλλα μόρια. Παράγονται φυσιολογικά στον οργανισμό ως αποτέλεσμα κυτταρικού μεταβολισμού και έχουν σημαντικό ρόλο στην έκφραση γονιδίων στην μεταφορά ιόντων. Έχουν ρόλο στη μεταφορά σημάτων μεταξύ των κυττάρων, στην κυτταρική καταστροφή ή απόπτωση, επίσης έχουν ρόλο στην έκφραση γονιδίων και την μεταφορά ιόντων [86]. Διακρίνονται σε ενδογενή ελεύθερα ριζικά και σε εξωγενή [88]. Τα **ενδογενή** ελεύθερα ριζικά δημιουργούνται κατά την αυτοοξείδωση των θειολών και υδροκινονών, καθώς επίσης στον κανονικό αερόβιο μεταβολισμό ως αποτέλεσμα σειράς οξειδωτικών και αποοξειδωτικών ενζυματικών αντιδράσεων όπως την ξανθοξειδάση, την γλυκοξειδάση, και φλαβοπρωτεϊνοδενδρογενάση και τέλος από προστατευτικά μέσα στην αναπνευστική έκρηξη των φαγοκυττάρων από μικροβιακές λοιμώξεις ή φλεγμονώδεις πορείες [86]. Στα **εξωγενή** περιλαμβάνονται: η ραδιενεργή ακτινοβολία, ξеноβιοτικοί φορείς οι οποίοι προέρχονται από ατμοσφαιρικές μολύνσεις, συνθετικά φυτοφάρμακα, βιομηχανικά και φαρμακευτικά μέσα. Η *in vitro* δημιουργία ελεύθερων ριζών διενεργείται στην μονοσθενή αποοξείδωση του σταθερού οξυγονικού μορίου O_2 μέχρι τον σχηματισμό ύδατος. Μ' αυτό τον τρόπο οι ελεύθερες ρίζες περιλαμβάνουν: Σουπεροξειδιακό ανιονικό ριζικό, υπεροξειδιακό ανιόν, ριζικό **υδροξύλιου** που είναι το πιο αντιδραστικό τοξικό ελεύθερο ριζικό και αυτό γιατί αποσπά ηλεκτρόνιο από ακόρεστα λιπίδια και δημιουργεί ξανά ελεύθερα ριζικά [63,75,86,87]. Λαμβάνοντας υπόψη τις επιβλαβείς επιδράσεις των ενεργών ειδών οξυγόνου (ROS) όπως το υπεροξειδίο (ριζική $dot{O}_2^-$), το υδροξύλιο (ριζική $dot{OH}$) και το υπεροξύλιο (ριζική $dot{RO}_2^-$) στο δέρμα, πολλές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην καθιέρωση και αξιολόγηση των αντιοξειδωτικών ενώσεων για ενίσχυση του ενδογενούς συστήματος δερματικής προστασίας από τις ασθένειες που προκαλούνται από το οξειδωτικό στρες [68]. Το **οξειδωτικό στρες** είναι η αύξηση της συγκέντρωσης των προ-αντιοξειδωτικών σε βάρος των αντιοξειδωτικών συστημάτων του οργανισμού με αποτέλεσμα αλλοιώσεις στη δομή βιολογικών μορίων όπως, πρωτεΐνες, λίπη, υδατάνθρακες και DNA. Η υπερβολική συσσώρευση ROS ή η εξάντληση των ενδιάμεσων με αντιοξειδωτική ικανότητα μεταβάλλει την ισορροπία οξειδοαναγωγής και οδηγεί σε οξειδωτικό στρες [62,63]. Το οξειδωτικό στρες προκύπτει όταν τα κύτταρα δεν μπορούν να καταστρέψουν επαρκώς την περίσσεια των ελεύθερων ριζών που σχηματίζονται. Δηλαδή, το οξειδωτικό στρες προκύπτει από μια ανισορροπία μεταξύ του σχηματισμού και της εξουδετέρωσης των ROS/RNS

[87]. Για αυτό, οι ερευνητές εστίασαν στα φυσικά αντιοξειδωτικά και τα παράγωγά τους, ιδιαίτερα στα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή και άλλα φαινολικά. Οι φαινολικές ενώσεις είναι γνωστές ως άμεσα αντιοξειδωτικά. Ωστόσο, έδειξαν και έμμεση αντιοξειδωτική δράση επάγοντας ενδογενή προστατευτικά ένζυμα και θετικές ρυθμιστικές επιδράσεις στις οδούς σηματοδότησης [68].



Σχήμα 3: Τα είδη των ελεύθερων ριζών

Γενικά τα προοξειδωτικά-οξειδωτικά ονομάζονται ελεύθερες οξυγονούχες ρίζες (ROS) και τα είδη αντιδραστικού αζώτου (RNS) είναι οι όροι που περιγράφουν συλλογικά τις ελεύθερες ρίζες και άλλα μη ριζικά αντιδραστικά παράγωγα που ονομάζονται επίσης οξειδωτικά. Οι πιο σημαντικές ελεύθερες ρίζες που παράγονται κατά τις μεταβολικές αντιδράσεις είναι οι ρίζες που προέρχονται από το οξυγόνο, το ROS. Τόσο το ROS όσο και το RNS μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο ομάδες ενώσεων και συγκεκριμένα ρίζες και μη ρίζες. Οι ρίζες είναι τα είδη που περιέχουν τουλάχιστον ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στα κελύφη γύρω από τον ατομικό πυρήνα και είναι ικανά για ανεξάρτητη ύπαρξη. Το ίδιο το μόριο οξυγόνου είναι μια ρίζα. Τα μη ριζικά είδη δεν είναι ελεύθερες ρίζες, αλλά μπορούν εύκολα να οδηγήσουν σε αντιδράσεις ελεύθερων ριζών σε ζωντανούς οργανισμούς [88]. Οι ρίζες είναι λιγότερο σταθερές από τα μη ριζικά είδη, αν και η αντιδραστικότητά τους είναι γενικά ισχυρότερη. Οι βιολογικές ελεύθερες ρίζες είναι εξαιρετικά ασταθή μόρια που έχουν διαθέσιμα ηλεκτρόνια για να αντιδράσουν με διάφορα οργανικά υποστρώματα όπως λιπίδια, πρωτεΐνες, DNA. Σε χαμηλές ή μέτριες συγκεντρώσεις, είναι απαραίτητα για τη διαδικασία ωρίμανσης των κυτταρικών δομών και λειτουργούν ως όπλα για το αμυντικό σύστημα του ξενιστή [87]. Σε υψηλές συγκεντρώσεις οι ελεύθερες ρίζες είναι εξαιρετικά αντιδραστικές, και μπορούν να βλάψουν και τις τρεις σημαντικές κατηγορίες βιολογικών μορίων, συμπεριλαμβανομένων των νουκλεϊκών οξέων, των πρωτεϊνών και των λιπιδίων [88]. Αντιλαμβανόμαστε ότι ROS/RNS σε χαμηλά ή μέτρια επίπεδα είναι ζωτικής σημασίας για την ανθρώπινη υγεία. Ως πηγές ελεύθερων ριζών είναι: α) το τρίτο στάδιο της αερόβιας αναπνοής αποτελώντας την κύρια πηγή ελεύθερων ριζών στον οργανισμό, η οξειδωτική φωσφορυλίωση της οποίας ένα μικρό ποσοστό μετατρέπεται σε ανιόντα υπεροξειδίου που σχηματίζουν H_2O_2 , ρίζες υδροξυλίου, και άλλες ελεύθερες ρίζες β) τα φαγοκύτταρα, που διακρίνονται σε ουδετερόφιλα, μακροφάγα, και μονοκύτταρα, απελευθερώνουν ελεύθερες ρίζες για να καταστρέψουν τα

εισβάλλοντα παθογόνα μικρόβια ως μέρος του αμυντικού μηχανισμού του σώματος έναντι των ασθενειών και επίσης ευθύνονται για τη θανάτωση ενδοκυτταρικών παθογόνων και όγκων [87] γ) υπεροξειδιοσώματα, που είναι μικρά κυστίδια στο εσωτερικό των κυττάρων και αποτελούνται από μεμβράνη και επιτελούν εξειδικευμένες λειτουργίες με τη βοήθεια διαφόρων ενζύμων που βρίσκονται στο εσωτερικό τους, δ) ορισμένες αντιδράσεις σαν αυτές που συμμετέχουν ο σίδηρος ή άλλα μεταβατικά μέταλλα, ε) εξωγενείς παράγοντες όπως η ακτινοβολία, η ατμοσφαιρική ρύπανση, το κάπνισμα, διάφορα φάρμακα και ναρκωτικά. Τα είδη των ριζών διακρίνονται στις ενεργές μορφές του οξυγόνου και ενεργές μορφές αζώτου. Περιλαμβάνουν ανιόν υδρουπεροξειδικής ρίζας, ρίζα υδροξυλίου και υπεροξείδιο του υδρογόνου και μονοξείδιο του αζώτου, διοξείδιο του αζώτου αντίστοιχα. Οι ελεύθερες ρίζες εμπλέκονται σε πολλές παθολογικές καταστάσεις όπως, πολλοί τύποι διαβήτη, νευροεκφυλιστικές ασθένειες, καρδιαγγειακές παθήσεις, καρκίνος, καταρράκτης, άσθμα, ρευματοειδής αρθρίτιδα, φλεγμονές, εγκαύματα, παθήσεις του εντερικού σωλήνα, ισχαιμικές και μετα-ισχαιμικές παθολογίες, γήρανση. [86,87,88].

5.2. Οξείδωση

Η οξείδωση αναφέρεται σε αυξημένα ενδοκυτταρικά επίπεδα ενεργών ειδών οξυγόνου (ROS) που προκαλούν βλάβες στα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και το DNA. Το οξειδωτικό στρες έχει συνδεθεί με μυριάδες παθολογίες. Ωστόσο, τα αυξημένα ROS λειτουργούν επίσης ως μόρια σηματοδότησης στη διατήρηση των φυσιολογικών λειτουργιών - μια διαδικασία που ονομάζεται βιολογία οξειδοαναγωγής [89]. Η οξείδωση είναι ένα χημικό φαινόμενο κατά το οποίο τα άτομα χάνουν ηλεκτρόνια και οξειδώνονται. Η οξείδωση συμβαίνει παράλληλα με την αναγωγή (αντίδραση οξειδοαναγωγής) κατά την οποία ένα είδος αναγωγικό ή αναγωγικό μέσο, χάνει ηλεκτρόνια και οξειδώνεται ενώ το άλλο οξειδωτικό ή οξειδωτικός παράγοντας, αποκτά ηλεκτρόνια και ανάγεται. Κατά τη διάρκεια της αναγωγής, τα άτομα αποκτούν ηλεκτρόνια και μειώνονται. Τα κύτταρα έχουν μία ενδογενή ικανότητα να σβήνουν την κανονική παραγωγή οξειδωτικών, να διατηρούν το φυσιολογικό δυναμικό οξειδοαναγωγής, διατηρώντας παράλληλα την εγγενή ικανότητα αποτοξίνωσης των αντιδραστικών μοριακών ειδών (RMS). Η οξείδωση μπορεί να προκληθεί από (RMS) οξειδωτικά και ελεύθερες ρίζες (υπεροξείδια), θερμότητα, φως, ιονίζουσα ακτινοβολία και μέταλλα που παράγονται ή καταναλώνονται ως μέρος της παραγωγής τροφίμων [81,89]. Οι τρεις σημαντικές κατηγορίες βιολογικών μορίων, συμπεριλαμβανομένων των νουκλεϊκών οξέων, των πρωτεϊνών και των λιπιδίων βάλλονται από τις υψηλές συγκεντρώσεις ελεύθερων ριζών προκαλώντας ιδιαίτερα προβλήματα σε διάφορους τομείς όπως υγεία, διατροφή, προϊόντα. Για παράδειγμα η οξείδωση των λιπιδίων είναι ένα πολύπλοκο φαινόμενο που μπορεί να θέσει σε κίνδυνο την ποιότητα του όλα τα τρόφιμα, ιδιαίτερα εκείνα που είναι πλούσια σε ακόρεστα λιπαρά και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Μια υψηλότερη από την κανονική συγκέντρωση αντιδραστικών μοριακών ειδών (RMS) μπορεί να προκαλέσει οξείδωση λιπιδίων, προκαλώντας τάγγιση, υποβάθμιση, μειωμένη ποιότητα, υφή, γεύση, και μυρωδιά φαγητού. Στον τομέα της διατροφής, η οξείδωση των λιπιδίων και η επακόλουθη τάγγιση είναι σημαντικές ανησυχίες που μπορεί να οδηγήσουν σε απώλειες στην κατώτατη γραμμή και στην καθαρή αξία του προϊόντος. Κατά την

οξειδωση, όταν η χοληστερόλη οξειδώνεται και ευθυγραμμίζει τα εσωτερικά αρτηριακά τοιχώματα, μπορεί να προκαλέσει πολλά ζητήματα υγείας, συμπεριλαμβανομένων των καρδιαγγειακών νοσημάτων, όπως η αθηροσκλήρωση σε ανθρώπους και ζώα [81]. Υπερπαραγωγή RMS ή ελεύθερων ριζών, που συνήθως εμφανίζεται με τη μορφή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και δραστικά είδη αζώτου, μαζί με τα αντιδραστικά είδη θείου (RSS) και τα είδη αντιδρώντος άνθρακα (RCS), μπορούν να προκαλέσουν, γήρανση των κυττάρων, γήρανση, μειωμένες ανοσοποιητικές λειτουργίες, καρκίνους και θάνατο. Η απόσβεση πρόσβασης ROS/RNS και άλλα RMS είναι ουσιαστικής σημασίας ελαχιστοποίηση της γήρανσης [68,81].

5.3. Αντιοξειδωτικά

Η βιολογική άμυνα που συμπεριλαμβάνει τον συνδυασμό μέσων που περιέχουν ένζυμα και ουσίες με διαφορετική χημική σύνθεση αποτελούν το αντιοξειδωτικό σύστημα των οργανισμών. Τα φυτοχημικά, ιδιαίτερα οι πολυφαινόλες, είναι ο κυρίαρχος παράγοντας στις συνολικές αντιοξειδωτικές δραστηριότητες των φρούτων, αντί της βιταμίνης C [75]. Φυσικά συμπληρώματα όπως οι πολυφαινόλες χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο ως αντιοξειδωτικά και αντιφλεγμονώδη συμπληρώματα για την ενίσχυση της κυτταρικής λειτουργίας, τη διατήρηση της ισορροπίας οξειδωσης και τη διατήρηση της ποιότητας των τροφίμων. Οι πολυφαινόλες βοηθούν επίσης στην ελαχιστοποίηση της οξειδωτικής επίθεσης στους ρυθμιστικούς μηχανισμούς και στα μονοπάτια σηματοδότησης εντός των κυττάρων βοηθώντας έτσι στην καθυστέρηση της γήρανσης, και του θανάτου [81]. Ανάλογα με τον μηχανισμό δράσης τα αντιοξειδωτικά διακρίνονται ανάλογα με τις χημικές τους ιδιότητες στις οποίες οφείλεται η δράση τους, **σε πρωτεύοντα ή πρωτοταγή** και αναφέρονται σε εκείνα που μπορούν να διακόπτουν αλυσοξειδείς αντιδράσεις και **σε δευτερεύοντα ή δευτεροταγή**, εκείνα που αποτρέπουν ή μειώνουν τη δυνατότητα εμφάνισης αλυσοξειδών αντιδράσεων μέσω διαφόρων μηχανισμών [61]. Μια άλλη ταξινόμηση τα διακρίνει σε **ενδογενή, ενδογενείς ουσίες και διατροφικούς παράγοντες**. Οι πολυφαινόλες έχουν βρεθεί ότι είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά που μπορούν να εξουδετερώσουν τις ελεύθερες ρίζες δωρίζοντας ένα άτομο ηλεκτρονίου ή υδρογόνου. Το εξαιρετικά συζευγμένο σύστημα και ορισμένα πρότυπα υδροξυλίωσης όπως η 3-υδροξυ ομάδα στις φλαβονόλες θεωρούνται σημαντικά στις αντιοξειδωτικές δραστηριότητες. Οι πολυφαινόλες καταστέλλουν τη δημιουργία ελεύθερων ριζών, μειώνοντας έτσι τον ρυθμό οξειδωσης αναστέλλοντας ή απενεργοποιώντας τα ενεργά είδη και πρόδρομες ουσίες των ελεύθερων ριζών ή δρουν ως χηλικοποιητές μετάλλων για τη μετατροπή υδροϋπεροξειδίων ή προοξειδωτικών μετάλλων σε σταθερές ενώσεις [62,63]. Συχνότερα, δρουν ως άμεσοι σαρωτές ριζών των αλυσιδωτών αντιδράσεων υπεροξειδωσης λιπιδίων, έχουμε διακοπή αλυσίδας. Οι διακόπτες αλυσίδας δωρίζουν ένα ηλεκτρόνιο στην ελεύθερη ρίζα, εξουδετερώνοντας τις ρίζες και γίνονται οι ίδιοι σταθερές, λιγότερο αντιδραστικές ρίζες, σταματώντας έτσι τις αλυσιδωτές αντιδράσεις. Για παράδειγμα οι πολυφαινόλες του τσαγιού αντιδρούν με τα ROS για να σχηματίσουν σχετικά σταθερές φαινολικές ρίζες οξυγόνου, εξαλείφοντας έτσι τις ελεύθερες ρίζες. Το απλό ηλεκτρόνιο τείνει προς τον βενζολικό δακτύλιο, μειώνοντας έτσι τη δραστηριότητα του δεσμού υδρογόνου-οξυγόνου στη φαινολική υδροξυλική ομάδα. Η δραστηριότητα του υδρογόνου στην ομάδα του φαινολικού υδροξυλίου αυξάνεται και

οι ελεύθερες ρίζες ανταγωνίζονται για ενεργό οξυγόνο, τερματίζοντας την αντίδραση αυτοοξειδωσης των ελεύθερων ριζών [63]. Επίσης, τα μόρια πολυφαινόλων, αφού δωρίσουν ένα ηλεκτρόνιο ή άτομο υδρογόνου, γίνονται τα ίδια ελεύθερες ρίζες, με αρκετή συγκέντρωση, και επομένως μπορούν να προκαλέσουν προοξειδωτικές δραστηριότητες χωρίς όμως να είναι γνωστό αν μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στον ανθρώπινο οργανισμό [62,63,75]. Εκτός από τον παραπάνω πιθανό τρόπο αντιοξειδωτικής δράσης, άλλοι μηχανισμοί όπως η αναστολή της οξειδάσης της ξανθίνης και η αύξηση των ενδογενών αντιοξειδωτικών θεωρούνται επίσης σημαντικοί. Η αντιοξειδωτική άμυνα οφείλεται στα **ενζυμικά συστήματα** ανίχνευσης και εξουδετέρωσης ελεύθερων ριζών, σε μη ενζυμικά συστήματα, και στην πρόσληψη έτοιμων αντιοξειδωτικών ουσιών μέσω της διατροφής. Οι πολυφαινόλες μπορούν να επάγουν αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως η **υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, η καταλάση και η υπεροξειδική δισμουτάση** που ανήκουν στα ενζυμικά συστήματα και αποσυνθέτουν τα υδροϋπεροξειδία, το υπεροξειδίο του υδρογόνου και τα ανιόντα υπεροξειδίου αντίστοιχα και αναστέλλουν την έκφραση ενζύμων όπως η οξειδάση της ξανθίνης [63,75]. Συγκεκριμένα τα ενζυμικά αντιοξειδωτικά διασπών και αφαιρούν τις ελεύθερες ρίζες, με σκοπό τη μετατροπή των επικίνδυνων οξειδωτικών προϊόντων σε υπεροξειδίο του υδρογόνου και έπειτα σε νερό με μια πολλαπλών σταδίων διαδικασία και με την παρουσία διαφόρων συμπαραγόντων όπως ο χαλκός, το μαγγάνιο, ο ψευδάργυρος και ο σίδηρος [61]. Εκτός από την άμεση δέσμευση των ελεύθερων ριζών, οι πολυφαινόλες του τσαγιού προστατεύουν επίσης το σώμα από οξειδωτική βλάβη ρυθμίζοντας διαφορετικούς τύπους οξειδάσης και αντιοξειδωτικών ενζύμων. Οι πολυφαινόλες του τσαγιού μπορούν να αναστείλουν την οξειδάση της ξανθίνης, την οξειδάση της διουκλεοτιδικής φωσφορικής νικοτιναμίδης αδενίνης, τη λιποξειδάση, την κυκλική οξειδάση και μπορεί να εμποδίσει τη δραστηριότητα για τη μείωση της παραγωγής ελεύθερων ριζών οξυγόνου [63]. Η διακοπή των αλυσιδωτών αντιδράσεων των ελεύθερων ριζών χαρακτηρίζει τη λειτουργία των μη ενζυμικών συστημάτων. Στα **μη ενζυμικά συστήματα** ανήκουν οι βιταμίνες E και C, τα καροτενοειδή, β- καροτένιο, λυκοπένιο, λουτεΐνη και ξανθίνες, το σελήνιο και τα φλαβονοειδή [61]. Μια άλλη διάκριση των αντιοξειδωτικών είναι σε **φυσικά** αντιοξειδωτικά και αναφέρονται σε αυτές τις ουσίες φυτικής προέλευσης που αποτελούν τον βασικό μηχανισμό άμυνας των κυττάρων, έχουν διαφορετική δραστηριότητα, παραλαμβάνονται από τις φυσικές πρώτες ύλες παρουσιάζοντας αλληλεπιδράσεις με τα συστατικά τους. Επίσης, διακρίνονται σε **συνθετικά** αντιοξειδωτικά που δημιουργήθηκαν για να υπάρχει ένα σύστημα μέτρησης της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας ώστε να υπάρχει σύγκριση με τα φυσικά αντιοξειδωτικά [61]. Ως πηγές αντιοξειδωτικών θεωρούνται:

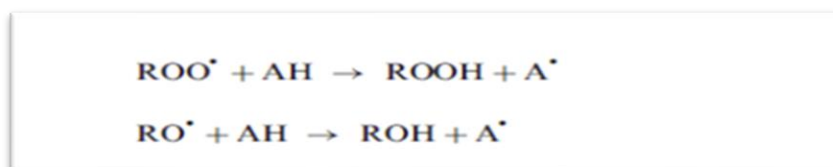
- ✚ Η βιταμίνη A που βρίσκεται στα αυγά, το γάλα, και γαλακτοκομικά προϊόντα, το συκώτι, τα λιπαρά ψάρια και τα ιχθυέλαια,
- ✚ Το B- καροτένιο, που βρίσκεται στα φρούτα, κυρίως στα εσπεριδοειδή, λαχανικά, κυρίως όσα έχουν χρώμα κίτρινο και πορτοκαλί,
- ✚ Η βιταμίνη C παρατηρείται στα φρούτα, κυρίως εσπεριδοειδή, φραγκοστάφυλα, φράουλες, και πράσινα φυλλώδη λαχανικά,

- ✚ Η βιταμίνη E εντοπίζεται κυρίως στα φυτικά έλαια, ελαιόλαδο, σελήνιο, κρέας, συκώτι, θαλασσινά,
- ✚ Στα φλαβονοειδή που βρίσκονται σε πλειονότητα στο κόκκινο κρασί, φρούτα, και λαχανικά.

Οι διατροφικές πολυφαινόλες έχει αποδειχθεί ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανθρώπινη υγεία. Η υψηλή πρόσληψη φρούτων, λαχανικών και δημητριακών ολικής αλέσεως, τα οποία είναι πλούσια σε πολυφαινόλες, έχει συνδεθεί με μειωμένους κινδύνους πολλών χρόνιων ασθενειών, όπως ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές παθήσεις, οι χρόνιες φλεγμονές και πολλές εκφυλιστικές ασθένειες. Πρόσφατες μελέτες έχουν αποκαλύψει ότι πολλές από αυτές τις ασθένειες σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες από αντιδραστικά είδη οξυγόνου και αζώτου [68,75]. Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών στην υγεία και κυρίως σε χρόνιες παθήσεις είναι σημαντικός καθώς εμπλέκεται στη προστασία του οργανισμού. Συγκεκριμένα στα καρδιαγγειακά νοσήματα, ανιχνεύουν τις ελεύθερες ρίζες και προστατεύουν την LDL λιποπρωτεΐνη από την οξείδωση, επίσης προστατεύουν την βιταμίνη E, το β-καροτένιο και το λυκοπένιο στο μόριο της LDL, παρατηρούμε αύξηση της δράσης των ενζυμικών αντιοξειδωτικών συστημάτων, και σχηματισμό χηλικών ενώσεων με τα ιόντα μετάλλων. Στον διαβήτη αυξάνεται η παραγωγή ελεύθερων οξυγονούχων ριζών, μείωση της έκκρισης ινσουλίνης και αύξηση της ινσουλινοαντίστασης. Σε ότι αφορά τον καρκίνο, προστατεύουν το γενετικό υλικό από οξειδωτικές βλάβες εξαιτίας της παρουσίας ελεύθερων ριζών, μειώνουν το οξειδωτικό στρες και αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Οι πολυφαινόλες επομένως μπορούν να είναι ένα δίκιοπο μαχαίρι. αφενός, όταν χρησιμοποιούνται σωστά με τη μορφή τροφής ή λειτουργικής τροφής, είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά έναντι του υπερβολικού οξειδωτικού στρες, όπως οι ROS, άρα ευεργετικά για την υγεία, αφετέρου, μπορούν να εμφανίσουν προοξειδωτική δράση όταν καταναλώνονται σε υψηλές δόσεις όπως π.χ. με τη λήψη συμπληρωμάτων [62].

5.4. Δράση των φαινολών ως αντιοξειδωτικά

Τα φαινολικά συστατικά έχουν την ικανότητα να εμπλέκονται στις αντιδράσεις δημιουργίας ελεύθερων ριζών και να δίνουν ένα υδρογόνο στις ελεύθερες ρίζες καθιστώντας τις έτσι και πάλι ελεύθερα μόρια [12,19]. Ένα φαινολικό συστατικό για να είναι κατάλληλο για αντιοξειδωτικό θα πρέπει ο δεσμός A-H να είναι ασθενής, η ελεύθερη ρίζα A' σταθερή και να μην δημιουργεί νέα αλυσίδα αντιδράσεων δημιουργίας ελεύθερων ριζών [12,19]. Στην εικόνα 6 φαίνεται η αντίδραση εξουδετέρωσης ελεύθερων ριζών.



Εικόνα 6: εξουδετέρωση ελεύθερων ριζών με τη συμβολή φαινολικών AH [12].

Οι πολυφαινόλες (με αρκετούς φαινολικούς δακτυλίους και φαινολικές ομάδες OH) υπάρχουν στα περισσότερα φάρμακα που χρησιμοποιούνται στη φυτοθεραπεία. Οι φαινολικές ουσίες προφανώς είναι υπεύθυνες για ένα ευρύ σύνολο φαρμακολογικών ιδιοτήτων, όπως αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών, καταπραϊντικών επουλωτικών πληγών, αντιμικροβιακών και αντικών δράσεων. Οι θεραπευτικές ιδιότητες των φαρμακευτικών και αρωματικών φυτών σχετίζονται με το γεγονός ότι οι περισσότερες από τις συστατικές τους ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων των φαινολικών, είναι σε μεγάλο βαθμό αντιοξειδωτικά που μπορούν να προστατεύσουν το σώμα από το οξειδωτικό στρες και να αποτρέψουν τη συχνότητα εμφάνισης πολλών ασθενειών, όπως καρκίνο, φλεγμονή και καρδιαγγειακές παθήσεις [3]. Επομένως η κατανάλωση τροφών πλούσιων σε πολυφαινόλες επιφέρει μια σειρά οφελών για την υγεία, είτε βελτιώνοντας την καρδιομεταβολική υγεία είτε επηρεάζοντας θετικά την λειτουργία του εγκεφάλου στους ανθρώπους [19].

5.5. Μέθοδοι μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας

Η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας πραγματοποιείται με πολλές διαφορετικές μεθόδους χωρίς να υπάρχει συγκεκριμένη εγκεκριμένη μέθοδος και για το λόγο αυτό τα αποτελέσματα δεν είναι συγκρίσιμα. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα είναι οι ιδιότητες των αντιοξειδωτικών μεταξύ λιπιδίων και υδατικής φάσης, οι συνθήκες οξείδωσης, και η φυσική κατάσταση του οξειδωμένου υποστρώματος. Τα δεδομένα που προκύπτουν από διαφορετικούς ερευνητές είναι δύσκολο να συγκριθούν και να ερμηνευτούν. Για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων καλύτερα να χρησιμοποιούνται πάνω από μία μέθοδοι για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας [13]. Το αιθέριο έλαιο υποβάλλεται σε εξέταση για την πιθανή αντιοξειδωτική δράση με συμπληρωματικές δοκιμές, δηλαδή συστήματα radical scavenging, DPPH (2,2 διφαινυλ πικρυλ υδραζίλιο), κατιοντική ρίζα ABTS(2,2 αζινοδι δηλαδή 3 αιθυλβενζοδιαζολινο 6 σουλφονικό οξύ) και δοκιμασίες β-καροτένιου-λινολεικού οξέος. Το BHT χρησιμοποιείται ως θετικός έλεγχος σε όλα τα συστήματα δοκιμών [58].

Μέθοδος DPPH

Μία μέθοδος για την μέτρηση αντιοξειδωτικής ικανότητας αφεψημάτων που χρησιμοποιείται είναι η μέθοδος DPPH. Είναι μία μέθοδος εκτίμησης του πολυφαινολικού περιεχομένου που βασίζεται στη μέτρηση της ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών [56]. Σ' αυτή την ικανότητα των πολυφαινολών αποδίδεται η αντιοξειδωτική τους δράση ώστε η μέθοδος να δίνει μετρήσεις της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των πολυφαινολών του δείγματος. Με τη μέθοδο αυτή τα διαλύματα που περιέχουν ουσίες με αντιοξειδωτικές ιδιότητες αποχρωματίζουν το διάλυμα του DPPH που είναι έντονο μωβ [13,14,15]. Η δραστηριότητα σάρωσης των εκχυλισμάτων υπολογίστηκε με τον τύπο:

$$\text{inhibition (\%)} = \frac{\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}}}{\text{Abs}_{\text{control}}} \times 100$$

Μέθοδος ABTS

Η μέθοδος ABTS χρησιμοποιείται για την ταξινόμηση της σχετικής ικανότητας παρεμπόδισης των φλαβονοειδών και των φαινολικών συστατικών μέσω της ικανότητάς τους ως δότες ηλεκτρονίων ή πρωτονίων. Το φάσμα της πράσινης σταθερής ρίζας στην περιοχή του υπέρυθρου αποτελείται από τρεις κορυφές. Όταν η ρίζα αλληλεπιδρά με τα αντιοξειδωτικά μειώνεται με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η απορρόφηση της πράσινης ρίζας σε μια μεγάλη κλίμακα που εξαρτάται από την ικανότητα της ουσίας που διερευνάται. Η μέθοδος αυτή είναι μια ανάλυση αποχρωματισμού, κατάλληλη για λιπόφιλα και υδατικά συστήματα. Τα αντιοξειδωτικά προστίθενται για το σχηματισμό κατιοντικής ρίζας η οποία παράγεται κατά την οξείδωση ενός ηλεκτρονίου του ABTS και χρησιμοποιείται για τη μέτρηση των λιπόφιλων αντιοξειδωτικών όπως τα καροτενοειδή [13,56].

Σύστημα μοντέλου λινολεϊκού οξέος

Η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων σε ένα σύστημα μοντέλου λινολεϊκού οξέος προσδιορίστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο των Osawa και Namiki. Υποπολλαπλάσια ποσότητα 0,5 ml από το μητρικό διάλυμα νερού ή εκχυλίσματος αλκοόλης (5 mg ξηρού εκχυλίσματος) ή 0,02 mg ml⁻¹ BHA προστέθηκε σε ένα διάλυμα αποτελούμενο από 0,13 ml λινολεϊκού οξέος, 10 ml αιθανόλης (απόλυτη) και 10 ml 0,2 M ρυθμιστικού φωσφορικού (pH 7,0). Ο συνολικός όγκος ρυθμίστηκε στα 25 ml με απεσταγμένο νερό. Το διάλυμα επώαστηκε στους 40 °C και τα δείγματα αποσύρονταν κάθε 48 ώρες έως και 12 ημέρες για αξιολόγηση της οξειδωτικής τους τάγγισης με τη μέθοδο θειοκυανικού. Σε 10 ml αιθανόλης (750 ml l⁻¹), προστέθηκαν διαδοχικά 0,2 ml διαλύματος θειοκυανικού αμμωνίου (300 g l⁻¹), 0,2 ml διαλύματος δείγματος και 0,2 ml διαλύματος χλωριούχου σιδήρου. Το διάλυμα αναδεύτηκε για 3 λεπτά και η τιμή απορρόφησής του, που μετρήθηκε στα 500 nm, λήφθηκε ως τιμή υπεροξειδίου [14,58]. Η εκατοστιαία αναστολή της υπεροξείδωσης υπολογίστηκε με τον τύπο:

$$\text{inhibition(\%)} = 100 - \frac{\text{Abs}_{\text{sample}}}{\text{Abs}_{\text{control}}} \times 100$$

Αέρια χρωματογραφία: Όταν τα συστατικά των αιθέριων ελαίων είναι πτητικά ή ημιπτητικά τότε η τεχνική για την ανάλυση των αιθέριων ελαίων που επιλέγεται είναι οπωσδήποτε η αέρια χρωματογραφία που συνήθως συνοδεύεται από ιονισμό φλόγας ή φασματομετρία μαζών. Ο πυρήνας του χρωματογραφικού συστήματος παρουσιάζεται με μια στήλη της οποίας η αποδοτικότητα και η επιλογή εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά της στήλης, την ποιότητα και τη χημεία της στατικής φάσης. Η αέρια χρωματογραφία διακρίνεται σε αέρια – στερεή (GSC όπου η ακίνητη φάση είναι στερεή) και αέρια – υγρή (GLC όπου η ακίνητη φάση είναι υγρή) και αφορά τα μίγματα με πτητικές ουσίες [59].

Υγρή χρωματογραφία: Όταν τα συστατικά των αιθέριων ελαίων αφορούν μη πτητικές ουσίες τότε η τεχνική διαχωρισμού που επιλέγεται είναι η υγρή χρωματογραφία. Διακρίνεται σε υγρή – στερεή (LSC όπου η ακίνητη φάση αποτελείται από στερεό) και υγρή – υγρή (LLC όπου και οι δυο φάσεις είναι υγρό). Η LC είναι μια από τις πιο ισχυρές τεχνικές διαχωρισμού και έχει αντιμετωπίσει πολλαπλές προκλήσεις στη διαδικασία μείωσης του μεγέθους [23]. Είναι γνωστή σαν χρωματογραφία στήλης λόγω του τρόπου λειτουργίας της (σε γυάλινο κύλινδρο), ενώ η μέθοδος HPLC αντιπροσωπεύει την σύγχρονη τεχνική υγρής χρωματογραφίας αφού τα δείγματα εισέρχονται στην στήλη με αυτόματο τρόπο, ο ανιχνευτής κάνει την διάκριση καθώς εξέρχονται από τη στήλη και τα στοιχεία αναγνωρίζονται από H/Y [60]. Ο συνδυασμός της υγρής χρωματογραφίας και της φασματομετρίας μαζών είναι ουσιώδης και συνεχίζει να αποκτά ιδιαίτερη σημασία [6].

Σκοπός της Μεταπτυχιακής Εργασίας

Η παρούσα διπλωματική εργασία στοχεύει στην ανάδειξη των ιδιοτήτων των αρωματικών φαρμακευτικών φυτών κυρίως του χαμομηλιού και ιδιαίτερα στην αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών. Ειδικότερα το πείραμα συντελέστηκε με τη μέθοδο Folin, αποσκοπώντας στον προσδιορισμό της συνολικής περιεκτικότητας σε φαινολικά, της αντιοξειδωτικής δράσης των υδατικών εκχυλισμάτων χαμομηλιού που παρασκευάζονται σε διαφορετικές θερμοκρασίες (27°, 40°, 80°, 100 °C), δηλαδή, την ανίχνευση των φαινολικών τους προφίλ στη βέλτιστη θερμοκρασία όπως επίσης και του βέλτιστου χρόνου παραμονής του υλικού (5', 10', 20', 40') στις παραπάνω θερμοκρασίες. Με αυτό τον τρόπο επιδιώχθηκε και η ταυτοποίηση του είδους των φαινολών που παρατηρούνται στο εκχύλισμα χαμομηλιού και μπορούν να προσληφθούν από τον οργανισμό. Για την αξιολόγηση του συνολικού περιεχομένου φαινολών, χρησιμοποιήθηκε η (spectrometric) φασματομετρική μέθοδος προσδιορισμού προκειμένου να καθοριστεί η βέλτιστη θερμοκρασία και ο βέλτιστος χρόνος παραμονής του υλικού σε κάθε θερμοκρασία. Το χαμομήλι είναι βότανο που χρησιμοποιείται σαν αφέψημα. Αυτός είναι και ο λόγος που χρησιμοποιήθηκε νερό για την εφαρμογή του πειράματος γνωρίζοντας όμως, πως με την εμβάπτιση του δείγματος χαμομηλιού σε αλκοόλη θα ανιχνεύονταν μεγαλύτερες ποσότητες φαινολών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6.1. Υλικά και Μέθοδοι

Υλικά

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την πειραματική μελέτη είναι:

- Δείγμα ανθέων χαμομηλιού βιολογικής παραγωγής. Για κάθε μέτρηση ζυγίστηκε 2gr φυτικού υλικού.
- Απεσταγμένο νερό. Για κάθε μέτρηση χρησιμοποιήθηκε 100 ml νερού.
- Γαλλικό οξύ, 1000 ppm συγκέντρωσης
- Αιθανόλη
- Na_2CO_3 , 20%
- Folin

Σκεύη

Για την πραγματοποίηση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν:

- ✕ Ζυγαριά ακριβείας
- ✕ Κύλινδρος 100 ml για τη μέτρηση επιθυμητής ποσότητας απεσταγμένου νερού
- ✕ Ποτήρια ζέσεως 200 ml για τον βρασμό του δείγματος.
- ✕ Εστία θέρμανσης για επιλογή κατάλληλης θερμοκρασίας.
- ✕ Θερμόμετρο για τη μέτρηση της θερμοκρασίας του δείγματος.
- ✕ Σιφόνια και διηθητικά χαρτιά για παραλαβή καθαρού δείγματος χωρίς υπολείμματα φυτικού υλικού.
- ✕ Φιάλες των 100 ml με πώμα για την τοποθέτηση του καθαρού δείγματος.

6.2. Παραλαβή Φαινολικών Εκχυλισμάτων

Οι διαλυτές φαινόλες εκχυλίζονται με υδατο-αλκοολούχα διαλύματα, συνηθέστερα με 80% αιθανόλη, 80%, 60% μεθανόλη, μείγμα αιθανόλης- μεθανόλης- νερό με αναλογία (4:4:2) ή μείγμα μεθανόλης- οξικό οξύ- νερό με αναλογία (4:4:2) κ.α. Ικανοποιητικά αποτελέσματα εκχύλισης των φαινολών μας δίνει η χρήση 50% μεθανόλης σε 1,2 M HCL [91].



Εικόνα 7: Προετοιμασία πειράματος

Προετοιμασία

Στο αρχικό στάδιο της προετοιμασίας ζυγίζουμε 2 gr φυτικού υλικού (χαμομήλι). Στη συνέχεια με ογκομετρικό σωλήνα παίρνουμε 100ml αποσταγμένο νερό και βάζουμε σε ποτήρι ζέσεως και κατόπιν σε εστία, μετρώντας με θερμόμετρο και σταθεροποιώντας στην θερμοκρασία επιλογής. Η ίδια διαδικασία ολοκληρώθηκε εις τετραπλούν για τους χρόνους (5'10'20'40') που επιλέξαμε να μελετήσουμε. Οι θερμοκρασίες που επιλέχθηκαν για μελέτη είναι: 27⁰-40⁰-80⁰-100⁰. Η θερμοκρασία 27°C χωρίς βρασμό επιλέχθηκε για να αποκλειστεί η αρνητική επίδραση της θερμοκρασίας. Επιλέχθηκε η θερμοκρασία εκχύλισης στους 100°C αφού είναι η πιο κοινή θερμοκρασία για την παρασκευή εγχυμάτων. Κάθε εκχύλισμα διηθήθηκε χρησιμοποιώντας διηθητικό χαρτί και τοποθετήθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 100ml. Στη συνέχεια αφού ολοκληρώθηκε η διαδικασία για όλους τους χρόνους κάθε θερμοκρασίας συγκεντρώθηκαν οι φιάλες για το επόμενο στάδιο του προσδιορισμού ολικής φαινολικής περιεκτικότητας.

6.3. Προσδιορισμός των Ολικών Φαινολών

Ο προσδιορισμός των ολικών φαινολών γίνεται με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu σύμφωνα με την κλασική μέθοδο του Singleton και Rossi [93] ή με την δική του μικροπαραλλαγή [92].

Αντιδραστήρια

1. Folin-Ciocalteu του εμπορίου.

Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu μπορεί να παρασκευασθεί και στο εργαστήριο ως εξής: Σε ογκομετρική φιάλη των 100ml προστίθενται 70ml αποσταγμένο νερό, 10gr βολφραμικό νάτριο και 2,5gr μολυβδενικό νάτριο. Μετά την διάλυση τους προστίθενται 5mlH₃PO₄ 80%, 10 ml π. HCL και φέρονται σε βρασμό υπό κάθετο ψυκτήρα για 10 ώρες. Στη συνέχεια προστίθενται 15gr θειικό λίθιο, 5 σταγόνες βρωμίου και τοποθετούνται πάλι σε βρασμό για 15 min. Μετά την ψύξη συμπληρώνεται η φιάλη των 100 ml με αποσταγμένο νερό.

2. Άνυδρο ανθρακικό νάτριο 20%.

3. Γαλλικό οξύ ή κατεχίνη για παρασκευή Stock διαλύματος.

Τεχνική

Σύμφωνα με την κλασική μέθοδο Singleton και Rossi προσθέτουμε 1 ml από το εξεταζόμενο υδατικό εκχύλισμα του χαμομηλιού και 60 ml αποσταγμένο νερό σε ογκομετρική φιάλη των 100ml. Στη συνέχεια προσθέτουμε 5 ml από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Αναμειγνύεται το μείγμα και μετά από 1 min και πριν την λήξη 8 min προσθέτουμε 15 ml άνυδρο ανθρακικό νάτριο 20%. Συμπληρώνεται η ογκομετρική φιάλη των 100 ml και παραμένει το μίγμα για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Μετράτε η απορρόφηση απόχρωσης στα 750 nm. Με τις ίδιες συνθήκες προετοιμάζονται τα standards διαλύματα και σχηματίζεται η πρότυπη καμπύλη. Οι φαινόλες υπολογίζονται ως ισοδύναμα του γαλλικού οξέος (GAE) σε mg/l.

Στην εικόνα 8 διακρίνουμε διάφορα στάδια του πειράματος.



Εικόνα 8: α) το εκχύλισμα σε θερμοκρασία 80°C β) το δείγμα κατά τη διαδικασία βρασμού γ) δείγμα προς εξέταση ολικής φαινολικής περιεκτικότητας δ) φασματοφωτόμετρο ε) πρότυπα διαλύματα γαλλικού οξέος.

6.4. Προσδιορισμός της Αντιριζικής Ενεργητικότητας με το Ελεύθερο Σταθερό ριζικό DPPH•

Η μέθοδος DPPH• είναι μια χαμηλού κόστους μέθοδος μέτρησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας που στηρίζεται στο ελεύθερο σταθερό ριζικό DPPH•. Η μέθοδος βρίσκει εφαρμογή στον προσδιορισμό της αντιριζικής ενεργητικότητας των φυτών, των φυτικών εκχυλισμάτων και των αιθέριων ελαίων [94]. Το σταθερό ριζικό DPPH• (1,1 diphenyl-2-picrilhydrazil) αλληλοεπιδρά με τις αντιοξειδωτικές ενώσεις και αδρανοποιείται μέσω προσθήκης ενός ατόμου

υδρογόνου (517nm) με αποτέλεσμα το μωβ χρώμα να αποχρωματίζεται [95]. Η αδρανοποίηση μπορεί να επιτευχθεί εκτός από την προσθήκη ενός ατόμου υδρογόνου και με την προσθήκη ενός ηλεκτρονίου.

Αντιδραστήρια

1. Διάλυμα DPPH 6×10^{-5} mol/L σε μεθανόλη (MB \rightarrow DPPH = 394,33 \rightarrow 5,9 mgDPPH / 250mlCH₃OH)

2. Trolox συγκεντρώσεις (5-10-15-20-25-30) mmol, διαλύονται σε 6 ml μεθανόλη και προσθέτουμε αποσταγμένο νερό. Trolox (6 - υδροξυ - 2,5,7,8 - τετραμέθυλο - χρωμάνυλο - 2 - καρβοξυλικό οξύ \rightarrow MB = 250,29).

Τεχνική

Προσθέτονται σε δοκιμαστικούς σωλήνες 2 ml από το μεθανολικό διάλυμα του DPPH και 50 μl από το υδατικό εκχύλισμα του χαμομηλιού ή 50 μl από 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις Trolox (5-10-15-20-25-30) mmol αντίστοιχα. Μετά από μηχανική ανάμειξη (Vortex-30), το διάλυμα επωάζεται για 15 min σε θερμοκρασία δωματίου και φασματοφωτομετράται σε $\lambda = 515$ nm. Παράλληλα μ' αυτά φωτομετράται και λευκό δείγμα προετοιμασμένο κατά τον ίδιο τρόπο, αντί για 50 μl του εξεταζόμενου διαλύματος προσθέτονται 50 μl αποσταγμένο νερό. Μηδενίζουμε το σπεκτοφωτόμετρο με μεθανόλη.

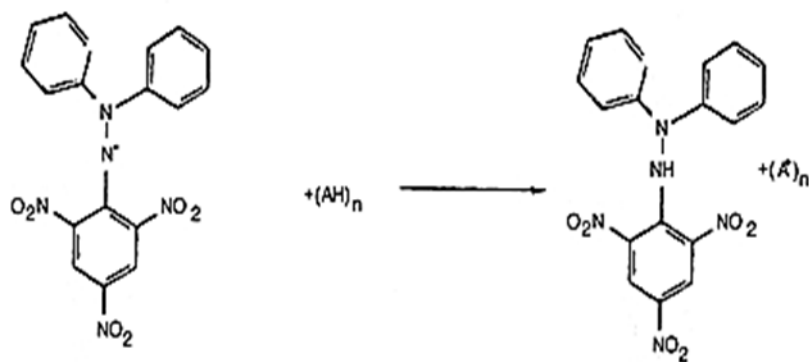
Προσδιορίζεται η μεταβολή της απορρόφησης του διαλύματος της ρίζας DPPH• μετά την προσθήκη του αντιοξειδωτικού. Το επί τοις εκατό ποσοστό καταστολής της ρίζας DPPH• υπολογίζεται σύμφωνα με την εξίσωση του [96].

$$\% \text{ καταστολή} = (A_{\text{Λευκού}} - A_{\text{Δείγματος}}) / A_{\text{Λευκού}} \times 100$$

Από την γραφική παράσταση που συνδέει τις συγκεντρώσεις Trolox και τις διαφορές των απορροφήσεων ή τις συγκεντρώσεις Trolox και την % καταστολή του DPPH• εκφράζουμε τα αποτελέσματα σε ισοδύναμα Trolox.

Επίσης τα αποτελέσματα για την αντιριζική ενεργητικότητα μπορούν να υπολογισθούν ως $\mu\text{mols DPPH}\bullet$ εξουδετερωμένα από τις φαινολικές ενώσεις ενός ml υδατικού εκχυλίσματος, δηλ. αυδατικά εκχυλίσματα με πιο υψηλή αντιριζική ενεργητικότητα συλλαμβάνουν πιο μεγάλη ποσότητα (μmols) από το σταθερό ελεύθερο ριζικό (DPPH•). Ανάλογα με τον όγκο του εκχυλίσματος, τη μάζα του φυτού που λήφθηκε για ανάλυση και τον όγκο του εξεταζόμενου διαλύματος μπορεί να υπολογισθεί η ποσότητα του DPPH• σε μmols ανά 1 γραμμάριο φυτικό υλικό.

Ως δραστική συγκέντρωση EC₅₀ (Efficient concentration) των αντιοξειδωτικών φαινολικών ενώσεων των εκχυλισμάτων ορίζεται η ποσότητα σε μM ή (g/L) διαφορετικών συγκεντρώσεων των εκχυλισμάτων που μπορεί να ελαττώσει την απόχρωση του DPPH• κατά 50%. Ο υπολογισμός γίνεται από το διάγραμμα που δείχνει το % ποσοστό εξουδετέρωσης της ρίζας σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση του εκχυλίσματος. Παρασκευάζονται δηλαδή διαφορετικές συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων.



DPPH•

1,1 διφαινυλ-2-πικρυλυδραζύλιο →
μωβ χρώμα

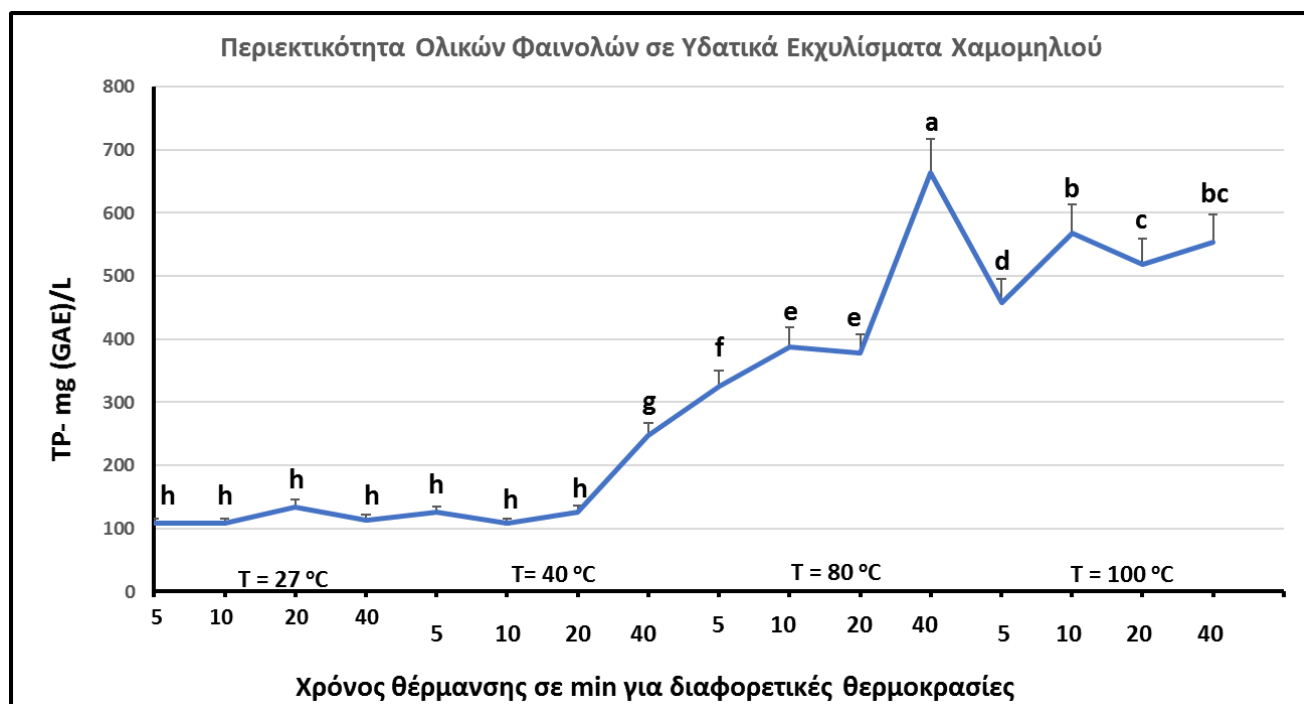
DPPH-H

1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζίνη
αποχρωματισμός

Στατιστική ανάλυση

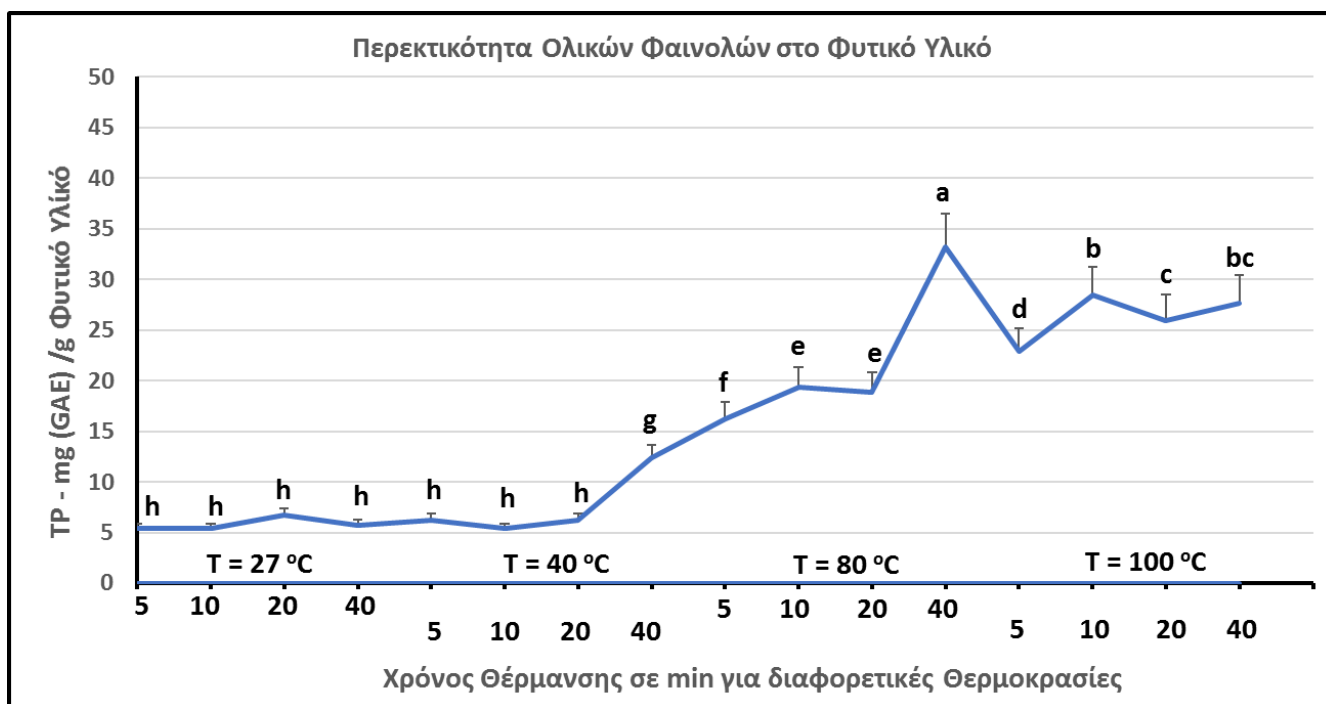
Η σύγκριση των μέσων όρων πραγματοποιήθηκε υποβάλλοντας τα δεδομένα σε μονόδρομη ανάλυση διακύμανσης σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05 χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο MINITAB [97]. Το πείραμα είχε τέσσερις επαναλήψεις. Ο διαχωρισμός των μέσων όρων έγινε χρησιμοποιώντας τη δοκιμή Tukey's μεταξύ των μεταχειρίσεων.

6.5. Αποτελέσματα και Συζήτηση



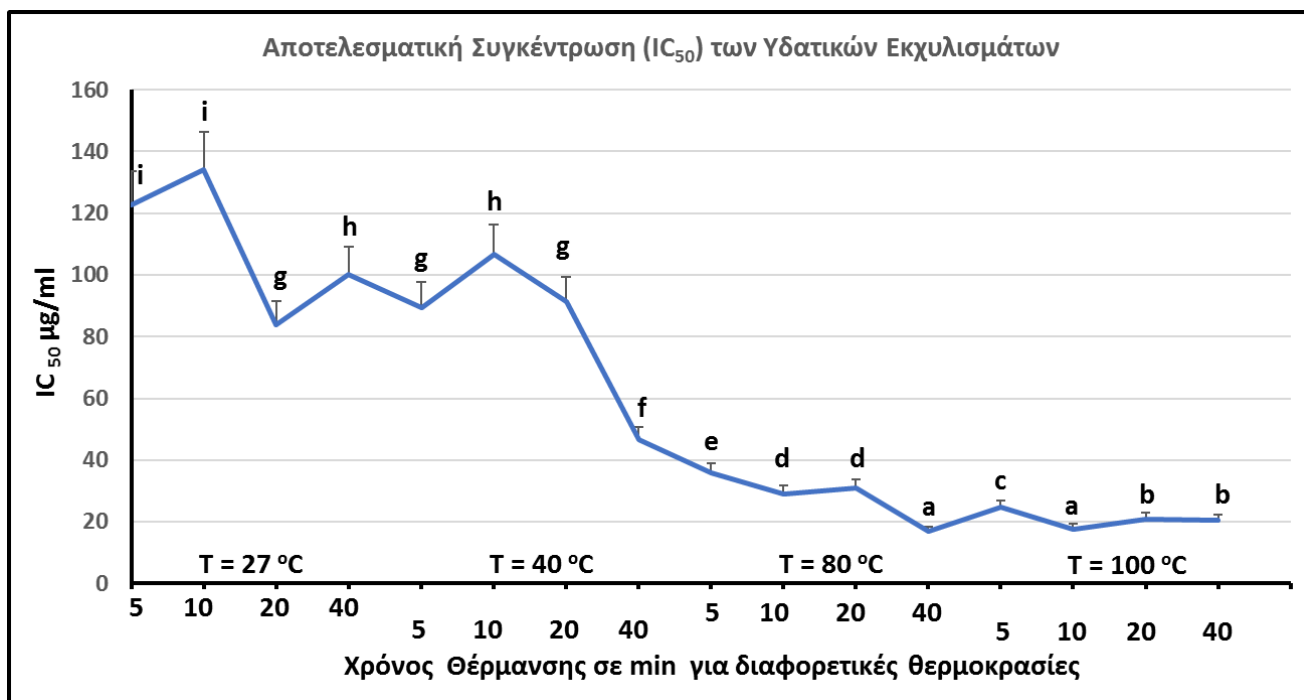
Σχήμα 4: Μεταβολή των ολικών φαινολών σε υδατικά εκχυλίσματα Χαμομηλιού σε σχέση με τον χρόνο θέρμανσης και την θερμοκρασία. Τιμές στο γράφημα με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's .

Με βάση τα αποτελέσματα στο σχήμα 1 του υδατικού εκχυλίσματος, στη θερμοκρασία 27° C κατά τους χρόνους που έχουμε επιλέξει να μελετήσουμε (5,10,20,40 min), η περιεκτικότητα των ολικών φαινολών δεν παρουσιάζει σημαντική μεταβολή και κατ'επέκταση η τιμές δεν διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's. Στη θερμοκρασία 40° C και στους χρόνους 5,10,20 min η περιεκτικότητα των ολικών φαινολών κυμαίνεται στις ίδιες τιμές με την θερμοκρασία των 27° C, ενώ στα 40 min παρουσιάζει αύξηση. Στη θερμοκρασία 80° C παρατηρείται αύξηση των ολικών φαινολών στους χρόνους 5,10 και 40 min η μέγιστη ενώ στα 20 min η περιεκτικότητα των ολικών φαινολών παραμένει σταθερή. Τέλος στους 100° C πάλι έχουμε μεταβολή της περιεκτικότητας των φαινολών σε διαφορετικούς χρόνους. Στα 5 min η περιεκτικότητα είναι πιο χαμηλή από εκείνη που αντιστοιχεί στο χρόνο 10 και 40 min. Καλύτερος χρόνος για θερμοκρασία 27° θεωρείται τα 20' γιατί εκεί παρατηρείται μια μικρή αύξηση ενώ για τη θερμοκρασία 40° καλύτερος χρόνος με σημαντική αύξηση είναι τα 40'. Για τη θερμοκρασία των 80° καλύτερος χρόνος με σημαντική αύξηση ολικών φαινολών είναι τα 40' ενώ για τη θερμοκρασία των 100° καλύτερος χρόνος είναι τα 10' και 40'. Σαν καλύτερο χρόνο που να αντιπροσωπεύει όλες τις θερμοκρασίες θεωρούνται τα 40 min.



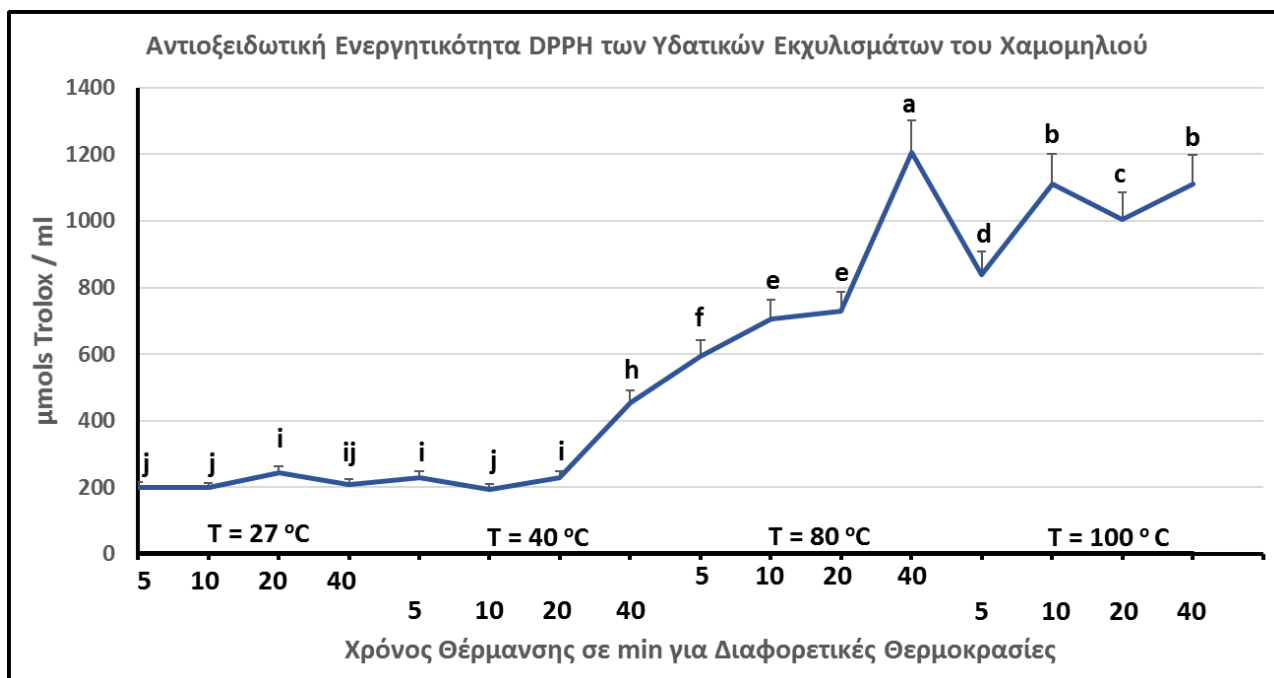
Σχήμα 5: Μεταβολή των ολικών φαινολών στη φυτική μάζα του Χαμομηλιού σε σχέση με τον χρόνο θέρμανσης και την θερμοκρασία. Τιμές στο γράφημα με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's.

Η μελέτη του φυτικού υλικού κατά τη θερμοκρασία των 27° C η περιεκτικότητα των ολικών φαινολών δεν παρουσιάζει σημαντική μεταβολή σε κάποιο χρόνο παρά μια ελάχιστη αύξηση στα 20 min. Στη θερμοκρασία των 40° C παρατηρείται στα 40 λεπτά μια αύξηση της περιεκτικότητας των φαινολών ενώ στα 5', 10' και 20' η περιεκτικότητα είναι στα ίδια επίπεδα με τη θερμοκρασία των 27° C. Στους 80° η περιεκτικότητα των ολικών φαινολών είναι διαφορετική σε κάθε χρόνο, αυξητική με μέγιστη στα 40' ενώ στους 100° C έχουμε πάλι διαφοροποίηση με αύξηση στα 10' και 40'. Τα αποτελέσματα του φυτικού υλικού δεν διαφοροποιούνται από εκείνα του εκχυλίσματος και για το λόγο αυτό και τα καλύτερα χρονικά διαστήματα των διαφόρων θερμοκρασιών είναι όμοια.



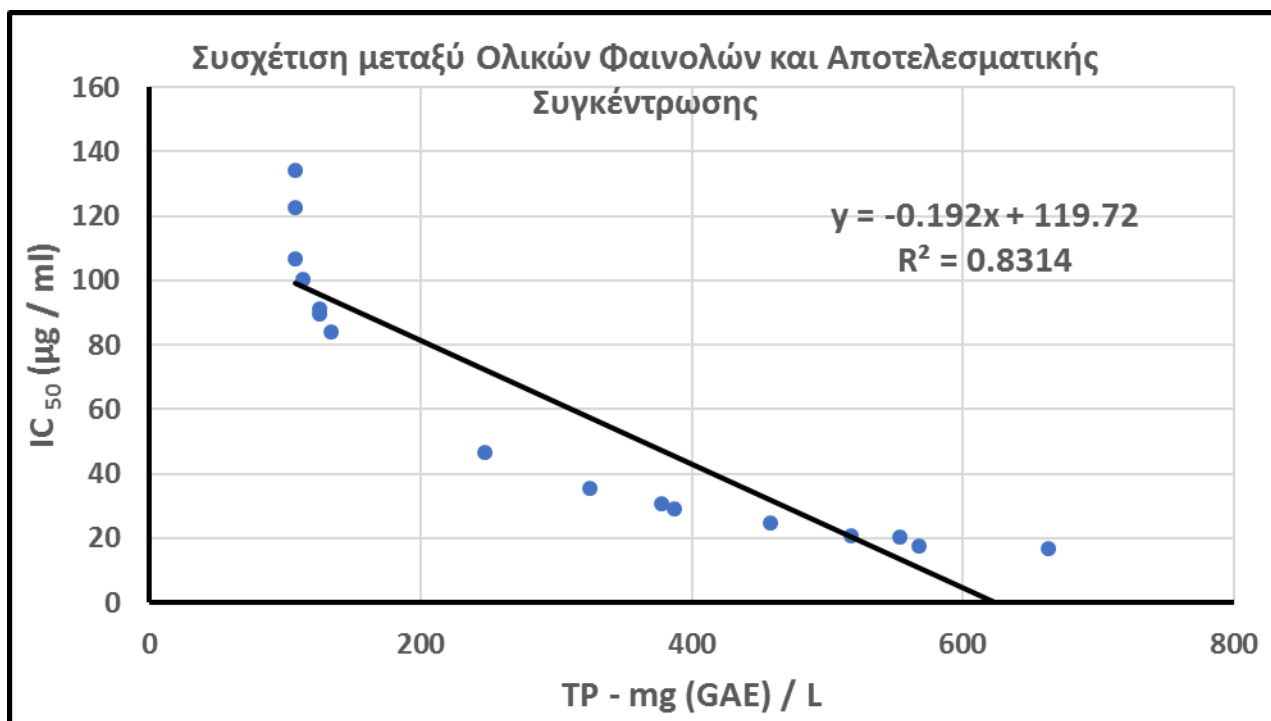
Σχήμα 6: Μεταβολή της αποτελεσματικής συγκέντρωσης (IC_{50}) σε υδατικά εκχυλίσματα Χαμομηλιού σε σχέση με τον χρόνο θέρμανσης και την θερμοκρασία. Τιμές στο γράφημα με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's.

Στο υδατικό εκχύλισμα για τη θερμοκρασία των 27° C, παρατηρείται μεγάλη τιμή αποτελεσματικής συγκέντρωσης για το χρονικό διάστημα των 10' ενώ η μικρότερη τιμή αποτελεσματικής συγκέντρωσης παρατηρείται στα 20'. Στη θερμοκρασία των 40° πάλι η υψηλότερη τιμή αναφέρεται στα 10' ενώ η χαμηλότερη στα 40'. Για τη θερμοκρασία των 80° η μεγαλύτερη τιμή αποτελεσματικής συγκέντρωσης είναι στα 10' και στα 20' ενώ η μικρότερη στα 40', ενώ για τη θερμοκρασία των 100° C η μεγαλύτερη τιμή αποτελεσματικής συγκέντρωσης παρατηρείται στα 5' και η μικρότερη στα 10'. Μεγάλη τιμή αποτελεσματικής συγκέντρωσης σημαίνει μικρή αντιοξειδωτική δύναμη. Άρα πιο ισχυρό είναι το α από το γράφημα, συμπεραίνοντας έτσι ότι ο κατάλληλος χρόνος για τους 27° είναι τα 20 min, ενώ για τους 40°, 80° στα 40', και για τους 100° είναι στα 10 min έως και 40' αφού είναι πολύ μικρή η μεταβολή. Ο καλύτερος χρόνος για όλες τις θερμοκρασίες μπορεί να θεωρηθεί τα 40 min.



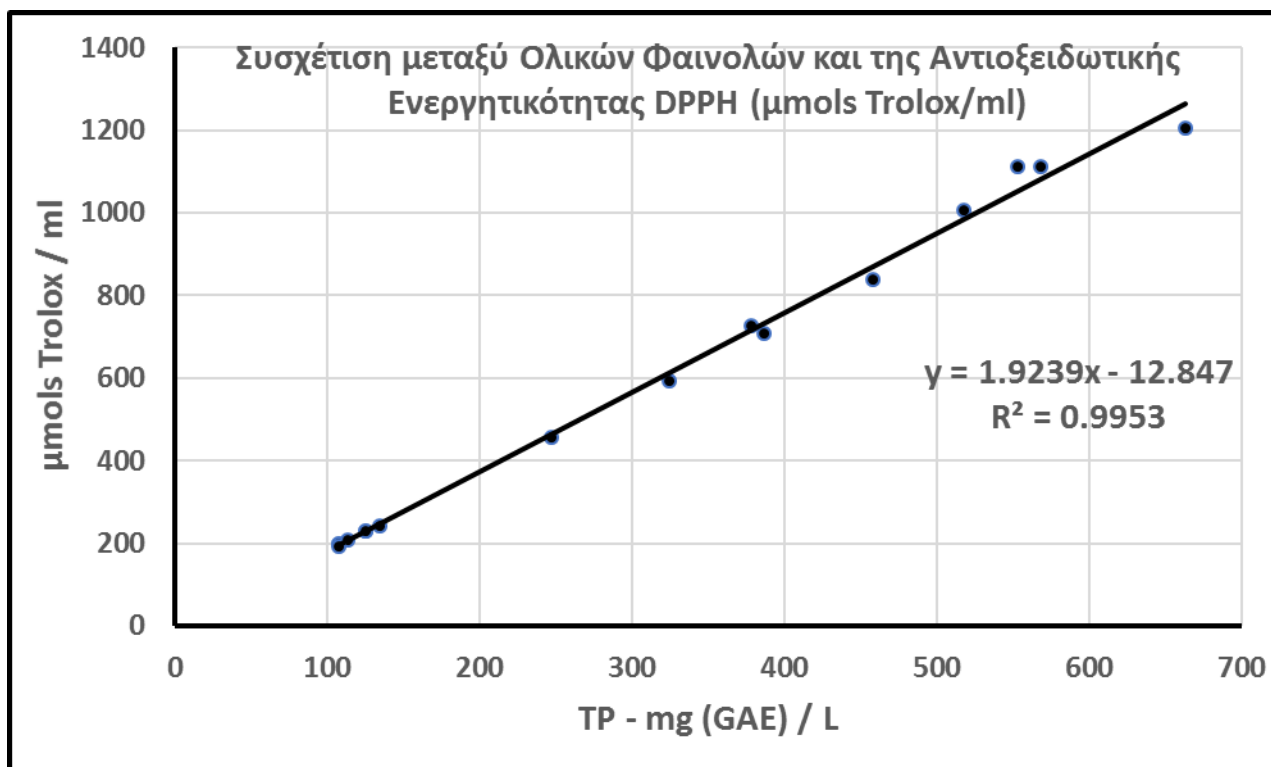
Σχήμα 7: Μεταβολή της αντιοξειδωτικής δύναμης DPPH σε υδατικά εκχυλίσματα Χαμομηλιού σε σχέση με τον χρόνο θέρμανσης και την θερμοκρασία. Τιμές στο γράφημα με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's.

Η αντιοξειδωτική ενεργητικότητα DPPH των υδατικών εκχυλισμάτων του χαμομηλιού που εκφράστηκε σε μmols Trolox/ml, δεν παρουσιάζει σημαντική μεταβολή στους χρόνους 5, 10, και 40 min για τη θερμοκρασία των 27° και 5, 10, 20 min για τη θερμοκρασία των 40° ενώ παρατηρείται μια μικρή αύξηση στα 20' και στα 40' για τις θερμοκρασίες 27° και 40° αντίστοιχα. Στη θερμοκρασία των 80° παρατηρείται μεταβολή σε όλους τους χρόνους με μεγαλύτερη τιμή στα 40 min και μικρότερη τιμή τα 5'. Για τη θερμοκρασία των 100° η μικρότερη τιμή είναι σε χρόνο 5' και η μεγαλύτερη στα 10' και 40'. Καλύτερος χρόνος για τη θερμοκρασία 27° είναι τα 20', για τη θερμοκρασία 40° είναι τα 40', για τη θερμοκρασία των 80° επίσης τα 40' και για τη θερμοκρασία των 100° είναι τα 10' και 40'. Ως ο καλύτερος χρόνος για όλες τις θερμοκρασίες είναι τα 40 min.



Σχήμα 8: Συσχέτιση μεταξύ των ολικών φαινολών και της αποτελεσματικής συγκέντρωσης των υδατικών εκχυλισμάτων Χαμομηλιού σε διαφορετικές θερμοκρασίες και χρόνους θέρμανσης.

Η Συσχέτιση μεταξύ των ολικών φαινολών και της αποτελεσματικής ενεργητικότητας (IC₅₀) είναι υψηλή, με συντελεστή συσχέτισης $R^2 = 0.8314$.



Σχήμα 9: Συσχέτιση μεταξύ των ολικών φαινολών και της αντιριζικής ενεργητικότητας DPPH των Υδατικών εκχυλισμάτων του Χαμομηλιού σε διαφορετικές θερμοκρασίες και διαφορετικούς χρόνους θέρμανσης.

Η Συσχέτιση μεταξύ των ολικών φαινολών και της αντιοξειδωτικής δύναμης DPPH που εκφράστηκε σε μmols Trolox/ml είναι πολύ υψηλή, με συντελεστή συσχέτισης $R^2 = 0.9953$.

6.6. Συμπεράσματα

Οι βιολογικές ιδιότητες του χαμομηλιού οφείλονται σε μεγάλο βαθμό στην αντιοξειδωτική του δράση, εξαιτίας των φαινολικών συστατικών που περιέχει. Η παρούσα εργασία μελετά τα φαινολικά συστατικά στις θερμοκρασίες 27°, 40°, 80°, 100° C, και σε χρονικά διαστήματα 5', 10', 20', 40', εστιάζοντας στην περιεκτικότητα των ολικών φαινολικών των υδατικών εκχυλισμάτων και του φυτικού υλικού, με το αντιδραστήριο Folin Ciocalteu. Επίσης την αποτελεσματική συγκέντρωση υδατικών εκχυλισμάτων, την αντιοξειδωτική ενεργητικότητα DPPH που είναι μια μέθοδος μέτρησης ικανότητας δέσμευσης ελεύθερων ριζών, και τη συσχέτιση μεταξύ ολικών φαινολών και αποτελεσματικής συγκέντρωσης, όπως και τη συσχέτιση μεταξύ ολικών φαινολών και αντιοξειδωτικής ενεργητικότητας DPPH. Τα αποτελέσματα σε ότι αφορά τα υδατικά εκχυλίσματα και το φυτικό υλικό, δεν έδειξαν σημαντική μεταβολή της περιεκτικότητας ολικών φαινολών για τις θερμοκρασίες 27° και 40° (μέχρι τα 20 min) αλλά για τις θερμοκρασίες 40° (στα 40') 80° και 100° υπήρξε αύξηση της περιεκτικότητας στο χρονικό διάστημα των 40 min, καθιστώντας έτσι τα 40 min τον καλύτερο χρόνο για όλες τις θερμοκρασίες. Επίσης τα αποτελέσματα της αποτελεσματικής συγκέντρωσης έδειξαν, μικρότερη τιμή (δηλαδή μεγάλη αντιοξειδωτική δύναμη), στις θερμοκρασίες 27° στα 20', 40°, 80°, 100°, στα 40 min, θεωρώντας έτσι καλύτερο χρόνο για όλες τις θερμοκρασίες τα 40 min. Στην περίπτωση της αντιοξειδωτικής ενεργητικότητας στις θερμοκρασίες 27° και 40° (έως τα 20'), δεν υπάρχει στατιστική διαφορά, ενώ υπάρχει αύξηση (40°, 80°, 100°) στα 40 min, αξιολογώντας έτσι τα 40 min ως ο καλύτερος χρόνος για όλες τις θερμοκρασίες. Τέλος υπήρξε υψηλή συσχέτιση των υδατικών εκχυλισμάτων μεταξύ ολικών φαινολών και αποτελεσματικής συγκέντρωσης, και πολύ υψηλή συσχέτιση μεταξύ ολικών φαινολών και αντιοξειδωτικής ενεργητικότητας σε διαφορετικές θερμοκρασίες και διαφορετικά χρονικά διαστήματα.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Φαρμακευτικά προϊόντα φυσιικής προελεύσεως. Εγχειρίδιο φαρμακογνωσίας. Παύλος κορδοπάτης, Έφη Μάνεση-Ζούπα, Γιώργος Πάιρας. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης. Ηράκλειο, 2015.
2. Catechins: Sources, extraction and encapsulation: A review. Pravin Vasantra Gadkari Manohar Balaraman. January 2015. Doi.org/10.1016/j.fbp.2013.12.004.
3. Phenolics from Medicinal and Aromatic Plants: Characterisation and Potential as Biostimulants and Bioprotectants. Musa Kisiriko, Maria Anastasiadi, Leon Alexander Terry, Abdelaziz Yasri, Michael Henry Beale, Jane Louise Ward. 2021 Nov. Doi: 10.3390/molecules26216343.
4. Isolation of herniarin and other constituents from matricaria chamomilla flowers. A.Ahmad and L.N. Misra. International Journal of Pharmacognosy.29 Sep.2008. Doi.org/10.1076/phbi.35.2.121.13280.
5. A Comprehensive Review on Biology, Genetic Improvement, Agro and Process Technology of German Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Ramesh Chauhan, Sanatsujat Singh, Vikas Kumar, Ashok Kumar, Amit Kumari, Shalika Rathore, Rakesh Kumar, Satbeer Singh. 2022 Jan. Doi: 10.3390/plants11010029.
6. Extraction, Characterization, Stability and Biological Activity of Flavonoids Isolated from Chamomile Flowers. Janmejai K Srivastava, Sanjay Gupta. Mol Cell Pharmacol, 2009 Jan 1. Doi: 10.4255/mcpharmacol.09.18.
7. Phenolic Profile by HPLC-PDA-MS of Greek Chamomile Populations and Commercial Varieties and Their Antioxidant Activity. Nektaria Tsivelika, Maria Irakli, Athanasios Mavromatis, Paschalina Chatzopoulou, Anastasia Karioti. Foods, 2021 Oct, 10. Doi: 10.3390/foods10102345.
8. Integrated Taxonomic Information System – Report. *Matricaria chamomilla* L.Taxonomic Serial No.: 780435.
9. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. Ompal Singh, Zakia Khanam,Neelam Misra, Manoj Kumar Srivastava. Pharmacogn Rev., 2011 Jan-Jun. 82–95. Doi: 10.4103/0973-7847.79103.
10. Επιλογή αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. Ελένη Βογιατζή-Καμβούκου. Σύγχρονη παιδεία. Θεσσαλονίκη, 2018.
11. Selected Aspects Related to Medicinal and Aromatic Plants as Alternative Sources of Bioactive Compounds. Radu Claudiu Fierascu,Irina Fierascu, Anda Maria Baroi, Alina Ortan. Int J Mol Sci. 2021 Feb. 22. Doi: 10.3390/ijms22041521.
12. Μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών και αφεψημάτων από μίγματα επιλεγμένων βοτάνων. Κατερίνα Ι.Βενετσάνου. Schol, Αθήνα, Ιανουάριος 2014.
13. Μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας αφεψημάτων από αρωματικά φυτά της ελληνικής χλωρίδας. Γεωργία Κανέλλου. Γενικό Πανεπιστήμιο Αθηνών,Schol, Αθήνα,2011.

14. Antioxidant activity of water and alcohol extracts of chamomile flowers, anise seeds and dill seeds. Khalid Mohammad Al-Ismail, Talal Aburjai. SCI, 05 January 2004. Doi.org/10.1002/jsfa.1625.
15. Evaluation of Antioxidant Activity, Toxicity, and Phenolic Profile of Aqueous Extracts of Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) and Sage (*Salvia officinalis* L.) Prepared at Different Temperatures. Nefeli S. Sotiropoulou, Stilian F. Megremi, Petros Tarantilis. Appl. Sci. 2020. Doi.org/10.3390/app10072270.
16. The influence of the extraction temperature on polyphenolic profiles and bioactivity of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) subcritical water extracts. Aleksandra Cvetanović Jaroslav Švarc-Gajića Zoran Zeković Jelen Jerković Gokhan Zenginb Uroš Gašić Živoslav Tešić Pavle Mašković Cristina Soares M. Fatima Barroso Cristina Delerue-Matos Saša Đurović. Food Chemistry, 15 January 2019, Pages 328-337. Doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.154.
17. The roles of plant phenolics in defence and communication during *Agrobacterium* and *Rhizobium* infection. Amita bhattacharya, Priyanka Sood, Vitaly Citovsky. Mol Plant Pathol. 2010 Sep. Doi: 10.1111/j.1364-3703.2010.00625.x.
18. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. Li Yang, Kui-Shan Wen, Xiao Ruan, Ying-Xian Zhao, Feng Wei, Qiang Wang. Molecules. 2018 Apr 23. Doi: 10.3390/molecules23040762.
19. The effects of polyphenols and other bioactives on human health. César G. Fraga, Kevin D. Croft, David O. Kennedy, Francisco A. Tomás-Barberán. Food and function, 2, 2019. Doi.org/10.1039/C8FO01997E.
20. Chemistry, pharmacology and new trends in traditional functional and medicinal beverages. Alice Teresa Valduga, Itamar Luís Gonçalves, Ederlan Magriac José Roberto Dela libera Finzer. Food Research International, June 2019, Pages 478-503. Doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.091.
21. Chamomile as a potential remedy for obesity and metabolic syndrome. Maria M. Bayliak,, Tetiana R. Dmytriv, Antonina V. Melnychuk, Nadia V. Strilets, Kenneth B. Storey, Volodymyr I. Lushchak. EXCLI J. 2021, 20: 1261–1286. Doi: 10.17179/excli2021-4013.
22. A Review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). Diane L. McKay, Jeffrey B. Blumberg. Phytotherapy Research, 20 April 2006. Doi.org/10.1002/ptr.1900.
23. Puffed cereals with added chamomile – quantitative analysis of polyphenols and optimization of their extraction method. Tomasz Blicharski, Anna Oniszczyk, Marta Olec, Tomasz Oniszczyk, Agnieszka Wójtowicz, Wojciech Krawczyk, Renata Nowak. Annals of Agricultural and Environmental Medicine 2017.
24. Chamomile: A herbal medicine of the past with bright future. Janmejai K Srivastava, Eswar Shankar, Sanjay Gupta. Mol Med Report, PMC 2011 Feb 1. Doi:10.3892/mmr.2010.377
25. Αρωματικά φυτά και Αιθέρια έλαια: χημική σύσταση - δράσεις - παραγωγή - αξιοποίηση - εμπόριο - έρευνα αγοράς. Antoniadou, Korina F. DSpace, 2014-06-04. Doi.org/10.26240/heal.ntua.6420.

26. German and Roman Chamomile. Shahram Sharafzadeh, Omid Alizadeh. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2011- 01-05.
27. A simple method to determine antioxidant status in aromatic plants subjected to drought stress. Julieta Chiappero, Lorena Del Rosario Cappellari, Tamara Belen Palermo, Walter Giordano, Erika Banchio. 2020 Dec 10. Doi: 10.1002/bmb.21484.
28. Biological effects of essential oils – A review, F.Bakkali· S.Averbeck· D.Averbeck· M.Idaomar. Food and Chemical____Toxicology. February 2008, Pages 446-475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.
29. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. Yanqun Li , Dexin Kong , Ying Fu , Michael R Sussman , Hong Wu. 2020 Mar. doi: 10.1016/j.plaphy.2020.01.006.
30. The genetic manipulation of medicinal and aromatic plants. Sonia Gómez-Galera, Ana M. Pelacho, Anna Gené, Teresa Capell, Paul Christou. 03 July 2007. <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0384-x>.
31. The Plants of the *Asteraceae* Family as Agents in the Protection of Human Health, Agata Rolnik, Beata Olas, Mol Sci. 2021 Mar. doi: 10.3390/ijms22063009.
32. The Mediterranean aromatic plants and their culinary use. Alberto Bianchi. Nat Prod Res 2015 Feb. doi: 10.1080/14786419.2014.953495.
33. Antioxidant Properties of *Crocus Sativus* L. and Its Constituents and Relevance to Neurodegenerative Diseases; Focus on Alzheimer's and Parkinson's Disease. Kyriaki Hatzigiapiou, Eleni Kakouri, George I. Lambrou, Kostas Bethanis, Petros A. Tarantilis. Curr Neuropharmacol. 2019 Apr. doi: 10.2174/1570159X16666180321095705.
34. Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review. Zarith Asyikin Abdul Aziz, Akil Ahmad, Siti Hamidah Mohd Setapar*, Alptug Karakucuk, Muhammad Mohsin Azim, David Lokhat, Mohd, Rafatullah, Magdah Ganash, Mohammad A. Kamal, Ghulam Md Ashraf*. 2018. DOI: 10.2174/1389200219666180723144850.
35. Essential Oils of Lamiaceae Family Plants as Antifungals. Tomasz M. Karpiński. Biomolecules. 2020 Jan. doi: 10.3390/biom10010103.
36. The genus *Schinus* (Anacardiaceae): a review on phytochemicals and biological aspects. Heba A. S. El-Nashar, Nada M. Mostafa, Eman A. Abd El-Ghffar, Omayma A. Eldahshan, Abdel Nasser B. Singab. 09 Dec 2021. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.2012772>.
37. The Essentials of Essential Oils. Rebecca M.PlantM, LisaDinhM, ShaaraArgoM, MonicaShah. Advances in Pediatrics August 2019, Pages 111-122. <https://doi.org/10.1016/j.yapd.2019.03.005>.
38. A systematic review study of therapeutic effects of *Matricaria recuitta* chamomile (chamomile). Sepide Miraj· Samira Alesaeidi. Electron Physician. 2016 Sep. doi: 10.19082/3024.

39. Cultivation and production of aromatic plants in Greece: present situation, possibilities and prospects. Panagiotis Stefanou, Dimitris Baloutas, Dimitris Katsinikas, Eleni M Abraham. Apostolos P. Kyriazopoulos, Zoi Parissi, October 2015.
40. Καλλιέργεια χαμομηλιού και γλυκάνισου σε αγροδασικά συστήματα ελιάς. Γ. κατσούλης. Ορεστιάδα 2021.
41. Αρωματικά φαρμακευτικά φυτά, βασιλικός, χαμομήλι, εχινάτσια. Παπαιωάννου Αθανασία . Μεσολόγγι 2011.
42. Recent Advances in Supercritical Fluid Extraction of Natural Bioactive Compounds from Natural Plant Materials. Pascaline Aimee Uwineza* and Agnieszka Waśkiewicz. Molecules. 2020 Sep. doi: 10.3390/molecules25173847.
43. Solvent-Free Microwave Extraction: An Innovative Tool for Rapid Extraction of Essential Oil from Aromatic Herbs and Spices. Marie E. Lucchesi, Farid Chemat, Jacqueline Smadja. Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy_14 Jun 2016. <https://doi.org/10.1080/08327823.2004.11688514>.
44. Innovation in a Continuous System of Distillation by Steam to Obtain Essential Oil from Persian Lime Juice (*Citrus latifolia* Tanaka). José Daniel Padilla-de la Rosa, Magaly Dyanira Manzano-Alfaro, Jaime Rosalío Gómez-Huerta, Enrique Arriola-Guevara, Guadalupe Guatemala-Morales, Anaberta Cardador-Martínez, Mirna Estarrón-Espinosa. Molecules. 2021 Jul. doi: 10.3390/molecules26144172.
45. Effect of Different Green Extraction Methods and Solvents on Bioactive Components of Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) Flowers. Jana Šic Žlabur, Ivanka Žutić, Sanja Radman, Maja Pleša, Mladen Brnčić, Francisco J. Barba, Gabriele Rocchetti, Luigi Lucini, Jose M. Lorenzo, Rubén Domínguez, Suzana Rimac Brnčić, Ante Galić, Sandra Voća. Molecules. 2020 Feb. Doi: 10.3390/molecules25040810.
46. Μελέτη της χημικής σύστασης αιθέριων ελαίων ορισμένων αρωματικών φυτών της ελληνικής χλωρίδας. Χρυσανγή Γαρδέλη. Γεωπονικό παν. Αθηνών, τμήμα επιστήμης και τεχν. Τροφίμων, Αθήνα 2009.
47. Terpene core in selected aromatic and edible plants: Natural health improving agents. Jovana Petrović, Dejan Stojković, Marina Soković. Advances in Food and Nutrition Research Volume 90, 2019. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.009>.
48. Innovative Approaches for Recovery of Phytoconstituents from Medicinal/Aromatic Plants and Biotechnological Production. Radu Claudiu Fierascu, Irina Fierascu, Alina Ortan, Milen I. Georgiev, Elwira Sieniawska. Molecules. 2020 Jan. doi: 10.3390/molecules25020309.
49. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. Sukhdev Swami Handa, Suman Preet Singh Khanuja, Gennaro Longo, Dev Dutt Rakesh. United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology, Trieste, 2008.
50. Ultrasound: A clean, green extraction technology. Brijesh K.Tiwari. TrAC Trends in Analytical Chemistry, September 2015. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.013>.

51. Χρήση αιθέριων ελαίων κατά τη συντήρηση προϊόντων κρέατος. Πούλη Αγγελική. Τεχν. εκπ. ιδρ. Καλαμάτας, 2012.
52. The role of quercetin in plants. Priyanka Singh, Yamshi Arif, Andrzej Bajguz, Shamsul Hayat. Plant Physiol Biochem, 2021, Sep. doi: 10.1016/j.plaphy.2021.05.023.
53. Dynamic expressions of monocyte chemo attractant protein-1 and CC chamomile receptor 2 after balloon injury and their effects in intimal proliferation. Zhigang Huang, Yuebing Li, Lili Niu, Yang Xiao, Xiaodong Pu, Hairong Zheng, Ming Qian. Biomed Eng Online. 2015. doi: 10.1186/s12938-015-0030-8.
54. Health Promoting Benefits of Chamomile in the Elderly Population. Janmejai K .Srivastava, Sanjay Gupta. Complementary and Alternative Therapies and the Aging Population, 2009. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374228-5.00008-1>.
55. Comparative Analysis of Phenolic Composition of Six Commercially Available Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) Extracts: Potential Biological Implications. Maria Valeria Catani, Federica Rinaldi, Valentina Tullio, Valeria Gasperi, Isabella Savini. Mol Sci 2021 Sep. DOI: 10.3390/ijms221910601.
56. Radical scavenging and antioxidant effects of *Matricaria chamomilla* polyphenolic–polysaccharide conjugates. Joanna Kolodziejczyk-Czepas Michal Bijak, Joanna Saluk, Michal B.Ponczek, Halina M. Zbikowska, Pawel Nowak, Marta Tsirigotis-Maniecka, International Journal of Biological Macromolecules, January 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.09.032>.
57. Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Chamomile Flowers Essential Oil (*Matricaria chamomilla* L.). Ljiljana P. Stanojevic, Zeljka R. Marjanovic-Balaban, Vesna D. Kalaba, Jelena S. Stanojevic & Dragan J. Cvetkovic. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 23 Dec 2016. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2016.1224689>.
58. Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and methanol extract of *Matricaria chamomilla* L. from Djibouti. Fatouma M. Abdoul-Latif¹, Nabil Mohamed, Prosper Edou, Adwa A. Ali, Samatar O. Djama, Louis-Clément Obame, Ismael H. N. Bassolé Mamoudou H. Dicko. Journal of Medicinal Plants Research, 4 May, 2011.
59. Gas chromatography of essential oil: State-of-the-art, recent advances, and perspectives. Cecilia gagliero, carlo bicchi, arianna Marengo, patrizia rubiolo, Barbara sgorbini. Separation science, 3 october 2021. Doi: 10 3002/jss202100681.
60. Introduction to modern liquid chromatography. Lloyd R. Snyder, Joseph J. Kirkland, John W. Dolan. John Wiley and sons publication, 2010. <http://www.wiley.com/go/permission>.
61. Εκχύλιση βιοδραστικών ενώσεων από το άγριο τριαντάφυλλο με χρήση ενζυμικών συστημάτων. Γκρίβαλου Αναστασία Μαρία. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα 2020.
62. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. Hua Zhang, Rong Tsao. Current Opinion in Food Science, April 2016. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.02.002>.

63. Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. Zhaoming Yan, Yinzhaohong, Yehui Duan, Qinghua Chen, Fengna Li. *Animal Nutrition*, June 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.01.001>.
64. Polyphenols and Flavonoids. Satish Kumar Garg, Amit Shukla, Soumen Choudhury. *Nutraceuticals in Veterinary Medicine*, 187–204, 22 May 2019.
65. Polyphenols and flavonoids an overview. Jaime A. Yáñez, Connie M. Remsberg, Jody K. Takemoto, Karina R. Vega-Villa, Preston K. Andrews, Casey L. Sayre, Stephanie E. Martinez, and Neal M. Davies. *Flavonoid Pharmacokinetics: Methods of Analysis, Preclinical and Clinical Pharmacokinetics, Safety, and Toxicology*, First Edition, 2013.
66. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites *versus* parent compounds: A review. Sandrina A. Heleno, Anabela Martins, Maria João R.P. Queiroz, Isabel C.F.R. Ferreira. *Food Chemistry*, 15 April 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.057>.
67. Bioavailability of phenolic acids. Sophie Lafay, Angel Gil-Izquierdo. Springer Science+Business Media B.V. 2007. DOI 10.1007/s11101-007-9077-x.
68. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. Naresh Kumar, Nidhi Goel. *Biotechnology Reports*, December 2019. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>.
69. Antidiabetic Effects of Simple Phenolic Acids: A Comprehensive Review. Ramachandran Vinayagam, Muthukumaran, Jayachandran, Baojun Xu. *Phytotherapy Research*, 04 December 2015. <https://doi.org/10.1002/ptr.5528>.
70. The Shikimate Pathway: Early Steps in the Biosynthesis of Aromatic Compounds. Klaus M. Herrmann. *American Society of Plant Physiologists, The Plant Cell*, Vol. 7, 907-919, July, 1995.
71. Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures. Rajeev K. Singla, Ashok K. Dubey, Arun Garg, Ramesh K. Sharma, Marco Fiorino, Sara M. Ameen, Moawiya A. Haddad, Masnat Al-Hiary. *Journal of AOAC International* Vol. 102, 2019. Doi: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.19-0133>.
72. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. Nan Shen, Tongfei Wang, Quan Gan, Sian Liu, Li Wang, Biao Jin. *Food Chemistry*, 30 July 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531>.
73. Antidiabetic Potential of Flavonoids from Traditional Chinese Medicine: A Review. Lan Bai, Xiaofang Li, Li He, Yu Zheng, Haiying Lu, Jinqi Li, Lei Zhong, Rongsheng Tong, Zhongliang Jiang, Jianyou Shi, Jian Li. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2019. DOI: 10.1142/S0192415X19500496.
74. The Effects of Flavonoids in Cardiovascular Diseases. Lorena Ciumărnean, Mircea Vasile Milaciu, Octavia Runcan, Ștefan Cristian Vesa, Andreea Liana Răchișan, Vasile Negrean, Mirela-Georgiana Perné, Valer Ioan Donca, Teodora-Gabriela Alexescu, Ioana Para, Gabriela Dogaru. *Molecules*, 2020 Sep. doi: 10.3390/molecules25184320.
75. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. Rong Tsao. *Nutrients*. 2010 Dec. doi: 10.3390/nu2121231.

76. Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review. Muhammad Imran AbdurRauf Tareq Abu-Izneid Muhammad Nadeem Mohammad Ali Shariati Imtiaz AliKhan AliImran Ilkay Erdogan Orhan Muhammad Rizwan Muhammad Atif Tanweer Aslam Gondal Mohammad S. Mubarak. Biomedicine & Pharmacotherapy, April 2019. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108612>.
77. Antioxidant properties of myricetin and quercetin in oil and emulsions. Andrea Roedig-Penman, Michael H. Gordon. Journal of the American oil chemist's society, 01 February 1998. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0029-4>.
78. Isoflavones. Ludmila krizova, Katerina Dadakova, Jitka kasparovska Tomas kasparovsky. Molecules 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24061076>.
79. Analysis and biological activities of anthocyanins. Jin-MingKong, Lian-SaiChia, Ngoh-KhangGoh, Tet-FattChia, R.Brouillard. Phytochemistry, November 2003. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00438-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00438-2).
80. Wine Chemistry and Biochemistry. M. Victoria Moreno-Arribas · M. Carmen Polo. Springer Science-Business Media, LLC 2009. DOI 10.1007/978-0-387-74118-5.
81. Polyphenols-based Nanotherapeutics for Cancer Management. Shams Tabrez, Mohammad Imran Khan. Springer Nature Singapore, 2021. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-4935-6>.
82. In Vitro Metabolism of Plant Lignans: New Precursors of Mammalian Lignans Enterolactone and Enterodiols. Satu Heinonen, Tarja Nurmi, Kirsi Liukkonen. Kaisa Poutanen, Kristiina Wähälä, Takeshi Deyama, Sansei Nishibe, Herman Adlercreutz. Agricultural food chemistry, 2001.
83. Naturally Lignan-Rich Foods: A Dietary Tool for Health Promotion? Carmen Rodriguez-Garcia, Cristina Sanchez- Quesada, Estefania Toledo, Miguel Delgado- Rodriguez, Jose J. Gaforio. MDPI, 6 March 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24050917>.
84. Tannins and Human Health: A Review. King-Thom Chung , Tit Yee Wong , Cheng-I Wei , Yao-Wen Huang & Yuan Lin. Food science and nutrition, 03 Jun 2010. <https://doi.org/10.1080/10408699891274273>.
85. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. KevinRobards. Journal of Chromatography, 6 June 2003. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00058-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00058-X).
86. International Review of cytology. A survey of cell biology. Kwang W. Jeon. Elsevier, 2004.
87. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. Lien Ai Pham-Huy, Hua He, Chuong Pham-Huy. Int J Biomed Sci. 2008 Jun.
88. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. Alugoju Phaniendra, Dinesh Babu Jestadi, Latha Periyasamy. Indian J Clin Biochem. 2015 Jan. doi: 10.1007/s12291-014-0446-0.
89. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. Michael Schieber, Navdeep S.Chandel. Current biology, 19 may 2014. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034>.

90. The phenylpropanoid pathway and plant defence—a genomics perspective. Richard A. Dixon, Lahoucine Achnine, Parvathi Kota, Chang-jun Liu, M. S. Srinivasa Reddy, Liangjiang Wang. *Molecular Plant Pathology*, 30 August 2002. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2002.00131.x>
91. Meyer, A.S., Yi, O.S., Pearson, D.A., Waterhouse, A.L., & Frankel, E.N., 1997. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(5), 1638-1643.
92. Baderschneider, B., Luthria, D., Waterhouse, A.L., & Winterhalter, P., 2015. Antioxidants in white wine (cv. Riesling): I. Comparison of different testing methods for antioxidant activity. *VITIS-Journal of Grapevine Research*, 38(3), 127-131.
93. Singleton, V.L., & Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
94. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C.L.W.T., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
95. Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., and Terao, J., 1998. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 62(6), 1201-1204.
96. Gadow, A., Joubert, E., Hansmann, G. F., 1997. Comparison of antioxidant Activity of Aspalathin with that of other Plant Phenols of Rooibos Tea... *J. Agric. Food Chem.*, 45, 632-635.
97. Ryan, B. F., Joiner, B. L., Cryer, J. D. "MINITAB Handbook: Updated for release 14", Pacific Grove, Duxbury, CA, USA, 2005.