



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ
ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΥΝΑΜΗΣ
ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΟΡΟΥΣ ΚΟΖΙΑΚΑ

ΕΥΦΡΟΣΥΝΗ Ν. ΠΑΠΑΘΕΟΥ
MSc Δασολόγος Περιβαλλοντολόγος

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Ελένη Βογιατζή – Καμβούκου

Λάρισα 2023

Thesis: Study on the antioxidant activity of aromatic and pharmaceutical plants of Koziakas mountain.

Μέλη Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

Ελένη Βογιατζή – Καμβούκου

Νικόλαος Γκουγκουλιάς

Αθανάσιος Μανούρας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, κα Βογιατζή Ελένη για την ανάθεση του θέματος, τον κ. Γκουγκουλιά Νικόλαο για τη βοήθεια του στη διεξαγωγή των πειραμάτων και τον κ. Μανούρα Αθανάσιο για την παραχώρηση του εργαστηριακού εξοπλισμού στο Τμήμα Διατροφής και Διαιτολογίας.

Στην οικογένεια μου
Ευφροσύνη Ν. Παπαθέου
Λάρισα, 2023

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	8
1. Ιστορικά Στοιχεία.....	8
1.1. Ασκληπιός.....	9
2. Τα Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά στη Ελλάδα.....	10
2.1. Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά Όρους Κόζιακα.....	10
2.1.1. Ρίγανη.....	10
2.1.2. Υπέριχο.....	11
2.1.3. Λεβάντα.....	12
2.1.4. Τσάι του βουνού.....	13
2.1.5. Ελλέβορος.....	14
2.1.6. Αρτεμισία.....	15
2.1.7. Άγρια Μέντα - Φλισκούνη.....	16
2.1.8. Δυόσμος.....	16
2.1.9. Μελισσόχορτο.....	17
3. Χρήσεις Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών.....	19
4. Περί Αιθέριων Ελαίων – Τρόποι Παραλαβής.....	21
4.1. Απόσταξη.....	21
4.1.1. Υδροαπόσταξη - Απόσταξη με νερό.....	21
4.1.2. Υδροατμοαπόσταξη - Απόσταξη με Νερό και Υδρατμούς.....	22
4.1.3 Απόσταξη με Υδρατμούς (steam distillation).....	22
4.2. Εκχύλιση.....	23
4.2.1. Εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες.....	23
4.2.2 Εκχύλιση με ψυχρό λίπος.....	24
4.2.3. Εκχύλιση με θερμό λίπος.....	25
4.3. Μηχανική Παραλαβή.....	25
4.4. Απόδοση και Σύσταση Αιθέριων Ελαίων.....	25
5. Πολυφαινόλες.....	26
5.1. Γενικά.....	26
5.2. Βιοσύνθεση Πολυφαινολών.....	27
5.3. Ταξινόμηση Πολυφαινολών.....	28
5.3.1. Φλαβονοειδείς Πολυφαινόλες.....	28
5.3.2. Μη Φλαβονοειδείς Πολυφαινόλες.....	30

5.3.3. Ταννίνες.....	30
5.3.4. Λιγνάδια	31
5.3.5. Λιγνίνες	31
5.4. Ελεύθερες Ρίζες και Αντιοξειδωτικά	31
5.5. Επίδραση Πολυφαινολών στην Ανθρώπινη Υγεία	33
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	35
6. Σκοπός του Πειράματος	35
6.1. Υλικά και Μέθοδοι.....	35
6.2. Περιοχή έρευνας.....	35
6.3. Φυτικό Υλικό	36
6.4. Τεχνική.....	36
6.4.1 Παραλαβή Αιθέριων Ελαίων.....	36
6.4.2. Προσδιορισμός Ολικών Φαινολών	37
6.4.3. Προσδιορισμός της αντιριζικής ενεργητικότητάς με το ελεύθερο σταθερό ριζικό DRPH.....	38
6.4.4. Προσδιορισμός του συντελεστή αναστολής (IC ₅₀).....	39
6.4.5. Στατιστική ανάλυση	39
6.5. Αποτελέσματα - Συζήτηση.....	40
7. Συμπεράσματα.....	45
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	46

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία προσδιορίστηκε η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών ορισμένων αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών που αυτοφύονται στην περιοχή του όρους Κόζιακα. Μελετήθηκαν συνολικά δέκα είδη, που αναπτύσσονται σε ελάχιστο υψόμετρο τα 850μ. και μέγιστο τα 1900μ. αντίστοιχα. Προσδιορίστηκαν οι ολικές φαινόλες και κυμάνθηκαν από 356-1638 mg GAE ανά ml. Για τον υπολογισμό της αντιοξειδωτικής δράσης, οι τιμές IC₅₀ κυμάνθηκαν από 59-154 mg/ml. Επιπλέον, για το είδος Υπέρικο εξετάστηκε το υψόμετρο ως παράγοντας συγκέντρωσης φαινολών και αντιοξειδωτικής ισχύος. Τέλος, παρουσιάστηκαν οι διαφορές στα δύο είδη Σιδερίτη (*Sideritis scardica* - *Sideritis perfoliata*) που αυτοφύονται στην περιοχή του Κόζιακα.

ABSTRACT

In this work, was determined the antioxidant activity of the polyphenols of some aromatic and medicinal plants that grow naturally in the area of Mount Koziakas. A total of ten species were studied, which grow at a minimum altitude of 850m. and maximum 1900m. respectively. Total phenols were determined and ranged from 356-1638 mg GAE per ml. For the calculation of antioxidant activity, the IC₅₀ values ranged from 59-154 mg/ml. For the Hypericum species, altitude was examined as a major factor in phenol concentration and antioxidant activity. Finally, the differences in the two species of Sideritis (*Sideritis scardica* - *Sideritis perfoliata*) that grow naturally in the area of Koziakas were presented.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ιστορικά Στοιχεία

Από τα πρώτα χρόνια της ύπαρξης του ανθρώπου στη γη εντοπίζεται και χρονικά η χρήση των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών (Jamshedji - Kia et. al. 2018). Οι ανασκαφές που διενεργήθηκαν σε τάφους των Περσών, των Βαβυλωνίων, των Χετταίων και των Χαϊδαίων, στις πυραμίδες της Αιγύπτου και την Ελλάδα αποκάλυψαν σπόρους φυτών, γεγονός που αποδεικνύει τη χρήση τους από τον άνθρωπο ως βελτιωτικά της γεύσης, ως φάρμακα είτε ως καλλυντικά, ήδη 60.000 χρόνια πριν από σήμερα (Tesseromatis, 2020).

Οι πρώτες επιβεβαιωμένες μαρτυρίες της χρήσης βοτάνων για την παρασκευή φαρμάκων, εντοπίστηκαν στην Ναγκπούρ σε πλίνθινη πλάκα σουμερικής γραφής, που χρονολογείται 5000 χρόνια πριν (Bhardwaj et al. 2018; Jamshidi - Kia et. al. 2018; Solomou et al. 2016; Petrovska, 2012).

Η θεραπευτική των αρχαίων Ελλήνων εξελίχθηκε σε τρεις περιόδους, την Προϊπποκρατική (3000-5ος αι. π.Χ.), την Ιπποκρατική (5ος -3ος αι. π.Χ.) και την Αλεξανδρινή ή Ελληνιστική (Σκαλτσά, 2015). Προϊπποκρατικά, η θεραπευτική είχε θεοκρατικό χαρακτήρα και συνοδευόταν από επικλήσεις. Στα ομηρικά έπη εμφανίζονται οι πρώτες καταγραφές χρήσης φαρμακευτικών σκευασμάτων για την επούλωση πληγών και την αντιμετώπιση του πόνου (Tesseromatis, 2020; Petrovska, 2012). Ακολουθεί η Θεογονία του Ησίοδου με αναφορές στα φαρμακευτικά φυτά (Σκαλτσά, 2015; Petrovska, 2012).

Η Ιπποκρατική περίοδος θεωρείται η πρώτη κλασσική βαθμίδα της σύγχρονης Ιατρικής. Ο Ιπποκράτης (460-370 π.Χ.) θεωρείται θεμελιωτής της ιατρικής επιστήμης, καθώς διαχώρισε την ορθολογική Ιατρική από τη δεισιδαιμονία και τη στήριξε στην παρατήρηση και το πείραμα (Σκαλτσά, 2015). Στα σωζόμενα έργα του περιλαμβάνονται θεραπευτικές ιδιότητες τριακόσιων περίπου δρογών φαρμακευτικών βοτάνων. Συνεχιστής του ο Θεόφραστος (372-287 π.Χ.), εδραίωσε τη Βοτανική επιστήμη και εισήγαγε την συστηματική κατάταξη των φυτών (Bhardwaj et al. 2018; Zunic et al. 2017; Petrovska, 2012).

Κατά την Αλεξανδρινή περίοδο, ο Διοσκουρίδης (1ος αι. μ.Χ.) στο έργο του «Περί Ιατρικής», αναγνωρίζει και περιγράφει περί τα εξακόσια είδη φυτών, κατατάσσοντας τα ανάλογα την μορφολογία τους (Zunic et al. 2017; Petrovska, 2012). Στο έργο του γίνονται οι πρώτες αναφορές σε φαρμακοτεχνικές μεθόδους, όπως απόσταξη, κρυστάλλωση, εκκαμίνευση. Ο Γαληνός (129-216 μ.Χ.) κωδικοποίησε και εμπλούτισε το έργο του Ιπποκράτη, σώζονται περί τα ογδόντα πέντε ιατρικά συγγράμματα, στα οποία αναφέρονται συνταγές και τρόποι παρασκευής φαρμάκων (Σκαλτσά, 2015).

1.1. Ασκληπιός

Το όνομα του Ασκληπιού είναι άρρηκτα συνδεδεμένο με την Ιατρική επιστήμη. Σύμφωνα με τον Όμηρο, γεννήθηκε στην Τρίκκη (Τρίκαλα Θεσσαλίας) με επικρατέστερη χρονολογία το 1240 π.Χ.. Γιος του Απόλλωνα και της Κορωνίδας, θεοποιήθηκε και η φήμη του εξαπλώθηκε στον Ελλαδικό και Μεσογειακό χώρο. Μαθήτευσε πλάι στο Χείρωνα στο Πήλιο και έδρασε κυρίως στην περιοχή των Τρικάλων, όπου σύμφωνα με το Στράβωνα εγκατέστησε το αρχαιότερο και επιφανέστερο Ασκληπιείο (Paragiannis and Rachiotis, 2019; Mironidou - Tzouveleki and Tzitzis, 2014; Zunic et al. 2017; Ζιάκας, 1992).

Σύμφωνα με καταγραφές, οι θεραπευτικές ικανότητες του Ασκληπιού συνίσταντο στη βοτανοθεραπεία, τη λουτροθεραπεία, την κρασοθεραπεία, την αιματοθεραπεία, τη θεραπεία με Μόλυ (Μανδραγόρα), το Νηπενθές, σε ήπια και οδυνήφατα φάρμακα προς για την αντιμετώπιση τραυμάτων και διάφορα παυσίπονα και αιμοστατικά. Η συλλογή των ιαματικών βοτάνων γινόταν στο Κερκέτιο Όρος, όπου έως και σήμερα αυτοφύεται σημαντικός αριθμός φαρμακευτικών φυτών, και στις γύρω περιοχές εγκαταστάθηκαν τα πρώτα «φαρμακοτριβεία» (Ζιάκας, 1992).

Στην περιοχή των Τρικάλων ιδρύθηκε το πρώτο «υγεινοθεραπευτήριο», το πρώτο Ασκληπιείο, ως θεραπευτικό κέντρο αλλά και ως χώρος λατρείας και μαντείας (Paragiannis and Rachiotis, 2019; Σκαλτσά, 2015; Ζιάκας, 1992). Αρχαιολογικές μελέτες καταμετρούν πάνω από τριακόσια Ασκληπιεία στην αρχαία Ελλάδα, με σημαντικότερα της Κω, της Επιδαύρου, της Περγάμου και της Κορίνθου (Σκαλτσά, 2015; Christopoulou-Aletra et al. 2009). Τα Ασκληπιεία αποτέλεσαν την απαρχή της υποδομής της υγειονομικής περίθαλψης σε πανευρωπαϊκό επίπεδο και η λειτουργία τους βασίστηκε στην ολιστική ιατρική προσέγγιση των θεραπευόμενων (Paragiannis and Rachiotis, 2019; Zunic et al. 2017; Σκαλτσά, 2015; Christopoulou-Aletra et al. 2009).

2. Τα Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά στη Ελλάδα

Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά κυριαρχούν σε μεσογειακού τύπου οικοσυστήματα. Η Ελλάδα, αν και χώρα μικρής αναλογικά έκτασης, απαριθμεί περισσότερα από 6.000 είδη και υποείδη φυτών. Η φυτική βιοποικιλότητα της χώρας οφείλεται στις ευνοϊκές εδαφοκλιματικές συνθήκες σε συνδυασμό με γεωμορφολογικούς παράγοντες (Βογιατζή - Καμβούκου 2018; Solomou et al. 2016; Christaki et al.2012; Σκρουμπής, 1985).

Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, αποτελούν σημαντικό μέρος της ελληνικής χλωρίδας. Ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον επικεντρώνεται στην οικογένεια Labiatae με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Αν και η καλλιέργεια τους αποδίδει προϊόντα εξαιρετικής ποιότητας και υψηλής οικονομικής αξίας, η αξιοποίηση τους παρουσιάζει διακυμάνσεις (Cheminal et al. 2020; Stefanou et al. 2015).

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται κάποιο ενδιαφέρον για την αξιοποίηση των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. Από στοιχεία του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, οι καλλιεργούμενες εκτάσεις αφορούν κυρίως ρίγανη, βασιλικό, κρόκο, χαμομήλι. Οι λόγοι που δυσχεραίνουν τη συστηματική καλλιέργεια σχετίζονται με την έλλειψη επαρκών γνώσεων τόσο σε τεχνικά θέματα καλλιέργειας, όσο και σε θέματα διάθεσης προϊόντων. Επιπλέον, πρόβλημα αποτελεί η έλλειψη πιστοποιημένου σπόρου και πολλαπλασιαστικού υλικού, γεγονός που υποβαθμίζει την ποιότητα του τελικού προϊόντος (Βογιατζή - Καμβούκου 2018; Stefanou et al. 2015).

2.1. Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά Όρους Κόζιακα

2.1.1. Ρίγανη

Η ρίγανη - *Origanum vulgare*- ανήκει στην οικογένεια Labiatae. Είναι πολυετής πόα, με διαφοροποιήσεις τόσο στα είδη, όσο και στους πληθυσμούς. Παρουσιάζει μεγάλο εύρος διασποράς και μεγάλη παραλλακτικότητα, λόγω της έντονης ποικιλομορφίας (Lotti et al. 2019; Bosabalidis and Kokkini, 1997).



Εικόνα 2.1 : Ρίγανη

Αναπτύσσεται σε Ευρώπη, Ασία, Αμερική και Αφρική. Αυτοφύεται σε πολλές περιοχές της Ελλάδας, σε διάφορες εδαφοκλιματολογικές συνθήκες και παράλληλα καλλιεργείται, καθώς παρουσιάζει ιδιαίτερο οικονομικό ενδιαφέρον (Βογιατζή - Καμβούκου, 2018; Sakkas and Papadopoulou, 2017; Gavalas et al.2011; Goliaris et al. 2003). Στην Ελλάδα απαντώνται τα παρακάτω είδη:

- *Origanum heracleoticum* L.: πόα ύψους 30-80 εκ. και αυτοφύεται σε όλη την Ελλάδα και αποτελεί βασικό προϊόν εξαγωγής.
- *Origanum vulgare* L.: αναπτύσσεται σε χερσότοπους και σε δασικές εκτάσεις, αλλά εντοπίζεται και σε νησιωτικές περιοχές, Νάξο, Κέρκυρα, Κεφαλλονιά, Εύβοια.
- *Origanum maru* L.: αυτοφύεται σε ξηρούς και βραχώδεις τόπους στην Κρήτη.
- *Origanum onites* L.: «νησιωτική ρίγανη», βρίσκεται στην αττική Κρήτη και νησιά του Αιγαίου.
- *Origanum dubium*: αυτοφύεται στη Νάξο και συλλέγεται για να καλύψει τοπικές ανάγκες (Βογιατζή – Καμβούκου, 2018; Σκρουμπής, 1985).

Η ρίγανη είναι πολυετής πόα ύψους 20-80 εκ., με αντίθετα ελλειπτικά φύλλα και συνθέτη ταξιανθία στάχων με ιωδόλευκα άνθη. Ωστόσο, η μορφολογία διαφοροποιείται ανάλογα τον πληθυσμό.

Οι ανθοφόρες κορυφές, κυρίως σε μορφή ξηρής δρόγης, χρησιμοποιούνται ως αρτυματικό. Οι θεραπευτικές ιδιότητες της έχουν αναγνωριστεί από την αρχαιότητα, καθώς αναφορές στη χρήση της έχουν γίνει από τον Ιπποκράτη, το Διοσκουρίδη, τον Παράκελσο. Θεωρείται τονωτικό, διεγερτικό, ευστόμαχο, αντιβηχικό, διουρητικό, καθαρτικό και εμμηναγωγό. Το αιθέριο έλαιο που προκύπτει από τη ρίγανη περιέχει καρβακρόλη, θυμόλη, φλαβονοειδή και πικραντικές ουσίες, ωστόσο η περιεκτικότητα εξαρτάται από τις εδαφοκλιματικές συνθήκες της περιοχής ανάπτυξης του φυτού. Επιπλέον, μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην αντιβακτηριακή και αντιμυκητιακή του δράση. Βρίσκει εφαρμογή στη φαρμακοβιομηχανία, την αρωματοποιία και τη βιομηχανία τροφίμων (Lotti et al. 2019; Βογιατζή - Καμβούκου, 2018; Sakkas and Papadopoulou, 2017; Adam et al.1998) .

2.1.2. Υπέριχο

Το υπέριχο – *Hypericum* – ανήκει στην οικογένεια *Hypericaceae*, είναι γνωστό ως βαλασομόχορτο, σπαθόχορτο ή βότανο του Αγίου Ιωάννη (St. John's Wort). Αυτοφύεται σε Ευρώπη, Ασία και Νότια Αμερική, αλλά λόγω της αυξημένης ζήτησης αναπτύσσονται καλλιέργειες σχεδόν σε παγκόσμιο επίπεδο. Στην Ελλάδα απαντάται σε ορεινές, χέρσες και ξηρές τοποθεσίες (Franchi et al.2011; Istikoglou et al.2010).

Το *Hypericum perforatum* είναι πολυετής πόα ύψους 20-80 εκ., έχει φύλλα αντίθετα, άμισχα και ελλειπτικά. Τα άνθη του σχηματίζουν ταξιανθία φόβη και είναι χρυσοκίτρινα διαμέτρου 2 εκ (Klemow et al. 2011).



Εικόνα 2.2: Υπέρικο

Αναφορές για τις φαρμακευτικές του ιδιότητες, καταγράφονται από την αρχαιότητα. Η θεραπευτική του δράση οφείλεται τόσο στα φλαβονοειδή, όσο και στις δραστικές ουσίες που περιέχει, κυρίως στην υπερικίνη, την ψευδο-υπερικίνη και την υπεροφίνη. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον επικεντρώνεται στην υπερικίνη, στην οποία οφείλεται η ερυθρωπή χροιά του αιθέριου ελαίου, φωτοτοξική ουσία και προκαλεί δερματοπάθειες (Franchi et al.2011; Klemow et al. 2011; Crockett, 2010; Istikoglou et al. 2010).

Στη λαϊκή ιατρική χρησιμοποιείται για την επούλωση πληγών και εγκαυμάτων. Αποτελεί βασική πρώτη ύλη στην παραγωγή φαρμακευτικών σκευασμάτων, καθώς θεωρείται αναλγητικό, διουρητικό, αντικαταθλιπτικό, με αντισηπτική και αντιμικροβιακή δράση (Franchi et al.2011; Klemow et al.2011; Crockett, 2010; Istikoglou et al. 2010). Επιπλέον, πειραματικά πρωτόκολλα είναι σε εξέλιξη σχετικά με τη θεραπευτική τους δράση σε ασθένειες όπως καρκίνος, AIDS και ηπατίτιδα (Istikoglou et al. 2010).

2.1.3. Λεβάντα

Η λεβάντα -*Lavandula angustifolia*- ανήκει στην οικογένεια των Lamiaceae. Αυτοφύεται σε ξηρικές συνθήκες, σε ορεινές και ημιορεινές περιοχές (Najar et al. 2019). Είναι πόα ύψους 30-60 εκ., με ορθούς βλαστούς, αντίθετα φύλλα και κυανά άνθη που σχηματίζουν επιμήκεις κυλινδρικούς στάχεις (Σκρουμπής, 1985).



Εικόνα 2.3 : Λεβάντα

Αποδίδει εξαιρετικής ποιότητας αιθέριο έλαιο, με ιδιαίτερο οικονομικό ενδιαφέρον. Εκτιμάται, πως πάνω από 200 τόνοι αιθέριου ελαίου παράγονται ετησίως σε παγκόσμιο επίπεδο (Najar et al. 2019). Κύριες δραστικές ουσίες η λιναλοόλη και ο οξικός λιναλυλεστέρας, στις οποίες οφείλονται και οι θεραπευτικές ιδιότητες της λεβάντας. Έχει αντιβακτηριακή, αντιμυκητιακή, χαλαρωτική, αναπλαστική δράση και βρίσκει εφαρμογές στην αρωματοποιία, τη σαπωνοποιία, την φαρμακευτική και τον κλάδο τροφίμων (Najar et al. 2019; Wells et al. 2018; Adam et al.1998).

2.1.4. Τσάι του βουνού

Το Τσάι του βουνού – Sideritis - ανήκει στην οικογένεια των Lamiaceae και περιλαμβάνει πάνω από 150 ετήσια και πολυετή φυτικά είδη. Αυτοφύεται σε παραμεσόγειες περιοχές, τα Βαλκάνια, την κεντρική Ευρώπη και την δυτική Ασία. Αναπτύσσεται σε βραχώδεις, επικλινείς περιοχές, σε υψόμετρο άνω των 1000 μέτρων (European Medicines Agency, 2016).



Εικόνα 2.4 : Τσάι του βουνού

Στην Ελλάδα, ανάλογα τη γεωγραφική περιοχή αυτοφύονται διαφορετικά είδη.

- Sideritis perfoliata: μπεττόνικα, βρίσκεται στον Άθω, τη Σαμοθράκη και την Πίνδο
- Sideritis scardica: τσάι του Ολύμπου

- *Sideritis clandestina*: τσάι του Ταϋγέτου ή του Μαλεβού
- *Sideritis raeseri*: τσάι Παρνασσού ή Βελουχίου
- *Sideritis syriaca*: τσάι της Κρήτης, γνωστό ως μαλοτήρα
- *Sideritis euboica*: αυτοφύεται στην περιοχή της Ευβοίας (European Medicines Agency, 2016; Σκρουμπής, 1985).

Αναφορές στις θεραπευτικές του ιδιότητες του σιδερίτη καταγράφονται από το Θεόφραστο και το Διοσκουρίδη. Σαν αφέψημα έχει καταπραϋντικές, αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Επιπλέον, παρουσιάζει αναλγητική, αντιφλεγμονώδη, σπασμολυτική, αγχολυτική και αντιμικροβιακή δράση (European Medicines Agency, 2016 ; González -Burgos et al. 2011). Ενδείκνυται κατά της δυσπεψίας, της διάρροιας και της υδρωπικίας (Βογιατζή – Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017).

Οι φαρμακευτικές ιδιότητες του σιδερίτη οφείλονται στα διτερπένια, τα φλαβονοειδή και τα αιθέρια έλαια (González-Burgos et al. 2011). Τα κυριότερα συστατικά του αιθέριου ελαίου είναι το α-πιπένιο, το β-πιπένιο και σε μικρότερες ποσότητες καρβακρόλη και αθηνόλη (Βογιατζή – Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017).

2.1.5. Ελλέβορος

Ο Ελλέβορος - *Helleborus* - ανήκει στην οικογένεια των *Ranunculaceae* και το γένος απαριθμεί πάνω από 20 είδη (Fassou et al. 2020; Maior and Dobrotă, 2013). Είναι πολυετής ριζωματούδης πόα με κιτρινοπράσινα άνθη, που αναπτύσσεται σε ορεινές περιοχές. Στην Ελλάδα φύεται ο *Helleborus cyclophyllus*, γνωστός με το όνομα σκάρφη. (Σκαλτσά, 2015).

Χρησιμοποιείται για τις φαρμακευτικές του ιδιότητες από την αρχαιότητα, για την αντιμετώπιση της μανίας, της παραφροσύνης, της μελαγχολίας, δερματικών παθήσεων αλλά και ως αναλγητικό και ενθελμινθικό. Αναφέρεται επίσης ως εμετικό και εκτροπικό (Fassou et al. 2020; Σκαλτσά, 2015).



Εικόνα 2.5: Ρίζες Ελλέβορου

Από το ριζικό της σύστημα έχουν απομονωθεί δραστικές ουσίες, με σημαντικότερη όλων την ελλεβρίνη, που ανήκει στους καρδιοτονωτικούς γλυκοζίτες. Η ελλεβρίνη έχει ένα ευρύ φάσμα θεραπευτικών δράσεων, θεωρείται καρδιοτονωτικό, ηρεμιστικό, αντιοξειδωτικό, αντιμικροβιακό (Maior and Dobrotă, 2013). Επιπλέον, έρευνες φέρουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα στη χρήση της για την αντιμετώπιση κάποιων μορφών καρκίνου (Cakar et al. 2014). Ωστόσο, σε μεγάλη ποσότητα, ο ελλέβορος είναι τοξικός, προκαλεί προβλήματα στα πεπτικά όργανα, το κεντρικό νευρικό σύστημα, είναι δυνατό να προκαλέσει παράλυση αλλά και θάνατο (Σκαλτσά, 2015; Maior and Dobrotă, 2013).

2.1.6. Αρτεμισία

Η Αρτεμισία – *Artemisia absinthium*- ανήκει στην οικογένεια των Asteraceae. Αυτοφύεται σε εύκρατες περιοχές της Ασίας, της Ευρώπης και της Βόρειας Αφρικής, αλλά εντοπίζεται και στην Αμερική και τον Καναδά (Szopa et al. 2020; Bhat et al. 2019). Στην Ελλάδα είναι γνωστό με το όνομα αφινθιά, πέλινο, μελιτίνη (Βογιατζή -Καμβούκου, 2018).

Είναι πολυετής πόα που φτάνει σε ύψος 1,5 m. με πλούσιο ριζικό σύστημα. Οι βλαστοί είναι ορθόκλαδοι, διακλαδισμένοι, ξυλοποιημένοι με αργυρόχρωμα τριχίδια. Τα φύλλα είναι δερματώδη, με ευθυτενή ταξιανθία (Βογιατζή - Καμβούκου, 2018).



Εικόνα 2.6: Αρτεμισία

Η αφινθιά χρησιμοποιείται ως φαρμακευτικό φυτό από την αρχαιότητα, για την αντιμετώπιση ασθενειών. Αναφορές για τη χρήση της γίνονται από το Διοσκουρίδη και το Γαληνό. Περιέχει αιθέρια έλαια και πικραντικές ουσίες με βασικότερες δραστικές ουσίες τη θυγιόνη και τη θυγιοναλκοόλη (Βογιατζή-Καμβούκου, 2018; Judzentiene et al. 2009). Παρουσιάζει αντισηπτικές, αντιβακτηριακές, αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Έχει διουρητική, καρδιοτονωτική, τονωτική, αντιπυρετική, αναλγητική,

ανθελμινθική και αντιφλεγμονώδη δράση (Szopa et al. 2020; Bhat et al. 2019, Judzentiene et al. 2009).

Επιπλέον, τα φύλλα της αρτεμισίας χρησιμοποιούνται στη μαγειρική. Αποτελεί πρώτη ύλη για την παραγωγή βερμούτ και αλκοολούχων ποτών, αν και σε αρκετές χώρες έχει απαγορευτεί η χρήση της στην ποτοποιία, λόγω της τοξικότητας που παρουσιάζει η θυγιόνη (Szopa et al. 2020; Βογιατζή -Καμβούκου, 2018).

2.1.7. Άγρια Μέντα - Φλισκούνη

Η Άγρια Μέντα - *Mentha pulegium*- ανήκει στην οικογένεια των *Lamiaceae*. Αν και δεν καλλιεργείται, πρόκειται για το είδος με τη μεγαλύτερη εμπορική αξία, καθώς αποδίδει υψηλής αξίας αιθέριο έλαιο. Αναπτύσσεται σε υγρές και ορεινές περιοχές (Zekri et al. 2013, Kanakis et al.2011).

Είναι πολυετής πόα με ορθόκλαδο βλαστό, ελαφρώς τριχωτό, φύλλα ωσειδή ή προμήκη με ιώδη άνθη (Κουτσός, 2006).



Εικόνα 2.7: Άγρια μέντα- Φλισκούνη

Το φλισκούνη χρησιμοποιείται ως αντισπασμωδικό, ηρεμιστικό, διεγερτικό, διουρητικό, αντιβηχικό και αποχρεμπτικό. Περιέχει ταννίνες, πικραντικές ουσίες και φλαβονοειδή. Το αιθέριο έλαιο έχει δυνατή και χαρακτηριστική οσμή, με βασική δραστική ουσία την πουλεγόνη, περιέχονται ακόμη μενθόλη, α- και β- πιπένια (Gaeini et al.2013; Zekri et al. 2013). Παρουσιάζει αντιοξειδωτική, αντισηπτική και αντιμικροβιακή δράση. Βρίσκει εφαρμογές στην φαρμακοβιομηχανία, την αρωματοποιία, τον κλάδο τροφίμων (Gaeini et al.2013; Zekri et al. 2013, Kanakis et al.2011).

2.1.8. Δυόσμος

Ο δυόσμος -*Mentha spicata*- ανήκει στην οικογένεια *Lamiaceae*. Αναπτύσσεται στην Ευρώπη και τις παραμεσόγειες περιοχές, αλλά και στην Ασία, Αφρική, Νότια Αμερική,

καθώς είναι φυτό ανθεκτικό σε υποτροπικά κλίματα (Girlini et al. 2016; Almeida et al.2010). Είναι κοινό αυτοφυές είδος στην ελληνική χλωρίδα, που εντοπίζεται σε ξηρικές περιοχές (Adam et al. 1998; Kokkini and Vokou, 1989).



Εικόνα 2.8: Δυόσμος

Στη λαϊκή ιατρική χρησιμοποιείται για την ανακούφιση αναπνευστικών και γαστρεντερικών ενοχλήσεων (Girlini et al. 2016). Έχει αντιοξειδωτικές, αντιβακτηριακές, αντιαλλεργικές, αντιμυκητιακές ιδιότητες και διουρητική και αντιπυρετική δράση (Almeida et al. 2010). Το αιθέριο έλαιο που απομονώνεται από το δυόσμο είναι οικονομικής σημασίας, καθώς αποτελεί πρώτη ύλη στην αρωματοποιία, φαρμακοβιομηχανία, τη ζαχαροπλαστική, αλλά και τη βιομηχανία τροφίμων ως αντιμικροβιακό και συντηρητικό (Girlini et al. 2016).

2.1.9. Μελισσόχορτο

Το μελισσόχορτο – *Melissa officinalis*- , είναι γνωστό και ως μελισσοβάλσαμο και κитροβάλσαμο, ανήκει στην οικογένεια *Lamiaceae*. Είναι πολυετής πόα μέγιστου ύψους 1 μ., που αναπτύσσεται στις μεσογειακές περιοχές, την Ευρώπη και την Ασία (Βογιατζή-Καμβούκου, 2018; Shakeri et al. 2016; Moradkhani et al. 2010).



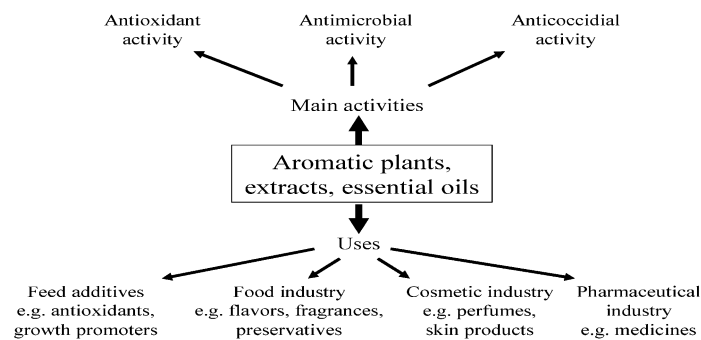
Εικόνα 2.9: Μελισσόχορτο

Πρώτες αναφορές στις φαρμακευτικές ιδιότητες του μελισσόχορτου καταγράφονται το 10^ο αιώνα μ.Χ. από το Διοσκουρίδη (Shakeri et al. 2016). Χρησιμοποιείται κυρίως ως σπασμολυτικό, καταπραϋντικό, αγχολυτικό (Moradkhani et al. 2010). Σημαντικός αριθμός ερευνών αναφέρεται στην αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή του δράση (Hassan et al. 2019). Επίσης κλινικές μελέτες συσχετίζουν τις νευροπροστατευτικές ιδιότητες του μελισσόχορτου με πιθανή πρόληψη παθήσεων του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (Shakeri et al. 2016).

3. Χρήσεις Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, ως φαρμακευτικό φυτό ορίζεται κάθε φυτό που σε ένα ή περισσότερα όργανα περιέχει συστατικά, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για θεραπευτικό σκοπό ή να αποτελέσουν πρώτη ύλη για την παρασκευή φαρμάκων. Αρωματικά, είναι τα φυτά που φέρουν ελαιοφόρους αδένες με αιθέρια έλαια, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρώτες ύλες στην αρωματοποιία, την κοσμετολογία, τη βιομηχανία τροφίμων (Βογιατζή - Καμβούκου, 2018).

Οι δραστικές ουσίες των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών βρίσκονται σε διάφορα τμήματα τους, βλαστούς, άνθη, φύλλα, ρίζες, καρπούς, ωστόσο σε ορισμένες περιπτώσεις εντοπίζονται σε ολόκληρο το φυτό. Τα χρησιμοποιούμενα προϊόντα είναι το χλωρό ή το αποξηραμένο φυτικό υλικό (δρόγη) και τα αιθέρια έλαια, που βρίσκουν ευρεία εφαρμογή σε διάφορους βιομηχανικούς κλάδους (Κάλφας, 2018; Yudharaj et al. 2016).



Σχήμα 3.1: Χρήσεις Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών (Christaki et al.2012)

Η αποξηραμένη δρόγη χρησιμοποιείται για την παρασκευή αφεψημάτων και ως αρωματική πρώτη ύλη. Σε βιομηχανική κλίμακα, τα αιθέρια έλαια και οι δρόγες χρησιμοποιούνται για να ενισχύσουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων, αλλά και να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής τους, καθώς δρουν ανασταλτικά στην ανάπτυξη τροφογενών παθογόνων (Anupama et al. 2019; Pandey et al. 2017; Reyes - Jurado et al. 2015; Tongnuachan and Benjakul, 2014). Η βιολογική τους δράση έχει οδηγήσει τα τελευταία χρόνια στην παραγωγή λειτουργικών τροφίμων, με ευεργετικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία. Επιπλέον, έχουν αναπτυχθεί καινοτόμα προϊόντα συσκευασίας, εμπλουτισμένα με αιθέρια έλαια που προστατεύουν τα τρόφιμα από βιολογικούς και χημικούς κινδύνους, διασφαλίζοντας μεγαλύτερο χρόνο ζωής (Anupama et al. 2019; Sessa et al.2015; Tongnuachan and Benjakul, 2014).

Φυτικά σκευάσματα με θεραπευτικές και καταπραϋντικές ιδιότητες έχουν τη μορφή βάμματος, κομπρέσας, καταπλάσματος, αλοιφής (Balunas and Kinghorn, 2005; Πρινέας και Σφακιανάκης, 1980). Σε βιομηχανική κλίμακα, οι δραστικές ουσίες απομονώνονται για την παραγωγή φαρμακευτικών σκευασμάτων. Εκτιμάται πως το 25% των συνταγογραφούμενων φαρμάκων προέρχονται από φυτικά συστατικά (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017; Barata et al. 2016). Τα φυτικά σκευάσματα είναι δυνατό να δράσουν συνεργικά και υποστηρικτικά με άλλες θεραπείες, αλλά και προληπτικά έναντι ασθενειών (Yudharaj et al. 2016). Χαρακτηριστικό παράδειγμα δραστικής ουσίας φυτικής προέλευσης, αποτελεί η διγιοξίνη που απομονώνεται από τη Δαχτυλίδα (*Digitalis Purpurea*) και δρα ως καρδιοτονωτικό και αντιαρρυθμικό (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017; Balunas and Kinghorn, 2005).

Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά χρησιμοποιούνται επίσης την παραγωγή προϊόντων υγιεινής, στην κοσμετολογία, αρωματοθεραπεία, στην αρχιτεκτονική τοπίου και στην παραγωγή εδαφοβελτιωτικών (Yudharaj et al. 2016).

4. Περί Αιθέριων Ελαίων – Τρόποι Παραλαβής

Τα αιθέρια έλαια είναι μίγματα πτητικών ουσιών με χαρακτηριστική οσμή. Βρίσκονται στους ελαιοφόρους αδένες σε διάφορα τμήματα των φυτών, φύλλα, άνθη, καρπούς, ρίζες. Τα συστατικά τους διαχωρίζονται σε οξυγονούχα -αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, εστέρες, φαινόλες, οξέα, εστέρες- και μη οξυγονούχα -μονοκυκλικά και κυκλικά τερπενοειδή - (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιός, 2017; Rassem et al. 2016).

Τα αιθέρια έλαια είναι υγρά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, διαλυτά σε οργανικούς διαλύτες και αδιάλυτα στο νερό. Οι βασικές μέθοδοι παραλαβής τους είναι η απόσταξη, η εκχύλιση και η μηχανική παραλαβή (Σκρουμπής, 1985).

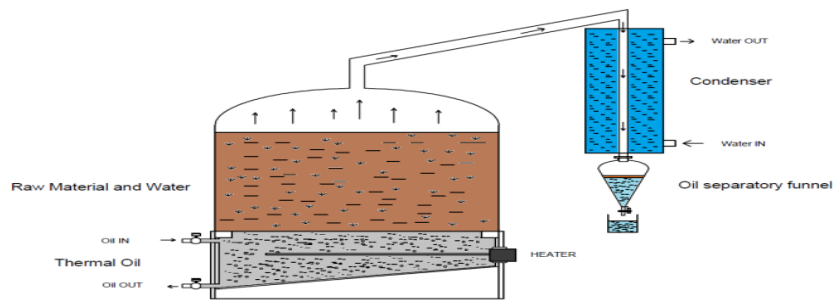
4.1. Απόσταξη

Η απόσταξη (distillation) είναι η πιο απλή και πλέον οικονομική μέθοδος παραλαβής αιθέριων ελαίων και χρησιμοποιείται σχεδόν για όλα τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά. Το φυτικό υλικό τοποθετείται σε δοχείο με θερμαινόμενο νερό, με αποτέλεσμα οι ατμοί που παράγονται να δεσμεύουν τα αιθέρια έλαια από τους ιστούς. Στη συνέχεια οι ατμοί συμπυκνώνονται, υγροποιούνται με τη ψύξη και διαχωρίζονται λόγω της διαφοράς του ειδικού τους βάρους. Η απόσταξη, ανάλογα με τον τρόπο εφαρμογής, διακρίνεται σε υδραπόσταξη, υδροατμοαπόσταξη και απόσταξη με υδρατμούς (Nashardin et al. 2018; Reyes- Jurado et al.2015; Rassem et al. 2016)

4.1.1. Υδροαπόσταξη - Απόσταξη με νερό

Η υδροαπόσταξη (water distillation), λόγω της ευκολίας στην εφαρμογή και του μικρού κόστους εγκατάστασης, έχει χρησιμοποιηθεί αρκετά κατά το παρελθόν. Ωστόσο, η χρήση της έχει περιορισθεί λόγω των μειονεκτημάτων που παρουσιάζει (Κάλφας, 2018; Rassem et al. 2016; Σκρουμπής, 1985).

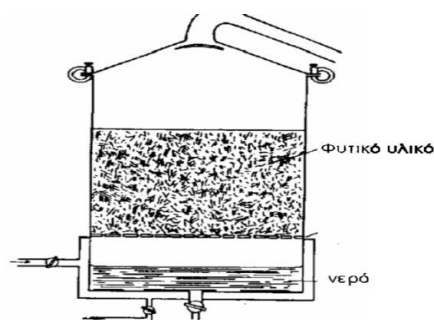
Στη συγκριμένη μέθοδο το φυτικό υλικό τοποθετείται σε θερμαινόμενο άμβυκα αποστάξεως που περιέχει νερό. Κύριο χαρακτηριστικό της υδροαπόσταξης είναι η άμεση επαφή φυτικού υλικού και νερού. Ωστόσο, πρέπει να γίνεται σωστή πλήρωση του άμβυκα, για να υπάρχει διαθέσιμος χώρος για τη συγκέντρωση του παραγόμενου ατμού. Η ταχύτητα της απόσταξης είναι ρυθμιζόμενης έντασης, ώστε να αποφεύγεται η υπερθέρμανση του φυτικού υλικού, που έχει ως αποτέλεσμα τη αποσύνθεση των συστατικών του αιθέριου ελαίου (Rassem et al. 2016; Tongnuachan and Benjakul, 2014; Σκρουμπής, 1985).



Σχήμα 4.1 : Άμβυκας Υδραπόσταξης (Rassem et al. 2016).

4.1.2. Υδροατμοαπόσταξη - Απόσταξη με Νερό και Υδρατμούς

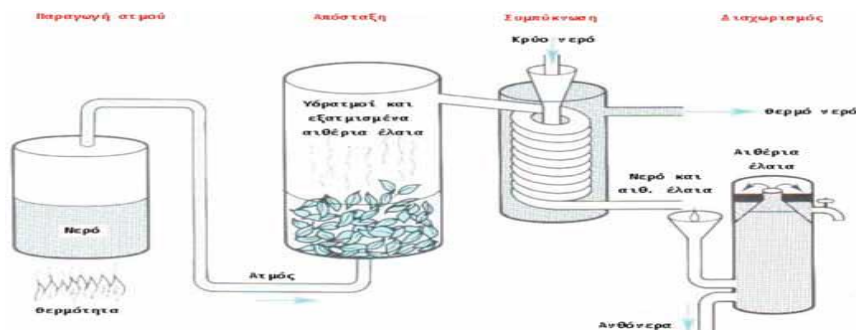
Η υδροατμοαπόσταξη (water and steam distillation), εφαρμόζεται για μικρής κλίμακας αποστάξεις. Παρουσιάζει πλεονεκτήματα σε σχέση με την υδροαπόσταξη, καθώς η δρόγη δεν έρχεται σε άμεση επαφή με το νερό. Το θερμαινόμενο νερό, σχηματίζει υδρατμούς που διαπερνούν μέσω του πλέγματος, τη δρόγη και απομονώνουν το αιθέριο έλαιο. Ωστόσο, μειονεκτεί λόγω της μείωσης της απόδοσης του αιθέριου ελαίου (Σκρουμπής, 1985).



Σχήμα 4.2: Άμβυκας Υδροατμοαποσταξης (Σκρουμπής, 1985)

4.1.3 Απόσταξη με Υδρατμούς (steam distillation)

Η απόσταξη με υδρατμούς είναι η πιο διαδεδομένη μέθοδος στη βιομηχανία, καθώς χρησιμοποιούνται άμβυκες υψηλής χωρητικότητας (Gavahian et al. 2015). Ένα τυπικό αποστακτικό συγκρότημα με υδρατμούς (σχ. 4.3.) αποτελείται από τον ατμολέβητα, τον άμβυκα, το συμπυκνωτή και το δοχείο διαχωρισμού (Κάλφας, 2018, Tongnuachan and Benjakul, 2014; Σκρουμπής, 1985).



Σχήμα 4.3 : Αποστακτικό Συγκρότημα με Υδατμούς (Κάλφας, 2018)

Και σε αυτή τη μέθοδο, το φυτικό υλικό τοποθετείται στον άμβυκα, ωστόσο δεν εισάγεται νερό, αλλά ατμός που παράγεται από εξωτερικό ατμοέβητα. Ο παραγόμενος ατμός διοχετεύεται με πίεση στο φυτικό υλικό και απελευθερώνει το αιθέριο έλαιο. Ακολουθεί μεταφορά του σε θάλαμο συμπύκνωσης (ψυχόμενη δεξαμενή) και συλλογή σε διαχωριστή. Στο τελικό στάδιο του διαχωρισμού το αιθέριο έλαιο συλλέγεται από το πάνω μέρος και το νερό παραλαμβάνεται από το κάτω μέρος του διαχωριστή (Κάλφας, 2018; Σκρουμπής 1985).

Η απόσταξη με υδατμούς παρουσιάζει βασικά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις προηγούμενες μεθόδους, καθώς παραλαμβάνεται μεγαλύτερης ποσότητας και καλύτερης ποιότητας αιθέριο έλαιο, χρησιμοποιείται για όλα τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά και είναι κατάλληλο για μεγάλες ποσότητες φυτικού υλικού. Ωστόσο μειονεκτεί, λόγω κόστους εξοπλισμού (Gavahian et al. 2015; Σκρουμπής, 1985).

4.2. Εκχύλιση

Η εκχύλιση (extraction) είναι μέθοδος παραλαβής, η οποία εφαρμόζεται στις περιπτώσεις που η απόσταξη προκαλεί αλλοιώσεις ορισμένων χημικών συστατικών των αιθέριων ελαίων. Διακρίνεται σε εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες, με ψυχρό και με θερμό λίπος (Κάλφας, 2018; Γράβαλος, 2018).

4.2.1. Εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες

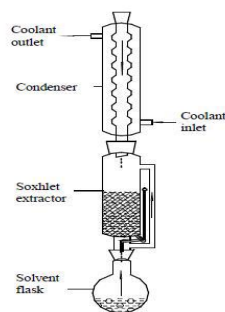
Είναι πιο διαδεδομένη μέθοδος εκχύλισης, οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται είναι ο πετρελαϊκός αιθέρας, το βενζόλιο και η αιθυλική αλκοόλη. Ο διαλύτης εισέρχεται στο φυτικό υλικό και δεσμεύει τόσο τα πτητικά συστατικά όσο και τις χρωστικές. Για το λόγο αυτό δεν πρέπει να είναι εύφλεκτος ή τοξικός, να μην αντιδρά με την οργανική ουσία και να απομακρύνεται εύκολα (Κάλφας, 2018; Reyes - Jurado et al. 2015; Tongnuachan and Benjakul, 2014).

Σε εργαστηριακή κλίμακα, η εκχύλιση πραγματοποιείται σε συσκευή τύπου Soxhlet, η λειτουργία της οποίας βασίζεται στις διαδοχικές εκχυλίσεις του φυτικού υλικού σε οργανικό διαλύτη. Είναι απλή και οικονομική μέθοδος, με καλή αποδοτικότητα και ευρύ φάσμα βιομηχανικών εφαρμογών (Gopalsatheeskumar, 2018; Reyes - Jurado et al. 2015; Αληγιάννης και Μητάκου, 2011).



Εικόνα 4.1: Συσκευή τύπου Soxhlet (Αληγιάννης και Μητάκου, 2011)

Η συσκευή αποτελείται από μια σφαιρική φιάλη, τον κυλινδρικό εκχυλιστήρα τύπου Soxhlet, τον ηθμό εκχύλισης, το συμπυκνωτή και τις εισόδους - εξόδους νερού. Το ξηρό φυτικό υλικό τοποθετείται στον ηθμό εκχύλισης μέσα στον εκχυλιστήρα τύπου Soxhlet και ο διαλύτης στη σφαιρική φιάλη που τοποθετείται σε θερμαινόμενο μανδύα (Reyes - Jurado et al. 2015; Gopalsatheeskumar, 2018).



Σχήμα 4.4.: Τμήματα συσκευής τύπου Soxhlet (Αληγιάννης και Μητάκου, 2011)

4.2.2 Εκχύλιση με ψυχρό λίπος

Η εκχύλιση με ψυχρό λίπος χρησιμοποιείται για την παραγωγή πομάδων - αρωματικών αλοιφών. Το λίπος πρέπει να είναι απαλλαγμένο από ξένες ουσίες και ημίσκληρό και να δεσμεύει τις πτητικές ουσίες. Η συνολική διάρκεια της εκχύλισης είναι σχεδόν εικοσιτέσσερις ώρες (Γράβαλος, 2018; Κάλφας, 2018).

4.2.3. Εκχύλιση με θερμό λίπος

Η εκχύλιση με θερμό λίπος χρησιμοποιείται για φυτικά υλικά, των οποίων το άρωμα δεν παράγεται μετά τη συλλογή τους. Είναι πανομοιότυπη μέθοδος με την προαναφερθείσα, με τη διαφορά ότι τα άνθη και το λίπος τοποθετούνται σε θερμαινόμενα ανοξείδωτα δοχεία (Γράβαλος, 2018; Κάλφας, 2018,)

4.3. Μηχανική Παραλαβή

Η μηχανική παραλαβή είναι μέθοδος που χρησιμοποιείται σε ξηρούς καρπούς και φλοιούς εσπεριδοειδών. Τα μηχανήματα που χρησιμοποιούνται για τους φλοιούς των εσπεριδοειδών, είτε τρυπούν, είτε ξύνουν το φλοιό, με αποτέλεσμα να απελευθερώνονται τα αιθέρια έλαια (Γράβαλος, 2018).

4.4. Απόδοση και Σύσταση Αιθέριων Ελαίων

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση και τη σύσταση των αιθέριων ελαίων είναι :

- η εποχή συλλογής
- το στάδιο ανάπτυξης των οργάνων
- το χρησιμοποιούμενο μέρος του φυτού
- η μέθοδος παραλαβής
- τα εκκριτικά όργανα του φυτού
- περιβαλλοντολογικές συνθήκες και συνθήκες καλλιέργειας
- γενετικοί παράγοντες (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017)

5. Πολυφαινόλες

5.1. Γενικά

Οι πολυφαινόλες είναι ετερογενείς φυσικές ενώσεις που ανήκουν στους δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτικών ειδών. Βασικό χαρακτηριστικό της δομής τους είναι η ύπαρξη ενός αρωματικού δακτυλίου με ένα τουλάχιστον υδροξύλιο. Η παρουσία τους συνδέεται άμεσα με τους λειτουργικούς και αμυντικούς μηχανισμούς που αναπτύσσουν τα φυτά για την επιβίωση τους (Durazzo et al. 2019; Babenko et al. 2019; Mojzer et al. 2016; Panche et al. 2016; Καραμανάωλη, 2014; Mandal et al. 2010; Pandey and Rizvi, 2009; Robbins, 2003).



Σχήμα 5.1 : Χημική Δομή Φαινολών (Καραμανάωλη, 2014)

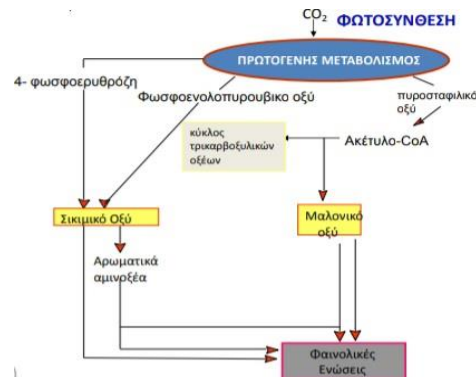
Οι φυτικές φαινόλες συμβάλλουν στη διαμόρφωση ορισμένων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (κυρίως χρώμα και γεύση) των φρούτων, των λαχανικών και των δημητριακών. Επίσης, τα προστατεύουν από την υπεριώδη ακτινοβολία, εχθρούς, ασθένειες και επιμολύνσεις και συνεργούν στις φυσιολογικές λειτουργίες ανάπτυξής τους (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017; Mojzer et al. 2016; Panche et al. 2016; Καραμανάωλη, 2014; Pandey and Rizvi, 2009; Heim et al. 2002).

Οι πολυφαινόλες αποτελούν βασικό αντικείμενο μελέτης επιστημονικών ερευνών, λόγω της θετικής τους επίδρασης στον ανθρώπινο οργανισμό. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει αρνητική συσχέτιση μεταξύ χρόνιων παθήσεων και διατροφής πλούσιας σε πολυφαινόλες. Το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στην αντιοξειδωτική τους δράση, καθώς έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν το σχηματισμό ή να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες (Durazzo et al. 2019; Babenko et al. 2019; Panche et al. 2016; Pandey and Rizvi, 2009).

Μέχρι και σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 8.000 φαινολικές ενώσεις, από απλά μόρια -φαινολικά οξέα-, μέχρι μεγαλομόρια και πολυμερή -λιγνάνια, λιγνίνες, ταννίνες- (Babenko et al. 2019; Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017; Mojzer et al. 2016; Pandey and Rizvi, 2009; Robbins, 2003).

5.2. Βιοσύνθεση Πολυφαινολών

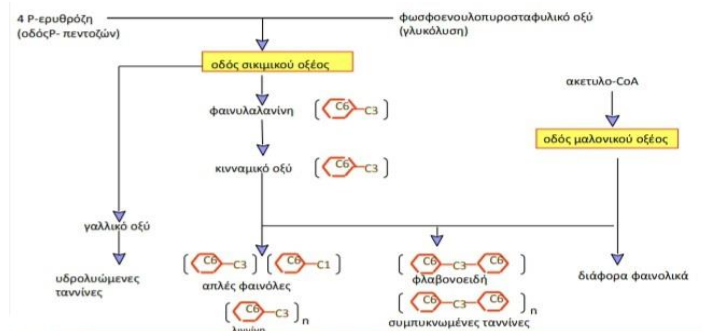
Οι φυτικές φαινόλες, λόγω της ετερομορφίας που παρουσιάζουν, βιοσυντίθενται με διαφορετικές μεταβολικές πορείες. Η βιοσύνθεση τους πραγματοποιείται μέσω δύο βασικών οδών, του μεταβολικού δρόμου του σικιμικού οξέος και του μεταβολικού δρόμου του μαλονικού οξέος (Babenko et al. 2019; Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017; Καραμανώλη, 2014; Mandal et al. 2010; Robbins, 2003; Dewick, 2001; Καράταγλης, 1994).



Σχήμα 5.2: Βιοσυνθετικές οδοί φαινολικών ενώσεων (Καραμανώλη, 2014)

Η βιοσυνθετική οδός του σικιμικού οξέος είναι περισσότερο διαδεδομένη στα ανώτερα φυτά και σχηματίζει τα αρωματικά αμινοξέα φαινυλαλανίνη, τυροσίνη και θρυπτοφάνη (Babenko et al. 2019; Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017; Mandal et al. 2010; Καράταγλης, 1994). Κατά τη βιοσύνθεση, απλοί υδατάνθρακες κυκλοποιούνται προς 3-δεϋδροκινικό οξύ και προς κινίνο οξύ. Ακολουθεί μετατροπή του 3- δεϋδροκινικού οξέος σε 3-δεϋδροδικιμικό οξύ που μετατρέπεται σε γαλλικό οξύ, ή σε γαλλοτανίνες ή σε σικιμικό οξύ. Από το σικιμικό οξύ παράγονται η φαινυλαλανίνη, η τυροσίνη και η θρυπτοφάνη. Η τυροσίνη ακολουθεί τη μεταβολική πορεία της φαινυλαλανίνης. Από τη φαινυλαλανίνη σχηματίζεται το κινναμωμικό οξύ που καταλήγει στο σχηματισμό σιναπικού οξέος. Από τα φαινολικά οξέα με την προσθήκη βενζολικού δακτυλίου σχηματίζονται φλαβονοειδή - ανθοκυανίνες και στη συνέχεια συμπυκνωμένες ταννίνες (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017).

Στη μεταβολική πορεία του μαλονικού οξέος, από το Ακέτυλο-CoA σχηματίζονται φαινολικά οξέα και ο αρωματικός δακτύλιος που προστίθεται στο κινναμωμικό οξύ βιοσυνθέτει φλαβονοειδή και συμπυκνωμένες ταννίνες (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017).



Σχήμα 5.3: Βιοσυνθετικές οδοί σικιμικού και μαλονικού οξέος (Καραμανώλη, 2014)

5.3. Ταξινόμηση Πολυφαινόλων

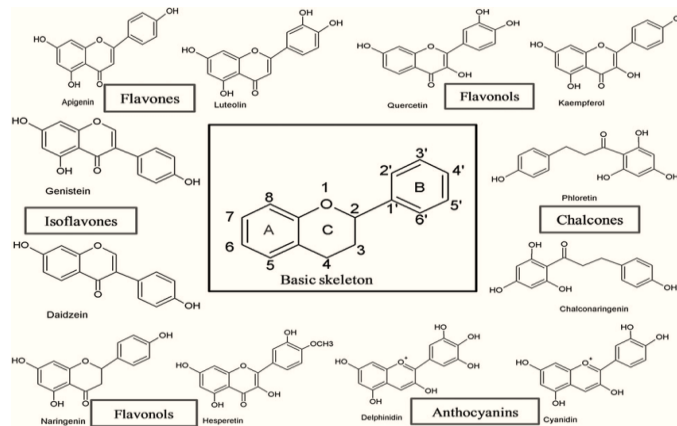
Οι φαινολικές ενώσεις, ανάλογα τη δομή του ανθρακικού σκελετού διακρίνονται σε δεκαπέντε κατηγορίες. Ωστόσο, η βασική ταξινόμηση αφορά το διαχωρισμό τους σε φλαβονοειδείς και μη φλαβονοειδείς φαινόλες.

5.3.1. Φλαβονοειδείς Πολυφαινόλες

Οι φλαβονοειδείς ενώσεις είναι οι πιο διαδεδομένες φαινόλες και περιλαμβάνουν τουλάχιστον πέντε χιλιάδες ατομικές ενώσεις που διαχωρίζονται σε δεκατρείς υποομάδες (Durazzo et al. 2019; Babenko et al. 2019; Panche et al. 2016; Mandal et al. 2010; Pandey and Rizvi, 2009; Robbins, 2003; Heim et al. 2002). Το όνομά τους προκύπτει από το κίτρινο χρώμα (*flavus* = κίτρινος) ορισμένων ενώσεων της ομάδας αυτής (Καράταγλης, 1994). Εντοπίζονται εύκολα στις χρωστικές των άθρων στις περισσότερες οικογένειες αγγειόσπερμων, ωστόσο εμφανίζονται και σε άλλα μέρη των φυτών (Dewick, 2001).

Τα φλαβονοειδή περιέχουν δύο αρωματικούς δακτυλίους που συνδέονται μέσω ενός πυρανικού δακτυλίου. Οι δακτύλιοι συνήθως ονοματίζονται Α, Β και C. Ο δακτύλιος Α βιοσυντίθεται μέσω του σικιμικού οξέος και ο Β μέσω του μαλονικού. Ανάλογα το βαθμό οξειδωσης του πυρανικού δακτυλίου κατατάσσονται στις παρακάτω κατηγορίες:

- i. φλαβόνες
- ii. φλαβονόλες
- iii. φλαβανόλες
- iv. φλαβανόνες
- v. ισοφλαβονοειδή
- vi. ανθοκυανίνες
- vii. χαλκόνες (Durazzo et al.2019; Mojzer et al. 2016; Panche et al. 2016; Pandey and Rizvi, 2009; Heim et al. 2002).



Σχήμα 5.4 : Βασική δομή και κατάταξη φλαβονοειδών (Panche et al. 2016)

Οι φλαβόνες είναι μια από τις σημαντικές υποομάδες των φλαβονοειδών, με έντονη παρουσία στα φύλλα, τα λουλούδια και τα φρούτα ως γλυκοζίτες. Κύριες πηγές θεωρούνται το χαμομήλι, η μέντα, το σέλινο και ο μαϊντανός, και σε αυτές ανήκουν η απιγενίνη, η λουτεολίνη. Οι φλαβονόλες είναι οι πιο διαδεδομένες ενώσεις, με έντονη βιολογική δράση, περιλαμβάνουν την κερκετίνη, τη μυρισετίνη και την καιμφερόλη, καθώς και τους γλυκοζίτες τους. Οι φλαβανόλες υπάρχουν σε μονομερή και σε πολυμερισμένη μορφή και σε αντίθεση με τα υπόλοιπα φλαβονοειδή, δεν είναι γλυκοσυλιωμένες. Κύριοι εκπρόσωποι είναι η κατεχίνη, η επικατεχίνη, η γαλλοκατεχίνη. Οι φλαβανόνες απαντώνται κυρίως στα εσπεριδοειδή, ενώ τα ισοφλαβονοειδή σε όσπρια και παρουσιάζουν έντονο μυκητοκτόνο και αντιμικροβιακή δράση (Panche et al. 2016).



Σχήμα 5.5 : Βιολογική δραστηριότητα φλαβονοειδών (Καραμανώλη, 2014)

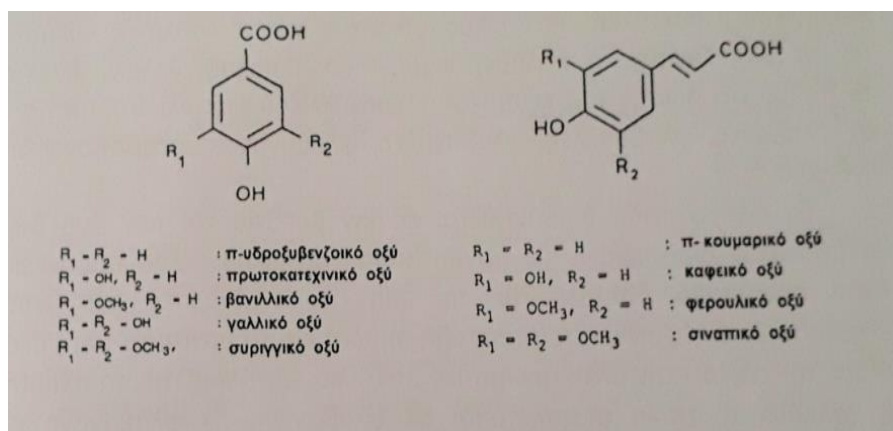
Οι ανθοκυανίνες είναι υδατοδιαλυτές φυτικές χρωστικές, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τα χρώματα των ανθέων και των καρπών. Οι γλυκοζίτες των ανθοκυανινών είναι η πελαργονιδίνη, η μαλβιδίνη, η κυανιδίνη, η δελφινίνη, η πεονιδίνη και η πετουνιδίνη (Durazzo et al. 2019; Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017; Panche et al. 2016).

Το χρώμα τους εξαρτάται από το pH καθώς και με το βαθμό μεθυλίωσης ή ακυλίωσης των υδροξυλικών ομάδων των Α και Β δακτυλίων. Οι χαλκόνες συχνά αναφέρονται ως «φλαβονοειδή ανοιχτής αλυσίδας» καθώς απουσιάζει ο δακτύλιος C της βασικής σκελετικής δομής (Panche et al. 2016).

5.3.2. Μη Φλαβονοειδείς Πολυφαινόλες

Οι μη φλαβονοειδείς φαινόλες βρίσκονται στα τοιχώματα των φυτικών κυττάρων. Είναι φαινόλες με ένα υδροξύλιο και συχνά αναφέρονται ως φαινολοξέα. Οι βασικές κατηγορίες των μη φλαβονοειδών αφορούν τα παράγωγα του υδροξυβενζοϊκού και του κινναμωμικού οξέος (Durazzo et al. 2019; Mandal et al. 2010; Robbins, 2003; Heim et al. 2002)

Τα παράγωγα του υδροξυβενζοϊκού οξέος είναι το π-υδροβενζοϊκό οξύ, το πρωτοκατεχινικό οξύ, το βανιλικό οξύ, το γαλλικό οξύ και το σιριγγικό οξύ. Στην κατηγορία των παραγώγων του κινναμωμικού οξέος ανήκουν το π-κουμαρικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το φερουλικό οξύ και το σιναπικό οξύ (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017; Mandal et al. 2010; Robbins, 2003).



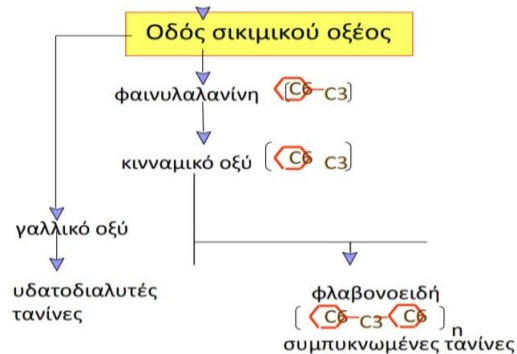
Σχήμα 5.6 : Υδροβενζοϊκά και Κινναμωμικά Οξέα (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017)

Ελεύθερα φαινολικά οξέα περιέχονται σε μικρές συγκεντρώσεις στα φυτά. Συνήθως απαντώνται σε μορφή γλυκοζιτών, εστέρων και πιο σύνθετων παραγώγων με άλλα φλαβονοειδή (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017).

5.3.3. Ταννίνες

Οι ταννίνες είναι ολιγομερείς ή πολυμερείς φαινολικές ενώσεις φλαβονοειδών, με μοριακό βάρος που κυμαίνεται από 500 έως και μεγαλύτερο του 5000. Βρίσκονται στα φύλλα, τις ρίζες και τους καρπούς. Περιέχουν κατεχίνη και επικατεχίνη, γαλλικό οξύ και

άλλες φαινόλες (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017; Minocha and Sumaki, 2015).



Σχήμα 5.7: Βιοσυνθετική οδός ταννινών (Καραμανώλη, 2014)

Οι ταννίνες διαχωρίζονται σε υδατοδιαλυτές και συμπυκνωμένες. Οι υδατοδιαλυτές είναι πολυμερή μόρια που υδρολύονται στα φαινολικά οξέα και στο σάκχαρο. Οι συμπυκνωμένες υδρολύονται με ισχυρά οξέα σε προανθοκυανίδια (Durazzo et al. 2019; Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017; Minocha and Sumaki, 2015; Καραμανώλη, 2014).

5.3.4. Λιγνάνια

Τα λιγνάνια είναι πολυφαινόλες που προκύπτουν από την ένωση δύο κινναμωμικών οξέων. Βρίσκονται στα τοιχώματα των φυτικών κυττάρων με μορφή γλυκοζιτών. Πηγή πλούσια σε λιγνάνια είναι το φυτό λινάρι (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017).

5.3.5. Λιγνίνες

Η λιγνίνη είναι από τις πιο διαδεδομένες φυτικές φαινολικές ενώσεις, καθώς αποτελεί το 1/3 των φυτικών ιστών. Είναι πολυμερές μεγάλου μοριακού βάρους, με σύνθετη δομή που δύσκολα απομονώνεται και προέρχεται από φαινυλοπροπανόλες. Ενισχύει τα κυτταρικά τοιχώματα, βοηθά στην κίνηση του νερού και προστατεύει τα φυτά από παθογόνα (Liu et al. 2018).

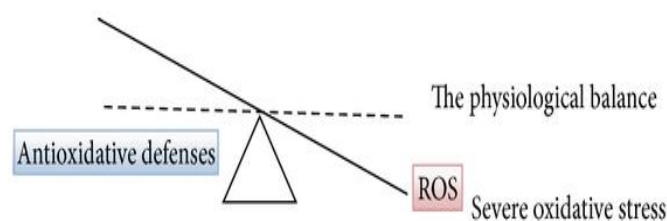
5.4. Ελεύθερες Ρίζες και Αντιοξειδωτικά

Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται κάθε άτομο, μόριο ή ιόν με ένα ή περισσότερα ελεύθερα ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στοιβάδα. Όταν μια ελεύθερη ρίζα αντιδρά με άλλο μόριο με άρτιο αριθμό ηλεκτρονίων, τότε το μόριο μετατρέπεται σε ελεύθερη ρίζα. Η συνεχής επανάληψη αυτών των αντιδράσεων σχηματισμού ριζών οδηγεί στη δημιουργία μιας

ανατροφοδοτούμενης αλυσίδας αντιδράσεων, η οποία συνιστά πρόβλημα, καθότι συνεχίζονται ακόμη και όταν απομακρυνθεί ο παράγοντας που τις τροφοδοτήσει, προκαλώντας εκτεταμένες βλάβες στον οργανισμό (Marino, 2014).

Οι ελεύθερες ρίζες μαζί με άλλες οξυγονούχες ομάδες που παράγονται κατά το φυσιολογικό μεταβολισμό στον οργανισμό, δημιουργούν δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species -ROS). Έχει αποδειχθεί πως οι ελεύθερες ρίζες συνδέονται με την κυτταρική γήρανση, τη μεταλλαξιγένεση και καρκινογένεσις. Προκαλούν οξείδωση της λιποπρωτεΐνης LDL και σχετίζονται με νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Poljsak et al. 2013; Perron and Brumaghin 2009; Heim et al. 2002).

Οι μεταβολίτες του οξυγόνου διαθέτουν ισχυρή οξειδωτική δράση και είναι δυνατό να προκαλέσουν λύση της συνέχειας των κυτταρικών μεμβρανών, μετουσίωση πρωτεϊνών και διάσπαση των μορίων DNA (Marino, 2014; Poljsak et al. 2013; Perron and Brumaghin 2009) . Μετά την απελευθέρωση τους οι μεταβολίτες αυτοί μπορούν να προκαλέσουν θανατηφόρο βλάβη στους εισβάλλοντες μικροοργανισμούς, ενώ τα κύτταρα του ξενιστή προστατεύονται φυσιολογικά από ενδογενείς αντιοξειδωτικούς παράγοντες. Ωστόσο, όταν οι οξειδωτικές επιδράσεις υπερσχύουν των αντιοξειδωτικών μηχανισμών -κατάσταση γνωστή ως οξειδωτικό στρες- οι μεταβολίτες οξυγόνου προκαλούν βλάβη και στα κύτταρα του ξενιστή. Η οξειδωτική κυτταρική βλάβη προκαλεί παθολογικές καταστάσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα, περιφερειακό νευρικό σύστημα, νεφρούς, πνεύμονες (Marino, 2014).



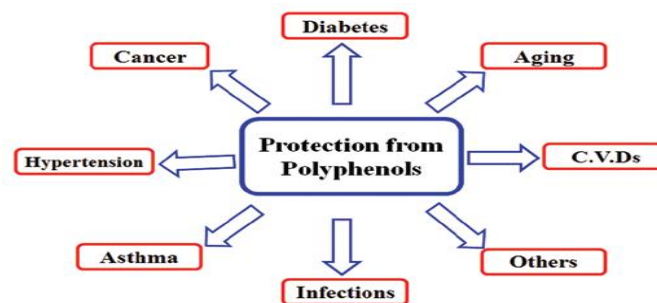
Σχήμα 5.8 : Οξειδωτικό στρες (Poljsak et al. 2013)

Περιοριστικό παράγοντα της τοξικότητας των δραστικών μορφών οξυγόνου, αποτελούν τα αντιοξειδωτικά. Πρόκειται για βιολογικά συστήματα που δρουν αμυντικά και αδρανοποιούν τις τοξικές δράσεις των ROS. Τα αντιοξειδωτικά ανάλογα με το μηχανισμό δράσης διαχωρίζονται σε πρωτεύοντα, τα οποία διακόπτουν τις αλυσοειδείς αντιδράσεις και δευτερεύοντα, που περιορίζουν την εμφάνιση αλυσοειδών αντιδράσεων μέσω διάφορων μηχανισμών. Επιπλέον μπορούν να ταξινομηθούν σε ενδογενή ένζυμα και ενδογενείς ουσίες

και σε διατροφικούς παράγοντες (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017; Poljsak et al. 2013).

5.5. Επίδραση Πολυφαινολών στην Ανθρώπινη Υγεία

Τις τελευταίες δεκαετίες αυξάνεται ολοένα και περισσότερο το επιστημονικό ενδιαφέρον για τη μελέτη της βιοδιαθεσιμότητας των πολυφαινολών, το ποσοστό δηλαδή των φαινολικών συστατικών που αφομοιώνεται, απορροφάται και μεταβολίζεται μέσω των φυσιολογικών οδών του οργανισμού, καθώς έχει αποδειχθεί η ευεργετική τους επίδραση στην ανθρώπινη υγεία (Pandey and Rizvi, 2009). Οι φυτικές φαινόλες παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδεις, αντιϊικές, αντιγηραντικές και αντιδιαβητικές ιδιότητες αλλά και καρδιοπροστατευτική και αντικαρκινική δράση (Durazzo et al. 2019; Visioli et al. 2011; Brannon and Tollefsbol, 2010; Pandey and Rizvi, 2009; Perron and Brumaghin 2009; Heim et al. 2002; Hertog et al. 1993).



Σχήμα 5.9 : Επίδραση πολυφαινολών στην ανθρώπινη υγεία (Pandey and Rizvi, 2009).

Το αντικείμενο των ερευνών επικεντρώνεται κυρίως στις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες, που σχετίζονται με την επιβράδυνση της ανάπτυξης καρδιαγγειακών και νευροεκφυλιστικών ασθενειών αλλά και την πρόληψη παθολογικών καταστάσεων (Durazzo et al. 2019; Visioli et al. 2011; Poljsak et al. 2013; Pandey and Rizvi, 2009; Heim et al. 2002; Hertog et al. 1993).

Αποτελέσματα επιδημιολογικών μελετών έχουν δείξει πως οι φυτικές φαινόλες δρουν ως αντιοξειδωτικά, αντιμεταλλακτικά και συλλέκτες ελεύθερων ριζών. Η δράση τους ως περιοριστές ελεύθερων ριζών συνίσταται στην κατάλυση της υπεροξειδωσης των λιπιδίων (Perron and Brumaghin 2009; Visioli et al. 2011). Τα βασικά χαρακτηριστικά της δομής των φλαβονοειδών για να δράσουν ως συλλέκτες ελεύθερων ριζών είναι: α) η ύπαρξη της ο-διεν-υδροξυλιακής δομής στον Β-δακτύλιο για την εξασφάλιση της ηλεκτρονικής αποεντόπισης, β) 2,3-διπλός δεσμός στον C-δακτύλιο δίπλα στην 4-κετο-ομάδα, για την εξασφάλιση της ηλεκτρονικής αποεντόπισης στον Β-δακτύλιο και γ) η ύπαρξη δεσμού

υδρογόνου μεταξύ της κετο-ομάδας και των υδροξυλιακών ομάδων της 3ης και 5ης θέσης (Βογιατζή - Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017).

Έχει αποδειχθεί η αντίστροφη σχέση μεταξύ της πρόσληψης τροφών πλούσιων σε πολυφαινόλες και της επίπτωσης νοσημάτων, καθώς ενισχύουν το ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα και αποτρέπουν το οξειδωτικό στρες (Pandey and Rizvi, 2009; Hertog et al.1993). Η πρόσληψη πολυφαινόλων συμβάλλει στην εύρυθμη καρδιαγγειακή λειτουργία του οργανισμού, καθώς ενεργεί ανασταλτικά στη δράση των ελεύθερων ριζών που επιδρούν στη διεργασία της αθηρογένεσης και στο σχηματισμό οξειδωμένων λιποπρωτεϊνών LDL (Durazzo et al. 2019; Visioli et al. 2011; Pandey and Rizvi, 2009). Επιπλέον, επηρεάζει το μεταβολισμό της γλυκόζης και ρυθμίζει την έκκριση της ινσουλίνης, προλαμβάνοντας το διαβήτη τύπου 2 (Walkuski et al. 2018; Anhê et al. 2013).

Οι επιβλαβείς αλλαγές στα κύτταρα και τους ιστούς, κυρίως σε προχωρημένη ηλικία, αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης ασθενειών αλλά και θανάτου. Ο μηχανισμός γήρανσης σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με τις ελεύθερες ρίζες, ωστόσο πλήθος ερευνών αποδεικνύει την αντιγηραντική δράση των πολυφαινόλων, που μπορούν να λειτουργήσουν ανασταλτικά στο οξειδωτικό στρες (Brannon and Tollefsbol, 2010). Επίσης, μεγάλο ενδιαφέρον επικεντρώνεται σε μελέτες που αφορούν την αντικαρκινικές ιδιότητες των φαινολικών ενώσεων. Οι πολυφαινόλες παρουσιάζουν χημιοπροστατευτικούς μηχανισμούς που παρεμποδίζουν τις καρκινογένεσεις, προκαλώντας απόπτωση προνεοπλασματικών ή νεοπλασματικών κυττάρων και αναστέλλοντας την αγγειογένεση (Mileo and Miccadei, 2016; Pandey and Rizvi, 2009; Stoner and Mukhtar, 1995).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6. Σκοπός του Πειράματος

Σκοπός του πειράματος είναι ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δύναμης των ολικών φαινολών που περιέχονται σε ορισμένα αυτοφυή αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά του όρους Κόζιακα.

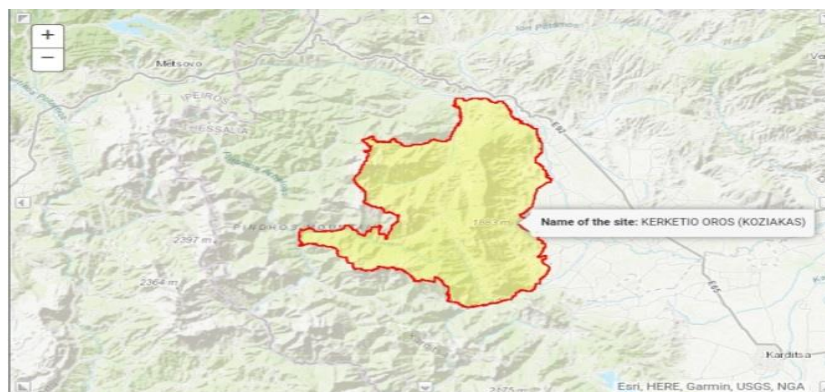
6.1. Υλικά και Μέθοδοι

Για τη διεξαγωγή του πειράματος πραγματοποιήθηκαν:

- Δειγματοληπτική συλλογή αυτοφυών αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών περιοχής Κόζιακα, με μέσο υψόμετρο 1300μ.
- Διαχωρισμός αιθέριων ελαίων
- Προσδιορισμός ολικών φαινολών και αντιριζικής ενεργητικότητας με το ελεύθερο σταθερό ριζικό DPPH.

6.2. Περιοχή έρευνας

Το Κερκέτιο Όρος (Κόζιακας) βρίσκεται στο ανατολικό άκρο της κεντρικής Πίνδου. Η περιοχή του εντάσσεται στο Ευρωπαϊκό Οικολογικό Δίκτυο Natura (οδηγία 92/43/ΕΟΚ), με κωδικό GR 1440002 και χαρακτηρίζεται ως Ειδική Ζώνη Διατήρησης (Ε.Ζ.Δ. - Special Areas of Conservation - S.A.C.). Η συνολική έκταση ανέρχεται στα 504,31km², με ελάχιστο υψόμετρο τα 117m, μέγιστο τα 2200m και μέσο τα 944,43 m (Υ.Π.Ε.Κ.Α. 2017; Tsitsoni et al. 2002).



Εικόνα 6.1 : Περιοχή Κόζιακα (European Environment Agency, 2018)

Ο Κόζιακας, λόγω της βιογεωγραφικής του θέσης, χαρακτηρίζεται από ποικιλία τύπων βλάστησης. Μεγάλη επιφάνεια της έκτασης -386,71 km²- καλύπτεται από παραγωγικά δασικά οικοσυστήματα κωνοφόρων, κυρίως ελάτης και οξιάς. Άλλοι τύποι

οικότοπων που απαντώνται είναι φρύγανα, ποολίβαδα, ασβεστούχοι αλπικοί και υπαλπικοί λειμώνες. Επιπλέον, στην περιοχή επικρατούν φυσικοί οικότοποι, οι οποίοι αποτελούν ενδιαυτήματα για ένα σημαντικό αριθμό χλωρίδας και πανίδας (European Environment Agency, 2018; Tsitsoni et al. 2002).

Η έντονη βιοποικιλότητα που χαρακτηρίζει τον Κόζιακα, συμβάλει στην οικολογική σταθερότητα των οικοσυστημάτων της περιοχής (Υ.Π.Ε.Κ.Α. 2017; Tsitsoni et al. 2002).

6.3. Φυτικό Υλικό

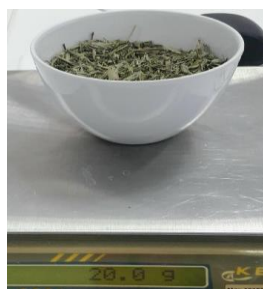
Το φυτικό υλικό συλλέχθηκε από την ευρύτερη περιοχή του Κόζιακα, από μέσο υψόμετρο 1250μ. στο στάδιο πλήρους άνθισης. Ακολούθησε φυσική ξήρανση και αποθήκευση. Τα φυτά που μελετήθηκαν είναι:

1. Ρίγανη
2. Υπέρικο
3. Λεβάντα
4. Αρτεμισία
5. Τσάι του βουνού
6. Μπιτούνι
7. Ελλέβορος
8. Άγρια μέντα
9. Δυόσμος
10. Μελισσόχορτο

6.4. Τεχνική

6.4.1 Παραλαβή Αιθέριων Ελαίων

Ο διαχωρισμός των αιθέριων ελαίων πραγματοποιήθηκε με υδροαπόσταξη. Χρησιμοποιήθηκε συσκευή τύπου Clevanger. Κατά την υδροαπόσταξη χρησιμοποιήθηκαν 20 γραμμάρια κονιορτοποιημένης ξηρής δρόγης. Η φιάλη πληρώθηκε με 500 ml νερό και η απόσταξη διήρκτησε δύο ώρες.



Εικόνα 6.2: 20gr φυτικού υλικού



Εικόνα 6.3 : Αιθέριο έλαιο

Ανάλογα την απόδοση σε αιθέριο έλαιο, πραγματοποιήθηκαν από τρείς έως πέντε επαναλήψεις. Μεταξύ των μετρήσεων πραγματοποιήθηκε έκπλυση της αποστακτικής συσκευής με εξάνιο.

Στη συνέχεια μετρήθηκε ο όγκος (ml) των αιθέριων ελαίων που αποστάχθηκαν, αφαιρέθηκε η τυχόν υγρασία με χρήση άνυδρου θειικού Νατρίου (Na_2SO_4) και διήθηση, ώστε να μην συνυπάρχει καθόλου νερό στο τελικό προϊόν. Τέλος, το καθαρό αιθέριο έλαιο τοποθετήθηκε σε γυάλινα φιαλίδια και αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία περίπου 0°C μέχρι τις επόμενες μετρήσεις.



Εικόνα 6.4: Αποθήκευση αιθέριων ελαίων

6.4.2. Προσδιορισμός Ολικών Φαινολών

Για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολών των αιθέριων ελαίων χρησιμοποιείται το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu σύμφωνα με τη μέθοδο του Singleton και Rossi, με μικρές διαφοροποιήσεις (Badenschneider et al., 1999).

Αντιδραστήρια

1. Folin-Ciocalteu του εμπορίου.
2. Άνυδρο ανθρακικό νάτριο 20%.
3. Γαλλικό οξύ για παρασκευή Stock διαλύματος.

Τεχνική

Σύμφωνα με την μέθοδο Badenschneider σε δοκιμαστικούς σωλήνες με μικροσιφώνιο 20 ml τοποθετείται αραιωμένο αιθέριο έλαιο, προστίθεται 100 ml αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu και 1580 ml αποσταγμένο νερό. Το μίγμα αναμειγνύεται και σε διάστημα από 0,5 min και έως και πριν τα 8min προστίθεται 300 ml άνυδρο ανθρακικό νάτριο 20%. Το τελικό μίγμα παραμένει σε θερμοκρασία δωματίου για δυο ώρες. Μετράται η απορρόφηση απόχρωσης στα 750 nm. Ακολουθείται η ίδια διαδικασία για τα πρότυπα διαλύματα και σχηματίζεται η πρότυπη καμπύλη. Οι φαινόλες υπολογίζονται ως ισοδύναμα του γαλλικού οξέος (GAE) σε $\mu\text{g}/\text{ml}$.

6.4.3. Προσδιορισμός της αντιριζικής ενεργητικότητάς με το ελεύθερο σταθερό ριζικό DPPH

Η μέθοδος DPPH εφαρμόζεται για τον υπολογισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας και στηρίζεται στο ελεύθερο σταθερό ριζικό DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazil). Χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της αντιριζικής ενεργητικότητας των φυτών και των αιθέριων ελαίων (Molyneux, 2004; Brand - Williams et al. 1995). Το σταθερό ριζικό DPPH αλληλοεπιδρά με τις αντιοξειδωτικές ενώσεις και αδρανοποιείται με την προσθήκη ενός ατόμου υδρογόνου (517nm) αποχρωματίζοντας το μωβ χρώμα (Yamaguchi, 1998). Εναλλακτικά, η αδρανοποίηση μπορεί να πραγματοποιηθεί με την προσθήκη ενός ηλεκτρονίου (Βογιατζή – Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017).

Αντιδραστήρια

Διάλυμα DPPH 6×10^{-5} mol/L σε μεθανόλη (MB \rightarrow DPPH = 394,33 \rightarrow 5,9 mg DPPH / 250ml CH₃OH)

Τεχνική

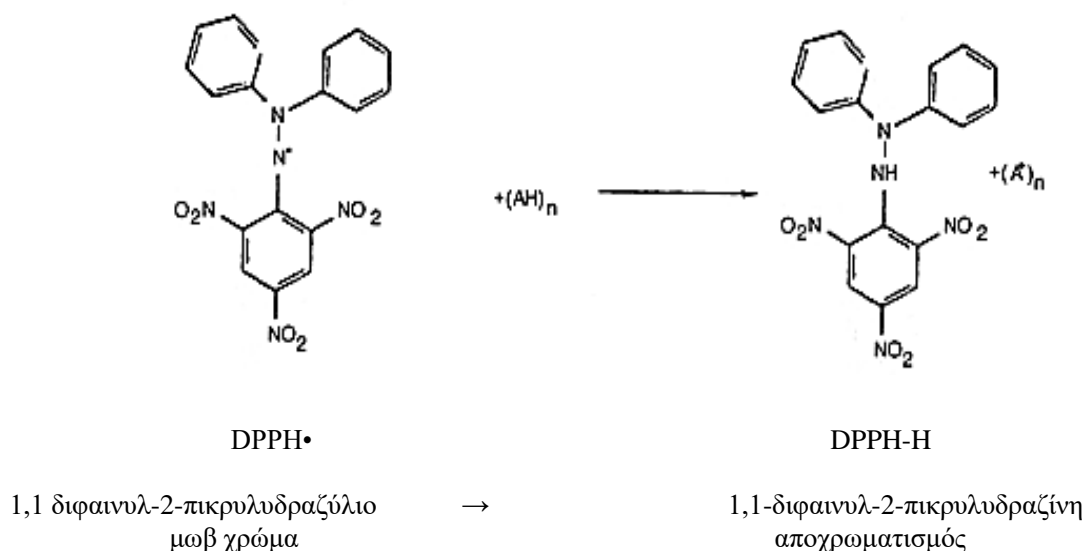
Σε δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετούνται 2 ml από το μεθανολικό διάλυμα του DPPH και 50 μl από το αιθέριο έλαιο. Το διάλυμα αναμιγνύεται μηχανικά και παραμένει για δεκαπέντε λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, τέλος φωτομετράται σε $\lambda = 515$ nm. Ως μάρτυρας χρησιμοποιείται και φασματοφωτομετράται και λευκό διάλυμα, στο οποίο έχει αντικατασταθεί η αντίστοιχη ποσότητα του αιθέριου ελαίου με αποσταγμένο νερό. Το σπεκτοφωτόμετρο μηδενίζεται με μεθανόλη (Βογιατζή – Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017).

Η προσθήκη του αντιοξειδωτικού μεταβάλλει την απορρόφηση του διαλύματος της ρίζας DPPH και το ποσοστό καταστολής % της ρίζας DPPH ορίζεται σύμφωνα με τον παρακάτω τύπο (Gadow et al., 1997):

$$\% \text{ καταστολή} = (A_{\text{Λευκού}} - \Delta\epsilon\acute{\iota}\gamma\mu\alpha\tau\omicron\varsigma) / A_{\text{Λευκού}} \times 100$$

Δραστική συγκέντρωση EC₅₀ (Efficient concentration) των αντιοξειδωτικών φαινολικών των αιθέριων ελαίων είναι η ποσότητα σε (μg/ml) διαφορετικών συγκεντρώσεων των αιθέριων ελαίων που προκαλεί αποχρωματισμό του DPPH κατά 50%.

Το ποσοστό % της εξουδετέρωσης της ρίζας δίνεται γραφικά σε σχέση με τις διαφορές συγκεντρώσεις των αιθέριων ελαίων. Για το συγκριτικό έλεγχο χρησιμοποιήθηκε βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο -BHT- (Βογιατζή – Καμβούκου και Γκουγκουλιάς, 2017).



6.4.4. Προσδιορισμός του συντελεστή αναστολής (IC_{50})

Ο συντελεστής αναστολής (IC_{50}) εκφράζει τη συγκέντρωση των εξεταζόμενων αιθέρια έλαια που προκαλεί μείωση του χρώματος της ρίζας DPPH κατά 50%. Υπολογίζεται βάσει της εξίσωσης:

$$\% \text{ αναστολή} = \frac{(E_0 - E_x)}{E_0} \times 100$$

όπου E_0 το ριζικό διάλυμα πριν από την αντίδραση και E_x , μετά την προσθήκη των πολυφαινολών (Shimamura et al. 2014)

6.4.5. Στατιστική ανάλυση

Για την ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS Statistics. Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων έγινε ανάλυση διασποράς και για την σύγκριση των μέσων όρων χρησιμοποιήθηκε το τεστ Tukey's ($P=0,05$).

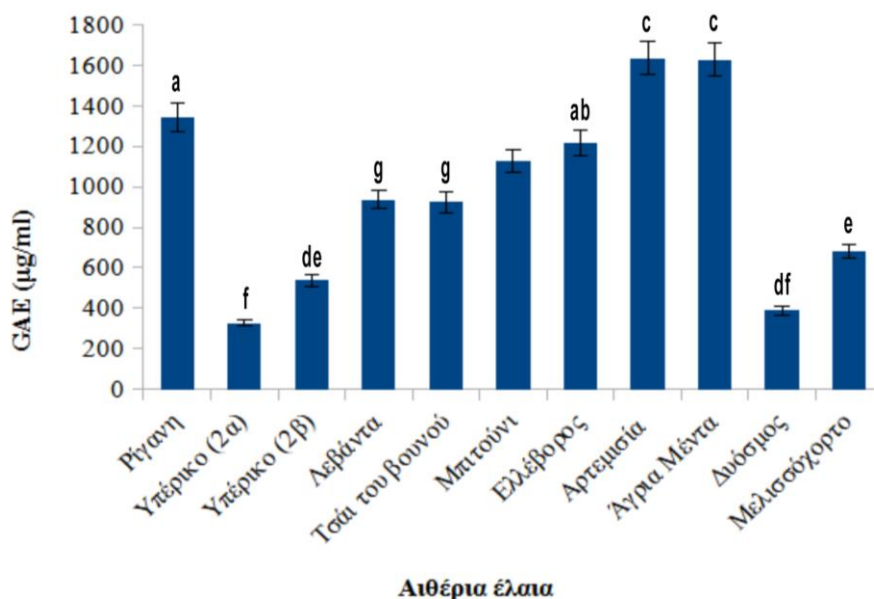
6.5. Αποτελέσματα - Συζήτηση

Η συλλογή των αρωματικών φυτών πραγματοποιήθηκε από την ευρύτερη περιοχή του Κόζιακα, από μέσο υψόμετρο 1250 μ. κατά την πλήρη άνθιση τους. Τα φυτά που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.1.

Είδος	Υψόμετρο
Ρίγανη	1300μ.
Υπέριχο (2α)	900μ.
Υπέριχο (2β)	1300μ.
Λεβάντα	1450μ.
Τσάι του βουνού	1900μ.
Μπιτούνι	1300μ.
Ελλέβορος	1200μ.
Αρτεμισία	1300μ.
Άγρια Μέντα	1300μ.
Δυόσμος	950μ.
Μελισσόχορτο	850μ.

Πίνακας 6.1: Φυτά που μελετήθηκαν από την περιοχή Κόζιακα

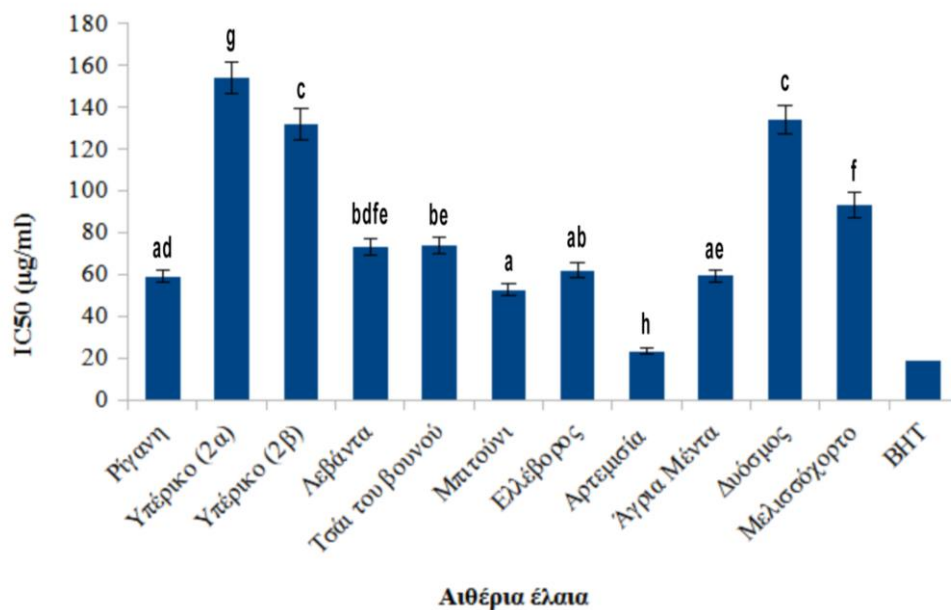
Στο Σχήμα 6.1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της περιεκτικότητας των ολικών φαινολών από τα φυτά που μελετήθηκαν, τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως ισοδύναμα Γαλλικού οξέος (GAE) $\mu\text{g/ml}$. Σύμφωνα με τα κριτήρια Tukey's ($P=0,05$) που εφαρμόστηκαν, στήλες του γραφήματος με το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν στατιστικά.



Σχήμα 6. 1: Περιεκτικότητα των Ολικών Φαινολών

Οι ολικές φαινόλες των φυτών που μελετήθηκαν κυμάνθηκαν από 326 έως 1638 GAE $\mu\text{g}/\text{ml}$. Μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικών φαινολών παρουσίασε το ασπίνθιο, ακολουθούμενο από τα φυτά άγρια μέντα και ρίγανη με τιμές 1638, 1630 και 1347 $\mu\text{g}(\text{GAE})/\text{ml}$ αντίστοιχα, ενώ την μικρότερη περιεκτικότητα ολικών φαινολών έδειξαν τα φυτά υπέρικο (2α) 900m. και δυόσμος με τιμές 326 και 389 $\mu\text{g}(\text{GAE})/\text{ml}$ αντίστοιχα.

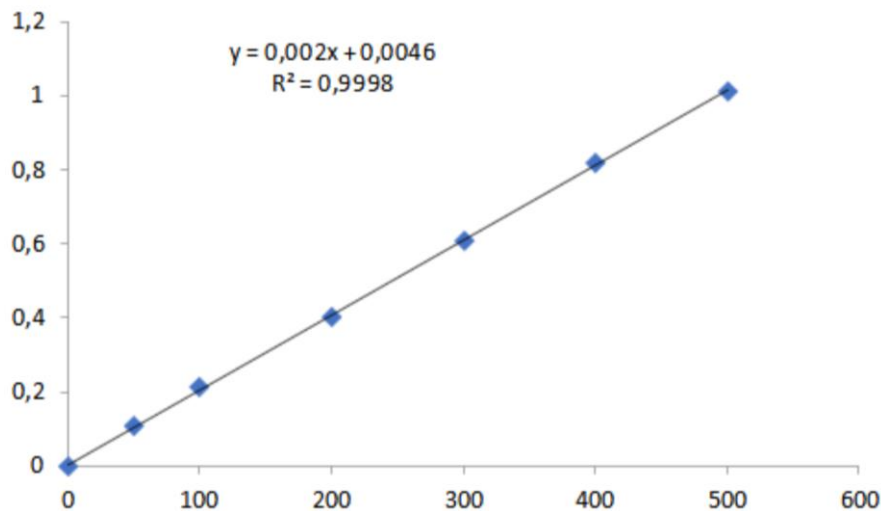
Στο Σχήμα 6.2 δίνεται γραφικά η αποτελεσματική συγκέντρωση IC_{50} (mg/ml), που εκφράζει την ποσότητα των φαινολικών ενώσεων που βρίσκεται στα εκχυλίσματα και εξουδετερώνει το 50% του ελεύθερου σταθερού ριζικού DPPH. Μικρότερη τιμή IC_{50} συνεπάγεται μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δύναμη φαινολικών ενώσεων στα εκχυλίσματα. Οι στήλες του διαγράμματος με το ίδιο γράμμα δεν παρουσιάζουν στατιστικές διαφορές.



Σχήμα 6.2: Αποτελεσματική συγκέντρωση φαινολικών IC_{50} ενώσεων στα μεθανολικά εκχυλίσματα

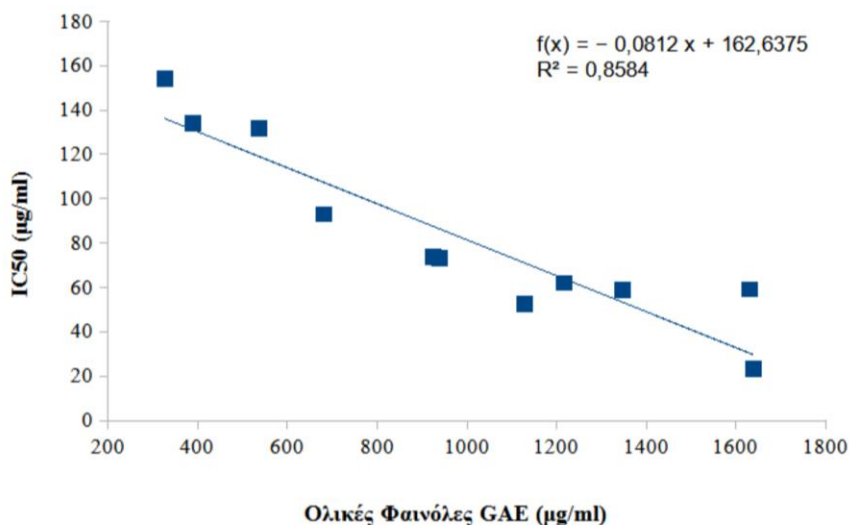
Η αποτελεσματική συγκέντρωση IC_{50} (mg/ml) στα μεθανολικά εκχυλίσματα κυμάνθηκε από 23-159 mg/ml εκχυλίσματος. Η αρτεμισία, το μπιτούνι και ο ελλέβορος παρουσίασαν την χαμηλότερη τιμή, συνεπώς και την υψηλότερη αντιοξειδωτική ισχύ, με τιμές 23,4, 52,6 και 62 mg/ml αντίστοιχα. Αντιθέτως, μεγάλες τιμές IC_{50} και μικρότερη αντιοξειδωτική δράση η παρουσίασαν το υπέρικο 2α, ο δυόσμος και το υπέρικο 2β με τιμές 154, 134 και 132 mg φαινολικών ενώσεων ανά ml εκχυλίσματος αντίστοιχα.

Στο παρακάτω Σχήμα 6.3 αναγράφεται η πρότυπη καμπύλη που δημιουργήθηκε με βάση το πρωτόκολλο για τον προσδιορισμό των ολικών πολυφαινολών στο δείγμα μας. Η πρότυπη καμπύλη έχει συντελεστή γραμμικότητας (R^2) 0,9915 και ακολουθεί την εξίσωση: $y = 0,002x + 0,0046$ όπου, y οι τιμές απορρόφησης στα 750 nm στον άξονα Y και όπου x οι τιμές συγκέντρωσης των ολικών πολυφαινολών εκφρασμένες σε mg/L σε γαλλικό οξύ στον άξονα X .



Σχήμα 6. 3: Πρότυπη καμπύλη ενός φυσικού αντιοξειδωτικού του γαλλικού οξέος σε συγκέντρωση mg ανά L διαλύματος.

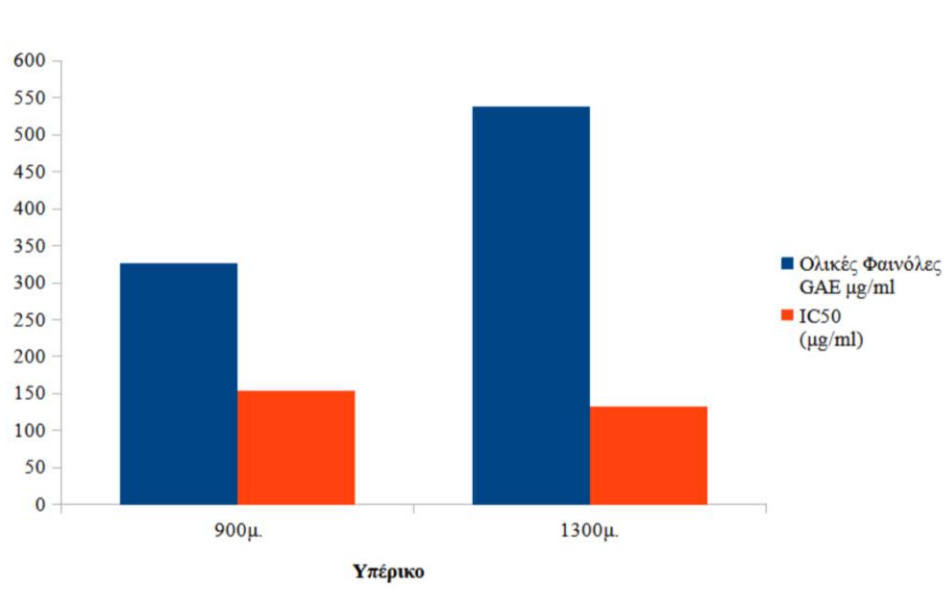
Στο διάγραμμα διασποράς (Σχήμα 6.4) παρουσιάζεται η συσχέτιση μεταξύ ολικών φαινολών στα εκχυλίσματα και η αποτελεσματική συγκέντρωση τους IC_{50} ανά ml εκχυλίσματος.



Σχήμα 6. 4: Συσχέτιση ολικών φαινολών και αποτελεσματικής συγκέντρωσης IC_{50}

Παρατηρείται ότι οι ολικές φαινόλες και η αποτελεσματική συγκέντρωση τους στα εκχυλίσματα παρουσιάζουν λιγότερο ισχυρή συσχέτιση, με συντελεστή $R^2=0.8584$. Η τιμή του συντελεστή πιθανόν να οφείλεται στις διαφορετικές φαινολικές ενώσεις των εκχυλισμάτων και στη μεταξύ τους αλληλοσυσχέτιση.

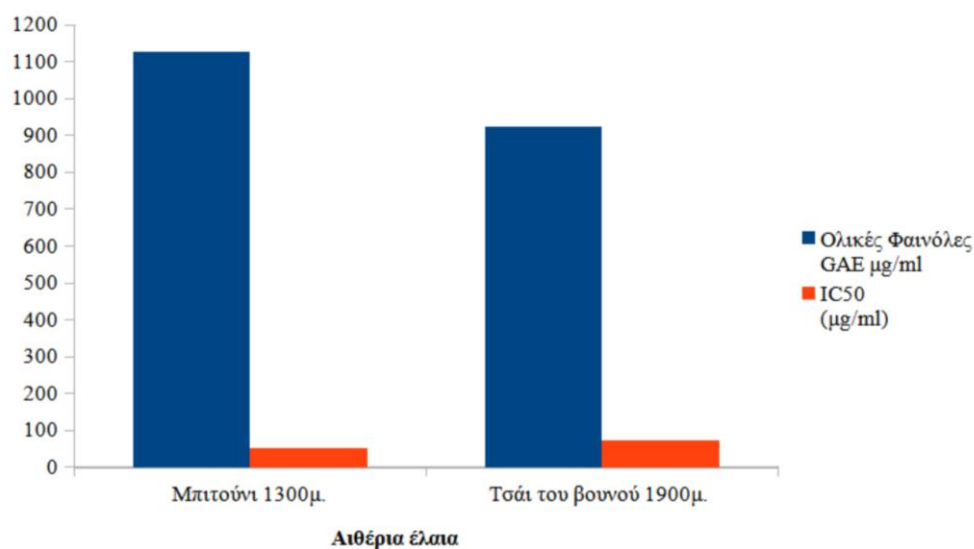
Στο Σχήμα 6.5 παρουσιάζονται οι διαφορές στις τιμές των ολικών φαινολών και της συσχέτισης τους στα εκχυλίσματα του υπέρικου που συλλέχθηκε από δύο διαφορετικά υψόμετρα. Το υπέρικο 2α που αυτοφύεται σε υψόμετρο 900 μ. και το υπέρικο 2β στα 1300μ.



Σχήμα 6.5: Συγκριτικές τιμές ολικών φαινολών και IC₅₀ για το Υπέρικο από διαφορετικά υψόμετρα

Στο συγκριτικό διάγραμμα παρατηρούνται διαφορές στην ολική περιεκτικότητα των φαινολών, συνεπώς και στην αντιοξειδωτική τους δύναμη. Το υπέρικο 2β που συλλέχθηκε από μεγαλύτερο υψόμετρο (1300μ.) παρουσίασε τιμή στις ολικές φαινόλες 537 GAE mg/ml και ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση 154mg/ml, έναντι του υπέρικου 2α που αυτοφύεται σε χαμηλότερο υψόμετρο (900μ.), παρουσιάζοντας τιμές 326 GAE mg/ml και 154mg/ml αντίστοιχα. Παρότι οι αριθμητικές τιμές δεν αποκλίνουν μεταξύ τους, τα αποτελέσματα διαφέρουν στατιστικά (Σχήμα 4.1 και 4.2). Συνεπώς το υψόμετρο είναι πιθανή παράμετρος αντιοξειδωτικής ενεργητικότητας.

Στο Σχήμα 6.6 δίνονται συγκριτικά οι συγκεντρώσεις των ολικών φαινολών και της IC₅₀ στα δύο είδη τσαγιού που αναπτύσσονται στην περιοχή του Κόζιακα. Το είδος *sideritis scardica* συλλέχθηκε από υψόμετρο 1900μ., ενώ το *sideritis perfoliata* από 1300 μ.



Σχήμα 6.6: Τιμές ολικών φαινολών και IC₅₀ για τα είδη *Sideritis scardica* και *Sideritis perfoliata*

Και στα δύο είδη παρατηρείται σχετικά υψηλή περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες και ισχυρή αντιοξειδωτική δύναμη. Οι ολικές φαινόλες για το μπιτούνι (*sideritis perfoliata*, 1300μ.) κυμάνθηκαν στα 1128 GAE mg/ml και η αντίστοιχη τιμή IC₅₀ στα 52.64 mg/ml. Το τσάι του βουνού (*sideritis scardica*, 1900μ.) παρουσίασε συγκριτικά μικρότερη περιεκτικότητα σε φαινόλες, 924 GAE mg/ml και χαμηλότερη αντιοξειδωτική δράση με αποτελεσματική συγκέντρωση IC₅₀=73.9 mg/ml.

7. Συμπεράσματα

1. Όλα τα αυτοφύη αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά από την περιοχή του όρους Κόζιακα που μελετήθηκαν, έδειξαν υψηλή περιεκτικότητα σε ολικές φαινόλες και ισχυρή αντιοξειδωτική δύναμη. Την υψηλότερη συγκέντρωση σε ολικές φαινόλες παρουσίασε η αρτεμισία, ακολουθούμενη από την άγρια μέντα και τη ρίγανη. Ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση έδειξαν η αρτεμισία, το μπιτούνι και ο ελλέβορος.

2. Το υπέρικο που συλλέχθηκε από δύο διαφορετικά υψόμετρα (900 και 1300μ.) παρουσίασε διαφορές τόσο στο φαινολικό περιεχόμενο, όσο και στην αντιοξειδωτική ενεργητικότητα. Υψηλότερες τιμές συγκέντρωσης φαινολών, συνεπώς και ισχυρότερη αντιοξειδωτική δύναμη έδειξε το υπέρικο που αναπτύσσεται μεγαλύτερο υψόμετρο. Συνεπώς το υψόμετρο μπορεί να θεωρηθεί πιθανή παράμετρος αντιοξειδωτικής ενεργητικότητας.

3. Αναφορικά με τα δύο είδη τσαγιού που αυτοφύονται στην περιοχή του Κόζιακα, το μπιτούνι παρότι αναπτύσσεται σε χαμηλότερα υψόμετρα παρουσίασε μεγαλύτερη συγκέντρωση σε ολικές φαινόλες και ισχυρότερη αντιοξειδωτική ενεργητικότητα, σε σχέση με το τσάι του βουνού.

4. Τα αποτελέσματα μπορούν να αποτελέσουν τη βάση για περαιτέρω έρευνα για την παραγωγή φαρμακευτικών προϊόντων φυσικής προέλευσης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Αλγιάννης, Ν. και Σ. Μητάκου. 2011. Ειδικά Μαθήματα Φαρμακογνωσίας. Τμήμα Φαρμακευτικής. Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Βογιατζή - Καμβούκου, Ε. 2018. Επιλογή Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη, σελ. 185. ISBN: 978-960-957-130-8.

Βογιατζή - Καμβούκου, Ε. και Ν. Γκουγκουλιάς. 2017. Χημικές βιοδραστικές ενώσεις αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. Εκδόσεις Γραμμικό, Λάρισα, σελ.130, ISBN: 978-960-9506-16-8.

Γράβαλος, Ι. 2018. Συγκομιδή και Μετασυλλεκτική Τεχνολογία. Τμήμα Φυτικής Παραγωγής. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Ζιάκας Γ. 1992. Ο Ασκληπιός και το Ασκληπιείο Τρίκκης. Εκδόσεις Πολιτιστικός Οργανισμός Δήμου Τρικάλων, σελ. 352, ISBN:960-7146-06-9.

Κάλφας, Η. 2018. Αρωματικά Φυτά. Εκδόσεις Αμερικάνικη Γεωργική Σχολή, σελ. 95, ISBN: 98-618-8320-8-9.

Καράταγλης, Σ. 1994. Φυσιολογία Φυτών. Εκδόσεις Art of Text, σελ. 470, ISBN: 9603120094.

Καραμανώλη, Α. 2014. Δευτερογενείς Μεταβολίτες : Βιοσυνθετικές Οδοί και Βιολογικός Ρόλος. Φαινολικές Ενώσεις. Πανεπιστημιακές Σημειώσεις. Τμήμα Γεωπονίας Α.Π.Θ..

Κουτσός, Θ.Β. 2006. Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά. Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη, σελ.349, ISBN: 960-431-922-2.

Πρινέας, Ι. και Α. Σφακιανάκης. 1980. Βοτανοθεραπευτική. Εκδόσεις Μακρή, σελ.302.

Σκαλτσά, Ε. 2015. Ιστορία της Φαρμακευτικής. Εκδόσεις Κάλλιπος, σελ.336, ISBN: 978-960-603-333-9.

Σκρουμπής, Β. 1985. Αρωματικά Φυτά και Αιθέρια Έλαια. Εκδόσεις Γιαχούδη - Γιαπούλη, σελ. 204.

Υπουργείο Περιβάλλοντος Ενέργειας και Κλιματικής Αλλαγής - Γενική Γραμματεία Υδάτων. 2017. Αναθεώρηση Σχεδίου Διαχείρισης των Λεκανών Απορροής του Υδατικού Διαμερίσματος Θεσσαλίας - Επικαιροποίηση του Μητρώου Προστατευόμενων Περιοχών.

Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, S. and M. Arsenakis. 1998. Antifungal Activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* Essential Oils against Human Pathogenic Fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5): 1739-1745.

Almeida, P.P., Mezzomo, N. and S. R.S. Ferreira. 2010. Extraction of *Mentha spicata* L. Volatile Compounds: Evaluation of Process Parameters and Extract Composition. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2): 548-559.

Anchê, F.F., Desjardins, Y., Pilon, G., Dudonné, S., Genovese, M.I., Lajolo, F. and A. Marette. 2013. Polyphenols and Type 2 Diabetes: A prospective review. *PharmaNutrition* 1(4): 105-114.

Anupama, G., Netravathi, D.K.K. and M. Anivash. 2019. Essential Oils: a novel source for food preservation. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(1) : 2098-2101.

Babenko, L.M., Smirnov, O.E., Romanesko, K.O., Trunova, O.K. and I.V. Kosakivska. 2019. Phenolic Compounds in Plants: Biogenesis and Functions. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 91(3): 5-18.

Baderschneider, B., Luthria, D., Waterhouse, A. L., & Winterhalter, P. 1999. Antioxidants in white wine (cv. Riesling): I. Comparison of different testing methods for antioxidant activity. *Vitis*, 38(3), 127-131.

Balounas M.J. and A.D. Kinghorn. 2005. Drug discovery form medicinal plants. *Life Sciences*, 78 (5): 431-441.

Barata, A.M., Rocha, F., Lopes, V. and A.N. Carvalho. 2016. Conservation and sustainable uses of medicinal and aromatic plants genetic resources on the worldwide for human welfare. *Industrial Crops and Products*, 88(1):8-11.

Bhat, R.R., Rehman, M.U., Shabir, A. Rahman Mir, M.M., Ahmad, A., Khan, R., Masoodi, M.H., Madkhali. H. and M.A. Ganaie. 2019. Chemical Composition and Biological Uses of *Artemisia absinthium* (Wormwood). *Plants and Human Health*, 3:37-63.

Bhardwaj, S., Rajeshwar V and J. Gupta. 2018. Challenges and future prospects of herbal medicine. *International Research in Medical and Health Sciences*. 1(1): 12-15.

Bosabalidis, A.M. and S. Kokkini. 1997. Intraspecific variation of leaf anatomy in *Oreganum vulgare* grown wild in Greece. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 123(4) : 353-362.

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.

Brannon, L. Q. and T.O. Tolefsbol. 2010. Polyphenols and Aging. *Current Aging Science*, 3(1): 34-42.

Cakar, J., Haveric A., Haveric S., Maksimovic M. and A. Paric. 2014. Cytotoxic and genotoxic activity of some *Helleborus* species. *Natural Product Research*, 28 (12): 883-887.

Cheminal, A., Kokkoris, I.P., Strid, A. and P. Dimopoulos. 2020. Medicinal and Aromatic Lamiaceae Plants in Greece: Linking Diversity and Distribution Patterns with Ecosystem Services. *Forests*. 11 (6): 661-681.

Christaki, E., Bonas, E., Giannenas I. and P. Florou-Paneri. 2012. Aromatic Plants as a Source of Bioactive Compounds. *Agriculture*, 2(3), 228-243

Christopoulou-Aletra, H., Togia, A. and C. Varlami. 2009. The “smart” Asclepieion: A total healing environment. *Archives of Hellenic Medicine*, 27(2): 259 - 263.

Cirlini, M., Mena, P., Tassoni, M., Herrlinger, K.A., Nieman, K.M., Dall' Asta, C. and D. Del Rio. 2016. Phenolic and Volatile Composition of a Dry Spearmint (*Mentha spicata* L.) Extract. *Molecules*, 21(8):1007-1022.

Crockett, S.L. 2010. Essential Oil and Volatile Components of the Genus *Hypericum* (*Hypericaceae*). *Natural Product Communications*, 5(9): 1493-1506.

Dewick, P. 2001. The Shikimate pathway: Aromatic Amino Acids and Phenylpropanoids. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, Second Edition. ISBN:9780470846278.

Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E.B., Cicala, C, Caiazzo, E., Izzo, A.A., Novellino, E. and A. Santini. 2019. Polyphenols: A concise overview in the chemistry, occurrence and human health. *Phytotherapy Research*, 33(9):2221-2243.

European Medicines Agency. 2016. Assessment report on *Sideritis scardica* Griseb.; *Sideritis clandestina* (Bory & Chaub.) Hayek; *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr.; *Sideritis syriaca* L., herba. Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC).

European Environment Agency. 2018. Natura 2000/ Kerketio Oros (koziakas) - GR 1440002.

Fassou, G., Kougioumoutzis, K., Iatrou, G., Trigas, P. and V. Papatziropoulos. 2020. Genetic Diversity and Range Dynamics of *Helleborus odoratus* subsp. *cyclophyllus* under Different Climate Change Scenarios. *Forests*, 11(6): 620-638.

Fassou, G., Kougioumoutzis, K., Iatrou, G., Trigas, P. and V. Papatziropoulos. 2020. Genetic Diversity and Range Dynamics of *Helleborus odoratus* subsp. *cyclophyllus* under Different Climate Change Scenarios. *Forests*, 11(6): 620-638.

Gadow, A., Joubert, E., Hansmann, G. F., 1997. Comparison of antioxidant Activity of Aspalathin with that of other Plant Phenols of Rooibos Tea... *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 632-635.

Gavahian, M., Farhoosh, R., Farahnaky, A., Javidnia, K. and F. Shahidi. 2015. Comparison of extraction parameters and extracted essential oils from *Mentha piperita* L. using hydro distillation and steam distillation. *International Food Research Journal* 22(1): 283-288.

Goliaris, A.H., Chatzopoulou, P.S. and S.T. Katsiotis. 2003. Production of new Greek Oregano Clones and Analysis of their Essential Oils. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 10(1) : 29-35.

González-Burgos, E., Carretero, M.E. and M.P. Gómez-Serranillos. 2011. *Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities—A review. *Journal of Ethnopharmacology*. 135(2) 209- 225.

Gopalasatheeskumar, K., 2018. Significant role of Soxhlet extraction process in phytochemical research. *Mintage Journal of Pharmaceutical and Medical Science*. 7(1): 43-47.

Hassan, R.A., Abotaleb, S.T., Hamed, H.B. and M.Sh. Eldeen. 2019. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Melissa officinalis* L. (Lemon Balm) Extracts. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology*. 10(9): 183-187.

Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. and D.J. Bobilya. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13 (10) :572-584

Hetog, M.G., Feskens, E.J., Hollman, P.C., Katan, M.B. and D. Kromhout. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen Elderly Study. *Lancet*, 342 (8878): 1007–1011.

Istikoglou, C.I., Mavreas, V. and G. Geroulanos. 2010. History and Therapeutic properties of *Hypericum perforatum* from antiquity until today. *Psychiatriki*, 21(4): 332-338.

Jamshidi - Kia, F., Lorigooini, Z. and H. Amini-Khoei. 2018. Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 7(1): 1-7.

Judzendiene, A., Tomi, F. and J. Casanova. 2009. Analysis of Essential Oils of *Artemisia absintium* L. from Lithuania by CC, GC(RI), GC-MS AND ¹³CNMR. 2009. *Natural Product Communication*, 4(8): 1113-1118.

Kanakis, C.D., Petrakis, E.A., Kimbaris, C., Pappas, C., Tarantilis, P.A. and M. G. Polissiou. 2011. Classification of Greek *Mentha pulegium* L. (Pennyroyal) Samples, According to Geographical Location by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Phytochemical Analysis*, 23(1): 34-43.

Klemow, K.M., Bartlow, A., Crawford, J., Kocher, N., Shan, J. and M. Ritsick. 2011. Medical Attributes of St. John's Wort (*Hypericum Perforatum*). In *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*. CRC Press, p. 700, ISBN: 9780429130946.

Kokkini, S. and D. Vokou. 1989. *Mentha spicata* (Lamiaceae) Chemotypes Growing Wild in Greece. *Economic Botany*, 43(2): 192-202.

Liu, Q., Luo, L. and L. Zheng. 2018. Lignin: Biosynthesis and Biological Functions in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 335:2-16.

Lotti, C., Ricciardi, L., Rainaldi, G., Ruta, C., Tarraf, W. and G. De Mastro. 2019. Morphological, Biochemical and Molecular Analysis of *Origanum vulgare* L. *The Open Agriculture Journal*, 13: 116-124.

Maior, M.C. and C. Dobrotă. 2013. Natural compounds with important medical potential found in *Helleborus* sp. *Central European Journal of Biology*, 8(3): 272-285.

Mandal, S.M., Chakraborty, D. and S. Dey. 2010. Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *Plant Signaling and Behavior*, 5(4): 359-368.

Marino, P.L. 2014. Μονάδα Εντατικής Θεραπείας. Εκδόσεις Ιατρικές Εκδόσεις -Λαγός Δημήτριος, σελ 954, ISBN. 9789607875945.

Mileo, A.M. and S. Miccadei. 2016. Polyphenols as Modulator of Oxidative Stress in Cancer Diseases: new therapeutic strategies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, DOI:10.1155/2016/6475624.

Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Sciences and Technology*, 26(2), 211-219.

Moradkhani, H., Sargsyan, E., Bibak, H., Naseri, B., Sadat – Hosseini, M., Fayazi-Barjin, A. and H. Meftahizade. 2010. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review. *Journal of Medicine Plants Research*, 4(25):2753-2759.

Mojzer, E.B., Hrnčíř, M.K., Škerget, M., Željko Knez, Z. and B. Urban. 2016. Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules*, 21(7):901-937

Minocha, S. and S. Kumari. 2015. An Overview on Tannins. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Science Archive*, 3(2): 1-3.

Mironidou - Tzouveleki, M. and P.M. Tzitzis. 2014. Medical Practice Applied in the Ancient Asklepeion in Kos Island. *Hellenic Journal of Nuclear Medicine*, 17(3): 167-170.

Najar, B., Demasi, B., Caser, M., Gaino, V., Cioni, P.L., Pistelli, L. and V. Scariot. 2019. Cultivation Substrate Composition Influences Morphology, Volatilome and Essential Oil of *Lavandula Angustifolia* Mill. *Agronomy*, 9(8): 411-429.

Nasardin, M.N.R., Hanafian, M.A.M., Zainor, M., Ibrahim, M. Zulkefle A.A. and A.I.A. Rahman. 2018. Comparative Study on Steam Distillation and Hydro-Distillation Methods for Agar wood Oil Extraction. *International Journal of Applied Engineering Research*, 13(8):6253-6253.

Panche, A.N., Diwan, A.D. and S.R. Chandra. 2016. Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5 (47):1-15.

Pandey, A.K., Kumar, P., Singh, P., Tripathi, N.N. and V.K. Bajpai. 2017. Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives. *Frontiers in Microbiology*, 7(2161): 71-90.

Pandey, K.B. and S.I. Rizvi. 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5): 270-278.

Perron, N.A. and J.L. Brumaghi. 2009. A review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds related to Iron Binding. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 53(2): 75-100.

Petrovska, B.B. 2012. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews*, 6(11): 1-5.

Poljsak, B., Suput, D. and I. Milisav. 2013. Achieving the balance between ROS and Antioxidants: When to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, DOI:10.1155/2013/956792.

Rassem, H.A., Nour, A.H. and R.M. Yunus. 2016. Techniques for Extraction of Essential Oils From Plants: A Review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(16): 117-127.

Reyes - Jurado, F., Franco - Vega, A., Ramírez - Corona, N., Palou, E. and A. López-Malo. 2015. Essential Oils: Antimicrobial Activities Extraction Methods, and their Modeling. *Food Engineering Reviews*, 7(3): 275-297.

Robbins, R.J. 2003. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51(10): 2866-2887.

Sakkas, H. and C. Papadopoulou. 2017. Antimicrobial Activity of Basil, Oregano, and Thyme Essential Oils. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27 (3): 429-438.

Shimamura, T., Sumikura, Y., Yamazaki, T. Yamazaki, T., Tada, A., Kashiwagi, T. Ishikawa, H., Matsui, T., Sugimoto, N., Akiyama, H. and H. Ukeda, 2014. Applicability of the DPPH Assay for Evaluating the Antioxidant Capacity of Food Additives - Inter-laboratory Evaluation Study -. *Analytical Sciences*, (30): 717-721.

Solomou, A.D., Martinos, D., Skoufogianni, E. and N.G. Dalianatos. 2016. Medicinal and Aromatic Plants Diversity in Greece and their Future Prospects: A review. *Agricultural Science*, 4(1): 9-12.

Sessa, M., Ferrari, M. and F. Donsi. 2015. Novel Edible Coating Containing Essential Oils Nanoemulsion to Prolong the Shelf Life of Vegetable Products. *Chemical Engineering Transactions*, 43:55-60.

Stefanou, P., Baloutas, D., Katsinikas, D., Araham, E.M., Kyriazopoloulos, A.P., Parissi, Z. and Arabatzis, G. 2015. Cultivation and production of aromatic plants in Greece: present situation, possibilities and prospects. 8th Panhellenic Rangeland Congress, Thessaloniki, 2015: 65-70.

Stoner G.B. and H. Mukhtar. 1995. Polyphenols as cancer chemopreventive agents. *Journal of Cellular Biochemistry*, 22:196-180.

Tesseromatis. C. 2020. Drugs in Greek mythology and medicine. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 8(2): 38-43.

Tongnuachan, P. and S. Benjakul. 2014. Essential Oils: Extraction Bioactivities, and their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*, 79(7):1231-1249.

Tsitsoni, T., Zagas, T. and P. Ganatsas. 2002. Plant Diversity and Nature Conservation in Koziakas Natura 2000 (Network) Site, Central Greece. 6th International Conference «Protection and Restoration of Environment VI ». Skiathos, 2002.1:609-616.

Visioli, F., De la Lastra, C., Andres - Lacueva, C., Aviram, C., Calhau, C., Cassano, A., D'Archivio, M., Faria, A., Favé, G., Fogliano, V., Lloriache, R., Vitaglione, P., Zovatti, M. and M. Edeas. 2011. Polyphenols and Human Health: A Prospectus. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(6): 524-546.

Walkuski, M., Szwed, O., Lenzioszek, M. and K.M. Terlikowska. 2018. Polyphenols and flavonoids in the prevention and treatment of diabetes type 2. *Progress in Health Sciences* 8(2) : 174-180.

Wells , R., Truong, F., Adal, A.M., Sarker, L.S. and S.S Mahmoud. 2018. Lavandula Essensial Oils: A Current Review of Applications in Medicinal, Food and Comsetic Industries of Lavender. National Product Communications, 13(10): 1403-1417.

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.

Yudharaj, P., Shankar, M., Sowjanya, R., Sireesha, B., Ashok Naik, E. and R. Jasmine Priyadarshini. 2016. Importance and Uses of Medicinal Plants - An Overview. International Journal of Preclinical and Pharmaceutical Research, 7(2): 67-73.

Zekr, N., Amalich. S., Boughdad, A., El belghot, M.A.. and T. Zair. 2013. Phytochemical study and insecticidal activity of Mentha pulegium L. oils from Morocco against Sitophilus Oryzae. Mediterranean Journal of Chemistry, 2(4): 607-619.

Zsopa, A., Pajor, J., Klin, P., Rzeplia, A., Elansary, H.O., Al-Mana, F.A., Mattar, M.A. and H. Ekiert. 2020. Artemisia absinthium L.- Importance in the History of Medicine, the Latest Advances in Phytochemistry and Therapeutical, Cosmetological and Culinary Uses. Plants, 9 (9): 1063-1096.

Zunic, L., Skrbo, A. and A. Dobraka. 2017. Historical Contribution of Pharmaceutics to Botany and Pharmacognosy Development. Materia Socio-Medica, 29(4): 291-300.