



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

Θέμα Πτυχιακής Εργασίας

«Αξιολόγηση της περιεκτικότητας σε σιλυμαρίνη και τα συστατικά της πληθυσμών του γαϊδουράγκαθου (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) από περιοχές της Πελοποννήσου»

Βαρδάκα Αικατερίνη



Επιβλέπων καθηγητής: Νικόλαος Τσιρόπουλος (Καθηγητής)

Βόλος, 2020

Θέμα πτυχιακής εργασίας

«Αξιολόγηση της περιεκτικότητας σε σιλυμαρίνη και τα συστατικά της πληθυσμών του γαϊδουράγκαθου (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) από περιοχές της Πελοποννήσου.»

Βαρδάκα Αικατερίνη

Επιβλέπων καθηγητής: Νικόλαος Τσιρόπουλος (Καθηγητής)

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

- 1. Νικόλαος Τσιρόπουλος, Καθηγητής, Επιβλέπων**
- 2. Σπυρίδων Πετρόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Μέλος**
- 3. Ανέστης Καρκάνης, Επίκουρος Καθηγητής, Μέλος**

Βόλος, 2020

Πρόλογος-Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή εργασία με σκοπό την αξιολόγηση πληθυσμών γαϊδουράγκαθου (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) περιοχών της Πελοποννήσου ως προς την περιεκτικότητα των σπόρων τους σε σιλυμαρίνη και τα συστατικά της πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος. Αποτελέσματα της παρούσας εργασίας παρουσιάστηκαν στο 20^ο Συνεδρίου Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρείας, που πραγματοποιήθηκε το 2019 στο Αγρίνιο, ως μέρος της γραπτής παρουσίασης με τίτλο “Αξιολόγηση της περιεκτικότητας σε σιλυμαρίνη βιοτύπων του φυτού *Silybum marianum* από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου”.

Ευχαριστώ θερμά τον κ. Τσιρόπουλο Νικόλαο, Καθηγητή, για την ανάθεση του θέματος καθώς και για τις πολύτιμες συμβουλές σε όλη τη διάρκεια των πειραμάτων και συγγραφής της πτυχιακής μου εργασίας.

Θα ήθελα, επίσης, να εκφράσω τις ευχαριστίες μου, επίσης προς τον Επίκουρο καθηγητή κ. Καρκάνη Ανέστη για τη συνεχή επικοινωνία και την καθοδήγηση κατά τη συγγραφή της εργασίας.

Ευχαριστώ ακόμη, τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Πετρόπουλο Σπυρίδωνα για τη διάθεση του να συμμετέχει στη Συμβουλευτική Επιτροπή.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά τον πατέρα μου για την πολύτιμη βοήθεια του στη συλλογή των δειγμάτων.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη	6
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή	7
1.1. Γενικά-Βοτανική Ταξινόμηση	7
1.2. Μορφολογικά χαρακτηριστικά	7
1.3. Στάδια ανάπτυξης-Προσαρμοστικότητα-Καλλιεργητική τεχνική	10
1.3.1. Στάδια ανάπτυξης	10
1.3.2. Έδαφος-προσαρμοστικότητα	10
1.3.3. Σπορά	10
1.3.4. Λίπανση	11
1.3.5. Άρδευση	12
1.3.6. Συγκομιδή	12
1.3.7. Απόδοση	12
1.4. Χημικά συστατικά του φυτού <i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn	13
1.4.1. Φλαβονολιγνάνες - Φλαβονοειδή	13
1.4.2. Έλαιο	15
1.5. Χρήσεις	15
1.5.1. Ηπατοπροστατευτική δράση	15
1.5.2. Αντιοξειδωτική δράση	15
1.5.3. Αντικαρκινική δράση	16
Κεφάλαιο 2: Υλικά και μέθοδοι	17
2.1. Συγκομιδή	17
2.2. Μετρήσεις εργαστηρίου	18
2.2.1. Μετρήσεις ξηρού βάρους	18
2.2.2. Μετρήσεις χρώματος	19
2.2.3. Εκχύλιση	19
2.2.4. Χρωματογραφική ανάλυση	21
2.2.5. Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH	23

2.3. Στατιστική Ανάλυση	25
Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα	26
3.1. Βάρος 1000 σπόρων	26
3.2. Μετρήσεις χρώματος	26
3.3. Περιεκτικότητα ελαίου	29
3.4. Περιεκτικότητα σιλυμαρίνης	29
3.5. Συστατικά σιλυμαρίνης	30
3.5.1. Ταξιφολίνη	30
3.5.2. Σιλυχριστίνη	31
3.5.3. Σιλυδιανίνη - Ισοσιλυχριστίνη	31
3.5.4. Σιλυμπίνη Α και Β	33
3.5.5. Ισοσυλιμπίνη Α και Β	35
3.6. Αντιοξειδωτική ικανότητα του εκχυλίσματος των σπόρων με τη μέθοδο DPPH	37
Κεφάλαιο 4: Συζήτηση	38
4.1 Βάρος σπόρων	38
4.2. Σιλυμρίνη και συστατικά της	38
4.3. Αντιοξειδωτική ικανότητα	41
Συμπεράσματα	43
Βιβλιογραφία	44

Περίληψη

Στην παρούσα πτυχιακή μελέτη αξιολογούνται αυτοφυείς πληθυσμοί του φυτού γαϊδουράγκαθου (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) από περιοχές της Πελοποννήσου ως προς την περιεκτικότητά τους σε σιλυμαρίνη και τα επιμέρους συστατικά της. Οι 7 διαφορετικοί πληθυσμοί που μελετήθηκαν προέρχονται από τις περιοχές Αρτεμίσιο Ι, Αρτεμίσιο ΙΙ, Μυκήνες, Ίρια, Ναύπλιο Ι, Ναύπλιο ΙΙ και Κόρινθος. Το φυτό γαϊδουράγκαθο (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) είναι φαρμακευτικό φυτό και μελετάται για τις ποικίλες θεραπευτικές του δράσεις. Η σιλυμαρίνη, το εκχύλισμα των σπόρων του φυτού, χρησιμοποιείται κυρίως για τη θεραπεία παθήσεων του ήπατος και τα κύρια συστατικά της περιλαμβάνουν επτά флаβονολιγνάνες (σιλυχριστίνη, σιλυδιανίνη, ισοσιλυχριστίνη, σιλυμπίνη Α, σιλυμπίνη Β, ισοσιλυμπίνη Α, ισοσιλυμπίνη Β) και ένα флаβονοειδές (ταξιφολίνη).

Η πειραματική διαδικασία περιελάμβανε εκχύλιση κονιοποιημένων σπόρων με εξάνιο με σκοπό την αφαίρεση των λιπαρών συστατικών και προσδιορισμό τους σταθμικά και ακόλουθη εκχύλιση των σπόρων με μεθανόλη για την παραλαβή των συστατικών της σιλυμαρίνης και ανάλυση του εκχυλίσματος με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή υπεριώδους (HPLC-UV) για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των συστατικών της σιλυμαρίνης. Η περιεκτικότητα των σπόρων σε έλαιο κυμάνθηκε από 22,5% έως 25,7%, με τη μέγιστη περιεκτικότητα να καταγράφεται στον πληθυσμό Αρτεμίσιο ΙΙ. Η χαμηλότερη τιμή περιεκτικότητας των σπόρων σε σιλυμαρίνη καταγράφηκε στον πληθυσμό Μυκήνες (1,81%), ενώ η υψηλότερη στον πληθυσμό Αρτεμίσιο Ι (5,53 %). Η μέση τιμή των επτά πληθυσμών ήταν 3,35 %. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας αναφέρονται και στα επιμέρους συστατικά της σιλυμαρίνης, όπου ενδιαφέρον παρουσίασαν οι πληθυσμοί Αρτεμίσιο Ι με μέγιστη περιεκτικότητα σε σιλυχριστίνη και Κόρινθος με μέγιστες περιεκτικότητες σε σιλυμπίνη Α και Β και ισοσιλυμπίνη Α και Β. Επίσης, ο πληθυσμός Αρτεμίσιο ΙΙ παρουσίασε υψηλές τιμές περιεκτικότητας σε ταξιφολίνη. Ως συμπέρασμα στην παρούσα εργασία προκύπτει ότι οι πληθυσμοί από την Πελοπόννησο παρουσίασαν διαφορές ως προς την περιεκτικότητά των σπόρων σε σιλυμαρίνη αλλά και ως προς τη σύσταση της σιλυμαρίνης και σε επόμενο στάδιο θα μπορούσαν να αξιολογηθούν σε πειραματικές καλλιέργειες έτσι ώστε να καταγραφεί η απόδοσή τους σε σπόρο καθώς

και η περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη και στα συστατικά της υπό τις ίδιες εδαφοκλιματικές συνθήκες.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

1.1. Γενικά-Βοτανική Ταξινόμηση

Το γαϊδουράγκαθο (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) είναι ετήσιο ή διετές ζιζάνιο, το οποίο ξεκινάει την ανάπτυξη του χειμερινούς μήνες και την ολοκληρώνει στις αρχές του καλοκαιριού (Arampatzis et al. 2019, Gresta et al. 2007). Παρακάτω παρουσιάζεται αναλυτικά η ταξινόμηση του συγκεκριμένου είδους (USDA PLANTS Classification):

Βασίλειο: Plantae

Άθροισμα: Magnoliophyta

Κλάση: Magnoliopsida

Υποκλάση: Asteridae

Τάξη: Asterales

Οικογένεια: Asteraceae

Γένος: *Silybum* Adans.

Είδος: *Silybum marianum* (L.) Gaertn.

1.2. Μορφολογικά χαρακτηριστικά

Το φυτό του γαϊδουράγκαθου μπορεί να φτάσει σε ύψος έως 250 cm (Montemurro et al. 2007, Karkanis et al. 2011). Τα φύλλα του φυτού είναι μεγάλα, ακανθώδη και χαρακτηρίζονται από σκούρο πράσινο χρώμα με λευκές νευρώσεις (Εικόνα 1) κατά μήκος των φύλλων (Montemurro et al. 2007, Gresta et al. 2007). Τα φύλλα της βάσης έχουν μήκος 50-60 cm και πλάτος 20-30 cm (Εικόνα 2), ενώ τα φύλλα του στελέχους που εκφύονται περιμετρικά του βλαστού είναι μικρότερα (Karkanis et al. 2011). Το κύριο στέλεχος είναι διακλαδισμένο στο πάνω μέρος του και κάθε μικρή διακλάδωση καταλήγει σε μια κεφαλή (ταξιανθία). Ο κεντρικός βλαστός έχει μωβ χρώματος ταξιανθία που περιβάλλεται από αγκαθωτά φύλλα (Εικόνα 3) και έχει διάμετρο περίπου 5 cm (Montemurro et al. 2007, Karkanis et al. 2011).



Εικόνα 1. Λευκές νευρώσεις σε φύλο του γαϊδουράγκαθου.



Εικόνα 2. Κατώτερα φύλλα του φυτού.

Ο σπόρος (βοτανικά ορθώς: καρπός) του φυτού είναι αχάινιο μήκους 5-8 mm και χρώματος καστανού έως μαύρου (Karkanis et al. 2011). Οι σπόροι είναι επίπεδοι, λείοι και φέρουν λεπτά λευκά τριχίδια (πάππος). Λόγω του λεπτού πάππου, δεν έχουν μεγάλη διασπορά μέσω του ανέμου (Montemurro et al. 2007). Επίσης, οι σπόροι χαρακτηρίζονται ως ελαιούχοι και στα κύτταρα τους εντοπίζονται ελαιосώματα που αποθηκεύουν μεγάλη ποσότητα ελαίου. Το έλαιο αυτό βοηθάει στη διασπορά των σπόρων καθώς είναι ιδιαίτερα ελκυστικό για τα μυρμήγκια (Gresta et al. 2018). Η βιωσιμότητα των σπόρων μπορεί να είναι έως 9 έτη (Sindel 1991, Karkanis et al. 2011).



Εικόνα 3. Κεφαλή του φυτού με μωβ χρώματος άνθη.

Κάθε κεφαλή του φυτού παράγει περίπου 200 σπόρους, με μέσο όρο 6.350 σπόρους ανά φυτό (Morazzoni and Bombardelli 1995, Montemurro et al. 2007). Το

βάρος των 1000 σπόρων γαϊδουράγκαθου είναι 17,3-30 g (Andrzejewska et al. 2011, Karkanis et al. 2011, Arampatzis et al. 2019).

1.3. Στάδια ανάπτυξης-Προσαρμοστικότητα-Καλλιεργητική τεχνική

1.3.1. Στάδια ανάπτυξης

Το γαϊδουράγκαθο διαχειμάζει ως ροζέτα και καλλιεργείται ως ετήσιο φυτό. Τα στάδια ανάπτυξης του φυτού είναι η βλάστηση, η περίοδος ανάπτυξης, η άνθηση και η ωρίμανση του σπόρου. Στους 2-15 °C πραγματοποιείται η βέλτιστη βλάστηση, η άνθηση ξεκινάει σε χαμηλές θερμοκρασίες και η ταξιανθία σχηματίζεται από τον Απρίλιο έως τον Μάιο. Η ωρίμανση των σπόρων ολοκληρώνεται τον Ιούνιο (Karkanis et al. 2011).

1.3.2. Έδαφος-προσαρμοστικότητα

Το γαϊδουράγκαθο συναντάται κατά μήκος των δρόμων και σε άγονα εδάφη. Συναντάται επίσης στους καλλιεργημένους αγρούς, αν και στις περισσότερες χώρες θεωρείται ζιζάνιο λόγω της ανταγωνιστικότητας του για νερό και θρεπτικά συστατικά και λόγω της σκίασης που προκαλεί (Montemurro et al. 2007). Είδη που συναντάμε σε μεγάλο εύρος γεωγραφικών περιοχών, όπως το γαϊδουράγκαθο, συχνά αναπτύσσουν τοπικά προσαρμοσμένους γονοτύπους, γνωστούς ως οικοτύπους, με διαφορετικούς ρυθμούς ανάπτυξης και διαφορετική αντοχή σε οριακές τιμές θερμοκρασιών ή θρεπτικών συστατικών (Shokrpour et al. 2008).

Η καλλιέργεια του γαϊδουράγκαθου αναπτύσσεται επιτυχώς σε μεγάλο εύρος εδαφών, από αμμώδη έως αργιλώδη εδάφη, με βέλτιστο pH 5,5-7,6 (Karkanis et al. 2011). Σύμφωνα με τους Perrino et al. (2014) πρόκειται για φυτό ανθεκτικό σε εδάφη που περιέχουν βαρέα μέταλλα (Sulas et al. 2015).

1.3.3. Σπορά

Η σπορά πραγματοποιείται το φθινόπωρο ή και την άνοιξη, ανάλογα με τις εδαφοκλιματικές συνθήκες της περιοχής. Συγκεκριμένα η σπορά γίνεται το φθινόπωρο στις θερμές περιοχές και την άνοιξη σε περιοχές με μέτριες θερμοκρασίες. Οι αποστάσεις φύτευσης μεταξύ των σειρών είναι 40-75 cm και 20-30 cm μεταξύ των

φυτών της σειράς (Karkanis et al. 2011). Σε πειράματα με απόσταση φύτευσης 50 cm συγκριτικά με την απόσταση 25 cm μεταξύ των σειρών, το ύψος και ο αριθμός των κεφαλών ανά φυτό αυξήθηκαν στην πρώτη περίπτωση, ενώ η απόδοση των σπόρων μειώθηκε αλλά παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης φλαβονολιγνανών στους σπόρους (Omer et al. 1993).

1.3.4. Λίπανση

Η καλλιέργεια του γαϊδουράγκαθου έχει χαμηλές έως μέτριες θρεπτικές απαιτήσεις. Η πρώιμη εφαρμογή του λιπάσματος φυλλώματος N-P-K ενισχύει την ανάπτυξη των φυτών (Geneva et al. 2008). Η εφαρμογή καλίου και φωσφόρου γίνεται πριν τη σπορά όπως και η εφαρμογή της μισής ποσότητας αζώτου. Η υπόλοιπη ποσότητα εφαρμόζεται στο στάδιο ανάπτυξης του στελέχους (Karkanis et al. 2011).

Σύμφωνα με τους Omer et al. (1993), η καλιούχος λίπανση συμβάλει στην αύξηση του αριθμού των κεφαλών, στην απόδοση του σπόρου και στην απόδοση ελαίου στον σπόρο. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε μικρή αύξηση με την εφαρμογή 115 kg K₂O/ha από την αρχική ποσότητα των 55 kg K₂O/ha. Παράλληλα καταγράφηκε και αύξηση της απόδοσης φλαβονολιγνανών, όπως σιλυμπίνης, σιλυδιανίνης, σιλυχριστίνης και ισοσιλυμπίνης.

Η αζωτούχος λίπανση έχει ως αποτέλεσμα εντονότερη βλάστηση, μεγαλύτερο ύψος του φυτού και σημαντική αύξηση του αριθμού των κεφαλών, στην περίπτωση όπου η ποσότητα του αζωτούχου λιπάσματος αυξήθηκε από 70 kg/ha σε 140 kg/ha. Στην περίπτωση αυτή όμως, δεν παρατηρήθηκε αλλαγή στην συγκέντρωση του ελαίου στον σπόρο (Omer et al. 1993).

Σε πειράματα αγρού, οι Andrzejewska and Skinder (2007) διαπίστωσαν ότι η λίπανση του εδάφους της καλλιέργειας σε συνδυασμό με την αλλαγή ημερομηνίας της σποράς, είχε θετική επίδραση στην απόδοση του σπόρου, στην περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη και στην αναλογία ακόρεστων λιπαρών οξέων. Επίσης, οι Geneva et al. (2008) διαπίστωσαν ότι η διαφυλλική εφαρμογή λιπάσματος και thidiazuron (ρυθμιστής ανάπτυξης με υψηλή δραστηριότητα κυτοκινίνης) καθώς και η εφαρμογή MD148/II (3-methylphenylamide 5-tert-butylpyrazine-2-carboxylic acid) σε συγκέντρωση 1,10-3 M, είχαν θετική επίδραση στην ανάπτυξη του φυτού, στον ρυθμό άνθησης, στην απόδοση των σπόρων και στην περιεκτικότητα σιλυμαρίνης. Η

αυξημένη απόδοση των σπόρων οφείλεται στον μεγάλο αριθμό κεφαλών ανά φυτό ως συνέπεια της αυξημένης πλευρικής διακλάδωσης του γαιΐδουράγκαθου.

1.3.5. Άρδευση

Το γαιΐδουράγκαθο είναι ανθεκτικό στην ξηρασία. Οι βροχοπτώσεις συνήθως προσφέρουν την κατάλληλη ποσότητα νερού που χρειάζεται η καλλιέργεια. Σε μεσογειακό περιβάλλον, οι καλλιέργειες μπορεί να αρδεύονται κατά την ανάπτυξη και ωρίμανση των φυτών (Karkanis et al. 2011).

1.3.6. Συγκομιδή

Ο χρόνος συγκομιδής εξαρτάται από το στάδιο ωριμότητας της καλλιέργειας. Η άνθηση των κεφαλών διαφοροποιείται ανάλογα τον χρόνο και τον χώρο, οπότε η ωρίμανση δεν είναι ταυτόχρονη σε ολόκληρο το φυτό (Karkanis et al. 2011). Σύμφωνα με τους Carrier et al. (2002), η όψιμη συγκομιδή κεφαλών συνοδεύεται με υψηλότερη περιεκτικότητα σιλυμαρίνης, συγκριτικά με την πρόιμη συγκομιδή. Επίσης, ανάλογα τη γεωγραφική περιοχή μεταβάλλεται η περιεκτικότητα σιλυμαρίνης. Συγκεκριμένα σε πείραμα των Martin et al. (2006) καταγράφηκε διαφορετική σύσταση και περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη σε καλλιέργειες στη Νέα Ζηλανδία και στην Ευρώπη.

1.3.7. Απόδοση

Η απόδοση μειώνεται σημαντικά έως και σε ποσοστό 40 % λόγω της μηχανικής συγκομιδής της καλλιέργειας καθώς και λόγω των μορφολογικών του χαρακτηριστικών (ακανθώδη φύλλα, ακανθώδη άνθη) που καθιστούν το φυτό δύσκολο για χειρωνακτική συγκομιδή (Rady et al. 2018, Hammouda et al. 1993).

Η περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη κυμαίνεται από 1,0% έως 3,0% αλλά μπορεί να υπερβαίνει το 8% (Karkanis et al. 2011). Το ποσοστό αυτό εξαρτάται από την ποικιλία του γαιΐδουράγκαθου και τις εδαφοκλιματολογικές συνθήκες στις οποίες αναπτύσσεται η καλλιέργεια. Τα επίπεδα της σιλυμαρίνης και τα επιμέρους συστατικά της επηρεάζονται από τη διαθεσιμότητα νερού και τα επίπεδα αζώτου (Hammouda et al. 1993). Η απόδοση των σπόρων και η περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη μπορούν επίσης να

επηρεαστούν από την απόσταση σποράς μεταξύ των σειρών (Omer et al. 1993) Επιπλέον, η μη ταυτόχρονη άνθηση των κεφαλών προκαλεί σοβαρά προβλήματα στη συγκομιδή της καλλιέργειας (Rady et al. 2018).

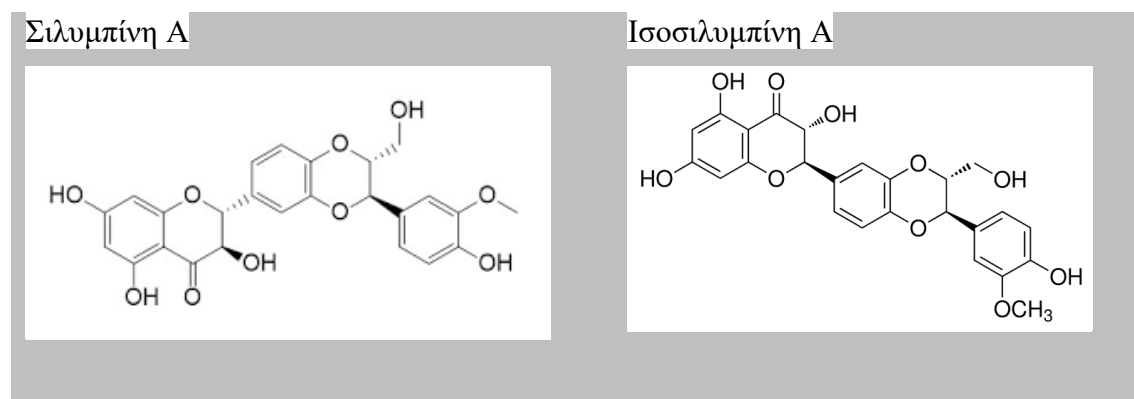
1.4.Χημικά συστατικά του φυτού *Silybum marianum* (L.) Gaertn.

1.4.1. Φλαβονολιγνάνες - Φλαβονοειδή

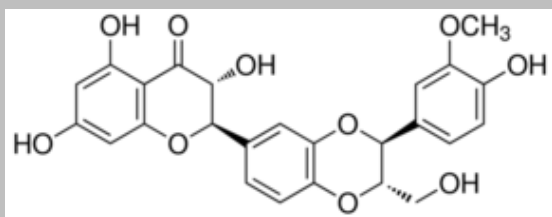
Η σιλυμαρίνη αποτελεί μείγμα φλαβονολιγνάνων όπως η σιλυμπίνη Α, η σιλυμπίνη Β, η ισοσιλυμπίνη Α, η ισοσιλυμπίνη Β, η σιλυδιανίνη και η σιλυχριστίνη, όπως φαίνεται στην εικόνα 4, και ενός φλαβονοειδούς, τη ταξιφολίνη (Kvasnicka et al. 2003, Ramasamy and Agarwal 2008, Poppe et al.2016)

Η σιλυμαρίνη συναντάται σε διάφορα μέρη του φυτού, αλλά η μεγαλύτερη ποσότητα καταγράφεται στους σπόρους (Karkanis et al. 2011). Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη στους σπόρους κυμαίνεται από 1 έως και πάνω από 8% του ξηρού βάρους του σπόρου (Karkanis et al. 2011, Abenavoli et al. 2010, Arampatzis et al. 2019). Εκτός από τις ουσίες που αναφέρθηκαν, σε μελέτη των Kvasnicka et al. (2003) προσδιορίστηκαν σε μικρές συγκεντρώσεις και άλλες ουσίες, όπως η σιλανδρίνη, σιλυμπινόνη, σιλυερμίνη, η δεσυδροσιλυμπίνη, η δεσοξυσιλυχριστίνη, η δεσοξυσιλυδιανίνη και άλλες. Σύμφωνα με τους Ramasamy and Agarwal (2008) αυτές οι ενώσεις παρουσιάζονται στις κεφαλές λευκού χρώματος.

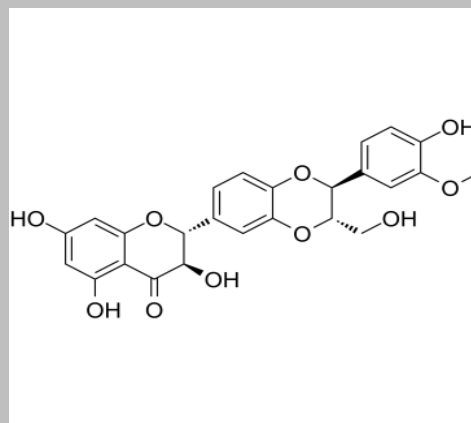
Διάφοροι τύποι φλαβονολιγνανών έχουν καταγραφεί στη βιβλιογραφία σε φυτά όπως το ρύζι (*Oryza sativa* L.) και η μάκα (*Lepidium meyenii* Walp.), χωρίς όμως να παρουσιάζουν τα χαρακτηριστικά του γαϊδουράγκαθου ως πρωταρχική πηγή φλαβονολιγνανών προερχόμενα από την ταξιφολίνη (Mohanlal et al. 2011, Wang and Zhu 2019, Drouet et al. 2020)



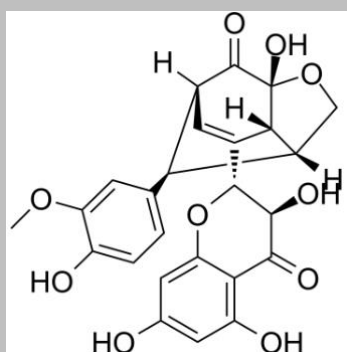
Σιλυμπίνη Β



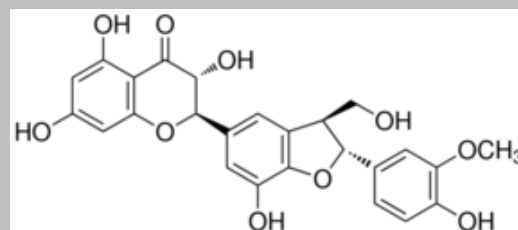
Ισοσιλυμπίνη Β



Σιλυδιανίνη



Σιλυχριστίνη



Εικόνα 4. Χημικές δομές μερικών φλαβονολιγνάνων συστατικών της σιλυμαρίνης.

1.4.2. Έλαιο

Οι ώριμοι σπόροι του γαϊδουράγκαθου περιέχουν έλαιο καλής ποιότητας. (Rady at al. 2018). Ο σπόρος του γαϊδουράγκαθου περιέχει 15-30% έλαιο, με τη μορφή τριγλυκεριδίων σε αναλογίες περίπου 60% λινελαϊκό, 30% ελαϊκό και 9% παλμιτικό οξύ (Abenavoli et al. 2010).

1.5. Χρήσεις

Το φυτό γαϊδουράγκαθο χρησιμοποιείται ως ζωοτροφή λόγω των αντιοξειδωτικών του ιδιοτήτων, ενώ μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως ενεργειακό φυτό και για την παραγωγή βιομάζας (Sulas et al. 2008) κυρίως όμως είναι ένα πολύτιμο φαρμακευτικό φυτό καθώς η σιλυμαρίνη των σπόρων του παρουσιάζει ποικίλες δράσεις, όπως η αντιοξειδωτική, η αντικαρκινική και ηπατοπροστατευτική δράση.

1.5.1 Ηπατοπροστατευτική δράση

Σχετικά με την ηπατοπροστατευτική του δράση, τα σκευάσματα σιλυμαρίνης είναι κατάλληλα για την αντιμετώπιση χρόνιων ασθενειών όπως η κύρωση, η ηπατίτιδα και η λιπώδης διήθηση του ήπατος (Ramasamy and Agarwal 2008). Η δράση της σιλυμαρίνης εντοπίζεται στις μεμβράνες των ερυθρών αιμοσφαιρίων, τα οποία έχουν καταστραφεί λόγω τοξινών (Kvasnicka et al. 2003).

1.5.2 Αντιοξειδωτική δράση

Η σιλυμαρίνη αποτελεί φυσικό αντιοξειδωτικό και συμβάλλει στην ηπατοπροστατευτική δράση του γαϊδουράγκαθου (Abenavoli et al. 2018) Ο Surai (2015) σε έρευνα του ανέλυσε τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς της σιλυμαρίνης. Οι πιθανοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί της σιλυμαρίνης περιλαμβάνουν:

- παρεμπόδιση σχηματισμού ελευθέρων ριζών μέσω αναστολής ειδικών ενζύμων που παράγουν δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS).
- άμεση περισυλλογή (scavenging) των ελεύθερων ριζών και χηλικών συμπλόκων σιδήρου και χαλκού στο έντερο.
- προώθηση της σύνθεσης προστατευτικών μορίων (π.χ. πρωτεΐνες θερμικού σοκ, θειορεδοξίνη και σιρτουίνες) που παρέχουν προστασία από αγχωτικά ερεθίσματα.
- μείωση της φλεγμονώδους αντίδρασης παρεμποδίζοντας τη μεταβολική οδό της πρωτεΐνης NF-Kb.
- ενεργοποίηση αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως του ενζύμου δισμουτάσης υπεροξειδίου του υδρογόνου (SOD).

Τέλος, σύμφωνα με τους Darvishi-Khezri et al. (2018) τα σκευάσματα σιλυμαρίνης μειώνουν το οξειδωτικό στρες στους ασθενείς με β - θαλασσαιμία.

1.5.3 Αντικαρκινική δράση

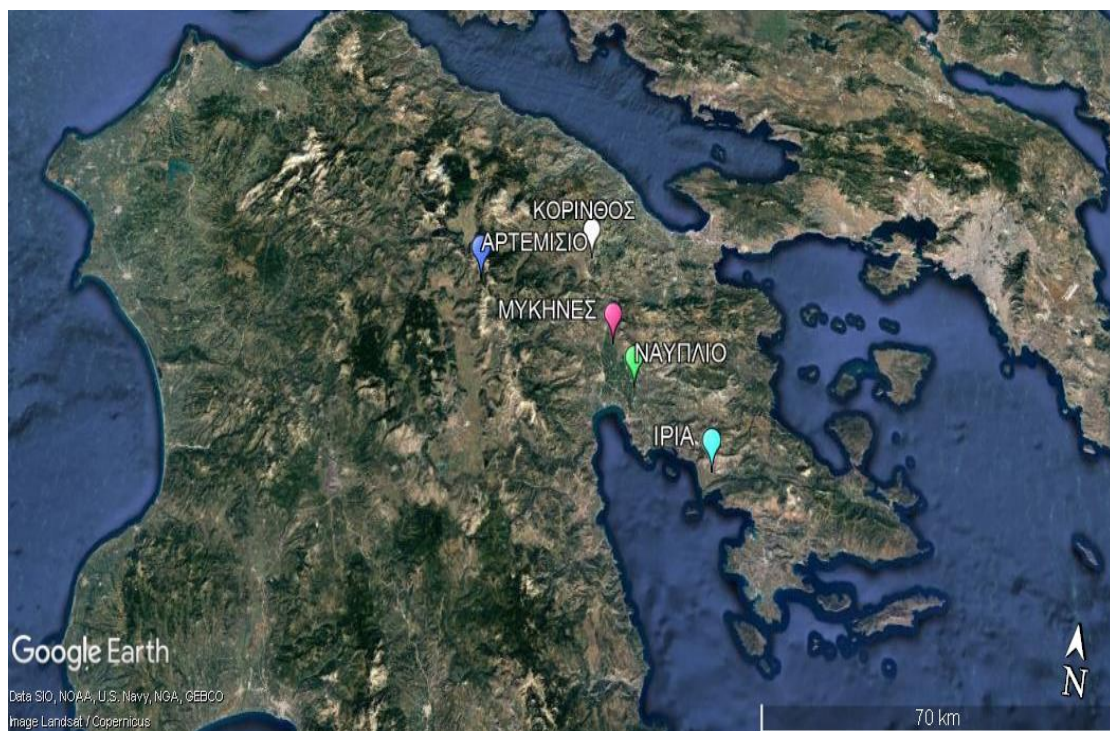
Σύμφωνα με τους Boojar et al. (2020), η αντικαρκινική δράση της σιλυμαρίνης των σπόρων σχετίζεται με τους διάφορους μοριακούς μηχανισμούς όπου η σιλυμπίνη δρα κατά των όγκων. Η δράση αυτή αφορά διάφορους τύπους καρκίνου (Fehér and Lengyel 2015, Kordkheyli et al. 2018, Mombeini et al. 2018, Won et al. 2018,, Gioti et al. 2019, Iqbal et al. 2019, Kim et al. 2019, Bektur Aykanat et al. 2020, Kacar et al. 2020, Mashhadi Akbar Boojar et al. 2020) όπως:

- του δέρματος,
- του πνεύμονα,
- της ουροδόχου κύστης,
- των νεφρών,
- του μαστού,
- του παχέος εντέρου,
- του ήπατος,
- του στόματος,
- του προστάτη.

Κεφάλαιο 2: Υλικά και μέθοδοι

2.1. Συγκομιδή

Οι σπόροι του φυτού *Silybum marianum* συλλέχθηκαν από 7 άγριους βιότυπους του γεωγραφικού διαμερίσματος της Πελοποννήσου και συγκεκριμένα από τους νομούς Αργολίδας, Αρκαδίας και Κορινθίας (Εικόνα 5). Το χρονικό διάστημα της συγκομιδής ήταν οι μήνες Μάιος και Ιούνιος 2018, το οποίο διαφοροποιείται ανάλογα την περιοχή και τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικράτησαν και αναφέρεται στον Πίνακα 1. Στον Πίνακα 1 αναφέρονται επίσης το γεωγραφικό πλάτος και μήκος κάθε τοποθεσίας και το υψόμετρο.



Εικόνα 5. Τοποθεσίες προέλευσης σπόρων *Silybum marianum*.

Όλοι οι σπόροι ήταν ώριμοι και προέρχονταν από κεφαλές χρώματος μωβ, οι οποίες συγκομίστηκαν δια χειρός με τη χρήση ψαλιδιού. Συνολικά συγκομίστηκαν 30 κεφαλές από κάθε τοποθεσία, οι οποίες αποθηκεύτηκαν σε πλαστικές σακούλες, επεξεργάστηκαν και τέλος παραλήφθηκαν οι σπόροι. Ακολούθησε ο καθαρισμός των σπόρων και η συντήρησή τους σε ψυγείο μέχρι την έναρξη της εργαστηριακής επεξεργασίας.

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά προέλευσης σπόρων *Silybum marianum*.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ	ΤΟΠΟΘΕΣΙΕΣ	ΧΡΩΜΑ ΑΝΘΟΥΣ	ΥΨΟΜΕΤΡΟ (m)	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΣΥΓΚΟΜΙΔΗΣ
ΑΡΤΕΜΙΣΙΟ Ι	37°46'25.36"N 22°23'1.41"E	ΜΩΒ	820	29/5/2018
ΑΡΤΕΜΙΣΙΟ ΙΙ	37°46'25.36"N 22°23'1.41"E	ΜΩΒ	820	29/5/2018
ΜΥΚΗΝΕΣ	37°41'56.1"N 22°44'55.3"E	ΜΩΒ	59	11/5/2018
ΙΡΙΑ	37°30'20.2"N 23°01'20.1"E	ΜΩΒ	54	15/6/2018
ΝΑΥΠΛΙΟ Ι	37°37'37.4"N 22°48'50.1"E	ΜΩΒ	28	29/5/2018
ΝΑΥΠΛΙΟ ΙΙ	37°37'37.4"N 22°48'50.1"E	ΜΩΒ	28	29/5/2018
ΚΟΡΙΝΘΟΣ	37°51'08.6"N 22°40'07.1"E	ΜΩΒ	450	26/6/2018

2.2. Μετρήσεις εργαστηρίου

Οι εργαστηριακές μετρήσεις διεξήχθησαν στο εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας και στο Εργαστήριο Ζιζανιολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος τους μήνες Ιούλιο και Αύγουστο 2018.

2.2.1. Μετρήσεις ξηρού βάρους

Όργανα

- Κλίβανος για την αποξήρανση των δειγμάτων
- Ηλεκτρονική ζυγαριά ακριβείας για τη μέτρηση ξηρού βάρους

Υλικά

- Σπόροι *Silybum marianum*

Διαδικασία

Για τη μέτρηση ξηρού βάρους των σπόρων των δειγμάτων του φυτού *Silybum marianum*, παραλαμβάνονται 40 σπόροι και αποξηραίνονται σε κλίβανο στους 60 °C.

2.2.2 Μετρήσεις χρώματος

Όργανα

- CR 400 Chroma Meter

Υλικά

- Σπόροι *Silybum marianum*

Διαδικασία

Για τις μετρήσεις χρώματος, οι παράμετροι L*, C*, h° προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας το CR 400 Chroma Meter (Arampatzis et al. 2018). Το L* αντιπροσωπεύει τη φωτεινότητα του σπόρου που κυμαίνεται από 0 (μαύρο) έως 100 (λευκό), το C* καθορίζει την ένταση του χρώματος και το h είναι η απόχρωση. Οι τιμές της έντασης του χρώματος και της απόχρωσης εκτιμήθηκαν χρησιμοποιώντας τις εξισώσεις (1) και (2), αντίστοιχα, όπως προτείνεται από τον McGuire (1992):

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (1)$$

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

2.2.3. Εκχύλιση

Όργανα

- Ζυγός
- Ηλεκτρικός μύλος για τον θρυμματισμό των σπόρων
- Εκχυλιστήρας - συσκευή Soxhlet
- Περιστροφικός εξατμιστήρας
- Λουτρό υπερήχων

Σκεύη

- Ποτήρια ζέσεως
- Σφαιρικές φιάλες
- Ογκομετρικές φιάλες 25 mL

- Ογκομετρικοί κύλινδροι
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Πιπέτες
- Σιφόνια
- Φύσιγγες κυτταρίνης

Αντιδραστήρια-Υλικά

- Μεθανόλη analytical
- Μεθανόλη HPLC
- Εξάνιο
- Αποσταγμένο νερό
- Σπόροι *Silybum marianum* L.

Διαδικασία

Για την προετοιμασία της εκχύλισης, 6 g σπόρων θρυμματίζονται χρησιμοποιώντας μύλο άλεσης. Η εκχύλιση γίνεται με χρήση της συσκευής Soxhlet με 200 mL εξανίου και 5 g αλεσμένων σπόρων που έχουν τοποθετηθεί σε φύσιγγα. Μετά από 4 ώρες παραλαμβάνεται το εξανικό εκχύλισμα το οποίο περιέχει τα ελαιώδη συστατικά (λιπαρές ουσίες). Για τη μέτρηση του ελαίου αρχικά πραγματοποιείται απομάκρυνση του εξανίου στον περιστροφικό εξατμιστήρα στους 40 °C για 1 ώρα και στη συνέχεια γίνεται προσδιορισμός της μάζας του ελαίου μέσω ζυγού ακριβείας.

Στη συνέχεια ακολουθεί η εκχύλιση του απολιποποιημένου σπόρου με 200 mL μεθανόλης για 4 ώρες και παραλαμβάνεται το εκχύλισμα σιλυμαρίνης. Σε επόμενο στάδιο, με τη χρήση περιστροφικού εξατμιστήρα απομακρύνεται η μεθανόλη από το εκχύλισμα σιλυμαρίνης (σε 40 °C για 2 ώρες) και το τελικό στερεό προϊόν ζυγίζεται σε ζυγό ακριβείας και υπολογίζεται η περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη.

Στη συνέχεια στη σφαιρική φιάλη με το τελικό προϊόν προστίθενται 25 mL μεθανόλης και το στερεό προϊόν επαναδιαλύεται με βοήθεια λουτρού υπερήχων. Από το νέο εκχύλισμα παραλαμβάνεται 1 mL, μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL και αραιώνεται με μεθανόλη. Το αραιωμένο διάλυμα φιλτράρεται μέσω μεμβράνης νάιλον 0,45 μm και μεταφέρεται σε φιαλίδια χρωματογραφίας για τη χρωματογραφική ανάλυση.

2.2.4. Χρωματογραφική ανάλυση

Όργανα

- Σύστημα υγρής χρωματογραφίας

Σκεύη

- Φιαλίδια χρωματογραφίας

Διαδικασία

Η ανάλυση του εκχυλίσματος πραγματοποιείται μέσω υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) και ανιχνευτή UV, διαχωρίζοντας τα συστατικά του τελικού μεθανολικού εκχυλίσματος σιλυμαρίνης των σπόρων. Για το διαχωρισμό των συστατικών σιλυμαρίνης (σιλυμπίνη Α, σιλυμπίνη Β, ισοσιλυμπίνη Α, ισοσιλυμπίνη Β, σιλυδιανίνη, σιλυχριστίνη, ισοσιλυχριστίνη, ταξιφολίνη) χρησιμοποιήθηκε στήλη Novapak C-18 (150 × 3,9 mm) με ροή κινητής φάσης 1 mL/min και βαθμωτή έκλουση. Το πρόγραμμα της έκλουσης ξεκίνησε με 30% μεθανόλη και 70% υδατικό διάλυμα μυρμηκικού οξέος 0,1% , ακολούθησε αύξηση της μεθανόλης σε 40%, 50% και 80% και τελικά επαναφορά σε ποσοστό 30%. Η μέθοδος βαθμωτής έκλουσης στη χρωματογραφία αντίστροφης φάσης, με αυξανόμενες συγκεντρώσεις μεθανόλης έχει ως αποτέλεσμα τον επιτυχή διαχωρισμό των πολικών συστατικών της σιλυμαρίνης (Arampatzis et al. 2018). Ο όγκος της ένεσης ήταν 20 μL, η θερμοκρασία της στήλης ρυθμίστηκε στους 40°C και η ανίχνευση των ουσιών πραγματοποιήθηκε στα 288 nm.

Ως πρότυπα για τον ποσοτικό προσδιορισμό των συστατικών της σιλυμαρίνης και για την ταυτοποίηση των χρωματογραφικών κορυφών χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα σιλυμπίνης (SigmaAldrich, St. Louis, USA) και σιλυμαρίνης (Sigma-Aldrich). Η καμπύλη βαθμονόμησης κατασκευάστηκε με βάση το άθροισμα των περιοχών των κορυφών της σιλυμπίνης Α και Β του προτύπου διαλύματος της σιλυμαρίνης. Ο υπολογισμός της συνολικής περιεκτικότητας σε σιλυμαρίνη στα δείγματα που αναλύθηκαν, προέκυψε ως το άθροισμα των μεμονωμένων συστατικών σιλυμαρίνης (φλαβονολιγνάνες και ταξιφολίνη).

2.2.5. Αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH

Όργανα

- Ηλεκτρονική ζυγαριά ακριβείας
- Αναδευτήρας Vortex
- Φασματοφωτόμετρο UV-Vis

Σκεύη

- Ογκομετρικοί κύλινδροι
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Ποτήρια ζέσεως
- Σφαρικές φιάλες
- Σιφόνια
- Πιπέτες
- Κυψελίδες

Αντιδραστήρια-Υλικά

- Μεθανόλη analytical
- Αντιδραστήριο DPPH
- Πρότυπα διαλύματα ασκορβικού οξέος

Παρασκευή του αντιδραστηρίου DPPH

Το αντιδραστήριο DPPH (2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl) παρασκευαζόταν ημερησίως σε μεθανόλη, 60 μΜ.

Διαδικασία

Η αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH, πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο που προτάθηκε από τον Blois (1958) με ορισμένες τροποποιήσεις. Το παρασκευασμένο αντιδραστήριο, σε ποσότητα 3 μL, αναμίχθηκε σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα με 200 μL εκχυλίσματος σπόρων (δείγμα) ή ασκορβικού οξέος (πρότυπο) ή μεθανόλης (control). Το μίγμα αναδεύτηκε, με χρήση

συσκευής Vortex, και ο δοκιμαστικός σωλήνας σφραγίστηκε και τοποθετήθηκε στο σκοτάδι για 30 λεπτά. Ακολούθως, το μίγμα μεταφέρθηκε σε κυψελίδες και ακολούθησε φασματοφωτομέτρηση στα 517 nm έναντι ενός τυφλού δείγματος. Σε αυτό το μήκος κύματος απορροφά η ρίζα DDPH*, (βαθύ μωβ χρώμα). Η αντιοξειδωτική ικανότητα είναι τόσο μεγαλύτερη όσο περισσότερο μειώνεται η απορρόφηση της ρίζας DDPH*. Τέλος, για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, παρασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη χρησιμοποιώντας πρότυπα διαλύματα ασκορβικού οξέος σε μεθανόλη. Η ικανότητα εκκαθάρισης των ριζών DDPH* εκφράστηκε σε μμολ ασκορβικού οξέος ανά 100 g ξηρού βάρους σπόρου. Όλοι οι προσδιορισμοί πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν.

2.4 Στατιστική Ανάλυση

Για όλες τις παραμέτρους που μετρήθηκαν τα δεδομένα εκφράστηκαν ως μέσες τιμές τριών επαναλήψεων ενώ υπολογίστηκε για κάθε μέση τιμή το τυπικό σφάλμα (standard error). Επιπρόσθετα υπολογίστηκε η σχετική τυπική απόκλιση για όλους του πληθυσμούς του φαρμακευτικού φυτού *Silybum marianum* που αξιολογήθηκαν στο συγκεκριμένο πείραμα.

Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα

3.1. Βάρος των 1000 σπόρων

Οι μετρήσεις βάρους των 1000 σπόρων του *S. marianum* διαφέρουν ανάλογα τον πληθυσμό (Πίνακας 2). Συγκεκριμένα στον πληθυσμό Ίρια και Ναύπλιο II παρατηρήθηκαν οι μικρότερες τιμές, ενώ στον πληθυσμό Ναύπλιο I η μέγιστη τιμή. Οι πληθυσμοί Αρτεμίσιο I, Αρτεμίσιο II, Μυκήνες και Κόρινθος είχαν παρόμοιο βάρος των 1000 σπόρων. Το βάρος των 1000 σπόρων κυμαίνονταν από 18,10 g έως 21,72 g, με τη μέση τιμή του βάρους στο σύνολο των πληθυσμών να είναι 20,03 g. Η σχετική τυπική απόκλιση (CV%) για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό ήταν 7,19%.

Πίνακας 2. Βάρος των 1000 σπόρων των 7 πληθυσμών του *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	Βάρος 1000 σπόρων (g)
Αρτεμίσιο I	20,27 ± 0,54
Αρτεμίσιο II	20,62 ± 0,55
Μυκήνες	20,46 ± 0,54
Ίρια	18,10 ± 0,48
Ναύπλιο I	21,72 ± 0,58
Ναύπλιο II	18,48 ± 0,49
Κόρινθος	20,54 ± 0,55
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	20,03
Τυπική απόκλιση	1,44
CV%	7,19

3.2. Μετρήσεις χρώματος των σπόρων

Στις μετρήσεις των παραμέτρων του χρώματος των σπόρων των πληθυσμών, η φωτεινότητα L^* κυμαίνεται μεταξύ 37,63 και 45,35 με μέση τιμή 43,14 και σχετική τυπική απόκλιση (CV) 6,07%. Οι υψηλότερες τιμές καταγράφηκαν στους πληθυσμούς

Ίρια και Αρτεμίσιο Ι με τιμές 45,35 και 45,33 αντίστοιχα. Η χαμηλότερη τιμή καταγράφηκε στον πληθυσμό Μυκήνες (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Μετρήσεις της φωτεινότητας L^* στους σπόρους του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	L^*
Αρτεμίσιο Ι	45,33 ± 0,50
Αρτεμίσιο ΙΙ	45,03 ± 0,66
Μυκήνες	37,63 ± 0,34
Ίρια	45,35 ± 0,07
Ναύπλιο Ι	42,88 ± 0,16
Ναύπλιο ΙΙ	42,66 ± 0,09
Κόρινθος	43,08 ± 0,22
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	43,14
Τυπική απόκλιση	2,62
CV%	6,07

Η ένταση του χρώματος C^* παρουσιάζει τιμές από 11,03 (Μυκήνες) έως 13,39 (Ίρια), με μέση τιμή 12,77 και σχετική τυπική απόκλιση (CV) 6,87%. Οι πληθυσμοί Κόρινθος, Αρτεμίσιο Ι, Ναύπλιο ΙΙ και Ίρια παρουσίασαν παρόμοιες τιμές για τη συγκεκριμένη παράμετρο του χρώματος (Πίνακας 4).

Η απόχρωση h° επίσης διαφέρει ανάλογα τον πληθυσμό (Πίνακας 5). Οι πληθυσμοί Κόρινθος, Ναύπλιο Ι και Ναύπλιο ΙΙ παρουσιάζουν χαμηλές τιμές, χωρίς μεγάλες αποκλίσεις. Οι πληθυσμοί Αρτεμίσιο Ι και Αρτεμίσιο ΙΙ παρουσιάζουν αντίστοιχα τις μεγαλύτερες τιμές. Οι τιμές κυμαίνονται από 75,20 έως 78,99 με μέση τιμή 76,72 και σχετική τυπική απόκλιση (CV%) 1,95 %.

Πίνακας 4. Μετρήσεις της έντασης του χρώματος C* στους σπόρους του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	C*
Αρτεμίσιο I	13,27±0,46
Αρτεμίσιο II	12,49±0,15
Μυκήνες	11,03±0,49
Τρια	13,39±0,09
Ναύπλιο I	12,93±0,11
Ναύπλιο II	13,26±0,03
Κόρινθος	13,03±0,20
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	12,77
Τυπική απόκλιση	0,88
CV%	6,87

Πίνακας 5. Μετρήσεις της απόχρωσης h° στους σπόρους του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	h°
Αρτεμίσιο I	78,99±0,25
Αρτεμίσιο II	78,55±0,42
Μυκήνες	76,57±0,57
Τρια	76,50±0,09
Ναύπλιο I	75,71±0,14
Ναύπλιο II	75,20±0,06
Κόρινθος	75,55±0,43
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	76,72
Τυπική απόκλιση	1,49
CV%	1,95

3.4 Περιεκτικότητα ελαίου

Τα αποτελέσματα της περιεκτικότητας σε έλαιο δίνονται στον Πίνακα 6. Παρατηρείται μέγιστη περιεκτικότητα στον πληθυσμό Αρτεμίσιο ΙΙ με τιμή 25,69% και ελάχιστη στον πληθυσμό Ίρια με τιμή 22,47%. Η μέση τιμή των 7 πληθυσμών είναι 23,76% και η σχετική τυπική απόκλιση (CV) για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό είναι 5,01%.

Πίνακας 6. Περιεκτικότητα ελαίου στους σπόρους του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	Έλαιο %
Αρτεμίσιο Ι	23,76±0,36
Αρτεμίσιο ΙΙ	25,69±0,24
Μυκήνες	23,14±0,33
Ίρια	22,47±0,18
Ναύπλιο Ι	22,52±0,23
Ναύπλιο ΙΙ	24,60±0,30
Κόρινθος	24,17±0,40
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	23,76
Τυπική απόκλιση	1,19
CV%	5,01

3.4. Περιεκτικότητα σιλυμαρίνης

Η περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη παρουσιάζει μεγάλες διαφορές στους 7 πληθυσμούς του *S. marianum* (Πίνακας 7). Συγκεκριμένα, οι σπόροι από τον βióτυπο Μυκήνες είχαν τη μικρότερη περιεκτικότητα σιλυμαρίνης με τιμή 1,81%, ενώ οι σπόροι του βióτυπου Αρτεμίσιο Ι παρουσίασαν τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σιλυμαρίνης με τιμή 5,53%. Η μέση τιμή περιεκτικότητας σε σιλυμαρίνη των σπόρων των πληθυσμών είναι 3,35% και η σχετική τυπική απόκλιση (CV) 41,50%.

Πίνακας 7. Περιεκτικότητα σιλυμαρίνης στους σπόρους του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	Σιλυμαρίνη %
Αρτεμίσιο I	5,53 ± 0,11
Αρτεμίσιο II	3,12 ± 0,05
Μυκήνες	1,81 ± 0,02
Ίρια	2,01 ± 0,04
Ναύπλιο I	2,36 ± 0,05
Ναύπλιο II	3,60 ± 0,06
Κόρινθος	5,02 ± 0,09
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	3,35
Τυπική απόκλιση	1,39
CV%	41,50

3.5. Συστατικά σιλυμαρίνης

3.5.1. Ταξιφολίνη

Το φλαβονοειδές ταξιφολίνη καταγράφηκε σε μέγιστη ποσότητα, με τιμή 6,74 mg/g στον πληθυσμό Αρτεμίσιο II. Μεγάλες τιμές αντίστοιχα καταγράφηκαν στους πληθυσμούς Αρτεμίσιο I (5,81 mg/g) και Κόρινθος (5,38 mg/g). Οι μικρότερες τιμές παρατηρήθηκαν στους πληθυσμούς Ίρια και Μυκήνες με αντίστοιχες τιμές 2,60 mg/g και 2,03 mg/g. Η μέση τιμή των πληθυσμών είναι 4,36 mg/g και η σχετική τυπική απόκλιση (CV) 38,37% (Πίνακας 8).

3.5.2. Σιλυχριστίνη

Οι τιμές του συστατικού σιλυχριστίνης παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις. Συγκεκριμένα, στον πληθυσμό Αρτεμίσιο I καταγράφηκε η μέγιστη ποσότητα, με τιμή 21,93 mg/g. Στους υπόλοιπους πληθυσμούς οι τιμές κυμαίνονται χαμηλά από τιμές 1,31 mg/g (Ίρια), 1,45 mg/g (Μυκήνες) και 1,67 mg/g (Ναύπλιο I) έως 5,43 mg/g (Κόρινθος). Η μέση τιμή των πληθυσμών είναι 5,18 mg/g και η σχετική τυπική απόκλιση (CV) 137,76% (Πίνακας 9).

Πίνακας 8. Η περιεκτικότητα του συστατικού ταξιφολίνη στους σπόρους του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	ταξιφολίνη (mg/g)
Αρτεμίσιο I	5,81±0,15
Αρτεμίσιο II	6,74±0,13
Μυκήνες	2,03±0,02
Τρια	2,60±0,04
Ναύπλιο I	3,30±0,10
Ναύπλιο II	4,67±0,07
Κόρινθος	5,38±0,06
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	4,36
Τυπική απόκλιση	1,67
CV%	38,37

Πίνακας 9. Η περιεκτικότητα του συστατικού σιλυχριστίνη στους σπόρους του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	σιλυχριστίνη (mg/g)
Αρτεμίσιο I	21,93±0,35
Αρτεμίσιο II	2,24±0,02
Μυκήνες	1,45±0,03
Τρια	1,31±0,04
Ναύπλιο I	1,67±0,03
Ναύπλιο II	2,23±0,05
Κόρινθος	5,43±0,09
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	5,18
Τυπική απόκλιση	7,14
CV%	137,76

3.5.3. Σιλυδιανίνη – Ισοσιλυχριστίνη

Τα συστατικά σιλυδιανίνη και ισοσιλυχριστίνη διαφέρουν ανάλογα τον πληθυσμό. Οι τιμές τους κυμαίνονται από 8,14 mg/g έως 20,02 mg/g, με την ελάχιστη τιμή να παρατηρείται στον πληθυσμό Μυκήνες και την μέγιστη τιμή στον πληθυσμό Κόρινθος. Η μέση τιμή στο σύνολο των πληθυσμών είναι 13,61 mg/g . Η σχετική τυπική απόκλιση (CV) για τα συγκεκριμένα συστατικά είναι 33,66% (Πίνακας 10).

Πίνακας 10. Η περιεκτικότητα των συστατικών σιλυδιανίνη και ισοσιλυχριστίνη στους σπόρους του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	Σιλυδιανίνη και ισοσιλυχριστίνη (mg/g)
Αρτεμίσιο I	16,98±0,43
Αρτεμίσιο II	12,12±0,18
Μυκήνες	8,14±0,09
Ίρια	9,24±0,20
Ναύπλιο I	10,28±0,25
Ναύπλιο II	18,51±0,26
Κόρινθος	20,02±0,45
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	13,61
Τυπική απόκλιση	4,58
CV%	33,66

3.5.4. Σιλυμπίνη Α και Β

Τα συστατικά της σιλυμαρίνης, σιλυμπίνη Α και σιλυμπίνη Β, παρουσιάζουν αντίστοιχες ποσοτικά διακυμάνσεις στους 7 διαφορετικούς βιότυπους. Σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε στις τιμές από τους σπόρους του πληθυσμού Κόρινθος, όπου οι τιμές και των δύο συστατικών είναι υψηλές συγκριτικά με τους υπόλοιπους πληθυσμούς. Η σιλυμπίνη Α στον πληθυσμό Κόρινθος υπολογίστηκε 3,48 mg/g ενώ στους υπόλοιπους πληθυσμούς οι τιμές κυμαίνονται από 0,53 mg/g (Ίρια) έως 0,86 mg/g (Ναύπλιο II). Η μέση τιμή σιλυμπίνης Α όλων των πληθυσμών είναι 1,11 mg/g

και η σχετική τυπική απόκλιση (CV) για το συγκεκριμένο συστατικό είναι 90,23% (Πίνακας 11).

Πίνακας 11. Η περιεκτικότητα του συστατικού σιλυμπίνη Α στους σπόρους του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

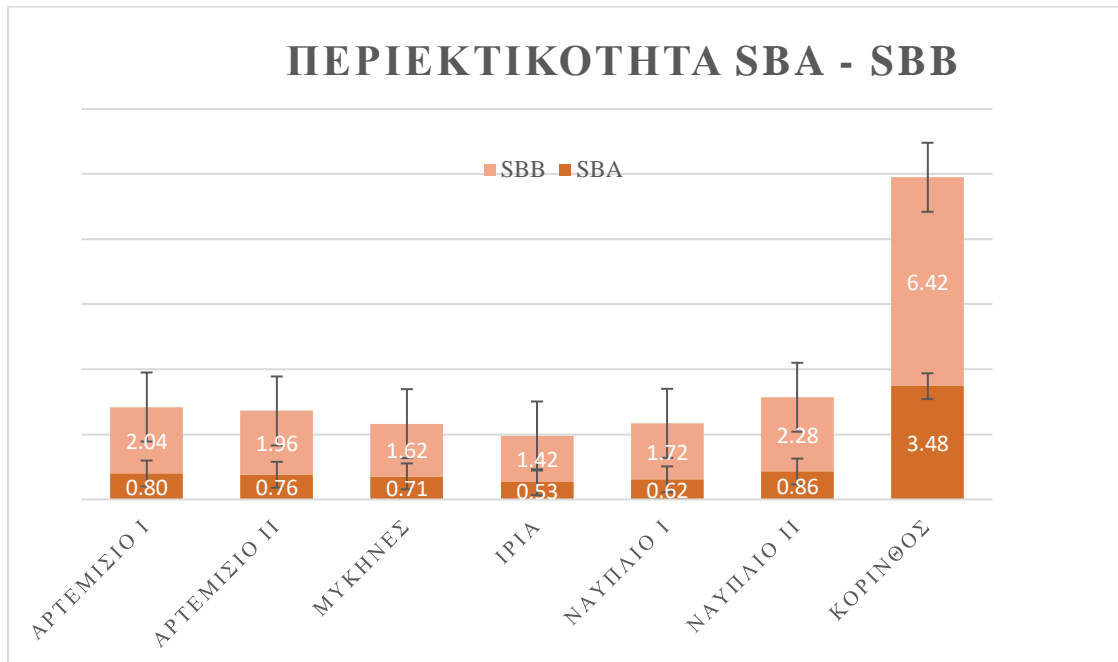
Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	Σιλυμπίνη Α (mg/g)
Αρτεμίσιο Ι	0,80±0,02
Αρτεμίσιο ΙΙ	0,76±0,02
Μυκήνες	0,71±0,02
Τρια	0,53±0,01
Ναύπλιο Ι	0,62±0,02
Ναύπλιο ΙΙ	0,86±0,02
Κόρινθος	3,48±0,12
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	1,11
Τυπική απόκλιση	1,00
CV%	90,23

Η σιλυμπίνη Β στον πληθυσμό Κόρινθος υπολογίστηκε 6,42 mg/g ενώ στους υπόλοιπους πληθυσμούς οι τιμές κυμαίνονται από 1,42 mg/g (Τρια) έως 2,04 mg/g (Αρτεμίσιο Ι). Η μέση τιμή όλων των πληθυσμών είναι 1,67 mg/g και η σχετική τυπική απόκλιση (CV) για το συγκεκριμένο συστατικό είναι 66,80%. Όπως φαίνεται από το Διάγραμμα 3 η σιλυμπίνη Α περιέχεται σε όλους τους πληθυσμούς σε μικρότερη ποσότητα σε σχέση με την σιλυμπίνη Β (Πίνακας 12).

Πίνακας 12. Η περιεκτικότητα του συστατικού σιλυμπίνη Β στους σπόρους του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	Σιλυμπίνη Β (mg/g)
Αρτεμίσιο Ι	2,04±0,03
Αρτεμίσιο ΙΙ	1,96±0,02
Μυκήνες	1,62±0,02
Τρια	1,42±0,03
Ναύπλιο Ι	1,72±0,04
Ναύπλιο ΙΙ	2,28±0,02

Κόρινθος	6,42±0,12
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	2,49
Τυπική απόκλιση	1,67
CV%	66,80



Διάγραμμα 3. Η περιεκτικότητα (mg/g) των συστατικών σιλυμπίνη Α (SBA) και Β (SBB) στους σπόρους του φυτού *S. maritimum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

3.5.5. Ισοσυλμπίνη Α και Β

Τα συστατικά της σιλυμαρίνης, ισοσυλμπίνη Α και ισοσυλμπίνη Β, ανάλογα τον βióτυπο παρουσιάζουν διαφορές στις τιμές τους. Οι τιμές της ισοσυλμπίνης Α κυμαίνονται από 2,32 mg/g (Μυκήνες) έως 5,54 mg/g (Κόρινθος). Η μέση τιμή όλων των πληθυσμών είναι 3,77 mg/g και η σχετική τυπική απόκλιση (CV) για το συγκεκριμένο συστατικό είναι 27,08% (Πίνακας 13).

Η ισοσυλμπίνη Β παρουσιάζει μέγιστη τιμή στον πληθυσμό Κόρινθος με τιμή 3,95 mg/g και ελάχιστη στον πληθυσμό Μυκήνες με τιμή 1,84 mg/g. Η μέση τιμή όλων των πληθυσμών είναι 2,98 mg/g και η σχετική τυπική απόκλιση είναι 24,30%. Όπως

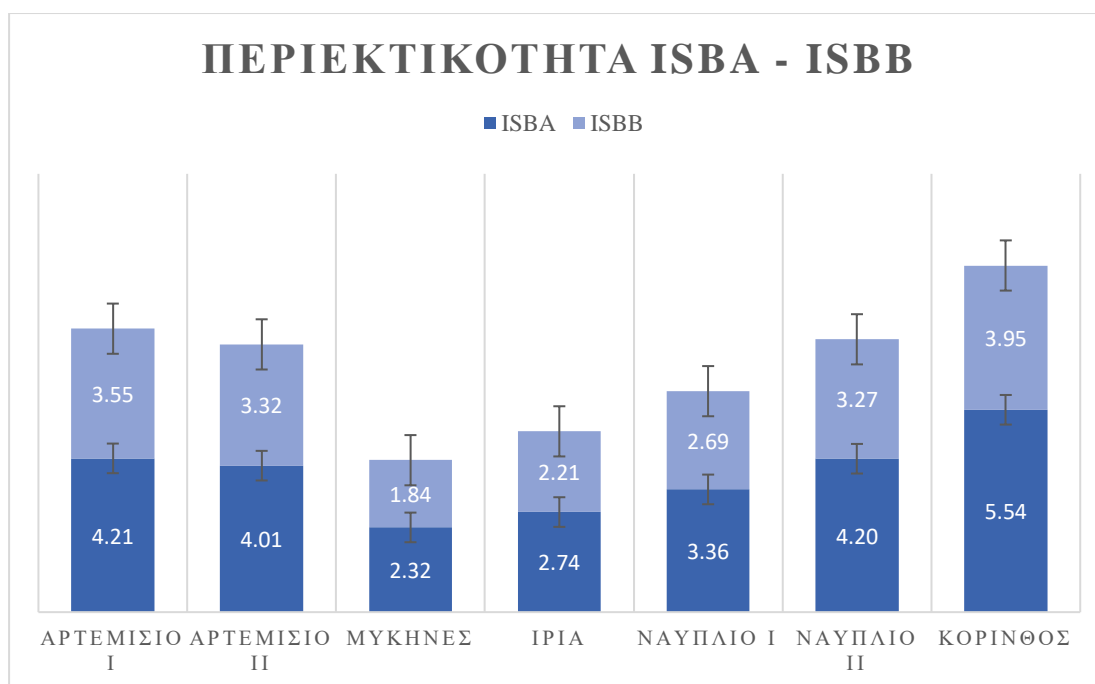
φαίνεται από το διάγραμμα 4 η ισοσιλυμίνη Α περιέχεται σε μεγαλύτερη ποσότητα σε σχέση με την ισοσιλυμίνη Β (Πίνακας 14).

Πίνακας 13. Η περιεκτικότητα του συστατικού ισοσιλυμίνη Α στους σπόρους του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	ισοσιλυμίνη Α (mg/g)
Αρτεμίσιο Ι	4,21±0,03
Αρτεμίσιο ΙΙ	4,01±0,06
Μυκήνες	2,32±0,01
Ίρια	2,74±0,07
Ναύπλιο Ι	3,36±0,06
Ναύπλιο ΙΙ	4,20±0,06
Κόρινθος	5,54±0,07
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	3,77
Τυπική απόκλιση	1,02
CV%	27,08

Πίνακας 14. Η περιεκτικότητα του συστατικού ισοσιλυμίνη Β στους σπόρους του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	Ισοσιλυμίνη Β (mg/g)
Αρτεμίσιο Ι	3,55±0,05
Αρτεμίσιο ΙΙ	3,32±0,04
Μυκήνες	1,84±0,04
Ίρια	2,21±0,04
Ναύπλιο Ι	2,69±0,04
Ναύπλιο ΙΙ	3,27±0,08
Κόρινθος	3,95±0,08
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	2,98
Τυπική απόκλιση	0,72
CV%	24,30



Διάγραμμα 4. Η περιεκτικότητα (mg/g) των συστατικών ισοσιλυμπίνη Α (ISBA) και Β (ISBB) στους σπόρους του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

3.6. Αντιοξειδωτική ικανότητα του εκχυλίσματος των σπόρων με τη μέθοδο DDPH

Η ικανότητα εκκαθάρισης των ριζών DDPH των εκχυλισμάτων των σπόρων παρουσιάζει μέγιστη τιμή στον πληθυσμό Αρτεμίσιο II με τιμή 4779 μmol ασκορβικού οξέος/100 g dw και ελάχιστη στον πληθυσμό Ναύπλιο I με τιμή 3587 μmol ασκορβικού οξέος/100 g dw. Η μέση τιμή όλων των πληθυσμών είναι 4076 μmol ασκορβικού οξέος/100 g dw και η σχετική τυπική απόκλιση (CV) για το συγκεκριμένο συστατικό είναι 10,13 % (Πίνακας 15).

Πίνακας 15. Αντιοξειδωτική ικανότητα σύμφωνα με τη μέθοδο DPPH (μmol ασκορβικού οξέος/100 g dw) των σπόρων πληθυσμών του φυτού *S. marianum* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

Πληθυσμοί <i>S. marianum</i>	DPPH (μmol ασκορβικού οξέος/100 g dw)
Αρτεμίσιο I	4341 ± 125
Αρτεμίσιο II	4779 ± 141
Μυκήνες	3830 ± 175
Ίρια	4126 ± 47
Ναύπλιο I	3587 ± 127
Ναύπλιο II	3995 ± 103
Κόρινθος	3870 ± 126
Μέση Τιμή όλων των πληθυσμών	4076
Τυπική απόκλιση	413
CV%	10,13

Κεφάλαιο 4^ο: Συζήτηση

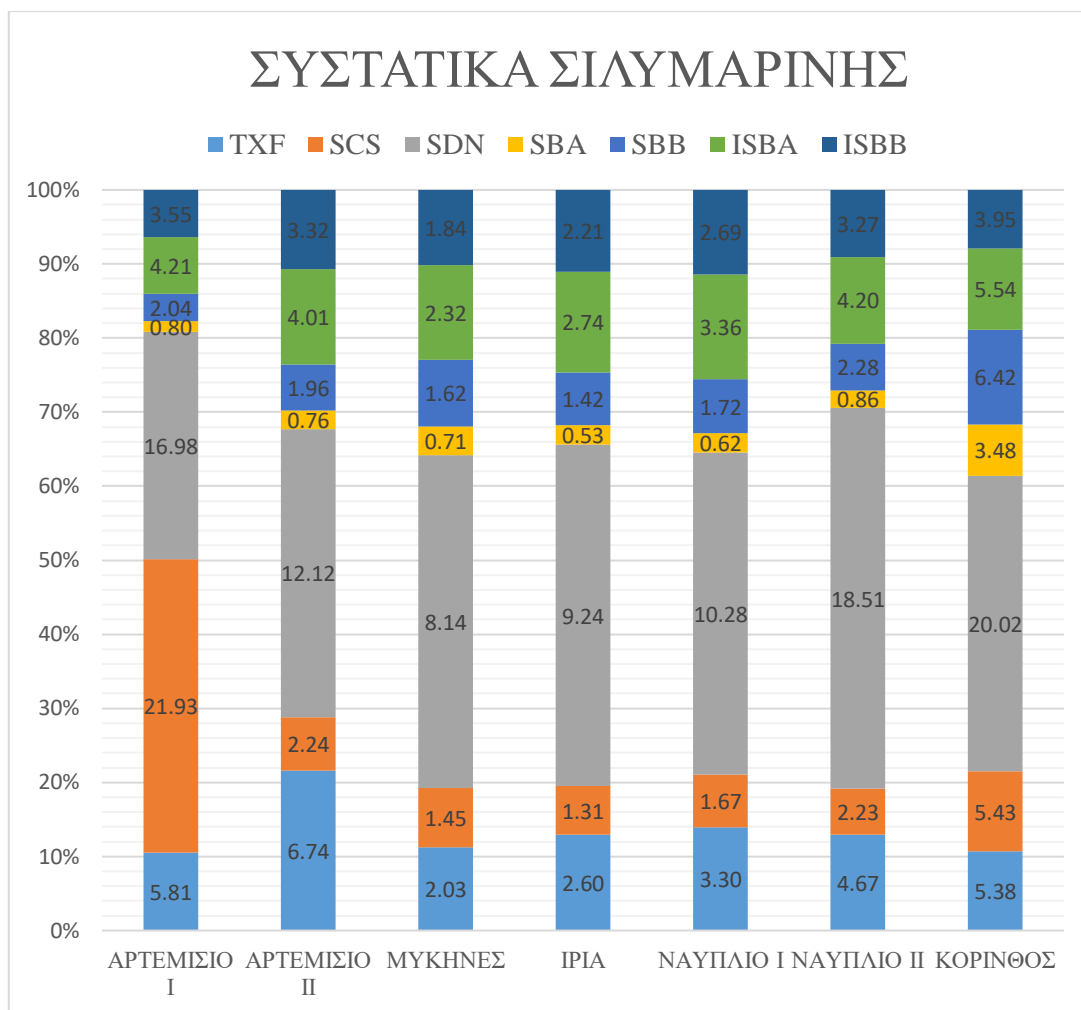
4.1.Βάρος σπόρων

Σύμφωνα με τη μελέτη των Shokrpour et al. (2008), οι βιότυποι με μεγαλύτερο βάρος 1000 σπόρων και μικρότερο κύκλο άνθησης παρουσιάζουν υψηλότερη περιεκτικότητα στα συστατικά σιλυχριστίνη και σιλυμπίνη και χαμηλότερη περιεκτικότητα στο συστατικό σιλιδιανίνη. Στην παρούσα εργασία οι πληθυσμοί με το μεγαλύτερο βάρος 1000 σπόρων δεν παρουσίασαν την αντίστοιχη αυξημένη τιμή σε σιλυχριστίνη και σιλυμπίνη, ούτε την αντίστοιχη μειωμένη τιμή σε σιλιδιανίνη αντίστοιχα. Επίσης, σε πρόσφατη έρευνα των Arampatzis et al. (2019) δεν καταγράφηκε συσχέτιση του βάρους των 1000 σπόρων με τις περιεκτικότητες της σιλυμαρίνης και των συστατικών της. Αντίθετα, κατέγραψαν θετική συσχέτιση (0,490, $P < 0,001$) μεταξύ του βάρους των 1000 σπόρων και την περιεκτικότητα σε έλαιο.

4.2. Σιλυμαρίνη και συστατικά της

Οι πληθυσμοί που αξιολογήθηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη παρουσίασαν αξιοσημείωτες διαφορές ως προς την περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη. Η περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη των σπόρων κυμάνθηκε από 1,81% στο πληθυσμός (Μυκήνες) έως 5,53% (πληθυσμός Αρτεμίσιο Ι). Σε άλλη έρευνα οι Arampatzis et al. (2019) αναφέρουν ότι η περιεκτικότητα της σιλυμαρίνης κυμάνθηκε από 2,31% έως 7,71% (μέση τιμή όλων των πληθυσμών 3,31%). Η περιεκτικότητα των σπόρων της σιλυμαρίνης είναι γενετικό χαρακτηριστικό αλλά επηρεάζεται και από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Σε πρόσφατη έρευνα οι Elsayed et al. (2019) παρατήρησαν ότι η σιλυμαρίνη αυξήθηκε στους σπόρους όταν τα φυτά αναπτύχθηκαν σε συνθήκες ξηρασίας.

Οι πληθυσμοί που μελετήσαμε παρουσίασαν διαφορές και ως προς την περιεκτικότητα των συστατικών της σιλυμαρίνης. Στο διάγραμμα 5 παρουσιάζονται όλα τα συστατικά της σιλυμαρίνης, όπου φαίνεται ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των πληθυσμών του *S. marianum*.

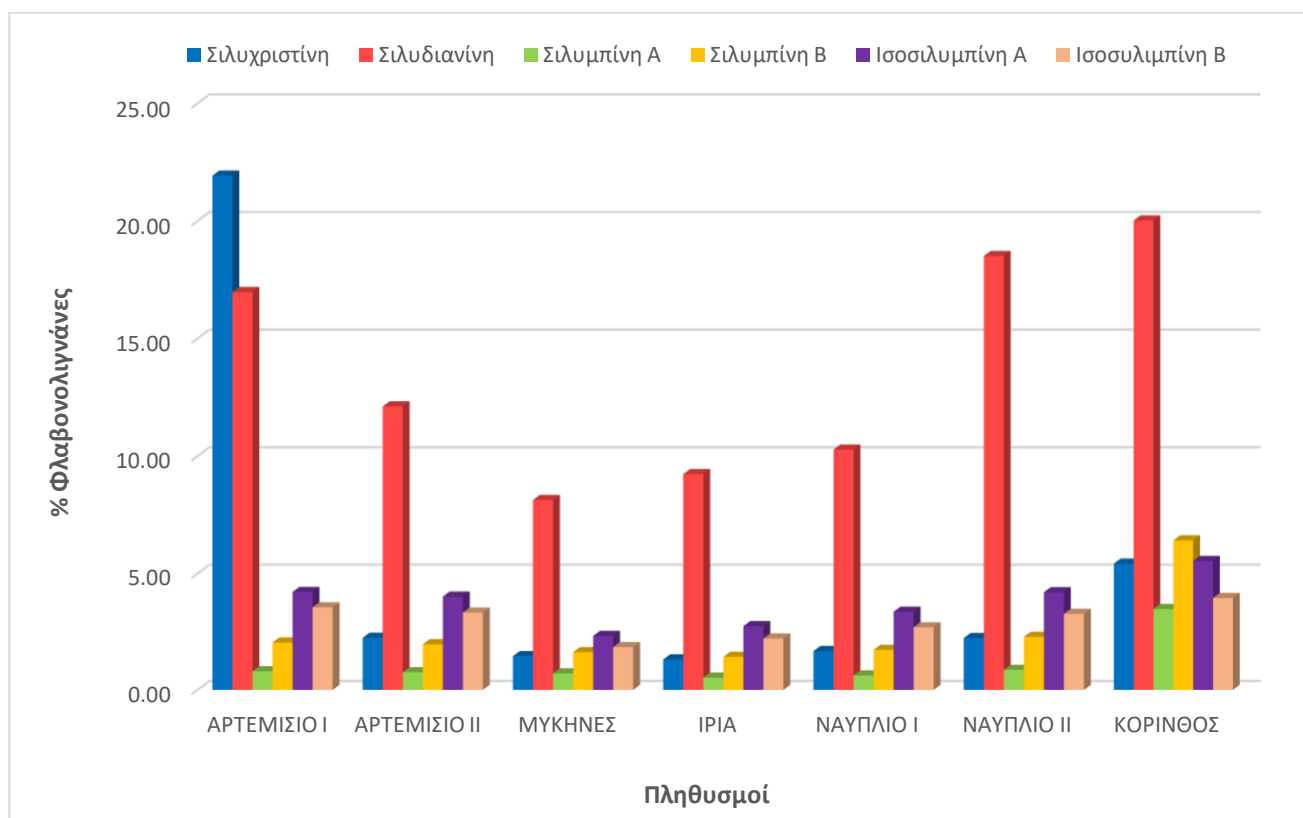


Διάγραμμα 5. Περικτικότητα κύριων συστατικών σιλυμαρίνης (%) σε πληθυσμούς του φυτού *Silybum marianum* από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου. TXF: ταξιφολίνη, SCS: σιλυχριστίνη, SDN: σιλυδιανίνη+ισοσιλυχριστίνη SBA: σιλυμπίνη A, SBB: σιλυμπίνη B, ISBA: ισοσιλυμπίνη A και ISBB: ισοσιλυμπίνη B.

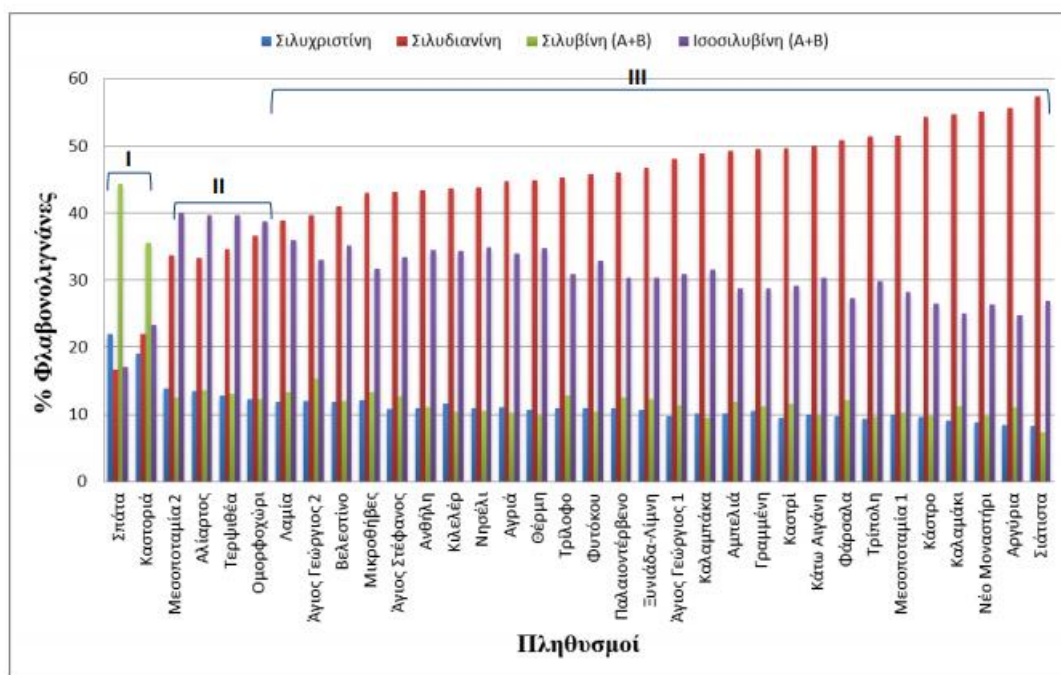
Σε έρευνα τους οι Porre et al. (2016), μελέτησαν γονότυπους από τις Ουγγαρία, Πολωνία, Βουλγαρία και Φρανκφούρτη, οι οποίοι παρουσίασαν παρόμοιες μεταξύ τους περιεκτικότητες των επιμέρους συστατικών της σιλυμαρίνης. Συγκεκριμένα, οι ποσότητες σιλυχριστίνης, σιλυμπίνης A, σιλυμπίνης B και ισοσιλυμπίνης A κυμαίνονται μεταξύ 10 και 20% της συνολικής περιεκτικότητας σε σιλυμαρίνη, ενώ η ισοσιλυμπίνη B ανέρχεται περίπου σε 5%. Συγκριτικά με τους πληθυσμούς της παρούσας εργασίας, στο σύνολο της περιεκτικότητας της σιλυμαρίνης, τα συστατικά σιλυμπίνη A και B δεν ήταν τόσο υψηλά, παρά μόνο το συστατικό σιλυμπίνη B στο βιότυπο Κόρινθος με ποσοστό 6,42%. Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα για το

συστατικό ισοσιλυμπίνη Β και στους πληθυσμούς από τις διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου με ποσοστά 1,84-3,95%.

Οι Arampatzis et al. (2019) στο σύνολο των τριάντα πληθυσμών που αξιολόγησαν από την Κεντρική και Βόρεια Ελλάδα κατέγραψαν μόνο δύο πληθυσμούς, οι οποίοι είχαν τη σιλυμπίνη Α και Β με υψηλότερα ποσοστά των άλλων συστατικών της σιλυμαρίνης (Διάγραμμα 7), ενώ οι υπόλοιποι είχαν ως κυρίαρχα συστατικά την ισοσιλυμπίνη Α+Β (τρεις πληθυσμοί) ή τη σιλυδιανίνη. Στην παρούσα εργασία όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 6 (Βαρδάκα Κ. et al, 2019), τα έξι από τα επτά δείγματα εμφανίζουν ως κυρίαρχο συστατικό τη σιλυδιανίνη με ποσοστά που κυμαίνονται από 8,14 έως 20,02% στο σύνολο της σιλυμαρίνης, ενώ σε έναν πληθυσμό (Αρτεμίσιο Ι) το κυρίαρχο συστατικό είναι η σιλυχριστίνη (21,93%).



Διάγραμμα 6. Σύσταση φλαβονολιγνανών (%) σε πληθυσμούς του φυτού *Silybum marianum* από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου.

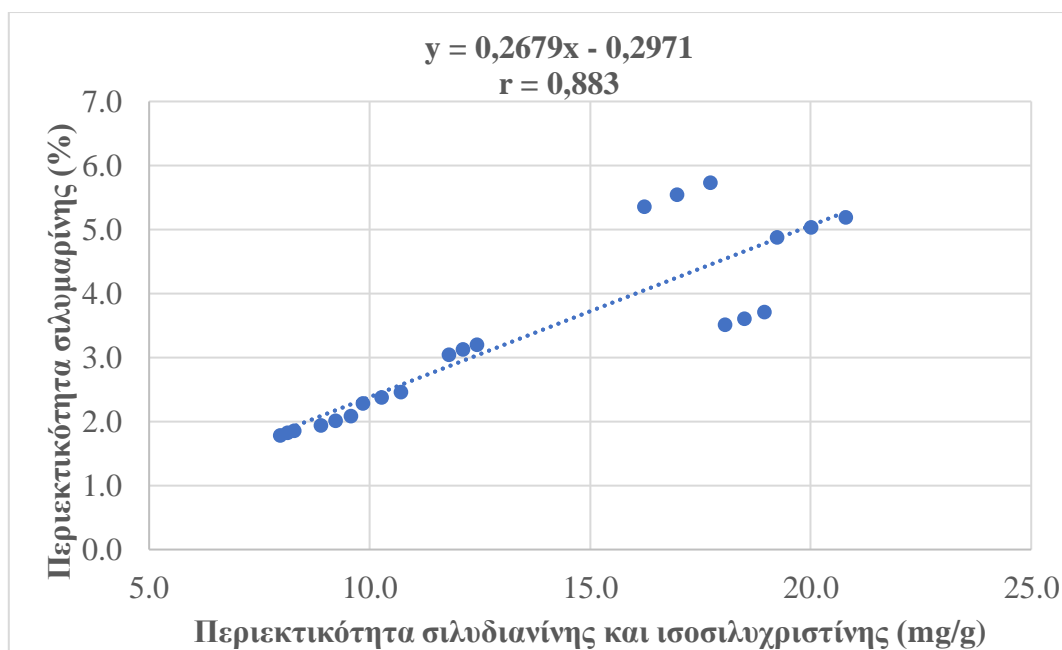


Διάγραμμα 7. Σύσταση φλαβονολιγανών (%) σε πληθυσμούς του φυτού *Silybum marianum* από διάφορους πληθυσμούς της Κεντρικής και Βόρειας Ελλάδας, Αραμπαντζής Δ. (2020).

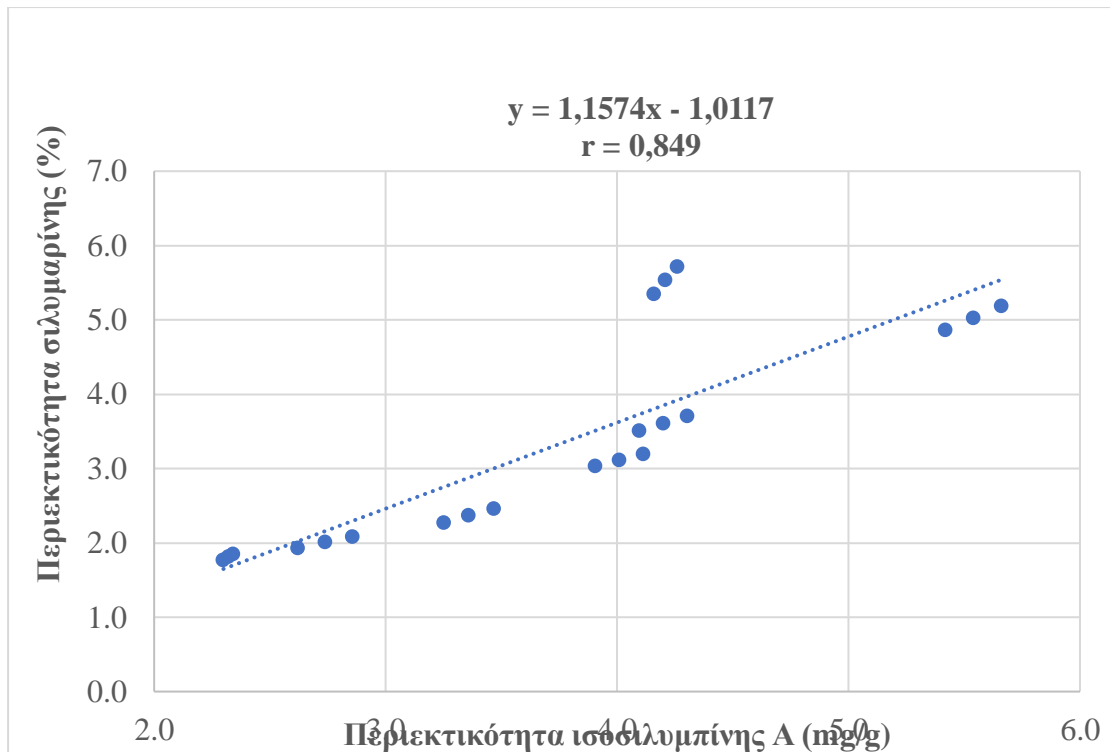
Σχετικά με το συστατικό σιλυδιανίνη, σε δείγματα από πληθυσμό της περιοχής Μάρμπουργκ η περιεκτικότητα της καταγράφηκε σε υψηλά ποσοστά (περίπου 70%) (Porre et al. 2016), σε αντίθεση με τους πληθυσμούς της Πελοποννήσου που μελετήθηκαν, όπου το ποσοστό της σιλυδιανίνης έφτασε το 20,02%. Αξίζει να σημειωθεί ότι στα έξι από τα επτά δείγματα της μελέτης μας στο σύνολο της σιλυμαρίνης, η σιλυδιανίνη παρουσίασε τα μεγαλύτερα ποσοστά, εκτός από τον πληθυσμό Αρτεμίσιο Ι, όπου η σιλυχριστίνη αποτέλεσε το μεγαλύτερο σε ποσοστό συστατικό της.

Σε άλλη έρευνα, οι Lucini et al. (2015) αναφέρουν ότι η σιλυμπίνη ήταν το συστατικό που καταγράφηκε σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα στο σύνολο των βιοτύπων που μελετήθηκαν. Συγκριτικά με την παρούσα εργασία, όπου η σιλυμπίνη Α και Β καταγράφηκαν σε μέτριες τιμές στο σύνολο της σιλυμαρίνης, επιβεβαιώνεται το γεγονός ότι οι περιεκτικότητες των βιοδραστικών φαινολικών ενώσεων διαφέρουν ανάλογα με τους γονότυπους του φυτού.

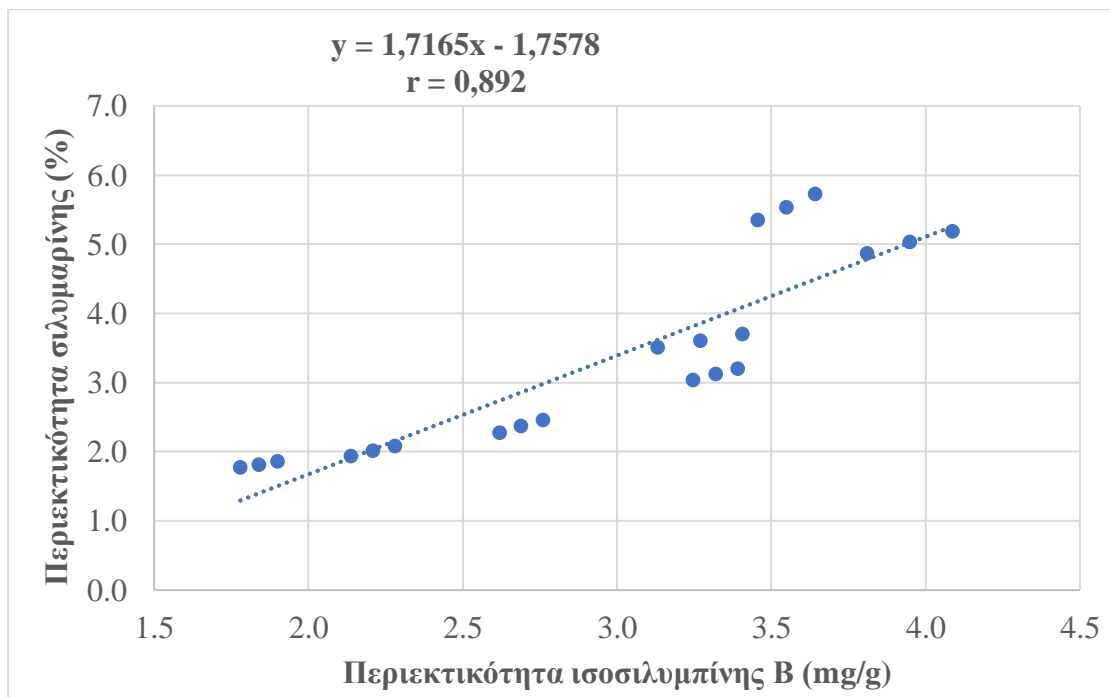
Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη παρουσίασε θετική συσχέτιση με όλα τα συστατικά της. Οι μεγαλύτερες τιμές του συντελεστή συσχέτισης (Διαγράμματα 8-10) καταγράφηκαν μεταξύ της περιεκτικότητας της σιλυμαρίνης και των συστατικών σιλυδιανίνη+ισοσιλυχριστίνη ($r=0,883$, $P<0,001$), ισοσιλυμπίνη Α ($r=0,849$, $P<0,001$) και ισοσιλυμπίνη Β ($r=0,892$, $P<0,001$).



Διάγραμμα 8. Γραμμική συσχέτιση μεταξύ περιεκτικότητας της σιλυμαρίνης και περιεκτικότητας της σιλυδιανίνης και ισοσιλυχριστίνης.



Διάγραμμα 9. Γραμμική συσχέτιση μεταξύ περιεκτικότητας της σιλυμαρίνης και περιεκτικότητας της ισοσιλυμπίνης A.

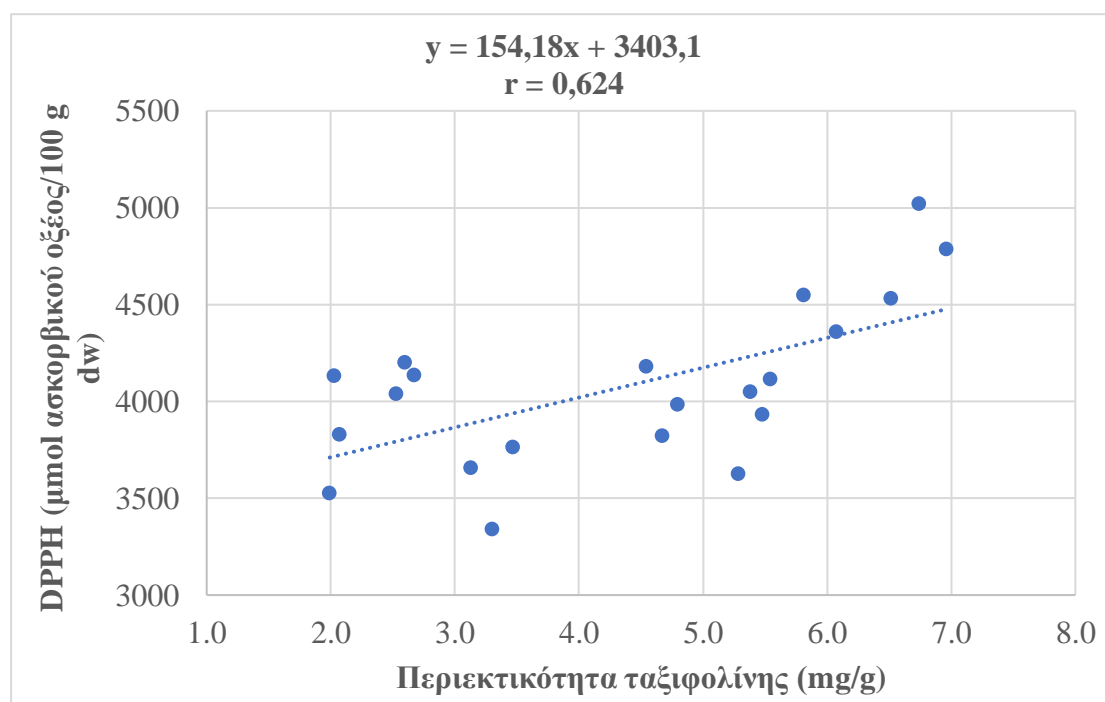


Διάγραμμα 8. Γραμμική συσχέτιση μεταξύ περιεκτικότητας της σιλυμαρίνης και περιεκτικότητας της ισοσιλυμπίνης B.

Σε άλλη έρευνα, οι Arampatzis et al. (2019) κατέγραψαν τους υψηλότερους συντελεστές συσχέτισης μεταξύ της περιεκτικότητας σε σιλυμαρίνη και των συστατικών της σιλυχριστίνη ($r=0,921$, $P<0,001$), σιλυμπίνη Α ($r=0,905$, $P<0,001$) και σιλυμπίνη Β ($r=0,910$, $P<0,001$). Αυτές οι διαφορές πιθανώς οφείλονται στη διαφορετική σύσταση των πληθυσμών που είχαν συλλεχθεί από περιοχές κυρίως της Στερεάς Ελλάδας και της Θεσσαλίας.

4.5. Αντιοξειδωτική ικανότητα

Σε αυτό το σημείο είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση (Διάγραμμα 9) μεταξύ της αντιοξειδωτικής ικανότητας που προσδιορίστηκε με τη μέθοδο DPPH και της περιεκτικότητας σε ταξιφολίνη ($r=0,624$, $P<0.01$). Σε πρόσφατη έρευνα οι Arampatzis et al. (2019) κατέγραψαν επίσης σημαντική και θετική συσχέτιση μεταξύ των παραπάνω παραμέτρων ($r=0,444$, $P<0.01$).



Διάγραμμα 9. Γραμμική συσχέτιση μεταξύ DPPH και περιεκτικότητας της ταξιφολίνης.

Επίσης, σε έρευνα των Lucini et al. (2015) συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ της αντιοξειδωτικής ικανότητας που προσδιορίστηκε με τη μέθοδο DPPH και της περιεκτικότητας σε φλαβονολιγνάνες. Συγκεκριμένα, υποστηρίχθηκε ότι οι

φλαβονολιγνάνες δρουν ως αντιοξειδωτικά με παρόμοιο τρόπο με τα φλαβονοειδή. Στην παρούσα πτυχιακή εργασία, το φλαβονοειδές που μελετήθηκε ήταν η ταξιφολίνη, η οποία συσχετίζεται επίσης θετικά με την αντιοξειδωτική ικανότητα του εκχυλίσματος των σπόρων του γαϊδουράγκαθου. Λόγω των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων της σιλυμαρίνης σε πρόσφατη έρευνα οι Jozve-Zargarabadi et al. (2020) παρατήρησαν ότι η προσθήκη σιλυμαρίνης σε γιαούρτι βελτίωσε τις ιδιότητες του αυξάνοντας την αντιοξειδωτική του ικανότητα και την περιεκτικότητα των φαινολικών συστατικών.

Συμπεράσματα

Η αξιολόγηση των πληθυσμών του είδους *S. marianum* από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου φανέρωσε χρήσιμα συμπεράσματα για το γενετικό υλικό του συγκεκριμένου είδους στη χώρα μας. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκαν τα εξής:

- ✓ Το βάρος των 1000 σπόρων κυμαίνονταν από 18,10 g έως 21,72 g.
- ✓ Όλοι οι πληθυσμοί είχαν μωβ χρώμα άνθους και λευκά νεύρα.
- ✓ **Η περιεκτικότητα των σπόρων σε έλαιο** κυμάνθηκε από **22,47%** έως **25,69%**, όπου η μέγιστη περιεκτικότητα καταγράφηκε στον πληθυσμό Αρτεμίσιο II.
- ✓ Η περιεκτικότητα σε **σιλυμαρίνη** των σπόρων κυμάνθηκε από **1,81%** στο πληθυσμός (Μυκήνες) έως **5,53%** (πληθυσμός Αρτεμίσιο I).
- ✓ **Οι πληθυσμοί από την Πελοπόννησο παρουσίασαν διαφορές ως προς τα συστατικά της σιλυμαρίνης.** Ενδιαφέρον παρουσίασαν οι πληθυσμοί Αρτεμίσιο I με κυρίαρχη τη σιλυχριστίνη (~22%) μεταξύ των συστατικών της σιλυμαρίνης και Κόρινθος με περιεκτικότητα περίπου 20% σε σιλυμπίνη A και B και ισοσυλιμπίνη A και B. Επίσης, ο πληθυσμός Αρτεμίσιο II παρουσίασε τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ταξιφολίνη (6,7%) έναντι των άλλων πληθυσμών.
- ✓ Στα έξι από τα επτά δείγματα της μελέτης μας στο σύνολο της σιλυμαρίνης, η σιλυδιανίνη ήταν το συστατικό που υπερείχε των άλλων, εκτός από τον πληθυσμό Αρτεμίσιο I, όπου η σιλυχριστίνη αποτέλεσε το μεγαλύτερο σε ποσοστό συστατικό της.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

- Abenavoli L., Capasso R., Milic N. and Capasso F., 2010. Milk thistle in liver diseases: past, present, future. *Phytotherapy Research*, 24: 1423–1432.
- Andrzejewska J. and Sadowska K., 2008. Effect of cultivation conditions on the variability and interrelation of yield and raw material quality in milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.). *Acta Scientiarum Polonorum Agricultura*, 7(3): 3-11.
- Andrzejewska J., Sadowska K. and Mielcarek S., 2011. Effect of sowing date and rate on the yield and flavonolignan content of the fruits of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) on light soil in a moderate climate. *Industrial Crops and Products*. 33: 462–468.
- Arampatzis D.A., Karkanis A.C. and Tsiropoulos N.G., 2019. Silymarin content and antioxidant activity of seeds of wild *Silybum marianum* populations growing in Greece. *Annals of Applied Biology*, 174: 61–73.
- Bektur Aykanat N.E., Kacar S., Karakaya S. and Sahinturk V., 2020. Silymarin suppresses HepG2 hepatocarcinoma cell progression through downregulation of Slit-2/Robo-1 pathway. *Pharmacological Reports*, 72(1): 199-207.
- Blois M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181: 1199–1200.
- Boojar M., Boojar M., Golmohammad S., 2020. Overview of Silibinin anti-tumor effects. *Journal of Herbal Medicine* 23.
- Carrier D.J., Crowe T., Sokhansanj S., Wahab J. and Barl B., 2003. Milk thistle, *Silybum marianum* (L.) Gaertn., flower head development and associated marker compound profile. *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants*, 10: 65–74.
- Darvishi-Khezri, H., Salehifar, E., Kosaryan, M., Karami, H., Mahdavi, M., Alipour, A., & Aliasgharian, A. (2018). Iron-chelating effect of silymarin in patients with β -thalassemia major: A crossover randomised control trial. *Phytotherapy Research*, 32, 496–503.
- Drouet S., Tungmunnithum D., Lainé É. And Hano, C., 2020. Gene expression analysis and metabolite profiling of silymarin biosynthesis during milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) fruit ripening. *International Journal of Molecular Science*, 21(13): 1-18.

- Elsayed A.I., El-Hamahmy M.A.M., Rafudeen M.S., Mohamed A.H. and Omar A.A., 2019. The impact of drought stress on antioxidant responses and accumulation of flavonolignans in milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn). *Plants*, 8(12): 611.
- Fehér J. and Lengyel G., 2012. Silymarin in the prevention and treatment of liver diseases and primary liver cancer. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(1): 210-217.
- Geneva M., Stancheva I., Sichanova M., Boycinova M., Georgiev G. and Dolezal M., 2008. Improvement of milk thistle (*Silybum marianum* L.) seed yield and quality with foliar application and growth effector MD 148/II. *General and Applied Plant Physiology*, 34: 309–318.
- Gioti K., Papachristodoulou A., Benaki D., Havaki S., Beloukas A., Vontzalidou A., Aligiannis N., Skaltsounis A.-L., Mikros E., Tenta R., 2019. Silymarin Enriched Extract (*Silybum marianum*) Additive Effect on Doxorubicin-Mediated Cytotoxicity in PC-3 Prostate Cancer Cells. *Planta Medica*, 85(11-12): 997-1007.
- Gresta F., Avola G. and Guarnaccia P., 2007. Agronomic characterization of some spontaneous genotypes of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) in Mediterranean environment. *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants*, 12: 51–60.
- Iqbal B., Ali J., Ganguli M., Mishra S. and Baboota S., 2019. Silymarin-loaded nanostructured lipid carrier gel for the treatment of skin cancer. *Nanomedicine*. 14(9): 1077-1093.
- Jozve-Zargarabadi E., Fadaei-Noghani V. and Huseini H.F., 2020. Viability of starter bacteria and anti-oxidative activity of a functional yogurt containing silybum marianum seed extract. *Applied Food Biotechnology*, 7(3): 135-142.
- Kacar S., Bektur Aykanat N.E. and Sahinturk V., 2020. Silymarin inhibited DU145 cells by activating SLIT2 protein and suppressing expression of CXCR4. *Medical Oncology*, 37(3): 18.
- Karkanis A., Efthimadou A. and Bilalis D., 2011. Cultivation of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.), a medicinal weed. *Industrial Crops and Products*, 34: 825–830.
- Kim S.-H., Choo G.-S., Yoo E.-S., Woo J.-S., Han S.-H., Lee J.-H. and Jung J.-Y., 2019. Silymarin induces inhibition of growth and apoptosis through modulation of the MAPK signaling pathway in AGS human gastric cancer cells. *Oncology Reports*, 42(5): 1904-1914.

- Kordkheyli V.A., Zarpou S., Nabipur E., Tafazoli A. and Bagheri A. 2018. An overview on the effects of silibinin on different micrnas expression in cancer. *Journal of Mazandaran University of Medical Science*, 28(165): 213-229.
- Kvasnicka F., Bida B., Sevcik R., Voldrich M. and Kratka J.M., 2003. Analysis of the active components of silymarin. *Journal of Chromatography A*, 990: 239–245.
- Lucini L., Kane D., Pellizzoni M., Ferrari A., Trevisi G.R. and Arslan D., 2015. Phenolic profile and in vitro antioxidant power of different milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] cultivars, *Industrial Crops and Products*, 83: 11-16.
- Martin R.J., Lauren D.R., Smith W.A., Jensen D.J., Deo B. and Douglas J.A., 2006. (*Silybum marianum*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 34: 239–245.
- Mashhadi Akbar Boojar M., Mashhadi Akbar Boojar M. and Golmohammad S., 2020. Overview of Silibinin anti-tumor effects *Journal of Herbal Medicine*. 23: 100375.
- Mohanlal S., Parvathy R., Shalini V., Helen A. and Jayalekshmy A., 2011. Isolation, characterization and quantification of tricin and flavonolignans in the medicinal rice Njavara (*Oryza sativa* L.), as Compared to Staple Varieties. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66(1): 91-96.
- Mombeini M., Saki G., Khorsandi L. and Bavarsad N., 2018. Effects of silymarin-loaded nanoparticles on HT-29 human colon cancer cells. *Medicina (Lithuania)*, 54(1): 1.
- Montemurro P., Fracchiolla M. and Lonigro A., 2007. Effects of some environmental factors on seed germination and spreading potential of *Silybum marianum* Gaertner. *Italian Journal of Agronomy*, 3: 315–320.
- Omer E.A., Refaat A.M., Ahmed S.S., Kamel A. and Hammouda F.M., 1993. Effect of spacing and fertilization on the yield and active constituents of milk thistle, *Silybum marianum*. *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants*, 1: 17–23.
- Perrino E.V., Brunetti G. and Farrag K., 2014. Plant communities in multi-metal contaminated soils: a case study in the national park of Alta Murgia (Apulia Pегion- Southern Italy). *International Journal of Phytoremediation*, 16: 871-888.
- Poppe L. and Petersen, M. 2016. Variation in the flavonolignan composition of fruits from different *Silybum marianum* chemotypes and suspension cultures derived therefrom. *Phytochemistry*, 131: 68–75.
- Rady M.R., Saker M.M. and Matter M.A., 2018. In vitro culture, transformation and genetic fidelity of milk thistle. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16: 563-572.

- Ramasamy K. and Agarwal R., 2008. Multitargeted therapy of cancer by silymarin. *Cancer Letters*. 269: 352–362.
- Shokrpour M., Mohammadi S.A., Moghaddam M., Ziai S.A. and Javanshir A., 2008. Variation in flavonolignan of milk thistle (*Silybum marianum*) fruits grown in Iran. *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants*, 13: 55–69.
- Sindel B.M., 1991. A review of the ecology and control of thistles in Australia. *Weed Research*. 31: 189–201.
- Sulas L., Re G.A., Bullitta S. and Piluzza G., 2016. Chemical and productive properties of two Sardinian milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) populations as sources of nutrients and antioxidants. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63: 315–326.
- Surai P.F., 2015. Silymarin as a natural antioxidant: An overview of the current evidence and perspectives. *Antioxidants (Basel)*, 4: 204–247.
- Wang S. and Zhu F., 2019. Chemical composition and health effects of maca (*Lepidium meyenii*) *Food Chemistry*, 288: 422-443.
- Won D.-H., Kim L.-H., Jang B., Yang I.-H., Kwon, H.-J.a, Jin B., Oh S.H., Kang J.-H., Hong S.-D., Shin J.-A. and Cho S.-D. 2018. In vitro and in vivo anti-cancer activity of silymarin on oral cancer. *Tumor Biology*, 40(5): 1-11.

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Αραμπατζής Δ., 2020. Περιεκτικότητα ελληνικών πληθυσμών του είδους *Silybum marianum* (L.) Gaertn. σε σιλυμαρίνη και στα βιοδραστικά της συστατικά και μελέτη της επίδρασης καλλιεργητικών τεχνικών (πυκνότητα σποράς και εφαρμογή του ρυθμιστή ανάπτυξης meriquat chloride) στην αύξηση, στην ποσοτική και ποιοτική απόδοση της καλλιέργειας. Διδακτορική διατριβή. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Βόλος.
- Βαρδάκα Κ., Γκιώνη Α., Αραμπατζής Δ., Τσιρόπουλος Ν., Καρκάνης Α., 2019. Αξιολόγηση ως προς την περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη βιοτύπων του φυτού *Silybum marianum* από διάφορες περιοχές της Πελοποννήσου. 20^ο Επιστημονικό Συνέδριο της Ελληνικής Ζιζανιολογικής Εταιρείας, Αργίνιο 4-6 Απριλίου 2019, σελ. 101.