



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΠΡΟΝΟΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΑΙΣΘΗΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΚΟΣΜΗΤΟΛΟΓΙΑΣ

**ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΛΕΜΟΝΙΟΥ ΣΤΗ
ΚΟΣΜΗΤΟΛΟΓΙΑ**



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΦΟΙΤΗΤΗ: ΦΩΤΕΙΝΗ ΜΠΑΝΑΝΗ

ΑΜ:63716103

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: Δρ. ΜΕΛΛΟΥ ΦΩΤΕΙΝΗ, MSc

ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΟΣΥΠΟΤΡΟΦΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2021



UNIVERSITY OF WEST ATTICA

FACULTY OF HEALTH AND CARE SCIENCES

DIVISION OF AESTHETICS AND COSMETOLOGY

USE OF LEMON INGREDIENTS IN COSMETOLOGY



THESIS

STUDENT NAME: FOTINI BANANI

CN:63716103

SUPERVISOR: Dr MELLOU FOTINI, MSc

ATHENS 2021

Η εξεταστική επιτροπή

Μέλλου Φ.

Ακαδημαϊκός Υπότροφος

Κίντζιου Ε.

Καθηγήτρια

Παπαγεωργίου Σ.

Λέκτορας

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Φωτεινή Μπανανή του Βασιλείου, με αριθμό μητρώου 63716103, φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Αισθητικής και Κοσμητολογίας του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολο τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου»

Η Δηλούσα
Μπανανή Φωτεινή

Ευχαριστίες

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω την εισηγήτρια μου, δρ. Μέλλου Φωτεινή, για την άμεση ανταπόκριση της όποτε την χρειάστηκα καθώς επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω και την οικογένεια μου για την έμπρακτη υποστήριξη τους σε αυτήν την τόσο απαιτητική διαδικασία εκπόνησης αυτής της πτυχιακής.

Περιεχόμενα

1.	Εισαγωγή	1
1.1	Σκοπός	2
2.	Το κίτρο	2
2.1	Citrus limon (λεμόνι)	4
2.1.1	Χημική σύσταση του <i>C. limon</i>	5
2.1.2	Μεταβολικό προφίλ του <i>C. limon</i>	7
3.	Ευεργετικές ιδιότητες του <i>C. limon</i>	10
3.1	Αντιφλεγμονώδης δράση	11
3.2	Αντιμικροβιακή δράση	12
3.3	Αντιπαρασιτική δράση	13
3.4	Αντιοξειδωτική δράση	14
3.5	Αντιαλλεργική δράση	14
3.6	Αντικαρκινική δράση	15
4.	Εφαρμογές του φρούτου <i>C. limon</i> στην Κοσμητολογία	16
4.1	Το αιθέριο έλαιο του <i>C. limon</i> ως ενισχυτής διείσδυσης βιταμινών	19
4.2	Το μεθανολικό εκχύλισμα φλούδας λεμονιού ως αντιγηραντικό	20
4.3	Το αιθέριο έλαιο <i>C. limon</i> έναντι του <i>Staphylococcusepidermidis</i>	21
4.4	Η δράση του ασκορβικού οξέος του φρούτου <i>C. limon</i> στο δέρμα	22
5.	Ασφάλεια χρήσης	24
5.1	Τοξικότητα, Γονοτοξικότητα	25
5.2	Καρκινογένεση	26
5.3	Φωτοτοξικότητα	27
5.4	Μελλοντικές έρευνες τοξικότητας	29
6.	Συμπέρασμα	31
7.	Περίληψη	32
8.	Abstract	32
9.	Βιβλιογραφία	34

1. Εισαγωγή

Το *Citrus limon* είναι ένα δέντρο με αειθαλή φύλλα και κίτρινα βρώσιμα φρούτα από την οικογένεια *Rutaceae*. Σε ορισμένες γλώσσες, το *C. limon* είναι γνωστό ως lemon (Αγγλικά), Zitrone (Γερμανικά), lecitron (Γαλλικά), limón (Ισπανικά) και níngméng, 檸檬 (Κινέζικα).

Η κύρια πρώτη ύλη του *C. limon* είναι το φρούτο, ιδιαίτερα το αιθέριο έλαιο και ο χυμός που προέρχονται από αυτό. Ο καρπός του *C. limon* ξεχωρίζει για τις γνωστές θρεπτικές του ιδιότητες, αλλά αξίζει να σημειωθεί ότι οι πολύτιμες βιολογικές του δράσεις υποτιμούνται στη σύγχρονη φυτοθεραπεία και κοσμητολογία [Goetz, 2014].

Ο χυμός των φρούτων του *C. limon* (χυμός λεμονιού) χρησιμοποιείται παραδοσιακά ως φάρμακο για το σκορβούτο πριν από την ανακάλυψη της βιταμίνης C [Mabberley, 2004]. Αυτή η κοινή χρήση του *C. limon*, γνωστή από την αρχαιότητα, υποστηρίζεται σήμερα από πολλές επιστημονικές μελέτες. Άλλες χρήσεις για το χυμό λεμονιού, γνωστές από την παραδοσιακή ιατρική, περιλαμβάνουν τη θεραπεία της υψηλής αρτηριακής πίεσης, του κοινού κρυολογήματος και της ακανόνιστης εμμηνου ρύσεως. Επιπλέον, το αιθέριο έλαιο του *C. limon* είναι μια γνωστή θεραπεία για τον βήχα [Papp, N. et al., 2011, Clement, Y. Netal., 2015, Bhatia, H. et al., 2015].

Στη ρουμανική παραδοσιακή ιατρική, το αιθέριο έλαιο *C. limon* χορηγήθηκε με ζάχαρη για την καταστολή του βήχα [Papp, N. et al., 2011]. Εκτός από το ότι είναι πλούσιο σε βιταμίνη C, που βοηθά στην αποφυγή λοιμώξεων, ο χυμός χρησιμοποιείται παραδοσιακά για τη θεραπεία του σκορβούτου, του πονόλαιμου, των πυρετών, των ρευματισμών, της υψηλής αρτηριακής πίεσης και του θωρακικού πόνου [Balogun, F.O. et al., 2019].

Στο Τρινιδάντ, ένα μείγμα χυμού λεμονιού με αλκοόλ ή λάδι καρύδας έχει χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία του πυρετού, του βήχα στο κοινό κρυολόγημα και της υψηλής αρτηριακής πίεσης. Επιπλέον, ο χυμός ή το τριμμένο δέρμα, αναμεμιγμένο με μελάσα, έχει χρησιμοποιηθεί για την απομάκρυνση της περίσσειας νερού από το σώμα και ο χυμός αναμεμιγμένος με ελαιόλαδο έχει χορηγηθεί για θεραπεία της μόλυνσης της μήτρας και της πέτρας στα νεφρά [Clement, Y.N. et al., 2015]. Σύμφωνα με την παραδοσιακή ινδική ιατρική, ο χυμός του *C. limon* μπορεί να

προκαλέσει εμμηνόρροια, η συνιστώμενη δόση για αυτό είναι δύο κουταλάκια του γλυκού που καταναλώνονται δύο φορές την ημέρα [Bhatia, H. Etal., 2015].

Οι φαρμακολογικές δράσεις του *C. limon* καθορίζονται από την πλούσια χημική του σύνθεση. Η πιο σημαντική ομάδα δευτερογενών μεταβολιτών στα φρούτα περιλαμβάνει φλαβονοειδή και επίσης άλλες ενώσεις, όπως φαινολικά οξέα, κουμαρίνες, καρβοξυλικά οξέα, αμινοξέα και βιταμίνες. Οι κύριες ενώσεις του αιθέριου ελαίου είναι τα μονοτερπενοειδή, ειδικά το *D-limonene*. Αυτά τα πολύτιμα χημικά συστατικά είναι ο λόγος για τη σημαντική θέση του *C. limon* στις βιομηχανίες τροφίμων και καλλυντικών [Abad-García, B. Etal., 2012, García-Salas, P. Etal., 2013, Russo, M. etal., 2015].

1.1 Σκοπός

Στις μέρες μας, πολύτιμες επιστημονικές δημοσιεύσεις επικεντρώνονται στις ολοένα και ευρύτερες φαρμακολογικές δράσεις του εκχυλίσματος φρούτων *C. limon*, χυμού και αιθέριου ελαίου. Περιλαμβάνουν μελέτες, για παράδειγμα, αντιβακτηριακών, αντιμυκητιασικών, αντιφλεγμονωδών, αντικαρκινικών, ηπατοαναγεννητικών και καρδιοπροστατευτικών δραστηριοτήτων [Otang, W.M. etal., 2016, Parhiz, H. etal., 2015, Kim, J. etal., 2012, Bhavsar, S.K. etal., 2007, Riaz, A. etal., 2014].

Σκοπός αυτής της εργασίας είναι να παρουσιάσει μέσα από πρόσφατες επιστημονικές έρευνες τις χρήσεις των συστατικών του *C. limon* στην κοσμητολογία και την ασφάλεια χρήσης αυτού καθώς επίσης και την πιθανή φωτοτοξικότητα του προϊόντος.

2. Το κίτρο

Το γένος *Citrus* είναι μία από τις σημαντικότερες ταξινομικές υπομονάδες της οικογένειας *Rutaceae*. Τα φρούτα που παράγονται από τα είδη που ανήκουν σε αυτό το γένος ονομάζονται εσπεριδοειδή. Τα εσπεριδοειδή είναι συνήθως γνωστά για τις πολύτιμες θρεπτικές, φαρμακευτικές και καλλυντικές τους ιδιότητες. Το γένος *Citrus* περιλαμβάνει αειθαλή φυτά, θάμνους ή δέντρα (ύψους 3 έως 15 μέτρων). Τα φύλλα τους είναι δερματώδη, ωοειδή ή ελλειπτικά σε σχήμα. Μερικά από αυτά έχουν αιχμές. Τα λουλούδια μεγαλώνουν ξεχωριστά σε κλαδιά φύλλων. Κάθε λουλούδι έχει πέντε πέταλα και είναι λευκό ή κοκκινωπό. Ο καρπός είναι ένα εσπεριδοειδές μούρο. Το είδος ανήκει στο γένος *Citrus* εμφανίζεται φυσικά σε περιοχές με ζεστό και ήπιο

κλίμα, κυρίως στην περιοχή της Μεσογείου. Συνήθως είναι ευαίσθητοι στον παγετό [Mabberley, 2004].

Ένα από τα πιο γνωστά και πιο χρησιμοποιημένα είδη του γένους *Citrus* είναι το λεμόνι - *Citrus limon* (L.) (Λατινικά συνώνυμα: *C. × limonia*, *C. limonum*). Άλλα σημαντικά είδη που περιλαμβάνονται σε αυτήν την ταξινομική μονάδα είναι: *Citrusaurantium*ssp. *aurantium* — πικρό πορτοκάλι, *Citrus sinensis* — Κινέζικο πορτοκάλι, *Citrus reticulata* — μανταρίνι, *Citrus Paradise* — γκρέιπφρουτ, *Citrus bergamia* — περγαμόντο πορτοκάλι, *Citrus Medica*—κιτριά και πολλά άλλα. Μια ομάδα επιστημόνων από το Πανεπιστήμιο της Καλιφόρνιας (Οκλαντ, Καλιφόρνια, ΗΠΑ) [Talon, M. et al., 2008] ανέλυσε την προέλευση πολλών ειδών του γένους *Citrus*, συμπεριλαμβανομένου του *C. limon*. Διαπίστωσαν ότι το *C. limon* ήταν ένα φυτό που είχε σχηματιστεί ως αποτέλεσμα του συνδυασμού δύο ειδών - *C. aurantium* και *C. medica*. Στις μελέτες επιστημόνων από το Νοτιοδυτικό Πανεπιστήμιο της Κίνας (Chongqing, Κίνα), τα προφίλ μεταβολιτών των *C. limon*, *C. aurantium* και *C. medica* αξιολογήθηκαν με τη χρήση χρωματογραφίας αερίου - φασματομετρίας μάζας (GC-MS) και της μερικής διακριτικής ανάλυσης με ελάχιστα τετράγωνα (PLS-DA) σκορ plot. Αποδεικνύουν ότι το *C. limon* έχει μικρότερη απόσταση μεταξύ του *C. aurantium* και του *C. medica* σε σύγκριση με άλλα είδη εσπεριδοειδών. Αυτές οι μελέτες έδειξαν ότι το *C. limon* ήταν πιθανώς ένα υβρίδιο των *C. medica* και *C. aurantium*, επιβεβαιώνοντας μια προηγούμενη υπόθεση [Jing, L. et al., 2015].

Η βοτανική ταξινόμηση των ειδών του γένους *Citrus* είναι πολύ δύσκολη λόγω του συχνού σχηματισμού υβριδίων και της εισαγωγής πολλών ποικιλιών μέσω της διασταυρούμενης επικονίασης. Τα υβρίδια παράγονται για την απόκτηση φρούτων με πολύτιμες οργανοληπτικές και βιομηχανικές ιδιότητες, όπως φρούτα χωρίς σπόρους, υψηλή υγρασία και την απαιτούμενη γεύση. Για παλαιότερες ποικιλίες, υβρίδια και ποικιλίες, συχνά απαιτούνται οι πιο πρόσφατες μοριακές τεχνικές για την αναγνώρισή τους. Το *C. limon*, όπως και πολλά άλλα παραγωγικά είδη εσπεριδοειδών, δημιουργεί πολλές ποικιλίες και υβρίδια.

Μία από τις παλαιότερες διατηρημένες βοτανικές πηγές που περιγράφουν είδη του γένους *Citrus* είναι η «Μονογραφία στα πορτοκάλια του Wên-chou» (στα κινέζικα: 記嘉桔錄, «Citrus records of JiJia») από τον HanYanzhi από το 1178 [Hagerty,

1923,Herbertetal., 1943]. Άλλα ιστορικά έργα που περιγράφουν τα είδη που φέρουν εσπεριδοειδή είναι το "NürnbergischeHesperides" το 1708 και το "TraitéduCitrus" το 1811. Ιστορικά, μία από τις πιο γνωστές ταξινομήσεις των ειδών εσπεριδοειδών είναι το "HistoireNaturelle des Orangers" το 1818. Ο αμερικανός βοτανολόγος Walter O TennysonSwingle (1871–1952) είχε ιδιαίτερα σημαντική επίδραση στη σημερινή ταξινόμηση του γένους Citrus. Είναι ο συγγραφέας έως και 95 βοτανικών ονομάτων ειδών του γένους Citrus. Σήμερα, η κατηγοριοποίηση του είδους του γένους Citrus βασίζεται σε μελέτες μοριακών δεικτών και άλλες τεχνολογίες ανάλυσης DNA παρέχουν ακόμη νέες πληροφορίες [Swingle, 1943].

2.1. Citruslimon (λεμονιά)

Το Citruslimon (λεμονιά) είναι ένα δέντρο ύψους 2,5-3 m. Έχει αιθαλή λογχοειδή φύλλα. Τα αμφιφυλόφιλα λουλούδια είναι λευκά με μωβ απόχρωση στις άκρες των πετάλων. Συγκεντρώνονται σε μικρές συστάδες ή εμφανίζονται μεμονωμένα, αναπτύσσονται σε κλαδιά φύλλων. Ο καρπός είναι ένα επίμηκες, ωοειδές, μυτερό πράσινο μούρο που κιτρινίζει κατά την ωρίμανση. Στο εσωτερικό, το μούρο είναι γεμάτο με ένα ζουμερό πολτό χωρισμένο σε τμήματα (όπως ένα πορτοκάλι). Το περικόρπιο του *C. limon* είναι φτιαγμένο από ένα λεπτό εξωκάρπιο καλυμμένο με κερί, κάτω από το οποίο υπάρχει το εξωτερικό μέρος του μεσοκαρπίου, επίσης γνωστό ως flaveo. Αυτό το μέρος περιέχει κυστίδια λαδιού και καροτενοειδή χρώματα. Το εσωτερικό μέρος του μεσοκαρπίου, επίσης γνωστό ως albedo, είναι κατασκευασμένο από έναν σπογγώδη, λευκό ιστό παρεγχύματος. Το ενδοκάρπιο, ή «σάρκα φρούτων», χωρίζεται σε τμήματα από τον σπογγώδη, λευκό ιστό του μεσοκαρπίου [Mabberley, 2004].

Το δέντρο *C. limon* προτιμά ηλιόλουστα μέρη. Αναπτύσσεται σε αργιλώδη, καλά στραγγιζόμενα, υγρά εδάφη με μεγάλο εύρος pH [Goetz, 2014, Mabberley,2004].

Η τοποθεσία του αρχικού φυσικού οικοτόπου του *C. limon* δεν είναι γνωστή με ακρίβεια [Goetz, 2014,Millet, 2014]. Ωστόσο, το *C. limon* θεωρείται εγγενές στη Βορειοδυτική ή Βορειοανατολική Ινδία [Mabberley, 2004,CitrusPage, 2019].

Το *C. limon* αναγνωρίζεται κυρίως ως καλλιεργούμενο είδος. Καλλιεργήθηκε στη νότια Ιταλία από τον 3ο αιώνα μ.Χ. και στο Ιράκ και την Αίγυπτο από το 700 μ.Χ. Οι Άραβες εισήγαγαν το *C. limon* στην Ισπανία, όπου καλλιεργείται από το 1150. Οι αποστολές του Μάρκο Πόλο έφεραν επίσης τον *C. limon* στην Κίνα το 1297. Ήταν επίσης ένα από τα πρώτα νέα είδη που έφερε ο Christopher Columbus με τη μορφή σπόρων στην ήπειρο της Βόρειας Αμερικής το 1493. Τον 19ο αιώνα, η παγκόσμια εμπορική παραγωγή του *C. limon* ξεκίνησε στη Φλόριντα και στην Καλιφόρνια. Σήμερα, οι ΗΠΑ είναι ο μεγαλύτερος παραγωγός *C. limon*. Η Ιταλία, η Ισπανία, η Αργεντινή και η Βραζιλία διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο [CitrusPage, 2019].

2.1.1. Χημική σύσταση του *C. limon*

Η χημική σύνθεση των φρούτων *C. limon* είναι πολύ γνωστή. Δεν έχει καθοριστεί μόνο για ολόκληρο το φρούτο, αλλά και ξεχωριστά για το περικάρπιο, το χυμό, τον πυρηνικά και το αιθέριο έλαιο. Οι συνθέσεις των φύλλων και το λιπαρό έλαιο που εξάγονται από τους σπόρους *C. limon* είναι επίσης γνωστές. Λόγω του μεγάλου αριθμού ποικιλιών *C. limon*, ποικιλιών και υβριδίων, διάφορα ερευνητικά κέντρα αναλαμβάνουν το έργο της ανάλυσης της χημικής σύνθεσης των πρώτων υλών που προέρχονται από αυτές.

Η πιο σημαντική ομάδα βιοδραστικών ενώσεων τόσο στα φρούτα *C. limon* όσο και στον χυμό του, που προσδιορίζουν τη βιολογική τους δράση, είναι τα φλαβονοειδή όπως: φλαβονονες-ειωδιοδικτυόλη, εσπεριδίνη, εσερετίνη, ναρρίνη, φλαβόνες-απιγενίνη, φισονόλεξδισμίνης-κουερκετίνη. και τα παράγωγά τους. Σε ολόκληρο το φρούτο, ανιχνεύονται επίσης άλλα φλαβονοειδή: φλαβονολικές - λιμοκιτρίνη και φλαβόνες - Οριεντίνη και Βιτεξίνη. Μερικά φλαβονοειδή, όπως η νεοεσπεριδίνη, η ναρρινίνη και η εσπεριδίνη, είναι χαρακτηριστικά για τα φρούτα *C. limon*. Σε σύγκριση με ένα άλλο είδος εσπεριδοειδών, το *C. limon* έχει την υψηλότερη περιεκτικότητα σε εριοκιτρίνη [Robards, K., et al., 1997].

Τα φαινολικά οξέα είναι μια άλλη σημαντική ομάδα ενώσεων που βρίσκονται τόσο στο χυμό όσο και στα φρούτα.

Υπάρχουν κυρίως δύο τέτοιες ενώσεις στο χυμό - φουρουλικό οξύ και συναπικό οξύ, και τα παράγωγά τους.

Αντιθέτως, η παρουσία του ρ-υδροξυβενζοϊκού οξέος έχει επιβεβαιωθεί στον καρπό. Στον καρπό, υπάρχουν επίσης ενώσεις κουμαρίνης, καρβοξυλικά οξέα, υδατάνθρακες, καθώς και αμινοξέα, σύμπλεγμα βιταμινών Β και, κυρίως, βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) [Goetz, 2004, Abad-García, B. et al., 2012, García-Salas, P. et al., 2013, Ledesma-Escobar, C.A et al., 2015, Kaya, M. et al., 2014, Malacrida, C.R. et al., 2012, Gattuso, G. et al., 2007, Mucci, A. et al., 2013, Czech, A. et al., 2019].

Μια άλλη ενδιαφέρουσα ομάδα ενώσεων που βρίσκονται στα φρούτα *C. limon* είναι τα λιμονοειδή. Τα λιμονοειδή είναι οξειδωμένοι δευτερογενείς μεταβολίτες με πολυκυκλικούστριτερπενοειδείς σκελετούς. Εμφανίζονται κυρίως σε εσπεριδοειδή, συμπεριλαμβανομένων των λεμονιών, στα οποία βρίσκονται κυρίως στους σπόρους, τον πολτό και τη φλούδα. Υπάρχουν κυρίως δύο τέτοιες ενώσεις στα φρούτα *C. limon* - limonin και nomilin [Gualdani, R. et al., 2016]. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι συγκεντρώσεις των ενώσεων αυτής της ομάδας εξαρτώνται από τα στάδια ανάπτυξης και ωρίμανσης των φρούτων. Τα νεαρά εσπεριδοειδή περιέχουν τις υψηλότερες ποσότητες αυτών των ενώσεων, σε σύγκριση με τα ώριμα. [Huang, S. et al., 2019]

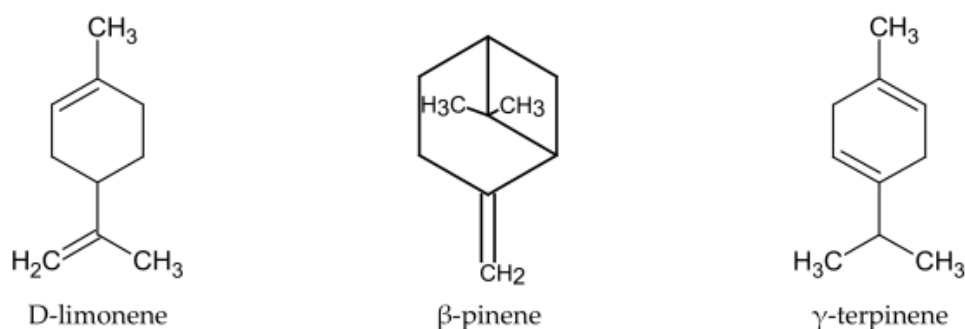
Η ανάλυση των μακροστοιχείων σε φρούτα *C. limon* έδειξε την παρουσία στον πολτό και τη φλούδα: ασβεστίου (Ca), μαγνησίου (Mg), φωσφόρου (P), καλίου (K) και νατρίου (Na) [Czech, A. et al., 2019].

Στο έλαιο σπόρου του *C. limon*, τα κύρια συστατικά είναι λιπαρά οξέα, όπως αραχιδονικό οξύ, βεχενικό οξύ και λινελαϊκό οξύ, καθώς και τοκοφερόλες και καροτενοειδή [Malacrida, C.R. et al., 2012, Mucci, A. et al., 2013]. Οι τελευταίες μελέτες έδειξαν ότι το λάδι πολτού φρούτων *C. limon* περιέχει περισσότερα λιπαρά οξέα σε σύγκριση με άλλα είδη εσπεριδοειδών, όπως *C. aurantium*, *C. reticulata* και *C. sinensis*. Τα ακόλουθα λιπαρά οξέα έχουν ταυτοποιηθεί στο λάδι πολτού *C. limon*: βεχενικό οξύ, ερουκικό οξύ, γονδοϊκό οξύ, λαυρικό οξύ, λινολεϊκό οξύ, -λινολενικό οξύ, μαργαρικό οξύ, παλμιτικό οξύ, παλμιτολεϊκό οξύ, πενταδεκανοϊκό οξύ και στεατικό οξύ [Lamine, M. et al., 2019].

Τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου *C. limon* είναι τα μονοτερπενοειδή. Μεταξύ αυτών, ποσοτικά κυρίαρχα στο αιθέριο έλαιο που λαμβάνεται από περικάρπιο είναι: λιμονένιο (69,9%), -πινένιο (11,2%), -τερπένιο (8,21%), (Εικόνα 1), σαβενένιο

(3,9%), μυρκένιο (3,1%) , γεράνια (E-κιτρικό, 2,9%), νεραλικό (Z-κιτρικό, 1,5%), λιναλοόλη (1,41%). Εκτός από τα τερπενοειδή, το αιθέριο έλαιο περιέχει επίσης γραμμικές φουροκουμαρίνες (psoralens) και πολυμεθοξυλιωμένεςφλαβόνες [Russo, M. etal., 2015,Kaskoos, R.A., 2019,González-Molina, E. etal., 2010].

Το αιθέριο έλαιο του φύλλου *C. limon* διαφέρει ως προς τη σύνθεση από το έλαιο που λαμβάνεται από το περικάρπιο. Οι κύριες ενώσεις του περιλαμβάνουν: λιμονένιο (31,5%), σαβενένιο (15,9%), κιτρονελικό (11,6%), λιναλοόλη (4,6%), νεραλικό (4,5%), γερνιακό (4,5%), (E) - -οξιένιο (3,9%) , μυρκένιο (2,9%), κιτρονελόλη (2,3%), -καρυφυλίνη (1,7%), τερπεν-4-όλη (1,4%), γερανιόλη (1,3%) και -πινένιο (1,2%) [Russo, M. etal., 2015, Jing, L. etal., 2015,Kaskoos, R.A., 2019, González-Molina, E. etal, 2010, Owolabi, M.S. etal., 2018, Masson, J. etal., 2016].



Εικόνα1:Χημικήδομήεπιλεγμένωνχαρακτηριστικώντερπενοειδώνγιατοαιθέριο έλαιο του *C. limon* (Klimek-Szczykutowiczetal., 2020)

2.1.2. Μεταβολικό προφίλ του *C. limon*

Σε έρευνα που διεξήχθη [Mucci, A. etal., 2013] για το μεταβολικό προφίλ διαφόρων μερών του φρούτου *C. limon* μελετήθηκε η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (HR-MAS NMR) με φασματοσκοπία μαγνητικής γωνίας (HR-MAS NMR). Οι αναλύσεις έγιναν απευθείας σε άθικτους ιστούς χωρίς φυσικοχημικό χειρισμό. Στο *C. limon*flaveo εντοπίστηκαν: τερπενοειδή (limonene, -pinene και -τερπένιο), αμινοξέα (ασπαραγίνη, αργινίνη, γλουταμίνη, προλίνη), οργανικά οξέα (μηλικό οξύ και κινικό οξύ), οσμωλίτες (σταχδρίνη), και αλυσίδες λιπαρών οξέων και σάκχαρα (γλυκόζη, φρουκτόζη, φρουκτοφουρανόζη, μωϊνοσιτόλη, σκυλοϊνοσιτόλη και σακχαρόζη). Το αλμπέτο των καρπών *C. limon* έδειξε την παρουσία χαμηλών

σημάτων από: αμινοξέα (αλανίνη, θρεονίνη, βαλίνη, γλουταμίνη), σάκχαρα (γλυκόζη, σακχαρόζη, -φρουκτοφουρανόζη, μιοϊσοσόλη, σκυλοϊνοσιτόλη και φρουκτοπυρανόζη) και οσμωλίτες (σταχδρίνη, -υδροξυβουτυρική αιθανόλη). Στο αλμπέτο, ανιχνεύθηκαν σαφή σήματα από φλαβονοειδή, όπως η εσπεριδίνη και η ρουτοσίδη, που έχουν ταυτοποιηθεί επίσης με αναλύσεις υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC).

Η ανάλυση σύνθεσης HR-MAS NMR των αδένων έδειξε την παρουσία τερπενοειδών (λιμονένιο, -τερπινένιο, -πινένιο, α-πινένιο, γερνιακό, νεραλικό, κιτρονελικό, μυκένιο, σαβενένιο, α-θουζένιο, εστέρες νερόλης και γερανιόλης) και σάκχαρα (γλυκόζη, σακχαρόζη, -φρουκτοφουρανόζη και -φρουκτοπυρανόζη). Η ανάλυση πολτού του *C. limon* έδειξε την παρουσία αμινοξέων (ασπαραγίνη, προλίνη, αλανίνη, -αμινοβουτυρικό οξύ (GABA), γλουταμίνη, θρεονίνη και βαλίνη), οργανικά οξέα (κιτρικό οξύ και μηλικό οξύ), σάκχαρα (γλυκόζη, σακχαρόζη, -φρουκτοφουρανόζη, φρουκτοπυρανόζη, μιοϊσοσόλη και scylloinosyol) και οσμωλίτες (σταχδρίνη, αιθανόλη και μεθανόλη). Η ανάλυση σπόρων HR-MAS NMR έδειξε ότι συντίθεται κυρίως από τριγλυκερίδια (λινελαϊκό οξύ, λινολενικό οξύ και τα παράγωγά τους), σάκχαρα (γλυκόζη και σακχαρόζη), οσμωλίτες (σταχδρίνη) και τριγονελλίνη [Mucci, A. et al., 2013].

Σε μια άλλη μεταβολική μελέτη, τα εκχυλίσματα φλούδας των ωριμασμένων φρούτων *C. limon* χαρακτηρίστηκαν ως περιέχοντα μη φθορίζοντες καταβολίτες χλωροφύλλης (NCCs) και καταβολίτη μη φθορίζοντος τύπου διοξοβιλάνης (DNCC) [Ríos, J.J. et al., 2015]. Στις φλούδες των φρούτων *C. limon*, εντοπίστηκαν τέσσερις καταβολίτες χλωροφύλλης: C1-NCC1, C1-NCC2, C1-NCC3 και C1-NCC4 [Ríos, J.J. et al., 2015].

Οι μελέτες που έγιναν για το μεταβολικό προφίλ των φύλλων του *C. limon* [Asai, T. et al., 2016] έδειξαν ότι περιέχουν 26 διαφορετικά οργανικά οξέα και τα παράγωγά τους (ακονικό οξύ, 2-αμινοβουτυρικό οξύ, 4-αμινοβουτυρικό οξύ, ασκορβικό οξύ, βενζοϊκό οξύ, κιτραμαλικό οξύ, κιτρικό οξύ, π-κουμαρικό οξύ, φουρουλικό οξύ, φουμαρικό οξύ, γλυκαρικό οξύ, γλυκολικό οξύ, 3-υδροξυβουτυρικό οξύ, 2-ισοπροπυλαμικό οξύ, μηλικό οξύ, μηλονικό οξύ, 3-μεθυλογλουταρικό οξύ, οξαμικό οξύ, ÷-3-φαινυλοξικό οξύ, πιπεκολικό οξύ, πυρουβικό οξύ, κινικό οξύ, σικιμικό οξύ, ηλεκτρικό οξύ, θρεονικό οξύ, ουροκανικό οξύ), 21 αμινοξέα (αλανίνη, -

αμινοβουτυρικό οξύ, ανθρανιλικό οξύ, ασπαραγίνη, ασπαρτικό οξύ, γλουταμικό οξύ, γλουταμίνη, γλυκίνη, ιστιδίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, λυσίνη, μεθειονίνη, φαινυλαλανίνη, προλίνη, προλίνηπυρογλουταμικό οξύ, σερίνη, θρεονίνη, τρυπτοφάνη, τυροσίνη, βαλίνη) και 13 σάκχαρα και αλκοόλες σακχάρου (αραβινόζη, φρουκτόζη, γαλακτόζη, γλυκόζη, γλυκερόλη, ινοσιτόλη, λυξόζη, μαλτόζη, ραμνόζη, ριβόζη, σορβόζη, σακχαρόζη, ξυλιτόλη).

Επιπλέον, τα μελετημένα φύλλα έχουν εκτεθεί σε συνθήκες στρες (τα φύλλα τοποθετήθηκαν με τέτοιο τρόπο ώστε η άκρη του μίσχου να έρθει σε επαφή με τον πυθμένα ενός γυάλινου μπουκαλιού, εμποτισμένο με 0,2mM γιασμονικό οξύ και σαλικυλικό οξύ υδατικά διαλύματα και επώαστηκε στους 25 °C για 24 ώρες). Η περιεκτικότητα των αμινοξέων, όπως, τυροσίνη, τρυπτοφάνη, φαινυλαλανίνη, βαλίνη, λευκίνη, ισολευκίνη, λυσίνη, μεθειονίνη, θρεονίνη, ιστιδίνη και -αμινοβουτυρικό οξύ, αυξήθηκε μετά από αυτήν την αγωγή στρες [Asai, T. et al., 2016].

Ο προσδιορισμός των πτητικών και μη πτητικών μεταβολιτών στο αιθέριο έλαιο *C. limon* εξαρτάται από τη γεωγραφική προέλευση και τις αναλυτικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται. Για να αξιολογηθεί το δυναμικό των πτητικών και μη πτητικών κλασμάτων για σκοπούς ταξινόμησης, αναλύθηκαν πτητικές ενώσεις ψυχρής πίεσης λεμονάδων, χρησιμοποιώντας σύγχρονες μεθόδους όπως αεριοχρωματογραφία-ανιχνευτής ιονισμού φλόγας-φασματομέτρο μάζας (GC-FID / MS) και τεσσάρων μετασχηματισμένων μέσων - φασματοσκοπία υπέρυθρης ακτινοβολίας (FT-MIR), ενώ τα μη πτητικά υπολείμματα μελετήθηκαν χρησιμοποιώντας FT-MIR με πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό πρωτονίων (¹H-NMR) και εξαιρετικά υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία-τετραπολικήφασματομετρία μάζας χρόνου πτήσης (UHPLC- TOF-MS). Οι μελέτες οδηγούν σε πολύ καλή διαφοροποίηση και ταξινόμηση των δειγμάτων σχετικά με τη γεωγραφική προέλευσή τους και τους τρόπους διεργασίας εξαγωγής. Το αιθέριο έλαιο από την ιταλική προέλευση φρούτα *C. limon* εμπλουτίστηκε σε α-θουζένιο, α-πινένιο, α-τερπινένιο, σεσκιτερπενιοειδή (δηλαδή β-καρνοφυλλένιο) και φουροκουμαρίνες (δηλαδή, περγαμοτίνη). Το αιθέριο έλαιο από φρούτα Ισπανίας και Αργεντινής *C. limon* χαρακτηρίστηκε από σημαντική περιεκτικότητα σε τερπένιο, όπως το λιμονένιο, αλλά διέφερε σε περιεκτικότητα σε ιμπερατορίνη και βιακανγελικόλη. Οι μελέτες έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο από τα ισπανικά φρούτα *C. limon* περιείχε περισσότερη καμφορά και 4-τερπινεόλη, ενώ τα

φρούτα *C. limon* της Αργεντινής περιείχαν περισσότερο σαβινένιο και ένυδρο *cis*-σαβινένιο [Mehl, F. et al., 2014].

Οι μελέτες που πραγματοποιήθηκαν [Jing, L. et al., 2015] επικεντρώθηκαν στην ταυτοποίηση συστατικών στο αιθέριο έλαιο διαφορετικών ειδών εσπεριδοειδών, συμπεριλαμβανομένου του *C. limon*. Γενικά, τα περισσότερα συστατικά αιθέριου ελαίου που μελετήθηκαν ταυτοποιήθηκαν ως μονοτερπενοειδή. Τα κύρια μονοτερπένια σε αιθέριο έλαιο *C. limon* ήταν: λιμονένιο (70,37%), π-μενθα-3,8-διένιο (18,00%), μυρκενίο (4,40%), α-πινένιο (3,24%), α-θουζένιο (1,05 %) και τερπινολένιο (0,90%). Άλλα μονοτερπενοειδή, τα οποία ταυτοποιήθηκαν ως χαρακτηριστικά του *C. limon*, ήταν: σαβενένιο (0,28%), -τερπένιο (0,22%), Trans-μουρόλα-4 (14), 5-διένιο (0,18%), ευκαλυπτόλη (0,12%), οξική οκτανόλη (0,03%), -κουρκουμίνη (0,03%), ζωνάρενο (0,03%), 7-επι-σεσκιθουένιο (0,02%), οξικό κιτρονευλεστέρα (0,02%), α-φαρνεσένιο (0,01%). Το εμφανιζόμενο προφίλ με βάση το μεταβολίτη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη σαφή διάκριση των βασικών ειδών εσπεριδοειδών. Το λιμονένιο, το α-πινένιο, το σαβενένιο και το α-τερπινένιο ήταν τα κύρια χαρακτηριστικά συστατικών των αναλυθέντων μεταβολωμάτων των γονότυπων εσπεριδοειδών που συνέβαλαν στην ταξινόμησή τους [Jing, L. et al., 2015].

Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν [Masson, J. et al., 2016] ασχολήθηκαν με το μεταβολικό προφίλ της φουροκουμαρίνης και της κουμαρίνης στο αιθέριο έλαιο από τη φλούδα του φρούτου *C. limon*. Το αιθέριο έλαιο *C. limon* περιείχε μεγάλες ποσότητες φουροκουμαρινών και κουμαρινών σε σύγκριση με άλλα αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών που δοκιμάστηκαν. Στο αιθέριο έλαιο *C. limon*, ανιχνεύθηκαν 13 φουροκουμαρίνες (περγαμόντο, περγαπτένιο, βιακανγελικόλη, βιακανγελικήνη, εποξυμπεργαμοτίνη, 8-γερανυλοξυψοραλένη, ηρακλενίνη, ιμπερατορίνη, ισοϊμπερατερίνη, ισοπυριδυλλίνη, οξυπεπτιδανίνη, ένυδρη οξυπιπεδανίνη, φελλοπετρίνη) και δύο κουμαρίνες (κιτροπτένη και ερνιαρίνη) [Masson, J. et al., 2016].

3.Ευεργετικές ιδιότητες του *C. limon*

Στις μέρες μας το *C. limon* είναι ιδιαίτερα γνωστό για τις ευεργετικές ιδιότητες που παρουσιάζει ανάλογα με τον τρόπο χρήσης του, οι οποίες είναι αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντιπαρασιτικές, αντιαλλεργικές, αντικαρκινικές κ.α. Στη συνέχεια θα αναπτυχθούν οι βασικότερες αυτών.

3.1 Αντιφλεγμονώδης δράση

Η αντιφλεγμονώδης δραστηριότητα αξιολογήθηκε με *in vivo* μοντέλο οιδήματος αρουραίου που προκαλείται από Carrageenan και *in vitro* δοκιμασία σταθεροποίησης μεμβράνης HRBC με εκχυλίσματα 250 και 500 mg / Kg συγκεντρώσεων βάρους σώματος και μεθόδους εμβάπτισης ουράς και θερμής πλάκας έχουν χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της αναλγητικής τους ιδιότητας με σωστή δόση. [Pallavi M, et al., 2018] Τα φλαβονοειδή εσπεριδοειδών, η κουμαρίνη και το πτητικό έλαιο δίνουν επίσης αντιφλεγμονώδη δράση. Το σοκ ενδοτοξίνης που προκαλείται από λιποπολυσακχαρίτη ή μόλυνση μειώνεται με τη ναρινγίνη σε ποντίκια. Επίσης, η ναρρίνη μειώνει το ενδοτοξικό σοκ σε αρουραίους με χρόνια πνευμονική ουδετερόφιλη φλεγμονή που εκτίθενται σε καπνό τσιγάρων. [Nie YC et al., 2012] Η ναρινγενίνη έδειξε αντιφλεγμονώδεις δραστηριότητες σε μακροφάγους και στο ανθρώπινο αίμα. [Bodet C, et al., 2008] Η εσπεριδίνη έδειξε επίδραση *in vivo* αντιφλεγμονώδη συστηματικά αποτελέσματα σε μοντέλα ποντικών φλεγμονής πνευμονικού επαγόμενου από LPS και λοίμωξης που προκαλείται από ενδοτοξίνη.

Έχουν διεξαχθεί διάφορες *in vitro* και *in vivo* μελέτες για την αξιολόγηση των μεταβολιτών της εσπριδίνης ή των συνθετικών παραγώγων τους, στην αποτελεσματικότητά τους στη μείωση των φλεγμονωδών στόχων, συμπεριλαμβανομένων των NF-κB, iNOS και COX-2, και των δεικτών της χρόνιας φλεγμονής [Parhiz, H. et al., 2015].

Το αιθέριο έλαιο από *C. limon* (30 ή 10 mg / kgp.o.) παρουσίασε αντιφλεγμονώδη δράση σε ποντίκια υπό δοκιμή φορμαλίνης μειώνοντας τη μετανάστευση των κυττάρων, την παραγωγή κυτοκινών και τον εξαγγείωση πρωτεϊνών που προκαλείται από την καραγενάνη. Αυτά τα αποτελέσματα ελήφθησαν επίσης με παρόμοιες ποσότητες καθαρού D-λιμονενίου.

Η αντιφλεγμονώδης δράση του αιθέριου ελαίου *C. limon* οφείλεται πιθανώς στην υψηλή συγκέντρωση του D-λιμονενίου [Amorim, J. I. et al., 2016].

Μελέτες [Mahmoudet al., 2014] έχουν δείξει τα προστατευτικά αποτελέσματα του λιμονίου σε πειραματικά επαγόμενο τραυματισμό ηπατικής ισχαιμίας (I / R) σε αρουραίους. Ο μηχανισμός αυτών των ηπατοπροστατευτικών επιδράσεων συσχετίστηκε με το αντιοξειδωτικό και αντιφλεγμονώδες δυναμικό του λιμονίου που προκαλείται από την κάτω ρύθμιση της οδού σηματοδότησης TLR [Mahmoudet al., 2014]. Σε μελέτες με το αιθέριο έλαιο που χορηγήθηκε σε δόση 10 mg / kg p.o., το D-λιμονένιο προκάλεσε σημαντική μείωση των εντερικών φλεγμονωδών βαθμολογιών, συγκρίσιμο με αυτό που προκαλείται από το Ibuprofen.

Οι μελέτες κατέδειξαν ότι οι αρουραίοι που τρέφονταν με D-λιμονένιο είχαν μειώσει σημαντικά τις συγκεντρώσεις του TNF-α στον ορό σε σύγκριση με τους αρουραίους TNBS-κολίτιδας που δεν είχαν υποστεί αγωγή. Το αντιφλεγμονώδες αποτέλεσμα του D-λιμονενίου εμπλέκεται επίσης στην αναστολή της επαγόμενης από TNFα μετατόπισης NP-κΒ σε καλλιέργειες ινοβλαστών. Η εφαρμογή D-λιμονενίου σε μονοστοιβάδες κυττάρων HT-29 / B6 του παχέος εντέρου αύξησε την επιθηλιακή αντίσταση. Η μελέτη διαπίστωσε ότι η IL-6 μειώθηκε σημαντικά κατά τη διάρκεια της διατροφής με D-λιμονένιο [D'Alessio, P.A. et al., 2013]. Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι το έλαιο ανέστειλε μέτρια την 5-λιποξυγενάση σόγιας (5-LOX) με τιμή IC₅₀ 32,05 g / mL. [Hamdan, D. et al., 2013]

3.2 Αντιμικροβιακή δράση

Εκχυλίσματα ακετόνης από φρούτα *C. limon* έχουν δείξει ανασταλτική δράση έναντι των θετικών κατά Gram βακτηρίων *Enterococcus faecalis* (MIC 0,01 mg / mL) και *Bacillus subtilis* (MIC 0,01 mg / mL) και του Gram-αρνητικής *Salmonella typhimurium* (MIC 0,01 mg / mL) *Shigella sonnei* (MIC 0,01 mg / mL) [Otang, W.M. et al., 2016].

Επιπλέον, σε άλλη μελέτη, το αιθέριο έλαιο *C. limon* έδειξε αντιβακτηριακή δραστηριότητα κατά Gram-θετικών βακτηρίων (*Bacillus subtilis* (MIC 2 mg / mL), *Staphylococcus capitis* (MIC 4 mg / mL), *Micrococcus luteus* (MIC 4 mg / mL)), και

Gram-αρνητικό (*Pseudomonas fluorescens* (MIC 4 mg / mL), *Escherichia coli* (100% αναστολή)) [Hamdan, D. et al., 2013, Espina, L. et al., 2012].

Το αιθέριο έλαιο *C. limon* εμφανίζει ανασταλτική δράση έναντι του *Staphylococcus mutans* (MIC 4,5 mg / mL) και μείωσε αποτελεσματικά την προσκόλληση του *S. mutans* σε γυάλινη επιφάνεια, με ρυθμούς αναστολής προσκόλλησης (AIR) από 98,3% σε 100%, και σε επιφάνεια σμάλτου επικαλυμμένη με σάλιο, για την οποία οι AIR ήταν από 54,8% έως 79,2%. Μειώνει αποτελεσματικά τη δραστηριότητα της γλυκοσυλτρανσφεράσης (Gtf) και τη μεταγραφή του Gtf με δόσοεξαρτώμενο τρόπο [Liu, Y. et al., 2013].

Εκχυλίσματα αιθανόλης και ακετόνης από φρούτα του *C. limon* ήταν δραστικά έναντι του *Candida glabrata* (MIC 0,02 mg / mL) [Otangetal., 2016]. Από την άλλη πλευρά, συστατικά αιθέριου ελαίου *C. limon*, όπως D-λιμονένιο, πινένιο και κιτράλη, έχουν δείξει ανασταλτική δράση έναντι του *Aspergillus niger* (MIC 90 μL / mL στους 70 C), *Saccharomyces cerevisiae* (MIC 4 mg / mL) *Candida parapsilosis* (MIC 8 mg / mL) [Hamdan, D. et al., 2013, Lamine, M. et al., 2019].

Μια άλλη μελέτη επιβεβαίωσε ότι το αιθέριο έλαιο *C. limon* προώθησε μείωση κατά 100% στην ανάπτυξη του *C. albicans* [Guerrini, A. et al., 2014].

Επιπλέον, άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι το αιθέριο έλαιο *C. limon* σε συγκέντρωση 0,05% αναστέλλει την αντιγραφή του απλού έρπητα στο 33,3% [Minami, M. et al., 2003].

3.3 Αντιπαρασιτική δράση

Η επίδραση του αιθέριου ελαίου *C. limon* στο *Sarcoptes scabiei* var. *cuniculi* έχει αξιολογηθεί in vitro και in vivo. Τα μολυσμένα μέρη κουνελιών υποβλήθηκαν σε θεραπεία τοπικά μία φορά την εβδομάδα για τέσσερις διαδοχικές εβδομάδες.

Τα αποτελέσματα εφαρμογής in vitro έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο *C. limon* (10% και 20%, αραιωμένο σε νερό) προκάλεσε θνησιμότητα στο 100% των ακάρεων μετά από 24 ώρες μετά την εφαρμογή. Ινίνο εφαρμογή 20% λεμονέλαιο σε φυσικά μολυσμένα κουνέλια έδειξε πλήρη ανάρρωση από κλινικά συμπτώματα και απουσία ακάρεων σε

μικροσκοπική εξέταση από τη δεύτερη εβδομάδα θεραπείας [Aboelhadid, S.M. et al., 2016].

3.4 Αντιοξειδωτική δράση

Τα εσπεριδοειδή έχουν αντιοξειδωτική δράση και παίζουν ρόλο στην πρόληψη και θεραπεία διαφόρων χρόνιων ασθενειών του ανθρώπου όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης και οι καρδιαγγειακές παθήσεις. Έχουν την ικανότητα μιας βιοδραστικής ένωσης να διατηρεί τη δομή και τη λειτουργία των κυττάρων καθαρίζοντας τις ελεύθερες ρίζες, αναστέλλοντας τις αντιδράσεις υπεροξειδωσης των λιπιδίων και αποτρέποντας άλλες οξειδωτικές βλάβες και άλλες βιολογικές λειτουργίες, όπως αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιγηραντικές. [Antioxidant activity of Citrus fruits, 2015] Οι βιταμίνες διαδραματίζουν ζωτικό ρόλο στη λειτουργία του σώματος που είναι απαραίτητες για την ανθρώπινη ζωή. Περίπου 60 βιταμίνες υπάρχουν στα εσπεριδοειδή, συμπεριλαμβανομένων των βιταμινών Α, βιταμίνης Β1, βιταμίνης Β2, βιταμίνης C, βιταμίνης Ε και βιταμίνης Β3

που έχουν αντιοξειδωτικές δραστηριότητες.

Έχει αποδειχθεί ότι η αντιοξειδωτική δράση των φλαβονοειδών από το *C. limon* - εσπεριδίνη και εσερετίνη- δεν περιοριζόταν μόνο στη ριζική τους δραστηριότητα καθαρισμού, αλλά αύξησε επίσης τις αντιοξειδωτικές κυτταρικές άμυνες μέσω της οδού σηματοδότησης ERK / Nrf2 [Parhiz, H. et al., 2015].

Επιπλέον, η βιταμίνη C αποτρέπει το σχηματισμό ελεύθερων ριζών και προστατεύει το DNA από μεταλλάξεις.

Μελέτες έχουν επίσης δείξει μείωση της υπεροξειδωσης των λιπιδίων στις επιληπτικές κρίσεις και η κατάσταση της επιληψίας προκαλείται από την πιλοκαρπίνη σε ενήλικες αρουραίους [Xavier, S.M. et al., 2007].

3.5 Αντιαλλεργική δράση

Υδατικά εκχυλίσματα από τη φλούδα των φρούτων *C. limon* έχουν χρησιμοποιηθεί για τη διερεύνηση των επιδράσεών τους στην απελευθέρωση ισταμίνης από κύτταρα

περιτοναϊκού εξιδρώματος αρουραίου (PECs). Τα εκχυλίσματα ανέστειλαν την απελευθέρωση ισταμίνης από PEC αρουραίου που προκαλείται από το ιοντοφόροασβεστίου A23187. Θέρμανση των εκχυλισμάτων στους 100 C για 10 λεπτά. ενίσχυσε την αναστολή της απελευθέρωσης ισταμίνης. Η απελευθέρωση ισταμίνης αναστέλλεται στο 80%. Τα εκχυλίσματα πιθανώς καταστέλλουν τη φλεγμονή στην κοιλότητα των ποντικών, όπως η ινδομετακίνη, ένα πολύ γνωστό αντιφλεγμονώδες φάρμακο [Tsujiyama, I. etal.,2013].

3.6 Αντικαρκινική δράση

Έχει αποδειχθεί σε μια μελέτη ότι η πρόσληψη εσπεριδοειδών σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο διαφορετικού τύπου καρκίνου, όπως καρκίνου του πεπτικού συστήματος, αναπνευστικής οδού, καρκίνου του παγκρέατος, καρκίνου του προστάτη, καρκίνου του μαστού, ρινοφαρυγγικού καρκίνου και δερματικού μελανώματος κ.λπ. Το αντικαρκινικό αποτέλεσμα των εσπεριδοειδών οφείλεται κυρίως σε μονοτερπένια και флаβονόνες. Και τα δύο μπορούν να μειώσουν τους κινδύνους καρκίνου με δύο σημαντικούς τρόπους. Πρώτον, παρεμβαίνουν στην ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων, καθιστώντας δύσκολη την ανάπτυξη όγκων και, δεύτερον, αναστέλλουν τη φλεγμονή, ένα σημαντικό ερέθισμα για την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων. [Rajendra Gyawali1 etal., 2014] Η εξαιρετική διαπερατότητα των εσπεριδοειδών флаβονοειδών από τη μεμβράνη οδηγεί σε μεγάλη βιοδιαθεσιμότητα που προσελκύει τους ερευνητές να πραγματοποιήσουν επιστημονικές μελέτες για αποτελεσματική πρόληψη και θεραπεία ασθενειών. [LiwenWangetal., 2014]

Τα νανοσωματίδια *C. limon* έχουν απομονωθεί από το χυμό φρούτων χρησιμοποιώντας τη μέθοδο υπερφυγοκέντρωσης και καθαρισμό σε βαθμίδα σακχαρόζης 30%, χρησιμοποιώντας μια *in vitro* προσέγγιση. Η μελέτη έδειξε ότι τα απομονωμένα νανοσωματίδια (20 μg / mL) ανέστειλαν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων σε διαφορετικές κυτταρικές σειρές όγκων, ενεργοποιώντας έναν αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο που προκαλείται από TRAIL. Επιπλέον, τα νανοσωματίδια *C. limon* καταστέλλουν την ανάπτυξη όγκου χρόνιας μυελοειδούς λευχαιμίας (CML) *in vivo* φτάνοντας συγκεκριμένα στη θέση του όγκου και

ενεργοποιώντας τις διεργασίες αποπτωτικών κυττάρων που προκαλούνται από TRAIL [Raimondo, S. etal, 2015].

Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι ένα εκχύλισμα μεθανόλης 80:20: νερό από σπόρους λεμονιού προκαλεί απόπτωση σε κύτταρα αδενοκαρκινώματος ανθρώπινου μαστού (MCF-7), οδηγώντας στην αναστολή του πολλαπλασιασμού. Αυτό το εκχύλισμάδειξε την υψηλότερη (29,1%) αναστολή των κυττάρων MCF-7 σε μια δοκιμασία MTT (CellProliferationKit), σε σύγκριση με τα εκχυλίσματα οξικού αιθυλεστέρα, ακετόνης και μεθανόλης. Τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι οι αγλυκόνες και οι γλυκοσίδες των λιμονοειδών και των φλαβονοειδών που υπάρχουν στο 80:20 μεθανόλη: εκχύλισμα νερού μπορεί ενδεχομένως να χρησιμεύσουν ως χημειοπροληπτικός παράγοντας για τον καρκίνο του μαστού [Kim, J. etal., 2012].

4.Εφαρμογές του φρούτου *C. limon* στην Κοσμητολογία

Στα καλλυντικά τα εσπεριδοειδή μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τη μορφή ελαίων που λαμβάνονται από εκχυλίσματα, υδρολύματα, μέρη σε σκόνη του φυτού. Η πρώτη ύλη των εσπεριδοειδών μπορεί να διατηρήσει το δέρμα σε καλή κατάσταση. Για τη βελτίωση των καλλυντικών προϊόντων μπορεί να χρησιμοποιηθεί μυρωδιά από εσπεριδοειδή. [CosmeticIngredientDatabase (CosIng), 2019]Ταεσπεριδοειδή χρησιμοποιούνται στα καλλυντικά με διάφορους τρόπους, όπως κάλυψη, περιποίηση δέρματος, αρώματα, μαλακτικά, προστατευτικά δέρματος, τονωτικά και απορροφητικά. [CosmeticIngredientDatabase (CosIng), 2019]

Τα εκχυλίσματα και το αιθέριο έλαιο φρούτων *C. limon*, καθώς και οι δραστικές ενώσεις που απομονώνονται από αυτές τις πρώτες ύλες, έχουν γίνει αντικείμενο πολλών επιστημονικών μελετών που αποσκοπούν στην απόδειξη της πιθανότητας χρήσης τους στην κοσμητολογία.Τα προϊόντα που προέρχονται από λεμόνι έχουν από καιρό αναγνωριστεί ότι έχουν θετική επίδραση στο δέρμα που είναι επιρρεπές στην ακμή και επηρεάζεται εύκολα από ηλιακό έγκαυμα ή μυκητίαση.Έτσι, οι παραδοσιακές χρήσεις αυτής της πρώτης ύλης είναι γνωστές σε διάφορα μέρη του κόσμου.Στην Τανζανία, ο χυμός φρούτων του *C. limon* αναμιγνύεται με αλβουμίνη αυγού, μέλι και αγγούρι, και εφαρμόζεται στο δέρμα κάθε μέρα τη νύχτα για να λειαίνει το δέρμα του προσώπου και να θεραπεύσει την ακμή [Fongnzossie, E.F. etal.,

2017].Ο χυμός από φρεσκοστυμμένο φρούτο του *C. limon* αναμειγμένο με ελαιόλαδο χρησιμοποιείται ως φυσική θεραπεία για τις διαταραχές των μαλλιών και του τριχωτού της κεφαλής στη Δυτική Όχθη της Παλαιστίνης [Zaid, A.N. et al., 2017]. Επί του παρόντος, η γνώση της καλλυντικής δραστηριότητας του *C. limon* επεκτείνεται συνεχώς.

Μείγματα πτητικών και αιθέριων ελαίων που απομονώνονται από φυτά αντιπροσωπεύουν την «ουσία» ή τα ευώδη συστατικά των φυτών. Χρησιμοποιήθηκαν από πολύ παλιά λόγω φαρμακευτικών ιδιοτήτων και επίσης ως αρωματικών παραγόντων στην κατασκευή αρωμάτων και καλλυντικών. Η Maruzzella και οι συνεργάτες της [Maruzzella, J. C. et al., 1958, Maruzzella, J. C. et al., 1956, Maruzzella, J. C. et al., 1960, Maruzzella, J. C. et al., 1959] μελέτησαν εκτενώς τις δυνατότητες των αιθέριων ελαίων ως αντιμικροβιακών παραγόντων στα αρώματα και τα καλλυντικά ή κατά των παθογόνων του ξύλου.

Το αιθέριο έλαιο *C. limon* εμφανίζει αντιβιοτικές και αρωματικές ιδιότητες και για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται σε συνθέσεις σαμπουάν, οδοντόκρεμα, απολυμαντικά, τοπικές αλοιφές και άλλα καλλυντικά [González-Molina, E. et al., 2010].

Επιστημονικές μελέτες έχουν δείξει μια σημαντική αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων φρούτων *C. limon*, και αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο συνιστώνται για χρήση σε καλλυντικά κατά της γήρανσης [Parhiz, H. et al., 2015, Xavier, S.M. et al., 2007]. Η χρήση διαφορετικών φορέων για εκχυλίσματα *C. limon* (π.χ. υαλουροσώματα, γλυκεροσώματα) στην τεχνολογία παραγωγής καλλυντικών συμβάλλει σε ακόμη μεγαλύτερη αναστολή του οξειδωτικού στρες σε δομές δημιουργίας δέρματος, συμπεριλαμβανομένων κερατινοκυττάρων και ινοβλαστών [Manconi, M. et al., 2016]. Επιπλέον, η βιταμίνη C από το *C. limon* χρησιμοποιείται ως συστατικό σε εξειδικευμένα δερμοκαλλυντικά. Η εξωτερική του χρήση αυξάνει την παραγωγή κολλαγόνου, γεγονός που καθιστά το δέρμα πιο λείο. Χρησιμοποιείται σε αντιγηραντικά προϊόντα, για τη μείωση των ρηχών ρυτίδων και ως συνεργιστικό αντιοξειδωτικό σε συνδυασμό με τη βιταμίνη E [Xavier, S.M et al., 2007].

Τα συστατικά του αιθέριου ελαίου *C. limon* (συμπεριλαμβανομένων κιτρικού, β-πινενίου, D-λιμονενίου), λόγω της ανασταλτικής δραστηριότητας της τυροσινάσης και της αναστολής της οξείδωσης της L-διϋδροξυφαινυλαλανίνης (L-DOPA), έχουν αποτέλεσμα αποχρωματισμού [Hu, J. et al., 2015]. Επιπλέον, το αιθέριο έλαιο έχει

αποδειχθεί ότι υποστηρίζει τη διείσδυση των λιπιδίων καθώς και των υδατοδιαλυτών βιταμινών. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προαγωγός διείσδυσης δραστικών ουσιών μέσω του δέρματος [Valgimigli, L. et al., 2012]. Επιπλέον, εκτός από την άμεση επίδραση στο δέρμα, το αιθέριο έλαιο μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ως φυσικό συντηρητικό και ως συνιστώσα στα καλλυντικά προϊόντα. Μελέτες έχουν επιβεβαιώσει τα αντιβακτηριακά και αντιμυκητιασικά αποτελέσματά της [Otang, W.M. et al., 2016, Hamdan, D. et al., 2013, Espina, L. et al., 2012]

Επιπλέον, τα εκχυλίσματα του περικαρπίου του φρούτου *C. limon* εμφανίζουν επιστημονικά αποδεδειγμένη δραστηριότητα που βοηθά στην επιτάχυνση της αναγέννησης των διαβητικών τραυμάτων. Επιπλέον, το αιθέριο έλαιο που προέρχεται από το περικάρπιο του φρούτου *C. limon* έχει δείξει αντιφλεγμονώδεις, αντι-αλλεργικές και αδυνατιστικές ιδιότητες [Amorim, J. et al., 2016, Tsujiyama, I. et al., 2013, Mohanapriya, M et al., 2013, Kim, M.J. et al., 2015]

Σύμφωνα με τη βάση δεδομένων CosIng (Βάση δεδομένων καλλυντικών συστατικών), το *C. limon* μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε είκοσι τρεις μορφές. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε καλλυντικά με τη μορφή ελαίων που λαμβάνονται από διάφορα όργανα, με τη μορφή εκχυλισμάτων, υδρολυτών, μερών σε σκόνη του φυτού, κεριού και χυμού [CosmeticIngredientDatabase (CosIng), 2019]. Η πιο κοινή δραστηριότητα που ορίζεται από την CosIng για την πρώτη ύλη αυτού του είδους είναι η διατήρηση του δέρματος σε καλή κατάσταση, η βελτίωση της οσμής των καλλυντικών προϊόντων και η κάλυψη της μυρωδιάς άλλων συστατικών καλλυντικών παρασκευασμάτων [CosmeticIngredientDatabase (CosIng), 2019].

Το αιθέριο έλαιο *C. limon* χρησιμοποιείται από τον 18ο αιώνα στην παραγωγή του διάσημου «Eau de Cologne». Στην αρωματοθεραπεία, χρησιμοποιείται για τη θεραπεία πολλών ασθενειών και παθήσεων που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής: υπέρταση, νευρώση, άγχος, κισσούς, αρθρίτιδα, ρευματισμοί και ψυχική βαρύτητα. Ανακουφίζει επίσης τα συμπτώματα που χαρακτηρίζουν την εμμηνόπαυση. Το αιθέριο έλαιο *C. limon* χρησιμοποιείται επίσης σε μασάζ αρωματοθεραπείας για χαλάρωση των μυών, καθώς και για ηρεμία και βαθιά χαλάρωση [Millet, F. et al., 2014].

Τα εκχυλίσματα φρούτων *C. limon* και το αιθέριο έλαιο δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται σε υψηλές συγκεντρώσεις σε λουτρά ή απευθείας στο δέρμα.

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το D-λιμονένιο που περιέχεται στο λάδι έχει αλλεργιογόνο και ερεθιστικό αποτέλεσμα στο δέρμα. Μπορεί να προκαλέσει διασταυρούμενη αλλεργία με βάλσαμο του Περού. Μετά την εφαρμογή καλλυντικών που περιέχουν λάδι *C. limon*, απαγορεύεται η έκθεση του δέρματος στο φως του ήλιου. Το αιθέριο έλαιο *C. limon* περιέχει φωτοευαισθητοποιητικές ενώσεις που ανήκουν στην ομάδα γραμμικής φουροκουμαρίνης. Το περικάρπιο λεμονιού περιέχει: περγαπτένη, φελλοτερίνη, 5- και 8-γερανοξυψοραλένη και το αιθέριο έλαιο περιέχει: περγαπτένη, ιμπερατορίνη, ισοπιμπενελλίνη, ξανθοτοξίνη, οξυπυκεδανίνη και ψωραλένη (Εικόνα 4) [Millet, F. et al., 2014, Tamaro, A. et al., 2012].

Η Διεθνής Ένωση Αρωμάτων (IFRA) έχει εκδώσει περιορισμούς στη χρήση αιθέριου ελαίου *C. limon*. Σε παρασκευάσματα που παραμένουν στο δέρμα, η συγκέντρωση αυτού του ελαίου δεν πρέπει να υπερβαίνει το 2%. Επιπλέον, το αιθέριο έλαιο *C. limon* δεν πρέπει να χρησιμοποιείται σε παρασκευάσματα που παραμένουν στο δέρμα που εκτίθεται σε υπεριώδεις ακτίνες. Δεν πρέπει να περιέχουν περισσότερα από 15 ppm περγαπτέν [The International Fragrance Association. Available, 2019].



Εικόνα 1: Οργανική ενυδατική κρέμα με λεμόνι

4.1 Το αιθέριο έλαιο του *C. limon* ως ενισχυτής διείσδυσης βιταμινών

Η τοπική βιοδιαθεσιμότητα των λιπιδίων και των υδατοδιαλυτών βιταμινών είναι ένα κρίσιμο ζήτημα για την προστασία ή την αντιγηραντική σύνθεση. Χρησιμοποιώντας στην ανθρώπινη επιδερμίδα SkinEthic για 17 ημέρες, διερευνήθηκε (στους 34 C) ο ρόλος του αιθέριου ελαίου λεμονιού στην ενίσχυση της διείσδυσης της α-

τοκοφερόλης (E) και του οξικού ρετινυλίου (A), της πυριδοξίνης (B6) και του ασκορβικού οξέος (C), που απελευθερώνονται από γαλακτώματα O / W ή W / O. Το D-λιμονένιο, το α-πινένιο και το ρ-κύμινο (65,9, 2,2 και 0,5% w/w του ελαίου) είχαν συντελεστές διαπερατότητας δέρματος Ps (10) 3 cm h) 1) $0,56 \pm 0,03$ (ή $0,73 \pm 0,02$), $0,72 \pm 0,05$ (ή $0,98 \pm 0,05$) και $0,84 \pm 0,04$ (ή $1,14 \pm 0,04$), αντίστοιχα, όταν ενσωματώνονται σε ένα γαλάκτωμα W / O (ή O / W). Οι βιταμίνες B6, C και A είχαν τιμές Ps ($3,0 \pm 0,4$) · 10) 3, ($7,9 \pm 0,6$) · 10) 3 και ($0,37 \pm 0,02$) · 10) 5 cm h) 1, αντίστοιχα, και η ροή τους στο δέρμα ενισχύθηκε με συντελεστή 4,1, 3,4 και 5,8, αντίστοιχα, παρουσία αιθερίου ελαίου λεμονιού. Η διείσδυση της βιταμίνης E αυξήθηκε εννέα φορές. Το αιθέριο έλαιο λεμονιού παρήγαγε μόνο αναστρέψιμη τροποποίηση του TEWL και είναι ένας ασφαλής και αποτελεσματικός ενισχυτής διείσδυσης για τοπική χορήγηση βιταμινών και υδατοδιαλυτών βιταμινών. [L. Valgimigli et al., 2012]

4.2 Το μεθανολικό εκχύλισμα φλούδας λεμονιού ως αντιγηραντικό

Το υπεριώδες φως προκαλεί πρόβλημα στις ίνες του δέρματος που ονομάζονται ελαστίνη. Η βιταμίνη C είναι απαραίτητη για την ελαστικότητα του δέρματος και για τη διατήρηση της σωστής υφής. [Mishra AK et al., 2011] Τα αποτελέσματα της γήρανσης οφείλονται στη διαδικασία εκφυλισμού της πρωτεΐνης στο δέρμα. [Das T et al., 2014, Alfredo G et al., 2014] Έτσι, τα καλλυντικά βοηθούν στην πρόληψη του εκφυλισμού και της γήρανσης του δέρματος. [Geesin JC et al., 2014] Οι γαλακτωματοποιητές παίζουν ζωτικό ρόλο στη διάλυση της υδατικής φάσης σε φάση λαδιού και αντιστρόφως. [Yuko S et al., 2013, Bhumika S et al., 2012]

Η κρέμα εφαρμόζεται γενικά στο δέρμα για τη διατήρηση της υφής. Η σύνθεση της κρέμας που βασίζεται σε μεθανολικό εκχύλισμα φλούδας λεμονιού, το οποίο είναι πλούσιο σε διάφορα φυτοχημικά και αντιοξειδωτικά, και το ελαιόλαδο επιλέγεται για τη σύνθεση της κρέμας επειδή έχει υψηλές αντιβακτηριακές ιδιότητες και είναι πλούσιο σε αντιοξειδωτικά (Εικόνα 2). Επιπλέον, κυρίως, λειτουργεί ως συντηρητικό στα καλλυντικά. Προστίθενται επίσης γαλακτώματα (βασικά το λάδι σε νερό και το νερό σε λάδι). Αυτός ο συνδυασμός συστατικών είναι καλός για το δέρμα και καθυστερεί τη διαδικασία γήρανσης. Σε κρέμες πλούσιες σε αντιοξειδωτικά τα φαινολικά και τα φλαβονοειδή υπάρχουν σε υψηλή ποσότητα.

4.3 Το αιθέριο έλαιο *C. limon* έναντι του *Staphylococcusepidermidis*

Το αιθέριο έλαιο *C. limon* είναι γνωστό για τις αντιμικροβιακές του ιδιότητες και χρησιμοποιείται μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με άλλα αιθέρια έλαια (deRapperetal., 2013; Hili, 2001). Ο τρόπος δράσης των αιθερίων ελαίων σε διάφορα μικροβιακά στελέχη αποτελεί αντικείμενο πολλών μελετών. Έχει βρεθεί ότι η αντιμικροβιακή δράση τους σχετίζεται στενά με την υδροφοβικότητά τους. Αυτή η ιδιότητα επιτρέπει στο αιθέριο έλαιο να διεισδύσει διαχωριστικά σε λιπίδια της βακτηριακής κυτταρικής μεμβράνης, καταστρέφοντάς τα και καθιστώντας τη πιο διαπερατή (Dhifietal., 2016). Τρεις πτυχές φαίνεται να είναι πιο σημαντικές για την ερμηνεία της συμπεριφοράς των αιθερίων σε διάφορα μικροβιακά στελέχη. Πρώτον, η αντιμικροβιακή δραστηριότητα τους εξαρτάται από τις λειτουργικές ομάδες των ενώσεών τους (το μεγαλύτερο μέρος τους ανήκει στην κατηγορία των τερπενίων). Τα δεδομένα της βιβλιογραφίας αναφέρουν ότι οι περισσότερες από τις αντιμικροβιακές ιδιότητες των αιθερίων ελαίων οφείλονται κυρίως στην παρουσία των οξυγονωμένων τερπενοειδών, και ιδίως των φαινολικώντερπενίων, των φαινυλοπροπανοειδών και των αλκοολών, που χαρακτηρίζονται από παραμέτρους δέσμευσης υδρογόνου (Sokonić etal., 2010). Δεύτερον, μεταξύ των κύριων αντιμικροβιακών ενώσεων που βρέθηκαν στα αιθέρια έλαια, ορισμένες μικρές ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν είναι επίσης γνωστό ότι είναι μικροβιολογικά δραστικές (Djenane, 2015). Τρίτον, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ ορισμένων συστατικών τους μπορεί να οδηγήσουν σε πρόσθετα, συνεργιστικά ή ακόμη και ανταγωνιστικά αποτελέσματα στην αντιμικροβιακή δραστηριότητα.

Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα του αιθερίου ελαίου *C. limon* εκτιμήθηκε μέσω των ελάχιστων ανασταλτικών τιμών συγκέντρωσης που ελήφθησαν σε πέντε κλινικά στελέχη *S. epidermidis*.

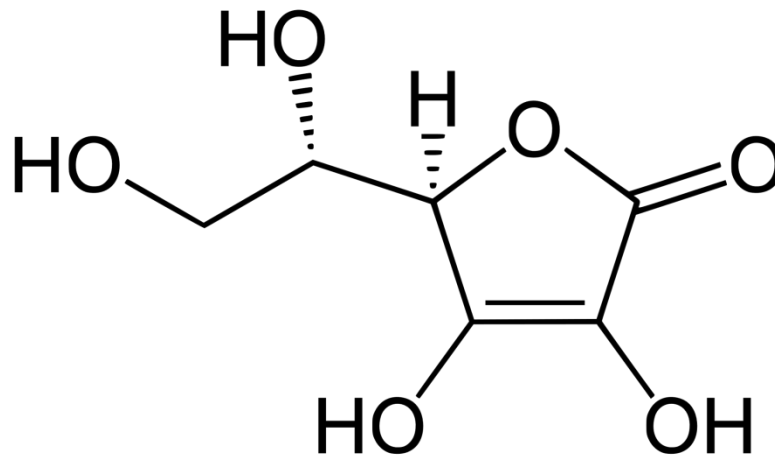
Το αιθέριο έλαιο *C. limon* ελήφθη με υδροαπόσταξη κατά του βακτηριακού στελέχους S1 (MIC 250 $\mu\text{g} / \text{mL}$) και από εκχύλιση με μικροκύματα έναντι βακτηριακού στελέχους S5 (MIC 125 $\mu\text{g} / \text{mL}$). Κάθε επίπεδο αραίωσης, τόσο το

αιθέριο έλαιο όσο και ο διαλύτης (DMSO) έχουν παρόμοιες συγκεντρώσεις σε κάθε μείγμα στις πλάκες με το ζωμό. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το αιθέριο έλαιο C. limon που εξήχθη από εκχύλιση με μικροκύματα παρουσίασε υψηλότερη αντιμικροβιακή δραστικότητα έναντι της πλειονότητας των στελεχών *S. epidermidis* (οι τιμές MIC που ελήφθησαν έναντι των στελεχών S1-S4 κυμαίνονταν στο εύρος των 15,63-31,25 $\mu\text{g} / \text{mL}$) σε σύγκριση με το αιθέριο έλαιο που εξήχθη με υδροαπόσταξη (οι τιμές MIC έναντι του S1-S3 είναι ίσες με 62,5 $\mu\text{g} / \text{mL}$ και με 250 $\mu\text{g} / \text{mL}$, έναντι του στελέχους S4). Αυτές οι παρατηρήσεις θα μπορούσαν να εξηγηθούν από διαφορές στη χημική σύνθεση των λαμβανόμενων αιθερίων ελαίων. Το κύριο συστατικό των ληφθέντων αιθερίων ελαίων C. limon είναι το λιμονένιο. Μερικοί συγγραφείς ανέφεραν ότι, παρόλο που το λιμονένιο είναι το κύριο συστατικό πολλών αιθερίων ελαίων που λαμβάνονται από εσπεριδοειδή, αυτό το τερπένιο φαίνεται να είναι λιγότερο αποτελεσματικό ως αντιμικροβιακός παράγοντας, αλλά ο συνδυασμός λιμονενίου με α -πινένιο βρέθηκε να παράγει πρόσθετα και συνεργιστικά αποτελέσματα (Bassolé και Juliani, 2012). Στη μελέτη αυτή, το αιθέριο έλαιο C. limon που λαμβάνεται με τη μέθοδο εκχύλισης με μικροκύματα έχει υψηλότερη περιεκτικότητα σε α -πινένιο και λιμονένιο από το αιθέριο έλαιο που λαμβάνεται με τη διαδικασία υδροαπόσταξης. Η αντιβακτηριακή δραστικότητα του λιμονενίου σχετίζεται με τον υποκαταστάτη αλκενυλίου που ενσωματώνεται στη δομή του μη πολικού δακτυλίου (Dorman and Deans, 2000). Και τα δύο αιθέρια έλαια C. limon περιέχουν α - και β -πινένιο. Αναφέρθηκε επίσης ότι η στερεοχημεία θα μπορούσε να τροποποιήσει τις αντιμικροβιακές ιδιότητες των αιθερίων ελαίων. Έτσι, βρέθηκε ότι τα μεμονωμένα α -ισομερή είναι ανενεργά σε σχέση με τα β -ισομερή (Bassolé and Juliani, 2012). Στην περίπτωση του C. limon, η περιεκτικότητα του β -πινενίου είναι υψηλότερη στο αιθέριο έλαιο που λαμβάνεται από την εκχύλιση με μικροκύματα. Επίσης, το γ -τερπινένιο που βρέθηκε σε συγκρίσιμες αναλογίες στα δύο ληφθέντα αιθέρια έλαια C. limon αναφέρθηκε ότι έχει πολύτιμες αντιβακτηριακές ιδιότητες (Dhifi et al., 2016).

Μείγματα αιθερίων ελαίων που περιέχουν τερπενικές αλκοόλες και D-λιμονένιο μπορεί να αντιπροσωπεύουν αποτελεσματικές εναλλακτικές λύσεις έναντι των διαθέσιμων αντιβιοτικών για τη θεραπεία λοιμώξεων από *S. epidermidis* ή για την πρόληψη της ανάπτυξης *S. epidermidis* σε βιώσιμους ιστούς ή ιατρικές συσκευές.

4.4 Η δράση του ασκορβικού οξέος του φρούτου C. limon στο δέρμα

Όπως γνωρίζουμε τα εσπεριδοειδή είναι πλούσια σε ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) (Εικόνα 3). Το φρούτο C. limon συγκεκριμένα περιέχει 53mg ασκορβικού οξέος σε 100gφρούτου, σύμφωνα με το U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Το ασκορβικό οξύ είναι λευκαντικός παράγοντας αλλά κυρίως χρησιμοποιείται σαν αντιοξειδωτικός σταθεροποιητής προϊόντων, που περιέχουν υδροκινόνη. Σύμφωνα με μελέτες οι κρέμες που περιέχουν 3-5%ελαϊκήασκορβίνη έχουν λευκαντική δράση στις φακίδες του δέρματος. Παρόμοια δράση έχει και το μετά μαγνησίου άλας της 3-φωσφορικής ασκορβίνης. Η βιταμίνη C είναι βασικός συμπαράγοντας στην υδροξυλίωση της λυσίνης και της προλίνης για τον σχηματισμό υδροξυπρολίνης καιυδροξυλυσίνης αμινοξέων απαραίτητων στη σύνθεση και τη λειτουργία του κολλαγόνου. Τα επίπεδα της βιταμίνης αυτής υποχωρούν λόγω γήρανσης ,καπνίσματος, λοιμώξεων ή λήψη φαρμάκων κι έτσι μειώνεται και το κολλαγόνο του δέρματος. Ο ρόλος της βιταμίνης C όταν προστίθεται στα καλλυντικάείναι κυρίως η αποκατάσταση του χαμένου κολλαγόνου με σύνθεση νέου κολλαγόνου, επίσης το ασκορβικό οξύ δρά ως αντιοξειδωτικός παράγοντας και συμβάλλει στη προστασία του δέρματος από τη φωτογήρανση,έχει συνεργητική δράση με τα αντιοξειδωτικά και το κιτρικό οξύ. Τα παράγωγα του ασκορβικού οξέος είναι λευκαντικοί παράγοντες γιατί αναστέλλουν τη δράση της τυροσινάσης τωνμελανοκυττάρων βρίσκεται σε προϊόντα κατά του ώριμου δέρματος και της φωτογήρανσης επίσης χρησιμοποιούνται σε κρέμες προστατευτικές,ημέρας και νύχτας γύρο από τα μάτια καθώς και για λευκαντικές κρέμες.



Εικόνα 2: Χημική δομή ασκορβικού οξέος
(https://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin_C)

5. Ασφάλεια χρήσης

Η αξιολόγηση της ασφάλειας αφορά την πιθανότητα ερεθισμού και ευαισθητοποίησης από τη δερματική έκθεση στα συστατικά εσπεριδοειδών, όπως χρησιμοποιούνται σε καλλυντικά προϊόντα. Σύμφωνα με πληροφορίες που παρέχονται στο FDA από τη βιομηχανία στο πλαίσιο του Προγράμματος Εθελοντικής Καταχώρησης Καλλυντικών (VCRP), το έλαιο φλούδας C. limon έχει τις περισσότερες αναφορές χρήσεων σε προϊόντα καλλυντικών και προσωπικής φροντίδας, με συνολικά 490. Πάνω από τις μισές χρήσεις βρίσκονται σε ετοιμαστικά παρασκευάσματα περιποίησης του δέρματος. [U.S. FoodandDrugAdministrationCenterforFoodSafety&AppliedNutrition (CFSAN), 2014]. Σε μια έρευνα συγκέντρωσης κατά τη χρήση που διεξήγαγε το Συμβούλιο, το έλαιο φλούδας C. limon είχε μέγιστο εύρος συγκέντρωσης από 0,0001% έως 0,5%, με 0,5% να αναφέρεται σε «άλλα» παρασκευάσματα περιποίησης του δέρματος. Σύμφωνα με τους κανόνες που διέπουν τα καλλυντικά προϊόντα στην Ευρωπαϊκή Ένωση, τα συστατικά που προέρχονται από εσπεριδοειδή πρέπει να έχουν περιεκτικότητα σε φουροκουμαρίνη κάτω από 1 mg / kg σε προϊόντα προστασίας από τον ήλιο και σε προϊόντα μαυρίσματος. [European Commission, 2013] Η Διεθνής

Ένωση Αρωμάτων (IFRA) έχει εκδώσει πρότυπα για τα εσπεριδοειδή και άλλα αιθέρια έλαια που περιέχουν φουροκουμαρίνη. [International Fragrance Association. IFRA, 2013] Έτσι, τα τελικά προϊόντα που εφαρμόζονται στο δέρμα, εξαιρουμένων των προϊόντων έκπλυσης όπως παρασκευάσματα μπάνιου και σαπούνια, δεν πρέπει να περιέχουν περισσότερο από 0,0015% ή 15 ppm, 5-MOP. Αυτό ισοδυναμεί με 0,0075%, ή 75 ppm, σε μια ένωση αρωμάτων που χρησιμοποιείται στο 20% σε ένα καταναλωτικό προϊόν που εφαρμόζεται στο δέρμα. Εάν το επίπεδο του 5-MOP δεν έχει προσδιοριστεί, θα πρέπει να τηρούνται τα όρια που καθορίζονται για μεμονωμένα έλαια και όταν αυτά τα έλαια χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλα φωτοτοξικά συστατικά, θα πρέπει να εξεταστεί η πιθανότητα για πρόσθετο αποτέλεσμα και τα επίπεδα χρήσης θα πρέπει να μειωθούν ανάλογα. Συνιστάται περιορισμός για τα αιθέρια έλαια που περιέχουν φουροκουμαρίνη όπως το συμυκνωμένοέλαιο λεμονιού.

Έχει εκδοθεί επίσης πρότυπο IFRA για την 7-μεθοξυκουμαρίνη, το οποίο απαγορεύεται για χρήση σε αρωματικές ενώσεις. [International Fragrance Association. IFRA, 2013] Με βάση τα καθορισμένα μέγιστα επίπεδα αυτής της ουσίας από εμπορικά διαθέσιμες φυσικές πηγές (όπως αιθέρια έλαια, εκχυλίσματα και απόλυτα), η έκθεση σε 7-μεθοξυκουμαρίνη από τη χρήση αυτών των ελαίων και εκχυλισμάτων θεωρείται αποδεκτή εάν το επίπεδο 7 μεθοξυκουμαρίνης στο τελικό προϊόν δεν υπερβαίνει τα 100 ppm. Ένα παράδειγμα μέγιστης συγκέντρωσης με βάση αυτό το πρότυπο είναι 0,1% για λάδι ψυχρής πίεσης.

Επιπλέον, η IFRA έχει θέσει ένα πρότυπο που δηλώνει ότι τα D-, L-, και DL-limonene και φυσικά προϊόντα που περιέχουν σημαντικές ποσότητες θα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο όταν το επίπεδο των υπεροξειδίων διατηρείται στο χαμηλότερο πρακτικό επίπεδο. Τέτοια προϊόντα πρέπει να έχουν τιμή υπεροξειδίου <20 mmol / L. [International Fragrance Association. IFRA, 2014] Αυτό το πρότυπο αναφέρεται επίσης από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή [European Commission, 2014] Η Ευρωπαϊκή Ένωση δηλώνει επίσης ότι το λιμονένιο πρέπει να περιλαμβάνεται στον κατάλογο των συστατικών όταν η συγκέντρωσή του υπερβαίνει το 0,001% στα προϊόντα αδειών και το 0,01% στα προϊόντα έκπλυσης.

Η IFRA έχει επίσης θέσει όρια στις ποσότητες ορισμένων ελαίων που προέρχονται από εσπεριδοειδή στα τελικά προϊόντα. Για προϊόντα που εφαρμόζονται σε περιοχές

του δέρματος που εκτίθενται σε άμεσο ηλιακό φως, αυτά τα όρια περιλαμβάνουν 2% λεμόνι ψυχρής πίεσης [International Fragrance Association. IFRA, 2013]. Δεν υπάρχουν περιορισμοί στα προϊόντα ξεβγάλματος και προϊόντα που δεν εφαρμόζονται στο δέρμα. Η IFRA διευκρίνισε ότι εάν χρησιμοποιούνται συνδυασμοί φωτοτοξικών αρωματικών συστατικών, τα επίπεδα χρήσης πρέπει να μειωθούν αναλόγως, έτσι ώστε το άθροισμα των συγκεντρώσεων όλων των φωτοτοξικών αρωματικών συστατικών, εκφραζόμενο ως ποσοστό των αντίστοιχων συνιστώμενων μέγιστων επιπέδων τους, να μην υπερβαίνει το 100% στο καταναλωτικό προϊόν. Επιπλέον, πρέπει να ληφθεί υπόψη το γενικό πρότυπο IFRA που περιγράφεται παραπάνω για τα «έλαια εσπεριδοειδών και άλλα αιθέρια έλαια που περιέχουν φουροκουμαρίνες».

5.1 Τοξικότητα, Γονοτοξικότητα

Διεξήχθη δερματικό τοξικολογικό τεστ σε πειραματόζωα όπου η δερματική LD50 του ελαίου λεμονιού ήταν μεγαλύτερη από 10 g / kg σε κουνέλια. [European Chemicals Agency, 2014] Ένα αποφρακτικό έμπλαστρο αραιωμένου ελαίου εφαρμόστηκε στο δέρμα 6 ζώων για 24 ώρες. Ένα ζώο πέθανε κατά την περίοδο παρατήρησης.

Επιπλέον διεξήχθησαν invitro πειράματα ώστε να ελεγχθεί η γονοτοξικότητα του ελαίου λεμονιού. Αρχικά τοποθετήθηκε έλαιο λεμονιού σε αιθανόλη 10-5000 mg / πλάκα. Τοξικότητα παρατηρήθηκε σε όλα τα δοκιμαστικά στελέχη εκτός από το WP2uvrA με και χωρίς S9. Δεν υπήρξαν σημαντικές σχετιζόμενες με τη δόση αυξήσεις στον αριθμό των αποστρεφόμενων αποικιών σε οποιοδήποτε στέλεχος δοκιμής σε οποιοδήποτε επίπεδο δόσης, με ή χωρίς μεταβολική ενεργοποίηση. Οι έλεγχοι απέδωσαν τα αναμενόμενα αποτελέσματα. Το λεμόνι δεν ήταν μεταλλαξιογόνο σε αυτόν τον προσδιορισμό.

Έπειτα τοποθετήθηκε έλαιο λεμονιού σε αιθανόλη 40-100 mg / mL. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αυξήσεις στη συχνότητα μετάλλαξης σε κανένα πείραμα, με ή χωρίς ενεργοποίηση S9. Οι έλεγχοι απέδωσαν τα αναμενόμενα αποτελέσματα. Το έλαιο λεμονιού δεν προκάλεσε γονιδιακές μεταλλάξεις στα κύτταρα λεμφώματος ποντικού.

Τέλος τοποθετήθηκε έλαιο λεμονιού σε αιθανόλη έως 0,125 mg / mL. Η συχνότητα εμφάνισης κυττάρων πολυπλοειδίας σε 24 ώρες μετά τη θεραπεία ήταν 1,0% και η συχνότητα εμφάνισης κυττάρων με εκτροπές δομικού χρωμοσώματος 24 ώρες μετά τη θεραπεία ήταν 2,0%. Το δοκιμαστικό υλικό δεν προκάλεσε σημαντικές χρωμοσωμικές εκτροπές στα κύτταρα CHL. Το λάδι λεμονιού δεν θεωρήθηκε κλαστογόνο.

5.2 Καρκινογένεση

Η δραστηριότητα που προάγει τον όγκο παρατηρήθηκε σε δέρμα ποντικού που εκτέθηκε σε αιθέριο έλαιο λεμόνι. Χημικά συστατικά αυτού του ελαίου δεν ταυτοποιήθηκαν πλήρως σε αυτή τη μελέτη, αν και τα κλάσματα τερπενίου και μη τερπενίου διαχωρίστηκαν. Ομάδες 10 αρσενικών και 10 θηλυκών στελεχών ποντικών έλαβαν μία μόνο εφαρμογή 9,10-διμεθυλ-1,2-βενζανθρακενίου (DMBA) σε ακετόνη (300 mg σε 0,2)..

Έλαβαν εβδομαδιαίες εφαρμογές 0,25 mL των δοκιμαστικών ουσιών 3 εβδομάδες μετά την εφαρμογή του DMBA.

Μέχρι την πέμπτη εβδομάδα, τα θηλώματα παρατηρήθηκαν. Μετά από 33 εβδομάδες, 10 από 20 ποντίκια στις ομάδες θεραπείας με λάδι λεμονιού και λάιμ είχαν θηλώματα. Μόνο 1 ποντίκι στην ομάδα ελέγχου είχε θηλώματα μετά από 33 εβδομάδες και η προσβεβλημένη περιοχή δεν ήταν το δέρμα που είχε υποστεί αγωγή. Επιπλέον, ένα θηλυκό ποντίκι ανέπτυξε έναν όγκο σμηγματογόνου αδένα της θηλής.

Καρκινώματα πλακώδους κυττάρου του δέρματος παρατηρήθηκαν σε 2 ποντίκια μεταξύ των εβδομάδων 36 και 55.

Δεν παρατηρήθηκαν όγκοι των εσωτερικών οργάνων. Η επιβίωση όλων των ποντικών, συμπεριλαμβανομένων των μαρτύρων, σε αυτό το πείραμα ήταν κακή λόγω της πολύ υψηλής συχνότητας εμφάνισης νεφρικής νόσου. [Roe FJC et al., 1960]

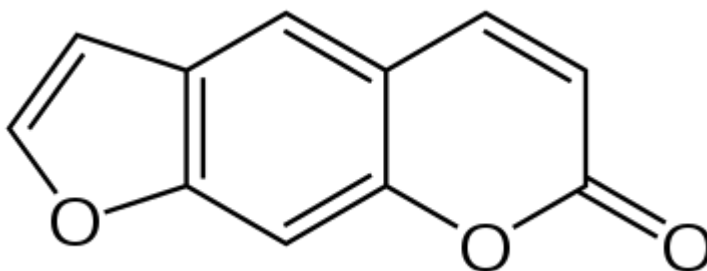
5.3 Φωτοτοξικότητα

Τα ψυχρής πίεσης εσπεριδοειδή είναι γνωστό ότι προκαλούν φωτοτοξικές αντιδράσεις καθώς περιέχουν φωτοδραστικές φουροκουμαρίνες (psoralens), μια οικογένεια φυσικών συστατικών φυτών με βασική δομή κουμαρίνης συνδεδεμένη σε δακτύλιο φουρανίου [Tisserand, R. et al., 1995]. Περιλαμβάνουν το πολύ γνωστό και πιο ισχυρό φωτοτοξικό το περγαπτένιο [Zaynoun, S.T. et al., 1977] και άλλα παράγωγα όπως το περγαμοτίνη, το κιτροπτένιο, η ερνιαρίνη ή η οξυπιπεδαίνη [Naganuma, M. et al., 1985]. Το 2001, η Επιστημονική Επιτροπή για τα Καλλυντικά Προϊόντα καθόρισε έναν περιορισμό για τις ουσίες που μοιάζουν με φουροκουμαρίνη, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε καλλυντικά προϊόντα, υπό την προϋπόθεση ότι η συνολική συγκέντρωση αυτών των ουσιών στο τελικό προϊόν δεν υπερβαίνει το ένα μέρος ανά εκατομμύριο [SCCNFP, 2013, Κεϋλονά, Κ. et al., 2010].

Τα εσπεριδοειδή μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν πρακτικά ως αναστολείς τυροσινάσης. Στον ανθρώπινο εγκέφαλο, η τυροσινάση παίζει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό νευρομελανίνης, η οποία θα μπορούσε να είναι κεντρική στη νευροτοξικότητα της ντοπαμίνης, καθώς και να συμβάλει στον νευροεκφυλισμό που σχετίζεται με τη νόσο του Parkinson [Xu, Y., 1997]. Το υπεριώδες φως και οι περιβαλλοντικές τοξίνες προκαλούν αντιδραστικά είδη οξυγόνου όπως διάφορες ρίζες. Αυτές οι ρίζες παίζουν σημαντικούς ρόλους στην ενεργοποίηση της τυροσινάσης στο ανθρώπινο δέρμα. Έχει αναφερθεί ότι ορισμένα αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών εμφάνισαν δράσεις σάρωσης των ελεύθερων ριζών (scavaging) [Sawamura, M. et al., 2004]. Για παράδειγμα, το αιθέριο έλαιο λεμονιού Eureka με ισχυρή ανασταλτική δραστηριότητα τυροσινάσης έχει δραστηριότητα σάρωσης ρίζας DPPH. Αναφέρθηκε ότι τα συστατικά σάρωσης ριζών στο έλαιο λεμονιού Eureka ήταν γερανιόλη, τερπινολένιο και γ-τερπινένιο. Αυτά τα συστατικά ήταν διαφορετικά από τα ανασταλτικά συστατικά της τυροσινάσης, της κιτρικής και του μυκηνίου. Έτσι, προτείνεται ότι τα αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών, που αποτελούνται από εκατοντάδες είδη ενώσεων, θα μπορούσαν να αναστέλλουν τη μελανογένεση με διάφορες δράσεις και δραστηριότητες. Το κιτρικό και το μυρίνιο έχουν χαρακτηριστικά αρώματα στα εσπεριδοειδή. Έτσι, αναμένεται ότι τα αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως υλικά λεύκανσης του δέρματος

με εσπεριδοειδή όπως αρώματα σε ζαχαροπλαστική, σαπούνι, αρώματα και κοσμετολογία [Matsuura, R. et al., 2006].

Φωτοτοξικό δυναμικό παρατηρήθηκε για το έλαιο λεμονιού σε *in vitro* μελέτες. Δεν παρατηρήθηκαν φωτοτοξικές αποκρίσεις σε ορισμένες μελέτες σε ζώα. Ωστόσο, παρατηρήθηκαν σημάδια φωτοτοξικότητας σε απόκριση σε αραιωμένο έλαιο λεμονιού και λεμόνι αραιωμένο σε συγκεντρώσεις 50%. Σε μελέτες σε ανθρώπους, παρατηρήθηκαν φωτοτοξικές αντιδράσεις σε απόκριση στο έλαιο λεμονιού (1%). Πολλά από τα έλαια φλούδας που προέρχονται από εσπεριδοειδή περιέχουν συστατικά που είναι φωτοδραστικοί παράγοντες, αν και αυτά που αναφέρονται ότι είναι ελεύθερα φουροκουμαρίνης τείνουν να μην προκαλούν φωτοευαισθητοποίηση. [Kejlová K et al., 2007, International Fragrance Association. IFRA, 2013,Kejlová K et al., 2010, Yasui Y et al., 1994, Forbes PD et al., 1977, Naganuma M et al., 1985]



Εικόνα 3: Ψωραλένη (<https://www.wikiwand.com/en/Furanocoumarin>)

5.4 Μελλοντικές έρευνες τοξικότητας

Έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες τοξικότητας σε d-limonene τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Περαιτέρω, η υπάρχουσα έρευνα επικεντρώθηκε κυρίως στη χρήση διαφορετικών τεχνικών επεξεργασίας (για παράδειγμα, επεξεργασία υψηλής πίεσης, παλμικό ηλεκτρικό πεδίο, επεξεργασία θερμότητας) για αύξηση της διάρκειας ζωής των χυμών εσπεριδοειδών και επίδραση αυτών των τεχνικών στη σταθερότητα του λιμονενίου. Ωστόσο, υπάρχει έλλειψη πληροφοριών σχετικά με το κατά πόσον αυτές οι τεχνικές επεξεργασίας οδηγούν στην παραγωγή τοξικών μεταβολιτών ή επιβλαβών

προϊόντων αποδόμησης του λιμονενίου. Ως εκ τούτου, το λιμονένιο είναι ευαίσθητο στην επεξεργασία υψηλής πίεσης (Sampedroetal., 2009). Ωστόσο, με την αυξανόμενη πίεση, η αποικοδόμηση του λιμονενίου βρέθηκε επίσης να αυξάνεται σημαντικά (Panetal., 2011). Η θερμική επεξεργασία προκαλεί συχνά τη μέγιστη απώλεια πτητικών ενώσεων όπως φαίνεται από τους Moshonas και Shaw (1989). Blairetal. (1950) διερεύνησαν την αποικοδόμηση λιμονενίου από μηχανισμούς επανυδάτωσης ενυδατωμένης κατάλυσης. Παρατηρήθηκε ότι λόγω χημικών αντιδράσεων σε όξινο περιβάλλον, το λιμονένιο αποικοδομήθηκε σε α-τερπινεόλη, 1,4-κινεόλη και άλλα προϊόντα.

Οι Perez-Lopez et al. (2006) απέδειξε ότι υπό όξινες συνθήκες το d-limonene μπορεί να αποικοδομηθεί σε άλλα τερπένια όπως η α-τερπινεόλη, το οποίο είναι σταθερό και συμβάλλει στην αρωματική ουσία κατά την αποθήκευση. Αυτό μελετήθηκε περαιτέρω σε χυμούς εσπεριδοειδών, μοντέλα και ρυθμιστικά διαλύματα από τους HalevaToledoetal. (1999). Διαπίστωσαν ότι το πρώτο βήμα στο σχηματισμό α-τερπινεόλης από d-limonene και linalool είναι με πρωτονίωση στην οποία το pH παίζει ισχυρό αποτέλεσμα. Όσο χαμηλότερο ήταν το pH, τόσο υψηλότερος ήταν ο σχηματισμός α-τερπινεόλης. Αυτό εξηγεί τον λόγο πίσω από την υψηλή περιεκτικότητα α-τερπινεόλης στο χυμό λεμονιού.

Καθώς το μεγαλύτερο μέρος της έρευνας επικεντρώθηκε μόνο στη σταθερότητα του λιμονενίου κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, η μελλοντική έρευνα θα πρέπει κατά κύριο λόγο να επικεντρωθεί στη συγκέντρωση προϊόντων αποδόμησης που παράγονται από το λιμονένιο και τις τοξικές τους επιπτώσεις. Η αξιολόγηση της τοξικότητας της α-τερπινεόλης που παράγεται κατά την αποθήκευση του χυμού εσπεριδοειδών πρέπει να διερευνηθεί διεξοδικά. Δεν πρέπει να μελετηθεί μόνο η α-τερπινεόλη, η τοξικότητα άλλων προϊόντων αποικοδόμησης από λιμονένιο όπως trans και cis 1,8 terpinene, 1,4 ή 1,8 cineole κ.λπ. Μεταξύ των τεχνικών μη θερμικής επεξεργασίας, η χρήση του όζοντος στην επεξεργασία χυμού φρούτων έχει τεκμηριωθεί καλά (Cullenetal., 2010). Ωστόσο, μελέτες έχουν δείξει ότι η αλληλεπίδραση του λιμονενίου με το όζον (Οζονόλυση) οδηγεί στο σχηματισμό δευτερογενών οργανικών αερολυμάτων (OSA) που εμφανίζει ισχυρά τοξικά αποτελέσματα. Η οζονόλυση του λιμονενίου αποδίδει αρκετά αντιδραστικά προϊόντα όπως το 3-ισοπροπενυλ-6-οξοεπτανικό (IPOH), το 4-ακετυλο-1-μεθυλοκυκλοεξάνιο (4-AMCH) και το 4-οξοπεντανικό (4-OPA) που προκαλεί τραυματισμό των

πνευμονικών κυττάρων (Lipsaetal. , 2016). Καθώς το λιμονένιο υπάρχει σε χυμούς φρούτων σε επιθυμητές συγκεντρώσεις, όταν υποβάλλεται σε διαδικασία οζονισμού, υφίσταται κατάλληλη οζονόλυση με αποτέλεσμα τον σχηματισμό οξειδωτικών μεταβολιτών. Ακόμα κι αν, το λιμονένιο και το όζον αναγνωρίζονται ως GRAS για χρήση, τα αποτελέσματα επεξεργασίας που σχετίζονται με το λιμονένιο πρέπει να εξεταστούν για να κατανοηθεί το πλήρες τοξικολογικό φάσμα του λιμονενίου υπό τέτοιες συνθήκες. Η έρευνα σχετικά με τα προϊόντα αποδόμησης που παράγονται από το λιμονένιο ως αποτέλεσμα της επεξεργασίας του όζοντος είναι σημαντική. Έτσι, οι μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να επικεντρώνονται στη συμβατότητα του λιμονίου με την επεξεργασία του όζοντος, την επίδραση της επεξεργασίας του όζοντος στην οξείδωση / αποδόμηση του λιμονενίου, στον τύπο των μεταβολιτών που σχηματίζονται. Περαιτέρω, οι τοξικές επιδράσεις αυτών των μεταβολιτών (μεμονωμένων καθώς και πολλαπλών) στο ζωικό μοντέλο, ο κίνδυνος που σχετίζεται με την έκθεσή τους στον άνθρωπο, τα ασφαλή όρια αυτών των μεταβολιτών θα μελετηθούν λεπτομερώς.

6. Συμπέρασμα

Τα τελευταία χρόνια η χρήση του λεμονιού συνεχώς επεκτείνεται στη φαρμακοβιομηχανία και στην κοσμητολογία καθώς έχει ανακαλυφθεί πως έχει πληθώρα ευεργετικών ιδιοτήτων στον οργανισμό. Χρησιμοποιείται συχνά ως αιθέριο έλαιο ενώ λαμβάνονται και εκχυλίσματα από μέρη του φρούτου. Σπουδαίο ρόλο παίζουν και μεμονωμένα τα συστατικά και οι βιταμίνες που περιέχει, όπως το ασκορβικό οξύ, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν και να έχουν εξίσου αποτελεσματική δράση. Πέρα από τις θετικές ιδιότητές του κρύβει και κινδύνους όταν χρησιμοποιείται με λάθος τρόπο, σε μεγάλη συγκέντρωση. Μέσα στα επόμενα χρόνια θα πρέπει να γίνουν αρκετές ακόμα έρευνες πάνω σε περισσότερες πιθανές χρήσεις του φρούτου αυτού αλλά και των συστατικών του, όπως και της τοξικότητας που μπορεί να έχουν.

7. Περίληψη

Αυτή η εργασία πραγματεύεται τη σπουδαιότητα του φρούτου *C. limon* στον τομέα της Κοσμητολογίας καθώς και τη δράση του ως αντικαρκινικό, αντιαλλεργικό, αντιμικροβιακό, αντιφλεγμονώδες, αντιπαρασιτικό και αντιοξειδωτικό μέσα από μελέτες αλλά και πειράματα που έχουν πραγματοποιηθεί που ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζει η μεγάλη περιεκτικότητα του φρούτου σε λιμονένιο. Παρουσιάζονται μέσα από μια σύντομη ιστορική αναδρομή οι χρήσεις που είχε και έχει το λεμόνι σε διάφορα μέρη του κόσμου και από διάφορους λαούς. Επίσης αναλύεται η χημική σύσταση καθώς και το μεταβολικό προφίλ κάθε τμήματος του φρούτου. Αναφέρονται οι μορφές με τις οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα συστατικά του στην Κοσμητολογία, και κυρίως το αιθέριο έλαιο λεμονιού, και πειράματα που αποδεικνύουν τη δράση του ως ενισχυτής διείσδυσης βιταμινών στο δέρμα, ως αντιγηραντικό, ως μικροβιοκτόνο κατά του *Staphylococcus epidermidis* αλλά και οι ευεργετικές ιδιότητες του ασκορβικού οξέος το οποίο περιέχει. Ειδικότερα εστιάζει στη χρήση του *C. limon* στα καλλυντικά με σκοπό όχι μόνο τη συντήρηση και το άρωμα αλλά τις δράσεις του στο δέρμα. Επιπλέον, αναπτύσσονται οι κίνδυνοι που εγκυμονεί η λανθασμένη χρήση ουσιών του *C. limon*, η ασφαλής χρήση τους και κάποιοι έλεγχοι γονοτιξικότητας και καρκινογένεσης. Τέλος, αναλύεται η φωτοτοξικότητα του χυμού λεμονιού πειραματικά, η δράση των φουροκουμαρινών καθώς και οι έρευνες που θα πρέπει να διεξαχθούν στο μέλλον έτσι ώστε να διασφαλιστεί η απόλυτα ασφαλής χρήση και αξιοποίηση όλων των ευεργετικών ιδιοτήτων του, όπως του λιμονενίου το οποίο παρά την αντιβακτηριακή του δράση φαίνεται να εμφανίζει τοξικότητα κατόπιν επεξεργασίας.

8. Abstract

This paper presents the importance of the *C. limon* fruit in the field of Cosmetology as well as its anti-cancer, anti-allergic, antimicrobial, anti-inflammatory, antiparasitic and antioxidant effects through studies and experiments that have been carried out. Those studies suggest that those effects are due to the high concentration of limonin in the fruit. The uses of the lemon in different parts of the world and by different people are presented through a brief historical review. The chemical composition and the metabolic profile of each part of the fruit are also analyzed. The forms in which its

ingredients can be used in Cosmetology, and more specifically the essential oil of lemon are presented. There are also mentioned experiments that prove its action as a penetration booster of vitamins through the skin, as an anti-aging factor, as an anti-microbial against *Staphylococcus epidermidis* and the properties of ascorbic acid which it contains.

It focuses on the use of *C. limon* in cosmetics not only for its fragrance but also for its effects on the skin. In addition, the risks of misuse of *C. limon* substances that have been reported and its safe use, the genotoxicity and carcinogenicity reports are discussed. The phototoxicity of lemon juice is analyzed, the action of furocoumarins as well as the researches that should be carried out in the future in order to ensure the absolutely safe use and utilization of all its beneficial properties, such as limonene which despite its antibacterial action appears to show toxicity after its procedure.

9. Βιβλιογραφία

(SCCP) Opinion on Furocoumarins in Cosmetic Products. 2005. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_036.pdf. Accessed June 3, 2013. Report No. SCCP/0942/05.

Abad-García, B.; Garmón-Lobato, S.; Berrueta, L.A.; Gallo, B.; Vicente, F. On line characterization of 58 phenolic compounds in Citrus fruit juices from Spanish cultivars by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection coupled to electrospray ionization triple quadrupole mass spectrometry. *Talanta* 2012, 99, 213–224. [CrossRef]

Aboelhadid, S.M.; Mahrous, L.N.; Hashem, S.A.; Abdel-Kafy, E.M.; Miller, R.J. In vitro and in vivo effect of Citrus limon essential oil against sarcoptic mange in rabbits. *Parasitol. Res.* 2016, 115, 3013–3020. [CrossRef]

Alfredo G, Saritha MC, Veronica C, Samuel MR, Silvana CN, Lydia MF. Review of major theories of skin ageing. *Adv Aging Res* 2014;3:265-84.

Amorim, J. I.; Simas, D. I.R.; Pinheiro, M.M.G.; Moreno, D.S.A.; Alviano, C.S.; Da Silva, A.J.R.; Fernandes, P.D. Anti-inflammatory properties and chemical characterization of the essential oils of four Citrus species. *PLoS ONE* 2016, 11, 1–18. [CrossRef]

Antioxidant activity of Citrus fruits, author-ZhuoZou, *Food Chemistry* www.elsevier.com. September 2015

Asai, T.; Matsukawa, T.; Kajiyama, S. Metabolic changes in Citrus leaf volatiles in response to environmental stress. *J. Biosci. Bioeng.* 2016, 121, 235–241. [CrossRef] [PubMed]

Balogun, F.O.; Ashafa, A.O.T. A review of plants used in South African Traditional Medicine for the management and treatment of hypertension. *Planta Med.* 2019, 85, 312–334. [CrossRef] [PubMed]

Bassolé, I.H.N., Juliani, H.R., 2012. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules* 17, 3989–4006.

Bhatia, H.; Pal Sharma, Y.; Manhas, R.K.; Kumar, K. Traditional phyto remedies for the treatment of menstrual disorders in district Udhampur, J&K, India. *J. Ethnopharmacol.* 2015, 160, 202–210.

Bhavsar, S.K.; Joshi, P.; Shah, M.B.; Santani, D.D. Investigation into hepatoprotective activity of Citrus limon. *Pharm. Biol.* 2007, 45, 303–311. [CrossRef]

Bhumika S, Arvind S. Future prospect of nanotechnology in the development of anti-aging formulations. *Int J Pharm Pharm Sci* 2012;4:57-66.

Blair JS, Godar EM, Masters JE, Riester, EW. 1950. Exploratory experiments 1 to identify chemical reactions causing flavor deterioration during storage of canned orange juice. I. Incompatibility of peel-oil constituents with the acid juice. *Journal of Food Science.* 17: 235-260

Bodet C, La V, Epifano F, Grenier D. Naringenin has anti-inflammatory properties in macrophage and ex vivo human whole-blood models. *J Periodontal Res.*, 2008; 43: 400–407. doi: 10.1111/j.1600-0765.2007.01055.x.

Citrus Page. Available online: <http://citruspages.free.fr> (accessed on 28 August 2019).

Clement, Y.N.; Baksh-Comeau, Y.S.; Seaforth, C.E. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Trinidad. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 2015, 11, 1–28. [CrossRef]

Cosmetic Ingredient Database (CosIng). Available online: https://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/cosing_en (accessed on 1 September 2019).

Cullen PJ, Valdramidis VP, Tiwari BK, Patil S, Bourke P, O'Donnell CP. 2010. Ozone Processing for Food Preservation: An Overview on Fruit Juice Treatments. *Ozone: Science & Engineering.* 32: 166–179

Czech, A.; Zarycka, E.; Yanovych, D.; Zasadna, Z.; Grzegorzczak, I.; Kłys, S. Mineral content of the pulp and peel of various Citrus fruit cultivars. *Biol. Trace Elem. Res.* 2019. [CrossRef]

D'Alessio, P.A.; Ostan, R.; Bisson, J.F.; Schulzke, J.D.; Ursini, M.V.; Béné, M.C. Oral administration of D-limonene controls inflammation in rat colitis and displays anti-inflammatory properties as diet supplementation in humans. *Life Sci.* 2013, 92, 1151–1156. [CrossRef] [PubMed]

Das T, Debnath J, Nath B, Dash S. Formulation and evaluation of a herbal cream for wound healing activity. *Int J Pharm Pharm Sci* 2014;6:693-7.

de Rapper, S., Kamatou, G., Viljoen, A., van Vuuren, S., 2013. The in vitro antimicrobial activity of *L. Angustifolia* essential oil in combination with other aroma-therapeutic oils. *J. Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2013, 10.

Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., Mnif, W., 2016. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review. *Medicines* 3, 1–16.

Djenane, D., 2015. Chemical profile, antibacterial and antioxidant activity of Algerian C. Essential oils and their application in *Sardina pilchardus*. *Foods* 4, 208–228.

Dorman, H.J.D., Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88, 308–316.

Espina, L.; Somolinos, M.; Ouazzou, A.A.; Condón, S.; García-Gonzalo, D.; Pagán, R. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 in fruit juices by combined treatments of citrus fruit essential oils and heat. *Int. J. Food Microbiol.* 2012, 159, 9–16. [CrossRef] [PubMed]

European Chemicals Agency. Lemon, ext. 2014. <http://echa.europa.eu/>. Last updated 2014. Accessed April 29, 2014.

European Commission. Opinion of the Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products intended for Consumers Concerning an Initial List of Perfumery Materials Which Must Not Form Part of Cosmetic Products Except Subject to the Restrictions and Conditions Laid Down. SCCNFP/0392/00, final. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out150_en.pdf. Last updated 2001. Accessed August 5, 2014. Current versions of these standards may be found at <https://ifragrance.org/self-regulation/library>

European Commission. Scientific Committee on Consumer Products

Fongzossie, E.F.; Tize, Z.; FogangNde, P.J.; NyangonoBiyegue, C.F.; BoueletNtsama, I.S.; Dibong, S.D.; Nkongmeneck, B.A. Ethnobotany and pharmacognostic perspective of plant species used as traditional cosmetics and cosmeceuticals among the Gbaya ethnic group in Eastern Cameroon. *S. Afr. J. Bot.* **2017**, *112*, 29–39. [CrossRef]

Forbes PD, Urbach F, Davies RE. Phototoxicity testing of fragrance raw materials. *FdCosmetToxicol.* 1977;15(1):55-60.

García-Salas, P.; Gómez-Caravaca, A.M.; Arráez-Román, D.; Segura-Carretero, A.; Guerra-Hernández, E.; García-Villanova, B.; Fernández-Gutiérrez, A. Influence of technological processes on phenolic compounds, organic acids, furanic derivatives, and antioxidant activity of whole-lemon powder. *Food Chem.* 2013, 141, 869–878. [CrossRef]

Gattuso, G.; Barreca, D.; Gargiulli, C.; Leuzzi, U.; Caristi, C. Flavonoid composition of citrus juices. *Molecules* 2007, 12, 1641–1673. [CrossRef] [PubMed]

Geesin JC, Darr D, Kaufmann R, Murad S, Pinnel SR. Ascorbic acid especially increases type-1 and type-3. Procollagen messenger RNA Levels in human skin fibroblast. *J Invest Dermatol* 2014;90:420-44.

Goetz, P. Citrus limon (L.) Burm. f. (Rutacées). Citronnier. *Phytotherapie* 2014, 12, 116–121. [CrossRef]

González-Molina, E.; Domínguez-Perles, R.; Moreno, D.A.; García-Viguera, C. Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2010, 51, 327–345. [CrossRef] [PubMed]

Gualdani, R.; Cavalluzzi, M.M.; Lentini, G.; Habtemariam, S. The chemistry and pharmacology of citrus limonoids. *Molecules* 2016, 21, 1530. [CrossRef]

Guerrini, A.; Rossi, D.; Grandini, A.; Scalvenzi, L.; Rivera, P.F.N.; Andreotti, E.; Tacchini, M.; Spagnoletti, A.; Poppi, I.; Maietti, S.; et al. Biological and chemodiverse characterization of Amazonian (Ecuador) Citrus petitgrains. *J. Appl. Bot. Food Qual.* 2014, 87, 108–116.

Hagerty, M. Monograph on the Oranges of Wen-chou, Chekiang. Leiden Brill EJ 1923, 2, 63–69.

Haleva-Toledo E, Naim M, Zehavi U, Rouseff RL. 1999. Formation of α -terpineol in Citrus Juices, Model and Buffer Solutions. *Journal of Food Science.* 64-5:838-841.

Hamdan, D.; Ashour, M. I.; Mulyaningsih, S.; El-Shazly, A.; Wink, M. Chemical composition of the essential oils of variegated pink-fleshed lemon (*Citrus x limon* L. Burm. f.) and their anti-inflammatory and antimicrobial activities. *Zeitschrift fur Naturforsch.-Sect. C J. Biosci.* 2013, 68C, 275–284. [CrossRef]

Herbert, S.; Webber, J. History and development of the Citrus Industry, Revised by Reuther Wand Berkley HWL. Univ. Calif. 1943, 1, 1–3.

Hu, J.; Li, X. Inhibitory effect of lemon essential oil on mushroom tyrosinase activity in vitro. *Mod. Food Sci. Technol.* **2015**, 31, 97–105.

Huang, S.; Liu, X.; Xiong, B.; Qiu, X.; Sun, G.; Wang, X.; Zhang, X.; Dong, Z.; Wang, Z. Variation in limonin and nomilin content in citrus fruits of eight varieties determined by modified HPLC. *Food Sci. Biotechnol.* 2019, 28, 641–647. [CrossRef]

International Fragrance Association. IFRA standard for 7-methoxycoumarin. <http://www.ifraorg.org/en-us/search/s/lime#>. UiQD0TXD-Uk. Last updated 2009.

Accessed September 1, 2013. Current versions of these standards may be found at <https://ifrafragrance.org/self-regulation/library>

International Fragrance Association. IFRA standard for bitter orange peel oil expressed. www.ifraorg.org/view_document.aspx?docIdO23155. Last updated 2009. Accessed March 7, 2013.

International Fragrance Association. IFRA standard for citrus oils and other furocoumains-containing essential oils. http://www.ifraorg.org/en-us/standards_restricted. Last updated October 14, 2009. Accessed February 26, 2013.

Current versions of these standards may be found at <https://ifrafragrance.org/self-regulation/library>

International Fragrance Association. IFRA standard for lemon oil cold pressed. http://www.ifraorg.org/en-us/search/s/lemon_oil_cold_pressed#.UiQAQDXD-Uk.

Last updated 2009. Accessed March 7, 2013. Current versions of these standards may be found at <https://ifrafragrance.org/self-regulation/library>

International Fragrance Association. IFRA standards for limonene. www.ifraorg.org/view_document.aspx?docIdO22594. Last updated 2014. Accessed August 5, 2014. Current versions of these standards may be found at <https://ifrafragrance.org/self-regulation/library>

Jing, L.; Lei, Z.; Zhang, G.; Pilon, A.C.; Huhman, D.V.; Xie, R.; Xi, W.; Zhou, Z.; Sumner, L.W. Metabolite profiles of essential oils in citrus peels and their taxonomic implications. *Metabolomics* 2015, 11, 952–963. [CrossRef]

Kaskoos, R.A. Essential oil analysis by GC-MS and analgesic activity of *Lippia citriodora* and *Citrus limon*. *J. Essent. Oil-Bear. Plants* 2019, 22, 273–281. [CrossRef]

Kaya, M.; Sousa, A.G.; Crépeau, M.J.; Sørensen, S.O.; Ralet, M.C. Characterization of citrus pectin samples extracted under different conditions: Influence of acid type and pH of extraction. *Ann. Bot.* 2014, 114, 1319–1326. [CrossRef] [PubMed]

Kejlová K, Jírová D, Bendová H, et al. Phototoxicity of bergamot oil assessed by in vitro techniques in combination with human patch tests. *Toxicol In Vitro.* 2007;21(7):1298-1303.

Kejlová K, Jírová D, Bendová H, Gajdos P, Kolářová H. Phototoxicity of essential oils intended for cosmetic use. *Toxicol In Vitro.* 2010;24(8):2084-2089.

Kejlová, K.; Jírová, D.; Bendová, H.; Gajdos, P.; Kolářová, H. Phototoxicity of essential oils intended for cosmetic use. *Toxicol. Vitro*, **2010**, 24, 2084-2089.

Kim, J.; Jayaprakasha, G.K.; Uckoo, R.M.; Patil, B.S. Evaluation of chemopreventive and cytotoxic effect of lemon seed extracts on human breast cancer (MCF-7) cells. *Food Chem. Toxicol.* 2012, 50, 423–430. [CrossRef] [PubMed]

Kim, M.J.; Hwang, J.H.; Ko, H.J.; Na, H.B.; Kim, J.H. Lemon detox diet reduced body fat, insulin resistance, and serum hs-CRP level without hematological changes in overweight Korean women. *Nutr. Res.* **2015**, 35, 409–420. [CrossRef] [PubMed]

Klimek-Szczykutowicz Marta, Szopa Agnieszka and Ekiert Halina. *Citrus limon* (Lemon) Phenomenon—A Review of the Chemistry, Pharmacological Properties, Applications in the Modern Pharmaceutical, Food, and Cosmetics Industries, and Biotechnological Studies. *Plants* 2020, 9, 119; doi:10.3390/plants9010119

L. Valgimigli*, S. Gabbanini_, E. Berlini*, E. Lucchi_, C. Beltramini_ and Y. L. Bertarelli_ “Lemon (*Citrus limon*, Burm.f.) essential oil enhances the trans-epidermal release of lipid- (A, E) and water- (B6, C) soluble .+ 3vitamins from topical emulsions in reconstructed human epidermis” *International Journal of Cosmetic Science*, 2012, 34, 347–356

Lamine, M.; Gargouri, M.; Rahali, F.Z.; Mliki, A. Authentication of Citrus fruits through a comprehensive fatty acid profiling and health lipid indices: A nutraceutical perspectives. *J. Food Meas. Charact.* 2019, 13, 2211–2217. [CrossRef]

Lamine, M.; Rahali, F.Z.; Hammami, M.; Mliki, A. Correlative metabolite profiling approach to understand antioxidant and antimicrobial activities from citrus essential oils. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2019, 54, 2615–2623. [CrossRef]

Ledesma-Escobar, C.A.; Priego-Capote, F.; Luque De Castro, M.D. Characterization of lemon (*Citrus limon*) polar extract by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in high resolution mode. *J. Mass Spectrom.* 2015, 50, 1196–1205. [CrossRef]

Liu, Y.; Zhang, X.; Wang, Y.; Chen, F.; Yu, Z.; Wang, L.; Chen, S.; Guo, M. Effect of citrus lemon oil on growth and adherence of *Streptococcus mutans*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2013, 29, 1161–1167. [CrossRef] [PubMed]

Liwen Wang,¹ Jinhan Wang, Anticancer Activities of Citrus Peel Polymethoxyflavones Related to Angiogenesis and Others Volume 2014 |ArticleID 453972 | 10 pages <https://doi.org/10.1155/2014/453972>.

Mabberley, D.J. Citrus (Rutaceae): A review of recent advances in etymology, systematics and medical applications. *Blumea J. Plant Taxon. Plant Geogr.* 2004, 49, 481–498. [CrossRef]

Mahmoud, M.F.; Gamal, S.; El-Fayoumi, H.M. Limonin attenuates hepatocellular injury following liver ischemia and reperfusion in rats via toll-like receptor dependent pathway. *Eur. J. Pharmacol.* 2014, 740, 676–682. [CrossRef]

Malacrida, C.R.; Kimura, M.; Jorge, N. Phytochemicals and antioxidant activity of citrus seed oils. *Food Sci. Technol. Res.* 2012, 18, 399–404. [CrossRef]

Manconi, M.; Manca, M. I.; Marongiu, F.; Caddeo, C.; Castangia, I.; Petretto, G. I.; Pintore, G.; Sarais, G.; D'Hallewin, G.; Zaru, M.; et al. Chemical characterization of *Citrus limon* var. *pompia* and incorporation in phospholipid vesicles for skin delivery. *Int. J. Pharm.* **2016**, 506, 449–457. [CrossRef]

Maruzzella, J. C.; Henry, P. A. The *in vitro* antimicrobial activity of essential oils and oil combinations. *J. Amer. Pharm. Ass. Sci.*, **1958**, 47, 294-296.

Maruzzella, J. C.; Henry, P. A. The antimicrobial activity of perfume oils. *J. Amer. Pharm. Ass. Sci.*, **1958**, 47, 471-476.

Maruzzella, J. C.; Lichtenstein, M. B. The *in vitro* antimicrobial activity of oils. *J. Amer. Pharm. Ass. Sci.* **1956**, 45, 378-381.

Maruzzella, J. C.; Scrandis D. A.; Scrandis, J. B.; Grabon, G. Action of odoriferous organic chemicals and essential oils on wood-destroying fungi. *Plant Dis.*, **1960**, 44, 789-792.

Maruzzella, J. C.; Liguori, L. The *in vitro* antifungal activity of essential oils. *J. Amer. Pharm. Ass. Sci.*, **1958**, 47, 250-254.

Maruzzella, J.C.; Balter, J. The action of essential oils on phytopathogenic fungi. *Plant Dis. Rep.*, **1959**, 43, 1143-1147.

Masson, J.; Liberto, E.; Beolor, J.C.; Brevard, H.; Bicchi, C.; Rubiolo, P. Oxygenated heterocyclic compounds differentiate *Citrus* spp. essential oils through metabolomic strategies. *Food Chem.* 2016, 206, 223–233. [CrossRef]

Matsuura, R.; Ukeda, H.; Sawamura, M. Tyrosinase inhibitory activity of citrus essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, **2006**, 54, 2309-2313.

Mehl, F.; Marti, G.; Boccard, J.; Debrus, B.; Merle, P.; Delort, E.; Baroux, L.; Raymo, V.; Velazco, M.I.; Sommer, H.; et al. Differentiation of lemon essential oil based on volatile and non-volatile fractions with various analytical techniques: A metabolomic approach. *Food Chem.* 2014, 143, 325–335. [CrossRef]

Millet, F. Huiles essentielles et essence de citronnier (*Citrus limon* (L.) Burm. f.). *Phytotherapie* 2014, 12, 89–97. [CrossRef]

Minami, M.; Kita, M.; Nakaya, T.; Yamamoto, T.; Kuriyama, H.; Imanishi, J. The inhibitory effect of essential oils on herpes simplex virus type-1 replication in vitro. *Microbiol. Immunol.* 2003, 47, 681–684. [CrossRef]

Mishra AK, Mishra A, Chattopadhyay P. Herbal cosmeceuticals for photoprotection from ultraviolet B radiation. A review. *Trop J Pharm Res* 2011;10:351-60.

Mohanapriya, M.; Ramaswamy, L.; Rajendran, R. Health and medicinal properties of lemon (*Citrus limonum*). *Int. J. Ayurvedic Herb. Med.* **2013**, 1, 1095–1100.

Moshonas MG, Shaw PE. 1989. Flavor evaluation and volatile flavor constituents of stored aseptically packaged orange juice. *Journal of Food Science.* 54:82-85

Mucci, A.; Parenti, F.; Righi, V.; Schenetti, L. Citron and lemon under the lens of HR-MAS NMR spectroscopy. *Food Chem.* 2013, 141, 3167–3176. [CrossRef] [PubMed]

Naganuma M, Hirose S, Nakayama Y, Nakajima K, Someya T. A study of phototoxicity of lemon oil. *Arch. Dermatol. Res.*, **1985**, 278(1), 31-36.

Nie YC, Wu H, Li PB, Luo YL, Long K, Xie LM, Shen JG, Su WW. Anti-inflammatory effects of naringin in chronic pulmonary neutrophilic inflammation in cigarette smoke-exposed rats. *J Med Food.*, 2012; 15: 894–900. doi: 10.1089/jmf.2012.2251

Otang, W.M.; Afolayan, A.J. Antimicrobial and antioxidant efficacy of Citrus limon L. peel extracts used for skin diseases by Xhosa tribe of Amathole District, Eastern Cape, South Africa. *S. Afr. J. Bot.* 2016, 102, 46–49. [CrossRef]

Pallavi M, Ramesh CK, Krishna V, Parveen S. Peels of Citrus Fruits: A Potential Source of Anti-inflammatory and Antinociceptive Agents. *Pharmacog J.*, 2018; 10(6): s172-s178.

Pan J, Wang H, Xie H, Yang YI, Zeng Q. Effect of ultra high hydrostatic pressure on concentrations of limonene, α -terpineol and carvone in navel orange juice. *Journal of Food Process Engineering.* 34 : 728–745

Papp, N.; Bartha, S.; Boris, G.; Balogh, L. Traditional uses of medicinal plants for respiratory diseases in Transylvania. *Nat. Prod. Commun.* 2011, 6, 1459–1460. [CrossRef]

Parhiz, H.; Roohbakhsh, A.; Soltani, F.; Rezaee, R.; Iranshahi, M. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: An

updated review of their molecular mechanisms and experimental models. *Phyther. Res.* 2015, 29, 323–331. [CrossRef] [PubMed]

Raimondo, S.; Naselli, F.; Fontana, S.; Monteleone, F.; Lo Dico, A.; Saieva, L.; Zito, G.; Flugy, A.; Manno, M.; Di Bella, M.A.; et al. Citrus limon-derived nanovesicles inhibit cancer cell proliferation and suppress CML xenograft growth by inducing TRAIL-mediated cell death. *Oncotarget* 2015, 6, 19514–19527. [CrossRef]

Rajendra Gyawali^{1*} and Kyong Su Kim², *Journal of Animal Research*, June 2014; 4(1): 85-95. DOI Number 10.5958/2277-940X.2014.00079.5

Riaz, A.; Khan, R.A.; Mirza, T.; Mustansir, T.; Ahmed, M. In vitro/in vivo effect of Citrus limon (L. Burm. f.) juice on blood parameters, coagulation and anticoagulation factors in rabbits. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2014, 27, 907–915. [PubMed]

Ríos, J.J.; Roca, M.; Pérez-Gálvez, A. Systematic HPLC/ESI-high resolution-qTOF-MS methodology for metabolomic studies in nonfluorescent chlorophyll catabolites pathway. *J. Anal. Methods Chem.* 2015, 2015, 1–10. [CrossRef] [PubMed]

Robards, K.; Antolovich, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. A review. *Analyst* 1997, 122, 11–34. [CrossRef]

Roe FJC, Peirce WEH. Tumor promotion by citrus oils: tumors of the skin and urethral orifice in mice. *JNCI.* 1960;24(6): 1389-1403.

Russo, M.; Bonaccorsi, I.; Costa, R.; Trozzi, A.; Dugo, P.; Mondello, L. Reduced time HPLC analyses for fast quality control of citrus essential oils. *J. Essent. Oil Res.* 2015, 27, 307–315. [CrossRef]

Sampedro F, Geveke DJ, Fan X, Zhang HQ. 2009. Effect of PEF, HHP and thermal treatment on PME inactivation and volatile compounds concentration of an orange juice–milk based beverage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.* 10: 483-469.

Sawamura, M.; Son, U.S.; Choi, H.S.; Kim, M. I.; Phin, N.T. I.; Fears, M. Composition changes in commercial lemon essential oil for aromatherapy. *Int. J. Aromather.*, 2004, 4, 27-33.

SCCNFP, 2001. Opinion of the Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products Intended for Consumers concerning An initial list of perfumery materials which must not form part of cosmetic products except subject to the restrictions and conditions laid down. SCCNFP/0392/00. <[http:// ec.europa.eu/ health/ ph_risk/ committees/ sccp/ documents/out150_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out150_en.pdf)> (Accessed, January, 2013);

Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P.D., Brkić, D., van Griensven, L.J. I.D., 2010. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules* 15, 7532–7546.

study of phototoxicity of lemon oil. *Arch Dermatol Res.* 1985; 278(1):31-36.

Swingle, W.T. *The Botany of Citrus and Its Wild Relatives of the Orange Subfamily (Family Rutaceae, Subfamily Aurantioideae)*; Univ. of California Press: Berkeley, CA, USA, 1943.

Talon, M.; Gmitter, F.G. Citrus genomics. *Int. J. Plant Genomics.* 2008, 2008, 1–17. [CrossRef] [PubMed]

Tammaro, A.; Narcisi, A. Contact allergy to limonene from a home-made cosmetic. *Eur. J Inflammat.* **2012**, *10*, 243–245. [CrossRef]

The International Fragrance Association. Available online: <https://ifrafragrance.org> (accessed on 10 October 2019).

Tisserand, R.; Balocs, T. *Essential oil safety. A Guide Health Care Professional*; Edinburgh, **1995**.

Tsujiyama, I.; Mubassara, S.; Aoshima, H.; Hossain, S.J. Anti-histamine release and anti-inflammatory activities of aqueous extracts of citrus fruits peels. *Orient. Pharm. Exp. Med.* 2013, 13, 175–180. [CrossRef]

U.S. Food and Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition (CFSAN). Voluntary Cosmetic Registration Program – Frequency of Use of Cosmetic Ingredients. College Park, MD: Obtained under the Freedom of Information Act from CFSAN; requested as “Frequency of Use Data” January 2014; received February 2014); 2014

Valgimigli, L.; Gabbanini, S.; Berlini, E.; Lucchi, E.; Beltramini, C.; Bertarelli, Y. I. Lemon (*Citrus limon* Burm.f.) essential oil enhances the trans-epidermal release of lipid- (A, E) and water- (B6, C) soluble vitamins from topical emulsions in reconstructed human epidermis. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2012**, *34*, 347–356. [CrossRef]

Xavier, S.M.; Barbosa, C.O.; Barros, D.O.; Silva, R.F.; Oliveira, A.A.; Freitas, R.M. Vitamin C antioxidant effects in hippocampus of adult Wistar rats after seizures and status epilepticus induced by pilocarpine. *Neurosci. Lett.* 2007, 420, 76–79. [CrossRef]

Xu, Y. Contextual tonal variations in Mandarin. *J. Phonetics*, **1997**, *25*, 61-83.

Yasui Y, Hirone T. Action spectrum for bergamot-oil phototoxicity measured by sunburn cell counting. *J Dermatol.* 1994;21(5):319-322.

Yuko S, Akihiko S. Establishment of an anti-aging health screening service in an obstetrics and gynaecology department of a public hospital. *Anti Aging Med* 2013;10:6-111.

Zaid, A.N.; Jaradat, N.A.; Eid, A.M.; Al Zabadi, H.; Alkaiyat, A.; Darwish, S.A. Ethnopharmacological survey of home remedies used for treatment of hair and scalp and their methods of preparation in the WestBank-Palestine. *BMC Complement. Altern. Med.* **2017**, *17*, 1–15. [CrossRef]

Zaynoun, S.T.; Johnson, B.E.; Frain-Bell, W. A study of oil Bergamot and its importance as phototoxic agent. *Contact Dermatitis*, **1977**, *3*(5), 225-239.

<https://www.wikiwand.com/en/Furanocoumarin>

https://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin_C

