

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**



ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

***«Προσδιορισμός Φλαβονοειδών σε φυτικά  
εκχυλίσματα»***

**Μέμης Λιγκόρ**

**ΑΘΗΝΑ 2022**

**«Προσδιορισμός Φλαβονοειδών σε φυτικά  
εκχυλίσματα»**

Η πτυχιακή/διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την  
κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

<b>A/α</b>	<b>ΟΝΟΜΑ ΕΠΩΝΥΜΟ</b>	<b>ΒΑΘΜΙΔΑ/ΙΔΙΟΤΗΤΑ</b>	<b>ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ</b>
<b>1</b>	<b>ΧΟΥΧΟΥΛΑ ΔΗΜΗΤΡΑ</b>	<b>ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ</b>	
<b>2</b>	<b>ΓΙΑΝΝΑΚΟΥΡΟΥ ΜΑΡΙΑ</b>	<b>ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ</b>	
<b>3</b>	<b>ΣΤΡΑΤΗ ΕΙΡΗΝΗ</b>	<b>ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ</b>	

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ/ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος **ΜΕΜΗΣ ΛΙΓΚΟΡ** του **ΣΩΤΗΡΑΚΗ**, με αριθμό μητρώου **18684044** φοιτητής του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής **ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ** του Τμήματος **ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/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 σύνολό 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 μένα 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».

Ο Δηλών

**ΜΕΜΗΣ ΛΙΓΚΟΡ**

## Ευχαριστίες:

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Δ. Χούχουλα που μου έδωσε τη δυνατότητα να εργαστώ πάνω στο θέμα αυτό και ιδιαίτερα την Αλίκη Τσάκνη για τη διαρκή υποστήριξη και βοήθειά της για την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

## «Προσδιορισμός φλαβονοειδών σε φυτικά εκχυλίσματα»

### Περίληψη

Σκοπός της παρούσας έρευνας είναι ο προσδιορισμός φλαβονοειδών και φαινολικών οξέων στα εκχυλίσματα των *Mentha piperita* L., *Mentha spicata* L. και *Salvia officinalis*. Με τη χρήση της HPLC-DAD και με τη μέθοδο του εσωτερικού προτύπου ταυτοποιήθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν οι περιεχόμενες ενώσεις στα δείγματα. Ελέγχθηκε η αντιοξειδωτική τους δράση με τη μέθοδο DPPH (2,2-διφαινυλ-1-πικρυλυδραζίλιο) και προσδιορίστηκαν τα ολικά φαινολικά στο κάθε δείγμα με τη χρήση της μεθόδου Folin-Ciocalteu. Από την έρευνα βρέθηκε ότι το εκχύλισμα της *Mentha piperita* έχει υψηλή περιεκτικότητα σε καφεϊκό οξύ, εριοδικτυόλη και π-κουμαρικό οξύ, το εκχύλισμα της *Mentha spicata* είχε υψηλή περιεκτικότητα σε λουτεολίνη και ροσμαρινικό οξύ και το εκχύλισμα της *Salvia officinalis* σε υδροξυβενζοϊκό οξύ. Ως προς την αντιοξειδωτική δράση την υψηλότερη τιμή είχε το εκχύλισμα της *Mentha piperita* L. καθώς και την υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά. Σημαντική αντιοξειδωτική δράση και μεγάλη περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις παρουσιάζονται και στα τρία δείγματα.

**Λέξεις κλειδιά:** φλαβονοειδή, φυτικά εκχυλίσματα, HPLC, DPPH, Folin-Ciocalteu

## «Determination of flavonoids in plant extracts

### Abstract

The purpose of this research is the determination of flavonoids and phenolic acids in *Mentha piperita L.*, *Mentha spicata L.* and *Salvia officinalis*. With the use of HPLC-DAD and internal standards it was feasible to identify and quantify the contained compounds in the plant extracts. The antioxidant activity was measured with the DPPH method and the total phenolic content was measured with the Folin-Ciocalteu method. The findings showed high concentration in caffeic acid, eriodyctiol, p-coumaric acid in the extract of *Mentha piperita*, in the extract of *Mentha spicata L.* luteolin and rosmarinic acid were identified in high concentrations and in *Salvia officinalis*'s extract hydrobenzoic acid was the abundant. Concerning the antioxidant activity, the extract of *Mentha piperita L.* had the highest measured value and the higher concentration in total phenolics. All three samples showed significant antioxidant activity and concentration in total phenolics.

**Key words: flavonoids, plant extracts, HPLC-DAD, DPPH, Folin-Ciocalteu**

## Περιεχόμενα

1	Εισαγωγή.....	9
1.1	Mentha Lamiaceae .....	11
1.1.1	Μέντα-Δυόσμος ( <i>Mentha-Spearmint</i> ) .....	11
1.1.2	Ιστορική αναδρομή.....	13
1.1.3	Μορφολογία και Πολλαπλασιασμός .....	14
1.1.4	Εποχικότητα και κλίμα.....	15
1.1.5	Ποιοτικά χαρακτηριστικά εδάφους .....	15
1.1.6	Λίπανση .....	16
1.1.7	Άρδευση .....	16
1.1.8	Παράσιτα και ασθένειες.....	16
1.1.9	Ευεργετικές ιδιότητες.....	17
1.1.10	Χρήσεις ( τεχνολογικές και μη τεχνολογικές) .....	17
1.2	Φασκόμηλο .....	18
1.2.1	Ιστορία.....	19
1.2.2	Μορφολογία και αναπαραγωγή.....	19
1.2.3	Κλίμα και εποχικότητα.....	21
1.2.4	Ποιοτικά χαρακτηριστικά εδάφους .....	21
1.2.5	Λίπανση .....	22
1.2.6	Άρδευση .....	22
1.2.7	Εχθροί – Ασθένειες.....	22
1.2.8	Ευεργετικές δράσεις.....	23
1.2.9	Χρήσεις (τεχνολογικές και μη τεχνολογικές) .....	24
1.3	Πολυφαινόλες .....	24
1.3.1	Φλαβονοειδή.....	27
1.4	Ταυτοποίηση πολυφαινολών με τη χρήση Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Πιέσεως / Ανιχνευτή συστοιχίας διοδίων (HPLC-DAD).....	29
1.4.1	Ιστορική αναδρομή και σύστημα της HPLC .....	29
1.4.2	Αρχή Μεθόδου .....	29
1.5	Αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο DPPH (2,2-διφαινυλ-1-πικρυλδραζύλιο) ...	31
1.6	Προσδιορισμός ολικών φαινολικών με μέθοδο Folin-Ciocalteu .....	33
2	Πειραματικό μέρος.....	35
2.1	Πρότυπα και αντιδραστήρια .....	35
2.2	Διαδικασία εκχύλισης και προετοιμασίας του δείγματος.....	35
2.3	Μέθοδος RP-HPLC-DAD .....	36
2.4	Μέθοδος DPPH .....	37

2.5	Μέθοδος Folin-Ciocalteu .....	37
3	Αποτελέσματα.....	38
3.1	Αποτελέσματα RP-HPLC-DAD .....	38
3.2	Αποτελέσματα δοκιμής DPPH.....	44
3.3	Αποτελέσματα της δοκιμής Folin-Ciocalteu .....	49
4	Συμπεράσματα.....	51
5	Βιβλιογραφία .....	53



## 1 Εισαγωγή

Τα φυτικά εκχυλίσματα αποτελούν ένα υδατικό σύστημα που παραλαμβάνεται από την εκχύλιση ορισμένων φυτών με τη χρήση, συνήθως, ενός διαλύτη ή μιας τεχνικής εκχύλισης. Τα φυτικά εκχυλίσματα προσελκύουν το ενδιαφέρον των ερευνητών τόσο από ιατρικής όσο κι από τεχνολογικής άποψης. Ωστόσο, η ανακάλυψή τους δεν είναι σύγχρονη, αλλά η εκτίμηση της αξίας τους δρομολογείται δεκάδες χρόνια πριν.

Αναφέρεται ότι η πρώτη χρήση φυτικών εκχυλισμάτων εντοπίζεται στη Μεσοποταμία το 2600 π.Χ. Έλαια κέδρου, κυπαρισσιού, γλυκόριζας, σμύρνας και χυμού παπαρούνας χρησιμοποιήθηκαν για ασθένειες όπως ο βήχας αλλά και για λοιμώξεις και φλεγμονές (Gurib-Fakim et al., 2006). Στις αρχές όταν πρώτο- ανακαλύφθηκαν οι θεραπευτικές τους ιδιότητες, οι άνθρωποι δεν μπορούσαν να κατανοήσουν τον τρόπο με τον οποίο δρούσαν και προλάμβαναν τις ασθένειες. Θεωρούσαν ότι αποτελούσαν μάγια, δεισιδαιμονίες και σε ορισμένες περιπτώσεις μια «διεπαφή» επικοινωνίας ανώτερων όντων με τους ανθρώπους (Gurib-Fakim et al., 2006). Όμως, με το πέρασμα των χρόνων οι ερευνητές μπόρεσαν να κατανοήσουν, εν μέρει, τον τρόπο λειτουργίας τους και διενέργησαν πληθώρα πειραμάτων για να εξακριβώσουν ορισμένες από τις υποθέσεις τους.

Σήμερα, έχουν «αποκωδικοποιηθεί» κάποιες, από τις ευεργετικές τους ιδιότητες. Χαρακτηριστικά, μέσα από μελέτες αναφέρεται ότι έχουν αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική, αντιμεταλλαξιογόνο και αντιμικροβιακή δράση (Lin Zhang et al., 2011), (W.R. Sawadogo et al., 2012), (Emmanoel Vilaça Costa a et al., 2012). Παρ' όλα αυτά, ακόμη παραμένουν αναπάντητα ερευνητικά ερωτήματα ως προς την καταπολέμηση συγκεκριμένων παθήσεων και την καταλληλότητά τους για καθημερινή χρήση (Talalay & Talalay et al., 2001). Γι' αυτό οι παθόντες θα πρέπει να αναζητούν ιατρική συμβουλή και σε καμία περίπτωση να μην αυτενεργούν.

Όλες αυτές οι ευεργετικές δράσεις που μπορεί να έχουν τα φυτικά εκχυλίσματα στον άνθρωπο, οφείλονται σε βιοδραστικές ουσίες οι οποίες έχουν κλινικά αποδεδειγμένη και τεκμηριωμένη αποτελεσματικότητα έναντι σε μια σειρά παθήσεων, όπως ο καρκίνος, οι καρδιοπάθειες, τα αναπνευστικά προβλήματα κλπ. Οι βιοδραστικές ουσίες αποτελούν ένα είδος χημικής ένωσης που απαντάται σε μικρές συγκεντρώσεις στα φυτά και τα τρόφιμα (Commission, 2020). Οι κύριες κατηγορίες ενώσεων που συναντώνται στα φυτικά εκχυλίσματα είναι από τη μία τα τερπένια και τα τερπενοειδή και από την άλλη οι αρωματικές και οι αλειφατικές ενώσεις. (F. Bakkali et al., 2008)

Παρ' όλο που ορισμένα φυτικά εκχυλίσματα έχουν αποδεδειγμένα θεραπευτική δράση και χρησιμοποιούνται κατά κόρον για την καταπολέμηση μερικών παθήσεων, τα αιθέρια έλαιά τους είναι αυτά που έχουν το έντονο τεχνολογικό ενδιαφέρον. Τα αιθέρια έλαια είναι τα εκχυλισμένα προϊόντα που παραλαμβάνονται από τα φυτά, κυρίως των εύκρατων - θερμών και τροπικών περιοχών, και αποτελούν ένα πολυσύνθετο μίγμα ενώσεων με ιδιαίτερα πτητικές ενώσεις που τους προσδίδουν τη χαρακτηριστική τους οσμή (F. Bakkali et al., 2008). Γενικότερα, χρησιμοποιούνται ευρέως ως βακτηριοκτόνα, μυκητοκτόνα, ιοκτόνα, ως αντιπαρασιτικά, για τη διαύγαση του αέρα (αρωματικά σπρέι δωματίων), στις φαρμακοβιομηχανίες, για καλλυντικά (αρώματα και προϊόντα περιποίησης), στη γεωργία, στη βιομηχανία τροφίμων καθώς κι ως ενισχυτικά γεύσεων (F. Bakkali et al., 2008), (C. ROTA et al., 2004), (Ashafa et al., 2009).

Αξιοσημείωτο ενδιαφέρον παρουσιάζει η χρήση τους στη βιομηχανία τροφίμων και η «στροφή» των καταναλωτικών τάσεων (Márcio Carochoa, 2018). Συγκεκριμένα, οι καταναλωτές ζητούν μονίμως πιο υγιεινά προϊόντα και «πιέζουν» τις βιομηχανίες να απαλλάξουν τα προϊόντα τους από συνθετικά αντιοξειδωτικά. Επομένως, οι καταναλωτές, εν ολίγοις, ζητούν τα προϊόντα τους να είναι όσο το δυνατόν πιο φυσικά, ανεξάρτητα από το αν αυτό είναι δυνατό ή όχι. Η ζήτηση αυτή επέφερε και πληθώρα ερευνητικών ερωτημάτων για το αν

θα μπορούσαν τα αιθέρια έλαια να χρησιμοποιηθούν από τις βιομηχανίες τροφίμων με τρόπους διαφορετικούς από τους συμβατικούς (συντήρηση, ενεργές συσκευασίες κλπ.).

Στόχος της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η εξέταση των εκχυλισμάτων των *Menta piperita L.*, *Mentha spicata L.*, *Salvia officinalis* και ο προσδιορισμός μιας σειράς φαινολικών ενώσεων που μπορεί να περιέχονται και των συγκεντρώσεων τους, της αντιοξειδωτικής τους δράσης καθώς και της συνολικής περιεκτικότητας των δειγμάτων σε φαινολικά.

## 1.1 Mentha Lamiaceae

Η οικογένεια των χειλανθών αποτελείται από πληθώρα αρωματικών φυτών. Αναφέρεται ότι εντοπίζονται πάνω από 3500 είδη που ανήκουν στην οικογένεια (S Kokkini et al., 2003). Μερικά από τα σημαντικότερα είναι τα εξής: *Mentha piperita L.*, *Mentha spicata L.*, *Mentha officinalis L.*, *Mentha arvensis L.*, *Mentha longifolia L.*, *Mentha aquatic L.* (Soňa Škronánková et al., 2012), (Fatima Brahmi et al., 2017). Αποτελούν κατά κύριο λόγω ετήσια ή πολυετή φυτά, σε μορφή θάμνων. Συνήθως ο βλαστός τους είναι μαλακός και πράσινος και αποτελούνται από πολυπληθή αδενικά τριχώματα (S Kokkini et al, 2003). Γενικότερα εντοπίζονται στο Μεσογειακό χώρο. Οι κύριες χρήσεις τους είναι ως αφεψήματα, πρόσθετα κατά το μαγείρεμα και θεραπευτικά. Τέλος παρουσιάζουν μεγάλο εμπορικό ενδιαφέρον λόγω της σύστασης των αιθέριων ελαίων τους.

### 1.1.1 Μέντα-Δυόσμος (*Mentha-Spearmint*)

Η μέντα και ο δυόσμος θεωρούνται δύο από τα χαρακτηριστικότερα αρωματικά φυτά. Αποτελούν ιδιαίτερα είδη φυτών λόγω της ισχυρής οσμής που προσδίδουν στο περιβάλλον και του

μεγάλου τεχνολογικού ενδιαφέροντός τους. Ανήκουν στην οικογένεια των χειλανθών ή ως προς τον αγγλικό του όρο *Lamiaceae*, και σύμφωνα με την διαδικτυακή βάση δεδομένων «Φυτά του Κόσμου στο Διαδίκτυο» από την Royal Botanic Gardens, Kew, για το έτος 2020, αναγνωρίζονται 24 είδη του γένους *Mentha* (The Royal Botanic Gardens, 2017). Κατά κύριο λόγο είναι πολυετή βότανα, αλλά σπανίως μπορεί να βρεθούν και ως ετήσια, ως υποθάμνοι ή ως θάμνοι. (The Royal Botanic Gardens, 2017) (Fatiha Brahmi et al., 2017) Καλλιεργούνται σε πολλά μέρη του κόσμου από την Ευρώπη, τη Βόρεια Αμερική και την Ασία μέχρι την Αυστραλία και την Αφρική. (Bahare Salehi et al., 2018). Όμως, τα τελευταία χρόνια αναφέρεται ότι η καλλιέργειά τους έχει διαδοθεί σε ολόκληρο τον κόσμο λόγω της δυνατότητας ανάπτυξής τους σε διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες (M.L.Chávez-González R.Rodríguez-Herrera C.N.Aguilar et al., 2016). (Bahare Salehi et al., 2018) (Fatiha Brahmi et al., 2017).



**Εικόνα 1:** *Mentha piperita* L. (Lim et al., 2018)



**Εικόνα 2:** *Mentha aquatica* L. (Wikispecies, 2021 )

### 1.1.2 Ιστορική αναδρομή

Η προέλευση της λέξης “μέντα” βασίζεται στη λατινική λέξη *mentha*, η οποία οφείλει το όνομα της στην αρχαιοελληνική λέξη μίνθη. (ΚΟΛΟΠΤΑΣ, 2018). Η μίνθη προήλθε ως απότοκο της ελληνικής μυθολογίας για τη Μίνθη, κόρη του Κωκυτού. Σύμφωνα με τις πηγές, η

Μίνθη και ο Πλούτωνας σύναψαν εξωσυζυγική σχέση, που αυτό είχε σαν αποτέλεσμα την οργή της Περσεφόνης, σύζυγος του Πλούτωνα, μόλις το αντιλήφθηκε. Οι απόψεις εδώ δίστανται ως προς το τι έγινε μετά. Χαρακτηριστικά, η μία εκδοχή αναφέρει ότι η Περσεφώνη παραπονέθηκε στη μητέρα της Δήμητρα, η οποία ήταν θεά της Γεωργίας, και μεταμόρφωσε τη Μίνθη στο ομώνυμο αρωματικό φυτό Μίνθη ή αλλιώς Μέντα. Η άλλη εκδοχή αναφέρει ότι η ασυγκράτητη οργή της Περσεφόνης την ώθησε στο να συνθλίψει τη Μίνθη και ο Άδης-Πλούτωνας χρησιμοποίησε τη σκόνη που είχε απομείνει από το σώμα της Μίνθης για να τη μεταμορφώσει στο γνωστό αρωματικό φυτό. (Μήττα, 2012) (Βικιπαιδεία, 2021)

### 1.1.3 Μορφολογία και Πολλαπλασιασμός

Τα είδη της μέντας είναι ποώδη φυτά τα οποία αναπτύσσονται από 10-120 cm. Τα στελέχη τους είναι συνήθως ριζοματώδη και τετραγωνικά. Τα φύλλα τους συνήθως μπορεί να είναι ολόκληρα, αντίθετα, οδοντωτά με μίσχο ή χωρίς μίσχο. Τα χρώμα των φύλλων τους ποικίλει από την ένταση των χρωμάτων τους έως και τις διαφορετικές αποχρώσεις(διακυμάνσεις πράσινου, μπλέ, μωβ ακόμη και κίτρινο). (The Royal Botanic Gardens, 2017) (Wikipedia, 2022) (Λάππα, 2013) (Fatih Brahmi et al., 2017)

Ως προς την αναπαραγωγή τους, συνήθως αναπαράγονται με μοσχεύματα ή φυτάρια μικροπολλαπλασιασμού. Ο πιο ενδεδειγμένος τρόπος είναι με ριζώματα, υπόγεια οριζόντια ανάπτυξη των βλαστών. (ΚΟΛΟΠΤΑΣ, 2018), (Λάππα, 2013), (Μυρεψός, 2011). Επιπλέον θεωρούνται «διεισδυτικά» φυτά λόγω του ότι έχουν την τάση ,κατά την ανάπτυξης τους, να εξαπλώνονται ταχέως και μη ελεγχόμενα. (Fatih Brahmi et al., 2017)



#### 1.1.4 Εποχικότητα και κλίμα

Η μέντα όπως αναφέρθηκε προηγουμένως έχει τη δυνατότητα να αναπτύσσεται σε πληθώρα περιβαλλοντικών συνθηκών αλλά το κάθε είδος μπορεί να ευδοκιμεί και σε ελαφρώς διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες. Για παράδειγμα, Η *Mentha arvensis* L. ή αλλιώς η Ιαπωνική Μέντα έχει τη δυνατότητα ανάπτυξης σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές, με σημαντικό εμπορικό όφελος, κάτι για το οποίο δεν ισχύει στη περίπτωση της *Mentha piperita* L. Η *Mentha piperita* L., ένα υβρίδιο του γένους της μέντας κι ένα από τα πλέον γνωστά είδη, καλλιεργείται σε δροσερές έως εύκρατες περιοχές για μεγάλη απόδοση σε ξηρό βάρος και αιθέρια έλαια (Bahare Salehi et al., 2018) (Sahu). Βέβαια η απόδοση σε αιθέρια έλαια είναι κάτι το οποίο επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες κι έχουν άμεση εξάρτηση από την ποικιλία και τη σύσταση του εδάφους. Ως προς την εποχικότητα γενικότερα μπορεί να καλλιεργηθεί είτε την άνοιξη είτε τον χειμώνα, με τις αντίστοιχες διακυμάνσεις στη ποιότητα. Την άνοιξη γενικότερα παρατηρούνται καλύτερα αποτελέσματα, ως προς την απόδοση, λόγω της ιδανικής ανάπτυξης της μέντας μεταξύ 20-40° C. (University). Η πλήρης ανάπτυξη της μέντας μέχρι την πρώτη συγκομιδή απαιτεί 100-120 ημέρες (University).

#### 1.1.5 Ποιοτικά χαρακτηριστικά εδάφους

Γενικότερα η μέντα αποτελεί ένα ιδιαίτερο φυτό το οποίο έχει μεγάλη ανοχή ως προς την ποιοτική σύσταση του εδάφους. Παρ' όλα αυτά, ιδανικά θα πρέπει να καλλιεργούνται σε βαθιά, γόνιμα, καλά αποστραγγισμένα και πλούσια σε χούμο εδάφη. Ιδιαίτερη μέριμνα λαμβάνεται για τη σχετική υγρασία του εδάφους, προκειμένου να αποφευχθεί η πλήρης υδάτωσή της, αλλά παράλληλα να είναι στα

κατάλληλα επίπεδα για την επιθυμητή δροσιά. ( BBC Gardeners' World Magazine, 2020), (ΚΟΛΟΠΤΑΣ, 2018), (Bahare Salehi et al., 2018). Ιδιαίτερα σημαντική παράμετρος είναι και η τιμή του pH του εδάφους, η οποία πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ των τιμών 6-7,5 για να επιτευχθούν οι βέλτιστες συνθήκες ως προς την απόδοση ( ξηρό βάρος, αιθέρια έλαια κλπ.). (Shukla, Haseeb, & Srivastava, 1997), (Bahare Salehi et al., 2018), (ΚΟΛΟΠΤΑΣ, 2018), (Κυνηγάκης, 2003-2008), (Jorge A. Ringuelet et al., 2008).

#### 1.1.6 Λίπανση

Ως προς τη λίπανση το έδαφος χρειάζεται να είναι πλούσιο σε άζωτο (N), με ικανοποιητικές ποσότητες φωσφόρου και καλίου με σκοπό την καλύτερη απόδοση της μέντας και των αιθέριων ελαίων.

#### 1.1.7 Άρδευση

Ως προς τη ζήτηση σε νερό η μέντα απαιτεί συχνό πότισμα, της τάξεως μιας φοράς κάθε 10-15 ημέρες. Σε περιόδους υψηλών θερμοκρασιών (καλοκαίρι) απαιτούν διεξοδικό πότισμα ( τρεις φορές την εβδομάδα). Σε κάθε περίπτωση θα πρέπει να ληφθεί μέριμνα , όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, ώστε το έδαφος να παραμένει υγρό χωρίς όμως να είναι πλήρως ενυδατωμένο. (ΚΟΛΟΠΤΑΣ, 2018), (Bahare Salehi et al., 2018). Τέλος, η βροχόπτωση θα ήταν συνετό να κυμαίνεται μεταξύ 100-110 cm. (University) (Bahare Salehi et al., 2018).

#### 1.1.8 Παράσιτα και ασθένειες

Η μέντα όπως και πολλά φυτά, είναι επιρρεπή σε ασθένειες και βιοτικούς παράγοντες, όπως μύκητες, βακτήρια, νηματοειδή, ιοί και φυτοπλάσματα τα οποία έχουν δυσμενείς επιπτώσεις τόσο στο ίδιο το φυτό όσο και στην ποιότητα των εξαγόμενων αιθέριων ελαίων. (A. Kalra



et al., 2008), (Bahare Salehi et al., 2018). Ο έλεγχος τους συνήθως γίνεται με τις ορθές γεωργικές πρακτικές και τη χρήση χημικών ουσιών.

#### 1.1.9 Ευεργετικές ιδιότητες

Η μέντα αποτελεί ένα διαχρονικό αρωματικό φυτό στο οποίο, από την αρχαιότητα, του απέδιδαν θεραπευτικές ιδιότητες. Θεωρείται ότι έχει αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις, αναλγητικές, αντικαρκινικές, αντιδιαρροϊκές και κυτοτοξικές ιδιότητες (Karr, 2015), (Κυνηγάκης, 2003-2008), (Fatih Brahmi et al., 2017). Η τελευταία ιδιότητα είναι ιδιαίτερα σημαντική γιατί δυνητικά μπορεί να υποβοηθήσει στη δημιουργία αντικαρκινικών φαρμάκων (Fatih Brahmi et al., 2017). Οι ιδιότητές τους οφείλονται σε δευτερογενείς μεταβολίτες οι οποίοι περιλαμβάνουν μια σειρά ενώσεων όπως οι φαινολικές ενώσεις, τα καρτενοειδή, το ασκορβικό οξύ αλλά, πιθανώς, κι άλλες ενώσεις οι οποίες έχουν σημαντική αντιοξειδωτική ικανότητα κι όχι μόνο. Για παράδειγμα σε μια έρευνα βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ του ολικού περιεχομένου σε καρτενοειδή και της αναγωγικής ικανότητας των εκχυλισμάτων μέντας. (Yun Ji Park et al., 2019)

#### 1.1.10 Χρήσεις ( τεχνολογικές και μη τεχνολογικές)

Ως προς τις χρήσεις της, η μέντα ήταν κατεξοχήν ένα παραδοσιακό φάρμακο το οποίο χρησιμοποιούνταν για την αντιμετώπιση πονοκεφάλων, πυρετού, εντερικών διαταραχών καθώς και ως μπαχαρικό στη μαγειρική (Bahare Salehi et al., 2018). Βέβαια αναφέρεται ότι και από το 1300 είχαν ανακαλυφθεί κι άλλες χρήσεις, όπως η λεύκανση θαμπών αλλά και λεκιασμένων δοντιών. (Sameer Shaikh et al., 2014). Η μέντα έχει μεγάλο εμπορικό ενδιαφέρον και ιδιαίτερα το αιθέριο έλαιο της το οποίο χρησιμοποιείται στη ζαχαροπλαστική, στην ποτοποιία, παραγωγή οδοντόκρεμας, τσίχλας, στα καλλυντικά, ως εντομοκτόνο,

αντιμικροβιακό, ως θεραπευτικό σε μυκητιάσεις και βακτηριακές λοιμώξεις του ανθρώπινου δέρματος, ως αναλγητικό και μια σειρά άλλες θεραπευτικές ιδιότητες οι οποίες συμπεριλαμβάνονται στον τομέα της φαρμακοβιομηχανίας. (Bahare Salehi et al., 2018) (ΚΟΛΟΠΤΑΣ, 2018) (Karr, 2015) (Λάππα, 2013). Μια έρευνα αναφέρει ότι επιτεύχθηκε σημαντική μείωση του πληθυσμού και της ανάπτυξης των *Salmonella enteritidis* και *Staphylococcus aureus* με τη χρήση αιθέριου ελαίου της *Mentha piperita* (Tassou et al., 2000).

Μια αξιοσημείωτη ένωση στα εκχυλίσματα μέντας είναι η μενθόλη, μια ένωση με μεγάλο εμπορικό ενδιαφέρον. Η μενθόλη και τα ισομερή της έχουν το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό να προσδίδουν φρεσκάδα κατά την κατανάλωσή της. Η αίσθηση αυτή οφείλεται στην ενεργοποίηση των υποδοχέων της γλώσσας που είναι υπεύθυνοι για την αίσθηση του κρύου (Karr, 2015). Ο κλάδος στον οποίο αξιοποιείται αυτό το χαρακτηριστικό κατά κόρον είναι οι βιομηχανίες παραγωγής τσίχλας.

Τέλος αναφέρεται ότι η μέντα μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως συντηρητικό τροφίμων. Σε μια έρευνα βρέθηκε ότι το εκχύλισμα της *Mentha suaveolens*, περιέχει βιοδραστικές ενώσεις οι οποίες ενδεχομένως να είναι κατάλληλες για να δράσουν ως συντηρητικά στα τρόφιμα (Bouyahya A et al., 2019).

## 1.2 Φασκόμηλο

Το φασκόμηλο αποτελεί ένα αρωματικό φυτό το οποίο μαζί με τη μέντα ανήκουν στην οικογένεια των χειλανθών ή Lamiaceae/Labiateae. Αναφέρεται ότι υπάρχει πληθώρα ειδών φασκόμηλου και χαρακτηριστικά υποστηρίζεται ότι το γένος *Salvia* προσμετρά πάνω από 900 είδη (Ahmad Ghorbani et al., 2017). Είναι πολυετές φυτό και κατά κύριο λόγο αποτελεί γηγενές φυτό των μεσογειακών χωρών. Παρ' όλα αυτά η καλλιέργειά του έχει επεκταθεί και σε άλλες χώρες του κόσμου λόγω του τεχνολογικού ενδιαφέροντός του.

### 1.2.1 Ιστορία

Το φασκόμηλο αποτελεί ένα αρχέγονο φυτό το οποίο αξιοποιούνταν από την αρχαιότητα. Υπάρχουν ευρήματα που υποστηρίζουν ότι από την Ρωμαϊκή εποχή χρησιμοποιούνται. Άλλα ευρήματα αναφέρουν ότι χρησιμοποιούνταν πάρα πολύ τον μεσαίωνα και είχε ιδιαίτερα μεγάλη φήμη για τις θεραπευτικές του ιδιότητες. Εν κατακλείδι η ιστορία του φασκόμηλου ξεκινάει από παλιά και οι χρήσεις του μέσα στο χρονικό διάστημα ποικίλουν, από γούρι, για την αύξηση της γονιμότητας στις γυναίκες, φλεγμονές στο στόμα την γλώσσα κλπ. έως και τη χρήση τους στη μαγειρική και την ομοιοπαθητική.

### 1.2.2 Μορφολογία και αναπαραγωγή

Όπως προαναφέρθηκε το φασκόμηλο αποτελεί ένα πολυετές φυτό, μορφής θάμνου, συγκεκριμένα αναφέρεται ως υποθάμνος λόγω ορισμένων διαφοροποιημένων χαρακτηριστικών του φυτού από τους «τυπικούς» θάμνους (χαμηλή ανάπτυξη κλπ.). Τυπικά το μέσο ύψος τους κυμαίνεται από δύο πόδια έως τα δυόμιση πόδια (60-62 εκατοστά κατά εκτίμηση) (Wikipedia, 2022), (Wisconsin Horticulture Division of Extension, n.d.). Οι μίσχοι του είναι κατά κύριο λόγο ξυλώδεις, τα φύλλα του έχουν μια τραχεία και γκριζωπή χροιά ενώ τα άνθη του μπορεί να έχουν διαφορετικούς χρωματισμούς που οφείλονται στο εκάστοτε είδος. Για παράδειγμα το άνθος του *Salvia officinalis* είναι ροζ ενώ της *Salvia guaranitica* μωβ (Webber, 2022).

Οι συνήθεις τρόποι πολλαπλασιασμού του είναι η διαίρεση, στρωματοποίηση και από μοσχεύματα του μίσχου τους. (Wisconsin Horticulture Division of Extension, χ.χ.)



Εικόνα 3: *Salvia officinalis* L. (robin's yard, 2012)



Εικόνα 4: *Salvia guaranitica* L. (Foil, 2009)

### 1.2.3 Κλίμα και εποχικότητα

Ως προς τις κλιματολογικές συνθήκες το φασκόμηλο αναπτύσσεται καλύτερα με την απευθείας έκθεση ολόκληρου του φυτού στον ήλιο ή ακόμη και με μερική του έκθεση (συνδυασμός σκιάς και ήλιου) (Wisconsin Horticulture Division of Extension, χ.χ.) (GardenersHQ, 2005-2022). Βέβαια, έχει τη δυνατότητα να αναπτύσσεται και σε ψυχρότερα περιβάλλοντα όταν η έκθεση είναι παροδική (Κυνηγάκης, 2003-2008), (WIKIFARMER, 2017-2022). Γι' αυτό το λόγο συνήθως καλλιεργείται τους φθινοπωρινούς μήνες (Οκτώβρη-Νοέμβρη) με σκοπό την ανάπτυξή του κατά την άνοιξη και τις αρχές του καλοκαιριού (Μάιο-Ιούνιο) όπου πραγματοποιείται η ανθοφορία του και δίνει μεγαλύτερες αποδόσεις τόσο σε ξηρό όσο και σε υγρό βάρος (Κυνηγάκης, 2003-2008). Βέβαια λόγω της δυνατότητας του να αναπτύσσεται σε διαφορετικά υψόμετρα, που κυμαίνονται από 0-1500 μέτρα, η περίοδος συγκομιδής αλλάζει σύμφωνα με τις υψομετρικές συνθήκες. Για παράδειγμα, στις ορεινές περιοχές συνηθίζεται η συγκομιδή να πραγματοποιείται στις αρχές του καλοκαιριού ενώ σε περιοχές με χαμηλότερο υψόμετρο κατά τα μέσα της άνοιξης (Απρίλιος) (ΣΤ.Π.ΚΑΠΛΑΝΟΓΛΟΥ, 2013), (ΚΟΛΟΠΤΑΣ, 2018).

### 1.2.4 Ποιοτικά χαρακτηριστικά εδάφους

Το φασκόμηλο αποτελεί ένα ιδιαίτερα ανεκτικό, στις ποικίλες περιβαλλοντικές συνθήκες, φυτό το οποίο έχει τη δυνατότητα της εύκολης προσαρμογής στα διαφορετικά εδάφη. Η μόνη απαίτηση που έχει είναι το καλά στραγγισμένο έδαφος. Ως προς τα συστατικά του εδάφους δεν έχει κάποια απαίτηση κι έχει τη δυνατότητα να αναπτύσσεται ακόμη και σε εδάφη με ελάχιστα θρεπτικά συστατικά (WIKIFARMER, 2017-2022). Για καλύτερη απόδοση αναφέρεται ότι τα

αργιλώδη εδάφη είναι τα πλέον κατάλληλα (GardenersHQ, 2005-2022). Το βέλτιστο pH ανάπτυξής τους, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία κυμαίνεται από 6 έως 7 (GardenersHQ, 2005-2022), (Κυνηγάκης, 2003-2008), (ΣΤ.Π.ΚΑΠΛΑΝΟΓΛΟΥ, 2013), (WIKIFARMER, 2017-2022).

#### 1.2.5 Λίπανση

Όπως προαναφέρθηκε το φασκόμηλο έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε εδάφη φτωχά σε θρεπτικά συστατικά, επομένως η χρήση λιπάσματος δεν εξυπηρετεί. Παρ' όλα αυτά αναφέρεται στη βιβλιογραφία ότι οι αυξητικές τάσεις ως προς τη χρήση αρωματικών φυτών έχουν κάνει επιτακτική την αύξηση της απόδοσης που παρέχει η κάθε καλλιέργεια μέχρι το τέλος της ζωής της (WIKIFARMER, 2017-2022). Δεν υπάρχει κάποια επίσημη σύσταση ως προς τη χρήση και την αναλογία των λιπασμάτων σε θρεπτικά συστατικά και γι' αυτό συνήθως απαιτούνται λεπτομερείς μελέτες των περιβαλλοντικών συνθήκων όπου αναπτύσσεται η καλλιέργεια (WIKIFARMER, 2017-2022).

#### 1.2.6 Άρδευση

Οι απαιτήσεις του φασκόμηλου σε νερό είναι μηδαμινές κάτι που επιβεβαιώνεται από την ανθεκτικότητα του στις περιβαλλοντικές συνθήκες. Η άρδευση συνηθίζεται να πραγματοποιείται με σκοπό την αναγέννηση του φυτού σε περίπτωση που η συγκομιδή είναι επαναλαμβανόμενη.

#### 1.2.7 Εχθροί – Ασθένειες

Το μεγαλύτερο πρόβλημα που μαστίζει τις καλλιέργειες φασκόμηλου είναι τα ζιζάνια (WIKIFARMER, 2017-2022), (ΣΤ.Π.ΚΑΠΛΑΝΟΓΛΟΥ, 2013). Με τα απαραίτητα μέτρα μπορούν να εξαλειφθούν/περιοριστούν από τις καλλιέργειες. Ένα άλλο πρόβλημα αποτελεί η προσβολή τους από

μελίγκρες/φυτοψείρες ή αφίδες καθώς και από παθογόνους μύκητες , στην περίπτωση που το έδαφος έχει υψηλά επίπεδα υγρασίας λόγω υπέρμετρης άρδευσης, που προκαλούν την εμφάνιση του φαινομένου της σηψιρριζίας (WIKIFARMER, 2017-2022). Σε κάθε περίπτωση η καλλιέργεια μπορεί να προφυλαχθεί με τις σωστές τεχνικές.

#### 1.2.8 Ευεργετικές δράσεις

Το φασκόμηλο από την αρχαιότητα χρησιμοποιούντο για τις θεραπευτικές του ιδιότητες. Εξάλλου η επιστημονική ονομασία του γένους του φασκόμηλου, *Salvia*, μεταφράζεται ως «κάτι που είναι καλό για την υγεία» ή «κάτι λυτρωτικό». Αναφέρεται ότι το φασκόμηλο αξιοποιούνταν από τους αρχαίους Έλληνες ως γνωστικό ενισχυτικό ή ως θεραπευτικό για τη μείωση των γνωστικών ικανοτήτων. Στη σύγχρονη εποχή γίνονται δοκιμές ως προς την καταπολέμηση ανίατων ασθενειών όπως το Alzheimer. Μια έρευνα αναφέρει ότι με την άμεση χορήγηση εκχυλισμάτων ή αιθέριων ελαίων φασκόμηλου σε υγιείς ανθρώπους παρατηρήθηκε, βελτιωμένη μνήμη, προσοχή/ εκτελεστική λειτουργία και διάθεση (David O. Kennedy et al., 2011). Υπάρχουν αναφορές για τη μελέτη της αντικαρκινικής, αντιοξειδωτικής, αντιφλεγμονώδους δράσης (Ahmad Ghorbani et al., 2017). Μια έρευνα έδειξε ότι η κατάποση τσαγιού από φασκόμηλο δρα προληπτικά στην εμφάνιση καρκίνου του παχέος εντέρου (Dalila F. N. Pedro et al., 2015). Τέλος αναφέρονται και θετικές επιδράσεις σε μεταβολικές δραστηριότητες, όπως είναι η χοληστερόλη, γλυκαιμικός δείκτης, τριγλυκερίδια ορού, LDL χοληστερόλη και της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (πρωτεΐνη η οποία αυξάνεται σε περιπτώσεις που εντοπίζεται κάποια φλεγμονή στο σώμα) (Diego Hernández-Saavedra et al., 2015).

### 1.2.9 Χρήσεις (τεχνολογικές και μη τεχνολογικές)

Οι κυριότερες χρήσεις του φασκόμηλου βασίζονται στη χρήση του ως αφέψημα, ως καλλωπιστικό φυτό, στη μαγειρική ως αρωματικό κρεάτος, σαλάτας, ψαριών φούρνου, σούπας καθώς και κονσερβοποιημένων τροφίμων, για τις θεραπευτικές του ιδιότητες, όπως είναι η φαρυγγίτιδα, άφθες, εντερικές διαταραχές, νευραλγίες κ.α (S Kokkini et al., 2003), (ΣΤ.Π.ΚΑΠΛΑΝΟΓΛΟΥ *et.al*, 2013). Επιπλέον τα αιθέρια έλαια τους χρησιμοποιούνται στην αισθητική για το ιδιαίτερο άρωμα τους σε μια σειρά προϊόντων, από σαπούνια έως αρώματα. Αξιοποιούνται από την ποτοποιία για την ενίσχυση της γεύσης διαφόρων αλκοολικών παρασκευασμάτων καθώς και στη μαγειρική.

### 1.3 Πολυφαινόλες

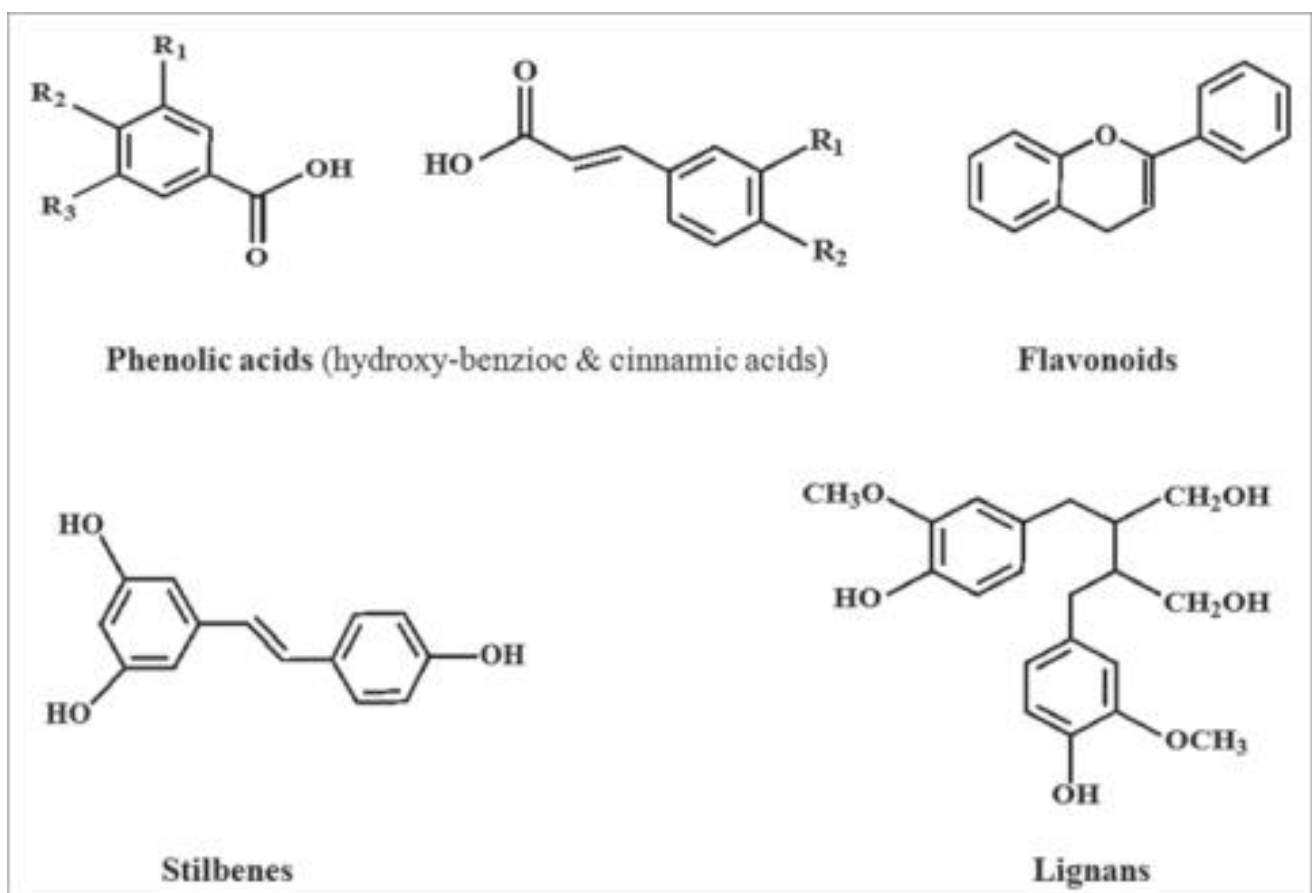
Αποτελούν μια χαρακτηριστική κατηγορία ενώσεων που συχνά εντοπίζονται στο ανθρώπινο διατροφολόγιο. Η κύρια προέλευσή τους είναι τα φυτικά προϊόντα, όπως τα φρούτα, τα λαχανικά, ορισμένα σιτηρά και προϊόντα τους καθώς και αφεψήματα ή ζυμούμενα υγρά προϊόντα και μη (κρασί, τσάι, καφές). Ο κύριος ρόλος τους είναι προστατευτικός. Παράγονται όταν ο ξενιστής, δηλαδή το εν λόγω φυτό, εκτεθεί σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες. Επομένως οι δευτερογενείς μεταβολίτες είναι υπεύθυνοι για την προάσπιση της ανάπτυξης και της αναπαραγωγής των φυτών (Bravo, 1998).

Υπάρχουν πάνω από 8000 ενώσεις πολυφαινολών διαδεδομένες στο φυτικό βασίλειο. Η χημική τους δομή μπορεί να είναι πολύ απλή από έναν αρωματικό δακτύλιο με μια υδροξυλομάδα, έως κι ενώσεις με πολλαπλούς φαινολικούς δακτυλίους και ποικίλους υποκαταστάτες. Με βάση αυτό οι ερευνητές υποδιαίρεσαν τις πολυφαινόλες σε πάνω από 10 κατηγορίες (Bravo, 1998). Όμως οι τέσσερις βασικές κατηγορίες στις οποίες υποδιαιρούνται είναι τα φαινολικά οξέα, τα флаβονοειδή, τα στυλβένια και οι λιγνάνες (**Εικόνα 5**) (Rizvi et al., 2009). Τα φαινολικά οξέα



και τα φλαβονοειδή αποτελούν τις κατά κόρον ευρισκόμενες ενώσεις στο ανθρώπινο διατροφολόγιο.

Τα φαινολικά οξέα αποτελούν το ένα τρίτο των συνολικά ανιχνευμένων πολυφαινολών στην ανθρώπινη διατροφή και συναντιούνται κυρίως σε φρούτα με όξινη γεύση. Υποδιαιρούνται σε δύο κατηγορίες στα 1) παράγωγα του βενζοϊκού οξέος και στα 2) παράγωγα του κινναμονικού οξέος. Ορισμένα από τα πιο κοινά ευρισκόμενα φαινολικά οξέα είναι το καφεϊκό οξύ, το γαλλικό και το φερουλικό οξύ (Rizvi et al., 2009).



Εικόνα 5: Κύριες υποκατηγορίες των πολυφαινολών (Rizvi et al., 2009)

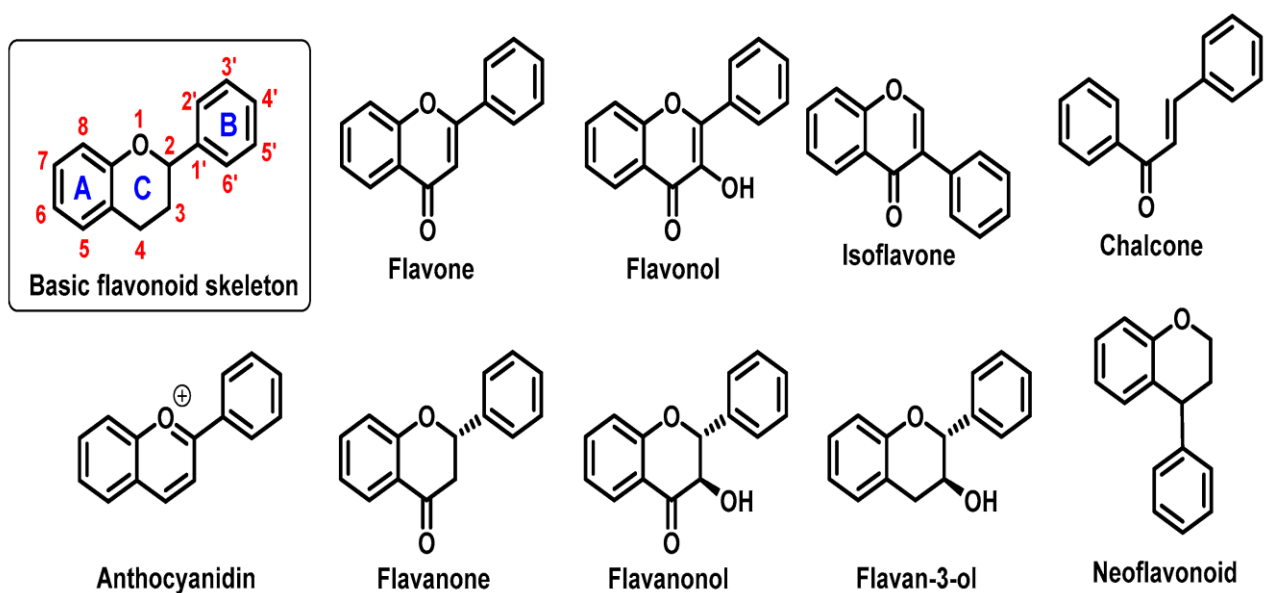
Η θετική συσχέτιση της κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών με την καταπολέμηση του καρκίνου και των καρδιαγγειακών παθήσεων προξένησε το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας. Οι πολυφαινόλες κέντρισαν το ενδιαφέρον των ερευνητών για την εξήγηση του φαινομένου αυτού και έκτοτε έχουν διενεργηθεί δεκάδες μελέτες για την επιβεβαίωσή του. Μια έρευνα εξέτασε πως ένα είδος cranberry πλούσιο σε πολυφαινόλες μπορεί να προστατεύσει από παθήσεις όπως η παχυσαρκία προκαλούμενη από τη διατροφή, την αντίσταση στην ινσουλίνη (τύπου 2 διαβήτη) και την εντερική φλεγμονή σε συνδυασμό με την αύξηση του πληθυσμού των *Akkermansia* spp στα ποντίκια (Anhê et al., 2015). Τα *Akkermansia* spp αποτελούν γένος μικροοργανισμών στη φυσιολογική μικροχλωρίδα του εντέρου που αναφέρεται ότι ενδεχομένως συνεισφέρει σε αντιδιαβητικές ιδιότητες της μετφορμίνης, ενός φαρμάκου για την καταπολέμηση του τύπου 2 διαβήτη (Na-Ri Shin et al., 2013). Η έρευνα έδειξε μειωμένη πρόσληψη βάρους σε διατροφή η οποία ήταν πλούσια σε λιπαρά και με υψηλή περιεκτικότητα σε γλυκόζη, βελτίωσε την ευαισθησία της ινσουλίνης και γενικότερα έδειξε θετικά αποτελέσματα για την αντιμετώπιση διαφόρων μεταβολικών συνδρόμων που προέρχονται από διατροφή πλούσια σε λιπαρά και υδατάνθρακες (Na-Ri Shin et al., 2013). Άλλο παράδειγμα αποτελεί ότι η μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού συνδέεται με χαμηλό κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου (Bravo, 1998).

### 1.3.1 Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή αποτελούν φυσικές ενώσεις που συναντιούνται σε μια σειρά φυτικών προϊόντων και αποτελούν κατεξοχήν γηγενείς ενώσεις που ευρίσκονται σε αρωματικά φυτά. Χαρακτηρίζονται ως δευτερογενείς μεταβολίτες και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των φυτών. Συγκεκριμένα παρέχουν προστασία, σε καταστάσεις στρεσογόνες (βιοτικό και αβιοτικό stress) , κατά τον τραυματισμό τους (πρόκληση ζημιών στους ιστούς), στην έκθεση σε UV ακτινοβολία καθώς και στην ανάπτυξη του χρώματός τους (χρωστικές ορισμένων φυτών) (A. N. Panche et al., 2016), (Marian et al., 2004). Το μεγάλο επιστημονικό ενδιαφέρον προέκυψε λόγω συσχέτισης της κατανάλωσης τροφίμων πλούσιων σε φλαβονοειδή και των θετικών επιδράσεων που μπορεί να έχουν στην υγεία του καταναλωτή. Υπάρχουν αναφορές ότι δρουν προστατευτικά ενάντια σε εκφυλιστικές ασθένειες , όπως ο καρκίνος , σε καρδιαγγειακές παθήσεις και σε νευροεκφυλιστικές παθήσεις (Alzheimer, Parkinson κλπ.) (A. N. Panche et al., 2016), (Tsao, 2010). Γενικότερα αναγνωρίζονται για την προάσπιση της ανθρώπινης ευημερίας αλλά και της πρόληψης. Ειδικότερα τα φλαβονοειδή διακρίνονται για την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, δηλαδή τη δυνατότητα να περιορίζουν τις ελεύθερες ρίζες στον ανθρώπινο οργανισμό (A. N. Panche et al., 2016). Οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν μια κατηγορία ενώσεων ιδιαίτερα δραστικών λόγω του ενός ηλεκτρονίου που έχουν στη στοιβάδα σθένους τους. Αποτελούν δυνητικό κίνδυνο για τον ανθρώπινο οργανισμό λόγω οξειδωτικών μεταβολών που προκαλούν στα κύτταρα. Οι επιπτώσεις αυτές εκδηλώνονται υπό τη μορφή διάφορων ειδών καρκίνου και μεταλλάξεων στο DNA αλλά και σε άλλα μακρομόρια όπως πρωτεΐνες και υδατάνθρακες, που έχουν δυσμενή αντίκτυπο στον άνθρωπο (Mamta Saxena et al., 2012). Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών είναι είτε να διαθέσουν το ελεύθερο ηλεκτρόνιο που

αναζητούν οι ελεύθερες ρίζες είτε να περιορίσουν τους παράγοντες οι οποίοι δημιουργούν ευνοϊκές συνθήκες για την εκκίνηση της αλυσιδωτής αντίδρασης παραγωγής ελευθέρων ριζών (A. N. Panche et al., 2016).

Όσον αφορά τη χημική τους δομή, τα φλαβονοειδή ανήκουν στην κατηγορία των πολυφαινολών, όπως προαναφέρθηκε, με πάνω από 5000 ταυτοποιημένα είδη. Ως προς τη δομή αποτελούνται από πολλαπλούς φαινολικούς δακτυλίους. Συγκεκριμένα αποτελούνται από δεκαπέντε άτομα άνθρακα μοιρασμένα σε δύο αρωματικούς δακτυλίους, οι οποίοι συνδέονται με μια γέφυρα τριών ανθράκων (C6-C3-C6). Ανάλογα με τη σύνδεση του αρωματικού δακτυλίου B, στην γέφυρα των τριών ανθράκων, και τον βαθμό ακορεστότητας και οξείδωσης του τελευταίου, τα φλαβονοειδή μπορούν να διακριθούν σε υποομάδες (A. N. Panche et al., 2016) (Eleonora Corradini et al., 2011). Οι υποομάδες αυτές αποτελούν τις: φλαβόνες, φλαβονόλες, φλαβονόνες, φλαβονονόλες ισοφλαβονοειδή, νεοφλαβονοειδή, κατεχίνες, ανθοκυανίνες και χαλκόνες, (A. N. Panche et al., 2016) (Eleonora Corradini et al., 2011). Στην Εικόνα 6 παρουσιάζονται, η δομή των φλαβονοειδών και ορισμένες υποομάδες τους.



**Εικόνα 6:** Χημική δομή φλαβονοειδών και των υποομάδων τους (Zdeněk Kejík et.al., 2021)

## 1.4 Ταυτοποίηση πολυφαινολών με τη χρήση Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Πιέσεως / Ανιχνευτή συστοιχίας διοδίων (HPLC-DAD)

### 1.4.1 Ιστορική αναδρομή και σύστημα της HPLC

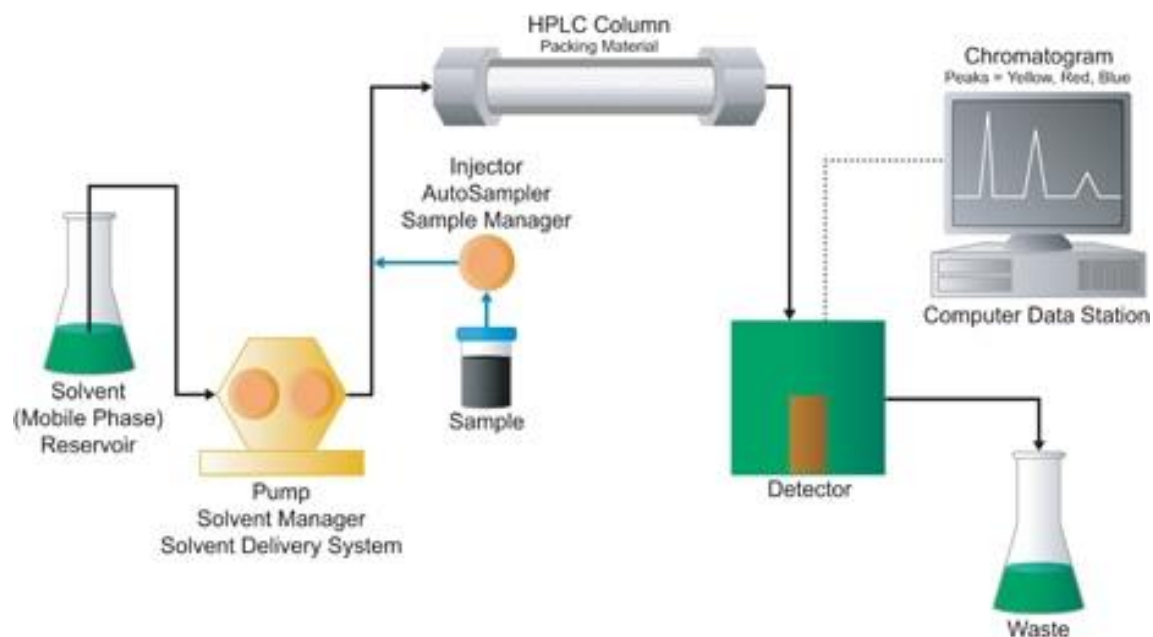
Η ιστορία της χρωματογραφίας ξεκινάει πολλά χρόνια πίσω, όταν το 1903 ο Mikhail Tsvet διαχώρισε τις διαφορετικές χρωστικές των φυτών σε χρωματιστές ταινίες (Academy of Applied Pharmaceutical Sciences, 2019). Σήμερα η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης είναι από τις πιο δημοφιλείς μεθόδους διαχωρισμού. Η HPLC λόγω της απλότητας και του χαμηλού κόστους διεξαγωγής διαχωρισμών προτιμάται από τα περισσότερα αναλυτικά εργαστήρια (Petar Zuvella et al, 2019). Ένα τυπικό σύστημα HPLC αποτελείται από έναν αυτόματο δειγματολήπτη, μια βαθμιδωτή αντλία, φούρνο για τη θέρμανση της χρωματογραφικής στήλης και έναν ανιχνευτή που στη περίπτωση αυτή είναι ανιχνευτής συστοιχίας φωτοδιόδων (DAD) (**Εικόνα 7**).

Έχει ευρεία εφαρμογή για την ανίχνευση μυκοτοξινών, πολυφαινολών στα φυτά και συγκεκριμένα φαινολικών οξέων και φλαβονοειδών (Nicholas W. Turner et al., 2008), (Ali Khoddami et al., 2013), (Beecher et al., 2000) (ROBBINS, 2003).

### 1.4.2 Αρχή Μεθόδου

Για τον προσδιορισμό πολυφαινολών σε φυτικά εκχυλίσματα είναι απαραίτητη η χρήση χρωματογραφικής στήλης αντίστροφης φάσης (RP). Η RP-HPLC είναι ιδανική για τον διαχωρισμό φαινολικών ενώσεων λόγω της μεγάλης πολικότητάς τους. Με τη συγκεκριμένη τεχνική

χρησιμοποιείται στατική φάση μη πολική, συνήθως στήλη C18, και πολικοί διαλύτες ή σύστημα πολικών διαλυτών. Συνήθως χρησιμοποιείται σύστημα διαλυτών όπως νερό, ακετονιτρίλιο και μεθανόλη για να πραγματοποιηθεί βαθμωτή έκλυση. Το πλεονέκτημα της βαθμωτής έκλυσης είναι ο καλύτερος διαχωρισμός των ενώσεων και η παραλαβή χρωματωγραφημάτων με καλύτερη απεικόνιση των διαφορετικών κορυφών. Για την ανίχνευση των ενώσεων χρησιμοποιούνται οι ανιχνευτές. Ο ανιχνευτής που χρησιμοποιείται αξιοποιεί κάποια φυσικοχημική ιδιότητα των ενώσεων. Στη συγκεκριμένη περίπτωση ο ανιχνευτής συστοιχίας φωτοδιόδων έχει τη δυνατότητα να ανιχνεύει ουσίες οι οποίες απορροφούν ενέργεια στην υπεριώδη περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος (200-400nm). Τα φλαβονοειδή λόγω του αρωματικού τους δακτυλίου και των υποκαταστάσεων απορροφούν υπεριώδη ακτινοβολία στα 250 nm-300nm και τα φαινολικά οξέα απορροφούν στα ίδια μήκη κύματος (Radosław Kowalski et al., 2005), (Miroslav Sisa et al., 2010). Τέλος, ο ανιχνευτής δίνει την ένταση της απορρόφησης κάτι το οποίο επιτρέπει την ταυτοποίηση των δευτερογενών μεταβολιτών στο δείγμα, με τη χρήση πρότυπων ουσιών, και την ποσοτικοποίησή τους.



Εικόνα 7: Σύστημα HPLC (Waters)

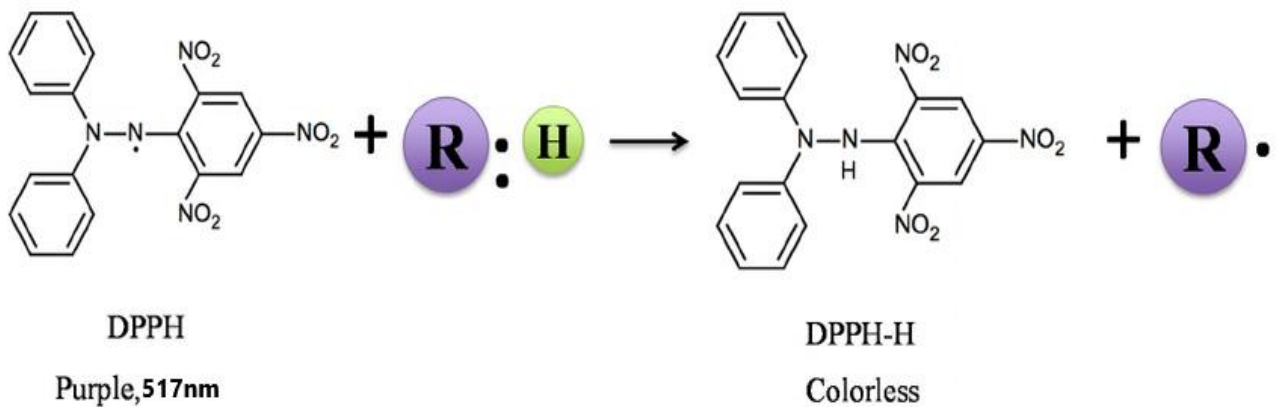
### 1.5 Αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο DPPH (2,2-διφαινυλ-1-πικρυλυδραζύλιο)

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο του DPPH οφείλεται στο 2,2-διφαινυλ-1-πικρυλυδραζύλιο που αποτελεί μια σταθερή ελεύθερη ρίζα οργανικού αζώτου. Έχει χρώμα βαθύ μωβ και απορροφά στην περιοχή του υπεριώδους ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Συγκεκριμένα η απορρόφηση του μετράται στα 517 nm. Όταν η ρίζα αναμειχθεί με διάλυμα το οποίο περιέχει αντιοξειδωτικά το χρώμα της εξασθενεί από βαθύ μωβ έως και κίτρινο για υψηλές συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών. Η αλλαγή του χρώματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του διαλύματος σε αντιοξειδωτικά. Ο μηχανισμός δράσης της ρίζας που προτείνεται είναι διφορούμενος. Ο DEJIAN HUANG και οι

συνάδελφοι του αναφέρουν ότι, μια ομάδα ερευνητών παρατήρησαν ότι η αντίδραση της ρίζας με τα αντιοξειδωτικά συμπεριφέρεται σαν μια αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίου από το αντιοξειδωτικό στη ρίζα. Ενώ ο Md. Nur Alam και οι συνάδελφοι του αναφέρουν ότι η αντίδραση επιτυγχάνεται με τη μεταφορά ενός ατόμου υδρογόνου από το αντιοξειδωτικό στη ρίζα. Από βιβλιογραφικές αναφορές επικρατέστερη είναι η τελευταία άποψη.

Ως προς την έκφραση των αποτελεσμάτων για την αντιοξειδωτική δράση του εκάστοτε εκχυλίσματος ή ένωσης χρησιμοποιείται η σταθερά IC50. Η σταθερά αυτή δηλώνει τη συγκέντρωση στην οποία μια ένωση προκαλεί 50% αναστολή της ρίζας. Δηλαδή τιμές ουσιών-ενώσεων με χαμηλότερες IC50 από άλλες αντίστοιχα ουσιών-ενώσεων, δηλώνουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση. Τέλος αναφέρεται ότι η μέθοδος DPPH είναι εύκολη και ακριβής στη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των χυμών φρούτων και λαχανικών αλλά και εκχυλισμάτων (DEJIAN HUANG, 2005).





represents antioxidant

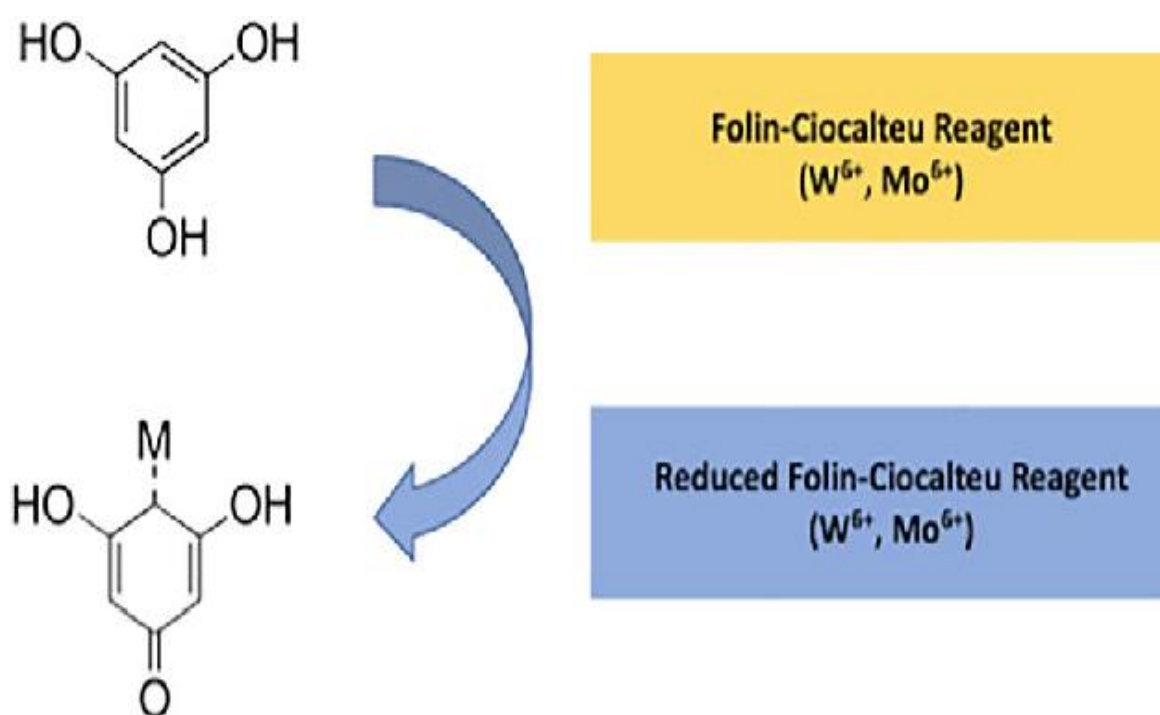
**Εικόνα 8:** Αντίδραση DPPH με αντιοξειδωτικό που έχει διαθέσιμο υδρογόνο να "συνεισφέρει" (Ningjian Liang, 2014)

## 1.6 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

Η ιστορία της μεθόδους Folin-Ciocalteu ξεκινάει από πολύ παλιά, από τότε που η μέθοδος προοριζόταν για την ανάλυση πρωτεϊνών αξιοποιώντας τη δραστικότητα του αντιδραστηρίου στην πρωτεΐνη τυροσίνη (Gulcin, 2020), (DEJIAN HUANG et al., 2005). Έπειτα μετά από ορισμένες τροποποιήσεις η μέθοδος αξιοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών παρόλο που η μέθοδος προσδιορίζει οποιαδήποτε ένωση δρα αναγωγικά. Το F-C αποτελεί σύμπλοκο φωσφομολυβδαινικό/φωσφοβολφραμικό του οποίου η φύση δεν είναι 100% ταυτοποιημένη (DEJIAN HUANG et al., 2005). Το αρχικό χρώμα της ένωσης είναι κίτρινο. Όταν τοποθετηθεί μαζί με διάλυμα, το οποίο περιέχει ενώσεις που περιέχουν φαινολικούς δακτυλίους ή έχουν αναγωγική δράση, κάτω υπό αλκαλικές συνθήκες παρατηρείται αλλαγή

του χρώματος προς μπλε. Αυτό οφείλεται στην οξείδωση του φαινολικού δακτυλίου και της παραγωγής ρίζας οξυγόνου που σχηματίζει, από την αντίδραση του με το μολυβδαίνιο, το μολυβδαινικό οξείδιο  $\text{Mo}^{4+}$ . Η ένωση αυτή απορροφάει στα 765 nm, έχει χρώμα μπλε κι η έντασή του εξαρτάται από το φαινολικό περιεχόμενο του δείγματος (Gulcin, 2020).

Τα αποτελέσματα εκφράζονται συμβατικά ως ισοδύναμα Γαλλικού Οξέος. Συγκεκριμένα ως ισοδύναμα Γαλλικού οξέος ανά συγκεκριμένη ποσότητα δείγματος ( $\mu\text{g GA}/\text{mg}$  ή  $\mu\text{g GA}/\text{g}$ ).



**Εικόνα 9:** Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu/ αναγωγική μορφή (Lauren Louise Ford et al., 2019)

## 2 Πειραματικό μέρος

### 2.1 Πρότυπα και αντιδραστήρια

Τα πρότυπα που χρησιμοποιηθήκαν για την έρευνα είναι τα, γαλλικό οξύ, βενζοϊκό οξύ, υδροξυβενζοϊκό οξύ, φερούλικό οξύ, πικουμαρικό οξύ, ροσμαρινικό οξύ, εριοδικτυόλη, ρουτίνη, απιγενίνη, απιγενίνη-7-γλυκοζίτης, καμφερόλη, κουερσετίνη, λουτεολίνη, καρβακρόλη, θυμόλη και ναρινγκενίνη. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν είναι το 2,2 διφαινυλ-1-πικρυλυδραζύλιο (DPPH), το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu, ανθρακικό νάτριο και μυρμηγκικό οξύ. Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση είναι ακετονιτρίλιο, μεθανόλη, εξαιρετικά καθαρό νερό (HPLC super gradient) και αιθανόλη (καθαρότητα >98%).

### 2.2 Διαδικασία εκχύλισης και προετοιμασίας του δείγματος

Ζυγίζονται 10g ξηρού δείγματος και πολτοποιούνται σε σκόνη με τη χρήση μηχανικού αναμικτήρα. Στη συνέχεια διαλυτοποιούνται σε 75 mL διαλύτη, που αποτελεί μίγμα 10 % αιθανόλη και 90% απεσταγμένου νερού (10/90 v/v). Η εκχύλιση πραγματοποιείται διαμέσου της παραμονής του δείγματος στον διαλύτη για 14 ημέρες σε θερμοκρασία δωματίου και ανάδευση κατά διαστήματα (Sumet Kongkiatpaiboon, 2018). Ύστερα ακολουθεί διήθηση του εκχυλίσματος με χωνί Buchner υπό κενό. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται δύο φορές. Το διήθημα φυγοκεντρείται για 10 min στα 8000 rpm. Παραλαμβάνεται το υπερκείμενο υγρό και μεταφέρεται ποσοτικά σε άλλη φιάλη. Προστίθενται 200 µL διμέθυλοσουλφοξειδίου (DMSO) και το διάλυμα

τοποθετείται σε περιστρεφόμενο εξατμιστήρα (rotary evaporator) στους 60° C για την απομάκρυνση του διαλύτη. Στη συνέχεια το συμπύκνωμα διαλύεται σε μεθανόλη και είτε αποθηκεύεται στους 4°C για μελλοντική χρήση είτε υφίσταται φιλτράρισμα με τη χρήση φίλτρου 0,22μm PVDF. Το δείγμα παραλαμβάνεται για περαιτέρω ανάλυση.

### 2.3 Μέθοδος RP-HPLC-DAD

Η μέθοδος της HPLC-DAD που εφάρμοστηκε βασίστηκε από την Kouri και τους άλλους συνεργάτες της (Georgia Kouri, 2007) με μερικές τροποποιήσεις στην κινητή φάση, στις συγκεντρώσεις και στον χρόνο της διαδικασίας. Το σύστημα της HPLC είναι της εταιρείας Hitachi LaChrom Elite HPLC system. Η χρωματογραφική στήλη είναι C18 διαστάσεων 150 mm x 4,6 και μεγέθους των σωματιδίων 5 μm. Η χρωματογραφική στήλη είναι θερμοστατούμενη στους 30 °C και ο ρυθμός ροής της κινητής φάσης είναι 0,5mL/min. Το σύστημα διαλυτών που χρησιμοποιείται είναι Νερό (Α), Μεθανόλη (Β), ακετονιτρίλιο (Γ) και στο κάθε ένα από αυτά προστίθεται 1% μυρμηκικό οξύ. Η διαδικασία της βαθμωτής έκλουσης είναι η εξής:

Πρώτο στάδιο 0-5,0min -> Α-90,0%, Β-6,0%, Γ-4,0%

Δεύτερο στάδιο 5,0-30,0 min -> Α-85,0%, Β-9,0%, Γ-6,0%

Τρίτο στάδιο 30,0-60,0 min -> Α-71,0%, Β-17,4%, Γ-11,6%

Τέταρτο στάδιο 60,0-63,0 min -> Α-0,0%, Β-85,0%, Γ-10,0%

Πέμπτο στάδιο 63,0-65,0 min -> Α-90%, Β-6,0%, Γ-4,0%

Η όλη διαδικασία διαρκεί 65 λεπτά. Η ανάλυση των χρωματογραφημάτων γίνεται στην ηλεκτρομαγνητική περιοχή του υπεριώδους, συγκεκριμένα στα μήκη κύματος 225 nm, 280 nm, 355 nm και 370 nm.

## 2.4 Μέθοδος DPPH

Ο έλεγχος της αντιοξειδωτικής δράσης των προτύπων και των φυτικών εκχυλισμάτων βασίζεται στην αναστολή της σταθερής ρίζας DPPH και στη μέτρηση της απορρόφησης της τελευταίας. Η αξιολόγηση της απορρόφησης του DPPH βασίστηκε κατά κύριο λόγο στη μέθοδο της Stéphanie Dudonné και των συνεργατών της αλλά με μερικές τροποποιήσεις. Παρασκευάστηκε διάλυμα συγκέντρωσης  $6 \times 10^{-5} \text{M}$  της ρίζας διαλυμένη σε μεθανόλη. Στη συνέχεια 3,4mL της ρίζας τοποθετήθηκαν σε κυψελίδες χαλαζία και προστέθηκαν κάθε φορά 100 μL τους εξεταζόμενου δείγματος/ουσίας. Παρασκευάστηκαν διαλύματα ρίζας-ουσίας, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε σκοτεινό μέρος για 45 λεπτά και θερμοκρασία δωματίου (25°C) μέχρι να γίνει η σχετική αντίδραση. Οι μετρήσεις της απορρόφησης της ρίζας πραγματοποιήθηκαν στα 517nm από φασματοφωτόμετρο (Thermo Spectronic). Κατασκευάστηκαν τα σχετικά γραφήματα κι έγιναν οι σχετικοί υπολογισμοί. Όλες οι μετρήσεις έγιναν εις τριπλούν.

## 2.5 Μέθοδος Folin-Ciocalteu

Η μέτρηση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών στα δείγματα πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, χρησιμοποιώντας το γαλλικό οξύ ως πρότυπο (Sushant Aryal, 2019). Σε μια κυψελίδα χαλαζία τοποθετήθηκαν 200 μL γαλλικό οξύ, 800 μL ανθρακικό νάτριο (7,5% σε απιονισμένο νερό) και 1 mL Folin-Ciocalteu (αραιώση 1:10). Χρησιμοποιήθηκαν 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος που κυμαίνονταν από 200 μg/mL μέχρι 12,5 μg/mL. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε για τα δείγματα των φυτικών εκχυλισμάτων. Ακολούθησε ανάμιξη σε vortex και επώαση για 90 λεπτά στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου 25°C. Η

απορρόφηση μετρήθηκε στα 765 nm με τη χρήση φασματοφωτόμετρου (Thermo Spectronic). Όλες οι μετρήσεις έγιναν εις τριπλούν.

### 3 Αποτελέσματα

#### 3.1 Αποτελέσματα RP-HPLC-DAD

Η ταυτοποίηση των ενώσεων στα δείγματα έγινε μέσω του εσωτερικού προτύπου. Αρχικά τοποθετήθηκαν οι πρότυπες ενώσεις στο σύστημα της HPLC για την εύρεση του χρόνου κατακράτησης και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν διαφορετικές συγκεντρώσεις των ενώσεων για να βρεθούν οι διαφορετικές τιμές των εμβαδών κορυφής που υπολογίζονταν αυτόματα από το λογισμικό της εφαρμογής του συστήματος της HPLC. Έπειτα μετά από τη λήψη πέντε μετρήσεων κατασκευάστηκε η καμπύλη βαθμονόμησης για την εκάστοτε πρότυπη ένωση.

Ακολουθεί η εισαγωγή των δειγμάτων στο σύστημα της HPLC και η παραλαβή των χρωματογραφημάτων. Η ταυτοποίηση των ενώσεων πραγματοποιείται με εσωτερικά πρότυπα.

Ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων στα διάφορα δείγματα υπολογίστηκε από το εμβαδόν της κορυφής της κάθε ουσίας στο δείγμα και μέσω της εξίσωσης της ευθείας που προέκυψε από τις καμπύλες βαθμονόμησης. Οι εξισώσεις ήταν της μορφής  $y = ax + b$ . Με την επίλυση της εξίσωσης υπολογίζεται η συγκέντρωση της ένωσης στο δείγμα σε  $\mu\text{g/mL}$  ή ppm.

Στο εκχύλισμα της *Mentha piperita* L. εντοπίζεται το καφεϊκό οξύ με 116,9 µg/mL ακολουθούμενο από την εριοδικτυόλη και π-κουμαρικό οξύ στα 32,2 µg/mL. Στη χαμηλότερη συγκέντρωση βρίσκεται η απιγενίνη 0,1 µg/mL.

Στο εκχύλισμα της *Mentha spicata* L. βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση η λουτεολίνη 214,3 µg/mL με ακολουθούμενη από το ροσμαρινικό οξύ στα 126,4 µg/mL. Στη μικρότερη συγκέντρωση βρίσκεται η θυμόλη με 0,6 µg/mL.

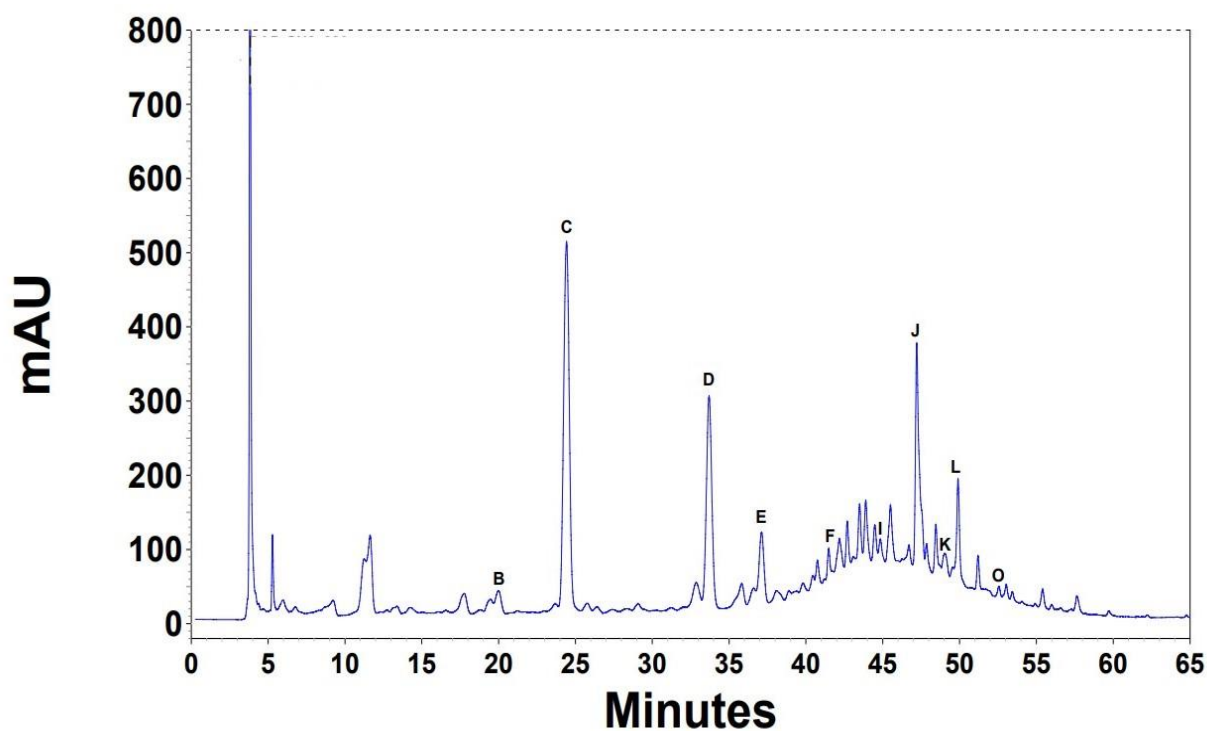
Στο εκχύλισμα της *Salvia officinalis* L. βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση το υδροξυβενζοϊκό οξύ με 23,4 µg/mL ακολουθούμενο από την απιγενίνη-7-γλυκοζίτης με 20,7 µg/mL. Στη χαμηλότερη συγκέντρωση βρίσκεται η λουτεολίνη με 0,2 µg/mL.

	Πρότυπες Ενώσεις	Χρόνος κατακράτησης (min)	Καμπύλη βαθμονόμησης	Συντελεστής συσχέτισης (R <sup>2</sup> )
<b>A</b>	Υδροξυβενζοϊκό οξύ	19,29	$y=216500x-261891$	0,9962
<b>B</b>	Βανιλλικό οξύ	22,55	$y=280308x+1E+06$	0,9972
<b>C</b>	Καφεϊκό οξύ	24,57	$y=460642x-243764$	0,9934
<b>D</b>	Κουμαρικό οξύ	33,50	$y=1E+06x-268063$	0,9962
<b>E</b>	Φερουλικό οξύ	36,77	$y=361100x+667162$	0,9984
<b>F</b>	Ρουτίνη	41,10	$y=101038x+244152$	0,9948
<b>G</b>	Βενζοϊκό οξύ	42,23	$y=56565x+111379$	0,9969
<b>H</b>	Απιγενίνη-7-γλυκοζίτης	43,20	$y=475911x-3E+06x$	0,9918
<b>I</b>	Ροσμαρινικό οξύ	44,50	$y=342476x-1E+06$	0,9948
<b>J</b>	Εριοδικτυόλη	46,96	$y=462783x+901504$	0,9993
<b>K</b>	Κουερσετίνη	49,24	$y=208457x+441912$	0,9992
<b>L</b>	Λουτεολίνη	49,80	$y=201134x+343231$	0,9961
<b>M</b>	Ναριγκενίνη	50,11	$y=392749x+600702$	0,9980
<b>N</b>	Καμφερόλη	52,03	$y=265195x-28475$	0,9980
<b>O</b>	Απιγενίνη	52,21	$y=407824x+599220$	0,9992
<b>P</b>	Καρβακρόλη	57,65	$y=96580x+159301$	0,9987

Q	Θυμολή	57,99	$y=140232x+563914$	0,9953
---	--------	-------	--------------------	--------

**Πίνακας 1:** Πρότυπες ενώσεις και χαρακτηριστικές τιμές στην HPLC



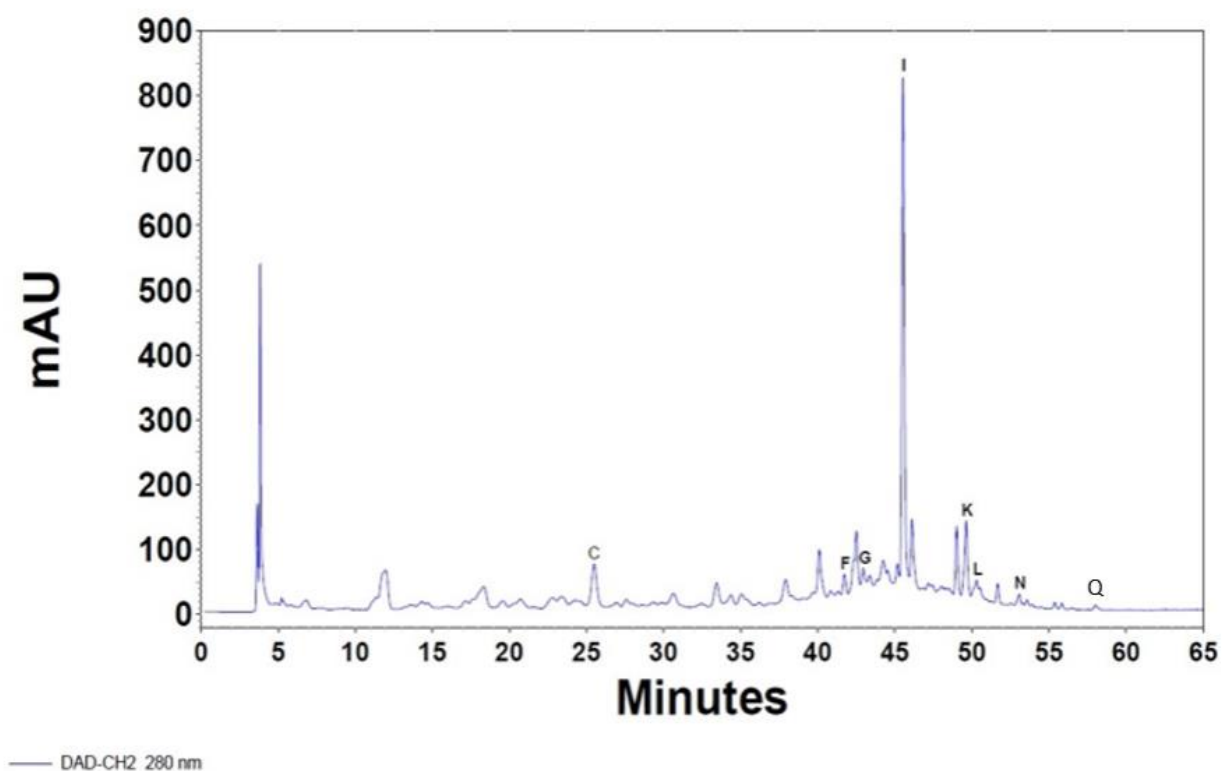


— DAD-CH2 280 nm

**Σχήμα 1:** Χρωματογράφημα εκχυλίσματος *Mentha piperita L.*

**Πίνακας 2:** Μετρήσεις χρωματογραφήματος του εκχυλίσματος *Mentha piperita L.*

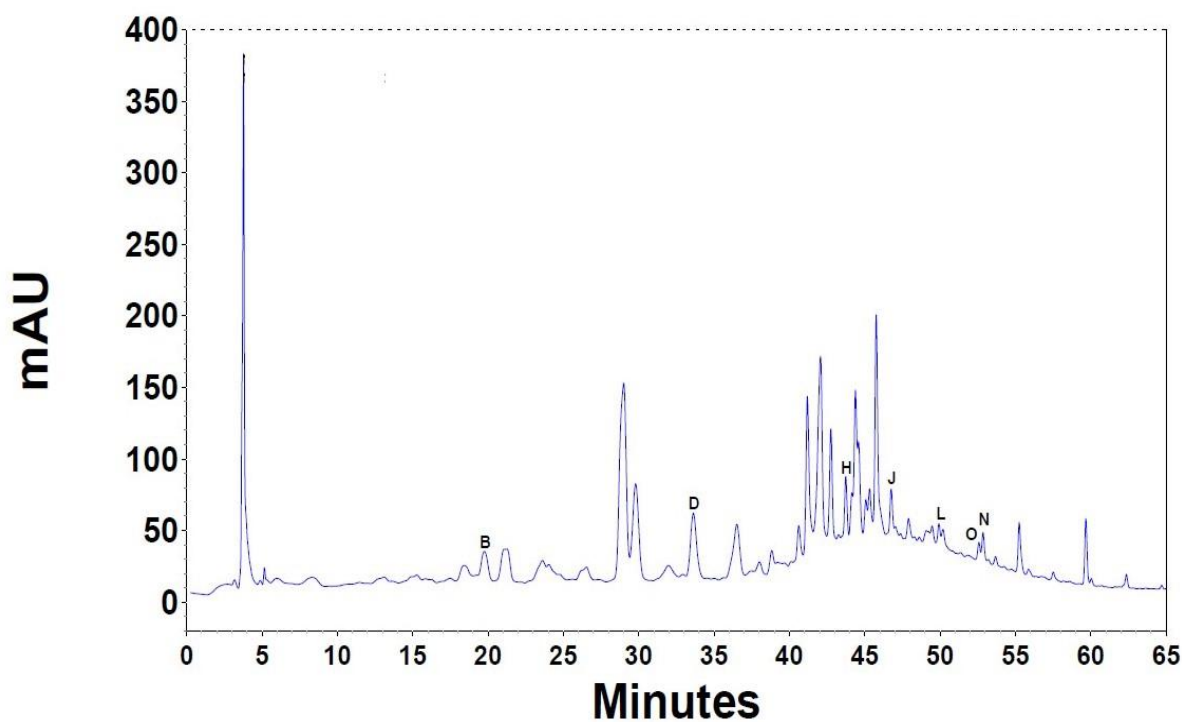
	Πρότυπες ενώσεις	Χρόνος Κατακράτησης (min)	Εμβαδόν κορυφής	Συγκέντρωση (ppm)	Εξίσωση Ευθείας
<b>B</b>	Υδροξυβενζοϊκό οξύ	19,29	2604858 +3814721	13,2±0,32	$y=216500x-261891$
<b>C</b>	Καφεϊκό οξύ	24,15	53601802	116,9± 0,28	$y=460642x-243764$
<b>D</b>	Κουμαρικό οξύ	33,41	31940830	32,2 ± 1,02	$y=1E+06x-268063$
<b>E</b>	Φερουλικό οξύ	36,84	12194211	31,9± 0,83	$y=361100x+667162$
<b>F</b>	Ρουτίνη	41,19	1084788	8,3 ± 0,59	$y=101038x+244152$
<b>I</b>	Ροσμαρινικό οξύ	44,57	1063818	6,0 ± 0,52	$y=342476x-1E+06$
<b>J</b>	Εριοδικτυόλη	47,00	15816275	32,2 ± 0,75	$y=462783x+901504$
<b>K</b>	Κουερσετίνη	49,30	1744348	6,3 ± 0,46	$y=208457x+441912$
<b>L</b>	Λουτεολίνη	49,60	5902696	27,6 ± 0,32	$y=201134x+343231$
<b>O</b>	Απιγενίνη	52,27	633426	0,1 ± 0,03	$y=407824x+599220$



Σχήμα 2: Χρωματογράφημα εκχυλίσματος *Mentha spicata L.*

Πίνακας 3: Μετρήσεις χρωματογραφήματος του εκχυλίσματος *Mentha spicata L.*

	Πρότυπες Ενώσεις	Χρόνος Κατακράτησης (min)	Εμβαδόν κορυφής	Συγκέντρωση (ppm)	Καμπύλη βαθμονόμησης
C	Καφεϊκό οξύ	25,23	8755300	19,5 ± 0,23	$y=460642x-243764$
F	Ρουτίνη	41,31	4344677	40,6 ± 0,29	$y=101038x+244152$
G	Βενζοϊκό οξύ	42,65	553749	4,4 ± 0,64	$y=56565x+111379$
I	Ροσμαρινικό οξύ	45,26	42283283	126,4 ± 1,03	$y=342476x-1E+06$
K	Κουερσετίνη	49,31	10036640	46 ± 0,24	$y=208457x+441912$
L	Λουτεολίνη	49,90	43444440	214,3 ± 1,40	$y=201134x+343231$
N	Καμφερόλη	52,81	1940154	9,8 ± 0,13	$y=265195x-28475$
Q	Θυμόλη	57,73	648623	0,6 ± 0,04	$y=140232x+563914$



— DAD-CH2 280 nm

**Σχήμα 3:** Χρωματογράφημα εκχυλίσματος *Salvia officinalis L.*

**Πίνακας 4:** Μετρήσεις χρωματογραφήματος του εκχυλίσματος *Salvia officinalis L.*

	Πρότυπες ενώσεις	Χρόνος Κατακράτησης (min)	Εμβαδόν κορυφής	Συγκέντρωση (ppm)	Καμπύλη βαθμονόμησης
<b>B</b>	Υδροξυβενζοϊκό οξύ	19,23	4808265	23,4 ± 0,35	$y=216500x-261891$
<b>D</b>	π- Κουμαρικό οξύ	33,50	7985621	8,2 ± 0,24	$y=1E+06x-268063$
<b>H</b>	Απιγενίνη-7-γλυκοζίτης	43,46	6828205	20,7 ± 0,58	$y=475911x-3E+06x$
<b>J</b>	Εριοδικτυόλη	46,96	1207538	0,7 ± 0,03	$y=462783x+901504$
<b>L</b>	Λουτεολίνη	49,80	380202	0,2 ± 0,01	$y=201134x+343231$
<b>O</b>	Καμφερόλη	52,03	2798797	5,4 ± 0,13	$y=407824x+599220$
<b>N</b>	Απιγενίνη	52,31	274544	1,1 ± 0,03	$y=265195x-28475$

### 3.2 Αποτελέσματα δοκιμής DPPH

Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιείται ως πρότυπη ένωση το γαλλικό οξύ και τα αποτελέσματα της δοκιμής συγκρίνονται με βάση τη σταθερά IC50 της κάθε ένωσης. Επίσης ελέγχεται η αντιοξειδωτική δράση ορισμένων πρότυπων ουσιών για τη συσχέτιση της αντιοξειδωτικής δράσης κάποιου δείγματος με κάποια πρότυπη ουσία που εντοπίζεται στο δείγμα από την RP-HPLC-DAD.

Από τις μετρήσεις απορρόφησης που προέκυψαν, υπολογίστηκε η επι τοις εκατό αναστολή της ρίζας μέσω του τύπου:

$$\% \text{αναστολή} = \frac{A_0 - A_x}{A_0} * 100$$

A<sub>0</sub>: απορρόφηση της ρίζας χωρίς δείγμα/λευκό

A<sub>x</sub>: Απορρόφηση της ρίζας με την εξεταζόμενη ένωση/ουσία

Στη συνέχεια σχεδιάστηκε η καμπύλη της %αναστολής ως προς τη συγκέντρωση κι από τις εξισώσεις των ευθειών της μορφής  $y = a * \ln(x) + b$ , έγινε αντικατάσταση του  $y$  με 50% και βρέθηκε η συγκέντρωση σε  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ή ppm.

Παρατηρήθηκε ότι το εκχύλισμα μέντας είχε την μικρότερη IC50 εκ των τριών δειγμάτων. Το εκχύλισμα φασκόμηλου είχε την υψηλότερη.

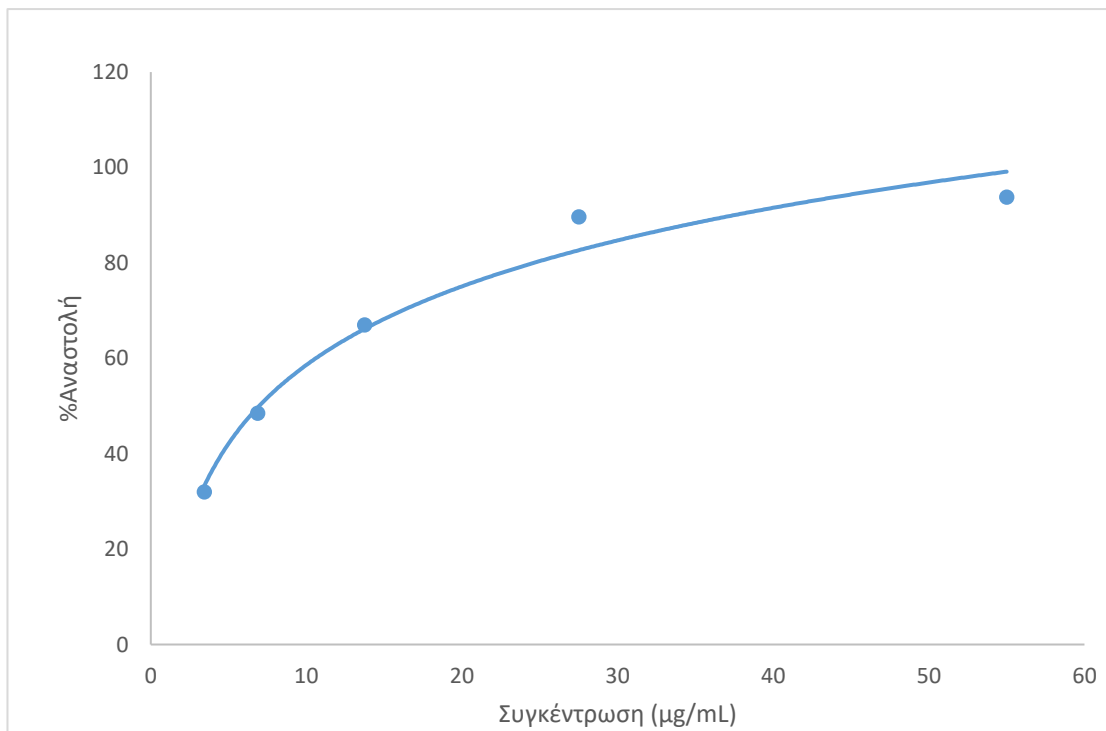
Από τη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι οι κύριες αντιοξειδωτικές ενώσεις του γένους *Mentha* είναι το ροσμαρινικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, από τα φλαβονοειδή η λουτεολίνη και τα παράγωγα της, η εριοκιτρίνη και τα παραγωγά της, κ.α (Fatima Brahmī, 2017). Όσον αφορά το εκχύλισμα της *Salvia officinalis* αποδεικνύεται ότι τα καφεϊκό οξύ, πικουμαρικό οξύ, φερουλικό οξύ, κουερσετίνη, καμφερόλη, λουτεολίνη, απιγενίνη συμβάλλουν στην αντιοξειδωτική του δράση (Aneta Wojdyło, 2007). Παρατηρείται ότι από τα αποτελέσματα της HPLC και των IC50 των

πρότυπων ουσιών υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της αντιοξειδωτικής δράσης των ενώσεων και της αντιοξειδωτικής δράσης των φυτικών εκχυλισμάτων.

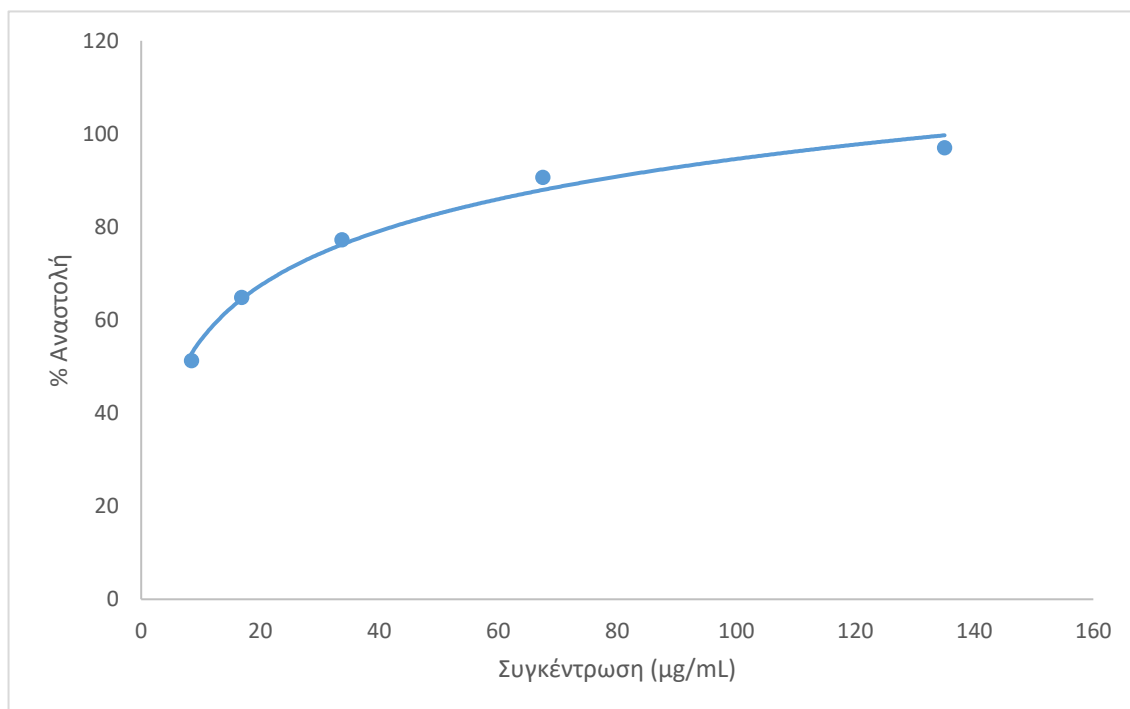
Παρακάτω παρουσιάζονται οι σχετικές γραφικές παραστάσεις που προέκυψαν από την μέτρηση της %αναστολής της ρίζας σε συνάρτηση με την συγκέντρωση σε  $\mu\text{g/mL}$ .

**Πίνακας 5** IC50 πρότυπων ενώσεων

Πρότυπες ενώσεις	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
Γαλλικό οξύ	6,96 $\pm$ 0,25
Λουτεολίνη	105,26 $\pm$ 0,78
Θυμόλη	-
Ρουτίνη	120,32 $\pm$ 0,89
Ναριγκενίνη	-
Ροσμαρινικό οξύ	37,52 $\pm$ 0,29
Απιγενίνη-7-γλυκοζίτης	-
Καφεϊκό οξύ	64,37 $\pm$ 0,31
Βενζοϊκό οξύ	-
Εριοδικτυόλη	81,80 $\pm$ 0,42
π-κουμαρικό οξύ	-
Φερουλικό οξύ	203,51 $\pm$ 0,84
Καμφερόλη	129,81 $\pm$ 0,35
Απιγενίνη	-

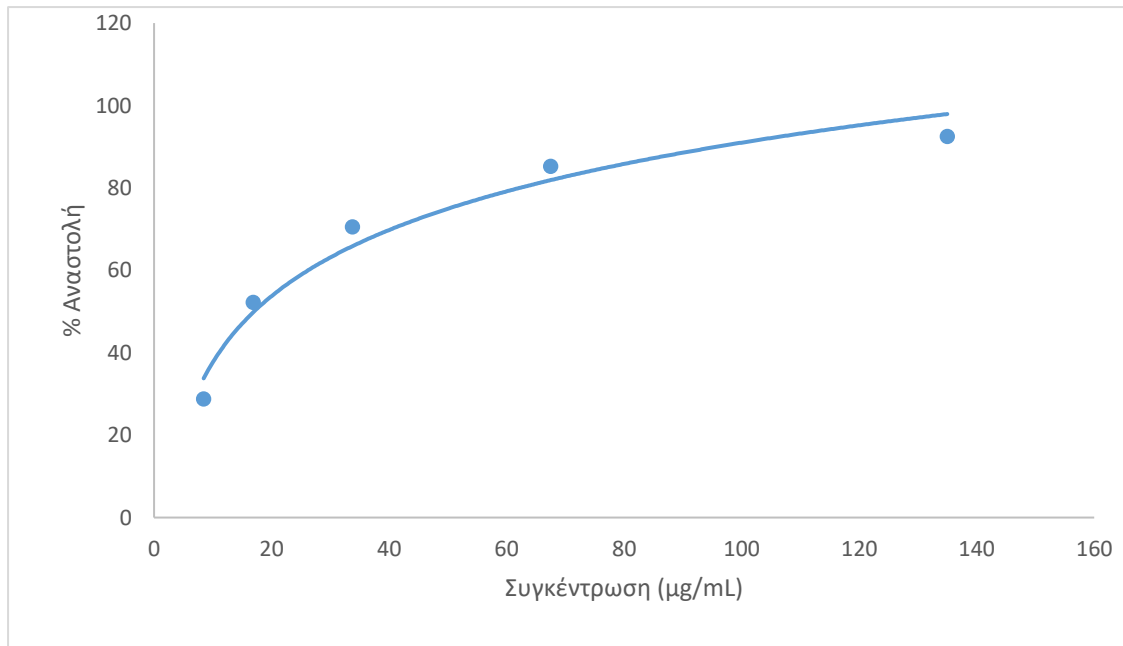


**Γραφική παράσταση 1** %Αναστολή της ρίζας σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση για το γαλλικό οξύ

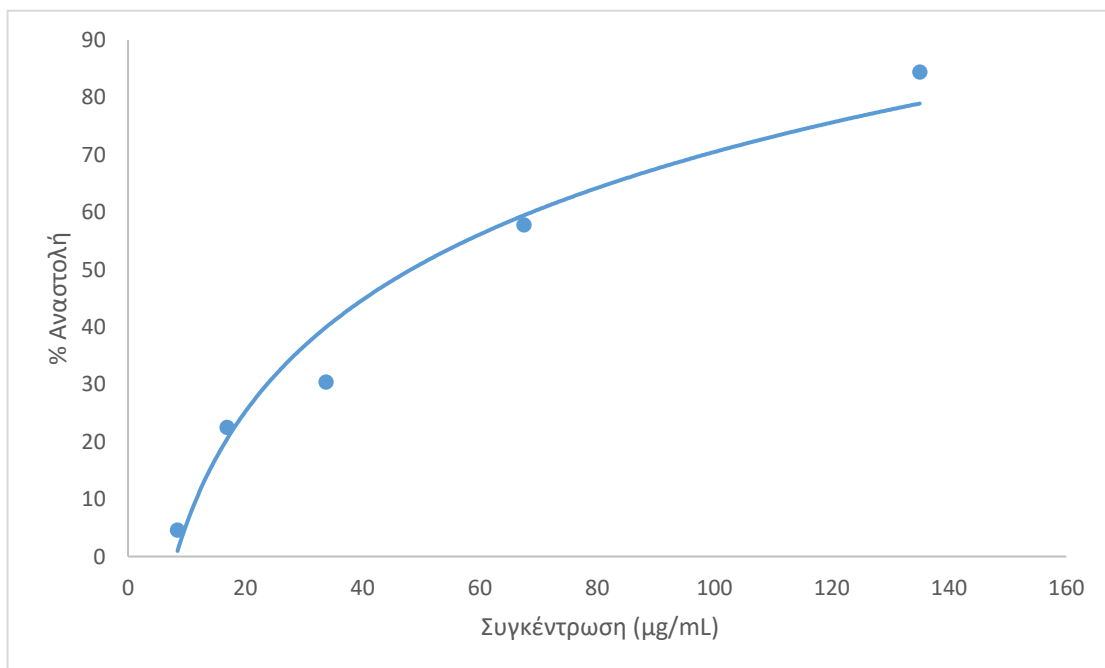


**Γραφική παράσταση 2** %Αναστολή της ρίζας σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση για τη *Mentha piperita L.*





**Γραφική παράσταση 3** %Αναστολή της ρίζας σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση για τη *Mentha spicata L.*



**Γραφική παράσταση 4** %Αναστολή της ρίζας σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση για το *Salvia officinalis*



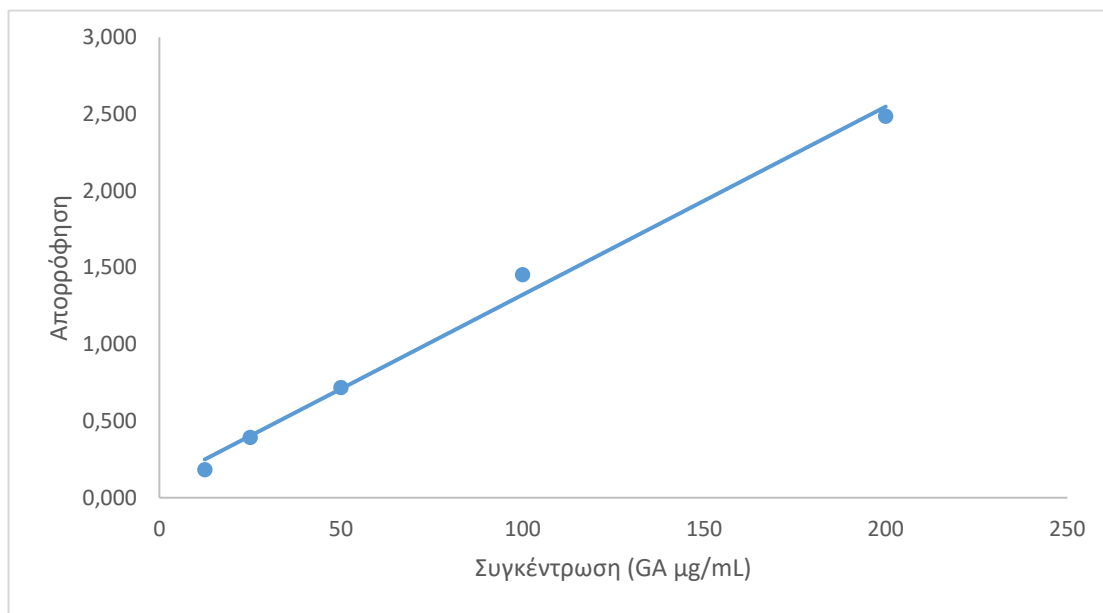
**Πίνακας 6:** Τιμές IC50 και στοιχεία καμπύλης προτύπου και δειγμάτων

Δείγματα	IC50 (μg/mL)	Εξίσωση ευθείας	(R <sup>2</sup> )
Γαλλικό οξύ	6,96±0,25	$y=23,761\ln(x) + 3,897$	0,9708
Μέντα	7,17±0,54	$y=16,928\ln(x) + 16,658$	0,9873
Δυόσμος	17,01±0,52	$y= 23,138\ln(x) - 15,572$	0,9647
Φασκόμηλο	48,24±0,23	$y=28,122\ln(x) + 59,009$	0,9642

### 3.3 Αποτελέσματα της δοκιμής Folin-Ciocalteu

Για την εύρεση της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών στα δείγματα χρησιμοποιήθηκε γαλλικό οξύ για την κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης που παρουσιάζεται στο **Σχήμα 1**. Η συγκέντρωσή τους προσδιορίζεται σε Ισοδύναμα Γαλλικού οξέος. Από την εξίσωση της καμπύλης, που είναι της μορφής  $y=ax + b$ , προέκυψε η συγκέντρωση του κάθε δείγματος εκφρασμένα σε μg GA/mL. Από την ποσότητα του δείγματος που προστέθηκε για ανάλυση υπολογίστηκε και εκφράστηκε η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ως μg GA/mg δείγματος για να μπορέσει να γίνει αξιολόγηση και σύγκριση των αποτελεσμάτων.

Τα αποτελέσματα αυτά που παρουσιάζονται προσεγγίζουν κατά πολύ αυτά που παρουσιάζονται από τη βιβλιογραφία.



**Γραφική παράσταση 5** Καμπύλη βαθμονόμησης γαλλικού οξέος, απορρόφηση σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση εκφρασμένη σε Ισοδύναμα Γαλλικού Οξέος (GA μg/mL)

**Πίνακας 7** Ολική συγκέντρωση φαινολικών στα δείγματα

Δείγματα	Ολικά φαινολικά (μg GAE/ mg dry extract)
Μέντα	3540,9±1,2
Δυόσμος	3281,6±0,83
Φασκόμηλο	1770,4±1,4

## 4 Συμπεράσματα

Από την πειραματική έρευνα τα πορίσματα που προέκυψαν δίνουν σημαντικές ενδείξεις για τις ιδιότητες των φυτικών εκχυλισμάτων. Τα εκχυλίσματα *Mentha piperita* L. και *Mentha spicata* L. έδειξαν ότι περιέχουν μια σειρά φλαβονοειδών και φαινολικών οξέων με τις συγκεντρώσεις ορισμένων απ'αυτών να κυμαίνονται σε υψηλά επίπεδα (καφεϊκό οξύ στο εκχύλισμα *Mentha piperita* L. 113,2 ppm και η λουτεολίνη και το ροσμαρινικό οξύ στα 213,4 ppm και 126,4 ppm αντίστοιχα στο εκχύλισμα *Mentha spicata* L. ). Για το εκχύλισμα του φασκόμηλου σε μεγαλύτερη αναλογία βρέθηκε το υδροξυβενζοϊκό οξύ (23,4 ppm). Για τα εκχυλίσματα της μέντας και του δυόσμου που ανήκουν στο γένος του *Mentha* L. αναφέρεται από τη βιβλιογραφία ότι τα είδη του γένους αυτού είναι πλούσια σε φαινολικά οξέα, συγκεκριμένα σε καφεϊκό οξύ και τα παράγωγά του, γαλλικό οξύ, φερουλικό οξύ, π-κουμαρικό οξύ και στο ροσμαρινικό οξύ που αποτελεί το 60-80 του κλάσματος των ολικών φαινολικών (Fatih Brahmi et al., 2017) (SIMONA LUPSOR et.al, 2019), (Karr, 2015), (Maryam Shekarchi et.al, 2012). Για το φασκόμηλο, όπως προαναφέρθηκε, εντοπίζονται φαινολικές ενώσεις όπως το καφεϊκό οξύ, π-κουμαρικό οξύ, φερουλικό οξύ, κουερσετίνη, καμφερόλη, λουτεολίνη, απιγενίνη (Aneta Wojdyło, 2007). Με βάση τα αποτελέσματα και τη βιβλιογραφία που μελετήθηκε τα αποτελέσματα είναι συγκρίσιμα.

Ως προς την αντιοξειδωτική τους ικανότητα και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο και τα τρία φυτικά εκχυλίσματα αποδείχθηκε ότι είχαν υπολογίσιμη δραστηριότητα και περιεκτικότητα σε φαινολικά. Αξιοσημείωτο ήταν η υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση που είχε το εκχύλισμα *Mentha piperita* L. με τιμές που προσέγγιζαν κατά πολύ αυτού του προτύπου (γαλλικού οξέος).

Τα φυτικά εκχυλίσματα των εν λόγω δειγμάτων αποδεικνύεται ότι έχουν σημαντικές ευεργετικές ιδιότητες. Από τη βιβλιογραφία βρέθηκε ότι οι ενώσεις οι οποίες βρέθηκαν σε υψηλά επίπεδα μπορεί να έχουν ιδιότητες αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις και αναλγητικές (An-Na Li et.al., 2014 ) (Shashank Kumar et.al., 2013).

Τα φυτικά εκχυλίσματα λόγω των ευεργετικών επιδράσεών τους και της αναγνώρισης της αξίας τους από τους καταναλωτές, αναμένεται να αυξήσουν τη ζήτησή τους στις αγορές μελλοντικά και υπάρχουν στατιστικά στοιχεία που υποστηρίζουν αυτή τη θεώρηση. Στην Ελλάδα, συγκεκριμένα, παρατηρείται από το 2017 μέχρι το 2019 μια ανοδική τάση στις εκτάσεις που διατίθεται για την παραγωγή αρωματικών φυτών από 53.100 στρέμματα σε 79.428 (ΕΛΣΤΑΤ, 2020), (ΕΛΣΤΑΤ, 2021). Επομένως το μέλλον αναμένεται λαμπρό για τα φυτικά εκχυλίσματα.

## 5 Βιβλιογραφία

- BBC Gardeners' World Magazine. (2020, Μάρτιος 14). How to grow mint. *BBC Gardeners' World Magazine*.
- A. Kalra, H. B. (2008, Σεπτέμβρης 25 ). Diseases in Mint: Causal Organisms, Distribution, and Control Measures. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, σσ. 71-91.
- A. N. Panche, A. D. (2016, Δεκέμβριος 29). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, σσ. 1-15.
- Academy of Applied Pharmaceutical Sciences. (2019, Οκτώβριος 1). A History of How HPLC Became Common in Pharmaceutical Testing. Toronto.
- Ahmad Ghorbani a, M. E. (2017, Ιανουάριος 13). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, σσ. 433-440.
- Ali Khoddami, M. A. (2013, Φεβρουάριος 19). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, σσ. 18, 2328-2375.
- Aneta Wojdyło, J. O. (2007, Απρίλιος 18). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, σσ. 940-949.
- Anhê, F. F. (2015, Ιούνιος 1). A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased *Akkermansia spp.* population in the gut microbiota of mice. *Gut*, σσ. 6; 872-883.
- An-Na Li, S. L.-J.-R.-M.-B. (2014 , Δεκέμβριος 22). Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols. *Nutrients*, σσ. 6020-6047.
- Ashafa, A. J. (2009, May). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Chrysocoma ciliata* L. leaves. *Journal of Medicinal Plants Research* , σσ. 390-394.
- Bahare Salehi, 1. Z.-R.-R.-R. (2018, Σεπτέβρης 4). Plants of Genus *Mentha*: From Farm to Food Factory. *Plants*, σσ. 1-36.
- Beecher, H. M. (2000, Φεβρουάριος 29). Measurement of Food Flavonoids by High-Performance Liquid Chromatography: A Review. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, σσ. VOLUME 48, NUMBER 3.
- Bouyahya A, B. O. (2019, Μάρτιος 1). Chemical composition of *Mentha suaveolens* and *Pinus halepensis* essential oils and their antibacterial and antioxidant activities. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, σσ. 117-122.
- Bravo, L. (1998, Δεκέμβριος). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Lead Review Article*, σσ. 317-333.

- C. ROTA, 1. J. (2004). In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oils from Aromatic. *Journal of Food Protection*, σσ. 1252–1256.
- Commission, E. (2020, Σεπτέμβριος 10). *European Commission*. Ανάκτηση από European Commission: [https://knowledge4policy.ec.europa.eu/glossary-item/bioactive-compounds\\_en](https://knowledge4policy.ec.europa.eu/glossary-item/bioactive-compounds_en)
- Dalila F. N. Pedro, A. A.-W. (2015, Δεκέμβριος 14). Colon Cancer Chemoprevention by Sage TeaDrinking: Decreased DNA Damage and CellProliferation. *PHYTOTHERAPY RESEARCH*, σσ. 298-305.
- David O. Kennedy, E. L. (2011, Ιανουάριος 1). Herbal Extracts and Phytochemicals: Plant Secondary Metabolites and the Enhancement of Human Brain function. *Advances in Nutrition*, σσ. 32-50.
- DEJIAN HUANG, B. O. (2005, Φεβρουάριος 25). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, σσ. 53, 1841–1856.
- Diego Hernández-Saavedra, I. F.-R.-G.-D.-P.-C. (2015, Οκτώβρης 07). Phytochemical characterization and effect of *Calendula officinalis*, *Hypericum perforatum*, and *Salvia officinalis* infusions on obesity-associated cardiovascular risk. *Medicinal Chemistry Research*, σσ. 163-172.
- Eleonora Corradini, P. F. (2011, Μάρτιος 07). Flavonoids: chemical properties and analytical methodologies of identification and quantitation in foods and plants. *Natural Product Research*, σσ. 469-495.
- Emmanoel Vilaça Costa a, P. E. (2012, Μαΐος 15). Antioxidant and antimicrobial activities. *Natural Product Research: Formerly*, σσ. 1002-1006.
- F. Bakkali, S. A. (2008, Φεβρουάριος). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, σσ. 446–475.
- Fatiha Brahmi, M. K. (2017). Chemical Composition and Biological Activities of *Mentha* Species. Στο H. El-Shemy, *Aromatic and Medicinal Plants - Back to Nature*. IntechOpen.
- Foil, C. (2009, Σεπτέμβρης 27). *flickr*. Ανάκτηση από *Salvia guaranitica*: <https://www.flickr.com/photos/dermoidhome/3959095699/>
- GardenersHQ. (2005-2022). *GardenersHQ*. Ανάκτηση από How to Grow *Salvia officinalis* Plants in your Garden: <https://www.gardenershq.com/Salvia-officinalis.php>
- Georgia Kouri, D. T. (2007, Ιούνιος). Extraction and analysis of antioxidant components from *Origanum dictamnus*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, σσ. 155-162.
- Gulcin, İ. (2020, Ιανουάριος 17). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, σσ. 94:651–715.
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday. *Molecular Aspects of Medicine*, σσ. 1–93.

- Jorge A. Ringuet, E. L. (2008, Σεπτέμβρης 22). Propagation Methods and Leaf Yield in Peppermint (*Mentha x piperita* L.). *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, σσ. 55-60.
- Kapp, K. (2015, Δεκέμβριος 22). Polyphenolic and Essential Oil Composition of. Helsinki, Finland: Division of Pharmaceutical Biosciences, Faculty of Pharmacy, University of Helsinki, Finland.
- Lauren Louise Ford, K. T. (2019, Ιούνιος). A critical review of analytical methods used for the chemical characterisation and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds. *Phytochemical Analysis*, σσ. 30(4):1-13.
- Lim, H.-W. &.-H.-H.-M.-W.-Y.-H. (2018, Σεπτέμβρης). Antimicrobial Effect of *Mentha piperita* (Peppermint) Oil against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Cronobacter sakazakii*, and *Salmonella Enteritidis* in Various Dairy Foods: Preliminary Study. *Journal of Milk Science and Biotechnology*, σσ. 146-154.
- Lin Zhang, †. A. (2011, Οκτώβρης 24). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Selected Medicinal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, σσ. 12361-12367.
- M.L.Chávez-González R. Rodríguez-Herrera C.N. Aguilar. (2016). Essential Oils: A Natural Alternative to Combat Antibiotics Resistance. Στο M. R. Kateryna Kon, *Antibiotic Resistance* (σσ. 227-237). Academic Press.
- Mamta Saxena, D. J. (2012, Σεπτέμβριος 29). FLAVONOIDS AND PHENOLIC ACIDS AS ANTIOXIDANTS IN PLANTS AND HUMAN HEALTH. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, σσ. 130-134.
- Márcio Carochoa, P. M. (2018, Ιάνουαριος). Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, σσ. 107-120.
- Marian, N. F. (2004, Οκτώβρης 29). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, σσ. 95-111.
- Maryam Shekarchi, H. H. (2012, Φεβρουάριος 28). Comparative study of rosmarinic acid content in some plants of Labiatae family. *Pharmacognosy Magazine*, σσ. 29, 37-41.
- Md. Nur Alam, N. J. (2012, Ιούνιος 15). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, σσ. 21, 143-152.
- Miroslav Sisa, S. L. (2010, Αύγουστος 2). Photochemistry of Flavonoids. *Molecules*, σσ. 5196-5245.
- Na-Ri Shin, J.-C. L.-Y.-S.-S.-W. (2013, Ιούλιος 09). An increase in the *Akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. *Gut microbiota*, σσ. 63 706-707.
- Nicholas W. Turner, S. S. (2008, Νοέμβριος 14). Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica Chimica Acta*, σσ. 632, 168-180.
- Ningjian Liang, D. D. (2014, Νοέμβριος). Antioxidant Property of Coffee Components: Assessment of Methods that Define Mechanisms of Action. *Molecules*, σσ. 19(11):19180-19208.

- Petar Zuvela, M. S. (2019, Ιανουάριος 3). Column Characterization and Selection Systems in Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *Chemical Reviews*, σσ. 119,3674-3729.
- Proestos, C. (2020, Νοέμβριος 12). The Benefits of Plant Extracts for Human Health. *Foods*, σ. 1653.
- Radosław Kowalski, G. K. (2005, Ιανουάριος). Phenolic acid contents in fruits of aubergine (*Solanum melongena* L.). *POLISH JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION SCIENCES*, σσ. 37–42.
- Rizvi, K. B. (2009, Νοέμβριος-Δεκέμβριος). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, σσ. 2:5, 270-278.
- ROBBINS, R. J. (2003, Απρίλιος 15). Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, σσ. 51, 2866–2887.
- robin's yard. (2012, Ιούλιος 18). *robin's yard*. Ανάκτηση από *Salvia officinalis*: <https://robinsyard.blogspot.com/2012/07/salvia-officinalis.html>
- S Kokkini, R. K. (2003). Herbs of the Labiatae. Στο B. T. Cabarello, *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (σσ. 3082-3090). Άμστερνταμ, Ολλανδία: Academic Press.
- Sahu, D. R. (χ.χ.). *Jawaharlal Nehru Krishi Vishwa Vidyalaya, Jabalpur*. Ανάκτηση από <http://www.jnkvv.org/PDF/07042020143105Sahu.pdf>
- Sameer Shaikh 1\*, H. B. (2014, Σεπτέμβρης 15). Prospective Role in Treatment of Major Illnesses and Potential Benefits as a Safe Insecticide and Natural Food Preservative of Mint (*Mentha* spp.): A Review. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, σσ. 1-12.
- Shashank Kumar, A. K. (2013, Δεκέμβριος 29). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, σ. 16 pages.
- Shukla, P., Haseeb, A., & Srivastava, N. (1997). The relation between soil ph and the reproduction/damage potential. *Nematol. Mediterr.*, σσ. 25:25-29.
- SIMONA LUPSOR, R. R.-A. (2019, Δεκέμβριος 30). QUANTITATIVE ANALYSIS OF POLYPHENOLS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MINT MACERATE. *Journal of Science and Arts*, σσ. 973-982.
- Soňa Škrovánková, L. M. (2012). Antioxidant Activity and Protecting Health Effects of Common Medicinal Plants. Στο J. Henry, *Advances in Food and Nutrition Research* (σσ. 75-139).
- Stéphanie Dudonné, X. V.-M. (2009, Φεβρουάριος 6). Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *J. Agric. Food Chem*, σσ. 1768-1774.
- Sumet Kongkiatpaiboon, S. C. (2018, Μάρτιος 24). Optimization of extraction method and HPLC analysis of six caffeoylquinic acids in *Pluchea indica* leaves from different provenances in Thailand. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, σσ. 28: 145-150.



- Sushant Aryal, M. K. (2019, Απρίλιος 11). Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants* , σ. 8(4): 96.
- Talalay, P. P., & Talalay, P. M. (2001, Μάρτιος). The Importance of Using Scientific Principles in the Development of Medicinal Agents from Plants. *Academid Medicine*, σσ. 238-247.
- Tassou, C. &.-J. (2000, Απρίλιος). Inhibition of Salmonella enteritidis and Staphylococcus aureus in nutrient broth by mint essential oil. *Food Research Internationa*, σσ. 273-280.
- The Royal Botanic Gardens, K. (2017). *Plant of the World Online*. Ανάκτηση από Royal Botanic Gardens, Kew:  
<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30016176-2>
- Tsao, R. (2010, Δεκέμβριος 10). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, σσ. 1231-1246.
- University, D. (χ.χ.). Ανάκτηση από Mentha cultivation:  
<https://www.davuniversity.org/images/files/study-material/Medicinal%20and%20aromatic%20crops.pdf>
- W.R. Sawadogo, A. M. (2012, Αύγουστος 02). Mutagenic effect, antioxidant and anticancer. *Natural Product Research*, σσ. 575-579.
- Waters. (χ.χ.). *Waters*. Ανάκτηση από How Does High Performance Liquid Chromatography Work?: [https://www.waters.com/waters/en\\_US/How-Does-High-Performance-Liquid-Chromatography-Work%3F/nav.htm?cid=10049055&locale=en\\_US](https://www.waters.com/waters/en_US/How-Does-High-Performance-Liquid-Chromatography-Work%3F/nav.htm?cid=10049055&locale=en_US)
- Webber, F. (2022, Φεβρουάριος 26). *yardsurfer*. Ανάκτηση από 14 Different Types of Sage Plants with Pictures: <https://yardsurfer.com/types-of-sage/>
- WIKIFARMER. (2017-2022). *WIKIFARMER*. Ανάκτηση από Επαγγελματική καλλιέργεια φασκόμηλου – Πώς να καλλιεργήσετε φασκόμηλο για κέρδος:  
<https://wikifarmer.com/el/%CE%B5%CF%80%CE%B1%CE%B3%CE%B3%CE%B5%CE%BB%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE%AE-%CE%BA%CE%B1%CE%BB%CE%BB%CE%B9%CE%AD%CF%81%CE%B3%CE%B5%CE%B9%CE%B1-%CF%86%CE%B1%CF%83%CE%BA%CF%8C%CE%BC%CE%B7%CE%BB%CE%BF/>
- Wikipedia. (2022, Φεβρουάριος 21). *Wikipedia*. Ανάκτηση από Mentha:  
<https://en.wikipedia.org/wiki/Mentha>
- Wikipedia. (2022, Μάρτιος 30). *Wikipedia*. Ανάκτηση από Salvia officinalis:  
[https://en.wikipedia.org/wiki/Salvia\\_officinalis#cite\\_note-5](https://en.wikipedia.org/wiki/Salvia_officinalis#cite_note-5)
- Wikispecies. (2021 , Σεπτέμβρης 5). *Wikispecies*. Ανάκτηση από Mentha aquatica:  
[https://species.wikimedia.org/wiki/Mentha\\_aquatica](https://species.wikimedia.org/wiki/Mentha_aquatica)
- Wisconsin Horticulture Division of Extension. (χ.χ.). *University of Wisconsin-Madison*. Ανάκτηση από Sage, Salvia officinalis: <https://hort.extension.wisc.edu/articles/sage-salvia-officinalis/>

- Yun Ji Park 1, †. S.-A. (2019, Ιανουάριος 11). Metabolic Profiling of Nine Mentha Species and. *molecules*, σ. Special issue.
- Zdeněk Kejík, R. K. (2021, Ιανουάριος 11). Iron Complexes of Flavonoids-Antioxidant Capacity and Beyond. *International Journal of Molecular Sciences*, σ. 22(2):646.
- Βικιπαιδεία. (2021, Ιούλιος 26). *Βικιπαιδεία*. Ανάκτηση από Μίνθη:  
<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9C%CE%AF%CE%BD%CE%B8%CE%B7>
- ΕΛΣΤΑΤ. (2020, Ιούνιος 25). *ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΡΧΗ*. Ανάκτηση από  
<https://www.statistics.gr/documents/20181/7215cd6b-e28b-e577-10af-31dced4dfb40>
- ΕΛΣΤΑΤ. (2021, Ιούνιος 24). *ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΡΧΗ*. Ανάκτηση από  
<https://www.statistics.gr/documents/20181/96929c5c-54d8-ccca-22fe-1c7af02f8bf3>
- ΚΟΛΟΠΤΑΣ, Δ. (2018). ΠΡΟΤΙΜΗΣΕΙΣ ΒΟΤΑΝΩΝ ΑΠΟ ΚΑΤΟΙΚΟΥΣ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΛΑΓΚΑΔΑ. Θεσσαλονίκη.
- Κυνηγάκης, Ν. (2003-2008). ΑΡΩΜΑΤΙΚΑ ΦΥΤΑ. Κρήτη, Ελλάδα.
- Λάππα, Ι. (2013). ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ Η ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΤΟΥ ΤΑΥΓΕΤΟΥ. Καλαμάτα, Αθήνα.
- Μήττα, Δ. (2012). *Αρχαία Ελληνική Γλώσσα και Γραμματεία*. Ανάκτηση από Μορφές και Θέματα της Αρχαίας Ελληνικής Μυθολογίας: [https://www.greek-language.gr/digitalResources/ancient\\_greek/mythology/lexicon/metamorfoseis/page\\_180.html](https://www.greek-language.gr/digitalResources/ancient_greek/mythology/lexicon/metamorfoseis/page_180.html)
- Μυρεψός. (2011, Ιούνιος). *Μυρεψός*. Ανάκτηση από Mentha ssp.- Μέντα:  
<http://aromaticplantkilkis.blogspot.com/2011/06/mentha-ssp.html>
- ΣΤ.Π.ΚΑΠΛΑΝΟΓΛΟΥ. (2013, Ιούλιος 25). *NaturalLife*. Ανάκτηση από Φασκόμηλο:  
[http://www.naturalife.site/p/blog-page\\_16.html](http://www.naturalife.site/p/blog-page_16.html)