



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ, ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΚΑΙ
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

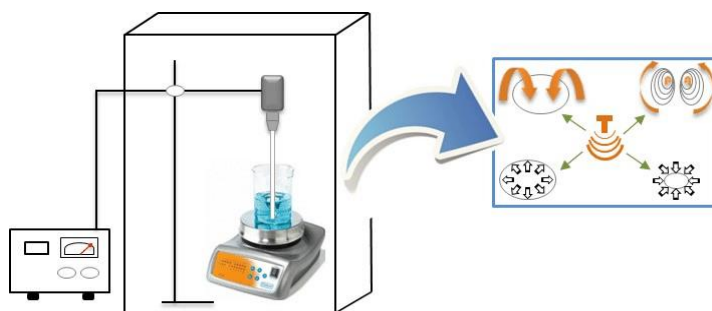
ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Πτυχιακή Εργασία

«Εκχύλιση Φαινολικών Ενώσεων από Παραπροϊόντα Χαμομηλιού με Χρήση Μοντέλων Πειραματικού Σχεδιασμού»

Diploma Thesis

«Extraction of Phenolic Compounds from Chamomile Byproducts Using Experimental Design Models»



Ρίπης Μιχαήλ AM:19684082

Συμεωνίδης Αθανάσιος AM: 19684153

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Λάζου Ανδριάννα

Αθήνα, Μάρτιος 2024



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΟΡΓΑΝΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Πτυχιακή Εργασία

«Εκχύλιση Φαινολικών Ενώσεων από Παραπροϊόντα Χαμομηλιού με Χρήση Μοντέλων Πειραματικού Σχεδιασμού»

Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής συμπεριλαμβανομένου και του Εισηγητή Η πτυχιακή/διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

A/α	ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΔΑ/ΙΔΙΟΤΗΤΑ	ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ
1	Λάζου Ανδριάννα	Επίκουρη Καθηγήτρια	
2	Σινάνογλου Βασιλεία	Καθηγήτρια – Κοσμήτορας της Σχολής Επιστημών Τροφίμων	
3	Τσιάκα Θάλεια	Έκτακτο διδακτικό προσωπικό ΕΣΠΑ	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένοι Ρίπης Μιχαήλ του Πέτρου με αριθμό μητρώου 19684082 και Συμεωνίδης Αθανάσιος του Σταματίου με αριθμό μητρώου 19684153, φοιτητές του τμήματος επιστήμης και τεχνολογίας τροφίμων στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής δηλώνουν υπεύθυνα ότι:

«Είναι συγγραφείς αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαν για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Οι πηγές οι οποίες χρησιμοποίησαν, αναφέρονται όλες με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουν ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από αυτούς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικό τους, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση των πτυχίων μας».

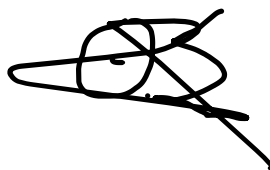
Ο ΔΗΛΩΝ

ΡΙΠΗΣ ΜΙΧΑΗΛ



Ο ΔΗΛΩΝ

ΣΥΜΕΩΝΙΔΗΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ



Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας, Ανάλυσης και Σχεδιασμού Διεργασιών Επεξεργασίας Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής υπό την επίβλεψη της κα. Ανδριάνας Λάζου.

Επιθυμούμε να ευχαριστήσουμε θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια μας Δρ. Λάζου Ανδριάνα καθώς και την Δρ. Τσιάκα Θάλεια για την πολύτιμη υπομονή, στήριξη και βοήθεια που μας παρείχαν κατά τη διάρκεια διεξαγωγής ολόκληρης της πτυχιακής εργασίας, τόσο στο πειραματικό όσο και στο θεωρητικό κομμάτι της. Ένα μεγάλο ευχαριστώ και σε όλους τους καθηγητές μας που αυτά τα τέσσερα χρόνια ήταν δίπλα μας και μας μετέδιδαν τις γνώσεις τους με μοναδικό σκοπό την επαγγελματική μας κατάρτιση αλλά το μεγαλύτερο ευχαριστώ αξίζει στις οικογένειες μας για την υπομονή και στήριξη τους από την στιγμή που μπήκαμε σε αυτό το τμήμα μέχρι και σήμερα.

Μιχάλης & Θάνος

Μάρτιος 2024

Περίληψη

Στη σημερινή εποχή, η ανάγκη που υπάρχει για οικολογική διαχείριση των αποβλήτων και των παραπροϊόντων αλλά και η τάση για την εφαρμογή «πράσινων» μεθόδων κατά την παραγωγή βιομηχανικών προϊόντων τροφίμων, έχει οδηγήσει σε ένα πλήθων μελετών που σχετίζονται με το κατά πόσο είναι εφικτή η αξιοποίηση των παραπροϊόντων επεξεργασίας των αρωματικών φυτών. Τα παραπροϊόντα επεξεργασίας αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών κατά την παραγωγή αιθέριων ελαίων αποτελούν υπόστρωμα πλούσιο σε βιοδραστικές ενώσεις, το οποίο συχνά μένει ανεκμετάλλευτο και απορρίπτεται ως απόβλητο. Στην εν λόγω πτυχιακή εργασία μελετάται το φαινολικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων από παραπροϊόντα ατμο-υδροαπόσταξης χαμομηλιού (*Chamomile, Matricaria chamomilla* L.), κατά την εκχύλιση με υπερήχους. Η εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια υπερήχων (Ultrasound Assisted Extraction, UAE), ενώ για τη βελτιστοποίηση των συνθηκών εκχύλισης χρησιμοποιήθηκε το μαθηματικό πρότυπο πειραματικού σχεδιασμού Box-Behnken. Οι παράμετροι της διεργασίας που μελετήθηκαν είναι τέσσερις : η περιεκτικότητα του διαλύτη σε αιθανόλη (% v/v), ο χρόνος εκχύλισης (min), η % ένταση του μηχανήματος υπερήχων και η αναλογία διαλύτη/υπόστρωμα (mL/g), με τρία επίπεδα τιμών η καθεμία και προέκυψαν (αριθμός) ανεξάρτητων περαμάτων. Οι βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης εφαρμόστηκαν στη δρόγη χαμομηλιού και έγινε σύγκριση μεταξύ των προβλεπόμενων και πειραματικών τιμών, με σκοπό την επικύρωση του μαθηματικού προτύπου ως προς τις βέλτιστες συνθήκες UAE για την παραλαβή του μέγιστου φαινολικού περιεχομένου από τα εκχυλίσματα χαμομηλιού. Τόσο στο ξηρό δείγμα αλλά και στο παραπροϊόν επεξεργασίας χαμομηλιού έγινε αξιολόγηση του φαινολικού περιεχομένου, καθώς και της αντιριζικής και αντιοξειδωτικής δράσης τους με τις μεθόδους ABTS*⁺ και FRAP, αντίστοιχα, και βάση αποτελεσμάτων στο παραπροϊόν οι βέλτιστες συνθήκες, που δίνουν την βέλτιστη απόδοση τόσο σε TPC (14.673±0,18 mg GAE/g dry herb) όσο και σε ιόντα Fe(II) κατά την μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας (28,338±3,3 mg Fe(II)/g herb), καθώς και κατά την εκτίμηση της ικανότητας ανόξυσης της ελεύθερης ρίζας ABTS*⁺ (36,079±2,4 mg TE/g dry herb), είναι 62,5 % v/v περιεκτικότητα σε αιθανόλη, χρόνος εκχύλισης 10 min, ένταση υπερήχων 80% και αναλογία διαλύτη/υπόστρωμα 60 mL/g. Όσον αφορά το παραπροϊόν επεξεργασίας χαμομηλιού τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στις βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης έχει τη μεγαλύτερη απόδοση σε TPC, (μεγαλύτερη από αυτή της δρόγης), ίδια απόδοση με τη δρόγη σε περιεχόμενο του Fe(III) που ανήχθη σε Fe(II) από τις αναγωγικές/αντιοξειδωτικές ενώσεις ανά γραμμάριο δείγματος χαμομηλιού και υψηλότερο περιεχόμενο σε mg TE ανά g δείγματος. Τα αποτελέσματα αυτά πιθανώς οφείλονται στη μέθοδο απόσταξης που χρησιμοποιήθηκε (υδροαπόσταξη με ατμό). Συμπερασματικά η υδροαπόσταξη με ατμό είναι μια ήπια μέθοδος απόσταξης κατά την οποία γίνεται παραλαβή των επιθυμητών αιθέριων ελαίων χωρίς να καταστρέφεται το φαινολικό περιεχόμενο που απομένει.

Λέξεις-Κλειδιά: Χαμομήλι, Παραπροϊόντα Αρωματικών Φυτών, Εκχύλιση υποβοηθούμενη με Υπερήχους, Φαινολικές Ενώσεις

Abstract

Nowadays, the need for ecological management of waste and by-products, as well as the trend that exists for the application of "green" methods in the production of food products, has led to a multitude of studies related to whether it is possible to utilize the by-products generated during the processing of aromatic plants. The by-products of the processing of aromatic and medicinal plants for the production of essential oils constitute a substrate rich in bioactive compounds, which is often left unexploited and discarded as waste. In this thesis, the phenolic content of extracts, obtained by using ultrasounds, from by-products of chamomile steam-hydrodistillation (Chamomile, *Matricaria chamomilla* L.) is studied. The extraction of the desired compounds is carried out using ultrasound (Ultrasound Assisted Extraction, UAE), while the Box-Behnken experimental design model is used to optimize the extraction conditions. The parameters that were optimized at three different value levels each, are four: the ethanol content of the solvent (% v/v), the extraction time (min), the % intensity/power of the ultrasonic probe and the solvent/material ratio (mL /g),. The total phenolic content was determined by means of the spectrophotometric Folin-Ciocalteu method, initially on a dried chamomile sample in order to find the optimal extraction conditions based on Box-Behnken design. The optimal extraction conditions were applied to the chamomile and a comparison was made between the predicted and experimental values, in order to validate the mathematical model regarding the optimal UAE conditions for obtaining the maximum phenolic content from the chamomile extracts.. The estimation of the statistical importance of the extraction parameters was conducted using the ANOVA statistical tool. Both the dry sample and the by-product of chamomile distillation were evaluated for their total phenolic content (TPC), as well as for their antiradical and antioxidant activity with the ABTS+ and FRAP methods, respectively. Based on results the optimal conditions that provided the highest TPC (14.673 ± 0.18 mg GAE/g dry herb), the highest antioxidant capacity (28.338 ± 3.3 mg Fe(II)/g herb) as well as the highest antiradical activity (36.079 ± 2.4 mg TE/g dry herb), in both raw and chamomile byproducts, is 62.5795 % v/v ethanol content, extraction time 10 min, sonication intensity 80% and solvent/substrate ratio 60 mL/g. Regarding the by-product of chamomile processing, the results showed that in the optimal extraction conditions it has the highest yield in TPC, (greater than that of the dry sample), same performance as the dry sample in Fe(III) content that was reduced to Fe(II) by reducing/antioxidant compounds per gram of chamomile sample and higher content in mg TE per g of sample. These results are probably due to the distillation method used (hydrodistillation with steam). In conclusion steam

hydrodistillation is a mild distillation method in which the desired essential oils are obtained without destroying the remaining phenolic content.

Keywords: Chamomile, Aromatic Plant Byproducts, ultrasound assisted extraction, Phenolic Compounds.

Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή.....	11
1.1 Αρωματικά φυτά	11
1.2 Παραπροϊόντα Αρωματικών Φυτών.....	16
1.3 Φαινολικές ενώσεις.....	18
1.4 Χαμομήλι.....	22
1.5 Εκχύλιση Βιοδραστικών Συστατικών.....	26
1.5.1.Εκχύλιση Φαινολικών Ενώσεων από Φυτικά Παραπροϊόντα: Γενικές αρχές.....	26
1.5.2 Εκχύλιση Υποβοηθούμενη με Υπερήχους.....	28
1.5.3 Πειραματικός Σχεδιασμός.....	31
2. Σκοπός Εργασίας.....	33
3. Υλικά και Μέθοδοι.....	34
3.1 Πειραματική Πορεία.....	34
3.2 Πρώτη ύλη - Παραπροϊόντα Απόσταξης Χαμομηλιού	34
3.3 Προκατεργασία δειγματος.....	34
3.4 Εκχύλιση Φαινολικών Ενώσεων από Δείγματα Χαμομηλιού.....	34
3.5 Πειραματικός Σχεδιασμός Εκχυλίσεων.....	35
3.6 Φασματοφωτομετρικές Αναλύσεις Εκχυλισμάτων Ξηρής Δρόγης και Παραπροϊόντος Επεξεργασίας Χαμομηλιού.....	37
3.6.1 Μέτρηση Ολικού Φαινολικού Περιεχομένου με την μέθοδο Folin-Ciocalteu.....	37
3.6.2 Προσδιορισμός Αναγωγικής Ισχύος/Αντιοξειδωτικής Ικανότητας με τη Μέθοδο FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	38
3.6.3 Εκτίμηση της Ικανότητας Δέσμευσης / Ανάσχεσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας ABTS ^{•+}	39
3.7 Στατιστική Ανάλυση.....	41
4. Αποτελέσματα και συζήτηση.....	41
4.1 Βελτιστοποίηση Εκχύλισης Φαινολικών Ενώσεων από Δείγμα Χαμομηλιού με Πειραματικό Σχεδιασμό	41
4.1.1 Χρήση Μαθηματικού Προτύπου Box-Behnken για Βελτιστοποίηση Εκχύλισης	41
4.1.2 Προσδιορισμός Φαινολικού Περιεχομένου στο Ξηρό Προϊόν Χαμομηλιού με την Μέθοδο F-C	42
4.1.3 Στατιστικά Σημαντικοί Παράγοντες.....	44
4.1.4 Εύρεση Βέλτιστων Συνθηκών Εκχύλισης.....	56
4.2 Προσδιορισμός Φαινολικού Περιεχομένου, Αντιοξειδωτικής και Αντιριζικής Δράσης σε Δείγματα Ξηρού Προϊόντος και Παραπροϊόντος Χαμομηλιού.....	58
4.2.2 Υπολογισμός Αναγωγικής Ισχύος/ Αντιοξειδωτικής Ικανότητας με την δοκιμή FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power).....	60
4.2.3 Εκτίμηση της Ικανότητας Δέσμευσης/Ανάσχεσης της Ελεύθερης Ρίζας ABTS ^{•+}	61

4.2.4 Συσχέτιση Φασματοφωτομετρικών Μεθόδων με τον Στατιστικό Δείκτη Pearson's Correlation.....	63
5. Συμπεράσματα	64
6. Μελλοντικοί Στόχοι	67
7. Βιβλιογραφία	68

1. Εισαγωγή

1.1 Αρωματικά Φυτά

Τα αρωματικά φυτά, γνωστά και ως βότανα και μπαχαρικά, χρησιμοποιούνται από την αρχαιότητα ως λαϊκή ιατρική και ως συντηρητικά στα τρόφιμα. Τα πιο γνωστά αρωματικά φυτά, όπως η ρίγανη, το δεντρολίβανο, το φασκόμηλο, ο γλυκάνισος, ο βασιλικός κ.λπ., φύονται και καλλιεργούνται κυρίως στην περιοχή της Μεσογείου. Περιέχουν πολλές βιολογικά ενεργές ενώσεις, κυρίως πολυφαινολικές, οι οποίες έχει βρεθεί ότι διαθέτουν αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές, αντιπαρασιτικές, αντιμυκητιακές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Επί του παρόντος, η ζήτηση για αυτά τα φυτά και τα παράγωγά τους έχει αυξηθεί επειδή είναι φυσικά, φιλικά προς το περιβάλλον και γενικά αναγνωρισμένα ως ασφαλή προϊόντα. (Efterpi Christaki et.all 2012) Ως εκ τούτου, τα αρωματικά φυτά και τα εκχυλίσματά τους έχουν τη δυνατότητα να καταλήξουν ή να ενταχθούν σε τελικά προϊόντα τόσο για τη διατροφή και την υγεία των ανθρώπων και των ζώων.

Τα μπαχαρικά προέρχονται από διάφορα μέρη ενός φυτού (Πίνακας 1.1) εκτός από τα φύλλα, ενώ τα βότανα προέρχονται από φύλλα ενός φυτού. Τα μπαχαρικά και τα βότανα μπορούν να ταξινομηθούν σε διάφορες ομάδες με βάση τη γεύση ή το μέρος του φυτού από το οποίο προέρχονται. Με βάση τη γεύση, τα μπαχαρικά και τα βότανα μπορούν να ταξινομηθούν σε 4 ομάδες: καυτερά μπαχαρικά (μαύρο και άσπρο πιπέρι, πιπέρι καγιέν, μουστάρδα, τσίλι), μπαχαρικά ήπιας γεύσης (πάπρικα, κόλιανδρος), αρωματικά μπαχαρικά (γαρύφαλλο, κύμινο, μάραθο άνηθο, μοσχοκάρυδο, μοσχοκάρυδο, κανέλα) και αρωματικά βότανα και λαχανικά (θυμάρι, βασιλικός, δάφνη, μαντζουράνα, ασκαλώνιο, κρεμμύδι, σκόρδο). Με βάση την ταξινομική ταξινόμηση, τα μπαχαρικά και τα βότανα ανήκουν στην κατηγορία Angiospermae ή στα ανθοφόρα φυτά (Bianca R. Albuquerque et all, 2020). Τα μπαχαρικά και τα βότανα είναι φυσικές πηγές που προσδίδουν γεύση και χρώμα στα τρόφιμα και είναι μια από τις καλύτερες πηγές φυσικών αντιοξειδωτικών επειδή περιέχουν ενώσεις που έχει αποδειχθεί ότι προσφέρουν αντιοξειδωτική δράση στα τρόφιμα.

Πίνακας 1.1: Πίνακας 1.1: Sources of spices and herbs./Πηγές μπαχαρικών και βοτάνων ([Embuscado, M. E. \(2015\)](#))

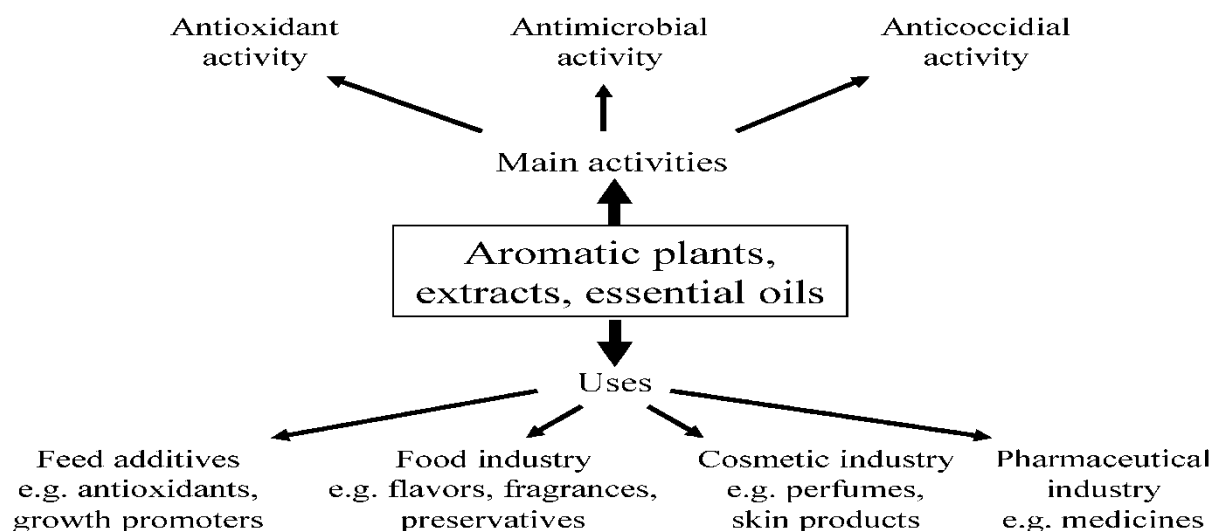
Μέρος του φυτού	Μπαχαρικό/βότανο
Φύλλα	Βασιλικός, ρίγανη, δάφνη, θυμάρι
Φλοιός	Κανέλα
Σπόρος	Μάραθος
Λουλούδι/μπουμπούκι, ύπερο	Γαρύφαλλο, σαφράν
Φρούτα/μούρα	Γαρύφαλλο, μαύρο πιπέρι, μπαχάρι
Βολβοί	Κρεμμύδι, σκόρδο, πράσο

Τα αρωματικά φυτά περιέχουν πτητικές, αρωματικές, υδρόφοβες ενώσεις σε υψηλή συγκέντρωση, που ονομάζονται αιθέρια έλαια. Αυτά λαμβάνονται από διάφορα μέρη του φυτού όπως άνθη, μπουμπούκια,

σπόρους, φύλλα, κλαδιά, φλοιούς, ξυλώδη μέρη, καρπούς και ρίζες. Τα αιθέρια έλαια είναι πολύπλοκα μείγματα δευτερογενών μεταβολιτών που αποτελούνται από φαινυλοπροπένια και τερπένια χαμηλού σημείου βρασμού . Οι πιο σημαντικές οικογένειες αρωματικών φυτών ως προς το περιεχόμενό τους σε αιθέρια ελαία είναι: Asteraceae ή Compositae (Χαμομήλι), Lamiaceae ή Labiateae (Βασιλικός) και Apiaceae ή Umbelliferae (Κύμινο).([Mohammad Sadegh Amiri et.all, 2016](#)) Τα έλαια παραλαμβάνονται συνήθως με απόσταξη με ατμό (ατμοαπόσταξη), με υδροαπόσταξη και με υδροατμοαπόσταξη. Ανάλογα με τον τύπο και τη συγκέντρωσή τους, τα αιθέρια έλαια παρουσιάζουν κυτταροτοξικές επιδράσεις στα ζωντανά κύτταρα, αν και δεν είναι γονιδιοτοξικά. Η κυτταροτοξική δράση των αιθέριων ελαίων οφείλεται κυρίως στην παρουσία φαινολών, αλδεΐδων και αλκοολών. Αυτή η κυτταροτοξική δράση παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον για εφαρμογές κατά ορισμένων παθογόνων και παρασίτων του ανθρώπου

ή των ζώων, καθώς και για τη διατήρηση τροφίμων και προϊόντων τροφίμων. Είναι γνωστό εδώ και αιώνες ότι τα αρωματικά φυτά κυρίως τα αιθέρια έλαια ή τα συστατικά τους μπορούν να δράσουν έναντι μιας μεγάλης ποικιλίας οργανισμών όπως βακτήρια, ιούς, μύκητες, πρωτόζωα, παράσιτα και έντομα ενώ επίσης μπορούν να παρουσιάσουν υπολιπιδαιμικές, αντιοξειδωτικές, και αντιτοξιογονικές δράσεις.

Υπάρχουν περισσότερα από 3000 φυτά που χρησιμοποιούνται για τα αιθέρια έλαιά τους, από τα οποία περίπου 300 χρησιμοποιούνται εμπορικά ως αρώματα . Όπως φαίνεται στην Εικόνα 1, η βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιεί τα έλαια σε αναψυκτικά, τρόφιμα ζαχαροπλαστικής κ.λπ., και η βιομηχανία καλλυντικών τα χρησιμοποιεί σε αρώματα, προϊόντα περιποίησης δέρματος και μαλλιών, αρωματοθεραπεία κ.λπ., ενώ η φαρμακοβιομηχανία τα χρησιμοποιεί για λειτουργικές ιδιότητες όπως την καταπολέμηση παθήσεων του πεπτικού συστήματος και την ανακούφιση από τον πόνο.



Εικόνα 1.1: Activities and uses of aromatic plants./Δραστηριότητες και χρήσεις αρωματικών φυτών.(E Christaki et.all., 2015)

Η αντιμικροβιακή δράση των αιθέριων ελαίων έχει εξεταστεί σε μελέτες κατά Gram-αρνητικών βακτηρίων, επιδεικνύοντας υψηλή αντιμικροβιακή ικανότητα.(Efterpi Christaki et.all, 2012) Ορισμένα αρωματικά φυτά και τα εκχυλίσματά τους έχουν αναφερθεί ότι διεγείρουν την ανάπτυξη ορισμένων βακτηρίων στο εντερικό μικροβίωμα του ανθρώπου, δηλαδή ότι εμφανίζουν πρεβιοτικού τύπου δράση λόγω της υψηλής τους συγκέντρωσης σε βιοδραστικές ενώσεις, όπως οι πολυφαινόλες. Τα προβιοτικά είναι γνωστά για την ικανότητά τους να αυξάνουν τους ενδογενείς εντερικούς πληθυσμούς των Lactobacillus και Bifidobacterium, με αποτέλεσμα ευεργετικά αποτελέσματα στην υγεία.

Όσον αφορά την αντιοξειδωτική τους δράση τα αρωματικά φυτά είναι καλές πηγές φυσικών αντιοξειδωτικών, όπως φαινολικά οξέα, π.χ. υδροξυκινναμωμικό οξύ, υδροξυβενζοϊκό οξύ. ([Erick P. Gutiérrez-Grijalva et.all, 2018](#)) Οι πολυφαινόλες εμφανίζονται γενικά ως γλυκοζίτες, αν και η βιοδραστικότητά τους αποδίδεται κυρίως στις άγλυκες δομές τους. Θεωρείται ότι η αντιοξειδωτική δράση αυτών των ενώσεων οφείλεται στις υψηλές οξειδοαναγωγικές τους ιδιότητες και τη χημική τους δομή, η οποία μπορεί να είναι υπεύθυνη για την δέσμευση των ελεύθερων ριζών, το σχηματισμό χηλικών συμπλόκων και την απόσβεση του απλού και τριπλού οξυγόνου με μετεγκατάσταση ή αποσύνθεση υπεροξειδίων. Οι παραπάνω ιδιότητες συνδέονται στενά με τις ευεργετικές λειτουργίες που έχουν τα φαινολικά αντιοξειδωτικά στην υγεία επειδή συμβάλλουν στην πρόληψη και στην καθυστέρηση εμφάνισης πολλών ασθενειών που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες, όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, καρκίνος, διαβήτης και Αλτσχάιμερ. Επιπλέον, οι φυτικές φαινόλες επιδεικνύουν *in vitro* αντιοξειδωτική δράση, αναστέλλοντας την υπεροξειδωση των λιπιδίων δρώντας ως σαρωτές ριζών υπεροξυλίου που διασπούν την αλυσίδα. Επομένως, μπορούν να παίξουν προστατευτικό ρόλο για τα εξαιρετικά ακόρεστα λιπίδια στις ζωοτροφές έναντι της οξειδωτικής βλάβης, υποκαθιστώντας εν μέρει τη χρήση οξικού α-τοκοφερολεστερά ή συντηρητικών. Η οξείδωση των λιπιδίων στα τρόφιμα θεωρείται ως ένας από τους κύριους παράγοντες που περιορίζουν την ποιότητα και την αποδοχή των προϊόντων, λόγω της παραγωγής αντιδρώντων ειδών οξυγόνου (ROS) και αρωματικών ουσιών από πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Τα αιθέρια έλαια μπορούν επίσης να επηρεάσουν το μεταβολισμό των λιπιδίων στους ζωικούς ιστούς παρουσιάζοντας ευεργετικές επιδράσεις στη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων (υπεροξειδάση-δισμουτάση), καθώς και στη σύνθεση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων([Montoro et.all,2005](#)). Κατά συνέπεια, τα φλαβονοειδή είναι σημαντικές ουσίες στη διατροφή, αν και γενικά θεωρούνται ως μη θρεπτικά συστατικά. Τα φλαβονοειδή μπορεί επίσης να δρουν ως προοξειδωτικά, ειδικά εκείνα που διαθέτουν πολλαπλές ομάδες υδροξυλίου(ισοφλαβόνες,φλαβόνες) . Αφού διεισδύσουν στην εσωτερική κυτταρική μεμβράνη, τα φλαβονοειδή μπορούν να οξειδωθούν αντιδρώντας με ROS και να μετατραπούν σε προοξειδωτικά, τα οποία είναι ικανά να οξειδώσουν λιπίδια, πρωτεΐνες και DNA. Αυτός ο μηχανισμός μπορεί να οδηγήσει σε όψιμη απόπτωση ή νέκρωση των κατεστραμμένων κυττάρων, παίζοντας έτσι έναν «προστατευτικό» ρόλο εξαλείφοντας πιθανές μεταλλάξεις. Ωστόσο η συχνή λήψη προοξειδωτικών λόγω της οξείδωσής βιολογικών μορίων μπορούν να προκαλέσουν βλάβες και προβλήματα στην υγεία όπως διάφορων τύπων αλλεργίες και άσθμα([Johanna M. Gostner et.all,2015](#))

Πίνακας 1.2: Αντιοξειδωτικά που απομονώνονται από βότανα και μπαχαρικά (Embuscado, M. E. (2015))

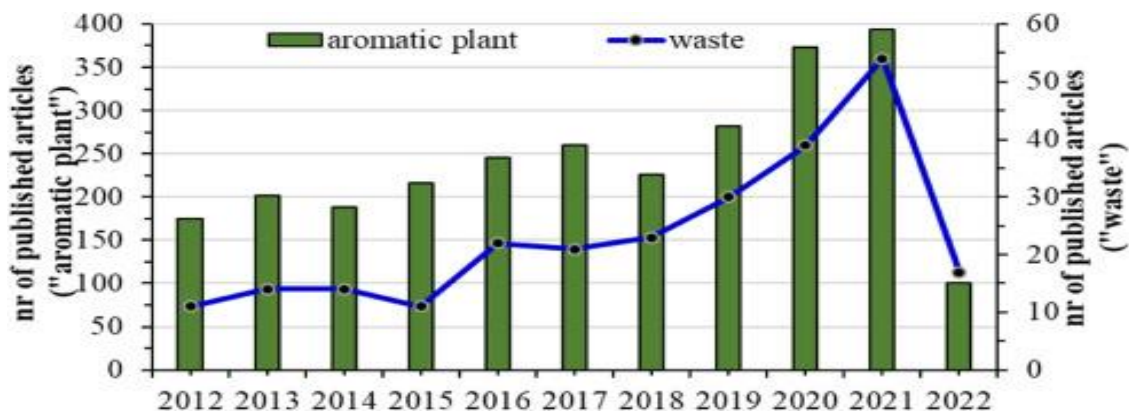
Μπαχαρικό/βότανο	Επιστημονική ονομασία	Αντιοξειδωτικές ενώσεις	Τρόπος δράσης
Δενδρολίβανο	<i>Rosemarinus officinalis</i>	Καρνοσόλη, καρνοσικό οξύ, ροσμανόλη, ροσμαδιάλη, διτερπένια	Δεσμεύει ρίζες υπεροξειδίου, λιπιδικό αντιοξειδωτικό και υποκαταστάτης μετάλλων στη χηλικοποίηση
Ρίγανη	<i>Origanum vulgare</i>	Ροσμαρινικό οξύ, καφεϊκό οξύ, πρωτοκατεχουϊκό οξύ, 2-καφεοϋλοξυ-3-[2-(4-υδροξυβενζυλ)-4,5-διυδροξυ] φαινυλπροπιονικό οξύ	Παράγοντας δέσμησης ελεύθερων ριζών
Θυμάρι	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Θυμόλη, καβακρόλη, φαινολικά οξέα (γαλλικό οξύ, καφεϊκό οξύ, ροσμαρινικό οξύ), φαινολικά διτερπένια, φλαβονοειδή	Παράγοντας δέσμησης ελεύθερων ριζών
Κύμινο	<i>Cuminum cyminum</i>	γ-τερπινένιο, πινοκαρβεόλη, λιναλοόλη, 1-μεθυλ-2-(1-μεθυλαιθυλ)βενζόλιο, καροτόλη	Παράγοντας δέσμησης ελεύθερων ριζών, χηλικός παράγοντας μετάλλων
Γαρύφαλλο	<i>Eugenia caryophyllata</i>	Φαινολικά οξέα (γαλλικό οξύ), γλυκοζίτες φλαβονόλης, φαινολικά πτητικά έλαια (ευγενόλη, ακετυλ ευγενόλη, ισοευγενόλη), ταννίνες	Παράγοντας δέσμησης ελεύθερων ριζών, χηλικός παράγοντας μετάλλων

Μαντζουράνα	<i>Majorana hortensis</i>	β-καροτένιο, β-σιτοστερόλη, καφεϊκό οξύ, καρβακρόλη, ευγενόλη, υδροκινόνη, φυτόλιναλόλης-οξικό 3–17, μυρσένιο, ροσμαρινικό οξύ, τερπινεν-4-όλη	Παράγοντας δέσμευσης ελεύθερων ριζών
-------------	---------------------------	--	--------------------------------------

Τέλος , ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη των αρωματικών φυτών αναφορικά με το οικονομικό σκέλος. Η αποτίμηση των αρωματικών φυτών στην παγκόσμια αγορά υπολογίζεται σε 32,7 δισεκατομμύρια δολάρια στο σύνολο ενώ η αξία της Ασιατικής αγοράς μεμονωμένα υπολογίζεται σε 14,5 δισεκατομμύρια δολάρια με παραγωγή 6 εκατομμύρια τόνων τον χρόνο. Έτσι , αντιπροσωπεύει περίπου το 44% και 53% του παγκόσμιου εμπορίου σε όρους αξίας και όγκου αντίστοιχα (Riaz et al., 2021) . Παράλληλα , οι Η.Π.Α καταλαμβάνουν την 1^η θέση στις εισαγωγές και εξαγωγές αιθέριων ελαίων. Διαθέτουν το 17% και 14% των παγκόσμιων εισαγωγών και εξαγωγών οι οποίες υπολογίζονται σε περίπου 390 και 351 εκατομμύρια δολάρια αντιστοίχως (Kant et al., 2022).

1.2 Παραπροϊόντα αρωματικών φυτών

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια αυξημένη ευαισθησία και ταυτόχρονη ζήτηση αναφορικά με τα φυσικά προϊόντα από την πλευρά των καταναλωτών. Η τάση αυτή , έχει ως αποτέλεσμα να αυξάνεται όλο ένα και περισσότερο η χρήση τους σε πολλούς τομείς όπως τα τρόφιμα, τα καλλυντικά, τα φάρμακα και η γεωργία .(Elguea et al., 2022). Η ζήτηση αυτή επιφέρει και έναν όγκο παραπροϊόντων τα οποία προκύπτουν μέσω της επεξεργασίας των αρωματικών φυτών και προϊόντων. Όμως , τα παραπροϊόντα μπορούν να βρουν εφαρμογή στον τομέα των τροφίμων (συντηρητικά σε διάφορα προϊόντα διατροφής, σε βρώσιμες επικαλύψεις και σε μεμβράνες που χρησιμοποιούνται σε συσκευασίες τροφίμων) εφόσον αποτελούν πλούσια πηγή βιοδραστικών συστατικών. Έτσι , η βιομηχανία τροφίμων τα εκμεταλλεύεται και τα χρησιμοποιεί είτε ως πρόσθετα, είτε ως συστατικά τροφίμων προστιθέμενης αξίας. Η εύστοχη αξιοποίηση τους μπορεί να επιφέρει σημαντικές μειώσεις στο κόστος παραγωγής και επεξεργασίας των προϊόντων, αναδεικνύοντας την πολύτιμη αξία των φαινομενικά ανεκμετάλλευστων αποβλήτων (Faustino et al., 2019). Το αυξημένο ενδιαφέρον των καταναλωτών στα φυτικά προϊόντα , έχει προκαλέσει και την ανάλογη άνθηση της αγοράς των φυτικών εκχυλισμάτων. Εκτιμάται ότι η αξία τους το 2022 ανήλθε στα 34,4 δις δολάρια. (Plant Extracts Market Industry Analysis | Advantages, and Forecast, 2022)



Εικόνα 1.2: Αριθμός άρθρων που δημοσιεύθηκαν μεταξύ 2012 και 2022 στο Scopus με λέξεις κλειδιά «αρωματικό φυτό» και «απόβλητα». (Skendi et al., 2022)

Επιπλέον, η τάση αυτή γίνεται αντιληπτή μέσα και από το αυξημένο ερευνητικό ενδιαφέρον για τα απόβλητα και τα παραπροϊόντα των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. Πιο συγκεκριμένα οι αναζητήσεις στο Scopus με λέξεις κλειδιά όπως «αρωματικό φυτό» και «απόβλητα» εμφάνισε 4076 και 304 άρθρα αντίστοιχα, αριθμοί που τα προηγούμενα χρόνια δεν είχαν παρατηρηθεί όπως φαίνεται και στην Εικόνα 1.2 (Skendi et al., 2022).

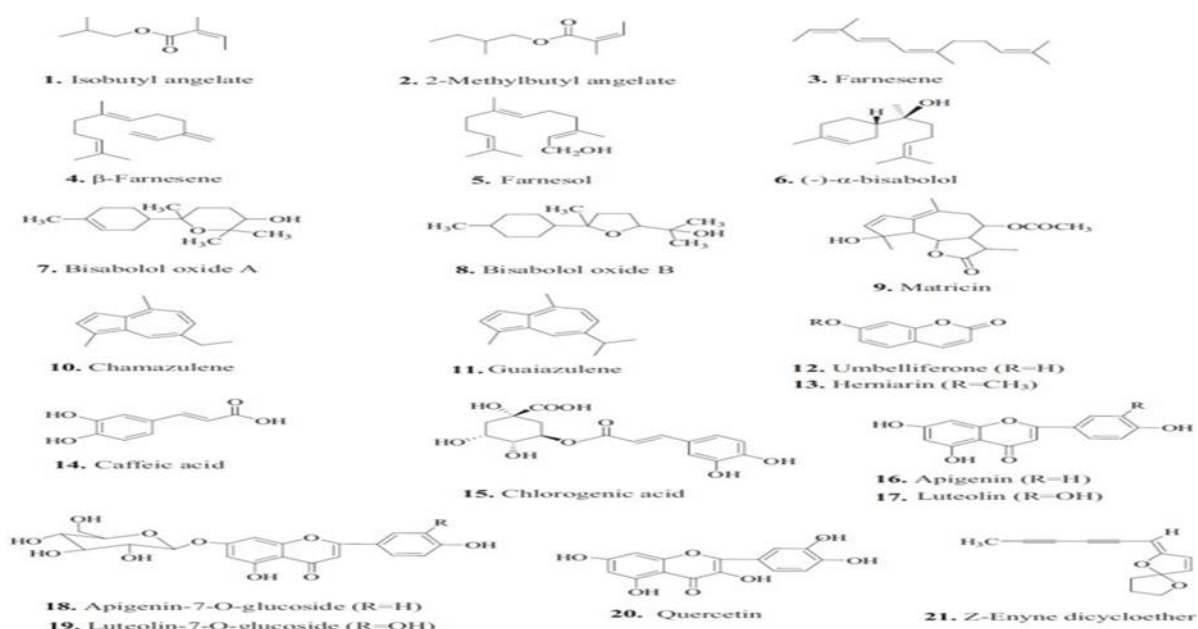
Η στροφή της αγοράς στα φυτικά προϊόντα και η γενική αύξηση στην ζήτηση των τροφίμων τα τελευταία έτη, έχει αποτελέσει πρόκληση στην βιομηχανία των τροφίμων. Στόχο αποτελεί η κάλυψη των απαιτήσεων της αγοράς αλλά και η εύρεση νέων βιοδραστικών συστατικών που θα μπορέσουν να συμβάλλουν στην παραγωγή καινοτόμων και ασφαλών προϊόντων στην αγορά, μιας και οι φυσικές πηγές των πρώτων υλών παραμένουν περιορισμένες και η ανάγκη για λύσεις κρίνεται επιτακτική. Κάθε χρόνο εκτιμάται ότι μόνο από την βιομηχανία φαρμακευτικών βοτάνων παράγονται 30 εκατομμύρια τόνοι αποβλήτων. Μέσα σε αυτά περιέχονται βιοδραστικές και άκρως χρήσιμες ενώσεις οι οποίες δεν χρησιμοποιούνται από τις βιομηχανίες και απορρίπτονται με τεχνικές, όπως υγειονομική ταφή και η καύση. Με αυτόν τον τρόπο συντελούνται οικονομικές σπατάλες αλλά και αξιοσημείωτες περιβαλλοντικές καταστροφές. Παρατηρείται εκπομπή περιβαλλοντικών ρύπων και ρύπανση των υπόγειων υδάτων. Επίσης, μέσω τεχνικών όπως της υγειονομικής ταφής των στερεών αποβλήτων προκαλούνται εκπομπές μεθανίου (CH_4), διοξειδίου του άνθρακα (CO_2) και άλλων πτητικών οργανικών ενώσεων εκτός του μεθανίου, αέρια τα οποία μπορεί να ευθύνονται για την κλιματική αλλαγή (Marcelino, Gaspar and Paço, 2022). Με αυτούς τους μεγάλους κινδύνους να εγκυμονούν, σχέδιο δράσης της Ευρωπαϊκής Ένωσης αποτελεί η κυκλική οικονομία. Στόχος του μαθηματικού προτύπου αυτού είναι εξάλειψη των αποβλήτων σε συνδυασμό με την επαναχρησιμοποίηση των πόρων που σχηματίζονται στην βιομηχανία τροφίμων όποτε είναι πρακτικά δυνατό. Η στρατηγική προσέγγιση αυτή στηρίζεται στη μείωση, την επαναχρησιμοποίηση, την ανάκτηση και την ανακύκλωση υλικών και ενέργειας, ενισχύοντας την αξία και, κατά συνέπεια, τη διάρκεια ζωής των προϊόντων, των υλικών αλλά και των πόρων στην οικονομία. (Faustino et al., 2019)

Η βιομάζα αρωματικών φυτών είναι πλούσια σε βιοδραστικές ενώσεις, οι οποίες χρησιμοποιούνται σε τομείς όπως τα τρόφιμα, οι ζωοτροφές, τα φαρμακευτικά προϊόντα και

η γεωργία. Μέσω της βιομηχανίας των αιθέριων ελαίων παράγονται μεγάλες ποσότητες αποβλήτων και παραπροϊόντων λόγω της σχετικά μικρής απόδοσης που παρατηρείται κατά την απόσταξη των αρωματικών φυτών. Τα φυτικά αυτά εκχυλίσματα των παραγόμενων παραπροϊόντων είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά και μέσω σύγχρονων οικολογικών τεχνικών εκχύλισης μπορεί να πραγματοποιηθεί η ανάκτηση τους. Η φυτική αυτή βιομάζα μπορεί να βιομετατραπεί σε βιοκαύσιμα και πολυμερή, άλλα η πλήρη αξιοποίηση της ανοίγει τον δρόμο για σύγχρονα και βιώσιμα συστήματα και προϊόντα στον τομέα των τροφίμων. (Alexandri et al., 2023)

Μεγάλες ποσότητες στερεών παραπροϊόντων προκύπτουν από την χρήση αρωματικών φυτών από τις βιομηχανίες για την παραλαβή αιθέριων ελαίων από το χαμομήλι, το μελισσόχορτο και την λεβάντα, προσφέροντας μια αξιόπιστη και πλούσια πηγή μεγάλου αριθμού βιοδραστικών ενώσεων βάση της σύστασής τους. (Catani et al., 2021)

Παρακάτω παρουσιάζονται ενδεικτικά οι κύριες πολυφαινολικές ενώσεις που προσδιορίστηκαν σε ξηρά εκχυλίσματα χαμομηλιού

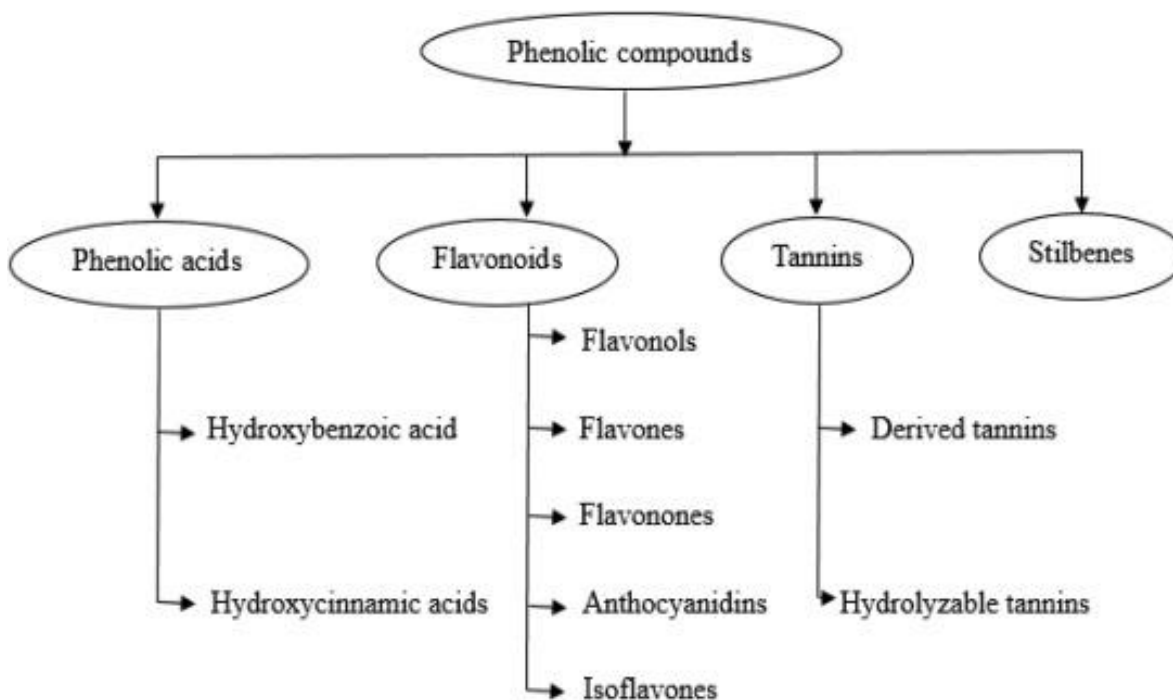


Εικόνα 1.3 : Δευτερογενείς μεταβολίτες από *M. Chamomilla* (Singh et al., 2011)

1.3 Φαινολικές Ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις είναι φυσικά βιοενεργά μόρια που βρίσκονται κυρίως σε φυτικούς ιστούς που παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες βιολογικές δράσεις, όπως αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις και αντιπυρολυτικές, γεγονός που έχει οδηγήσει σε μεγάλο ενδιαφέρον γύρω από τις πιθανές χρήσεις τους από διάφορες βιομηχανίες.

Τα φυτά μπορούν να συνθέσουν διάφορες οργανικές ενώσεις που ονομάζονται δευτερογενείς μεταβολίτες είτε κατά τη διάρκεια φυσιολογικών μεταβολικών διεργασιών είτε κάτω από ορισμένες περιβαλλοντικές συνθήκες όπως τραυματισμοί, θερμοκρασία, υπεριώδη ακτινοβολία, μόλυνση και άλλες (Cheynier, 2012, Tiago et al., 2017). Αυτοί οι μεταβολίτες, που σε μεγάλο ποσοστό ανήκουν σε ενώσεις με αρωματικό δακτύλιο, ομαδοποιούνται σε διαφορετικές ομάδες ανάλογα με την θέση των δακτυλίων φαινόλης στις δομές τους. Οι φαινολικές ενώσεις εμφανίζονται και ως λειτουργικά παράγωγα όπως μεθυλεστέρες, εστέρες και γλυκοζίτες. Περιλαμβάνουν φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα, ταννίνες, στυλβένια. Οι φαινολικές ενώσεις κατηγοριοποιούνται σε διάφορες κατηγορίες όπως φαίνεται στην [Εικόνα 1.4.](#) (Alara et.al., 2021)

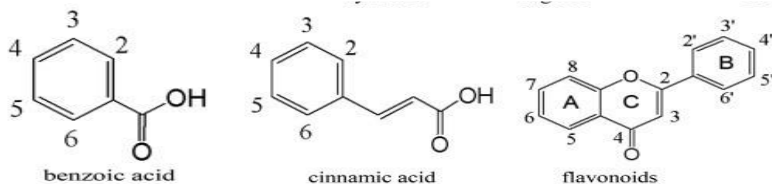


Εικόνα 1.4: Κατηγορίες φαινολικών ενώσεων

Τα φαινολικά οξέα αντιπροσωπεύουν την απλούστερη κατηγορία φαινολικών ενώσεων. Η βασική τους δομή περιέχει έναν φαινολικό δακτύλιο που διαθέτει μια καρβοξυλικού οξέος και, σύμφωνα με τον ανθρακικό σκελετό τους, χωρίζονται σε δύο ομάδες: (i) υδροξυβενζοϊκά οξέα (C6–C1) που προέρχονται από βενζοϊκό οξύ και (ii) υδροξυκινναμωμικά οξέα (C6–C3) που προέρχονται από κινναμωμικό οξύ. Το τελευταίο αποτελείται από τα πιο κοινά φαινολικά οξέα, όπως το καφεϊκό και το φερούλικό οξύ, που βρίσκονται σε λαχανικά, φρούτα και σπόρους([Εικόνα 1.5](#)).

Τα φλαβονοειδή είναι η κατηγορία φαινολικών ενώσεων με τις περισσότερες επιμέρους ενώσεις (πάνω από 8.000). Η βασική τους δομή αποτελείται από δεκαπέντε άτομα άνθρακα (C6–C3–C6), τα οποία βρίσκονται σε δύο δακτυλίους βενζολίου (A και B), που συνδέονται με έναν

ετεροκυκλικό δακτύλιο πυρανίου (C)([Εικόνα 1.5](#)). Σύμφωνα με τον δεσμό μεταξύ των δακτυλίων B και Γ και τις δυνατότητες υποκατάστασης του δακτυλίου Γ, χωρίζονται σε έξι διαφορετικές υποομάδες: φλαβονόλες, φλαβόνες, φλαβονόνες, φλαβανόλες, ισοφλαβονοειδή και ανθοκυανίνες. Αυτή η κατηγορία ενώσεων είναι ευρέως διαδεδομένη σε πολλά τρόφιμα και έχει διερευνηθεί σε μεγάλο βαθμό για τις ποικίλες βιοδραστηριότητες της.



Εικόνα 1.5: Ακριβής αναπαράσταση των ανθράκων C1-C6 στο βενζοϊκό και κινναμικό οξύ αλλά και των τριών δακτυλίων A,B,C στα φλαβονοειδή.

Οι τανίνες είναι τα κύρια φαινολικά πολυμερή που βρίσκονται στους φυτικούς ιστούς. Αυτά τα μόρια είναι γνωστό ότι προσδίδουν στυπτική και πικρή γεύση σε ορισμένα φρούτα. Οι τανίνες είναι πολύπλοκα φαινολικά που χωρίζονται σε δύο υποκατηγορίες: τις υδρολυόμενες τανίνες και τις συμπυκνωμένες τανίνες.

Τα στιλβένια υπάρχουν στην ανθρώπινη διατροφή μόνο σε μικρές ποσότητες και κυρίως με τη μορφή ρεσβερατρόλης η οποία έχει διερευνηθεί αρκετά για αντικαρκινογόνα, αντιφλεγμονώδη χαρακτηριστικά και καρδιοπροστατευτικά ([Bahare et al., 2018](#)). Οι αναγνωρισμένες πηγές ρεσβερατρόλης είναι δέντρα, λίγα ανθοφόρα φυτά, αμπέλια και φιστίκια, αλλά οι κύριες διατροφικές προελεύσεις είναι κρασιά, φιστίκια, σταφύλια και προϊόντα φιστικιών.

Όλες οι παραπάνω φαινολικές ενώσεις είναι βιοδραστικές ενώσεις που συνήθως συνδέονται με προστατευτική δράση για τη διατήρηση της καλής υγείας όταν καταναλώνονται στην καθημερινή διατροφή. Αυτές οι ενώσεις έχουν δείξει ανασταλτική δράση κατά της εξέλιξης πολλών σοβαρών ασθενειών, όπως ο καρκίνος, το Αλτσχάιμερ και ο διαβήτης, μεταξύ άλλων.

Πίνακας1.3: Φαινολικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία και την πρόληψη ασθενειών

Φαινολικές ενώσεις	Διαταραχή υγείας	Τύπος ανάλυσης	Αποτελέσματα	Βιβλιογραφία
ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ				
Ελλαγικό οξύ	Ισχαμία/τραυματισμός επαναιμάτωσης σκελετικών μυών	Ζωικό μοντέλο	Η θεραπεία εξασθένησε τη μυϊκή βλάβη μειώνοντας τα επίπεδα υπεροξειδωσης των λιπιδίων.	F. N. Ekinci Akdemir et.all., 2016
Γαλλικό οξύ	Διαβήτης τύπου 2	Ζωικό μοντέλο	Βελτιωμένη ανοχή στη γλυκόζη, μειωμένο οξειδωτικό στρες	A. Abdel-Moneim et.all., 2017
Σιναπικό οξύ	Καταρράκτης	Ζωικό μοντέλο	Αύξηση της περιεκτικότητας σε μειωμένη γλουταθειόνη στους οφθαλμικούς φακούς των αρουραίων στην πρώιμη φάση της οιστρογονικής ανεπάρκειας.	M. Zych et.all., 2019
ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ				

Ανθοκυανίνες	Ήπια έως μέτρια άνοια, Υπερχοληστερολαιμία	Κλινικές Μελέτες	Βελτίωση της λεκτικής ευχέρειας και της βραχυπρόθεσμης και μακροπρόθεσμης μνήμης, Μείωση της λιποπρωτεΐνης-χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας ορού (LDL)	X. Zhang et.all., 2016
Ισοφλαβόνες	Υψηλή πίεση του αίματος	Κλινικές Μελέτες	Μειωμένη αρτηριακή πίεση των υπερτασικών.	X. X. Liu et.all., 2012

Στη σύγχρονη βιομηχανία λόγω των περιορισμών που υπάρχουν στην χρήση τεχνητών προσθέτων τροφίμων, οι φαινολικές ενώσεις λόγω των αντιμικροβιακών και αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων που διαθέτουν χρησιμοποιούνται ευρέως για να παρατείνουν τον χρόνο ζωής πολλών τροφίμων και αυξάνουν κατά πολύ το βαθμό αποδοχής τους από τους καταναλωτές. Για παράδειγμα οι ανθοκυανίνες από το *Prunus nepalensis* L. που προστέθηκαν σε υψηλή συγκέντρωση σε τρόφιμα που παράγονται υπό διαφορετικές συνθήκες, όπως γιαούρτι, σιρόπι και βρασμένα ζαχαρωτά, έδειξαν σταθερό χρώμα και βελτίωσαν την αισθητηριακή αποδοχή αυτών των προϊόντων. (Albuquerque et.all., 2021)

1.4 Χαμομήλι

Το χαμομήλι (*Matricaria chamomilla*) είναι ένα πολύ γνωστό είδος φαρμακευτικού φυτού και συχνά αναφέρεται ως «το αστέρι μεταξύ των φαρμακευτικών ειδών» (Sah et al., 2022). Στην εποχή μας χρησιμοποιείται πολύ και η δημοτικότητα του συνεχώς αυξάνεται λόγω των πολλαπλών ιδιοτήτων που παρουσιάζει. Στο φυτό αυτό, πολλές φορές παρατηρείται νοθεία κατά την διάθεση του στην αγορά με αντικατάσταση του από συγγενή φυτά. Το χαμομήλι ανήκει στην οικογένεια Asteraceae. Στην οικογένεια αυτή περιέχονται πάνω από 32.000 γνωστά είδη φυτών τα οποία υπάγονται σε περισσότερα από 1900 γένη των Αστεροειδών (Τσιγαρίδα,2019). Τα λευκά άνθη των φυτών έχουν μήκος από 6 έως 11 nm , πλάτος 3.5 nm και παρουσιάζουν

ομόκεντρη διάταξη. Το χαμομήλι, διαθέτει την ικανότητα να καλλιεργείται σε διάφορα είδη εδαφών, όμως συστήνεται η αποφυγή των ιδιαίτερα βαριών και υγρών εδαφών και μπορεί να αναπτυχθεί σε θερμοκρασιακά εύρη μεταξύ 7°C και 26°C. ([El Mihyaoui et al., 2022](#))

Το χαμομήλι χαρακτηρίζεται ως ετήσιο ή πολυετές φυτό , το οποίο καλλιεργείται στην νότια και ανατολική Ευρώπη , την κεντρική και δυτική Ασία , την βόρεια Αφρική και την δυτική και βόρεια Αμερική, διαθέτοντας έτσι την ικανότητα να καλλιεργείται είτε σε τροπικές είτε σε ψυχρές κλιματολογικές συνθήκες. ([Wang et al., 2022](#))

Η αξιοποίηση φαρμακευτικών φυτών έχει τις βάσεις της την αρχαιότητα. Η σύγχρονη τάση και στροφή των βιομηχανιών στην εκμετάλλευση των φυσικών προϊόντων σε συνδυασμό με τα άλματα προόδου στον τομέα της διατροφής και της υγείας έχει οδηγήσει στην χρήση τους για την καταπολέμηση διάφορων ασθενειών παγκοσμίως ([Sharifi-Rad et al., 2018](#)). Το χαμομήλι , διαθέτει ένα μεγάλο φάσμα βιοδραστικών ενώσεων και για αυτό παρουσιάζει πληθώρα φαρμακευτικών δράσεων όπως αντικαρκινική, αντιαλλεργική και αντικαταθλιπτική δράση. Παρακάτω ([Πίνακας 1.4](#)) παρουσιάζονται οι κύριες φαρμακολογικές δραστηριότητες του χαμομηλιού.([Wang et al., 2022](#))

Πίνακας 1.4 : Φαρμακολογικές δραστηριότητες χαμομηλιού , ([Wang et al. , 2022](#))

Ιδιότητες	Παρατηρούμενη επίδραση
Αντικαρκινική δράση	Το οξείδιο Α α-βισαβολόλης και ο απιγενιν-7-β-D-γλυκοζίτης αναστέλλουν τη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου.
Αντικαρκινική δράση	Υδροαλκοολικά εκχυλίσματα χαμομηλιού αυξάνουν την απόπτωση και τη νέκρωση, μειώνουν τον πολλαπλασιασμό ή τη μετανάστευση των κυττάρων.
Αντικαρκινική δράση	Η απιγενίνη παρουσιάζει επίσης μια ορισμένη αντικαρκινική επίδραση στα καρκινικά κύτταρα του ήπατος.

Αντιμολυσματική δράση	Αντι-μολυσματική επίδραση στην ανάπτυξη μυκήτων και βακτηρίων , μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της κνίδωσης.
Αντιφλεγμονώδης δράση	Θεραπεία φλεγμονωδών ασθενειών όπως η μαστίτιδα, η κολίτιδα, η δερματίτιδα, η κυστίτιδα και η επιπεφυκίτιδα.
Αντιθρομβωτική δράση	Αντιθρομβωτική δράση παρατείνοντας το χρόνο πήξης και αιμόστασης.
Αντιοξειδωτική δράση	Σάρωση των ελεύθερες ριζών του 1,1-διφαινυλο-2-πικρυλυδραζυλίου (DPPH) και υδροξυλίου.
Υπογλυκαιμική δράση	Μειώνει τα επίπεδα γλυκόζης αίματος , μειώνει το οξειδωτικό στρες που σχετίζεται με την υπεργλυκαιμία.
Αντιαλλεργική δράση	Περιορισμός στις αλλεργικές αντιδράσεις που προκαλούνται
Αντικαταθλιπτική δράση	Ανακουφίζει αποτελεσματικά τα συμπτώματα κατάθλιψης.
Οργανοπροστατευτική δράση	Προστατευτικές επιδράσεις σε όργανα όπως το ήπαρ, ο πνεύμονας, τα νεφρά και το στομάχι.
Νεφροπροστατευτική δράση	Αναστέλλει την σπειραματική ίνωση, βελτιώνει τη δομή του νεφρικού ιστού και προστατεύει από τη βλάβη του νεφρικού ιστού που προκύπτει από υπέρταση.
Αναλγητική δράση	Μείωση στον πόνο της ημικρανίας , ανακουφιστική επίδραση στον πόνο του μαστού.
Καλλυντική δραστηριότητα	Αποκατάσταση του ευαίσθητου δέρματος, εξάλειψη της ακμής και τη βελτίωση της αφυδάτωσης του δέρματος.

Στο χαμομήλι ως ένα πλούσιο σε βιοδραστικά συστατικά αρωματικό φυτό εντοπίζονται περίπου 120 δευτερογενείς μεταβολίτες στους οποίους συγκαταλέγονται : 28 τερπενοειδή με κύρια τα σεσκιτερπένια και 36 флаβονοειδή με επικρατέστερα την απιγενίνη και την κουερσετίνη. Παρακάτω, (Πίνακας1.5) ακολουθεί αναλυτικά η παρουσίαση των κύριων φυτοχημικών ενώσεων του χαμομηλιού. (Sah et al., 2022)

Πίνακας 1.5 : Κύριες φυτοχημικές ενώσεις στο χαμομήλι, (Wang et al., 2022)

No.	Κατηγοριοποίηση	Χημική Ένωση
1	Οργανικά Οξέα	Καφεϊκό οξύ
2	Οργανικά Οξέα	Χλωρογεϊνικό οξύ
3	Οργανικά Οξέα	Νονανοϊκό οξύ
4	Οργανικά Οξέα	Φερουλικό οξύ
5	Οργανικά Οξέα	Γαλακτουρονικό οξύ
6	Οργανικά Οξέα	Ισοβουτυρικό οξύ
7	Οργανικά Οξέα	Στεατικό οξύ
8	Οργανικά Οξέα	Παλμιτικό οξύ
9	Οργανικά Οξέα	Λινελαϊκό οξύ
10	Οργανικά Οξέα	D,L-2-μεθυλβουτυρικό οξύ
11	Οργανικά Οξέα	4-υδροξυβενζοϊκό οξύ
12	Οργανικά Οξέα	1,5-δικαφεοϋλκινικό οξύ
13	Οργανικά Οξέα	Ελαϊκό οξύ
14	Φλαβονοειδή	Απιγενίνη
15	Φλαβονοειδή	Κουερσετίνη
16	Φλαβονοειδή	Πατουλιτρίνη
17	Φλαβονοειδή	Ισοραμνετίνη-7-O-β-γλυκοζίτης
18	Φλαβονοειδή	Κυανιδίνη-3-O-γλυκοζίτης
19	Φλαβονοειδή	Χρυσοσπληνετίνη B
20	Φλαβονοειδή	Εσκουλίνη
21	Φλαβονοειδή	Ευπατολετίνη
22	Φλαβονοειδή	3-O-μεθυλοκουερσετίνη
23	Φλαβονοειδή	Ναριγκενίνη
24	Φλαβονοειδή	7-O-(β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-γαλακτίνη
25	Φλαβονοειδή	Ισοκαμπφερόλη-7-O-γλυκουρονίδιο
26	Φλαβονοειδή	Λουτεολίνη-7-O-β-ρουτινοζίτης
27	Φλαβονοειδή	Ευπαφολίνη
28	Φλαβονοειδή	Χρυσοσπληνόλη Δ
29	Κουμαρίνες	Σκοπολετίνη
30	Κουμαρίνες	7-μεθοξικουμαρίνη
31	Κουμαρίνες	3,4-διυδροκουμαρίνη
32	Τερπένια	Διπεντένιο
33	Τερπένια	Γερανιόλη
34	Τερπένια	D-ισομενθόλη
35	Τερπένια	Ολεανολικό οξύ
36	Τερπένια	Ταραξαστερόλη

37	Τερπένια	Χουμουλένιο
38	Τερπένια	(+)-Δικυκλογερμακρένιο
39	Στερόλες	Δαουκοστερόλη
40	Στερόλες	Στιγμαστερόλη
41	Στερόλες	Στιγμαστερόλη 3-O-β-D γλυκοζίτη
42	Στερόλες	7,22-διενο-3,5,6-τριυδροξυ-εργοστερόλη
43	Στερόλες	6β-υδροξυστιγμάστερη-4,22-διεν-3-όνη

1.5 Εκχύλιση Βιοδραστικών Συστατικών

1.5.1 Εκχύλιση Φαινολικών Ενώσεων από Φυτικά Παραπροϊόντα: Γενικές αρχές

Η πιο γνωστή μέθοδος φυσικού διαχωρισμού ενώσεων, που βασίζεται στη διαφορετική διαλυτότητα τους σε ένα διφασικό σύστημα υγρού-υγρού ή υγρού-στερεού, είναι η εκχύλιση. Η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης προέρχεται από την αλληλεπίδραση μεταξύ της ικανότητας διαλυτοποίησης του διαλύτη και της σχετικής διαλυτότητας των φαινολικών δειγμάτων, η οποία καθορίζει το πόσο εύκολα ή δύσκολα θα γίνει η εκχύλιση των εν λόγω ενώσεων. Από αυτή την άποψη, η ικανότητα των διαλυτών να δημιουργούν δεσμούς υδρογόνου αλλά και άλλους ενδομοριακούς δεσμούς είναι καθοριστική, ειδικά για την επίτευξη διαλυτοποίησης και απελευθέρωσης των ενώσεων-στόχων που περιέχονται στην εξεταζόμενη μήτρα ή υπόστρωμα (Jessop et al., 2012). Έτσι, όσο μεγαλύτερη είναι η διάχυση του διαλύτη μέσα στο υπόστρωμα, τόσο ευκολότερη είναι η αποσταθεροποίηση του δικτύου δεσμών μεταξύ του υποστρώματος και των μελετώμενων ενώσεων άρα και υψηλότερη η διαλυτοποίηση των ενώσεων-στόχων (Alara et al., 2021). Για την εκπλήρωση όλων αυτών των σκοπών, η πολικότητα του συστήματος διαλυτών είναι ιδιαίτερα κρίσιμη καθώς καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την επιλεκτικότητά του και επομένως τα διαφορετικά φαινολικά είδη που μπορούν να παραληφθούν στο εκχύλισμα.

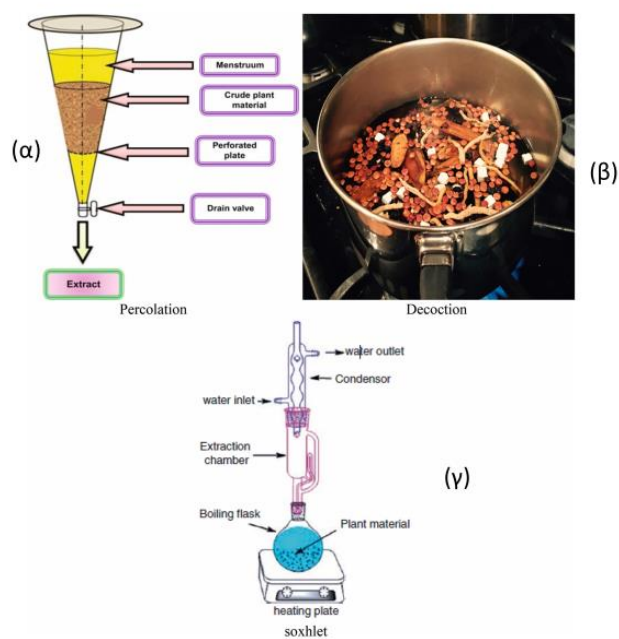
Ένα μεγάλο μέρος των πρωτοκόλλων εκχύλισης περιλαμβάνει διαλύτες GRAS (Γενικά Αναγνωρισμένους Ως Ασφαλείς), οι οποίοι εμφανίζουν τοξικότητα, είναι βιολογικά επικίνδυνοι και κατά συνέπεια ανεπαρκείς για τις βιομηχανίες τροφίμων, καλλυντικών ή φαρμακευτικών προϊόντων. Για παράδειγμα, η υψηλή τοξικότητα της μεθανόλης την καθιστά μη κατάλληλη για εφαρμογές που περιλαμβάνουν επαφή ή κατάποση από τον άνθρωπο. Αντίθετα, η αιθανόλη είναι χαμηλής τοξικότητας, φιλική προς το περιβάλλον (Gil-Martín et al., 2022), παρέχει υψηλές αποδόσεις εκχύλισης φαινολικών ενώσεων και έχει καλές προοπτικές για μεταφορά σε μεγάλης κλίμακας εφαρμογές.

Όσον αφορά τις μεθόδους εκχύλισης αυτές διαχωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: α) στις συμβατικές μεθόδους (conventional methods) β) στις μη συμβατικές μεθόδους εκχύλισης (non-conventional methods).

Οι συμβατικές τεχνικές εκχύλισης είναι η εκχύλιση στερεού-υγρού (πχ. διαβροχή) , το αφέψημα, η έγχυση, , και η εκχύλιση Soxhlet (Alara et al., 2018a, Alara et al., 2018b , Kaufmann and Christen, 2002, Sticher, 2008). Επί του παρόντος, η μέθοδος διαβροχής δεν χρησιμοποιείται συνήθως λόγω της διαθεσιμότητας άλλων πιο αποτελεσματικών μεθόδων. Η εκχύλιση στερεού-υγρού είναι μια διαδικασία εμβάπτισης ενός κονιοποιημένου δείγματος στον κατάλληλο διαλύτη σε ένα κλειστό σύστημα, ακολουθούμενη από συνεχή ή σποραδική ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου ή αυξημένες θερμοκρασίες (Olejar et al., 2015, Sticher, 2008). Μετά την περίοδο εκχύλισης, εφαρμόζεται μια διαδικασία διαχωρισμού για τον διαχωρισμό των στερεών μερών από τον διαλύτη. Αυτό συνήθως επιτυγχάνεται είτε με διήθηση, μετάγγιση ή διαύγαση (Ćujić et al., 2016). Αν και αυτή είναι μια εύκολη τεχνική, έχει το μειονέκτημα ότι είναι χρονοβόρα (12-24 ώρες) και απαιτεί διαλύτες σε μεγάλους όγκους.

Η παρασκευή αφεψήματος περιλαμβάνει το βρασμό των δειγμάτων των φυτών για μικρό χρονικό διάστημα. Αυτή η μέθοδος είναι ως επί το πλείστον κατάλληλη για θερμοσταθερά και υδατοδιαλυτά φυτοχημικά (Kaufmann and Christen, 2002, Sticher, 2008). Στην περίπτωση του αφεψήματος δεν απαιτείται διήθηση, καθώς για την παρασκευή του το φυτικό υλικό βρίσκεται σε συσκευασίες εξοπλισμένες με φίλτρα που επιτρέπουν τη διέλευση μόνο διαλύτη που περιέχει το εκχύλισμα. Τα προβλήματα αυτής της μεθόδου είναι παρόμοια με αυτά της που περιγράφηκαν στην κλασική μέθοδο στερεού-υγρού. (χρονοβόρα διαδικασία, μεγάλοι όγκοι διαλυτών, διαλυτότητα πολυφαινολών, κ.ά.)

Όσον αφορά τη μέθοδο εκχύλισης Soxhlet, η ακατέργαστη ουσία τοποθετείται σε διηθητικό χαρτί σε σχήμα δακτυλήθρας το οποίο στη συνέχεια διατηρείται σε γυάλινο κύλινδρο. Αυτός ο κύλινδρος παρέχεται με σωλήνα σιφονιού και σωλήνα εισόδου. Ένας συμπυκνωτής νερού είναι



Εικόνα 1.6: Η εικονογραφική παράσταση (α) διήθησης (β) αφέψημα (γ) εκχύλισης soxhlet (Alara et.all,2021)

προσαρτημένος στον κύλινδρο στο επάνω μέρος. (Εικόνα 1.6) (Alara et al., 2018a, Alara et al., 2018b, Luque de Castro and García-Ayuso, 1998). Όλο αυτό το συγκρότημα τοποθετείται στο λαιμό μιας φιάλης με στρογγυλό πυθμένα που περιέχει το διαλύτη. Η φιάλη θερμαίνεται σε υδατόλουτρο ή λουτρό άμμου. Οι ατμοί του διαλύτη φτάνουν στον κύλινδρο μέσω του σωλήνα εισόδου και πηγαίνουν προς τα πάνω στον συμπυκνωτή. Ο συμπυκνωμένος διαλύτης έρχεται σε επαφή με την ακατέργαστη οργανική ουσία και τη διαλύει. Μόλις το διάλυμα φτάσει στο επάνω άκρο του σωλήνα σιφονιού (Dipa Aryal 2022). Με αυτόν τον τρόπο, διατηρείται μια συνεχής παροχή ατμών διαλύτη στον κύλινδρο και η διαλυμένη οργανική ένωση ρέει πίσω στη φιάλη. Τέλος, η θέρμανση διακόπτεται και το διάλυμα στη φιάλη αποστάζεται για να ανακτηθεί ο διαλύτης, ενώ η οργανική ένωση μένει πίσω. (Azwanida, 2015).

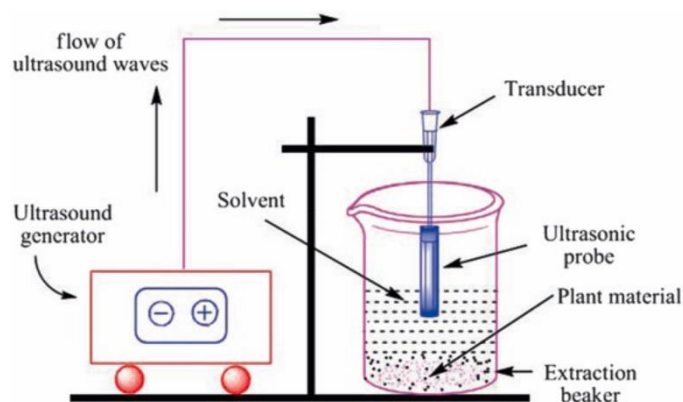
Ωστόσο παρά τον εύκολο χειρισμό και το χαμηλό κόστος που προσφέρουν οι συμβατικές τεχνικές εκχύλισης, η χαμηλή απόδοσή τους και η πιθανή επιβάρυνση του περιβάλλοντος λόγω των μεγάλων χρησιμοποιούμενων όγκων διαλυτών δημιούργησε την ανάγκη ανάπτυξης βελτιωμένων μεθόδων εκχύλισης. Τέτοιες μέθοδοι περιλαμβάνουν την εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά (supercritical fluid extraction –CO₂), την υποβοηθούμενη με μικροκύματα εκχύλιση (MAE), την υποβοηθούμενη με υπερήχους εκχύλιση (UAE), την υποβοηθούμενη από ένζυμο εκχύλιση (EAE), την εκχύλιση υπό πίεση (PFE) ή ακόμη και συνδυασμό αυτών των προσεγγίσεων και ονομάζονται μη συμβατικές.

Τα πλεονεκτήματα των σύγχρονων τεχνικών εκχύλισης [15] συνοψίζονται σε: (α) αυξημένες αποδόσεις εκχύλισης σε μικρότερο χρόνο, (β) χρήση εναλλακτικών φιλικών προς το περιβάλλον διαλυτών και μειωμένες ποσότητες επικίνδυνων παραγώγων, (γ) ενέργεια και χρόνος - διαδικασίες εξοικονόμησης, (δ) προστασία των θερμοευκίνητων βιομορίων και (ε) ενίσχυση της επιλεκτικότητας εκχύλισης για πολύτιμες κατηγορίες ενώσεων (λιπίδια, πολυφαινόλες και φαινολικές ενώσεις, φλαβονοειδή και ανθοκυανίνες, πολυσακχαρίτες και καροτενοειδή) (P.S. Bernstein et al. 2016). Ωστόσο ένα από τα σημαντικά μειονεκτήματα που παρατηρείται στις σύγχρονες μεθόδους εκχύλισης και ιδιαίτερα σε εκείνες που χρησιμοποιούν υπερήχους είναι η απαίτηση επαρκούς ισχύος που πολλές φορές είναι δύσκολο να επιτευχθεί αλλά και η τοποθέτηση του δοχείου που συγκρατεί τη μήτρα και τον διαλύτη μέσα στο λουτρό, καθώς η επίδραση των κυμάτων υπερήχων ποικίλλει ανάλογα με τη θέση.

1.5.2 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με Υπερήχους (Ultrasound-assisted extraction, UAE)

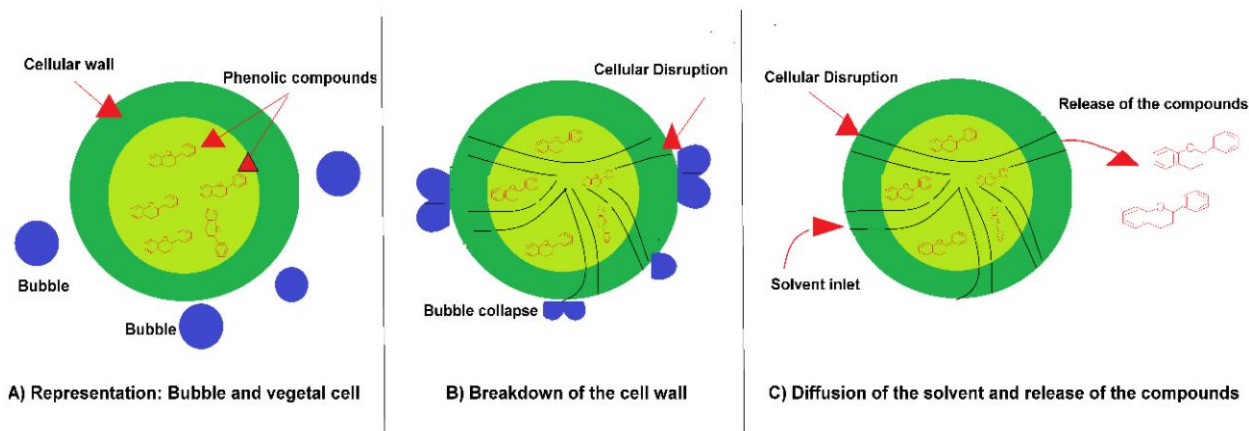
Αυτή η τεχνική είναι μια εύκολη τεχνική εκχύλισης που χρησιμοποιεί την επαγόμενη μηχανική ενέργεια που προκαλείται μέσω της δημιουργίας, της διόγκωσης και τέλος της έκρηξης μικροφουσαλίδων (φαινόμενο σπηλαίωσης) που παράγονται κατά την ηχοβόληση με υπερήχους, οδηγώντας στην διάρρηξη των ιστών που διευκολύνει τη διάχυση φυτοχημικών από το υπόστρωμα στον διαλύτη (Vinatoru, 2001). Είναι μια απλή και χαμηλού κόστους μέθοδος που μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο σε μικρή όσο και σε μεγάλη κλίμακα (Shirzad et al., 2017). Τα τελευταία χρόνια παρατηρήθηκε αυξημένη χρήση των υπερήχων για την ανάκτηση

πολυφαινολών από διαφορετικές πηγές. Η πειραματική διαδικασία απαιτεί γενικά τη χρήση υπερήχων με εύρος συχνοτήτων μεταξύ 20 και 2000 kHz για την αύξηση της διαπερατότητας του κυτταρικού τοιχώματος μέσω του φαινομένου σπηλαίωσης. Σύμφωνα με διάφορες αναφορές, τα κύματα υπερήχων διασφαλίζουν ταχύτερη και καλύτερη εκχύλιση πολυφαινολών με ελαχιστοποίηση της καταστροφής ή της αποικοδόμησης των υπό μελέτη ενώσεων σε σχέση με άλλες τεχνικές εκχύλισης (Vinatoru, 2001).



Εικόνα 1.7: Εικονογραφική αναπαράσταση τεχνικής UAE.

Γενικά, έχουν εντοπιστεί αρκετοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην UAE. Στην Εικόνα 1.8 γίνεται μια αναπαράσταση του μηχανισμού της σπηλαίωσης ενός φυτικού κυττάρου όπου καταρρέει και απελευθερώνει φυτικό υλικό με πρώτο βήμα τη διάσπαση του κυτταρικού τοιχώματος με τη βοήθεια της φυσαλίδας, ο οποία συγκρούεται με αυτό και δεύτερο στάδιο την απελευθέρωση των φαινολικών ενώσεων.



Εικόνα 1.8: Γραφική αναπαράσταση σπηλαίωσης που καταρρέει και απελευθερώνει φυτικό υλικό σε τρία βήματα. (Α) Αναπαράσταση φυσαλίδων και φυτικών κυττάρων, (Β) Διάσπαση του κυτταρικού τοιχώματος και κατάρρευση φυσαλίδων, τέλος (Γ) Διάχυση του διαλύτη και απελευθέρωση των ενώσεων (Shirsath et al. 2012)

Στην εκχύλιση με υπερήχους υπάρχουν πέντε βασικοί παράγοντες που καθορίζουν πόσο αποτελεσματική θα είναι μια εκχύλιση και είναι οι εξής:

1. Σύστημα υπερήχων και πλάτος κύματος

Υπάρχουν δύο κύρια συστήματα υπερήχων: το λουτρό υπερήχων και το σύστημα με συζευγμένο καθετήρα. Στο τελευταίο το πλάτος παίζει σημαντικό ρόλο στην εντατικοποίηση της εκχύλισης αφού, αυξάνοντας το πλάτος, αυξάνεται ο αριθμός των κύκλων συμπίεσης και αποσυμπίεσης των κυμάτων υπερήχων και, κατά συνέπεια, υπάρχει εντονότερη εκχύλιση των ενώσεων. Οι [Carrera et al.](#) , ανέφεραν σημαντικές στατιστικές διαφορές κατά τη σύγκριση των αποδόσεων εκχύλισης ανθοκυανίνης και τανίνης χρησιμοποιώντας πλάτη κυμάτων 20% και 50%, γεγονός που υποδηλώνει ότι ένα μεγαλύτερο εύρος υπερήχων προκαλεί μεγαλύτερο αριθμό κοιλοτήτων βελτιώνοντας έτσι τη διαδικασία εκχύλισης.

2. Επίδραση του διαλύτη

Οι ενώσεις κατανέμονται στο κύτταρο ανάλογα με τη διαλυτότητα που οφείλεται στην πολικότητα τους. Οι υδρόφιλες ουσίες βρίσκονται κυρίως στα κυτταρικά κενοτόπια, ενώ άλλες, όπως η πλειονότητα των λιγνινών, των φλαβονοειδών και των αδιάλυτων στο νερό πολυφαινολών, εναποτίθενται στο κυτταρικό τοίχωμα μέσω υδρόφοβων δεσμών με πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες. Αυτός είναι ο λόγος που ο διαλύτης εκχύλισης πρέπει να επιλέγεται σύμφωνα με τη διαλυτότητα των ενώσεων προς τις οποίες κατευθύνεται η διαδικασία. Επιπλέον, η τοξικότητα, το κόστος και η διαθεσιμότητα πρέπει επίσης να ληφθούν υπόψη([Galvan D'Alessandro et.al 2012](#)). Διαλύτες όπως η μεθανόλη ή η αιθανόλη έχουν σημαντικά χαμηλότερη πολικότητα σε σύγκριση με το νερό και αυτό ευνοεί τη διαλυτότητα και τη διάχυση των φαινολικών ενώσεων μειώνοντας τη διηλεκτρική σταθερά του διαλύτη. Στην εκχύλιση με υπερήχους σημαντικοί παράμετροι αποτελούν το ιξώδες και η τάση ατμών του διαλύτη. Στις περισσότερες περιπτώσεις, διαλύτες με χαμηλό ιξώδες και τάση ατμών διευκολύνουν το φαινόμενο της ακουστικής σπηλαίωσης και συνεπώς την απόδοση της εκχύλισης.([Thalia Tsiaka et.all, 2018](#))

3. Επίδραση θερμοκρασίας

Η θερμοκρασία είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που εμπλέκονται στην UAE. Γενικά, αύξηση στις τιμές αυτής της μεταβλητής συσχετίζονται με βελτιωμένες αποδόσεις εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων λόγω: της διάσπασης του κυτταρικού τοιχώματος, της αύξησης της διαλυτότητας της ένωσης, του ρυθμού διάχυσής της στο διαλύτη, της μεταφοράς μάζας και της μείωσης του ιξώδους και της τάσης ατμών του διαλύτη.([Celli, et.all, 2015](#))

4. Επίδραση της αναλογίας διαλυμένης ουσίας/διαλύτη

Η αναλογία διαλυμένης ουσίας/διαλύτη είναι ένας από τους πιο κρίσιμους παράγοντες κατά τη μεταφορά μάζας, επειδή ένας μεγαλύτερος όγκος διαλύτη βοηθά στην επιτάχυνση της διαδικασίας διάχυσης([Muñiz-márquez,et.all.,2013](#)). Μια αύξηση στη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων παρατηρείται καθώς αυξάνεται η αναλογία

διαλυμένης ουσίας/διαλύτη. Παρόλα αυτά, υψηλές ποσότητες διαλυτών σημαίνουν αυξημένο κόστος για επακόλουθες εργασίες, όπως η συμπύκνωση και η διήθηση των εκχυλισμάτων που λαμβάνονται, καθώς και αύξηση της ποσότητας των αποβλήτων που παράγονται.

5. Χρόνος εκχύλισης

Κατά τη διαδικασία της UAE οι ουσίες-στόχοι έρχονται σε επαφή με τον διαλύτη, επομένως η απόδοση της εκχύλισης επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τον χρόνο αλληλεπίδρασης μεταξύ των υποστρώματος και διαλύτη. Οι [Şahin και Şamlı](#) ανέφεραν ότι η περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις που εκχυλίζονται με υπερήχους αυξάνεται σε συνάρτηση με το χρόνο, ακολουθώντας έναν μηχανισμό που σχηματίζεται από δύο κύρια στάδια. Το πρώτο βήμα " καλύπτει τα πρώτα 10-20 λεπτά εκχύλισης. Σε αυτό το στάδιο πραγματοποιείται η διάλυση των διαλυτών συστατικών στις επιφάνειες της μήτρας και σε αυτό το στάδιο μπορεί να επιτευχθεί έως και 90% της ανάκτησης της συνολικής περιεκτικότητας των φαινολικών ενώσεων, υποδεικνύοντας έτσι έναν αρκετά γρήγορο ρυθμό εκχύλισης . Στο δεύτερο στάδιο, γνωστό ως «αργή εκχύλιση», η μεταφορά μάζας της διαλυμένης ουσίας από τη μήτρα στον διαλύτη πραγματοποιείται με διάχυση. Ο χρόνος αυτής της διαδικασίας μπορεί να διαρκέσει από 60 έως 100 λεπτά ([Selin Shin et.all., 2013](#)).

Πίνακας 1.6: Πρόσφατα παραδείγματα εκχύλισης διάφορων ενώσεων με χρήση UAE σε συνδυασμό με άλλες τεχνικές εκχύλισης

Μέθοδος	Πρώτη Ύλη	Εκχυλιζόμενα Συστατικά	Βιβλιογραφία
UAE & Soxhlet extraction	Σκόνη σπόρων αμυγδάλου	Έλαιο αμυγδάλου	A. Mukherjee, K. Roy et.all, 2020
UAE & Extrusion(εξώθηση)	Στελέχη και φύλλα γλυκοπατάτας	Χλωρογενικό οξύ	X. Li, L. Zhang et.all, 2020
UAE & Clevenger distillation	Φύλλα eucalyptus grandis	Αιθέρια έλαια	Mainya, Nyabaro O et.all 2016

1.5.3 Πειραματικός Σχεδιασμός

Η βελτιστοποίηση των διεργασιών αποτελεί ένα ζήτημα μείζονος σημασίας στην βιομηχανία των τροφίμων. Παραδοσιακές μέθοδοι όπως η One-Factor- At- Time (OFAT) ή αλλιώς η βελτιστοποίηση των μελετώμενων παραμέτρων μία μία, επινοήθηκαν για τον σκοπό αυτό. Όμως

με την πάροδο των χρόνων παρατηρήθηκε ότι δεν εμφάνιζαν τα απαιτούμενα αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα, η απαίτηση σε μεγάλο αριθμό πειραμάτων καταλήγει σε μεγάλες ποσότητες υλικών, ενέργειας και χρόνου που έχουν ως συνέπεια την μεγάλη σπατάλη πόρων. Παράλληλα, ο τρόπος λειτουργίας της μεθοδολογίας OFAT χωρίς να λαμβάνει υπόψιν την αξιολόγηση και την συνεκτίμηση των αλληλεπιδράσεων των παραμέτρων της πειραματικής διαδικασίας οδηγεί σε μη βέλτιστο τελικό αποτέλεσμα (Prajapati, Patel and Mishra, 2020). Ένα μαθηματικό πρότυπο πειραματικού σχεδιασμού, περιέχει μια σειρά διεργασιών στις οποίες πραγματοποιούνται ταυτόχρονες αλλαγές στις μεταβλητές της διεργασίας με σκοπό την μελέτη των εξαγόμενων αποτελεσμάτων. Παρουσιάζει επίσης και πληθώρα πλεονεκτημάτων όπως: ο περιορισμός του αριθμού πειραμάτων, η δυνατότητα αξιολόγησης των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των παραμέτρων, η ανάδειξη των κρίσιμων παραμέτρων σε μια διεργασία και η δυνατότητα πρόβλεψης των αποτελεσμάτων, μέσω της ρύθμισης των παραμέτρων με σκοπό την επίτευξη του επιθυμητού αποτελέσματος. Ένα τέτοιο μαθηματικό πρότυπο είναι το Box-Behnken. Το συγκεκριμένο μαθηματικό πρότυπο πειραματικού σχεδιασμού αναπτύχθηκε από τους George E.P και Donald Behnken το 1960 και από τότε αποτελεί έναν ευρέως χρησιμοποιούμενο σχεδιασμό μεθοδολογίας, ο οποίος είναι ιδιαίτερα χρήσιμος για τον καθορισμό σχέσεων μεταξύ παραγόντων και αποκρίσεων σε πειράματα. Απαιτεί μόνο τρία επίπεδα τιμών σε κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή κατά την διεξαγωγή του πειράματος όπου οι μεταβλητές αυτές κωδικοποιούνται λαμβάνοντας τιμές -1, 0, +1. (Szpisják-Gulyás et al., 2023)

Παρουσιάζονται παρακάτω μερικές εφαρμογές μοντέλων πειραματικού σχεδιασμού σε ερευνητικές μελέτες (Πίνακας 1.7).

Πίνακας 1.7: Παραδείγματα εφαρμογής μοντέλων πειραματικού σχεδιασμού σε ερευνητικές μελέτες

Πεδίο Εφαρμογής	Μαθηματικό Πρότυπο Πειραματικού Σχεδιασμού	Βιβλιογραφία
Βελτιστοποίηση παρασκευής ενεργού άνθρακα από κέλυφος <i>Limonia acidissima</i>	Box-Behnken Design	Das, S., & Mishra, S. (2017)
Βελτιστοποίηση βιοαπορρόφησης χαλκού με την χρήση βρύα <i>Sphagnum</i>	Design of Experimentbased Taguchi Othogonal Array	Özdemir et al., 2014
Βελτιστοποίηση εκχύλισης αρσένιου σε δείγματα ρυζιού	Plackett Burman design	Tang et al., 2016
Επεξεργασία λυμάτων γαλακτοκομικών προϊόντων με οργανικούς πηκτικούς παράγοντες	Full Factorial Design with Center Point (FFDCP)	Muniz, Pereira and Borges, 2021

Περιγραφή πρόσληψης αζώτου από μικροφύκη σε συνεχείς φωτοβιοαντιδραστήρες	Model-Based design of Experiments (Droop & Monod models)	Saccardo et al., 2023
---	--	-----------------------

2. Σκοπός Εργασίας

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον χαρακτηρίζει την μελέτη των πιθανών εφαρμογών, των βιοδραστικών συστατικών που περιέχονται στα παραπροϊόντα χαμομηλιού. Η εφαρμογή τους μπορεί να πραγματοποιηθεί σε πολλούς τομείς όπως η βιομηχανία τροφίμων, η βιομηχανία καλλυντικών και οι φαρμακοβιομηχανίες, με κύριους στόχους την σύνθεση και παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας αλλά και την προσπάθεια δραστικής μείωσης της ρύπανσης του περιβάλλοντος από τις μεγάλες ποσότητες ανεκμετάλλευτων παραπροϊόντων προερχόμενα από την επεξεργασία του χαμομηλιού.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η μελέτη του φαινολικού περιεχομένου δειγμάτων παραπροϊόντων και ξηρής δρόγης του αρωματικού φυτού *Matricaria chamomilla* (χαμομήλι). Πραγματοποιήθηκε εκχύλιση με την βοήθεια υπερήχων (Ultrasound Assisted Extraction, UAE) για την παραλαβή των φαινολικών ενώσεων. Για την ανάλυση της διεργασίας εκχύλισης και την μελέτη των παραμέτρων της διεργασίας στο φαινολικό περιεχόμενο και την αντιοξειδωτική δράση χρησιμοποιήθηκε πειραματικός σχεδιασμός Box-Behnken. Οι ανεξάρτητες μεταβλητές (4) περιλαμβάνουν τη περιεκτικότητα του διαλύτη της εκχύλισης σε αιθανόλη (% v/v), το χρόνο εκχύλισης (min), την ένταση υπερήχων (%), και την αναλογία διαλύτη/υποστρώματος (mL/g), με 3 επίπεδα τιμών. Για την βελτιστοποίηση χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Response Surface Methodology. Για την πρόβλεψη των βέλτιστων συνθηκών της διεργασίας ο προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου των εκχυλισμάτων έγινε φασματοφωτομετρικά στα 750 nm με την μέθοδο Folin-Ciocalteu και το αποτέλεσμα σε mg γαλλικού οξέος (GAE)/g ξηρού δείγματος (dry herb). Μέσω της εξίσωσης πρόβλεψης προσδιορίστηκαν οι βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης για την παραλαβή της μέγιστης συγκέντρωσης ολικών φαινολικών ουσιών. Η εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης στην ξηρή δρόγη σε βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης και ορισμένων επιλεγμένων εκχυλισμάτων παραπροϊόντων πραγματοποιήθηκε μέσω της μεθόδου FRAP, όπου μετριέται η απορρόφηση των δειγμάτων στα 595 nm και τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg Fe(III) που ανήχθησαν σε Fe(II) ανά γραμμάριο δείγματος. Τέλος, πραγματοποιήθηκε η εκτίμηση της ικανότητας ανάσχεσης της ελεύθερης ρίζας ABTS^{•+} στα 734 nm και σε mg ισοδυνάμων πρότυπης ουσίας Trolox ανά γραμμάριο δείγματος χαμομηλιού, ώστε να αναδειχθούν τα εκχυλίσματα και κατ'επέκταση οι συνθήκες εκχύλισης με υπερήχους που παρέχουν εκχυλίσματα παραπροϊόντων χαμομηλιού με υψηλό φαινολικό περιεχόμενο και ισχυρή αντιριζική και αντιοξειδωτική δράση.

3. Υλικά και Μέθοδοι

3.1 Πειραματική Πορεία

Όλες οι διαδικασίες για την πραγματοποίηση των πειραμάτων πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Χημείας, Ανάλυσης και Σχεδιασμού Διεργασιών Επεξεργασίας Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής.

Η πειραματική πορεία που ακολουθήθηκε αρχικά περιλάμβανε την παραλαβή του χαμομηλιού και την αποθήκευση των δειγμάτων. Στη συνέχεια με την χρήση του μαθηματικού πρωτύπου Box-Benken Design (BBD) έγινε καθορισμός των συνθηκών εκχύλισης και ακολούθησε η εκχύλιση με υπερήχους. Έγινε βελτιστοποίηση των μεταβλητών εκχύλισης ως προς το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) και κατασκευάστηκε ένα μοντέλο πρόβλεψης του TPC. Τέλος έγινε μέτρηση του συνολικού φαινολικού περιεχομένου, της αντιοξειδωτικής και της αντιριζικής δράσης με τις μεθόδους Folin-Ciocalteu, FRAP και ABTS αντίστοιχα, τόσο στις βέλτιστες αλλά και σε επιλεγμένες συνθήκες εκχύλισης αλλά και σύγκριση των εκχυλισμάτων ξηρής δρόγης και παραπροϊόντος μεταξύ τους.

3.2 Πρώτη ύλη - Παραπροϊόντα Απόσταξης Χαμομηλιού

Στη συγκεκριμένη πτυχιακή εργασία τα δείγματα δρόγης (ξηρό προϊόν Χαμομηλιού) και του παραπροϊόντος που εξετάστηκαν, ανήκουν στο είδος *Matricaria chamomilla* L. και παραχωρήθηκαν από την εταιρία «Natural Food Additives G.P.» (<https://www.natural-foodadditives.com>) Τα παραπροϊόντα του αρωματικού φυτού προέκυψαν ως βιομάζα μετά την ατμοϋδροαπόσταξη του χαμομηλιού για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων του. Τόσο η δρόγη όσο και τα παραπροϊόντα χαμομηλιού παραλήφθηκαν σε ξηρή μορφή. Στη συνέχεια, τα δείγματα συντηρήθηκαν σε ψυγείο μέχρι την περαιτέρω ανάλυση τους.

3.3 Προεπεξεργασία δείγματος

Η ξηρή δρόγη κονιοποιήθηκε σε αναδευτήρα (blender) και διατηρήθηκε σε ψυγείο στους 4°C καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής των πειραμάτων. Επίσης, το ξηρό παραπροϊόν διατηρήθηκε στις ίδιες συνθήκες με αυτές της δρόγης έως ότου πραγματοποιηθούν οι αναλύσεις.

3.4 Εκχύλιση Φαινολικών Ενώσεων από Δείγματα Χαμομηλιού

Αρχικά, για την εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων από δείγματα χαμομηλιού προηγήθηκε θρυμματίσματος της ξηρής δρόγης και του παραπροϊόντος του χαμομηλιού και τοποθέτησή τους σε blender με σκοπό την ομογενοποίησή τους, το καθένα ξεχωριστά. Ακολούθησε ζύγιση 0,5 g δείγματος σε αναλυτικό ζυγό και προσθήκη κατάλληλου όγκου αιθανόλης και απεσταγμένου

νερού στις φιάλες υπερήχων. Παράλληλα, πραγματοποιήθηκε προθέρμανση του μηχανήματος υπερήχων εκτελώντας την διαδικασία με χρήση νερού αντί του δείγματος για 15 min και την ένταση στο 50%. Έπειτα από την προθέρμανση, οι φιάλες υπερήχων που περιείχαν τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε παγόλουτρο με στόχο την διατήρηση χαμηλών θερμοκρασιών κατά την εκχύλιση. Πριν και μετά την εκχύλιση πραγματοποιήθηκε και καταγραφή της θερμοκρασίας με την χρήση θερμοστοιχείου. Τέλος, μετά την υποβοηθούμενη με υπερήχους εκχύλιση, τα εκχυλίσματα τα οποία προέκυψαν τοποθετήθηκαν σε φυγόκεντρο σε συνθήκες 3500 rpm για 15 min με σκοπό την παραλαβή του υπερκείμενου εκχυλίσματος. Για την διεξαγωγή των εκχυλίσεων χρησιμοποιήθηκε αιθανόλη από την εταιρία PanReac (Madrid, Spain) και απιονισμένο νερό καθώς και η συσκευή υπερήχων Bandelin Sonoplus HD 2070 (20 kHz) της εταιρίας BANDELIN Electronic GmbH & Co. KG (Berlin, Germany) εξοπλισμένη με αισθητήρα (probe) υπερήχων διαμέτρου 6 mm. Ο ζυγός ο οποίος χρησιμοποιήθηκε για τη ζύγιση των δειγμάτων είναι ηλεκτρονικός με ακρίβεια στο τέταρτο δεκαδικό ψηφίο του γραμμαρίου, της Chyo Balance Corporation (Japan). Για τις φυγοκεντρήσεις των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκε η συσκευή φυγοκέντρησης Centrifuge Cencom II της εταιρείας J.P. Selecta, S.A. (Abrera, Spain) με μέγιστη ταχύτητα φυγοκέντρησης 4000 rpm και μέγιστη φυγόκεντρο δύναμη 1790 G. Διαθέτει γωνιακό στροφείο για 6 δοκιμαστικούς σωλήνες των 15 mL.

3.5 Πειραματικός Σχεδιασμός Εκχυλίσεων

Για την ανάλυση της διεργασίας εκχύλισης χρησιμοποιήθηκε πειραματικός σχεδιασμός Box – Behnken. Οι ανεξάρτητες μεταβλητές της διεργασίας περιλαμβάνουν:

- A. Το ποσοστό του διαλύτη σε αιθανόλη (% v/v, με το υπόλοιπο να είναι νερό, Ethanol Content)
- B. Ο χρόνος εκχύλισης (min, Extraction Time)
- C. Η αναλογία διαλύτη/υπόστρωμα (mL/g, Solvent/Material ratio)
- D. Η ένταση του μηχανήματος υπερήχων (% ποσοστό επί της μέγιστης ονομαστικής του ισχύος, US Power)

Χρησιμοποιήθηκαν τρία επιπέδα (χαμηλό (-1), κεντρικό (0) και υψηλό (+1) επίπεδο τιμών) σε κάθε ανεξάρτητη μεταβλητή της διεργασίας.

Το συγκεκριμένο μαθηματικό πρότυπο πρότεινε μέσω της εξίσωσης: $N = 2k(k - 1) + C_p$ (όπου k: ο αριθμός των μεταβλητών και C_p : ο αριθμός των κεντρικών σημείων), 27 πειράματα (runs) τα οποία έγιναν όλα με τυχαία σειρά με στόχο να αποφευχθεί οποιοδήποτε συστηματικό σφάλμα. Τα 27 πειράματα πραγματοποιήθηκαν μια φορά, η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγικότητα του μοντέλου προσδιορίστηκε μέσω των 3 πειραμάτων στα κεντρικά σημεία, ενώ στις φασματοφωτομετρικές μεθόδους, οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με τρεις επαναλήψεις σε κάθε δείγμα.

Το τελικό μετρούμενο (εξαρτημένο) μέγεθος είναι το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (total phenolic content, TPC) των εκχυλισμάτων από τη δρόγη και το παραπροϊόν χαμομηλιού. Παρακάτω παρουσιάζεται ο Πίνακας 3.1 με τις πραγματικές τιμές των τεσσάρων παραμέτρων.

Πίνακας 3.1. Πειραματικά τρία επίπεδα τιμών για τις 4 παραμέτρους

Τιμές Παραμέτρων/Παράμετροι	Ethanol Content (%)	Extraction Time (min)	Solvent/Material(ml/g)	US Power (%)
Χαμηλό(-1)	20	10	20	20
Κεντρικό (0)	60	25	40	50
Υψηλό(+1)	100	40	60	80

Πίνακας 3.2: Προτεινόμενα πειράματα εκχυλίσεων όπως προέκυψαν με εφαρμογή του μοντελου Box-Behnken.

Run order	Ethanol content (%)	Extraction time (min)	Solvent/Material (mL/g)	US Power (%)
1	100	25	40	20
2	60	25	60	20
3	100	25	60	50
4	20	40	40	50
5	60	25	40	50
6	60	25	40	50
7	20	25	60	50
8	60	25	20	20
9	60	10	40	20
10	60	10	40	80
11	60	25	20	80
12	100	40	40	50
13	100	25	40	80
14	60	40	60	50
15	20	25	40	20
16	60	10	20	50
17	60	40	40	80
18	20	25	20	50
19	100	25	20	50
20	20	25	40	80
21	60	25	60	80
22	60	40	20	50
23	60	10	60	50

24	60	40	40	20
25	100	10	40	50
26	60	25	40	50
27	20	10	40	50

Για την βελτιστοποίηση της διεργασίας χρησιμοποιήθηκε μεθοδολογία επιφανειών απόκρισης (response surface methodology, RSM).

$$Y = \beta_0 + \sum_{j=1}^K \beta_j x_j + \sum_{j=1}^K \beta_{jj} x_j^2 + \sum_i \sum_j \beta_{ij} x_i x_j + r_i \quad i < j$$

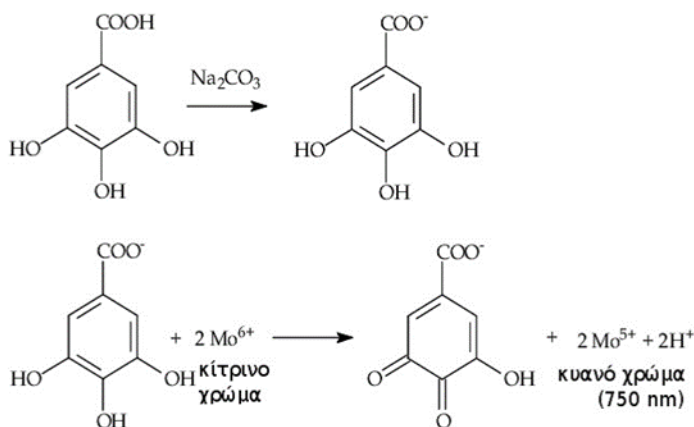
Παρακάτω ακολουθεί η εξίσωση πρόβλεψης του TPC, εκφρασμένη σε κωδικοποιημένες τιμές των παραμέτρων της UAE, η οποία κατασκευάστηκε από το στατιστικό λογισμικό Minitab με την χρήση των πειραματικών αποτελεσμάτων κατά την διαδικασία της εκχύλισης φαινολικών ενώσεων. Η εξίσωση η οποία χρησιμοποιήθηκε είναι : $Y = - 7,25 + 0,0860 A + 0,432 B + 0,2022 C + 0,2218 D - 0,001422 AA + 0,00188 AB - 0,001192 AC - 0,00396 BC - 0,01033 BD$ Όπου :

- Y = TPC (mg GAE/g dry herb)
- A = Ethanol Content (% v/v)
- B = Extraction time (min)
- C = US power (%)
- D = Solvent / Material ratio (mL/g)

3.6 Φασματοφωτομετρικές Αναλύσεις Εκχυλισμάτων Ξηρής Δρόγης και Παραπροϊόντος Απόσταξης Χαμομηλιού

3.6.1 Μέτρηση Ολικού Φαινολικού Περιεχομένου με την μέθοδο Folin-Ciocalteu (FC)

Η ποσοτικοποίηση του συνολικού φαινολικού περιεχομένου στα εκχυλίσματα πραγματοποιήθηκε φασματοφωτομετρικά , με την μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu σε μήκος κύματος 750nm. Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu αποτελείται από άλατα Μολυβδανίου (Mo) και Βολφραμίου (W). Παρατηρείται ότι οι φαινολικές ενώσεις παρουσία αλκαλικού περιβάλλοντος οξειδώνονται και το αντιδραστήριο ανάγεται προς οξείδια τα οποία χαρακτηρίζονται από κυανό χρώμα του πεντασθενές μολυβδαινίου. Η ένταση του χρώματος είναι ανάλογη του φαινολικού περιεχομένου, η συγκέντρωση του οποίου εκφράζεται σε ισοδύναμο ενός επιλεγμένου προτύπου.



Εικόνα 3.1: Αντίδραση του γαλλικού οξέος με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu μέσω μηχανισμού μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου

Για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων χρησιμοποιείται η πρότυπη καμπύλη αναφοράς απορρόφησης-συγκέντρωσης προτύπων διαλυμάτων. Μέσω αυτής, πραγματοποιείται ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των ολικών φαινολικών ενώσεων στο δείγμα, ο οποίος, στην παρούσα εργασία, εκφράζεται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE) ανά γραμμάριο (g) δείγματος. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν.

Πειραματική πορεία-Υλικά :

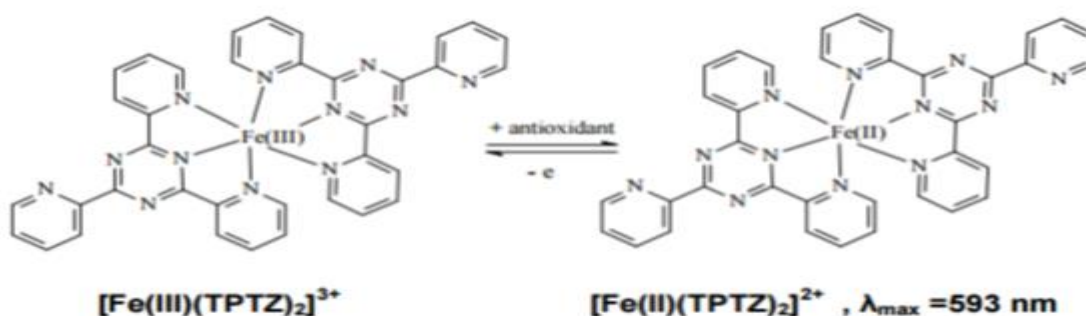
Σε πλαστικές κυψελίδες των 4,0 mL, τοποθετούνται με αυτόματη πιπέτα ρυθμιζόμενου όγκου συγκεκριμένες ποσότητες προτύπου ή δείγματος εκχυλίσματος (μετάξύ 5 και 100 μL), 2500,0 μL απεσταγμένο H_2O και 200,0 μL αντιδραστηρίου FC. Ακολουθεί ήπια ανάδευση και μετά από αναμονή 8 min σε σκοτεινό μέρος, προστίθενται 500,0 μL κορεσμένου διαλύματος Na_2CO_3 και το μείγμα αναδεύεται ξανά. Έπειτα, οι κυψελίδες τοποθετούνται για 30 min σε υδατόλουτρο Memmert W270 της Memmert GmbH + Co. (Schwabach, Germany) σταθερής θερμοκρασίας 40°C . Αφού αναπτυχθεί το επιθυμητό μπλε χρώμα και το περιεχόμενο των κυψελίδων αποκτήσει τη θερμοκρασία περιβάλλοντος μετريέται η απορρόφηση στα 750 nm ($A_{750 \text{ nm}}$) για κάθε δείγμα ή πρότυπο. Η απορρόφηση μετρήθηκε σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis Spectro 23 της Labomed Incorporation (Los Angeles, USA). Για την βαθμονόμηση του φασματοφωτομέτρου χρησιμοποιήθηκε απεσταγμένο νερό (H_2O) ενώ για τον μηδενισμό του οργάνου έγινε χρήση τυφλού δείγματος.

Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu προέρχεται από την Thermo Fisher(USA), το ανθρακικό νάτριο από Merck(Germany) και γαλλικό οξύ από την Alfa Aesar(USA).

3.6.2 Προσδιορισμός Αναγωγικής Ισχύος/Αντιοξειδωτικής Ικανότητας με τη Μέθοδο FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Την μέτρηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου ακολούθησε η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων τόσο της δρόγης όσο και των παραπροϊόντων. Τα αντιοξειδωτικά είναι πολύ σημαντικά διότι καθυστερούν ή και εμποδίζουν την οξείδωση

σημαντικών μορίων οπότε δράνε ως αναγωγικά. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται αποκλειστικά στην ικανότητα του προς εξέταση δείγματος να μεταφέρει ένα μονήρες ηλεκτρόνιο για την αναγωγή του συμπλόκου του τρισθενούς σιδήρου με 2,4,6-τρι-(2-πυριδυλ)-τριαζίνη (Fe+3 - TPTZ) σε δισθενή σίδηρο (Fe+2 -TPTZ)

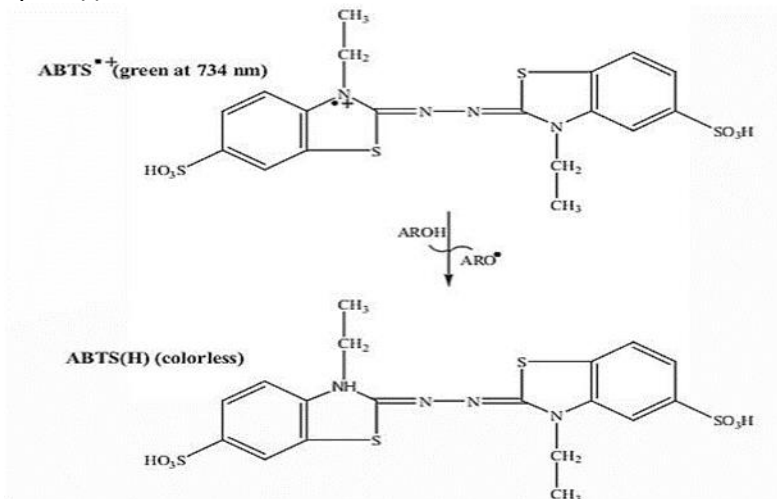


Εικόνα 3.2: Αντίδραση αναγωγής Fe(III) σε Fe(II)

Το τελικό προϊόν έχει μπλέ χρώμα και παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση στα 595 nm. Το περιβάλλον στο οποίο πραγματοποιείται η αντίδραση πρέπει να είναι όξινο (pH=3.6) έτσι ώστε να παραμένει διαλυτό το αντιδραστήριο του Fe(III). Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την συγκεκριμένη μέθοδο είναι ο τριχλωριούχος ένυδρος σίδηρος από την Fisher Scientific UK, ο δισθενής ένυδρος θειικός σίδηρος από την ChemLab, το οξικό οξύ από την Penta Chemicals, τα αντιδραστήρια και TPTZ από την Alfa Aesar. Η αναγωγική/αντιοξειδωτική ισχύς του δείγματος προσδιορίστηκε μέσω της πρότυπης καμπύλης απορρόφησης ($y = 0,0003x + 0,0081$, όπου y η απορρόφηση του διαλύματος και x η συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων στο δείγμα), με πρότυπα διαλύματα συμπλοκοποιημένου δισθενούς σιδήρου και η έκφραση των τελικών αποτελεσμάτων ήταν σε ποσότητα του τρισθενή σιδήρου που ανήχθη σε δισθενή ανα γραμμάριο δείγματος. Οι μετρήσεις έγιναν τρεις φορές για κάθε δείγμα. Γενικά η FRAP είναι μια γρήγορη, οικονομική και σχετικά απλή μέθοδος που δεν απαιτεί την χρήση εξειδικευμένου εξοπλισμού και η πορεία που ακολουθήθηκε αρχικά περιελάμβανε της τοποθέτηση διαφορετικού όγκου (με βάση τη συγκέντρωση) εκχυλίσματος σε πλαστική κυψελίδα και προσθήκη των κατάλληλων αντιδραστηρίων (500 μl ρυθμιστικού διαλύματος CH₃COOH-CH₃COONa, 1950 μl απιονισμένο νερό και 900 μl αντιδραστηρίου FRAP σε πλαστική κυψελίδα. Στη συνέχεια ακολούθησε η ανάδευση των κυψελιδών και η τοποθέτηση τους στο υδατόλουτρο στους 40 °C για 90 min. Τέλος μετρήθηκε η απορρόφηση σε φασματοφωτόμετρο σε λ=595 nm.

3.6.3 Εκτίμηση της Ικανότητας Δέσμευσης / Ανάσχεσης της σταθερής ελεύθερης ρίζας ABTS••

Η δοκιμή αυτή βασίζεται στην ικανότητα ενός αντιοξειδωτικού μέσου να δεσμεύει την ελεύθερη κατιοντική ρίζα ABTS^{•+} [2,2'-αζινο-δισ(3-αιθυλο-βενζοθειαζολινο-6-σουλφονικό οξύ)]. Εφαρμόζεται εξίσου σε λιπόφιλα και υδρόφιλα αντιοξειδωτικά για την αξιολόγηση της αντιριζικής ισχύος τους βασιζόμενη σε μια αντίδραση αποχρωματισμού. Η μονοκατιοντική ρίζα ABTS^{•+} παρουσιάζει μπλέ-πράσινο χρώμα (μέγιστο απορρόφησης στα 734 nm) και σχηματίζεται άμεσα από την οξείδωση του μη ριζικού μορίου ABTS με υπερθεϊκό κάλιο ή νάτριο. Με την παρουσία μορίων που είναι δότες υδρογόνου, η ρίζα ABTS^{•+}, που σχηματίζεται, μειώνεται ποσοτικά ανάλογα με τη δραστικότητα του δότη υδρογόνου, τη συγκέντρωσή του και τη διάρκεια της αντίδρασης.



Εικόνα 3.3 : Δομή της ρίζας ABTS^{•+} που απορροφά στα 734 nm

Είναι μια γρήγορη, λειτουργικά απλή και ακριβής μέθοδος για τη συστηματική εκτίμηση της ικανότητας δέσμευσης ελευθέρων ριζών διάφορων εκχυλισμάτων από φυτικά υλικά και τρόφιμα και εφαρμόζεται σε μεγάλη κλίμακα.

Πειραματική πορεία-Υλικά :

Στην αρχή κάθε σειράς πειραμάτων, το διάλυμα της ρίζας αραιώνεται κατάλληλα με αιθανόλη ώστε να δίνει τιμή απορρόφησης $A_{734nm} = \sim 1$

Σε πλαστικές κυψελίδες των 4,0 mL, τοποθετούνται αυτόματα πιπέτα ρυθμιζόμενου όγκου, κατάλληλος όγκος δείγματος ή προτύπου, 3000,0 μ L αραιωμένου διαλύματος ABTS^{•+} και αναδεύονται στο σκοτάδι ήπια. Η απορρόφηση A_{734nm} μετريέται σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis Spectro 23 της Labomed Incorporation (Los Angeles, USA). μετά από πάροδο 8 min. Η πειραματική διαδικασία και οι προσδιορισμοί έγιναν εις τριπλούν για κάθε δείγμα ή διάλυμα της πρότυπης ουσίας.

Για την βαθμονόμηση του φασματοφωτομέτρου χρησιμοποιήθηκε διάλυμα αιθανόλης (EtOH), ενώ για τον μηδενισμό του οργάνου έγινε χρήση τυφλού δείγματος.

Η δοκιμή της ABTS^{•+} παρέχει μια εκτίμηση για τη δραστικότητα των δειγμάτων απέναντι στη συγκεκριμένη ρίζα, η οποία εκφράζεται ως συγκέντρωση αυτών σε ισοδύναμα της πρότυπης ουσίας Trolox (TE, Trolox Equivalents), μέσω της πρότυπης καμπύλης αναφοράς.

Το Υπερθεϊκό νάτριο προέρχεται από Alfa Aesar (USA) και η πρότυπη ουσία Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid 97%, από Sigma-Aldrich,(Germany).

To ABTS 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid προέρχεται από Glenthams life sciences (England).

3.7 Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με την χρήση του προγράμματος Minitab (Minitab Statistical Software Inc. Version 21, trial version). Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με ανάλυση διακύμανσης και χρησιμοποιήθηκε για post hoc ανάλυση το Tukey Test. Το επίπεδο εμπιστοσύνης ήταν 95% ενώ οι τιμές p -Values ≤ 0.05 . Αφού πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις υπολογίστηκε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση για κάθε φασματοφωτομετρική μέθοδο και οι τιμές επεξεργάστηκαν και ομαδοποιήθηκαν με την χρήση του στατιστικού εργαλείου ANOVA (One way, Tukey Test). Τέλος έγινε χρήση του εργαλείου Pearson's test για να εκτιμηθεί η γραμμική συσχέτιση μεταξύ των μεθόδων Folin-Ciocalteu, FRAP και ABTS^{•+}.

4. Αποτελέσματα και συζήτηση

4.1 Βελτιστοποίηση Εκχύλισης Φαινολικών Ενώσεων από Δείγμα Χαμομηλιού με χρήση μοντέλων Πειραματικού Σχεδιασμού

4.1.1 Χρήση Μαθηματικού Πρότυπου Box-Behnken για Βελτιστοποίηση Εκχύλισης με υπερήχους (UAE)

Η χρήση του μαθηματικού πρότυπου πειραματικού σχεδιασμού πραγματοποιήθηκε προκειμένου (α) να εντοπιστούν οι βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης φαινολικών ενώσεων από δείγματα χαμομηλιού, εκτελώντας το μικρότερο δυνατό αριθμό πειραμάτων, (β) να αξιολογηθεί η επίδραση των εξεταζόμενων παραμέτρων της UAE στο φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων και (γ) να κατασκευαστεί ένα μαθηματικό πρότυπο που θα προβλέπει αξιόπιστα το κατά περίπτωση επιθυμητό φαινολικό περιεχόμενο και τις συνθήκες εκχύλισης στις οποίες αυτό επιτυγχάνεται. Για την βελτιστοποίηση της εν λόγω διαδικασίας εφαρμόστηκε το μαθηματικό πρότυπο Box-Behnken. Οι τιμές των μεταβλητών που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη αυτή κωδικοποιήθηκαν διότι οι παράγοντες της εκχύλισης δεν έχουν τις ίδιες μονάδες μέτρησης και παρουσιάζουν διαφορετικό εύρος τιμών, λαμβάνοντας μια ακραία υψηλή τιμή (+1), μια κεντρική τιμή (0) και μια ακραία χαμηλή τιμή (-1). Το μαθηματικό πρότυπο το οποίο επιλέχθηκε για την διεξαγωγή του πειραματικού σχεδιασμού πρότεινε 27 πειράματα που διεξήχθησαν με τυχαία σειρά. Στην ενότητα «Υλικά και Μέθοδοι» περιλαμβάνεται ο Πίνακας 3.1 στον οποίο

αναγράφονται οι συνθήκες των 27 πειραμάτων που προέκυψαν από το μαθηματικό πρότυπο πειραματικού σχεδιασμού Box-Behnken. .

4.1.2 Προσδιορισμός Φαινολικού Περιεχομένου στη Δρόγη Χαμομηλιού με την Μέθοδο F-C

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4.1) αναγράφονται τα 27 πειράματα τα οποία προτάθηκαν από το επιλεγμένο μαθηματικό πρότυπο πειραματικού σχεδιασμού Box-Behnken και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των εκχυλισμάτων που προέκυψαν από τις εκχυλίσεις με την χρήση υπερήχων , όπως υπολογίστηκε μέσω της φασματοφωτομετρικής μεθόδου Folin-Ciocalteu και πιο συγκεκριμένα από την καμπύλη αναφοράς μεταξύ απορρόφησης και συγκέντρωσης πρότυπων διαλυμάτων γαλλικού οξέος. Στον Πίνακα4.1 συμπεριλαμβάνονται επίσης και οι θερμοκρασίες των διαλυμάτων πριν την έναρξη και μετά το τέλος της εκχύλισης.

Πίνακας 4.1 : Απόδοση των εκχυλίσεων ξηρής δρόγης Χαμομηλιού σε TPC με την μέθοδο Folin-Ciocalteu στις συνθήκες πειραματικού σχεδιασμού με τυχαία σειρά

Run Order	Ethanol Content (% v/v)	Extraction time (min)	US power (%)	Solvent/material ratio (mL/g)	TPC (mg GAE/g dry herb) \pm SD, N=3 ¹
1	100	25	20	40	0,094 \pm 0,038
2	60	25	20	60	5,9 \pm 2,6
3	100	25	50	60	0,20 \pm 0,12
4	20	40	50	40	5,3 \pm 1,6
5	60	25	50	40	10,2 \pm 4,3
6	60	25	50	40	2,76 \pm 0,37
7	20	25	50	60	10,5 \pm 1,6

¹ N= ο αριθμός των επαναλήψεων του πειράματος και SD= η τυπική απόκλιση των μετρήσεων

8	60	25	20	20	8,08 ± 0,44
9	60	10	20	40	6,00 ± 0,51
10	60	10	80	40	12,22 ± 2,97
11	60	25	80	20	6,652 ± 0,047
12	100	40	50	40	0,900 ± 0,080
13	100	25	80	40	0,753 ± 0,048
14	60	40	50	60	0,87 ± 0,87
15	20	25	20	40	4,8 ± 2,2
16	60	10	50	20	5,4 ± 1,7
17	60	40	80	40	4,5 ± 2,5
18	20	25	50	20	7,9 ± 2,2
19	100	25	50	20	0,054 ± 0,020
20	20	25	80	40	11,20 ± 0,70
21	60	25	80	60	6,3 ± 3,0
22	60	40	50	20	11,5 ± 1,2
23	60	10	50	60	7,1 ± 1,2
24	60	40	20	40	5,4 ± 2,3
25	100	10	50	40	0,350 ± 0,055
26	60	25	50	40	5,4 ± 1,1
27	20	10	50	40	9,2 ± 2,6

Μέσω των πειραματικών συνθηκών προέκυψαν τρεις σημαντικές τιμές που αφορούν το φαινολικό περιεχόμενο. Η μέγιστη, η μέση και η ελάχιστη τιμή ολικού φαινολικού

περιεχομένου. Αυτές κωδικοποιήθηκαν και μετονομάστηκαν σε Max (Run 10, με μέγιστη απόδοση TPC στην ξηρή δρόγη), Mid (Run 18, με μέτρια απόδοση TPC στην ξηρή δρόγη) και Min (Run 19, με ελάχιστη απόδοση TPC στην ξηρή δρόγη). Επιπλέον, 3 από τα 27 πειράματα του πειραματικού σχεδιασμού διεξήχθησαν στις ίδιες ακριβώς συνθήκες. Οι 4 παράμετροι της εκχύλισης έλαβαν μεσαία επίπεδα τιμών. Μέσω αυτών προέκυψε η τιμή του μέσου όρου για το φαινολικό περιεχόμενο που είναι ίση με 6,1 mg GAE/g dry herb με τυπική απόκλιση $\pm 1,9$. Δεδομένου ότι, η τυπική απόκλιση εμφανίζει φυσιολογική τιμή και ότι τα 3 πειράματα έλαβαν μέρος σε διαφορετικές μεταξύ τους ημερομηνίες, το μαθηματικό πρότυπο Box-Behnken το οποίο χρησιμοποιήθηκε κρίνεται επαναλήψιμο και αναπαραγωγίμο.

4.1.3 Μαθηματική προτυποποίηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου

Για την εκτίμηση της καταλληλότητας, της προσαρμοστικότητας και της αξιοπιστίας του προτεινόμενου μαθηματικού προτύπου Box-Behnken και την αξιολόγηση της σημαντικότητας των παραμέτρων που εξετάζονται, έγινε η χρήση του στατιστικού εργαλείου ANOVA. Στην [Εικόνα 4.1](#) που ακολουθεί, αναγράφονται αναλυτικά όλες οι παράμετροι της εκχύλισης με τη μορφή των γραμμικών (πχ A, B, C, κτλ.) και των τετραγωνικών (πχ AA, BB, κτλ.) τους όρων, αλλά και των μεταξύ τους αλληλεπιδράσεων ανά δύο (πχ AB, BC, κτλ.), καθώς και η τιμή P-value όλων των όρων. Η τιμή P-value αποδεικνύει εάν η κάθε παράμετρος/όρος του μαθηματικού προτύπου αποτελεί στατιστικά σημαντικό παράγοντα κατά την UAE για την παραλαβή φαινολικών ενώσεων από το χαμομήλι.

Source	F-Value	P-Value
Model	3,95	0,011
Linear	9,29	0,001
Ethanol content (%v/v)	32,05	0,000
Extraction time (min)	2,08	0,175
US power (%)	1,91	0,192
Solvent/material ratio (mL/g)	1,12	0,311
Square	1,58	0,242
Ethanol content (%v/v)*Ethanol content (%v/v)	4,21	0,063
Extraction time (min)*Extraction time (min)	0,00	0,945
US power (%)*US power (%)	0,20	0,664
Solvent/material ratio (mL/g)*Solvent/material ratio (mL/g)	0,08	0,787
2-Way Interaction	1,97	0,150
Ethanol content (%v/v)*Extraction time (min)	0,90	0,361
Ethanol content (%v/v)*US power (%)	1,45	0,252
Ethanol content (%v/v)*Solvent/material ratio (mL/g)	0,26	0,619
Extraction time (min)*US power (%)	2,25	0,160
Extraction time (min)*Solvent/material ratio (mL/g)	6,79	0,023
US power (%)*Solvent/material ratio (mL/g)	0,16	0,699
Error		
Lack-of-Fit	0,27	0,937
Pure Error		
Total		

Εικόνα 4.1 : Πίνακας τιμών F-value και P-value των παραμέτρων του μαθηματικού προτύπου πειραματικού σχεδιασμού Box-Behnken

Αρχικά , οι μεταβλητές με τιμές P-value $\gg 0,25$ συνήθως αφαιρούνται από το αρχικό μαθηματικό πρότυπο , καθώς χαρακτηρίζονται στατιστικά ως ιδιαίτερα μη- σημαντικές. Επίσης, προκειμένου το παραγόμενο μαθηματικό πρότυπο να θεωρηθεί ιεραρχικό, οι γραμμικοί όροι των παραμέτρων δεν απομακρύνονται, . ακόμη και όταν παρουσιάζουν τιμές P-value $> 0,05$. Ο πίνακας ANOVA του τελικού μαθηματικού προτύπου Box-Behnken, που προέκυψε μετά την αφαίρεση των μη σημαντικών όρων παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.2.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value
Model	9	309,004	34,334	8,16
Linear	4	210,125	52,531	12,48
Ethanol content (%v/v)	1	181,235	181,235	43,07
Extraction time (min)	1	11,750	11,750	2,79
US power (%)	1	10,802	10,802	2,57
Solvent/material ratio (mL/g)	1	6,338	6,338	1,51
Square	1	34,494	34,494	8,20
Ethanol content (%v/v)*Ethanol content (%v/v)	1	34,494	34,494	8,20
2-Way Interaction	4	64,385	16,096	3,83
Ethanol content (%v/v)*Extraction time (min)	1	5,093	5,093	1,21
Ethanol content (%v/v)*US power (%)	1	8,179	8,179	1,94
Extraction time (min)*US power (%)	1	12,720	12,720	3,02
Extraction time (min)*Solvent/material ratio (mL/g)	1	38,392	38,392	9,12
Error	17	71,532	4,208	
Lack-of-Fit	15	42,734	2,849	0,20
Pure Error	2	28,799	14,399	
Total	26	380,536		

Source	P-Value
Model	0,000
Linear	0,000
Ethanol content (%v/v)	0,000
Extraction time (min)	0,113
US power (%)	0,128
Solvent/material ratio (mL/g)	0,236
Square	0,011
Ethanol content (%v/v)*Ethanol content (%v/v)	0,011
2-Way Interaction	0,021
Ethanol content (%v/v)*Extraction time (min)	0,287
Ethanol content (%v/v)*US power (%)	0,181
Extraction time (min)*US power (%)	0,100
Extraction time (min)*Solvent/material ratio (mL/g)	0,008
Error	
Lack-of-Fit	0,979
Pure Error	
Total	

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
2,05129	81,20%	71,25%	59,04%

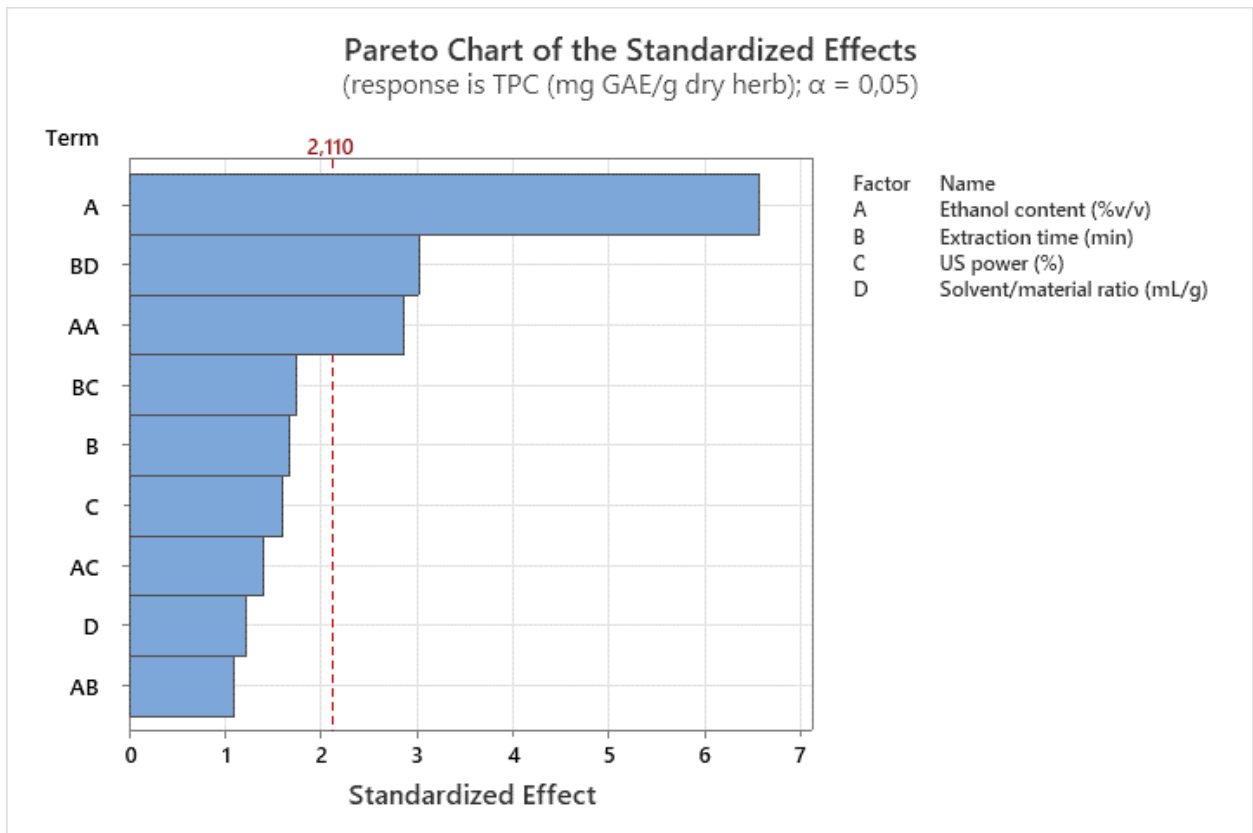
Εικόνα 4.2: Πίνακας τιμών F-value και P-value μετά την απομάκρυνση των στατιστικά μη-σημαντικών όρων (P-Value $\gg 0,25$) και συντελεστών συσχέτισης του μαθηματικού προτύπου πειραματικού σχεδιασμού.

Μια κατηγορία στατιστικών δεικτών αναφορικά με την αξιοπιστία και την ικανότητα πρόβλεψης του μαθηματικού προτύπου αποτελούν οι συντελεστές συσχέτισης R^2 , $R^2_{adjusted}$ και $R^2_{predicted}$.

Ο συντελεστής προσδιορισμού R^2 (R-sq) αποτελεί έναν στατιστικό δείκτη μέσω του οποίου προσδιορίζεται το κλάσμα της συνολικής μεταβλητότητας που εξηγείται από το μαθηματικό πρότυπο, από το οποίο φαίνεται η καταλληλότητα προσαρμογής του μαθηματικού προτύπου. Η τιμή του κυμαίνεται πάντα μεταξύ 0% και 100%. Στην περίπτωση που ένα μαθηματικό πρότυπο διαθέτει την τιμή 0% υποδηλώνεται ότι οι διακυμάνσεις στις τιμές του μετρούμενου μεγέθους (TPC στην παρούσα εργασία) δεν οφείλονται και δεν μπορούν να εξηγηθούν καθόλου από τις τιμές που παίρνουν οι ανεξάρτητες παράμετροι (η αναλογία αιθανόλης, ο χρόνος εκχύλισης, η αναλογία διαλύτη/υποστρώματος και η ενέργεια των υπερήχων, στην παρούσα εργασία). Αντιθέτως, ένα μαθηματικό πρότυπο με την τιμή 100% δείχνει ότι οι διακυμάνσεις στις τιμές του μετρούμενου μεγέθους μπορούν να εξηγηθούν πλήρως από τις μελετώμενες ανεξάρτητες παραμέτρους και τις τιμές που αυτές λαμβάνουν. Μοντέλα πρόβλεψης, τα οποία χαρακτηρίζονται από καλή προσαρμογή διαθέτουν τιμές R^2 που πλησιάζουν το 100%. Στην προκειμένη περίπτωση η τιμή του R^2 είναι ίση με 81,20% αποδεικνύοντας την καλή συσχέτιση των παρατηρούμενων και των προβλεπόμενων τιμών. Ο προσαρμοσμένος συντελεστής προσδιορισμού $R^2_{adjusted}$, προκύπτει από την αφαίρεση ορισμένων όρων/παραγόντων από το αρχικό μαθηματικό πρότυπο οι οποίοι δεν χαρακτηρίζονται στατιστικά σημαντικοί και αποτελεί ακόμη ένα κριτήριο για την αξιοπιστία του R^2 . Για να χαρακτηριστεί ένα μαθηματικό πρότυπο ικανοποιητικά αξιόπιστο πρέπει να ικανοποιείται η συνθήκη $R^2 - R^2_{adjusted} < 20\%$. Στην εν λόγω εργασία ισχύει $(81,20\% - 71,25\% = 9,95\%)$ οπότε το μαθηματικό πρότυπο διαθέτει αυτό το χαρακτηριστικό. Τέλος, το $R^2_{predicted}$ που στην συγκεκριμένη περίπτωση λαμβάνει τιμή 59,04%, δείχνει την δυνατότητα του συγκεκριμένου μαθηματικού προτύπου να προβλέπει σχετικά επιτυχώς τις τιμές TPC για διάφορες ενδεχόμενες τιμές των εξεταζόμενων παραμέτρων της UAE.

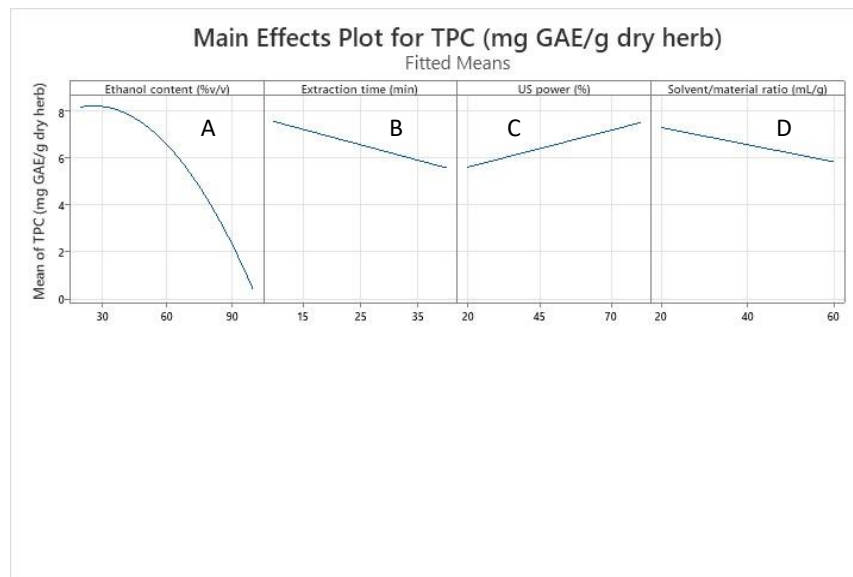
Αξιολογώντας τα δεδομένα που προέκυψαν από τον Πίνακα (Εικόνα 4.2), ο δείκτης Lack of Fit χρίζει ιδιαίτερης σημασίας, διότι αποτελεί μέγεθος αναφορικά με την ακρίβεια και την προσαρμοστικότητα του μαθηματικού προτύπου που εφαρμόστηκε. Η τιμή P-Value= 0,979 υποδηλώνει πως σε επίπεδο σημαντικότητας 95%, δεν υπάρχει έλλειψη προσαρμογής του μαθηματικού προτύπου στα πειραματικά δεδομένα (τιμές TPC στα 27 προτεινόμενα πειράματα).

Η σημαντικότητα των όρων του τελικού μαθηματικού προτύπου, όπως αυτή καταγράφεται στον Πίνακα ANOVA (Εικόνα 4.2), απεικονίζεται με φθίνουσα σειρά, στο διάγραμμα Pareto (Εικόνα 4.3). Οι στατιστικά σημαντικοί όροι (P-value $\leq 0,05$) εμφανίζονται να ξεπερνούν την διακεκομμένη κόκκινη γραμμή του γραφήματος. Η περιεκτικότητα αιθανόλης (% v/v) (A και AA) και η γραμμική αλληλεπίδραση του χρόνου εκχύλισης και η αναλογία διαλύτη/υποστρώματος (BD) θεωρούνται στατιστικά σημαντικοί παράγοντες.



Εικόνα 4.3 : Διάγραμμα Pareto με $\alpha=0,05$, Στατιστικά σημαντικοί παράγοντες κατά την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων με υπερήχους από δείγματα χαμομηλιού

Στην συνέχεια παρουσιάζονται τα διαγράμματα επιδράσεων των παραμέτρων της UAE (Factorial Plots) που αποτυπώνουν την ξεχωριστή επίδραση κάθε παραμέτρου που συμμετέχει στην εκχύλιση με την χρήση υπερήχων στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των εκχυλισμάτων χαμομηλιού (Εικόνα 4.4).



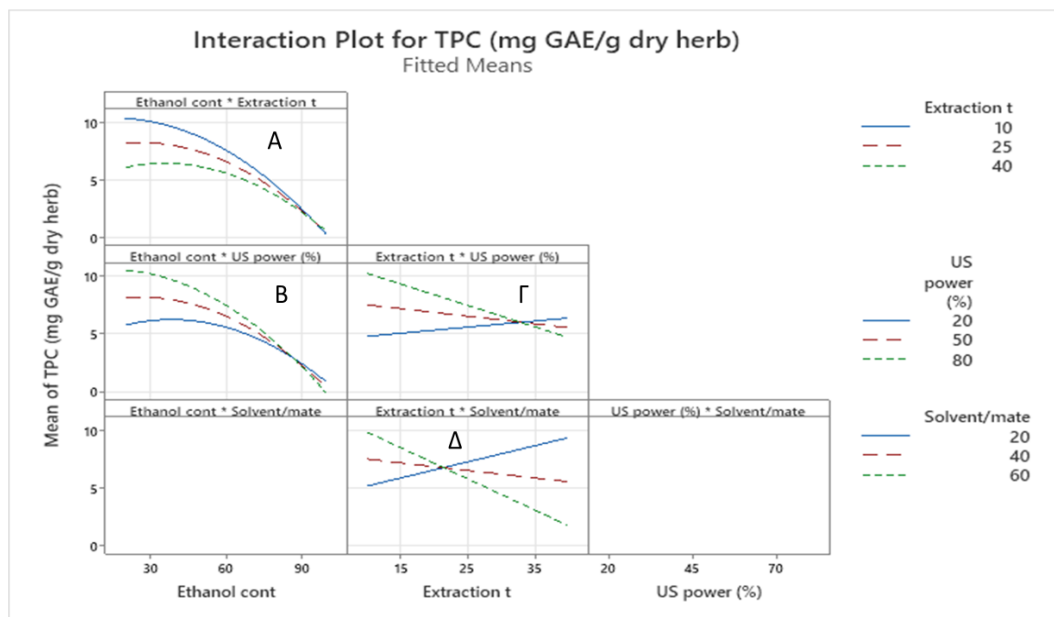
Εικόνα 4.4 : Διαγράμματα επιδράσεων παραγόντων (Factorial Plots κατά την εκχύλιση με υπερήχους των φαινολικών συστατικών χαμομηλιού: A) TPC σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα του διαλύτη σε αιθανόλη (% v/v), B) TPC σε συνάρτηση με τον χρόνο εκχύλισης (min), C) TPC σε συνάρτηση με την ένταση των υπερήχων (%), D) TPC σε συνάρτηση με την αναλογία διαλύτη/υπόστρωμα (mL/g)

Σύμφωνα με το παραπάνω διάγραμμα , παρατηρείται ότι κατά την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από δείγματα της δρόγης χαμομηλιού , η περιεκτικότητα του διαλύτη σε αιθανόλη (% v/v) παρουσιάζει αντιστρόφως ανάλογη σχέση με την απόδοση της UAE σε TPC. Μέσω της μορφής της καμπύλης του εν λόγω διαγράμματος παρατηρείται ότι αυτά τα δύο μεγέθη συνδέονται εκθετικά και ότι η παράμετρος αυτή επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό την απόδοση σε TPC, που αυξάνεται όσο μειώνεται η περιεκτικότητα σε αιθανόλη στο διαλύτη, γεγονός που επιβεβαιώνεται και μέσω του γραφήματος Pareto (Εικόνα 4.3), αλλά και μέσω του αρνητικού προσήμου που διαθέτει ο όρος AA (τετραγωνικός όρος της % περιεκτικότητας αιθανόλης) στην εξίσωση πρόβλεψης του TPC (Εικόνα 4.5). Μείωση του χρόνου εκχύλισης (min) και της αναλογίας διαλύτη-υποστρώματος (mL / g) οδηγεί σε υψηλότερες τιμές TPC. Η συσχέτιση που εμφανίζουν με την απόδοση σε TPC είναι γραμμική και διαθέτουν μικρότερη κλίση συγκριτικά με την αντίστοιχη της % περιεκτικότητας σε αιθανόλη. Οι δύο καμπύλες παρουσιάζουν μικρότερες μεταβολές το οποίο σηματοδοτεί ότι οι συγκεκριμένες παράμετροι της εκχύλισης

δεν επηρεάζουν το ίδιο σημαντικά το μετρούμενο μέγεθος. Τέλος, η ένταση των υπερήχων (%) εμφανίζει γραμμικά θετική ανάλογη σχέση με την τιμή TPC και για αυτό τον λόγο κατά την αύξηση της παρατηρούνται και υψηλότερες τιμές ολικού φαινολικού περιεχομένου.

Οι [Brahmi et al, 2023](#) αποφάνθηκαν έπειτα από την μελέτη εκχύλισης και βελτιστοποίησης φαινολικών ενώσεων από το φυτό *Petasites hybridus* ότι οι μέγιστες τιμές TPC παρατηρούνται από συνθήκες εκχύλισης στις οποίες η περιεκτικότητα του διαλύτη σε αιθανόλη λαμβάνει χαμηλές τιμές (40%). Σε περιπτώσεις που παρατηρούνται ακραίες είτε υψηλές είτε χαμηλές τιμές, η απόδοση του TPC παρουσιάζει ελάττωση. Οι [Wang et al, 2008](#) κατά την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων με υπερήχους από πίτουρο σιταριού συμπέραναν ότι ο χρόνος εκχύλισης συσχετίζεται γραμμικά και ανάλογα με την απόδοση σε TPC. Επιπλέον, σύμφωνα με την μελέτη των [Wu et al, 2013](#) για βελτιστοποίηση εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων με υπερήχους από το ρίζωμα *Sparganni*, παρατηρήθηκε ότι η απόδοση των φαινολικών ενώσεων αυξάνεται γραμμικά με την αύξηση του επιπέδου έντασης των υπερήχων.

Επίσης, παρατίθενται και οι γραφικές παραστάσεις αναφορικά με την επίδραση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των παραμέτρων της UAE (interaction plots) στο TPC των εκχυλισμάτων χαμομηλιού (Εικόνα 4.5).



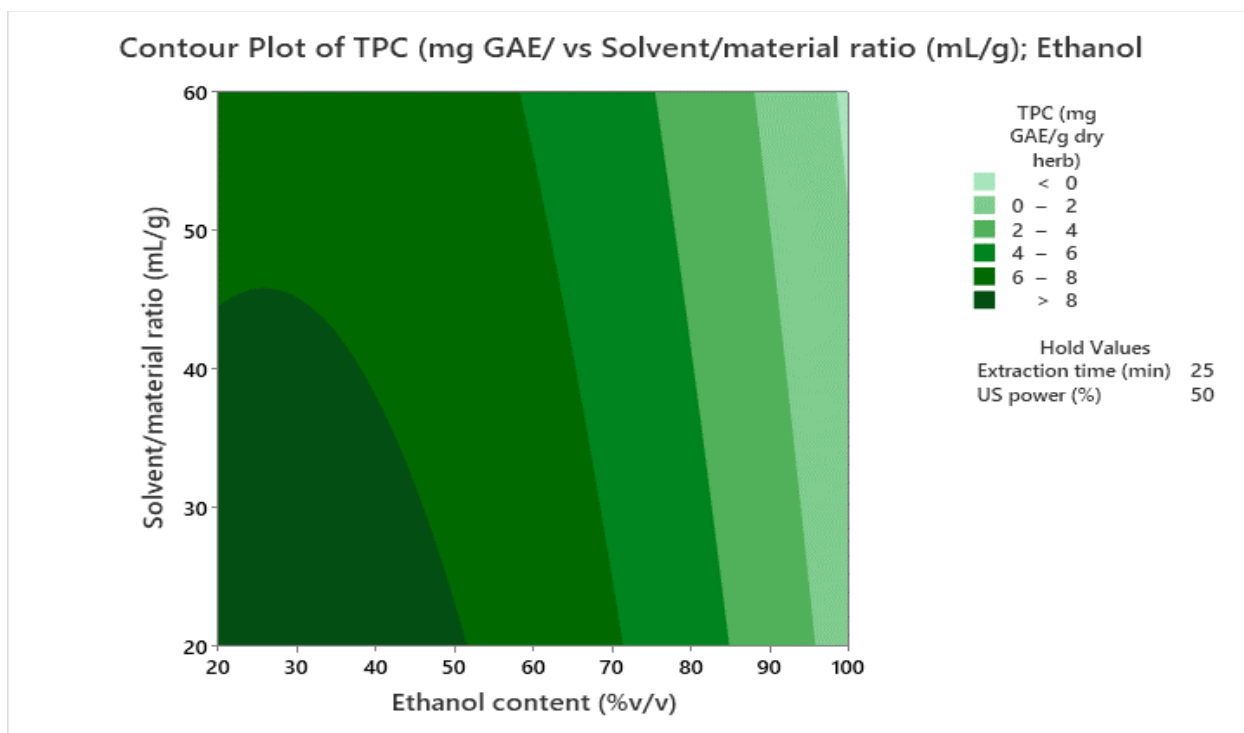
Εικόνα 4.5 : Διαγράμματα αλληλεπιδράσεων παραγόντων (interaction plots), κατά την εκχύλιση με υπερήχους των φαινολικών συστατικών χαμομηλιού : A) TPC σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα του διαλύτη σε αιθανόλη (% v/v) και του χρόνου εκχύλισης (min), B) TPC σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα

του διαλύτη σε αιθανόλη (% v/v) και της έντασης των υπερήχων (%), Γ) TPC σε συνάρτηση με τον χρόνο εκχύλισης (min) και την ένταση των υπερήχων (%), Δ) TPC σε συνάρτηση με τον χρόνο εκχύλισης (min) και την αναλογία διαλύτη/δείγματος (mL/g)

Στο παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 4.5) παρουσιάζονται οι επιδράσεις των αλληλεπιδράσεων των παραγόντων (interaction plots) της UAE, στο τελικό φαινολικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων χαμομηλιού.

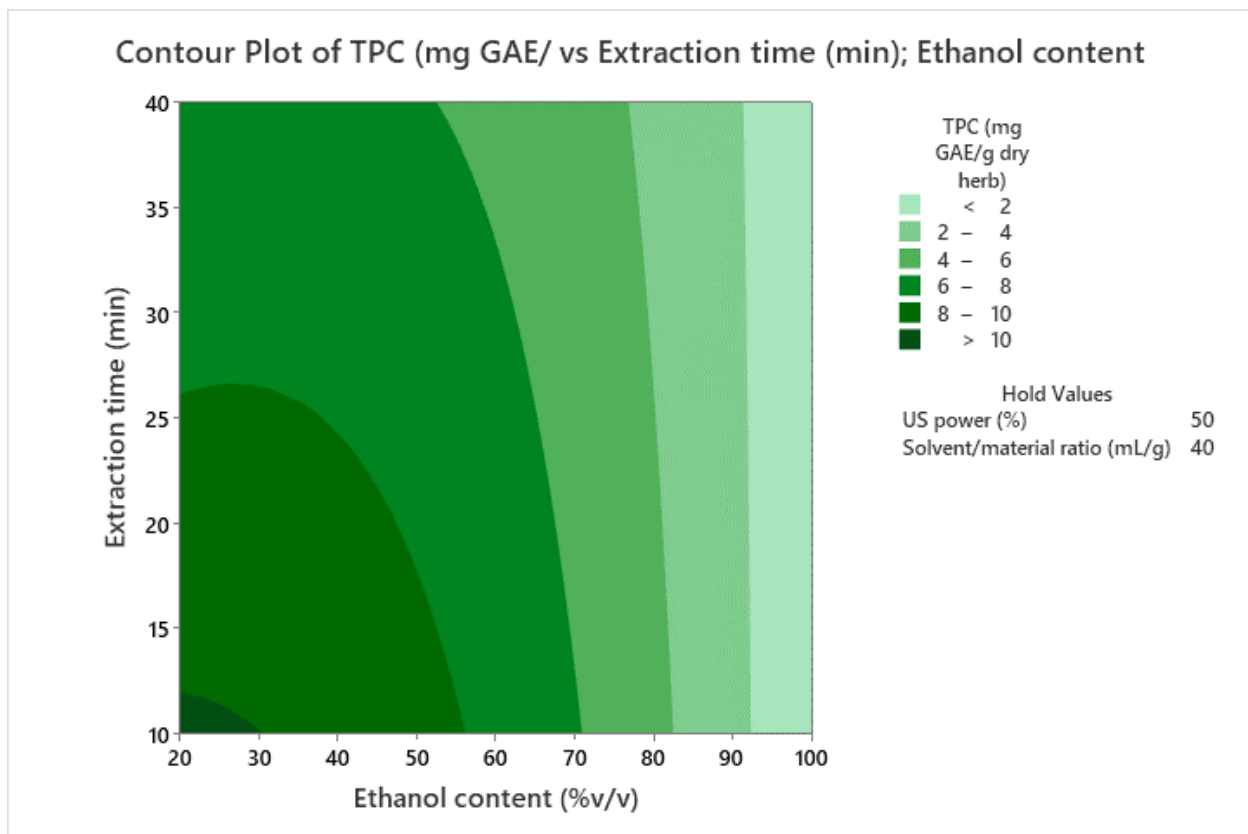
Από τα διαγράμματα 4.7Α και 4.7Β προκύπτει ότι το TPC λαμβάνει υψηλές τιμές όταν παρατηρούνται μικρές περιεκτικότητες αιθανόλης (% v/v) συνδυαστικά με χαμηλούς χρόνους εκχύλισης (min) (~10 λεπτά) και υψηλές τιμές της έντασης των υπερήχων (~80%). Επίσης, από τα διαγράμματα 4.7Γ και 4.7Δ προκύπτει ότι υψηλές τιμές TPC λαμβάνονται με συνδυασμό μικρών χρόνων εκχύλισης (min) και υψηλών τιμών έντασης υπερήχων (~80%) και αναλογίας διαλύτη/δείγματος (60 mL/g). Τέλος, σύμφωνα με το διάγραμμα Δ η απόδοση σε TPC είναι υψηλή όταν οι χρόνοι εκχύλισης είναι μικροί (min) και είναι υψηλή.

Η αλληλεπίδραση των παραμέτρων της UAE σε ζεύγη με ταυτόχρονη διατήρηση των υπολοίπων παραμέτρων στην μεσαία τιμή τους, κατά την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από δείγματα χαμομηλιού με την χρήση υπερήχων, απεικονίζονται στα διαγράμματα επιφάνειας απόκρισης δύο διαστάσεων (Contour Plots). Στα γραφήματα που ακολουθούν η υψηλότερη απόδοση σε TPC διακρίνεται, με χρωματικό κώδικα, στις περιοχές που παρουσιάζουν βαθύτερο πράσινο χρώμα.



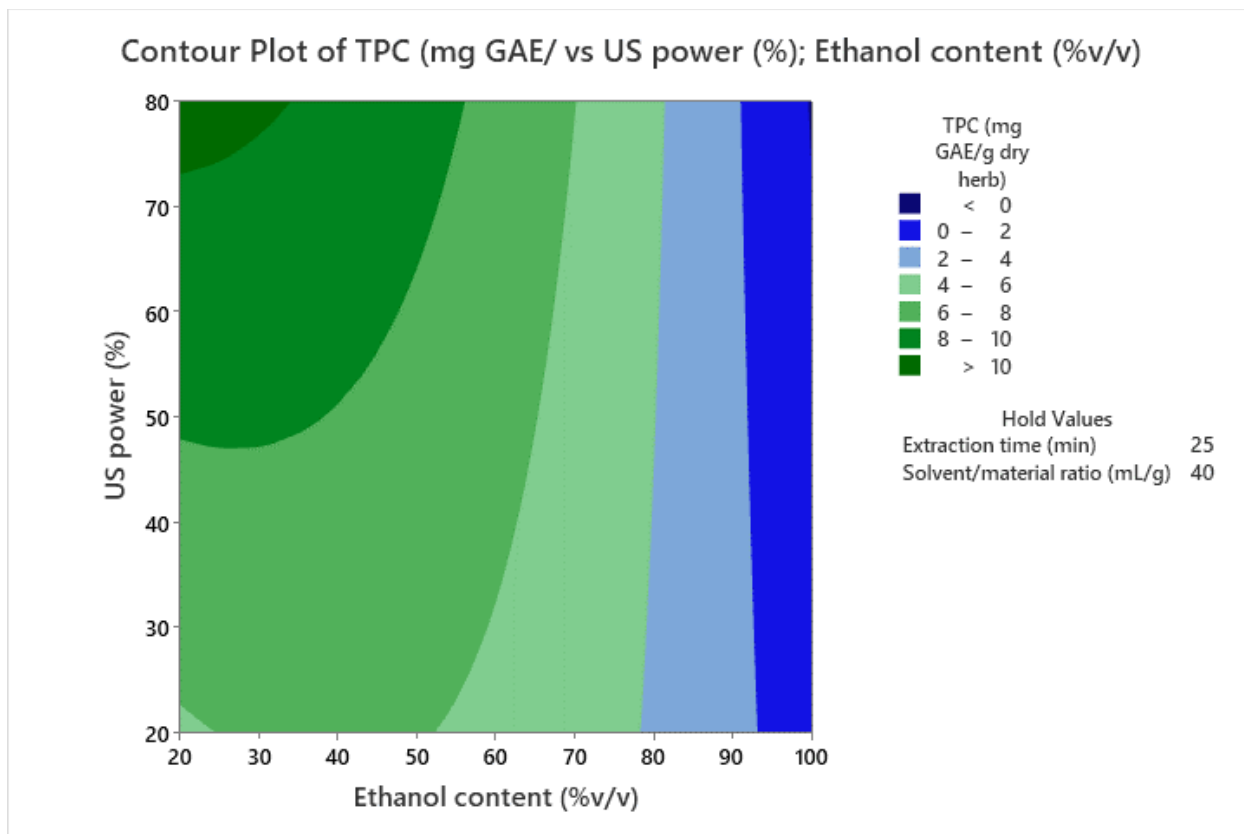
Εικόνα 4.6 : Διάγραμμα αναλογίας διαλύτη/υπόστρωμα (mL/g) έναντι της περιεκτικότητας διαλύτη σε αιθανόλη (% v/v/) για την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από δείγματα χαμομηλιού

Με βάση το διάγραμμα της [Εικόνας 4.6](#), η ελάττωση της περιεκτικότητας του διαλύτη σε αιθανόλη και της αναλογίας διαλύτη/υποστρώματος έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση του TPC. Πιο συγκεκριμένα, οι μέγιστες τιμές TPC παρατηρούνται όταν η δεύτερη παράμετρος κυμαίνεται σε όρια μεταξύ 20-45 mL/g και η πρώτη σε 20-50 % v/v. Ένας βέλτιστος συνδυασμός των 2 παραγόντων είναι 20 mL/g και 20% v/v. Οι δύο αυτοί παράμετροι της εκχύλισης παρατηρείται ότι συνδυαστικά δεν επηρεάζουν σημαντικά το αποτέλεσμα της εκχύλισης. Γεγονός που αποδεικνύεται και από τα διαγράμματα Pareto ([Εικόνα 4.3](#)) και αλληλεπιδράσεων παραγόντων ([Εικόνα 4.5](#)) ως μη στατιστικά σημαντικοί όροι.



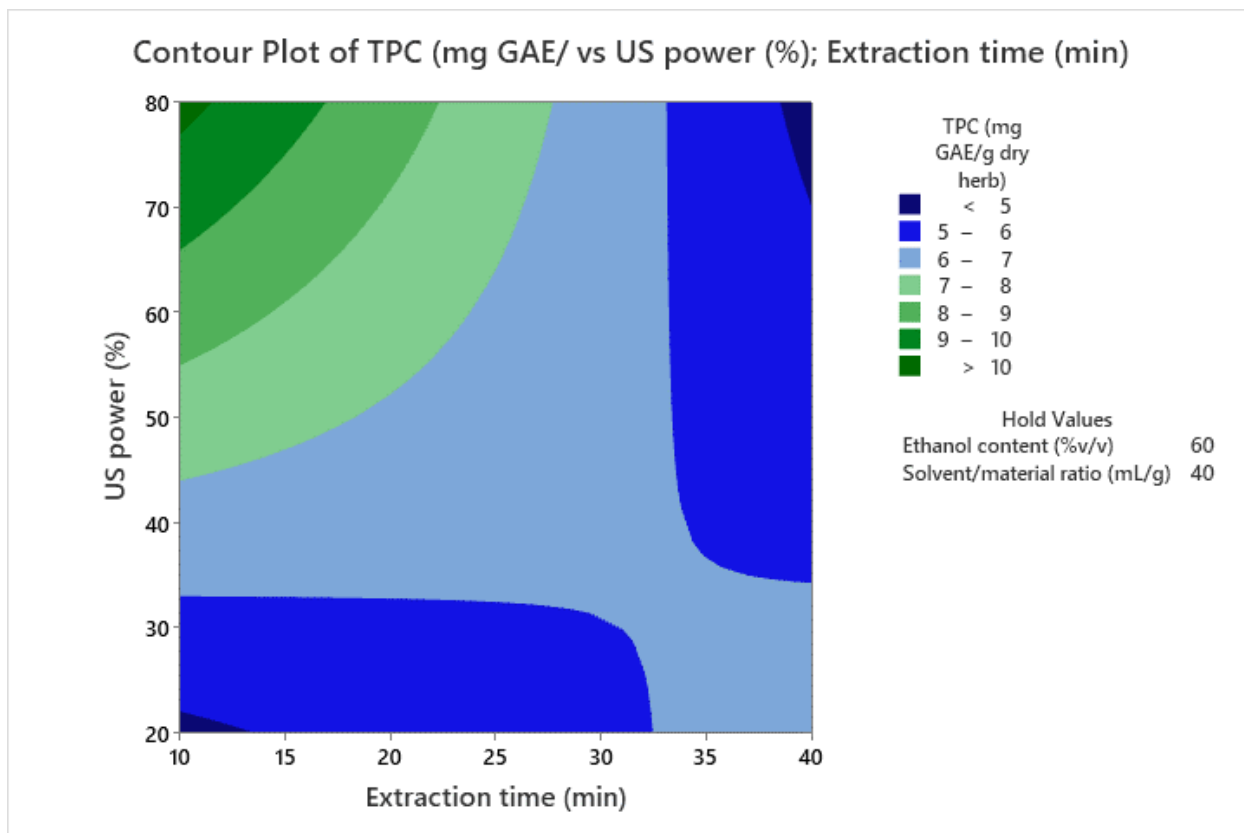
Εικόνα 4.7: Διάγραμμα χρόνου εκχύλισης (min) έναντι της περιεκτικότητας διαλύτη σε αιθανόλη (%) για την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από δείγματα χαμομηλιού.

Στην [Εικόνα 4.7](#), διακρίνεται ότι η αύξηση του TPC επιτυγχάνεται με χαμηλούς χρόνους εκχύλισης (10-12 min) και περιεκτικότητα του διαλύτη σε αιθανόλη 20-30 % v/v. Ένας βέλτιστος συνδυασμός των 2 αυτών μεταβλητών της εκχύλισης με την χρήση υπερήχων θα ήταν 10 min και 20 % v/v αντίστοιχα, συνθήκες οι οποίες θα επέφεραν εξοικονόμηση ενέργειας και πρώτων υλών ταυτοχρόνως.



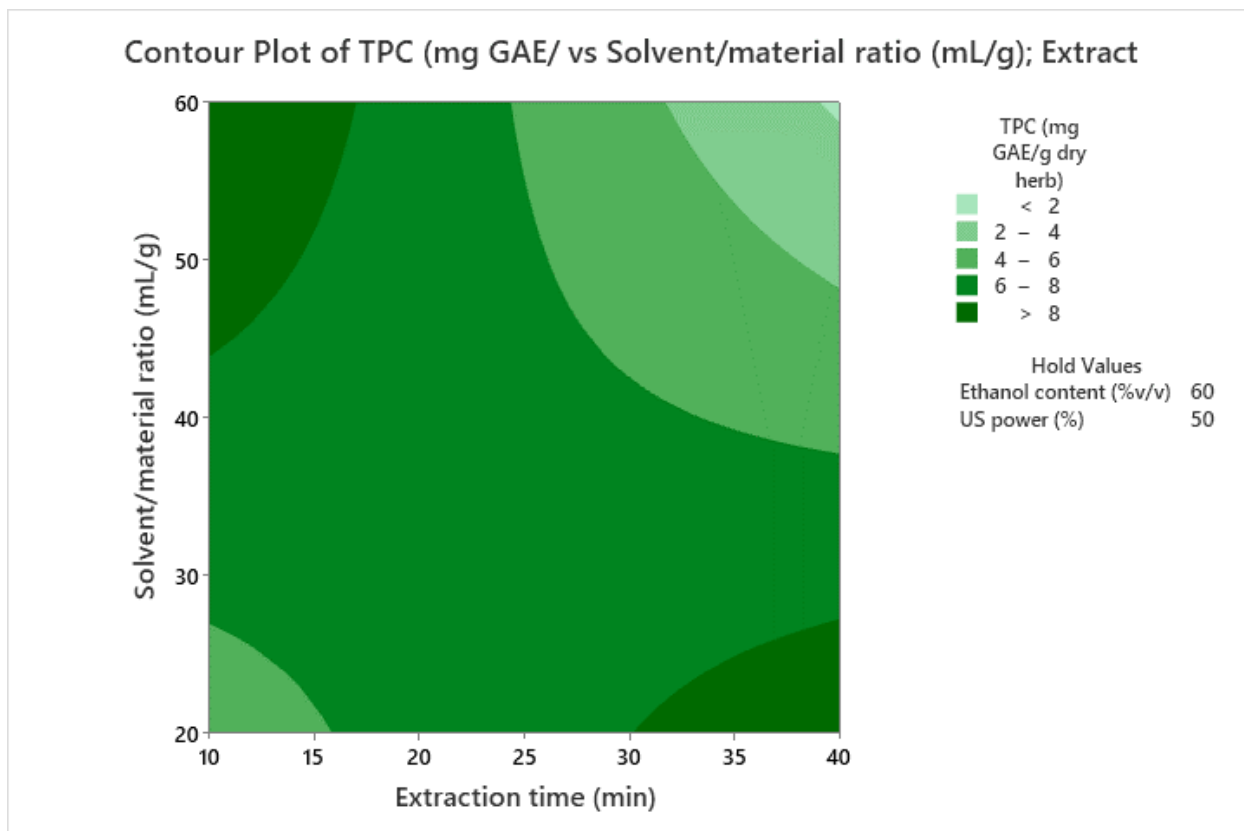
Εικόνα 4.8 : Διάγραμμα έντασης υπερήχων (%) έναντι της περιεκτικότητας διαλύτη σε αιθανόλη (% v/v) για την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από δείγματα χαμομηλιού .

Σύμφωνα με την [Εικόνα 4.8](#) , υψηλές τιμές TPC παρατηρούνται όταν οι τιμές της έντασης των υπερήχων είναι υψηλές (75-80 %), ενώ η περιεκτικότητα του διαλύτη σε αιθανόλη παρουσιάζει χαμηλές τιμές 20-35 % v/v. Έτσι, μια συνθήκη βέλτιστων τιμών για τους 2 παράγοντες της εκχύλισης με χρήση υπερήχων που θα εξυπηρετούσε τον σκοπό αυτό θα ήταν 75 % και 20 % v/v αντίστοιχα.



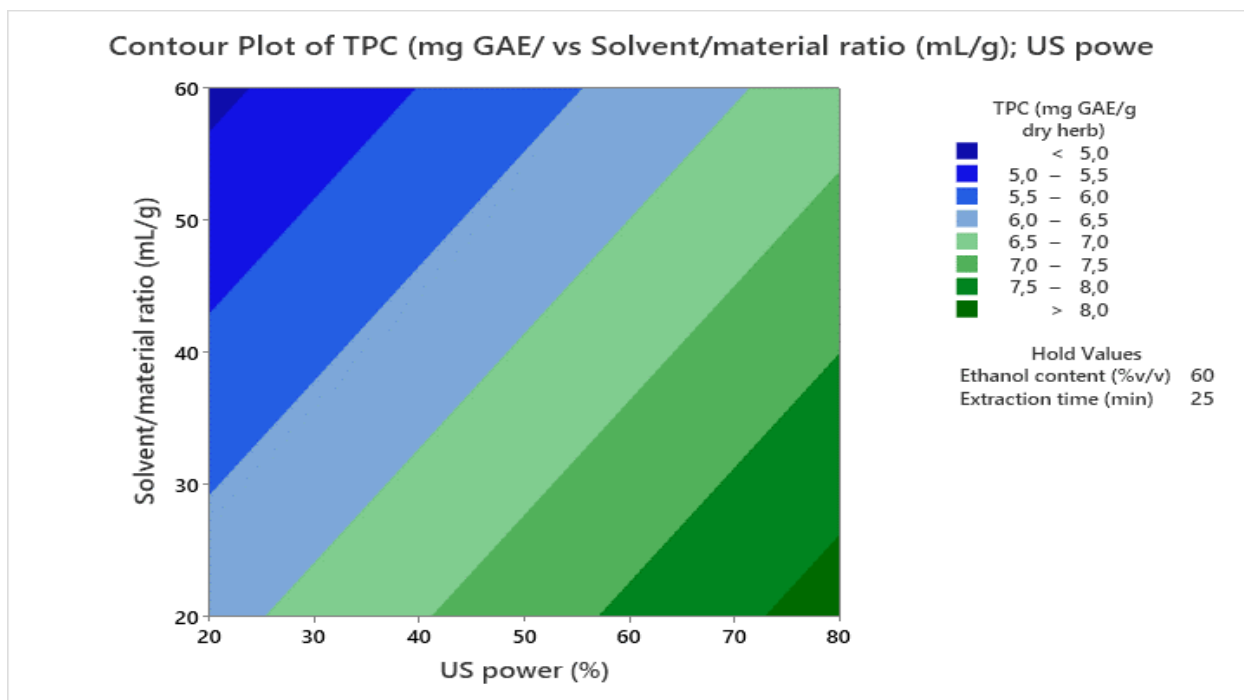
Εικόνα 4.9 : Διάγραμμα έντασης υπερήχων (%) έναντι του χρόνου εκχύλισης (min) για την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από δείγματα χαμομηλιού.

Στην Εικόνα 4.9 , αντικατοπτρίζεται ότι η σχέση μεταξύ της έντασης των υπερήχων (%) και του χρόνου εκχύλισης είναι αντιστρόφως ανάλογη. Πιο συγκεκριμένα , για υψηλές τιμές TPC πρέπει να εφαρμοστούν υψηλές τιμές έντασης (78-80 %) και χαμηλές τιμές χρόνου εκχύλισης (10-12 min). Βέλτιστος συνδυασμός των 2 παραμέτρων αποτελούν οι τιμές 78% και 10 min, αντίστοιχα.



Εικόνα 4.10 : Διάγραμμα αναλογίας διαλύτη/υπόστρωμα (mL/g) έναντι του χρόνου εκχύλισης (min) για την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από δείγματα χαμομηλιού .

Στην [Εικόνα 4.10](#) παρατηρείται ότι η εκχύλιση βελτιστοποιείται είτε σε χαμηλούς χρόνους εκχύλισης (10-17 min) με υψηλές αναλογίες διαλύτη/υποστρώματος (45-60 mL/g) είτε σε υψηλούς χρόνους εκχύλισης (30-40 min) με μεσαίες αναλογίες διαλύτη / υποστρώματος (20-26 mL/g). Εξάγεται έτσι το συμπέρασμα ότι οι δύο αυτές παράμετροι παρουσιάζουν αντιστρόφως ανάλογη σχέση ως προς την μεγιστοποίηση του TPC.



Εικόνα 4.11 : Διάγραμμα αναλογίας διαλύτη/υπόστρωμα (mL/g) έναντι της έντασης υπερήχων (%) για την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από δείγματα χαμομηλιού .

Σύμφωνα με την Εικόνα 4.11 , οι υψηλές τιμές TPC προέρχονται από τον συνδυασμό μεσαίων τιμών αναλογίας διαλύτη/υποστρώματος (20-25 mL/g) και υψηλών τιμών έντασης υπερήχων (73-80 %). Ο βέλτιστος συνδυασμός των 2 παραγόντων της εκχύλισης με υπερήχους φαίνεται να είναι 20 mL/g και 73%, αντιστοίχως. Η αλληλεπίδραση των δύο αυτών παραγόντων παρατηρείται πως δεν επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό το αποτέλεσμα της εκχύλισης. Αυτό , διακρίνεται και από τα διαγράμματα Pareto (Εικόνα 4.3) και αλληλεπιδράσεων παραγόντων (Εικόνα 4.5) αντίστοιχα.

Ανακεφαλαιώνοντας , σύμφωνα με τα παραπάνω διαγράμματα (διαγράμματα Pareto , factorial/interaction plots και 2D contour plots) , η απόδοση σε TPC επηρεάζεται από τις παραμέτρους οι οποίες παρουσιάζουν στατιστική σημαντικότητα. Αυτές είναι κυρίως (α) η περιεκτικότητα του διαλύτη σε αιθανόλη (% v/v) και (β) η γραμμική αλληλεπίδραση μεταξύ του χρόνου εκχύλισης (min) και της αναλογίας διαλύτη/υποστρώματος (mL/g). Αντιθέτως η ένταση υπερήχων (%) , ο χρόνος εκχύλισης (min) , η ένταση υπερήχων (%) , η αναλογία διαλύτη υποστρώματος (mL/g) αλλά και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των : χρόνου εκχύλισης (min) - έντασης υπερήχων(%), περιεκτικότητας του διαλύτη σε αιθανόλη (% v/v) -έντασης υπερήχων (%) και περιεκτικότητας του διαλύτη σε αιθανόλη (% v/v) - χρόνου εκχύλισης (min) παρατηρείται ότι δεν επηρεάζουν σε σημαντικό βαθμό την απόδοση σε TPC. Τέλος, με βάση τα παραπάνω για να εφαρμοστεί η εκχύλιση για παραγωγή εκχυλισμάτων μεγάλης κλίμακας ,

χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή κυρίως στην αναλογία αιθανόλης και μετά στο συνδυασμό χρόνου και αναλογίας διαλύτη/υλικού.

4.1.4 Εύρεση Βέλτιστων συνθηκών εκχύλισης

Με την χρήση του προγράμματος στατιστικής ανάλυσης Minitab αναλύθηκαν και αξιολογήθηκαν λεπτομερώς τα αποτελέσματα του σχεδιασμού Box-Behnken και με βάση αυτά το τελικό μαθηματικό πρότυπο πρότεινε τους δύο πιο πιθανούς βέλτιστους συνδυασμούς συνθηκών εκχύλισης, εντός των ευρών τιμών που ορίστηκαν αρχικά στο μαθηματικό πρότυπο για κάθε παράμετρο (Πίνακας.3.1), που καταλήγουν στη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε φαινολικές ενώσεις.

Πίνακας 4.2: Βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης με βάση το μαθηματικό πρότυπο Box-Behnken

Βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης	Ethanol content (%)	Extraction time (min)	US Power (%)	Solvent/Material ratio (ml/g)	TPC θεωρητικό (mg GAE/g dry sample)	TPC (mg GAE/g dry herb) \pm SD, N=3	Composite Derisability
1 (R1 MAX)	20,0000	10	80	60	16,8162 (11,67-21,97)	9,69 \pm 0,38 ^B	1
2 (R2 MAX)	62,5795	10	80	60	12,2212 (7,77-15,64)	11,16 \pm 0,64 ^A	1

¹ N= ο αριθμός των επαναλήψεων του πειράματος και SD= η τυπική απόκλιση των μετρήσεων

² Τιμές οι οποίες ακολουθούνται από διαφορετικό δείκτη (^{A,B}), διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά βάσει στατιστικής ομαδοποίησης ($p < 0,05$)

Πίνακας 4.3: Συνολικό πειραματικό φαινολικό περιεχόμενο στις βέλτιστες συνθηκές εκχύλισης της ξηρής δρόγης (Μέσος όρος \pm SD)

Δείγμα	Μέσος όρος συνολικού φαινολικού περιεχομένου ξηρού προϊόντος (mg GAE/g dry herb) \pm SD, N=3	Αρχική Θερμοκρασία (°C)	Τελική Θερμοκρασία (°C)
R1 MAX	9,698 \pm 0,38 ^B	21	32
R2 MAX	11,162 \pm 0,64 ^A	22	41

¹ N= ο αριθμός των επαναλήψεων του πειράματος και SD= η τυπική απόκλιση των μετρήσεων

² Τιμές οι οποίες ακολουθούνται από διαφορετικό δείκτη (^{A,B}), διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά βάσει στατιστικής ομαδοποίησης ($p < 0,05$)

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα και τη στατιστική τους αξιολόγηση φαίνεται ότι τη μέγιστη απόδοση σε TPC την δίνει το R2 MAX. Κατά τη στατιστική ανάλυση ANOVA των παραπάνω τιμών TPC φαίνεται ότι η συγκεκριμένη τιμή διαφέρει σημαντικά ($P\text{-value} \leq 0,05$) με εκείνη του R1 MAX, καθώς στατιστικά ομαδοποιούνται σε διαφορετικά σύνολα. Όσον αφορά το δείγμα R1 Max παρατηρείται ότι τα πειραματικά δεδομένα δεν συμπίπτουν κατάλληλα με τις θεωρητικές τιμές το οποίο ενδεχομένως να οφείλεται στο επίπεδο ικανότητας πρόβλεψης του μαθηματικού προτύπου (71,25%). Συγκεκριμένα η προβλεπόμενη απόκριση είναι 16,8162 mg GAE/g με το Confidence Intervals (CI, 95%) να κυμαίνεται από 11,67 έως 21,97 και την πειραματική τιμή να ισούται με 9,69 mg GAE/g (εκτός ορίων). Το δείγμα R2 Max φαίνεται να είναι εντός ορίων με τη προβλεπόμενη από το μαθηματικό πρότυπο τιμή να είναι 12,2212 , το Confidence Intervals (CI, 95%) να κυμαίνεται από 7,77 έως 15,64 και την πειραματική τιμή να ισούται με 11,16. Άξιο σχολιασμού είναι το γεγονός ότι παρόλο που το μαθηματικό πρότυπο έδειξε ότι το πείραμα 1 (R1 Max) αναμενόταν να έχει παραπάνω φαινολικά τελικά επιλέχθηκε το δεύτερο πείραμα (R2 Max) το οποίο δίνει και παραπάνω φαινολικά από το πείραμα 1 αλλά και είναι εντός των ορίων του θεωρητικού συνολικού φαινολικού περιεχομένου. Η επιλογή του R2 Max ως την βέλτιστη συνθήκη εκχύλισης έγινε λόγω του ότι υπάρχει στατιστική σημαντική διαφορά με το πείραμα 1 όπως φαίνεται και στον [Πίνακα 4.3](#)

4.2 Προσδιορισμός Φαινολικού Περιεχομένου, Αντιοξειδωτικής και Αντιριζικής Δράσης σε Δείγματα Ξηρού Προϊόντος και Παραπροϊόντος Χαμομηλιού

Ο προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου στο παραπροϊόν επεξεργασίας χαμομηλιού πραγματοποιήθηκε με εκχυλίσεις και μέτρησή του στις βέλτιστες πειραματικές συνθήκες που προέκυψαν από την δρόγη. Με βάση τα αποτελέσματα μέτρησης του TPC στη ξηρή δρόγη επιλέχθηκαν τέσσερις συνθήκες, δύο με χαμηλή απόδοση σε TPC, (R19 BYCHAM-LOW , R12 BYCHAM-LOW , μία με μεσαία απόδοση (R18 BYCHAM-MID) και η βέλτιστη πειραματική συνθήκη που πρότεινε το μαθηματικό πρότυπο (R2 Max-BYCHAM,R2 MAX). Τα αποτελέσματα της μεθόδου Folin-Ciocalteu εξάγονται από την καμπύλη αναφοράς και παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.5. Τα R2, R12, R19,R18, είναι οι συνθήκες των πειραμάτων που έγιναν κατά τον πειραματικό σχεδιασμό και φαίνονται στον Πίνακα 3.1.

Στον Πίνακα 4.4 παρουσιάζονται οι βέλτιστες , οι χαμηλές και η μεσαία σε απόδοση φαινολικών, συνθήκες των εκχυλισμάτων τόσο της ξηρής δρόγης όσο και των παραπροϊόντων χαμομηλιού

Πίνακας 4.4: Βέλτιστη, Χαμηλές και Μεσαία σε απόδοση φαινολικών, συνθήκες των εκχυλισμάτων τόσο της ξηρής δρόγης όσο και των παραπροϊόντων χαμομηλιού

<i>Συνθήκες εκχύλισης</i>	<i>Ethanol content (%)</i>	<i>Extraction time (min)</i>	<i>US Power (%)</i>	<i>Solvent/Material ratio (ml/g)</i>
R2 Max	62,5795	10	80	60
R12 Low	100	40	40	50
R19 Low	100	25	20	50
R18 Mid	20	25	20	50

Πίνακας 4.5: : Απόδοση των εκχυλισμάτων παραπροϊόντων χαμομηλιού σε TPC σε επιλεγμένες συνθήκες UAE(Μέσος όρος \pm SD)

Δείγμα	Μέσος όρος συνολικού φαινολικού περιεχομένου παραπροϊόντος (mg GAE/g dry herb) \pm SD), N=3
R2 MAX	11,162 \pm 0,64 ^B
R2 Max-BYCHAM	14,673 \pm 0,18 ^A
R12 BYCHAM-LOW	1,303 \pm 0,086 ^C
R19 BYCHAM-LOW	1,213 \pm 0,079 ^C
R18 BYCHAM-MID	10,834 \pm 0,31 ^B

¹ N= ο αριθμός των επαναλήψεων του πειράματος και SD= η τυπική απόκλιση των μετρήσεων

²Τιμές οι οποίες ακολουθούνται από διαφορετικό δείκτη (^{A,B,C}), διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά βάσει στατιστικής ομαδοποίησης (p<0,05)

Με βάση τα αποτελέσματα της μεθόδου F-C στο παραπροϊόν επεξεργασίας του χαμομηλιού φαίνεται ότι τα δείγματα τα οποία στη ξηρή δρόγη εμφάνιζαν χαμηλή απόδοση σε TPC εμφανίζουν αρκετά χαμηλή απόδοση και στο παραπροϊόν (R12 BYCHAM-LOW, R19 BYCHAM-LOW). Παρατηρείται επίσης, ότι το R2 Max-BYCHAM παρουσιάζει τη μεγαλύτερη απόδοση σε TPC ακόμα μεγαλύτερη και από τη δρόγη στις ίδιες πειραματικές συνθήκες. Το γεγονός αυτό πιθανώς να οφείλεται στο ότι η υδροαπόσταξη με ατμό είναι πιο ήπια μέθοδος από την υδροαπόσταξη. Στη πρώτη μέθοδο παραλαβής των αιθέριων ελαίων το φυτικό υλικό δεν έρχεται σε άμεση επαφή με το νερό άλλα τοποθετείται σε πλέγμα που βρίσκεται λίγο πάνω από την επιφάνεια του νερού. Το νερό θερμαίνεται και ο ατμός που παράγεται μπαίνει σε όλη τη μάζα του φυτικού υλικού και παρασύρει το αιθέριο έλαιο εκχυλίζοντας μεν το

επιθυμητό προϊόν χωρίς να καταστρέφει ταυτόχρονα και άλλα σημαντικά παραπροϊόντα όπως τις φαινολικές ενώσεις (A Akdağ et.all 2019). Μια ακόμα πιθανή εξήγηση στο ότι το δείγμα του παραπροϊόντος στις βέλτιστες συνθήκες εμφανίζει οριακά μεγαλύτερη απόδοση σε TPC από το δείγμα της δρόγης στις ίδιες πειραματικές συνθήκες μπορεί να είναι το ότι στην υδροαπόσταξη με ατμό μπορεί να μην καταστρέφονται από την θέρμανση οι φαινολικές ενώσεις αλλά να διασπώνται κάποιες θερμοευαίσθητες σύνθετες δομές τους π.χ κάποιοι γλυκοζίτες φλαβονοειδών, οπότε να απελευθερώνονται τα φλαβονοειδή και να συνεισφέρουν στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο.

4.2.2 Υπολογισμός Αναγωγικής Ισχύος/ Αντιοξειδωτικής Ικανότητας με την δοκιμή FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power)

Ο υπολογισμός της αναγωγικής ισχύος στα δείγματα χαμομηλιού πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο FRAP. Οι συνθήκες εκχύλισης οι οποίες επιλέχθηκαν για την μέτρηση στο ξηρό προϊόν χαμομηλιού είναι η βέλτιστη συνθήκη εκχύλισης που προτάθηκε από το μαθηματικό πρότυπο πρόβλεψης του πειραματικού σχεδιασμού, R2 MAX. Για τα παραπροϊόντα και για τον υπολογισμό της αναγωγικής τους ισχύος επιλέχθηκαν όπως και στην μέθοδο F-C πέρα από την βέλτιστη συνθήκη R2 MAX, δυο Low και μια Mid, όπως φαίνεται στον Πίνακα 4.5 στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μεθόδου FRAP (Πίνακας 4.6)

Πίνακας 4.6: Ποσότητα του Fe(III) που ανήχθη σε Fe(II) από τις αναγωγικές/αντιοξειδωτικές ενώσεις ανά γραμμάριο δείγματος χαμομηλιού (Μέσος όρος \pm SD)

Δείγμα	Average mg Fe(II)/g herb (\pm SD, N=3)
R2 Max	27,367 \pm 2,3 ^A
R2 Max-BYCHAM	28,338 \pm 3,3 ^A

R12 BYCHAM-LOW	6,348±0,87 ^B
R19 BYCHAM-LOW	4,282±0,32 ^B
R18 BYCHAM-MID	8,425±0,92 ^B

¹ N= ο αριθμός των επαναλήψεων του πειράματος και SD= η τυπική απόκλιση των μετρήσεων

²Τιμές οι οποίες ακολουθούνται από διαφορετικό δείκτη (^{A,B}), διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά βάσει στατιστικής ομαδοποίησης (p<0,05)

Όπως φαίνεται και βάσει στατιστικής ομαδοποίησης στις βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης R2 Max το παραπροϊόν και η ξηρή δρόγη δεν διαφέρουν σε περιεχόμενο του Fe(III) που ανήχθη σε Fe(II) από τις αναγωγικές/αντιοξειδωτικές ενώσεις ανά γραμμάριο δείγματος χαμομηλιού και όπως αναφέρθηκε και στην μέθοδο F-C, αυτό είναι πιθανόν να οφείλεται στο γεγονός ότι κατά την την υδροαπόσταξη με ατμό το δείγμα δέχεται πιο ήπια θέρμανση από ένα αντίστοιχο δείγμα στην υδροαπόσταξη από την στιγμή που δεν έχει άμεση επαφή με το νερό. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα να προστατεύονται σημαντικές ενώσεις π.χ φαινολικά οξέα και ταυτόχρονα να γίνεται εκχύλιση των επιθυμητών ελαίων([Ahmet AKDAĞ et.all, 2019](#)). Επιπλέον, παρόλο που το δείγμα R18 BYCHAM-MID είναι εκείνο με τη μεγαλύτερη απόδοση σε TPC ανάμεσα στα Mid και Low του παραπροϊόντος ([Πίνακας 4.5](#)) και παρόλο που το περιεχόμενο του σε mg Fe(II) ανά g δείγματος είναι μεγαλύτερο από το περιεχόμενο του σε mg Fe(II) ανά g δείγματος R12 BYCHAM-LOW και R19 BYCHAM-LOW δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά γιατί όπως φαίνεται ανήκουν στην ίδια στατιστική ομάδα.

4.2.3 Εκτίμηση της Ικανότητας Δέσμευσης/Ανάσχεσης της Ελεύθερης Ρίζας ABTS^{•+}

Η εκτίμηση της πιθανής αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων χαμομηλιού πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας ABTS^{•+} της οποίας η διαδικασία αναφέρεται αναλυτικά στην [Παράγραφο 3.6.3](#). Οι συνθήκες εκχύλισης που επιλέχθηκαν για τη συγκεκριμένη μέθοδο είναι ακριβώς ίδιες με εκείνες που χρησιμοποιήθηκαν στη δοκιμή FRAP και τα αποτελέσματά της φαίνονται στον παρακάτω Πίνακα ([Πίνακας 4.7](#)).

Πίνακας 4.7: Συγκέντρωση των ενώσεων με ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών εκφρασμένη σε mg ισοδύναμων πρότυπης ουσίας Trolox (Trolox Equivalents, TE) ανά γραμμάριο δείγματος χαμομηλιού (Μέσος όρος \pm SD)

Δείγμα	Average mg TE/g herb (\pm SD), N=3
R2 Max	6,399 \pm 0,12 ^C
R2 Max-BYCHAM	36,079 \pm 2,4 ^A
R12 BYCHAM-LOW	1,409 \pm 0,095 ^D
R19 BYCHAM-LOW	0,978 \pm 0,039 ^D
R18 BYCHAM-MID	14,451 \pm 0,53 ^B

¹ N= ο αριθμός των επαναλήψεων του πειράματος και SD= η τυπική απόκλιση των μετρήσεων

²Τιμές οι οποίες ακολουθούνται από διαφορετικό δείκτη (^{A,B,C,D}), διαφέρουν μεταξύ τους σημαντικά βάσει στατιστικής ομαδοποίησης ($p < 0,05$)

Στον παραπάνω πίνακα παρατηρείται ότι στην βέλτιστη συνθήκη εκχύλισης R2 Max το δείγμα του παραπροϊόντος παρουσιάζει πολύ μεγαλύτερο περιεχόμενο σε mg TE ανά g δείγματος από το δείγμα της ξηρής δρόγης. Αυτό μπορεί να συμβαίνει λόγω της μεθόδου όπου χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση η οποία όπως έχει προαναφερθεί είναι υδροαπόσταξη με ατμό. Δηλαδή μπορεί κατά τη θέρμανση του δείγματος να απελευθερώνονται ορισμένες φαινολικές ενώσεις που στην δρόγη υπήρχαν ως γλυκοζίτες με αποτέλεσμα να αυξάνονται σημαντικά οι αντιριζικές ιδιότητες στο παραπροϊόν επεξεργασίας χαμομηλιού. Όσον αφορά τα υπόλοιπα δείγματα του παραπροϊόντος επεξεργασίας χαμομηλιού παρατηρείται μια ομοιότητα με τις υπόλοιπες μεθόδους δηλαδή το περιεχόμενο σε mg TE ανά g δείγματος στη συνθήκη Mid (R18 BYCHAM-MID) είναι μεγαλύτερο από την συνθήκη Low (R12 BYCHAM-LOW, R19 BYCHAM-LOW), με τα δύο τελευταία δείγματα να μην παρουσιάζουν στατιστική διαφορά από τη στιγμή που ανήκουν στην ίδια στατιστική ομάδα.

4.2.4 Συσχέτιση Φασματοφωτομετρικών Μεθόδων με τον Στατιστικό Δείκτη Pearson's Correlation

Ο Στατιστικός Δείκτης Pearson's Correlation Coefficient (PCC) αποτελεί έναν δείκτη γραμμικής συσχέτισης μεταξύ δύο διαφορετικών συνόλων δεδομένων. Είναι η αναλογία μεταξύ της συν-διακύμανσης δύο μεταβλητών και του προϊόντος των τυπικών αποκλίσεών τους και λαμβάνει τιμές από -1 μέχρι 1. Δείκτης ίσος με 1 σημαίνει θετική γραμμική συσχέτιση μεταξύ των δύο μεταβλητών, δηλαδή ότι τα μεγέθη είναι ανάλογα ενώ δείκτης ίσος με -1 σημαίνει ότι δυο μεταβλητές παρουσιάζουν μεταξύ τους αρνητική γραμμική συσχέτιση, δηλαδή είναι αντιστρόφως ανάλογες.

Στη συνέχεια στο [Πίνακα 4.8](#), αναγράφονται οι ευρεθείσες τιμές του δείκτη PCC κατά τη συσχέτιση των φασματοφωτομετρικών μεθόδων F-C, FRAP και ABTS*+ .

Πίνακας 4.8: Συσχέτιση F-C, FRAP και ABTS*+ με τον δείκτη PCC

Μέθοδος	F-C	FRAP	ABTS
F-C	X	0,789	0,839
FRAP	0,789	X	0,625
ABTS	0,839	0,625	X

Κατά την συσχέτιση F-C και FRAP, ο δείκτης PCC λαμβάνει την τιμή 0,789. Αυτό σημαίνει ότι οι δύο μέθοδοι παρουσιάζουν μια αρκετά καλή θετική γραμμική συσχέτιση άρα και μια καλή συσχέτιση των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων κατά την μέτρηση του TPC και της αναγωγικής ισχύος δειγμάτων ξηρής δρόγης και παραπροϊόντος χαμομηλιού αντίστοιχα.

Όσον αφορά τη συσχέτιση F-C και ABTS η τιμή που λαμβάνει ο δείκτης PCC είναι 0,839 νούμερο που αποδεικνύει μια πολύ καλή θετική γραμμική συσχέτιση μεταξύ των δύο μεθόδων, ακόμα καλύτερη από τη συσχέτιση των μεθόδων F-C και FRAP. Η τιμή του δείκτη PCC σε αυτή τη περίπτωση υποδηλώνει μια πολύ καλή σύνδεση μεταξύ των πειραματικών αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων κατά την μέτρηση του TPC και της ικανότητας δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας δειγμάτων ξηρής δρόγης και παραπροϊόντος χαμομηλιού αντίστοιχα.

Τέλος οι μέθοδοι ABTS και FRAP με τον δείκτη PCC να έχει την τιμή 0,625 φαίνεται να μην έχουν τόσο καλή θετική γραμμική συσχέτιση, γεγονός που πιθανά να οφείλεται στο ότι κατά την μέθοδο της υδροαπόσταξης με ατμό μπορεί να μην καταστρέφονται όλες οι φαινολικές ενώσεις ωστόσο να παράγονται άλλες ενώσεις π.χ προϊόντα αντίδρασης Maillard που φέρουν αντιοξειδωτικές ή/και αντιριζικές ιδιότητες στα παραπροϊόντα χαμομηλιού (Thalia Tsiaka et.al 2023).

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα φαίνεται ότι το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο σε δείγματα χαμομηλιού που έχουν εκχυλιστεί με υπερήχους επηρεάζει σε μεγαλύτερο βαθμό τις αντιριζικές ιδιότητες και σε μικρότερο βαθμό την αναγωγική ισχύ τους, με τα δύο τελευταία να μην συσχετίζονται σε ικανοποιητικό βαθμό μεταξύ τους. Το γεγονός αυτό το οποίο σχολιάστηκε και παραπάνω είναι πιθανόν να οφείλεται στη μέθοδο απόσταξης και στην παραγωγή άλλων ενώσεων που αυξάνουν τις αντιριζικές ιδιότητες των δειγμάτων σε σύγκριση με τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες και το αντίστροφο.

5. Συμπεράσματα

Μέσω της μελέτης προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα :

- Κατά την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από δείγματα ξηρού προϊόντος χαμομηλιού με UAE αποδείχτηκε ότι σημαντικοί παράγοντες στην εκχύλιση είναι % v/v περιεχόμενο του διαλύτη σε αιθανόλη τόσο στη γραμμική όσο και στην εκθετική του μορφή, αλλά και οι ορισμένες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των προς βελτιστοποίηση μεταβλητών, όπως και ο χρόνος εκχύλισης (min)-αναλογία διαλύτη/υποστρώματος (mL/g). Αντιθέτως, στατιστικά μη σημαντικές αποδείχτηκαν η αναλογία διαλύτη/υποστρώματος (mL/g), ο χρόνος εκχύλισης (min) και η (%) ένταση των υπερήχων ως μεμονωμένοι παράμετροι.
- Το μαθηματικό πρότυπο πρόβλεψης Box-Behnken το οποίο κατασκευάστηκε και χρησιμοποιήθηκε κρίνεται αξιόπιστο. Αυτό προκύπτει από την εξέταση των δύο βασικών δεικτών αξιοπιστίας του μαθηματικού προτύπου οι οποίες είναι : α) το R^2 και β) ο δείκτης lack of fit. Μέσω της τιμής του R^2 προσδιορίζεται η καταλληλότητα προσαρμογής του μαθηματικού προτύπου στο πείραμα. Στην παρούσα εργασία ο δείκτης αυτός λαμβάνει την τιμή 81,20 % αποδεικνύοντας έτσι την καλή συσχέτιση μεταξύ των παρατηρούμενων και προβλεπόμενων τιμών για το TPC. Μέσω του δείκτη lack of fit ερμηνεύεται η ακρίβεια και η προσαρμοστικότητα. Έτσι σύμφωνα

με την τιμή του P-value που ισούται με 0,979 σε επίπεδο σημαντικότητας 95% παρατηρείται ότι δεν υπάρχει έλλειψη προσαρμογής του μαθηματικού προτύπου στα πειραματικά δεδομένα.

Αναφορικά με την UAE για την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από την ξηρή δρόγη χαμομηλιού εξάγονται τα παρακάτω συμπεράσματα :

- Η % περιεκτικότητα διαλύτη σε αιθανόλη , έχει αντιστρόφως ανάλογη σχέση εκθετικής μορφής με την απόδοση της εκχύλισης σε TPC. Όσο αυξάνεται η τιμή της περιεκτικότητας του διαλύτη σε αιθανόλη παρατηρούνται χαμηλές αποδόσεις σε TPC.
- Ο χρόνος εκχύλισης παρουσιάζει αντιστρόφως ανάλογη γραμμικής μορφής σχέση με την απόδοση εκχύλισης σε TPC. Κατά την αύξηση του χρόνου εκχύλισης παρατηρείται χαμηλή τιμή TPC.
- Η % ένταση των υπερήχων παρουσιάζει ευθέως ανάλογη σχέση με την απόδοση εκχύλισης σε TPC.
- Η αναλογία διαλύτη/υπόστρωμα παρουσιάζει αντιστρόφως ανάλογη γραμμικής μορφής σχέση με την απόδοση εκχύλισης σε TPC. Όσο αυξάνεται η τιμή της αναλογίας διαλύτη/υποστρώματος παρατηρείται χαμηλή απόδοση σε TPC.
- Όσον αφορά την ξηρή δρόγη οι βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης με μέγιστη απόδοση σε TPC, βέλτιστη αντιοξειδωτική ικανότητα και ικανότητα ανάσχεσης των ελεύθερων ριζών είναι 62,5 % v/v περιεκτικότητα σε αιθανόλη, χρόνος εκχύλισης 10 min, ένταση υπερήχων 80% και αναλογία διαλύτη/υπόστρωμα 60 mL/g
- Στο παραπροϊόν επεξεργασίας χαμομηλιού παρατηρήθηκε ότι οι βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης με μέγιστη απόδοση σε TPC, βέλτιστη αντιοξειδωτική ικανότητα και ικανότητα ανάσχεσης των ελεύθερων ριζών είναι 60% v/v περιεκτικότητα σε αιθανόλη, χρόνος εκχύλισης 10 min, ένταση υπερήχων 80% και αναλογία διαλύτη/υπόστρωμα 60 mL/g , συνθήκη η οποία και στο ξηρό προϊόν είναι η βέλτιστη όπως αναφέρθηκε και παραπάνω.
- Τα εκχυλίσματα ξηρού προϊόντος παρουσιάζουν συγκριτικά με τα αντίστοιχα των παραπροϊόντων υψηλότερες τιμές TPC, αντιοξειδωτικής δράση ωστόσο όχι αντιριζικής

δράσης. Η εμφανής ελάττωση του TPC, η οποία εμφανίζεται και στα αποτελέσματα της μεθόδου FRAP, ενδεχομένως να οφείλεται στη μέθοδο της απόσταξης που χρησιμοποιήθηκε (υδροατμοαπόσταξη). Αρχικά το φυτικό υλικό τοποθετείται σε πλέγμα μέσα στη στήλη. Στη συνέχεια, η κατσαρόλα στο σύστημα η οποία περιέχει νερό θερμαίνεται και καθώς αρχίζει να βράζει, ατμός διαπερνά αργά το φυτικό υλικό για να αφαιρέσει τα πτητικά συστατικά του. Αυτά τα πτητικά συστατικά ανεβαίνουν προς τα πάνω στο καπέλο μέσω των συνδετικών σωλήνων που οδηγούν στον συμπυκνωτή. Ο συμπυκνωτής ψύχει τον ανερχόμενο ατμό και πάλι σε υγρή μορφή. Το υγρό στη συνέχεια συλλέγεται σε ένα γυάλινο δοχείο κάτω από τον συμπυκνωτή. Η μέθοδος αυτή είναι μια ήπια διαδικασία χωρίς να καταπονούνται άλλες σημαντικές ενώσεις όπως οι φαινολικές, ωστόσο αυτό δεν σημαίνει ότι δεν υπάρχει πιθανότητα ορισμένες από αυτές να καταστραφούν από την επίδραση της θερμότητας κατά την άνοδο της θερμοκρασίας. Επίσης αποδεικνύεται πως οι βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης αποδίδουν το μέγιστο φαινολικό περιεχόμενο τόσο στη δρόγη όσο και στο παραπροϊόν χαμομηλιού με το δεύτερο να είναι μάλιστα μεγαλύτερο και από το πρώτο. Αυτό συμβαίνει διότι όπως προαναφέρθηκε, η συγκεκριμένη μέθοδος δεν είναι τόσο καταστρεπτική ως προς τα παραπροϊόντα των φυτικών δειγμάτων όπως για παράδειγμα τα φαινολικά. Μια δεύτερη εξήγηση είναι ότι μπορεί να μην καταστρέφονται από την θέρμανση οι φαινολικές ενώσεις αλλά να διασπώνται κάποιες θερμοευαίσθητες σύνθετες δομές τους π.χ κάποιιοι γλυκοζίτες φλαβονοειδών, οπότε να απελευθερώνονται τα φλαβονοειδή και να συνεισφέρουν στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο. Η μεγάλη διαφορά που παρατηρείται ανάμεσα στο δείγματα δρόγης και παραπροϊόντος στις βέλτιστες συνθήκες στη μέθοδο ABTS, στην οποία το αποτέλεσμα της ξηρής δρόγης είναι αρκετά μικρότερο από του παραπροϊόντος, πιθανώς να οφείλεται στη απελευθέρωση ή στη δημιουργία ενώσεων (ύστερα από πιθανή αποικοδόμηση) με υψηλή ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών κατά τη διάρκεια της υδροατμοαπόσταξης.

- Στη συνέχεια έγινε χρήση του στατιστικού δείκτη PCC και πραγματοποιήθηκε συσχέτιση των τριών παραπάνω μεθόδων και αποδείχτηκε ότι η μέθοδος F-C εμφανίζει καλή συσχέτιση με τη FRAP και την ABTS ωστόσο οι δυο τελευταίες δεν έχουν καλή θετική γραμμική συσχέτιση μεταξύ τους γεγονός που πιθανά να οφείλεται στο ότι κατά την μέθοδο της υδροαπόσταξης με ατμό μπορεί να μην καταστρέφονται όλες οι φαινολικές ενώσεις ωστόσο να παράγονται άλλες ενώσεις π.χ προϊόντα αντίδρασης Maillard που φέρουν αντιοξειδωτικές ή/και αντιριζικές ιδιότητες στα παραπροϊόντα χαμομηλιού.

6. Μελλοντικοί Στόχοι

Με βάση τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα που εξήχθησαν από την συγκεκριμένη πτυχιακή εργασία, παρουσιάζονται οι μελλοντικοί στόχοι αναφορικά με την περαιτέρω βελτιστοποίηση της εκχύλισης των φαινολικών από τα δείγματα παραπροϊόντων και ξηρής δρόγης του αρωματικού φυτού *Matricaria chamomilla* (χαμομήλι). Αναλυτικότερα παρουσιάζονται οι εξής στόχοι :

- Εφαρμογή της μεθόδου LC-MS/MS (υγρής χρωματογραφίας- φασματομετρίας μάζας) για την ταυτοποίηση και μελέτη φαινολικών ενώσεων των εκχυλισμάτων παραπροϊόντων και ξηρής δρόγης χαμομηλιού, με στόχο την συσχέτιση των ενώσεων με την αντιοξειδωτική και αντιριζική δράση τους και την παρασκευή εκχυλισμάτων με το επιθυμητό φαινολικό προφίλ ή με συγκεκριμένες χαρακτηριστικές δράσεις.
- Χρήση και μελέτη διαφορετικής μεθόδου εκχύλισης, όπως εκχύλιση με μικροκύματα (Microwave Assisted Extraction , MAE), εκχύλιση υποβοηθούμενη από ενζυμική υδρόλυση (Enzymatic assisted extraction, EAE) και εκχύλιση με την χρήση συμπιεσμένου υγρού (Pressurized liquid extraction , PLE)
- Δημιουργία μαθηματικού προτύπου πειραματικού σχεδιασμού με αποκλειστική εφαρμογή τα δείγματα παραπροϊόντων του χαμομηλιού, με στόχο την κατασκευή ενός ακριβέστερου μαθηματικού προτύπου πρόβλεψης των βέλτιστων συνθηκών στην διαδικασία της εκχύλισης με χρήση υπερήχων.
- Μελέτη της πιθανής χρήσης παραπροϊόντων χαμομηλιού , από την βιομηχανία ως αντιμικροβιακοί παράγοντες σε ορισμένα τρόφιμα ως πρόσθετο σε ορισμένα τρόφιμα και ποτά προς κατανάλωση και ως προς την συντήρηση προϊόντων τροφίμων.

7.Βιβλιογραφία

El Mihyaoui, A., Esteves da Silva, J. C., Charfi, S., Candela Castillo, M. E., Lamarti, A., & Arnao, M. B. (2022). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): a review of ethnomedicinal use, phytochemistry and pharmacological uses. *Life*, 12(4), 479.

Dai, Y. L., Li, Y., Wang, Q., Niu, F. J., Li, K. W., Wang, Y. Y., ... & Gao, L. N. (2022). Chamomile: a review of its traditional uses, chemical constituents, pharmacological activities and quality control studies. *Molecules*, 28(1), 133.

Sah, A., Naseef, P. P., Kuruniyan, M. S., Jain, G. K., Zakir, F., & Aggarwal, G. (2022). A Comprehensive Study of Therapeutic Applications of Chamomile. *Pharmaceuticals*, 15(10), 1284.

Sharifi-Rad, M., Nazaruk, J., Polito, L., Morais-Braga, M. F. B., Rocha, J. E., Coutinho, H. D. M., ... & Sharifi-Rad, J. (2018). *Matricaria* genus as a source of antimicrobial agents: From farm to pharmacy and food applications. *Microbiological research*, 215, 76-88.

Kant, R., & Kumar, A. (2022). Review on essential oil extraction from aromatic and medicinal plants: Techniques, performance and economic analysis. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 30, 100829.

Riaz, U., Iqbal, S., Sohail, M. I., Samreen, T., Ashraf, M., Akmal, F., ... & Akhter, R. M. (2021). A comprehensive review on emerging importance and economical potential of medicinal and aromatic plants (MAPs) in current scenario.

De Elguea-Culebras, G. O., Bravo, E. M., & Sánchez-Vioque, R. (2022). Potential sources and methodologies for the recovery of phenolic compounds from distillation residues of Mediterranean aromatic plants. An approach to the valuation of by-products of the essential oil market—A review. *Industrial Crops and Products*, 175, 114261.

Faustino, M., Veiga, M., Sousa, P., Costa, E. M., Silva, S., & Pintado, M. (2019). Agro-food byproducts as a new source of natural food additives. *Molecules*, 24(6), 1056.

Skendi, A., Irakli, M., Chatzopoulou, P., Bouloumpasi, E., & Biliaderis, C. G. (2022). Phenolic extracts from solid wastes of the aromatic plant essential oil industry: Potential uses in food applications. *Food Chemistry Advances*, 100065.

Marcelino, S., Gaspar, P. D., & Paço, A. (2023). Sustainable waste management in the production of medicinal and aromatic plants—A systematic review. *Sustainability*, 15(18), 13333.

Alexandri, M., Christaki, S., Gkatzionis, K., Mourtzinou, I., & Tsouko, E. (2023). Residual biomass from major aromatic and medicinal flora of the Mediterranean: Challenges towards sustainable integration into food systems within the circular bioeconomy. *Trends in Food Science & Technology*, 104123.

Singh, O., Khanam, Z., Misra, N., & Srivastava, M. K. (2011). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): an overview. *Pharmacognosy reviews*, 5(9), 82.

Catani, M. V., Rinaldi, F., Tullio, V., Gasperi, V., & Savini, I. (2021). Comparative analysis of phenolic composition of six commercially available chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) extracts: Potential biological implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), 10601.

Szpisják-Gulyás, N., Al-Tayawi, A. N., Horváth, Z. H., László, Z., Kertész, S., & Hodúr, C. (2023). Methods for experimental design, central composite design and the Box–Behnken design, to optimise operational parameters: A review. *Acta Alimentaria*, 52(4), 521-537.

Prajapati, P., Patel, S. and Mishra, A. (2020) 'Simultaneous estimation of azilsartan medoxomil and chlorthalidone by chromatography method using design of experiment and quality risk management based quality by design approach', *Journal of Planar Chromatography - Modern TLC*, 33(6), pp. 631–646.

López, G. G., Brousse, M. M., & Linares, A. R. (2023). Kinetic modelling of total phenolic compounds from *Ilex paraguariensis* (St. Hil.) leaves: Conventional and ultrasound assisted extraction. *Food and Bioproducts Processing*, 139, 75-88. (δεν χρης)

Wang, X., Wu, Y., Chen, G., Yue, W., Liang, Q., & Wu, Q. (2013). Optimisation of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from *Sparganii rhizoma* with response surface methodology. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(3), 846-854.

Gündüz, M., Çiçek, Ş. K., & Topuz, S. (2023). Extraction and Optimization of Phenolic Compounds from Butterbur Plant (*Petasites hybridus*) by Ultrasound-Assisted Extraction and Determination of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Butterbur Extracts. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 100491.

Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food chemistry*, 106(2), 804-810.

Brahmi, F., Blando, F., Sellami, R., Mehdi, S., De Bellis, L., Negro, C., ... & Makhlouf-Boulekbache, L. (2022). Optimization of the conditions for ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. flowers and comparison with conventional procedures. *Industrial Crops and Products*, 184, 114977.

Embuscado, M. E. (2015). Spices and herbs: Natural sources of antioxidants—a mini review. *Journal of functional foods*, 18, 811-819.

Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I., & Florou-Paneri, P. (2012). Aromatic plants as a source of bioactive compounds. *Agriculture*, 2(3), 228-243.

Albuquerque, B. R., Heleno, S. A., Oliveira, M. B. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2021). Phenolic compounds: Current industrial applications, limitations and future challenges. *Food & function*, 12(1), 14-29.

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200-214.

Gil-Martín, E., Forbes-Hernández, T., Romero, A., Cianciosi, D., Giampieri, F., & Battino, M. (2022). Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products. *Food Chemistry*, 378, 131918.

Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3), 47.

Amiri, M. S., & Joharchi, M. R. (2016). Ethnobotanical knowledge of Apiaceae family in Iran: A review. *Avicenna journal of phytomedicine*, 6(6), 621.

Gutiérrez-Grijalva, E. P., Picos-Salas, M. A., Leyva-López, N., Criollo-Mendoza, M. S., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. B. (2017). Flavonoids and phenolic acids from oregano: Occurrence, biological activity and health benefits. *Plants*, 7(1), 2.

Karak, P. (2019). Biological activities of flavonoids: An overview. *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 10(4), 1567-1574.

Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. (2019). Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. *Molecules*, 24(22), 4132.

Gostner, J. M., Becker, K., Ueberall, F., & Fuchs, D. (2015). The good and bad of antioxidant foods: an immunological perspective. *Food and Chemical Toxicology*, 80, 72-79.

Tsiaka, T., Lantzouraki, D. Z., Siapi, E., Sinanoglou, V. J., Heropoulos, G. A., Calokerinos, A. C., & Zoumpoulakis, P. (2018). Macular carotenoids in lipid food matrices: DOE-based high energy extraction of egg yolk xanthophylls and quantification through a validated APCI (+) LC-MS/MS method. *Journal of Chromatography B*, 1096, 160-171.

Singla, M., & Sit, N. (2021). Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105506.

Akdağ, A., & Öztürk, E. (2019). Distillation methods of essential oils. Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi, 45(1), 22-31.