



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΩΝ ΖΩΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΘΡΕΨΕΩΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

Διδακτορική Διατριβή

**Μελέτη Φυτοχημικού Περιεχομένου και Βιοδραστικότητας Ελληνικών
Ψυχανθών**



Ελένη Δ. Μύρτση

Επιβλέπων Καθηγητής:

Σέρκος Χαρουτουνιάν, Καθηγητής ΓΠΑ

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Σέρκος Χαρουτουνιάν, Καθηγητής ΓΠΑ

Ιωάννης Πολίτης, Καθηγητής ΓΠΑ

Ελένη Τσιπλάκου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ, 2023



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΩΝ ΖΩΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΘΡΕΨΕΩΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Διδακτορική Διατριβή

Μελέτη Φυτοχημικού Περιεχομένου και Βιοδραστικότητας Ελληνικών
Ψυχανθών

“Phytochemical Content and Bioactivity Properties of Greek Legumes”

Ελένη Δ. Μύρτση

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Σέρκος Χαρουτουνιάν, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Ιωάννης Πολίτης, Καθηγητής ΓΠΑ

Ελένη Τσιπλάκου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΓΠΑ

Κωνσταντίνος Μουντζούρης, Καθηγητής ΓΠΑ

Σοφία Μητάκου, Καθηγήτρια ΕΚΠΑ

Δημήτριος Κουρέτας, Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Κωνσταντίνος Κασιώτης, Διευθυντής Ερευνών, ΜΦ

Περίληψη

Αντικείμενο της διατριβής είναι η αξιολόγηση των Ελληνικών ψυχανθών που εντάσσονται στην οικογένεια *Fabaceae* μέσω της μελέτης του περιεχομένου τους σε βιοδραστικά μόρια, με έμφαση τα φυτοοιστρογόνα. Συγκεκριμένα, στο πλαίσιο της υλοποίησής της μελετήθηκαν 6 φυτά που συλλέχθηκαν από την άγρια Ελληνική βιοποικιλότητα, 2 ευρέως καλλιεργούμενα φυτά και 14 νέες-βελτιωμένες ποικιλίες καλλιεργούμενων φυτών. Παράλληλα, αξιολογήθηκαν και 16 σπέρματα καλλιεργούμενων και βελτιωμένων ψυχανθών.

Αναλυτικότερα, στα εκχυλίσματα των φυτών και σπερμάτων -με διαλύτες διαφορετικής πολικότητας- προσδιορίστηκε η ποιοτική και ποσοτική περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα, καροτενοειδή και φυτοοιστρογόνα-φαινολικές ενώσεις. Για την επίτευξη του στόχου αυτού πραγματοποιήθηκε βελτίωση και μετατροπή σε μικρομέθοδο των κλασσικών μεθόδων προσδιορισμού των ολικών φαινολικών και ταννινών, ενώ προσδιορίστηκε και το συνολικό τους περιεχόμενο σε καροτενοειδή. Επιπλέον, τροποποιήθηκε η μέθοδος παραγωγοποίησης και ποσοτικού προσδιορισμού 34 λιπαρών οξέων με την τεχνική GC-FID. Στο πλαίσιο διενέργειας της διατριβής αναπτύχθηκε, επικυρώθηκε και εφαρμόστηκε μια νέα μέθοδος που επιτρέπει τον ταυτόχρονο ποσοτικό προσδιορισμό των 67 κοινότερων βιοδραστικών φαινολικών φυτοοιστρογόνων, σε μόλις 35 λεπτά με την τεχνική LC-MS/MS. Η νέα μέθοδος υπερτερεί των χρησιμοποιούμενων έως τώρα σε ταχύτητα, ακρίβεια και αριθμό προσδιοριζόμενων μορίων, αφού η βέλτιστη των εν χρήσει μεθόδων επιτρέπει τον ταυτόχρονο προσδιορισμό μόνο 16 αναλυτών-μορίων. Παράλληλα, κατασκευάστηκε βιβλιοθήκη φασμάτων μάζας για την ποιοτική ανίχνευση της παρουσίας 74 φαινολικών φυτοοιστρογόνων σε συνδυασμό με χρωματογραφική μέθοδο 22 λεπτών. Τέλος, αναπτύχθηκε, επικυρώθηκε και εφαρμόστηκε μία νέα μέθοδος για τον ταυτόχρονο ποσοτικό προσδιορισμό 9 βιοδραστικών καροτενοειδών που βασίζεται στον συνδυασμό της χρήσης των τεχνικών LC-MS/MS και HPLC-DAD. Η βιοδραστικότητα των εκχυλισμάτων αξιολογήθηκε μέσω του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας με τη χρήση των μεθόδων DPPH και FRAP και της μέτρησης της δραστικότητάς τους έναντι των παρασίτων *Haemonchus contortus* και *Trichostrongylus colubriformis*, που αποτελούν παγκοσμίως τα νηματώδη παράσιτα που προσβάλλουν συχνότερα τα μικρά μηρυκαστικά.

Τα αποτελέσματα της διατριβής έδειξαν ότι η πλειονότητα των Ελληνικών ψυχανθών που μελετήθηκαν, εκτός από πλούσια πηγή πρωτεϊνών, αποτελεί σημαντική πηγή ωφέλιμων για την υγεία λιπαρών οξέων και φυσικών μορίων με υψηλή αντιοξειδωτική δράση. Ως επακόλουθο, τα σπέρματα και οι φυτικοί τους ιστοί διαθέτουν αξιοσημείωτες δυνατότητες για ενσωμάτωση στη διατροφή των ανθρώπων (σπέρματα) και παραγωγικών ζώων (υπόλοιπο φυτό). Ειδικότερα, το *T. repens* προσδιορίστηκε ότι εμπεριέχει ένα ιδιαίτερα πλούσιο περιεχόμενο σε φαινολικά αντιοξειδωτικά και καροτενοειδή, έχει υψηλή συγκέντρωση ταννινών και ισχυρή δράση έναντι των παρασίτων *Haemonchus contortus* και *Trichostrongylus colubriformis* και των ανθεκτικών αβγών του δεύτερου. Επίσης, τα είδη *B. bituminosa*,

L. laxiflorus, *T. physodes*, *C. Incicum*, *C. arientitum* και πολλά από τα βελτιωμένα φυτά που μελετήθηκαν στη διατριβή προσδιορίστηκε ότι επίσης εμπεριέχουν σημαντικές ποσότητες βιοδραστικών δευτερογενών μεταβολιτών με υψηλή αντιοξειδωτική και αντιπαρασιτική δράση.

Επιστημονική περιοχή: Ανάλυση Φυσικών Προϊόντων

Λέξεις κλειδιά: *Fabaceae*, Ψυχανθή, Φυτοοιστρογόνα, Φαινολικές Ενώσεις, Καροτενοειδή, Λιπαρά Οξέα, Αντιοξειδωτική Δράση, Αντιπαρασιτική Δράση

Department of Animal Science
Laboratory of Nutritional Physiology and Feeding

Abstract

Main objective of the thesis is the evaluation of Greek legumes belonging to *Fabaceae* family through the determination of their content in bioactive molecules, with special focus on phytoestrogens. In this context, 6 plants collected from the wild Greek biodiversity, 2 widely cultivated plants and 14 novel-improved cultivated varieties were studied. Additionally, the seeds of 16 cultivated and novel-improved legume species were also evaluated.

In specific, the qualitative and quantitative content of fatty acids, carotenoids and phytoestrogens-phenolic compounds was determined in plants and seeds extracts obtained with solvents of different polarities. To achieve this goal, their total phenolic and tannin contents were assessed using a newly developed, improved, modified micromethod version of the classical methods, while their total carotenoid content was measured using the literature procedure. Additionally, the derivatization and quantification method of 34 fatty acids with GC-MS technique was also modified-improved and used for the evaluation of their presence in samples studied. In the terms of thesis implementation, a novel method was developed, validated and applied allowing the quantitative determination of 67 phenolic phytoestrogens presence in only 35 minutes using the LC-MS/MS technique. This novel method surpasses those in use to date in speed, accuracy and number of determined analytes, since the best currently in use method allows the simultaneous determination of only 16 molecules. Moreover, a mass spectrometry library was constructed for the qualitative detection of 74 phenolic phytoestrogens along with a 22 min-liquid chromatographic method. Finally, a novel method was developed, evaluated and applied for the simultaneous quantification of 9 bioactive carotenoids based on the combined use of LC-MS/MS and HPLC-DAD techniques. The bioactivity of the extracts was evaluated through the assessment of their antioxidant capacity using the DPPH and FRAP assays and the measurement of their activity against the parasites *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*, which constitute worldwide the two most ubiquitous nematodes among small ruminants.

Results herein indicate that most of the studied Greek legumes except for rich source of proteins, constitute an important source of health beneficial fatty acids and natural molecules with high antioxidant activity. Consequently, their fruits-seeds and plant tissues display a remarkable potential for incorporation into the diet of humans (fruits-seeds) and productive animals (plant tissues). In particular, *T. repens* was determined to possess a particularly rich content of phenolic antioxidants and carotenoids, a high concentration of tannins and a strong activity against the parasites *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* and the resistant eggs of the latter. Additionally, the species studied *B. bituminosa*, *L. laxiflorus*, *T. physodes*, *C. Incicum*, *C. arietinum* as well as many of the improved plants studied in the thesis were also determined to contain significant amounts of bioactive secondary metabolites with high antioxidant and antiparasitic activities.

Scientific area: Natural Products' Analysis

Keywords: Legumes, *Fabaceae*, Phenolics, Carotenoids, Fatty Acids, Antioxidant Activity, Antiparasitic Activity

Ευχαριστίες,

Φτάνοντας στο τέλος αυτής της διαδρομής θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέπων μου καθηγητή Σέρκο Χαρουτουνιάν, για την ευκαιρία που μου έδωσε να γίνω μέλος του εργαστηρίου του και να πορευτούμε μαζί στην εκπόνηση αυτής της εργασίας. Τον ευχαριστώ πολύ για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε εξ' αρχής, τις υποδείξεις του, την υποστήριξη και το ενδιαφέρον που έδειξε από την αρχή μέχρι το τέλος, καθώς και για την πολύτιμη βοήθειά του σε όλες τις στιγμές που την χρειάστηκα πάντα με ευγένεια και καλοσύνη.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον καθηγητή Ιωάννη Πολίτη που αποτελεί μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, όπως επίσης και στην αναπληρώτρια καθηγήτρια, Ελένη Τσιπλάκου, η οποία με βοήθησε πολύ στην κατανόηση της φυσιολογίας των ζώων και οι συμβουλές της βελτίωσαν πολύ την τελική εικόνα της εργασίας, καθώς και στα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής, τον καθηγητή Κωνσταντίνο Μουντζούρη, την καθηγήτρια Σοφία Μητάκου, τον Ερευνητή Α' Κωνσταντίνο Κασιώτη και τον Καθηγητή Δημήτριο Κουρέτα για την συμβολή τους στην ολοκλήρωση αυτής της εργασίας και τον χρόνο που αφιέρωσαν στην ανάγνωση και διόρθωση της.

Ευχαριστώ θερμά όλους τους συνεργάτες του εργαστηρίου «Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής» τόσο για την συνεργασία μας όλα αυτά τα χρόνια όσο και για την βοήθειά τους στην ολοκλήρωση αυτής της διατριβής. Συγκεκριμένα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την ΕΔΙΠ Σοφία Κουλοχέρη για την υποστήριξη και την συμπαράστασή της καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της μελέτης, καθώς και την προθυμία της να προσφέρει τη βοήθειά της. Ευχαριστώ πολύ τον μεταδιδάκτορα Επαμεινώνδα Ευεργέτη για την εύρεση και συλλογή μέρος των φυτών της διατριβής, την καθοδήγηση του και την γνώση που μοιράστηκε μαζί μου. Ήταν πάντα πρόθυμος να απαντήσει σε ερωτήσεις και να επεξηγήσει τις απαντήσεις που μου έδινε, οδηγώντας με σε έναν διαφορετικό τρόπο σκέψης. Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου και στον Βασίλη Ηλιόπουλο, που με βοήθησε στην ολοκλήρωση της διατριβής, τόσο με την συλλογή ορισμένων φυτών, όσο και με τις μετέπειτα πειραματικές διαδικασίες, αλλά και τον υποψήφιο διδάκτορα Διονύση Παυλόπουλο, που από τότε που ήρθε στο εργαστήριο είχα πάντα μία επιπλέον βοήθεια και πάντα με ενθουσιασμό και εγкарδιότητα. Κυρίως, όμως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους δυο τους, καθώς μέσα από αυτή τη διαδρομή απέκτησα δύο καλούς φίλους. Θα ήθελα επιπλέον να ευχαριστήσω δύο ακόμα συνεργάτες, που γνωριστήκαμε καλύτερα κυρίως μέσω των προπτυχιακών εργαστηριακών μαθημάτων, τον δρ. Χρήστο Ηλιόπουλο και την διδακτορική φοιτήτρια Θεοδώρα Μπαρμπούνη, αλλά μοιραστήκαμε τις ίδιες σκέψεις και τα ίδια άγχη.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον ερευνητή Δημήτριο Βλαχοστέργιο από το Ινστιτούτο Βιομηχανικών και Κτηνοτροφικών Φυτών της Λάρισας για την προσφορά των βελτιωμένων φυτών *Fabaceae* που μελετήθηκαν σε αυτή τη διατριβή, όπως επίσης και την δρ. Κατερίνα Σαρατση και την Ερευνήτρια Σμαράγδα Σωτηράκη από το Ινστιτούτο Κτηνιατρικών Ερευνών της Θεσσαλονίκης για τον προσδιορισμό της *in vitro* ανθελμινθικής δράσης των εκχυλισμάτων.

«Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της»

Οι παρακάτω δημοσιεύσεις αποτελούν μέρος των αποτελεσμάτων και εφαρμογή των μεθόδων που αναπτύχθηκαν για τις ανάγκες της διατριβής:

- Myrtsi, E.D.; Evergetis, E.; Koulocheri, S.D.; Haroutounian, S.A. Bioactivity of Wild and Cultivated Legumes: Phytochemical Content and Antioxidant Properties. *Antioxidants*, 2023, 12, 852. <https://doi.org/10.3390/antiox12040852>
- Pavlopoulos, D.T.; Myrtsi, E.D.; Tryfinopoulou, P.; Iliopoulos, V.; Koulocheri, S.D.; Haroutounian, S.A. Phytoestrogens as Biomarkers of Plant Raw Materials Used for Fish Feed Production. *Molecules*, 2023, 28, 3623. <https://doi.org/10.3390/molecules28083623>
- Myrtsi, E.D.; Koulocheri, S.D.; Evergetis, E.; Haroutounian, S.A. Agro-industrial co-products upcycling: Recovery of carotenoids and fine chemicals from Citrus sp. juice industry co-products, *Industrial Crops and Products*, 2022, 186, 115190, ISSN 0926-6690. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115190>
- Myrtsi, E.D.; Koulocheri, S.D.; Evergetis, E.; Haroutounian, S.A. Pigments' analysis of Citrus juicing making by-products by LC-MS/MS and LC-DAD, *MethodsX*, 2022 9, 101888, ISSN 2215-0161. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2022.101888>

Υπό Δημοσίευση:

- An interdisciplinary assessment of agronomical, biochemical and antioxidant attributes from six Greek *Vicia sativa* L. Fabaceae cultivars (Plants)

Περιεχόμενα

Κατάλογος Περιεχόμενων Εικόνων	13
Κατάλογος Περιεχόμενων Πινάκων.....	17
Κατάλογος Περιεχόμενων Σχημάτων	17
Κατάλογος Περιεχόμενων Πινάκων Παραρτήματος.....	18
Κατάλογος Περιεχόμενων Συντομογραφιών	20
A. Θεωρητικό Μέρος	24
1. Εισαγωγή.....	25
Βιβλιογραφία.....	30
2. Οικογένεια των <i>Fabaceae</i>	31
2.1. Ταξονομική κατάταξη-Βοτανικά Χαρακτηριστικά.....	31
2.2. Σπουδαιότητα των φυτών της οικογένειας των <i>Fabaceae</i> στη φυτική παραγωγή..	36
2.3. Σπουδαιότητα των φυτών της οικογένειας των <i>Fabaceae</i> στη ζωική παραγωγή....	38
2.4. Φυτά της Οικογένειας των <i>Fabaceae</i> που μελετήθηκαν στη Διατριβή.....	41
2.4.1. Γένος <i>Astragalus</i>	41
2.4.2. Γένος <i>Cicer</i>	43
2.4.3. Γένος <i>Trifolium</i>	45
2.4.4. Γένος <i>Lathyrus</i>	46
2.4.5. Γένος <i>Vicia</i>	48
2.4.6. Γένος <i>Bituminaria</i>	50
2.4.7. Γένος <i>Medicago</i>	50
2.4.8. Γένος <i>Pisum</i>	52
2.4.9. Γένος <i>Phaseolus</i>	52
2.4.10. Γένος <i>Lens</i>	53
2.4.11. Γένος <i>Glycine</i>	54
Βιβλιογραφία.....	56
3. Φυτοοιστρογόνα	66
3.1. Οιστρογόνα (Οιστραδιόλη)	66
3.2. Οιστρογονικοί Υποδοχείς.....	67
3.3. Δομή & Ταξινόμηση των Φυτοοιστρογόνων	70
3.3.1. Φλαβονοειδή.....	70
3.3.2. Κουμεστάνες	75
3.3.3. Λιγνάνια	77
3.3.4. Στιλβένια	80
3.3.5. Φαινολικά Οξέα.....	82
3.4. Μηχανισμοί Δράσης των Φυτοοιστρογόνων.....	86

3.4.1.	Οιστρογονική Δράση.....	86
3.4.2.	Αντιοξειδωτική Δραστητικότητα των Φυτοοιστρογόνων.....	88
3.5.	Επίδραση των Φυτοοιστρογόνων στον άνθρωπο	90
3.6.	Επίδραση των Φυτοοιστρογόνων στα ζώα.....	92
	Βιβλιογραφία.....	94
4.	Καροτενοειδή	105
4.1.	Βιοσύνθεση των Καροτενοειδών	106
4.1.1.	Βιοσύνθεση των Τερπενοειδών.....	106
4.1.2.	Βιοσύνθεση των Καροτενοειδών	108
4.2.	Αποκαροτενοειδή	111
	Βιβλιογραφία.....	114
5.	Λιπαρά οξέα	119
5.1.	Λιπαρά οξέα και Ψυχανθή.....	121
5.2.	Ζωική Παραγωγή και Λιπαρά Οξέα.....	122
	Βιβλιογραφία.....	123
6.	Βελτίωση των Φυτών	125
	Βιβλιογραφία.....	128
7.	Μηρυκαστικά και Παρασιτώσεις	129
7.1.	Νηματώδη Παράσιτα <i>Trichostrongylidae</i>	129
7.1.1.	<i>Haemonchus contortus</i>	130
7.1.2.	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	131
7.2.	Επιπτώσεις στη Ζωική Παραγωγή	131
7.3.	Αντιμετώπιση Παρασιτώσεων.....	132
	Βιβλιογραφία.....	137
B.	Πειραματικό Μέρος.....	143
1.	Χημικά και Πρότυπες Χημικές Ενώσεις.....	144
2.	Εξοπλισμός.....	145
3.	Φυτικό Υλικό	146
4.	Επεξεργασία των Δειγμάτων	147
5.	Προσδιορισμός Ολικής Περιεκτικότητας σε Δευτερογενείς Μεταβολίτες	148
5.1.	Ολική Περιεκτικότητα Καροτενοειδών.....	148
5.2.	Ολική Περιεκτικότητα Φαινολικών	149
5.3.	Ολική Περιεκτικότητα Ταννινών	149
6.	Ανάπτυξη Νέας Μεθόδου Ποσοτικού Προσδιορισμού των Φυτοοιστρογόνων	150
6.1.	Προετοιμασία Προτύπων Διαλυμάτων Παρακαταθήκης των Αναλυτών	151
6.2.	Επικύρωση της Αναλυτικής Μεθόδου	152

6.3. Ποσοτικοποίηση των Φυτοοιστρογόνων στα Δείγματα της Διατριβής	153
7. Κατασκευή Βιβλιοθήκης Φασμάτων Μάζας των Φυτοοιστρογόνων	154
8. Ανάπτυξη Νέας Μεθόδου Ανάλυσης των Καροτενοειδών	154
8.1. Σαπωνοποίηση.....	154
8.2. Μέθοδος Ποσοτικής Ανάλυσης των Καροτενοειδών	155
9. Προσδιορισμός των Λιπαρών Οξέων.....	156
9.1. Παραγωγοποίηση Λιπαρών Οξέων	156
9.2. Αναλυτική Μέθοδος Ποσοτικοποίησης Λιπαρών Οξέων με GC-FID	156
10. Προσδιορισμός Αντιοξειδωτικής Ικανότητας	158
10.1. Προσδιορισμός της <i>in vitro</i> Αντιοξειδωτικής Ικανότητας με τη Μέθοδο DPPH•	158
10.2. Προσδιορισμός της <i>in vitro</i> Αντιοξειδωτικής Ικανότητας με τη Μέθοδο FRAP..	158
11. Αξιολόγηση της Ανθελμινθικής Δράσης.....	159
12. Στατιστική Επεξεργασία των Αποτελεσμάτων	160
Βιβλιογραφία.....	162
Γ. Αποτελέσματα.....	165
1. Εκχύλιση.....	166
2. Προσδιορισμός των Περιεχομένων Φυτοχημικών Μορίων	170
2.1. Προσδιορισμός Ολικής Περιεκτικότητας Καροτενοειδών (Total Carotenoid Content-TCC).....	170
2.2. Προσδιορισμός των Ολικών Περιεκτικοτήτων σε Φαινολικά (Total Phenolic Content-TPC) & Ταννίνες (Total Tannin Content-TPC)	174
3. Ποσοτικοποίηση του περιεχομένου σε επιμέρους Καροτενοειδή	178
3.1. Ανάπτυξη Μεθόδου Ποσοτικοποίησης των Καροτενοειδών	178
3.2. Ποσοτικοποίηση των Καροτενοειδών.....	181
4. Ποσοτικός Προσδιορισμός των Φυτοοιστρογόνων με LC-MS/MS	183
4.1. Ανάπτυξη Μεθόδου Ποσοτικοποίησης των Φυτοοιστρογόνων	183
4.2. Επικύρωση της Μεθόδου Ανάλυσης των Φυτοοιστρογόνων με LC-MS/MS	186
4.2.1. Γραμμικότητα, ελάχιστο όριο ανίχνευσης (LOD) και ελάχιστο όριο ποσοτικοποίησης (LOQ)	186
4.2.2. Προσδιορισμός Επαναληψιμότητας, Ανάκτησης και Φαινομένου Μήτρας (Repeatability, Recovery and Matrix Effect)	190
4.3. Ποσοτικοποίηση των Φυτοοιστρογόνων.....	192
5. Βιβλιοθήκη Φασμάτων Μάζας Φυτοοιστρογόνων Υγρής Χρωματογραφίας	196
6. Ποσοτικοποίηση Λιπαρών Οξέων.....	200
7. Προσδιορισμός Αντιοξειδωτικής Ικανότητας	204
8. Προσδιορισμός Αντιπαρασιτικής Δράσης.....	209
Δ. Συζήτηση	212

1.	Ανάπτυξη Νέων Μεθόδων Ανάλυσης.....	213
1.1.	Ανάπτυξη Νέας Μεθόδου για τον Ποσοτικό Προσδιορισμό των Φυτοοιστρογόνων 213	
1.2.	Ανάπτυξη Νέας Μεθόδου Ποσοτικού Προσδιορισμού των Καροτενοειδών.....	241
1.3.	Ανάπτυξη Μεθόδου Ανάλυσης των Λιπαρών Οξέων	248
	Βιβλιογραφία	256
2.	Ανάπτυξη Βιβλιοθήκης Φασμάτων	284
	Βιβλιογραφία	290
3.	Φυτοχημικό Περιεχόμενο των Φυτών που Μελετήθηκαν στη Διατριβή	291
3.1.	<i>Astragalus</i> (<i>A. creticus</i> , <i>A. glycyphyllos</i>).....	294
3.2.	<i>Cicer</i> (<i>C. arietinum</i> , <i>C. incisum</i>)	299
3.3.	<i>Trifolium</i> (<i>T. repens</i> , <i>T. physodes</i>).....	305
3.4.	<i>Lathyrus</i> (<i>L. sativus</i> , <i>L. laxiflorus</i> , <i>L. clymenum</i>)	310
3.5.	<i>Bituminaria</i> (<i>B. bituminosa</i>).....	314
3.6.	<i>Vicia</i> (<i>V. sativa</i> , <i>V. faba</i>)	316
3.7.	<i>Medicago</i> (<i>M. sativa</i>).....	325
3.8.	<i>Pisum</i> (<i>P. sativum</i>).....	327
3.9.	<i>Phaseolus</i> (<i>P. vulgaris</i>)	331
3.10.	<i>Lens</i> (<i>L. culinaris</i>)	333
3.11.	<i>Glycine</i> (<i>G. max</i>)	335
	Βιβλιογραφία	338
4.	Επίλογος	344
4.1.	Συμπέρασμα	347
	Βιβλιογραφία.....	348
	Παράρτημα	349

Κατάλογος Περιεχομένων Εικόνων

Εικόνα	Τίτλος	Σελίδα
Εικόνα 1	Σύγκριση παραγωγής σόγιας με άλλα ψυχανθή σε παγκόσμιο και πανελλαδικό επίπεδο	28
Εικόνα 2	Διαγραμματική απεικόνιση της μελέτης της Διατριβής	29
Εικόνα 3	Ταξινομική κατάταξη των φυτών της οικογένειας των <i>Fabaceae</i>	36
Εικόνα 4	Δομή των κύριων μορφών των ενδογενών οιστρογόνων	67
Εικόνα 5	Σύγκριση των πρωτοταγών δομών των δύο οιστρογονικών υποδοχέων ERα και ERβ	69
Εικόνα 6	Απεικόνιση των δύο ζωνών απορρόφησης των φλαβονοειδών	71
Εικόνα 7	Φάσματα απορρόφησης των ισοφλαβονών γλυσιτεΐνη, γενιστεΐνη και δαΐδζεΐνη	72
Εικόνα 8	Δομές ορισμένων κατηγοριών φλαβονοειδών	73
Εικόνα 9	Οι βασικοί σκελετοί των λιγνανίων	79
Εικόνα 10	Σύγκριση των δομών φυτοοιστρογόνων με τη δομή της οιστραδιόλης	87
Εικόνα 11	Οι δομικές ομάδες των φλαβονοειδών που έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν τις ελεύθερες δραστικές ρίζες	89
Εικόνα 12	Δομή στυλβενίου και δομή του στυλβενίου ρεσβερατρόλη και των μεθόξυ-παραγώγων της	90
Εικόνα 13	Δομή τριγλυκεριδίου	120
Εικόνα 14	Διαγραμματική απεικόνιση του βιολογικού κύκλου των νηματωδών παρασίτων	130
Εικόνα 15	Διάγραμμα σύγκρισης διαφορετικών εκχυλίσεων	166
Εικόνα 16	Διαγράμματα σύγκρισης της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων (HEX, DCM, MeOH) των διαφορετικών εκχυλίσεων μέσω της μεθόδου FRAP	167
Εικόνα 17	Διαγράμματα σύγκρισης ολικής περιεκτικότητας καροτενοειδών (TCC) και φαινολικών (TPC) στα εκχυλίσματα που προέκυψαν από διαφορετικές εκχυλίσεις.	168
Εικόνα 18	Διάγραμμα σύγκρισης των τριών μεθόδων εκχύλισης ως προς το φυτοοιστρογονικό τους περιεχόμενο	169
Εικόνα 19	Ολική περιεκτικότητα καροτενοειδών στο εξανικό και στο διχλωρομεθανικό εκχύλισμα των δειγμάτων	171
Εικόνα 20	Ολική περιεκτικότητα καροτενοειδών ως προς το ξηρό φυτικό ιστό που προέκυψε από την εκχύλισή του με εξάνιο και διχλωρομεθάνιο.	172
Εικόνα 21	Ολική περιεκτικότητα καροτενοειδών στο εξανικό και στο διχλωρομεθανικό εκχύλισμα των δειγμάτων	173
Εικόνα 22	Ολική περιεκτικότητα καροτενοειδών ως προς το ξηρό φυτικό ιστό που προέκυψε από την εκχύλισή του με εξάνιο και διχλωρομεθάνιο	173
Εικόνα 23	Ολική περιεκτικότητα ταννινών (TTC) και φαινολικών (TPC) στο μεθανολικό εκχύλισμα των δειγμάτων	174
Εικόνα 24	Ολική περιεκτικότητα ταννινών (TTC) και φαινολικών (TPC) ως προς το ξηρό φυτικό ιστό που προέκυψε από την εκχύλισή του με μεθανόλη	175
Εικόνα 25	Ολική περιεκτικότητα ταννινών (TTC) και φαινολικών (TPC) στο μεθανολικό εκχύλισμα των δειγμάτων των σπερμάτων	176
Εικόνα 26	Ολική περιεκτικότητα ταννινών (TTC) και φαινολικών (TPC) ως προς το ξηρό φυτικό ιστό των σπερμάτων που προέκυψε από την εκχύλισή του με μεθανόλη	176
Εικόνα 27	Τα σπέρματα <i>Fabaceae</i> που μελετήθηκαν	177
Εικόνα 28	Χρωματογράφημα προτύπων καροτενοειδών με το σύστημα LC-MS/MS	180
Εικόνα 29	Χρωματογράφημα πρότυπων διαλυμάτων λουτεΐνης και ζεαξανθίνης με HPLC-DAD (450nm).	180

Εικόνα	Τίτλος	Σελίδα
Εικόνα 30	Ποσοτικός προσδιορισμός των επιμέρους καρτενοειδών που εμπεριέχουν τα διχλωρομεθανικά εκχυλίσματα των φυτών	182
Εικόνα 31	Ποσοτική σύσταση των καρτενοειδών των διχλωρομεθανικών εκχυλισμάτων με αναγωγή στο ξηρό φυτικό ιστό	182
Εικόνα 32	Ποσοτική ανάλυση καρτενοειδών της φάβας Σαντορίνης ως προς το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα, αλλά και ως προς το φυτικό ιστό που προέκυψε από την εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο	183
Εικόνα 33	Χρωματογράφηματα των προτύπων φυτοοιστρογόνων	189
Εικόνα 34	Φυτοοιστογονικό περιεχόμενο των μεθανολικών εκχυλισμάτων των φυτών	194
Εικόνα 35	Φυτοοιστογονικό περιεχόμενο των μεθανολικών εκχυλισμάτων των σπερμάτων ψυχανθών	195
Εικόνα 36	Εκτίμηση των ελάχιστων ορίων ανίχνευσης των φυτοοιστρογόνων μέσω των καθαρών προτύπων με τη χρήση της βιβλιοθήκης φασμάτων.	199
Εικόνα 37	Τα ποσοστά των φυτοοιστρογόνων που ανιχνεύτηκαν σε κάθε περίπτωση	200
Εικόνα 38	Περιεκτικότητα λιπαρών οξέων στο εξανικό εκχύλισμα των φυτών	202
Εικόνα 39	Περιεκτικότητα λιπαρών οξέων στο εξανικό εκχύλισμα των σπερμάτων ψυχανθών	203
Εικόνα 40	Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων των φυτών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο DPPH	204
Εικόνα 41	Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας ως προς το ξηρό φυτικό βάρος των φυτών με τη μέθοδο DPPH	205
Εικόνα 42	Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων των σπερμάτων ψυχανθών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο DPPH	206
Εικόνα 43	Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας ως προς το ξηρό φυτικό βάρος των σπερμάτων ψυχανθών που μελετήθηκαν που προέκυψαν από τις εκχυλίσεις τους με τη μέθοδο DPPH	206
Εικόνα 44	Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων των φυτών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο FRAP	207
Εικόνα 45	Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας ως προς το ξηρό φυτικό βάρος των φυτών που μελετήθηκαν που προέκυψαν από τις εκχυλίσεις τους με τη μέθοδο FRAP	208
Εικόνα 46	Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων των σπερμάτων ψυχανθών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο FRAP	208
Εικόνα 47	Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας ως προς το ξηρό φυτικό βάρος των σπερμάτων ψυχανθών που μελετήθηκαν που προέκυψαν από τις εκχυλίσεις τους με τη μέθοδο FRAP	209
Εικόνα 48	Αντιπαρασιτική δράση των δειγμάτων έναντι των παρασίτων <i>Haemonchus contortus</i> και <i>Trichostrongylus colubriformis</i>	210
Εικόνα 49	Καταγραφή σήματος κατά την αλλαγή των συνθηκών μάζας	241
Εικόνα 50	Σχηματική απεικόνιση των κορυφών που εμφανίστηκαν στην ανάλυση GC-FID μετά από την εφαρμογή των διαφορετικών μεθόδων παραγωγοποίησης των δειγμάτων	249

Εικόνα	Τίτλος	Σελίδα
Εικόνα 51	Φάσματα βιβλιοθήκης των φυτοοιστρογόνων: (1) βιοχανίνη A, (2) γλυσιτεΐνη, (3) εσπεριδίνη και (4) ρουτίνη	286
Εικόνα 52	Χρωματογράφημα άγνωστου δείγματος σε σάρωση full scan (Q1MS) (50-600 amu) και φάσμα μάζας της κορυφής σε χρόνο έκλουσης 6,98 min	288
Εικόνα 53	Παράδειγμα αναζήτησης άγνωστου φάσματος μάζας μέσω της βιβλιοθήκης φασμάτων	289
Εικόνα 54	Παγκόσμιοι χάρτες απεικόνισης εντοπισμού του είδους που αναγράφεται τα τελευταία 100 χρόνια	291
Εικόνα 55	Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών (TPC) και ταννινών, καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα <i>A. creticus</i> και <i>A. glycyphyllos</i>	295
Εικόνα 56	Σχηματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων <i>Astragalus</i>	295
Εικόνα 57	Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας σε καροτενοειδή των δειγμάτων <i>Astragalus</i>	296
Εικόνα 58	Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα δείγματα <i>Astragalus</i>	297
Εικόνα 59	Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας των φαινολικών (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα <i>Cicer</i>	299
Εικόνα 60	Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα δείγματα <i>Cicer</i> που μελετήθηκαν.	301
Εικόνα 61	Σχηματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων <i>Cicer</i> που μελετήθηκαν	301
Εικόνα 62	Σχηματική απεικόνιση της αντιπαρασιτικής δράσης των δειγμάτων <i>Cicer</i> έναντι των <i>T. colubriformis</i> και <i>H. contortus</i>	302
Εικόνα 63	Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις (TPC) και ταννίνες (TTC), καθώς και των μεμονομένων αντιοξειδωτικών για τα σπέρματα ψυχανθών <i>Cicer</i>	304
Εικόνα 64	Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας λιπαρών οξέων στα σπέρματα ψυχανθών <i>Cicer</i>	304
Εικόνα 65	Σχηματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των σπερμάτων ψυχανθών <i>Cicer</i>	305
Εικόνα 66	Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών (TPC) και ταννινών, καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα <i>Trifolium</i>	306
Εικόνα 67	Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας σε καροτενοειδή των δειγμάτων <i>Trifolium</i>	308
Εικόνα 68	Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα δείγματα <i>Trifolium</i>	309
Εικόνα 69	Σχηματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων <i>Trifolium</i>	310
Εικόνα 70	Σχηματική απεικόνιση της αντιπαρασιτικής δράσης των δειγμάτων <i>Trifolium</i> έναντι των αβγών και νυμφών <i>T. colubriformis</i> και των νυμφών <i>H. contortus</i>	310
Εικόνα 71	Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών ενώσεων (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα <i>Lathyrus</i>	311
Εικόνα 72	Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα φυτά <i>Lathyrus</i> που μελετήθηκαν	312
Εικόνα 73	Σχηματική απεικόνιση περιεκτικότητας φυτοοιστρογόνων και λιπαρών οξέων στα σπέρματα <i>L. clymenum</i>	313
Εικόνα 74	Σχηματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων <i>Lathyrus</i>	313
Εικόνα 75	Σχηματική απεικόνιση της αντιπαρασιτικής δράσης των δειγμάτων <i>Lathyrus</i> έναντι των <i>T. colubriformis</i> και <i>H. contortus</i>	314

Εικόνα	Τίτλος	Σελίδα
Εικόνα 76	Σχηματική απεικόνιση περιεκτικότητας φυτοοιστρογόνων στο μεθανολικό εκχύλισμα του φυτού <i>B. bituminosa</i>	315
Εικόνα 77	Σχηματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης του φυτού <i>B. bituminosa</i>	316
Εικόνα 78	Διάγραμμα απεικόνισης της ολικής περιεκτικότητας σε καροτενοειδή των φυτών <i>Vicia</i>	317
Εικόνα 79	Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών ενώσεων (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα <i>V. sativa</i>	318
Εικόνα 80	Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών ενώσεων (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στο δείγμα <i>V. faba</i>	319
Εικόνα 81	Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα δείγματα των φυτών <i>Vicia</i>	320
Εικόνα 82	Διάγραμμα απεικόνισης της ολικής περιεκτικότητας καροτενοειδών (TCC) στα σπέρματα <i>Vicia</i>	321
Εικόνα 83	Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών ενώσεων (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα των σπερμάτων <i>Vicia</i>	322
Εικόνα 84	Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα δείγματα των σπερμάτων <i>Vicia</i>	322
Εικόνα 85	Συγκριτική σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των φυτοοιστρογόνων (πάνω) και των λιπαρών οξέων (κάτω) στα σπέρματα (εξωτερικός κύκλος) και στα αντίστοιχα φυτά (εσωτερικός κύκλος)	323
Εικόνα 86	Διάγραμμα απεικόνισης της αντιοξειδωτικής δράσης των φυτών <i>Vicia</i>	324
Εικόνα 87	Διάγραμμα απεικόνισης της αντιοξειδωτικής δράσης των σπερμάτων <i>Vicia</i>	324
Εικόνα 88	Αντιπαρασιτική δράση των φυτών <i>V. faba</i> και <i>V. sativa</i>	325
Εικόνα 89	Διαγραμματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης του <i>M. sativa</i>	326
Εικόνα 90	Διαγραμματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας καροτενοειδών στα δείγματα <i>P. sativum</i> που μελετήθηκαν	328
Εικόνα 91	Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα φυτών <i>P. sativum</i>	328
Εικόνα 92	Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα σπερμάτων <i>P. sativum</i>	329
Εικόνα 93	Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας λιπαρών οξέων σε όλα τα δείγματα <i>P. sativum</i> που μελετήθηκαν	330
Εικόνα 94	Διαγραμματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης όλων των δειγμάτων <i>P. sativum</i> που μελετήθηκαν	331
Εικόνα 95	Διαγραμματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων <i>P. vulgaris</i>	332
Εικόνα 96	Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα φακής που μελετήθηκαν	333
Εικόνα 97	Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα δείγματα φακής που μελετήθηκαν	334
Εικόνα 98	Διαγραμματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων φακής	335
Εικόνα 99	Συγκριτική διαγραμματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των δειγμάτων σπερμάτων σε φυτοοιστρογόνα	336
Εικόνα 100	Συγκριτική διαγραμματική απεικόνιση της περιεκτικότητας λιπαρών οξέων των δειγμάτων σπερμάτων	337

Εικόνα	Τίτλος	Σελίδα
Εικόνα 101	Διαγραμματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των σπερμάτων σόγιας	337

Κατάλογος Περιεχόμενων Πινάκων

Πίνακας	Τίτλος	Σελίδα
Πίνακας 1	Απεικόνιση των ποσοστών μεταβολής του πληθυσμού από τη 10ετία 1961-1970 έως σήμερα ανά 10ετία	26
Πίνακας 2	Διαγνωστικά χαρακτηριστικά των φυτών που ανήκουν στην οικογένεια <i>Fabaceae</i> , αλλά και στις υπο-οικογένειες <i>Papilionaceae</i> , <i>Caesalpinaceae</i> , <i>Mimosoideae</i>	34
Πίνακας 3	Λιπαρά οξέα που αναλύθηκαν και χρόνοι έκλουσης	157
Πίνακας 4	Αποδόσεις των εκχυλίσεων των φυτικών ιστών που μελετήθηκαν στη διατρίβή	169
Πίνακας 5	Αποδόσεις των εκχυλίσεων των σπερμάτων ψυχανθών που μελετήθηκαν στη διατρίβή	170
Πίνακας 6	Εξίσωση καμπύλης βαθμονόμησης, συντελεστής συσχέτισης (R^2) και ελάχιστα όρια ανίχνευσης (LOD) και ποσοτικοποίησης (LOQ) για τα καροτενοειδή που προσδιορίστηκαν ποσοτικά	181
Πίνακας 7	Θραυσμάτωση των φυτοοιστρογόνων-αναλυτών και του χρόνου έκλουσής τους	184
Πίνακας 8	Παρουσίαση των εξισώσεων των καμπυλών βαθμονόμησης, του συντελεστή συσχέτισης R^2 και των ελάχιστων ορίων ανίχνευσης (LOD) και ποσοτικοποίησης (LOQ) για τον κάθε αναλύτη.	186
Πίνακας 9	Οι τιμές των ανακτήσεων, επαναληψιμότητας και φαινομένων μήτρας (ME) των αναλυτών που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο που αναπτύχθηκε στη διατρίβή	191
Πίνακας 10	Τα φυτοοιστρογόνα που περιέχονται στην βιβλιοθήκη των φασμάτων, ο ιοντισμός και ο χρόνος έκλουσής τους με τη χρωματογραφική μέθοδο ποιοτικής ανάλυσης που αναπτύχθηκε	197
Πίνακας 11	Εξίσωση καμπύλης βαθμονόμησης και συντελεστής συσχέτισης (R^2) για τα λιπαρά οξέα που προσδιορίστηκαν ποσοτικά	201
Πίνακας 12	Φυτοοιστρογόνα της μεθόδου ανάλυσης που αναπτύχθηκε	217
Πίνακας 13	Καροτενοειδή που προσδιορίστηκαν με τη νέα αναλυτική μέθοδο	242
Πίνακας 14	Λιπαρά οξέα που αναλύθηκαν	250
Πίνακας 15	Απεικόνιση των εξωτερικών χαρακτηριστικών των ειδών που μελετήθηκαν	292

Κατάλογος Περιεχόμενων Σχημάτων

Σχήμα	Περιγραφή	Σελίδα
Σχήμα 1	Διάγραμμα της βιοσυνθετικής οδού των φλαβονοειδών	74
Σχήμα 2	Σχηματική αναπαράσταση του φαινυλ-προπανοϊδικού βιοχημικού μονοπατιού για τον σχηματισμό των κουμεστανών	77
Σχήμα 3	Σχηματική αναπαράσταση του βιοσυνθετικού μονοπατιού για τον σχηματισμό των λιγνανίνων	80
Σχήμα 4	Σχηματική αναπαράσταση της βιοσύνθεσης των στιλβενίων	82
Σχήμα 5	Σχηματική αναπαράσταση της βιοσύνθεσης των φαινολικών οξέων	84
Σχήμα 6	Συνδυασμός όλων των μεταβολικών μονοπατιών για τη βιοσύνθεση των φυτοοιστρογόνων	85

Σχήμα 7	Μεταβολικά Μονοπάτια Βιοσύνθεσης Τερπενοειδών	108
Σχήμα 8	Βιοσύνθεση Καροτενοειδών	111
Σχήμα 9	Βιοσύνθεση Αποκαροτενοειδών	113

Κατάλογος Περιεχόμενων Πινάκων Παραρτήματος

Πίνακας	Περιγραφή	Σελίδα
Πίνακας-Π1	Ολική Περιεκτικότητα Καροτενοειδών (TTC) των φυτών <i>Fabaceae</i> που μελετήθηκαν σε mg βCE/g Εκχυλίσματος και mg β-CE/Kg Ξηρού Φυτού	349
Πίνακας-Π2	Ολική Περιεκτικότητα Καροτενοειδών (TCC) των σπερμάτων <i>Fabaceae</i> που μελετήθηκαν σε mg β-CE/g Εκχυλίσματος και mg βCE/Kg Ξηρού Βάρους	349
Πίνακας-Π3	Ολική Περιεκτικότητα Φαινολικών (TPC) των φυτών <i>Fabaceae</i> που μελετήθηκαν σε mg GAE/g Εκχυλίσματος και mg GAE/Kg Ξηρού Φυτού.	350
Πίνακας-Π4	Ολική Περιεκτικότητα Φαινολικών (TPC) των σπερμάτων <i>Fabaceae</i> που μελετήθηκαν σε mg GAE/g Εκχυλίσματος και mg GAE/Kg Ξηρού Βάρους.	351
Πίνακας-Π5	Ολική Περιεκτικότητα Ταννινών (TTC) των φυτών <i>Fabaceae</i> που μελετήθηκαν σε mg CE/g Εκχυλίσματος και mg CE/Kg Ξηρού Φυτού	351
Πίνακας-Π6	Ολική Περιεκτικότητα Ταννινών (TTC) των σπερμάτων <i>Fabaceae</i> που μελετήθηκαν σε mg CE/g Εκχυλίσματος και mg CE/Kg Ξηρού Βάρους.	351
Πίνακας-Π7	Αποτελέσματα Αντιοξειδωτικής δράσης DPPH για τα φυτά <i>Fabaceae</i> που μελετήθηκαν σε mg TE/g Εκχυλίσματος και mg TE/Kg Ξηρού Βάρους	352
Πίνακας-Π8	Αποτελέσματα Αντιοξειδωτικής δράσης DPPH για τα σπέρματα <i>Fabaceae</i> που μελετήθηκαν σε mg TE/g Εκχυλίσματος και mg TE/Kg Ξηρού Βάρους	353
Πίνακας-Π9	Αποτελέσματα Αντιοξειδωτικής δράσης FRAP για τα φυτά <i>Fabaceae</i> που μελετήθηκαν σε mmol Fe ²⁺ /g Εκχυλίσματος και mmol Fe ²⁺ /Kg Ξηρού Βάρους	353
Πίνακας-Π10	Αποτελέσματα Αντιοξειδωτικής δράσης FRAP για τα σπέρματα <i>Fabaceae</i> που μελετήθηκαν σε mmol Fe ²⁺ /g Εκχυλίσματος και mmol Fe ²⁺ /Kg Ξηρού Βάρους	354
Πίνακας-Π11	Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα άγρια φυτά <i>Astragalus creticus</i> , <i>Astragalus glycyphyllos</i> , <i>Bituminaria bituminosa</i> , <i>Cicer incisum</i> , <i>Lathyrus laxiflorus</i> και <i>Trifolium physodes</i> και στα καλλιεργούμενα φυτά <i>Cicer arietinum</i> και <i>Trifolium repens</i> σε mg/g Εκχυλίσματος	355
Πίνακας-Π12	Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα βελτιωμένα φυτά <i>Cicer arietinum</i> (var. Αμοργός), <i>Lathyrus sativus</i> (λευκό, var. Μελεμέ), <i>Medicago sativa</i> (var. Μηδική), <i>Phaseolus vulgaris</i> (var. Πυργετός), <i>Pisum sativum</i> (var. Όλυμπος και Δωδώνη) και <i>Vicia faba</i> (var. Πολυκάρπης) σε mg/g Εκχυλίσματος	356
Πίνακας-Π13	Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα βελτιωμένα φυτά <i>Vicia sativa</i> στις ποικιλίες που μελετήθηκαν σε mg/g Εκχυλίσματος	358
Πίνακας-Π14	Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα άγρια φυτά <i>Astragalus creticus</i> , <i>Astragalus glycyphyllos</i> , <i>Bituminaria bituminosa</i> , <i>Cicer incisum</i> ,	360

Πίνακας	Περιγραφή	Σελίδα
	<i>Lathyrus laxiflorus</i> και <i>Trifolium physodes</i> και στα καλλιεργούμενα φυτά <i>Cicer arietinum</i> και <i>Trifolium repens</i> σε mg/Kg Ξηρού Βάρους	
Πίνακας-Π15	Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα βελτιωμένα φυτά <i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός), <i>Lathyrus sativus</i> (λευκό, var. Μελεμέ), <i>Medicago sativa</i> (var. Μηδική), <i>Phaseolus vulgaris</i> (var. Πυργετός), <i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος και Δωδώνη) και <i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης) σε mg/Kg Ξηρού Βάρους	362
Πίνακας-Π16	Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα βελτιωμένα φυτά <i>Vicia sativa</i> στις ποικιλίες που μελετήθηκαν σε mg/g Εκχυλίσματος.	364
Πίνακας-Π17	Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα σπέρματα <i>Lathyrus clymenum</i> , <i>Glycine max</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός), <i>Lens culinaris</i> (var Δήμητρα, Θεσσαλία, Σάμος) και <i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος, Δωδώνη) σε mg/g Εκχυλίσματος	366
Πίνακας-Π18	Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα σπέρματα <i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός, Γαύδος, Θήβα), <i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος, Ίστρος Αλέξανδρος) και <i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης, Τανάγρα) σε mg/g Εκχυλίσματος	368
Πίνακας-Π19	Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα σπέρματα <i>Lathyrus clymenum</i> , <i>Glycine max</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός), <i>Lens culinaris</i> (var Δήμητρα, Θεσσαλία, Σάμος) και <i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος, Δωδώνη) σε mg/Kg Ξηρού Βάρους	370
Πίνακας-Π20	Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα σπέρματα <i>Cicer arietinum</i> (var. Αμοργός, Γαύδος, Θήβα), <i>Vicia sativa</i> (var. Εύηνος, Ίστρος Αλέξανδρος) και <i>Vicia faba</i> (var. Πολυκάρπης, Τανάγρα) σε mg/ Kg Ξηρού Βάρους	372
Πίνακας-Π21	Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα άγρια φυτά <i>Astragalus creticus</i> , <i>Astragalus glycyphyllos</i> , <i>Bituminaria bituminosa</i> , <i>Cicer incisum</i> , <i>Lathyrus laxiflorus</i> και <i>Trifolium physodes</i> και στα καλλιεργούμενα φυτά <i>Cicer arietinum</i> και <i>Trifolium repens</i> σε mg/g Εκχυλίσματος	374
Πίνακας-Π22	Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα βελτιωμένα φυτά <i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός), <i>Lathyrus sativus</i> (λευκό, var. Μελεμέ), <i>Medicago sativa</i> (var. Μηδική), <i>Phaseolus vulgaris</i> (var. Πυργετός), <i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος και Δωδώνη) και <i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης) σε mg/g Εκχυλίσματος	376
Πίνακας-Π23	Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα βελτιωμένα φυτά <i>Vicia sativa</i> στις ποικιλίες που μελετήθηκαν σε mg/g Εκχυλίσματος.	378
Πίνακας-Π24	Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα άγρια φυτά <i>Astragalus creticus</i> , <i>Astragalus glycyphyllos</i> , <i>Bituminaria bituminosa</i> , <i>Cicer incisum</i> , <i>Lathyrus laxiflorus</i> και <i>Trifolium physodes</i> και στα καλλιεργούμενα φυτά <i>Cicer arietinum</i> και <i>Trifolium repens</i> σε mg/Kg Ξηρού Βάρους	379
Πίνακας-Π25	Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα βελτιωμένα φυτά <i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός), <i>Lathyrus sativus</i> (λευκό, var. Μελεμέ), <i>Medicago sativa</i> (var.	381

Πίνακας	Περιγραφή	Σελίδα
	Μηδική), <i>Phaseolus vulgaris</i> (var. Πυργετός), <i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος και Δωδώνη) και <i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης) σε mg/ Kg Ξηρού Βάρους	
Πίνακας-Π26	Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα βελτιωμένα φυτά <i>Vicia sativa</i> στις ποικιλίες που μελετήθηκαν σε mg/ Kg Ξηρού Βάρους	384
Πίνακας-Π27	Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα σπέρματα <i>Lathyrus clymenum</i> , <i>Glycine max</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός), <i>Lens culinaris</i> (var Δήμητρα, Θεσσαλία, Σάμος) και <i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος, Δωδώνη) σε mg/g Εκχυλίσματος	385
Πίνακας-Π28	Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα σπέρματα <i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός, Γαύδος, Θήβα), <i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος, Ίστρος Αλέξανδρος) και <i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης, Τανάγρα) σε mg/g Εκχυλίσματος.	387
Πίνακας-Π29	Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα σπέρματα <i>Lathyrus clymenum</i> , <i>Glycine max</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός), <i>Lens culinaris</i> (var Δήμητρα, Θεσσαλία, Σάμος) και <i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος, Δωδώνη) σε mg/Kg Ξηρού Βάρους.	389
Πίνακας-Π30	Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα σπέρματα <i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός, Γαύδος, Θήβα), <i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος, Ίστρος Αλέξανδρος) και <i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης, Τανάγρα) σε mg/ Kg Ξηρού Βάρους	391

Κατάλογος Περιεχόμενων Συντομογραφιών

Συντόμηση	
4CL	Λιγάση του 4-κουμαροϋλ-συνενζύμου A
ABA	Αμπισισικό Οξύ
ACN	Ακετονιτρίλιο
ANFs	Αντιδιατροφικούς Παράγοντες (ANtinutritional Factors)
APCI	Χημικός Ιονισμός Ατμοσφαιρικής Πίεση (Atmospheric-Pressure Chemical Ionization)
Arb	Αυθαίρετη Μονάδα Μέτρησης (Arbitrary unit)
AS	Συνθετάση της Ανθοκυανίνης
Aβ	βήτα αμυλοειδές
b-LCY	β-Κυκλάση του Λυκοπενίου
BHT	Βουτυλιωμένο Υδροξυτολουόλιο (Butylated HydroxyToluene)
C3H	3-Υδροξυλάση του π-Κουμαρικού
C4H	4-Υδροξυλάση του Κινναμωμικού
CCD4	Διοξειγενάση Διάσπασης Καροτενοειδών Τύπου 4
CCDs	Οξυγενάσες Διάσπασης των Καροτενοειδών
CCS	Συνθάση της καψανθίνης-καψορουμπίνης
CE	Ισοδύναμα Κατεχίνης (Catechin Equivalents)
CHI	Ισομεράση της Χαλκόνης-Φλαβανόνης
CHR	Αναγωγάση της Χαλκόνης

CHS	Συνθάση της Χαλκόνης
CL	Λυγάση του Κουμαρικού:Συνενζύμου A
CoA	Συνένζυμο A
CRTISO	Ισομεράση του Λυκοπενίου
CVD	Καρδιαγγειακά Νοσήματα (CardioVascular Diseases)
CYCB/LCYβ2	β-κυκλάση του Λυκοπενίου 2
CYP97A, CYP97C	Υδροξυλάσες που περιέχονται στο κυτόχρωμα P450 και περιέχουν αίμη
DAD	Ανιχνευτής Συστοιχίας Διόδων Υπεριώδους Ακτινοβολίας (UltraViolet spectroscopy-Diode Array Detector)
DBD	Περιοχή σύνδεσης με το DNA (DNA Binding Domain)
DCM	Διχλωρομεθάνιο
DFR	4-Αναγωγάση της Διϋδροφλαβονόλης
DM	Ξηρή Μάζα (Dried Material)
DMAPP	πυροφωσφορικό διμεθυλο-αλλύλιο
DMAPP	Πυροφωσφορικό Διμεθυλ-αλλύλιο
DMSO	Διμεθυλοσουλφοξείδιο
DPPH	2,2-Διφαινυλο-1-πικρυλυδραζυλίου (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
DXS	Συνθάσης της 5-φωσφορικής-1-δεοξυ-D-ξυλουλόση
DOXP	5-Φωσφορικής-1-δεοξυ-D-ξυλουλόση, 5-P-δεοξυ-ξυλουλόσης
E1	Οιστρόνη
E2	Οιστραδιόλη
E3	Οιστιόλη
E4	Οιστετρόλη
EFAs	Απαραίτητα Λιπαρά Οξέα (Essential Fatty Acids)
EHA	Δοκιμή Εκκόλαψης αβγών (Egg Hatcch Assay)
EI	Ιονισμός Ηλεκτρονίων (Electron ionization)
ER	Οιστρογονικός Υποδοχέας (Estrogen Receptor)
ESI	Ιονισμός Ηλεκτροψεκασμού (ElectroSpray Ionization)
F3H	3β-Υδροξυλάση της Φλαβονόνης
FA	Λιπαρά Οξέα (Fatty Acids)
FAO	Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας (Food and Agriculture Organization)
FLS	Συνθάση της Φλαβονόλης.
FPP	Πυροφωσφορικού Φαρνεσυλίου
FRAP	Αναγωγικής Αντιοξειδωτική Ισχύς του Σιδήρου (Ferric Reducing Antioxidant Power)
GAE	Ισοδύναμα Γαλλικού Οξέος (Gallic Acid Equivalents)
GC	Αέρια Χρωματογραφία (Gas Chromatography)
GGPP	Πυροφωσφορικό Γερανύλ γερανύλιο
GPP	Πυροφωσφορικό Γερανύλιο
HAT	Μεταφορά Ατόμων Υδρογόνου (Hydrogen Atom Transfer)
HDP	Υψηλής Πυκνότητας Σωματίδια Λιπιδίων (High Density lipid Particles)
HEX	Εξάνιο
HPLC	Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (High-Performance Liquid Chromatography)

hsp90	Πρωτεΐνη θερμικού Σοκ 90 (heat shock protein)
IFS	Συνθετάση του Ισοφλαβονοειδούς.
IPP	πυροφωσφορικό ισοπεντύλιο
IPP	Ισοπεντύλιο
IS	Εσωτερικό Πρότυπο (Internal Standard)
IspC	Αναγωγικοϊσομεράση της 1-δεόξυ-D-ξυλουλόσης
LC	Υγρή Χρωματογραφία (Liquid Chromatography)
LDL	Χαμηλής Πυκνότητας Σωματίδια Λιπιδίων (Low Density lipid Particles)
LEIA	Δοκιμή Έκδυσης Προνυμφών (Larval Exsheathment Inhibition Assay)
LOD	Ελάχιστο Όριο Ανίχνευσης (Limit of Detection)
LOQ	Ελάχιστο Όριο Ποσοτικοποίησης (Limit of Quantification)
LTP	Μακροπρόθεσμη Ενίσχυση (Long Term Potentiation)
MDA	Μηλονοδιαλδεΰδης
ME	Φαινόμενο Μήτρας (Matrix Effect)
MeOH	Μεθανόλη
MEP	4-φωσφορικής-2C-μεθυλο-D-ερυθριτόλης
Mn/ Cu / ZnSOD	Υπεροξειδική Δισμουτάση του μαγγανίου/ χαλκού / ψευδαργύρου (SuperOxide Dismutase)
MRM	Παρακολούθηση Πολλαπλών Αντιδράσεων (Multiple Reaction Monitoring)
MS	Φασματομετρία Μάζας (Mass Spectrometry)
MTBE	τερτ-μεθυλο-βουτυλαιθέρας
MUFA	Μονοακόρεστα Λιπαρά Οξέα (MonoUnsaturated Fatty Acids)
MVA	Μεβαλονικό Οξύ
NCED	9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase
NIST	Εθνικού Ινστιτούτου Προτύπων και Τεχνολογίας (National Institute of Standards and Technology-
PAL	Αμμωνιαλυάση της φαινυλαλανίνης
PDS	Συνθάση-Αποκορεσμάση του Φυτοενίου
PDS	Αποκορεσμάση του Φυτοενίου
PL	Φωσφολιπίδια (PhosphoLipids)
PLR	Αναγωγή των Πινορεσινόλη/Λαριρεσινόλη
PSY	Συνθάση του Φυτοενίου
PUFA	Πολυακόρεστα Λιπαρά Οξέα (PolyUnsaturated Fatty Acids)
ROS	Δραστικές Ρίζες Οξυγόνου (Reactive Oxygen Species)
RP	Αντίστροφης Φάσης (Reverse Phase)
RT	Χρόνος Έκλυσης (Retention Time) ή Θερμοκρασία Δωματίου (Room Temperature)
SDG	Διγλυκοσίδης της σεκοΐσολαριρεσινόλης
SDH	Διϋδρογονάση της Σεκοΐσολαριρεσινόλης
SFA	Κορεσμένα Λιπαρά Οξέα (Saturated Fatty Acids)
SIM	Επιλεγμένη Παρακολούθηση Ιόντων (Selected Ion Monitoring)
SL	Στριγγολακτόνη
SRM	Παρακολούθηση Επιλεγμένων Αντιδράσεων (Selected Reaction Monitoring)

STS	Συνθάση του Στυλβενίου
TAE	Ισοδύναμα Ταννικού οξέος (Tannic Acid Equivalents)
TAG	Τριακυλογλυκερίδια (TriAcylGlycerols)
TCC	Ολική Περιεκτικότητα Καροτενοειδών (Total Carotenoids Content)
TD	Κνημιαία Δυσχονδροπλασία (Tibial Dyschondroplasia)
TE	Ισοδύναμα Trolox (Trolox Equivalents)
TPC	Ολική Περιεκτικότητα Φαινολικών (Total Phenolic Content)
TPTZ	2,4,6-TriPyridyl-s-TriaZine
TTC	Ολική Περιεκτικότητα Ταννινών (Total Tannin Content)
UF3GT, UDP γλυκόζη	3-Ο-Γλυκοσυλοτρανσφεράση του Φλαβονοειδούς
UFA	Ακόρεστα Λιπαρά Οξέα (Unsaturated Fatty Acids)
UGTs	Γλυκοτρανσφεράσες
UV	Υπεριώδης ακτινοβολία
VDE	Δι-εποξειδάση της Βιολαξανθίνης
ZDS	Αποκορεσμάση του ζ-καροτενίου
ZISO, Z-ISO	Ισομεράση του ζ-καροτενίου
β-CE	Ισοδύναμα β-Καροτενίου (β-Carotene Equivalents)
βCHX	Υδροξυλάση του β-καροτενίου που δεν περιέχει αίμη
β-LCY1	β-Κυκλάση του Λυκοπενίου 1
β-ΟΗάση	β-Υδροξυλάση
ε-LCY	ε-Κυκλάση του Λυκοπενίου
ΕΕ	Ερωπαϊκή Ένωση
ε-ΟΗάση	ε- Υδροξυλάση
ΕΣΘΠ	Ένωση Συνεταιρισμών Θηραϊκών Προϊόντων
ZEP	Εποξειδάση της Ζεαξανθίνης
ΙΒΚΦ	Ινστιτούτο Βιομηχανικών & Κτηνοτροφικών Φυτών του ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ
ΚΝΣ	Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
Μ.Ο.	Μέσος Όρος

Θεωρητικό Μέρος



1. Εισαγωγή

Ο πληθυσμός της γης έχει υπερβεί τα 8 δισεκατομμύρια και, σύμφωνα με τα Ηνωμένα Έθνη, αναμένεται να αγγίξει τα 10 δισεκατομμύρια το 2050 (United Nations, 2022). Το πρόβλημα του υπερπληθυσμού έχει συνδεθεί άμεσα με το πρόβλημα της επισιτιστικής ασφάλειας, αφού η αύξηση του πληθυσμού της γης έχει ως επακόλουθο την αύξηση της ζήτησης για τρόφιμα, γεγονός που οδηγεί στην αναζήτηση επιπρόσθετης καλλιεργήσιμης γης και στην αύξηση του αριθμού των εκτρεφόμενων ζώων. Αυτό έχει οδηγήσει στην ανάγκη για σημαντικές αλλαγές με στόχο τη διασφάλιση της επισιτιστικής ασφάλειας. Έτσι, τις τελευταίες δεκαετίες οι πληθυσμοί των ανθρώπων και των ζώων γνωρίζουν μια συνεχή αύξηση, όπως φαίνεται στον Πίνακα 1, στον οποίο έχοντας ως βάση τους πληθυσμούς της δεκαετίας 1961-1970 (100%), απεικονίζεται η μεταβολή τους ανά δεκαετία φτάνοντας έως τις ημέρες μας.

Παρότι η αύξηση του πληθυσμού έχει έως τώρα συνοδευτεί με αύξηση των παραγόμενων τροφίμων, εξακολουθεί να υπάρχει ένα σημαντικό τμήμα της ανθρωπότητας που υποφέρει από υποσιτισμό. Βέβαια, το πρόβλημα αυτό δεν συνδέεται μόνο με την ανεπαρκή παραγωγή και διανομή των τροφίμων, αλλά είναι κατά βάση απόρροια της οικονομικής τους δυσπραγίας η οποία τους εμποδίζει να αγοράζουν επαρκείς ποσότητες ποιοτικών τροφίμων για να ικανοποιήσουν τις ανάγκες τους. Η κτηνοτροφία θεωρείται βασικός πυλώνας διατροφής για τις περιοχές με χαμηλά εισοδήματα, καθώς αποτελεί ένα κρίσιμο πόρο για τη διατροφή τους. Άλλωστε, τα διατροφικά προϊόντα που προέρχονται από την εκτροφή μηρυκαστικών έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες που είναι σημαντικές για τη διατροφή του ανθρώπου. Τα ζωικά προϊόντα γενικά αντιπροσωπεύουν περίπου το ένα τρίτο της παγκόσμιας κατανάλωσης τροφής για τον άνθρωπο. Τέλος, η άσκηση της εκτατικής κτηνοτροφίας συμβάλλει στη διατήρηση των λιβαδικών οικοσυστημάτων (Godber και Wall, 2014).

Πίνακας 1 Αποτύπωση των ποσοστών μεταβολής του πληθυσμού ανά 10ετία ξεκινώντας από το 1961-1970 (FAOSTAT).

	Πληθυσμός Ανθρώπων						Παγκόσμιος Πληθυσμός Παραγωγικών Ζώων		
	Παγκόσμιος Πληθυσμός	Αφρική	Αμερική	Ασία	Ευρώπη	Ωκεανία	Πουλε-ρικά	Αιγοπρό-βατα	Χοίροι
1961-1970	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
1971-1980	+21.7%	+30.2%	+20.9%	+25.4%	+7.8%	+21.3%	+36.8%	+4.3%	+43.0%
1981-1990	+19.6%	+32.8%	+18.8%	+21.8%	+5.8%	+15.5%	+46.0%	+13.2%	+15.0%
1991-2000	+17.7%	+30.0%	+17.2%	+21.4%	-4.9%	+17.0%	+39.1%	+6.9%	+8.7%
2001-2010	+14.2%	+28.3%	+13.8%	+14.4%	-0.4%	+17.4%	+37.2%	+9.0%	+4.5%
2011-2020	+13.1%	+29.2%	+10.7%	+11.8%	+1.7%	+19.1%	+31.3%	+14.1%	+4.6%

Ο κτηνοτροφικός τομέας είναι ένας από τους ταχύτερα αναπτυσσόμενους τομείς της αγροτικής οικονομίας, ιδιαίτερα στον αναπτυσσόμενο κόσμο. Καθώς η ζήτηση για κρέας και γαλακτοκομικά προϊόντα συνεχίζει να αυξάνεται στον αναπτυσσόμενο κόσμο, εγείρονται ερωτήματα σχετικά με τον τρόπο που είναι δυνατόν να καλυφθεί η ζήτηση. Σε γενικές γραμμές, κλάδοι της ζωικής παραγωγής όπως η πτηνοτροφία και η χοιροτροφία έχουν ανταποκριθεί στην τάση αυτή με τη δημιουργία μονάδων παραγωγής μεγάλης κλίμακας. Υπολογίζεται ότι η επέκταση της τάσης αυτής σε ολόκληρο τον κτηνοτροφικό τομέα θα έχει σημαντικές επιπτώσεις στη μείωση της φτώχειας και την επισιτιστική ασφάλεια (FAO, 2009).

Από τα παραπάνω γίνεται σαφές ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ πληθυσμού, επισιτιστικής ασφάλειας, διατροφής και αειφόρου ανάπτυξης είναι άμεσα συνδεδεμένες, με τον πληθυσμό να βρίσκεται στο επίκεντρο της βιώσιμης ανάπτυξης και στόχο την προσπάθεια δημιουργίας βιώσιμων και δίκαιων συστημάτων τροφίμων. Για να διασφαλιστεί ένα υγιές μέλλον για τους ανθρώπους και τα ζώα, αλλά και τον πλανήτη γενικότερα, ο αυξανόμενος πληθυσμός πρέπει να τρέφεται με τρόπο υγιή, δίκαιο και βιώσιμο, ενώ παράλληλα θα πρέπει να εξασφαλίζεται και η διατροφική υγεία των ζώων. Η τελευταία είναι σημαντική για μια βιώσιμη παραγωγή και είναι άμεση συνάρτηση με τις ανάγκες των ζώων να τρέφονται με ζωοτροφές που είναι ποιοτικές και πλούσιες σε θρεπτικά συστατικά (Navale και άλλοι, 2022).

Το 2001, η Ευρωπαϊκή Ένωση απαγόρευσε τη χρήση των κρεατάλευρων στη διατροφή των ζώων, γεγονός που οδήγησε στην αναζήτηση εναλλακτικών πηγών πρωτεΐνης. Στο πλαίσιο αυτό, ως πλούσια πηγή φυτικής προέλευσης πρωτεΐνης χρησιμοποιήθηκαν τα ψυχανθή, τα οποία εντάχθηκαν ταχέως στα σιτηρέσια, με

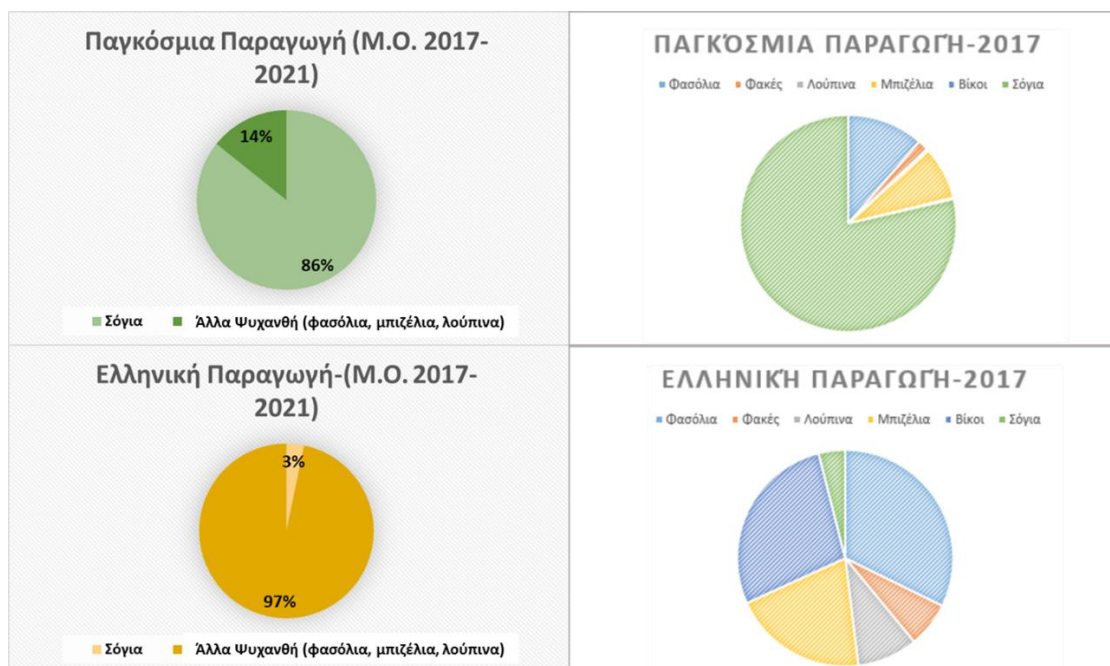
κυριότερη τη σόγια (Gatta και άλλοι, 2013). Τα ψυχανθή εκτός από πλούσια πηγή πρωτεϊνών και απαραίτητων αμινοξέων, παρέχουν στα ζώα πολλά θρεπτικά συστατικά και πολύ σημαντικές βιοδραστικές φυτοχημικές ενώσεις που μπορούν να συμβάλουν θετικά στην υγεία των παραγωγικών ζώων (Singh και άλλοι, 2017).

Η ευρεία ενσωμάτωση των ψυχανθών στην εκτροφή παραγωγικών ζώων, όπως πρόβατα και αγελάδες, επηρέασε τη γονιμότητά τους, ιδίως σε περιπτώσεις υψηλής κατανάλωσης φυτών της κατηγορίας αυτής (Bennetts και άλλοι, 1946; Saloniemi και άλλοι, 1995; Hashem και Soltan, 2016). Ως βασικό αίτιο της διαταραχής αυτής λογίζεται η παρουσία των φυτοοιστρογόνων, μιας κατηγορίας δευτερογενών μεταβολιτών που εμπεριέχονται σε αφθονία στα φυτά της οικογένειας *Fabaceae* (ψυχανθή). Θα πρέπει όμως να τονιστεί ότι η λογισμένη κατανάλωση τους επιφέρει αρκετά ευεργετικά αποτελέσματα, τόσο λόγω της παρουσίας των φυτοοιστρογόνων, όσο και άλλων δευτερογενών μεταβολιτών, όπως π.χ. τα καροτενοειδή.

Έτσι, κύριος στόχος της διατριβής είναι η ανάπτυξη νέων αναλυτικών μεθόδων που θα επιτρέπουν τον ακριβή προσδιορισμό του φυτοοιστρογονικού περιεχομένου των ψυχανθών που παράγονται στην Ελλάδα, καθώς μέχρι σήμερα δεν υπάρχει μία αναλυτική μέθοδος που να εμπεριέχει όλες τις κατηγορίες δευτερογενών μεταβολιτών που μπορούν να εμφανίσουν οιστρογονική δράση. Αρκετά από τα φυτά αυτά χρησιμοποιούνται στη ζωική παραγωγή, αφού περιέχουν εκτός από την απαραίτητη πρωτεΐνη και δευτερογενείς μεταβολίτες που επιφέρουν ευεργετικά αποτελέσματα στην υγεία των ζώων και την παραγωγή ποιοτικών τελικών προϊόντων.

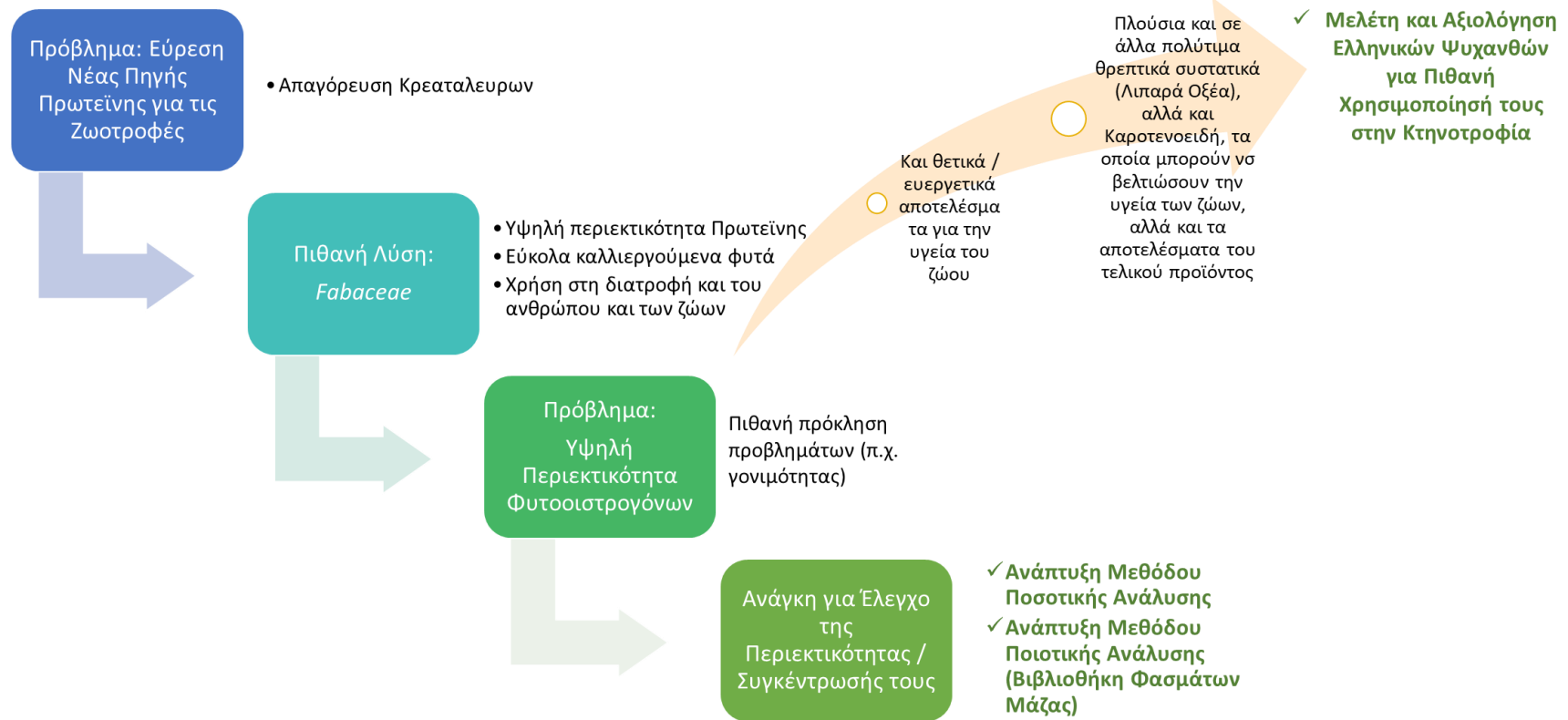
Συγκεκριμένα, στο πλαίσιο διενέργειας της διατριβής μελετήθηκαν από τα ψυχανθή της οικογένειας των *Fabaceae* μια σειρά από άγρια φυτά της ελληνικής βιοποικιλότητας, όπως και καλλιεργούμενα είδη και βελτιωμένες ποικιλίες. Οι ιστοί και τα σπέρματα των φυτών αυτών μελετήθηκαν για το περιεχόμενό τους σε φυτοοιστρογόνα, καροτενοειδή και λιπαρά οξέα, φυσικών μορίων που επηρεάζουν θετικά την υγεία των ζώων. Για τον σκοπό αυτό αναπτύχθηκαν και επικυρώθηκαν μία μέθοδος που επιτρέπει τον ταυτόχρονο ποσοτικό προσδιορισμό 67 βιοδραστικών φυτοοιστρογόνων και μια δεύτερη που οδηγεί στον ταυτόχρονο ποσοτικό προσδιορισμό της παρουσίας 9 βιοδραστικών καροτενοειδών. Επίσης, αναπτύχθηκε μια βιβλιοθήκη φασμάτων μάζας που σε συνδυασμό με μία χρωματογραφική

μέθοδο διαχωρισμού (22min) χρησιμοποιείται ως μια ταχεία μέθοδος ανίχνευσης της παρουσίας 74 φυτοιστρογόνων σε φυτά και ζωοτροφές.



Εικόνα 1 Παραγωγής σόγιας και άλλων ψυχανθών στον κόσμο και την Ελλάδα (FAOSTAT).

Εκτός από τη διερεύνηση της παρουσίας των παραπάνω μορίων, στα δείγματα προσδιορίστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα και η αντιπαρασιτική τους δράση, δύο επιπλέον παράγοντες που συμβάλλουν στη μελέτη των ωφελειών που προσφέρει η ενσωμάτωση των φυτών αυτών στη διατροφή των ζώων.



Εικόνα 2 Διαγραμματική απεικόνιση των δράσεων που υλοποιήθηκαν στη Διατριβή

Βιβλιογραφία

Bennetts, H.W., Underwood, E.J., Shier, P.L., 1946. A Specific Breeding Problem of Sheep on Subterranean Clover Pastures in Western Australia. *The Veterinary Journal* (1900) 102, 348–352. [https://doi.org/10.1016/S0372-5545\(17\)31252-X](https://doi.org/10.1016/S0372-5545(17)31252-X)

FAO (Ed.), 2009. 3. Livestock, food security and poverty reduction, in: *Livestock in the Balance, The State of Food and Agriculture*. FAO, Rome, pp. 33–52.

FAOSTAT, URL <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Πρόσβαση στις 5/9/23).

Gatta, D., Russo, C., Giuliotti, L., Mannari, C., Picciarelli, P., Lombardi, L., Giovannini, L., Ceccarelli, N., Mariotti, L., 2013. Influence of partial replacement of soya bean meal by faba beans or peas in heavy pigs diet on meat quality, residual anti-nutritional factors and phytoestrogen content. *Archives of Animal Nutrition* 67, 235–247. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2013.801137>

Godber, O.F., Wall, R., 2014. Livestock and food security: vulnerability to population growth and climate change. *Glob Change Biol* 20, 3092–3102. <https://doi.org/10.1111/gcb.12589>

Hashem, N., Soltan, Y., 2016. IMPACTS OF PHYTOESTROGENS ON LIVESTOCK PRODUCTION: A REVIEW. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds* 19, 81–89. <https://doi.org/10.21608/ejnf.2016.74871>

Navale, M.R., Bhardwaj, D.R., Bishist, R., Thakur, C.L., Sharma, S., Sharma, P., Kumar, D., Probo, M., 2022. Seasonal variations in the nutritive value of fifteen multipurpose fodder tree species: A case study of north-western Himalayan mid-hills. *PLoS ONE* 17, e0276689. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276689>

Saloniemi, H., Wahala, K., Nykanen-Kurki, P., Kallela, K., Saastamoinen, I., 1995. Phytoestrogen Content and Estrogenic Effect of Legume Fodder. *Experimental Biology and Medicine* 208, 13–17. <https://doi.org/10.3181/00379727-208-43825>

Singh, B., Singh, J.P., Kaur, A., Singh, N., 2017. Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A review. *Food Research International* 101, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.026>

United Nations, 2022. *World Population Prospects 2022*.

2. Οικογένεια των *Fabaceae*

Η οικογένεια των *Fabaceae* είναι η τρίτη μεγαλύτερη οικογένεια των αγγειόσπερμων, με χαρακτηριστικό γνώρισμα ότι τα σπέρματά τους έχουν τη μορφή οσπρίων (legumes). Τα φυτά της οικογένειας είναι γνωστά και με το όνομα ψυχανθή, επειδή τα άνθη τους μοιάζουν με «ψυχή», δηλαδή πεταλούδα (“Ψυχανθή”).

Τα όσπρια που αποτελούν τα σπέρματα των *Fabaceae* έχουν από την αρχαιότητα ενταχθεί στη διατροφή του ανθρώπου ως μια πολύ καλή πηγή πρωτεϊνών. Αντίστοιχα, τα φύλλα τους αποτελούν τροφή για τα ζώα, ενώ χρησιμοποιούνται ευρέως και ως καλλιέργειες κάλυψης ή αμειψισποράς, αλλά και για την παραγωγή βιοκαυσίμων, ελαίων και ξυλείας (Mathesius, 2022).

Η κατανάλωσή τους παρέχει αρκετά θρεπτικά συστατικά και πολύ σημαντικές φυτοχημικές ενώσεις που συμβάλουν θετικά στην υγεία των καταναλωτών. Μεταξύ των φυτοχημικών που εμπεριέχουν είναι οι φαινολικές ενώσεις (Singh και άλλοι, 2017), με κυριότερες υποκατηγορίες τους τα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή και τις πολυμερικές συμπυκνωμένες ταννίνες (Shi και άλλοι, 2022). Μια άλλη κατηγορία φαινολικών ενώσεων που συναντώνται στα φυτά της οικογένειας των *Fabaceae* είναι τα φυτοοιστρογόνα, των οποίων η πρόσληψη επηρεάζει σημαντικά τη φυσιολογική λειτουργία των οργανισμών (Tucak και άλλοι, 2018). Τέλος, υπάρχουν μελέτες που σχετίζονται με την παρουσία στα σπέρματα ψυχανθών των καροτενοειδών, μορίων που επίσης συμβάλλουν θετικά στην υγεία.

2.1. Ταξονομική κατάταξη-Βοτανικά Χαρακτηριστικά

Η οικογένεια των *Fabaceae* αποτελεί μία από τις οικογένειες με τα περισσότερα είδη και παλαιότερα ήταν γνωστή με το όνομα *Leguminosae*, ονομασία που ακόμα είναι σε χρήση. Παράλληλα, είναι γνωστή και ως η οικογένεια των οσπρίων, αφού το σπέρμα της (τύπου χέδροπα) αποτελεί το χαρακτηριστικό της γνώρισμα. Στην οικογένεια περιέχονται περισσότερα από 700 γένη και περίπου 20.000 είδη (“*Fabaceae* plant family”), με χαρακτηριστικό τους την ευρεία διάδοση σε όλες τις περιοχές του πλανήτη, από τις μεσογειακές περιοχές έως τα τροπικά δάση και τις υποτροπικές σαβάνες (Mathesius, 2022; Sprent και άλλοι, 2017), γεγονός που συνάδει με την ευρεία ποικιλότητά τους. Είναι σημαντικό να αναφερθούν και τα ιδιαίτερα

άνθη τους, τα ψυχόμορφα, αλλά και η συμβιωτική που αναπτύσσεται στα ριζίδια τους με τα αζωτοβακτήρια (Glyan'ko, 2015).

Η οικογένεια των *Fabaceae* χωρίζεται στις παρακάτω τρεις υπο-οικογένειες: *Papilionaceae* (πρώην *Faboideae*) (470 γένη, 14000 είδη), *Caesalpinaceae* (170 γένη, 2000 είδη) και *Mimosoideae* (80 γένη, 3200 είδη) ("FAMILY 3: Fabaceae – Characters, Floral formula & Species"; Graybosch, 2016).

Η υποοικογένεια των *Papilionaceae* είναι η μεγαλύτερη από αυτές και τα φυτά της απαντώνται σε όλη την υφήλιο, ιδιαίτερα τις εύκρατες περιοχές, τόσο του βορείου όσο και του νοτίου ημισφαιρίου. Τα περισσότερα φυτά της υπο-οικογένειας καλλιεργούνται με σκοπό την παραγωγή βρώσιμων σπερμάτων.

Φυτά της *Papilionaceae* είναι σε μεγάλο αριθμό είδη που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή του ανθρώπου, αφού τα περισσότερα και πλέον σημαντικά όσπρια ανήκουν στην υπο-οικογένεια αυτή. Όμως, σε αυτήν περιέχονται και πολλά φυτά που χρησιμοποιούνται ως ζωοτροφές, όπως το *Medicago sativa* (μηδική), η οποία αποτελεί μία από τις σημαντικότερες κτηνοτροφικές καλλιέργειες. Άλλες κύριες κτηνοτροφικές καλλιέργειες της *Papilionaceae* αποτελούν τα *Vicia Melilotu* και πολλά είδη του γένους *Trifolium*. Στη διατροφή του ανθρώπου χρησιμοποιούνται πολλά φυτά της υπο-οικογένειας υπό τη μορφή φυτικών ελαίων, όπως τα σπέρματα του *Arachis hypogea* (αραχίδα), ο οποίος είναι βρώσιμος, αλλά συχνά χρησιμοποιείται για την εξαγωγή του φυσικέλαιου που χρησιμοποιείται ως φυτικό έλαιο.

Ένας άλλος σημαντικός τομέας εκμετάλλευσης των φυτών της *Papilionaceae* είναι η παραγωγή ξυλείας, αφού πολλά φυτά της υπο-οικογένειας παρέχουν ξυλεία για την παρασκευή επίπλων. Επίσης, κάποια από τα φυτά της χρησιμοποιούνται ως βαφές δίνοντας τα χρώματα κίτρινο και λουλακί. Τέλος, πολλά φυτά της έχουν χαρακτηριστεί ως φαρμακευτικά, με χαρακτηριστικά παραδείγματα το είδος *Glycyrrhiza glabra* που χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση του βήχα και του κρυολογήματος και το *Clitoria ternatea* που χρησιμοποιείται ως φάρμακο μετά από δάγκωμα φιδιού. Στην υπο-οικογένεια αυτήν εντάσσονται και πολλά καλλωπιστικά φυτά που ανήκουν σε γένη όπως το *Clitoria* και το *Butea* ("FAMILY 3: Fabaceae – Characters , Floral formula & Species"; Gupta).

Η υπο-οικογένεια των *Caesalpinaceae* συνήθως ονομάζεται και ως οικογένεια *Cassia*. Τα είδη της κατανέμονται σε όλον τον κόσμο και κάποια από αυτά έχουν

σημαντικές εφαρμογές στην ιατρική. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το φυτό *Cassia alata*, τα φύλλα του οποίου χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της μυκητιασικής λοίμωξης της λειχήνας καθώς και άλλων δερματικών παθήσεων ("FAMILY 3: Fabaceae – Characters, Floral formula & Species"). Επίσης, ο πολτός των λοβών του φυτού *Cassia fistula* χρησιμοποιείται ως καθαρτικό, ενώ το αφέψημα του φλοιού του *Saraca indica* χρησιμοποιείται ως φάρμακο για τις διαταραχές της εμμήνου ρύσης. Στην *Caesalpiniaceae*, ανήκουν και φυτά που χρησιμοποιούνται στη διατροφή του ανθρώπου, όπως τα άνθη του *Bauhinia variegata* που καταναλώνονται ως λαχανικό και τα σπέρματα του *Tamarindus indica* που χρησιμοποιούνται ως καρύκευμα λόγω της πικάντικης γεύσης τους. Τέλος, τα σπέρματα του *Tamarindus indica* χρησιμοποιούνται για την εξαγωγή αμύλου (Yashasvi), ενώ τα όξινα φρούτα του είναι βρώσιμα και πλούσια σε τρυγικό οξύ ("FAMILY 3: Fabaceae–Characters, Floral formula & Species").

Ένας άλλος τομέας αξιοποίησης των φυτών της υπο-οικογένειας αυτής είναι η βυρσοδεψία, αφού φυτά όπως τα *Caesalpinia coriaria*, *C. sappan* και *C. Digyna*, ο φλοιός των φυτών του γένους *Bauhinia* και το *Tamarindus indica* χρησιμοποιούνται στη βυρσοδεψία για το χρωματισμό του δέρματος (μαύρισμα). Επίσης, από το ξύλο του *Haematoxylon campechianum* παράγεται μια βαφή γνωστή ως αιματοξυλίνη. Τέλος, πολλά φυτά της υπο-οικογένειας χρησιμοποιούνται ως καλλωπιστικά, όπως τα *Delonix regia*, *Caesalpinia pulcherrima*, *Colvillea racemosa*, *Parkinsonia aculeata*, *Saraca indica* κλπ (Yashasvi).

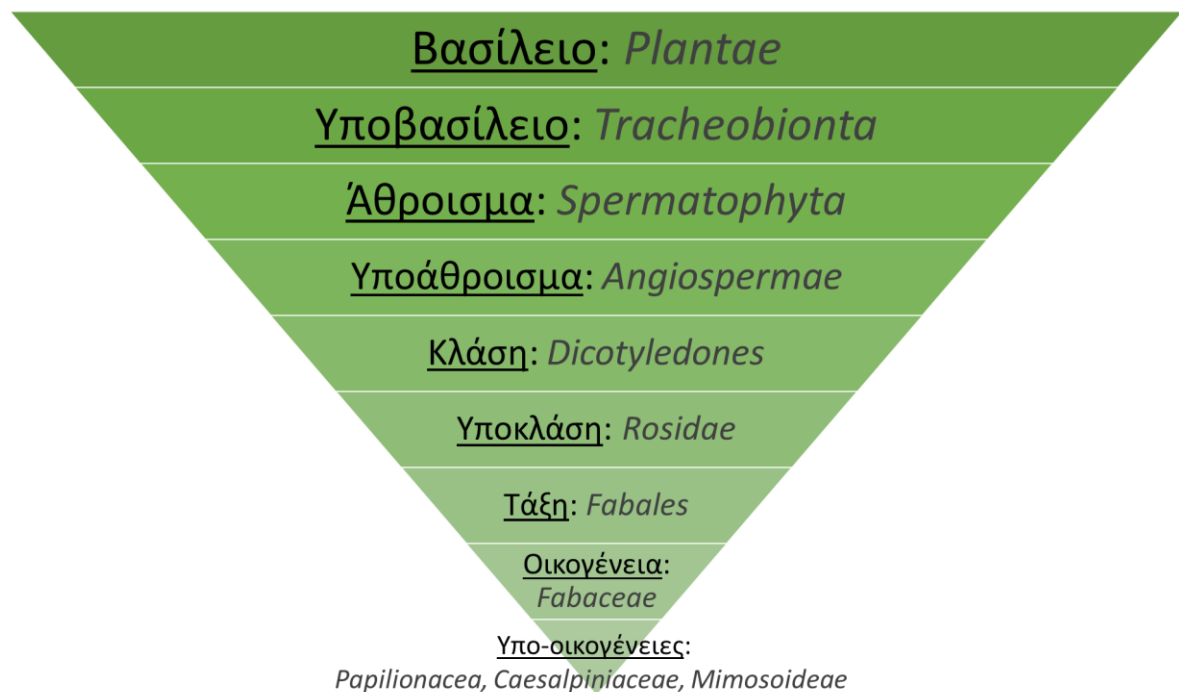
Η υπο-οικογένεια των *Mimosoideae*, που ταξινομείται από ορισμένες αρχές ως οικογένεια των *Mimosaceae*, περιλαμβάνει κυρίως ξυλώδη φυτά των τροπικών περιοχών και λίγα -κυρίως ποώδη- είδη που είναι εγγενή στις εύκρατες περιοχές ("Classification of Fabaceae"). Σε αυτήν κατατάσσονται κυρίως καλλωπιστικά φυτά ("Family Fabaceae- Subfamily MIMOSOIDEAE"), όπως η *Mimosa pudica*, η οποία είναι γνωστή για το χαρακτηριστικό κλείσιμο των φύλλων της μετά από κάποιο άγγιγμα ("Classification of Fabaceae"). Όμως υπάρχουν και φυτά της *Mimosoideae* που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ξυλείας ("Family Fabaceae-Subfamily MIMOSOIDEAE").

Πίνακας 2 Διαγνωστικά χαρακτηριστικά των φυτών που ανήκουν στην οικογένεια *Fabaceae*, αλλά και στις υπο-οικογένειες *Papilionaceae*, *Caesalpinaceae*, *Mimosoideae* (Carr.; “Classification of *Fabaceae*”; “FAMILY 3: *Fabaceae* – Characters, Floral formula & Species”).

Χαρακτηριστικά	<i>Fabaceae</i>	<i>Papilionaceae</i>	<i>Caesalpinaceae</i>	<i>Mimosoideae</i>
Κύκλος Ζωής	Ετήσια ή πολυετή			
Εμφάνιση	Δέντρα, θάμνοι, βότανα	Κυρίως θάμνοι και βότανα (συχνά αναρριχώμενα). Πολύ σπάνια δέντρα. Υδροφύτα & ξερόφυτα	Μεγάλη ποικιλία: Δέντρα, θάμνοι, υποθάμνοι και βότανα. Κυρίως απαντώνται σε δέντρα και θάμνους. Μερικές φορές όλα τα παραπάνω απαντώνται στο ίδιο γένος	Κυρίως τροπικά και υποτροπικά δέντρα και θάμνοι. Λίγα ποώδη
Ρίζες	Ινώδες ριζίδιο, που συχνά αναπτύσσει οζίδια. Τα βακτήρια σταθεροποίησης αζώτου ζουν σε αυτά τα οζίδια.	Η κύρια ρίζα του φυτού, είναι συνήθως πιο στιβαρή από τις πλευρικές ρίζες και κατευθύνει προς τα κάτω από το στέλεχος (tap root). Είναι διακλαδισμένη και φέρει οζίδια που περιέχουν αζωτοκαθλωτικά βακτήρια (<i>Rhizobia</i>).	Η κύρια ρίζα του φυτού, είναι συνήθως πιο στιβαρή από τις πλευρικές ρίζες και αναπτύσσεται κατευθύνει προς τα κάτω από το στέλεχος (tap root). Είναι και διακλαδισμένη.	Πολλά από τα φυτά αυτά έχουν οζίδια που περιέχουν το αζωτοκαθλωτικό βακτήριο <i>Rhizobium</i> στις ρίζες τους.
Βλαστός	Ποώδης ή Ξυλώδης. Κυλινδρικός, με αναρριχητική ικανότητα	Όρθιος ή αναρριχητικός (αναρριχείται με έλικες), διακλαδισμένος, γωνιακός ή κυλινδρικός Ποώδης ή ξυλώδης	Όρθιος, ξυλώδης, ποώδης ή αναρριχώμενος, διακλαδισμένος, λείος ή καλυμμένος με αγκάθια, αγκαθωτός (<i>Parkinsonia</i>).	Κυρίως ξυλώδης (<i>Alimosaceae</i>)
Φύλλα	Στηρίζονται σε στέλεχος ή μίσχο (petiolate) ή συνθέτουν ένα φύλλο που αποτελείται από μικρότερα φύλλα διατεταγμένα εκατέρωθεν του στελέχους σε ζεύγη το ένα απέναντι από το άλλο (pinnate type) ή φύλλα με παράλληλες ραβδώσεις.	Τα φύλλα είναι εναλλασσόμενα, αντίθετα ή στρογγυλά, συνήθως σύνθετα, σπάνια συναντώνται σε μορφή πτερυγίου. Μερικές φορές απλά ή συνθέτουν ένα φύλλο που αποτελείται από μικρότερα φύλλα διατεταγμένα εκατέρωθεν του στελέχους, ενώ εμφανίζονται και περιπτώσεις με δευτερεύοντα ραβδάκια (φύλλα με ραβδώσεις).	Πολφοειδής βάση φύλλων, σύνθετη μονοπτερωτή (<i>Cassia</i> , <i>Tamarindus</i>), διπτερωτή (<i>Delonix</i> , <i>Caesalpinia</i>) ή σπάνια απλή. Στην <i>Bauhinia</i> το φύλλο είναι με τη μορφή πτερυγίου (ίσως λόγω συγχώνευσης δύο φύλλων).	Σχεδόν πάντα δίπτερα (σπάνια μονόπτερα)
Ταξιανθία	Racemose (Βοτρυοειδής άνθος) ή	Racemose (Βοτρυοειδής άνθος): Συστάδα	Racemose (Βοτρυοειδής άνθος):	Capitulum: Σχηματίζεται σαν

Χαρακτηριστικά	<i>Fabaceae</i>	<i>Papilionaceae</i>	<i>Caesalpiniaceae</i>	<i>Mimosoideae</i>
	cymose (Άνθος κυμόζης). Στην πρώτη περίπτωση το άνθος είναι μία συστάδα λουλουδιών, που αποτελείται από ξεχωριστά άνθη, τα οποία συνδέονται σε ένα κεντρικό στέλεχος, ενώ στη δεύτερη περίπτωση τα άνθη αρχίζουν να ανοίγουν από το κέντρο προς την περιφέρειά τους, δηλαδή σε αυτή τη διάταξη των ανθών, τα νέα άνθη βρίσκονται στο κάτω μέρος και τα παλαιότερα άνθη στην κορυφή.	ανθών, που αποτελείται από ξεχωριστά άνθη, τα οποία συνδέονται σε ένα κεντρικό στέλεχος) Solitary axillary (το άνθος προέρχεται από την άνω γωνία μεταξύ του μίσχου ή τους κλαδιού του φύλλου και του στελέχους ή του κορμού από τον οποίο αναπτύσσεται	Συστάδα ανθών, που αποτελείται από ξεχωριστά άνθη, τα οποία συνδέονται σε ένα κεντρικό στέλεχος	μία μικρή πυκνή ακίδα, όπου τα άνθη συγκρατούνται επάνω σε ένα επίπεδο μίσχο, δίνοντας στην ταξιανθία την εμφάνιση ενός μόνο άνθους (παράδειγμα τέτοιας ταξιανθίας αποτελεί η πικραλίδα)
Άνθη	Pedicillate: Προσκολλάται ένα μόνο άνθος στην ταξιανθία Bracteate: Άνθη με βράκτια, δηλαδή το μικρό φύλλο στη βάση του μίσχου Actinomorphic: Διαθέτει ακτινική συμμετρία. Οποιοσδήποτε τύπος κοπής στο κέντρο θα χωρίσει το άνθος σε δύο ίσα μέρη Zygomorphic: Μπορεί να διαχωριστεί συμμετρικά σε μόνο δύο ίσα μέρη Regular: Ακτινικά συμμετρικό, δηλαδή όλα τα μέλη, που το αποτελούν, είναι παρόμοια σε σχήμα και μέγεθος Πλήρες; Ερμαφρόδιτο; Πενταμερές; Hyrogynous (που έχει τους στήμονες και άλλα μέρη του άνθους κάτω από τα φύλλα) αλλά ελαφρώς perigynous (που έχει τους στήμονες και τα άλλα ανθικά μέρη στο	Pedicillate Bracteate Actinomorphic Zygomorphic Πλήρες; Ερμαφρόδιτο; Πενταμερές; Hyrogynous αλλά ελαφρώς perigynous (άνθος με ακανόνιστα χαρακτηριστικά, που μοιάζει με πεταλούδα)	Pedicillate Bracteate Zygomorphic Πλήρες; Ερμαφρόδιτο; Πενταμερές; ελαφρώς perigynous	Υπόγυνα έως ελαφρώς περίγυνα με ακτινωτή συμμετρία, πέταλα που είναι σε τέτοια διάταξη ώστε τα πέταλα να συναντώνται στις άκρες τους και να μην επικαλύπτονται (valvate flower)

Χαρακτηριστικά	<i>Fabaceae</i>	<i>Papilionaceae</i>	<i>Caesalpinaceae</i>	<i>Mimosoideae</i>
	ίδιο επίπεδο με τα καρπόφυλλα)			
Κάλυκες	5 ή 4 σέπαλα είτε ελεύθερα είτε ενωμένα σε πράσινο συνήθως χρώμα	5 σέπαλα; συνήθως ενωμένα και τριχωτά	5 σέπαλα; συνήθως χρωματισμένα, ενωμένα ή ελεύθερα	5 σέπαλα
Σπέρμα	Όσπρια ή σε λοβούς Πολυανδρικό (polyandrous) σε ορισμένες περιπτώσεις	Όσπρια ή σε λοβούς	Όσπρια	Όσπρια
Σπόρος	Μονοκαρπικό; Άνω ωοθήκη; Placentation marginal	Μη ενδοσπερμικός, συνήθως πεπλατυσμένος	Μη ενδοσπερμικός	Σχηματίζουν γραμμή σε U (πλευρόγραμμα)



Εικόνα 3 Ταξινομική κατάταξη των φυτών της οικογένειας των *Fabaceae*.

2.2. Σπουδαιότητα των φυτών της οικογένειας των *Fabaceae* στη φυτική παραγωγή

Τα φυτά της οικογένειας *Fabaceae* συμμετέχουν σε ένα βιολογικό φαινόμενο το οποίο μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στην αναβάθμιση άλλων καλλιεργειών. Το φαινόμενο αυτό σχετίζεται με την παρατηρούμενη συμβίωση των βακτηρίων στο ριζικό σύστημα των ψυχανθών και μπορεί να οδηγήσει στην αύξηση της γονιμότητας του εδάφους με την αύξηση του διαθέσιμου αζώτου, συμβάλλοντας στη διατήρηση

της οικολογικής σταθερότητας του εδαφικού περιβάλλοντος. Η συμβίωση αυτή βασίζεται στις αμοιβαίες αλληλεπιδράσεις του φυτού (*Fabaceae*, μακροσυμβίωση) με τα οζώδη βακτήρια (rhizobia, μικροσυμβίωση). Η οικογένεια των *Rhizobiaceae* περιλαμβάνει οζίδια διαφορετικών γενών: *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*. Κατά τη διάρκεια όλων των σταδίων σχηματισμού και ανάπτυξης της συμβίωσης, δηλαδή από το στάδιο της προμόλυνσης έως της αποικοδόμησης του όζου, λαμβάνει χώρα ανταλλαγή των χημικών ενώσεων (σήματα) μεταξύ των δύο συμβιωτικών εταίρων (Glyan'ko, 2015).

Η διαδικασία αυτή αποτελεί ένα σημαντικό όπλο για τη γεωργία, καθώς μέσω των κονδυλωδών βακτηρίων δεσμεύεται το ατμοσφαιρικό άζωτο, με αποτέλεσμα το έδαφος να εμπλουτίζεται με άζωτο και να μην είναι αναγκαία η προσθήκη αζωτούχων λιπασμάτων. Έτσι, προκύπτει ένα θετικό αποτέλεσμα τόσο από οικονομική άποψη αφού ο αγρότης δεν θα χρειαστεί να προβεί στην αγορά αζωτούχων λιπασμάτων, όσο και για την προστασία του κλίματος αφού η μείωση της χρήσης των λιπασμάτων συνεπάγεται και την ελάττωση του ανθρακικού αποτυπώματος που συνεπάγεται η παραγωγή τους. Τέλος, τα ψυχανθή έχουν την ικανότητα να κινητοποιούν τα θρεπτικά στοιχεία και να διευκολύνουν την καλλιέργεια χούμου στο έδαφος με αποτέλεσμα να αυξάνεται γονιμότητά του.

Η συνεχής καλλιέργεια ενός μόνο φυτού έχει ως αποτέλεσμα να μειώνονται τα συστατικά του εδάφους που είναι απαραίτητα για την καλλιέργεια του συγκεκριμένου φυτού, με αποτέλεσμα την έλλειψη των συστατικών αυτών από το έδαφος μετά από κάποιες περιόδους καλλιέργειας. Η αμειψισπορά αναφέρεται στην εναλλαγή των καλλιεργειών στον ίδιο αγρό με σκοπό τον εμπλουτισμό του εδάφους με τα συστατικά αυτά να αποδίδονται στο έδαφος από άλλα φυτά. Η αμειψισπορά με ψυχανθή είναι ένας από τους καλύτερους τρόπους εμπλουτισμού του εδάφους με θρεπτικά συστατικά, και κυρίως άζωτο. Με τη διαδικασία αυτή η γεωργία γίνεται βιώσιμη, ενώ ταυτόχρονα τα παραγόμενα ψυχανθή χρησιμεύουν ως τροφή για τον άνθρωπο και τα ζώα.

Η αύξηση της καλλιέργειας των φυτών της οικογένειας των *Fabaceae* διευρύνει το φάσμα των καλλιεργούμενων ειδών και παρατείνει τη διάρκεια των σχετικά σύντομων εναλλαγών καλλιεργειών. Επίσης, επιφέρει τη μείωση της εμφάνισης των επιβλαβών οργανισμών, βελτιώνει την αποτελεσματικότητα του

ελέγχου των ζιζανίων, ενώ παράλληλα επιτρέπει την εναλλαγή μεταξύ εαρινών και χειμερινών καλλιεργειών ή μεταξύ καλλιεργειών των φυλλωδών και των σιτηρών.

Τέλος, η εφαρμογή της αμειψισποράς με ψυχανθή μπορεί να συμβάλλει στην προστασία της καλλιέργειας και να μειώσει τον κίνδυνο της ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε στελέχη εντομοκτόνων. Ως επακόλουθο μειώνεται η χρήση των εντομοκτόνων και επέρχονται ευεργετικές επιπτώσεις στη βιοποικιλότητα, ενώ θα πρέπει να τονιστεί ότι τα άνθη των φυτών αυτών προτιμώνται και από τα επικονιαστικά έντομα (“Ψυχανθή / Όσπρια”).

2.3. Σπουδαιότητα των φυτών της οικογένειας των *Fabaceae* στη ζωική παραγωγή

Ο αυξανόμενος πληθυσμός των παραγωγικών ζώων επηρεάζει το είδος των πόρων χορτονομής που απαιτούνται για την ικανοποίηση των διατροφικών τους απαιτήσεων. Η διατροφική υγεία των ζώων είναι ζωτικής σημασίας για μια βιώσιμη παραγωγή, η οποία εξαρτάται από τις ανάγκες των ζώων σε θρεπτικά συστατικά, τη διαθεσιμότητα της τροφής, τη διατροφική ποιότητα των ζωοτροφών, την κατανάλωση, την πεπτικότητα και τον μεταβολισμό των ζωοτροφών (Navale και άλλοι, 2022).

Μετά την απαγόρευση της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τη συμπερίληψη των κρεατοάλευρων στη διατροφή των ζώων (οδηγία 999/2001 της ΕΕ), ως συνέπεια της έξαρσης-διασποράς της νόσου των τρελών αγελάδων, αυξήθηκε το ενδιαφέρον για την ανάπτυξη φυτικών πηγών πρωτεϊνών. Στο πλαίσιο αυτό αυξήθηκε σημαντικά το ενδιαφέρον για τη χρήση ψυχανθών με την σόγια να κυριαρχεί ως επιλογή, παρότι υπάρχουν και άλλα φυτά με πλούσιο περιεχόμενο σε πρωτεΐνες που ανήκουν στην ίδια οικογένεια φυτών (Gatta και άλλοι, 2013).

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει σημαντικές προσπάθειες για τη προσθήκη κτηνοτροφικών φυτών-ψυχανθών σε συστήματα κτηνοτροφικής-ζωικής παραγωγής, καθώς έχει διαγνωστεί η χρησιμότητά τους στη βιώσιμη διατροφή των παραγωγικών ζώων, λόγω των θετικών επιδράσεων που επιφέρουν. Μία σημαντική προσπάθεια για την προσθήκη των ψυχανθών σε σιτηρέσια που περιέχουν υψηλή περιεκτικότητα δημητριακών οδήγησε στη χρησιμοποίηση της μηδικής (*Medicago sativa* L.) (Solomon, 2022). Το φυτό αυτό έχει χρησιμοποιηθεί ως πλούσια πηγή καροτενοειδών, τόσο σε ιχθυοτροφές (Ali Esmail Al-Snafi και άλλοι, 2021), όσο και σε ζωοτροφές πουλερικών

προκειμένου να παρέχεται -στον κρόκο του αβγού ή στο τελικό προϊόν για τα ορνίθια κρεατοπαραγωγής- το επιθυμητό κίτρινο χρώμα. Στην περίπτωση διατροφής των ωοτόκων πουλερικών η ένταξη των φυτών αυτών στη διατροφή αύξησε την περιεκτικότητα των αβγών σε καροτενοειδή και βιταμίνες, όμως παράλληλα μείωσε την παραγωγή και ανθεκτικότητα του κελύφους. Αυτό πιθανά να οφείλεται στην αυξημένη περιεκτικότητα σε ταννίνες του δείγματος *M. sativa* που χρησιμοποιήθηκε (Englmaierová και άλλοι, 2019).

Διατροφικά, η συμβολή των ψυχανθών στην κτηνοτροφική παραγωγή είναι πολύ σημαντική. Παράδειγμα θετικής επίπτωσης από την προσθήκη τους σε ζωοτροφές αποτελεί η αύξηση της παραγωγής του γάλακτος των αγελάδων γαλακτοπαραγωγής Holstein, όταν η διατροφή τους με μίγμα πολυετούς σίκαλης (*Lolium perenne* L.) και λευκού τριφυλλίου (*Trifolium repens* L.) είχε ως αποτέλεσμα την 9,9% υψηλότερη παραγωγή γάλακτος σε σύγκριση με εκείνες που τρέφονταν μόνο με σίκαλη (Solomon, 2022). Άλλο παράδειγμα είναι η ένταξή του στη διατροφή αιγοπροβάτων, όπου παρατηρήθηκε ο γρηγορότερος ρυθμός ανάπτυξης των ζώων που τρέφονταν με λευκό τριφύλλι (Hammond και άλλοι, 2011). Επίσης, η χρησιμοποίηση βοσκοτόπων που περιείχαν τα φυτά *T. repens* και *T. subterraneum* βελτίωσε σημαντικά την απόδοση και τα αισθητήρια χαρακτηριστικά του κρέατος ορνιθίων κρεατοπαραγωγής ελευθέρας βοσκής (Ponte και άλλοι, 2008). Μία πολύ σημαντική και ενδιαφέρουσα επίδραση της ένταξης φρέσκου λευκού τριφυλλίου στη διατροφή προβάτων είναι η μείωση των εντερικών εκπομπών CH₄, το οποίο αποτελεί ένα από τα υψηλότερης συγκέντρωσης αέρια του θερμοκηπίου. Πιθανά η επίδραση αυτή να είναι αποτέλεσμα της χαμηλής συγκέντρωσης των φυτικών ινών στο φυτό (χαμηλή τιμή του παράγοντα μέτρησης των φυτικών ινών) το οποίο οδηγεί σε ταχεία αποικοδόμησή του, αλλά και στην υψηλότερη συγκέντρωση υδατανθράκων που μπορούν να αποικοδομηθούν στο πεπτικό σύστημα σε σχέση με τους δομικούς υδατάνθρακες οι οποίοι δεν αποικοδομούνται, γεγονός που οδηγεί σε χαμηλή αναλογία οξικού άλατος: προπιονικού άλατος και τελικά σε μικρή απόδοση μεθανίου (Hammond και άλλοι, 2011). Άλλη μία ενδιαφέρουσα παρατήρηση αφορά την αυξημένη πυκνότητα λευκού τριφυλλίου σε λειμώνες που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή ζώων ελευθέρας βοσκής, όπου μειώθηκε ο παρασιτισμός τους (Niezen και άλλοι, 2002).

Ένα ακόμα φυτό που χρησιμοποιείται παραδοσιακά ως κτηνοτροφικό είναι ο βίκος (*Vicia sativa*). Τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται ξανά από τους κτηνοτρόφους, ειδικά σε περιπτώσεις που το σιτηρέσιο περιέχει μόνο χόρτο, για να μειωθεί η εξάρτηση από τις αγοραζόμενες πρωτεΐνες που χρησιμοποιούνται συνήθως στα συστήματα διατροφής. Πείραμα που έγινε σε αιγοπρόβατα έδειξε ότι η προσθήκη βίκου στη διατροφή τους οδηγεί σε μεγαλύτερου βάρους πρόβατα σε σύγκριση με όσα δεν περιείχαν στη διατροφή τους το φυτό αυτό (Thomas και άλλοι, 2023).

Η κατανάλωση των ψυχανθών παρέχει τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά αλλά και πολύ σημαντικές φυτοχημικές ενώσεις που συμβάλουν θετικά στην υγεία των ζώων. Μεταξύ των φυτοχημικών που εμπεριέχουν είναι ποικίλες φαινολικές ενώσεις (Singh και άλλοι, 2017), με βασικότερες τις ισοφλαβόνες (Tucak και άλλοι, 2018). Η γενιστεΐνη είναι μία ισοφλαβόνη που έχει αποδειχτεί ότι βελτιώνει τόσο την αναπαραγωγική απόδοση όσο και την κατάσταση των οστών σε νεοσσούς κατά την όψιμη περίοδο της ωοτοκίας. Επίσης έχει βρεθεί ότι τα ορνήθια που καταναλώνουν γενιστεΐνη παράγουν αβγά με μεγαλύτερη αντοχή του κελύφους τους (Lv και άλλοι, 2019).

Φυσικά έχουν παρατηρηθεί και αρνητικές επιπτώσεις στα παραγωγικά χαρακτηριστικά των ζώων από την ένταξη ψυχανθών στο σιτηρέσιό τους, οι οποίες οφείλονται κυρίως στους αντιδιατροφικούς παράγοντες (antinutritional factors-ANFs). Τέτοιοι παράγοντες είναι ποικίλες χημικές ενώσεις, όπως οι νευροτοξίνες, οι ταννίνες, αναστολείς της τρυψίνης κλπ. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η παρουσία των ANFs στα όσπρια μειώνει τη βιοδιαθεσιμότητα και απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών και είναι δυνατό να έχει αρνητικές επιπτώσεις στην απόδοση των ζώων. Για την αποφυγή των ανεπιθύμητων αυτών επιπτώσεων, έχουν προταθεί μέγιστα επίπεδα για την ενσωμάτωση των φυτών αυτών στη διατροφή των ζώων (Για τα μονογαστρικά ζώα: <0,1% της συνολικής πρωτεΐνης ή 0 τοξινών) (Huang και άλλοι, 2017).

Τέλος, εκτιμάται ότι έως το 2050 θα απαιτούνται παγκοσμίως περίπου 60-70% περισσότερα ζωικά προϊόντα. Στο πλαίσιο αυτό θα αυξηθεί η παγκόσμια ζήτηση για ασφαλείς φυτικής προέλευσης πρωτεΐνες στις ζωοτροφές, η οποία θα παρουσιάσει σημαντικές προκλήσεις λόγω ποικίλων άλλων παραγόντων όπως η προστασία-

διατήρηση του περιβάλλοντος, η αυξημένη υποβάθμιση της καλλιεργούμενης γης, ο ανταγωνισμός μεταξύ τροφίμων και ζωοτροφών, όπως και οι επιπτώσεις που θα επιφέρει η απρόβλεπτη εξέλιξη της κλιματικής κρίσης. Η διεύρυνση της βάσης των πόρων ζωοτροφών μέσω της ανάπτυξης νέων πρόσθετων ή της ανάπτυξης ζωοτροφών νέου τύπου που είναι σε θέση να βελτιώνουν την αποδοτικότητα της χρήσης τους θα διαδραματίσει καθοριστικό ρόλο στη βιώσιμη ανάπτυξη της κτηνοτροφίας (Makkar και άλλοι, 2016).

2.4. Φυτά της Οικογένειας των *Fabaceae* που μελετήθηκαν στη Διατριβή
Από τα περίπου 700 γένη που εντάσσονται στην οικογένεια των *Fabaceae*, στο πλαίσιο διενέργειας της παρούσας διατριβής μελετήθηκαν τα φυτά που ανήκουν στα γένη *Astragalus* (*A. creticus*, *A. glycyphyllos*), *Cicer* (*C. arietinum*, *C. incisum*), *Trifolium* (*T. repens*, *T. physodes*), *Lathyrus* (*L. sativus*, *L. laxiflorus*, *L. clymenum*), *Vicia* (*V. sativa*, *V. faba*), *Bituminaria* (*B. bituminosa*), *Medicago* (*M. sativa*), *Pisum* (*P. sativum*), *Phaseolus* (*P. vulgaris*), *Lens* (*L. culinaris*) και *Glycine* (*G. max*).

2.4.1. Γένος *Astragalus*

Το γένος *Astragalus* αποτελείται από περίπου 2.000 είδη βοτάνων και μικρών θάμνων (“*Astragalus*”). Από αυτά, το *A. membranaceus* (γνωστό και ως *A. propinquus*) χρησιμοποιείται στην Κίνα για χιλιάδες χρόνια ως φυτικό φάρμακο που πωλείται κυρίως ως σκόνη η οποία παρασκευάζεται από την αποξηραμένη ρίζα του φυτού (*Radix Astragali*) (Tan και Vanitha, 2004). Το *Radix Astragali* χρησιμοποιείται ως φάρμακο για την αδυναμία και την ατονία και γενικότερα για την αύξηση της συνολικής ζωτικότητας του ανθρώπινου σώματος, όπως και σε περιπτώσεις διάρροιας, κόπωσης, έντονης εφίδρωσης και έλλειψης όρεξης (Krasteva και άλλοι, 2016; Tan και Vanitha, 2004).

Τα είδη του γένους *Astragalus* έχουν απασχολήσει αρκετά την επιστημονική κοινότητα λόγω και των αντικαρκινικών ιδιοτήτων που διαθέτουν. Επίσης, πολλά φυτά του γένους βρίσκουν φαρμακευτικές εφαρμογές ως ανοσοδιεγερτικά ή αντινεοπλασματικά φάρμακα (Krasteva και άλλοι, 2016), ενώ ένας σημαντικός τους αριθμός έχει διαπιστωθεί ότι διαθέτει καρδιοπροστατευτική, καθαρτική, αντιυπερτασική και αντιδιαβητική δράση (Butkutė και άλλοι, 2016).

Τα φυτά του γένους *Astragalus* είναι γνωστό ότι περιέχουν διαφορετικές ομάδες φαρμακολογικά δραστικών μεταβολιτών, όπως είναι τα φλαβονοειδή, οι σαπωνίνες, οι πολυσακχαρίτες κλπ (Krasteva και άλλοι, 2016). Σε φυτά των *Astragalus* έχει ανιχνευτεί η παρουσία των φλαβοαλκαλοειδών, μιας ασυνήθιστης ομάδας χημικών ενώσεων, που εντοπίστηκαν και αναγνωρίστηκαν στο *A. monspessulanus* subsp. *monspessulanus* (Krasteva και άλλοι, 2015). Επιπλέον, στο γένος αυτό έχουν ταυτοποιηθεί αρκετές χημικές ενώσεις που ανήκουν στην κατηγορία των φυτοοιστρογόνων, με πρώτη την ισοφλαβόνη αστρακικεράνη (astraciceran) που απομονώθηκε από το είδος *A. cicer* (Bratkov και άλλοι, 2016).

Το φυτό *A. glycyphyllos* που μελετήθηκε στη διατριβή αποτελεί ένα από τα πλέον δραστικά φυτά του γένους, αφού τα εκχυλίσματα του υπέργειου τμήματός του διαθέτουν σημαντική αντιοξειδωτική και ηπατοπροστατευτική δράση. Σε *in vivo* πείραμα που έγινε σε μοντέλα αρουραίων με ηπατική βλάβη, το εκχύλισμα παρουσίασε προστατευτικά αποτελέσματα αντίστοιχα της σιλυμαρίνης που χρησιμοποιείται ως ηπατοπροστατευτικό φάρμακο. Η δραστικότητά του αποδίδεται στη χημική του σύσταση που αποτελείται από φλαβονοειδή και σαπωνίνες (Shkondron και άλλοι, 2015).

Όσον αφορά τα θρεπτικά συστατικά του *A. glycyphyllos*, έχει βρεθεί ότι τα σπέρματα του φυτού αποτελούν πλούσια πηγή σιδήρου. Επίσης, το φυτό αυτό λογίζεται ως μια πλούσια πηγή πρωτεϊνών και σημαντικών για την υγεία δευτερογενών μεταβολιτών (Butkutė και άλλοι, 2016), όπως οι σαπωνίνες. Σε μελέτη του 2005 μελετήθηκε μίγμα καθαρών σαπωνινών που προήλθαν από το *A. glycyphyllos* δείχνοντας ότι διαθέτουν αντιφλεγμονώδη και αναβολική δραστικότητα (Krasteva και άλλοι, 2016). Άλλοι μεταβολίτες που περιέχονται στο φυτό είναι τα αλκαλοειδή της ινδολιζιδίνης, φαινολικά οξέα και φυτοοιστρογόνα (Butkutė και άλλοι, 2016).

Το δεύτερο φυτό του γένους που μελετήθηκε στο πλαίσιο της διατριβής είναι το *A. creticus*, ένα φυτό που είναι γνωστό για το πλούσιο περιεχόμενό του σε σαπωνίνες, μέταλλα όπως ο σίδηρος, το μαγνήσιο και το μαγγάνιο και β-σιτοστερόλη ("*Astragalus creticus*"). Το φυτό είναι γνωστό για την παραγωγή του τραγακάνθινου κόμμι που έχει χρήσεις ανάλογες με το αραβικό κόμμι που χρησιμοποιείται ως βότανο με μαλακτικές και εφιδρωτικές ιδιότητες. Το διάλυμα της γόμματος του φυτού

χρησιμοποιείται στη φαρμακοποιία ως φορέας που κρατά τα διάφορα υλικά χωρίς να κατασταλάζουν (“Κεντούκλα”). Μία ακόμα χρήση του υπέργειου τμήματός του είναι ως τονωτικού σε συνθήκες έντονης αδυναμίας, ιδιαίτερα κατά τα πρώτα στάδια της ανάρρωσης μετά από κρυολόγημα (“*Astragalus creticus*”; Ullah και άλλοι, 2013).

Έως σήμερα, αρκετά φυτά του γένους έχουν μελετηθεί για τη βιοδραστικότητά τους, με αποτέλεσμα τα εκχυλίσματά τους να έχει προσδιοριστεί ότι διαθέτουν αντιϊκές ιδιότητες κυρίως έναντι του ιού HIV και δράση κατά των λοιμώξεων που σχετίζονται με χρόνιες ασθένειες ή/και τη γήρανση. Τέλος, τα εκχυλίσματα πολλών φυτών του γένους αυτού εμφανίζουν πολύ καλές αντιφλεγμονώδεις δράσεις (Clement-Kruzel και άλλοι, 2008).

2.4.2. Γένος *Cicer*

Το γένος *Cicer* είναι ένα από τα γνωστότερα γένη της οικογένεια *Fabaceae*, με πλέον αντιπροσωπευτικό είδος το *Cicer arietinum* που είναι γνωστό ως ρεβίθι και αποτελεί το μόνο καλλιεργούμενο είδος *Cicer* (van Oss και άλλοι, 2015). Το άγριο είδος από το οποίο προέρχεται το *C. arietinum*, δηλαδή ο άγριος πρόγονος του, είναι το *C. reticulatum* (Abbo και άλλοι, 2014).

Το είδος *C. arietinum* που μελετήθηκε στην παρούσα διατριβή αποτελεί μία από τις βασικές καλλιέργειες φυτών που είναι πλούσια σε πρωτεΐνες σε Μεσόγειο, Μέση Ανατολή, Κεντρική Ασία, Ινδία και Ανατολική Αφρική, ενώ εδώ και αρκετές δεκαετίες καλλιεργείται και στην Αυστραλία.

Η ταξινόμηση του ρεβιθιού σε δύο κύριες ομάδες ποικιλιών έχει γίνει με βάση τα μορφολογικά του χαρακτηριστικά, με τον τύπο *desi* που καλλιεργείται κυρίως σε Ινδία και Ανατολική Αφρική να αποτελεί περίπου το 75% της παγκόσμιας παραγωγής ρεβιθιού και να χαρακτηρίζεται από τα ροζ μικρά άνθη, συνήθως γωνιακά, και τους κίτρινο-καφέ χρωματισμένους σπόρους. Ο δεύτερος τύπος είναι ο *kabuli* που είναι εγγενής στην περιοχή της Μεσογείου και της Εγγύς Ανατολής και χαρακτηρίζεται από λευκά μεγάλα άνθη και ανοιχτόχρωμους σπόρους οι οποίοι είναι συνήθως πιο εύρωστοι και εμφανίζουν όψιμη ανθοφορία.

Τα ρεβίθια αποτελούν μια πολύ καλή πηγή θρεπτικών διατροφικών συστατικών. Η περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες είναι 18-28%, το λίπος που περιέχουν κυμαίνεται μεταξύ 3-10% της ξηρής μάζας, ενώ αποτελούν μια πολύ καλή

πηγή βιταμινών υδατοδιαλυτών (βιταμίνες Β και βιταμίνη C) και λιποδιαλυτών (προβιταμίνη Α σε μορφή καροτενοειδών, Ε και Κ) (Bar-El Dadon και άλλοι, 2017). Όσον αφορά τα καροτενοειδή, στα ρεβίθια έχουν ανιχνευτεί τα μόρια βιολαξανθίνη, νεοξανθίνη, λουτεΐνη, ζεαξανθίνη, β-καροτένιο και λυκοπένιο, ανάλογα με την ποικιλία και τις συνθήκες καλλιέργειας (Ashokkumar και άλλοι, 2014; Jukanti και άλλοι, 2012). Τέλος, τα ρεβίθια περιέχουν υψηλές ποσότητες φαινολικών χημικών ενώσεων (Sharma και Giri, 2022), με τις ισοφλαβόνες να αποτελούν την κυριότερη κατηγορία με σημαντικότερα μόρια τις βιοχανίνη Α και φορμονονετίνη που ανιχνεύονται στα σπέρματα του *C. arietinum*.

Όσον αφορά τις βιολογικές δράσεις του ρεβιθιού, η κατανάλωσή του έχει θετική επίδραση στη ρύθμιση της χοληστερόλης, ενώ λόγω περιεκτικότητας σε άμυλο και αμυλόζη η διαθεσιμότητα της γλυκόζης είναι χαμηλότερη, καθώς η αμυλόζη εμφανίζει υψηλότερο βαθμό πολυμερισμού καθιστώντας το άμυλο στο ρεβίθι πιο ανθεκτικό κατά την πέψη στο λεπτό έντερο. Η χαμηλότερη βιοδιαθεσιμότητα της γλυκόζης έχει ως αποτέλεσμα την πιο αργή είσοδο της γλυκόζης στην κυκλοφορία του αίματος, μειώνοντας έτσι τη ζήτηση για ινσουλίνη. Αυτό με την σειρά του έχει ως επακόλουθο τη μείωση του γλυκαιμικού δείκτη ο οποίος είναι σημαντικός για τα άτομα που πάσχουν από διαβήτη τύπου 2. Λόγω της υψηλής τους περιεκτικότητας σε ισοφλαβόνες, τα ρεβίθια εμφανίζουν και αντικαρκινικές ιδιότητες έναντι συγκεκριμένων τύπων καρκίνου, όπως του στομάχου, ενώ η κατανάλωσή τους επιδρά θετικά και έναντι της παχυσαρκίας (Jukanti και άλλοι, 2012).

Ένα άλλο φυτό του γένους *Cicer* που μελετήθηκε στη διατριβή είναι το *C. incisum*, το οποίο δεν έχει μελετηθεί αρκετά καθώς αποτελεί άγριο είδος και φύεται σε υψόμετρα πάνω από 1.800 μέτρα. Αποτελείται από ένα μικρό άνθος και τα φύλλα του είναι πολύ τριχωτά για να συλλέγουν και να συγκρατούν υγρασία. Το συγκεκριμένο είδος έχει βρεθεί σε Ελλάδα, Τουρκία, Ιράν, Γεωργία, Αρμενία και Λίβανο ("*Cicer incisum*"). Για το φυτό αυτό στη βάση δεδομένων Scopus εμφανίζονται μόνο πέντε δημοσιεύσεις, των οποίων το περιεχόμενο αφορά κυρίως τις γενετικές σχέσεις μεταξύ των φυτών *Cicer*. Θα πρέπει να επισημανθεί, ότι τόσο το φυτοχημικό, όσο και το βιοδραστικό περιεχόμενο του φυτού δεν έχει έως σήμερα μελετηθεί.

2.4.3. Γένος *Trifolium*

Το *Trifolium* L. είναι ένα από τα μεγαλύτερα γένη της οικογένεια *Fabaceae*, που περιλαμβάνει περισσότερα από 250 είδη, εκ των οποίων τα δέκα παρουσιάζουν σημαντικό ενδιαφέρον για τη γεωργία. Το όνομα του γένους αντανακλά τα φύλλα των ειδών που περιέχονται σε αυτό και αποτελούνται από τρία φυλλαράκια. Τα είδη του *Trifolium* απαντώνται σε Μεσόγειο, Ευρώπη, ορεινές περιοχές της Αφρικής, αλλά και στην Αμερική. Τα είδη του γένους αυτού χωρίζονται στις παρακάτω οκτώ ομάδες: *Lotoidea*, *Paramesus*, *Mystillus*, *Vesicaria*, *Chronosemium*, *Trifolium*, *Tricocephalum* και *Involucrarium*. Όλα τα μέλη του *Trifolium* είναι ποώδη, πολυετή ή μονοετή φυτά και το ύψος τους σπάνια ξεπερνά τα 50cm (Kiran και άλλοι, 2010).

Το *T. repens* που μελετήθηκε στη διατριβή είναι το γνωστό λευκό τριφύλλι που χρησιμοποιείται συχνά στη διατροφή των ζώων ως μίγμα με άλλα χόρτα ή δημητριακά. Το φυτό παίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο για τις βιομηχανίες μαλλιού, γαλακτοκομικών προϊόντων και κρέατος καθώς αυξάνει εξαιρετικά την ποιότητα των προϊόντων τους (Nichols και άλλοι, 2007). Συγκεκριμένα, έχει διαπιστωθεί ότι ως πρόσθετο ζωοτροφών βελτιώνει σημαντικά την ποιότητα του γάλακτος (Egan και άλλοι, 2018), λόγω της παρουσίας υψηλών συγκεντρώσεων θρεπτικών συστατικών, ενώ ταυτόχρονα αποτελεί και μία πλούσια πηγή πρωτεϊνών και μετάλλων. Επίσης, συχνά επιλέγεται ως εδαφοκαλυπτικό φυτό σε κήπους (Ahmad και Zeb, 2020).

Το λευκό τριφύλλι εμφανίζεται στην παραδοσιακή ιατρική αρκετών χωρών, όπως της Ρωσίας και της Ουκρανίας με το υπέργειο και ριζικό του τμήμα να χρησιμοποιούνται ως φάρμακα έναντι του βρογχικού άσματος, του πονοκεφάλου ή ως αναλγητικό, διουρητικό, αλλά και για την επούλωση πληγών. Στην Σιβηρία το βάμμα των ανθών του φυτού χρησιμοποιείται για την θεραπεία της επιληψίας, της πνευμονικής φυματίωσης, αλλά και σε γυναικολογικές παθήσεις. Στην Ιρανική εθνοϊατρική το λευκό τριφύλλι αναφέρεται συχνά ως αποχρεμπτικό, εμμηναγωγό και φυτικό φάρμακο για την ανακούφιση του πόνου της έμμηνου ρήσης. Στο Πακιστάν το *T. repens* χρησιμοποιείται παραδοσιακά ως αντιρευματικό και τονωτικό, καθώς και ως φάρμακο για οφθαλμικές παθήσεις, ενώ το υπέργειο μέρος του φυτού χορηγείται ως καταπραϋντικό και αντιπυρετικό φάρμακο. Στην Κουρδική εθνοϊατρική το λευκό τριφύλλι απαντάται ως αναλγητικό φάρμακο και έναντι δερματικών παθήσεων, ενώ στην Ινδία, ο φρέσκος χυμός του υπέργειου τμήματος του τριφυλλίου χρησιμοποιείται

επιδερμικά για την καταπολέμηση της πιτυρίδας, ενώ ολόκληρο το φυτό χρησιμοποιείται ως φάρμακο για τη βελτίωση της μνήμης ή ως παραδοσιακό παρασκεύασμα αποπαρασίτωσης. Στην Τουρκία το υπέργειο τμήμα του γίνεται αφέψημα με καταπραϋντικές ιδιότητες και χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των γαστρικών διαταραχών (Kolodziejczyk-Czepas, 2016).

Όσον αφορά το φυτοχημικό περιεχόμενο του είδους, μελέτες έχουν δείξει ότι είναι πλούσιο σε πολυφαινόλες που ανήκουν σε διαφορετικές ομάδες, όπως φλαβονοειδή, ισοφλαβόνες, σαπωνίνες, κουμεστάνες και ταννίνες (Ahmad και Zeb, 2020), ενώ άλλες έρευνες έχουν αποδείξει ότι το *T. repens* αποτελεί μια καλή πηγή των καροτενοειδών λουτεΐνη και β-καροτένιο, ενώ περιέχει και ποσότητες α-τοκοφερόλης (Elgersma και άλλοι, 2013).

Το έτερο φυτό του γένους που μελετήθηκε στη διατριβή είναι το *T. physodes* που συγκαταλέγεται στα άγρια είδη του γένους. Το φυτό αυτό αναγνωρίστηκε και καταγράφηκε για πρώτη φορά το 1808 από τον Steven ex M.Bieb (“*Trifolium physodes* Steven ex M.Bieb.”). Έκτοτε υπάρχουν ελάχιστες μελέτες για το φυτό, αφού στη βάση δεδομένων Scopus εμφανίζονται μόνο επτά σχετικές δημοσιεύσεις και καμία από αυτές δεν αναφέρεται στο φυτοχημικό και βιοδραστικό του περιεχόμενο.

2.4.4. Γένος *Lathyrus*

Το *Lathyrus* είναι ένα από τα γένη που απαρτίζουν τα ψυχανθή της οικογένειας των *Fabaceae* και περιέχει περίπου 160 είδη. Φυτά του γένους απαντώνται σε εύκρατες και τροπικές περιοχές της Ευρώπης (52 είδη), της Βόρειας και Νότιας Αμερικής (30 και 24 είδη, αντίστοιχα), της Ασίας (78 είδη) και της Ανατολικής Αφρικής (24 είδη) (Asmussen και Liston, 1998). Το γένος αυτό περιλαμβάνει ετήσια και πολυετή, αναρριχώμενα ή θαμνώδη φυτά (Fred και άλλοι, 2002).

Πολλά είδη *Lathyrus* καλλιεργούνται και ως καλλωπιστικά φυτά, όπως τα *L. odoratus* (μοσχομπίζελο) και *L. latifolius*. Τα άνθη τους απαντώνται σε μία ποικιλία χρωμάτων (κόκκινο, ροζ, λευκό, κίτρινο, μπλε κλπ) ή/και ως δίχρωμα. Επιπλέον, πολλά είδη *Lathyrus* καλλιεργούνται και για το άρωμά τους (Barrow και άλλοι, 1974).

Το *L. sativus* που μελετήθηκε στη διατριβή είναι ένα είδος του γένους που εμφανίζεται σε μεγάλη ποικιλία, με δυο κύριες μορφές. Η πρώτη έχει μπλε άνθη και απαντάται σε νοτιοδυτική Ασία, Αιθιοπία και Ινδία ενώ η δεύτερη έχει λευκά ή λευκά-

μπλε άνθη και είναι περισσότερο διαδεδομένη στη Δύση (Jackson και Yunus, 1984). Είναι κυρίως γνωστό ως το βρώσιμο λαθούρι που καλλιεργείται από την νεολιθική εποχή έως σήμερα. Είναι χαρακτηριστικό ότι σπέρματα λαθουριού έχουν βρεθεί σε αρχαιολογικές ανασκαφές σε Τουρκία και Ιράκ, ενώ στο παρελθόν εντοπίστηκαν και σε ανασκαφές στην Ινδία που χρονολογούνται από το 2.500 π.Χ., ενώ στα Βαλκάνια έχουν βρεθεί από το 8.000 π.Χ. (Lambein και άλλοι, 2019). Είναι μια εύρωστη καλλιέργεια οσπρίων που είναι πολύ ανθεκτική στις κλιματικές αλλαγές (Barpete και άλλοι, 2022; Lambein και άλλοι, 2019) και έχει χρησιμοποιηθεί ως κύρια τροφή επιβίωσης σε περιόδους λιμών που προκαλούνται από την ξηρασία. Το ανθεκτικό διεσδυτικό ριζικό σύστημα του φυτού επιτρέπει την καλλιέργειά του σε διάφορους τύπους εδάφους, ενώ δρα και ως αποτελεσματικός σταθεροποιητής αζώτου. Ωστόσο, σε αρχαία Ινδία και αρχαία Ελλάδα, η υπερκατανάλωση των σπόρων του είχε συνδεθεί με μια νευρολογική διαταραχή που αργότερα ονομάστηκε νευρολαθουρισμός (Lambein και άλλοι, 2019), η οποία οφείλεται στην νευροτοξίνη N-οξαλυλο-L-α,β-διάμινο προπιονικό οξύ που περιέχεται σε ποικίλα μέρη του φυτού (Barpete και άλλοι, 2022).

Όσον αφορά το φυτοχημικό του περιεχόμενο, έχει διαπιστωθεί ότι περιέχει αλκαλοειδή, φλαβονοειδή, τερπένια, φαινόλες, ταννίνες, ενώ εμπεριέχει και μεγάλες ποσότητες πρωτεϊνών και αμινοξέων. Το μεθανολικό εκχύλισμα του φυτού έχει αναλγητική, αντιπυρετική και κατασταλτική δράση έναντι του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) (Bhattacharjee και άλλοι, 2018).

Στη διατριβή μελετήθηκε το *L. laxiflorus* που περιλαμβάνεται στα άγρια είδη του γένους και δεν έχει μελετηθεί αρκετά (βάση δεδομένων Scopus 13 δημοσιεύσεις). Οι σχετικές μελέτες αφορούν κυρίως πληθυσμούς της Ελλάδας και της Τουρκίας και δείχνουν ότι εμφανίζει καλή αντιοξειδωτική δράση (Heydari και άλλοι, 2015; Spanou και άλλοι, 2012), ενώ έρευνα που αφορά τη δράση του στην αναστολή ενζύμων έδειξε ότι τα υδατικά και μεθανολικά εκχυλίσματα των υπέργειων φυτικών μερών του *L. laxiflorus* έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις το ένζυμο καταλάση (Spanou και άλλοι, 2012). Σε μια άλλη έρευνα που αφορά την αντιμικροκροβιακή δράση του φυτού παρατηρήθηκε ότι τα εκχυλίσματα μεθανόλης, εξανίου και χλωροφορμίου του φυτού εμφανίζουν δράση έναντι του *C. albicans*, ενώ

το υδατικό εκχύλισμά του είναι αποτελεσματικό έναντι του *B. subtilis* (Heydari και άλλοι, 2019).

Ένα άλλο φυτό του γένους που μελετήθηκε στο πλαίσιο της διατριβής είναι το *L. clymennum*, ένα ιδιαίτερο φυτό του γένους που φύεται στη Μεσόγειο. Τα σπέρματα που παράγονται στην Ελλάδα είναι η γνωστή φάβα Σαντορίνης που αποτελεί προϊόν ΠΟΠ (Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης). Η φάβα Σαντορίνης έχει μια ιδιαίτερα υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη με ποσοστό περίπου 20% (Drivelos και άλλοι, 2016) και καλλιεργείται για 3.500 χρόνια στο νησί της Σαντορίνης και τα γειτονικά νησιά Ανάφη και Κάρπαθο. Σε όλα τα άλλα μέρη το φυτό είναι γνωστό μόνο ως άγριο είδος (Saraki και Jones, 1990).

2.4.5. Γένος *Vicia*

Στην οικογένεια των *Fabaceae* εντάσσεται και το γένος *Vicia* που περιλαμβάνει περισσότερα από 240 είδη ανθοφόρων φυτών, με τα περισσότερα να είναι κυρίως γνωστά ως βίκoi. Τα είδη του γένους απαντώνται σε Ευρώπη, Αμερική, Ασία και Αφρική (Bennett και Cocks, 1999; Salehi και άλλοι, 2021).

Ένα από τα πρώτα είδη του γένους που καλλιεργήθηκε ήταν το *V. ervilia*, γνωστό και ως πικρός βίκος. Καλλιεργήθηκε για πρώτη φορά στην Εγγύς Ανατολή πριν από περίπου 9.500 χρόνια, ενώ ένα ακόμα είδος που καλλιεργήθηκε αρκετά νωρίς είναι το *V. faba* του οποίου η πρώτη καλλιέργεια χρονολογείται περίπου πριν από 7.000 χρόνια (Zohary και άλλοι, 2012).

Το είδος *V. faba* που μελετήθηκε στη διατριβή λόγω των χιλιάδων χρόνων καλλιέργειάς του απαντάται πλέον ως πολλές διαφορετικές καλλιεργούμενες ποικιλίες. Έτσι είναι δύσκολη ταξινόμησή του που περιλαμβάνει τις παρακάτω τέσσερις κύριες ομάδες: *V. faba* var. *major* (μεγάλα, πλατιά και επίπεδα σπέρματα), *V. faba* var. *equina* (μεσαίου μεγέθους και με εύρος σπέρματα), *V. faba* var. *Minor* (μικρά, στρογγυλά σπέρματα), *V. faba* var. *raucijuga* (μικρά σπέρματα, καλλιεργείται στην κεντρική Ασία). Συχνά διαχωρίζεται και σε μόνο δύο ποικιλίες, την *V. faba* var. *major* με μεγάλα σπέρματα και την *V. faba* var. *minor* με μικρά σπέρματα (Kirk, 2004). Σε μελέτες του είδους που αφορούν τις ποικιλίες του έχει διαπιστωθεί ότι περιέχουν πολυφαινολικές χημικές ενώσεις και εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση (Chaieb και άλλοι, 2011). Τα σπέρματα του *V. faba* είναι τα γνωστά κουκιά και περιέχουν κάποιες

τοξίνες και λεκτίνες, οι οποίες, όμως καταστρέφονται κατά το μαγείρεμα καθώς δεν είναι ανθεκτικές στις υψηλές θερμοκρασίες (Hone και άλλοι, 1978).

Το είδος *V. faba* χρησιμοποιείται στην παραδοσιακή ιατρική αρκετών χωρών αφού έχει καταγραφεί η χρήση του για την καταπολέμηση της αναιμίας, ελονοσίας, της νόσου του Parkinson και τον έλεγχο της υπέρτασης. Στην λαϊκή ιατρική της Τουρκίας χρησιμοποιείται ως διουρητικό, ενώ στην παλαιστινιακή παραδοσιακή ιατρική χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση των διαταραχών του προστάτη. Στην κεντρική Ιταλία το αφέψημα των αποξηραμένων σπόρων του *V. faba* χρησιμοποιείται για πλύσεις των οφθαλμών, ενώ στην κεντροανατολική Ιταλία τα σπέρματά του χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία των μωλώπων. Το αφέψημα των φύλλων του φυτού χρησιμοποιείται στα Κανάρια Νησιά για την επούλωση εγκαυμάτων, ενώ στη Βοσνία-Ερζεγοβίνη τα άνθη και τα σπέρματα του *V. faba* χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία των νεφρικών παθήσεων, των φλεγμονών της ουροδόχου κύστης και κατά των δερματικών παθήσεων (Salehi και άλλοι, 2021).

Ένα ακόμα είδος του γένους *Vicia* που μελετήθηκε στο πλαίσιο της διατριβής είναι ο κοινός βίκος, το *V. sativa* που αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα οικονομικά όσπρια παγκοσμίως. Παρότι προέρχεται από τις άνυδρες περιοχές της Μέσης Ανατολής, πλέον καλλιεργείται ευρέως σε πολλές περιοχές του κόσμου επειδή αποτελεί μια χαμηλού κόστους πλούσια πηγή πρωτεϊνών και μετάλλων και παίζει σημαντικό ρόλο ως τροφή για την κτηνοτροφία αλλά και τη διατροφή του ανθρώπου, ειδικά σε περιόδους λοιμών. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι σήμερα το *V. sativa* βρίσκει σημαντικές εφαρμογές στη διατροφή των χορτοφάγων ως μια πολύ καλή πηγή πρωτεϊνών και απαραίτητων μετάλλων (Huang και άλλοι, 2017).

Το αφέψημα των φύλλων του *V. sativa* χρησιμοποιείται παραδοσιακά ως τονωτικό, ενώ έχουν αναφερθεί και αρκετές περιπτώσεις χρήσης του έναντι του άσθματος. Στην Ινδία χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση παθήσεων του κυκλοφορικού και του αναπνευστικού συστήματος. Στον Λίβανο το θρυμματισμένο αλεύρι του σπόρου *V. sativa* χρησιμοποιείται ως θεραπεία έναντι των ρευματισμών (Salehi και άλλοι, 2021).

Σε μελέτη του 2009 το αιθανολικό εκχύλισμα του υπέργειου τμήματος του φυτού *V. sativa* έδειξε πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση και συγκεκριμένα, παρόμοια

με αυτή του BHT (Megías και άλλοι, 2009), ενώ σε έρευνα του 2004 το ίδιο εκχύλισμα είχε επιδείξει μια πολύ καλή αντιφλεγμονώδη δράση (Salehi και άλλοι, 2021).

2.4.6. Γένος *Bituminaria*

Το γένος *Bituminaria* είναι ένα μικρό σε πληθυσμό γένος, το οποίο αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά το 1759 ("GENUS: *Bituminaria* Heist. ex Fabr."). Όσον αφορά το φυτοχημικό του περιεχόμενο είναι μια γνωστή πηγή φουρανοκουμαρινών, με αποτέλεσμα η γραμμική αρχετυπική ένωση φουρο[3,2-g]-βενζοπυραν-7-ονιο να ονομαστεί ψωραλένιο από την παλαιότερη ονομασία του γένους που ήταν *Psoralea*. Όμως, η παρουσία των φουρανοκουμαρινών δεν είναι το κύριο χαρακτηριστικό του γένους, αφού το προφίλ των δευτερογενών μεταβολιτών του χαρακτηρίζεται κυρίως από την παρουσία χημικών ενώσεων, όπως είναι τα ισοφλαβονοειδή και τα μεροτερπενοειδή. Γνωστά είδη του γένους είναι τα φυτά *B. bituminosa* L., *B. americana* L. και *B. licata* Del.

Το είδος που μελετήθηκε στη διατριβή είναι το *B. bituminosa* που βρίσκεται κατανεμημένο σε όλη την παράκτια περιοχή της Μεσογείου και χρησιμοποιείται παραδοσιακά για τη θεραπεία των σπασμών, της επιληψίας και του πυρετού. Σε μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας του φυτού αποδείχτηκε ότι το βουτανολικό του εκχύλισμα είναι δραστικό. Το χλωροφορμικό του εκχύλισμα επιδεικνύει μια πολύ καλή αντιβακτηριακή δράση έναντι των στελεχών *S. aureus*, *K. pneumoniae* και *E. coli* ενώ το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα είναι δραστικό έναντι των *Enterobacter* sp., *K. pneumoniae*, *E. coli* και *P. Mirabilis* (Azzouzi και άλλοι, 2014).

2.4.7. Γένος *Medicago*

Το *Medicago* είναι ένα από τα γένη που απαρτίζουν τα ανθοφόρα φυτά της οικογένειας *Fabaceae*, με τουλάχιστον 87 είδη βοτάνων και θάμνων που εξαπλώνονται από τη Μεσόγειο έως και την κεντρική Ασία. Στο γένος περιλαμβάνεται η ευρέως καλλιεργούμενη κτηνοτροφική καλλιέργεια *M. sativa* L. (μηδική, αλφαλφα) και το γνωστό είδος *M. truncatula*. Στην οικογένεια των *Fabaceae* περιέχονται και τα γένη *Trigonella* και *Melilotus* που θεωρούνται αδελφικά του *Medicago*. Αναλύσεις που έχουν γίνει στην πυρηνική ριβοσωμική εσωτερική μεταγραφόμενη περιοχή διαχωρισμού (nrDNA ITS) αλλά και την πλευρική εξωτερική μεταγραφόμενη περιοχή διαχωρισμού (nrDNA ETS) στα είδη που τα απαρτίζουν έδειξαν ότι στο γονίδιο *matK*

που κωδικοποιείται από πλαστίδιο υπάρχει μια σημαντική διαφορά που διαχωρίζει το γένος *Medicago*. Επιπλέον, τα είδη *Medicago* περιέχουν αιμολυτικές σαπωνίνες οι οποίες δεν έχουν εντοπιστεί στα είδη *Trigonella* και *Melilotus*. Τέλος, τα είδη *Medicago* συσσωρεύουν βεσιτόλη και σατιβάνη οι οποίες απουσιάζουν από τα άλλα δύο γένη (Steele και άλλοι, 2010).

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε η μηδική (*Medicago sativa* L.), ένα πολυετές φυτό που καλλιεργείται ευρύτατα για την παραγωγή ζωοτροφών υψηλής ποιότητας, καθώς και για τη βελτίωση της γονιμότητας των εδαφών. Η μηδική αποτελεί τη σημαντικότερη κτηνοτροφική καλλιέργεια στη Βόρεια Αμερική όπου καταλαμβάνει περίπου 26 εκατομμύρια στρέμματα στις ΗΠΑ. Επίσης, επειδή η μηδική μετασχηματίζεται εύκολα γενετικά συχνά θεωρείται ως το ιδανικό φυτό για χρήση σε μεγάλης κλίμακας παραγωγή διαγονιδιακών προϊόντων (Sedaghati και Hokmabadi, 2014).

Το *M. sativa* έχει μακρά παράδοση ως Αγιουρβεδικό και ομοιοπαθητικό φάρμακο για την καταπολέμηση των διαταραχών του ΚΝΣ και του πεπτικού συστήματος. Παραδοσιακά, η μηδική χορηγείται για τη βελτίωση της μνήμης, τη θεραπεία του πόνου στα νεφρά, του βήχα, του μυϊκού πόνου, αλλά και ως αναζωογονητικό, αντιδιαβητικό, αντιοξειδωτικό, αντιφλεγμονώδες, αντιμυκητιακό, αντιασθματικό, αντιμικροβιακό και διουρητικό. Στην Κίνα χρησιμοποιείται από τον 6^ο αιώνα έναντι του πυρετού, της δυσουρίας, αλλά και για την ανακούφιση από την κατακράτηση υγρών, το πρήξιμο και τη θεραπεία των λίθων στα νεφρά. Στην Ινδία, οι Αγιουρβεδικοί γιατροί χρησιμοποιούν το φυτό για τη θεραπεία των ελκών, του πόνου της αρθρίτιδας και της κατακράτησης υγρών. Στο Μεξικό το *M. sativa* χρησιμοποιείται για τη βελτίωση της μνήμης, τη θεραπεία των μυϊκών πόνων και των φλεγμονών. Στο Ιράκ το είδος αυτό χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της αρθρίτιδας, ενώ στην Τουρκία χρησιμοποιείται ως καρδιοτονωτικό, αλλά και για τη θεραπεία του σκορβούτου.

Όσον αφορά το φυτοχημικό της περιεχόμενο, η *M. sativa* έχει αποδειχτεί ότι περιέχει ποικίλα φυτοχημικά όπως αλκαλοειδή, καροτενοειδή, κουμαρίνες, σαπωνίνες και φλαβονοειδή, ενώ αποτελεί και πλούσια πηγή αμινοξέων και πολύτιμων για την υγεία μετάλλων (Bora και Sharma, 2011).

2.4.8. Γένος *Pisum*

Το γένος *Pisum* αποτελεί ένα πολύ μικρό γένος της οικογένειας *Fabaceae*. Ο J. Hutchinson θεωρεί ότι το γένος αυτό, μαζί με τα *Cicer*, *Lathyrus*, *Lens* και *Vicia*, συνιστούν τη φυλή των *Vicieae* (Halevy, 2019). Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε ο αρακάς (*P. sativum*), το γνωστότερο είδος από τα φυτά του γένους αυτού που χρησιμοποιείται για τη διατροφή ανθρώπων και ζώων ως μια φθηνή, άμεσα διαθέσιμη πηγή πρωτεΐνης, σύνθετων υδατανθράκων, βιταμινών και μετάλλων. Η υψηλή θρεπτική αξία του αρακά τον καθιστά πολύτιμο προϊόν διατροφής, ικανό να καλύψει τις διατροφικές ανάγκες των εκτιμώμενων 800-900 εκατομμυρίων υποσιτισμένων ατόμων παγκοσμίως.

Οι δευτερογενείς μεταβολίτες που περιέχονται στα σπέρματα του *P. sativum* αφορούν ποικίλες θετικές επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου που σχετίζονται με τη μεγάλη ποικιλία φυτοχημικών ουσιών που εμπεριέχουν, όπως οι φαινολικές ενώσεις, τα φυτικά άλατα, οι σαπωνίνες και τα οξαλικά άλατα. Τα κύρια φαινολικά συστατικά των σπερμάτων ψυχανθών είναι ταννίνες, φαινολικά οξέα και φλαβονοειδή, μόρια γνωστά για την ικανότητά τους να δρουν ως αντιοξειδωτικά. Βέβαια, έχει αποδειχτεί ότι η υψηλότερη συγκέντρωση των περισσότερων φαινολικών εμφανίζεται στο κάλυμμα του σπόρου, ιδιαίτερα στις ποικιλίες με σκουρόχρωμο σπόρο, γεγονός που συσχετίστηκε αργότερα με την αντιοξειδωτική δράση των ποικιλιών αρακά/μπιζελιού καθώς αποδείχτηκε ότι όσο πιο έντονο είναι το χρώμα του τριχώματος του σπόρου τόσο υψηλότερη είναι η αντιοξειδωτική τους δράση.

Η κατανάλωση των σπερμάτων του *P. sativum* έχει αποδειχτεί ότι επιφέρει θετικές επιδράσεις στη διατήρηση της μεταβολικής, καρδιαγγειακής και γαστρεντερικής υγείας στον άνθρωπο σε σειρά επιδημιολογικών και παρεμβατικών μελετών και σε *in vitro* πειράματα (Dahl και άλλοι, 2012).

2.4.9. Γένος *Phaseolus*

Το γένος *Phaseolus* περιλαμβάνει 70 είδη, τα οποία είναι φυτά ποώδη ή ξυλώδη, μονοετή ή πολυετή, όλα εγγενή της Μεσοαμερικής (Delgado-Salinas και άλλοι, 2011). Το γνωστότερο είδος του γένους είναι το κοινό φασόλι (*P. vulgaris* L.), φυτό που μελετήθηκε στο πλαίσιο της διατριβής. Παρότι ο ακριβής τύπος προέλευσης του *P. vulgaris* δεν είναι γνωστός, θεωρείται ως μία καλλιέργεια του Νέου Κόσμου αν

και σήμερα καλλιεργείται εκτενώς σε όλο τον πλανήτη (Graham και Ranalli, 1997). Στο Μεξικό και στην Κεντρική Αμερική έχει αναγνωριστεί ένα άγριο είδος οσπρίου που θεωρείται ως ο πρόγονος του καλλιεργούμενου *P. vulgaris*, γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι προέρχεται από την Αμερική (Gentry, 1969). Το φασόλι αποτελεί μια σημαντική πηγή διατροφικής πρωτεΐνης για όλη τη Λατινική Αμερική και την Ανατολική Αφρική (Graham και Ranalli, 1997), ενώ περιέχει κατά 2% λιπίδια με πολύτιμη σύνθεση λιπαρών οξέων, όπως παλμιτικό, ελαϊκό και λινολεϊκό οξύ.

Τα φασόλια αποτελούν μια πολύ καλή πηγή φαινολικών μορίων όπως ανθοκυανίνες, φλαβονόλες, προανθοκυανιδίνες, ταννίνες και ένα ευρύ φάσμα φαινολικών οξέων. Οι ανθοκυανίνες εντοπίζονται μόνο στα μαύρα και μπλε-ιώδη φασόλια, ενώ οι προανθοκυανιδίνες υπάρχουν σχεδόν σε όλες τις ποικιλίες. Τα φαινολικά μόρια των φασολιών έχουν τη δυνατότητα να δρουν ως αντιοξειδωτικοί και αντιμεταλλαξιγόνοι παράγοντες, αφού διαθέτουν την ικανότητα να περιορίζουν την ανάπτυξη έναρξης ελεύθερων ριζών χηλιώνοντας τα μεταλλικά ιόντα ή αναστέλλοντας τα ένζυμα που εμπλέκονται στη διαδικασία παραγωγής των ριζών (Hayat και άλλοι, 2014).

Όσον αφορά τη βιοδραστικότητά του, τα σπέρματα του *P. vulgaris* προστατεύουν τα νεφρά από τον σχηματισμό λίθων ενώ σε *in vitro* μελέτες σε μεθανολικά και υδατικά εκχυλίσματα του φυτού βρέθηκε ότι εμφανίζουν λιπολυτική δράση (M Devi και άλλοι, 2020).

2.4.10. Γένος *Lens*

Τα φυτά του γένους *Lens* είναι ανθοφόρα φυτά που εντάσσονται στην οικογένεια των ψυχανθών. Είναι γνωστά κυρίως τα εδώδιμα σπέρματά τους, με γνωστότερες τις φακές. Το γένος αυτό περιέχει μόνο τα παρακάτω τέσσερα είδη φυτών: *L. odemensis* (ή *L. culinaris* subsp. *odemensis*), *L. tomentosus* (ή *L. culinaris* subsp. *tomentosus*), *L. orientalis* (ή *L. culinaris* subsp. *orientalis*) και *L. culinaris* (ή *L. culinaris* subsp. *culinaris*). Στη διατριβή μελετήθηκε η κοινή φακή που είναι το συχνότερα καταναλωμένο σπέρμα του *L. culinaris* (Wong και άλλοι, 2015).

Η φακή καλλιεργείται κυρίως για τη διατροφή του ανθρώπου. Για πολλά χρόνια η Ινδία ήταν η χώρα με τη μεγαλύτερη παραγωγή φακής, αφού μαζί με το Πακιστάν και το Μπαγκλαντές παρήγαγαν περίπου το 38% της παγκόσμιας

παραγωγής. Όμως σήμερα, η χώρα με την μεγαλύτερη παραγωγή φακής είναι ο Καναδάς (Bhatty, 1988; Faris και άλλοι, 2013). Η φακή, όπως και τα υπόλοιπα σπέρματα ψυχανθών, περιέχει μεγάλες ποσότητες πρωτεΐνης, ενώ η περιεκτικότητά της σε λίπος είναι <1% (Bhatty, 1988).

Το φυτοχημικό περιεχόμενο των σπερμάτων του είδους *L. culinaris* είναι πλούσιο σε ταννίνες και συγκεκριμένα στη συμπυκνωμένη μορφή τους. Επιπλέον, είναι μια πλούσια πηγή φυτοστερολών και διαιτητικών ινών. Η πλούσια σε φακές διατροφή προσφέρει αρκετά οφέλη για την υγεία αφού λόγω της σημαντικής αντιοξειδωτικής τους δράσης συμβάλλουν στη βελτίωση της καρδιαγγειακής υγείας. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι η κατανάλωσή τους βοηθά στη ρύθμιση του διαβήτη και του σωματικού βάρους (Faris και άλλοι, 2013).

2.4.11. Γένος *Glycine*

Τα φυτά του γένους *Glycine* ανήκουν στην οικογένεια των ψυχανθών (*Fabaceae*), με γνωστότερο είδος τη σόγια (*Glycine max*). Η πλειονότητα των ειδών που απαρτίζουν το γένος βρίσκεται στην Αυστραλία, αλλά υπάρχουν είδη που εκτείνονται από την Αυστραλία έως και την Ανατολική Ασία (π.χ., *G. tomentella* και *G. tabacina*). Στη διατριβή μελετήθηκε το ιθαγενές στην Ανατολική Ασία είδος *G. max* που είναι ο κύριος αντιπρόσωπος του γένους ("Genus *Glycine*").

Η σόγια είναι ένα υποτροπικό φυτό της νοτιοανατολικής Ασίας και αποτελεί βασικό προϊόν της διατροφής των Ασιατών για τουλάχιστον 5.000 χρόνια. Κατά τη διάρκεια της δυναστείας του Chou στην Κίνα ανακαλύφθηκαν τεχνικές ζύμωσης που επέτρεπαν στη σόγια να μετατραπεί σε πιο εύπεπτες μορφές όπως τα *tempeh*, *miso* και η σάλτσα σόγιας *tamari*, ενώ το τόφου είναι ένα ακόμα προϊόν επεξεργασίας της σόγιας που εφευρέθηκε στην Κίνα αργότερα. Η καλλιέργεια της σόγιας εισήχθη στην Ευρώπη το 1700 και στις Ηνωμένες Πολιτείες το 1800, με αποτέλεσμα σήμερα μόνο το 45% της παραγωγής της σόγιας να γίνεται στην Ανατολική Ασία και το υπόλοιπο 55% στην Αμερικανική ήπειρο. Κορυφαίοι παραγωγοί σόγιας είναι η Βραζιλία, η Αργεντινή, η Παραγουάη, η Κίνα και η Ινδία (Badole και Bodhankar, 2013). Ο μεγάλος όγκος παραγωγής της σόγιας οφείλεται στις πολυποίκιλες χρήσεις της, με κυριότερες τη διατροφή των ζώων (κυρίως εκτροφές πουλερικών και χοιρινών) και η χρήση της ως βιοκαυσίμου (Gresshoff, 2017).

Η σόγια έχει υψηλή περιεκτικότητα σε ισοφλαβόνες και έρευνα σε ηπατικά κύτταρα HepG2 και Huh-7 να δείξει ότι η παρουσία των ισοφλαβονών οδηγεί σε αυξημένη δραστηριότητα της καταλάσης. Η παρατήρηση αυτή, σε συνδυασμό με επιδημιολογική μελέτη στην Ιαπωνία που απέδειξε ότι η κατανάλωση σόγιας μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκινώματος στα ηπατικά κύτταρα, οδήγησε στο συμπέρασμα ότι η κατανάλωση σόγιας έχει ευεργετική ηπατοπροστατευτική επίδραση (Shukla και Kumar, 2013). Εκτός από τις ισοφλαβόνες, η σόγια περιέχει και άλλα δραστικά μόρια, όπως είναι αλκαλοειδή, φυτοστερόλες, ταννίνες, αμινοξέα κλπ, ενώ έχει αποδειχτεί και η αντιμικροβιακή της δράση έναντι ορισμένων μικροοργανισμών, όπως τα *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* και *Pseudomonas alcaligenes* (Mamta και άλλοι, 2013).

Βιβλιογραφία

- Abbo, S., Pinhasi van-Oss, R., Gopher, A., Saranga, Y., Ofner, I., Peleg, Z., 2014. Plant domestication versus crop evolution: a conceptual framework for cereals and grain legumes. *Trends in Plant Science* 19, 351–360. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.12.002>
- Ahmad, S., Zeb, A., 2020. Phytochemical profile and pharmacological properties of *Trifolium repens*. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 0. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2020-0015>
- Ali Esmail Al-Snafi, Hanaa Salman Khadem, Hussein Ali Al-Saedy, Ali M. Alqahtani, Gaber El-Saber Batiha, Jafari-Sales Abolfazl, 2021. A review on *Medicago sativa*: A potential medicinal plant. *Int. J. Biol. Pharm. Sci. Arch.* 1, 022–033. <https://doi.org/10.30574/ijbpsa.2021.1.2.0302>
- Ashokkumar, K., Tar'an, B., Diapari, M., Arganosa, G., Warkentin, T.D., 2014. Effect of Cultivar and Environment on Carotenoid Profile of Pea and Chickpea. *Crop Science* 54, 2225–2235. <https://doi.org/10.2135/cropsci2013.12.0827>
- Asmussen, C.B., Liston, A., 1998. Chloroplast DNA characters, phylogeny, and classification of *Lathyrus* (Fabaceae). *Am. J. Bot.* 85, 387–401. <https://doi.org/10.2307/2446332>
- “Astragalus.” *Gardenology.org*. <http://www.gardenology.org/wiki/Astragalus> (Πρόσβαση: 12/6/2022)
- “Astragalus Creticus.” Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων. Accessed August 12, 2022. http://mediplantepirus.med.uoi.gr/pharmacology/plant_details.php?id=167.
- Azzouzi, S., Zaabat, N., Medjroubi, K., Akkal, S., Benlabed, K., Smati, F., Dijoux-Franca, M.-G., 2014. Phytochemical and biological activities of *Bituminaria bituminosa* L. (Fabaceae). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 7, S481–S484. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60278-9](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60278-9)
- Badole, S.L., Bodhankar, S.L., 2013. Glycine max (Soybean) Treatment for Diabetes, in: *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes*. Elsevier, pp. 77–82. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397153-1.00008-1>
- Bar-El Dadon, S., Abbo, S., Reifen, R., 2017. Leveraging traditional crops for better nutrition and health - The case of chickpea. *Trends in Food Science & Technology* 64, 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.04.002>

Barpete, S., Gupta, P., Sen Gupta, D., Kumar, J., Bhowmik, A., Kumar, S., 2022. Neurotoxin (N-Oxalyl-L- α,β -Diamino Propionic Acid) Content in Different Plant Parts of Grass Pea (*Lathyrus sativus* L.) Spanning Seedling to Maturity Stage: Does It Increase over Time? *Molecules* 27, 3683. <https://doi.org/10.3390/molecules27123683>

Barrow, M.V., Simpson, C.F., Miller, E.J., 1974. Lathyrism: A Review. *The Quarterly Review of Biology* 49, 101–128. <https://doi.org/10.1086/408017>

Bennett, S.J., Cocks, P.S., 1999. Genetic Resources of Mediterranean Pasture and Forage Legumes. Springer Netherlands : Imprint : Springer, Dordrecht.

Bhattacharjee, S., Waqar, A., Barua, K., Das, A., Bhowmik, S., Debi, S.R., 2018. Phytochemical and pharmacological evaluation of methanolic extract of *Lathyrus sativus* L. seeds. *Clin Phytosci* 4, 20. <https://doi.org/10.1186/s40816-018-0081-z>

Bhatty, R.S., 1988. Composition and Quality of Lentil (*Lens culinaris* Medik): A Review. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 21, 144–160. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(88\)70770-1](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(88)70770-1)

Bora, K.S., Sharma, A., 2011. Phytochemical and pharmacological potential of *Medicago sativa*: A review. *Pharmaceutical Biology* 49, 211–220. <https://doi.org/10.3109/13880209.2010.504732>

Bratkov, V., Shkondrov, A., Zdraveva, P., Krasteva, I., 2016. Flavonoids from the genus *Astragalus*: Phytochemistry and biological activity. *Phcog Rev* 10, 11. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.176550>

Butkutė, B., Lemežienė, N., Dagilytė, A., Cesevičienė, J., Benetis, R., Mikaliūnienė, J., Rodovičius, H., 2016. Mineral Element and Total Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Seeds and Aerial Plant Parts of Perennial Legumes. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 47, 36–45. <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1232092>

Carr, Gerald. “Mimosoideae.” http://www.botany.hawaii.edu/faculty/carr/phylo_mimos.htm (Πρόσβαση: 12/8/2022)

Chaieb, N., González, J.L., López-Mesas, M., Bouslama, M., Valiente, M., 2011. Polyphenols content and antioxidant capacity of thirteen faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes cultivated in Tunisia. Food “*Cicer Incisum*.” [west-crete.com](http://www.west-crete.com). [https://www.west-](https://www.west-crete.com)

crete.com/flowers/cicer_incisum.htm#:~:text=Cicer%20incisum%20is%20a%20tiny%20flower%20from%20the,bottom%20photo%29.%20It%20flowers%20from%20June%20until%20September (Πρόσβαση: 12/8/2022)

“Classification of Fabaceae.” Britannica
<https://www.britannica.com/plant/Fabales/Classification-of-Fabaceae#ref595284>
(Πρόσβαση: 12/6/2022)

Clement-Kruzel, S., Hwang, S.-A., Kruzel, M.C., Dasgupta, A., Actor, J.K., 2008. Immune Modulation of Macrophage Pro-Inflammatory Response by Goldenseal and Astragalus Extracts. *Journal of Medicinal Food* 11, 493–498.
<https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0044>

Dahl, W.J., Foster, L.M., Tyler, R.T., 2012. Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum* L.). *Br J Nutr* 108, S3–S10.
<https://doi.org/10.1017/S0007114512000852>

Delgado-Salinas, A., Thulin, M., Pasquet, R., Weeden, N., Lavin, M., 2011. Vigna (Leguminosae) sensu lato: The names and identities of the American segregate genera. *American Journal of Botany* 98, 1694–1715. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100069>

Drivelos, S.A., Danezis, G.P., Haroutounian, S.A., Georgiou, C.A., 2016. Rare earth elements minimal harvest year variation facilitates robust geographical origin discrimination: The case of PDO “Fava Santorinis.” *Food Chemistry* 213, 238–245.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.088>

Egan, M., Galvin, N., Hennessy, D., 2018. Incorporating white clover (*Trifolium repens* L.) into perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) swards receiving varying levels of nitrogen fertilizer: Effects on milk and herbage production. *Journal of Dairy Science* 101, 3412–3427. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13233>

Elgersma, A., Sørensen, K., Jensen, S.K., 2013. Fatty Acids, α -Tocopherol, β -Carotene, and Lutein Contents in Forage Legumes, Forbs, and a Grass–Clover Mixture. *J. Agric. Food Chem.* 61, 11913–11920. <https://doi.org/10.1021/jf403195v>

Englmaierová, M., Skřivan, M., Vít, T., 2019. Alfalfa meal as a source of carotenoids in combination with ascorbic acid in the diet of laying hens. *Czech J. Anim. Sci.* 64, 17–25. <https://doi.org/10.17221/116/2018-CJAS>

“Fabaceae Plant Family.” Britannica
<https://www.britannica.com/plant/Fabaceae> (Πρόσβαση: 12/8/2022)

“FAMILY 3: Fabaceae – Characters, Floral Formula & Species.” Biology Boom.
<https://biologyboom.com/family-3-fabaceae/> (Πρόσβαση: 15/7/2022)

“Family Fabaceae- Subfamily MIMOSOIDEAE.” PlantNET.
<https://plantnet.rbgsyd.nsw.gov.au/cgi-bin/NSWfl.pl?page=nswfl&lvl=sf&name=MIMOSOIDEAE> (Πρόσβαση: 12/8/2022).

Faris, M.A.-I.E., Takruri, H.R., Issa, A.Y., 2013. Role of lentils (*Lens culinaris* L.) in human health and nutrition: a review. *Mediterr J Nutr Metab* 6, 3–16.
<https://doi.org/10.1007/s12349-012-0109-8>

Fred, E.B., Baldwin, I.L., McCoy, E., Triplett, E.W., 2002. Root nodule bacteria and leguminous plants. Parallel Press, Madison, Wisc.

Gatta, D., Russo, C., Giuliotti, L., Mannari, C., Picciarelli, P., Lombardi, L., Giovannini, L., Ceccarelli, N., Mariotti, L., 2013. Influence of partial replacement of soya bean meal by faba beans or peas in heavy pigs diet on meat quality, residual anti-nutritional factors and phytoestrogen content. *Archives of Animal Nutrition* 67, 235–247. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2013.801137>

Gentry, H.S., 1969. Origin of the Common Bean, *Phaseolus Vulgaris*. *Economic Botany* 23, 55–69.

“GENUS: Bituminaria Heist. Ex Fabr.” n.d. World Flora Online-Plant List. Accessed September 12, 2022. <https://wfoplantlist.org/plant-list/taxon/wfo-4000004689-2022-06>.

“Genus Glycine.” THE WORLDWIDE VEGETABLES
<http://theworldwidevegetables.weebly.com/genus-glycine.html> (Πρόσβαση: 10/10/2022)

Glyan’ko, A.K., 2015. Signaling systems of rhizobia (Rhizobiaceae) and leguminous plants (Fabaceae) upon the formation of a legume-rhizobium symbiosis (Review). *Appl Biochem Microbiol* 51, 494–504.
<https://doi.org/10.1134/S0003683815050063>

Graham, P.H., Ranalli, P., 1997. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops Research* 53, 131–146. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(97\)00112-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(97)00112-3)

Graybosch, R.A., 2016. The Grain Crops: An Overview, in: *Encyclopedia of Food Grains*. Elsevier, pp. 16–21. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394437-5.00001-2>

Gresshoff, P., 2017. Soybean (*Glycine max* L) ☆, in: Reference Module in Life Sciences. Elsevier, p. B9780128096338072000. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.07180-6>

Gupta, H., n.d. An Overview on Family- Papilionaceae.

Halevy, A.H., 2019. Handbook of flowering. Volume IV, 1st ed. CRC Press, Boca Raton.

Hammond, K.J., Hoskin, S.O., Burke, J.L., Waghorn, G.C., Koolgaard, J.P., Muetzel, S., 2011. Effects of feeding fresh white clover (*Trifolium repens*) or perennial ryegrass (*Lolium perenne*) on enteric methane emissions from sheep. *Animal Feed Science and Technology* 166–167, 398–404. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.028>

Hayat, I., Ahmad, A., Masud, T., Ahmed, A., Bashir, S., 2014. Nutritional and Health Perspectives of Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): An Overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54, 580–592. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.596639>

Heydari, H., Çitoğlu, G., Bahadır, Ö., Yilmaz, S., Cöba, T., Tekin, M., 2015. Antioxidant Activity of Five *Lathyrus* L. Species Growing in Turkey. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 12, 369–376.

Heydari, H., Saltan İşcan, G., Eryılmaz, M., Bahadır Acikara, Ö., Yılmaz Sarialtin, S., Tekin, M., Çöban, T., 2019. Antimicrobial and Anti-Inflammatory Activity of Some *Lathyrus* L. (Fabaceae) Species Growing in Turkey. *tjps* 16, 240–245. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2018.86719>

Hove, E.L., King, S., Hill, G.D., 1978. Composition, protein quality, and toxins of seeds of the grain legumes *Glycine max*, *Lupinus* spp., *Phaseolus* spp. *Pisum sativum*, and *Vicia faba*. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 21, 457–462. <https://doi.org/10.1080/00288233.1978.10427434>

Huang, Y.F., Gao, X.L., Nan, Z.B., Zhang, Z.X., 2017a. Potential value of the common vetch (*Vicia sativa* L.) as an animal feedstuff: a review. *J Anim Physiol Anim Nutr* 101, 807–823. <https://doi.org/10.1111/jpn.12617>

Jackson, M.T., Yunus, A.G., 1984. Variation in the grass pea (*Lathyrus sativus* L.) and wild species. *Euphytica* 33, 549–559. <https://doi.org/10.1007/BF00021156>

- Jukanti, A.K., Gaur, P.M., Gowda, C.L.L., Chibbar, R.N., 2012. Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. *Br J Nutr* 108, S11–S26. <https://doi.org/10.1017/S0007114512000797>
- Kiran, Y., Sahin, A., Türkoglu, I., Kursat, M., Emre, I., 2010. Karyology of Seven *Trifolium* L. Taxa Growing in Turkey. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 52. <https://doi.org/10.2478/v10182-010-0027-3>
- Kirk, W.D.J., 2004. Faba bean: *Vicia faba*. *Bee World* 85, 60–62. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2004.11099625>
- Kolodziejczyk-Czepas, J., 2016. *Trifolium* species – the latest findings on chemical profile, ethnomedicinal use and pharmacological properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 68, 845–861. <https://doi.org/10.1111/jphp.12568>
- Krasteva, I., Bratkov, V., Bucar, F., Kunert, O., Kollroser, M., Kondeva-Burdina, M., Ionkova, I., 2015. Flavoalkaloids and Flavonoids from *Astragalus monspessulanus*. *J. Nat. Prod.* 78, 2565–2571. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00502>
- Krasteva, I., Shkondrov, A., Ionkova, I., Zdraveva, P., 2016. Advances in phytochemistry, pharmacology and biotechnology of Bulgarian *Astragalus* species. *Phytochem Rev* 15, 567–590. <https://doi.org/10.1007/s11101-016-9462-4>
- Lambein, F., Travella, S., Kuo, Y.-H., Van Montagu, M., Heijde, M., 2019. Grass pea (*Lathyrus sativus* L.): orphan crop, nutraceutical or just plain food? *Planta* 250, 821–838. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-03084-0>
- Lv, Z.P., Yan, S.J., Li, G., Liu, D., Guo, Y.M., 2019. Genistein improves the reproductive performance and bone status of breeder hens during the late egg-laying period. *Poultry Science* 98, 7022–7029. <https://doi.org/10.3382/ps/pez367>
- M Devi, D., S Dhanalakshmi, D., Govindarajan, G.T., BA Tanisha, T., Sonalika, T., JE Ruth, R., T Avinash, A., Sri, C.J., K Logeswaran, L., Ramasamy, M.N., 2020. A Review on *Phaseolus vulgaris* Linn. *PJ* 12, 1160–1164. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.163>
- Makkar, H.P.S., Tran, G., Heuzé, V., Giger-Reverdin, S., Lessire, M., Lebas, F., Ankers, P., 2016. Seaweeds for livestock diets: A review. *Animal Feed Science and Technology* 212, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.09.018>
- Mamta, A., Satnam, S., Ramandeep, K., 2013. PHYTOCHEMICAL ANALYSIS, PROTEIN CONTENT & ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF SELECTED SAMPLES OF GLYCINE MAX LINN. *IJRET* 02, 570–574. <https://doi.org/10.15623/ijret.2013.0211086>

Mathesius, U., 2022. Are legumes different? Origins and consequences of evolving nitrogen fixing symbioses. *Journal of Plant Physiology* 276, 153765. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2022.153765>

Megías, C., Pastor-Cavada, E., Torres-Fuentes, C., Girón-Calle, J., Alaiz, M., Juan, R., Pastor, J., Vioque, J., 2009. Chelating, antioxidant and antiproliferative activity of *Vicia sativa* polyphenol extracts. *Eur Food Res Technol* 230, 353–359. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1178-x>

Navale, M.R., Bhardwaj, D.R., Bishist, R., Thakur, C.L., Sharma, S., Sharma, P., Kumar, D., Probo, M., 2022. Seasonal variations in the nutritive value of fifteen multipurpose fodder tree species: A case study of north-western Himalayan mid-hills. *PLoS ONE* 17, e0276689. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276689>

Nichols, P.G.H., Loi, A., Nutt, B.J., Evans, P.M., Craig, A.D., Pengelly, B.C., Dear, B.S., Lloyd, D.L., Revell, C.K., Nair, R.M., Ewing, M.A., Howieson, J.G., Auricht, G.A., Howie, J.H., Sandral, G.A., Carr, S.J., de Koning, C.T., Hackney, B.F., Crocker, G.J., Snowball, R., Hughes, S.J., Hall, E.J., Foster, K.J., Skinner, P.W., Barbetti, M.J., You, M.P., 2007. New annual and short-lived perennial pasture legumes for Australian agriculture—15 years of revolution. *Field Crops Research* 104, 10–23. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.03.016>

Niezen, J.H., Robertson, H.A., Sidey, A., Wilson, S.R., 2002. The effect of pasture species on parasitism and performance of lambs grazing one of three grass—white clover pasture swards. *Veterinary Parasitology* 105, 303–315. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00012-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00012-2)

Ponte, P.I.P., Rosado, C.M.C., Crespo, J.P., Crespo, D.G., Mourão, J.L., Chaveiro-Soares, M.A., Brás, J.L.A., Mendes, I., Gama, L.T., Prates, J.A.M., Ferreira, L.M.A., Fontes, C.M.G.A., 2008. Pasture Intake Improves the Performance and Meat Sensory Attributes of Free-Range Broilers. *Poultry Science* 87, 71–79. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00147>

Salehi, B., Abu-Reidah, I.M., Sharopov, F., Karazhan, N., Sharifi-Rad, J., Akram, M., Daniyal, M., Khan, F.S., Abbaass, W., Zainab, R., Carbone, K., Fahmy, N.M., Al-Sayed, E., El-Shazly, M., Lucarini, M., Durazzo, A., Santini, A., Martorell, M., Pezzani, R., 2021. *Vicia* plants—A comprehensive review on chemical composition and

phytopharmacology. *Phytotherapy Research* 35, 790–809.
<https://doi.org/10.1002/ptr.6863>

Sarpaki, A., Jones, G., 1990. Ancient and Modern Cultivation of *Lathyrus Clymenum* L. in the Greek Islands. *The Annual of the British School at Athens* 85, 363–368.

Sedaghati, E., Hokmabadi, H., 2014. Safety of Food and Beverages: Oilseeds and Legumes, in: *Encyclopedia of Food Safety*. Elsevier, pp. 331–339.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00443-1>

Sharma, K.R., Giri, G., 2022. Quantification of Phenolic and Flavonoid Content, Antioxidant Activity, and Proximate Composition of Some Legume Seeds Grown in Nepal. *International Journal of Food Science* 2022, 1–8.
<https://doi.org/10.1155/2022/4629290>

Shi, Z., Liu, Y., Hu, Z., Liu, L., Yan, Q., Geng, D., Wei, M., Wan, Y., Fan, G., Yang, H., Yang, P., 2022. Effect of radiation processing on phenolic antioxidants in cereal and legume seeds: A review. *Food Chemistry* 396, 133661.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133661>

Shkondrov, A., Simeonova, R., Kondeva-Burdina, M., Vitcheva, V., Krasteva, I., 2015. Study to Evaluate the Antioxidant Activity of *Astragalus glycyphyllos* Extract in Carbon Tetrachloride-Induced Oxidative Stress in Rats. *EJMP* 7, 59–66.
<https://doi.org/10.9734/EJMP/2015/16259>

Shukla, S.K., Kumar, V., 2013. Bioactive Foods and Supplements for Protection against Liver Diseases, in: *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease*. Elsevier, pp. 557–567. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397154-8.00019-1>

Singh, B., Singh, J.P., Kaur, A., Singh, N., 2017. Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A review. *Food Research International* 101, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.026>

Solomon, J.K.Q., 2022. Legumes for animal nutrition and dietary energy, in: *Advances in Legumes for Sustainable Intensification*. Elsevier, pp. 227–244.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85797-0.00026-4>

Spanou, C.I., Veskoukis, A.S., Stagos, D., Liadaki, K., Aligiannis, N., Angelis, A., Skaltsounis, A.-L., Anastasiadi, M., Haroutounian, S.A., Kouretas, D., 2012. Effects of

Greek legume plant extracts on xanthine oxidase, catalase and superoxide dismutase activities. *J Physiol Biochem* 68, 37–45. <https://doi.org/10.1007/s13105-011-0117-z>

Sprent, J.I., Ardley, J., James, E.K., 2017. Biogeography of nodulated legumes and their nitrogen-fixing symbionts. *New Phytol* 215, 40–56. <https://doi.org/10.1111/nph.14474>

Steele, K.P., Ickert-Bond, S.M., Zarre, S., Wojciechowski, M.F., 2010. Phylogeny and character evolution in *Medicago* (Leguminosae): Evidence from analyses of plastid *trnK/matK* and nuclear *GA3ox1* sequences. *American Journal of Botany* 97, 1142–1155. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000009>

Tan, B., Vanitha, J., 2004. Immunomodulatory and Antimicrobial Effects of Some Traditional Chinese Medicinal Herbs: A Review. *CMC* 11, 1423–1430. <https://doi.org/10.2174/0929867043365161>

Thomas, B.J., Fychan, R., McCalman, H.M., Sanderson, R., Thomas, H., Marley, C.L., 2023. *Vicia sativa* as a grazed forage for lactating ewes in a temperate grassland production system. *Food and Energy Security* 12. <https://doi.org/10.1002/fes3.374>

“*Trifolium Physodes* Steven Ex M.Bieb.” n.d. Royal Botanic Gardens Kew. Accessed August 12, 2022. <https://powo.science.kew.org/taxon/523545-1>.

Tucak, M., Horvat, D., Cupic, T., Krizmanic, G., Tomas, V., Ravlic, M., Popovic, S., 2018. Forage Legumes as Sources of Bioactive Phytoestrogens for Use in Pharmaceuticals: A Review. *CPB* 19, 537–544. <https://doi.org/10.2174/1389201019666180730165917>

Ullah, M., Khan, M.U., Mahmood, A., Malik, R.N., Hussain, M., Wazir, S.M., Daud, M., Shinwari, Z.K., 2013. An ethnobotanical survey of indigenous medicinal plants in Wana district south Waziristan agency, Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology* 150, 918–924. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.09.032>

van Oss, R., Abbo, S., Eshed, R., Sherman, A., Coyne, C.J., Vandemark, G.J., Zhang, H.-B., Peleg, Z., 2015. Genetic Relationship in *Cicer* Sp. Expose Evidence for Gene flow between the Cultigen and Its Wild Progenitor. *PLoS ONE* 10, e0139789. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139789>

Wong, M.M.L., Gujaria-Verma, N., Ramsay, L., Yuan, H.Y., Caron, C., Diapari, M., Vandenberg, A., Bett, K.E., 2015. Classification and Characterization of Species within

the Genus Lens Using Genotyping-by-Sequencing (GBS). PLoS ONE 10, e0122025.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122025>

Yashasvi, B. "Caesalpinaceae: Characters, Distribution and Types." Biology Discussion.<https://www.biologydiscussion.com/angiosperm/dicotyledons/caesalpinia-ceae-characters-distribution-and-types/48079> (Πρόσβαση: 25/8/2022) Zohary, D., Hopf, M., Weiss, E., 2012. Domestication of plants in the Old World: the origin and spread of domesticated plants in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin, 4th ed. ed. Oxford University Press, Oxford.

Χανιώτικα Νέα. "Κεντούκλα." <https://www.haniotika-ne.gr/kentoukla/> (Πρόσβαση: 12/8/2022).

"Ψυχανθή." <https://www.alekati.gr/Faboideae> (Πρόσβαση: 14/11/2022).

"Ψυχανθή / Όσπρια." BASF Agricultural Solutions.
<https://www.agro.basf.gr/el/Crop-Solutions/%CE%A8%CF%85%CF%87%CE%B1%CE%BD%CE%B8%CE%AE-%CE%8C%CF%83%CF%80%CF%81%CE%B9%CE%B1/> (Πρόσβαση: 14/11/2022).

3. Φυτοοιστρογόνα

Τα φυτοοιστρογόνα είναι φαινολικά, μη στεροειδή μόρια που παράγονται φυσικά σε περισσότερα από 300 φυτά (Gorzkiwicz και άλλοι, 2021). Ως φυτοοιστρογόνα ορίζονται οι δευτερογενείς μεταβολίτες που προσομοιάζουν, δομικά και λειτουργικά, τα ενδογενή φυσικά οιστρογόνα και τους ενεργούς μεταβολίτες τους. Ως επακόλουθο, παρουσιάζουν σημαντική οιστρογονική (αγωνιστική ή ανταγωνιστική) δράση (Moutsatsou, 2007).

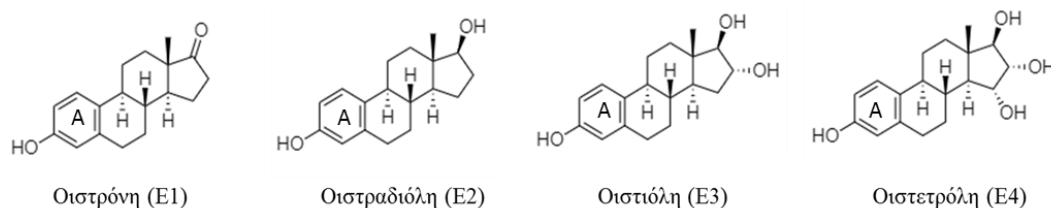
3.1. Οιστρογόνα (Οιστραδιόλη)

Για μεγάλο χρονικό διάστημα τα οιστρογόνα θεωρούνταν ορμόνες που περιορίζονταν κυρίως στο θηλυκό αναπαραγωγικό σύστημα. Όμως, τα τελευταία χρόνια έχει γίνει σαφές ότι οι δράσεις των οιστρογόνων εκτείνονται πολύ πέρα από τα όρια της αναπαραγωγής αφού είναι γνωστό ότι τα οιστρογόνα παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στη λειτουργία των πνευμόνων (Hamidi και άλλοι, 2011), τον μεταβολισμό (Brown και άλλοι, 2010), την υγεία των οστών (Manolagas, 2010) και την καρδιαγγειακή και εγκεφαλική λειτουργία (Dahlman-Wright και άλλοι, 2006). Τελευταία, ένα ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο ρόλος των οιστρογόνων στην υγεία του εγκεφάλου, με βάση το γεγονός ότι σε μια γυναίκα τα επίπεδα οιστρογόνων μειώνονται ταχύτατα κατά την εμμηνόπαυση και ότι η νόσος Alzheimer εμφανίζεται συχνότερα στις γυναίκες σε σχέση με τους άντρες ("Alzheimer's disease facts and figures," 2022).

Δομικά, τα οιστρογόνα χαρακτηρίζονται ως οι στεροειδείς χημικές ενώσεις που εμπεριέχουν τον φαινολικό δακτύλιο A. Ο φαινολικός δακτύλιος A προσδίδει στα οιστρογόνα αντιοξειδωτικές ιδιότητες αφού έχει τη δυνατότητα να δρα ως δότης ηλεκτρονίων και ως δεσμευτής ελεύθερων ριζών (Wise και άλλοι, 2001). Επιπλέον, η αντιοξειδωτική τους δράση ενισχύεται και από το γεγονός ότι τα οιστρογόνα ενεργοποιούν τη δράση των αντιοξειδωτικών ενζύμων (Borras, 2007).

Τέσσερα είναι τα ενδογενή οιστρογόνα: η οιστρόνη (E1), η οιστραδιόλη (E2), η οιστιόλη (E3), και η οιστετρόλη (E4). Η οιστραδιόλη αποτελεί την κύρια γυναικεία ορμόνη καθώς είναι το δραστικότερο και σε μεγαλύτερη αφθονία οιστρογόνο που παράγει μια γυναίκα κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής της ηλικίας (Thomas και Potter, 2013). Η E2 συμμετέχει στη ρύθμιση του οιστρικού και εμμηνορροϊκού

γυναικείου αναπαραγωγικού κύκλου και είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη των γυναικείων δευτερογενών σεξουαλικών χαρακτηριστικών. Επίσης, παίζει πολύ σημαντικό ρόλο τόσο στην ανάπτυξη όσο και στη συντήρηση των γυναικείων αναπαραγωγικών ιστών, όπως οι μαστικοί αδένες, η μήτρα και ο κόλπος κατά τις διάφορες φάσεις ανάπτυξης των θηλέων (π.χ. εφηβεία, ενηλικίωση, εγκυμοσύνη) (Ryan, 1982). Τέλος, η E2 επιδρά με εμφανή τρόπο και σε πολλούς άλλους ιστούς, συμπεριλαμβανομένων των οστών, του λίπους, του δέρματος, του ήπατος και του εγκεφάλου.



Εικόνα 4 Δομή των κύριων μορφών των ενδογενών οιστρογόνων

Η E2 ανιχνεύεται και στα αρσενικά, όμως σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα σε σύγκριση με τα θήλεα, αλλά με εξίσου καθοριστικό ρόλο. Εννοείται, η E2 ορμόνη δεν εντοπίζεται μόνο στον άνθρωπο, αλλά και σε άλλα θηλαστικά, κατά κύριο λόγο στα σπονδυλωτά, αλλά και σε μαλακόστρακα, έντομα, ψάρια και άλλα είδη ζώων (Idler, 2014; Mechoulam και άλλοι, 1984).

3.2. Οιστρογονικοί Υποδοχείς

Οι οιστρογονικοί υποδοχείς (Estrogen Receptors, ERs) είναι μια ομάδα πρωτεϊνών που βρίσκονται εντός των κυττάρων και αποτελούν τους υποδοχείς που ενεργοποιούνται από την οιστραδιόλη. Ο πρώτος οιστρογονικός υποδοχέας απομονώθηκε στα τέλη της δεκαετίας του 1950, όταν οι Jensen και Jacobsen απέδειξαν την ύπαρξη ενός μορίου-υποδοχέα που είχε την ικανότητα να δεσμεύει την οιστραδιόλη. Ο πρώτος υποδοχέας ER κλωνοποιήθηκε το 1986 και θεωρήθηκε την εποχή εκείνη ως μοναδικός και απολύτως απαραίτητος για τη διατήρηση της ζωής (Dahlman-Wright και άλλοι, 2006).

Το 1994 εντοπίστηκε μια ασθενής με έλλειψη του λειτουργικού υποδοχέα των οιστρογόνων που έπασχε από βαριά οστεοπόρωση και στειρότητα (Smith και άλλοι, 1994). Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με κάποιες άλλες παρατηρήσεις, οδήγησαν

στην υπόθεση της ύπαρξης ενός δεύτερου υποδοχέα οιστρογόνων. Έτσι, το 1996 οι Kuiper και συνεργάτες ανακάλυψαν την ύπαρξη ενός δεύτερου οιστρογονικού υποδοχέα, με αποτέλεσμα σήμερα οι δυο οιστρογονικοί υποδοχείς να είναι γνωστοί ο πρώτος ως ERα και ο δεύτερος ως ERβ (Dahlman-Wright και άλλοι, 2006).

Οι δομές των δύο υποδοχέων παρουσιάζουν μεγάλες ομοιότητες. Η πρωτοταγής τους δομή χαρακτηρίζεται από τις εξής λειτουργικές περιοχές:

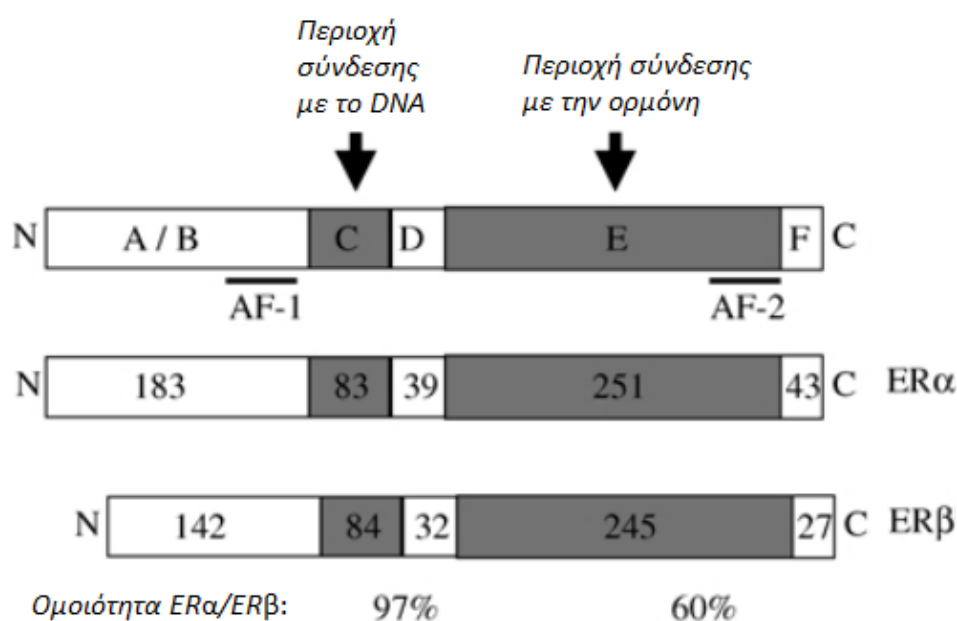
- ο *N-τελικό άκρο ή A/B περιοχή (αμινοξέα 1-180)*: Χαρακτηρίζεται ως μια υψηλά μεταβλητή περιοχή κυρίως ως προς την αλληλουχία των αμινοξέων, αλλά και το μήκος της. Όταν γίνεται η δέσμευση του υποδοχέα σε συγκεκριμένες περιοχές του DNA, συμμετέχει στη ρύθμιση της μεταγραφής των οιστρογονοεξαρτώμενων γονιδίων. Είναι γνωστή και ως ανοσογόνος περιοχή, καθώς τα περισσότερα αντισώματα που έχουν παρασκευαστεί αναγνωρίζουν θέσεις σε αυτή την περιοχή.

- ο *Περιοχή σύνδεσης με το DNA ή C περιοχή (DNA Binding Domain, DBD) (αμινοξέα 180-263)*: Συνιστά τη συντηρητική περιοχή, καθώς η ομολογία της αλληλουχίας των αμινοξέων για το τμήμα αυτό μεταξύ των υποδοχέων των διάφορων θηλαστικών είναι ίδια κατά 96%-100%. Η C-περιοχή είναι υπεύθυνη για την αναγνώριση και τη σύνδεση του υποδοχέα ER με τις αλληλουχίες του DNA που είναι χαρακτηριστικές για τον οιστρογονικό υποδοχέα και φέρουν την αλληλουχία βάσεων A/GGGTCAnnnTGACCC/T. Επιπλέον, η C-περιοχή είναι υπεύθυνη για τη μεταφορά του υποδοχέα από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα του κυττάρου.

- ο *Περιοχή άρθρωσης ή D περιοχή (αμινοξέα 263-302)*: Πρόκειται για περιοχή με μεταβλητό μήκος. Προσφέρει ευλυγισία στο μόριο διευκολύνοντας με αυτόν τον τρόπο τη διάταξη στο χώρο των περιοχών C, E, και F. Παίζει σημαντικό ρόλο στην εντόπιση του υποδοχέα στον πυρήνα, καθώς φέρει αντίστοιχες αλληλουχίες, όπως και στην αλληλεπίδραση του υποδοχέα με τη πρωτεΐνη θερμικού σοκ 90 (heat shock protein, hsp90).

- ο *Περιοχή σύνδεσης με την ορμόνη ή E περιοχή (αμινοξέα 302-553)*: Είναι υπεύθυνη για πολλές λειτουργίες, καθώς στην περιοχή αυτή εντοπίζονται οι αλληλουχίες που σχετίζονται με την σύνδεση της ορμόνης, το διμερισμό του υποδοχέα, τη σύνδεσή του με τις πρωτεΐνες του θερμικού σοκ, τον πυρηνικό εντοπισμό του υποδοχέα και τη ρύθμιση της μεταγραφής των οιστρογονοεξαρτώμενων γονιδίων.

ο *COOH-τελικό άκρο ή F περιοχή (αμινοξέα 553-595)*: Είναι η περιοχή που συμμετέχει στη ρύθμιση της μεταγραφικής δραστηριότητας του υποδοχέα, και μάλιστα κατά ιστοειδικό τρόπο. Επίσης, φαίνεται ότι επηρεάζει την (αντι)-οιστρογονική δράση των μορίων-προσδετών (Hewitt και Korach, 2002; Kato και άλλοι, 1995; Montano και άλλοι, 1997; Schwabe και άλλοι, 1993; Ylikomi και άλλοι, 1992).



Εικόνα 5 Σύγκριση των πρωτοπαγών δομών των δύο οιστρογονικών υποδοχέων ERα και ERβ. Η δομή τους χωρίζεται σε 6 περιοχές (A-F) και το ποσοστό ομοιότητας των περιοχών C και E για τους δύο υποδοχείς ER φαίνεται από κάτω (Hewitt και Korach, 2002).

Έως σχετικά πρόσφατα είχε θεωρηθεί ότι οι υποδοχείς αυτοί βρίσκονται αποκλειστικά στον πυρήνα του κυττάρου, δρώντας ως μεταγραφικοί παράγοντες των γονιδίων που ανταποκρίνονται στα οιστρογόνα. Όμως, αποδείχθηκε ότι ο υποδοχέας ERβ εντοπίζεται κυρίως στα μιτοχόνδρια (Yang και άλλοι, 2004), ενώ και οι δύο υποδοχείς ER μπορούν να ανιχνευτούν στην πλασματική μεμβράνη (Azcoitia και άλλοι, 1999; Bondar και άλλοι, 2009; Gorosito και άλλοι, 2008).

Το γεγονός ότι οι ER βρίσκονται στη μεμβράνη του πλάσματος και τα μιτοχόνδρια υποδηλώνει ότι η ενεργοποίηση του ER είναι δυνατόν να οδηγήσει και σε κυτταρικές αποκρίσεις που δεν σχετίζονται με τη γονιδιακή μεταγραφή. Σχετικές έρευνες έχουν υποστηρίξει την παρατήρηση αυτή, καθώς έχει αποδειχθεί ότι τα οιστρογόνα εκκινούν ταχεία σηματοδότηση στην πλασματική μεμβράνη μέσω της

ενεργοποίησης του ERα (Marin και άλλοι, 2009), ενώ παράλληλα επηρεάζουν και τη μιτοχονδριακή λειτουργία (Simpkins και άλλοι, 2010). Οι υποδοχείς ER είναι ευρέως καταναμεμημένοι σε σχεδόν όλους τους ιστούς του σώματος, αφού εκτός των αναπαραγωγικών ιστών, ER έχουν εντοπιστεί σε ιστούς όπως τα οστά (Oho και άλλοι, 1997), η καρδιά (Leibetseder και άλλοι, 2010), οι νεφροί (Sharma και Thakur, 2004), οι πνεύμονες (Mollerup και άλλοι, 2002) και ο εγκέφαλος (McEwen και άλλοι, 1979).

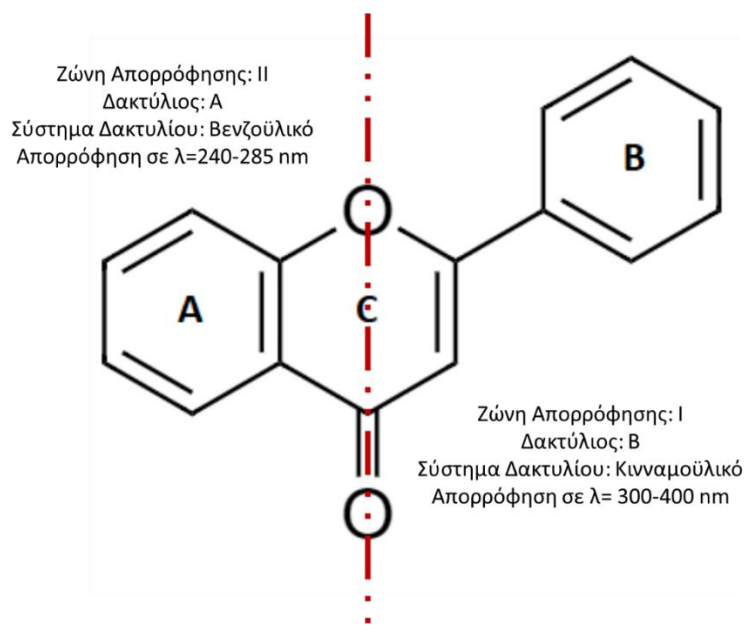
3.3. Δομή & Ταξινόμηση των Φυτοοιστρογόνων

Τα φυτοοιστρογόνα ανήκουν στην κατηγορία των φαινολικών μορίων και κατηγοριοποιούνται περαιτέρω στις υπο-ομάδες των ισοφλαβονών, λιγνανών, κουμεστανών, στυλβενίων, χαλκονών και φλαβονοειδών (Moutsatsou, 2007). Στο φυτικό βασίλειο απαντώνται και ως πολυμερή, γνωστά με το όνομα ταννίνες.

Μια επιπλέον κατηγορία φυτοοιστρογόνων, η οποία όμως δεν εμπίπτει στο αντικείμενο της διατριβής, είναι τα ξено-οιστρογόνα. Τα μόρια αυτά είναι γνωστά για την τοξικότητά τους και τη δράση τους ως ενδοκρινικοί διαταράκτες. Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει τα συνθετικά οιστρογόνα, τα μυκητοοιστρογόνα, αλλά και πλήθος χημικών ενώσεων, όπως το εντομοκτόνο DDT, η διφαινόλη Α (Bisphenol A), τα φθαλικά άλατα και άλατα μετάλλων όπως π.χ. του καδμίου (Ross και Kasum, 2002).

3.3.1. Φλαβονοειδή

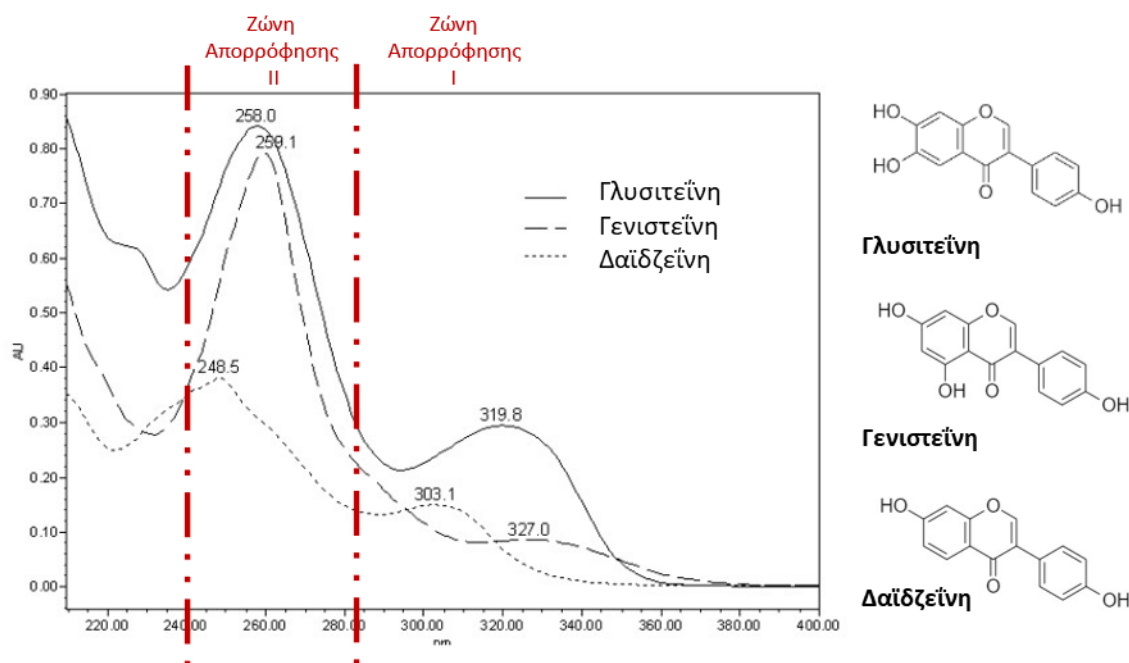
Μία από τις κυριότερες κατηγορίες των φυτοοιστρογόνων, και γενικότερα των δευτερογενών μεταβολιτών, με ευρύτατη διασπορά στο φυτικό βασίλειο είναι τα φλαβονοειδή. Αποτελούν την τρίτη μεγαλύτερη ομάδα φυσικών προϊόντων, μετά τα αλκαλοειδή και τερπενοειδή, καθώς έχει έως σήμερα καταγραφεί η ύπαρξη συνολικά περίπου 10.000 φλαβονοειδών (Dixon και Pasinetti 2010; Martens και άλλοι, 2010; Santos και άλλοι, 2017). Τα φλαβονοειδή είναι φαινολικές χημικές ενώσεις με μια μεγάλη ποικιλία δομών που αφθονούν σε πολλά φυτικά ταξινομικά είδη, όπως τα σπερματόφυτα, τα βρυόφυτα, τα πτεριδόφυτα και τα άλγη. Τα φλαβονοειδή παρουσιάζουν μια ευρεία ποικιλία βιολογικών δραστηριοτήτων, ενώ παράλληλα χρησιμεύουν και ως χημειοταξινομικοί δείκτες (Santos και άλλοι, 2017).



Εικόνα 6 Απεικόνιση των δύο ζωνών απορρόφησης των φλαβονοειδών. Η ζώνη II, που είναι το αποτέλεσμα της παρουσίας του βενζοϋλικού συστήματος του δακτυλίου A και απορροφά σε μήκη κύματος 240-285nm. Η ζώνη I είναι αποτέλεσμα της ύπαρξης του κινναμοϋλικού συστήματος του δακτυλίου B που απορροφά στην περιοχή 300-400 nm (Santos και άλλοι, 2017).

Στην Εικόνα 6 απεικονίζεται ο βασικός σκελετός των φλαβονοειδών, ο οποίος αποτελείται από δύο κύριους δακτύλιους, τους A και B, αλλά και τον δακτύλιο C που σχηματίζεται τελευταίος κατά τη βιοσύνθεση ορισμένων μόνο μορίων που εντάσσονται στα φλαβονοειδή, όπως είναι οι φλαβόνες. Από χημική άποψη, οι δομές των φλαβονοειδών ποικίλουν ανάλογα με τον αριθμό και τη θέση των υδροξυλομάδων, το βαθμό μεθυλίωσης, τον τρόπο σύζευξης των αρωματικών δακτυλίων, τις γλυκοσιδικές ομάδες και την ενδεχόμενη παρουσία υποκαταστατών. Τα φλαβονοειδή περιέχουν συζευγμένους διπλούς δεσμούς και χαρακτηριστικές ομάδες (π.χ. OH) που είναι σε θέση να δώσουν ηλεκτρόνια μέσω συντονισμού και να σταθεροποιούν τις ελεύθερες ρίζες (Santos και άλλοι, 2017).

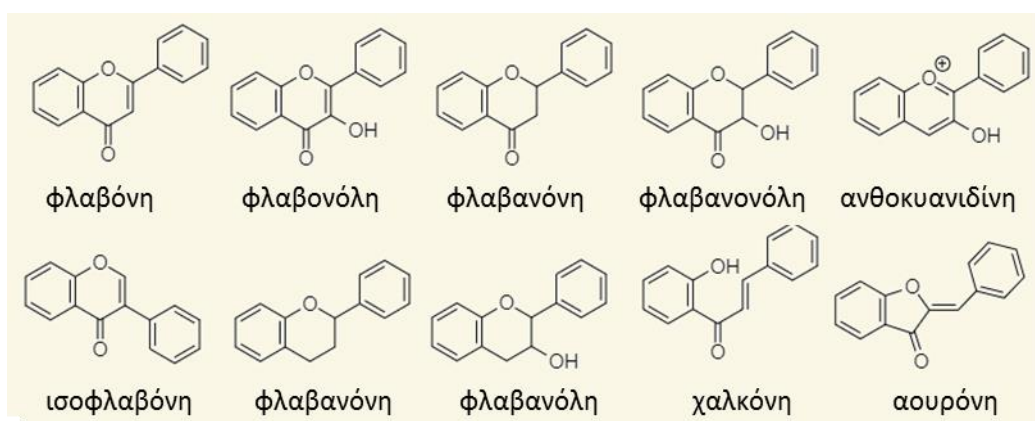
Μελέτες σε φλαβονοειδή με φασματοσκοπία UV έδειξαν ότι η πλειοψηφία τους παρουσιάζει δύο κύρια μέγιστα απορρόφησης: Τη ζώνη II (240-285nm) που αντιστοιχεί στο βενζοϋλικό σύστημα του δακτυλίου A και τη ζώνη I (300-400nm), που αντιπροσωπεύει το κινναμοϋλικό σύστημα του δακτυλίου B (Εικόνα 6). Είναι αυτονόητο ότι οι λειτουργικές ομάδες που συνδέονται με τον σκελετό των φλαβονοειδών παίζουν σημαντικό ρόλο στη μετατόπιση της απορρόφησης (Εικόνα 7).



Εικόνα 7 Φάσματα απορρόφησης των ισοφλαβονών γλυσιτεΐνη, γενιστεΐνη και δαΐδζεΐνη (Quintin, 2010).

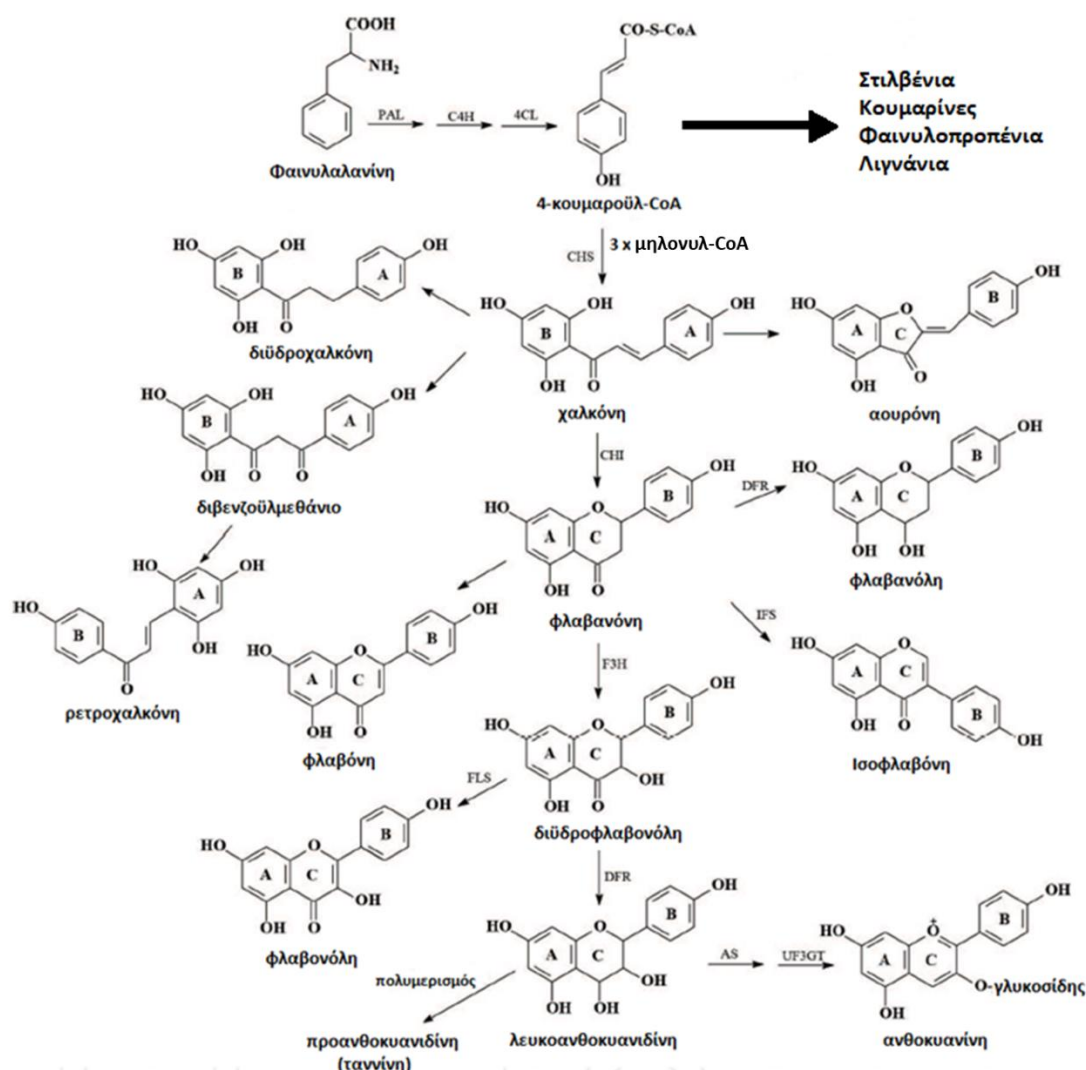
Ο βιολογικός ρόλος εκάστου φλαβονοειδούς διαφοροποιείται ανάλογα με τον φυτικό οργανισμό που το παράγει, με αποτέλεσμα να έχουν προσδιοριστεί φλαβονοειδή που προστατεύουν τα φυτά από παράσιτα, φυτοφάγα ζώα, παθογόνους μικροοργανισμούς και την υπεριώδη ακτινοβολία (UV) (Dixon και Pasinetti, 2010). Επίσης, έχουν βρεθεί και φλαβονοειδή που δρουν ως συμβιωτικοί παράγοντες με αλληλοχημική, αντιμικροβιακή ή/και θεραπευτική δράση (Dixon και Pasinetti, 2010; Harborne και Williams, 2000). Τέλος, ένας επιπλέον σημαντικός ρόλος των φλαβονοειδών είναι ότι αναγνωρίζονται από τους επικονιαστές (έντομα, πουλιά και ζώα), συμβάλλοντας στη γονιμοποίηση των φυτών (Havsteen, 2002).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τα φλαβονοειδή διαθέτουν μια ευρεία ποικιλία σημαντικών βιολογικών δράσεων και φαρμακολογικών εφαρμογών. Το ενδιαφέρον για τις χημικές αυτές ενώσεις αυξάνεται συνεχώς, με αποτέλεσμα να διενεργείται ένας μεγάλος αριθμός μελετών για τις δράσεις τους. Έως σήμερα, η επιστημονική κοινότητα έχει μελετήσει επισταμένα την αντιοξειδωτική, κυτταροτοξική, αντικαρκινική, αντική, αντιβακτηριακή, αντιφλεγμονώδη, αντιαλλεργική, αντιθρομβωτική, καρδιοπροστατευτική, ηπατοπροστατευτική, νευροπροστατευτική και ανθελonoσιακή δράση των φλαβονοειδών (Santos και άλλοι, 2017).



Εικόνα 8 Δομές ορισμένων κατηγοριών φλαβονοειδών.

Τα φλαβονοειδή βιοσυντίθενται μέσω της οδού των φαινυλοπροπανοειδών, η οποία αποτελεί το κοινό μονοπάτι της βιοσύνθεσης και άλλων σημαντικών δευτερογενών μεταβολιτών, όπως είναι οι ταννίνες, τα στυλβένια, οι κουμαρίνες κλπ. Κοινός πρόδρομος της βιοσύνθεσης των μορίων αυτών είναι η φαινυλαλανίνη, με τη διαδικασία να ξεκινά με τη μετατροπή της φαινυλαλανίνης σε κινναμωμικό οξύ, με τη βοήθεια της αμμωνιαλυάσης της φαινυλαλανίνης (PAL) που αποτελεί το πρώτο ένζυμο που εμπλέκεται στη βιοσύνθεση των φλαβονοειδών (Winkel-Shirley, 2001). Παρότι το βασικό μονοπάτι της βιοσύνθεσης των φλαβονοειδών (Σχήμα 1) είναι πανομοιότυπο για όλα τα φυτά, παρουσιάζονται διαφορές ανάλογα με το είδος του φυτού, καθώς επενεργούν ένζυμα που τροποποιούν το βασικό σκελετό των φλαβονοειδών οδηγώντας στη σύνθεση των διαφορετικών κατηγοριών τους (Martens και άλλοι, 2010; Mierziak και άλλοι, 2014).



Σχήμα 1 Διάγραμμα της βιοσυνθετικής οδού των φλαβονοειδών. Τα βασικά ένζυμα που καταλύουν τις αντιδράσεις είναι: PAL, αμμωνιαλάση της φαινυλαλανίνης, C4H, 4-υδροξυλάση του κινναμωμικού, 4CL, λιγάση του 4-κουμαροϋλ-συνενζύμου A, CHS, συνθετάση της χαλκόνης. CHI, συνθετάση της χαλκόνης-φλαβανόνης. F3H, 3β-υδροξυλάση της φλαβανόνης. DFR, 4-αναγωγία της διϋδροφλαβονόλης, FLS, συνθέση της φλαβονόλης. IFS, συνθετάση του ισοφλαβονοειδούς. AS, συνθετάση της ανθοκυανίνης και UF3GT, UDP γλυκόζη: 3-O-γλυκοσυλοτρανσφεράση του φλαβονοειδούς (Santos και άλλοι, 2017).

Στους διάφορους οργανισμούς τα φλαβονοειδή υπάρχουν ως απλά μόρια (άγλυκο) ή υπό τη μορφή γλυκοσίδης, δηλαδή συζευγμένο με σάκχαρα (Santos και άλλοι, 2017). Στους φυτικούς οργανισμούς, τα φλαβονοειδή βρίσκονται κυρίως υπό τη μορφή του γλυκοσίδης (Martens και άλλοι, 2010; Santos και άλλοι, 2017), με το γλυκοσιδικό δεσμό να σχηματίζεται στις θέσεις 3 ή 7 με υδατάνθρακες όπως η L-ραμνόζη, η D-γλυκόζη, η γαλακτόζη, η αραβινόζη ή ο δισκαχαρίτης ραμνόζη-γλυκόζη (Martens και άλλοι, 2010; Havsteen 2002). Παράλληλα, είναι συχνή η παρουσία και υδροξυλιωμένων παραγώγων των φλαβονοειδών στις θέσεις 3, 5, 7, 3', 4' και 5'. Σε

πολλά από τα παράγωγα αυτά οι υδροξυλομάδες είναι και υπό τη μορφή μεθυλο-, ακετυλο- ή θειο- παραγώγων. Η πρενυλίωση που οδηγεί σε αύξηση της λιποφιλικότητας μέσω της υποκατάστασης των φλαβονοειδών, λαμβάνει χώρα κυρίως στα άτομα άνθρακα των αρωματικών δακτυλίων, ενώ έχουν παρατηρηθεί και περιπτώσεις Ο-πρενυλίωσης (Havsteen, 2002). Οι παραπάνω αλλαγές επιφέρουν μεταβολές στη διαλυτότητα, δραστικότητα και σταθερότητα των μορίων αυτών.

3.3.2. Κουμεστάνες

Μέχρι τις αρχές της δεκαετίας του 1950, η μηδική ή αλλιώς το τριφύλλι αλφάλφα (*Medicago sativa*) και το λευκό τριφύλλι (*Trifolium repens* L.) ταξινομούνταν στις μη οιστρογονικές ζωοτροφές. Όμως αργότερα διαπιστώθηκε ότι τα δύο αυτά είδη εμφανίζουν σημαντική οιστρογονική δράση. Σε έρευνα του 1955 στο Western Utilization Research and Development Division-WURDD απομονώθηκε από το λευκό τριφύλλι ένα νέο παράγωγο της βενζοφουροκουμαρίνης, το οποίο αργότερα αναγνωρίστηκε ως μία νέα κατηγορία φυτοοιστρογόνων γνωστή σήμερα με το όνομα κουμεστάνες. Αργότερα διαπιστώθηκε ότι τα μόρια αυτά σχετίζονται βιογενετικά με τις ισοφλαβόνες (Wyse και άλλοι, 2022).

Τα μόρια αυτά βρίσκονται στα σπέρματα ψυχανθών, ιδιαίτερα στις φύτες τους, αλλά και στις χαρακτηριστικές μυκορριζικές ρίζες (Morandi και άλλοι, 1992) κυρίως σε μηδική και φασόλι (*Vigna radiata* (L.) *Fabaceae*), ενώ κουμεστάνες εντοπίζονται συχνά και στο τριφύλλι (Cvejić και άλλοι, 2012) και τις φύτες της σόγιας με κυριότερο μόριο την κουμεστρόλη, η οποία ανιχνεύεται σε υψηλά επίπεδα (71,1mg/g νωπού βάρους) και αποτελεί τη σημαντικότερη κουμεστάνη (Ibarreta και άλλοι, 2001). Η κουμεστρόλη απομονώθηκε αρχικά από το *Trifolium repens* L., αλλά βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις και σε άλλα είδη τριφυλλιού, όπως το *Trifolium pratense* (Wyse και άλλοι, 2022).

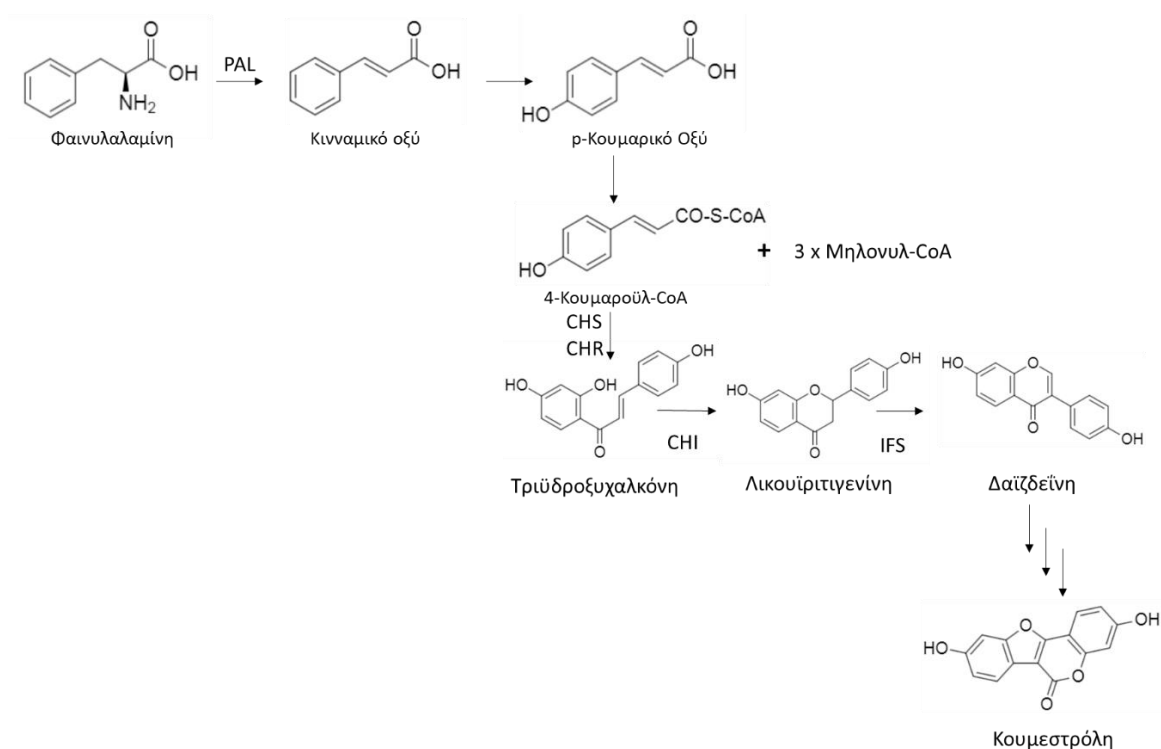
Η κουμεστρόλη είναι μια φυτοαλεξίνη, δηλαδή χημική ένωση που σχηματίζεται σε έναν φυτικό οργανισμό με στόχο την προστασία του ή ως αποτέλεσμα τραυματισμού ή διαταραχής που μπορεί να προκύψει από έντομα ή βακτήρια (Ibarreta και άλλοι, 2001). Συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί ότι ποικίλα βιοτικά ερεθίσματα από ιικά, βακτηριακά και μυκητιακά παθογόνα σηματοδοτούν την έναρξη της διαδικασίας σχηματισμού μιας σειράς αρωματικών ενώσεων, όπως είναι η

κουμεστρόλη και οι μεταβολίτες της, ως βασικά αμυντικά μόρια. Παρότι το έναυσμα για την παραγωγή των κουμεστανών εξαρτάται από τα παθογόνα των φυλλωμάτων, υπάρχουν και άλλοι παράγοντες όπως το στάδιο ανάπτυξης, η ποικιλία και ο τύπος του εδάφους που επίσης συμβάλλουν στην παραγωγή των κουμεστανών (Wyse και άλλοι, 2022).

Παλαιότερες μελέτες έδειξαν ότι η κουμεστρόλη μπορεί να αναστείλει τη δράση των ενζύμων που εμπλέκονται στον σχηματισμό των στεροειδών ορμονών, αλλά και γενικότερα στον μεταβολισμό του ανθρώπου. Έτσι, παίζει σημαντικό ρόλο στην καθυστέρηση της ανάπτυξης ορμονοεξαρτώμενων καρκίνων (Krazeisen και άλλοι, 2001), αφού η κουμεστρόλη ανταγωνίζεται την οιστραδιόλη στους κυτταροπλασματικούς υποδοχείς σε όγκους και καρκινικά κύτταρα του μαστού. Επίσης, είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι η κουμεστρόλη, όπως και η ισοφλαβόνη γενιστεΐνη διαθέτουν παρόμοια ικανότητα δέσμευσης με τους οιστρογονικούς υποδοχείς (Cvejić και άλλοι, 2012). Όμως οι κουμεστάνες σε σύγκριση με τις ισοφλαβόνες που έχουν περιορισμένη επίδραση στους οιστρικούς κύκλους, έχει διαπιστωθεί ότι εμφανίζουν μεγαλύτερη δυνατότητα αναστολής του οίστρου (Wyse και άλλοι, 2022), με αποτέλεσμα σήμερα αρκετές κουμεστάνες να χαρακτηρίζονται ως χημικές ενώσεις με οιστρογονική δράση (Sirtori και άλλοι, 2005). Τα μόρια αυτά ανιχνεύονται σε μεγάλες ποσότητες στα σπέρματα ψυχανθών που έχουν προσβληθεί από διάφορα μυκητιακά παθογόνα (Wyse και άλλοι, 2022). Τέλος, *in vitro* μελέτες έχουν αποδείξει ότι η κουμεστρόλη μπορεί να αναστείλει την οστική απορρόφηση και να διεγείρει την ανοργανοποίηση των οστών (Cvejić και άλλοι, 2012).

Σε πειράματα που έγιναν στο φυτό *Vigna radiata*, γνωστό με το όνομα ροβίτσα, αναδείχτηκαν ως πρόδρομες χημικές ενώσεις της κουμεστρόλης, η δαϊδζεΐνη και η διϋδροδαϊδζεΐνη (Berlin και άλλοι, 1972), ενώ πιο πρόσφατες μελέτες έχουν πιστοποιήσει ως γενικό κύριο πρόδρομο μόριο των κουμεστανών την δαϊδζεΐνη. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 2, οι κουμεστάνες βιοσυντίθενται μέσω της οδού των φαινυλοπροπανοειδών. Αναλυτικότερα, αρχικά βιοσυντίθεται το κινναμικό οξύ με τη βοήθεια της αμμωνιαλυάσης της φαινυλαλανίνης (PAL), με αντίδραση απαμίνωσης της φαινυλαλανίνης (Ferrer και άλλοι, 2008). Ακολουθεί ο σχηματισμός του π-κουμαρικού οξέος και στη συνέχεια του 4-κουμαροϋλο-συνενζύμου A. Στη συνέχεια, με συμπύκνωση κεφαλής-ουράς του 4-κουμαροϋλο-CoA και τριών μορίων μηλονυλο-

CoA με αντίδραση που καταλύεται από τη συνθάση της χαλκόνης (CHS) συντίθεται η χαλκόνη. Μετά από μια σειρά αντιδράσεων προσθήκης, συμπύκνωσης και κυκλοποίησης σχηματίζεται η τετραϋδροξυχαλκόνη, η οποία με τη βοήθεια του ενζύμου αναγωγάσης της χαλκόνης (CHR) μετατρέπεται στην τριϋδροξυχαλκόνη. Της βιοσύνθεσης των κουμεστανών, προηγείται η βιοσύνθεση των ισοφλαβονών λικουΐριτιγενίνη και δαΐδζεϊνη, η οποία πραγματοποιείται μέσω του μετασχηματισμού της τριϋδροξυχαλκόνης (Basu και Maier, 2018).



Σχήμα 2 Σχηματική αναπαράσταση του φαινυλ-προπανοϊδικού βιοχημικού μονοπατιού για τον σχηματισμό των κουμεστανών. Τα ένζυμα που συμμετέχουν είναι PAL: Αμμωνιαλυάση της φαινυλαλανίνης, CHS: Συνθάση της χαλκόνης, CHR: Αναγωγάση της χαλκόνης, CHI: Ισομεράση της χαλκόνης,, IFS: Συνθάση της ισοφλαβόνης (Basu και Maier, 2018).

3.3.3. Λιγνάνια

Τα λιγνάνια είναι ευρέως διαδεδομένες χημικές ενώσεις στο φυτικό βασίλειο. Τα περισσότερα εμφανίζονται ως διμερείς φαινυλοπροπανοειδείς μονάδες και ανάλογα με τη σύνδεσή τους διαχωρίζονται σε λιγνάνια και νεολιγνάνια. Τόσο τα λιγνάνια, όσο και τα νεολιγνάνια είναι φυσικά προϊόντα που σχηματίζονται από τη σύνδεση δύο φαινυλοπροπανοειδών μονάδων (C₆C₃), οι οποίες προέρχονται από το βιοσυνθετικό μονοπάτι του σικιμικού οξέος. Ο όρος «lignan» (λιγνάνιο) εισήχθη από

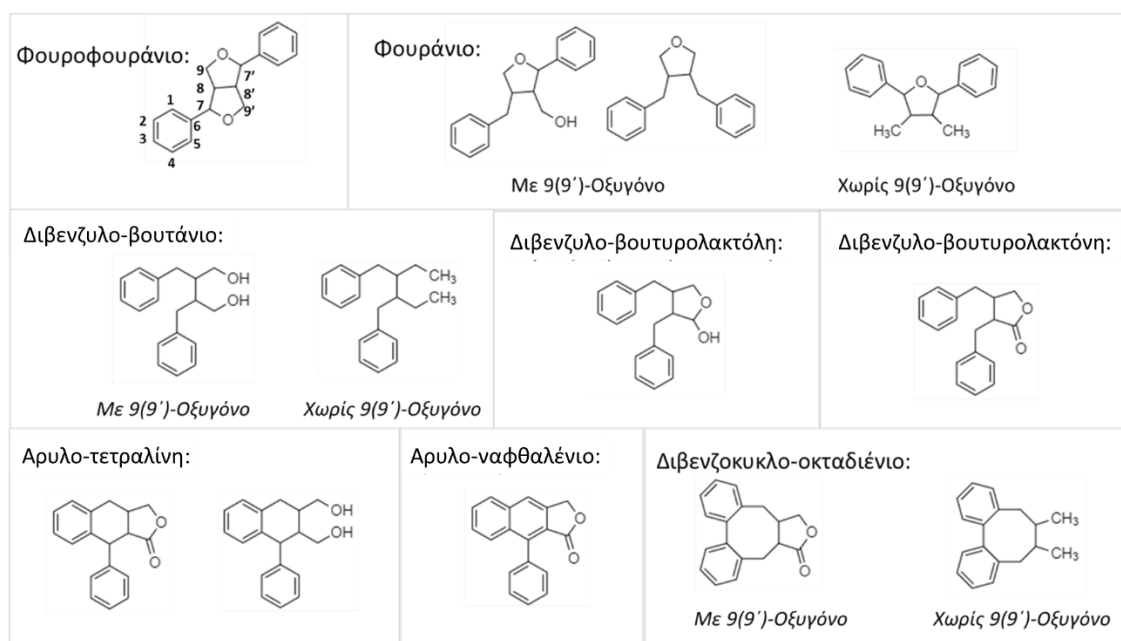
τον Haworth για να δηλώσει δομές που αποτελούνται από δύο μονάδες C_6C_3 που συνδέονται με ένα β - β (8-8') δεσμό, ενώ ο όρος «neolignan» (νεολιγνάνιο) εισήχθη αργότερα από τον Gottlieb για να γίνει η διάκριση των λιγνάνιων με τις χημικές ενώσεις που περιέχουν δύο μονάδες C_6C_3 αλλά δεν είναι συνδεδεμένες με δεσμό β - β . Οι πολλές διαφορετικές κατηγορίες λιγνάνων και νεολιγνάνιων προσδιορίζονται ανάλογα με τους ανθρακικούς τους σκελετούς (Ward, 2000).

Τα λιγνάνια περιέχουν χειρόμορφα άτομα C και είναι ενδιαφέρον ότι ενώ συνήθως τα φυσικής προέλευσης χειρόμορφα μόρια εμφανίζονται συνήθως μόνο με τη μία εναντιομερή τους μορφή, τα λιγνάνια ανιχνεύονται και με τις δύο μορφές τους σε διαφορετικά φυτικά είδη ή ακόμα και σε όργανα του ίδιου είδους (Umezawa, 2003).

Τα λιγνάνια διαθέτουν σημαντικές αντιικές, μυκητοκτόνες, αντιβακτηριακές και κυτταροτοξικές δράσεις, με αποτέλεσμα να εμπλέκονται στην άμυνα των φυτών έναντι των παθογόνων. Στα θηλαστικά, ο γλυκοσίδης της σεκοϊσολαρικρεσινόλης που βρίσκεται σε υψηλές ποσότητες στους σπόρους του λιναριού (*Linum usitatissimum*) μετατρέπεται από τα εντερικά βακτήρια στα φυτοοιστρογόνα εντεροδιόλη και εντερολακτόνη, τα οποία έχει αποδειχτεί ότι προλαμβάνουν την εμφάνιση των καρκίνων του προστάτη και του μαστού (Muir και Westcott, 2003). Ένα από τα πλέον γνωστά για την ανθρώπινη υγεία λιγνάνια είναι η ποδοφυλλοτοξίνη, καθώς ημισυνθετικά της παράγωγα όπως το etorphos[®] χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του καρκίνου (Imbert, 1998).

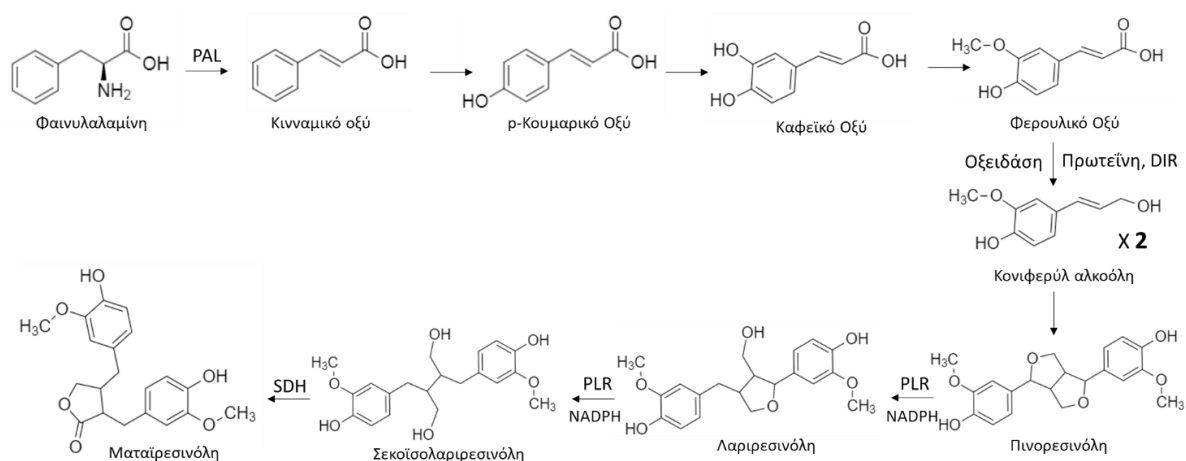
Τα λιγνάνια ταξινομούνται ανάλογα με τους δακτυλίους που εμπεριέχουν στις παρακάτω οκτώ υπο-ομάδες: (α) φουροφουράνιο, (β) φουράνιο, (γ) διβενζυλο-βουτάνιο, (δ) διβενζυλο-βουτυρολακτόνη, (ε) διβενζυλο-βουτυρολακτόλη, (στ) αρυλο-τετραλίνη, (ζ) αρυλο-ναφθαλένιο και (η) διβενζοκυκλο-οκταδιένιο (Εικόνα 9).

Εκάστη υπο-ομάδα διαφέρει σημαντικά ως προς το επίπεδο οξείδωσης του αρωματικού της δακτυλίου ή/και των προπυλο-πλευρικών αλυσίδων τους. Επιπλέον, τα λιγνάνια ταξινομούνται σε περαιτέρω τρεις κατηγορίες, ανάλογα με την κατάσταση οξείδωσης των θέσεων C9(C9') που βρίσκονται στο τερματικό της προπυλο-πλευρικής αλυσίδας. Με βάση την κατηγοριοποίηση αυτή διαχωρίζονται σε (α) λιγνάνια με 9(9')-οξυγόνο, (β) λιγνάνια χωρίς 9(9')-οξυγόνο και δικαρβοξυλικού οξέος λιγνάνια, όπως φαίνεται στην Εικόνα 9 (Suzuki και Umezawa, 2007).



Εικόνα 9 Οι βασικοί ανθρακικοί σκελετοί των λιγνανίων (Suzuki and Umezawa, 2007).

Η βιοσύνθεση των λιγνανίων ξεκινά μέσω της διαφορικής κατανομής της μονολιγνόλης, δηλαδή μιας μονάδας φαινυλοπροπανόλης. Οι μονολιγνόλες συνδέονται με δεσμούς 8-8', 8-5' και 8-O-4' για να παράξουν τα λιγνάνια που αποτελούν μία μεγάλη κατηγορία διμερών φαινυλοπροπανοειδών ολιγομερών. Αυτά βιοσυντίθενται από την κονιφερυλο-αλκοόλη η οποία μετατρέπεται στο λιγνάνιο πινορεσινόλη μέσω αντίδρασης που καταλύεται από μια πρωτεΐνη που κατευθύνει την αντίδραση (Dirigent Protein, DIR) (Basu και Maier, 2018). Τα λιγνάνια αποτελούνται από ένα μόνο εναντιομερές ή από τα δύο εναντιομερή. Όμως, μόνο το ένα από αυτά είναι σε περίσσεια και επομένως είναι οπτικά ενεργά, γεγονός που υποδηλώνει ότι η βιοσύνθεση των λιγνανίων βρίσκεται υπό αυστηρό εναντιοεκλεκτικό έλεγχο κατά την σύζευξη των μονομερών. Η πρωτεΐνη DIR με μοριακό βάρος 78kDa είναι αυτή που καθορίζει την εναντιομερική μορφή των λιγνανίων. Επειδή δεν διαθέτει τη δραστηριότητα οξειδάσης απαιτείται η παρουσία μιας οξειδάσης για να προκαλέσει την εναντιοεκλεκτική διμοριακή σύζευξη της ρίζας της κονιφερυλο-αλκοόλης, οδηγώντας τελικά στη σύνθεση της (+)-πινορεσινόλης (Suzuki και Umezawa, 2007). Αυτή χρησιμεύει ως πρόδρομο χημικό μόριο για τη σύνθεση της σεκοϊσολαρικρεσινόλης και της ματαΐρεσινόλης (Basu και Maier, 2018).



Σχήμα 3 Σχηματική αναπαράσταση του βιοσυνθετικού μονοπατιού για τον σχηματισμό των λιγνάνων. Τα ένζυμα που συμμετέχουν είναι: PAL: Αμμωνιαλυάση της φαινυλαλανίνης), PLR: Αναγωγή των πινορεσινόλη/λαριρεσινόλης, SDH: Διϋδρογονάση της σεκοϊσολαριρεσινόλης (Basu και Maier, 2018; Fuss, 2003).

3.3.4. Στιλβένια

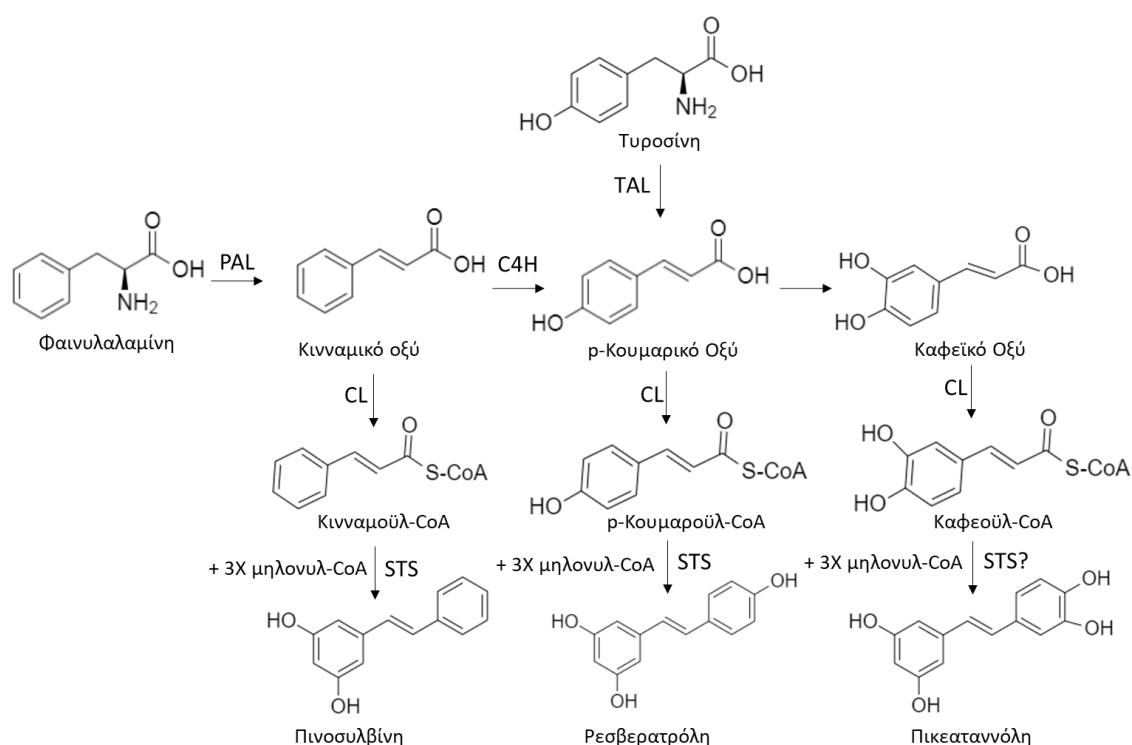
Τα στιλβένια είναι μια κατηγορία φαινολικών δευτερογενών μεταβολιτών φυτικής προέλευσης που χαρακτηρίζονται από την παρουσία του 1,2-διφαινυλαιθυλενίου στον ανθρακικό τους σκελετό. Τα στιλβένια παρουσιάζουν ένα σημαντικότατο ενδιαφέρον κυρίως λόγω των θεραπευτικών τους ιδιοτήτων, αλλά και του ρόλου τους στην προστασία των φυτών από παράσιτα και παθογόνα. Η *trans*-ρεσβερατρόλη αποτελεί το πλέον γνωστό μόριο της κατηγορίας αυτής και έχει μελετηθεί αρκετά η ίδια και τα παράγωγά της, όπως το περοστιλβένιο, η οξυρεσβερατρόλη και οι βινιφερίνες, λόγω της σημαντικής βιοδραστικότητας και φαρμακευτικής τους χρήσης (Dubrovina και Kiselev, 2017; Pangeni και άλλοι, 2014).

Η *trans*-ρεσβερατρόλη έχει αποδειχθεί ότι διαθέτει αξιόλογη αντιοξειδωτική, ανοσοτροποποιητική, αντιφλεγμονώδη και αντιαγγειογενετική δράση, με αποτέλεσμα να θεωρείται ως ένα μόριο με πολλά πλεονεκτήματα για την υγεία, όπως η χημειοπρόληψη του καρκίνου και η προστασία της καλής λειτουργίας της καρδιάς (Detsika και άλλοι, 2019; Dubrovina και Kiselev, 2017; Myrtsi και άλλοι, 2021; Pangeni και άλλοι, 2014).

Όμως, υπάρχουν και πολλά επιπλέον στιλβενοειδή, όπως π.χ. η πικεαταννόλη, η πινοσυλβίνη, οι κομπρεταστατίνες, η πολυδατίνη (ή πικεΐδης) κλπ ή διάφορα ολιγοστιλβένια που επίσης εμφανίζουν πολύ σημαντικές βιολογικές δράσεις, με

ευεργετικά για την υγεία αποτελέσματα (Dubrovina και Kiselev, 2017). Όμως, ο κύριος ρόλος των στιλβενίων στους φυτικούς οργανισμούς που τα παράγουν είναι η προστασία τους, καθώς εμπλέκονται σε ποικίλες αποκρίσεις της άμυνας των φυτών έναντι των μυκητιακών παθογόνων, νηματωδών και φυτοφάγων (Chong και άλλοι, 2009; Jeandet και άλλοι, 2010).

Τα στιλβένια βιοσυντίθενται στα φυτά μέσω του μονοπατιού των φαινυλοπροπανοειδών στο οποίο η συνθετάση του στιλβενίου (STS) καταλύει το σχηματισμό των μονομερών στιλβενίων, ρεσβερατρόλη, πινοσυλβίνη και πικεαταννόλη, με μία αντίδραση που συμμετέχουν οι εστέρες του συνένζυμου A με το κινναμωμικό οξύ και τρεις μονάδες μηλονυλο-CoA (Σχήμα 4). Στη συνέχεια, τα απλά στιλβένια μπορούν είτε να γλυκοσυλιωθούν ή να μεθυλιωθούν ή να προνυλιωθούν με τη δράση συγκεκριμένων ενζύμων. Έτσι συντίθενται διάφορες ολιγομερείς δομές στιλβενίων (Dubrovina και Kiselev, 2017). Τα τελευταία χρόνια, στο πλαίσιο μιας σειράς ερευνητικών προσπαθειών, έχει επιτυχώς επιχειρηθεί η πρόκληση βιοσύνθεσης της ρεσβερατρόλης σε φυτά τα οποία υπό κανονικές συνθήκες δεν παράγουν στιλβένια (Giovinazzo και άλλοι, 2012; Zhang και άλλοι, 2015). Οι περισσότερες μελέτες αφορούν την υπερέκφραση των γονιδίων του ενζύμου STS της αμπέλου σε διαφορετικά είδη φυτών ώστε τα διαγονιδιακά φυτά να παράγουν σημαντικές ποσότητες ρεσβερατρόλης και/ή γλυκοζυλιωμένων μορφών της. Η ενέργεια αυτή οδήγησε στην αύξηση της ανοσίας των φυτών αυτών έναντι διαφόρων μυκητιασικών παθογόνων (Giovinazzo και άλλοι, 2012).



Σχήμα 4 Σχηματική αναπαράσταση της βιοσύνθεσης των στιλβενίων. Τα ένζυμα που συμμετέχουν είναι: PAL: αμμωνιαλυάση της φαινυλαλανίνης, C4H: 4-υδροξυλάση του κινναμικού, C3H: 3-υδροξυλάση του p-κουμαρικού, CL: λυγάση του κουμαρικού:συνενζύμου A, STS: συνθάση του στιλβενίου (Dubrovina και Kiselev, 2017).

3.3.5. Φαινολικά Οξέα

Τα φαινολικά οξέα είναι δευτερογενείς μεταβολίτες που απαντώνται ευρέως σε όλο το φυτικό βασίλειο. Τα μόρια αυτά προσδίδουν σε φρούτα και λαχανικά μοναδική γεύση, άρωμα και ιδιότητες που συμβάλλουν στην καλή υγεία όσων τα καταναλώνουν. Επομένως, η αύξηση της περιεκτικότητας σε φαινολικά οξέα μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα και τις ενδείξεις υγείας τους. Παράλληλα, τα μόρια αυτά είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη και αναπαραγωγή των φυτών και παράγονται ως απόκριση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως το φως, η ψύξη, η ρύπανση κλπ, αλλά και για την προστασία και επούλωση των τραυματισμένων φυτών. Ως αποτέλεσμα πολλοί επιστήμονες έχουν επανειλημμένα μελετήσει την επίδραση των περιβαλλοντικών πιέσεων στη συσσώρευση των αντιοξειδωτικών αυτών μορίων σε σχέση με τη διαδικασία της παραγωγής τους από τα φυτά (Ali Ghasemzadeh, 2011).

Τα φαινολικά οξέα και η βιοδραστικότητά τους έχουν αποτελέσει αντικείμενο μεγάλου αριθμού γεωργικών, βιολογικών, χημικών και ιατρικών μελετών. Στην

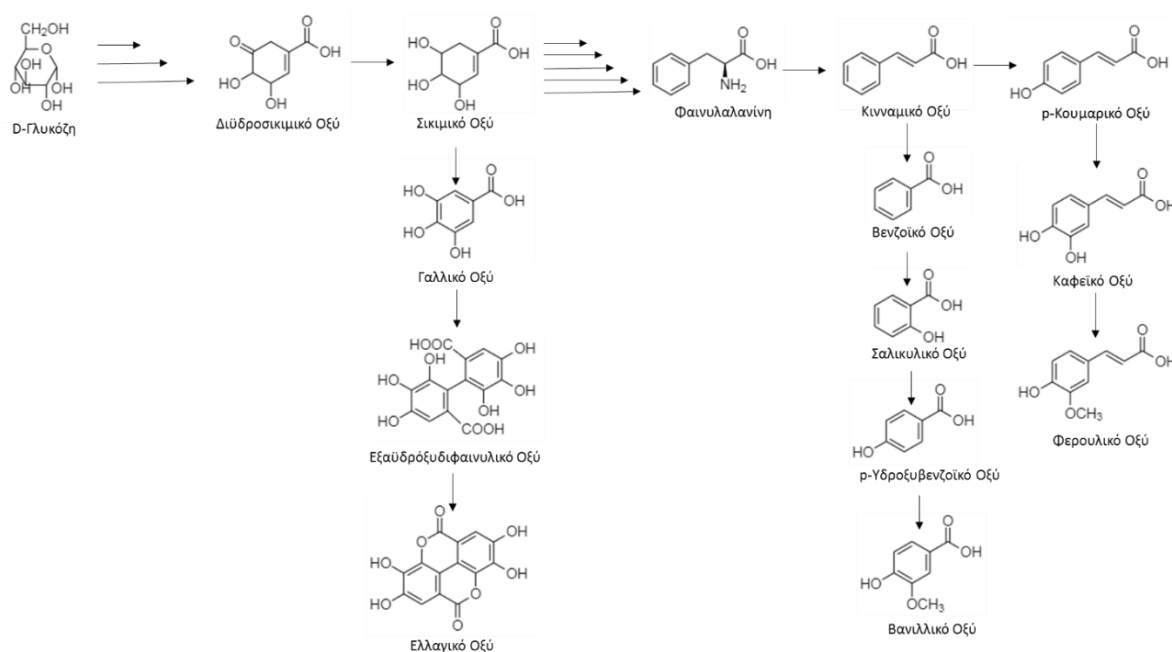
ποικιλόμορφη αυτή ομάδα των μορίων περιλαμβάνονται τα ευρέως διαδεδομένα υδροξυβενζοϊκά και υδροξυκινναμικά οξέα (Ali Ghasemzadeh, 2011). Παρότι είναι ακόμη άγνωστες αρκετές πτυχές σχετικά με τον ρόλο των φαινολικων οξέων στα φυτά, η παρουσία τους έχει συνδεθεί με ποικίλες λειτουργίες που σχετίζονται με την πρόσληψη θρεπτικών ουσιών, την πρωτεϊνοσύνθεση, την ενζυμική δραστηριότητα, τη φωτοσύνθεση, τα δομικά συστατικά και την αλληλοπάθεια. Τα παράγωγα του κινναμικού και βενζοϊκού οξέος υπάρχουν σχεδόν σε όλες τις φυτικές τροφές, όπως τα φρούτα, τα λαχανικά και τα δημητριακά και εντοπίζονται σε όλα τα μέρη των φυτών, δηλαδή σπόρους, φύλλα, ρίζες και μίσχους (Ali Ghasemzadeh, 2011; Robbins, 2003).

Από τα παράγωγα αυτά μόνο ένα μικρό κλάσμα ανιχνεύεται με τη μορφή «ελεύθερου οξέος», αφού η πλειοψηφία τους είναι συνδεδεμένη μέσω εστερικών, αιθερικών ή ακεταλικών δεσμών με δομικά συστατικά του φυτού, όπως η κυτταρίνη, οι πρωτεΐνες και η λιγνίνη ή με μεγαλύτερα φαινολικά μόρια, όπως είναι τα φλαβονοειδή ή με μικρότερα οργανικά μόρια, όπως η γλυκόζη ή οξέα όπως το μηλεϊνικό ή το τρυγικό οξύ ή τέλος με άλλα φυσικά προϊόντα, όπως τα τερπένια (Robbins, 2003). Η ποικιλομορφία με την οποία απαντώνται τα φαινολικά οξέα στους φυτικούς οργανισμούς είναι ένας από τους κύριους παράγοντες που μελετώνται για την κατανόηση του φυσιολογικού τους ρόλου. Ένα επιπλέον χαρακτηριστικό σχετίζεται με το γεγονός ότι τα φαινολικά οξέα δεν κατανέμονται ομοιογενώς στους φυτικούς ιστούς (Sikorska και άλλοι, 2000), αλλά παρουσιάζουν μεγάλη μεταβλητότητα ανάλογα με το στάδιο ωρίμανσής του (Ellnain-Wojtaszek και άλλοι, 2001).

Τα παράγωγα του βενζοϊκού και κινναμικού οξέος έχουν ως κοινό βιοσυνθετικό πρόδρομο μόριο το αμινοξύ L-φαινυλαλανίνη που εντάσσεται στο μονοπάτι σύνθεσης του σικιμικού οξέος. Η μετατροπή της L-φαινυλαλανίνης σε διάφορα παράγωγα του υδροξυκιννιμικού οξέος λαμβάνει χώρα μέσω μιας ακολουθίας τριών σταδίων, γνωστών ως «γενικός μεταβολισμός φαινυλοπροπανοειδών» λόγω της σχεδόν καθολικής εμφάνισής τους στη σύνθεση των αρωματικών δευτερογενών μεταβολιτών. Το πρώτο βήμα του μεταβολικού μονοπατιού των φαινυλοπροπανοειδών είναι η απαμίνωση της φαινυλαλανίνης για τη δημιουργία του *trans*-διπλού δεσμού της κινναμικής δομής και στη συνέχεια

γίνεται υδροξυλίωση του αρωματικού δακτυλίου στη θέση 4 για να παραχθεί το π-κουμαρικό οξύ. Τέλος, ακολουθεί η ενεργοποίηση με τον σχηματισμό του εστέρα-CoA και τα υπόλοιπα στάδια πριν από την αντίδραση με το ένζυμο της λιγάσης του CoA που περιλαμβάνουν μια επιπλέον υδροξυλίωση του αρωματικού δακτυλίου και αντιδράσεις μεθυλίωσης, οδηγώντας στο σχηματισμό άλλων οξέων όπως το καφεϊκό, το φερουλικό και το σιναπικό οξύ (Robbins, 2003).

Αντίστοιχα, τα παράγωγα του βενζοϊκού οξέος προέρχονται είτε μέσω της κυρίας οδού που περιλαμβάνει την αποικοδόμηση της πλευρικής αλυσίδας των παραγώγων των υδροξυκινναμωμικών οξέων, η οποία λαμβάνει χώρα με την απώλεια οξικού άλατος ή μέσω μιας εναλλακτικής οδού που ξεκινά από το 3-δεϋδροσικιμικό οξύ (ενδιάμεσο στην οδό του σικιμικού), το οποίο με μια σειρά ενζυματικών αντιδράσεων μετατρέπεται σε παράγωγα του βενζοϊκού οξέος (Robbins, 2003).



Σχήμα 5 Σχηματική αναπαράσταση του μονοπατιού βιοσύνθεσης των φαινολικών οξέων (Kumar και Goel, 2019).

3.4. Μηχανισμοί Δράσης των Φυτοοιστρογόνων

Τα φυτοοιστρογόνα έχει διαπιστωθεί ότι διαθέτουν την ικανότητα να επιδρούν στην υγεία του ανθρώπου λόγω της ιδιαίτερης δομής τους, μειώνοντας την ένταση συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης, όπως οι εξάψεις, η οστεοπόρωση, η παχυσαρκία, το μεταβολικό σύνδρομο, η ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου και η εμφάνιση διαβήτη τύπου 2 ή/και να καταπολεμούν ορισμένα είδη καρκίνου, όπως του μαστού, του προστάτη και του εντέρου (Gorzkiwicz και άλλοι, 2021; Torrens-Mas and Roca, 2020).

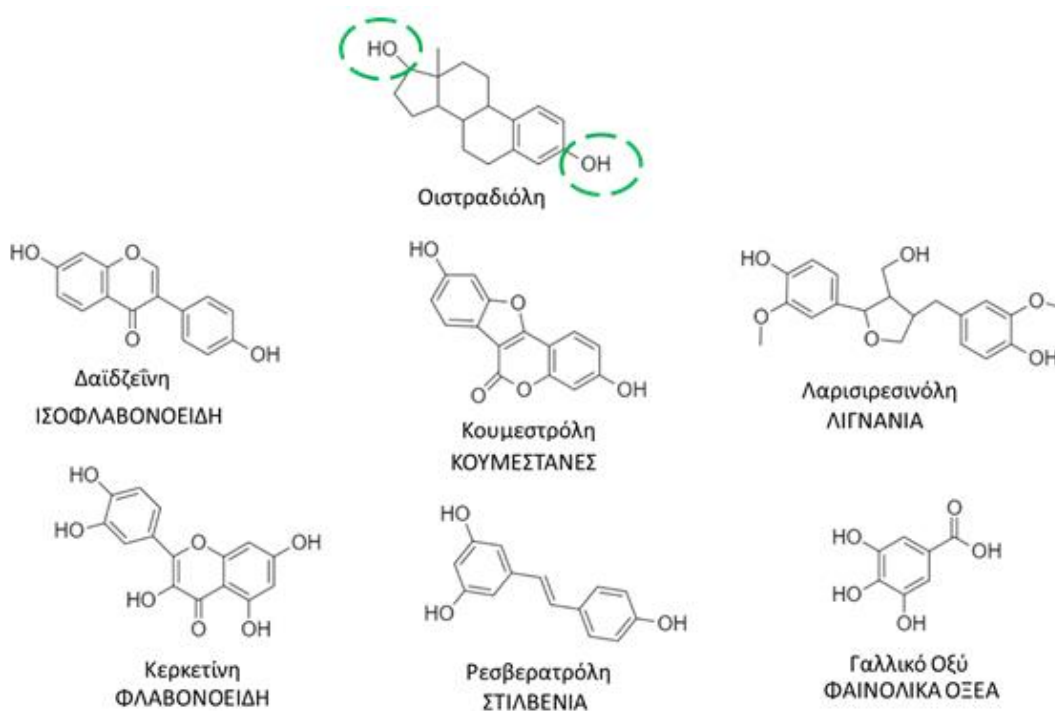
Ένας άλλος μηχανισμός με θετική επίδραση στην υγεία είναι μέσω της αντιοξειδωτικής δράσης που διαθέτουν τα περισσότερα φυτοοιστρογόνα (Kladna και άλλοι, 2016).

3.4.1. Οιστρογονική Δράση

Η οιστρογονική δράση των φυτοοιστρογόνων οφείλεται κυρίως στην παρουσία της φαινόλης στη δομή τους (Εικόνα 10), η οποία τους επιτρέπει να συνδέονται με τους οιστρογονικούς υποδοχείς ERα και ERβ. Η ικανότητα σύνδεσής τους εξαρτάται από τη συγκέντρωση των φυτοοιστρογόνων, είναι όμως σημαντικά χαμηλότερη σε σύγκριση με την αντίστοιχη ικανότητα της οιστραδιόλης. Επιπλέον, η οιστρογονική δράση των φυτοοιστρογόνων ποικίλλει ανάλογα με τη δομή τους, αφού για παράδειγμα εντός της οικογένειας των ισοφλαβονοειδών, η γενιστεΐνη έχει ισχυρότερη δραστηριότητα σε σύγκριση με τη βιοχανίνη Α, η οποία με τη σειρά της είναι δραστικότερη της δαϊδεξέϊνης (Oseni και άλλοι, 2008). Σημαντικό ρόλο στην οιστρογονική δράση των φυτοοιστρογόνων δεν παίζει μόνο η απόσταση μεταξύ των δύο αντιδιαμετρικών φαινολικών οξυγόνων τους, η οποία είναι παρόμοια με εκείνη της οιστραδιόλης, αλλά και η παρουσία ενός σωστά τοποθετημένου φαινολικού δακτυλίου. Η δομική αυτή ομοιότητα έχει μελετηθεί κυρίως στις ισοφλαβόνες δείχνοντας ότι σχετίζεται άμεσα με την ικανότητα σύνδεσής τους με όλους τους υποτύπους του ER και τις επιτρέπει να ανταγωνίζονται αποτελεσματικά τη οιστραδιόλη.

Μελέτες σε ισοφλαβόνες έδειξαν ότι δρουν κυρίως ως ισχυροί αγωνιστές στον ERβ και ασθενείς αγωνιστές στον ERα (Fitzpatrick, 2003). Η φαρμακολογική αυτή αλληλεπίδραση με τον υποδοχέα, και όχι η ανταγωνιστική αλληλεπίδραση σε μια

μεμονωμένη θέση, είναι πιθανά υπεύθυνη για τις ποικιλόμορφες βιολογικές δράσεις των φυτοοιστρογόνων. Με τον τρόπο αυτό είναι δυνατόν να εξηγηθεί γιατί τα φυτοοιστρογόνα δρουν προληπτικά στην εμφάνιση του καρκίνου του μαστού, αφού ο ERβ αναστέλλει την ανάπτυξη των μαστικών κυττάρων. Αντίστοιχα, σε άλλες περιπτώσεις ασκούν διεγερτική επίδραση στον ERα (An και άλλοι, 2001). Ωστόσο, υπάρχει μια επιπλέον σημαντική διάσταση της μοριακής δράσης στους οιστρογονικούς υποδοχείς, καθώς δεν είναι βέβαιο εάν οι ισοφλαβόνες εκτοπίζουν την οιστραδιόλη δεσμεύοντας μια πρωτογενή θέση στον ER δρώντας ανταγωνιστικά με την οιστραδιόλη ή εάν συνδέονται σε μια δευτερεύουσα θέση του ER. Ειδικά για την γενιστεΐνη έχει αποδειχτεί ότι συνδέεται με την ενεργό θέση του ERβ (Oseni και άλλοι, 2008).



Εικόνα 10 Σύγκριση των δομών φυτοοιστρογόνων με τη δομή της οιστραδιόλης.

Όσον αφορά τα φαινολικά οξέα και τα φλαβονοειδή, παρότι είναι κυρίως γνωστά για την αντιοξειδωτική τους δράση, παρουσιάζουν και αυτά οιστρογονική δράση επηρεάζοντας σε μεγάλο βαθμό την ορμονική λειτουργία. Για παράδειγμα, το καφεϊκό οξύ έχει την ικανότητα να προσδένεται και με τους δύο υποδοχείς ER, με αποτέλεσμα σε πείραμα με αρουραίους να αποδειχθεί η ευεργετική του επίδραση

έναντι της παχυσαρκίας (Zych και άλλοι, 2009). Αντίστοιχα, το χλωρογενικό οξύ έχει την ικανότητα να προσδένεται με τον υποδοχέα ERβ, δρώντας προστατευτικά έναντι της οστεοπόρωσης (Zhou και άλλοι, 2016), ενώ η καμφερόλη δρα οστεοπροστατευτικά μέσω της σύνδεσής της με τον υποδοχέα ERα (Guo και άλλοι, 2012). Το φλαβονοειδές λουτεολίνη επιδεικνύει αντι-οιστρογονική δράση όταν προσδένεται με τον ERα, με αποτέλεσμα να εμφανίζει χημειοπροστατευτική δράση (Markaverich και άλλοι, 2011). Τέλος, ο 7-O-γλυκοσίδης της λουτεολίνης έχει αποδειχτεί ότι προσδένεται και με τους δύο οιστρογονικούς υποδοχείς με οιστρογονική δράση εμφανίζοντας προστατευτική δράση έναντι της νόσου του Parkinson (Qin και άλλοι, 2019).

3.4.2. Αντιοξειδωτική Δραστικότητα των Φυτοοιστρογόνων

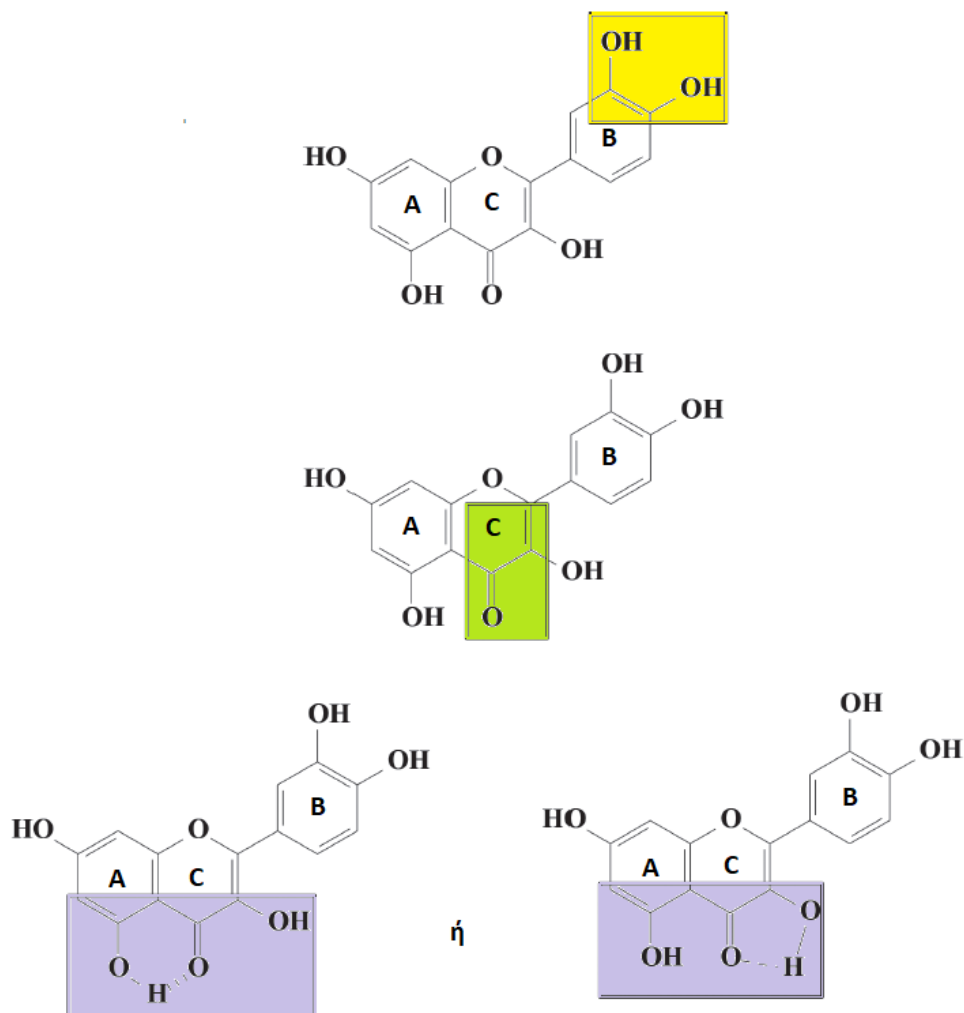
Τα φλαβονοειδή είναι οι δευτερογενείς μεταβολίτες που έχουν μελετηθεί περισσότερο για την αντιοξειδωτική τους δράση, αφού είναι πλέον αποδεδειγμένο ότι διαθέτουν την ικανότητα να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες δρώντας ως φυσικά αντιοξειδωτικά (Santos και άλλοι, 2017). Τα κύρια δομικά χαρακτηριστικά των φλαβονοειδών που είναι υπεύθυνα για την αντιοξειδωτική τους δράση μπορούν να κατηγοριοποιηθούν με βάση τους παρακάτω τρεις θεμελιώδεις παράγοντες:

1. δομή του 3',4'-διϋδροξυ-βενζολίου (κατεχόλη) στον δακτύλιο B που ευνοεί την μετακίνηση των ηλεκτρονίων (Εικόνα 11, κίτρινο),
2. ακόρεστος 2-3 δεσμός σε σύζευξη με μια 4-κετο ομάδα που συμβάλλει στη μετακίνηση των ηλεκτρονίων από τον δακτύλιο B (Εικόνα 11, πράσινο), και
3. ομάδες υδροξυλίου στις θέσεις 3 και 5, οι οποίες σχηματίζουν την ενδομοριακή σύνδεση υδρογόνου με την κετο-ομάδα (Εικόνα 11, μωβ).

Οι παράγοντες αυτοί οδηγούν σε αυξημένη δέσμευση των ελεύθερων ριζών μέσω της μετακίνησης των ηλεκτρονίων ή της μεταφοράς υδρογόνου (Croft, 1998).

Η αντιοξειδωτική δράση των φλαβονοειδών εκφράζεται μέσω διαφορετικών μηχανισμών, όπως η δέσμευση των ελευθέρων ριζών, η αδρανοποίηση των υπεροξειδίων και άλλων δραστικών ειδών οξυγόνου, η χηλίωση των μετάλλων και η απενεργοποίηση των δευτερογενών προϊόντων της οξείδωσης των λιπιδίων (Santos και άλλοι, 2017). Η ικανότητά τους να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες, η οποία σχετίζεται με τη δομή τους, συμβάλλει στην προστασία από το οξειδωτικό στρες,

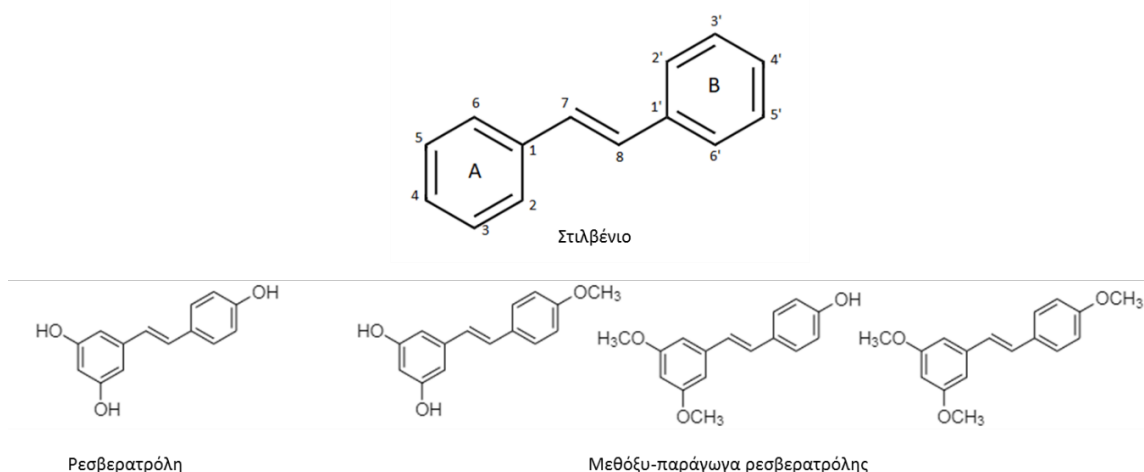
μειώνοντας την πιθανότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νόσων ή καρκίνων. Επίσης, επιβραδύνει τις διαδικασίες γήρανσης των κυττάρων, η οποία ευθύνεται για την πρόκληση εκφυλιστικών ασθενειών (Croft, 1998; Santos και άλλοι, 2017).



Εικόνα 11 Οι δομικές ομάδες των φλαβονοειδών που έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν τις ελεύθερες δραστικές ρίζες (Santos και άλλοι, 2017).

Με παρόμοιο τρόπο δρουν ως αντιοξειδωτικά και οι ισοφλαβόνες. Μελέτη του 2015 που αφορούσε τον προσδιορισμό των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων των ισοφλαβονών γενιστεΐνη, δαϊδζεΐνη και εκουόλη, απέδειξε ότι η εκουόλη παρουσιάζει μια ιδιαίτερα υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα η οποία είναι μεγαλύτερη και του προτύπου αναφοράς, του ασκορβικού οξέος (Kladna και άλλοι, 2016).

Όσον αφορά τα στυλβένια, η δομή τους δείχνει ότι διαθέτουν ένα διαφορετικό μηχανισμό αντιοξειδωτικής δράσης. Το 2019, οι Vo και συνεργάτες προσπάθησαν μέσω της μελέτης των θερμοχημικών παραμέτρων να ερμηνεύσουν τον τρόπο δράσης των στυλβενίων ως αντιοξειδωτικών. Η έρευνά τους έδειξε ως κύριο μηχανισμό τη δέσμευση των ελεύθερων ριζών από τα στυλβένια, σε αέρια και υγρή φάση, τον μηχανισμό μεταφοράς ατόμων υδρογόνου (Hydrogen Atom Transfer-HAT). Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η παρουσία των υδροξυλομάδων στον δακτύλιο Β αυξάνει την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, ενώ η μεθυλίωση των υδροξυλομάδων μειώνει την αντιοξειδωτική δραστηριότητα (Vo και άλλοι, 2019).



Εικόνα 12 Δομή στυλβενίου και δομές της ρεσβερατρόλης και των μεθόξυ-παραγώγων της.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι και οι άλλες κατηγορίες των φυτοοιστρογόνων εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση. Για παράδειγμα, έχει αποδειχθεί ότι από τις κουμεστάνες η κουμεστρόλη διαθέτει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, η οποία συνδυάζεται με σημαντική φωτολυτική αποικοδόμηση (Montero και άλλοι, 2019). Αντίστοιχα και τα λιγνάνια έχει προσδιοριστεί ότι επιδεικνύουν αντιοξειδωτική δραστηριότητα (Hu και άλλοι, 2007).

3.5. Επίδραση των Φυτοοιστρογόνων στον άνθρωπο

Η οιστρογονική δράση των φυτοοιστρογόνων έχει ως αποτέλεσμα την επίδρασή τους σε διάφορες λειτουργίες του ανθρώπινου οργανισμού. Επειδή τα οιστρογόνα συμβάλουν στην καλή λειτουργία πολλών ιστών και οργάνων, όπως οι

πνεύμονες (Hamidi και άλλοι, 2011), τα οστά (Manolagas, 2010), η καρδιά και ο εγκέφαλος (Dahlman-Wright και άλλοι, 2006), έχουν διενεργηθεί πολλές σχετικές έρευνες με βασικό στόχο τη συσχέτιση της καλής λειτουργίας των οργάνων αυτών με τη διατροφική πρόσληψη φυτοοιστρογόνων.

Τα οιστρογόνα είναι γνωστό ότι ενισχύουν το LTP (μακροπρόθεσμη ενίσχυση, Long Term Potentiation) μέσω της ενεργοποίησης του υποδοχέα ERβ και επομένως βελτιώνουν τη μνήμη (Liu και άλλοι, 2008). Σε άλλες μελέτες έχει διαπιστωθεί ότι τα οιστρογόνα έχουν την ικανότητα να προστατεύουν από τη γήρανση του εγκεφάλου, καθώς στις γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση φάνηκε ότι η πρόσληψη οιστρογόνων βελτιώνει τις λεκτικές και μνημονικές τους ικανότητες (Resnick και Maki, 2006), ενώ σε μοντέλα τρωκτικών αποδείχτηκε ότι βελτιώνει και τη χωρική τους μνήμη (Feng και άλλοι, 2004; Gresack και Frick, 2006). Για τους παραπάνω λόγους συχνά δίνονταν θεραπείες με οιστρογόνα για τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Όμως η εντατική χρήση οιστρογόνων ως θεραπεία για την καταπολέμηση των μετεμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων ενέχει σοβαρούς κινδύνους για την υγεία, αφού τα οιστρογόνα προάγουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό συμβάλλοντας στην ανάπτυξη ορισμένων ορμονοεξαρτώμενων καρκίνων, κυρίως στον μαστό και τις ωοθήκες (Valerie και Million Women Study Collaborators, 2003). Κλασσικό παράδειγμα των κινδύνων που συνεπάγεται η οιστρογονοθεραπεία αποτελεί η κλινική μελέτη του Women's Health Initiative (WHI) που διεξήχθη το 2002 και τερματίστηκε νωρίτερα από το αναμενόμενο, καθώς αναγνωρίστηκε νωρίς ο αυξημένος κίνδυνος να πάθουν οι γυναίκες του πειράματος έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικό επεισόδιο ή να εμφανίσουν καρκίνο του μαστού (Stefanick και άλλοι, 2006).

Λόγω των πιθανών κινδύνων που ενέχει η θεραπεία με ορμόνες συχνά αναζητούνται εναλλακτικές λύσεις. Έτσι, τα τελευταία χρόνια έχει αναπτυχθεί ένα έντονο ενδιαφέρον για τα φυτοοιστρογόνα, τα οποία προέρχονται από φυτά και εμφανίζουν παρόμοια δράση με τα οιστρογόνα των θηλαστικών. Η χρήση των φυτοοιστρογόνων συχνά θεωρείται ως μια φυσική, ασφαλής εναλλακτική θεραπεία έναντι των συνθετικών οιστρογόνων. Η πρόσληψή τους γίνεται συνήθως μέσω της διατροφής, καθώς τα φυτοοιστρογόνα βρίσκονται σε αφθονία σε διάφορα διατροφικά προϊόντα με πιο γνωστά τη σόγια και τα παράγωγά της, ενώ τα φυτοοιστρογόνα διατίθενται και με τη μορφή συμπληρωμάτων (Bent, 2008). Τα πιο

γνωστά συμπληρώματα διατροφής που περιέχουν φυτοοιστρογόνα προέρχονται από τη σόγια και προτείνονται για την ανακούφιση των συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης, αλλά και ως προϊόντα που μειώνουν τα επίπεδα της χοληστερόλης. Άλλα ευεργετικά αποτελέσματα της πρόσληψης των φυτοοιστρογόνων αφορούν τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης ορισμένων μορφών καρκίνου (Gao και άλλοι, 2000), τη μείωση της ολικής και LDL (Low-Density Lipoprotein) χοληστερόλης (Washburn και άλλοι, 1999), καθώς και την ανακούφιση από το σύμπτωμα της έξαψης κατά την εμμηνόπαυση (Albertazzi, 1998).

3.6. Επίδραση των Φυτοοιστρογόνων στα ζώα

Στις αρχές της δεκαετίας του 1940 παρατηρήθηκαν σε Αυστραλιανά πρόβατα διάφορα προβλήματα γονιμότητας, η εμφάνιση των οποίων συσχετίστηκε με την υψηλή κατανάλωση φυτοοιστρογόνων (Bennetts και άλλοι, 1946; Hashem και Soltan, 2016). Στη συνέχεια παρατηρήθηκαν και άλλες παρόμοιες περιπτώσεις σε διαφορετικά είδη ζώων, όπως οι διαταραχές γονιμότητας σε αγελάδες στη Φινλανδία τη δεκαετία του 1960, οι οποίες εμφανίστηκαν την άνοιξη δηλαδή στην αρχή της περιόδου βόσκησης.

Θα πρέπει όμως να επισημανθεί ότι η κατανάλωση των φυτοοιστρογόνων επιδρά και ευεργετικά αυξάνοντας τον ρυθμό ανάπτυξης των ζώων και την παραγωγή γάλακτος των αγελάδων. Έχει παρατηρηθεί ότι όταν στο σιτηρέσιο περιλαμβάνεται ένα φυτό με υψηλό ποσοστό φυτοοιστρογόνων αυξάνονται ο ρυθμός ανάπτυξης και το βάρος του ζώου (Hashem και Soltan, 2016; Saloniemi και άλλοι, 1995). Ένα άλλο παράδειγμα ευεργετικής επίδρασης των φυτοοιστρογόνων σε παραγωγικά ζώα έδωσε η έρευνα των Mattioli και συνεργατών σε ορνήθια ωοπαραγωγής στα οποία μελετήθηκε η επίδραση των συμπληρωμάτων μηδικής και φύτρων λιναριού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι με την προσθήκη τους εμπλουτίστηκε η περιεκτικότητα των αβγών σε βιοδραστικές ενώσεις και μειώθηκε η χοληστερόλη που περιέχουν. Κύριοι υπεύθυνοι για το αποτέλεσμα θεωρήθηκαν τα λιπαρά οξέα και τα φυτοοιστρογόνα που εμπεριέχονται στη μηδική και τη φύτρα του λιναριού (Mattioli και άλλοι, 2016). Μία πιο πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι η γενιστεΐνη βελτιώνει την αναπαραγωγική απόδοση, καθώς και την κατάσταση των οστών σε ορνήθια κατά την όψιμη περίοδο της ωοτοκίας τους. Στην ίδια μελέτη παρατηρήθηκε πως η

κατανάλωση της γενιστεΐνης αυξάνει την αντοχή του κελύφους των αβγών (Lv και άλλοι, 2019).

Η γενιστεΐνη ως συμπλήρωμα διατροφής έχει μελετηθεί και σε ορτύκια με επίσης ευεργετικά αποτελέσματα, αφού η κατανάλωση γενιστεΐνης οδήγησε στην αύξηση της παραγωγής αλλά και της ποιότητας των αβγών τους. Επιπλέον, μείωσε το επίπεδο της μηλονοδιαλδεΰδης (MDA) στον κρόκο, γεγονός που αποτελεί δείκτη της υπεροξείδωσης των λιπιδίων. Παράλληλα, δεν επηρεάστηκαν τα επίπεδα των βιταμινών A και E, ενώ ενισχύθηκε η συγκέντρωση της γενιστεΐνης στον κρόκο (Akdemir και Sahin, 2009).

Μία πολύ ενδιαφέρουσα επίδραση των φυτοοιστρογόνων στη διατροφή των ζώων σχετίζεται με τον περιορισμό της συγκέντρωσης των αντιβιοτικών στο πρόβειο γάλα, συμπεριλαμβανομένης της danofloxacin, όταν τα πρόβατα έχουν τραφεί με σιτηρέσια εμπλουτισμένες με σόγια που περιέχει ισοφλαβόνες (Perez και άλλοι, 2013; Pérez και άλλοι, 2009). Σε μια άλλη έρευνα η ενίσχυση της τροφής των προβάτων με λιναρόσπορο που είναι πλούσιος σε λιγνάνια και συγκεκριμένα στο διγλυκοσίδη της σεκοϊσολαρισρεσινόλης (Secoisolariciresinol diglucoside, SDG) και ταυτόχρονη χορήγηση 1,25mg/kg danofloxacin, μείωσε την έκκριση του φαρμάκου στο γάλα κατά 25-30% (Otero και άλλοι, 2018).

Βιβλιογραφία

- Akdemir, F., Sahin, K., 2009. Genistein supplementation to the quail: Effects on egg production and egg yolk genistein, daidzein, and lipid peroxidation levels. *Poultry Science* 88, 2125–2131. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00004>
- Albertazzi, P., 1998. The Effect of Dietary Soy Supplementation on Hot Flushes. *Obstetrics & Gynecology* 91, 6–11. [https://doi.org/10.1016/S0029-7844\(97\)00597-8](https://doi.org/10.1016/S0029-7844(97)00597-8)
- Ali Ghasemzadeh, 2011. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *J. Med. Plants Res.* 5. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.1404>
- Alzheimer's disease facts and figures, 2022. . *Alzheimer's & Dementia* 18, 700–789. <https://doi.org/10.1002/alz.12638>
- An, J., Tzagarakis-Foster, C., Scharschmidt, T.C., Lomri, N., Leitman, D.C., 2001. Estrogen Receptor β -Selective Transcriptional Activity and Recruitment of Coregulators by Phytoestrogens. *Journal of Biological Chemistry* 276, 17808–17814. <https://doi.org/10.1074/jbc.M100953200>
- Azcoitia, I., Sierra, A., Garcia-Segura, L.M., 1999. Localization of estrogen receptor beta-immunoreactivity in astrocytes of the adult rat brain. *Glia* 26, 260–267.
- Basu, P., Maier, C., 2018. Phytoestrogens and breast cancer: In vitro anticancer activities of isoflavones, lignans, coumestans, stilbenes and their analogs and derivatives. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 107, 1648–1666. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.100>
- Bennetts, H.W., Underwood, E.J., Shier, P.L., 1946. A Specific Breeding Problem of Sheep on Subterranean Clover Pastures in Western Australia. *The Veterinary Journal* (1900) 102, 348–352. [https://doi.org/10.1016/S0372-5545\(17\)31252-X](https://doi.org/10.1016/S0372-5545(17)31252-X)
- Bent, S., 2008. Herbal Medicine in the United States: Review of Efficacy, Safety, and Regulation: Grand Rounds at University of California, San Francisco Medical Center. *J GEN INTERN MED* 23, 854–859. <https://doi.org/10.1007/s11606-008-0632-y>
- Berlin, J., Dewick, P.M., Barz, W., Grisebach, H., 1972. Biosynthesis of coumestrol in *Phaseolus aureus*. *Phytochemistry* 11, 1689–1693. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(72\)85020-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(72)85020-9)

Bondar, G., Kuo, J., Hamid, N., Micevych, P., 2009. Estradiol-Induced Estrogen Receptor- Trafficking. *Journal of Neuroscience* 29, 15323–15330. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2107-09.2009>

Borras, C., 2007. Mitochondrial oxidant generation is involved in determining why females live longer than males. *Front Biosci* 12, 1008. <https://doi.org/10.2741/2120>

Brown, L.M., Gent, L., Davis, K., Clegg, D.J., 2010. Metabolic impact of sex hormones on obesity. *Brain Research* 1350, 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.04.056>

Chong, J., Poutaraud, A., Hugueney, P., 2009. Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Science* 177, 143–155. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.05.012>

Croft, K.D., 1998. The Chemistry and Biological Effects of Flavonoids and Phenolic Acids. *Annals of the New York Academy of Sciences* 854, 435–442. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09922.x>

Cvejić, J., Bursać, M., Atanacković, M., 2012. Phytoestrogens: “Estrogene-Like” Phytochemicals, in: *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier, pp. 1–35. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59530-0.00001-0>

Dahlman-Wright, K., Cavailles, V., Fuqua, S.A., Jordan, V.C., Katzenellenbogen, J.A., Korach, K.S., Maggi, A., Muramatsu, M., Parker, M.G., Gustafsson, J.-Å., 2006. International Union of Pharmacology. LXIV. Estrogen Receptors. *Pharmacol Rev* 58, 773–781. <https://doi.org/10.1124/pr.58.4.8>

Detsika, M.G., Myrtsi, E.D., Koulocheri, S.D., Haroutounian, S.A., Lianos, E.A., Roussos, C., 2019. Induction of decay accelerating factor and membrane cofactor protein by resveratrol attenuates complement deposition in human coronary artery endothelial cells. *Biochemistry and Biophysics Reports* 19, 100652. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2019.100652>

Dixon, R.A., Pasinetti, G.M., 2010. Flavonoids and Isoflavonoids: From Plant Biology to Agriculture and Neuroscience. *Plant Physiology* 154, 453–457. <https://doi.org/10.1104/pp.110.161430>

Dubrovina, A.S., Kiselev, K.V., 2017. Regulation of stilbene biosynthesis in plants. *Planta* 246, 597–623. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2730-8>

Ellnain-Wojtaszek, M., Kruczyński, Z., Kasprzak, J., 2001. Analysis of the content of flavonoids, phenolic acids as well as free radicals from *Ginkgo biloba* L. leaves during the vegetative cycle. *Acta Pol Pharm* 58, 205–209.

Feng, Z., Cheng, Y., Zhang, J., 2004. Long-term effects of melatonin or 17 β -estradiol on improving spatial memory performance in cognitively impaired, ovariectomized adult rats: Melatonin and memory in ovariectomized rats. *Journal of Pineal Research* 37, 198–206. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2004.00158.x>

Ferrer, J.-L., Austin, M.B., Stewart, C., Noel, J.P., 2008. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiology and Biochemistry* 46, 356–370. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.12.009>

Fitzpatrick, L.A., 2003. Phytoestrogens—mechanism of action and effect on bone markers and bone mineral density. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 32, 233–252. [https://doi.org/10.1016/S0889-8529\(02\)00085-3](https://doi.org/10.1016/S0889-8529(02)00085-3)

Fuss, E., 2003. Lignans in plant cell and organ cultures: An overview. *Phytochemistry Reviews* 2, 307–320. <https://doi.org/10.1023/B:PHYT.0000045500.56476.f5>

Gao, Y.T., Shu, X.O., Dai, Q., Potter, J.D., Brinton, L.A., Wen, W., Sellers, T.A., Kushi, L.H., Ruan, Z., Bostick, R.M., Jin, F., Zheng, W., 2000. Association of menstrual and reproductive factors with breast cancer risk: results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Int J Cancer* 87, 295–300. [https://doi.org/10.1002/1097-0215\(20000715\)87:2<295::aid-ijc23>3.0.co;2-7](https://doi.org/10.1002/1097-0215(20000715)87:2<295::aid-ijc23>3.0.co;2-7)

Giovinazzo, G., Ingrosso, I., Paradiso, A., De Gara, L., Santino, A., 2012. Resveratrol Biosynthesis: Plant Metabolic Engineering for Nutritional Improvement of Food. *Plant Foods Hum Nutr* 67, 191–199. <https://doi.org/10.1007/s11130-012-0299-8>

Gorosito, S.V., Lorenzo, A.G., Cambiasso, M.J., 2008. Estrogen receptor α is expressed on the cell-surface of embryonic hypothalamic neurons. *Neuroscience* 154, 1173–1177. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.05.001>

Gorzkiewicz, J., Bartosz, G., Sadowska-Bartos, I., 2021. The Potential Effects of Phytoestrogens: The Role in Neuroprotection. *Molecules* 26, 2954. <https://doi.org/10.3390/molecules26102954>

Gresack, J.E., Frick, K.M., 2006. Post-training estrogen enhances spatial and object memory consolidation in female mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 84, 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.04.013>

Guo, A.J., Choi, R.C., Zheng, K.Y., Chen, V.P., Dong, T.T., Wang, Z.-T., Vollmer, G., Lau, D.T., Tsim, K.W., 2012. Kaempferol as a flavonoid induces osteoblastic differentiation via estrogen receptor signaling. *Chin Med* 7, 10. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-7-10>

Hamidi, S.A., Dickman, K.G., Berisha, H., Said, S.I., 2011. 17 β -Estradiol Protects the Lung against Acute Injury: Possible Mediation by Vasoactive Intestinal Polypeptide. *Endocrinology* 152, 4729–4737. <https://doi.org/10.1210/en.2011-1631>

Harborne, J.B., Williams, C.A., 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55, 481–504. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00235-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00235-1)

Hashem, N., Soltan, Y., 2016. IMPACTS OF PHYTOESTROGENS ON LIVESTOCK PRODUCTION: A REVIEW. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds* 19, 81–89. <https://doi.org/10.21608/ejnf.2016.74871>

Havsteen, B.H., 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics* 96, 67–202. [https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(02\)00298-X](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(02)00298-X)

Hewitt, S.C., Korach, K.S., 2002. Estrogen receptors: structure, mechanisms and function. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 3, 193–200. <https://doi.org/10.1023/A:1020068224909>

Hu, C., Yuan, Y.V., Kitts, D.D., 2007. Antioxidant activities of the flaxseed lignan secoisolariciresinol diglucoside, its aglycone secoisolariciresinol and the mammalian lignans enterodiol and enterolactone in vitro. *Food and Chemical Toxicology* 45, 2219–2227. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.05.017>

Ibarreta, D., Daxenberger, A., Meyer, H.H.D., 2001. Possible health impact of phytoestrogens and xenoestrogens in food. *Apmis* 109, 161–184. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0463.2001.090301.x>

Idler, D.R., 2014. *Steroids In Nonmammalian Vertebrates*. Elsevier Science, Saint Louis.

Imbert, T.F., 1998. Discovery of podophyllotoxins. *Biochimie* 80, 207–222. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(98\)80004-7](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(98)80004-7)

Jeandet, P., Delaunois, B., Conreux, A., Donnez, D., Nuzzo, V., Cordelier, S., Clément, C., Courot, E., 2010. Biosynthesis, metabolism, molecular engineering, and biological functions of stilbene phytoalexins in plants. *BioFactors* 36, 331–341. <https://doi.org/10.1002/biof.108>

Kato, S., Endoh, H., Masuhiro, Y., Kitamoto, T., Uchiyama, S., Sasaki, H., Masushige, S., Gotoh, Y., Nishida, E., Kawashima, H., Metzger, D., Chambon, P., 1995. Activation of the Estrogen Receptor Through Phosphorylation by Mitogen-Activated Protein Kinase. *Science* 270, 1491–1494. <https://doi.org/10.1126/science.270.5241.1491>

Kładna, A., Berczyński, P., Kruk, I., Piechowska, T., Aboul-Enein, H.Y., 2016. Studies on the antioxidant properties of some phytoestrogens: Antioxidant properties of some phytoestrogens. *Luminescence* 31, 1201–1206. <https://doi.org/10.1002/bio.3091>

Krazeisen, A., Breitling, R., Möller, G., Adamski, J., 2001. Phytoestrogens inhibit human 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 5. *Mol Cell Endocrinol* 171, 151–162. [https://doi.org/10.1016/s0303-7207\(00\)00422-6](https://doi.org/10.1016/s0303-7207(00)00422-6)

Kumar, N., Goel, N., 2019. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports* 24, e00370. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>

Leibetseder, V., Humpeler, S., Zuckermann, A., Svoboda, M., Thalhammer, T., Marktl, W., Ekmekcioglu, C., 2010. Time dependence of estrogen receptor expression in human hearts. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 64, 154–159. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2009.09.010>

Liu, F., Day, M., Muñiz, L.C., Bitran, D., Arias, R., Revilla-Sanchez, R., Grauer, S., Zhang, G., Kelley, C., Pulito, V., Sung, A., Mervis, R.F., Navarra, R., Hirst, W.D., Reinhart, P.H., Marquis, K.L., Moss, S.J., Pangalos, M.N., Brandon, N.J., 2008. Activation of estrogen receptor- β regulates hippocampal synaptic plasticity and improves memory. *Nat Neurosci* 11, 334–343. <https://doi.org/10.1038/nn2057>

Lv, Z.P., Yan, S.J., Li, G., Liu, D., Guo, Y.M., 2019. Genistein improves the reproductive performance and bone status of breeder hens during the late egg-laying period. *Poultry Science* 98, 7022–7029. <https://doi.org/10.3382/ps/pez367>

Manolagas, S.C., 2010. From Estrogen-Centric to Aging and Oxidative Stress: A Revised Perspective of the Pathogenesis of Osteoporosis. *Endocrine Reviews* 31, 266–300. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0024>

Marin, R., Díaz, M., Alonso, R., Sanz, A., Arévalo, M.A., Garcia-Segura, L.M., 2009. Role of estrogen receptor α in membrane-initiated signaling in neural cells: Interaction with IGF-1 receptor. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 114, 2–7. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2008.12.014>

Markaverich, B.M., Shoulars, K., Rodriguez, M.A., 2011. Luteolin Regulation of Estrogen Signaling and Cell Cycle Pathway Genes in MCF-7 Human Breast Cancer Cells. *Int J Biomed Sci* 7, 101–111.

Martens, S., Preuß, A., Matern, U., 2010. Multifunctional flavonoid dioxygenases: Flavonol and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* L. *Phytochemistry* 71, 1040–1049. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.04.016>

Mattioli, S., Dal Bosco, A., Martino, M., Ruggeri, S., Marconi, O., Sileoni, V., Falcinelli, B., Castellini, C., Benincasa, P., 2016. Alfalfa and flax sprouts supplementation enriches the content of bioactive compounds and lowers the cholesterol in hen egg. *Journal of Functional Foods* 22, 454–462. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.02.007>

McEwen, B.S., Davis, P.G., Parsons, B., Pfaff, D.W., 1979. The Brain as a Target for Steroid Hormone Action. *Annu. Rev. Neurosci.* 2, 65–112. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.02.030179.000433>

Mechoulam, R., Brueggemeier, R.W., Denlinger, D.L., 1984. Estrogens in insects. *Experientia* 40, 942–944. <https://doi.org/10.1007/BF01946450>

Mierziak, J., Kostyn, K., Kulma, A., 2014. Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment. *Molecules* 19, 16240–16265. <https://doi.org/10.3390/molecules191016240>

Mollerup, S., Jørgensen, K., Berge, G., Haugen, A., 2002. Expression of estrogen receptors α and β in human lung tissue and cell lines. *Lung Cancer* 37, 153–159. [https://doi.org/10.1016/S0169-5002\(02\)00039-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5002(02)00039-9)

Montano, M.M., Kraus, W.L., Katzenellenbogen, B.S., 1997. Identification of a Novel Transferable cis Element in the Promoter of an Estrogen-Responsive Gene that

Modulates Sensitivity to Hormone and Antihormone. *Molecular Endocrinology* 11, 330–341. <https://doi.org/10.1210/mend.11.3.9899>

Montero, G., Arriagada, F., Günther, G., Bollo, S., Mura, F., Berríos, E., Morales, J., 2019. Phytoestrogen coumestrol: Antioxidant capacity and its loading in albumin nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 562, 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.03.029>

Morandi, D., Branzanti, B., Gianinazzi-Pearson, V., 1992. Effect of some plant flavonoids on in vitro behaviour of an arbuscular mycorrhizal fungus. *Agronomie* 12, 811–816. <https://doi.org/10.1051/agro:19921012>

Moutsatsou, P., 2007. The spectrum of phytoestrogens in nature: our knowledge is expanding. *Hormones (Athens)* 6, 173–193.

Muir, A.D., Westcott, N.D. (Eds.), 2003. The role of flaxseed lignans in hormone-dependent and independent cancer, in: *Flax*. CRC Press, pp. 193–215. <https://doi.org/10.1201/9780203437506-12>

Myrtsi, E.D., Koulocheri, S.D., Iliopoulos, V., Haroutounian, S.A., 2021. High-Throughput Quantification of 32 Bioactive Antioxidant Phenolic Compounds in Grapes, Wines and Vinification Byproducts by LC–MS/MS. *Antioxidants* 10, 1174. <https://doi.org/10.3390/antiox10081174>

Onoe, Y., Miyaura, C., Ohta, H., Nozawa, S., Suda, T., 1997. Expression of Estrogen Receptor β in Rat Bone. *Endocrinology* 138, 4509–4512. <https://doi.org/10.1210/endo.138.10.5575>

Oseni, T., Patel, R., Pyle, J., Jordan, V., 2008. Selective Estrogen Receptor Modulators and Phytoestrogens. *Planta Med* 74, 1656–1665. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088304>

Otero, J.A., García-Mateos, D., Alvarez-Fernández, I., García-Villalba, R., Espín, J.C., Álvarez, A.I., Merino, G., 2018. Flaxseed-enriched diets change milk concentration of the antimicrobial danofloxacin in sheep. *BMC Vet Res* 14, 14. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1341-3>

Pangeni, R., Sahni, J.K., Ali, J., Sharma, S., Baboota, S., 2014. Resveratrol: review on therapeutic potential and recent advances in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery* 11, 1285–1298. <https://doi.org/10.1517/17425247.2014.919253>

Perez, M., Otero, J.A., Barrera, B., Prieto, J.G., Merino, G., Alvarez, A.I., 2013. Inhibition of ABCG2/BCRP transporter by soy isoflavones genistein and daidzein: Effect on plasma and milk levels of danofloxacin in sheep. *The Veterinary Journal* 196, 203–208. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.09.012>

Pérez, M., Real, R., Mendoza, G., Merino, G., Prieto, J.G., Alvarez, A.I., 2009. Milk secretion of nitrofurantoin, as a specific BCRP/ABCG2 substrate, in assaf sheep: modulation by isoflavones. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 32, 498–502. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2008.01050.x>

Qin, L., Chen, Z., Yang, L., Shi, H., Wu, H., Zhang, B., Zhang, W., Xu, Q., Huang, F., Wu, X., 2019. Luteolin-7-O-glucoside protects dopaminergic neurons by activating estrogen-receptor-mediated signaling pathway in MPTP-induced mice. *Toxicology* 426, 152256. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2019.152256>

Quintin, T.J. (Ed.), 2010. *Chromatography: types, techniques and methods*, Chemical engineering methods and technology series. Nova Science Publishers, New York.

Resnick, S.M., Maki, P.M., 2006. Effects of Hormone Replacement Therapy on Cognitive and Brain Aging. *Annals of the New York Academy of Sciences* 949, 203–214. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb04023.x>

Robbins, R.J., 2003. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *J. Agric. Food Chem.* 51, 2866–2887. <https://doi.org/10.1021/jf026182t>

Ross, J.A., Kasum, C.M., 2002. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu. Rev. Nutr.* 22, 19–34. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.22.111401.144957>

Ryan, K.J., 1982. Biochemistry of aromatase: significance to female reproductive physiology. *Cancer Res* 42, 3342s–3344s.

Saloniemi, H., Wahala, K., Nykanen-Kurki, P., Kallela, K., Saastamoinen, I., 1995. Phytoestrogen Content and Estrogenic Effect of Legume Fodder. *Experimental Biology and Medicine* 208, 13–17. <https://doi.org/10.3181/00379727-208-43825>

Santos, E.L., Maia, B.H.L.N.S., Ferriani, A.P., Teixeira, S.D., 2017. Flavonoids: Classification, Biosynthesis and Chemical Ecology, in: Justino, G.C. (Ed.), *Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health*. InTech. <https://doi.org/10.5772/67861>

Schwabe, J.W.R., Chapman, L., Finch, J.T., Rhodes, D., 1993. The crystal structure of the estrogen receptor DNA-binding domain bound to DNA: How receptors discriminate between their response elements. *Cell* 75, 567–578. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90390-C](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90390-C)

Sharma, P.K., Thakur, M.K., 2004. Estrogen receptor alpha expression in mice kidney shows sex differences during aging. *Biogerontology* 5, 375–381. <https://doi.org/10.1007/s10522-004-3191-6>

Sikorska, M., Matławska, I., Główniak, K., Zgórk, G., 2000. Qualitative and quantitative analysis of phenolic acids in *Asclepias syriaca* L. *Acta Pol Pharm* 57, 69–72.

Simpkins, J.W., Yi, K.D., Yang, S.-H., Dykens, J.A., 2010. Mitochondrial mechanisms of estrogen neuroprotection. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1800, 1113–1120. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.11.013>

Sirtori, C.R., Arnoldi, A., Johnson, S.K., 2005. Phytoestrogens: End of a tale? *Annals of Medicine* 37, 423–438. <https://doi.org/10.1080/07853890510044586>

Smith, E.P., Boyd, J., Frank, G.R., Takahashi, H., Cohen, R.M., Specker, B., Williams, T.C., Lubahn, D.B., Korach, K.S., 1994. Estrogen Resistance Caused by a Mutation in the Estrogen-Receptor Gene in a Man. *N Engl J Med* 331, 1056–1061. <https://doi.org/10.1056/NEJM199410203311604>

Stefanick, M.L., Anderson, G.L., Margolis, K.L., Hendrix, S.L., Rodabough, R.J., Paskett, E.D., Lane, D.S., Hubbell, F.A., Assaf, A.R., Sarto, G.E., Schenken, R.S., Yasmeen, S., Lessin, L., Chlebowski, R.T., WHI Investigators, for the, 2006. Effects of Conjugated Equine Estrogens on Breast Cancer and Mammography Screening in Postmenopausal Women With Hysterectomy. *JAMA* 295, 1647. <https://doi.org/10.1001/jama.295.14.1647>

Suzuki, S., Umezawa, T., 2007. Biosynthesis of lignans and norlignans. *J Wood Sci* 53, 273–284. <https://doi.org/10.1007/s10086-007-0892-x>

Thomas, M.P., Potter, B.V.L., 2013. The structural biology of oestrogen metabolism. *J Steroid Biochem Mol Biol* 137, 27–49. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2012.12.014>

Umezawa, T., 2003. Diversity in lignan biosynthesis. *Phytochemistry Reviews* 2, 371–390. <https://doi.org/10.1023/B:PHYT.0000045487.02836.32>

Valerie, B., Million Women Study Collaborators, 2003. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *The Lancet* 362, 419–427. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)14065-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14065-2)

Vo, Q.V., Cam Nam, P., Bay, M.V., Minh Thong, N., Hieu, L.T., Mechler, A., 2019. A theoretical study of the radical scavenging activity of natural stilbenes. *RSC Adv.* 9, 42020–42028. <https://doi.org/10.1039/C9RA08381B>

Ward, R.S., 2000. Recent Advances in the Chemistry of Lignans, in: *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier, pp. 739–798. [https://doi.org/10.1016/S1572-5995\(00\)80054-X](https://doi.org/10.1016/S1572-5995(00)80054-X)

Washburn, S., Burke, G.L., Morgan, T., Anthony, M., 1999. Effect of Soy Protein Supplementation on Serum Lipoproteins, Blood Pressure, and Menopausal Symptoms in Perimenopausal Women: Menopause 6, 777–783. <https://doi.org/10.1097/00042192-199906010-00004>

Winkel-Shirley, B., 2001. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. *Plant Physiology* 126, 485–493. <https://doi.org/10.1104/pp.126.2.485>

Wise, P.M., Dubal, D.B., Wilson, M.E., Rau, S.W., Böttner, M., 2001. Minireview: Neuroprotective Effects of Estrogen—New Insights into Mechanisms of Action. *Endocrinology* 142, 969–973. <https://doi.org/10.1210/endo.142.3.8033>

Wyse, J., Latif, S., Gurusinghe, S., McCormick, J., Weston, L.A., Stephen, C.P., 2022. Phytoestrogens: A Review of Their Impacts on Reproductive Physiology and Other Effects upon Grazing Livestock. *Animals* 12, 2709. <https://doi.org/10.3390/ani12192709>

Yang, S.-H., Liu, R., Perez, E.J., Wen, Y., Stevens, S.M., Valencia, T., Brun-Zinkernagel, A.-M., Prokai, L., Will, Y., Dykens, J., Koulen, P., Simpkins, J.W., 2004. Mitochondrial localization of estrogen receptor β . *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 4130–4135. <https://doi.org/10.1073/pnas.0306948101>

Ylikomi, T., Bocquel, M.T., Berry, M., Gronemeyer, H., Chambon, P., 1992. Cooperation of proto-signals for nuclear accumulation of estrogen and progesterone receptors. *The EMBO Journal* 11, 3681–3694. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1992.tb05453.x>

Zhang, Y., Butelli, E., Alseekh, S., Tohge, T., Rallapalli, G., Luo, J., Kwar, P.G., Hill, L., Santino, A., Fernie, A.R., Martin, C., 2015. Multi-level engineering facilitates the production of phenylpropanoid compounds in tomato. *Nat Commun* 6, 8635. <https://doi.org/10.1038/ncomms9635>

Zhou, R.P., Lin, S.J., Wan, W.B., Zuo, H.L., Yao, F.F., Ruan, H.B., Xu, J., Song, W., Zhou, Y.C., Wen, S.Y., Dai, J.H., Zhu, M.L., Luo, J., 2016. Chlorogenic Acid Prevents Osteoporosis by Shp2/PI3K/Akt Pathway in Ovariectomized Rats. *PLoS ONE* 11, e0166751. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166751>

Zych, M., Folwarczna, J., Trzeciak, H.I., 2009. Natural phenolic acids may increase serum estradiol level in ovariectomized rats. *Acta Biochim Pol* 56. https://doi.org/10.18388/abp.2009_2486

4. Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή ανήκουν στην οικογένεια των τερπενοειδών ή ισοπρενοειδών και συγκεκριμένα στην τάξη των τετρατερπενοειδών, καθώς αποτελούνται από 40 άτομα άνθρακα. Είναι φυσικές χρωστικές χημικές ενώσεις που βιοσυντίθενται από τα φυτά και κάποιους μικροοργανισμούς όπως τα άλγη, τα βακτήρια και οι μύκητες (Ross, 2014). Παράλληλα, ανιχνεύονται και στο σώμα κάποιων θαλάσσιων ζώων, όπως ο σολομός και οι γαρίδες ή σε κάποια ζωικά προϊόντα όπως ο κρόκος του αυγού (Islam και Schweigert, 2015). Τα περισσότερα ζώα και ο άνθρωπος χρειάζεται να προσλαμβάνουν τις χημικές αυτές ενώσεις μέσω της διατροφής τους αφού δεν είναι σε θέση να τις βιοσυνθέσουν (Rivera και Canela-Garayoa, 2012) παρότι είναι απαραίτητες για βασικές τους λειτουργίες, όπως η βιοσύνθεση της βιταμίνης Α της οποίας αποτελούν πρόδρομες ενώσεις (Bendich και Olson, 1989).

Τα καροτενοειδή χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες: τα καροτένια, που είναι μόρια τα οποία αποτελούνται μόνο από άτομα άνθρακα (C) και υδρογόνου (H) (π.χ. το β-καροτένιο) και τις ξανθοφύλλες, οι οποίες εκτός από C και H περιέχουν τουλάχιστον ένα άτομο οξυγόνου (O) (π.χ. η ζεαξανθίνη) (Britton, 2004).

Τα καροτενοειδή συμβάλλουν στην αισθητική και διατροφική ποιότητα των φυτών και λειτουργούν ως προστατευτικά και οικοφυσιολογικά, ειδικά στα έγχρωμα φρούτα καθώς αποτελούν τα μόρια που προσελκύουν τους φυτοφάγους οργανισμούς που μπορούν να διασκορπίσουν τους σπόρους του φυτού (Lado και άλλοι, 2016). Όπως και στα άλλα φυτικά όργανα, η περιεκτικότητα των σπερμάτων σε καροτενοειδή σχετίζεται άμεσα με το στάδιο ανάπτυξης και τις επικρατούσες περιβαλλοντικές συνθήκες (Lado και άλλοι, 2016).

Θα πρέπει να επισημανθεί ότι η λειτουργία των καροτενοειδών στους πράσινους ιστούς έχει μελετηθεί εκτεταμένα αφού τα μόρια αυτά είναι απαραίτητα για τη φωτοσύνθεση. Συγκεκριμένα, οι λειτουργίες των καροτενοειδών στους χλωροπλάστες επικεντρώνονται στις θυλακοειδείς μεμβράνες που αποτελεί περιοχή έντονης βιοσύνθεσης και συσσώρευσής τους (Nogueira και άλλοι, 2013). Τα κύτταρα του φλοιού των πράσινων σπερμάτων περιέχουν ενεργούς φωτοσυνθετικούς χλωροπλάστες, με αποτέλεσμα να είναι απαραίτητη η παρουσία των καροτενοειδών για τη δέσμευση του φωτός με δεδομένο ότι δρουν ως ρυθμιστές της

αποτελεσματικότητας του φωτοσυστήματος II λειτουργώντας ως βοηθητικές χρωστικές και φωτοπροστατευτικές ενώσεις (Holleboom και άλλοι, 2013; Ma και άλλοι, 2003).

Σήμερα, τα καροτενοειδή βρίσκουν ποικίλες βιομηχανικές εφαρμογές ως χρωστικές στη βιομηχανία των τροφίμων, ενώ λόγω των ευεργετικών τους επιδράσεων στην υγεία, με κύρια την αντιοξειδωτική τους ικανότητα, χρησιμοποιούνται ευρύτατα από τις βιομηχανίες συμπληρωμάτων διατροφής και φαρμάκων (Fraser και Bramley PM, 2004).

4.1. Βιοσύνθεση των Καροτενοειδών

4.1.1. Βιοσύνθεση των Τερπενοειδών

Οι δομές των καροτενοειδών, όπως και όλες οι δομές των τερπενοειδών, σχηματίζονται ως επαναλαμβανόμενες μονάδες ισοπρενίου (C_5H_8). Συγκεκριμένα, τα τερπενοειδή σχηματίζονται από δύο ισομερή του ισοπρενίου, το πυροφωσφορικό ισοπεντύλιο (IPP) και το αλλυλικό ισομερές του πυροφωσφορικό διμεθυλο-αλλύλιο (DMAPP). Η παραγωγή του IPP στα φυτά ακολουθεί τα μεταβολικά μονοπάτια, του μεβαλονικού οξέος (MVA) (Mizioroko, 2011) και της 4-φωσφορικής-2C-μεθυλο-D-ερυθριτόλης (MEP) (Eisenreich και άλλοι, 2004; Rodriguez-Concepcion, 2002). Το δεύτερο μονοπάτι είναι γνωστό και ως το μεταβολικό μονοπάτι της 5-φωσφορικής-1-δεοξυ-D-ξυλουλόσης (DOXP) ή το μη μεβαλονικό μονοπάτι που λαμβάνει χώρα στα πλαστίδια (Lichtenthaler, 2000). Όμως, η βιοσύνθεση των καροτενοειδών στα φυτά κατά κύριο λόγο πραγματοποιείται από τα μόρια IPP και DMAPP που προέρχονται από την οδό MEP (Eisenreich και άλλοι, 2004; Rodriguez-Concepcion, 2002).

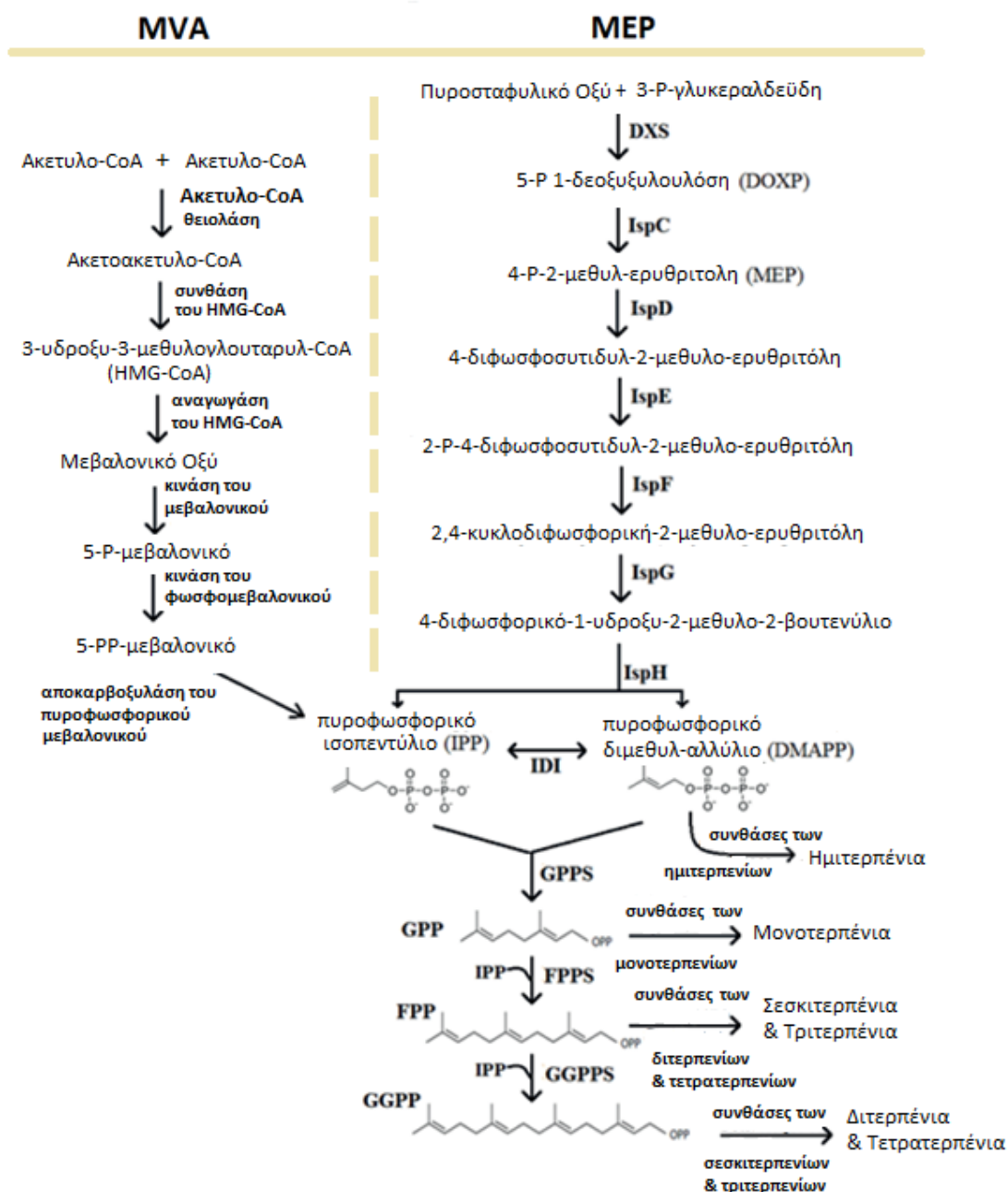
Η μεταβολική αυτή οδός χρησιμοποιεί την 3-φωσφορική γλυκεραλδεΐδη και το πυροσταφυλικό οξύ ως αρχικά υποστρώματα για τον σχηματισμό της 5-P-δεοξυ-ξυλουλόσης (DOXP). Η αντίδραση λαμβάνει χώρα με τη βοήθεια της συνθάσης της DOXP (DXS) με τη συμπύκνωση των δύο μορίων και ταυτόχρονη απελευθέρωση CO_2 . Στη συνέχεια, η MEP σχηματίζεται μέσω ενδομοριακής αναδιάταξης και μείωσης της DOXP από το ένζυμο *IspC* που είναι μια αναγωγικοϊσομεράση, ένα ένζυμο σημαντικό για τη ρύθμιση της σύνθεσης των καροτενοειδών (Carretero-Paulet και άλλοι, 2006; Estévez και άλλοι, 2001). Στη συνέχεια, σχηματίζεται το IPP μέσω μιας σειράς καταλυτικών βημάτων με τη βοήθεια διάφορων ενζύμων, όπως απεικονίζεται στο

Σχήμα 7 (Abdallah και Quax, 2017). Το τελευταίο ένζυμο της μεταβολικής οδού αυτής είναι γνωστό ως η συνθάση του IPP:DMAPP, αφού έχει την ικανότητα να παράγει ταυτόχρονα IPP και DMAPP σε αναλογία 85:15 IPP/DMAPP (Tritsch και άλλοι, 2010).

Στο μεβαλονικό μεταβολικό μονοπάτι η σύνθεση του IPP περιλαμβάνει έξι βήματα, ξεκινώντας με τη συμπύκνωση δύο μορίων ακετυλο-συνενζύμων A (ακετυλο-CoA) που δίνουν το ακετοακετυλο-CoA (Σχήμα 7) (Abdallah και Quax, 2017), ενώ και στην περίπτωση αυτή σημαντικό ρόλο παίζουν τα αντίστοιχα ένζυμα (Kanehisa, 2000).

Μετά τον αλληλοσχηματισμό των μορίων IPP και DMAPP, οι συνθάσες του πυροφωσφορικού ισοπρενυλίου προσθέτουν με σχηματισμούς κεφαλής-ουράς τρία διαδοχικά μόρια της IPP σε αλληλικά μόρια πυροφωσφορικού, αρχίζοντας από το DMAPP. Ως αποτέλεσμα, παράγονται διαδοχικά τα μόρια πυροφωσφορικό γερανύλιο (GPP, C10), πυροφωσφορικό φαρνεσύλιο (FPP, C15) και τελικά το πυροφωσφορικό γερανυλο-γερανύλιο (GGPP, C20), τα τρία μόρια πρόδρομοι των περισσότερων ισοπρενοειδών ενώσεων. Η έναρξη της καροτενογένεσης πραγματοποιείται με τη συμπύκνωση δύο μορίων GGPP και την παραγωγή φυτοενίου που αποτελεί το πρώτο –και απλούστερο– καροτενοειδές (Abdallah και Quax, 2017).

Μεταβολικά Μονοπάτια Βιοσύνθεσης Τερπενοειδών



Σχήμα 7 Μεταβολικά Μονοπάτια Βιοσύνθεσης Τερπενοειδών. Για τη βιοσύνθεση των καροτενοειδών στα φυτά χρησιμοποιείται η MEP οδός (Abdallah και Quach, 2017).

4.1.2. Βιοσύνθεση των Καροτενοειδών

Η βιοσύνθεση των καροτενοειδών ξεκινά με τη συμπύκνωση δύο μορίων GGPP και τη βοήθεια του ενζύμου συνθάση του φυτοενίου (PSY), για να σχηματιστεί το 15-*cis*-φυτοένιο (Bramley, 2002; Giorio και άλλοι, 2008). Η διαδικασία αυτή ελέγχεται από πολλαπλά PSY, ανάλογα με το είδος του φυτού (Cazzonelli και άλλοι,

2010). Στη συνέχεια, με τη δράση των ενζύμων συνθάση-αποκορεσμάση του φυτοενίου (PDS) και αποκορεσμάση του ζ-καροτενίου (ZDS) με δύο συμμετρικές αντιδράσεις αφυδρογόνωσης εισάγονται τέσσερις διπλοί δεσμοί μετατρέποντας το 15-*cis*-φυτοένιο σε τετρα-*cis*-λυκοπένιο (*all-trans*-λυκοπένιο). Στα ανώτερα φυτά η μετατροπή αυτή γίνεται με τη βοήθεια του ενζύμου CRTISO, μιας ισομεράσης που ισομεριώνει τους *cis* δεσμούς στις θέσεις 7, 9 και 7', 9' μετατρέποντας το τετρα-*cis*-λυκοπένιο σε *all-trans*-λυκοπένιο (Nisar και άλλοι, 2015). Το ένζυμο CRTISO δεν είναι η μοναδική καροτενοειδής ισομεράση στα φυτά γιατί έχει βρεθεί και μία δεύτερη ισομεράση που ισομεριώνει τους διπλούς δεσμούς C15-15' του φυτοενίου (Isaacson και άλλοι, 2004).

Το ένζυμο Z-ISO είναι απαραίτητο για τη μετατροπή του *cis* δεσμού σε *trans* και την παραγωγή του 9,15,9'-τρι-*cis*-ζ-καροτενίου, που αποτελεί το υπόστρωμα για το ένζυμο ZDS (Nisar και άλλοι, 2015). Όμως, τόσο το ένζυμο CRTISO όσο και το Z-ISO κατέχουν ξεχωριστούς ρόλους στον ισομερισμό των καροτενίων, ακόμη και στην περίπτωση που η δραστηριότητά τους μπορεί να αντισταθμιστεί μερικώς με φωτοϊσομερισμό των *cis*-καροτενίων που προηγούνται στη βιοσύνθεση του *all-trans*-λυκοπενίου στους φωτοσυνθετικούς ιστούς.

Στα φυτά το *all-trans*-λυκοπένιο είναι το υπόστρωμα που προτιμάται από τις κυκλάσες (Schnurr και άλλοι, 1996). Η κυκλοποίηση του λυκοπενίου αποτελεί κρίσιμο βήμα για τον μεταβολισμό των καροτενοειδών και οδηγεί στη δημιουργία μιας ποικιλίας καροτενοειδών μορίων που διακρίνεται από διαφορετικές κυκλικές ομάδες. Έτσι, είναι δυνατόν να λάβει χώρα είτε προσθήκη σε β ή/και ε δακτυλίους, οι οποίοι παράγονται αντίστοιχα από την β-κυκλάση (β-LCY) και την ε-κυκλάση του λυκοπενίου (ε-LCY) (Cunningham και άλλοι, 1996, 1993; Pecker και άλλοι, 1996). Ο σχηματισμός των δύο β-δακτυλίων σχηματίζει τον κλάδο β, β των καροτενοειδών στο β-καροτένιο και τα παράγωγά του. Ο συνδυασμός των β και ε δακτυλίων σχηματίζει τα καροτενοειδή β, ε στα οποία περιλαμβάνονται το α-καροτένιο και η λουτεΐνη, η κύρια ξανθοφύλλη στα πράσινα φύλλα. Καροτενοειδή με δύο ε- δακτυλίους είναι σπάνια στα περισσότερα φυτά (Nisar και άλλοι, 2015). Άλλη δράση των κυκλασών αφορά την παραγωγή των κ-κυκλικών καροτενοειδών με ένα δακτύλιο κυκλοπεντανίου, όπως η καψανθίνη και η καψορουμπίνη, οι οποίες είναι οι χρωστικές της οικογένειας του πιπεριού και καταλύονται από την συνθάση της

καψανθίνης-καψορουμπίνης (CCS) (Gómez-García και Ochoa-Alejo 2013; Mialoundama και άλλοι, 2010).

Περαιτέρω υδροξυλίωση των α- και β-καροτενίων παράγει τις ξανθοφύλλες λουτεΐνη και ζεαξανθίνη, οι οποίες συγκαταλέγονται μεταξύ των κύριων καροτενοειδικών χρωστικών στα φυτά. Η β-υδροξυλίωση (β-ΟΗάση) καταλύει δύο αντιδράσεις υδροξυλίωσης, μετατρέποντας το β-καροτένιο σε ζεαξανθίνη μέσω της β-κρυπτοξανθίνης. Το α-καροτένιο υδροξυλιώνεται δύο φορές με δύο διαφορετικές ενζυματικές αντιδράσεις που καταλύονται από ε και β-ΟΗάσες. Η εποξειδάση της ζεαξανθίνης (ZEP) υδροξυλιώνει τους β-δακτυλίους της σε δύο διαδοχικά στάδια για να παραχθεί η ανθεραξανθίνη και στη συνέχεια η βιολαξανθίνη. Η βιολαξανθίνη τελικά μετατρέπεται σε νεοξανθίνη με τη δράση της συνθετάσης της νεοξανθίνης, η οποία αντιπροσωπεύει το τελευταίο στάδιο στη βιοσυνθετική οδό των καροτενοειδών. Όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 8, από την νεοξανθίνη προκύπτει τελικά το αμπισισικό οξύ (Nisar και άλλοι, 2015), μια φυτική ορμόνη που είναι σημαντική για τα φυτά, καθώς είναι απαραίτητη για την επιβίωσή τους όταν αυτά εκτίθενται σε στρεσογόνους παράγοντες, όπως η ξηρασία, το κρύο κλπ (Li και άλλοι, 2017).

προέρχονται από έναν σημαντικό αριθμό πρόδρομων καροτενοειδών (έως σήμερα έχουν αναγνωριστεί περισσότερα από 750 αποκαροτενοειδή), με διαφορές στις ειδικές θέσεις διάσπασης, αλλά και τις τροποποιήσεις μετά τη διάσπασή τους (Schwartz και άλλοι, 2001). Ανάλογα με το μέγεθος της χρωμοφόρου ομάδας τους, τα αποκαροτενοειδή απορροφούν στο ορατό φως λειτουργώντας ως χρωστικές για την προσέλκυση των ερπυγιστών ή ως παράγοντες διασποράς των σπόρων. Στα φυτά τα αποκαροτενοειδή μπορούν να βρεθούν σε ετιοπλάστη, λευκοπλάστη και χρωμοπλάστη ή σε ιστούς, όπως οι ρίζες και τα άνθη.

Η διάσπαση των καροτενοειδών σε αποκαροτενοειδή πραγματοποιείται μέσω της δράσης των τοπικών οξυγενασών διάσπασης των καροτενοειδών (CCDs), οι οποίες στοχεύουν σε διαφορετικούς διπλούς δεσμούς της αλυσίδας του πολυενίου (Σχήμα 9). Τα πρόδρομα καροτενοειδή μόρια των κυριότερων αποκαροτενοειδών είναι το λυκοπένιο, το β-καροτένιο και η ζεαξανθίνη.

Τα αποκαροτενοειδή με τη μεγαλύτερη εμπορική αξία είναι η βιξίνη και η κροκίνη. Η βιξίνη είναι ένα πολυένιο που προέρχεται από το κεντρικό τμήμα του λυκοπενίου με την ενζυματική διάσπαση των διπλών δεσμών 5-6 και 5'-6' και απομονώνεται από τους σπόρους της *Bixa orellana* (Κεντρική και Νότια Αμερική). Η κροκίνη είναι η γλυκοζυλιωμένη μορφή της κροκετίνης, η οποία συσσωρεύεται σε μεγάλες ποσότητες (μέχρι 8% σε ξηρό βάρος) στα στίγματα του σαφράν. Και οι δύο χρωστικές είναι υπεύθυνες για τον κόκκινο χρωματισμό των στιγμάτων του σαφράν, τα οποία περιέχουν και άλλα αποκαροτενοειδή, όπως η πικροκροκίνη που έχει χαρακτηριστική πικρή γεύση και η σαφρανάλη που είναι υπεύθυνη για το άρωμά του (Caballero-Ortega και άλλοι, 2007).

Αποκαροτενοειδή είναι και αρκετές φυτορμόνες που εμπλέκονται στη ρύθμιση της δομής και της ανάπτυξης των φυτών, με κυριότερο το αμπισισικό οξύ (ABA) που παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ανάπτυξης των σπόρων, στην αντοχή σε ξηρασία κλπ (Schwartz και άλλοι, 2003; Taylor και άλλοι, 2005). Ένα άλλο μόριο είναι η στριγγολακτόνη (StrigoLactone, SL) που εμπλέκεται σε πολλές φυσιολογικές διεργασίες, όπως η ανάπτυξη των φυτών, η διακλάδωση των βλαστών τους, καθώς και ο συντονισμός της ανάπτυξης των φυτών και της δομής των ριζών τους σύμφωνα με τη διαθεσιμότητα των φωσφορικών (Brewer και άλλοι, 2013; Rasmussen και άλλοι, 2013; Ruyter-Spira και άλλοι, 2013).



Βιβλιογραφία

- Abdallah, I.I., Quax, W.J., 2017. A Glimpse into the Biosynthesis of Terpenoids. *KnE Life Sciences* 3, 81. <https://doi.org/10.18502/cls.v3i5.981>
- Beltran, J.C.M., Stange, C., 2016. Apocarotenoids: A New Carotenoid-Derived Pathway, in: Stange, C. (Ed.), *Carotenoids in Nature*. Springer International Publishing, Cham, pp. 239–272. https://doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7_9
- Bendich, A., Olson, J.A., 1989. Biological actions of carotenoids. *FASEB J.* 3, 1927–1932.
- Bramley, P.M., 2002. Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development. *Journal of Experimental Botany* 53, 2107–2113. <https://doi.org/10.1093/jxb/erf059>
- Brewer, P.B., Koltai, H., Beveridge, C.A., 2013. Diverse Roles of Strigolactones in Plant Development. *Molecular Plant* 6, 18–28. <https://doi.org/10.1093/mp/sss130>
- Britton, G. (Ed.), 2004. *Carotenoids: handbook*. Birkhäuser, Basel.
- Caballero-Ortega, H., Pereda-Miranda, R., Abdullaev, F.I., 2007. HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus* L.) sources. *Food Chemistry* 100, 1126–1131. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.020>
- Carretero-Paulet, L., Cairó, A., Botella-Pavía, P., Besumbes, O., Campos, N., Boronat, A., Rodríguez-Concepción, M., 2006. Enhanced flux through the methylerythritol 4-phosphate pathway in *Arabidopsis* plants overexpressing deoxyxylulose 5-phosphate reductoisomerase. *Plant Molecular Biology* 62, 683–695. <https://doi.org/10.1007/s11103-006-9051-9>
- Cazzonelli, C.I., Nisar, N., Hussain, D., Carmody, M.E., Pogson, B.J., 2010. Biosynthesis and Regulation of Carotenoids in Plants—Micronutrients, Vitamins and Health Benefits, in: Pua, E.C., Davey, M.R. (Eds.), *Plant Developmental Biology - Biotechnological Perspectives*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 117–137. https://doi.org/10.1007/978-3-642-04670-4_7
- Cunningham, F.X., Chamovitz, D., Misawa, N., Gantt, E., Hirschberg, J., 1993. Cloning and functional expression in *Escherichia coli* of a cyanobacterial gene for lycopene cyclase, the enzyme that catalyzes the biosynthesis of β -carotene. *FEBS Letters* 328, 130–138. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(93\)80980-9](https://doi.org/10.1016/0014-5793(93)80980-9)

Cunningham, F.X., Pogson, B., Sun, Z., McDonald, K.A., DellaPenna, D., Gantt, E., 1996. Functional analysis of the beta and epsilon lycopene cyclase enzymes of *Arabidopsis* reveals a mechanism for control of cyclic carotenoid formation. *The Plant Cell* 8, 1613–1626. <https://doi.org/10.1105/tpc.8.9.1613>

Eisenreich, W., Bacher, A., Arigoni, D., Rohdich, F., 2004. Biosynthesis of isoprenoids via the non-mevalonate pathway. *Cellular and Molecular Life Sciences* 61. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-3381-z>

Estévez, J.M., Cantero, A., Reindl, A., Reichler, S., León, P., 2001. 1-Deoxy-d-xylulose-5-phosphate Synthase, a Limiting Enzyme for Plastidic Isoprenoid Biosynthesis in Plants. *Journal of Biological Chemistry* 276, 22901–22909. <https://doi.org/10.1074/jbc.M100854200>

Fraser, P., Bramley PM, 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research* 43, 228–265. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2003.10.002>

Giorio, G., Stigliani, A.L., D'Ambrosio, C., 2008. Phytoene synthase genes in tomato (*Solanumlycopersicum* L.) - new data on the structures, the deduced amino acid sequences and the expression patterns: Tomato colours - why the flower is yellow and the fruit is red? *FEBS Journal* 275, 527–535. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.06219.x>

Gómez-García, M., Ochoa-Alejo, N., 2013. Biochemistry and Molecular Biology of Carotenoid Biosynthesis in Chili Peppers (*Capsicum* spp.). *International Journal of Molecular Sciences* 14, 19025–19053. <https://doi.org/10.3390/ijms140919025>

Holleboom, C.-P., Yoo, S., Liao, P.-N., Compton, I., Haase, W., Kirchhoff, H., Walla, P.J., 2013. Carotenoid–Chlorophyll Coupling and Fluorescence Quenching Correlate with Protein Packing Density in Grana-Thylakoids. *The Journal of Physical Chemistry B* 117, 11022–11030. <https://doi.org/10.1021/jp311786g>

Isaacson, T., Ohad, I., Beyer, P., Hirschberg, J., 2004. Analysis in Vitro of the Enzyme CRTISO Establishes a Poly-cis-Carotenoid Biosynthesis Pathway in Plants. *Plant Physiology* 136, 4246–4255. <https://doi.org/10.1104/pp.104.052092>

Islam, K.M.S., Schweigert, F.J., 2015. Comparison of three spectrophotometric methods for analysis of egg yolk carotenoids. *Food Chemistry* 172, 233–237. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.045>

Kanehisa, M., 2000. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research* 28, 27–30. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.27>

Lado, J., Zacarías, L., Rodrigo, M.J., 2016. Regulation of Carotenoid Biosynthesis During Fruit Development, in: Stange, C. (Ed.), *Carotenoids in Nature*. Springer International Publishing, Cham, pp. 161–198. https://doi.org/10.1007/978-3-319-39126-7_6

Lefebvre, V., Kuntz, M., Camara, B., Palloix, A., 1998. The capsanthin-capsorubin synthase gene: a candidate gene for the γ locus controlling the red fruit colour in pepper. *Plant Molecular Biology* 36, 785–789. <https://doi.org/10.1023/A:1005966313415>

Li, J., Wu, Y., Xie, Q., Gong, Z., 2017. Absciscic acid, in: *Hormone Metabolism and Signaling in Plants*. Elsevier, pp. 161–202. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811562-6.00005-0>

Lichtenthaler, H.K., 2000. Non-mevalonate isoprenoid biosynthesis: enzymes, genes and inhibitors. *Biochemical Society Transactions* 28, 785. <https://doi.org/10.1042/0300-5127:0280785>

Ma, Y.-Z., Holt, N.E., Li, X.-P., Niyogi, K.K., Fleming, G.R., 2003. Evidence for direct carotenoid involvement in the regulation of photosynthetic light harvesting. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100, 4377–4382. <https://doi.org/10.1073/pnas.0736959100>

Mialoundama, A.S., Heintz, D., Jadid, N., Nkeng, P., Rahier, A., Deli, J., Camara, B., Bouvier, F., 2010. Characterization of Plant Carotenoid Cyclases as Members of the Flavoprotein Family Functioning with No Net Redox Change. *Plant Physiology* 153, 970–979. <https://doi.org/10.1104/pp.110.155440>

Miziorko, H.M., 2011. Enzymes of the mevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 505, 131–143. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.09.028>

Nisar, N., Li, L., Lu, S., Khin, N.C., Pogson, B.J., 2015. Carotenoid Metabolism in Plants. *Molecular Plant* 8, 68–82. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.007>

Nogueira, M., Mora, L., Enfissi, E.M.A., Bramley, P.M., Fraser, P.D., 2013. Subchromoplast Sequestration of Carotenoids Affects Regulatory Mechanisms in

Tomato Lines Expressing Different Carotenoid Gene Combinations. *The Plant Cell* 25, 4560–4579. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.116210>

Pecker, I., Gabbay, R., Cunningham, F.X., Hirschberg, J., 1996. Cloning and characterization of the cDNA for lycopene β -cyclase from tomato reveals decrease in its expression during fruit ripening. *Plant Molecular Biology* 30, 807–819. <https://doi.org/10.1007/BF00019013>

Rasmussen, A., Depuydt, S., Goormachtig, S., Geelen, D., 2013. Strigolactones fine-tune the root system. *Planta* 238, 615–626. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1911-3>

Rivera, S.M., Canela-Garayoa, R., 2012. Analytical tools for the analysis of carotenoids in diverse materials. *Journal of Chromatography A* 1224, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.12.025>

Rodriguez-Concepcion, M., 2002. Elucidation of the Methylerythritol Phosphate Pathway for Isoprenoid Biosynthesis in Bacteria and Plastids. A Metabolic Milestone Achieved through Genomics. *PLANT PHYSIOLOGY* 130, 1079–1089. <https://doi.org/10.1104/pp.007138>

Ross, A.C. (Ed.), 2014. *Modern nutrition in health and disease*, 11th ed. ed. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.

Ruyter-Spira, C., Al-Babili, S., van der Krol, S., Bouwmeester, H., 2013. The biology of strigolactones. *Trends in Plant Science* 18, 72–83. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.10.003>

Schnurr, G., Misawa, N., Sandmann, S., 1996. Expression, purification and properties of lycopene cyclase from *Erwinia uredovora*. *Biochemical Journal* 315, 869–874. <https://doi.org/10.1042/bj3150869>

Schwartz, S.H., Qin, X., Zeevaart, J.A.D., 2001. Characterization of a Novel Carotenoid Cleavage Dioxygenase from Plants. *Journal of Biological Chemistry* 276, 25208–25211. <https://doi.org/10.1074/jbc.M102146200>

Schwartz, S.H., Tan, B.C., McCarty, D.R., Welch, W., Zeevaart, J.A.D., 2003. Substrate specificity and kinetics for VP14, a carotenoid cleavage dioxygenase in the ABA biosynthetic pathway. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1619, 9–14. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(02\)00422-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(02)00422-1)

Taylor, I.B., Sonneveld, T., Bugg, T.D.H., Thompson, A.J., 2005. Regulation and Manipulation of the Biosynthesis of Absciscic Acid, Including the Supply of Xanthophyll Precursors. *Journal of Plant Growth Regulation*. <https://doi.org/10.1007/s00344-005-0070-6>

Tritsch, D., Hemmerlin, A., Bach, T.J., Rohmer, M., 2010. Plant isoprenoid biosynthesis via the MEP pathway: In vivo IPP/DMAPP ratio produced by (*E*)-4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase in tobacco BY-2 cell cultures. *FEBS Letters* 584, 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.11.010>

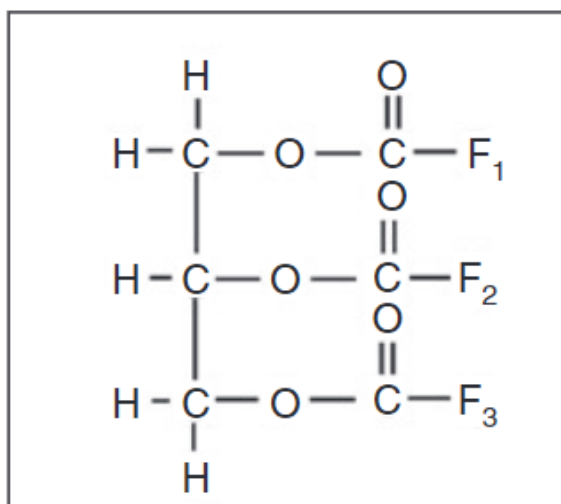
5. Λιπαρά οξέα

Τα λιπαρά οξέα (Fatty Acids-FA) βρίσκονται στις τροφές σε δεσμευμένη μορφή ως τριγλυκερίδια που αποτελούν τα λίπη και τα έλαια. Τα τριγλυκερίδια είναι τριεστέρες της γλυκερόλης με τρία λιπαρά οξέα, των οποίων το μήκος ποικίλλει φτάνοντας έως τους 80 άνθρακες. Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι οι αλυσίδες των λιπαρών οξέων που εμπεριέχονται στα τρόφιμα έχουν άρτιο αριθμό 12 μέχρι 26 ατόμων άνθρακα (Lunn και Theobald, 2006; McMurry, 2017).

Τα φυσικά λιπαρά οξέα διακρίνονται σε κορεσμένα (Saturated Fatty Acids-SFA) και ακόρεστα (Unsaturated Fatty Acids-UFA). Χαρακτηριστικό των διπλών δεσμών που εμπεριέχονται στις δομές των UFA είναι η *cis* στερεοχημεία τους. Όσα έχουν στη δομή τους ένα μόνο διπλό δεσμό ονομάζονται μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MonoUnsaturated Fatty Acids-MUFA) και αυτά που διαθέτουν δύο ή περισσότερους διπλούς δεσμούς χαρακτηρίζονται ως πολυακόρεστα (PolyUnsaturated Fatty Acids-PUFA). Ένας συνηθισμένος συντομογραφικός τρόπος χαρακτηρισμού των UFA είναι με δύο αριθμούς: [X:Y], όπου X: ο ολικός αριθμός ατόμων άνθρακα και Y: ο αριθμός διπλών δεσμών. Έχει διαπιστωθεί ότι η παρατεταμένη θέρμανση των *cis*-λιπαρών οξέων τα ισομερειώνει σταδιακά σε *trans*, τα οποία είναι επιβλαβή για την ανθρώπινη υγεία σε αντίθεση με τα *cis*-UFA που έχουν ευεργετική επίδραση (McMurry, 2017).

Εκτός από τα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας υπάρχουν και μικρής αλυσίδας, όπως το βουτυρικό (4C) ή το προπιονικό (3C) οξύ, τα οποία παράγονται όταν οι πολυσακχαρίτες ζυμώνονται από τα αναερόβια βακτήρια. Στην περίπτωση των μυρηκαστικών αυτή η διαδικασία λαμβάνει χώρα στη μεγάλη κοιλία. Τέλος, υπάρχουν και τα πολύ μακράς αλυσίδας λιπαρά οξέα που περιέχουν περισσότερα από 20 άτομα άνθρακα (Lunn and Theobald, 2006).

Τα πιο κοινά φυσικά SFA είναι το παλμιτικό [16:0] και το στεατικό [18:0] οξύ που βρίσκονται κατά κύριο λόγο σε ζωικά λίπη, ενώ το πλέον διαδεδομένο MUFA είναι το ελαϊκό οξύ [18:1], που βρίσκεται κυρίως στα φυτικά έλαια. Τα κοινότερα PUFA είναι το λινελαϊκό [18:2] και το α-λινολενικό [18:3] οξύ που βρίσκονται κυρίως στα φυτικά έλαια και τα ιχθυέλαια.



Εικόνα 13 Δομή τριγλυκεριδίου. Τα F1, F2, F3 είναι λιπαρά οξέα (Lunn και Theobald, 2006).

Ένας επιπλέον τρόπος διάκρισης των PUFA σχετίζεται με τη θέση του πρώτου διπλού δεσμού, ξεκινώντας από το πλέον απόμακρο άτομο άνθρακα σε σχέση με την καρβοξυλική ομάδα. Ο άνθρακας αυτός ονομάζεται "ωμέγα" (ω-άνθρακας), με αποτέλεσμα ως ω-3 και ω-6 να χαρακτηρίζονται τα PUFA των οποίων ο πρώτος διπλός δεσμός βρίσκεται στο 3^ο και το 6^ο άτομο άνθρακα, αντίστοιχα. Τα ωμέγα-3 και ωμέγα-6 λιπαρά οξέα βρίσκονται σε ιδιαίτερα μεγάλες ποσότητες στα ιχθυέλαια και τα λίπη των ψαριών και αποτελούν απαραίτητα συστατικά της διατροφής του ανθρώπου, αλλά και των ζώων (Βαλαβανίδης & Ευσταθίου).

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει αρκετές έρευνες που συσχετίζουν τη διατροφή του ανθρώπου με ζωικά και φυτικά λίπη με τον κίνδυνο εμφάνισης διαφόρων ασθενειών. Στο πλαίσιο αυτό έχει αποδειχθεί ότι μια διατροφή πλούσια σε SFA ζωικά λίπη αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων, αυξημένων επιπέδων χοληστερόλης και παχυσαρκίας, ενώ η κατανάλωση των UFA υπό τη μορφή των φυτικών ελαίων είναι ευεργετική για την υγεία του ανθρώπου. Η πρόσληψη των UFA από ψάρια και ιχθυέλαια στα οποία επικρατούν τα PUFA, είναι ωφέλιμη για τον άνθρωπο και μπορεί να περιορίσει σε μεγάλο βαθμό την ανάπτυξη πολλών ασθενειών και νευροφυσιολογικών νοσημάτων (Lunn και Theobald, 2006).

5.1. Λιπαρά οξέα και Ψυχανθή

Τα ψυχανθή είναι φυτά της οικογένειας των *Fabaceae* που φέρουν στους λοβούς τα σπέρματα που είναι γνωστοί ως όσπρια. Σε αυτά περιλαμβάνονται τρόφιμα όπως τα φασόλια, τα μπιζέλια, οι φακές, τα ρεβίθια κλπ. Ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (Food and Agriculture Organization, FAO) έχει περιορίσει τον ορισμό των οσπρίων στις καλλιέργειες που είναι αποκλειστικά για παραγωγή ξηρών σπερμάτων, με αποτέλεσμα από την κατηγορία αυτή να εξαιρούνται όλες οι καλλιέργειες που αφορούν τα νωπά λαχανικά, καθώς και εκείνες που χρησιμοποιούνται κυρίως για την παραγωγή ελαίων.

Σε αντίθεση με τα σπέρματα ψυχανθών που είναι πλούσια σε έλαια, όπως για παράδειγμα η σόγια ή η αραχίδα, που χρησιμοποιούνται κυρίως για την εξαγωγή του ελαίου τους, τα υπόλοιπα σπέρματα ψυχανθών δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς ως προς το περιεχόμενό τους σε λιπαρά οξέα (Byrdwell και Goldschmidt, 2022). Τα σπέρματα ψυχανθών περιέχουν έλαιο, το οποίο συνήθως περιορίζεται στο 2- 3% της μάζας τους, ενώ ορισμένα είδη όπως τα ρεβίθια (*Cicer arietinum*) είναι γνωστό ότι περιέχουν έλαια σε ποσοστό μεγαλύτερο του 6% (Baptista και άλλοι, 2017; Caprioli και άλλοι, 2016; Hall και άλλοι, 2017; Jukanti και άλλοι, 2012). Επομένως, η περιεκτικότητα των σπερμάτων ψυχανθών σε λιπαρά οξέα παρουσιάζει ενδιαφέρον, καθώς παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην παγκόσμια διατροφική αλυσίδα (Hall και άλλοι, 2017).

Το περιεχόμενο των ελαιούχων σπερμάτων σε λιπίδια συνίσταται κυρίως από τριακυλογλυκερίδια (TriAcylGlycerols-TAG) (Tzen και άλλοι, 1993). Τα σπέρματα ψυχανθών, αν και διαθέτουν σωματίδια λιπιδίων αντίστοιχα με τα ελαιώδη για να αποθηκεύουν τα TAG, τείνουν να αποθηκεύουν περισσότερη πρωτεΐνη και υδατάνθρακες (Froese και άλλοι, 2003). Σε ορισμένα σπέρματα ψυχανθών, τα φωσφολιπίδια (PhosphoLipids-PL) αποτελούν τη δεύτερη μορφή με την οποία μπορούν να βρεθούν δεσμευμένα τα λιπαρά οξέα. Αυτά συνεισφέρουν το 30-60% της περιεκτικότητάς τους σπερμάτων ψυχανθών σε λιπίδια (Byrdwell και Goldschmidt, 2022; Yoshida και άλλοι, 2007).

Τα ρεβίθια έχει παρατηρηθεί ότι περιέχουν κατά περίπου 20% PL και 60% TAG (Zia-UI-Haq και άλλοι, 2007), ενώ σε έρευνα των Froese και συνεργατών στα φασόλια (*Phaseolus vulgaris*) παρατηρήθηκε ότι τα μικρότερα, υψηλής πυκνότητας σωματίδια

των λιπιδίων (High Density lipid Particles-HDP) περιείχαν περίπου κατά 40% TAG και PL, ενώ τα μεγαλύτερα, χαμηλής πυκνότητας σωματίδια λιπιδίων (Low Density lipid Particles-LDP) περιείχαν σχεδόν κατά 80% TAG (Froese και άλλοι, 2003). Σε άλλες μελέτες που διενεργήθηκαν σε φασόλια (Yoshida και άλλοι, 2007) και μπιζέλια (Yoshida και άλλοι, 2005) προσδιορίστηκε ότι σε μορφή TAG ήταν υψηλότερο το επίπεδο των [18:3] λιπαρών οξέων και σε χαμηλότερα επίπεδα τα [16:0] λιπαρά οξέα σε σύγκριση με τη μορφή PL, ενώ τα ποσοστά των άλλων λιπαρών οξέων ήταν παρόμοια στις δύο δεσμευμένες μορφές.

5.2. Ζωική Παραγωγή και Λιπαρά Οξέα

Η πρόσληψη των UFA έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακών νοσημάτων (CardioVascular Disease-CVD) και πιθανολογείται ότι συμβάλλει στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης μορφών καρκίνου, άσθματος και διαβήτη. Ταυτόχρονα, τα ζωικά προϊόντα έχουν επικριθεί ότι έχουν υψηλή περιεκτικότητά επιβλαβή για την υγεία SFA. Όμως, η τροποποίηση της διατροφής των ζώων μπορεί να αυξήσει την αναλογία των UFA σε κρέας, γάλα και αβγά.

Μελέτες έχουν αποδείξει ότι τα UFA που περιέχονται στο σιτηρέσιο των ζώων μεταφέρονται στο γάλα, το κρέας (μοσχάρι, αρνί, χοιρινό, κοτόπουλο) και τα αβγά. Έτσι, η συμπερίληψη ακόρεστων λιπαρών οξέων στη διατροφή των ζώων βελτιώνει το προφίλ λιπαρών οξέων του παραγόμενου γάλακτος, κρέατος και αβγών αυξάνοντας την αναλογία UFA:SFA. Ωστόσο, πρέπει να δίνεται προσοχή κατά την εισαγωγή των λιπαρών αυτών οξέων στη διατροφή των ζώων, καθώς μπορεί να προκαλέσουν δυσμενείς επιπτώσεις. Για παράδειγμα, μεγάλες ποσότητες UFA στη διατροφή των αγελάδων γαλακτοπαραγωγής μπορεί να επηρεάσει τη δραστηριότητα της μεγάλης κοιλίας, μειώνοντας την παραγωγή γάλακτος, τις συγκεντρώσεις λίπους και πρωτεΐνης. Επίσης, η παρουσία αυξημένων επιπέδων PUFA στο κρέας επηρεάζει τη διάρκεια ζωής και παραμέτρους της γεύσης.

Τέλος, θα πρέπει να επισημανθεί ότι αρκετές νέες πηγές λιπαρών οξέων που χρησιμοποιούνται σήμερα, όπως η κάνναβη, το ψευδολινάρι ή το λούπινο, αν και αποτελεσματικές σε ορισμένες περιπτώσεις, αποτελούν μέχρι στιγμής μια ακριβή επιλογή (Woods και Fearon, 2009).

Βιβλιογραφία

Baptista, Armando, Olívia Pinho, Edgar Pinto, Susana Casal, Carla Mota, and Isabel M. P. L. V. O. Ferreira. 2017. "Characterization of Protein and Fat Composition of Seeds from Common Beans (*Phaseolus Vulgaris* L.), Cowpea (*Vigna Unguiculata* L. Walp) and Bambara Groundnuts (*Vigna Subterranea* L. Verdc) from Mozambique." *Journal of Food Measurement and Characterization* 11 (2): 442–50. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9412-2>.

Byrdwell, William Craig, and Robert J. Goldschmidt. 2022. "Fatty Acids of Ten Commonly Consumed Pulses." *Molecules* 27 (21): 7260. <https://doi.org/10.3390/molecules27217260>.

Caprioli, Giovanni, Federica Giusti, Roberto Ballini, Gianni Sagratini, Pilar Vila-Donat, Sauro Vittori, and Dennis Fiorini. 2016. "Lipid Nutritional Value of Legumes: Evaluation of Different Extraction Methods and Determination of Fatty Acid Composition." *Food Chemistry* 192 (February): 965–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.102>.

Froese, Carol D., Linda Nowack, E.w.a. Cholewa, and John E. Thompson. 2003. "Molecular Composition and Surface Properties of Storage Lipid Particles in Wax Bean (*Phaseolus Vulgaris*)." *Journal of Plant Physiology* 160 (3): 215–25. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00966>.

Hall, Clifford, Cassandra Hillen, and Julie Garden Robinson. 2017. "Composition, Nutritional Value, and Health Benefits of Pulses." *Cereal Chemistry Journal* 94 (1): 11–31. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-03-16-0069-FI>.

Jukanti, A. K., P. M. Gaur, C. L. L. Gowda, and R. N. Chibbar. 2012. "Nutritional Quality and Health Benefits of Chickpea (*Cicer Arietinum* L.): A Review." *British Journal of Nutrition* 108 (S1): S11–26. <https://doi.org/10.1017/S0007114512000797>.

Lunn, J., and H. E. Theobald. 2006. "The Health Effects of Dietary Unsaturated Fatty Acids." *Nutrition Bulletin* 31 (3): 178–224. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2006.00571.x>.

McMurry, John. "Βιομόρφα: Λυπίδια." In *Οργανική Χημεία, Τόμος II*, 1345–69. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο.

McMurry, John. “Βιομόρια: Λιπίδια. Χοληστερόλη Και Καρδιακές Παθήσεις.” *Οργανική Χημεία, Τόμος II*, 2017, 1371–72. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο.

Tzen, Jtc., Yz. Cao, P. Laurent, C. Ratnayake, and Ahc. Huang. 1993. “Lipids, Proteins, and Structure of Seed Oil Bodies from Diverse Species.” *Plant Physiology* 101 (1): 267–76. <https://doi.org/10.1104/pp.101.1.267>.

Woods, Vanessa B., and Anna M. Fearon. 2009. “Dietary Sources of Unsaturated Fatty Acids for Animals and Their Transfer into Meat, Milk and Eggs: A Review.” *Livestock Science* 126 (1–3): 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.07.002>.

Yoshida, Hiromi, Yuka Tomiyama, Sayaka Kita, and Yoshiyuki Mizushina. 2005. “Lipid Classes, Fatty Acid Composition and Triacylglycerol Molecular Species of Kidney Beans (*Phaseolus Vulgaris* L.).” *European Journal of Lipid Science and Technology* 107 (5): 307–15. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200401078>.

Yoshida, Hiromi, Yuka Tomiyama, Masayuki Saiki, and Yoshiyuki Mizushina. 2007. “Tocopherol Content and Fatty Acid Distribution of Peas (*Pisum Sativum* L.).” *Journal of the American Oil Chemists’ Society* 84 (11): 1031–38. <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1134-5>.

Zia-Ul-Haq, Muhammad, Mansoor Ahmad, Shahid Iqbal, Shakeel Ahmad, and Hakoomat Ali. 2007. “Characterization and Compositional Studies of Oil from Seeds of Desi Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) Cultivars Grown in Pakistan.” *Journal of the American Oil Chemists’ Society* 84 (12): 1143–48. <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1136-3>.

Βαλαβανίδης Θανάσης, και Κωνσταντίνος Ευσταθίου. Accessed December 14, 2022. “Η Χημική Ένωση Του Μήνα.” http://195.134.76.37/chemicals/chem_omegaFA.htm.

6. Βελτίωση των Φυτών

Η διαδικασία βελτίωσης των φυτών με στόχο την αύξηση της παραγωγικότητας και ανθεκτικότητάς τους ανάγεται στις αρχές της γεωργίας. Όταν οι πρωτόγονοι άνθρωποι στράφηκαν προς την καλλιέργεια της τροφής τους, άρχισε και η συνεχής διαδικασία βελτίωσης των καλλιεργούμενων φυτών. Σύμφωνα με τον Lawrence Bogorad, μοριακό βιολόγο φυτών στο Πανεπιστήμιο του Χάρβαρντ, κατά τη διάρκεια των χιλιετιών δύο είναι οι κύριες τεχνικές που έχουν χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση των καλλιεργειών. Η πρώτη αφορά τη λεγόμενη «επιλογή», η οποία βασίζεται στη γενετική παραλλαγή που είναι εγγενής στα φυτά. Οι πρώτοι αγρότες επέλεξαν φυτά με πλεονεκτήματα, όπως ο μεγαλύτερος καρπός, η ευκολότερη διαχείρισή τους κατά τη συγκομιδή κλπ. Έτσι, μέσω κάποιας στοιχειώδους επίγνωσης ότι τα χαρακτηριστικά θα μεταβιβαστούν από τη μια γενιά στην άλλη, τα πιο εκλεκτά φυτά και οι σπόροι τους χρησιμοποιήθηκαν ως πολλαπλασιαστικό υλικό για την εγκατάσταση της καλλιέργειας του επόμενου έτους. Με τον τρόπο αυτόν η φυσική επιλογή που καθορίζει την επιβίωση των ειδών αυξάνεται μέσω της τεχνητής επιλογής. Επιλέγοντας και απομονώνοντας τα εκλεκτά προς καλλιέργεια φυτά, οι πρώτοι αγρότες επηρέαζαν τα φυτά που θα διασταυρώνονταν. Έτσι, μέσω της επιλογής και της απομόνωσης, περιόριζαν και ταυτόχρονα ήλεγχαν τα διαθέσιμα γονίδια για κάθε καλλιέργεια. Τα υπολείμματα των φυτών που βρέθηκαν σε αρχαία Αίγυπτο και Μεσοποταμία δείχνουν ότι η καλλιέργεια των φυτών ήταν ήδη ευρέως διαδεδομένη από εκείνη την εποχή. Σε ερείπια χωριών του Περού που χρονολογούνται στην προ-ΐνκας περίοδο, οι αρχαιολόγοι ανακάλυψαν φασόλια Lima σχεδόν 100 φορές μεγαλύτερα από εκείνα των άγριων φασολιών Lima της περιοχής, ενδεικτικό ότι οι ΐνκας έλαβαν τα φασόλια τους από ακόμη παλαιότερους καλλιεργητές φυτών που όμως δεν άφησαν καμιά έγγραφη μαρτυρία.

Η δεύτερη τεχνική που έχει χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση των καλλιεργειών είναι η βελτίωση μέσω της αναπαραγωγής (breeding). Σε αυτή την περίπτωση οι αγρότες επέλεγαν δύο φυτά και στη συνέχεια τα διασταύρωναν για να παράγουν απογόνους με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά και των δύο προγόνων. Ωστόσο, η διαδικασία αυτή δεν χρησιμοποιήθηκε αρκετά, καθώς οι πρώτοι καλλιεργητές φυτών δεν κατανοούσαν τη γενετική μετάδοση των χαρακτηριστικών και δεν μπορούσαν να προβλέψουν την πιθανή έκβαση μιας συγκεκριμένης διασταύρωσης. Ωστόσο,

προέκυψαν πολύτιμα χαρακτηριστικά που μπορούσαν να επιλεγούν και να διατηρηθούν στον πληθυσμό (National Research Council (US) Board on Agriculture).

Αυτό που λαμβάνει χώρα στην πραγματικότητα κατά τη διασταύρωση δύο φυτών, δηλαδή η αρχή της κληρονομικότητας, δεν ήταν κατανοητή μέχρι τις αρχές του 1900. Τη δεκαετία του 1860 ο Gregor Mendel μέσω πειραμάτων σε μπιζέλια συμπέρανε ότι οι κληρονομικές πληροφορίες αποθηκεύονται σε διακριτές μονάδες που τώρα ονοματίζονται ως γονίδια. Επιπλέον, επεσήμανε ότι χαρακτηριστικά όπως το χρώμα, ελέγχονται από δύο γονίδια ένα από τον αρσενικό πρόγονο και ένα από τον θηλυκό. Δυστυχώς η σημασία του έργου του αναγνωρίστηκε μόνο μετά το θάνατό του, με αποτέλεσμα σήμερα ο Mendel να θεωρείται ως ο πατέρας της γενετικής (National Research Council (US) Board on Agriculture; “Gregor Mendel: A Private Scientist”).

Στη συνέχεια, άλλοι ερευνητές ανακάλυψαν ότι τα γονίδια μεταδίδονται σε ομάδες των 5.000 περίπου και όχι ανεξάρτητα όπως είχε υποθέσει ο Mendel. Τα γονίδια συνδέονται μεταξύ τους σε μακρά χρωμοσώματα στον πυρήνα του κυττάρου. Έτσι, ενώ το γονίδιο είναι η μονάδα κληρονομικότητας το χρωμόσωμα είναι η μονάδα μετάδοσής τους. Κάθε πρόγονος συνεισφέρει το ήμισυ του κάθε χρωμοσώματος στους απογόνους. Για παράδειγμα, στους ανθρώπους κάθε γονέας συνεισφέρει 23 χρωμοσώματα. Έτσι, έγινε δυνατόν να κατανοηθεί η λειτουργία των χρωμοσωμάτων από τις αρχές του 1900.

Η θεμελίωση της μεντελικής γενετικής επέτρεψε στους καλλιεργητές να διασταυρώσουν με ακρίβεια τα φυτά τους, χειραγωγώντας προσεκτικά το γονιδίωμα των φυτών για να παράξουν νέες, βελτιωμένες ποικιλίες. Οι τεχνικές αυτές στη διασταύρωση και αναπαραγωγή των φυτών έχουν χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία ποικιλιών υψηλότερης απόδοσης που είναι ανθεκτικότερα από προσβολές παρασίτων ή ασθενειών. Οι βελτιωμένες ποικιλίες συνέβαλαν στη δραματική έκρηξη της γεωργικής παραγωγής που παρατηρείται την εποχή μας, αφού για παράδειγμα κατά τα τελευταία 50 χρόνια στις Ηνωμένες Πολιτείες η παραγωγικότητα των γεωργικών εκμεταλλεύσεων αυξήθηκε κατά 2,5 φορές, ενώ η έκταση των αγροκτημάτων μειώθηκε κατά 6%. Μία από τις πιο θεαματικές επιτυχίες ήταν η ανάπτυξη του υβριδικού καλαμποκιού τη δεκαετία του 1930, η οποία διπλασίασε γρήγορα τις αποδόσεις του προϊόντος. Στις δεκαετίες του 1950 και 1960, ερευνητικά

ινστιτούτα κατάφεραν να παράξουν νέες ανθεκτικές ποικιλίες καλαμποκιού και σιταριού. Στο Μεξικό, το Κέντρο Βελτίωσης Αραβοσίτου και Σιταριού ανέπτυξε βελτιωμένες ποικιλίες σιταριού, ενώ στις Φιλιππίνες, το Διεθνές Ινστιτούτο Έρευνας Ρυζιού ανέπτυξε βελτιωμένες ποικιλίες ρυζιού. Όταν οι ποικιλίες αυτές εισήχθησαν σε Ινδία και Κίνα αποτέλεσαν τη βάση της «Πράσινης Επανάστασης» κατά την οποία οι αποδόσεις των καλλιεργειών αυξήθηκαν περίπου 4 έως 7 φορές. Ως επακόλουθο, η εισαγωγή της εφαρμοσμένης γενετικής στη γεωργία χαρακτηρίστηκε και ως η πρώτη βιολογική επανάσταση (National Research Council (US) Board on Agriculture).

Σήμερα, με τον όρο γενετική βελτίωση ορίζεται η τεχνητή επέμβαση στο γονιδίωμα των φυτών με στόχο την εισαγωγή επιθυμητών γονιδίων για την επιλεκτική ευνόηση-έλεγχο συγκεκριμένων χαρακτήρων. Στόχος η δημιουργία γενότυπων που δίνουν το καλύτερο αποτέλεσμα για ένα δεδομένο περιβάλλον, αξιοποιώντας όσο το δυνατό περισσότερο ορθολογιστικά τους διαθέσιμους πόρους (“Γενετική Βελτίωση Φυτικών Ειδών”).

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται ταχεία κλιματική αλλαγή η οποία έχει ήδη αρχίσει να προκαλεί ακραία καιρικά φαινόμενα, όπως ξηρασίες, πλημμύρες και άλλες καταστροφές οι οποίες μελλοντικά αναμένεται να επηρεάσουν σε μεγάλο βαθμό την παραγωγή των τροφίμων (Varshney και άλλοι, 2020). Προβλέπεται ότι οι παγκόσμιες αποδόσεις των μεγάλων καλλιεργειών για κάθε 1°C αύξησης της μέσης παγκόσμιας θερμοκρασίας κατά μέσο όρο θα μειωθούν κατά 6,0% για το σιτάρι, 3,2% το ρύζι, 7,4% τον αραβόσιτο και 3,1% τη σόγια (Zhao και άλλοι, 2017). Η βελτίωση των καλλιεργειών με στόχο την αντιμετώπιση της επισιτιστικής και διατροφικής κρίσης, ειδικά σε συνδυασμό με τη συνεχή αύξηση του πληθυσμού, και των προκλήσεων όπως η κλιματική αλλαγή και η λειψυδρία, προκαλεί σημαντική παγκόσμια ανησυχία (Hickey και άλλοι, 2019). Για την αντιμετώπιση των απειλών αυτών, η επιστημονική έρευνα έχει προσανατολιστεί προς τη γενετική βελτίωση των καλλιεργειών με στόχο την ανάπτυξη ποικιλιών υψηλής απόδοσης και ανθεκτικότητας στις συνέπειες της κλιματικής κρίσης.

Βιβλιογραφία

“Gregor Mendel: A Private Scientist.” Accessed December 20, 2022 <https://www.nature.com/scitable/topicpage/gregor-mendel-a-private-scientist-6618227/>.

Hickey, Lee T., Amber N. Hafeez, Hannah Robinson, Scott A. Jackson, Soraya C. M. Leal-Bertioli, Mark Tester, Caixia Gao, Ian D. Godwin, Ben J. Hayes, and Brande B. H. Wulff. 2019. “Breeding Crops to Feed 10 Billion.” *Nature Biotechnology* 37 (7): 744–54. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0152-9>.

National Research Council (US) Board on Agriculture. 1984. Accessed December 20, 2022. “Genetic Engineering of Plants: Agricultural Research Opportunities and Policy Concerns.” In *Crop Improvement*. Washington (DC): National Academies Press (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK216396/>.

Varshney, Rajeev K, Pallavi Sinha, Vikas K Singh, Arvind Kumar, Qifa Zhang, and Jeffrey L Bennetzen. 2020. “5Gs for Crop Genetic Improvement.” *Current Opinion in Plant Biology* 56 (August): 190–96. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.12.004>.

Zhao, Chuang, Bing Liu, Shilong Piao, Xuhui Wang, David B. Lobell, Yao Huang, Mengtian Huang, et al. 2017. “Temperature Increase Reduces Global Yields of Major Crops in Four Independent Estimates.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114 (35): 9326–31. <https://doi.org/10.1073/pnas.1701762114>.

“Γενετική Βελτίωση Φυτικών Ειδών.” <https://avbc.me/b4TYOmF5> (Πρόσβαση: 20/12/2022)

7. Μηρυκαστικά και Παρασιτώσεις

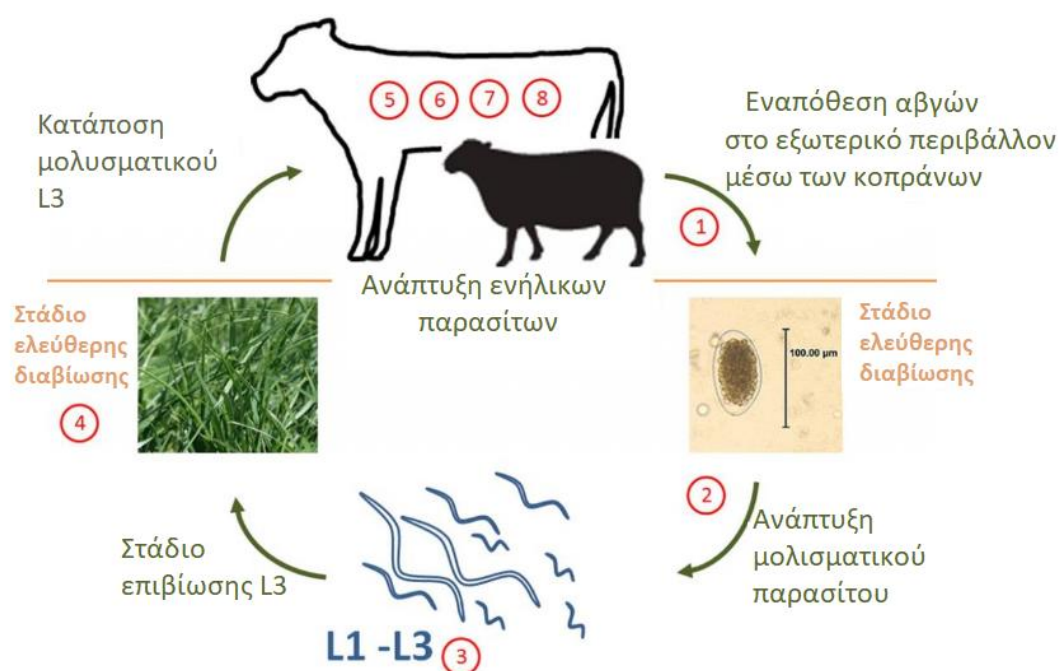
Πολλοί κτηνοτρόφοι χρησιμοποιούν στις εκτροφές τους τη βόσκηση για τη διατροφή των ζώων με θρεπτικά συστατικά που είναι απαραίτητα για την υγεία και την ανάπτυξή τους. Στην Ελλάδα, τα συστήματα εκτροφής των μηρυκαστικών που απαντώνται συχνότερα είναι τα ημιεκτατικά και ημιεντατικά συστήματα, δηλαδή αυτά που ενσωματώνουν και τη βόσκηση στη διατροφή των ζώων. Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που μπορεί να προκύψει κατά τη βόσκηση σχετίζεται με τις μολύνσεις από γαστρεντερικά νηματώδη παράσιτα (Jackson και άλλοι, 2009; Preston και άλλοι, 2014), ένα παγκόσμιο πρόβλημα που χρήζει σωστής αντιμετώπισης (Sykes 1994).

7.1. Νηματώδη Παράσιτα *Trichostrongylidae*

Ο συχνότερος παρασιτισμός στα μικρά μηρυκαστικά προκαλείται από τα γαστρεντερικά νηματώδη της οικογένειας των *Trichostrongylidae* (Sykes 1994). Ο βιολογικός κύκλος των παρασίτων αυτών περιλαμβάνει την εξελικτική πορεία των σταδίων «αβγό»-«προνύμφη»-«ενήλικο παράσιτο»-«αβγό» (Εικόνα 14). Στο πλαίσιο αυτό, ένα μολυσμένο ζώο (ξενιστής) αποβάλλει μέσω των κοπράνων του τα αβγά των παρασίτων, τα οποία στο εξωτερικό περιβάλλον εξελίσσονται σε α' (L1), β' (L2) και γ' (L3) σταδίου προνύμφες ανάλογα με το είδος και τις συνθήκες του περιβάλλοντος. Οι προνύμφες του γ' σταδίου αποτελούν το μολύνον στάδιο (Rang και άλλοι, 1999) και έχουν τη δυνατότητα να παραμένουν ενεργές για αρκετό χρονικό διάστημα, ανάλογα με τις συνθήκες του περιβάλλοντος, όπως η υγρασία και η θερμοκρασία. Μάλιστα, αρκετές φορές υιοθετούν πρακτικές όπως για παράδειγμα την κατακόρυφη κινητικότητα στην ποώδη βλάστηση προκειμένου να αυξήσουν τις πιθανότητες να προσληφθούν από τον τελικό ξενιστή ή/και να προστατευθούν από τις καιρικές συνθήκες (Waghorn και άλλοι, 2002; Wang και άλλοι, 2018).

Τα ζώα κατά τη βόσκηση μαζί την τροφή τους προσλαμβάνουν και προνύμφες γ' σταδίου, οι οποίες ανάλογα με το είδος του παρασίτου εγκαθίστανται στο στομάχι ή το έντερο του ξενιστή. Εκεί εξελίσσονται σε προνύμφες δ' (L4) σταδίου και σε κάποιες περιπτώσεις σε ε' (L5) σταδίου, οι οποίες στη συνέχεια εξελίσσονται σε ενήλικα παράσιτα παράγοντας αβγά, τα οποία στη συνέχεια αποβάλλονται με τα κόπρανα στους διάφορους βοσκοτόπους. Η διασπορά τους στους λειμώνες γίνεται

κυρίως παθητικά με συνηθέστερο τρόπο μέσω του νερού της βροχής (Stromberg 1997; “Parasitic Gastroenteritis in Ruminants”).



Εικόνα 14 Διαγραμματική απεικόνιση του βιολογικού κύκλου των νηματωδών παρασίτων. (1) Τα αβγά διοχετεύονται από τον ξενιστή με κόπρανα στο εξωτερικό περιβάλλον, (2) τα αβγά εξελίσσονται σε προνύμφη πρώτου σταδίου (L1) (3) και έπειτα σε L2 και L3. (4) Οι L3 μεταναστεύουν από τα κόπρανα στο λιβάδι. Οι L3 είναι μολυσματικά σε αυτό το στάδιο και πρέπει να επιβιώσουν στο λιβάδι μέχρι την κατάποσή τους από τον ξενιστή των μηρυκαστικών. (5) Μόλις καταναλωθούν οι L3 προνύμφες (6) μεταναστεύουν στο έντερο και εξελίσσονται σε (7) L4 (και σε κάποιες περιπτώσεις και σε L5) (8) τελικά ωριμάζουν σε ενήλικα παράσιτα, όπου αναπαράγονται και τα θηλυκά γεννούν αβγά τα οποία απελευθερώνονται μέσω των κοπράνων (“Parasitic Gastroenteritis in Ruminants”).

7.1.1. *Haemonchus contortus*

Ένα ιδιαίτερα παθογόνο νηματώδες παράσιτο του γαστρεντερικού συστήματος είναι το *H. contortus*. Παρασιτεί στο ήνυστρο των μηρυκαστικών και λόγω της έντονης αιματοφαγίας των ενηλίκων, ο έντονος παρασιτισμός συνοδεύεται από κλινικά συμπτώματα, κυρίως αναιμία ή ακόμη και τον θάνατο των προσβεβλημένων ζώων.

Τα μηρυκαστικά που είναι ξενιστές του παρασίτου μολύνονται παθητικά με την κατάποση των προνυμφών L3 κατά την βόσκηση. Επομένως, η L3 αποτελεί την πλέον μολύνουσα μορφή του παρασίτου η οποία όταν φτάσει στο ήνυστρο, αποβάλλει τη θήκη της και εισέρχεται στον βλεννογόνο όπου εξελίσσεται σε L4. Δύο εβδομάδες αργότερα, επανέρχεται στον αυλό του ήνυστρου όπου ενηλικιώνεται. Η

ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου του *H. contortus* επιτυγχάνεται με την παραγωγή αβγών από το παράσιτο, τα οποία αποβάλλονται με τα κόπρανα των μολυσμένων ζώων στο εξωτερικό περιβάλλον (Taylor και άλλοι, 2007).

7.1.2. *Trichostrongylus colubriformis*

Το *T. colubriformis* είναι ένα άλλο νηματώδες παράσιτο που παρασιτεί στο πρώτο τμήμα του λεπτού εντέρου των μηρυκαστικών. Ο βιολογικός του κύκλος είναι άμεσος, δηλαδή απαιτείται ένας μόνο ξενιστής για να ολοκληρωθεί η μόλυνση των ξενιστών, η οποία πραγματοποιείται με τρόπο παρόμοιο με αυτόν του βιολογικού κύκλου του *H. contortus*, δηλαδή μετά από την κατάποση προνυμφών L3 κατά τη βόσκηση. Στην συνέχεια, οι προνύμφες εισέρχονται στο βλεννογόνο της πρώτης μοίρας του λεπτού εντέρου, όπου αποβάλλουν τη θήκη τους και εξελίσσονται σε προνύμφες L4. Περίπου δυο εβδομάδες αργότερα επανέρχονται στον αυλό του εντέρου, όπου ενηλικιώνονται και προκαλούν ερεθισμό και ατροφία του βλεννογόνου.

Η κλινική εκδήλωση της μόλυνσης από το παράσιτο αυτό είναι συνήθως ήπια. Στον αυλό του εντέρου τα ενήλικα παράσιτα παράγουν τα αβγά τους, τα οποία αποβάλλονται στο εξωτερικό περιβάλλον μέσω των κοπράνων. Ακολουθεί η εξέλιξη σε προνύμφες L3, που αποτελεί τη μολύνουσα μορφή, σε διάστημα 10 ημερών και έπειτα επέρχεται η είσοδος του παρασίτου με τη μορφή L3 στον ξενιστή μέσω της κατάποσης κατά τη βόσκηση. Η ενηλικίωση του παρασίτου πραγματοποιείται σε διάστημα 3 εβδομάδων (Taylor και άλλοι, 2007).

7.2. Επιπτώσεις στη Ζωική Παραγωγή

Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που αντιμετωπίζουν οι κτηνοτρόφοι των μηρυκαστικών είναι οι παρασιτώσεις, καθώς η μόλυνση ενός ζώου έχει ως αποτέλεσμα την υποβάθμιση του επιπέδου της υγείας του. Επιπλέον, επιφέρει μείωση του προσδόκιμου επιβίωσης και μείωση της παραγωγικότητας του ζώου. Τα παραπάνω, σε συνδυασμό με το κόστος των αποπαρασιτώσεων και της απόρριψης των προϊόντων, όπως το γάλα και το κρέας, τόσο κατά τη θεραπεία, όσο και κατά τη διάρκεια της αναμονής μετά την εφαρμογή της αντιπαρασιτικής αγωγής, συμβάλλουν στη δημιουργία αρνητικών οικονομικών επιπτώσεων από τις παρασιτώσεις (Sykes, 1994).

Οι περισσότερες μελέτες που αφορούν τις οικονομικές απώλειες εξαιτίας των γαστρεντερικών νηματωδών στα πρόβατα, αναφέρουν μείωση στην αύξηση του σωματικού βάρους σε ποσοστά που κυμαίνονται από 10 έως 47%, αλλά και μείωση της εριοπαραγωγής σε ποσοστά 10-21%. Φυσικά, το ποσοστό της μείωσης σχετίζεται πάντα με την ένταση της μόλυνσης (Charlier και άλλοι, 2014), όμως είναι ενδεικτικό ότι μετά την εφαρμογή μιας αντιπαρασιτικής θεραπείας παρατηρείται αύξηση του παραγόμενου γάλακτος από 9 έως 40% (Cringoli και άλλοι, 2009a; Cringoli και άλλοι, 2009b).

Η μόλυνση των ζώων από τα γαστρεντερικά νηματώδη συνήθως εκδηλώνεται με υποκλινική μορφή και σταδιακά εξαπλώνεται στα υπόλοιπα ζώα της εκτροφής. Από τα πιο συχνά συμπτώματα είναι η χρόνια απώλεια βάρους, η οποία όμως δεν είναι παθογνωμονική (Hoste και Chartier 1998).

7.3. Αντιμετώπιση Παρασιτώσεων

Η κύρια αντιμετώπιση των παρασιτώσεων γίνεται με τη χρήση ανθελμινθικών φαρμάκων ως μέσω πρόληψης ή θεραπείας μετά από ανίχνευση της μόλυνσης. Ένα φάρμακο της κατηγορίας αυτής πρέπει να χαρακτηρίζεται από μια ισχυρή ανθελμινθική δράση έναντι όλων των σταδίων του βιολογικού κύκλου των παρασίτων, να διαθέτει ευρύ δείκτη ασφαλείας, να παρουσιάζει συμβατότητα με άλλα πιθανά φάρμακα, να αφήνει μόνο για ένα μικρό χρονικό διάστημα κατάλοιπα στα παραγόμενα προϊόντα που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση και να μην έχει παρενέργειες (Riviere and Papich, 2017). Επιπλέον, είναι σημαντικό να είναι οικονομικά προσιτό, να μην απαιτείται εξειδικευμένος εξοπλισμός για τη χορήγησή του και να είναι εύκολη η χορήγησή του σε μεγάλο αριθμό ζώων (Barragry, 1987). Τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα ανθελμινθικά φάρμακα για την αντιμετώπιση μολύνσεων σε μηρυκαστικά ζώα είναι φάρμακα που ανήκουν στις βενζιμιδαζόλες/προβενζιμιδαζόλες, ιμιδαζοθειαζόλες και μακροκυκλικές λακτόνες (Sager και άλλοι, 2009).

Η αντιμετώπιση των παρασιτώσεων με τα φάρμακα αυτά είχε αποδειχθεί ως μια αποτελεσματική, ασφαλής και οικονομικά αποδοτική πρακτική, έως ότου εμφανίστηκαν στελέχη των παρασίτων με ανθεκτικότητα έναντι των ανθελμινθικών

φαρμάκων, φαινόμενο ευρύτερα γνωστό ως ανθελμινθικοαντοχή (Jackson και Coor, 2000).

Σήμερα, η ανθελμινθικοαντοχή αποτελεί ένα από τα κυριότερα προβλήματα για πολλές περιοχές της υφηγλίου, καθιστώντας ιδιαίτερα δύσκολη την καταπολέμηση των παρασίτων (Geurden και άλλοι, 2014; Jackson και άλλοι, 2012; Torres-Acosta και άλλοι, 2012). Η εξέλιξη της ανθελμινθικοαντοχής επηρεάζεται σημαντικά τόσο από εγγενείς παράγοντες, όπως ο πληθυσμός των παρασίτων και η γενετική μεταβλητότητα, όσο και από εξωγενείς όπως η συχνότητα και ένταση της θεραπείας, τα συστήματα διαχείρισης και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες (Wolstenholme και άλλοι, 2004). Τέλος, σημαντικό ρόλο παίζει η «φυσική κατάσταση» των ανθεκτικών παρασίτων, δηλαδή η μολυσματικότητά τους, η ικανότητα επιβίωσής τους στο εξωτερικό περιβάλλον και το στάδιο εξέλιξης του βιολογικού τους κύκλου (Coles, και άλλοι, 2005). Εκτός από αντοχή στα ανθελμινθικά φάρμακα, υπάρχουν και επιμέρους μορφές αντοχής των παρασίτων, όπως η πλευρική (side-resistance), η διασταυρούμενη (crossresistance) και η πολλαπλή (multiple-resistance) (Rang και άλλοι, 1999). Η γονιδιακή μετάλλαξη στην οποία οφείλεται η αντοχή των παρασίτων στα φάρμακα κληρονομείται και αναπτύσσεται απέναντι σε ένα ή περισσότερα φάρμακα, με όμοιο ή διαφορετικό τρόπο δράσης (Conder και Campbell, 1995).

Για την αντιμετώπιση της ανθελμινθικοαντοχής υπάρχουν αρκετές μελέτες και στρατηγικές, με επικρατέστερη τη δημιουργία πληθυσμών «refugia», δηλαδή πληθυσμών που παραμένουν ευαίσθητα στα ανθελμινθικά παράσιτα. Τα «ευαίσθητα» αυτά παράσιτα, κυρίως αβγά και προνύμφες, βρίσκονται στη βοσκή ή σε ξενιστές που δεν λαμβάνουν θεραπεία και αποτελούν ουσιαστικά ένα μέσο αραίωσης των ανθεκτικών γενοτύπων (Jackson και Waller, 2008). Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τη στρατηγική χορήγηση φαρμάκων είτε σε όλα τα ζώα της εκτροφής για συγκεκριμένες χρονικές περιόδους (στοχευμένη αγωγή/targeted treatment) (Besier και Love, 2003), ή σε επιλεγμένα ζώα με βάση διάφορα κριτήρια (επιλεκτική αγωγή/targeted selective treatment) (Jackson και Waller, 2008).

Άλλες στρατηγικές που χρησιμοποιούνται από τους κτηνοτρόφους για την αντιμετώπιση των παρασιτώσεων αφορούν κυρίως τη σωστή διαχείριση των λειμώνων, με τη χρήση πρακτικών όπως η εναλλασσόμενη βόσκηση του λειμώνα με διαφορετικά είδη ειδών ζώων στα οποία παρασιτούν από διαφορετικά είδη

παρασίτων (Sayers και Sweeney, 2005), επιλογή λειμώνων με φυτικά είδη που δεν συνδέονται με μεγάλους αριθμούς προνυμφών, όπως για παράδειγμα η αυξημένη πυκνότητα ενός λειμώνων σε λευκό τριφύλλι (*Trifolium repens*) η οποία είναι ικανή να μειώσει τον παρασιτισμό στα ζώα (Niezen και άλλοι, 2002).

Μια επιπλέον αρνητική επίδραση της θεραπείας των παρασιτώσεων με ανθελμινθικά φάρμακα σχετίζεται με την παρουσία των καταλοίπων τους στα παραγόμενα προϊόντα. Έτσι, στις σύγχρονες μεθόδους εκτροφής πλέον συγκαταλέγεται και η προληπτική χορήγηση φαρμακευτικών ουσιών, η εκτεταμένη χρήση των οποίων στη ζωική παραγωγή μπορεί να προκαλέσει την εμφάνιση υπολειμματικών καταλοίπων των φαρμάκων (ή των μεταβολιτών τους) στα εδώδιμα ζωικά προϊόντα, κυρίως όταν δεν τηρηθεί ο ενδεδειγμένος χρόνος αναμονής. Παρότι είναι διεθνώς ελάχιστες οι καταγεγραμμένες περιπτώσεις τοξικώσεων στον άνθρωπο μετά από κατανάλωση κρέατος ή άλλων προϊόντων από ζώα στα οποία είχαν χορηγηθεί αντιπαρασιτικά φάρμακα, η δυνητική τοξικότητα αρκετών από αυτά έχει περιγράψει και σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να παραβλέπεται (Baynes, 1999).

Λόγω των παραπάνω κινδύνων από τη διαδεδομένη χρήση των ανθελμινθικών φαρμάκων, οι επιστήμονες αναζητούν εναλλακτικούς τρόπους αντιμετώπισης των παρασιτώσεων. Η επιλογή ανθεκτικών ξενιστών είναι μια από τις εναλλακτικές προσεγγίσεις που δυνητικά μπορούν να περιορίσουν τη χρήση των ανθελμινθικών φαρμάκων. Σύμφωνα με την προσέγγιση αυτή επιλέγονται ζώα με γενετικά καθορισμένη ανθεκτικότητα στα παράσιτα. Η επιλογή αυτή για αρκετά χρόνια βασίστηκε σε δείκτες όπως η απέκκριση αβγών των νηματωδών παρασίτων ανά γραμμάριο κοπράνων, ο αιματοκρίτης και τα κλινικά συμπτώματα. Η ανθεκτικότητα των ξενιστών κληρονομείται με δείκτη κληρονομησιμότητας 0,2 έως και 0,4 (Gruner και άλλοι, 2004; Pickering και άλλοι, 2012; Silva και άλλοι, 2011) και αξιολογείται κυρίως με βάση τον αριθμό των αβγών των νηματωδών παρασίτων στα κόπρανα των φυσικά ή πειραματικά μολυσμένων ζώων (Stear και άλλοι, 2007). Έχουν μάλιστα αναγνωριστεί και συγκεκριμένες φυλές ζώων που εμφανίζουν ανθεκτικότητα (Amarante και άλλοι, 2004; Greer και άλλοι, 2018; Mugambi και άλλοι, 1996). Με την επιλογή ανθεκτικών ζώων επιτυγχάνεται ένα χαμηλό παρασιτικό φορτίο και επαγωγικά, η περιορισμένη μόλυνση των βοσκοτόπων, με συνέπεια την ελάττωση της διασποράς της μόλυνσης σε άλλα ζώα (Kahn και άλλοι, 2003).

Ένας άλλος τρόπος αντιμετώπισης των παρασιτώσεων αναφέρεται στην ενίσχυση των αμυντικών μηχανισμών των ξενιστών κατά των γαστρεντερικών νηματωδών παρασίτων και πιο συγκεκριμένα στην ανοσολογική αντίδραση κατά των *H. contortus* και *T. colubriformis*, μέσα από την αύξηση της ποσότητας και της ποιότητας των πρωτεϊνών που παρέχονται στο σιτηρέσιο των ζώων (Kyriazakis και Houdijk, 2006). Η παρουσία παρασίτων στο γαστρεντερικό σύστημα των ζώων προκαλεί μείωση της όρεξης, με συνέπεια την ανεπαρκή απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών, η οποία με τη σειρά της συνεπάγεται μειωμένη ανάπτυξη και παραγωγικότητα. Ωστόσο, η αύξηση της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες υψηλής ποιότητας του σιτηρεσίου των προβάτων (Kyriazakis και Houdijk, 2006; Κνοx και άλλοι, 2006; Steel, 2003) και των αιγών (Hoste και άλλοι, 2005), μπορεί να αυξήσει την ανθεκτικότητα των ζώων έναντι των παρασίτων. Θετικά στην ανάπτυξη της αποτελεσματικής ανοσίας έναντι των ξενιστών φαίνεται ότι επιδρούν και κάποια ιχνοστοιχεία όπως ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος, ο χαλκός, το μολυβδαίνιο, το σελήνιο και ο φώσφορος (Koski και Scott, 2003).

Στο πλαίσιο της βιολογικής καταπολέμησης των παρασίτων η χρησιμοποίηση νηματωδοφάγων μυκήτων μπορεί να θεωρηθεί ως μια άλλη εναλλακτική προσέγγιση για την αντιμετώπιση των παρασιτώσεων. Πρόκειται για μύκητες που «τρέφονται» με τις προνύμφες των παρασίτων, αποτελώντας με τον τρόπο αυτόν τους φυσικούς τους εχθρούς. Για παράδειγμα, ο μύκητας *Duddinctonia flagrans*, παγιδεύει τις προνύμφες των νηματωδών παρασίτων στα κόπρανα των ζώων και στη συνέχεια «τρέφεται» με αυτές (Burke και Miller, 2020). Συνεπώς, η καθημερινή χορήγηση στο σιτηρέσιο των ζώων συμπληρώματος που περιέχει σπόρια του μύκητα μπορεί να μειώσει δραστικά το παρασιτικό φορτίο (Canhão-Dias και άλλοι, 2020).

Τέλος, η ενσωμάτωση στη διατροφή των ζώων ποικίλων φυτικών υλικών που είναι πλούσια σε δευτερογενείς μεταβολίτες αποτελεί τον πλέον υποσχόμενο τρόπο αντιμετώπισης των παρασιτώσεων, ειδικά για τα μικρά μηρυκαστικά (Hoste και Torres-Acosta, 2011). Τα φυτά αυτά αναφέρονται συχνά και ως «διατροφικά» φυτά επειδή αποτελούν φυτικά είδη που ήδη χρησιμοποιούνται ή έχουν τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν ως ζωοτροφές, ενώ παράλληλα εμφανίζουν και ειδικές φαρμακευτικές (π.χ. ανθελμινθικές) ή άλλες ευεργετικές για την υγεία του ζώου ιδιότητες (Hoste και άλλοι, 2015; Waller και Thamsborg, 2004). Οι περισσότερες

μελέτες έχουν αναδείξει ότι η δραστηκότητα των φυτών αυτών στην περίπτωση των παρασιτώσεων, οφείλεται στην παρουσία ποικίλων δευτερογενών μεταβολιτών (Hoste και άλλοι, 2015).

Βιβλιογραφία

Amarante, A.F.T., P.A. Bricarello, R.A. Rocha, and S.M. Gennari. 2004. "Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France Sheep to Naturally Acquired Gastrointestinal Nematode Infections." *Veterinary Parasitology* 120 (1–2): 91–106. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2003.12.004>.

Barragry, T. B. 1987. "A Review of the Pharmacology and Clinical Uses of Ivermectin." *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne* 28 (8): 512–17.

Baynes, R. 1999. "Estimating Provisional Acceptable Residues for Extralabel Drug Use in Livestock." *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 29 (3): 287–99. <https://doi.org/10.1006/rtph.1999.1302>.

Besier, R. B., and S. C. J. Love. 2003. "Anthelmintic Resistance in Sheep Nematodes in Australia: The Need for New Approaches." *Australian Journal of Experimental Agriculture* 43 (12): 1383. <https://doi.org/10.1071/EA02229>.

Burke, Joan M., and James E. Miller. 2020. "Sustainable Approaches to Parasite Control in Ruminant Livestock." *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 36 (1): 89–107. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.11.007>.

Canhão-Dias, M., A. Paz-Silva, and L.M. Madeira de Carvalho. 2020. "The Efficacy of Predatory Fungi on the Control of Gastrointestinal Parasites in Domestic and Wild Animals—A Systematic Review." *Veterinary Parasitology* 283 (July): 109173. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109173>.

Charlier, Johannes, Mariska van der Voort, Fiona Kenyon, Philip Skuce, and Jozef Vercruysse. 2014. "Chasing Helminths and Their Economic Impact on Farmed Ruminants." *Trends in Parasitology* 30 (7): 361–67. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.04.009>.

Coles, G.C., A.C. Rhodes, and A.J. Wolstenholme. 2005. "Rapid Selection for Ivermectin Resistance in *Haemonchus Contortus*." *Veterinary Parasitology* 129 (3–4): 345–47. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.02.002>.

Conder, George A., and William C. Campbell. 1995. "Chemotherapy of Nematode Infections of Veterinary Importance, with Special Reference to Drug Resistance." In *Advances in Parasitology*, 35:1–84. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60069-X](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60069-X).

Cringoli, G., L. Rinaldi, V. Veneziano, L. Mezzino, J. Vercruysse, and F. Jackson. 2009. "Evaluation of Targeted Selective Treatments in Sheep in Italy: Effects on Faecal Worm Egg Count and Milk Production in Four Case Studies." *Veterinary Parasitology* 164 (1): 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.04.010>.

Cringoli, Giuseppe, Vincenzo Veneziano, Laura Mezzino, Mariaelena Morgoglione, Saverio Pennacchio, Laura Rinaldi, and Vincenzo Salamina. 2009. "The Effect of Moxidectin 0,1% vs Ivermectin 0,08% on Milk Production in Sheep Naturally Infected by Gastrointestinal Nematodes." *BMC Veterinary Research* 5 (1): 41. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-5-41>.

Geurden, Thomas, Herve Hoste, Philippe Jacquet, Donato Traversa, Smaragda Sotiraki, Antonio Frangipane di Regalbono, Nikolaos Tzanidakis, et al. 2014. "Anthelmintic Resistance and Multidrug Resistance in Sheep Gastro-Intestinal Nematodes in France, Greece and Italy." *Veterinary Parasitology* 201 (1–2): 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.01.016>.

Greer, A.W., J.L. McKenzie, R.W. McAnulty, J.F. Huntley, and T.N. McNeilly. 2018. "Immune Development and Performance Characteristics of Romney Sheep Selected for Either Resistance or Resilience to Gastrointestinal Nematodes." *Veterinary Parasitology* 250 (January): 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.12.013>.

Gruner, L, J Bouix, and J.C Brunel. 2004. "High Genetic Correlation between Resistance to *Haemonchus Contortus* and to *Trichostrongylus Colubriformis* in INRA 401 Sheep." *Veterinary Parasitology* 119 (1): 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2003.10.014>.

Hoste, H., and C. Chartier. 1998. "Response to Challenge Infection with *Haemonchus Contortus* and *Trichostrongylus Colubriformis* in Dairy Goats. Consequences on Milk Production." *Veterinary Parasitology* 74 (1): 43–54. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00130-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00130-1).

Hoste, H., J.F. Torres-Acosta, V. Paolini, A. Aguilar-Caballero, E. Etter, Y. Lefrileux, C. Chartier, and C. Broqua. 2005. "Interactions between Nutrition and Gastrointestinal Infections with Parasitic Nematodes in Goats." *Small Ruminant Research* 60 (1–2): 141–51. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.06.008>.

Hoste, H., and J.F.J. Torres-Acosta. 2011. "Non Chemical Control of Helminths in Ruminants: Adapting Solutions for Changing Worms in a Changing World." *Veterinary Parasitology* 180 (1–2): 144–54. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.035>.

Hoste, H., J.F.J. Torres-Acosta, C.A. Sandoval-Castro, I. Mueller-Harvey, S. Sotiraki, H. Louvandini, S.M. Thamsborg, and T.H. Terrill. 2015. "Tannin Containing Legumes as a Model for Nutraceuticals against Digestive Parasites in Livestock." *Veterinary Parasitology* 212 (1–2): 5–17. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.06.026>.

Jackson, F., D. Bartley, Y. Bartley, and F. Kenyon. 2009. "Worm Control in Sheep in the Future." *Small Ruminant Research* 86 (1–3): 40–45. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.09.015>.

Jackson, F., and R. L. Coop. 2000. "The Development of Anthelmintic Resistance in Sheep Nematodes." *Parasitology* 120 (7): 95–107. <https://doi.org/10.1017/S0031182099005740>.

Jackson, F., M. Varady, and D.J. Bartley. 2012. "Managing Anthelmintic Resistance in Goats—Can We Learn Lessons from Sheep?" *Small Ruminant Research* 103 (1): 3–9. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.10.012>.

Jackson, F., and P. Waller. 2008. "Managing Refugia." *Tropical Biomedicine* 25 (1 Suppl): 34–40.

Kahn, L.P., M.R. Knox, S.W. Walkden-Brown, and J.M. Lea. 2003. "Regulation of the Resistance to Nematode Parasites of Single- and Twin-Bearing Merino Ewes through Nutrition and Genetic Selection." *Veterinary Parasitology* 114 (1): 15–31. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(03\)00099-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(03)00099-2).

Knox, M.R., J.F.J. Torres-Acosta, and A.J. Aguilar-Caballero. 2006. "Exploiting the Effect of Dietary Supplementation of Small Ruminants on Resilience and Resistance against Gastrointestinal Nematodes." *Veterinary Parasitology* 139 (4): 385–93. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.04.026>.

Koski, Kristine G., and Marilyn E. Scott. 2003. "Gastrointestinal Nematodes, Trace Elements, and Immunity." *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 16 (4): 237–51. <https://doi.org/10.1002/jtra.10043>.

Kyriazakis, I., and J. Houdijk. 2006. "Immunonutrition: Nutritional Control of Parasites." *Small Ruminant Research* 62 (1–2): 79–82. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.07.036>.

Mugambi, J.M, S.W Wanyangu, R.K Bain, M.O Owango, J.L Duncan, and M.J Stear. 1996. "Response of Dorper and Red Maasai Lambs to Trickle Haemonchus Contortus Infections." *Research in Veterinary Science* 61 (3): 218–21. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(96\)90066-1](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(96)90066-1).

Niezen, J.H, H.A Robertson, A Sidey, and S.R Wilson. 2002. "The Effect of Pasture Species on Parasitism and Performance of Lambs Grazing One of Three Grass—White Clover Pasture Swards." *Veterinary Parasitology* 105 (4): 303–15. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00012-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00012-2).

"Parasitic Gastroenteritis in Ruminants." Accessed December 24, 2022. Farm Health Online. <https://www.farmhealthonline.com/US/disease-management/cattle-diseases/parasitic-gastroenteritis-in-ruminants/>.

Pickering, N. K., K. G. Dodds, H. T. Blair, R. E. Hickson, P. L. Johnson, and J. C. McEwan. 2012. "Genetic Parameters for Production Traits in New Zealand Dual-Purpose Sheep, with an Emphasis on Dagginess1." *Journal of Animal Science* 90 (5): 1411–20. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4163>.

Preston, Sarah Jane Margaret, Mark Sandeman, Jorge Gonzalez, and David Piedrafita. 2014. "Current Status for Gastrointestinal Nematode Diagnosis in Small Ruminants: Where Are We and Where Are We Going?" *Journal of Immunology Research* 2014: 1–12. <https://doi.org/10.1155/2014/210350>.

Rang, Humphrey P., M. Maureen Dale, James M. Ritter, H. P. Rang, and J. M. Ritter. 1999. *Pharmacology*. 4. ed. Edinburgh: Churchill Livingstone.

Riviere, J. Edmond, and Mark G. Papich. 2017. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 10th ed. Iowa, USA: Wiley-Blackwell Publishing. ISBN: 978-1-118-85588-1

Sager, Heinz, Barry Hosking, Béatrice Bapst, Philip Stein, Kathleen Vanhoff, and Ronald Kaminsky. 2009. "Efficacy of the Amino-Acetonitrile Derivative, Monepantel, against Experimental and Natural Adult Stage Gastro-Intestinal Nematode Infections in Sheep." *Veterinary Parasitology* 159 (1): 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.10.006>.

Sayers, G., and T. Sweeney. 2005. "Gastrointestinal Nematode Infection in Sheep – a Review of the Alternatives to Anthelmintics in Parasite Control." *Animal Health Research Reviews* 6 (2): 159–71. <https://doi.org/10.1079/AHR2005108>.

Silva, B. D. M., E. A. Castro, C. J. H. Souza, S. R. Paiva, R. Sartori, M. M. Franco, H. C. Azevedo, et al. 2011. "A New Polymorphism in the Growth and Differentiation Factor 9 (GDF9) Gene Is Associated with Increased Ovulation Rate and Prolificacy in Homozygous Sheep: New Polymorphism in GDF9 and Prolificacy." *Animal Genetics* 42 (1): 89–92. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2010.02078.x>.

Stear, M. J., M. Doligalska, and K. Donskow-Schmelter. 2007. "Alternatives to Anthelmintics for the Control of Nematodes in Livestock." *Parasitology* 134 (2): 139–51. <https://doi.org/10.1017/S0031182006001557>.

Steel, J. W. 2003. "Effects of Protein Supplementation of Young Sheep on Resistance Development and Resilience to Parasitic Nematodes." *Australian Journal of Experimental Agriculture* 43 (12): 1469. <https://doi.org/10.1071/EA03004>.

Stromberg, Bert E. 1997. "Environmental Factors Influencing Transmission." *Veterinary Parasitology* 72 (3–4): 247–64. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00100-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00100-3).

Sykes, A. R. 1994. "Parasitism and Production in Farm Animals." *Animal Science* 59 (2): 155–72. <https://doi.org/10.1017/S0003356100007649>.

Taylor, M.A., R. L. Coop, and R.L. Wall. 2007. *Veterinary Parasitology*. 3rd ed. Blackwell publishing.

Torres-Acosta, J.F.J., P. Mendoza-de-Gives, A.J. Aguilar-Caballero, and J.A. Cuéllar-Ordaz. 2012. "Anthelmintic Resistance in Sheep Farms: Update of the Situation in the American Continent." *Veterinary Parasitology* 189 (1): 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.03.037>.

Waghorn, T.S, D.M Leathwick, L.-Y Chen, R.A.J Gray, and R.A Skipp. 2002. "Influence of Nematophagous Fungi, Earthworms and Dung Burial on Development of the Free-Living Stages of *Ostertagia* (Teladorsagia) *Circumcincta* in New Zealand." *Veterinary Parasitology* 104 (2): 119–29. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00629-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00629-X).

Waller, Peter J., and Stig M. Thamsborg. 2004. "Nematode Control in 'Green' Ruminant Production Systems." *Trends in Parasitology* 20 (10): 493–97. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.07.012>.

Wang, Tong, Hannah Rose Vineer, Alison Morrison, Jan A. van Wyk, Muhammad-Bashir Bolajoko, David J. Bartley, and Eric R. Morgan. 2018. "Microclimate Has a Greater Influence than Macroclimate on the Availability of Infective *Haemonchus Contortus* Larvae on Herbage in a Warmed Temperate Environment." *Agriculture, Ecosystems & Environment* 265 (October): 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.05.029>.

Wolstenholme, Adrian J., Ian Fairweather, Roger Prichard, Georg von Samson-Himmelstjerna, and Nicholas C. Sangster. 2004. "Drug Resistance in Veterinary Helminths." *Trends in Parasitology* 20 (10): 469–76. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.07.010>.



Πειραματικό Μέρος

1. Χημικά και Πρότυπες Χημικές Ενώσεις

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για τις εκχυλίσεις ήταν εξάνιο (HEX), διχλωρομεθάνιο (DCM) και μεθανόλη (MeOH) και η προμήθειά τους έγινε από την Fisher Chemicals σε αναλυτικά καθαρή μορφή (analytical grade). Όλοι οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για τις αναλύσεις με LC-MS/MS ήταν καθαρότητας LC-MS grade και παρελήφθησαν ως εξής: νερό και ακετονιτρίλιο (ACN) από την J.T. Baker, φορμικό οξύ από τη Fisher Chemicals. Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω διαλύτες σε αναλυτικά καθαρή μορφή: χλωροφόρμιο, διμεθυλσουλφοξείδιο (DMSO), διαιθυλαιθέρας (Et₂O) και αιθανόλη από τη Fisher Chemicals, πετρελαϊκός αιθέρας (40-60°C) από την Carlo Erba. Τέλος, η προμήθεια των διαλυτών μεθανόλη, ακετονιτρίλιο και τερτ-μεθυλο-βουτυλαιθέρας (MTBE) σε HPLC καθαρότητα έγινε από την Fisher Chemicals.

Η αγορά των προτύπων μορίων των φαινολικών φυτοοιστρογόνων έγινε από την ExtraSynthese εκτός τα μόρια εκουόλη και πουεραρίνη που παρελήφθησαν από την TCI (Tokyo Chemical Industry), την καλυκοσίνη, τον 7-O-β-D-γλυκοζίτη της καλυκοσίνης, τη ματαΐρεσινόλη, τη λαρισιρεσινόλη και την σεκολαρισιρεσινόλη που παραλήφθηκαν από την Biosynth Carbosynth. Η προμήθεια των προτύπων καροτενοειδών ενώσεων έγινε από τις ExtraSynthese (ζεαξανθίνη, λουτεΐνη, β-κρυπτοξανθίνη), CaroteNature (α-καροτένο, φυτοένιο) και Sigma-Aldrich (ασταξανθίνη, λυκοπένιο, φουκοξανθίνη, β-καροτένιο). Η καθαρότητα όλων των προτύπων ήταν >95%, εκτός από την 3',4',7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη της οποίας ήταν >90%. Η 2-(4-χλωροφαινυλο)μαλοναλδεϋδη που χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο (IS, Internal Standard) αγοράστηκε από την Sigma-Aldrich. Για τον προσδιορισμό των λιπαρών οξέων χρησιμοποιήθηκε το μίγμα προτύπων Supelco 37 Component FAME Mix της Sigma-Aldrich.

Άλλα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τη διενέργεια των πειραμάτων της διατριβής ήταν το υδροξείδιο του καλίου (KOH), το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (2N), η 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζύλη (DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), η 2,4,6-τρικ(2-πυριδυλο)-s-τριαζίνη (TPTZ, 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine), το χλωρίδιο του νατρίου (NaCl), το τριφθοριούχο βόριο (BF₃, 14% σε μεθανολικό διάλυμα) και το οξικό οξύ, τα οποία αγοράστηκαν από την Sigma-Aldrich, το 6-υδροξυ-2,5,7,8-τετραμεθυλοχρωμανο-2-καρβοξυλικό οξύ (Trolox, 6-hydroxy-

2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) και η βανιλίνη αγοράστηκαν από την Acros Organics, τα άνυδρο ανθρακικό νάτριο (Na_2CO_3), χλωριούχο νάτριο (NaCl), θειικό οξύ 98% (H_2SO_4) και υδροχλωρικό οξύ (HCl) από την Chem-Lab, το ένυδρο χλωρίδιο του αργιλίου ($\text{AlCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$) από την Fluka, το ένυδρο οξικό νάτριο ($\text{CH}_3\text{COONa} \times 3\text{H}_2\text{O}$) από την Merck και τα χλωρίδιο του σιδήρου ($\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$) και θειικό σίδηρο ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) από την Alfa Aesar.

2. Εξοπλισμός

Για την προετοιμασία των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω όργανα: Η κονιοποίηση των δειγμάτων έγινε με σφυρόμυλο (Libralon) και μύλο Polymix PX-MFC 90D (Kinematica). Η φυγοκέντρησή τους, όπου ήταν απαραίτητη, σε Centrifuge 5430 (Eppendorf) και η θέρμανση με θερμομπλόκ (block heater) SBH30 Stuart™ (Fisher Scientific).

Για την εκχύλιση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν ένας ειδικός εκχυλιστήρας υπερήχων (DIA-SONIC extractor MOD20L, UNITECH United Technologies) (38kHz, 350W) και η συσκευή υπερήχων Sonorex SUPER RK 100 SH (Bandelin) (35KHz, 160W).

Η μέτρηση των ολικών φαινολικών (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και η αποτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων με τις μεθόδους DPPH και FRAP πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση φασματοφωτομέτρου TECAN (NanoQuant, infinite M200PRO) με πλάκες 96-οπών της SARSTEDT AG & Co (Microtest Plate 96 Well, F), ενώ για την μέτρηση της περιεκτικότητας σε καροτενοειδή χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο human CORPORATION (*x-ma 1000*) με γυάλινη κυψελίδα 10mm.

Για την ποσοτικοποίηση των φαινολικών φυτοιστρογόνων που περιέχονται στα δείγματα χρησιμοποιήθηκε το σύστημα Accela Ultra High-Performance Liquid Chromatography με αυτόματο δειγματολήπτη συνδεδεμένο με το φασματόμετρο μάζας TSQ Quantum Access με τριπλό τετράπολο (Thermo Fisher Scientific, Inc.). Στο σύστημα αυτό το αέριο σύγκρουσης (collision gas) ήταν το το Αργό (Ar) από φιάλη υψηλής καθαρότητας, ενώ για το ρόλο των βοηθητικών αερίων (sheath και auxiliary

gas) χρησιμοποιήθηκε το Άζωτο (N₂) που παρήχθη από γεννήτρια αζώτου (Peak Scientific).

Για την ποσοτικοποίηση των καρτενοειδών χρησιμοποιήθηκε το παραπάνω σύστημα, καθώς και το HPLC Hewlett Packard (series 1050) με ανιχνευτή DAD (Diode-Array Detector) της ίδιας εταιρείας (series 1100).

Για την ποσοτικοποίηση των λιπαρών οξέων χρησιμοποιήθηκε το όργανο GC-FID της Agilent Technologies (7820A GC System) με παροχή υδρογόνου (H₂) από γεννήτρια (Peak Scientific), με φέρον αέριο το ήλιο (He), διορθωτικό αέριο (make-up gas) το άζωτο (N₂) και συνθετικό αέρα από φιάλες υψηλής καθαρότητας.

3. Φυτικό Υλικό

Στο πλαίσιο διενέργειας της διατριβής μελετήθηκαν τα φυτά της οικογένειας *Fabaceae* που εντάσσονται στα παρακάτω γένη: *Astragalus* (*A. creticus*, *A. glycyphyllos*), *Cicer* (*C. arietinum*, *C. incisum*), *Trifolium* (*T. repens*, *T. physodes*), *Lathyrus* (*L. sativus*, *L. laxiflorus*, *L. clymenum*), *Vicia* (*V. sativa*, *V. faba*), *Bituminaria* (*B. bituminosa*), *Medicago* (*M. sativa*), *Pisum* (*P. sativum*), *Phaseolus* (*P. vulgaris*), *Lens* (*L. culinaris*), και *Glycine* (*G. max*). Στα φυτά αυτά μελετήθηκαν οι ιστοί (ρίζα, υπέργειο τμήμα, καρπός και άνθη) και τα σπέρματα. Για τη μελέτη ολόκληρων των φυτών, οι συλλογές πραγματοποιήθηκαν κατά την όψιμη ανθοφορία και πρόωμη ανάπτυξη των σπόρων.

Από τα φυτά που μελετήθηκαν τα παρακάτω έξι ανήκουν στην άγρια ελληνική χλωρίδα: *Bituminaria bituminosa* (συλλέχτηκε στον Παρνασσό το 2015), *Astragalus creticus*, *Astragalus glycyphyllos*, *Lathyrus laxiflorus*, και *Trifolium physodes* (συλλέχτηκαν στον Παρνασσό το 2016) και το *Cicer incisum* (συλλέχτηκε στην Κρήτη το 2018). Τα φυτά της αγροτικής βιοποικιλότητας (καλλιεργούμενα φυτά), *Cicer arietinum* και *Trifolium repens* παραχωρήθηκαν στο εργαστήριο «Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής» το 2017 από παραγωγό του Κιλκίς και τα υπόλοιπα 14 φυτά της οικογένειας *Fabaceae* παραχωρήθηκαν από το Ινστιτούτο Βιομηχανικών & Κτηνοτροφικών Φυτών (IBKΦ) της Λάρισας του ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, τα οποία έχουν προέλθει από βελτίωση γηγενών ελληνικών ποικιλιών. Συγκεκριμένα, τα επτά από αυτά ανήκουν σε διαφορετικές ποικιλίες του είδους *Vicia sativa* (var. Αγρός

Λεωνίδας, Αγρός Αλέξανδρος, Αγρός Καλλιρόη, Αλέξανδρος, Εύηνος, Οίστρος, Αμοργός), δυο ανήκουν στο είδος *Lathyrus sativus* (var. λευκό, Μελεμέ) και δυο στο είδος *Pisum sativum* (Όλυμπος, Δωδώνη). Τα υπόλοιπα τρία ανήκουν στα είδη και τις ποικιλίες *Medicago sativa* (var. Μηδική), *Vicia faba* (var. Πολυκάρπη), *Phaseolus vulgaris* (var. Πυργετός).

Από τα σπέρματα που μελετήθηκαν, οι παρακάτω 14 συλλέχθηκαν από βελτιωμένες ελληνικές ποικιλίες φυτών που παραχωρήθηκαν από το IBKΦ: *Vicia sativa* (var. Ίστρος, Εύηνος, Αλέξανδρος), *Pisum sativum* (var. Όλυμπος, Δωδώνη), *Cicer arietinum* (var. Αμοργός, Γαύδος, Θήβα), *Vicia faba* (var. Πολυκάρπη, Τανάγρα), *Lens culinaris* (var. Δήμητρα, Θεσσαλία, Σάμος) και *Phaseolus vulgaris* (var. Πυργετός). Τέλος, η προμήθεια των σπερμάτων του είδους *Glycine max* (σόγια) έγινε από την αγορά και του *Lathyrus clymenum* (φάβα Σαντορίνης) έγινε με παραχώρηση από την Ένωση Συνεταιρισμών Θηραϊκών Προϊόντων (ΕΣΘΠ).

4. Επεξεργασία των Δειγμάτων

Τα φυτά πριν από την εκχύλισή τους ξηράνθηκαν σε καλά αεριζόμενους και σκιερούς χώρους. Μετά την ξήρανσή τους λιοτριβήθηκαν σε σφυρόμυλο με κόσκινο διαμέτρου 1mm και η σκόνη εκάστου φυτού αποθηκεύτηκε σε γυάλινους περιέκτες μέχρι την εκχύλιση και ανάλυσή τους.

Η εκχύλιση των δειγμάτων έγινε με τη χρήση ειδικού εκχυλιστήρα υπερήχων ή με διαβροχή/ανάδευση του δείγματος για 48h με τον εκχυλιστή-διαλύτη, ανάλογα με την ποσότητα του φυτού που ήταν διαθέσιμη. Και στις δύο περιπτώσεις ακολουθήθηκε η διαδικασία της διαδοχικής εκχύλισης, ξεκινώντας από το λιγότερο πολικό διαλύτη και συνεχίζοντας με την αύξηση της πολικότητάς. Συγκεκριμένα, η πρώτη εκχύλιση των φυτικών ιστών έγινε με εξάνιο, ακολούθησε εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο που είναι διαλύτης μεσαίας πολικότητας και η τελευταία εκχύλιση έγινε με τον πολικό διαλύτη μεθανόλη. Η αναλογία φυτικού ιστού με τον διαλύτη εκχύλισης ήταν 1:7.

Στην περίπτωση που η εκχύλιση έγινε με τη χρήση ειδικού εκχυλιστήρα υπερήχων ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία: Ο προς εκχύλιση φυτικός ιστός τοποθετήθηκε στο ειδικό δοχείο του εκχυλιστήρα και αφού προστέθηκε ο διαλύτης

εκχύλισης, το μίγμα αναδεύτηκε για χρονικό διάστημα 2 ωρών. Στη συνέχεια τέθηκε σε λειτουργία η πηγή των υπερήχων για 15min (συχνότητα υπερήχων: 38kHz, ένταση υπερήχων: 350W). Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε επιπλέον δύο φορές, προσθέτοντας κάθε φορά νέα ποσότητα διαλύτη εκχύλισης, αφού πρώτα είχε απομακρυνθεί ο προηγούμενος που περιείχε όλες τις χημικές ενώσεις που είχαν εκχυλιστεί σε αυτόν. Οι διαλύτες των τριών εκχυλίσεων συνενώθηκαν και τοποθετήθηκαν σε περιστροφικό εξατμιστήρα κενού και εξατμίστηκαν σε θερμοκρασία $\leq 30^{\circ}\text{C}$. Το ξηρό υπόλειμμα τοποθετήθηκε σε σκουρόχρωμο αεροστεγές γυάλινο φιαλίδιο σε ατμόσφαιρα αζώτου και αποθηκεύτηκε υπό κατάψυξη έως την τελική επεξεργασία και ανάλυσή του.

Στις περιπτώσεις που η μέθοδος εκχύλισης ήταν με διαβροχή ή ανάδευση του φυτικού ιστού, ακολουθήθηκε αντίστοιχη διαδικασία με τη διαφορά ότι ο φυτικός ιστός τοποθετήθηκε σε σκουρόχρωμη φιάλη και προστέθηκε ο διαλύτης εκχύλισης. Η διαδικασία της εκχύλισης διήρκεσε 48h είτε με ανάδευση της φιάλης ανά τακτά χρονικά διαστήματα (διαβροχή) για την αύξηση της απόδοσης της εκχύλισης είτε με συνεχή ανάδευση. Και στην περίπτωση αυτή η διαδικασία της εκχύλισης επαναλήφθηκε συνολικά τρεις φορές με προσθήκη κάθε φορά νέου διαλύτη εκχύλισης. Στο τέλος, ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία δηλαδή οι διαλύτες των τριών εκχυλίσεων συνενώθηκαν και εξατμίστηκαν (Περисτροφικός εξατμιστήρας κενού, θερμοκρασία $\leq 30^{\circ}\text{C}$) και το υπόλειμμα αποθηκεύτηκε σε σκουρόχρωμο αεροστεγές γυάλινο φιαλίδιο σε ατμόσφαιρα αζώτου υπό κατάψυξη έως την τελική επεξεργασία και ανάλυσή του.

5. Προσδιορισμός Ολικής Περιεκτικότητας σε Δευτερογενείς Μεταβολίτες

Στα εκχυλίσματα που προέκυψαν προσδιορίστηκε η ολική τους περιεκτικότητα σε καροτενοειδή, φαινολικές χημικές ενώσεις και ταννίνες.

5.1. Ολική Περιεκτικότητα Καροτενοειδών

Η ολική περιεκτικότητα των καροτενοειδών (Total Carotenoids Content, TCC) προσδιορίστηκε στο εξανικό και στο διχλωρομεθανικό εκχύλισμα των φυτικών ιστών.

Κάθε δείγμα διαλύθηκε στον διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλισή του ή σε DMSO και η απορρόφηση του διαλύματος που προέκυψε μετρήθηκε στα 450nm.

Για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας σε καροτενοειδή κατασκευάστηκε καμπύλη βαθμονόμησης με διαλύματα β-καροτενίου συγκεντρώσεων από 0,2 έως 4,0mg/mL. Για την κατασκευή της καμπύλης χρησιμοποιήθηκε ως διάλυμα παρακαταθήκης διάλυμα πρότυπου β-καροτενίου σε διχλωρομεθάνιο συγκέντρωσης 240mg/mL και στη συνέχεια έγιναν οι κατάλληλες αραιώσεις για την παρασκευή των επιμέρους διαλυμάτων. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα β-καροτενίου (β-Carotene Equivalents, CE) (Myrtsi και άλλοι, 2022a).

5.2. Ολική Περιεκτικότητα Φαινολικών

Η μέτρηση της ολικής περιεκτικότητας των φαινολικών μορίων (Total Phenolic Content, TPC) πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας την κλασσική μέθοδο Folin-Ciocalteu, η οποία για τις ανάγκες της διατριβής τροποποιήθηκε σε μικρομέθοδο. Η μέθοδος αυτή είχε αρχικά αναπτυχθεί το 1927 και έκτοτε έχει υποστεί αρκετές αλλαγές (Myrtsi και άλλοι, 2021).

Για τον προσδιορισμό της ολικής περιεκτικότητας σε φαινολικά μόρια και την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης απορρόφησης (συγκεντρώσεις: 30-350mg/mL), ως πρότυπη χημική ένωση χρησιμοποιήθηκε το γαλλικό οξύ από ένα μεθανολικό διάλυμα παρακαταθήκης συγκέντρωσης 500mg/mL από το οποίο έγιναν οι κατάλληλες αραιώσεις.

Συγκεκριμένα, η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι η εξής: σε κάθε οπή της μικροπλάκας που χρησιμοποιήθηκε τοποθετήθηκαν 10μL δείγματος και στη συνέχεια προστέθηκαν 100μL απιονισμένου H₂O και 10μL διαλύματος Folin-Ciocalteu (2N). Μετά από 3min αναμονής προστέθηκαν 20μL Na₂CO₃ 7,5% w/v και επιπλέον 60μL απιονισμένου H₂O και ακολούθησε επώαση για 1h σε θερμοκρασία δωματίου και απουσία φωτός. Στο διάλυμα που προέκυψε μετρήθηκε η απορρόφηση στα 765nm. Για κάθε δείγμα έγιναν τρεις επαναλήψεις. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Gallic Acid Equivalents, GAE).

5.3. Ολική Περιεκτικότητα Ταννινών

Η ολική περιεκτικότητα των ταννινών (Total Tannin Content-TTC) προσδιορίστηκε με τη χρήση μιας τροποποιημένης σε μικρομέθοδο έκδοσης της

κλασσικής μεθόδου (Myrtsi και άλλοι, 2023) που αρχικά αναπτύχθηκε από τους Hong και άλλοι, 2021.

Συγκεκριμένα, 25μL του δείγματος αναμίχθηκαν με 150μL μεθανολικού διαλύματος βανιλίνης (4% w/v) και προστέθηκαν 25μL μεθανολικού διαλύματος θειϊκού οξέος (32% v/v). Το μίγμα τοποθετήθηκε εις τριπλούν σε πλάκα 96 οπών και επώαστηκε για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και απουσία φωτός. Στη συνέχεια, η απορρόφηση μετρήθηκε σε μήκος κύματος 500nm. Για τον υπολογισμό των τιμών TTC του κάθε δείγματος, κατασκευάστηκε μία καμπύλη βαθμονόμησης κατεχίνης σε συγκεντρώσεις 120, 220, 350, 500, 650, 800, 950 και 1000μg/mL. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα κατεχίνης (Catechin Equivalents, CE).

6. Ανάπτυξη Νέας Μεθόδου Ποσοτικού Προσδιορισμού των Φυτοοιστρογόνων

Υπάρχει ένας μεγάλος κατάλογος με φυτά, τρόφιμα και ποτά που περιέχουν φυτοοιστρογόνα (Kiyama, 2019; Kuhnle και άλλοι, 2009; Tronina και άλλοι, 2020). Τα ψυχανθή συγκαταλέγονται στα φυτά που είναι γνωστά κυρίως για το φυτοοιστρογονικό τους περιεχόμενο. Οι έως σήμερα μέθοδοι προσδιορισμού των φυτοοιστρογόνων που έχουν αναπτυχθεί αναφέρονται είτε στον προσδιορισμό μόνο μίας κατηγορίας φυτοοιστρογόνων, π.χ. ισοφλαβόνες (Zhang και άλλοι, 2021) ή περιορίζονται σε ένα μικρό αριθμό φυτοοιστρογόνων (Bustamante-Rangel και άλλοι, 2018; Ko, 2014; Kuster και άλλοι, 2009; Wang και άλλοι, 2002).

Ένας από τους κύριους στόχους διενέργειας της διατριβής ήταν η ανάπτυξη μιας νέας μεθόδου για τον ταυτόχρονο ποσοτικό προσδιορισμό των κυριότερων φυτοοιστρογόνων που κατατάσσονται σε διαφορετικές κατηγορίες μορίων. Για την ανάπτυξη της μεθόδου επιλέχτηκε να εφαρμοστεί η τεχνική της συζευγμένης Υγρής Χρωματογραφίας με διπλή Φασματομετρία Μαζών (LC-MS/MS) που χαρακτηρίζεται από εκλεκτικότητα και ευαισθησία (ποσοτικοποίηση της τάξεως ppb).

Η μέθοδος που αναπτύχθηκε περιλαμβάνει την ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση 67 φυτοοιστρογόνων, έχει εφαρμογή σε πολλούς διαφορετικούς τύπους δειγμάτων και απαιτεί συνολικό χρόνο ανάλυσης μόνο 35min.

Στους 67 αναλύτες της μεθόδου περιλαμβάνονται:

7 φαινολικά οξέα: καφεϊκό οξύ, χλωρογενικό οξύ, γαλλικό οξύ, νεοχλωρογενικό οξύ, p-κουμαρικό οξύ, πρωτοκατεχοϊκό οξύ, σιναπικό οξύ,

60 φαινολικά μόρια: που διαχωρίζονται σε

29 φλαβονοειδή: απιγενίνη, κατεχίνη, διοσμετίνη, διοσμίνη, επικατεχίνη, επιγαλλοκατεχίνη, εριοδικτυόλη, γαλλοκατεχίνη, ερπεριδίνη, εσπερετίνη, ισοκερκετίνη, ισοραμνετίνη, καμφερόλη, λικουιριτιγενίνη, λικουιριτίνη, λουτεολίνη, 4'-Ο-γλυκοζίτης της λουτεολίνης, μυρισετίνη, πελαργονιδίνη, πελαργινίνη, προκυανιδίνη Β1, προκυανιδίνη Β2, κερκεταγετίνη, 7-Ο-γλυκοζίτης της κερκεταγετίνης, κερκετίνη, κερσιτρίνη, ραμνετίνη, ρουτίνη, ταξιφολίνη,

19 ισοφλαβονοειδή: 3',4',7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη, 4',6,7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη, βιοχανίνη Α, καλυκοσίνη, 7-Ο-d-γλυκοζίτης της καλυκοσίνης, δαϊδζεΐνη, 7-Ο-γλυκουρονίδιο της δαϊδζεΐνης-, δαϊδζίνη, εκουόλη, φορμονονετίνη, γενιστεΐνη, 7-Ο-γλυκουρονίδιο της γενιστεΐνης-, γενιστίνη, γλυσιτεΐνη, γλυσιτίνη, ονονίνη, πουερερίνη, σισσοτρίνη, σοφορικοσίδης,

4 χαλκονοειδή: ισολικουιριτιγενίνη, φλορετίνη, φλοριντζίνη, ξανθοχουμόλη,

2 στιλβένια: πολυδατίνη, ρεσβερατρόλη,

3 λιγνάνια: λαρισιρεσινόλη, ματαΐρεσινόλη, σεκοΐσολαρισιρεσινόλη,

1 κουμεστάνιο: κουμεστρόλη,

1 εστέρας φλαβονοειδούς-φαινολικού οξέος: γαλλική επιγαλλοκατεχίνη και

1 φαινυλαιθανοειδές: η υδροξυτυροσόλη.

Επιπλέον, στη μέθοδο περιλαμβάνεται και μια αλδεΰδη, η 2-(4-χλωροφαινυλο)-μηλοναλδεΰδη, η οποία χρησιμοποιείται ως εσωτερικό πρότυπο που βελτιώνει την ακρίβεια της μεθόδου ποσοτικού προσδιορισμού.

Η μέθοδος που αναπτύχθηκε, βαθμονομήθηκε και εφαρμόστηκε, τόσο στα δείγματα της διατριβής, όσο και σε άλλα είδη δειγμάτων, ώστε να επιβεβαιωθεί η καθολικότητα και χρηστικότητα της.

6.1. Προετοιμασία Προτύπων Διαλυμάτων Παρακαταθήκης των Αναλυτών

Κάθε πρότυπο μόριο προσδιοριζόμενης χημικής ένωσης διαλύθηκε σε μεθανόλη ή DMSO για την παρασκευή του διαλύματος παρακαταθήκης του, σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 2000 έως 6000μg/mL. Τα διαλύματα αυτά

διατηρήθηκαν στους -20°C σε γυάλινα φιαλίδια υπό ατμόσφαιρα αζώτου. Αμέσως πριν την ανάλυση αναμίχθηκαν για να δώσουν αραιότερα διαλύματα που περιλάμβαναν όλους τους αναλύτες σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 30 έως 1400ng/mL, εκτός από την εκουόλη που προστέθηκε σε υψηλότερες συγκεντρώσεις. Τα διαλύματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των καμπυλών βαθμονόμησης.

6.2. Επικύρωση της Αναλυτικής Μεθόδου

Για την ορθή ανάπτυξη κάθε αναλυτικής μεθόδου είναι απαραίτητη η λεπτομερής και ορθή επικύρωσή της. Για την επικύρωση της μεθόδου που αναπτύχθηκε στο πλαίσιο της διατριβής, έγιναν οι παρακάτω προσδιορισμοί:

A) Γραμμικότητα των καμπυλών βαθμονόμησης,

B) Ελάχιστο Όριο Ανίχνευσης (LOD-Limit of Detection), και

Γ) Ελάχιστο Όριο Ποσοτικοποίησης (LOQ-Limit of Quantification)

Τα δύο αυτά όρια μπορούν να υπολογιστούν με τις εξισώσεις (1) και (2), αντίστοιχα.

Εξίσωση 1 Τύπος Υπολογισμού Ελάχιστου Ορίου Ανίχνευσης (LOD).

$$LOD = \frac{3.3\sigma}{S}$$

Εξίσωση 2 Τύπος Υπολογισμού Ελάχιστου Ορίου Ποσοτικοποίησης (LOQ).

$$LOQ = \frac{10\sigma}{S}$$

σ = τυπική απόκλιση απόκρισης, S = κλίση καμπύλης βαθμονόμησης (Myrtsy και άλλοι, 2021).

Επιπλέον παράγοντες που προσδιορίστηκαν και είναι σημαντικοί για την ορθή επικύρωση μιας μεθόδου ανάλυσης είναι:

Δ) η επαναληψιμότητα, η οποία εκφράζεται ως η σχετική τυπική απόκλιση, %RSD, μεταξύ των μετρήσεων και διαχωρίζεται:

Δ1) στην ακρίβεια, που περιλαμβάνει τις μετρήσεις εντός της ίδιας ημέρας για ένα σύνολο τουλάχιστον τριών μετρήσεων (Repeatability/Intra-Day) και

Δ2) στην πιστότητα, που περιλαμβάνει ένα σύνολο τουλάχιστον τριών μετρήσεων σε διαφορετικές ημέρες (Precision/Inter-Day)

Στη διατρίβη, η ακρίβεια και η πιστότητα της μεθόδου προσδιορίστηκαν με ανάλυση της συγκέντρωσης στα 300ng/mL, ενώ για την εκουόλη η συγκέντρωση ήταν 5,5μg/mL.

Τέλος, δύο επιπλέον σημαντικοί παράγοντες είναι:

Ε) η ανάκτηση (Recovery), για τον προσδιορισμό της ανάκτησης εκάστου αναλύτη, αυτός προστέθηκε σε ένα διάλυμα μεθανολικού εκχυλίσματος φυτικού ιστού σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις (χαμηλή, μεσαία και υψηλή). Η επεξεργασία των μιγμάτων που προέκυψαν έγινε σύμφωνα με τη διαδικασία χειρισμού του κάθε αναλυόμενου δείγματος, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο LC-MS/MS που αναπτύχθηκε. Η ποσότητα κάθε αναλυόμενης ουσίας υπολογίστηκε με βάση την αντίστοιχη καμπύλη βαθμονόμησης και στη συνέχεια υπολογίστηκε η τιμή ανάκτησης κάθε αναλυόμενης χημικής ένωσης.

ΣΤ) και το φαινόμενο της μήτρας (ME, Matrix Effect), το οποίο μπορεί να αξιολογηθεί ποσοτικά, συγκρίνοντας την απόκριση του κάθε αναλύτη σε μία συγκεκριμένη συγκέντρωση σε πρότυπο διάλυμα με την αντίστοιχη τιμή του στην ίδια συγκέντρωση σε ένα διάλυμα του υπό ανάλυση δείγματος χρησιμοποιώντας τον τύπο της εξίσωσης (3).

Εξίσωση 3 Τύπος Υπολογισμού του Φαινομένου Μήτρας (ME).

$$ME = \frac{A_{STD} - A_{Sample}}{A_{STD}} \times 100$$

A_{STD} = εμβαδόν κορυφής αναλύτη στο διάλυμα προτύπων, A_{Sample} = εμβαδόν κορυφής προστιθέμενου αναλύτη στο δείγμα (που δεν περιέχεται στο δείγμα φυσικά) (Myrtsi και άλλοι, 2021).

6.3. Ποσοτικοποίηση των Φυτοοιστρογόνων στα Δείγματα της Διατρίβης

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των φυτοοιστρογόνων επιτεύχθηκε με την ανάμιξη και αραιώση των διαλυμάτων παρακαταθήκης των αναλυτών-στόχων για την κατασκευή μιας καμπύλης βαθμονόμησης για κάθε αναλυόμενη χημική ένωση για 9 επίπεδα συγκέντρωσης. Πριν από την ανάλυση, ένα διάλυμα εσωτερικού προτύπου (2-(4-χλωροφαινυλο)-μηλοναλδεΰδη) προστέθηκε σε συγκέντρωση 200ng/mL. Η ποσοτική μέθοδος ανάλυσης των φυτοοιστρογόνων που αναπτύχθηκε παρουσιάζεται λεπτομερώς στα Αποτελέσματα.

Οι καμπύλες βαθμονόμησης παρουσιάζονται στον Πίνακα 8 των Αποτελεσμάτων και η κατασκευή τους έγινε με το πρόγραμμα LC-Quan, μέσω του

οποίου πραγματοποιήθηκαν και οι αναλύσεις των δειγμάτων. Κάθε δείγμα αναλύθηκε τρεις φορές και από την καμπύλη υπολογίστηκε η συγκέντρωση εκάστου φυτοοιστρογόνου.

7. Κατασκευή Βιβλιοθήκης Φασμάτων Μάζας των Φυτοοιστρογόνων

Τα τελευταία χρόνια οι βιβλιοθήκες των φασμάτων μάζας έχουν αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμες για την ταχεία ταυτοποίηση της παρουσίας άγνωστων χημικών ενώσεων σε ένα δείγμα χωρίς την απαίτηση πρότυπων διαλυμάτων. Τα φάσματα μάζας παρέχουν πληροφορίες τόσο για το μοριακό βάρος της χημικής ένωσης, όσο και για τη θραυσμάτωση των αναλυτών. Στη δημιουργία μιας βιβλιοθήκης φασμάτων είναι πολύ σημαντική η αρχική πλήρης σάρωση (Full Scan) των προτύπων αναλυτών, ώστε να είναι δυνατή στη συνέχεια η σύγκριση του φάσματός τους με αυτό που θα προκύψει από τη σάρωση του άγνωστου δείγματος. Ειδικότερα, στην τεχνική αυτή λαμβάνεται το ολικό φάσμα μεταξύ δύο τιμών m/z για καθορισμένο χρόνο.

Στο πλαίσιο της διατριβής αναπτύχθηκε μία νέα βιβλιοθήκη φασμάτων φυτοοιστρογόνων στο όργανο LC-MS/MS της ThermoFischer Scientific. Η λήψη των φασμάτων μάζας των πρότυπων χημικών ενώσεων φυτοοιστρογόνων έγινε με εφαρμογή της τεχνικής της απ' ευθείας έγχυσης (infusion) σε τρεις διαφορετικές συνθήκες ενέργειας βομβαρδισμού (eV) (χαμηλής, μέτριας και υψηλής), ενώ ταυτόχρονα αναπτύχθηκε και μία αναλυτική μέθοδος διαχωρισμού των φυτοοιστρογόνων της βιβλιοθήκης ώστε για κάθε μόριο να υπάρχουν 2 κριτήρια επιβεβαίωσης, το φάσμα μάζας και ο χρόνος έκλουσης. Επιπλέον, έγινε και η λήψη των φασμάτων μάζας των φυτοοιστρογόνων από την έγχυση των προτύπων μέσω της υγρής χρωματογραφίας με ενέργεια βομβαρδισμού (15eV).

8. Ανάπτυξη Νέας Μεθόδου Ανάλυσης των Καροτενοειδών

8.1. Σαπωνοποίηση

Πριν από την ανάλυση των καροτενοειδών είναι σημαντικό να προηγηθεί η διαδικασία της σαπωνοποίησης των δειγμάτων. Στα δείγματα που περιέχουν χλωροφύλλες η διαδικασία αυτή συμβάλλει στην απομάκρυνσή τους, ενώ στα

δείγματα που δεν περιέχουν χλωροφύλλες στόχος είναι η απομάκρυνση των λιπιδίων και η υδρόλυση των εστέρων των καροτενοειδών.

Για να επιτευχθεί η σαπωνοποίηση των υπό ανάλυση δειγμάτων προηγήθηκε διάλυση του διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος σε μίγμα πετρελαϊκού αιθέρα/διαιθυλαιθέρα (50:50) και προσθήκη ίσης ποσότητας μεθανολικού διαλύματος KOH 10% w/v (Kimura και άλλοι, 1990). Το μίγμα έμεινε υπό μαγνητική ανάδευση όλο το βράδυ, την επόμενη ημέρα προστέθηκε H₂O, ακολούθησε φυγοκέντρηση του μίγματος (6500rpm, 7,5 min) και ο διαχωρισμός των δύο φάσεων. Η οργανική φάση διαχωρίστηκε και η υδατική εκπλύθηκε δύο φορές με μίγμα πετρελαϊκού αιθέρα/διαιθυλαιθέρα (50:50). Οι οργανικές φάσεις ενώθηκαν και εκχυλίστηκαν με κορεσμένο υδατικό διάλυμα NaCl (brine). Η οργανική φάση διαχωρίστηκε, συμπυκνώθηκε υπό κενό (T≤25°C) και το υπόλειμμα επαναδιαλύθηκε σε DCM ή DMSO.

8.2. Μέθοδος Ποσοτικής Ανάλυσης των Καροτενοειδών

Για την ανάλυση των καροτενοειδών χρησιμοποιήθηκε σύστημα LC-MS/MS σε συνδυασμό με σύστημα HPLC-DAD. Στην περίπτωση αυτή, ως πηγή ιοντισμού για το σύστημα LC-MS/MS επιλέχθηκε η APCI (Atmospheric-Pressure Chemical Ionization, Χημικός Ιονισμός Ατμοσφαιρικής Πίεσης) σε λειτουργία SRM (Selected Reaction Monitoring, Παρακολούθηση Επιλεγμένων Αντιδράσεων) δηλαδή επιλεγμένη λειτουργία παρακολούθησης αντίδρασης. Το μήκος κύματος που επιλέχθηκε για τον ανιχνευτή DAD ήταν 450nm. Τα καροτενοειδή που εντάχθηκαν στη μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού είναι τα: φουκοξανθίνη, ασταξανθίνη, ζεαξανθίνη, λουτεΐνη, β-κρυπτοξανθίνη, λυκοπένιο, α-καροτένιο, β-καροτένιο και φυτοένιο. Αρχικά, παρασκευάστηκαν πυκνά διαλύματα παρακαταθήκης των αναλυτών, τα οποία πριν από την ανάλυση αναμίχθηκαν σε ένα, από το οποίο έγιναν οι κατάλληλες αραιώσεις για την κατασκευή των καμπυλών βαθμονόμησης.

Οι συνθήκες της μεθόδου ανάλυσης, τα θραύσματα παρακολούθησης των αναλυτών, οι χρόνοι έκλουσης και οι καμπύλες βαθμονόμησης παρουσιάζονται λεπτομερώς στο κεφάλαιο των Αποτελεσμάτων.

9. Προσδιορισμός των Λιπαρών Οξέων

9.1. Παραγωγοποίηση Λιπαρών Οξέων

Για την ανάλυση των λιπαρών οξέων είναι απαραίτητη η παραγωγοποίησή τους σε εστέρες, η οποία επιτεύχθηκε με τη μέθοδο των Ichihara και Fukubayashi (2010), η οποία για τις ανάγκες της διατριβής υπέστη κάποιες τροποποιήσεις. Αναλυτικότερα, διάλυμα 50mg του εξανικού εκχυλίσματος σε 1mL διαλύματος 1M KOH (70% EtOH) θερμάνθηκε στους 90°C σε κλειστό σύστημα (block heater) για 1h. Στη συνέχεια το διάλυμα αφέθηκε να πάρει τη θερμοκρασία περιβάλλοντος και προστέθηκαν 1,2mL 1M HCl. Το μίγμα αναδεύτηκε σε vortex, προστέθηκε 1mL εξανίου και η ανάδευση συνεχίστηκε για 1min ώστε να ολοκληρωθεί η εκχύλιση των εστέρων. Στη συνέχεια, ο διαλύτης εξατμίστηκε υπό κενό ($T \leq 25^\circ\text{C}$), στο ξηρό υπόλειμμα προστέθηκε υδατικό διάλυμα BF_3 14% και το μίγμα τοποθετήθηκε για 20min σε υδατόλουτρο στους 37°C. Τέλος, προστέθηκαν 1mL H_2O και 1mL εξανίου, το μίγμα αναδεύτηκε και στη συνέχεια αφέθηκαν να διαχωριστούν οι δυο φάσεις. Η οργανική φάση διαχωρίστηκε και αναλύθηκε.

9.2. Αναλυτική Μέθοδος Ποσοτικοποίησης Λιπαρών Οξέων με GC-FID

Η ανάλυση των λιπαρών οξέων έγινε σε σύστημα GC-FID και χρωματογραφική στήλη DB-WAX (30m, 0,25mm, 0,25 μm) της Agilent Technologies, Inc. Το πρόγραμμα θερμοκρασιών που ακολουθήθηκε αποτελεί τροποποίηση της μεθόδου που προτείνει η Supelco για την ανάλυση του FAME Standard Mix. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε το ακόλουθο πρόγραμμα θερμοκρασιών: 40°C για 0,5min, 40-195°C (ανά 25°C/min), 195-205°C (ανά 3°C/min), 205-230°C (ανά 8°C/min) και στη συνέχεια διατηρήθηκε η θερμοκρασία σταθερή στους 230°C για 4min. Ακολούθησε άνοδος της θερμοκρασίας κατά 10°C, σταθεροποίηση στους 240°C για 10min και τέλος θέρμανση στους 250°C για 5min. Ο όγκος του δείγματος που αναλύθηκε ήταν 1 μL με slit 10:1, οι ροές των αερίων ρυθμίστηκαν ως εξής: αέρας: 300mL/min, H_2 : 30mL/min, N_2 : 15mL/min, He: 0,7mL/min. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα ορίστηκε στους 250°C ("GC Analysis of a 37-Component FAME Mix on EquityTM-1 (15m x 0.10mm I.D., 0.10 μm), Fast GC Analysis").

Πίνακας 3 Λιπαρά οξέα που αναλύθηκαν και χρόνοι έκλουσης των εστέρων τους.

No.	Λιπαρό Οξύ	RT (min)
1	Βουτυρικό οξύ	4,098
2	Καπροϊκό οξύ	5,207
3	Καπρυλικό οξύ	6,331
4	Καπρικό οξύ	7,398
5	Ενδεκανοϊκό οξύ	7,950
6	Λαυρικό οξύ	8,557
7	Τριδεκανοϊκό οξύ	9,235
8	Μυριστικό οξύ	10,040
9	Μυριστολεϊκό οξύ	10,522
10	Πενταδεκανοϊκό οξύ	10,949
11	cis-10-Δεκαπεντ-εν-οϊκό οξύ	11,638
12	Παλμιτικό οξύ	11,978
13	Παλμιτολεϊκό οξύ	12,256
14	Μαργαρικό οξύ	12,975
15	cis-10-Δεκαεπτ-εν-οϊκό οξύ	13,256
16	Στεαρικό οξύ	14,105
17	Ελαϊκό οξύ	14,391
18	Λινελαϊκό οξύ	15,049
19	γ-Λινολενικό οξύ	15,486
20	Λινολενικό οξύ	16,012
21	Αραχιδικό οξύ	17,009
22	cis-11-Εικοσ-εν-οϊκό οξύ	17,443
23	cis-11,14-Εικοσα-διεν-οϊκό οξύ	18,341
24	Εικοσιενοϊκό οξύ	18,837
25	cis-11,14,17-Εικοσα-τριεν-οϊκό οξύ	19,283
26	cis-5,8,11,14,17-Εικοσα-πεντεν-οϊκό οξύ	19,586
27	Αραχιδονικό οξύ	20,747
28	Βεχενικό οξύ	20,768
29	Ερουκικό οξύ	21,267
30	cis-13,16-Εικοσιδυο-διεν-οϊκό οξύ	22,373
31	Τρικοσανοϊκό οξύ	23,086

No.	Λιπαρό Οξύ	RT (min)
32	Λιγνοκηρικό οξύ	25,990
33	(all-Z)-4,7,10,13,16,19-Εικοσιδυο-εξανεν-οϊκό οξύ	26,774
34	Νευρονικό οξύ	26,878

10. Προσδιορισμός Αντιοξειδωτικής Ικανότητας

Η μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων έγινε με δύο τρόπους: τη μέθοδο του 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζυλίου (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH), γνωστή ως μέθοδος DPPH[•], και τη μέθοδο της μέτρησης της αναγωγικής αντιοξειδωτικής ισχύος του σιδήρου (Ferric Reducing Antioxidant Power-FRAP), γνωστή ως μέθοδος FRAP.

10.1. Προσδιορισμός της *in vitro* Αντιοξειδωτικής Ικανότητας με τη Μέθοδο DPPH[•]

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης μέσω των ριζών DPPH[•] έγινε με τη δέσμευση των ριζών αυτών από τις χημικές ενώσεις των δειγμάτων που παρουσιάζουν αντιοξειδωτική δράση, σύμφωνα με δημοσιευμένη μέθοδο (Myrtsi και άλλοι, 2023). Αναλυτικότερα, 30μL του εκχυλίσματος των δειγμάτων αναμίχθηκαν με 175μL ενός μεθανολικού διαλύματος ριζών DPPH[•] (0,1M) σε μικροπλάκα με 96 οπές και τα διαλύματα επώαστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 40min. Στη συνέχεια, μετρήθηκε η απορρόφηση σε μήκος κύματος 515nm και η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων προσδιορίστηκε μέσω κατασκευής καμπύλης βαθμονόμησης με πρότυπο το Trolox σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και εύρος από 30 έως 150μg/mL. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα Trolox (Trolox Equivalents, TE).

10.2. Προσδιορισμός της *in vitro* Αντιοξειδωτικής Ικανότητας με τη Μέθοδο FRAP

Με τη μέθοδο αυτή προσδιορίζεται έμμεσα η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων, μέσω της αποτίμησης της αναγωγικής τους ικανότητας. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε η διαδικασία που περιγράφεται στη βιβλιογραφία (Myrtsi και

άλλοι, 2023), η οποία αξιολογεί την ικανότητα των δειγμάτων να ανάγουν τον τρισθενή σίδηρο (Fe^{3+}) που βρίσκεται υπό τη μορφή συμπλέγματος Fe^{3+} -TPTZ (ferric-2,4,6-tripyridyl-s-triazine / σιδηρος-2,4,6-τριπυριδυλο-s-τριαζίνη) σε Fe^{2+} -TPTZ.

Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο αυτή παρασκευάζεται αμέσως πριν από τη μέτρηση το αντιδραστήριο FRAP με ανάμιξη 10mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικού οξέος ($\text{pH}=3,6$) με 1mL διαλύματος 2,4,6-τρις(2-πυριδυλο)-s-τριαζίνης (TPTZ) (10mM σε HCl 0,04N) και 1mL FeCl_3 (20mM σε απεσταγμένο νερό). Το διάλυμα τοποθετείται σε υδατόλουτρο στους 37°C .

Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης μεταφέρθηκαν με πιπέτα 30μL των δειγμάτων σε μικροπλάκα των 96 οπών και προστέθηκαν 180μL του αντιδραστήριου FRAP. Ακολουθήσε επώαση στους 37°C απουσία φωτός για 30 λεπτά και μέτρηση της απορρόφησης σε μήκος κύματος 593nm. Για την απόδοση των αποτελεσμάτων κατασκευάστηκε καμπύλη βαθμονόμησης με διάλυμα FeSO_4 σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 0,05 έως 0,50mM. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε ισοδύναμα mol Fe^{2+} .

11. Αξιολόγηση της Ανθελμινθικής Δράσης

Η ανθελμινθική δράση των φυτικών εκχυλισμάτων διερευνήθηκε και αξιολογήθηκε σε *in vitro* δοκιμές στο Ινστιτούτο Κτηνιατρικών Ερευνών Θεσσαλονίκης –ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ. Για τον σκοπό αυτό ελέγχθηκε η δραστηριότητα διαφορετικών συγκεντρώσεων (150-1.200μg/mL) των μεθανολικών εκχυλισμάτων των δειγμάτων έναντι των L3 προνυμφών των γαστρεντερικών νηματωδών *Haemonchus contortus* και *Trichostrongylus colubriformis*, με εφαρμογή του πρωτοκόλου της Δοκιμασίας Έκδυσης των Προνυμφών (LEIA, Larval Exsheathment Inhibition Assay) (Alvarez-Sanchez και άλλοι, 2005). Στη συνέχεια, με βάση τα αποτελέσματα της δοκιμής υπολογίσθηκε η μέση αποτελεσματική δόση (EC_{50}) έναντι των δύο παρασίτων.

Η συγκεκριμένη δοκιμή στοχεύει στην προοδευτική έκδυση των προνυμφών L3 που έχουν εκτεθεί σε διαφορετικές συγκεντρώσεις φυτικού εκχυλίσματος, εντός 60min, για να είναι εφικτή η μικροσκοπική παρατήρηση της διαδικασίας. Για να πιστοποιηθεί η αξιόπιστη λειτουργία της δοκιμασίας, θα πρέπει μετά το πέρας των

60min οι προνύμφες στην ομάδα του μάρτυρα να έχουν υποστεί έκδυση σε ποσοστό 100%. Πρακτικά, όλα τα ποσοστά άνω του 99% θεωρούνται αποδεκτά. Με αυτή την διαδικασία υπολογίζονται τα ποσοστά προνυμφών L3 που υπέστησαν έκδυση, δηλαδή συνέχισαν τον βιολογικό τους κύκλο. Η δοκιμή LEIA επιλέχθηκε να εφαρμοστεί επειδή, εκτός των άλλων, επιτρέπει και τον υπολογισμό της Μέσης Αποτελεσματικής Δόσης (EC_{50} -value) (Jackson και Hoste, 2010).

Εκτός από τον *in vitro* πειραματισμό LEIA, τα μεθανολικά εκχυλίσματα ελέγχθηκαν και με τη Δοκιμή Εκκόλαψης Αβγών (EHA, Egg Hatching Assay) έναντι των ίδιων παρασίτων *Haemonchus contortus* και *Trichostrongylus colubriformis*. Για τη δοκιμή αυτή χρησιμοποιήθηκε 1mL καθαρού εναιωρήματος αβγών (200 αβγά/mL) το οποίο αναμίχθηκε με διαφορετικές συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων. Τα μίγματα επωάστηκαν για 48h στους 27°C και μετά το πέρας του χρόνου αυτού σταμάτησε η διαδικασία της εκκόλαψης των αβγών με τη χρήση ειδικού διαλύματος και προσδιορίστηκε το ποσοστό των μη εκκολαπτόμενων αβγών για κάθε συγκέντρωση (Sebai και άλλοι, 2020).

12. Στατιστική Επεξεργασία των Αποτελεσμάτων

Όλα τα αποτελέσματα της διατριβής παρουσιάζονται ως μέση τιμή $\pm$ η τυπική απόκλιση (SD) των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν.

Τα αποτελέσματα των μεθόδων TPC, TTC, FRAP και DPPH εξήχθησαν μετά από την επεξεργασία τους με το λογισμικό Magellan 7.2, ενώ τα αποτελέσματα των αναλύσεων σε LC-MS/MS προέκυψαν με επεξεργασία με το λογισμικό LCquan 2.7.0.20 και το πρόγραμμα excel της Microsoft Office 365. Η επεξεργασία των αναλύσεων σε GC-FID έγινε με το λογισμικό ChemStation και το πρόγραμμα excel της Microsoft Office 365, ενώ για τα αποτελέσματα των μετρήσεων TCC και HPLC-DAD έγινε επεξεργασία μόνο με το πρόγραμμα Microsoft Office 365. Για όλους τους παραπάνω υπολογισμούς που πραγματοποιήθηκαν, πραγματοποιήθηκαν στατιστικές δοκιμές Durbin-Watson (DW) για τα υπολείμματα, ο πίνακας ANOVA και ο έλεγχος T. Η τιμή P ήταν πάντα μικρότερη από 0,05.

Όσον αφορά τον προσδιορισμό της ανθελμινθικής δράσης των φυτικών εκχυλισμάτων που διεξήχθη στο Ινστιτούτο Κτηνιατρικών Ερευνών Θεσσαλονίκης, η

μέση αποτελεσματική δόση (EC_{50} -value) κάθε εκχυλίσματος υπολογίσθηκε με τη χρήση Probit ανάλυσης (Probit Regression analysis) του στατιστικού πακέτου SPSS 19 Ltd. Με τον όρο Μέση Αποτελεσματική Δόση αποδίδεται η μέση συγκέντρωση του εκάστοτε εκχυλίσματος, που απαιτείται για να διακόψει το βιολογικό κύκλο του 50% του πληθυσμού κάθε παρασίτου. Αυτό σημαίνει ότι όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή αυτής της δόσης, τόσο μεγαλύτερη συγκέντρωση εκχυλίσματος απαιτείται για να διακοπεί ο βιολογικός κύκλος του 50% του πληθυσμού συγκεκριμένου παρασίτου, με αποτέλεσμα το εκχύλισμα να είναι λιγότερο αποτελεσματικό, από κάποιο του οποίου η τιμή EC_{50} (Μέσης Αποτελεσματικής Δόσης) είναι μικρότερη.

Βιβλιογραφία

Alvarez-Sanchez, M.A., Garcia, J.P., Bartley, D., Jackson, F., RojoVazquez, F.A. 2005. The larval feeding inhibition assay for the diagnosis of nematode anthelmintic resistance. *Experimental Parasitology* 10: 56-61.

Bustamante-Rangel, M., Delgado-Zamarreño, M.M., Pérez-Martín, L., Rodríguez-Gonzalo, E., Domínguez-Álvarez, J., 2018. Analysis of Isoflavones in Foods: Analysis of isoflavones in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17, 391–411. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12325>

GC Analysis of a 37-Component FAME Mix on EquityTM-1 (15 m x 0.10 mm I.D., 0.10 μ m), Fast GC Analysis , URL <https://www.sigmaaldrich.com/GR/en/technical-documents/protocol/analytical-chemistry/gas-chromatography/gc-analysis-of-a-37-component-fame-mix-g004278> (accessed 11.15.22).

Ichihara, K., Fukubayashi, Y., 2010. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. *Journal of Lipid Research* 51, 635–640. <https://doi.org/10.1194/jlr.D001065>

Jackson, F., Hoste, H. 2010. In vitro methods for the primary screening of plant products for direct activity against ruminant gastrointestinal nematodes. In: Vercoe, P.E., Makkar, H.P.S., Schlink, A.C. (Eds.), *In Vitro Screening of Plant Resources for Extra Nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies*. FAO/IAEA Springer Edition, pp. 24–45.

Kimura, M., Rodriguez-Amaya, D.B., Godoy, H.T., 1990. Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamins A. *Food Chemistry* 35, 187–195. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(90\)90032-Y](https://doi.org/10.1016/0308-8146(90)90032-Y)

Kiyama, R., 2019. Estrogenic Activity of Coffee Constituents. *Nutrients* 11, 1401. <https://doi.org/10.3390/nu11061401>

Ko, K.-P., 2014. Isoflavones: Chemistry, Analysis, Functions and Effects on Health and Cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 15, 7001–7010. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.17.7001>

Kuhnle, G.G.C., Dell'Aquila, C., Aspinall, S.M., Runswick, S.A., Joosen, A.M.C.P., Mulligan, A.A., Bingham, S.A., 2009. Phytoestrogen content of fruits and vegetables commonly consumed in the UK based on LC–MS and ¹³C-labelled standards. *Food Chemistry* 116, 542–554. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.002>

Kuster, M., Azevedo, D.A., López de Alda, M.J., Aquino Neto, F.R., Barceló, D., 2009. Analysis of phytoestrogens, progestogens and estrogens in environmental waters from Rio de Janeiro (Brazil). *Environment International* 35, 997–1003. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.04.006>

Myrtsi, E.D., Evergetis, E., Koulocheri, S.D., Haroutounian, S.A., 2023. Bioactivity of Wild and Cultivated Legumes: Phytochemical Content and Antioxidant Properties. *Antioxidants* 12, 852. <https://doi.org/10.3390/antiox12040852>

Myrtsi, E.D., Koulocheri, S.D., Evergetis, E., Haroutounian, S.A., 2022a. Agro-industrial co-products upcycling: Recovery of carotenoids and fine chemicals from Citrus sp. juice industry co-products. *Industrial Crops and Products* 186, 115190. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115190>

Myrtsi, E.D., Koulocheri, S.D., Evergetis, E., Haroutounian, S.A., 2022b. Pigments' analysis of Citrus juicing making by-products by LC-MS/MS and LC-DAD. *MethodsX* 9, 101888. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2022.101888>

Myrtsi, E.D., Koulocheri, S.D., Iliopoulos, V., Haroutounian, S.A., 2021. High-Throughput Quantification of 32 Bioactive Antioxidant Phenolic Compounds in Grapes, Wines and Vinification Byproducts by LC–MS/MS. *Antioxidants* 10, 1174. <https://doi.org/10.3390/antiox10081174>

Sebai, E., Serairi, R., Saratsi, K. et al. Hydro-Ethanollic Extract of *Mentha pulegium* Exhibit Anthelmintic and Antioxidant Proprieties In Vitro and In Vivo. *Acta Parasit.* 65, 375–387 (2020). <https://doi.org/10.2478/s11686-020-00169-3>

Tronina, T., Popłoński, J., Bartmańska, A., 2020. Flavonoids as Phytoestrogenic Components of Hops and Beer. *Molecules* 25, 4201. <https://doi.org/10.3390/molecules25184201>

Wang, C.-C., Prasain, J.K., Barnes, S., 2002. Review of the methods used in the determination of phytoestrogens. *Journal of Chromatography B* 777, 3–28. [https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(02\)00341-0](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(02)00341-0)

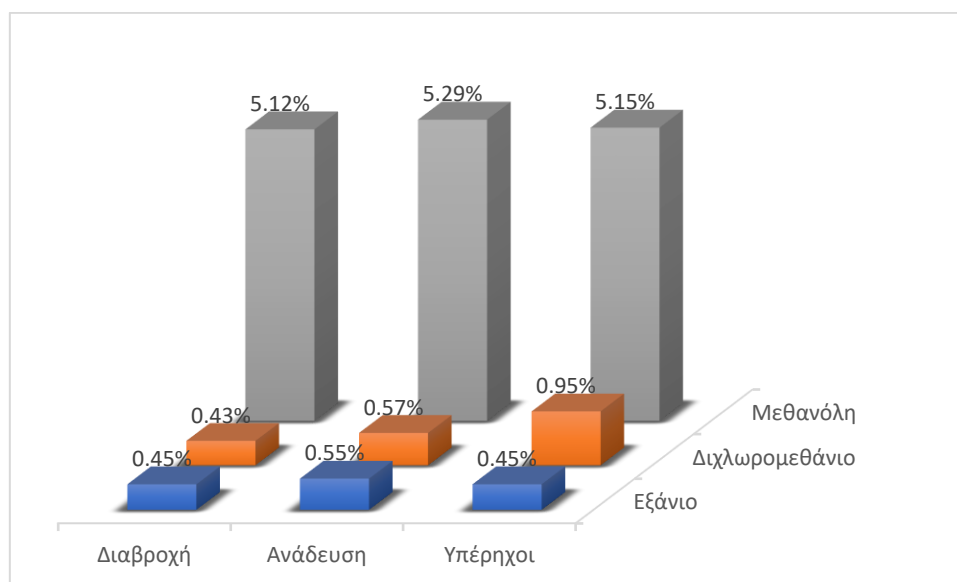
Zhang, J., Zhang, Yufei, Ma, H., Yang, F., Duan, T., Zhang, Yuhui, Dong, Y., 2021. Quantitative analysis of nine isoflavones in traditional Chinese medicines using mixed micellar liquid chromatography containing sodium dodecylsulfate/ β -cyclodextrin supramolecular amphiphiles. *J. Sep. Sci.* 44, 3188–3198. <https://doi.org/10.1002/jssc.202100099>



Αποτελέσματα

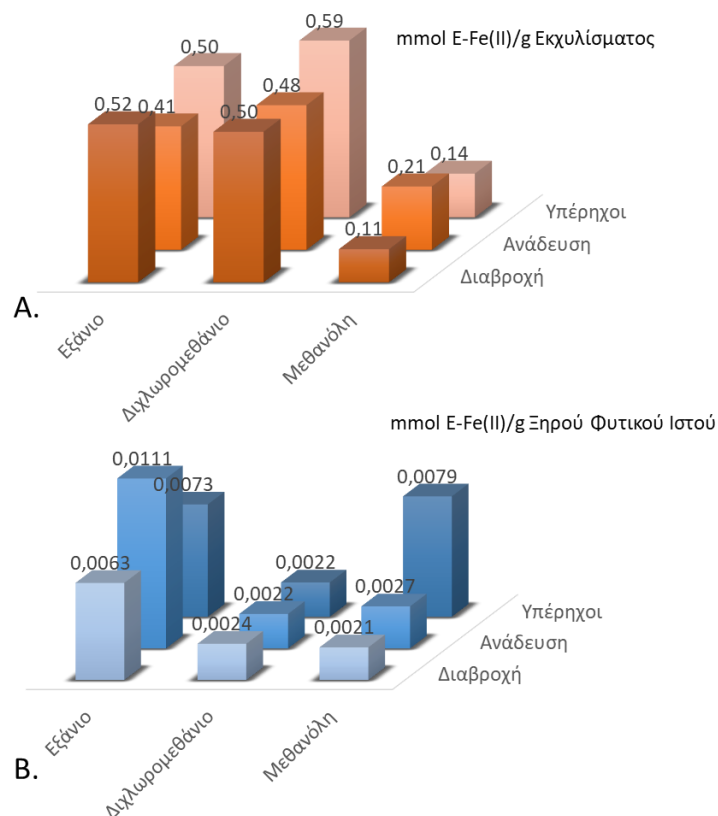
1. Εκχύλιση

Για τον προσδιορισμό των αποτελεσματικότερων συνθηκών εκχύλισης των φυτικών υλικών δοκιμάστηκαν τρεις διαφορετικές μεθοδολογίες ώστε να επιλεγεί η πλέον πρόσφορη από πλευράς απόδοσης και αντιοξειδωτικής ικανότητας. Οι πειραματισμοί έγιναν στους ιστούς του φυτού *Vicia sativa* (βίκος) και αφορούσε την απόδοση της εκχύλισης σε τρεις διαφορετικούς διαλύτες και τρεις συνθήκες εκχύλισης, με τη χρήση διαβροχής, ανάδευσης και υπερήχων. Οι αντίστοιχες αποδόσεις παρουσιάζονται διαγραμματικά στην Εικόνα 15 δείχνοντας ότι στις περισσότερες περιπτώσεις οι αποδόσεις είναι περίπου αντίστοιχες.



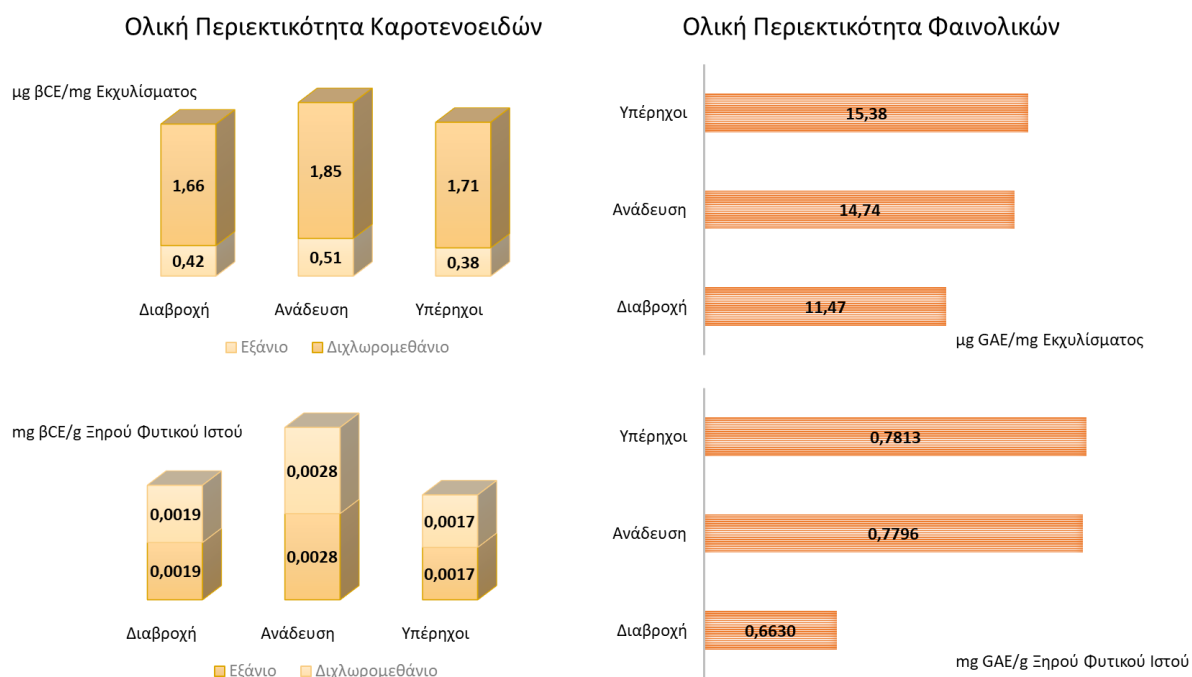
Εικόνα 155 Διάγραμμα σύγκρισης διαφορετικών εκχυλίσεων

Στη συνέχεια ακολούθησε η σύγκριση της αντιοξειδωτικής δράσης των εννέα εκχυλισμάτων που παρήχθησαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο FRAP. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην Εικόνα 16 δείχνοντας ότι και στην περίπτωση του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης, δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές. Όμως, εάν η δράση αυτή αποδοθεί στο αντίστοιχο φυτικό ιστό από το οποίο προήλθε με αναγωγή της απόδοσης της εκχύλισης, τότε ο συνδυασμός των διαφορών μεταξύ της απόδοσης της εκχύλισης και του αποτελέσματος της αντιοξειδωτικής δοκιμής έχει ως αποτέλεσμα να παρατηρούνται σημαντικές διαφορές.



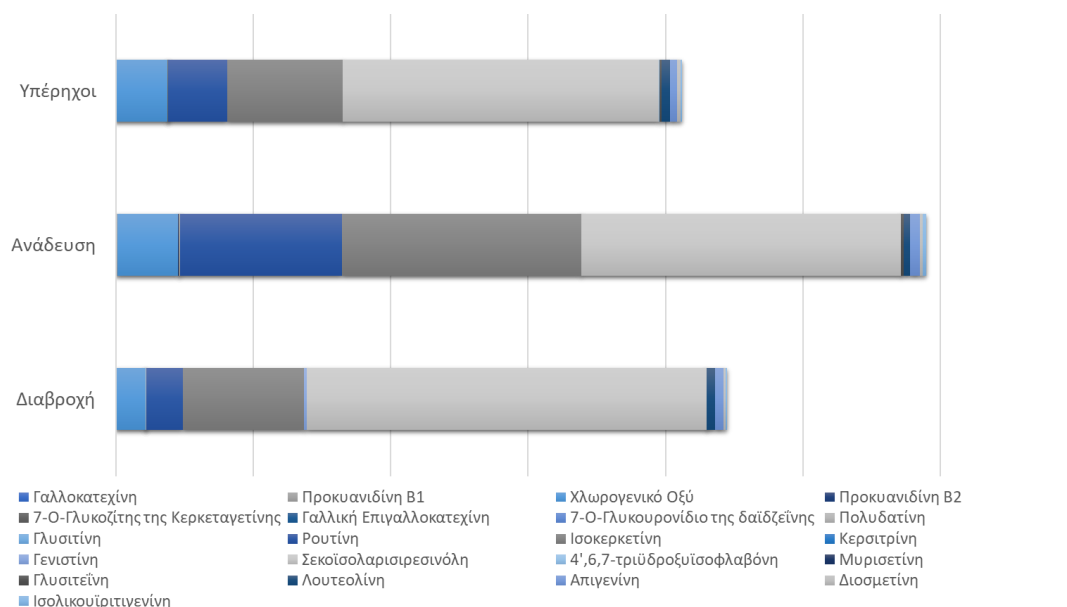
Εικόνα 166 Διαγράμματα σύγκρισης της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων (HEX, DCM, MeOH) των διαφορετικών εκχυλίσεων μέσω της μεθόδου FRAP. Στο διάγραμμα A παρουσιάζεται η αντιοξειδωτική δράση ως προς τα γραμμάρια εκχυλίσματος, ενώ στο διάγραμμα B ως προς τα γραμμάρια ξηρού φυτικού ιστού.

Μία επιπλέον σύγκριση μεταξύ των τριών μεθόδων εκχύλισης έγινε με τη μέτρηση της περιεκτικότητάς τους σε ολικά καροτενοειδή (TCC) για τα εξανικά και διχλωρομεθανικά εκχυλίσματα και της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών (TPC) για τα μεθανολικά εκχυλίσματα. Σχετικά με την περιεκτικότητα σε φαινολικά μόρια φαίνεται ότι η τεχνική της διαβροχής υστερεί σε σύγκριση με τις άλλες δύο τεχνικές, ενώ στην περίπτωση των καροτενοειδών η υποβοηθούμενη με ανάδευση εκχύλιση αναδεικνύεται ως η πλέον πρόσφορη μέθοδος.



Εικόνα 177 Διαγράμματα σύγκρισης ολικής περιεκτικότητας καροτενοειδών (TCC) και φαινολικών (TPC) στα εκχυλίσματα που προέκυψαν από διαφορετικές εκχυλίσεις.

Τέλος, λόγω του σημαντικού ρόλου που παίζουν τα φυτοιστογόνα στα φυτά της οικογένειας των *Fabaceae*, έγινε σύγκριση του αποτελέσματος της ποσοτικοποίησης των φυτοιστρογόνων στα μεθανολικά εκχυλίσματα που προέκυψαν με την εφαρμογή των τριών τεχνικών υποβοήθησης. Τα σχετικά αποτελέσματα παρουσιάζονται στο διάγραμμα της Εικόνας 18 δείχνοντας ότι η βασική διαφορά έγκειται στην ποσότητα της ρουτίνης, η οποία εκχυλίζεται με εξαιρετική απόδοση στην εκχύλιση που υποβοηθείται με ανάδευση, ενώ η απόδοση είναι πολύ μικρή στην περίπτωση χρήσης της διαβροχής. Αντίστοιχα, η συγκέντρωση της ισοκερκετίνης ήταν αυξημένη όταν χρησιμοποιήθηκε η ανάδευση.



Εικόνα 18 Διάγραμμα σύγκρισης των τριών μεθόδων εκχύλισης ως προς το φυτοοιστρογονικό τους περιεχόμενο.

Με βάση την παραπάνω μελέτη απορρίφθηκε η χρήση της εκχύλισης του φυτικού ιστού με απλή διαβροχή και επιλέχθηκαν οι δύο άλλες τεχνικές (υποβοήθηση με ανάδευση ή υπερήχους) για την εκχύλιση των δειγμάτων. Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται οι τεχνικές εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκαν για κάθε δείγμα και οι αντίστοιχες αποδόσεις με τη χρήση τριών διαφορετικής πολικότητας διαλυτών.

Πίνακας 4 Αποδόσεις των εκχυλίσεων των φυτικών ιστών που μελετήθηκαν στη διατριβή.

Φυτά	Απόδοση Εκχύλισης (%)		
	HEX	DCM	MeOH
<i>Vicia sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος) ¹	0,50	0,85	1,82
<i>Vicia sativa</i> (var Αλέξανδρος) ¹	0,60	0,69	7,71
<i>Vicia sativa</i> (var Λεωνίδας) ²	0,55	0,57	5,29
<i>Vicia sativa</i> (var Αγρός Καλλιρρόη) ²	0,97	1,61	11,10
<i>Vicia sativa</i> (var Ίστρος) ²	2,83	1,37	9,17
<i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος) ²	0,84	0,57	5,29
<i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης) ²	0,85	0,87	12,35
<i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός) ²	1,61	0,95	9,79
<i>Lathyrus sativus</i> (λευκό) ²	1,65	1,29	21,06
<i>Lathyrus sativus</i> (var Μελεμέ) ²	1,06	1,12	17,58
<i>Medicago sativa</i> (var Μηδική) ²	2,24	1,94	15,00
<i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος) ²	6,80	1,53	12,98

Φυτά	Απόδοση Εκχύλισης (%)		
<i>Pisum sativum</i> (var Δωδώνη) ²	2,05	1,27	10,48
<i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός) ²	1,09	1,25	10,84
<i>Astragalus creticus</i> Lam. ²	0,53	0,54	12,3
<i>Astragalus glycyphyllos</i> L. ¹	1,81	1,57	12,6
<i>Lathyrus laxiflorus</i> (Desf.) Kuntze ¹	5,31	0,74	9,9
<i>Trifolium physodes</i> Steven ex M.Bieb. ¹	0,2	0,8	11,9
<i>Cicer incisum</i> (Willd.) K.Maly ¹	0,26	1,12	4,6
<i>Bituminaria bituminosa</i> (L.) C.H.Stirt. ²	1,81	1,91	12,4
<i>Cicer arietinum</i> L. ²	1,09	0,64	1,3
<i>Trifolium repens</i> L. ²	1,28	0,85	11,9

¹ Εκχύλιση με ανάδευση, ² εκχύλιση με υπέρηχους

Πίνακας 5 Αποδόσεις των εκχυλίσεων των σπερμάτων ψυχανθών που μελετήθηκαν στη διατριβή.

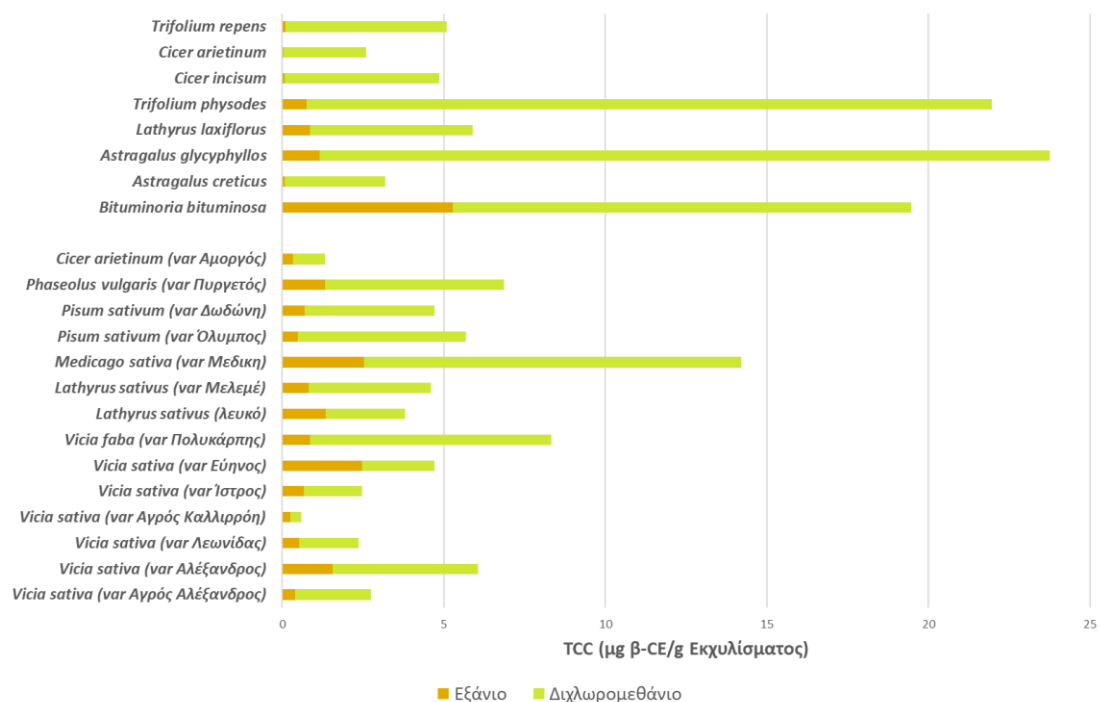
Σπέρματα	Απόδοση Εκχύλισης (%)		
	Hex	DCM	MeOH
<i>Glycine max</i> ¹	2,11	0,70	5,08
<i>Lathyrus clymentum</i> L. ¹	0,70	0,72	0,51
<i>Vicia sativa</i> (var Αλέξανδρος) ²	0,46	0,92	3,75
<i>Vicia sativa</i> (var Ίστρος) ²	0,56	0,50	1,33
<i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος) ²	0,49	0,84	3,52
<i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης) ²	0,66	0,47	0,49
<i>Vicia faba</i> (var Τανάγρα) ²	0,66	0,53	4,43
<i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος) ²	0,79	0,86	4,39
<i>Pisum sativum</i> (var Δωδώνη) ²	1,25	0,71	4,48
<i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός) ²	1,06	0,73	4,23
<i>Lens culinaris</i> (var Δήμητρα) ²	0,29	0,75	3,58
<i>Lens culinaris</i> (var Θεσσαλία) ²	1,16	0,92	5,36
<i>Lens culinaris</i> (var Σάμος) ²	0,31	1,17	4,50
<i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός) ²	3,15	1,46	5,89
<i>Cicer arietinum</i> (var Γαύδος) ²	3,40	1,65	9,12
<i>Cicer arietinum</i> (var Θήβα) ²	2,97	1,99	5,88

¹ Εκχύλιση με ανάδευση, ² εκχύλιση με υπέρηχους

2. Προσδιορισμός των Περιεχομένων Φυτοχημικών Μορίων

2.1. Προσδιορισμός Ολικής Περιεκτικότητας Καροτενοειδών (Total Carotenoid Content-TCC)

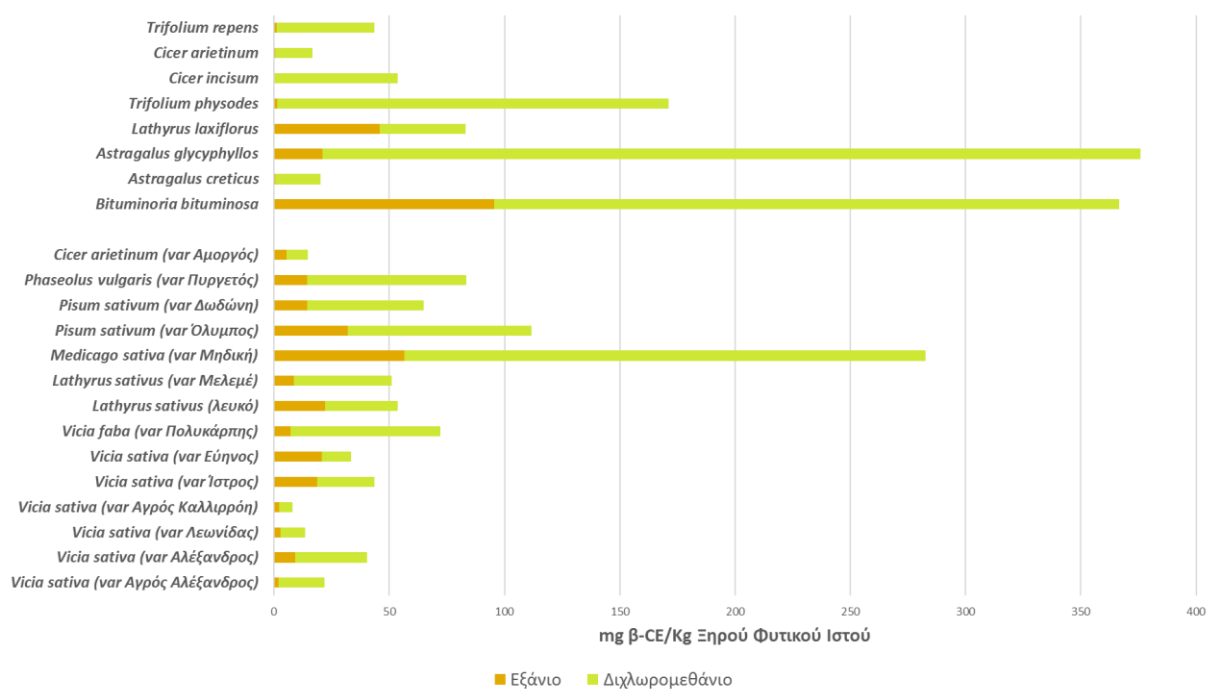
Η ολική περιεκτικότητα σε καροτενοειδή μετρήθηκε στα εξανικά και διχλωρομεθανικά εκχυλίσματα της διατριβής και τα αποτελέσματα εμπεριέχονται στις Εικόνες 19, 20, 21 και 22.



Εικόνα 19 Ολική περιεκτικότητα καροτενοειδών στο εξανικό και διχλωρομεθανικό εκχύλισμα των δειγμάτων.

Είναι εμφανές ότι τα διχλωρομεθανικά εκχυλίσματα είναι τα πλουσιότερα σε καροτενοειδή και ότι σε γενικές γραμμές οι άγριας προέλευσης φυτικοί οργανισμοί περιέχουν τις μεγαλύτερες ποσότητες των καροτενοειδών. Τα εκχυλίσματα των φυτών που ξεχωρίζουν με διαφορά σε σύγκριση με τα υπόλοιπα είναι αυτά που προέρχονται από τα φυτά *A. glycyphyllos*, *T. physodes* και *B. bituminosa*, ενώ από τα βελτιωμένα φυτά ξεχώρισε για το περιεχόμενό της η μηδική *M. sativa*.

Επίσης, σημαντικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι διαφορές μεταξύ των ποικιλιών του ίδιου είδους, καθώς και η περίπτωση του *V. sativa* Αλέξανδρος που ενώ οι Αλέξανδρος και Αγρός Αλέξανδρος προέρχονται από την ίδια ποικιλία, η καλλιέργειά τους σε διαφορετικές συνθήκες οδηγεί στην παραγωγή διαφορετικών ποσοτήτων των καροτενοειδών, με το πρώτο να εμφανίζει το πλουσιότερο περιεχόμενο.

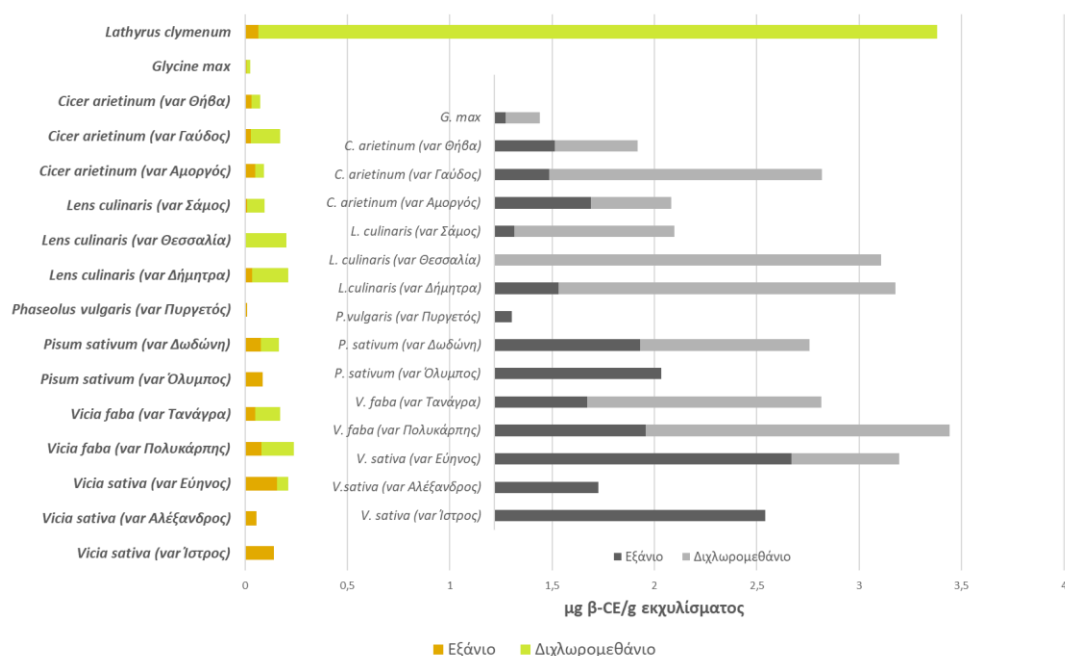


Εικόνα 20 Ολική περιεκτικότητα καροτενοειδών ως προς το ξηρό φυτικό ιστό που προέκυψε από την εκχύλισή του με εξάνιο και διχλωρομεθάνιο.

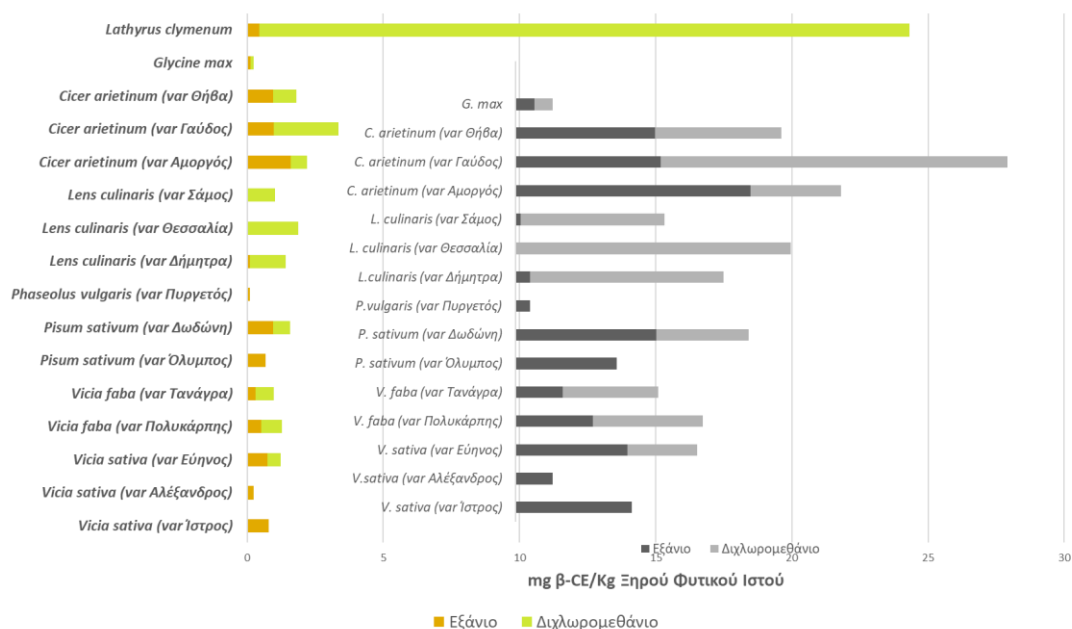
Η αναγωγή των αποτελεσμάτων σε μονάδες ξηρού φυτικού ιστού (Εικόνα 20) οδηγεί στην αλλαγή της κατάταξης των φυτών ως πηγής καροτενοειδών. Παρότι και στην περίπτωση αυτή το *A. glycyphyllos* εξακολουθεί να είναι το φυτό με το πλουσιότερο περιεχόμενο σε καροτενοειδή, πλέον τη δεύτερη θέση καταλαμβάνει το φυτό *B. bituminosa*. Επιπλέον, το βελτιωμένο *M. sativa* ως ξηρό φυτό αποτελεί πλουσιότερη πηγή καροτενοειδών, σε σύγκριση με το *T. physodes* του οποίου τα εκχυλίσματα ήταν πλουσιότερα.

Μετά τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των φυτικών ιστών σε καροτενοειδή, μελετήθηκε το αντίστοιχο περιεχόμενο των σπερμάτων. Τα σχετικά αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο διάγραμμα της Εικόνας 21 δείχνουν ότι και στην περίπτωση των σπερμάτων τα διχλωρομεθανικά εκχυλίσματα έχουν τη μεγαλύτερη συγκέντρωση καροτενοειδών. Εξάιρεση αποτελούν τα εκχυλίσματα των φυτών *V. sativa* var. Αλέξανδρος, Εύηνος, Ίστρος, *P. sativum* και *P. vulgaris*, στα οποία πλουσιότερο σε καροτενοειδή απεδείχθη το εξανικό τους εκχύλισμα, ενώ είναι αξιοσημείωτο το ιδιαίτερα πλούσιο σε καροτενοειδή περιεχόμενο του διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος των σπερμάτων της φάβας Σαντορίνης (*L. clymenum*). Τέλος, η αναγωγή της περιεκτικότητας των καροτενοειδών των

σπερμάτων σε ξηρό φυτικό ιστό δείχνει ότι τα σπέρματα του *L. clymenum* αποτελούν μία ιδιαίτερα πλούσια πηγή καροτενοειδών, ενώ ακολουθούν με διαφορά τα σπέρματα των ποικιλιών του ρεβιθιού *C. arietinum*.



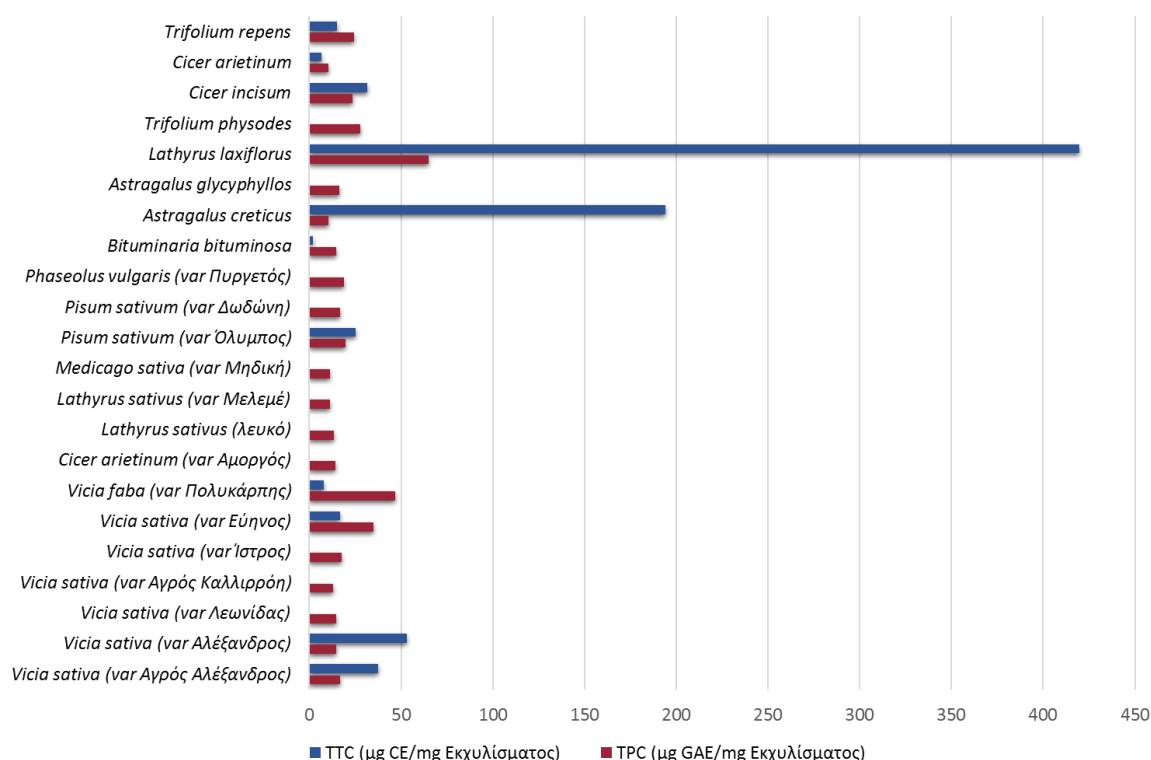
Εικόνα 21 Ολική περιεκτικότητα καροτενοειδών στο εξανικό και στο διχλωρομεθανικό εκχύλισμα των δειγμάτων.



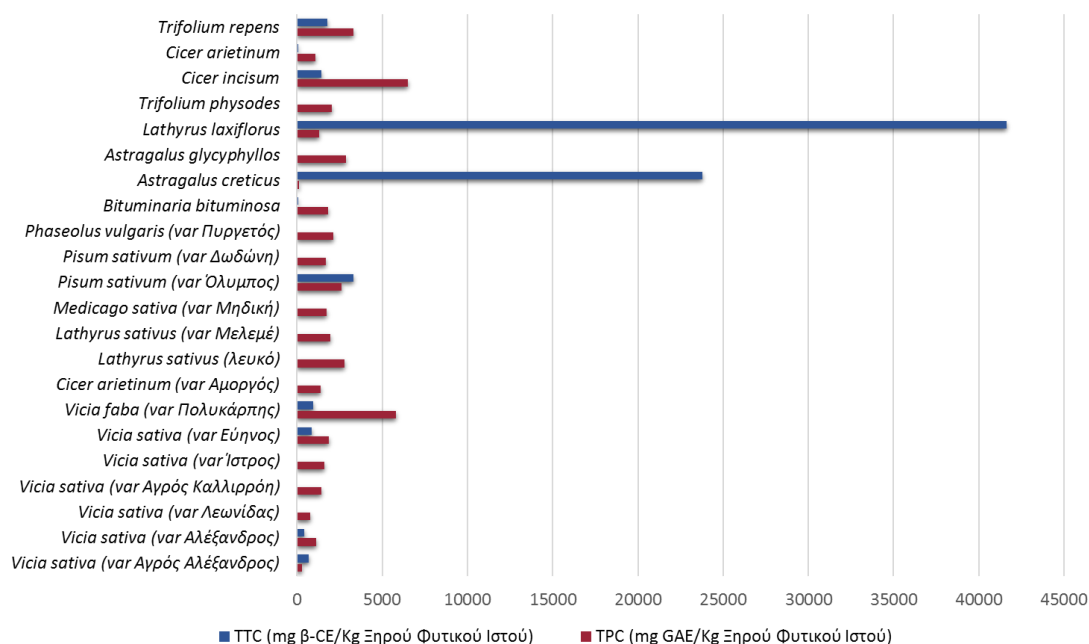
Εικόνα 182 Ολική περιεκτικότητα καροτενοειδών ως προς το ξηρό φυτικό ιστό που προέκυψε από την εκχύλισή του με εξάνιο και διχλωρομεθάνιο.

2.2. Προσδιορισμός των Ολικών Περιεκτικοτήτων σε Φαινολικά (Total Phenolic Content-TPC) & Ταννίνες (Total Tannin Content-TPC)

Η μέτρηση των TPC και TTC στα μεθανολικά εκχυλίσματα των φυτικών ιστών έδωσε τιμές που ακολουθούν ένα αντίστοιχο μοτίβο με τις μετρήσεις των καρροτενοειδών. Συγκεκριμένα, η πλειοψηφία εκχυλισμάτων των άγριων φυτικών οργανισμών εμπεριέχουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις ολικών ταννινών σε σύγκριση με τα καλλιεργούμενα φυτά. Το υψηλότερο περιεχόμενο σε ταννίνες προσδιορίστηκε στα εκχυλίσματα των φυτών *L. laxiflorus* και *A. creticus*, τα οποία παρουσίασαν αντίστοιχα υψηλές τιμές και στην περίπτωση που η αναφορά έγινε ως προς τον φυτικό ιστό. Είναι επίσης ενδιαφέρον ότι τα μεθανολικά εκχυλίσματα των φυτών της ποικιλίας Αλέξανδρος (*V. sativa*) που είχαν καλλιεργηθεί υπό διαφορετικές συνθήκες παρουσίασαν παρόμοιες περιεκτικότητες σε TPC και TTC, ενδεικτικό ότι οι συνθήκες καλλιέργειας επηρεάζουν περισσότερο το περιεχόμενο σε καρροτενοειδή παρά σε φαινολικά-ταννίνες.



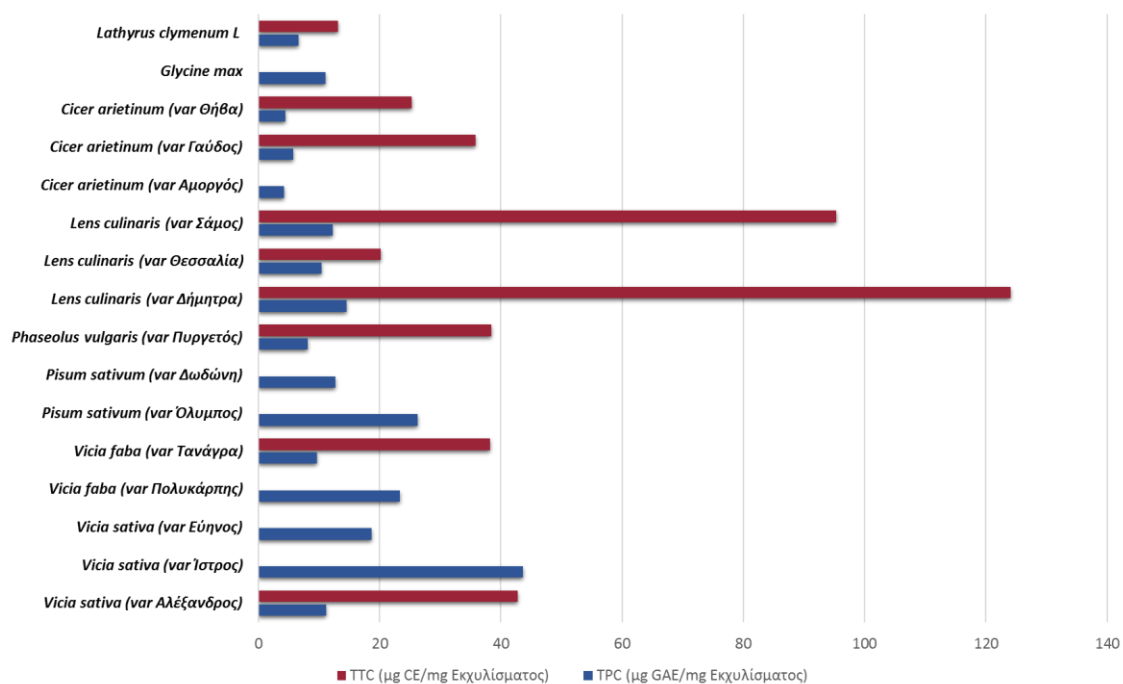
Εικόνα 23 Ολική περιεκτικότητα ταννινών (TTC) και φαινολικών (TPC) στο μεθανολικό εκχύλισμα των δειγμάτων.



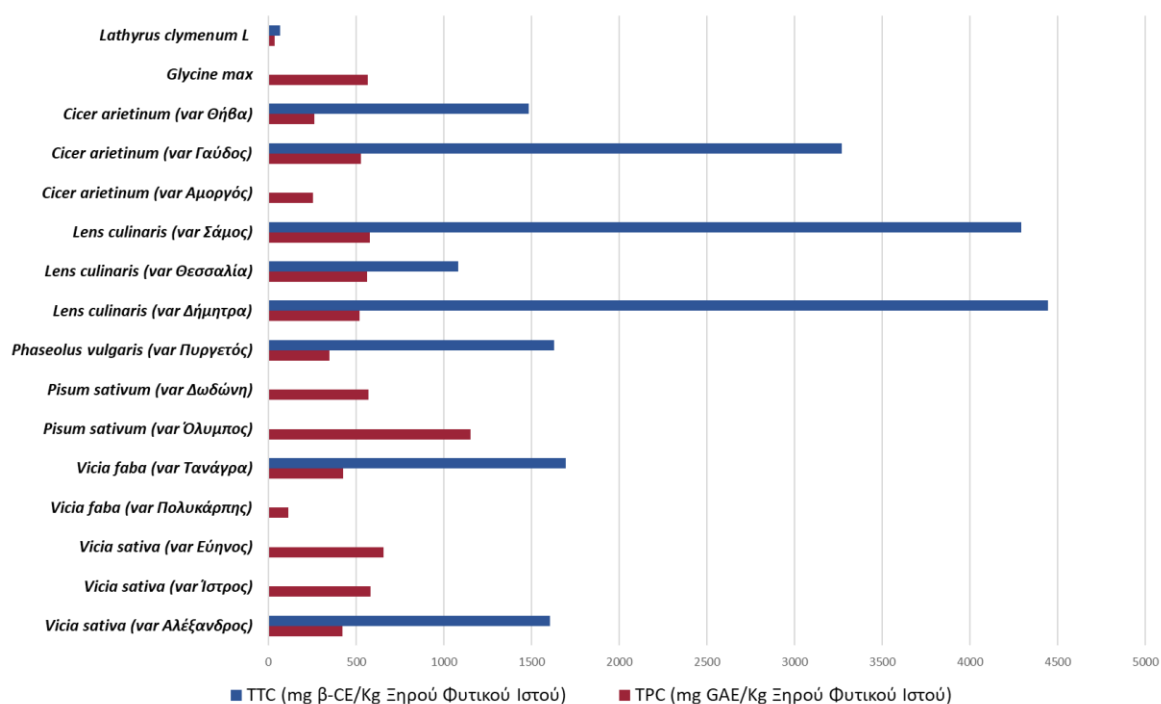
Εικόνα 24 Ολική περιεκτικότητα ταννινών (TTC) και φαινολικών (TPC) ως προς το ξηρό φυτικό ιστό που προέκυψε από την εκχύλιση του με μεθανόλη.

Στον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών (Εικόνα 23) ως εκχύλισμα με το πλουσιότερο περιεχόμενο αναδείχθηκε το μεθανολικό εκχύλισμα του *L. laxiflorus*, ενώ υψηλή συγκέντρωση φαινολικών εμφάνισαν και τα βελτιωμένα φυτά *V. faba* (var. Πολυκάρπης) και *V. sativa* (var. Εύηνος). Όμως, η μετατροπή-απόδοση του TPC σε φυτικό ιστό (Εικόνα 24) ανέδειξε ως το πλουσιότερο σε φαινολικά φυτό το *C. incisum*, με συγκέντρωση αντίστοιχη αυτής του *V. faba* (var. Πολυκάρπης).

Η μελέτη των σπερμάτων έδειξε ότι το περιεχόμενό τους σε TPC και TTC είναι εμφανώς χαμηλότερο σε σύγκριση με τους αντίστοιχους φυτικούς ιστούς. Τα σπέρματα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ταννινών είναι οι φακές (*L. culinaris*), με τις ποικιλίες Δήμητρα και Σάμος να εμφανίζουν τις υψηλότερες περιεκτικότητες και ακολουθούν τα ρεβίθια (*C. arietinum*).

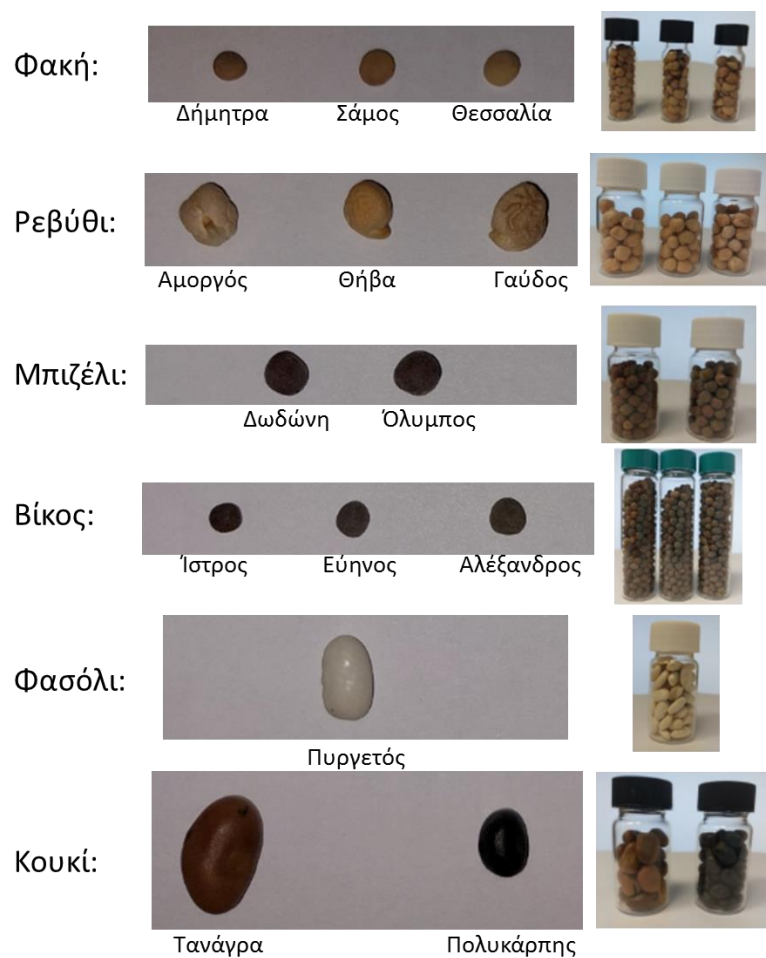


Εικόνα 195 Ολική περιεκτικότητα ταννινών (TTC) και φαινολικών (TPC) στο μεθανολικό εκχύλισμα των δειγμάτων των σπερμάτων.



Εικόνα 26 Ολική περιεκτικότητα ταννινών (TTC) και φαινολικών (TPC) ως προς το ξηρό φυτικό ιστό των σπερμάτων που προέκυψε από την εκχύλισή του με μεθανόλη.

Όσον αφορά το περιεχόμενο σε ολικά φαινολικά, το μεθανολικό εκχύλισμα με την υψηλότερη συγκέντρωση ήταν το εκχύλισμα του *V. sativa* (var. Ίστρος), ενώ η αναγωγή του TPC σε ξηρό βάρος των σπερμάτων δεν επέφερε αλλαγές στην κατάταξή τους. Εξαίρεση αποτέλεσαν τα δύο είδη κουκιών (*V. faba*) που μελετήθηκαν, τα οποία εμφάνισαν ποσοτικές διαφορές στην περιεκτικότητά τους σε ταννίνες και φαινολικά, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στη μεγαλύτερη διαφοροποίηση του σπέρματος. Όπως φαίνεται και την Εικόνα 27, τα σπέρματα κουκιών που μελετήθηκαν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους ως προς την εμφάνισή τους, με το σπέρμα Τανάγρα να είναι εμφανώς μεγαλύτερος σε μέγεθος και χρωματισμένος σε καφέ απόχρωση, ενώ το σπέρμα Πολυκάρπης είναι χρώματος μαύρου.



Εικόνα 207 Τα σπέρματα *Fabaceae* που μελετήθηκαν.

3. Ποσοτικοποίηση του περιεχομένου σε επιμέρους Καροτενοειδή

3.1. Ανάπτυξη Μεθόδου Ποσοτικοποίησης των Καροτενοειδών

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των επιμέρους καροτενοειδών αναπτύχθηκε η μέθοδος διαχωρισμού τους με στήλη αντίστροφης φάσης 120 EC-C18 (2,1×100mm, 1,9μm) (Infinity Lab Poroshell-Agilent). Για την προστασία της στήλης χρησιμοποιήθηκε προστατευτική στήλη 120 EC-C18 (2,1×5mm, 2,7μm) του ιδίου παρόχου. Η κινητή φάση αποτελείτο από ακετονιτρίλιο (Α), νερό (Β) και MeOH (C), τα οποία απαερώθηκαν στους 25°C για 10 λεπτά. Ο όγκος έγχυσης για κάθε δείγμα είναι 10μL και οι θερμοκρασίες του δείγματος και της στήλης ήταν 10 και 42°C, αντίστοιχα. Οι συνθήκες βαθμιδωτής έκλουσης για τις κινητές φάσεις (Α), (Β) και (C) που εφαρμόστηκαν είναι οι εξής: 0,0–0,5min, 62% Α, 10% Β, 28% C (ταχύτητα ροής: 0,45mL/min). 0,5–2,0min, 62→75% Α, 10→0% Β, 28→25% C (ταχύτητα ροής: 0,45mL/min); 2,0–5,0min, 75% Α, 0% Β, 25% C (ταχύτητα ροής: 0,45mL/min); 5,0–7,0min, 75% Α, 0% Β, 25% C (ταχύτητα ροής: 0,45→0,60mL/min); 7,0–8,0min, 75→100% Α, 0% Β, 25→0% C (ταχύτητα ροής: 0,60mL/min); 8,0–12,0min, 100% Α, 0% Β, 0% C (ταχύτητα ροής: 0,60mL/min); 12,0–14,0min, 100→75% Α, 0% Β, 0→25% C (ταχύτητα ροής: 0,60mL/min); 14,0–16,0min, 75% Α, 0% Β, 25% C (ταχύτητα ροής: 0,60→0,45mL/min); 16,0–18,0min, 75→62% Α, 0→10% Β, 25→28% C (ταχύτητα ροής: 0,45mL/min); 18,0–24,0min, 62% Α, 10% Β, 28% C (ταχύτητα ροής: 0,45mL/min) για την εξισορρόπηση της στήλης μεταξύ των ενέσεων.

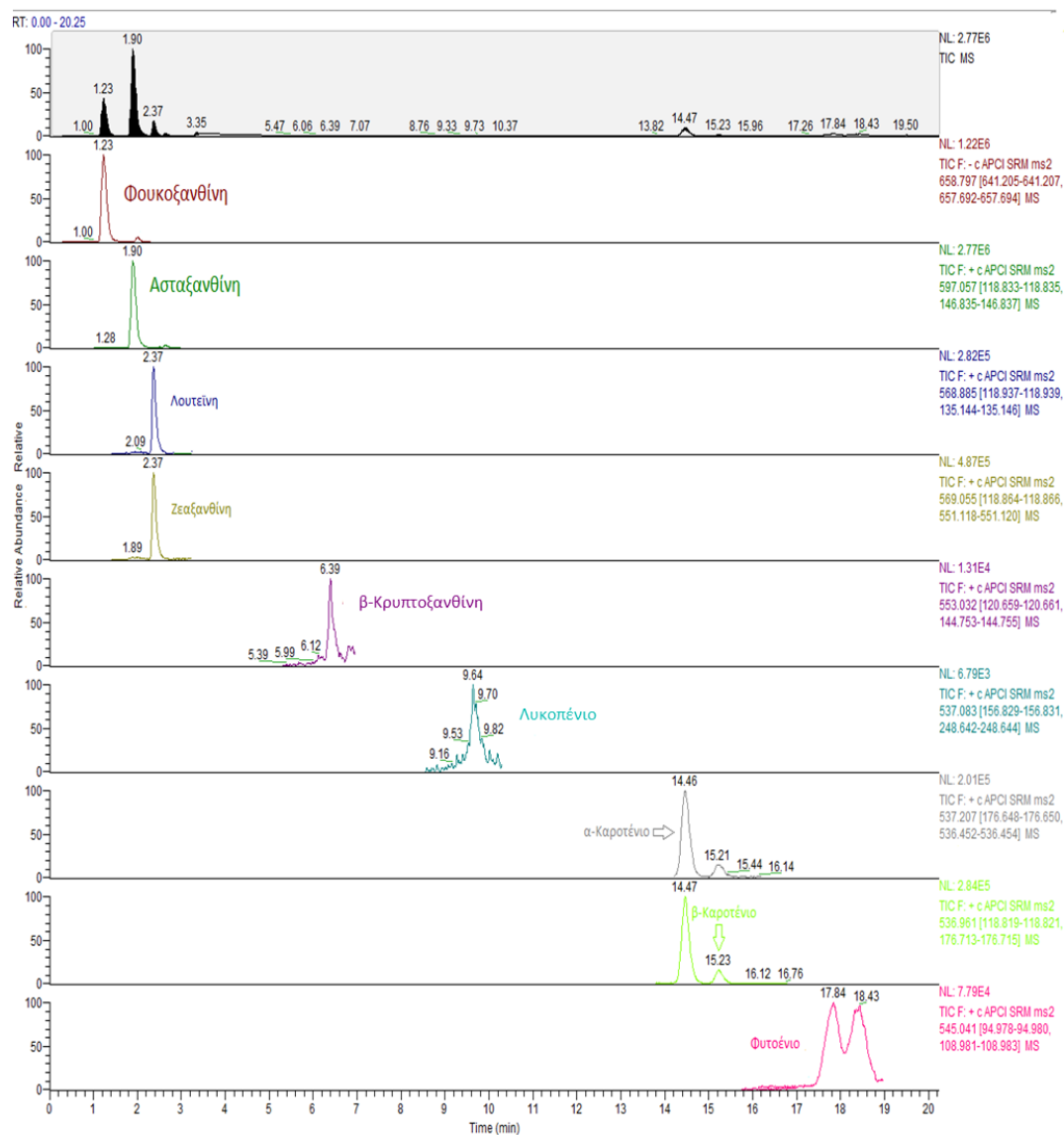
Ο προσδιορισμός των μοριακών ιόντων παρακολούθησης για τους αναλύτες-στόχους επιτεύχθηκε με άμεση έγχυση στη λειτουργία πλήρους σάρωσης (εύρος μάζας: 150–1500m/z) των πρότυπων διαλυμάτων σε συγκέντρωση 2μg/mL.

Η παρακολούθηση των ιόντων έγινε σε SRM (Selected reaction Monitoring, Παρακολούθηση Επιλεγμένων Αντιδράσεων) και η θραυσμάτωσή τους σε συνδυασμό με τα επίπεδα ενέργειας που χρειάζονται για τον σχηματισμό των ιόντων (collision energies) είναι: φουκοξανθίνη: (-) 658,797> 641,205 (27eV) / 657,694 (18eV) (RT=1,23min), ασταξανθίνη: (+) 597,057> 118,834 (46eV) / 146,836 (33eV) (RT=1,90min), ζεαξανθίνη: (+) 569,055> 118,865 (31eV) / 551,119 (18eV) (RT=2,37min), λουτεΐνη: (+) 568,885> 118,938 (37eV) / 135,145 (33eV) (RT=2,37min), β-κρυπτοξανθίνη: (+) 553,032> 120,660 (38eV) / 144,754 (30eV) (RT=6,39min),

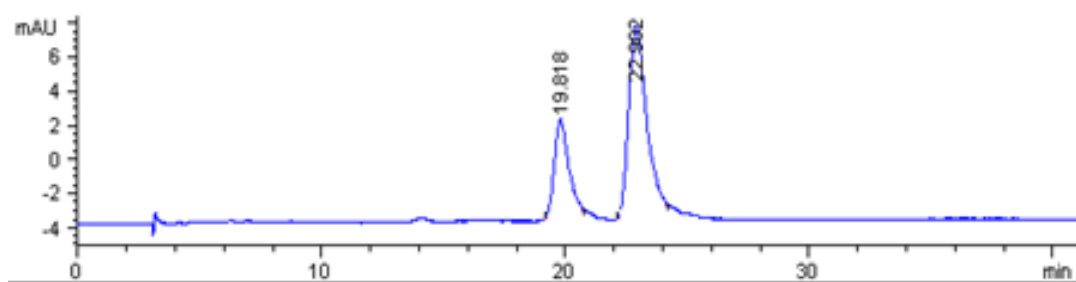
λυκοπένιο: (+) 537,083 > 156,830 (37eV) / 248,643 (34eV) (RT= 9,54min), α-καροτένιο: (+) 537,207 > 176,649 (20eV) / 536,453 (5eV) (RT=14,45min), β-καροτένιο: (+) 536,961 > 118,820 (38eV) / 176,714 (22eV) (RT=15,23min), φυτοένιο (E-/Z-): 545,041 > 94,978 (34eV) / 108,981 (29eV) (+) (RT=17,84/18,43min).

Οι βελτιστοποιημένες παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν για την πηγή των ιόντων και τη λειτουργία του φασματομέτρου μάζας, οι οποίες είναι εφαρμόσιμες για όλα τα υπό ανάλυση καροτενοειδή είναι: ροές κύριου (sheath) και βοηθητικού (auxiliary) αερίου: 30 και 5Arb αντίστοιχα, θερμοκρασίες τριχοειδούς (capillary) και ατμοποιητή (vaporizer): 340 και 450°C, αντίστοιχα, και πίεση σύγκρουσης (collision) του αερίου αργού 1,5mTorr.

Όπως φαίνεται στο χρωματογράφημα της Εικόνας 28, τα ισομερή καροτενοειδή ζεαξανθίνη και λουτεΐνη έχουν ίδιους χρόνους κατακράτησης-έκλουσης και εμφανίζουν παρόμοια ιόντα θραυμάτωσης. Έτσι, δεν ήταν δυνατός ο διαχωρισμός τους με τη συγκεκριμένη μέθοδο ανάλυσης με αποτέλεσμα να απαιτηθεί η διενέργεια επιπλέον ανάλυσης με τη χρησιμοποίηση και οργάνου HPLC-DAD για τον διαχωρισμό και την ποσοτικοποίηση των δύο αυτών μορίων που έχουν παρόμοια δομή και χημική συμπεριφορά. Τελικά, η ποιοτική και ποσοτική τους ανάλυση πραγματοποιήθηκε στο σύστημα HPLC με χειροκίνητη ένεση (20μL) και μήκος κύματος 450nm. Η στατική φάση που χρησιμοποιήθηκε είναι στήλη Nucleosil 100-5 C18, 4,6x250mm, 5μm σε θερμοκρασία 35°C και η κινητή φάση είναι ισοκρατική με διαλύτη ACN:MTBE (70:30) και ροή 1000μL/min. Ο συνολικός χρόνος διήρκεσε 35min και στις συνθήκες αυτές η λουτεΐνη εκλούστηκε πρώτη (19,8min) και ακολούθησε η ζεαξανθίνη (23,0min) (Εικόνα 29) (Myrtsi και άλλοι, 2022b).



Εικόνα 28 Χρωματογράφημα πρότυπων καροτενοειδών με το σύστημα LC-MS/MS



Εικόνα 29 Χρωματογράφημα πρότυπων διαλυμάτων λουτεΐνης και ζεαξανθίνης με HPLC-DAD (450nm).

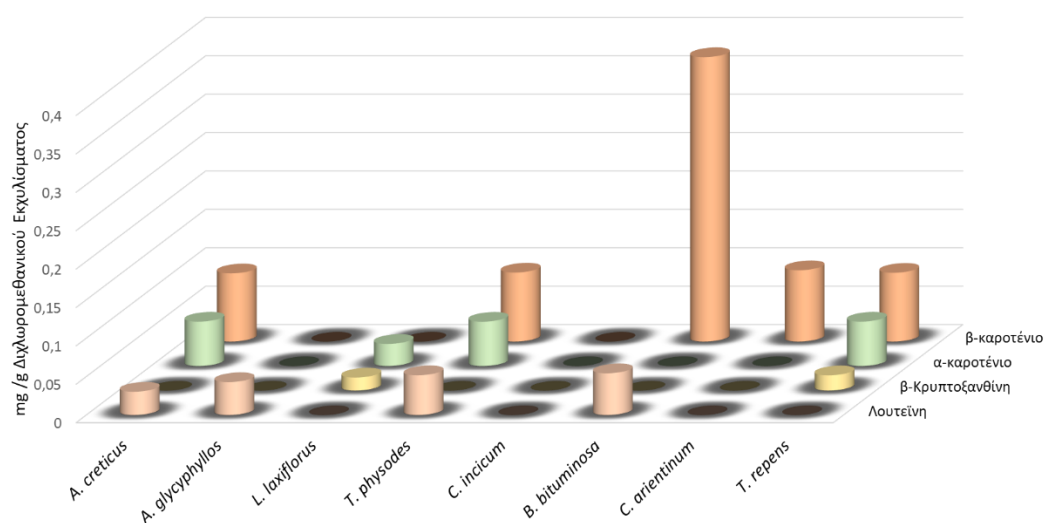
Πίνακας 6 Εξίσωση καμπύλης βαθμονόμησης, συντελεστής συσχέτισης (R^2) και ελάχιστα όρια ανίχνευσης (LOD) και ποσοτικοποίησης (LOQ) για τα καροτενοειδή που προσδιορίστηκαν ποσοτικά.

No	Καροτενοειδή	Εξίσωση Καμπύλης Βαθμονόμησης	R^2	LOD (ppm)	LOQ (ppm)
1	Φουκοξανθίνη	$Y = -17817,2 + 4404190X$	0,9999	0,047	0,142
2	Ασταξανθίνη	$Y = 162650 + 10238800X$	0,9995	0,172	0,522
3	β-Κρυπτοξανθίνη	$Y = -2616,07 + 40714,9X$	0,9996	0,138	0,418
4	Λυκοπένιο	$Y = -4003,79 + 166207X$	0,9996	0,016	0,047
5	α-Καροτένιο	$Y = -30039,5 + 972849X$	0,9999	0,073	0,220
6	β-Καροτένιο	$Y = -2161,51 + 205275X$	0,9995	0,135	0,411
7	Λουτεΐνη	$Y = -0,935207 + 24,2383X$	0,9994	0,065	0,197
8	Ζεαξανθίνη	$Y = -1,06364 + 60,1119X$	0,9983	0,080	0,242
9	Φυτοένιο	$y = -18076,6 + 1310840x$	0,9997	0,043	0,131

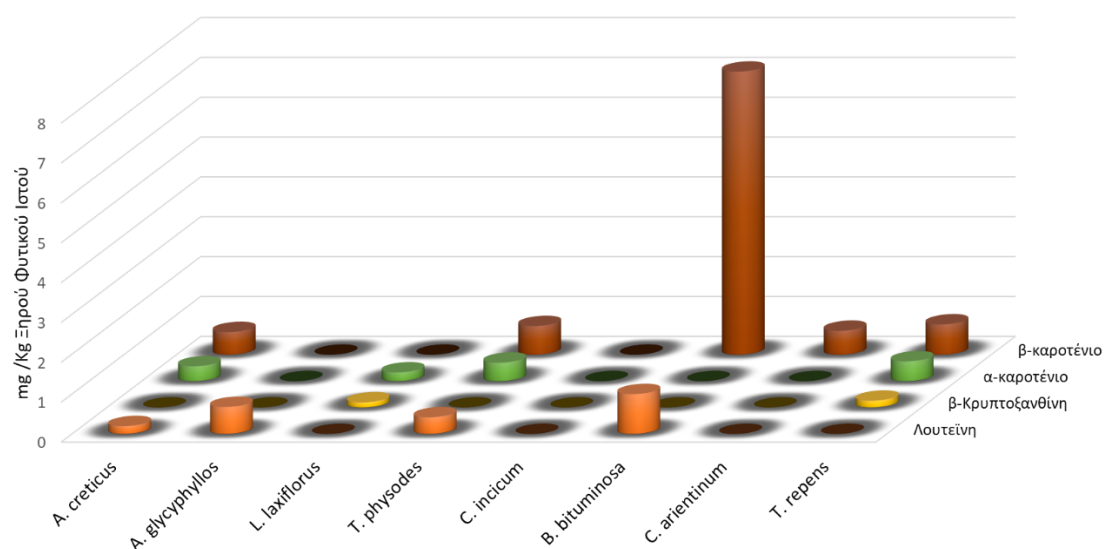
3.2. Ποσοτικοποίηση των Καροτενοειδών

Για τα άγρια και καλλιεργούμενα φυτά στα οποία η ολική περιεκτικότητα σε καροτενοειδή προσδιορίστηκε να είναι σε υψηλότερα επίπεδα σε σύγκριση με τις ποικιλίες των βελτιωμένων φυτών που μελετήθηκαν στη διατριβή, έγινε και ποσοτικοποίηση των επιμέρους καροτενοειδών που περιέχουν. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσής τους έγινε με βάση τις καμπύλες βαθμονόμησης που φαίνονται στον Πίνακα 5.

Συγκεκριμένα, στα διχλωρομεθανικά τους εκχυλίσματα προσδιορίστηκε η παρουσία των καροτενοειδών λουτεΐνη, β-κρυπτοξανθίνη, α-καροτένιο και β-καροτένιο. Όπως φαίνεται στα διαγράμματα των Εικόνων 30 και 31, το καροτενοειδές που ανιχνεύεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις είναι το β-καροτένιο, με την υψηλότερη συγκέντρωση να προσδιορίζεται στο φυτό *B. bituminosa*.



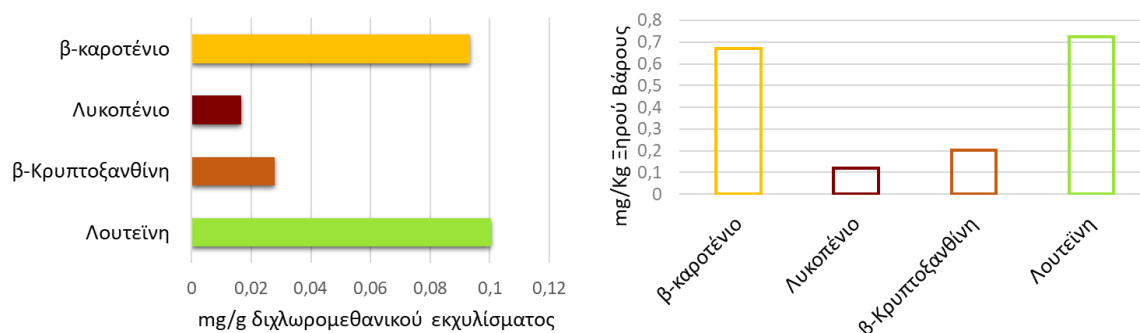
Εικόνα 30 Ποσοτικός προσδιορισμός των επιμέρους καροτενοειδών που εμπεριέχουν τα διχλωρομεθανικά εκχυλίσματα των φυτών.



Εικόνα 31 Ποσοτική σύσταση των καροτενοειδών των διχλωρομεθανικών εκχυλισμάτων με αναγωγή στο ξηρό φυτικό ιστό.

Το σπέρμα που μελετήθηκε ως προς την περιεκτικότητά του σε μεμονωμένα καροτενοειδή ήταν της φάβας Σαντορίνης, στον οποίο η περιεκτικότητα σε ολικά καροτενοειδή ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε σύγκριση με τα υπόλοιπα σπέρματα ψυχανθών. Στα σπέρματα της φάβας Σαντορίνης (Εικόνα 32) δεν εντοπίστηκε η παρουσία του α-καροτενίου, αλλά ανιχνεύτηκαν σε σημαντική ποσότητα τα

καροτενοειδή λουτεΐνη και β-καροτένιο, όπως και ποσότητες των μορίων β-κρυπτοξανθίνη και λυκοπένιο.



Εικόνα 212 Ποσοτική ανάλυση καροτενοειδών της φάβας Σαντορίνης ως προς το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα, αλλά και ως προς το φυτικό ιστό που προέκυψε από την εκχύλιση με διχλωρομεθάνιο.

4. Ποσοτικός Προσδιορισμός των Φυτοοιστρογόνων με LC–MS/MS

4.1. Ανάπτυξη Μεθόδου Ποσοτικοποίησης των Φυτοοιστρογόνων

Ο χρωματογραφικός διαχωρισμός των αναλυτών-στόχων επιτεύχθηκε σε στήλη αντίστροφης φάσης C18 εσωτερικής διαμέτρου 150×2,1mm και μεγέθους σωματιδίων 3μm (Fortis Technologies Ltd., Neston, Cheshire, UK) που συνδυάστηκε με προστατευτική προ-στήλη AF C18 του ίδιου παρόχου εσωτερικής διαμέτρου 10×2,0mm και μεγέθους σωματιδίων 3μm. Την κινητή φάση συνιστούσαν οι διαλύτες Α (υδατικό διάλυμα φορμικού οξέος 0,1%) και Β (ακετονιτρίλιο). Η ροή της κινητής φάσης ρυθμίστηκε σε 0,28mL/min με βαθμιδωτή έκλυση ως εξής: 0,0–2,0min, 20% Β; 2,0–25,0min, από 20% έως 51% Β; 25,0–30,0min, 51% έως 70% Β; 30,0–30,1 min, 20% Β; και 30,1–35,0min, 20% Β για την επαναεξισορρόπηση της στήλης μεταξύ των ενέσεων. Η θερμοκρασία του θαλάμου αναμονής των δειγμάτων του αυτόματου δειγματολήπτη ρυθμίστηκε στους 25°C και η θερμοκρασία της στήλης στους 32°C. Ο όγκος της ένεσης των δειγμάτων ήταν 10μL.

Η ανάλυση με MS/MS πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της τεχνικής του ιονισμού με ηλεκτροψεκασμό (ESI–ElectroSpray Ionization), σε θετική ή αρνητική πολικότητα ιόντων και λειτούργησε με SRM. Τα θραύσματα των αναλυτών-στόχων προσδιορίστηκαν μέσω της άμεσης έκχυσης εκάστου αναλύτη ξεχωριστά σε πλήρη σάρωση (εύρος μάζας: 80–1000 m/z). Οι συνθήκες και οι παράμετροι της πηγής των

ιόντων και του κενού βελτιστοποιήθηκαν με στόχο να είναι εφαρμόσιμες για όλες τις αναλυόμενες χημικές ενώσεις. Η θερμοκρασία του τριχοειδούς (capillary temperature) ρυθμίστηκε στους 300°C.

Οι πιέσεις των αερίων της πηγής των ιόντων κύριο (sheath) και βοηθητικό (auxiliary) αέριο ρυθμίστηκαν στα 35 και 10Arb, αντίστοιχα. Η πίεση σύγκρουσης του αερίου αργού (collision gas) ρυθμίστηκε στο 1,5mTorr και η τάση ψεκασμού (spray voltage) στα 3,5kV και για τις δύο πολικότητες (θετική/αρνητική).

Πίνακας 7 Θραυσμάτωση των φυτοοιστρογόνων-αναλυτών και του χρόνου έκλουσής τους.

No.	Φυτοοιστρογόνο	Parent Mass	Product Mass	Collision Energy (eV)	Polarity	RT (min)
1	Νεοχλωρογενικό Οξύ	354,180	190,875	21	(-)	2,04
2	Γαλλικό Οξύ	170,064	126,042	18	(-)	2,05
3	Πελαργονίνη	595,241	270,881	33	(+)	2,05
4	Γαλλοκατεχίνη	306,149	125,017	24	(-)	2,23
5	Υδροxyτυροσόλη	154,132	124,083	17	(-)	2,25
6	Προκυανιδίνη B1	578,342	407,739	25	(-)	2,30
7	Χλωρογενικό Οξύ	354,158	191,689	22	(-)	2,36
8	Πρωτοκατεχικό Οξύ	154,055	109,992	18	(-)	2,37
9	Επιγαλλοκατεχίνη	306,193	125,032	29	(-)	2,47
10	Πουεραρίνη	416,220	295,606	24	(-)	2,79
11	Προκυανιδίνη B2	578,319	408,253	29	(-)	2,83
12	Κατεχίνη	290,147	204,072	21	(-)	2,90
13	Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	458,179	168,798	21	(-)	3,44
14	Επικατεχίνη	290,159	246,261	18	(-)	3,57
15	Καφεϊκό Οξύ	180,046	135,902	19	(-)	3,89
16	7-Ο-γλυκοζίτης της Κερκεταγετίνης	480,253	317,676	25	(-)	3,91
17	Δαϊδζίνη	416,715	254,790	26	(+)	4,02
18	7-Ο-γλουκουρονίδης της Δαϊδζεΐνης	430,263	253,987	32	(-)	4,15
19	Γλυσιστίνη	446,797	284,768	26	(+)	5,21
20	Ρουτίνη	610,299	300,561	36	(-)	5,38
21	Πολυδατίνη	390,231	227,693	20	(-)	5,94
22	Λικουιριτίνη	418,213	256,024	24	(-)	5,96
23	p-Κουμαρικό Οξύ	163,994	119,995	18	(-)	6,16
24	Ισοκερκετίνη	464,047	300,702	27	(-)	6,42
25	Σιναπικό Οξύ	224,081	208,913	16	(-)	6,78
26	Ταξιφολίνη	304,097	285,981	15	(-)	7,19

No.	Φυτοοιστρογόνο	Parent Mass	Product Mass	Collision Energy (eV)	Polarity	RT (min)
27	7-ο-γλουκουρονίδης της Γενιστεΐνης	446,250	268,842	31	(-)	7,32
28	Εσπεριδίνη	610,143	301,669	26	(-)	7,78
29	Διοσμίνη	608,363	607,571	13	(-)	8,10
			284,091	52	(-)	
30	Κερσιτρίνη	448,181	300,721	28	(-)	8,30
31	Σοφορικοσίδης	432,293	431,568	19	(-)	8,30
			270,134	33	(-)	
32	Γενιστίνη	432,258	268,887	32	(-)	8,43
33	Κερκεταγετίνη	318,121	139,101	32	(-)	8,49
34	4'-Ο-γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	448,270	284,878	21	(-)	8,62
35	3',4',7-τριϋδροξυισοφλαβόνη	270,133	242,060	24	(-)	9,01
36	Φλοριντζίνη	436,243	273,890	19	(-)	9,13
37	Σεκοϊσολαρισιρεσινόλη	362,276	361,511	11	(-)	9,40
			165,755	29	(-)	
38	Πελαργονιδίνη	271,042	121,024	33	(+)	9,59
39	4',6,7-τριϋδροξυισοφλαβόνη	270,124	240,996	31	(-)	9,66
40	Μυρισετίνη	318,121	150,835	26	(-)	9,85
41	Λαρισιρεσινόλη	360,220	329,991	12	(-)	9,98
42	Ονονίνη	430,731	268,785	21	(+)	10,24
43	7-O-D-Γλυκοζίτης της Καλυκοσίνης	446,305	445,555	14	(+)	10,97
			368,002	43	(+)	
44	Ρεσβερατρόλη	228,014	184,140	24	(-)	11,41
45	Δαϊντζεΐνη	254,287	253,568	15	(-)	12,12
46	Λικουϊριτιγενίνη	256,166	135,040	18	(-)	12,64
47	Εριοδικτυόλη	288,199	151,221	17	(-)	12,67
48	Καλυκοσίνη	284,134	268,921	21	(-)	13,29
49	Γλυσιτεΐνη	284,179	268,649	24	(-)	13,42
50	Κερκετίνη	302,104	151,049	25	(-)	13,74
51	Λουτεολίνη	286,139	132,980	36	(-)	13,74
52	Σισσοτρίνη	446,327	283,857	22	(-)	14,06
53	Ματαΐρεσινόλη	358,248	342,987	23	(-)	15,88
			82,914	27	(-)	
54	Φλορετίνη	274,125	167,912	19	(-)	16,27
55	Εκούλη	242,265	121,522	17	(-)	16,38
56	Γενιστεΐνη	270,132	133,827	37	(-)	16,66
57	Απιγενίνη	269,982	118,164	42	(-)	16,98
58	Κουμεστρόλη	268,134	239,903	26	(-)	17,23
59	Εσπερετίνη	302,109	286,972	20	(-)	17,37
60	Καμφερόλη	286,099	240,018	31	(-)	17,46

No.	Φυτοοιστρογόνο	Parent Mass	Product Mass	Collision Energy (eV)	Polarity	RT (min)
61	Διοσμετίνη	300,276	284,940	20	(-)	17,67
62	Ισοραμνετίνη	316,080	300,976	24	(-)	18,08
63	Ισολικουϊριτιγενίνη	256,154	120,019	29	(-)	19,67
64	Φορμονονετίνη	268,159	252,919	23	(-)	19,69
65	Ραμνετίνη	316,116	165,526	25	(-)	20,58
66	Βιοχανίνη Α	284,126	268,756	21	(-)	25,08
67	Ξανθοχουμόλη	354,240	234,027	21	(-)	31,82
68	Εσωτερικό Πρότυπο (Internal Standard-IS)	182,748	136,996	26	(-)	15,68

4.2. Επικύρωση της Μεθόδου Ανάλυσης των Φυτοοιστρογόνων με LC-MS/MS

4.2.1. Γραμμικότητα, ελάχιστο όριο ανίχνευσης (LOD) και ελάχιστο όριο ποσοτικοποίησης (LOQ)

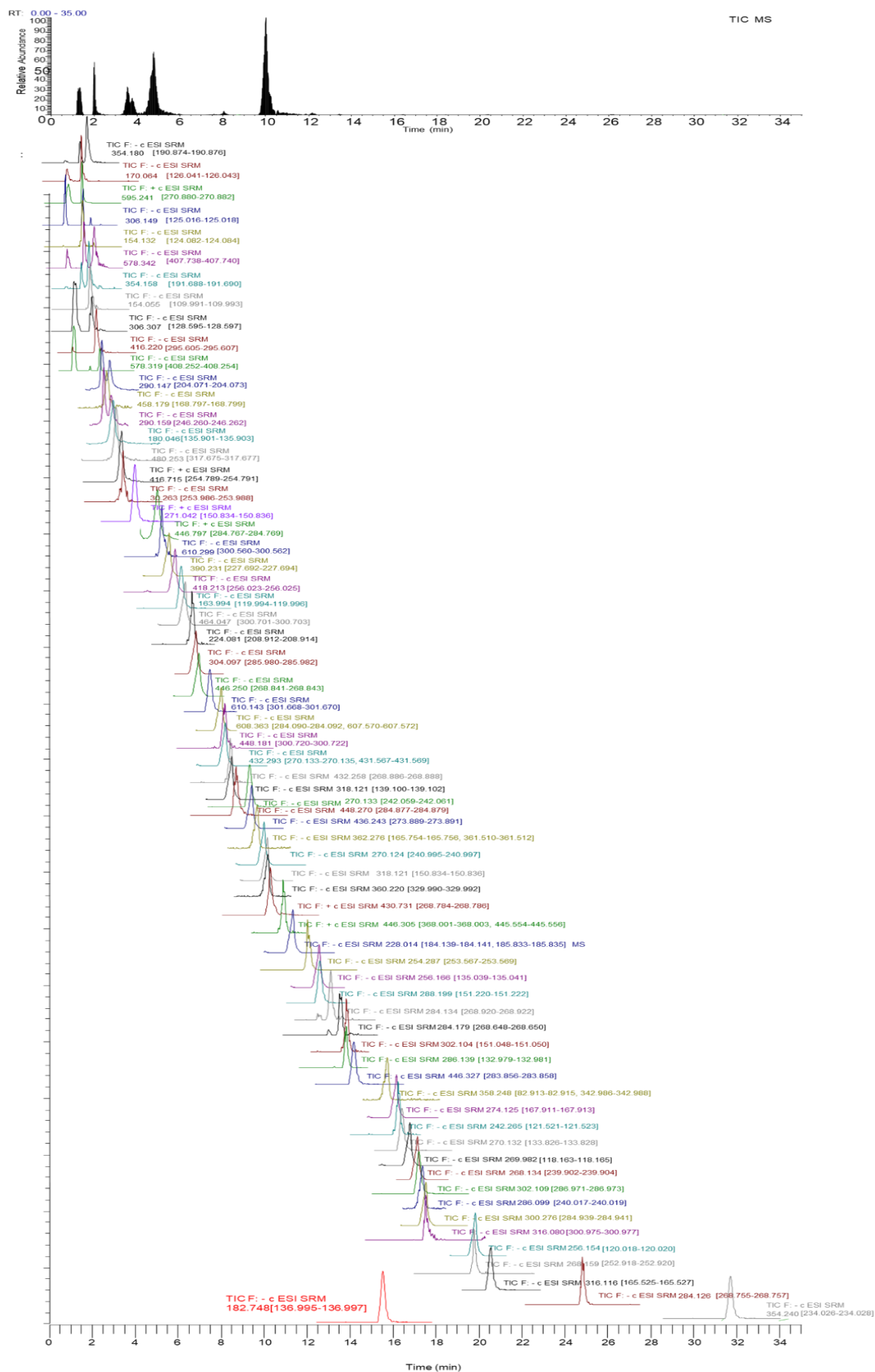
Τα πρότυπα διαλύματα των αναλυτών παρασκευάστηκαν σε εννέα επίπεδα συγκέντρωσης ξεκινώντας από ένα πρότυπο διάλυμα με τους 66 αναλύτες σε συγκέντρωση 50μg/mL το καθένα και ένα που περιείχε την εκουόλη σε συγκέντρωση 100μg/mL. Το διάλυμα του εσωτερικού προτύπου προστέθηκε σε κάθε ένα από τα διαλύματα διαφορετικής συγκέντρωσης σε συγκέντρωση 200ng/mL. Η γραμμικότητα της μεθόδου ελέγχθηκε με την ανάλυση του διαλύματος του κάθε επιπέδου συγκέντρωσης εις τριπλούν και την κατασκευή στην συνέχεια της καμπύλης βαθμονόμησης. Για κάθε πρότυπο, κατασκευάστηκε μια καμπύλη βαθμονόμησης με τον αντίστοιχο συντελεστή συσχέτισης (R^2). Αυτά τα δεδομένα περιλαμβάνονται στον Πίνακα 8. Στον ίδιο πίνακα παρουσιάζονται και τα ελάχιστα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης, που προέκυψαν από την εφαρμογή των Εξισώσεων (1) και (2), αντίστοιχα.

Πίνακας 8 Παρουσίαση των εξισώσεων των καμπυλών βαθμονόμησης, του συντελεστή συσχέτισης R^2 και των ελάχιστων ορίων ανίχνευσης (LOD) και ποσοτικοποίησης (LOQ) για τον κάθε αναλύτη.

No.	Φυτοοιστρογόνα	Εξίσωση Καμπύλης Βαθμονόμησης	R^2	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
1	Νεοχλωρογενικό Οξύ	$Y=0,00110944+0,330727X$	0,9996	12,6	38,2
2	Γαλλικό Οξύ	$Y=-0,000909657+0,248304X$	0,9996	73,1	221,5
3	Πελαργονίνη	$Y=-0,7091658416+229,621287X$	0,9998	7,1	21,4
4	Γαλλοκατεχίνη	$Y=6,84895e-06+0,223507X$	0,9997	109,5	331,8

No.	Φυτοοιστρογόνα	Εξίσωση Καμπύλης Βαθμονόμησης	R ²	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
5	Υδροξυτεροσόλη	$Y=0,000895668+0,106669X$	0,9992	33,8	102,3
6	Προκυανιδίνη B1	$Y=-0,000107142+0,0256914X$	0,9995	46,9	142,2
7	Χλωρογενικό Οξύ	$Y=0,00237338+0,0463491X$	0,9992	44,6	135,1
8	Πρωτοκατεχικό Οξύ	$Y=0,00114193+0,336255X$	0,9996	16,2	49,1
9	Επιγαλλοκατεχίνη	$Y=0,000673414+0,0284518X$	0,9997	39,2	118,9
10	Πουεραρίνη	$Y=-0,0588534+3,08771X$	0,9998	47,5	144,0
11	Προκυανιδίνη B2	$Y=-5,53133e-05+0,03031X$	0,9995	55,0	166,8
12	Κατεχίνη	$Y=0,0467805+0,934157X$	0,9996	75,5	228,9
13	Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	$Y=-0,0193777+0,909754X$	0,9993	30,7	93,1
14	Επικατεχίνη	$Y=-0,116752+4,45105X$	0,9995	18,9	57,3
15	Καφεϊκό Οξύ	$Y=2,45545e-05+0,807048X$	0,9997	51,4	155,8
16	7-Ο-γλυκοζίτης της Κερκεταγετίνης	$Y=-0,0195021+1,5577X$	0,9996	29,8	90,2
17	Δαϊδζίνη	$Y=0,000401047+0,0236351X$	0,9991	57,1	173,0
18	7-ο-γλουκουρονίδης της Δαϊδζεΐνης	$Y=0,000207851+0,125476X$	0,9991	52,0	157,4
19	Γλυσιτίνη	$Y=-4,05352+1140,78X$	0,9991	70,5	213,7
20	Ρουτίνη	$Y=0,0749463+3,00856X$	0,9996	102,2	309,5
21	Πολυδατίνη	$Y=-0,0120849+4,16746X$	0,9991	39,4	119,4
22	Λικουιριτίνη	$Y=-0,000116163+0,787945X$	0,9994	26,3	79,6
23	p-Κουμαρικό Οξύ	$Y=0,00253174+0,386656X$	0,9998	46,0	139,5
24	Ισοκερκετίνη	$Y=-9,13155e-05+0,0170022X$	0,9996	46,2	140,0
25	Σιναπικό Οξύ	$Y=0,00292367+0,00171603X$	0,9999	54,9	166,2
26	Ταξιφολίνη	$Y=-0,000156342+0,241233X$	0,9998	17,2	52,2
27	7-ο-γλουκουρονίδης της Γενιστεΐνης	$Y=-0,0350294+0,0875658X$	0,9999	47,1	142,7
28	Εσπεριδίνη	$Y=-0,000990985+0,200653X$	0,9999	27,2	82,3
29	Διοσμίνη	$Y=-0,000612353+0,15086X$	0,9998	12,5	37,7
30	Κερσιτρίνη	$Y=-0,000569888+0,0201204X$	0,9995	38,5	116,8
31	Σοφορικοσίδης	$Y=0,002776293+1,036527X$	0,9997	20,5	62,1
32	Γενιστίνη	$Y=-0,000522399+0,187494X$	0,9992	12,4	37,6
33	Κερκεταγετίνη	$Y=-0,0184825+1,55459X$	0,9993	61,1	185,2
34	4'-Ο-γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	$Y=0,220464+28,9004X$	0,9994	29,8	90,3
35	3',4',7- τριϋδροξυισοφλαβόνη	$Y=-0,00283483+0,618479X$	0,9991	21,8	65,9
36	Φλοριντζίνη	$Y=-0,011024+1,32396X$	0,9991	32,4	98,2
37	Σεκοϊσολαρισιρεσινόλη	$Y=0,00211407+0,247818X$	0,9988	98,8	299,4
38	Πελαργονιδίνη	$Y=-0,119113302+10,7511356X$	0,9995	23,3	70,5
39	4',6,7- τριϋδροξυισοφλαβόνη	$Y=-0,00213213+0,379464X$	0,9984	1,8	5,5
40	Μυρισετίνη	$Y=-0,00277692+0,21372X$	0,9992	67,1	203,2
41	Λαρισιρεσινόλη	$Y=0,0036846+0,00281203X$	0,9999	42,6	129,1
42	Ονονίνη	$Y=-0,00378502+0,19401X$	0,9999	20,8	62,9

No.	Φυτοοιστρογόνα	Εξίσωση Καμπύλης Βαθμονόμησης	R ²	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
43	7-O-D-Γλυκοζίτης της Καλυκοσίνης	$Y = -0,000130129 + 0,0799105X$	0,9996	21,8	66,2
44	Ρεσβερατρόλη	$Y = 0,00125676 + 0,00646586X$	0,9992	120,5	365,1
45	Δαϊντζεΐνη	$Y = -0,000638938 + 2,11645X$	0,9995	51,3	155,3
46	Λικουϊριτιγενίνη	$Y = 0,0106373 + 0,516127X$	0,9997	77,4	234,7
47	Εριοδικτυόλη	$Y = -0,00580681 + 0,335251X$	0,9996	23,6	71,6
48	Καλυκοσίνη	$Y = -0,0561721 + 5,79216X$	0,9998	22,2	67,3
49	Γλυσιτεΐνη	$Y = -0,000280969 + 2,77789X$	0,9994	10,7	32,5
50	Κερκετίνη	$Y = 0,000893219 + 0,280044X$	0,9995	17,9	54,3
51	Λουτεολίνη	$Y = 0,000771555 + 1,10749X$	0,9991	20,6	62,3
52	Σισσοτρίνη	$Y = -0,00038752 + 0,0815812X$	0,9996	33,8	102,3
53	Ματαΐρεσινόλη	$Y = 0,00292574 + 0,0239047X$	0,9992	72,2	218,9
54	Φλορετίνη	$Y = -0,000383945 + 1,55783X$	0,9997	20,6	62,3
55	Εκουόλη	$Y = -0,000448591 + 0,000405631X$	0,9991	1681,4	5095,2
56	Γενιστεΐνη	$Y = 0,0236043 + 0,993835X$	0,9991	18,1	54,8
57	Απιγενίνη	$Y = -0,000697875 + 1,44417X$	0,9995	8,7	26,4
58	Κουμεστρόλη	$Y = 0,000117777 + 0,39815X$	0,9995	4,0	12,1
59	Εσπερετίνη	$Y = -0,00283134 + 2,37119X$	10,000	13,8	42,0
60	Καμφερόλη	$Y = 0,00954223 + 0,0127002X$	0,9999	15,0	45,5
61	Διοσμετίνη	$Y = -0,0358838 + 5,72414X$	0,9993	53,9	163,3
62	Ισοραμνετίνη	$Y = 3,31994e-05 + 0,0163076X$	0,9991	47,5	144,0
63	Ισολικουϊριτιγενίνη	$Y = -0,000802473 + 1,59052X$	0,9996	13,7	41,4
64	Φορμονονετίνη	$Y = 0,00594119 + 2,83806X$	0,9992	30,5	92,4
65	Ραμνετίνη	$Y = -2,61552e-005 + 0,0153129X$	0,9990	13,3	40,3
66	Βιοχανίνη Α	$Y = 0,000605632 + 3,02904X$	0,9995	11,0	33,2
67	Ξανθοχουμόλη	$Y = -0,00111669 + 0,00335894X$	0,9999	81,4	246,6



Εικόνα 22 Χρωματογράφηματα των προτύπων φυτοοιστρογόνων.

4.2.2. Προσδιορισμός Επαναληψιμότητας, Ανάκτησης και Φαινομένου Μήτρας (Repeatability, Recovery and Matrix Effect)

Η επαναληψιμότητα της αναλυτικής μεθόδου ελέγχθηκε επαναλαμβάνοντας εις τριπλούν ($n=3$) την ανάλυση των πρότυπων διαλυμάτων συγκέντρωσης 250ng/mL κατά τη διάρκεια της ίδιας ημέρας. Με τη διαδικασία αυτή ελέγχθηκε η εντός της ημέρας ακρίβεια της μεθόδου (intra-day). Με αντίστοιχο τρόπο ελέγχθηκε η πιστότητα της ανάλυσης κατά τη διάρκεια τριών συνεχόμενων ημερών (inter-day). Η τυπική απόκλιση (RSD%) που προσδιορίστηκε και στους δυο προσδιορισμούς χρησιμοποιήθηκε για να εκφράσει την επαναληψιμότητα.

Η ανάκτηση (recovery) υπολογίστηκε για κάθε αναλύτη με προσθήκη του σε δείγματα για τρία διαφορετικά επίπεδα συγκέντρωσης (χαμηλό, μεσαίο και υψηλό). Για κάθε συγκέντρωση ο προσδιορισμός έγινε εις τριπλούν και στη συνέχεια προσδιορίστηκαν οι τιμές που προέκυψαν από την ανάλυση και συγκρίθηκαν με τη θεωρητική τιμή της συγκέντρωσης, δηλαδή την αναμενόμενη τιμή. Αναλυτικότερα, οι ανακτήσεις προσδιορίστηκαν για τις συγκεντρώσεις 70, 700 και 1200 ng/mL για όλους τους αναλύτες-στόχους εκτός της εκουόλης στην οποία η ανάκτηση έγινε για δύο μόνο επίπεδα συγκέντρωσης (8μg/mL και 11μg/mL), λόγω της χαμηλής της ευαισθησίας. Για όλες τις ενώσεις-στόχους, οι τιμές ανάκτησης που υπολογίστηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 9.

Μια τελευταία -πολύ σημαντική- παράμετρος στην ανάλυση με φασματομετρία μαζών αφορά το φαινόμενο μήτρας (ME), η αξιολόγηση της οποίας είναι απαραίτητη για μια πιο ρεαλιστική αξιολόγηση των δειγμάτων. Η πλέον γνωστή και ευρύτερα χρησιμοποιούμενη τεχνική διόρθωσης του φαινομένου αυτού αφορά τη χρήση εσωτερικού προτύπου. Για το σκοπό αυτό στην παρούσα διατριβή ως εσωτερικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε το μόριο της 2-(4-χλωροφαινυλο)-μηλοναλδεΐδης και η εξίσωση (3) για τον υπολογισμό των τιμών του ME.

Πίνακας 9 Οι τιμές των ανακτήσεων, επαναληψιμότητας και φαινομένων μήτρας (ME) των αναλυτών που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο που αναπτύχθηκε στη διατριβή.

No.	Φυτοοιστρογόνα	Ανάκτηση			Επαναληψιμότητα		ME (%)
		70ppb	700ppb	1200ppb	intra-day	inter-day	
1	Νεοχλωρογενικό Οξύ	119,9-126,2	110,4-124,7	93,4-111,7	16,2	18,1	-32,9
2	Γαλλικό Οξύ	97,3-115,9	84,9-101,5	78,8-110,5	0,5	10,8	8,0
3	Πελαργονίνη	99,3-124,8	95,6-142,5	90,1-101,9	1,1	2,2	12,8
4	Γαλλοκατεχίνη	98,9-99,0	96,2-123,7	76,4-100,9	19,8	20	11,6
5	Υδροξυτυροσόλη	65,5-76,8	99,5-126,2	121,8-128,1	5,3	8	3,6
6	Προκυανιδίνη B1	65,1-68,8	81,5-99,3	80,1-97,6	4,3	3,9	7,5
7	Χλωρογενικό Οξύ	92,7-107,1	98,4-124,10	81,3-97,4	7,3	10,2	3,2
8	Πρωτοκατεχικό Οξύ	68,1-75,6	97,7-100,7	63,8-74,2	6,1	5,6	-41,4
9	Επιγαλλοκατεχίνη	133,0-137,8	97,9-119,1	107,4-133,4	7,4	9,9	13,8
10	Πουεραρίνη	91,5-122,2	106,4-123,6	84,2-108,8	9,4	16,9	-24,9
11	Προκυανιδίνη B2	87,0-93,6	98,5-122,2	88,5-106,9	3,2	6,7	-7,1
12	Κατεχίνη	99,2-120,4	103,3-129,1	89,4-122,7	10,1	17,2	1,2
13	Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	113,6-139,2	84,0-99,2	96,6-108,5	11,3	25,7	-5,3
14	Επικατεχίνη	93,3-120,10	106,2-117,4	102,6-118,3	12,1	13,6	-25,6
15	Καφεϊκό Οξύ	76,5-95,1	110,6-125,3	99,7-112,9	13,8	14,5	-19,9
16	7-Ο-γλυκοζίτης της Κερκεταγετίνης	86,9-103,0	99,0-118,8	110,9-115,6	9,5	11	-29,0
17	Δαϊδζίνη	88,2-124,6	75,2-102,6	80,0-104,8	1,9	4,8	0,3
18	7-ο-γλουκουρονίδης της Δαϊδζεΐνης	79,4-84,6	104,3-123,6	87,9-116,8	17,7	20	-7,0
19	Γλυσιτίνη	85,0-98,0	99,7-123,8	75,4-98,0	7	8,1	-1,1
20	Ρουτίνη	80,6-126,2	95,8-110,7	81,7-123,0	14,3	17,7	2,7
21	Πολυδατίνη	70,1-80,3	94,2-121,4	64,8-97,7	8,1	10,3	21,2
22	Λικουιριτίνη	86,1-97,5	112,7-122,2	85,8-117,9	4,6	8,2	-10,9
23	p-Κουμαρικό Οξύ	79,6-96,4	92,2-125,2	76,4-86,3	10,9	15	-24,7
24	Ισοκερκετίνη	75,3-90,9	98,5-109,7	106,5-133,9	3,2	5,2	2,3
25	Σιναπικό Οξύ	78,9-89,8	85,5-96,9	80,2-85,8	7,2	12,6	-7,8
26	Ταξιφολίνη	81,2-114,2	120,6-137,5	83,5-110,6	2,7	10,9	1,5
27	7-ο-γλουκουρονίδης της Γενιστεΐνης	78,8-83,2	89,4-96,3	111,1-124,6	7	19	-6,3
28	Εσπεριδίνη	78,7-89,3	83,1-96,4	70,3-101,5	10,8	22,2	9,1
29	Διοσμίνη	77,0-87,7	82,5-96,4	81,1-112,7	5,9	10,1	5,8
30	Κερσιτρίνη	100,3-113,6	97,5-105,4	90,0-112,9	6,3	4,7	-30,5
31	Σοφορικοσίδης	93,5-127,5	104,5-119,0	81,1-100,3	11,1	14,5	1,1
32	Γενιστίνη	78,0-106,3	91,0-98,6	98,4-116,8	6,8	8,2	45,2
33	Κερκεταγετίνη	80,8-88,3	104,2-128,7	93,0-112,8	7,7	19,3	3,9
34	4'-Ο-γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	86,9-103,0	99,2-116,8	83,7-117,9	7,2	12,1	-15,4
35	3',4',7- τριϋδροξυισοφλαβόνη	82,3-101,4	75,3-83,5	108,3-114,2	8,1	8,7	-0,9

No.	Φυτοοιστρογόνα	Ανάκτηση			Επαναληψιμότητα		ME (%)
		70ppb	700ppb	1200ppb	intra-day	inter-day	
36	Φλοριντζίνη	105,5-119,6	111,7-113,7	82,0-119,5	0,2	0,04	-2,2
37	Σεκοϊσολαρισεσινόλη	78,5-86,5	105,-122,7	91,2-126,1	11,5	20	1,1
38	Πελαργονιδίνη	88,8-91,6	98,1-108,2	74,9-101,1	11	14,7	7,2
39	4',6,7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	75,3-102,8	76,0-82,7	94,2-116,7	4,7	19,8	-4,0
40	Μυρισετίνη	106,5-124,0	104,1-126,3	95,0-114,3	11,4	13,7	24,6
41	Λαρισερεσινόλη	73,5-78,5	72,3-80,7	70,8-75,4	18,8	19,6	5,6
42	Ονονίνη	92,4-113,5	99,0-100,1	89,3-109,6	5,6	16,2	5,1
43	7-O-D-Γλυκοζίτης της Καλυκοσίνης	74,9-86,4	103,3-126,4	99,9-117,4	15,6	16,9	-15,0
44	Ρεσβερατρόλη	73,3-80,9	72,3-81,9	70,3-78,6	17,8	25,5	-6,1
45	Δαϊντζεΐνη	96,4-101,2	108,9-111,2	90,9-110,9	7,6	10,9	-7,7
46	Λικουϊριτιγενίνη	79,3-89,8	98,6-102,2	98,7-123,7	16	18,3	14,6
47	Εριοδικτυόλη	108,8-124,9	98,0-118,10	90,3-97,7	5,6	8,8	22,4
48	Καλυκοσίνη	91,2-124,8	88,7-107,1	88,2-124,4	0,3	9	-1,4
49	Γλυσιτεΐνη	95,5-109,1	93,9-111,0	83,9-100,7	11	7,9	1,6
50	Κερκετίνη	103,2-123,6	99,5-115,5	120,4-123,3	6,9	5,4	7,2
51	Λουτεολίνη	79,8-86,3	120,0-133,7	98,8-120,2	9,9	14,2	4,1
52	Σισσοτρίνη	109,4-115,5	98,4-103,3	99,8-110,1	17,1	20	1,9
53	Ματαΐρεσινόλη	83,5-88,5	110,-115,7	95,2-116,1	5,1	6,3	-15,4
54	Φλορετίνη	79,2-97,2	88,5-119,6	79,8-93,4	6	5,1	40,8
55	Εκουόλη	-	90,6-115,5 (8ppm)	95,3-104,5 (11ppm)	18,8	19,7	22,9
56	Γενιστεΐνη	109,1-111,9	82,7-108,0	98,3-102,0	8,4	10,7	10,2
57	Απιγενίνη	109,8-116,9	85,7-108,0	115,8-124,0	5,3	18,7	1,7
58	Κουμεστρόλη	80,0-95,2	104,8-123,8	101,2-110,1	4,8	4,1	-17,1
59	Εσπερετίνη	103,5-105,7	79,9-93,1	98,8-100,9	5,1	7,7	-7,9
60	Καμφερόλη	99,8-108,9	84,1-98,8	96,3-99,9	3,5	7,1	-11,5
61	Διοσμετίνη	81,2-94,4	99,9-100,8	99,8-100,3	13,8	3,3	-7,8
62	Ισοραμνετίνη	70,6-82,6	131,2-150,3	105,6-115,7	6,2	12,7	10,5
63	Ισολικουϊριτιγενίνη	100,2-118,4	103,1-118,7	90,3-117,2	16,6	15,8	2,7
64	Φορμονονετίνη	77,9-85,0	114,9-124,5	102,9-109,5	4,7	9,3	-28,3
65	Ραμνετίνη	94,9-99,6	93,9-105,5	105,9-135,1	4,9	13,2	7,1
66	Βιοχανίνη Α	87,9-95,4	99,2-118,8	95,3-100,7	11,4	18,9	7,2
67	Ξανθοχουμόλη	85,2-106,2	110,6-127,5	128,8-137,0	9,1	15,3	-26,2

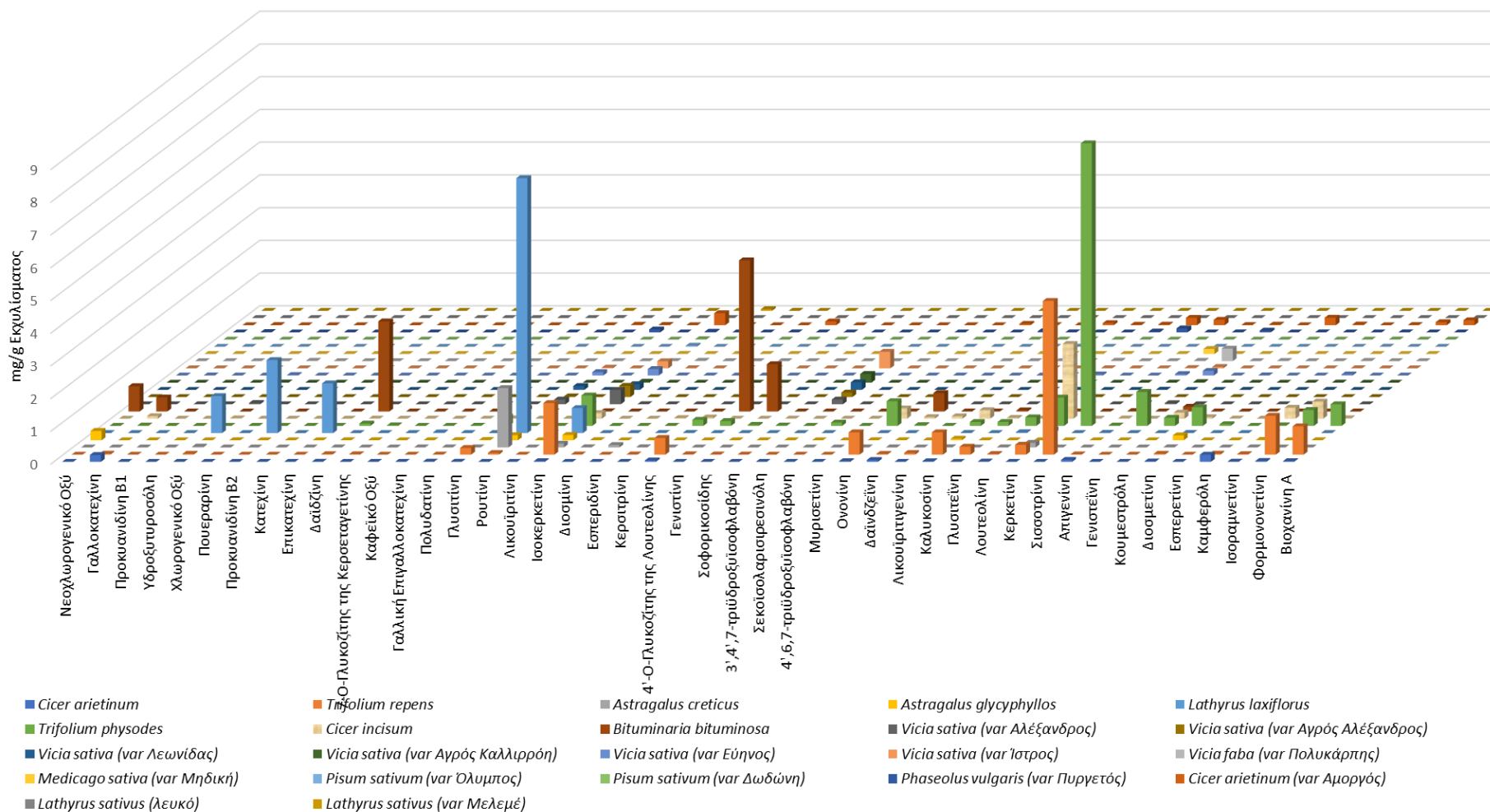
4.3. Ποσοτικοποίηση των Φυτοοιστρογόνων

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό του περιεχομένου των φυτοοιστρογόνων στα φυτικά δείγματα της διατριβής, τα μεθανολικά εκχυλίσματα των αντίστοιχων φυτικών ιστών αραιώθηκαν με προσθήκη ποσότητας μεθανόλης και προστέθηκε εσωτερικό πρότυπο σε συγκέντρωση 0,2μg/mL. Ακολούθησε η εφαρμογή της

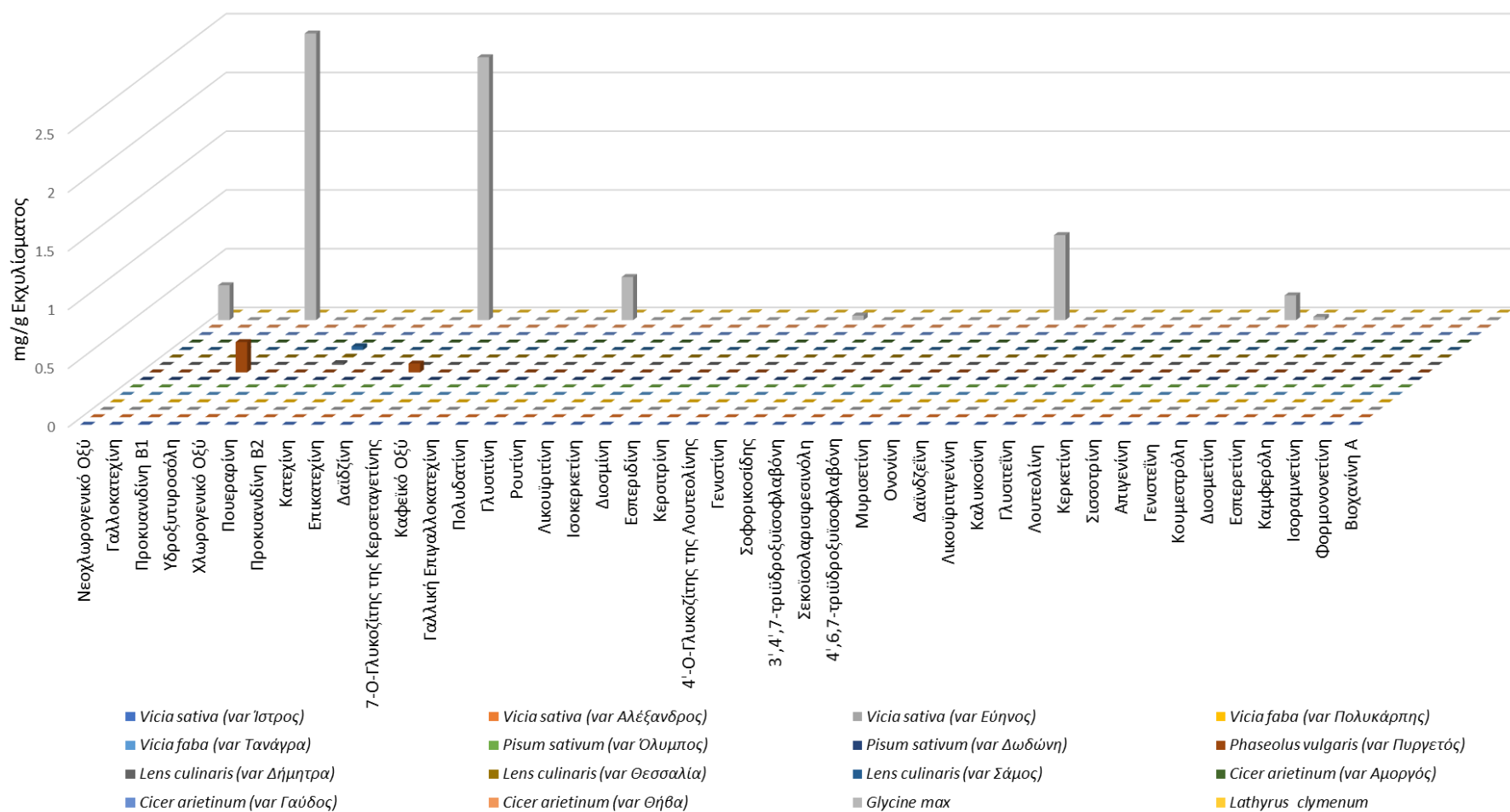
αναλυτικής μεθόδου που αναπτύχθηκε στο πλαίσιο διενέργειας της διατριβής. Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε εις τριπλούν και τα αποτελέσματα που προέκυψαν σχετικά με την περιεκτικότητα των εκχυλισμάτων σε φυτοοιστρογόνα παρουσιάζονται στα διαγράμματα των Εικόνων 34 και 35 και εμπεριέχονται αναλυτικά στους πίνακες του Παραρτήματος.

Όσον αφορά τα μεθανολικά εκχυλίσματα των φυτικών ιστών, τα άγρια είδη *T. physodes*, *L. laxiflorus*, *B. bituminosa* και το καλλιεργούμενο *T. repens* προσδιορίστηκε ότι διαθέτουν το πλουσιότερο φυτοοιστρογονικό περιεχόμενο. Συγκεκριμένα, το *T. physodes* βρέθηκε να περιέχει σε υψηλότερη συγκέντρωση σισσοτρίνη, ακολουθούμενη από περίπου ίδιες συγκεντρώσεις των φυτοοιστρογόνων γενιστεΐνη, ισοκερκετίνη και κερκετίνη. Όμως και το *T. repens* που ανήκει στο ίδιο είδος παρατηρείται ότι περιέχει ως πλέον άφθονο φυτοοιστρογόνο την σισσοτρίνη και ακολουθούν τα μόρια ισοκερκετίνη, φορμονονετίνη και βιοχανίνη Α. Αντίστοιχα, το μεθανολικό εκχύλισμα του φυτού *L. laxiflorus* περιέχει σε μεγαλύτερη συγκέντρωση τα φυτοοιστρογόνα ρουτίνη, προκυανιδίνη Β2, χλωρογενικό οξύ και επικατεχίνη, ενώ το εκχύλισμα του φυτού *B. bituminosa* περιέχει σε μεγαλύτερη ποσότητα τους γλυκοζίτες, γενιστίνη και δαϊδζίνη, και ακολουθούν τα μόρια σοφορικοσίδης και δαϊδζεΐνη. Από τα βελτιωμένα φυτά, η μεγαλύτερη ποικιλία και ποσότητα φυτοοιστρογόνων παρατηρείται στο φυτό *C. arientinum* (var. Αμοργός), το εκχύλισμα του οποίου περιέχει σε υψηλότερες συγκεντρώσεις ισοκερκετίνη, κερκετίνη, διοσμετίνη, σισσοτρίνη και βιοχανίνη Α. Τέλος, πλούσιες σε φυτοοιστρογόνα είναι οι ποικιλίες του *V. sativa* που περιέχουν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις κυρίως ισοκερκετίνη, σεκοΐσολαρισιρεσινόλη, ρουτίνη και γενιστεΐνη.

Όσον αφορά τα σπέρματα που μελετήθηκαν στη διατριβή, τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φυτοοιστρογόνα αποδείχτηκε ότι διαθέτει η σόγια (*G. max*) που περιέχει υδροξυτυροσόλη, δαϊδζίνη, δαϊδζεΐνη, γλυσιτίνη και γενιστεΐνη. Ακολουθεί το φασόλι (*P. vulgaris*, var. Πυργετός) με υψηλές ποσότητες υδροξυτυροσόλης και δαϊδζίνης και ακολουθούν οι φακές (*L. culinaris*) με μεγαλύτερη ποσότητα και στις τρεις ποικιλίες να αναδεικνύεται η προκυανιδίνη Β2.



Εικόνα 23 Φυτοοιστρογονικό περιεχόμενο των μεθανολικών εκχυλισμάτων των φυτών.



Εικόνα 24 Φυτοοιστρογονικό περιεχόμενο των μεθανολικών εκχυλισμάτων των σπερμάτων ψυχανθών.

5. Βιβλιοθήκη Φασμάτων Μάζας Φυτοιστρογόνων Υγρής Χρωματογραφίας

Η κατασκευή μιας βιβλιοθήκης φασμάτων μάζας των φυτοιστρογόνων που θα χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της παρουσίας φυτοιστρογόνων σε ποικίλα δείγματα με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας πραγματοποιήθηκε μέσω της απ' ευθείας έγχυσης των 74 προτύπων φυτοιστρογόνων (ξεχωριστά το καθένα) στον φασματογράφο μαζών. Στη συνέχεια, στη μέθοδο προστέθηκε η διαδικασία του χρωματογραφικού τους διαχωρισμού με υγρή χρωματογραφία (22min) με στόχο να αυξηθεί η ακρίβεια και η ευαισθησία της μεθόδου. Μετά την ανάπτυξη της χρωματογραφικής μεθόδου προστέθηκε στη βάση δεδομένων της βιβλιοθήκης ένα ακόμα φάσμα μάζας για το κάθε φυτοιστρογόνο που προέρχεται από την έγχυσή του μέσω χρωματογραφίας.

Ως στερεή φάση χρησιμοποιήθηκε η στήλη που χρησιμοποιήθηκε για τον ποσοτικό προσδιορισμό, δηλαδή η Fortis Technologies Ltd., C18 (150x2,1mm, 3μm). Η θερμοκρασία της ήταν 30°C και η θερμοκρασία στην οποία διατηρούνταν τα δείγματα πριν από την ένεση ήταν 20°C. Ο όγκος της ένεσης ήταν 10μL και ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν οι διαλύτες Α (ακετονιτρίλιο) και Β (νερό με 0,1% φορμικό οξύ). Το βαθμιδωτό σύστημα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε στη μέθοδο ήταν το παρακάτω: 0-2min B: 90%; 2-16,7min B: 90→0%; 16,7-18,7min, B: 0%; 18,8-22min, B: 90% για εξισορρόπηση της στήλης. Η ροή του διαλύτη ρυθμίστηκε στα 300μL/min. Οι παράμετροι που αφορούν την μάζα ρυθμίστηκαν ως εξής: Ενέργεια σύγκρουσης (Collision Energy): 15eV; Πίεση αερίου σύγκρουσης (Ar): 1,5mTorr; Θερμοκρασία τριχοειδούς σωλήνα: 300°C; Πίεση κύριου (sheath) και βοηθητικού (auxiliary) αερίου (N₂): 35 και 10Arb, αντίστοιχα; Spray Voltage (+/-): 3500V. Τέλος, τα δεδομένα της ανάλυσης ανιχνεύτηκαν με full scan σε centroid. Το πρόσημο ιονισμού του κάθε φυτοιστρογόνου, καθώς και ο χρόνος έκλουσής του παρουσιάζονται στον Πίνακα 10.

Πίνακας 10 Τα φυτοοιστρογόνα που περιέχονται στην βιβλιοθήκη των φασμάτων, ο ιοντισμός και ο χρόνος έκλουσής τους με τη χρωματογραφική μέθοδο ποιοτικής ανάλυσης που αναπτύχθηκε.

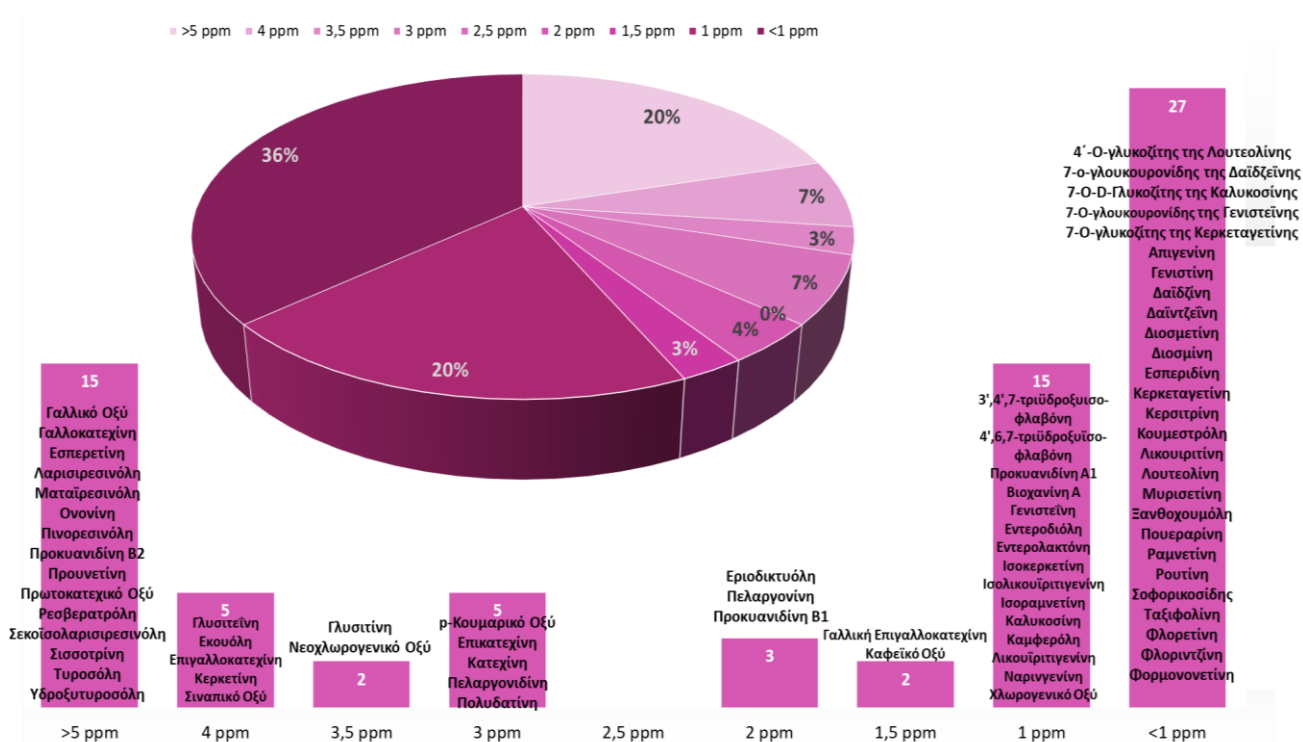
No.	Φυτοοιστρογόνο	RT (min)	Πρόσημο Ιονισμού
1	Πελαργονίνη	1,4	(+)
2	Τυροσόλη	1,8	(-)
3	Γαλλικό Οξύ	2,4	(-)
4	Γαλλοκατεχίνη	3,4	(-)
5	Υδροξυτυροσόλη	3,8	(-)
6	Νεοχλωρογενικό Οξύ	3,9	(-)
7	Προκυανιδίνη B1	4,4	(-)
8	Πρωτοκατεχικό Οξύ	4,7	(-)
9	Προκυανιδίνη B2	5,0	(-)
10	Επιγαλλοκατεχίνη	5,5	(-)
11	Χλωρογενικό Οξύ	5,7	(-)
12	Κατεχίνη	6,0	(-)
13	Πουεραρίνη	6,4	(-)
14	Επικατεχίνη	6,5	(-)
15	Καφεϊκό Οξύ	6,6	(-)
16	Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	6,6	(-)
17	7-O-γλυκοζίτης της Κερκεταγετίνης	7,1	(-)
18	7-o-γλουκουρονίδης της Δαϊδζεΐνης	7,2	(-)
19	Ρουτίνη	7,2	(-)
20	Γλυσιτίνη	7,2	(-)
21	Πολυδατίνη	7,3	(-)
22	Διοσμίνη	7,6	(-)
23	Εσπεριδίνη	7,7	(-)
24	p-Κουμαρικό Οξύ	7,7	(-)
25	Λικουιριτίνη	7,7	(-)
26	Δαϊδζίνη	7,8	(-)
27	Κερσιτρίνη	7,9	(-)
28	Σιναπικό Οξύ	7,9	(-)
29	Γενιστίνη	7,9	(-)
30	Ταξιφολίνη	8,0	(-)
31	Κερκετίνη	8,0	(-)
32	7-O-γλουκουρονίδης της Γενιστεΐνης	8,1	(-)
33	Φλοριντζίνη	8,2	(-)
34	4'-O-γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	8,3	(-)
35	Σοφορικοσίδης	8,4	(-)
36	Κερκεταγετίνη	8,5	(-)
37	Μυρισετίνη	8,6	(-)
38	Ισοκερκετίνη	8,8	(-)

No.	Φυτοοιστρογόνο	RT (min)	Πρόσημο Ιονισμού
39	4',6,7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	8,8	(-)
40	3',4',7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	8,9	(-)
41	Ρεσβερατρόλη	9,2	(-)
42	Προκυανιδίνη A1	9,2	(-)
43	Λαρισιρεσινόλη	9,2	(-)
44	Εντεροδιόλη	9,5	(-)
45	Λουτεολίνη	9,6	(-)
46	Εριοδικτυόλη	9,6	(-)
47	Δαϊντζεΐνη	9,7	(-)
48	Σισσοτρίνη	9,8	(-)
49	Λικουϊριτιγενίνη	10,0	(-)
50	Καλυκοσίνη	10,0	(-)
51	Πελαργονιδίνη	10,7	(-)
52	Απιγενίνη	10,7	(-)
53	Φλορετίνη	10,7	(-)
54	Ματαΐρεσινόλη	10,7	(-)
55	Διοσμετίνη	10,8	(-)
56	Καμφερόλη	10,9	(-)
57	Εσπερετίνη	10,9	(-)
58	Γενιστεΐνη	11,0	(-)
59	Κουμestρόλη	11,0	(-)
60	Ισοραμνετίνη	11,1	(-)
61	Εκουόλη	11,1	(-)
62	Εντερολακτόνη	11,2	(-)
63	7-O-D-Γλυκοζίτης της Καλυκοσίνης	11,7	(+)
64	Ισολικουϊριτιγενίνη	11,7	(-)
65	Φορμονονετίνη	11,8	(-)
66	Ραμνετίνη	11,8	(-)
67	Ναρινγενίνη	12,0	(-)
68	Προυνετίνη	13,3	(-)
69	Βιοχανίνη Α	13,3	(-)
70	Γλυσιτεΐνη	13,3	(-)
71	Ονονίνη	14,2	(-)
72	Ξανθοχουμόλη	15,0	(-)
73	Σεκοΐσολαρισιρεσινόλη	16,5	(-)
74	Πινореσινόλη	20,9	(-)

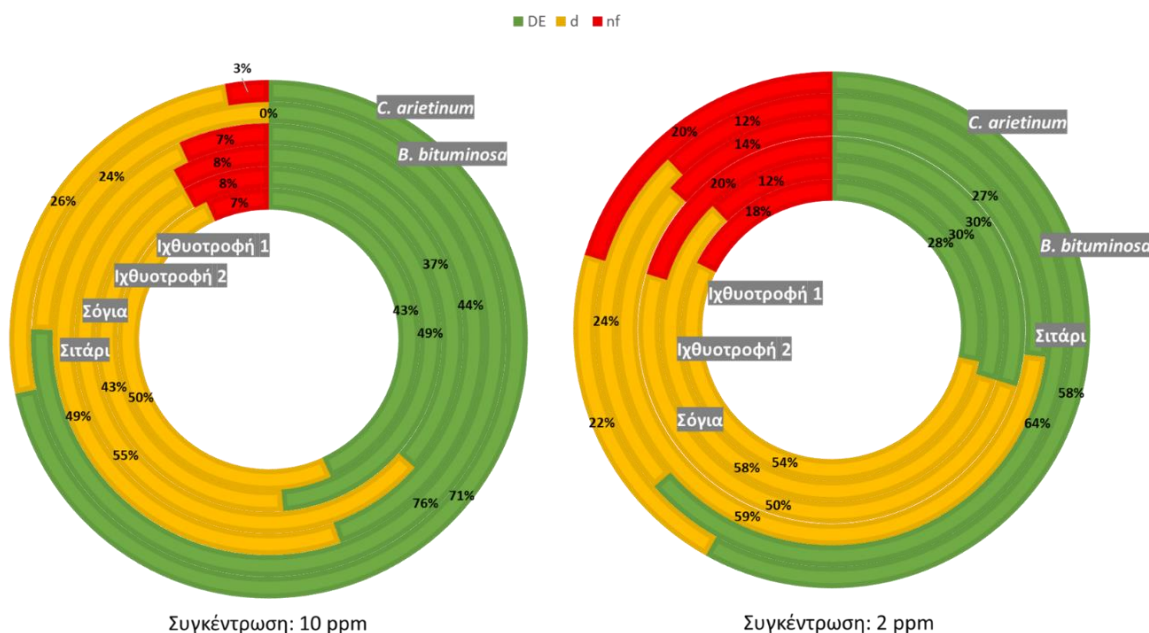
Για την επικύρωση της βιβλιοθήκης των φασμάτων αρχικά έγινε εκτίμηση των ελάχιστων ορίων ανίχνευσης των χημικών ενώσεων μέσω των καθαρών προτύπων τους. Τα σχετικά αποτελέσματα περιλαμβάνονται στην Εικόνα 36 στην οποία

δείχνεται ότι τα περισσότερα φυτοοιστρογόνα έχουν ελάχιστο όριο ανίχνευσης ≤ 2 ppm.

Στην συνέχεια ακολούθησε η προσθήκη των προτύπων σε διαφορετικά είδη δειγμάτων, με στόχο να προσδιοριστεί η δυνατότητα ανίχνευσής τους σε δύο επίπεδα συγκεντρώσεων, ένα χαμηλό (2ppm) και ένα υψηλό (10ppm). Για το σκοπό αυτό έγινε ανάλυση εκχυλισμάτων των φυτών *C. arietinum* και *B. bituminosa*, των σπερμάτων σόγιας και σιταριού καθώς και δύο ιχθυοτροφών. Σε πρώτη φάση αναλύθηκαν τα εκχυλίσματά τους χωρίς προσθήκη προτύπων και ακολούθησε η ανάλυση των δειγμάτων που περιείχαν και τα πρότυπα φυτοοιστρογόνα (spiked samples). Τα αποτελέσματα των δοκιμών αυτών παρουσιάζονται στην Εικόνα 37.



Εικόνα 25 Εκτίμηση των ελάχιστων ορίων ανίχνευσης των φυτοοιστρογόνων μέσω των καθαρών προτύπων με τη χρήση της βιβλιοθήκης φασμάτων.



Εικόνα 26 Τα ποσοστά των φυτοοιστρογόνων που ανιχνεύτηκαν σε κάθε περίπτωση. DE=determined (προσδιορισμός του φυτοοιστρογόνου με ποσοστό επιβεβαίωσης >70%), d=detected (προσδιορισμός του φυτοοιστρογόνου με ποσοστό επιβεβαίωσης <70%), nf: not found (δεν βρέθηκε).

6. Ποσοτικοποίηση Λιπαρών Οξέων

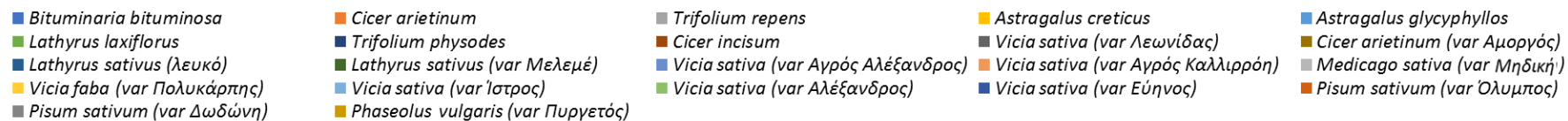
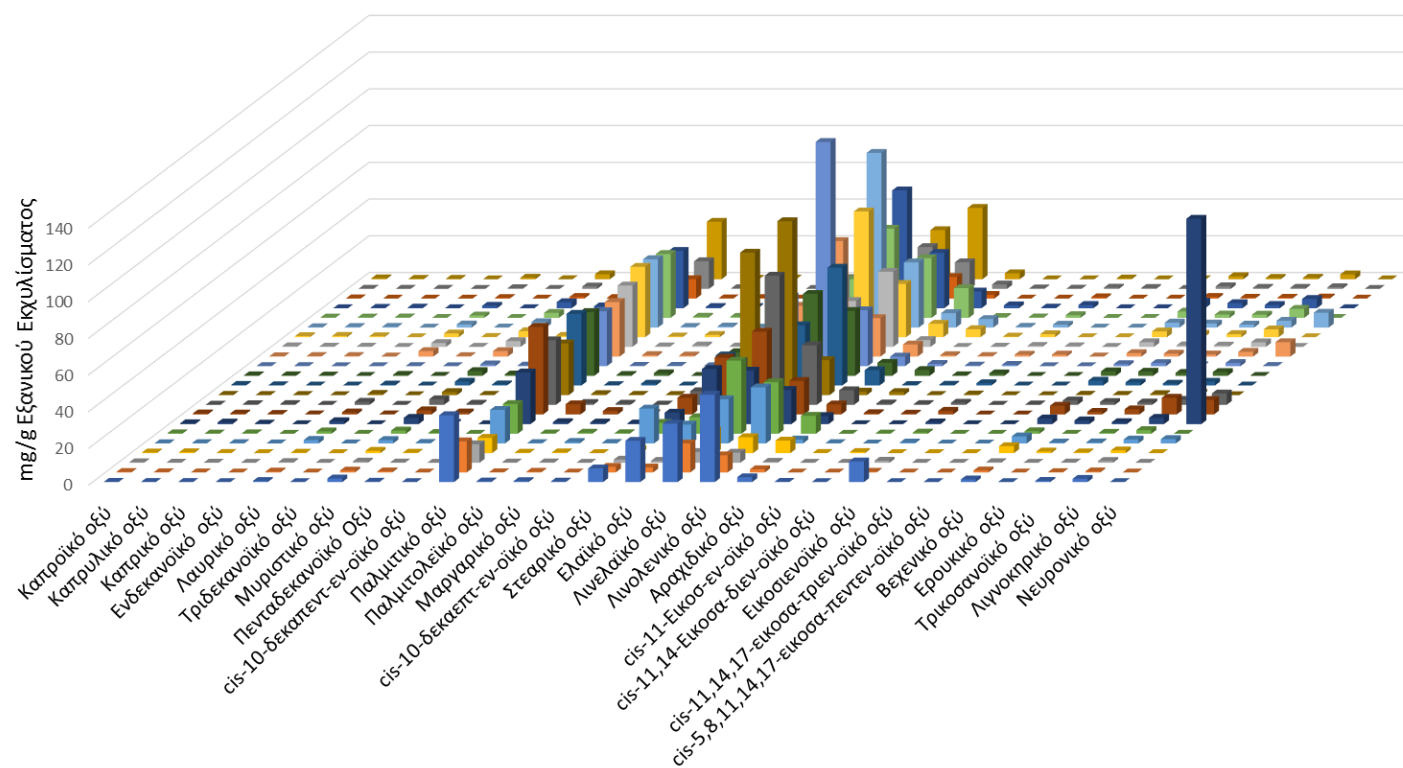
Τα λιπαρά οξέα των δειγμάτων προσδιορίστηκαν στο εξανικό εκχύλισμά τους. Τα οξέα βουτυρικό, μυριστολεϊκό, γ-λινολενικό, αραχιδονικό, cis-13,16-εικοσιδυοδιεν-οϊκό οξύ και (all-Z)-4,7,10,13,16,19-εικοσιδυο-εξανεν-οϊκό οξύ δεν ανιχνεύτηκαν σε κανένα από τα εξανικά εκχυλίσματα της διατριβής, ενώ τα οξέα ενδεκανοϊκό, cis-10-δεκαπεντ-εν-οϊκό, cis-11,14,17-εικοσα-τριεν-οϊκό και cis-5,8,11,14,17-εικοσαπεντεν-οϊκό δεν εντοπίστηκαν σε κανένα εκχύλισμα σπέρματος.

Από τα φυτά της διατριβής, το πλουσιότερο σε λιπαρά οξέα ανεδείχθη το *T. physodes* που περιέχει υψηλά ποσοστά νευρονικού οξέος και των οξέων λινελαϊκό, ελαϊκό και παλμιτικό. Μεγάλη περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα εμφανίζουν και τα βελτιωμένα είδη *V. sativa* και κυρίως οι ποικιλίες Ίστρος και Αγρός Αλέξανδρος ακολουθούμενη από τις ποικιλίες Αμοργός του *C. arietinum* και Πολυκάρπης του *V. faba*. Στα είδη αυτά σε μεγαλύτερη συγκέντρωση εμφανίζονται τα λιπαρά οξέα λινελαϊκό, ελαϊκό, λινολενικό και παλμιτικό, με διαφορετικές περιεκτικότητες το καθένα.

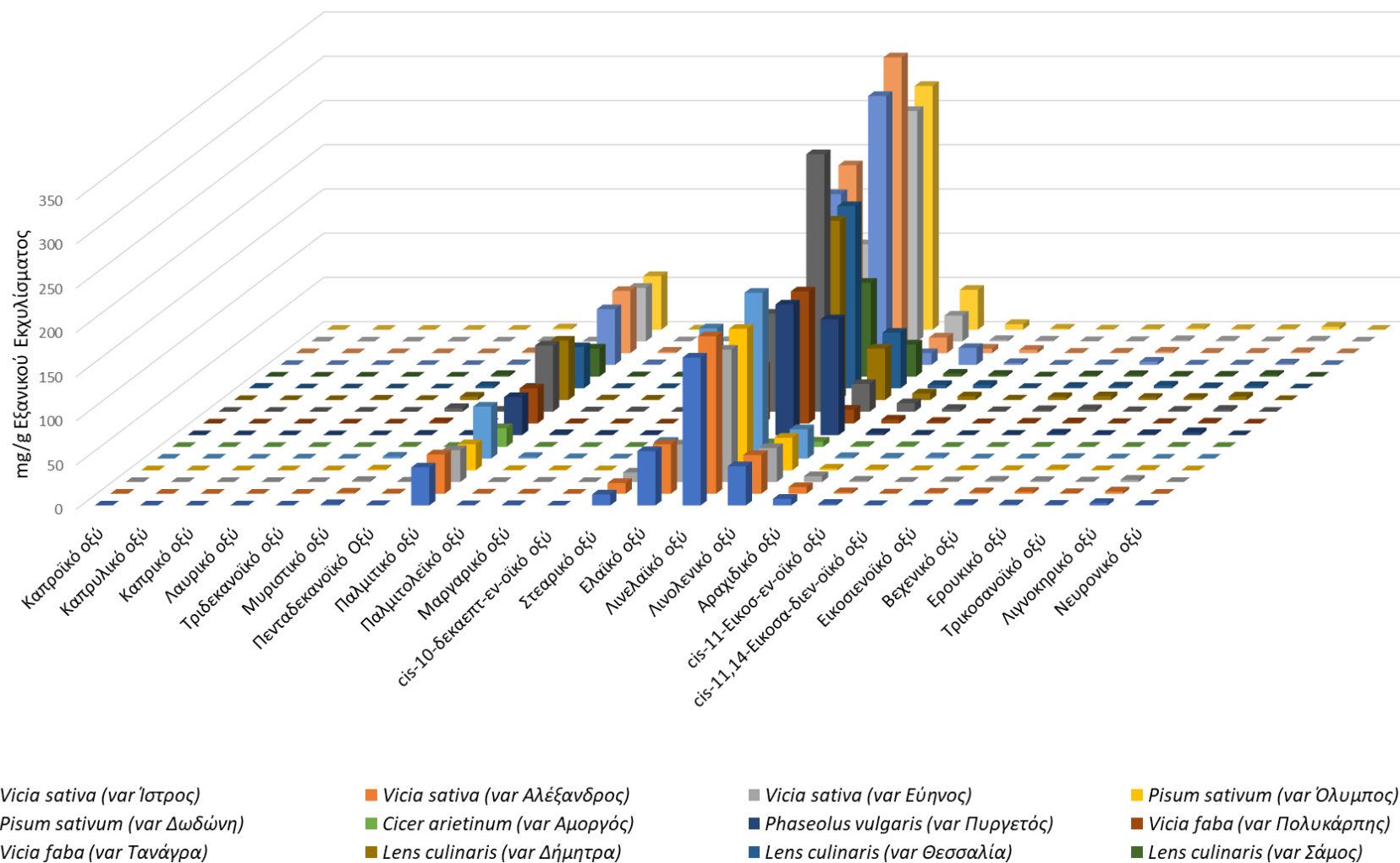
Στα σπέρματα, τα *C. arientinum* (var. Θήβα, Γαύδος) και *V. faba* (var. Τανάγρα) είχαν τη μεγαλύτερη συνολική περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα, ενώ σε όλους τα σπέρματα τα συνηθέστερα λιπαρά οξέα ήταν τα λινελαϊκό, ελαϊκό, παλμιτικό και λινολενικό.

Πίνακας 11 Εξίσωση καμπύλης βαθμονόμησης και συντελεστής συσχέτισης (R^2) για τα λιπαρά οξέα που προσδιορίστηκαν ποσοτικά

No.	Λιπαρά Οξέα	Εξίσωση Καμπύλης Βαθμονόμησης	R^2
1	Βουτυρικό οξύ	$y=1,81190x+5,43776$	0,9990
2	Καπροϊκό οξύ	$y=2,19335x-0,32585$	0,9990
3	Καπρυλικό οξύ	$y=2,45992x+1,83230$	0,9992
4	Καπρικό οξύ	$y=2,62696x+4,62271$	0,9990
5	Ενδεκανοϊκό οξύ	$y=2,72111x+2,18465$	0,9990
6	Λαυρικό οξύ	$y=2,76115x+3,92115$	0,9994
7	Τριδεκανοϊκό οξύ	$y=2,70616x+3,78551$	0,9992
8	Μυριστικό οξύ	$y=2,62566x+11,43893$	0,9991
9	Μυριστολεϊκό οξύ	$y=2,62292x+5,60554$	0,9991
10	Πενταδεκανοϊκό Οξύ	$y=2,58981x+6,88948$	0,9990
11	cis-10-δεκαπεντ-εν-οϊκό οξύ	$y=2,60193x+6,53148$	0,9990
12	Παλμιτικό οξύ	$y=2,59396x+17,49106$	0,9992
13	Παλμιτολεϊκό οξύ	$y=2,57637x+6,01822$	0,9992
14	Μαργαρικό οξύ	$y=2,52989x+5,61680$	0,9990
15	cis-10-δεκαεπτ-εν-οϊκό οξύ	$y=2,58709x+5,60661$	0,9990
16	Στεαρικό οξύ	$y=2,58183x+11,61671$	0,9993
17	Ελαϊκό οξύ	$y=2,57653x+16,92763$	0,9992
18	Λινελαϊκό οξύ	$y=2,50695x+6,21919$	0,9993
19	γ-Λινολενικό οξύ	$y=2,43641x+3,36202$	0,9994
20	Λινολενικό οξύ	$y=2,44261x+3,05237$	0,9993
21	Αραχιδικό οξύ	$y=2,61615x+5,38288$	0,9994
22	cis-11-Εικοσ-εν-οϊκό οξύ	$y=2,57952x+3,58500$	0,9995
23	cis-11,14-Εικοσα-διεν-οϊκό οξύ	$y=2,50940x+1,96961$	0,9990
24	Εικοσιενοϊκό οξύ	$y=1,84368x-8,40315$	0,9991
25	cis-11,14,17-εικοσα-τριεν-οϊκό οξύ	$y=1,42617x-11,10622$	0,9983
26	cis-5,8,11,14,17-εικοσα-πεντεν-οϊκό οξύ	$y=2,38905x+4,48371$	0,9991
27	Αραχιδονικό οξύ	$y=2,28699x+4,24675$	0,9991
28	Βεχενικό οξύ	$y=3,70587x+8,15731$	0,9990
28	Ερουκικό οξύ	$y=2,52971x+4,69676$	0,9991
30	cis-13,16-Εικοσιδυο-διεν-οϊκό οξύ	$y=2,41700x+6,27324$	0,9994
31	Τρικοσανοϊκό Οξύ	$y=2,54624x+1,88253$	0,9997
32	Λιγνοκηρικό οξύ	$y=2,51159x+3,94197$	0,9991
33	(all-Z)-4,7,10,13,16,19-Εικοσιδυο-εξανεν-οϊκό οξύ	$y=3,26195x-8,77566$	0,9982
34	Νευρονικό οξύ	$y=1,30621x-9,56931$	0,9982



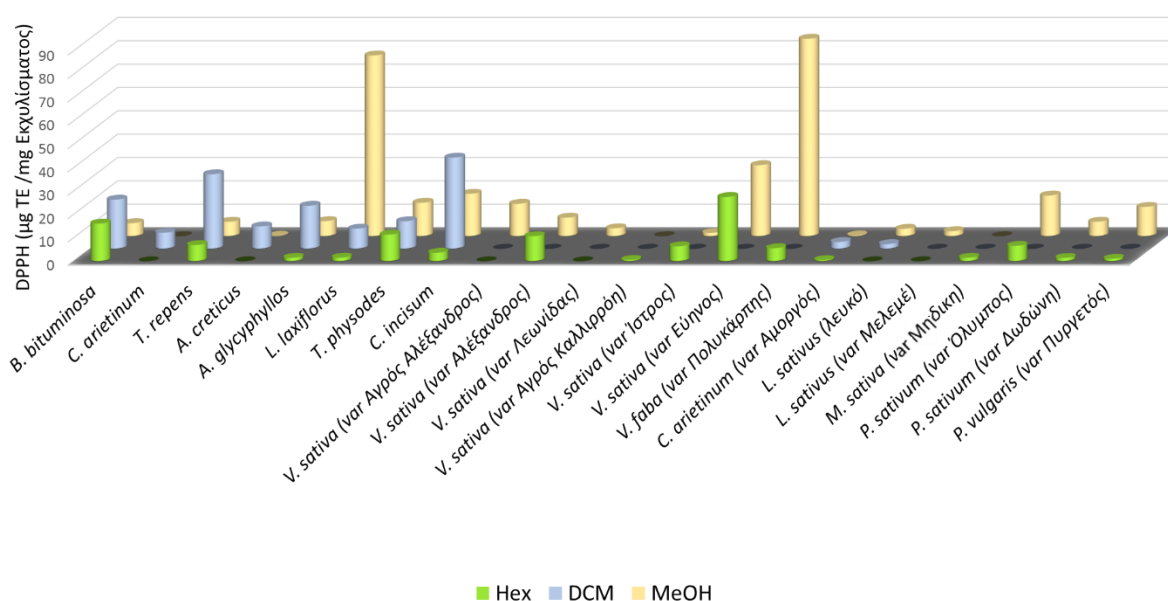
Εικόνα 27 Περιεκτικότητα λιπαρών οξέων στο εξανικό εκχύλισμα των φυτών.



Εικόνα 28 Περιεκτικότητα λιπαρών οξέων στο εξανικό εκχύλισμα των σπερμάτων ψυχανθών.

7. Προσδιορισμός Αντιοξειδωτικής Ικανότητας

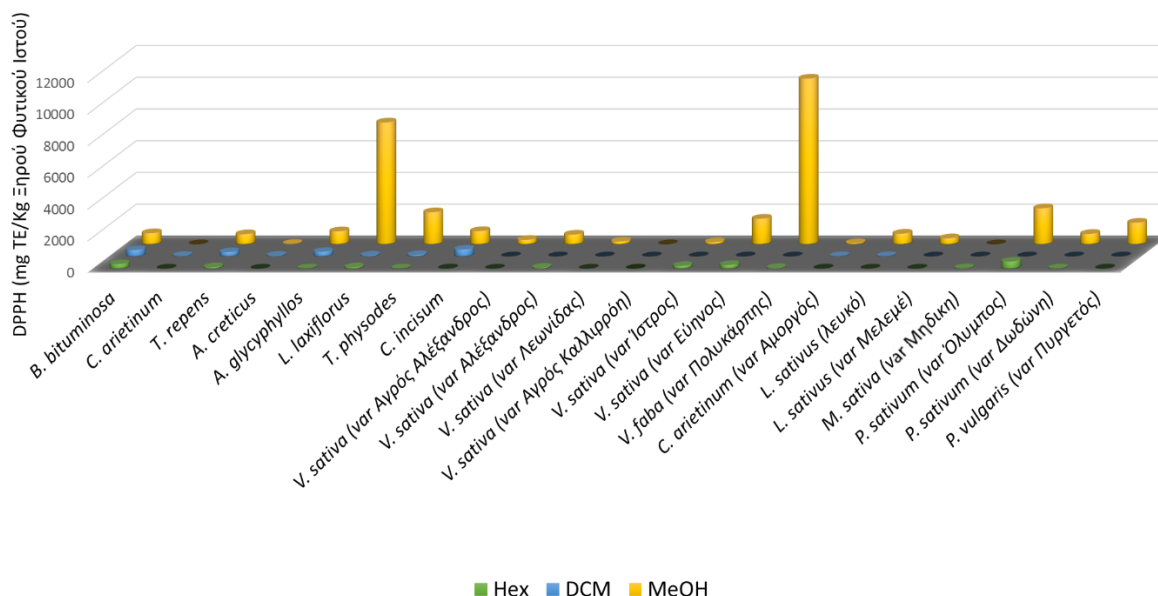
Η αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων αξιολογήθηκε με τις μεθόδους DPPH και FRAP. Οι δύο αυτές μέθοδοι διαφέρουν ως προς τον μηχανισμό τους, αφού στην πρώτη η ελεύθερη ρίζα DPPH μετατρέπεται στη σταθερή της μορφή με την απόδοση ενός ηλεκτρονίου στα αντιοξειδωτικά μόρια των εκχυλισμάτων, ενώ η μέθοδος FRAP σχετίζεται με την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων μετρώντας την ικανότητα των αντιοξειδωτικών μορίων που εμπεριέχουν να ανάγουν το ιόν Fe^{3+} σε Fe^{2+} μέσω της μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου από τα εκχυλίσματα. Η διαφορετικότητα των μηχανισμών απεικονίζεται χαρακτηριστικά και στα σχετικά αποτελέσματα.



Εικόνα 29 Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων των φυτών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο DPPH.

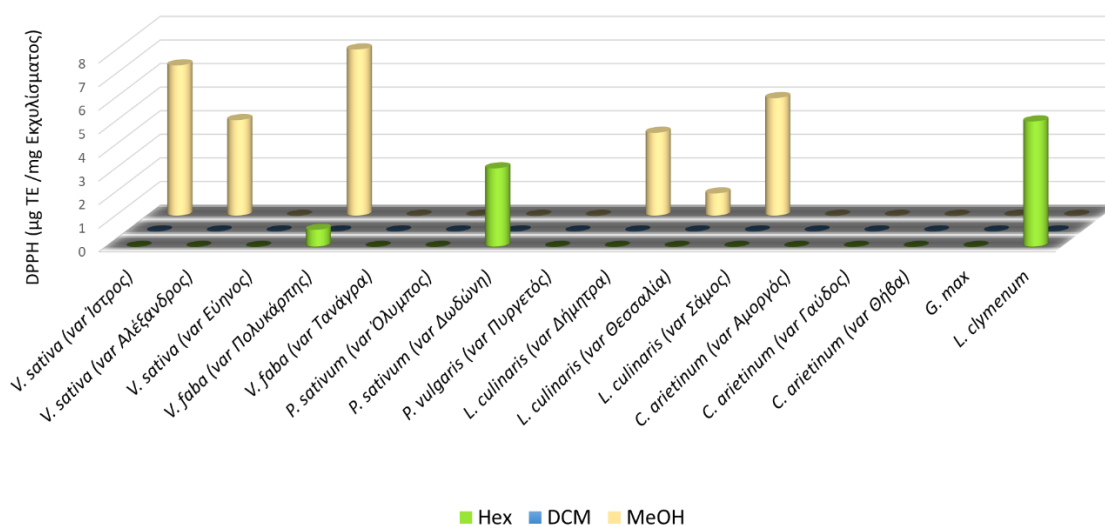
Στο διάγραμμα της Εικόνας 40, παρατηρείται ότι τα εκχυλίσματα των φυτών που εμφανίζουν την καλύτερη αντιοξειδωτική δράση με τη μέθοδο DPPH είναι τα μεθανολικά, με δραστικότερα τα εκχυλίσματα των φυτών *L. laxiflorus* και *V. faba*

(Πολυκάρπης). Το αποτέλεσμα αυτό είναι περισσότερο εμφανές στην Εικόνα 41, στην οποία έχει γίνει αναγωγή σε ξηρό βάρος.

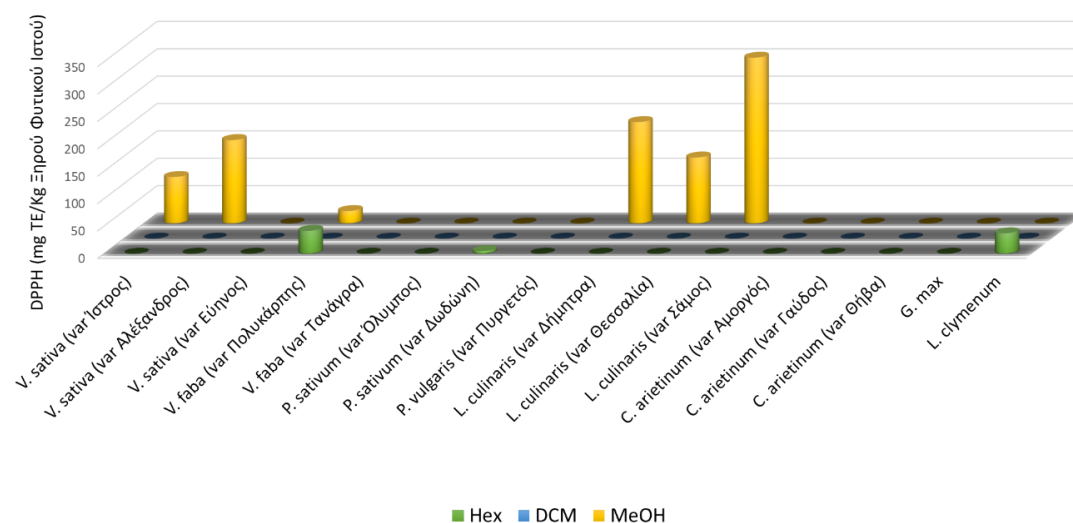


Εικόνα 30 Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας ως προς το ξηρό φυτικό βάρος των φυτών με τη μέθοδο DPPH.

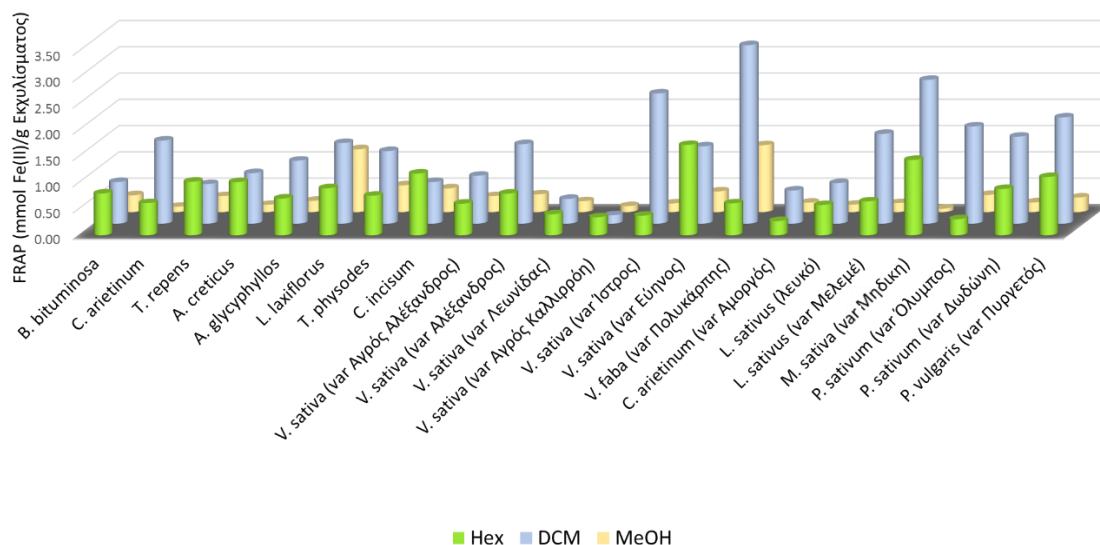
Και στην περίπτωση των σπερμάτων, τα πλέον δραστικά εκχυλίσματα με τη μέθοδο DPPH είναι τα μεθανολικά, με δραστικότερα τα σπέρματα των *V. sativa* και *L. culinaris*, ενώ αρκετά καλή αντιοξειδωτική δράση εμφάνισαν και τα εξανικά εκχυλίσματα των σπερμάτων *P. sativum* (Δωδώνη) και *L. clymenum*.



Εικόνα 31 Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλίσμάτων των σπερμάτων ψυχανθών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο DPPH.

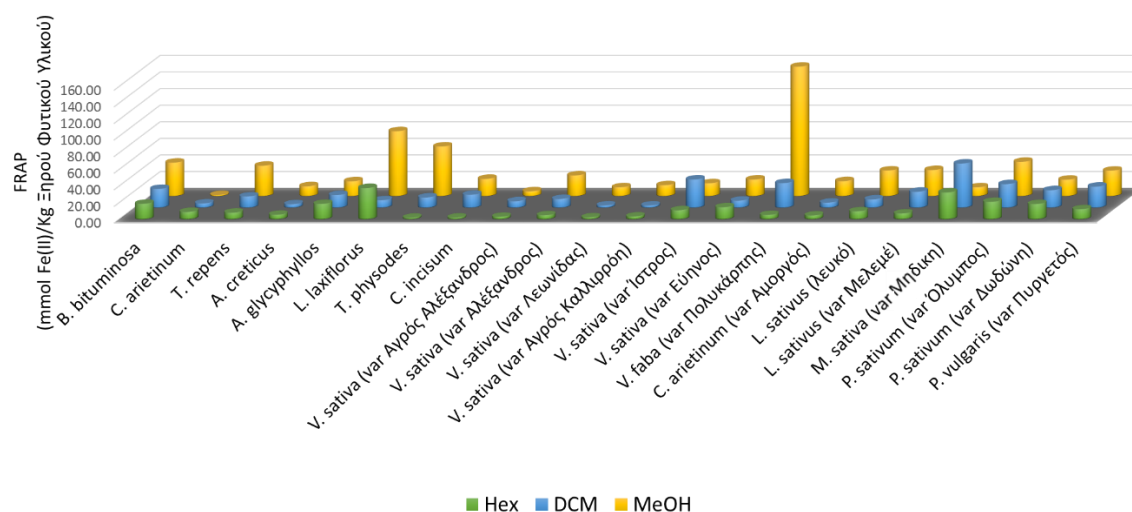


Εικόνα 32 Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας ως προς το ξηρό φυτικό βάρος των σπερμάτων ψυχανθών που μελετήθηκαν που προέκυψαν από τις εκχυλίσσεις τους με τη μέθοδο DPPH.



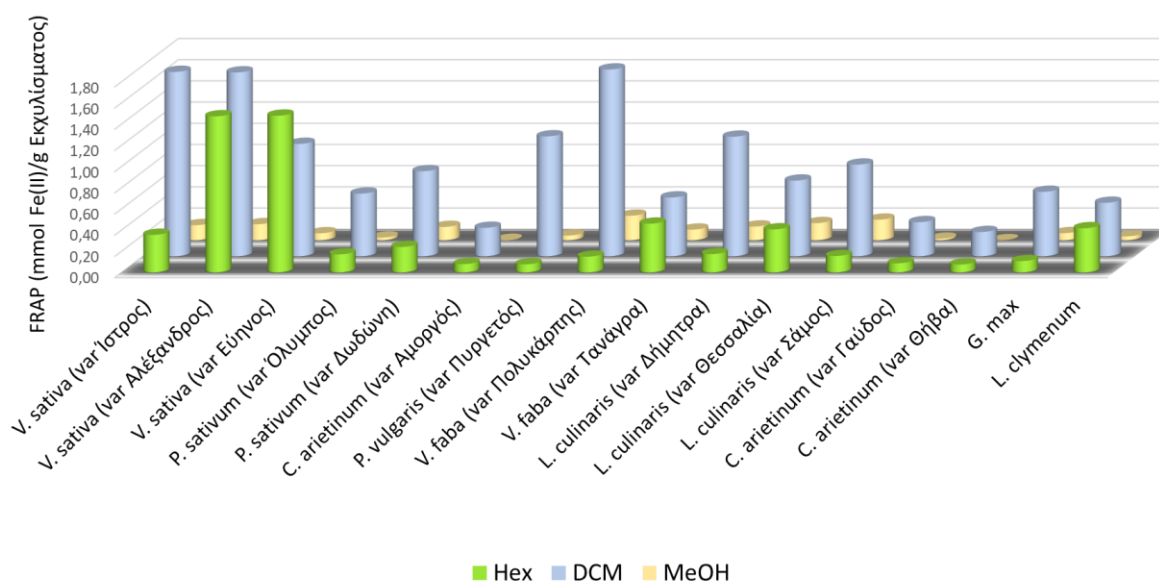
Εικόνα 33 Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων των φυτών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο FRAP.

Οι μετρήσεις της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο FRAP στα εκχυλίσματα έδειξαν ότι περισσότερο δραστικά είναι τα διχλωρομεθανικά, όμως όταν γίνει η αναγωγή των αποτελεσμάτων σε ξηρό βάρος φυτού το αποτέλεσμα μεταβάλλεται υπέρ του μεθανολικού εκχυλίσματος, με δραστικότερο αυτό που αντιστοιχεί στο φυτό *V. faba* (Πολυκάρπη)

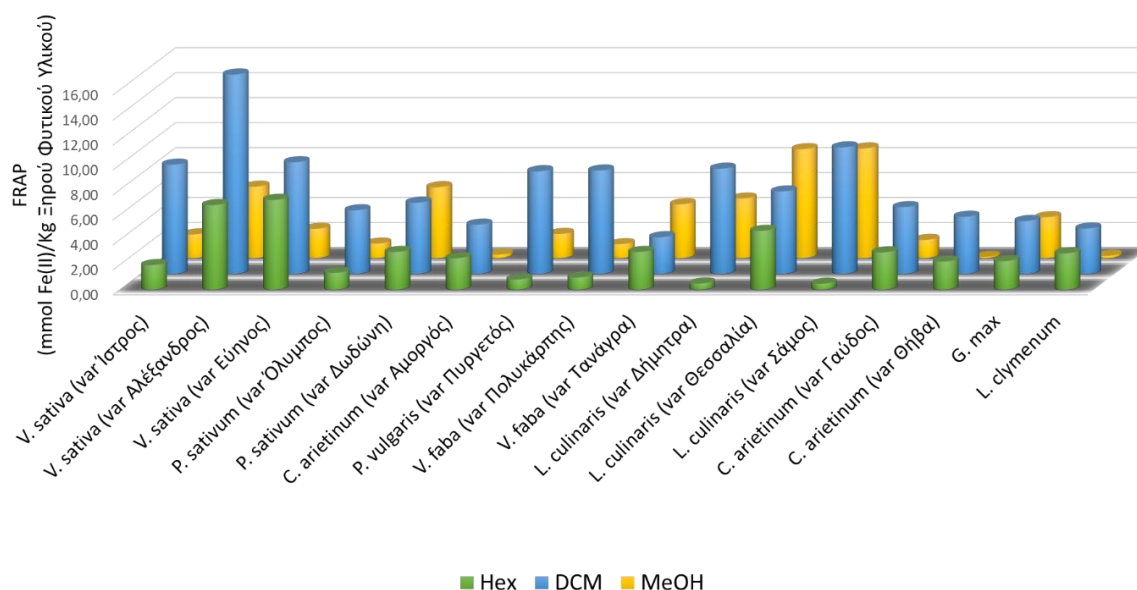


Εικόνα 34 Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας ως προς το ξηρό φυτικό βάρος των φυτών που μελετήθηκαν που προέκυψαν από τις εκχυλίσεις τους με τη μέθοδο FRAP.

Τέλος, η μελέτη των εκχυλισμάτων των σπερμάτων με τη μέθοδο FRAP (Εικόνα 47) έδειξε ότι τα διχλωρομεθανικά και μεθανολικά εκχυλίσματα είναι εξίσου δραστικά, με το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα του σπέρματος Αλέξανδρος (*V. sativa*) να εμφανίζει την υψηλότερη δράση.



Εικόνα 35 Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων των σπερμάτων ψυχανθών που μελετήθηκαν με τη μέθοδο FRAP.

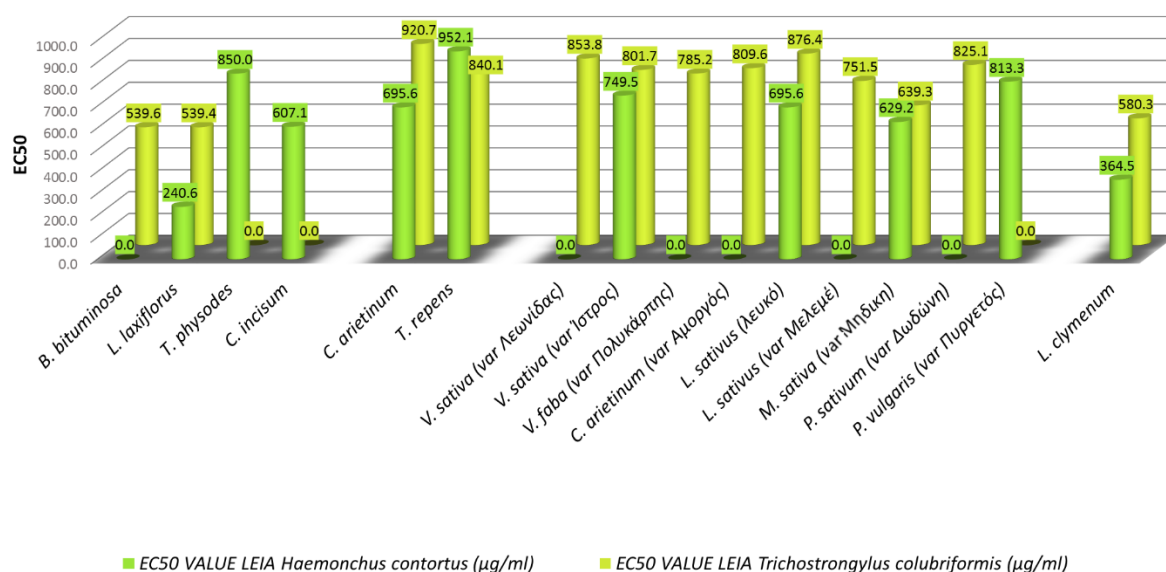


Εικόνα 36 Διάγραμμα απεικόνισης των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας ως προς το ξηρό φυτικό βάρος των σπερμάτων ψυχανθών που μελετήθηκαν που προέκυψαν από τις εκχυλίσεις τους με τη μέθοδο FRAP.

8. Προσδιορισμός Αντιπαρασιτικής Δράσης

Τα μεθανολικά εκχυλίσματα που έδειξαν ότι διαθέτουν την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση και όσα περιέχουν τις μεγαλύτερες ποσότητες ταννινών, η παρουσία των οποίων έχει συνδεθεί με την αντιπαρασιτική δράση, μελετήθηκαν από το Εργαστήριο Παρασιτολογίας του Ινστιτούτου Κτηνιατρικών Ερευνών του ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ με στόχο την αξιολόγηση της αντιπαρασιτικής τους δράση έναντι των παρασίτων *Haemonchus contortus* και *Trichostrongylus colubriformis*. Στο εργαστήριο, εκτός από τη μελέτη της αναστολής των προνυμφών, έγιναν και δοκιμές για την αναστολή της εκκόλαψης των αβγών για τα παράσιτα αυτά.

Αρκετά από τα εκχυλίσματα που μελετήθηκαν παρουσίασαν σημαντική αντιπαρασιτική δράση έναντι των παρασίτων *Haemonchus contortus* και *Trichostrongylus colubriformis*. Αναλυτικότερα, στο διάγραμμα της Εικόνας 48 στο οποίο παρουσιάζονται τα σχετικά αποτελέσματα φαίνεται ότι τα εκχυλίσματα των άγριων φυτών *B. bituminosa* και *L. laxiflorus* έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν και τα δυο παράσιτα, ενώ το *H. contortus* αναστέλλουν τα φυτά *T. physodes* και *C. incicum*.



Εικόνα 37 Αντιπαρασιτική δράση των δειγμάτων έναντι των παρασίτων *Haemonchus contortus* και *Trichostrongylus colubriformis*.

Όσον αφορά τα μεθανολικά εκχυλίσματα των καλλιεργούμενων φυτών *C. arietinum* και *T. repens*, αυτά παρουσιάζουν αντιπαρασιτική δράση έναντι και των δύο παρασίτων, ενώ για την περίπτωση των βελτιωμένων φυτών παρατηρείται ότι η δράση τους εντοπίζεται κυρίως έναντι του *T. colubriformis* και αφορά τις δύο ποικιλίες *V. sativa* (var. Λεωνίδας και Ίστρος), τη *V. faba* (var. Πολυκάρπη), το *C. arietinum* (var. Αμοργός), τις δύο ποικιλίες του *L. sativus* (var. Λευκό και Μελεμέ), το *M. sativa* (var. Μηδική) και το *P. sativum* (var. Δωδώνη). Αντίστοιχα, ικανά να αναστείλουν το *H. contortus* είναι τα μεθανολικά εκχυλίσματα των φυτών που προέρχονται από τις δυο ποικιλίες της *V. sativa* (var. Ίστρος και Λεωνίδας), το φυτό *L. sativus* (var. λευκό), το *M. sativa* (var. Μηδική) και το *P. vulgaris* (var. Πυργετός).

Από τα σπέρματα ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το σπέρμα της Φάβας Σαντορίνης (*L. clymenum*) του οποίου το μεθανολικό εκχύλισμα έχει τη δυνατότητα να αναστέλλει και τα δύο είδη παράσιτων.

Τέλος, όσον αφορά την αναστολή της εκκόλαψης των αβγών του *H. contortus*, κανένα δείγμα δεν αποδείχθηκε ικανό να την αναστείλει, ενώ για την περίπτωση του *T.*

colubriformis, το μοναδικό δείγμα που εμφάνισε ανασταλτική δράση ήταν το μεθανολικό εκχύλισμα του *T. repens* με EC₅₀ 538,08μg/mL.



Συζήτηση

1. Ανάπτυξη Νέων Μεθόδων Ανάλυσης

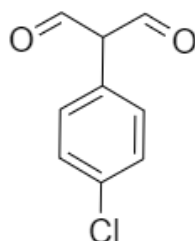
1.1. Ανάπτυξη Νέας Μεθόδου για τον Ποσοτικό Προσδιορισμό των Φυτοοιστρογόνων

Για να είναι εύχρηστη και αξιόπιστη μια νέα αναλυτική μέθοδος για τον ποσοτικό προσδιορισμό των φυτοοιστρογόνων θα πρέπει να μην στοχεύει απλά στο σύνολο των φυτοοιστρογόνων που περιέχονται στο υπό ανάλυση δείγμα, αλλά να αναπτυχθεί με βάση το γενικό περιεχόμενό του δείγματος, δηλαδή τη μήτρα (matrix) του, η οποία αποτελείται από ένα σύνολο και άλλων χημικών ενώσεων που περιέχονται σε αυτό (López-Fernández και άλλοι, 2020). Τα τελευταία χρόνια σημαντικό ρόλο στη βελτίωση των αναλυτικών τεχνικών για την ανίχνευση και ταυτοποίηση των φυτοοιστρογόνων σε διαφορετικά είδη δειγμάτων παίζει η τεχνική της υγρής χρωματογραφίας (LC) (de Villiers και άλλοι, 2016). Αποτελεί μία από τις περισσότερο διαδεδομένες μεθόδους ανάλυσης των φυτοοιστρογόνων όχι μόνο σε φυτά, αλλά και σε βιολογικά υγρά (Peñalvo και άλλοι, 2004) και τρόφιμα (Shim και άλλοι, 2015). Ωστόσο, αρκετές από τις μεθόδους που έχουν βασιστεί στην υγρή χρωματογραφία παρουσιάζουν τα προβλήματα της χαμηλής ευαισθησίας και της μικρής επιλεκτικότητας (Kuijsten και άλλοι, 2005; Valentín-Blasini και άλλοι, 2000).

Ένα επίσης σημαντικό στοιχείο για την ανάλυση των φυτοοιστρογόνων σχετίζεται με τη μορφή που θα γίνει η μέτρησή τους, δηλαδή εάν θα προσδιοριστούν σε συζευγμένη ή μη συζευγμένη μορφή. Στα περισσότερα φυτά και τρόφιμα τα φυτοοιστρογόνα εμπεριέχονται ως γλυκοσιδικά συζεύγματα, ενώ στα φυσιολογικά υγρά και τους ιστούς τα φυτοοιστρογόνα περιέχονται κυρίως ως β-γλυκουρονίδια ή θειικοί εστέρες. Παρότι οι συγκεντρώσεις των μη συζευγμένων φυτοοιστρογόνων αντιπροσωπεύουν μόνο το 1-5% του συνόλου τους, είναι οι μορφές που έχουν την ικανότητα να εισέρχονται στους ιστούς. Επομένως, υπάρχει η ανάγκη προσδιορισμού τους μαζί με τα μη συζευγμένα φυτοοιστρογόνα (Baranowska και Magiera, 2011; Bustamante-Rangel και άλλοι, 2018; Kuster και άλλοι, 2009; Wang και άλλοι, 2002).

Τα τελευταία χρόνια για την ανάλυση φυτοοιστρογόνων χρησιμοποιείται η τεχνική της υγρής χρωματογραφίας σε συνδυασμό με τη φασματομετρία μαζών. Για την ποσοτική ανάλυση των φυτοοιστρογόνων με τη χρήση της τεχνικής αυτής έχει αποδειχθεί ότι είναι απαραίτητη η χρησιμοποίηση εσωτερικών προτύπων για τη αποφυγή πιθανών απωλειών και του φαινομένου παρεμπόδισης μήτρας (Matrix Effect),

η ύπαρξη του οποίου αποτελεί σημαντικό μειονέκτημα αφού προκαλείται η καταστολή του σήματος των ιόντων ή -πιο σπάνια- η ενίσχυση της απόκρισης του αναλύτη λόγω των υπόλοιπων συστατικών της μήτρας που περιβάλλουν τον αναλύτη-στόχο και μεταβάλλουν τον ιονισμό του (Capriotti και άλλοι, 2013). Οι έντονες επιδράσεις του υποστρώματος καθιστούν δύσκολο τον ποσοτικό προσδιορισμό των φυτοοιστρογόνων, ειδικά στις περιπτώσεις όπου το υπόστρωμα είναι πολύπλοκο, όπως στη περίπτωση των υγρών αποβλήτων. Στις περιπτώσεις ισχυρών παρεμβολών χρησιμοποιούνται εκλεκτικές μέθοδοι, όπως η παγίδα ιόντων (Ion Trap Detector) ή η φασματομετρία μαζών σε σειρά (Tandem Mass LC/MS-MS ή GC/MS-MS) (Ferrer και Thurman, 2013). Τα εσωτερικά πρότυπα είναι συνήθως είτε επισημασμένες με ^{13}C ή ^2H σταθερές ισότοπες μορφές του υπό μελέτη φυτοοιστρογόνου ή ενώσεις με παρόμοια χημική δομή και ιδιότητες που δεν υπάρχουν στο δείγμα που θα μελετηθεί (Wang και άλλοι, 2002). Στη μέθοδο που αναπτύχθηκε για τις ανάγκες της διδακτορικής διατριβής ως εσωτερικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε η 2-(4-χλωροφαινυλο)-μαλοναλδεΰδη, μία αλδεΰδη μικρού μοριακού βάρους που περιέχει αρωματικό δακτύλιο, όπως τα φυτοοιστρογόνα και έχει το πλεονέκτημα να μην υπάρχει στα φυτά.



Για τον προσδιορισμό των φυτοοιστρογόνων με φασματομετρία μαζών χρησιμοποιούνται κυρίως δύο πηγές ιονισμού, η ESI και η APCI (Laaniste και άλλοι, 2019). Αυτές συνιστούν και τις κύριες πηγές ανίχνευσης των ισοφλαβονών. Στη βιβλιογραφία κρίνεται απαραίτητη και η χρήση ενός τροποποιητή στην κινητή φάση όταν χρησιμοποιούνται οι δύο αυτές πηγές ιόντων. Ως τροποποιητής συνήθως χρησιμοποιείται κάποιο οξύ, όπως οξικό ή φορμικό οξύ, αλλά και διάφορα άλατα του αμμωνίου, ενώ δεν πρέπει να χρησιμοποιείται το τριφθοροξικό οξύ γιατί προκαλεί καταστολή των ιόντων (Mornar και άλλοι, 2020; Palma-Duran και άλλοι, 2020; Wang και άλλοι, 2002; Xu και άλλοι, 2021).

Η τεχνική LC–MS είναι η μέθοδος ανάλυσης φυτοοιστρογόνων που προτιμάται λόγω της απαίτησης για σχετικά απλή προετοιμασία του δείγματος (ειδικά σε σύγκριση με την τεχνική GC-MS), της υψηλής ευαισθησίας και εξειδίκευσής της (Min και άλλοι, 2020; Nørskov και Knudsen, 2016). Πρόσφατα, οι εξελίξεις στον διαχωρισμό με LC και την ποσοτική ανίχνευση με φασματομετρία μαζών σε σειρά έχουν βελτιώσει την ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των μικρών μορίων σε πολύπλοκα δείγματα, φτάνοντας το όριο ανίχνευσης σε πολύ χαμηλά επίπεδα της τάξης των ppb. Παρότι ποικίλες τεχνικές φασματομετρίας μαζών, όπως οι Q, time-of-flight (TOF), Q-TOF, triple quadrupole (QqQ) κλπ διασφαλίζουν την ακριβή αναγνώριση πολλών φυτοοιστρογόνων, ωστόσο οι περισσότερες μέθοδοι LC-MS που έχουν έως σήμερα αναπτυχθεί και επικυρωθεί επικεντρώνονται στον προσδιορισμό μόνο ενός περιορισμένου αριθμού συγκεκριμένων φυτοοιστρογόνων (de Villiers και άλλοι, 2016; López-Fernández και άλλοι, 2020).

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης είναι πλέον μία από τις περισσότερες διαδεδομένες μεθόδους διαχωρισμού των φυτοοιστρογόνων. Σε αυτή συχνότερα χρησιμοποιούνται οι στήλες αντίστροφης φάσης (C18), με μήκος κυρίως 150mm και διάμετρο που κυμαίνεται από 2 έως 4,6mm, ενώ ο επικρατέστερος κόκκος στήλης είναι στα 5μm ακολουθούμενος από στήλες με 4 και 3μm (Hsu και άλλοι, 2020). Ως περισσότερο διαδεδομένες κινητές φάσεις χρησιμοποιούνται το ακετονιτρίλιο και η μεθανόλη, σε συνδυασμό με νερό που περιέχει μικρές ποσότητες οξέος. Το 2000 οι Merken και Beecher δημοσίευσαν μια εργασία για τα συστήματα διαλυτών και τη στήλη HPLC που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για καλύτερα αποτελέσματα στην ανάλυση των φυτοοιστρογόνων (Merken και Beecher, 2000). Τόσο η στατική, όσο και η κινητή φάση της μεθόδου ποσοτικής ανάλυσης που αναπτύχθηκε στη διατριβή είναι σύμφωνη με αυτά που αναφέρονται στη βιβλιογραφία.

Έως το 2020 δεν είχε τεκμηριωθεί μια επικυρωμένη μέθοδος LC-MS για την ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση των φυτοοιστρογόνων, τόσο σε τρόφιμα στα οποία η συγκέντρωση των φυτοοιστρογόνων είναι υψηλότερη, όσο και σε βιολογικά υγρά στα οποία η συγκέντρωση των φυτοοιστρογόνων είναι χαμηλότερη. Παρότι τα δύο αυτά είδη δειγμάτων είναι πολύ διαφορετικά, κυρίως λόγω της διαφορετικής τους σύστασης και των διαφορετικών αναμενόμενων συγκεντρώσεων των αναλυτών, η ποσοτικοποίηση μπορεί να επιτευχθεί με μια ολοκληρωμένη μέθοδο LC-MS. Το 2020 η

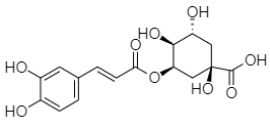
ερευνητική ομάδα του Palma-Duran δημοσίευσε την πρώτη ολοκληρωμένη μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού 16 φυτοοιστρογόνων (Palma-Duran και άλλοι, 2020).

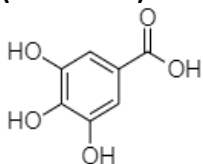
Βιβλιογραφικά έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλα είδη τεχνικής ανίχνευσης φυτοοιστρογόνων με MS, όπως η SIM (Selected Ion Monitoring) που εφαρμόζεται για την ανάλυση των ισοφλαβονών. Η τεχνική αυτή έχει το μειονέκτημα του κατακερματισμού των ιόντων, με αποτέλεσμα οι επιστήμονες να προτιμούν άλλες τεχνικές, όπως η SRM, που αναφέρθηκε προηγουμένως και παρουσιάζει πολύ χαμηλό όριο ανίχνευσης (1,2fmol για τη δαϊδζεΐνη και το 1,6fmol για τη γενιστεΐνη) (Vacek και άλλοι, 2008). Μια άλλη τεχνική που προσομοιάζει με την SRM είναι η MRM (Multiple Reaction Monitoring), μια πολύ ευαίσθητη, ποσοτική μέθοδος ανίχνευσης της τάξεως των ng/mL (Saha και Kroon, 2020; Zhou και Cai, 2020).

Οι εφαρμογές της τεχνικής LC-MS για τον διαχωρισμό και την ποσοτικοποίηση των ισοφλαβονοειδών σε φυτικά εκχυλίσματα συνοψίζονται στο άρθρο ανασκόπησης των Raju και άλλοι, 2015. Με τις μεθόδους που καταγράφονται στο άρθρο επιτυγχάνεται η ταυτοποίηση/ανίχνευση και ποσοτικοποίηση ενός μεγάλου αριθμού ισοφλαβονοειδών. Έτσι, στις ρίζες των φυτών *Astragalus mongholicus* και *Astragalus membranaceus* (Lin και άλλοι, 2000) επετεύχθη η ταυτοποίηση 8 γλυκοζιτών των ισοφλαβονών που ανιχνεύθηκαν με τη χρήση της τεχνικής LC-ESI-MS, ενώ στο *Trifolium pratense* L. ανιχνεύθηκαν 31 ισοφλαβόνες χρησιμοποιώντας την τεχνική HPLC-UV-ESI-MS. Οι ισοφλαβόνες αναλύθηκαν και ταυτοποιήθηκαν με βάση τα μοριακά ιόντα και τις χαρακτηριστικές κορυφές των ιόντων των θραυσμάτων (Wu και άλλοι, 2003). Σε μια άλλη εργασία μελετήθηκαν η πράσινη σόγια και το Tofu σόγιας χρησιμοποιώντας την τεχνική LC-UV-ESI-MS/MS για την ταυτοποίηση συνολικά 16 ισοφλαβονών και των γλυκοζιτών τους (Wu και άλλοι, 2004). Επίσης, το 2011 προσδιορίστηκαν τα ισοφλαβονοειδή του *Rhizopus spp.* σε φυτά σόγιας χρησιμοποιώντας την τεχνική RP-UPHLC σε συνδυασμό με ESI-MS. Έτσι, επετεύχθη η ταυτοποίηση 13 ισοφλαβονών με μία μόνο ανάλυση (Simons και άλλοι, 2011a, 2011b). Τέλος, ο Prokudina και άλλοι (2012) χρησιμοποίησαν UPLC-ESI-MS/MS για την ποσοτική και ποιοτική ανάλυση 26 φαινολικών ενώσεων σε φυτικό υλικό, συμπεριλαμβανομένων 15 ισοφλαβονοειδών, 5 φλαβονονών και μίας κουμεστάνης. Η μέθοδος αυτή εφαρμόστηκε και για την ανάλυση εκχυλίσματος βλαστών φασολιών mung (*Vigna radiata*) στο οποίο ανιχνεύθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν 14 από τους 26 αυτούς αναλύτες (Prokudina και άλλοι, 2012).

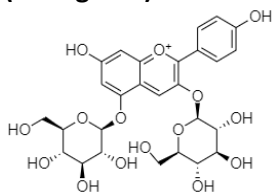
Στο πλαίσιο διενέργειας της διδακτορικής διατριβής αναπτύχθηκε μία νέα μέθοδος ποσοτικού προσδιορισμού η οποία αναφέρεται στην ταυτόχρονη ανίχνευση των 67 πλέον κοινών βιοδραστικών φυτοοιστρογόνων, τα οποία δεν εντάσσονται σε μία μόνο κατηγορία δευτερογενών μεταβολιτών, αλλά ανήκουν σε διαφορετικές κατηγορίες. Για παράδειγμα, η γενιστεΐνη ανήκει στις ισοφλαβόνες, η κατεχίνη είναι φλαβανόλη, η ρεσβερατρόλη είναι στυλβένιο κλπ. Ο συνολικός χρόνος ανάλυσης περιορίστηκε στα 35min, ως αποτέλεσμα του πολύ καλού διαχωρισμού των αναλυτών που επιτυγχάνεται με τη χρωματογραφική μέθοδο που αναπτύχθηκε, αλλά και του πλεονεκτήματος που δίνει η τεχνική ανίχνευσης που χρησιμοποιήθηκε, με την παρακολούθηση επιλεγμένων αντιδράσεων SRM (Selective Reaction Monitoring) που επιτρέπει την ανίχνευση-ταυτοποίηση ενός αναλύτη από το συνδυασμό του μητρικού ιόντος (parent ion) με ένα από τα παραγόμενα θραύσματα του (product ion). Το τελευταίο οδηγεί στην αύξηση της ευαισθησίας και της εκλεκτικότητας της αναλυτικής μεθόδου. Επιπλέον, στις περιπτώσεις που δυο αναλύτες έχουν τον ίδιο χρόνο έκλουσης και διαφορετικό ζεύγος parent/product ion, είναι δυνατή η εκλεκτική ανίχνευση και ποσοτικοποίησή τους. Ο κατάλογος των φυτοοιστρογόνων που εντάχθηκαν στη μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού που αναπτύχθηκε στο πλαίσιο της διατριβής παρουσιάζεται στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12 Φυτοοιστρογόνα της μεθόδου ανάλυσης που αναπτύχθηκε.

Φυτοοιστρογόνο	Μοριακός Τύπος/ Βάρος	Πληροφορίες
Νεοχλωρογενικό Οξύ (Neochlorogenic Acid) 	MT: C ₁₆ H ₁₈ O ₉ MB: 354,31 g/mol	Φυτικός μεταβολίτης που ανιχνεύεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στα ροδάκινα (Infante και άλλοι, 2011), ενώ έχει ανιχνευτεί και σε φύλλα μουριάς (<i>Morus alba</i> L.). Αποτελεί το λιγότερα μελετημένο ισομερές του χλωρογενικού οξέος και έχει διαπιστωθεί ότι διαθέτει, αντιφλεγμονώδη (Gao και άλλοι, 2020) αντιοξειδωτική, αντιμυκητιακή και αντικαρκινογόνο δράση (Navarro-Orcajada και άλλοι, 2021).

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Γαλλικό Οξύ
(Gallic Acid)**MT: C₇H₆O₅MB: 170,12
g/mol

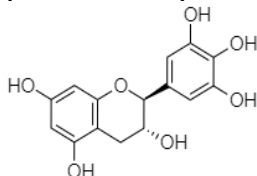
Είναι ένα τριϋδρόξυ-βενζοϊκό οξύ που ανιχνεύεται σε πολλούς φυτικούς οργανισμούς και έχει αναδειχθεί ως ένα πολύ ισχυρό αντιοξειδωτικό, αλλά και αποτελεσματικός παράγοντας που προκαλεί απόπτωση (Badhani και άλλοι, 2015). Η ικανότητα αυτή, σε συνδυασμό με την ανασταλτική επίδρασή του στην ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει την καρκινογένεση τόσο σε ζωικά μοντέλα, όσο και σε *in vitro* καρκινικές κυτταρικές σειρές (Verma και άλλοι, 2013).

**Πελαργονίνη
(Pelargonin)**

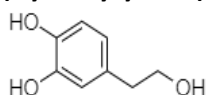
MT:

C₂₇H₃₁O₁₅⁺MB: 595,53
g/mol

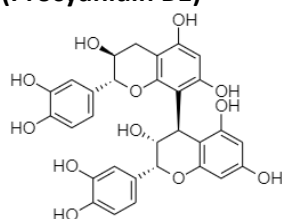
Χρωστική που ανήκει στις ανθοκυανίνες και ανιχνεύεται σε διάφορες κατηγορίες μούρων (Veberic και άλλοι, 2015) και ερυθρούς οίνους (Nyman και Kumpulainen, 2001). Σε *in vitro* μελέτη της αντιοξειδωτικής της δράσης σε ανθρώπινες λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL) εμφανίζει αντιοξειδωτική δράση, ενώ στο σύστημα λεκιθίνης-λιποσώματος εμφανίζει πολύ καλή προ-οξειδωτική δράση (Satué-Gracia και άλλοι, 1997).

**Γαλλοκατεχίνη
(Gallocatechin)**MT: C₁₅H₁₄O₇MB: 306,27
g/mol

Έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση (Plumb και άλλοι, 2002), ενώ έχει αποδειχτεί και η αντι-μεταλλαξιογόνος δράση της. Αποτελεί ένα από τα συστατικά του πράσινου τσαγιού (Ko και άλλοι, 2009), ενώ βρίσκεται και στα φύλλα του *Psidium guava* (Matsuo και άλλοι, 1994).

**Υδροξυτυροσώλη
(Hydroxytyrosol)**MT: C₈H₁₀O₃MB: 154,16
g/mol

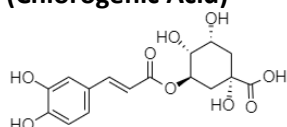
Είναι μια φαινολική ένωση που απαντάται σε αφθονία κυρίως στα ελαιόφυλλα. Θεωρείται ως το ισχυρότερο αντιοξειδωτικό μόριο μετά το γαλλικό οξύ. Η τακτική κατανάλωσή του έχει αρκετές ευεργετικές επιδράσεις, αφού δρα ως αντιοξειδωτικό, αντιφλεγμονώδες και αντικαρκινικό συστατικό, ενώ έχει αποδειχτεί ότι δρα προστατευτικά στο δέρμα και τα μάτια (Martínez και άλλοι, 2018).

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Προκυανιδίνη B1
(Procyanidin B1)**MT: C₃₀H₂₆O₁₂

MB: 578,52

g/mol

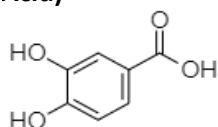
Οι προκυανιδίνες ανήκουν στα флаβονοειδή και παρουσιάζουν υψηλή αντιοξειδωτική δράση. Η προκυανιδίνη B1 είναι ένα διμερές των μορίων επικατεχίνη και κατεχίνη και έχει αποδειχτεί ότι καταστέλλει τη συσσώρευση του λίπους (Sano και άλλοι, 2003), ενώ έχει και νευροπροστατευτικές ιδιότητες (Peng και άλλοι, 2010).

**Χλωρογενικό Οξύ
(Chlorogenic Acid)**MT: C₁₆H₁₈O₉

MB: 354,31

g/mo

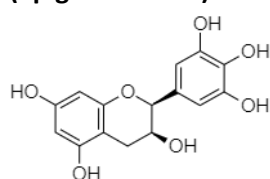
Ανιχνεύεται σε μεγάλη ποσότητα στον καφέ (Αζικαλίν και Sanlier, 2021; Olthof και άλλοι, 2001), στο τσάι (Olthof και άλλοι, 2001) και σε αρκετά φρούτα και βότανα (Santana-Gálvez και άλλοι, 2017). Είναι φαινολικό οξύ με πολλές βιολογικές δράσεις, όπως αντιοξειδωτική, αντιβακτηριακή, αντιφλεγμονώδης, αντιπυρετική και αντιυπερτασική, ενώ δρα προστατευτικά στην καρδιά και το ήπαρ (Αζικαλίν και Sanlier, 2021; Naveed και άλλοι, 2018).

**Πρωτοκατεχικό
Οξύ
(Protocatechuic
Acid)**MT: C₇H₆O₄

MB: 154,12

g/mol

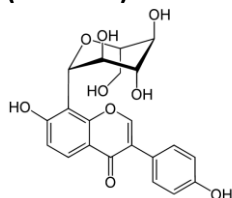
Είναι ένα διϋδροξυ-βενζοϊκό οξύ με σημαντικές αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να μειώνει τα επίπεδα οξείδωσης των λιπιδίων στον ιστό του κιμά. Έχει χρησιμοποιηθεί στα μυϊκά τρόφιμα για την πρόληψη της μόλυνσης από καμπυλοβακτηρίδια και αερόβια βακτήρια. Έτσι, σε συνδυασμό με την ιδιότητά του να καθυστερεί την οξείδωσης των λιπιδίων χρησιμοποιείται ως συντηρητικό τροφίμων (Kakkar και Bais, 2014).

**Επιγαλλοκατεχίνη
(Epigallocatechi)**MT: C₁₅H₁₄O₇

MB: 306,27

g/mol

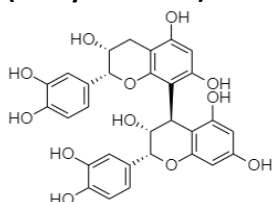
Είναι μία από τις κύριες κατεχίνες του πράσινου τσαγιού. Επιδρά θετικά στο μεταβολισμό των οστών (Κο και άλλοι, 2009), ενώ αποτελεί και σημαντικό συστατικό των ερυθρών οίνων (Arapitsas και άλλοι, 2022).

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Πουεραρίνη
(Puerarin)**MT: C₂₁H₂₀O₉

MB: 416,38

g/mol

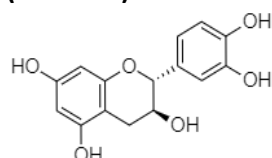
Το εκχύλισμα *Puerariae radix* μετριάζει την ηπατική βλάβη και τη συσσώρευση λιπιδίων που προκαλείται από χρόνια πρόσληψη αλκοόλ. Η δράση αυτή αποδίδεται στα τρία κύρια ισοφλαβονοειδή που περιέχονται στο φυτό, την πουεραρίνη, την δαϊδζίνη και την δαϊδζεΐνη (Peng και άλλοι, 2012). Συγκεκριμένα, η πουεραρίνη έχει βρεθεί ότι προστατεύει από τους όξινους τραυματισμούς το αλκοολικό ήπαρ και τις διαταραχές που σχετίζονται με τον αλκοολισμό, καθώς αναστέλλει το οξειδωτικό στρες (Zhang και άλλοι, 2010; Zhao και άλλοι, 2010). Επιπλέον, σε *in vivo* πειράματα για την πουεραρίνη σε αρουραίους με διαβήτη παρατηρήθηκε ότι έχει προστατευτική λειτουργία έναντι του τραυματισμού του πνεύμονα (Liang και άλλοι, 2018) και προστατευτική δράση για τα επιθηλιακά κύτταρα του φακού σε αρουραίους με διαβητικό καταρράκτη (Hao και άλλοι, 2011).

**Προκυανιδίνη B2
(Procyanidin B2)**MT: C₃₀H₂₆O₁₂

MB: 578,52

g/mol

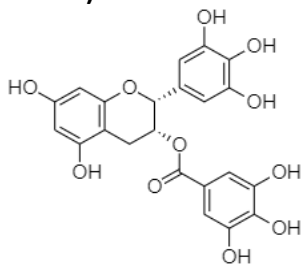
Διαθέτει σημαντική αντιοξειδωτική δράση (Sano και άλλοι, 2003), νευροπροστατευτικές ιδιότητες και αναστέλλει το σχηματισμό προχωρημένων προϊόντων τελικής γλυκοζυλίωσης (Peng και άλλοι, 2010). Η οξείδωσή της οδηγεί στο σχηματισμό της προκυανιδίνης A2 (Kondo και άλλοι, 2000).

**Κατεχίνη
(Catechin)**MT: C₁₅H₁₄O₆

MB: 290,26

g/mol

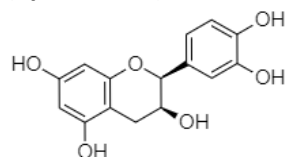
Έχει ονοματιστεί από το catechu, το εκχύλισμα της *Acacia catechu* L. από όπου απομονώθηκε πρώτη φορά. Όμως έχει ανιχνευτεί σε πολλά τρόφιμα και βότανα, όπως τα μήλα, τα κουκιά, τα κακάο, τα σταφύλια, τα μούρα και το τσάι (το προϊόν που λαμβάνεται από τα φύλλα του φυτού *Camellia sinensis*), το οποίο που συνιστά πλούσια πηγή κατεχίνης. Έχει πολλές ευεργετικές για την ανθρώπινη υγεία ιδιότητες, όπως η αντιπαχυσαρκική,

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Γαλλική
Επιγαλλοκατεχίνη
(Epigallocatechin
Galate)**

MT: C₂₂H₁₈O₁₁
MB: 458,37
g/mol

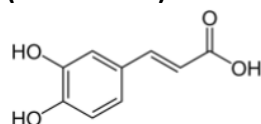
αντιδιαβητική, ηπατοπροστατευτική και νευροπροστατευτική δράση (Isemura, 2019).

Βρίσκεται σε μεγάλη ποσότητα στο πράσινο τσάι και αποτελεί την αποτελεσματικότερη χημειοπροληπτική πολυφαινόλη κατά του καρκίνου. Είναι ένα πολύ ισχυρό αντιοξειδωτικό (Du και άλλοι, 2012), ενώ διαθέτει και ισχυρή αντιμικροβιακή δράση. Σε έρευνα στην οποία η κατεχίνη συνδυάστηκε με αντιβιοτικά (πχ μεθυσυλλίνη), προσδιορίστηκε ότι ενισχύει τη δράση της, ενώ έχει βρεθεί ότι δρα και έναντι διαφορετικών ειδών ιών. Γενικά είναι ένα μόριο με πολλές και σημαντικές βιολογικές δράσεις (Bartosikova και Necas, 2018).

**Επικατεχίνη
(Epicatechin)**

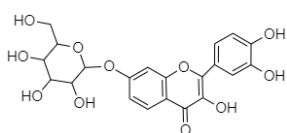
MT: C₁₅H₁₄O₆
MB: 290,26
g/mol

Η επικατεχίνη είναι ένα флаβονοειδές που βρίσκεται στο πράσινο τσάι. Έχει αναφερθεί ότι εμφανίζει μια πολύ καλή αντιοξειδωτική δραστηριότητα που σηματοδοτεί τη σημαντική αντιδιαβητική και αντικαρκινική της δράση, καθώς η κατανάλωσή της έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα διαβητικών ασθενών, ενώ η αντικαρκινική της δράση αποδίδεται και στην αντιαγγειογενετική και την κυτταροτοξική της δράση (Abdulkhaleq και άλλοι, 2017).

**Καφεϊκό Οξύ
(Caffeic Acid)**

MT: C₉H₈O₄
MB: 180,16
g/mol

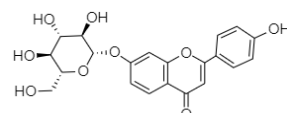
Λόγω των φαρμακολογικών του ιδιοτήτων το καφεϊκό οξύ έχει μία ευρεία προοπτική εφαρμογής του για την πρόληψη και θεραπεία διάφορων ασθενειών που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες και τη φλεγμονώδη αντίδραση. Το μόριο αυτό διαθέτει καλή αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση, καθώς και σημαντικές αντιμικροβιακές, αντικαρκινικές, ανοσορρυθμιστικές και καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες (Esríndola και άλλοι, 2019). Επιπλέον, η ανταγωνιστική δράση που παρουσιάζει έναντι του ανθρώπινου κορονοϊού NL63

Φυτοοιστρογόνο
Μοριακός
Πληροφορίες
Τύπος/
Βάρος
**7-Ο-Γλυκοζίτης
της
Κερκεταγετίνης**


MT: C₂₁H₂₀O₁₃
MB: 480,38
g/mol

(HCoV-NL63), καθώς εμποδίζει την αλληλεπίδραση του με τον υποδοχέα ACE2, το καθιστά υποψήφιο φάρμακο για την αντιμετώπιση ιών του αναπνευστικού συστήματος, όπως ο SARS-CoV-2 (Di Matteo και άλλοι, 2020).

Είναι φλαβονοειδές που ανιχνεύεται σε είδη του γένους *Tagetes* (Οικογένεια: *Asteraceae*). Συγκεκριμένα, έχει απομονωθεί από τα είδη *T. pusilla* και *T. Minuta* και έχει αποδειχθεί η αντιμικροβιακή του δράση (Tereschuk και άλλοι, 2004). Επιπλέον, έχει βρεθεί και στο είδος *Coreopsis tinctoria* και σε συγγενικά του είδη (Deng και άλλοι, 2017).

**Δαϊδζίνη
(Daidzin)**


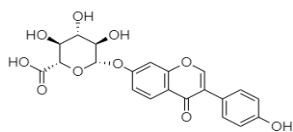
MT: C₂₁H₂₀O₉
MB: 416,38
g/mol

Είναι ισοφλαβόνη που ανακαλύφθηκε στη ρίζα του κινέζικου φυτού kudzu, *Pueraria lobata* (*Radix Pueraria*), ένα δημοφιλές παραδοσιακό κινέζικο φάρμακο που συχνά χρησιμοποιείται σε συμπληρώματα διατροφής στις δυτικές αγορές με πολλά πιθανά οφέλη για την υγεία (Prasain και άλλοι, 2021). Η κατανάλωση προϊόντων με υψηλά ποσοστά δαϊδζίνης, όπως το kudzu ή η σόγια, το μόριο αυτό διασπάται από την εντερική μικροχλωρίδα και απελευθερώνεται δαϊδεΐνη, ή σε ορισμένες περιπτώσεις εκουόλη, τα οποία στη συνέχεια απορροφώνται μέσω του κυκλοφορικού συστήματος και μπορούν να ανιχνευθούν στα ούρα (Johnson, 2001). Επιπλέον, η δαϊδζίνη δρα προληπτικά έναντι της οστικής απώλειας (Uesugi και άλλοι, 2001).

**7-Ο-
Γλυκουρονίδιο της
δαϊδεΐνης**

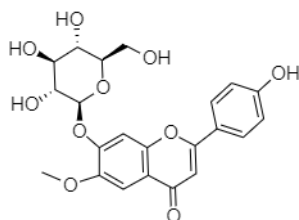
MT: C₂₁H₁₈O₁₀
MB: 430,40
g/mol

Είναι μεταβολίτης των θηλαστικών που έχει εντοπιστεί στα ούρα του ανθρώπου μετά από κατανάλωση σόγιας που είναι πλούσια σε δαϊδεΐνη (Kelly και άλλοι, 1993).

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Γλυσιτίνη
(Glycitin)**MT: C₂₂H₂₂O₁₀

MB: 446,40

g/mol



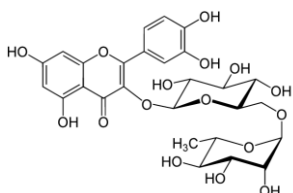
Επιπλέον, παρουσιάζει αντικαρκινική δράση έναντι του καρκίνου του μαστού (Zhang και άλλοι, 1999).

Έχει εντοπιστεί στη σόγια (*Glycine max* (L.) Merr.) και διάφορες επιστημονικές μελέτες δείχνουν ότι εμφανίζει αρκετές βιολογικές δράσεις, όπως π.χ. θετική επίδραση έναντι του αλκοολισμού, των καρδιαγγειακών και εγκεφαλοαγγειακών παθήσεων, αλλά και ορισμένων τύπων καρκίνου. Επιπλέον, έχει αντιγηραντική δράση και προστατεύει το δέρμα από τη φωτογήρανση αυξάνοντας την έκφραση του κολλαγόνου I στους ανθρώπινους δερματικούς ινοβλάστες που εκτίθενται στην υπεριώδη ακτινοβολία. Τέλος, έχει αναφερθεί ότι έχει και αντιοξειδωτική δράση (Patel και Patel, 2020), ενώ δρα προληπτικά και έναντι της οστικής απώλειας (Uesugi και άλλοι, 2001).

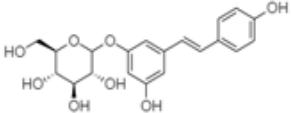
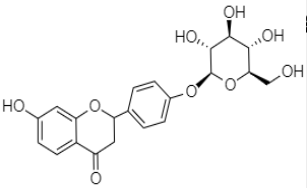
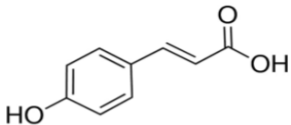
**Ρουτίνη
(Rutin)**MT: C₂₇H₃₀O₁₆

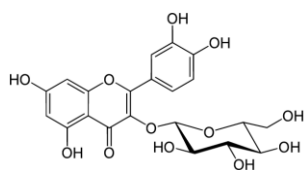
MB: 610,52

g/mol



Έχει νευροπροστατευτική δράση έναντι του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου (Khan και άλλοι, 2009), ενώ έχει αποδειχθεί χρήσιμη σε υποξικό, γλουταμικό και οξειδωτικό στρες (Pu και άλλοι, 2007). Εμφανίζει και αντι-Alzheimer επίδραση αφού έχει την ικανότητα να καταστέλλει τη δράση των προφλεγμονωδών κυτοκινών, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την παραγωγή TNF-α και IL-1β σε μικρογλοία. Κάτι που είναι χρήσιμο στη θεραπεία της νόσου του Alzheimer (Wang και άλλοι, 2012). Επιπλέον, παρουσιάζει και αντικαταθλιπτική δράση, καθώς αυξάνει τη διαθεσιμότητα της σεροτονίνης νοραδρεναλίνης στη συναπτική σχισμή μεταξύ των νευρικών κυττάρων (Machado και άλλοι, 2008), ενώ ταυτόχρονα δρα και ως προστατευτικό για το καρδιαγγειακό σύστημα (Chan και άλλοι, 2010; Mendes-Junior και άλλοι, 2013).

Φυτοοιστρογόνο	Μοριακός Τύπος/ Βάρος	Πληροφορίες
Πολυδατίνη (Polydatin, Piceid) 	MT: C ₂₀ H ₂₂ O ₈ MB: 390,40 g/mol	Ανήκει στην κατηγορία των στιλβеноιοεδών και αποτελεί παράγωγο της ρεσβερατρόλης. Έχουν αναφερθεί αρκετές πιθανές βιολογικές δράσεις της, κυρίως μέσω της διαμόρφωσης των βασικών οδών σηματοδότησης που εμπλέκονται στη φλεγμονή, το οξειδωτικό στρες και την απόπτωση. Δρα προστατευτικά για την υγεία της καρδιάς, του ήπατος, των νευρώνων, και των οστών, ενώ έχει χαρακτηριστεί και ως γαστροπροστατευτικό. Άλλες πιθανές της δράσεις αφορούν την αντικαρκινική, αντιδιαβητική και αντιμικροβιακή της δράση (Karami και άλλοι, 2022).
Λικουϊριτίνη (Liquiritin) 	MT: C ₂₁ H ₂₂ O ₉ MB: 418,40 g/mol	Είναι φλαβονοειδές που προέρχεται από το <i>Radix et Rhizoma Glycyrrhizae</i> (γλυκόριζα) που χρησιμοποιείται ως παραδοσιακό κινέζικο φάρμακο για την απομάκρυνση των τοξινών, αλλά και ως αντιφλεγμονώδες και αντιβηχικό. Προάγει τον πολλαπλασιασμό των νευρικών βλαστοκυττάρων σε εμβρυϊκό εγκέφαλο ποντικού, με αποτέλεσμα να επιδεικνύει προστατευτική δράση έναντι νευροεκφυλιστικών ασθενειών, αλλά και έναντι της κατάθλιψης, δηλαδή παθήσεων που σχετίζονται με τον τραυματισμό των νευρικών κυττάρων. Τέλος, έχει αποδειχτεί ότι εμφανίζει καρδιαγγειακή προστατευτική δράση (Qin και άλλοι, 2022).
p-Κουμαρικό Οξύ (p-Coumaric Acid) 	MT: C ₉ H ₈ O ₃ MB: 164,16 g/mol	Ανιχνεύεται σε πολλά φυτά και μανιτάρια ως ελεύθερο ή δεσμευμένο. Το π-κουμαρικό οξύ βρίσκεται σε φρούτα, όπως τα μήλα, τα αχλάδια, τα σταφύλια κλπ, λαχανικά όπως κρεμμύδια και πατάτες, αλλά και σε δημητριακά, όπως καλαμπόκι και σιτάρι. Οι βιολογικές του δράσεις είναι πολλές, συμπεριλαμβανομένης της

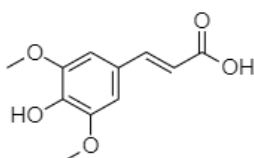
Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Ισοκερκετίνη
(Isoquercetin)**MT: C₂₁H₂₀O₁₂

MB: 463,40

g/mol

αντιοξειδωτικής, αντιφλεγμονώδης, αντιαιμοπεταλιακής, αντιμεταλλαξιογόνου και αντικαρκινικής δράσης. Τέλος, δρα κατά του έλκους και της αθηροσκλήρωσης απαλύνοντας τα σχετικά συμπτώματα (Pei και άλλοι, 2016).

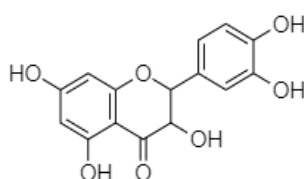
Διαθέτει αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη (Jayachandran και άλλοι, 2019) και αντική δράση. Συγκεκριμένα, η αντική της δράση είναι έναντι του ιού της γρίπης, μέσω της αναστολής της αντιγραφής του (Kim και άλλοι, 2010). Σε *in vivo* πειράματα αποδείχθηκε ότι έχει τη δυνατότητα να παίζει ρυθμιστικό ρόλο στα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα, αλλά και στα λιπίδια με αποτέλεσμα τη βελτίωση της λειτουργίας των παγκρεατικών κυττάρων. Αυτό επιδεικνύει την αντιδιαβητική της δράση έναντι του διαβήτη τύπου 2 (Zhang και άλλοι, 2011).

**Σιναπικό Οξύ
(Sinapic Acid)**MT: C₁₁H₁₂O₅

MB: 224,21

g/mol

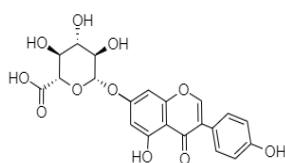
Είναι ευρέως διαδεδομένο στο φυτικό βασίλειο, αφού βρίσκεται σε φρούτα, λαχανικά, δημητριακά, ελαιούχους σπόρους, φαρμακευτικά φυτά και σε ορισμένα μπαχαρικά. Έτσι, αποτελεί σημαντικό συστατικό της διατροφής του ανθρώπου. Τα παράγωγά του είναι χαρακτηριστικές χημικές ενώσεις της οικογένειας *Brassicaceae*. Το σιναπικό οξύ παρουσιάζει πολλές βιολογικές δράσεις, όπως αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή, αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική και αντιαγχώδη δράση (Niciforonić και Abramovič, 2014).

**Ταξιφολίνη
(Taxifolin)**MT: C₁₅H₁₂O₇

MB: 304,25

g/mol

Ανιχνεύεται σε διάφορα φυτά, όπως το κρεμμύδι, το γαϊδουράγκαθο, αλλά και σε κωνοφόρα δέντρα. Χρησιμοποιείται σε διάφορα εμπορικά σκευάσματα όπως τα: Legalon™, Pycnogenol® και Venoruton®, λόγω των σημαντικών φαρμακολογικών της δράσεων που

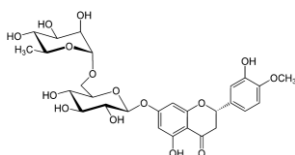
Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****7-O-
Γλυκουρονίδιο της
Γενιστεΐνης**MT: C₂₁H₁₈O₁₁

MB: 446,40

g/mol

σχετίζονται με τη διαχείριση φλεγμονών, όγκων, μικροβιακών λοιμώξεων, οξειδωτικού στρες, καρδιαγγειακές και ηπατικές διαταραχές. Όμως, η σημαντικότερη και πλέον μελετημένη δράση της (*in vitro* και *in vivo*) είναι η αντικαρκινική της δράση (Sunil και Xu, 2019).

Έχει ανιχνευτεί στα βακτήρια *Streptomyces* (Riahi και άλλοι, 2019) και αποτελεί και μεταβολίτη που εντοπίζεται στα ούρα μετά από κατανάλωση της σόγιας και των προϊόντων της (Jang και άλλοι, 2020). Επίσης, ανιχνεύεται στο πλάσμα και τον προστάτη όταν εκχύλισμα σόγιας λαμβάνεται ως συμπλήρωμα διατροφής για την υπερπλασία προστάτη (Guy και άλλοι, 2008).

**Εσπεριδίνη
(Hesperidin)**MT: C₂₈H₃₄O₁₅

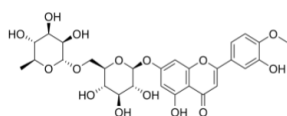
MB: 610,56

g/mol

Απαντάται κυρίως στα κιτροειδή και εμφανίζει πολύ καλή αντιοξειδωτική (Wilmsen και άλλοι, 2005), αντιφλεγμονώδη και αναλγητική δράση (Galati και άλλοι, 1994). Όμως είναι γνωστό ότι επιδεικνύει σημαντική δράση για την πρόληψη αρκετών σοβαρών ασθενειών, όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις και ο καρκίνος, μέσω της ικανότητάς της να αλληλοεπιδρά με πολλούς κυτταρικούς στόχους και να αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων προκαλώντας απόπτωση και διακοπή του κυτταρικού κύκλου (Aggarwal και άλλοι, 2020). Επίσης, έχει αποδειχτεί ότι διαθέτει ανασταλτική δράση έναντι της ανάπτυξης νευροεκφυλιστικών ασθενειών, όπως οι νόσοι Parkinson, Alzheimer και Huntington, αλλά και της σκλήρυνσης κατά πλάκας (Hajialyani και άλλοι, 2019).

**Διοσμίνη
(Diosmin)**MT: C₂₈H₃₂O₁₅

Είναι ένα флаβονοειδές που βρίσκεται στα εσπεριδοειδή. Χρησιμοποιείται ευρέως ως φάρμακο

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος**

MB: 608,56
g/mol

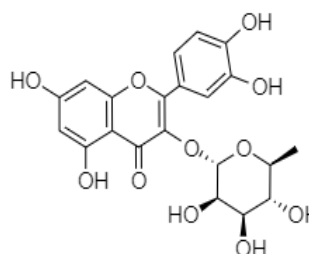
έναντι της χρόνιας φλεβικής ανεπάρκειας, όταν παρατηρείται μη φυσιολογική ροή του αίματος, αλλά και για την καταπολέμηση των αιμορροΐδων. Επίσης, εμφανίζει αντιοξειδωτική και αντικαρκινική δράση μέσω της απόπτωσης των κυττάρων. Τέλος, έχει βρεθεί ότι εμφανίζει αντιδιαβητική και αντιμικροβιακή δράση (Huwait και Mobashir, 2022).

**Κερσιτρίνη
(Quercitrin)**

MT: C₂₁H₂₀O₁₁

MB: 448,38

g/mol



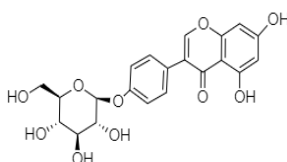
Εχει ανιχνευτεί στο *Melissa officinalis* L. (Allahverdiyev και άλλοι, 2013) και στο *Hypericum perforatum* (St. John's Wort) (Belwal και άλλοι, 2019) συμβάλλοντας σημαντική στις βιοδραστικές ιδιότητες των δύο αυτών φυτών. Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι είναι πολύ αποτελεσματική η χορήγησή της στα αρχικά στάδια (24 ώρες) της ελκώδους κολίτιδας (Saldanha και άλλοι, 2019).

**Σοφορικοσίδης
(Sophoricoside)**

MT: C₂₁H₂₀O₁₀

MB: 432,38

g/mol



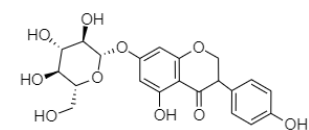
Ο αποξηραμένος καρπός του *Sophora japonica* L. χρησιμοποιείται για την παρασκευή ενός παραδοσιακού κινέζικου τσαγιού βοτάνων πλούσιου στον γλυκοζίτη αυτόν. Είναι ένα ισοφλαβονοειδές μόριο με ηπατοπροστατευτική δράση σε μοντέλα ποντικών που τρέφονταν με δίαιτα υψηλής φρουκτόζης. Η δράση του οφείλεται στην ικανότητά του να ρυθμίζει τον μεταβολισμό των λιπιδίων, την οξείδωση και τη φλεγμονή (Li και Lu, 2018). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι περιέχεται και στην σόγια και εμφανίζει αντιφλεγμονώδη δράση (Kim και άλλοι, 2003).

**Γενιστίνη
(Genistin)**

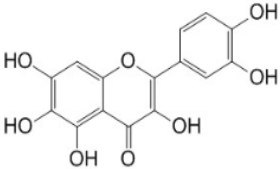
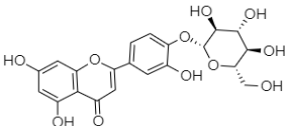
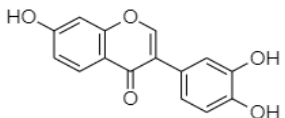
MT: C₂₁H₂₀O₁₀

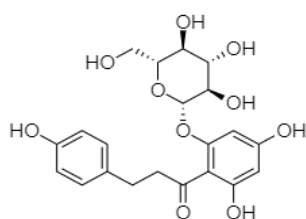
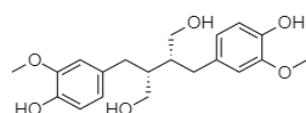
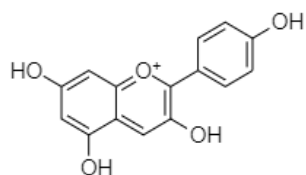
MB: 432,37

g/mol



Παίζει σημαντικό ρόλο στην υγεία των οστών, αφού έχει προσδιοριστεί ότι διαθέτει την ικανότητα να ενισχύει τον μεταβολισμό των οστών στους μηριαιομεταφυσιακούς ιστούς των ηλικιωμένων αρουραίων (Yamaguchi και Hua Gao, 1998), ενώ βοηθάει και στην αύξηση του

Φυτοοιστρογόνο	Μοριακός Τύπος/ Βάρος	Πληροφορίες
		σχηματισμού των οστών (Rabie, 2010). Επιπλέον, έχει αποδειχτεί ότι παρουσιάζει ισχυρή προληπτική δράση για την απώλεια οστικής μάζας σε πειράματα με αρουραίους. Η δράση αυτή ενισχύεται σημαντικά όταν συνδυαστεί με φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες (Hooshmand και άλλοι, 2010). Η γενιστίνη έχει αποδειχτεί ότι εμφανίζει και αντιϊκή δράση (Donovan και άλλοι, 2009).
Κερσεταγετίνη (Quercetagetin) 	MT: C ₁₅ H ₁₀ O ₈ MB: 318,23 g/mol	Είναι το κύριο φλαβονοειδές στην ταξιανθία <i>Tagetes erecta</i> L., με ισχυρές <i>in vitro</i> αντιοξειδωτικές, αντιδιαβητικές και αντιλιπιδαιμικές ιδιότητες που δείχνουν την ικανότητα του μορίου να ελέγχει ασθένειες όπως ο σακχαρώδης διαβήτης και η παχυσαρκία (Wang και άλλοι, 2016).
4'-Ο-Γλυκοζίτης της Λουτεολίνης 	MT: C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁ MB: 448,40 g/mol	Εχει βρεθεί και απομονωθεί από το φυτό <i>Olea europaea</i> (Meirinhos και άλλοι, 2005). Βρίσκεται σε μεγάλη συγκέντρωση στο <i>Gnaphalium affine</i> D. Don, ένα λαϊκό φάρμακο της Κίνας που είναι αποτελεσματικό στη θεραπεία πολλών παθήσεων, συμπεριλαμβανομένης της υπερουριχαιμίας και της ουρικής αρθρίτιδας. Για τη θεραπεία των δύο αυτών παθήσεων ο γλυκοζίτης έχει επιδείξει ισχυρή κλινική δράση (Lin και άλλοι, 2018).
3',4',7- τριϋδροξυϊσο- φλαβόνη (3',4',7- trihydroxyiso- flavone) 	MT: C ₁₅ H ₁₀ O ₅ MB: 270,24 g/mol	Είναι μεταβολίτης τόσο της δαϊδεδεΐνης (Chang, 2014), όσο και της δαϊδζίνης. Έχει βρεθεί στο πλάσμα αρουραίων που έχουν τραφεί με σόγια και η επίδρασή της έχει μελετηθεί-αποδειχθεί για την καταπολέμηση της αθηροσκλήρυνσης (Lee και άλλοι, 2018).
Φλοριντζίνη (Phloridzin)	MT: C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀ MB: 436,41 g/mol	Στη μηλιά (<i>Malus</i> sp.) συσσωρεύονται υψηλές ποσότητες φλοριντζίνης. Απομονώθηκε για πρώτη φορά στα τέλη του 19 ^{ου} αιώνα από το φλοιό της μηλιάς, αλλά γρήγορα

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Σεκοΐσολαρισιρε-
σινόλη
(Secoisolaricire-
sinol)****Πελαργονιδίνη
(Pelargonidin)****4',6,7-
τριϋδροξυϊσο-
φλαβόνη
(4',6,7-
trihydroxyiso-
flavone)**

MT: C₂₀H₂₆O₆
MB: 362,42
g/mol

MT: C₁₅H₁₁O₅⁺
MB: 271,24
g/mol

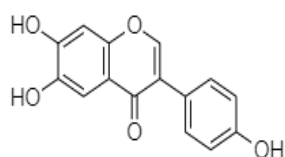
MT: C₁₅H₁₀O₅
MB: 270,24
g/mol

διαπιστώθηκε ότι ήταν πιο διαδεδομένη στον φλοιό της ρίζας παρά στον φλοιό του στελέχους και έτσι ονοματίστηκε από τις ελληνικές λέξεις φλοιός και ρίζα. Έχει αντιυπερετική δράση και έχει μελετηθεί ιδιαίτερα ως προς την επίδρασή της έναντι του διαβήτη, της παχυσαρκίας, για τη διαπερατότητα των μεμβρανών, όπως και ως παράγοντας επέκτασης της μακροζωίας σε τρόφιμα, ποτά, πρόσθετα τροφίμων, φαρμακευτικά προϊόντα και καλλυντικά (Gosch και άλλοι, 2010).

Εντάσσεται στα λιγνάνια και εμφανίζει αντιοξειδωτική δράση (Prasad, 2011). Έχει βρεθεί στο λιναρόσπορο και αποτελεί το πρόδρομο μόριο για τον σχηματισμό των εντερολιγνάνιων, εντεροδιόλη και εντερολακτόνη, οι οποίες μπορούν δυνητικά να μειώσουν τον κίνδυνο ανάπτυξης ορισμένων μορφών καρκίνου και καρδιαγγειακών παθήσεων. Τα μόρια αυτά σχηματίζονται από την εντερική μικροχλωρίδα μετά από κατανάλωση σεκοΐσολαρισιρεσινόλης (Milder και άλλοι, 2005a).

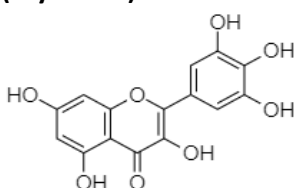
Είναι μία από τις κύριες ανθοκυανιδίνες του ροδιού και διαθέτει σημαντικές αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Noda και άλλοι, 2002). Σε *in vivo* πειράματα με διαβητικούς αρουραίους παρατηρήθηκε ότι η θεραπεία με πελαργονιδίνη ομάλυνε τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα και βελτίωσε τα επίπεδα ινσουλίνης ορού (Roy και άλλοι, 2008).

Είναι ένας μεταβολίτης της δαϊδεΐνης. Εμφανίζει αντιοξειδωτική δράση, ενώ έχει την ικανότητα να βελτιώνει τη μνήμη και τη γνωστική δυσλειτουργία (Κο και άλλοι, 2018).

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Μυρισετίνη
(Myricetin)**MT: C₁₅H₁₀O₈

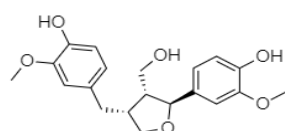
MB: 318,24

g/mol

**Λαρισερεσινόλη
(Lariciresinol)**MT: C₂₀H₂₄O₆

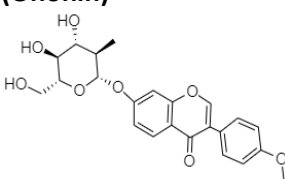
MB: 360,40

g/mol

**Ονονίνη
(Ononin)**MT: C₂₂H₂₂O₉

MB: 430,41

g/mol

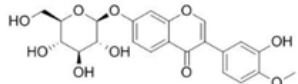
**7-O-D-Γλυκοζίτης
της Καλυκοσίνης**MT: C₂₂H₂₂O₁₀

Είναι πολύ ισχυρό αντιοξειδωτικό (Ross και Kasum, 2002) και διαθέτει την ικανότητα να μειώνει τον κίνδυνο ογκογένεσης του δέρματος που προκαλείται από τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (Ong και Khoo, 1997). Επιπλέον, λειτουργεί προστατευτικά έναντι των νευρώνων, αλλά κατά των οξειδωτικών στρεσογόνων παραγόντων (Dajas και άλλοι, 2003).

Βρίσκεται στο σουσάμι και στα λαχανικά *Brassica* (Milder και άλλοι, 2005b). Η πρόσληψη αυτής και άλλων λιγνάνων είναι απαραίτητη, καθώς αποτελούν το υπόστρωμα για τον σχηματισμό των εντερολιγνάνων, εντερολακτόνη και εντεροδιόλη, που σχηματίζονται στη μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου και μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισης ορισμένων τύπων καρκίνου και καρδιαγγειακών παθήσεων (Milder και άλλοι, 2005c).

Διαθέτει αντιφλεγμονώδη δράση κατά της φλεγμονής που προκαλείται από τους λιποπολυσακχαρίτες (Dong και άλλοι, 2017), ενώ *in vivo* πειράματα με αρουραίους έδειξαν ότι έχει νευροπροστατευτική επίδραση έναντι της νόσου του Alzheimer που προκαλείται από το AlCl₃ (Chen και άλλοι, 2021). Αρκετές *in vitro* και *in vivo* έρευνες έχουν καταδείξει την αντικαρκινική της δράση, ενώ έρευνα σε ενδοθηλιακά κύτταρα έχει επιβεβαιώσει ότι δρα και κατά της αγγειογένεσης (Gong και άλλοι, 2021).

Ο γληκοζίτης αυτός μειώνει τη συσσώρευση λιπιδίων στα ηπατοκύτταρα είτε αναστέλλοντας την έκφραση

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος**

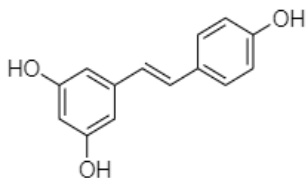
MB: 446,40

g/mol

γονιδίων που σχετίζονται με την λιπογένεση ή μέσω ρύθμισης της έκφρασης των γονιδίων που σχετίζονται με την οξείδωση των λιπιδίων (Χυ και άλλοι, 2022). Μία άλλη έρευνα υπέδειξε το μόριο αυτό ως χημική ένωση με σημαντικές επιδράσεις στο εντερικό περιβάλλον με δυνατότητα τροποποίησης του εντερικού βακτηριακού πληθυσμού, καθώς αποδείχτηκε ότι μπορεί να καταστείλει την ανάπτυξη ορισμένων παθογόνων βακτηρίων όπως τα *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Clostridium* και *Bacteroides* ενώ δεν επηρεάζονται σημαντικά όσα δρουν θετικά για την υγεία του ανθρώπου, όπως τα *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* (Zhang και άλλοι, 2014).

**Ρεσβερατρόλη
(Resveratrol)**MT: C₁₄H₁₂O₃

MB: 228,24



g/mol

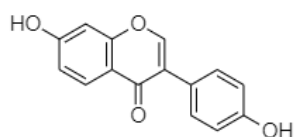
Είναι μια φυσική φυτοαλεξίνη που παράγεται από ορισμένα σπερματοφύτα, όπως τα αμπέλια, ως απόκριση σε τραυματισμό. Δεδομένου ότι υπάρχει στις φλούδες των σταφυλιών και όχι στη σάρκα, οι λευκοί οίνοι περιέχουν πολύ μικρότερες ποσότητες σε σύγκριση με τους ερυθρούς. Η παρουσία του διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην πρόληψη των καρδιαγγειακών παθήσεων αφού έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζει το μεταβολισμό των λιπιδίων και αναστέλλει την οξείδωση λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας, αλλά και τη συσσώρευση αιμοπεταλίων. Επιπλέον, ως φυτοοιστρογόνο παρέχει καρδιαγγειακή προστασία, ενώ διαθέτει σημαντικές αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινικές ιδιότητες (Frémont, 2000).

**Δαϊντζεΐνη
(Daidzein)**MT: C₁₅H₁₀O₄

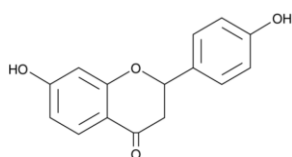
MB: 254,24

g/mol

Απαντάται, κυρίως, στην σόγια και σε άλλα όσπρια. Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι μπορεί να ανακουφίσει από τα διάφορα συμπτώματα που σχετίζονται με την εμμηνόπαυση, την οστεοπόρωση,

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος**

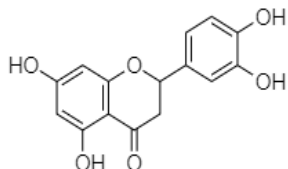
αλλά και να μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης ορισμένων καρκίνων που σχετίζονται με ορμόνες και χρόνιων παθήσεων. Έχει την ικανότητα να διεγείρει το σχηματισμό οστών και την ανοργανοποίηση σε σύστημα καλλιέργειας ιστών *in vitro*. (Sugimoto και Yamaguchi, 2000). Έχει προληπτική αντικαρκινική δράση έναντι των καρκίνων του παχέος εντέρου (Liang και άλλοι, 2018), μαστού (Jin και άλλοι, 2010; Koo και άλλοι, 2015) και των ωοθηκών (Chan και άλλοι, 2018). Μελέτες *in vitro* έχουν καταδείξει θετικά αποτελέσματα ως αντιδιαβητικού ή αντιυπεργλυκαιμικού παράγοντα κατά του διαβήτη τύπου 2 (T2D) (Cheong και άλλοι, 2014).

**Λικουϊριτιγενίνη
(Liquiritigenin)**MT: C₁₅H₁₂O₄

MB: 256,30

g/mol

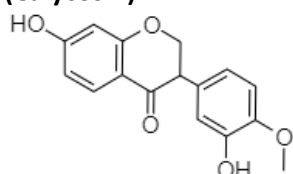
Δρα κυρίως ως εκλεκτικός αγωνιστής του υποδοχέα των οιστρογόνων ERβ (Mersereau και άλλοι, 2008) και παρουσιάζει αντιφλεγμονώδη δράση μέσω της ικανότητας να αναστέλλει τα επαγόμενα NO (iNOS), που εξαρτώνται από τον παράγοντα νέκρωσης όγκου, NF-κΒ, και την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών. Επίσης, δρα ηπατοπροστατευτικά σε *in vitro* πειράματα έναντι βαρέων μετάλλων (Kim και άλλοι, 2004), αλλά και *in vivo* (Kim και άλλοι, 2006). Επιπλέον, έχει και αντιδιαβητική δράση (Gaur και άλλοι, 2014).

**Εριοδικτυόλη
(Eriodictyol)**MT: C₁₅H₁₂O₆

MB: 288,25

g/mol

Είναι ευρέως διαδεδομένη σε εσπεριδοειδή, λαχανικά και βότανα. Αποτελεί μια αποτελεσματική φυσική πηγή για πολλά φάρμακα, καθώς παίζει εξαιρετικό θεραπευτικό ρόλο σε διάφορους τομείς της υγείας, έχοντας αποδειχτεί ότι δρα νευροπροστατευτικά, καρδιοπροστατευτικά και ηπατοπροστατευτικά, κυρίως κατά του διαβήτη και της παχυσαρκίας. Επιπλέον, διαθέτει εξαιρετική αναλγητική, αντιοξειδωτική,

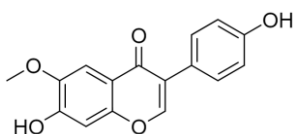
Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Καλυκοσίνη
(Calycosin)**MT: C₁₆H₁₂O₅

MB: 284,26

g/mol

αντιφλεγμονώδη, αντιπυρετική και αντικαρκινική δράση (Deng και άλλοι, 2020)

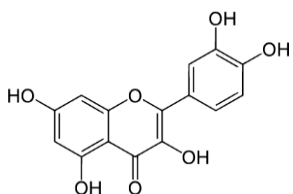
Είναι ένα τυπικό φυτοοιστρογόνο που εξάγεται από τη ρίζα του *Astragalus membranaceus*. Έχει ένα ευρύ φάσμα φαρμακολογικών ιδιοτήτες, με κυριότερες την αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδη, αντι-οστεοπορική, νευροπροστατευτική και ηπατοπροστατευτική δράση, ενώ συχνά φαίνεται ότι ο συνδυασμός της με άλλα φάρμακα βελτιώνει το θεραπευτικό αποτέλεσμα (Deng και άλλοι, 2021).

**Γλυσιτεΐνη
(Glycitein)**MT: C₁₆H₁₂O₅

MB: 284,27

g/mol

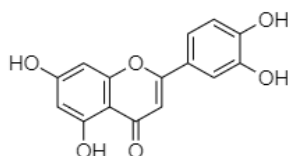
Έχει πολύ καλή οιστρογονική δράση (Song και άλλοι, 1999), όπως η γενιστεΐνη και η δαϊδζεΐνη. Σε έρευνα του 2005 προσδιορίστηκε η πιθανή θεραπευτική επίδραση των μορίων γλυσιτεΐνη, γενιστεΐνη και η δαϊδζεΐνη σε διαγονιδιακά σκουλήκια *Caenorhabditis elegans* που μπορούν να εκφράζουν το ανθρώπινο βήτα αμυλοειδές (Αβ). Αφού τροφοδοτήθηκαν με τις ισοφλαβόνες αυτές, στη συνέχεια εξετάστηκαν για την παράλυση που προκαλείται από το Αβ, καθώς και τα επίπεδα των ριζών ROS. Είναι χαρακτηριστικό ότι μόνο η γλυσιτεΐνη είχε θετικές επιδράσεις (Gutierrez-Zepeda και άλλοι, 2005).

**Κερκετίνη
(Quercetin)**MT: C₁₅H₁₀O₇

MB: 302,23

g/mol

Έχει πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση (Williams και άλλοι, 2004), ενώ είναι ικανή να αναστείλει την οδό PI3K/AKT που οδηγεί σε μειωμένη ρύθμιση της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης BCL-w (Hartman και Czyz, 2020; Paez-Ribes και άλλοι, 2019). Όμως, μπορεί να επηρεάσει και τη δράση άλλων πρωτεϊνών, δρώντας π.χ. ως μη ειδικός αναστολέας του ενζύμου της πρωτεϊνικής κινάσης (Williams και άλλοι, 2004). Επιπλέον, επιδρά θετικά στο καρδιαγγειακό σύστημα αφού αποτρέπει τη συσσώρευση αιμοπεταλίων και προάγει τη χαλάρωση

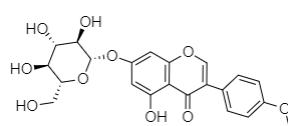
Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Λουτεολίνη
(Luteolin)**MT: C₁₅H₁₀O₆

MB: 286,24

g/mol

του καρδιαγγειακού λείου μυός. Τέλος, η κερκετίνη διαθέτει και αντικαρκινικές ιδιότητες (Formica και Regelson, 1995).

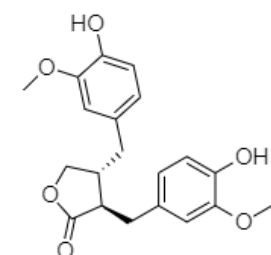
Βρίσκεται σε πολλούς τύπους φυτών όπως φρούτα, λαχανικά και φαρμακευτικά βότανα. Φυτά πλούσια σε λουτεολίνη χρησιμοποιούνται στην Κινεζική παραδοσιακή ιατρική για τη θεραπεία διαφόρων ασθενειών όπως υπέρταση, φλεγμονώδεις διαταραχές και καρκίνος, καθώς εμφανίζει πολλές βιολογικές ιδιότητες όπως αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, αντιαλλεργική και αντικαρκινική δράση (Lin και άλλοι, 2008).

**Σισσοτρίνη
(Sissotrin)**MT: C₂₂H₂₂O₁₀

MB: 446,40

g/mol

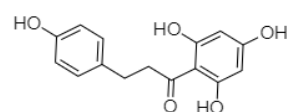
Έχει βρεθεί στα φυτά *Dalbergia sissoo* (χρησιμοποιείται στην παραδοσιακή ιατρική του Μπαγκλαντές) και *Cicer chorassanicum* και λειτουργεί ως φυτοοιστρογόνο (*"Sissotrin"*). Επίσης, έχει βρεθεί στο *Trifolium baccarinii* με πιθανή αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση (Tsamo και άλλοι, 2021).

**Ματαΐρεσινόλη
(Matairesinol)**MT: C₂₀H₂₂O₆

MB: 358,39

g/mol

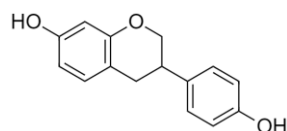
Ανιχνεύεται στα φυτά *Himatanthus drasticus* και *Crossosoma bigelovii*. Εμφανίζει οιστρογονική δράση με αποτέλεσμα να χαρακτηρίζεται ως φυτοοιστρογόνο, ενώ λειτουργεί και ως αναστολέας αγγειογένεσης και αντιασθματικός παράγοντας (*"Matairesinol"*).

**Φλορετίνη
(Phloretin)**MT: C₁₅H₁₄O₅

MB: 274,24

g/mol

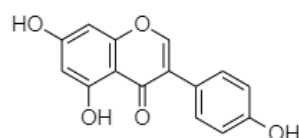
Είναι ένα πολύ εύκαμπτο μόριο, ικανό να συνδέεται αποτελεσματικά με διάφορα βιολογικά μακρομόρια. Ως αποτέλεσμα διαθέτει σημαντική αντιμυκητιακή, αντικαρκινική, αντιοξειδωτική, αντιβακτηριακή, οιστρογονική, αντική και αντιφλεγμονώδη δράση.

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Εκουόλη
(Equlol)**

MT: C₁₅H₁₄O₃
MB: 242,27
g/mol

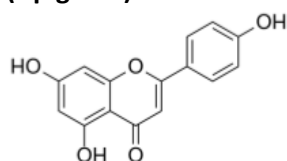
Παράλληλα, φαίνεται ότι εμφανίζει και νευροπροστατευτική δράση (Behzad και άλλοι, 2017).

Οι ορμονικές δράσεις της εκουόλης είναι καλά τεκμηριωμένες από τις πρώιμες παρατηρήσεις. Όμως, μετά την ανακάλυψη των οιστρογονικών υποδοχέων έγινε δυνατή η ποσοτικοποίηση της συγγένειάς της με τα οιστρογόνα. Έρευνες σε ζωικά μοντέλα έδειξαν ότι η εκουόλη δεν αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, αλλά αντίθετα λειτουργεί ως χημειοπροληπτικός παράγοντας (Setchell και Clerici, 2010).

**Γενιστεΐνη
(Genistein)**

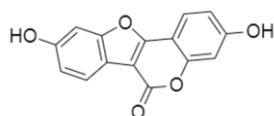
MT: C₁₅H₁₀O₅
MB: 270,24
g/mol

Έχει αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση, ενώ έχει αποδειχτεί ότι προκαλεί απόπτωση των κυττάρων μέσω της ρύθμισης της έκφρασης διαφόρων πρωτεϊνών (Tuli και άλλοι, 2019). Μέσω της ικανότητας αυτής η γενιστεΐνη παρουσιάζει αντικαρκινική δράση, ενώ *in vivo* έρευνα απέδειξε την ικανότητά της να αναστέλλει τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων των αδενοειδών σιελογόνων (Li και άλλοι, 2017; Liu και Yu, 2004; Tuli και άλλοι, 2019). Επιπλέον έχει την ικανότητα να δρα χονδροπροστατευτικά έναντι της φλεγμονής των αρθρώσεων που προκαλείται από την οστεοαρθρίτιδα (Liu και άλλοι, 2019), ενώ έχει χαρακτηριστεί και ως ένα πολλά υποσχόμενο μόριο ενδιαφέροντος έναντι της νόσου του Alzheimer (Uddin και Kabir, 2019).

**Απιγενίνη
(Apigenin)**

MT: C₁₅H₁₀O₅
MB: 270,24
g/mol

Οι ευεργετικές ενδείξεις της είναι αρκετές σχετικά με την θετική της επίδραση σε προβλήματα υγείας που αφορούν την αμνησία, τη νόσο του Alzheimer, την κατάθλιψη και την αϋπνία, ενώ έχει βρεθεί ότι παρουσιάζει αντιδιαβητική και αντικαρκινική δράση. Οι

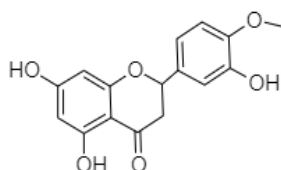
Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Κουμestρόλη
(Coumestrol)**MT: C₁₅H₈O₅

MB: 268,22

g/mol

δράσεις αυτές έχουν επιβεβαιωθεί με *in vivo* μελέτες (Salehi και άλλοι, 2019).

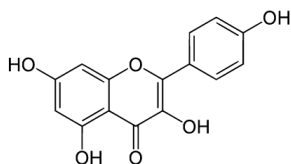
Έχει φυτοοιστρογονική (Kuhnle και άλλοι, 2008; Seo και άλλοι, 2014) και αντιοξειδωτική δράση (Montero και άλλοι, 2019). Επίσης, μπορεί να αποτελέσει έναν παράγοντα διατροφής έναντι της παχυσαρκίας αφού *in vivo* πειράματα για θεραπεία δύο εβδομάδων σε ποντίκια με διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, μειώθηκε το σωματικό τους βάρος και βελτιώθηκε η ανοχή τους στη γλυκόζη (Kim και άλλοι, 2020).

**Εσπερετίνη
(Hesperetin)**MT: C₁₆H₁₄O₆

MB: 302,28

g/mol

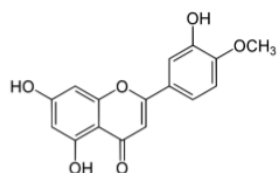
Είναι ένα φλαβονοειδές που απαντάται κυρίως στα είδη *Citrus*. Διαθέτει αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση, ενώ φαίνεται ότι δρα και νευροπροστατευτικά (Khan και άλλοι, 2020). Επίσης, είναι ενδιαφέρον ότι δρα παρόμοια με τις βιταμίνες μειώνοντας τη διαπερατότητα των τριχοειδών (βιταμίνη P), τη διαρροή και την ευθραυστότητά τους (Parhiz και άλλοι, 2015).

**Καμφερόλη
(Kaempferol)**MT: C₁₅H₁₀O₆

MB: 286,23

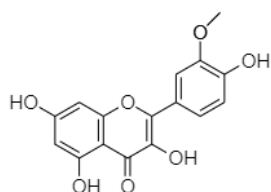
g/mol

Βρίσκεται σε πολλά βρώσιμα φυτά, όπως το μπρόκολο, το λάχανο, τα φασόλια κλπ, αλλά και σε βότανα της παραδοσιακής ιατρικής. Επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι η κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν καμφερόλη επιδρά θετικά στον οργανισμό και μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης αρκετών διαταραχών, όπως ο καρκίνος και οι καρδιαγγειακές παθήσεις. Πολλές προκλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι το μόριο αυτό διαθέτει αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, αντιμικροβιακή, νευροπροστατευτική οιστρογονική, αγχολυτική και αντιδιαβητική δράση, ενώ δρα θετικά και έναντι της οστεοπόρωσης (M. Calderon-Montano και άλλοι, 2011).

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Διοσμετίνη
(Diosmetin)**

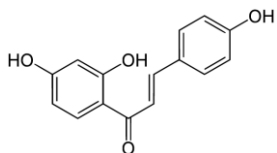
MT: C₁₆H₁₂O
MB: 300,26
g/mol

Απαντάται κυρίως στους καρπούς των εσπεριδοειδών και τα φύλλα της ελιάς (Garg και άλλοι, 2022). Διαθέτει αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση, γεγονός που συμβάλλει στην αντιμετώπιση χρόνιων παθήσεων που οφείλονται στο οξειδωτικό στρες, όπως ο διαβήτης, η παχυσαρκία, και ο καρκίνος. Επίσης, επιδρά θετικά έναντι της εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων, ενώ χρησιμοποιείται και για την καταπολέμηση της ατοπικής δερματίτιδας (Barreca και άλλοι, 2020; Garg και άλλοι, 2022; Lee και άλλοι, 2020).

**Ισοραμνετίνη
(Isorhamnetin)**

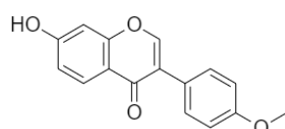
MT: C₁₆H₁₂O₇
MB: 316,26
g/mol

Είναι ένα από τα σημαντικότερα συστατικά των σπερμάτων του *Hippophae rhamnoides* L. και των φύλλων του *Ginkgo biloba* L. Έχει πολλές ευεργετικές για την υγεία δράσεις, με κυριότερες την καρδιαγγειακή και εγκεφαλοαγγειακή προστασία, αλλά και την αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση. Επίσης, δρα προστατευτικά για τα όργανα και παίζει σημαντικό ρόλο στην πρόληψη της παχυσαρκίας (Gong και άλλοι, 2020).

**Ισολικουϊριτιγεν-
νίνη
(Isoliquiritigenin)**

MT: C₁₅H₁₂O₄
MB: 256,26
g/mol

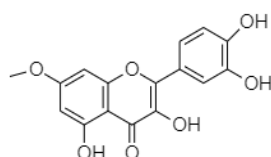
Η ισολικουϊριτιγενίνη είναι μία χαλκόνη με πολλές γνωστές βιολογικές δράσεις, όπως η αντικαρκινική για πολλούς τύπου καρκίνου, όπως οι καρκίνοι του προστάτη (Kanazawa και άλλοι, 2003), παχέος εντέρου (Yoshida και άλλοι, 2008), μαστού, τραχήλου της μήτρας κλπ. Επίσης, διαθέτει καρδιοπροστατευτική (Peng και άλλοι, 2015), ηπατοπροστατευτική, νευροπροστατευτική και αντιφλεγμονώδη δράση (Peng και άλλοι, 2015). Σε *in vivo* μελέτη εμφάνισε αντιδιαβητική δράση (Gaur και άλλοι, 2014), ενώ έχει διαπιστωθεί ότι διαθέτει και αντιμικροβιακή δράση έναντι των

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος****Φορμονονετίνη
(Formononetin)**

MT: C₁₆H₁₂O₄
MB: 268,26
g/mol

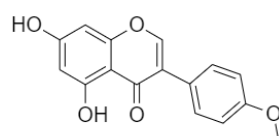
Porphyromonas gingivalis, *Fusobacterium nucleatum* και *Prevotella intermedia* (Feldman και άλλοι, 2011).

Έχει βρεθεί στο κόκκινο τριφύλλι και είναι αρκετά διαδεδομένη στα ψυχανθή φυτά, όπου παίζει το ρόλο του ενδιάμεσου μεταβολίτη για τη βιοσύνθεση των φυτοαλεξινών (Tay και άλλοι, 2019). Παρουσιάζει οιστρογονική, αντιοξειδωτική (Mu και άλλοι, 2009) και αντικαρκινική δράση (Tay και άλλοι, 2019). Επίσης, σε *in vivo* πειράματα με αρουραίους με διαβήτη τύπου 2 μετρίασε την νεφρική τους βλάβη (Oza και Kulkarni, 2019).

**Ραμνετίνη
(Rhamnetin)**

MT: C₁₆H₁₂O₇
MB: 316,26
g/mol

Βρίσκεται σε διάφορα φυτά και φρούτα και παρουσιάζει αρκετές φαρμακολογικές δράσεις, με κυριότερες την αντιοξειδωτική, αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδη, αντιαλβινική και αντιβακτηριακή δράση (Medeiros και άλλοι, 2022).

**Βιοχανίνη Α
(Biochanin A)**

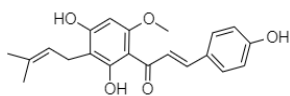
MT: C₁₆H₁₂O₅
MB: 284,26
g/mol

Μπορεί να μεταβολιστεί *in vivo* σε γενιστεΐνη (Patisaul και Jefferson, 2010). Έχει αντικαρκινική δράση μέσω απόπτωσης των κυττάρων, αναστολής της μετάστασης και διακοπής του κυτταρικού κύκλου με τη στόχευση αρκετών απορυθμισμένων οδών σηματοδότησης του καρκίνου (Li και άλλοι, 2018; Sarfraz και άλλοι, 2020; Yu και άλλοι, 2019). Επίσης, παρουσιάζει και νευροπροστατευτική δράση καθώς προκαλεί την απόπτωση νευρώνων και αναστέλλει την μικρογλοιακή ενεργοποίηση (Sarfraz και άλλοι, 2020). Τέλος, βελτιώνει *in vivo* την ευαισθησία στην ινσουλίνη και ελέγχει την υπεργλυκαιμία στον διαβήτη τύπου 2 (Oza και Kulkarni, 2018).

**Ξανθοχουμόλη
(Xanthohumol)**

MT: C₂₁H₂₂O₅

Βρίσκεται στη μύρα (Gerhäuser, 2005) αφού αποτελεί συστατικό του λυκίσκου (*Humulus lupulus*) και

Φυτοοιστρογόνο**Μοριακός****Πληροφορίες****Τύπος/****Βάρος**

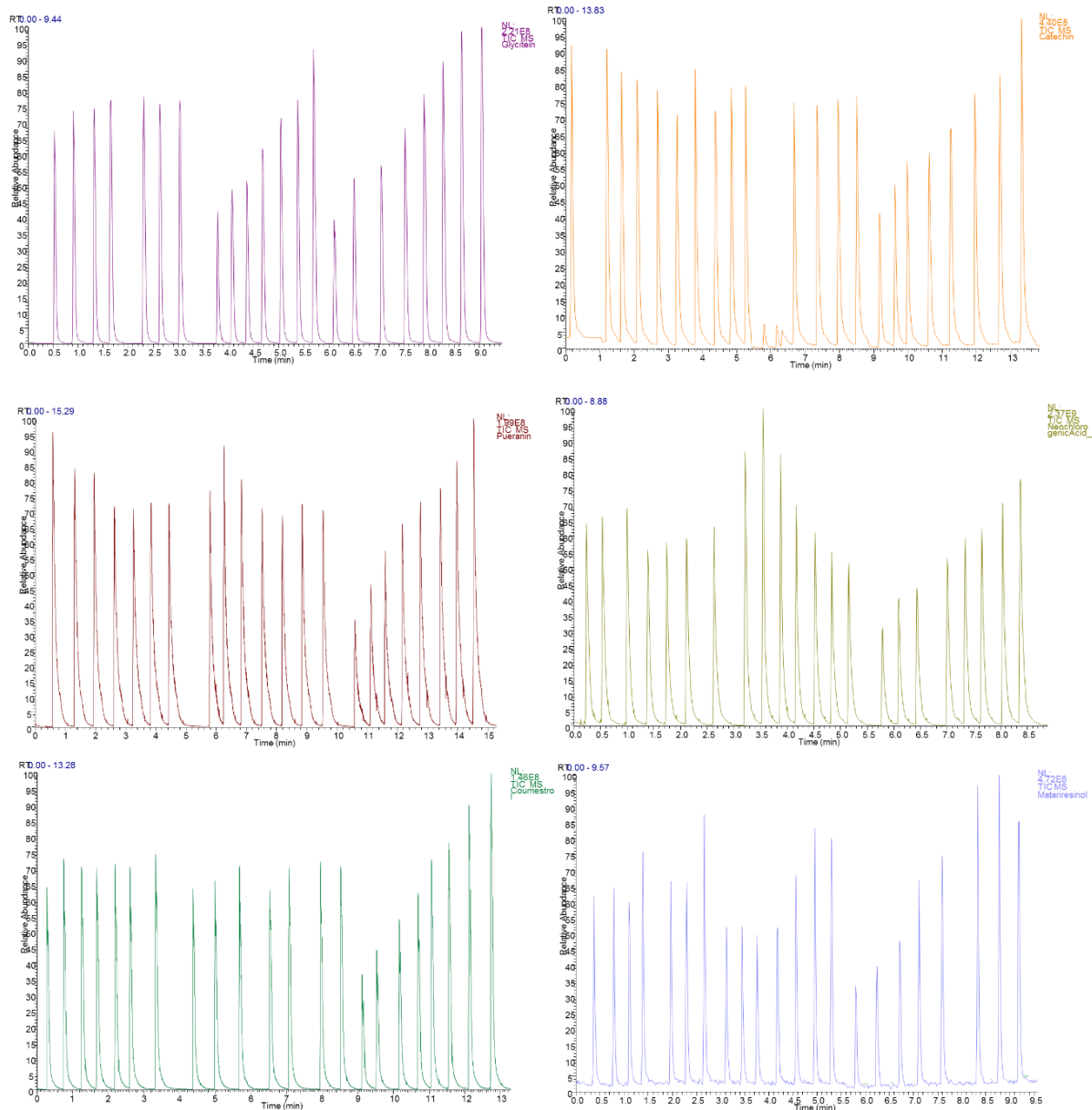
MB: 354,39
g/mol

παρουσιάζει χημειοπροληπτική και αντινεοπλασματική δράση. Επίσης, διαθέτει αντιοξειδωτική δράση αφού έχει την ικανότητα να δεσμεύει τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου ("Xanthohumol").

Για την ανάπτυξη της νέας μεθόδου ανάλυσης των φυτοοιστρογόνων έγινε αρχικά η ανάπτυξη μίας μικρότερης μεθόδου ποσοτικού προσδιορισμού αντιοξειδωτικών, η οποία επίσης επικυρώθηκε (Myrtsi και άλλοι, 2021). Αρχικά η υγρή χρωματογραφία ξεκινούσε με μίγμα διαλυτών 90% H₂O (0,1% φορμικό οξύ) και 10% ACN και κατέληγε σε αναλογία διαλύτη 100% ACN. Η θερμοκρασία της στήλης ήταν ρυθμισμένη στους 25°C και η ροή στα 200 μL/min. Η μέθοδος λειτούργησε αποτελεσματικά για τα αρχικά ενταγμένα στη μέθοδο φυτοοιστρογόνα, όμως με την προσθήκη επιπλέον φυτοοιστρογόνων ο διαχωρισμός τους δεν ήταν εφικτός, αφού αρκετοί από τους αναλύτες έχουν το ίδιο μοριακό βάρος και τα ίδια θραύσματα. Έτσι, κατέστη απαραίτητο να αναπτυχθεί μια νέα μέθοδος που έχει την ικανότητα να διαχωρίζει χρωματογραφικά τους αναλύτες με παρόμοια δομή. Οι αναλύτες που ήταν δύσκολο να διαχωριστούν τόσο χρωματογραφικά, όσο και μέσω της μάζας τους ήταν η γενιστίνη με τον σοφορικοσίδη (Μοριακό Βάρος 432g/mol, RT: 5,54min), η γλυσιστεΐνη με την καλυκοσίνη (Μοριακό Βάρος 484g/mol, RT: 6.43min) και ο 4-O-γλυκοσίτης της λουτεολίνης με τον 7-O-γλουκορονίδη της γενιστεΐνης (Μοριακό Βάρος 446g/mol, RT:5,50 min).

Για να επιτευχθεί ο διαχωρισμός των παραπάνω ζευγών των φυτοοιστρογόνων διενεργήθηκε ένας μεγάλος αριθμός δοκιμών, μεταβάλλοντας τις χρωματογραφικές συνθήκες, όπως η θερμοκρασία της στήλης, η ροή και το σύστημα έκλουσης των διαλυτών με στόχο τον προσδιορισμό των βέλτιστων συνθηκών που σχετίζονται με την επιλογή του καταλληλότερου χρόνου έκλουσης των αναλυτών και τον προσδιορισμό της αναλογίας διαλυτών που εκλούει τον κάθε αναλύτη για την επίτευξη του αποτελεσματικότερου διαχωρισμού τους.

Τη βελτιστοποίηση των συνθηκών του χρωματογραφικού διαχωρισμού ακολούθησε η μεταβολή των συνθηκών που εφαρμόζονται στη φασματομετρία μαζών, με στόχο για κάθε αναλύτη να προκύψει το βέλτιστο δυνατό σήμα. Αυτό αποτέλεσε ένα αρκετά επίπονο τμήμα στην ανάπτυξη της μεθόδου, καθώς τόσο το πλήθος των αναλυτών όσο και οι διαφορές στη θραυσματοποίησή τους οδηγούσαν κάθε φορά σε διαφορετικές βέλτιστες συνθήκες. Όμως, τελικά προσδιορίστηκαν και επιλέχθηκαν οι συνθήκες που ικανοποιούν το σύνολο των αναλυτών. Συγκεκριμένα, η απευθείας έγχυση των αναλυτών έγινε μέσω της βαλβίδας purge, ενώ οι διαλύτες της χρωματογραφικής μεθόδου έρεαν μέσα από την στήλη και προς την πηγή. Με τις συνθήκες χρωματογραφίας να είναι ρυθμισμένες στην αναλογία διαλυτών που εκλουόταν η εκάστοτε χημική ένωση, το κάθε φυτοοιστρογόνο εισχωρούσε με αυτόν τον τρόπο στο σύστημα και το σήμα του φαινόταν στον καταγραφέα (υπολογιστή). Ακολούθησε η συλλογή των δεδομένων και προέκυψε ο συνδυασμός των καταλληλότερων συνθηκών ώστε να προκύπτουν τα βέλτιστα δυνατά αποτελέσματα για το συνδυασμό όλων των αναλυτών-στόχων. Οι συνθήκες που προσδιορίστηκαν και βελτιστοποιήθηκαν με τον τρόπο αυτό ήταν η ροή των βοηθητικών αερίων (sheath και auxiliary gas) και η θερμοκρασία του τριχοειδούς (capillary temperature).



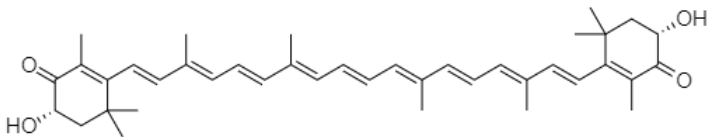
Εικόνα 38 Καταγραφή του σήματος κατά την αλλαγή των συνθηκών μάζας (ροή αερίων (sheath & auxiliary gas), θερμοκρασία τριχωειδούς) για τα φυτοοιστρογόνα γλυσιτεΐνη (βιολετί), κατετεχίνη (πορτοκαλί), πουεραρίνη (κερασί), νεοχλωρογενικό οξύ (λαδί), κουμεστρόλη (πράσινο), ματαΐρεσινόλη (μπλε).

1.2. Ανάπτυξη Νέας Μεθόδου Ποσοτικού Προσδιορισμού των Καροτενοειδών

Για τον καλύτερο προσδιορισμό του φυτοχημικού περιεχομένου των άγριων και καλλιεργούμενων φυτών σε φυσικά βιοδραστικά μόρια είναι απαραίτητο να συμπεριληφθεί και ο προσδιορισμός των περιεχομένων καροτενοειδών. Για το σκοπό αυτό αναπτύχθηκε μια νέα μέθοδος ανίχνευσης-ποσοτικού προσδιορισμού των καροτενοειδών που περιλαμβάνονται στον Πίνακα 13.

Πίνακας 13 Καροτενοειδή που προσδιορίστηκαν με τη νέα αναλυτική μέθοδο

Καροτενοειδή	Μοριακός Τύπος/ Βάρος	Πληροφορίες
Φουκοξανθίνη	MT: C ₄₂ H ₅₈ O ₆ MB: 658,9 g/mol	Είναι από τα πλέον άφθονα καροτενοειδή στην φύση, καθώς συνεισφέρει σε ποσοστό μεγαλύτερο από το 10% της εκτιμώμενης συνολικής παραγωγής καροτενοειδών (Dembitsky και Maoka 2007). Είναι μια χρωστική που περιέχεται κυρίως στα καστανά φύκια, τα μικροφύκη και τα διάτομα που απορροφούν μεγάλες ποσότητες φωτός σε θαλάσσια βάθη (Peng και άλλοι, 2011). Έχει αξιοσημείωτες βιολογικές ιδιότητες, όπως αντιοξειδωτική (Hu και άλλοι, 2010), αντιφλεγμονώδη (Shiratori και άλλοι, 2005), αντιδιαβητική (Maeda, 2015) και αντικαρκινική δράση (Martin, 2015; Satomi, 2017). Επιπλέον, μπορεί να προκαλέσει απόπτωση (Hosokawa και άλλοι, 2004) και έχει αποδειχτεί ότι μειώνει το βάρος παχύσαρκων και μειώνει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα και της ινσουλίνης και των λιπιδίων στο ανθρώπινο πλάσμα (Gammone και D’Orazio 2015; Maeda, 2015). Τέλος, έχει αποδειχτεί ότι προστατεύει με εξαιρετική αποτελεσματικότητα τα οστά, το δέρμα, τους οφθαλμούς και το καρδιαγγειακό σύστημα. Στα θηλαστικά, η διαιτητική φουκοξανθίνη αποακετυλιώνεται σε φουκοξανθινόλη στην εντερική οδό μέσω ενζύμων και προωθείται στο κυκλοφορικό σύστημα (Peng και άλλοι, 2011).
Ασταξανθίνη	MT: C ₄₀ H ₅₂ O ₄ MB: 596,8 g/mol	Είναι η κόκκινη ξανθοφύλλη που προσδίδει το χρώμα σε θαλάσσια καρκινοειδή, όπως οι καραβίδες και οι γαρίδες, αλλά και σε ψάρια, όπως ο σολομός και το φαγκρί. Έχει

Καροτενοειδή	Μοριακός Τύπος/ Βάρος	Πληροφορίες
		ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και μελέτες έχουν συσχετίσει την κατανάλωσή της με θετικές επιδράσεις στην υγεία, όπως η βελτίωση της καρδιαγγειακής υγείας, η μείωση της μυϊκής κόπωσης, η βελτίωση της χρόνιας φλεγμονής κλπ. Ο μηχανισμός δράσης της δεν έχει κατανοηθεί πλήρως, αλλά πιθανά συνδέεται με την ικανότητά της να δεσμεύει ρίζες οξυγόνου, προστατεύοντας με τον τρόπο αυτόν τις κυτταρικές μεμβράνες από την υπεροξειδωση (Higuera-Ciarama και άλλοι, 2006). Σε αντίθεση με τα περισσότερα καροτενοειδή, η ασταξανθίνη δεν απαντάται στα χερσαία φυτά και ζώα, αλλά κυρίως σε υδάτινους οργανισμούς (Bhosale και Bernstein 2005), αν και ανιχνεύεται σε κάποια ζώα όπως τα φλαμίνγκο (Fox και άλλοι, 1967).
		
Λουτεΐνη	MT: C ₄₀ H ₅₆ O ₂ MB: 568,9 g/mol	Είναι μία ξανθοφύλλη που έχει έντονα συσχετιστεί με την ωχρά κηλίδα του αμφιβληστροειδούς, καθώς απορροφά την επιβλαβή μπλε ακτινοβολία και με τον τρόπο αυτό την προστατεύει. Επιπλέον, προστατεύει τον αμφιβληστροειδή από το οξειδωτικό στρες και τη φλεγμονή. Δεν μπορεί να συντεθεί από τον άνθρωπο και πρέπει να λαμβάνεται μέσω διατροφής από πράσινα λαχανικά, τον κρόκο του αυγού κλπ (Nian και Lo 2018). Λουτεΐνη μπορεί να βρεθεί στο αίμα και το πλάσμα (Meléndez-Martínez και άλλοι, 2019) και είναι το κύριο καροτενοειδές στον ανθρώπινο εγκέφαλο. Η παρουσία της λουτεΐνης συνδέεται και με τη γνωστική λειτουργία σε ενήλικες (Vishwanathan και άλλοι, 2016).

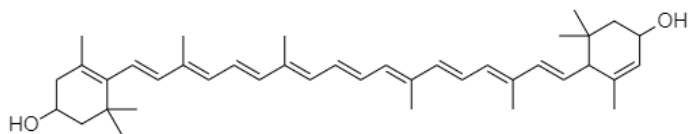
Καροτενοειδή

Μοριακός

Πληροφορίες

Τύπος/

Βάρος

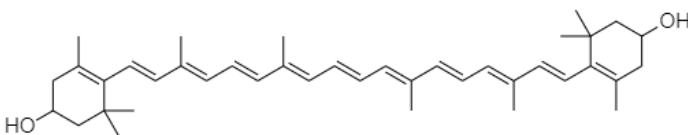


Ζεαξανθίνη

MT: C₄₀H₅₆O₂

MB: 568,9 g/mol

Η λουτεΐνη, η ζεαξανθίνη και η *meso*-ζεαξανθίνη συσσωρεύονται στην ωχρά κηλίδα, με αποτέλεσμα να αναφέρονται ως οι τρεις χρωστικές της ωχράς κηλίδας (Macular Pigment-MP). Οι δύο πρώτες λαμβάνονται μέσω διατροφής (Bernstein και άλλοι, 2016), ενώ η *meso*-ζεαξανθίνη σχηματίζεται στην κηλίδα με μεταβολικό μετασχηματισμό της λουτεΐνης. Τα τρία αυτά καροτενοειδή διαθέτουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση και έτσι προστατεύουν τους οφθαλμούς από την επιβλαβή μπλε ακτινοβολία (Vishwanathan και άλλοι, 2016).



β-Κρυπτοξανθίνη

MT: C₄₀H₅₆O

MB: 552,8 g/mol

Είναι ένα από τα οκτώ καροτενοειδή που βρίσκονται στο ανθρώπινο αίμα, ενώ μπορεί να εντοπιστεί και στο πλάσμα, στο μητρικό γάλα και σε διάφορους ιστούς (Meléndez-Martínez και άλλοι, 2019). Παίζει το ρόλο της προβιταμίνης Α, λόγω του δακτυλίου βιονόνης που διαθέτει η δομή της, με αποτέλεσμα στο σώμα να έχει τη δυνατότητα μετατροπής σε ενεργή ρετινόλη ή βιταμίνη Α. Επίσης, δρα ως αντιοξειδωτικό προστατεύοντας τα όργανα και τους ιστούς από οξειδωτικές βλάβες, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην πρόληψη των εκφυλιστικών ασθενειών. Επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι βελτιώνει την αναπνευστική λειτουργία και μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου στον πνεύμονα, ενώ σε ιστοκαλλιέργεια επέδειξε άμεσο διεγερτικό

Καροτενοειδή

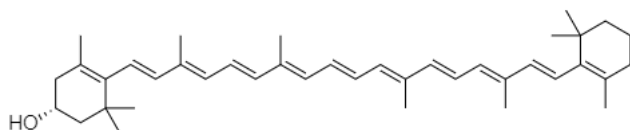
Μοριακός

Πληροφορίες

Τύπος/

Βάρος

αποτέλεσμα επί του σχηματισμού οστού και ταυτόχρονα ανασταλτική επίδραση στην επανα-απορρόφηση των οστών (Gammone και άλλοι, 2015). Το 2008, μελέτη των Sugiyura και άλλοι έδειξε ότι η υψηλή πρόσληψη φρούτων και λαχανικών πλούσιων σε β-κρυπτοξανθίνη και β-καροτένιο προσφέρει οφέλη στην υγεία των οστών σε γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση (Sugiyura και άλλοι, 2008). Τέλος, η β-κρυπτοξανθίνη είναι ένα από τα καροτενοειδή που προστατεύει τα άκρα των τελομερών, το μήκος των οποίων είναι γνωστό ότι αποτελεί έναν βιοδείκτη της γήρανσης (Min και Min 2017).

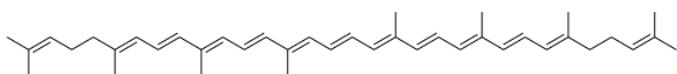
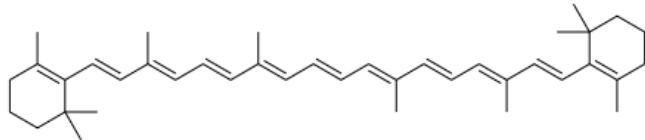


Λυκοπένιο

MT: C₄₀H₅₆

MB: 536,9 g/mol

Το κόκκινο χρώμα της ντομάτας είναι το αποτέλεσμα της υψηλής συγκέντρωσης λυκοπενίου (Javanmardi και Kubota 2006) το οποίο έχει ονοματιστεί από τη λατινική ονομασία *Lycopersicum esculentum*. Όμως, το λυκοπένιο βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις και σε φρούτα, όπως το καρπούζι, η παπάγια, το κόκκινο γκρέιπφρουτ κλπ. Στα φυτά είναι κυρίως υπό τη μορφή του *all-trans* ισομερούς (Mozos και άλλοι, 2018), ενώ στο αίμα του ανθρώπου υπάρχει ως το *cis*-ισομερές (Petysaev, 2016). Είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό που προστατεύει από τις επιβλαβείς επιδράσεις των ριζών οξυγόνου (Javanmardi και Kubota 2006), ενώ παρουσιάζει και αντιφλεγμονώδη δράση (Mozos και άλλοι, 2018). Η πρόσληψη της ντομάτας και των παραγώγων της έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο χρόνιων ασθενειών, όπως ο καρκίνος και οι καρδιαγγειακές παθήσεις (Javanmardi και Kubota 2006). Το λυκοπένιο αποτελεί ένα από τα

Καροτενοειδή	Μοριακός Τύπος/ Βάρος	Πληροφορίες
		καροτενοειδή που παίζουν τον ρόλο της προβιταμίνης Α, με θετική επίδραση στο καρδιαγγειακό σύστημα η οποία σχετίζεται με τις υπόλοιπες δράσεις του, αφού επιδεικνύει <i>in vivo</i> αντιαιμοπεταλιακή, αντιυπερτασική, αντιθεροσκληρωτική και αντιπαχυσαρκική δράση και συμβάλλει στη μείωση της περιεκτικότητας των λιπιδίων (Mozos και άλλοι, 2018).
		
α-Καροτένιο	MT: C ₄₀ H ₅₆ MB: 536,9 g/mol	Αποτελεί πρόδρομο μόριο της βιοσύνθεσης της βιταμίνης Α και είναι απαραίτητη για την υγεία των οφθαλμών (Sommer, 2001) και του ανοσοποιητικού συστήματος (Stephensen, 2001). Δρα ως αντιοξειδωτικό προστατεύοντας τον οργανισμό από τις ελεύθερες ρίζες και αποτελεί ένα από τα καροτενοειδή που μπορούν να ανιχνευτούν στο πλάσμα του αίματος του ανθρώπου (Polidori και άλλοι, 2001). Ο συνδυασμός των παραπάνω ιδιοτήτων του έχει επιφέρει τον συσχετισμό του με την μακροζωία (Mecocci και άλλοι, 2000). Τροφές που είναι πλούσιες σε α-καροτένιο είναι το καρότο, η κολοκύθα (Burri και άλλοι, 2011), το πορτοκάλι (Yokoyama και Vandercook 1967) κλπ.
		
β-Καροτένιο	MT: C ₄₀ H ₅₆ MB: 536,9 g/mol	Είναι το πιο γνωστό καροτενοειδές και το όνομά του σχετίζεται με πολλά οφέλη για την υγεία, αλλά και πολλές βιομηχανικές εφαρμογές. Μέχρι τώρα, έχει αποδειχτεί η αντιοξειδωτική, η αντιβακτηριακή (Lacatusu και άλλοι, 2012), η αντιφλεγμονώδης (Kawata και άλλοι, 2018) και η αντινεοπλασματική του δράση (Mathews-Roth, 1982),

Καροτενοειδή

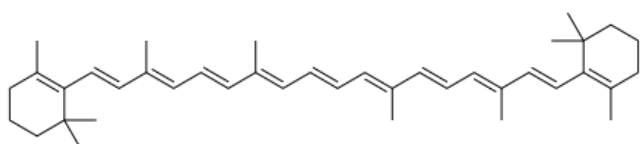
Μοριακός

Πληροφορίες

Τύπος/

Βάρος

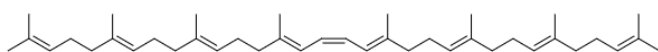
καθώς και η θετική του επίδραση στο ανοσοποιητικό σύστημα. Επιπλέον, επειδή αποτελεί ένα από τα πρόδρομα μόρια της βιταμίνης Α (Sommer, 2001) συχνά περιλαμβάνεται στον σχεδιασμό τροφίμων ως χρωστική. Η πρώτη επιτυχημένη παραγωγή χρωστικών από μικροοργανισμούς στην Ευρώπη ήταν του β-καροτενίου από τον μύκητα *Blakeslea* το 1995 (Dufossé και άλλοι, 2005). Σήμερα, η παραγωγή του γίνεται κυρίως από μικροάλγη, με γνωστότερη πηγή την *Dunaliella salina* (Υ. Χυ και άλλοι, 2018).



MT: C₄₀H₆₄

MB: 544,9 g/mol

Είναι άχρωμο και απορροφά στην περιοχή UV-B (260-320 nm) (Pollmann και άλλοι, 2017). Απαντάται σε πολλά φυτικά τρόφιμα, όπως ντομάτες, καρότα, εσπεριδοειδή κλπ, και μπορεί να ανιχνευτεί στο πλάσμα, τους ιστούς και το δέρμα του ανθρώπου (Havas και άλλοι, 2018). Είναι ένα από τα καροτενοειδή του οποίου συνήθως παραλείπεται η μελέτη παρότι είναι πολύ σημαντικό ως ενδιάμεσο προϊόν για τη βιοσύνθεση των υπολοίπων (Nisar και άλλοι, 2015). Έχει αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη και αντινεοπλασματική δράση, ενώ επιδρά αποτελεσματικά και στην επιδερμίδα καθώς δρα θετικά σε χαρακτηριστικά του, όπως η ελαστικότητα, η υγρασία, η ξηρότητα κλπ, συμβάλλοντας σημαντικά στην αποφυγή δημιουργίας ρυτίδων (Miras-Moreno και άλλοι, 2019).



1.3. Ανάπτυξη Μεθόδου Ανάλυσης των Λιπαρών Οξέων

Για την ανάπτυξη της μεθόδου προσδιορισμού των λιπαρών οξέων αρχικά προσδιορίστηκαν βιβλιογραφικά οι σχετικές μέθοδοι, ανάλογα με το υπόστρωμα στο οποίο γίνεται η παραγωγοποίηση με όσες χρησιμοποιούν είτε απευθείας φυτικό υλικό (Savych και άλλοι, 2021) ή εξανικό εκχύλισμα (Orhan και άλλοι, 2009). Επίσης προσδιορίστηκαν οι καταλύτες που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία εστέρων των λιπαρών οξέων, αφού σε κάποιες μελέτες χρησιμοποιείται οξύ (H_2SO_4 , HCl) (Savych και άλλοι, 2021; Yuenyong και άλλοι, 2021), ενώ σε άλλες βάση (NaOH , KOH) σε συνδυασμό με το BF_3 (Ichihara και Fukubayashi, 2010; Orhan και άλλοι, 2009). Έτσι, πριν από την ανάλυση των δειγμάτων κατέστη απαραίτητο να δοκιμαστούν οι διάφορες συνθήκες για να προσδιοριστούν οι πλέον κατάλληλες.

Στο πλαίσιο αυτό έγινε η σύγκριση των τριών μεθόδων παραγωγοποίησης, τόσο στο φυτικό υλικό όσο και στο εξανικό εκχύλισμα. Στην περίπτωση που χρησιμοποιήθηκε φυτικός ιστός ο πειραματισμός έγινε σε 0,5g δείγματος ενώ για το εξανικό εκχύλισμα χρησιμοποιήθηκαν 0,05g δείγματος.

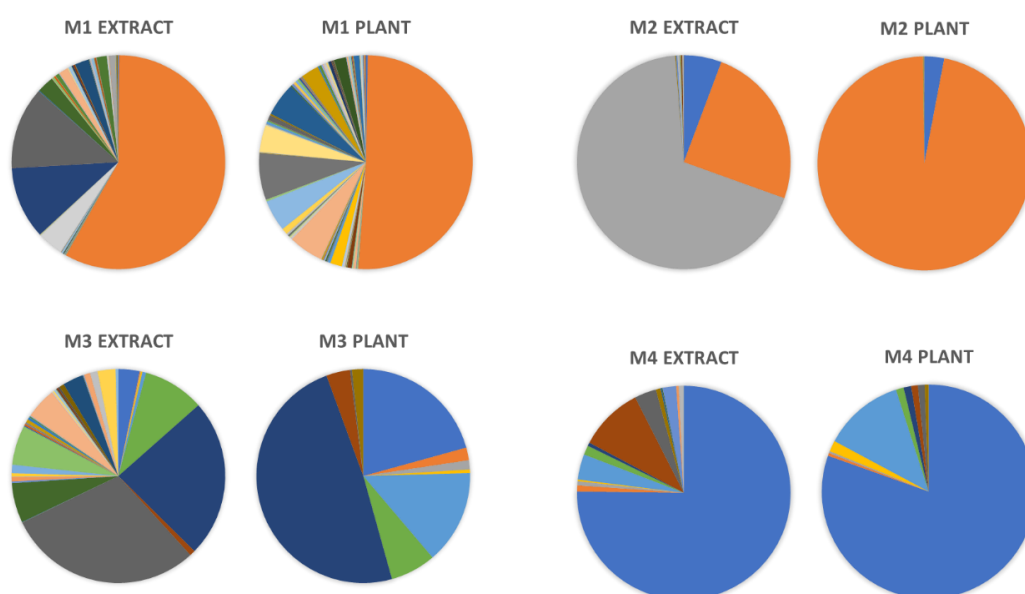
Μέθοδος 1: 1mL διαλύματος H_2SO_4 5% σε MeOH και 0,3mL τολουενίου προστέθηκαν στο δείγμα, τα οποία αναδεύτηκαν (σε vortex) για 30sec. Στην συνέχεια, το δείγμα τέθηκε σε θερμοκρασία 90°C για 1,5h. Έπειτα αφέθηκε να πάρει τη θερμοκρασία δωματίου και προστέθηκαν 1,5mL NaCl 0.9% w/v και 1mL εξανίου. Ακολούθησε ανάδευση και φυγοκέντρωση (10min, 5000rpm) του δείγματος. Η οργανική φάση διαχωρίστηκε, εξατμίστηκε σε ρεύμα αζώτου έως ξηρού, επαναδιαλύθηκε σε 60mL επτανίου και προωθήθηκε προς ανάλυση.

Μέθοδος 2: Στο δείγμα προστέθηκαν 3,5mL διαλύματος MeOH:τολουένιο: H_2SO_4 (44:20:2 v/v) και 1,5mL επτανίου. Στην συνέχεια, το δείγμα θερμάνθηκε στους 80°C για 2h. Έπειτα αφέθηκε να πάρει τη θερμοκρασία δωματίου, καταψύχθηκε και φυγοκεντρήθηκε (10min, 5000rpm). Από την οργανική φάση διαχωρίστηκαν 500mL που προωθήθηκαν προς ανάλυση.

Μέθοδος 3: Είναι αυτή που τελικά προσδιορίστηκε ως η πλέον κατάλληλη και χρησιμοποιήθηκε για τις αναλύσεις των δειγμάτων με υπόστρωμα το εξανικό εκχύλισμα και όχι τον φυτικό ιστό. Συνοπτικά, στο δείγμα προστέθηκε 1mL διαλύματος 1M KOH σε 70% EtOH και θερμάνθηκε για 1h στους 90°C. Στη συνέχεια, αφού το μίγμα

αφέθηκε να πάρει τη θερμοκρασία δωματίου προστέθηκαν 1,2mL HCl 1M και 1mL εξάνιου. Το μίγμα εκχυλίστηκε και η οργανική φάση αφού διαχωρίστηκε, εξατμίστηκε υπό ελαττωμένη πίεση μέχρι ξηρού. Στο ξηρό υπόστρωμα προστέθηκε 1mL BF₃ 14% και θερμάνθηκε για 20min στους 37°C. Μετά το πέρας της περιόδου αυτής, στο δείγμα προστέθηκαν 1mL H₂O και 1mL εξάνιο. Ακολούθησε ανάδευση και διαχωρισμός-ανάλυση της οργανικής φάσης

Μέθοδος 4: 5mL 0,5M NaOH σε μεθανόλη προστέθηκαν στο δείγμα και το μίγμα θερμάνθηκε για 3min στους 60°C. Στο μίγμα που αφέθηκε να πάρει τη θερμοκρασία δωματίου προστέθηκαν 6mL BF₃ 14% και επαναθερμάνθηκε για 3min στους 60°C. Στην συνέχεια, προστέθηκαν 10mL ισοοκτανίου και αναδεύτηκε (σε vortex). Η οργανική φάση διαχωρίστηκε και αναλύθηκε.



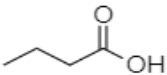
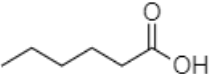
Εικόνα 39 Σχηματική απεικόνιση των κορυφών που εμφανίστηκαν στην ανάλυση GC-FID μετά από την εφαρμογή των διαφορετικών μεθόδων παραγωγοποίησης των δειγμάτων (M1: Μέθοδος 1, M2: Μέθοδος 2, M3: Μέθοδος 3, M4: Μέθοδος 4) τόσο στο εκχύλισμα (extract), όσο και στο φυτό (plant).

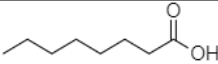
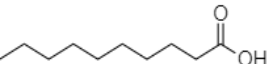
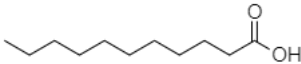
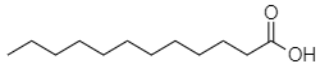
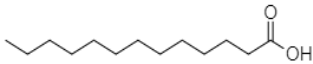
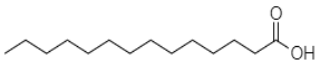
Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι σε όλες σχεδόν τις μεθόδους εκχύλισης το εκχύλισμα που έδινε τα καλύτερα και πλουσιότερα αποτελέσματα αντιστοιχούσαν στο προερχόμενο από το φυτικό υλικό. Στην Εικόνα 50, φαίνονται οι κορυφές που εμφανίστηκαν στο εκάστοτε χρωματογράφημα. Στη μέθοδο εκχύλισης 1, οι κορυφές του χρωματογραφήματος ήταν πολύ περισσότερες σε σχέση με τα λιπαρά οξέα που αναλύθηκαν, καθώς η ανάλυση αφορούσε 34 λιπαρά οξέα και τα χρωματογραφήματα

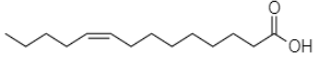
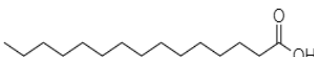
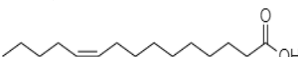
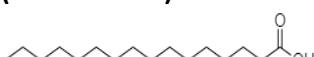
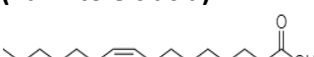
περιείχαν πάνω από 120 κορυφές χωρίς ιδιαίτερα έντονη ένταση σε όλες. Η μέθοδος εκχύλισης 4 έδωσε πολύ λίγες κορυφές (10 για το φυτικό ιστό, 15 για το εκχύλισμα), με αποτέλεσμα να απορριφθούν οι δυο παραπάνω μέθοδοι. Στη συνέχεια, η σύγκριση των μεθόδων παραγωγοποίησης 2 και 3 ανέδειξε ως καλύτερη την εκχύλιση του εξανικού εκχυλίσματος με τη μέθοδο 3, καθώς η μέθοδος 2 έδωσε χαμηλότερες συγκεντρώσεις των λιπαρών οξέων σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις τους στην περίπτωση της 3.

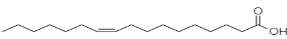
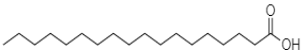
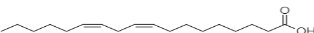
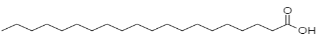
Από τα παραπάνω καθίσταται σαφής η σημαντικότητα της ορθής επιλογής της καταλληλότερης μεθόδου παραγωγοποίησης ώστε τα αποτελέσματα να είναι έγκυρα και να ανταποκρίνονται όσο το δυνατόν περισσότερο στην πραγματική περιεκτικότητα των λιπαρών οξέων στα δείγματα, καθώς οι απώλειες, τόσο από τις μεθόδους εκχύλισης, όσο και από τις μεθόδους επεξεργασίας (παραγωγοποίηση, σφάλμα αναλυτή κλπ) είναι παράγοντες που δεν μπορούν να εξαλειφθούν.

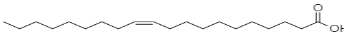
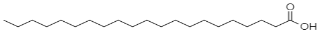
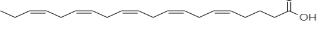
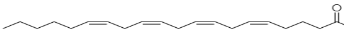
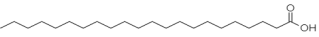
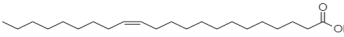
Πίνακας 14 Λιπαρά οξέα που αναλύθηκαν.

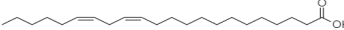
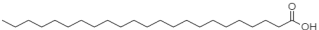
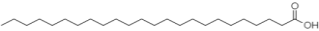
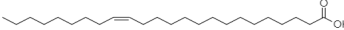
Λιπαρό Οξύ		Πληροφορίες
Βουτυρικό οξύ (Butanoic acid) 	SFA [4:0]	Το οξύ δεν απαντάται ευρέως στη φύση παρότι οι εστέρες του είναι ευρύτατα διαδεδομένοι. Αποτελεί σημαντικό συστατικό του εντέρου των θηλαστικών, όπου σχηματίζεται από τα αναερόβια βακτήρια που υπάρχουν στο παχύ έντερο (Lunn και Theobald, 2006). Σε μορφή τριγλυκεριδίων αποτελεί το 3-4% του βουτύρου (Woo και Lindsay, 1983), ενώ ανιχνεύεται σε ζωικά και φυτικά λίπη, στο γάλα των μηρυκαστικών (Kim Ha και Lindsay, 1993), και τους σπόρους του δέντρου <i>Ginkgo biloba</i> (Carroll και Berenbaum, 2002).
Καπροϊκό οξύ (Caproic acid) 	SFA [6:0]	Το όνομά του προέρχεται από το λατινικό <i>capra</i> , που σημαίνει «κατσίκਾ» λόγω της χαρακτηριστικής του οσμής. Ανιχνεύεται και αυτό σε ζωικά λίπη και φυτικά έλαια. Αποτελεί μία από τις χημικές ενώσεις που δίνουν στο αποσυντιθέμενο σαρκώδες κάλυμμα του σπόρου του φυτού <i>Ginkgo biloba</i> τη χαρακτηριστική δυσάρεστη οσμή ("The Ginkgo Tree")
Καπρυλικό οξύ (Caprylic acid)	SFA [8:0]	Το όνομά του προέρχεται από το λατινικό <i>capra</i> , που σημαίνει «κατσίκα» λόγω της χαρακτηριστικής του οσμής. Η δεσμευμένη μορφή του έχει βρεθεί στο γάλα διαφόρων

Λιπαρό Οξύ	Πληροφορίες	
		Θηλαστικών, αλλά και ως δευτερεύον συστατικό του ελαίου καρύδας και του φοινικοπυρηνελαίου (Beare-Rogers και άλλοι, 2001).
Καπρικό οξύ (Capric acid) 	SFA [10:0]	Το όνομά του προέρχεται από το λατινικό <i>capra</i> , που σημαίνει «κατσίκας» λόγω της χαρακτηριστικής του οσμής. Μαζί με τα προηγούμενα δυο λιπαρά οξέα έχουν ομόρριζη ονομασία και συνιστούν το 15% των λιπαρών οξέων στο λίπος του κατσικίσιου γάλακτος (Kompan και Komprej, 2012). Το καπρικό οξύ απαντάται φυσικά στο λάδι καρύδας και στο φοινικοπυρηνέλαιο (Anneken και άλλοι., 2006), στο γάλα διαφόρων θηλαστικών και σε μικρότερο βαθμό σε άλλα ζωικά λίπη (Beare-Rogers και άλλοι, 2001).
Ενδεκανοϊκό οξύ (Undecanoic acid) 	SFA [11:0]	Αποτελεί το πιο μυκητοτοξικό της σειράς λιπαρών οξέων C7:0 - C18:0. Εντοπίζεται στα σωματικά υγρά και παίζει το ρόλο του ανθρώπινου μεταβολίτη, αλλά και αντιμυκητιακού παράγοντα (“Undecanoic acid”).
Λαυρικό οξύ (Lauric acid) 	SFA [12:0]	Η μυρωδιά του θυμίζει δαφνόλαδο ή σαπούνι και έχει βρεθεί υπό τη μορφή τριγλυκεριδίων στο δαφνέλαιο, το γάλα (Beare-Rogers και άλλοι, 2001), το λάδι καρύδας (Anneken και άλλοι, 2006; Beare-Rogers και άλλοι, 2001; Eyres και άλλοι, 2016) και το φοινικοπυρηνέλαιο (Anneken και άλλοι, 2006; Beare-Rogers και άλλοι, 2001). Επίσης, έχει εντοπιστεί στο ανθρώπινο μητρικό γάλα, στο αγελαδινό και στο κατσικίσιο γάλα (Beare-Rogers και άλλοι, 2001).
Τριδεκανοϊκό οξύ (Tridecanoic acid) 	SFA [13:0]	Αντίστοιχα με το ενδεκανοϊκό και λαυρικό οξύ, παίζει το ρόλο φυτικού μεταβολίτη (“Tridecanoic acid”). Έχει τη δυνατότητα να αναστέλλει το σχηματισμό του βιοφίλμ του παθογόνου <i>Escherichia coli</i> (Jin και άλλοι, 2021).
Μυριστικό οξύ (Myristic acid) 	SFA [14:0]	Το όνομά του προέρχεται από το <i>Myristica fragrans</i> , που είναι η επιστημονική ονομασία του μοσχοκάρυδου, από το οποίο απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1841 (Playfair, 1841). Το βούτυρο μοσχοκάρυδου έχει 75% τριμυριστίνη, ένα τριγλυκερίδιο του μυριστικού οξέος. Το οξύ αυτό έχει

Λιπαρό Οξύ		Πληροφορίες
Μυριστολεϊκό οξύ (Myristoleic acid) 		εντοπίζεται σε φοινικοπυρηνέλαιο, έλαιο καρύδας, αγελαδινό και μητρικό γάλα (Beare-Rogers και άλλοι, 2001).
Πενταδεκανοϊκό Οξύ (Pentadecanoic acid) 	UFA [14:1 9Z]	Είναι ένα ω-5 λιπαρό οξύ που έχει βρεθεί στους σπόρους του φυτού <i>Serenoa repens</i> . Είναι ένα κυτταροτοξικό συστατικό και το εκχύλισμα του είναι ικανό να προκαλέσει απόπτωση και νέκρωση στα ανθρώπινα κύτταρα LNCaP του προστάτη (Iguchi και άλλοι, 2001). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι το μυριστολεϊκό οξύ που παράγεται από τους εντερόκοκκους μειώνει την παχυσαρκία, καθώς ενεργοποιεί τον καφέ λιπώδη ιστό (Quan και άλλοι, 2020).
cis-10-δεκαπεντ-εν-οϊκό οξύ (cis-10-Pentadecenoic acid) 	SFA [15:0]	Παίζει το ρόλο του φυτικού μεταβολίτη. Έχει βρεθεί στο <i>Daphnia magna</i> , σε φύκια και τον ορό του ανθρώπινου αίματος ("Pentadecanoic acid"). Είναι συστατικό αρκετών τροφίμων, καθώς εντοπίζεται στο λίπος γαλακτοκομικών προϊόντων, στο κρέας των μηρυκαστικών και σε ορισμένα είδη ψαριών (Dąbrowski και Konopka, 2022).
Παλμιτικό οξύ (Palmitic acid) 	UFA [15:1 10Z]	Έχει το ρόλο του μεταβολίτη και η παρουσία του έχει ανιχνευτεί ως φυσικό προϊόν στο <i>Pyrococcus furiosus</i> ("10Z-pentadecenoic acid").
Παλμιτολεϊκό οξύ (Palmitoleic acid) 	SFA [16:0]	Είναι πλέον κοινό κορεσμένο λιπαρό οξύ και βρίσκεται σε ζώα, φυτά και μικροοργανισμούς (Gunstone και άλλοι, 2007). Περιέχεται σε κρέατα, τυριά, βούτυρο και άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα όπου αντιστοιχεί στο 50–60% των συνολικών λιπών (Carta και άλλοι, 2017).
Μαργαρικό οξύ (Margaric acid) 	UFA [16:1 9Z]	Είναι ένα ω-7 μονοακόρεστο λιπαρό οξύ και αποτελεί το κοινό συστατικό των γλυκεριδίων του ανθρώπινου στον λιπώδη ιστό, ενώ βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις σε όλους τους ιστούς, με υψηλότερη συγκέντρωση στο ήπαρ. Βιοσυντίθεται από το παλμιτικό οξύ με τη βοήθεια ενζύμου (de Souza και άλλοι, 2018).
	SFA [17:0]	Υπάρχει σε ίχνη στο λίπος του γάλακτος των μηρυκαστικών (Hansen και άλλοι, 1957) και δεν εμφανίζεται σε υψηλές

Λιπαρό Οξύ	Πληροφορίες	
		συγκεντρώσεις σε κανένα φυσικό ζωικό ή φυτικό λίπος (Beare-Rogers και άλλοι, 2001).
cis-10-δεκαεπτ-εν-οϊκό οξύ (cis-10-Heptadecenoic acid) 	UFA [17:1 10Z]	Είναι μεταβολίτης σε φυτικούς οργανισμούς ("cis-10-Heptadecenoic acid").
Στεαρικό οξύ (Stearic acid) 	SFA [18:0]	Είναι το πιο άφθονο λιπαρό οξύ στα ζωικής προέλευσης λίπη (έως 30%), ενώ στα φυτικά είναι <5%, με ορισμένες εξαιρέσεις όπως το βούτυρο κακάο (34%) και το βούτυρο καριτέ (28–45%) όπου βρίσκεται υπό τη μορφή τριγλυκεριδίων (Beare-Rogers και άλλοι, 2001).
Ελαϊκό οξύ (Oleic acid) 	UFA [18:1 9Z]	Είναι ένα ω-9 λιπαρό οξύ που απαντάται φυσικά σε διάφορα ζωικά και φυτικά λίπη και έλαια (Nakamura και Nara, 2004). Το όνομά του προέρχεται από τη λατινική λέξη <i>oleum</i> , που σημαίνει λάδι (E., 1929) και αποτελεί το πιο κοινό λιπαρό οξύ της φύσης ("9-Octadecenoic acid").
Λινελαϊκό οξύ (Linoleic acid) 	UFA [18:2 9Z, 12Z]	Είναι ένα ω-6 λιπαρό οξύ που σπάνια εμφανίζεται στη φύση υπό ελεύθερη μορφή. Απαντάται κυρίως ως τριγλυκερίδιο (Mattes, 2009) και αποτελεί ένα από τα δύο απαραίτητα λιπαρά οξέα για τον άνθρωπο που πρέπει να το προσληφθεί μέσω της διατροφής του (Simopoulos, 2008).
γ-Λινολενικό οξύ (γ-Linolenic acid) 	UFA [18:3 6Z,9Z, 12Z]	Απομονώθηκε για πρώτη φορά από το έλαιο των σπόρων του <i>Oenothera biennis</i> , ενός ιθαγενούς φυτού της Αμερικής. Οι Heiduschka και Lüft που εξήγαγαν το λάδι από σπόρους του παρατήρησαν ότι η δομή του (γ-) ήταν ασυνήθιστη για λινολενικό οξύ. Αργότερα, ακολούθησε η διαλεύκανση της ακριβούς χημικής του δομής (Huang και Ziboh, 2001).
Λινολενικό οξύ (Linolenic acid) 	UFA [18:3 9Z,12Z, 15Z]	Είναι σε υψηλή συγκέντρωση σε ορισμένα φυτικά έλαια και έχει αναφερθεί ότι διαθέτει την ικανότητα αναστολής της σύνθεσης της προσταγλανδίνης, με αποτέλεσμα τη μείωση της φλεγμονής και την πρόληψη ορισμένων χρόνιων ασθενειών ("Linolenic Acid").
Αραχιδικό οξύ (Arachidic acid) 	SFA [20:0]	Είναι ένα δευτερεύον συστατικό του βουτύρου του <i>Theobroma grandiflorum</i> (cupuaçu) (περίπου 7%) (IUCN, 2018). Οι περισσότερες από τις επιδράσεις του αποδίδονται

Λιπαρό Οξύ	Πληροφορίες	
		στην ιδιότητά του να μετατρέπεται από τις οξυγενάσες σε προσταγλανδίνες, λευκοτριένια και άλλα βιοδραστικά προϊόντα (Brash, 2001).
cis-11-Εικοσ-εν-οϊκό οξύ (cis-11-Eicosenoic acid) 	UFA [20:1 11Z]	Είναι ένα φυσικό προϊόν που έχει βρεθεί στα <i>Delphinium fissum</i> και <i>Calophyllum inophyllum</i> ("cis-11-Eicosenoic acid").
cis-11,14-Εικοσα-διεν-οϊκό οξύ (cis-11,14-Eicosadienoic acid) 	UFA [20:2 11Z,14 Z]	Είναι ένα φυσικό προϊόν που έχει βρεθεί στα φυτά <i>Cannabis sativa</i> και <i>Arbacia punctulata</i> ("Eicosadienoic acid").
Εικοσιενοϊκό οξύ (Heneicosanoic acid) 	SFA [21:0]	Είναι ένα φυσικό προϊόν που έχει βρεθεί στα φυτά <i>Rhizophora apiculata</i> και <i>Aloe africana</i> ("Heneicosanoic acid").
cis-11,14,17-εικοσα-τριεν-οϊκό οξύ (cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid) 	UFA [20:3 11Z,14 Z, 17Z]	Είναι ένα φυσικό προϊόν που έχει βρεθεί στο <i>Elaeis guineensis</i> ("11,14,17-Eicosatrienoic acid").
cis-5,8,11,14,17-εικοσα-πεντεν-οϊκό οξύ (cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid) 	UFA [20:5 5Z, 8Z, 11Z,14 Z,17Z]	Έχει προσδιοριστεί ότι διαθέτει την ικανότητα να βελτιώσει τον ηπατικό μεταβολισμό και να μειώνει τη φλεγμονή σε ποντίκια που τρέφονται με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και σε κύτταρα HepG2 (Albracht-Schulte και άλλοι, 2019).
Αραχιδονικό οξύ (Arachidonic acid) 	UFA [20:4 5Z,8Z, 11Z,14 Z]	Είναι ένα σημαντικό για τη διατροφή λιπαρό, καθώς αποτελεί ένα υπόστρωμα για τη β-οξείδωση και είναι κρίσιμο για την ανάπτυξη και τη βέλτιστη απόδοση του νευρικού συστήματος, του εγκεφάλου και των γνωστικών λειτουργιών, των σκελετικών μυών και του ανοσοποιητικού συστήματος (Tallima και El Ridi, 2018).
Βεχενικό οξύ (Behenic acid) 	SFA [22:0]	Αποτελεί το κύριο συστατικό του ελαίου που εξάγεται από τους σπόρους του δέντρου <i>Moringa oleifera</i> σε ποσοστό 9%. Ονοματίστηκε από τον περσικό μήνα Bahman που είναι ο μήνας συλλογής των ριζών του (Beare-Rogers και άλλοι, 2001).
Ερουκικό οξύ (Erucic acid) 	SFA [22:1 13Z]	Το όνομά του προέρχεται από το <i>Eruca</i> που αποτελεί γένος ανθοφόρων φυτών της οικογένειας <i>Brassicaceae</i> . Στο γένος

Λιπαρό Οξύ	Πληροφορίες	
		περιλαμβάνεται και το φυτό <i>Eruca sativa</i> , η γνωστή ρόκα (Anneken και άλλοι, 2006).
cis-13,16-Εικοσιδυο-διεν-οϊκό οξύ (cis-13,16-Docosadienoic acid) 	SFA [22:2 13Z, 16Z]	Παρουσιάζει πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση, ενώ αναστέλλει <i>in vitro</i> τα ένζυμα κυκλοοξυγενάσης, COX-I και COX-II που καταλύουν τη μετατροπή του αραχιδονικού οξέος σε προσταγλανδίνες (Henry και άλλοι, 2002).
Τρικοσανοϊκό οξύ (Tricosanoic acid) 	SFA [23:0]	Είναι μεταβολίτης σε φυτά, τον άνθρωπο και το μικρό πλαγκτονικό καρκινοειδές <i>Daphnia magna</i> ("Tricosanoic acid").
Λιγνοκηρικό οξύ (Lignoceric acid) 	SFA [24:0]	Βρίσκεται στην πίσσα του ξύλου και σε μικρές ποσότητες στα περισσότερα φυσικά λίπη. Το λιπαρό αυτό οξύ είναι υποπροϊόν παραγωγής της λιγνίνης (Beare-Rogers και άλλοι, 2001).
(all-Z)-4,7,10,13,16,19-Εικοσιδυο-εξανεν-οϊκό οξύ ((all-Z)-4,7,10,13,16,19-Docosaheptaenoic acid) 	UFA [22:6 4Z,7Z, 10Z, 13Z,16 Z,19Z]	Διαθέτει την ικανότητα να επιδρά στη συσσώρευση και έκκριση τριγλυκεριδίων στα ηπατικά κύτταρα αρουαίου σε <i>in vivo</i> πειράματα (Martin και άλλοι, 1991).
Νευρονικό οξύ (Nervonic acid) 	UFA [24:1 15Z]	Το όνομά του προέρχεται από τη λατινική λέξη <i>nervus</i> , που σημαίνει νεύρο. Υπάρχει στη φύση ως προϊόν επιμήκυνσης του ελαϊκού οξέος, με άμεσο πρόδρομο το ερουκικό οξύ. Είναι ιδιαίτερα άφθονο στη λευκή ουσία του εγκεφάλου των ζώων και στον περιφερικό νευρικό ιστό. Πρόσφατες μελέτες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το νευρονικό οξύ εμπλέκεται ως ενδιάμεσο στη βιοσύνθεση της μυελίνης των νευρικών κυττάρων (Sandhir και άλλοι, 1998).

Βιβλιογραφία

9-Octadecenoic acid, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9-Octadecenoic-acid> (Πρόσβαση: 15/12/2022)

10Z-pentadecenoic acid, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5312411> (Πρόσβαση: 15/12/2022)

11,14,17-Eicosatrienoic acid, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11_14_17-Eicosatrienoic-acid (Πρόσβαση: 15/12/2022)

Abdulkhaleq, L.A., Assi, M.A., Noor, M.H.M., Abdullah, R., Saad, M.Z., Taufiq-Yap, Y.H., 2017. Therapeutic uses of epicatechin in diabetes and cancer. *Vet World* 10, 869–872. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.869-872>

Açikalın, B., Sanlier, N., 2021. Coffee and its effects on the immune system. *Trends in Food Science & Technology* 114, 625–632. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.023>

Aggarwal, V., Tuli, H.S., Thakral, F., Singhal, P., Aggarwal, D., Srivastava, S., Pandey, A., Sak, K., Varol, M., Khan, Md.A., Sethi, G., 2020. Molecular mechanisms of action of hesperidin in cancer: Recent trends and advancements. *Exp Biol Med* (Maywood) 245, 486–497. <https://doi.org/10.1177/1535370220903671>

Albracht-Schulte, K., Gonzalez, S., Jackson, A., Wilson, S., Ramalingam, L., Kalupahana, N., Moustaid-Moussa, N., 2019. Eicosapentaenoic Acid Improves Hepatic Metabolism and Reduces Inflammation Independent of Obesity in High-Fat-Fed Mice and in HepG2 Cells. *Nutrients* 11, 599. <https://doi.org/10.3390/nu11030599>

Allahverdiyev, A.M., Bagirova, M., Yaman, S., Koc, R.C., Abamor, E.S., Ates, S.C., Baydar, S.Y., Elcicek, S., Oztel, O.N., 2013. Development of New Antiherpetic Drugs Based on Plant Compounds, in: *Fighting Multidrug Resistance with Herbal Extracts, Essential Oils and Their Components*. Elsevier, pp. 245–259. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398539-2.00017-3>

Anneken, D.J., Both, S., Christoph, R., Fieg, G., Steinberner, U., Westfechtel, A., 2006. Fatty Acids, in: *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA (Ed.), Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, p. a10_245.pub2. https://doi.org/10.1002/14356007.a10_245.pub2

Arapitsas, P., Perenzoni, D., Ugliano, M., Slaghenaufi, D., Giacosa, S., Paissoni, M.A., Piombino, P., Pittari, E., Versari, A., Ricci, A., Curioni, A., Marangon, M., Mattivi, F., 2022. Decoding the Proanthocyanins Profile of Italian Red Wines. *Beverages* 8, 76. <https://doi.org/10.3390/beverages8040076>

Badhani, B., Sharma, N., Kakkar, R., 2015. Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *RSC Adv.* 5, 27540–27557. <https://doi.org/10.1039/C5RA01911G>

Baranowska, I., Magiera, S., 2011. Analysis of isoflavones and flavonoids in human urine by UHPLC. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 399, 3211–3219. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-4206-6>

Barreca, D., Mandalari, G., Calderaro, A., Smeriglio, A., Trombetta, D., Felice, M.R., Gattuso, G., 2020. Citrus Flavones: An Update on Sources, Biological Functions, and Health Promoting Properties. *Plants* 9, 288. <https://doi.org/10.3390/plants9030288>

Bartosikova, L., Necas, J., 2018. Epigallocatechin gallate: a review. *Vet. Med.* 63, 443–467. <https://doi.org/10.17221/31/2018-VETMED>

Beare-Rogers, J.L., Dieffenbacher, A., Holm, J.V., 2001. Lexicon of lipid nutrition (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* 73, 685–744. <https://doi.org/10.1351/pac200173040685>

Behzad, S., Sureda, A., Barreca, D., Nabavi, S.F., Rastrelli, L., Nabavi, S.M., 2017. Health effects of phloretin: from chemistry to medicine. *Phytochem Rev* 16, 527–533. <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9500-x>

Belwal, T., Devkota, H.P., Singh, M.K., Sharma, R., Upadhyay, S., Joshi, C., Bisht, K., Gour, J.K., Bhatt, I.D., Rawal, R.S., Pande, V., 2019. St. John's Wort (*Hypericum perforatum*), in: *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*. Elsevier, pp. 415–432. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00056-4>

Bernstein, P.S., Li, B., Vachali, P.P., Gorusupudi, A., Shyam, R., Henriksen, B.S., Nolan, J.M., 2016. Lutein, zeaxanthin, and meso-zeaxanthin: The basic and clinical science underlying carotenoid-based nutritional interventions against ocular disease. *Progress in Retinal and Eye Research* 50, 34–66. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2015.10.003>

Bhosale, P., Bernstein, P.S., 2005. Microbial xanthophylls. *Applied Microbiology and Biotechnology* 68, 445–455. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0032-8>

Brash, A.R., 2001. Arachidonic acid as a bioactive molecule. *J. Clin. Invest.* 107, 1339–1345. <https://doi.org/10.1172/JCI13210>

Burri, B.J., Chang, J.S.T., Neidlinger, T.R., 2011. β -Cryptoxanthin- and α -carotene-rich foods have greater apparent bioavailability than β -carotene-rich foods in Western diets. *British Journal of Nutrition* 105, 212–219. <https://doi.org/10.1017/S0007114510003260>

Bustamante-Rangel, M., Delgado-Zamarreño, M.M., Pérez-Martín, L., Rodríguez-Gonzalo, E., Domínguez-Álvarez, J., 2018. Analysis of Isoflavones in Foods: Analysis of isoflavones in foods.... *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17, 391–411. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12325>

Capriotti, A.L., Cavaliere, C., Colapicchioni, V., Piovesana, S., Samperi, R., Laganà, A., 2013. Analytical strategies based on chromatography–mass spectrometry for the determination of estrogen-mimicking compounds in food. *Journal of Chromatography A* 1313, 62–77. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.06.054>

Carroll, M.J., Berenbaum, M.R., 2002. Behavioral Responses of the Parsnip Webworm to Host Plant Volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 28, 2191–2201. <https://doi.org/10.1023/A:1021093114663>

Carta, G., Murru, E., Banni, S., Manca, C., 2017. Palmitic Acid: Physiological Role, Metabolism and Nutritional Implications. *Front. Physiol.* 8, 902. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00902>

Chan, A.P.E., Hegde, A., Chen, X., 2010. Effect of rutin on warfarin anticoagulation and pharmacokinetics of warfarin enantiomers in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 61, 451–458. <https://doi.org/10.1211/jpp.61.04.0006>

Chan, K.K.L., Siu, M.K.Y., Jiang, Y., Wang, J., Leung, T.H.Y., Ngan, H.Y.S., 2018. Estrogen receptor modulators genistein, daidzein and ERB-041 inhibit cell migration, invasion, proliferation and sphere formation via modulation of FAK and PI3K/AKT signaling in ovarian cancer. *Cancer Cell Int* 18, 65. <https://doi.org/10.1186/s12935-018-0559-2>

Chang, T.-S., 2014. Isolation, Bioactivity, and Production of ortho-Hydroxydaidzein and ortho-Hydroxygenistein. *IJMS* 15, 5699–5716. <https://doi.org/10.3390/ijms15045699>

Chen, X., Zhang, M., Ahmed, M., Surapaneni, K.M., Veeraraghavan, V.P., Arulseelan, P., 2021. Neuroprotective effects of ononin against the aluminium chloride-induced Alzheimer's disease in rats. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28, 4232–4239. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.06.031>

Cheong, S.H., Furuhashi, K., Ito, K., Nagaoka, M., Yonezawa, T., Miura, Y., Yagasaki, K., 2014. Daidzein promotes glucose uptake through glucose transporter 4 translocation to plasma membrane in L6 myocytes and improves glucose homeostasis in Type 2 diabetic model mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 25, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.09.012>

cis-10-Heptadecenoic acid, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/cis-10-Heptadecenoic-acid> (Πρόσβαση: 15/12/2022)

cis-11-Eicosenoic acid, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/cis-11-Eicosenoic-acid> (Πρόσβαση: 15/12/2022)

Dąbrowski, G., Konopka, I., 2022. Update on food sources and biological activity of odd-chain, branched and cyclic fatty acids — A review. *Trends in Food Science & Technology* 119, 514–529. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.019>

Dajas, F., Rivera-Megret, F., Blasina, F., Arredondo, F., Abin-Carriquiry, J.A., Costa, G., Echeverry, C., Lafon, L., Heizen, H., Ferreira, M., Morquio, A., 2003. Neuroprotection by flavonoids. *Braz J Med Biol Res* 36, 1613–1620. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2003001200002>

de Souza, C.O., Vannice, G.K., Rosa Neto, J.C., Calder, P.C., 2018. Is Palmitoleic Acid a Plausible Nonpharmacological Strategy to Prevent or Control Chronic Metabolic and Inflammatory Disorders? *Mol. Nutr. Food Res.* 62, 1700504. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700504>

de Villiers, A., Venter, P., Pasch, H., 2016. Recent advances and trends in the liquid-chromatography–mass spectrometry analysis of flavonoids. *Journal of Chromatography A* 1430, 16–78. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.11.077>

Dembitsky, V.M., Maoka, T., 2007. Allenic and cumulenenic lipids. *Progress in Lipid Research* 46, 328–375. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2007.07.001>

Deng, M., Chen, H., Long, J., Song, J., Xie, L., Li, X., 2021. Calycosin: a Review of its Pharmacological Effects and Application Prospects. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 19, 911–925. <https://doi.org/10.1080/14787210.2021.1863145>

Deng, Y., Lam, S.-C., Zhao, J., Li, S.-P., 2017. Quantitative analysis of flavonoids and phenolic acid in *Coreopsis tinctoria* Nutt. by capillary zone electrophoresis. *ELECTROPHORESIS* 38, 2654–2661. <https://doi.org/10.1002/elps.201700129>

Deng, Z., Hassan, S., Rafiq, M., Li, H., He, Y., Cai, Y., Kang, X., Liu, Z., Yan, T., 2020. Pharmacological Activity of Eriodictyol: The Major Natural Polyphenolic Flavanone. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2020, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2020/6681352>

Di Matteo, G., Spano, M., Grosso, M., Salvo, A., Ingallina, C., Russo, M., Ritieni, A., Mannina, L., 2020. Food and COVID-19: Preventive/Co-therapeutic Strategies Explored by Current Clinical Trials and in Silico Studies. *Foods* 9, 1036. <https://doi.org/10.3390/foods9081036>

Dong, L., Yin, L., Zhang, Y., Fu, X., Lu, J., 2017. Anti-inflammatory effects of ononin on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. *Molecular Immunology* 83, 46–51. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2017.01.007>

Donovan, S.M., Andres, A., Mathai, R.A., Kuhlenschmidt, T.B., Kuhlenschmidt, M.S., 2009. Soy formula and isoflavones and the developing intestine. *Nutrition Reviews* 67, S192–S200. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00240.x>

Du, G.-J., Zhang, Z., Wen, X.-D., Yu, C., Calway, T., Yuan, C.-S., Wang, C.-Z., 2012. Epigallocatechin Gallate (EGCG) Is the Most Effective Cancer Chemopreventive Polyphenol in Green Tea. *Nutrients* 4, 1679–1691. <https://doi.org/10.3390/nu4111679>

Dufossé, L., Galaup, P., Yaron, A., Arad, S.M., Blanc, P., Chidambara Murthy, K.N., Ravishankar, G.A., 2005. Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality? *Trends in Food Science & Technology* 16, 389–406. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.02.006>

E., V.A., 1929. An Etymological Dictionary of Chemistry and Mineralogy. *Nature* 124, 789–790. <https://doi.org/10.1038/124789b0>

Eicosadienoic acid, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6439848> (Πρόσβαση: 15/12/2022)

Espíndola, K.M.M., Ferreira, R.G., Narvaez, L.E.M., Silva Rosario, A.C.R., da Silva, A.H.M., Silva, A.G.B., Vieira, A.P.O., Monteiro, M.C., 2019. Chemical and Pharmacological Aspects of Caffeic Acid and Its Activity in Hepatocarcinoma. *Front. Oncol.* 9, 541. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00541>

Eyres, L., Eyres, M.F., Chisholm, A., Brown, R.C., 2016. Coconut oil consumption and cardiovascular risk factors in humans. *Nutr Rev* 74, 267–280. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw002>

Feldman, M., Santos, J., Grenier, D., 2011. Comparative Evaluation of Two Structurally Related Flavonoids, Isoliquiritigenin and Liquiritigenin, for Their Oral Infection Therapeutic Potential. *J. Nat. Prod.* 74, 1862–1867. <https://doi.org/10.1021/np200174h>

Ferrer, I., Thurman, E.M., 2013. GC–MS–MS for the Analysis of Phytoestrogens in the Environment, in: *Comprehensive Analytical Chemistry*. Elsevier, pp. 231–251. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62623-3.00010-1>

Formica, J.V., Regelson, W., 1995. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology* 33, 1061–1080. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(95\)00077-1](https://doi.org/10.1016/0278-6915(95)00077-1)

Fox, D.L., Smith, V.E., Wolfson, A.A., 1967. Carotenoid selectivity in blood and feathers of lesser (African), chilean and greater (European) flamingos. *Comparative Biochemistry and Physiology* 23, 225–232. [https://doi.org/10.1016/0010-406X\(67\)90490-2](https://doi.org/10.1016/0010-406X(67)90490-2)

Frémont, L., 2000. Biological effects of resveratrol. *Life Sciences* 66, 663–673. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(99\)00410-5](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(99)00410-5)

Galati, E.M., Monforte, M.T., Kirjavainen, S., Forestieri, A.M., Trovato, A., Tripodo, M.M., 1994. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): antiinflammatory and analgesic activity. *Farmaco* 40, 709–712.

Gammone, M., D’Orazio, N., 2015. Anti-Obesity Activity of the Marine Carotenoid Fucoxanthin. *Marine Drugs* 13, 2196–2214. <https://doi.org/10.3390/md13042196>

Gammone, M., Riccioni, G., D’Orazio, N., 2015. Marine Carotenoids against Oxidative Stress: Effects on Human Health. *Marine Drugs* 13, 6226–6246. <https://doi.org/10.3390/md13106226>

Gao, X., Zhang, S., Wang, L., Yu, L., Zhao, X., Ni, H., Wang, Y., Wang, J., Shan, C., Fu, Y., 2020. Anti-Inflammatory Effects of Neochlorogenic Acid Extract from Mulberry Leaf (*Morus alba* L.) Against LPS-Stimulated Inflammatory Response through Mediating the AMPK/Nrf2 Signaling Pathway in A549 Cells. *Molecules* 25, 1385. <https://doi.org/10.3390/molecules25061385>

Garg, M., Chaudhary, S.K., Goyal, A., Sarup, P., Kumari, S., Garg, N., Vaid, L., Shiveena, B., 2022. Comprehensive review on therapeutic and phytochemical exploration of diosmetin: A promising moiety. *Phytomedicine Plus* 2, 100179. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100179>

Gaur, R., Yadav, K.S., Verma, R.K., Yadav, N.P., Bhakuni, R.S., 2014. In vivo anti-diabetic activity of derivatives of isoliquiritigenin and liquiritigenin. *Phytomedicine* 21, 415–422. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.10.015>

Gerhäuser, C., 2005. Beer constituents as potential cancer chemopreventive agents. *European Journal of Cancer* 41, 1941–1954. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2005.04.012>

Gong, G., Guan, Y.-Y., Zhang, Z.-L., Rahman, K., Wang, S.-J., Zhou, S., Luan, X., Zhang, H., 2020. Isorhamnetin: A review of pharmacological effects. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 128, 110301. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110301>

Gong, G., Zheng, Y., Kong, X., Wen, Z., 2021. Anti-angiogenesis Function of Ononin via Suppressing the MEK/Erk Signaling Pathway. *J. Nat. Prod.* 84, 1755–1762. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.1c00008>

Gosch, C., Halbwirth, H., Stich, K., 2010. Phloridzin: Biosynthesis, distribution and physiological relevance in plants. *Phytochemistry* 71, 838–843. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.03.003>

Gunstone, F.D., Harwood, J.L., Dijkstra, A.J. (Eds.), 2007. *The lipid handbook with CD-ROM*, 3rd ed. ed. CRC Press, Boca Raton.

Gutierrez-Zepeda, A., Santell, R., Wu, Z., Brown, M., Wu, Y., Khan, I., Link, C.D., Zhao, B., Luo, Y., 2005. Soy isoflavone glycitein protects against beta amyloid-induced toxicity and oxidative stress in transgenic *Caenorhabditis elegans*. *BMC Neurosci* 6, 54. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-6-54>

Guy, L., Védrine, N., Urpi-Sarda, M., Gil-Izquierdo, A., Al-Maharik, N., Boiteux, J.-P., Scalbert, A., Rémésy, C., Botting, N.P., Manach, C., 2008. Orally Administered Isoflavones Are Present as Glucuronides in the Human Prostate. *Nutrition and Cancer* 60, 461–468. <https://doi.org/10.1080/01635580801911761>

Hajialyani, M., Hosein Farzaei, M., Echeverría, J., Nabavi, S., Uriarte, E., Sobarzo-Sánchez, E., 2019. Hesperidin as a Neuroprotective Agent: A Review of Animal and Clinical Evidence. *Molecules* 24, 648. <https://doi.org/10.3390/molecules24030648>

Hansen, R.P., Shorland, F.B., Cooke, N.J., 1957. Occurrence in Butterfat of n-Heptadecanoic Acid (Margaric Acid). *Nature* 179, 98–98. <https://doi.org/10.1038/179098a0>

Hao, L., He, S., Shen, Y., Zhang, Y., Wang, Z., Wang, Y., 2011. [Protective effects of puerarin on lens epithelial cells in rat diabetic cataract]. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 47, 320–326.

Hartman, M.L., Czyz, M., 2020. BCL-w: apoptotic and non-apoptotic role in health and disease. *Cell Death Dis* 11, 260. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2417-0>

Havas, F., Krispin, S., Meléndez-Martínez, A.J., von Oppen-Bezalel, L., 2018. Preliminary Data on the Safety of Phytoene- and Phytofluene-Rich Products for Human Use including Topical Application. *Journal of Toxicology* 2018, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/5475784>

Heneicosanoic acid, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Heneicosanoic-acid> (Πρόσβαση: 19/9/2022)

Henry, G.E., Momin, R.A., Nair, M.G., Dewitt, D.L., 2002. Antioxidant and Cyclooxygenase Activities of Fatty Acids Found in Food. *J. Agric. Food Chem.* 50, 2231–2234. <https://doi.org/10.1021/jf0114381>

Higuera-Ciapara, I., Félix-Valenzuela, L., Goycoolea, F.M., 2006. Astaxanthin: A Review of its Chemistry and Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46, 185–196. <https://doi.org/10.1080/10408690590957188>

Hooshmand, S., Juma, S., Arjmandi, B.H., 2010. Combination of Genistin and Fructooligosaccharides Prevents Bone Loss in Ovarian Hormone Deficiency. *Journal of Medicinal Food* 13, 320–325. <https://doi.org/10.1089/jmf.2009.0059>

Hosokawa, M., Kudo, M., Maeda, H., Kohno, H., Tanaka, T., Miyashita, K., 2004. Fucoxanthin induces apoptosis and enhances the antiproliferative effect of the PPAR γ ligand, troglitazone, on colon cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1675, 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2004.08.012>

Hsu, B.-Y., Inbaraj, B.S., Chen, B.-H., 2020. Analysis of soy isoflavones in foods and biological fluids: An overview. *Journal of Food and Drug Analysis* 18. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2271>

Hu, T., Liu, D., Chen, Y., Wu, J., Wang, S., 2010. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Undaria pinnatifida* in vitro. *International Journal of Biological Macromolecules* 46, 193–198. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2009.12.004>

Huang, Y.-S., Ziboh, V.A. (Eds.), 2001. Gamma-linolenic acid: recent advances in biotechnology and clinical applications. Presented at the International Symposium on GLA, AOCS Press, Champaign, IL.

Huwait, E., Mobashir, M., 2022. Potential and Therapeutic Roles of Diosmin in Human Diseases. *Biomedicines* 10, 1076. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10051076>

Ichihara, K., Fukubayashi, Y., 2010. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. *Journal of Lipid Research* 51, 635–640. <https://doi.org/10.1194/jlr.D001065>

Iguchi, K., Okumura, N., Usui, S., Sajiki, H., Hirota, K., Hirano, K., 2001. Myristoleic acid, a cytotoxic component in the extract from *Serenoa repens*, induces apoptosis and necrosis in human prostatic LNCaP cells. *Prostate* 47, 59–65. <https://doi.org/10.1002/pros.1047>

Infante, R., Contador, L., Rubio, P., Aros, D., Peña-Neira, Á., 2011. Postharvest Sensory and Phenolic Characterization of Elegant Lady and Carson Peaches. *Chilean J. Agric. Res.* 71, 445–451. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392011000300016>

Isemura, M., 2019. Catechin in Human Health and Disease. *Molecules* 24, 528. <https://doi.org/10.3390/molecules24030528>

IUCN, 2018. *Theobroma grandiflorum*: Fernandez, E., Moraes, M., Martinelli, G. & Colli-Silva, M.: The IUCN Red List of Threatened Species 2021: e.T191158664A191158666. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-1.RLTS.T191158664A191158666.pt>

Jang, H.-H., Noh, H., Kim, H.-W., Cho, S.-Y., Kim, H.-J., Lee, Seon-Hye, Lee, Sung-Hyen, Gunter, M.J., Ferrari, P., Scalbert, A., Freisling, H., Kim, J.-B., Choe, J.-S., Kwon, O., 2020. Metabolic tracking of isoflavones in soybean products and biosamples from healthy adults after fermented soybean consumption. *Food Chemistry* 330, 127317. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127317>

Javanmardi, J., Kubota, C., 2006. Variation of lycopene, antioxidant activity, total soluble solids and weight loss of tomato during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology* 41, 151–155. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.03.008>

Jayachandran, M., Wu, Z., Ganesan, K., Khalid, S., Chung, S.M., Xu, B., 2019. Isoquercetin upregulates antioxidant genes, suppresses inflammatory cytokines and regulates AMPK pathway in streptozotocin-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions* 303, 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.02.017>

Jin, S., Zhang, Q.Y., Kang, X.M., Wang, J.X., Zhao, W.H., 2010. Daidzein induces MCF-7 breast cancer cell apoptosis via the mitochondrial pathway. *Annals of Oncology* 21, 263–268. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdp499>

Jin, X., Zhou, J., Richey, G., Wang, M., Hong, S.M.C., Hong, S.H., 2021. Undecanoic Acid, Lauric Acid, and N-Tridecanoic Acid Inhibit *Escherichia coli* Persistence and Biofilm Formation. *J. Microbiol. Biotechnol.* 31, 130–136. <https://doi.org/10.4014/jmb.2008.08027>

Johnson, I.T., 2001. Antioxidants and antitumour properties, in: *Antioxidants in Food*. Elsevier, pp. 100–123. <https://doi.org/10.1016/9781855736160.2.100>

Kakkar, S., Bais, S., 2014. A Review on Protocatechuic Acid and Its Pharmacological Potential. *ISRN Pharmacology* 2014, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2014/952943>

Kanazawa, M., Satomi, Y., Mizutani, Y., Ukimura, O., Kawauchi, A., Sakai, T., Baba, M., Okuyama, T., Nishino, H., Miki, T., 2003. Isoliquiritigenin Inhibits the Growth of Prostate Cancer. *European Urology* 43, 580–586. [https://doi.org/10.1016/S0302-2838\(03\)00090-3](https://doi.org/10.1016/S0302-2838(03)00090-3)

Karami, A., Fakhri, S., Kooshki, L., Khan, H., 2022. Polydatin: Pharmacological Mechanisms, Therapeutic Targets, Biological Activities, and Health Benefits. *Molecules* 27, 6474. <https://doi.org/10.3390/molecules27196474>

Kawata, A., Murakami, Y., Suzuki, S., Fujisawa, S., 2018. Anti-inflammatory Activity of β -Carotene, Lycopene and Tri-n-butylborane, a Scavenger of Reactive Oxygen Species. *In Vivo* 32. <https://doi.org/10.21873/invivo.11232>

Kelly, G.E., Nelson, C., Waring, M.A., Joannou, G.E., Reeder, A.Y., 1993. Metabolites of dietary (soya) isoflavones in human urine. *Clinica Chimica Acta* 223, 9–22. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(93\)90058-C](https://doi.org/10.1016/0009-8981(93)90058-C)

Khan, A., Ikram, M., Hahm, J.R., Kim, M.O., 2020. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Citrus Flavonoid Hesperetin: Special Focus on Neurological Disorders. *Antioxidants* 9, 609. <https://doi.org/10.3390/antiox9070609>

Khan, Mohd.M., Ahmad, A., Ishrat, T., Khuwaja, G., Srivastawa, P., Khan, M.B., Raza, S.S., Javed, H., Vaibhav, K., Khan, A., Islam, F., 2009. Rutin protects the neural damage induced by transient focal ischemia in rats. *Brain Research* 1292, 123–135. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.07.026>

Kim, B.H., Chung, E.Y., Min, B.-K., Lee, S.H., Kim, M.-K., Min, K.R., Kim, Y., 2003. Anti-Inflammatory Action of Legume Isoflavonoid Sophoricoside through Inhibition on Cyclooxygenase-2 Activity. *Planta med* 69, 474–476. <https://doi.org/10.1055/s-2003-39712>

Kim Ha, J., Lindsay, R.C., 1993. Release of Volatile Branched-Chain and Other Fatty Acids from Ruminant Milk Fats by Various Lipases. *Journal of Dairy Science* 76, 677–690. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77391-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77391-9)

Kim, S.C., Byun, S.H., Yang, C.H., Kim, C.Y., Kim, J.W., Kim, S.G., 2004. Cytoprotective effects of Glycyrrhizae radix extract and its active component liquiritigenin against cadmium-induced toxicity (effects on bad translocation and cytochrome c-mediated PARP cleavage). *Toxicology* 197, 239–251. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.01.010>

Kim, S.-N., Ahn, S.-Y., Song, H.-D., Kwon, H.-J., Saha, A., Son, Y., Cho, Y.K., Jung, Y.-S., Jeong, H.W., Lee, Y.-H., 2020. Antiobesity effects of coumestrol through expansion and activation of brown adipose tissue metabolism. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 76, 108300. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.108300>

Kim, Y., Narayanan, S., Chang, K.-O., 2010. Inhibition of influenza virus replication by plant-derived isoquercetin. *Antiviral Research* 88, 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2010.08.016>

Kim, Y.W., Ki, S.H., Lee, J.R., Lee, S.J., Kim, C.W., Kim, S.C., Kim, S.G., 2006. Liquiritigenin, an aglycone of liquiritin in Glycyrrhizae radix, prevents acute liver injuries in rats induced by acetaminophen with or without buthionine sulfoximine. *Chemico-Biological Interactions* 161, 125–138. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.03.008>

Ko, C.H., Lau, K.M., Choy, W.Y., Leung, P.C., 2009. Effects of Tea Catechins, Epigallocatechin, Gallocatechin, and Gallocatechin Gallate, on Bone Metabolism. *J. Agric. Food Chem.* 57, 7293–7297. <https://doi.org/10.1021/jf901545u>

Ko, Y.-H., Kim, S.Y., Lee, S.-Y., Jang, C.-G., 2018. 6,7,4'-Trihydroxyisoflavone, a major metabolite of daidzein, improves learning and memory via the cholinergic system and the p-CREB/BDNF signaling pathway in mice. *European Journal of Pharmacology* 826, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.02.048>

Kompan, D., Komprej, A., 2012. The Effect of Fatty Acids in Goat Milk on Health, in: Chaiyabutr, N. (Ed.), *Milk Production - An Up-to-Date Overview of Animal Nutrition, Management and Health*. InTech. <https://doi.org/10.5772/50769>

Kondo, K., Kurihara, M., Fukuhara, K., Tanaka, T., Suzuki, T., Miyata, N., Toyoda, M., 2000. Conversion of procyanidin B-type (catechin dimer) to A-type: evidence for abstraction of C-2 hydrogen in catechin during radical oxidation. *Tetrahedron Letters* 41, 485–488. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(99\)02097-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(99)02097-3)

Koo, J., Cabarcas-Petroski, S., Petrie, J.L., Diette, N., White, R.J., Schramm, L., 2015. Induction of proto-oncogene BRF2 in breast cancer cells by the dietary soybean isoflavone daidzein. *BMC Cancer* 15, 905. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1914-5>

Kuhnle, G.G.C., Dell'Aquila, C., Aspinall, S.M., Runswick, S.A., Mulligan, A.A., Bingham, S.A., 2008. Phytoestrogen Content of Beverages, Nuts, Seeds, and Oils. *J. Agric. Food Chem.* 56, 7311–7315. <https://doi.org/10.1021/jf801534g>

Kuijsten, A., Buijsman, M.N.C.P., Arts, I.Ja.C.W., Mulder, P.P.J., Hollman, P.C.H., 2005. A validated method for the quantification of enterodiol and enterolactone in plasma using isotope dilution liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 822, 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2005.06.004>

Kuster, M., Azevedo, D.A., López de Alda, M.J., Aquino Neto, F.R., Barceló, D., 2009. Analysis of phytoestrogens, progestogens and estrogens in environmental waters from Rio de Janeiro (Brazil). *Environment International* 35, 997–1003. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.04.006>

Laaniste, A., Leito, I., Krüge, A., 2019. ESI outcompetes other ion sources in LC/MS trace analysis. *Anal Bioanal Chem* 411, 3533–3542. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-01832-z>

Lacatusu, I., Badea, N., Ovidiu, O., Bojin, D., Meghea, A., 2012. Highly antioxidant carotene-lipid nanocarriers: synthesis and antibacterial activity. *Journal of Nanoparticle Research* 14. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-0902-9>

Lee, C.C., Dudonné, S., Kim, J.H., Kim, J.S., Dubé, P., Kim, J.-E., Desjardins, Y., Park, J.H.Y., Lee, K.W., Lee, C.Y., 2018. A major daidzin metabolite 7,8,4'-trihydroxyisoflavone found in the plasma of soybean extract-fed rats attenuates monocyte-endothelial cell adhesion. *Food Chemistry* 240, 607–614. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.002>

Lee, D., Park, J., Choi, J., Jang, H., Seol, J., 2020. Anti-inflammatory effects of natural flavonoid diosmetin in IL-4 and LPS-induced macrophage activation and atopic dermatitis model. *International Immunopharmacology* 89, 107046. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.107046>

Li, S., Li, J., Dai, W., Zhang, Q., Feng, J., Wu, L., Liu, T., Yu, Q., Xu, S., Wang, W., Lu, X., Chen, K., Xia, Y., Lu, J., Zhou, Y., Fan, X., Mo, W., Xu, L., Guo, C., 2017. Genistein suppresses aerobic glycolysis and induces hepatocellular carcinoma cell death. *Br J Cancer* 117, 1518–1528. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.323>

Li, W., Lu, Y., 2018. Hepatoprotective Effects of Sophoricoside against Fructose-Induced Liver Injury via Regulating Lipid Metabolism, Oxidation, and Inflammation in Mice. *Journal of Food Science* 83, 552–558. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14047>

Li, Y., Yu, H., Han, F., Wang, M., Luo, Y., Guo, X., 2018. Biochanin A Induces S Phase Arrest and Apoptosis in Lung Cancer Cells. *BioMed Research International* 2018, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2018/3545376>

Liang, Y.-S., Qi, W.-T., Guo, W., Wang, C.-L., Hu, Z.-B., Li, A.-K., 2018. Genistein and daidzein induce apoptosis of colon cancer cells by inhibiting the accumulation of lipid droplets. *Food & Nutrition Research* 62. <https://doi.org/10.29219/fnr.v62.1384>

Lin, L.-Z., He, X.-G., Lindenmaier, M., Nolan, G., Yang, J., Cleary, M., Qiu, S.-X., Cordell, G.A., 2000. Liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry study of the flavonoids of the roots of *Astragalus mongholicus* and *A. membranaceus*. *Journal of Chromatography A* 876, 87–95. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00149-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00149-7)

Lin, Y., Liu, P.-G., Liang, W.-Q., Hu, Y.-J., Xu, P., Zhou, J., Pu, J.-B., Zhang, H.-J., 2018. Luteolin-4'-O-glucoside and its aglycone, two major flavones of *Gnaphalium affine*

D. Don, resist hyperuricemia and acute gouty arthritis activity in animal models. *Phytomedicine* 41, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.02.002>

Lin, Y., Shi, R., Wang, X., Shen, H.-M., 2008. Luteolin, a Flavonoid with Potential for Cancer Prevention and Therapy. *CCDT* 8, 634–646. <https://doi.org/10.2174/156800908786241050>

Linolenic Acid, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280934> (Πρόσβαση: 15/12/2022)

Liu, F.-C., Wang, C.-C., Lu, J.-W., Lee, C.-H., Chen, S.-C., Ho, Y.-J., Peng, Y.-J., 2019. Chondroprotective Effects of Genistein against Osteoarthritis Induced Joint Inflammation. *Nutrients* 11, 1180. <https://doi.org/10.3390/nu11051180>

Liu, H., Yu, G., 2004. [Antimetastatic effects of genistein on salivary adenoid cystic carcinoma in vivo]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 39, 373–375.

López-Fernández, O., Domínguez, R., Pateiro, M., Munekata, P.E.S., Rocchetti, G., Lorenzo, J.M., 2020. Determination of Polyphenols Using Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Technique (LC–MS/MS): A Review. *Antioxidants* 9, 479. <https://doi.org/10.3390/antiox9060479>

Lunn, J., Theobald, H.E., 2006. The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *Nutr Bulletin* 31, 178–224. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2006.00571.x>

M. Calderon-Montano, J., Burgos-Moron, E., Perez-Guerrero, C., Lopez-Lazaro, M., 2011. A Review on the Dietary Flavonoid Kaempferol. *MRMC* 11, 298–344. <https://doi.org/10.2174/138955711795305335>

Machado, D.G., Bettio, L.E.B., Cunha, M.P., Santos, A.R.S., Pizzolatti, M.G., Brighente, I.M.C., Rodrigues, A.L.S., 2008. Antidepressant-like effect of rutin isolated from the ethanolic extract from *Schinus molle* L. in mice: Evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. *European Journal of Pharmacology* 587, 163–168. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.03.021>

Maeda, H., 2015. Nutraceutical Effects of Fucoxanthin for Obesity and Diabetes Therapy: A Review. *Journal of Oleo Science* 64, 125–132. <https://doi.org/10.5650/jos.ess14226>

Martin, L., 2015. Fucoxanthin and Its Metabolite Fucoxanthinol in Cancer Prevention and Treatment. *Marine Drugs* 13, 4784–4798. <https://doi.org/10.3390/md13084784>

Martin, L.J., Reaidi, G.B., Gavino, G.R., Gavino, V.C., 1991. Effect of 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid on triglyceride accumulation and secretion in rat hepatocytes in culture. *Lipids* 26, 374–380. <https://doi.org/10.1007/BF02537202>

Martínez, L., Ros, G., Nieto, G., 2018. Hydroxytyrosol: Health Benefits and Use as Functional Ingredient in Meat. *Medicines* 5, 13. <https://doi.org/10.3390/medicines5010013>

Matairesinol, PubChem. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Matairesinol> (Πρόσβαση: 6/1/23).

Mathews-Roth, M.M., 1982. Antitumor Activity of β -Carotene, Canthaxanthin and Phytoene. *Oncology* 39, 33–37. <https://doi.org/10.1159/000225601>

Matsuo, T., Hanamure, N., Shimoj, K., Nakamura, Y., Tomita, I., 1994. Identification of (+)-galocatechin as a bio-antimutagenic compound in *Psidium guava* leaves. *Phytochemistry* 36, 1027–1029. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90484-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90484-9)

Mattes, R.D., 2009. Is There a Fatty Acid Taste? *Annu. Rev. Nutr.* 29, 305–327. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-080508-141108>

Mecocci, P., Polidori, M.C., Troiano, L., Cherubini, A., Cecchetti, R., Pini, G., Straatman, M., Monti, D., Stahl, W., Sies, H., Franceschi, C., Senin, U., 2000. Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians. *Free Radical Biology and Medicine* 28, 1243–1248. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00246-X](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00246-X)

Medeiros, D.L., Lima, E.T.G., Silva, J.C., Medeiros, M.A., Pinheiro, E.B.F., 2022. Rhamnetin: a review of its pharmacology and toxicity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 74, 793–799. <https://doi.org/10.1093/jpp/rgab163>

Meirinhos, J., Silva, B.M., Valentão, P., Seabra, R.M., Pereira, J.A., Dias, A., Andrade, P.B., Ferreres, F., 2005. Analysis and quantification of flavonoidic compounds from Portuguese olive (*Olea Europaea* L.) leaf cultivars. *Natural Product Research* 19, 189–195. <https://doi.org/10.1080/14786410410001704886>

Meléndez-Martínez, A.J., Stinco, C.M., Mapelli-Brahm, P., 2019. Skin Carotenoids in Public Health and Nutricosmetics: The Emerging Roles and Applications of the UV Radiation-Absorbing Colourless Carotenoids Phytoene and Phytofluene. *Nutrients* 11, 1093. <https://doi.org/10.3390/nu11051093>

Mendes-Junior, L. das G., Monteiro, M.M. de O., Carvalho, A. dos S., Queiroz, T.M. de, Braga, V. de A., 2013. Oral supplementation with the rutin improves cardiovascular baroreflex sensitivity and vascular reactivity in hypertensive rats. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 38, 1099–1106. <https://doi.org/10.1139/apnm-2013-0091>

Merken, H.M., Beecher, G.R., 2000. Measurement of Food Flavonoids by High-Performance Liquid Chromatography: A Review. *J. Agric. Food Chem.* 48, 577–599. <https://doi.org/10.1021/jf990872o>

Mersereau, J.E., Levy, N., Staub, R.E., Baggett, S., Zogric, T., Chow, S., Ricke, W.A., Tagliaferri, M., Cohen, I., Bjeldanes, L.F., 2008. Liquiritigenin is a plant-derived highly selective estrogen receptor β agonist. *Molecular and Cellular Endocrinology* 283, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2007.11.020>

Milder, I.E.J., Arts, I.C.W., Putte, B. van de, Venema, D.P., Hollman, P.C.H., 2005a. Lignan contents of Dutch plant foods: a database including lariciresinol, pinoresinol, secoisolariciresinol and matairesinol. *Br J Nutr* 93, 393–402. <https://doi.org/10.1079/BJN20051371>

Milder, I.E.J., Arts, I.C.W., Putte, B. van de, Venema, D.P., Hollman, P.C.H., 2005b. Lignan contents of Dutch plant foods: a database including lariciresinol, pinoresinol, secoisolariciresinol and matairesinol. *Br J Nutr* 93, 393–402. <https://doi.org/10.1079/BJN20051371>

Milder, I.E.J., Feskens, E.J.M., Arts, I.C.W., de Mesquita, H.B.B., Hollman, P.C.H., Kromhout, D., 2005c. Intake of the Plant Lignans Secoisolariciresinol, Matairesinol, Lariciresinol, and Pinoresinol in Dutch Men and Women. *The Journal of Nutrition* 135, 1202–1207. <https://doi.org/10.1093/jn/135.5.1202>

Min, J., Wang, Z., Liang, C., Li, W., Shao, J., Zhu, K., Zhou, L., Cheng, J., Luo, S., Yu, L., Wu, Y., Xie, M., Hu, X., 2020. Detection of Phytoestrogen Metabolites in Breastfed Infants' Urine and the Corresponding Breast Milk by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 68, 3485–3494. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b08107>

Min, K.-B., Min, J.-Y., 2017. Association between leukocyte telomere length and serum carotenoid in US adults. *European Journal of Nutrition* 56, 1045–1052. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1152-x>

Miras-Moreno, B., Pedreño, M.Á., Romero, L.A., 2019. Bioactivity and bioavailability of phytoene and strategies to improve its production. *Phytochemistry Reviews* 18, 359–376. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9597-6>

Montero, G., Arriagada, F., Günther, G., Bollo, S., Mura, F., Berríos, E., Morales, J., 2019. Phytoestrogen coumestrol: Antioxidant capacity and its loading in albumin nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 562, 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.03.029>

Mornar, A., Buhač, T., Klarić, D.A., Klarić, I., Sertić, M., Nigović, B., 2020. Multi-targeted Screening of Phytoestrogens in Food, Raw Material, and Dietary Supplements by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry. *Food Anal. Methods* 13, 482–495. <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01653-x>

Mozos, I., Stoian, D., Caraba, A., Malainer, C., Horbańczuk, J.O., Atanasov, A.G., 2018. Lycopene and Vascular Health. *Frontiers in Pharmacology* 9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00521>

Mu, H., Bai, Y.-H., Wang, S.-T., Zhu, Z.-M., Zhang, Y.-W., 2009. Research on antioxidant effects and estrogenic effect of formononetin from *Trifolium pratense* (red clover). *Phytomedicine* 16, 314–319. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.07.005>

Myrtsi, E.D., Koulocheri, S.D., Iliopoulos, V., Haroutounian, S.A., 2021. High-Throughput Quantification of 32 Bioactive Antioxidant Phenolic Compounds in Grapes, Wines and Vinification Byproducts by LC–MS/MS. *Antioxidants* 10, 1174. <https://doi.org/10.3390/antiox10081174>

Nakamura, M.T., Nara, T.Y., 2004. STRUCTURE, FUNCTION, AND DIETARY REGULATION OF $\Delta 6$, $\Delta 5$, AND $\Delta 9$ DESATURASES. *Annu. Rev. Nutr.* 24, 345–376. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.24.121803.063211>

Navarro-Orcajada, S., Matencio, A., Vicente-Herrero, C., García-Carmona, F., López-Nicolás, J.M., 2021. Study of the fluorescence and interaction between cyclodextrins and neochlorogenic acid, in comparison with chlorogenic acid. *Sci Rep* 11, 3275. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82915-9>

Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A.A., Khan, G.J., Shumzaid, M., Ahmad, F., Babazadeh, D., FangFang, X., Modarresi-Ghazani, F., WenHua, L., XiaoHui, Z., 2018. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.064>

Nian, S., Lo, A.C.Y., 2018. Lutein and the Aging Eye, in: Zepka, L.Q., Jacob-Lopes, E., Rosso, V.V.D. (Eds.), *Progress in Carotenoid Research*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79604>

Nićiforović, N., Abramović, H., 2014. Sinapic Acid and Its Derivatives: Natural Sources and Bioactivity: Sinapic acid and its derivatives.... *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13, 34–51. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12041>

Nisar, N., Li, L., Lu, S., Khin, N.C., Pogson, B.J., 2015. Carotenoid Metabolism in Plants. *Molecular Plant* 8, 68–82. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.007>

Noda, Y., Kaneyuki, T., Mori, A., Packer, L., 2002. Antioxidant Activities of Pomegranate Fruit Extract and Its Anthocyanidins: Delphinidin, Cyanidin, and Pelargonidin. *J. Agric. Food Chem.* 50, 166–171. <https://doi.org/10.1021/jf0108765>

Nørskov, N.P., Knudsen, K.E.B., 2016. Validated LC-MS/MS Method for the Quantification of Free and Bound Lignans in Cereal-Based Diets and Feces. *J. Agric. Food Chem.* 64, 8343–8351. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03452>

Nyman, N.A., Kumpulainen, J.T., 2001. Determination of Anthocyanidins in Berries and Red Wine by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 49, 4183–4187. <https://doi.org/10.1021/jf010572i>

Olthof, M.R., Hollman, P.C., Zock, P.L., Katan, M.B., 2001. Consumption of high doses of chlorogenic acid, present in coffee, or of black tea increases plasma total homocysteine concentrations in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73, 532–538. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.3.532>

Ong, K.C., Khoo, H.-E., 1997. Biological effects of myricetin. *General Pharmacology: The Vascular System* 29, 121–126. [https://doi.org/10.1016/S0306-3623\(96\)00421-1](https://doi.org/10.1016/S0306-3623(96)00421-1)

Orhan, I., Deliorman-Orhan, D., Özçelik, B., 2009. Antiviral activity and cytotoxicity of the lipophilic extracts of various edible plants and their fatty acids. *Food Chemistry* 115, 701–705. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.024>

Oza, M.J., Kulkarni, Y.A., 2019. Formononetin attenuates kidney damage in type 2 diabetic rats. *Life Sciences* 219, 109–121. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.01.013>

Oza, M.J., Kulkarni, Y.A., 2018. Biochanin A improves insulin sensitivity and controls hyperglycemia in type 2 diabetes. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 107, 1119–1127. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.073>

Paez-Ribes, M., González-Gualda, E., Doherty, G.J., Muñoz-Espín, D., 2019. Targeting senescent cells in translational medicine. *EMBO Mol Med* 11. <https://doi.org/10.15252/emmm.201810234>

Palma-Duran, S.A., Caire-Juvera, G., Campa-Siqueiros, M.M., Chávez-Suárez, K.M., Robles-Burgueño, M. del R., Gutiérrez-Coronado, M.L., Bermúdez-Almada, M. del C., Saucedo-Tamayo, M. del S., Grajeda-Cota, P., Valenzuela-Quintanar, A.I., 2020. A Comprehensive HPLC-DAD-ESI-MS Validated Method for the Quantification of 16 Phytoestrogens in Food, Serum and Urine. *Applied Sciences* 10, 8147. <https://doi.org/10.3390/app10228147>

Parhiz, H., Roohbakhsh, A., Soltani, F., Rezaee, R., Iranshahi, M., 2015. Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of the Citrus Flavonoids Hesperidin and Hesperetin: An Updated Review of their Molecular Mechanisms and Experimental Models: HESPERIDIN AND HESPERETIN AS ANTIOXIDANT AND ANTI-INFLAMMATORY AGENTS. *Phytother. Res.* 29, 323–331. <https://doi.org/10.1002/ptr.5256>

Patel, D.K., Patel, K., 2020. Biological Importance of Glycitin in the Medicine for the Treatment of Hepatic Disorders and Complication through Different Molecular Mechanism. Presented at the Spring/Autum Conference (The Liver Week) 2020 Vol. 1, The Korean Society of Liver, p. 323.

Patisaul, H.B., Jefferson, W., 2010. The pros and cons of phytoestrogens. *Frontiers in Neuroendocrinology* 31, 400–419. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2010.03.003>

Pei, K., Ou, J., Huang, J., Ou, S., 2016. p-Coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities: p-Coumaric acid and its conjugates. *J. Sci. Food Agric.* 96, 2952–2962. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7578>

Peñalvo, J.L., Nurmi, T., Haajanen, K., Al-Maharik, N., Botting, N., Adlercreutz, H., 2004. Determination of lignans in human plasma by liquid chromatography with coulometric electrode array detection. *Analytical Biochemistry* 332, 384–393. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.05.046>

Peng, F., Du, Q., Peng, C., Wang, N., Tang, H., Xie, X., Shen, J., Chen, J., 2015. A Review: The Pharmacology of Isoliquiritigenin: A Review: The Pharmacology of ISL. *Phytother. Res.* 29, 969–977. <https://doi.org/10.1002/ptr.5348>

Peng, J., Yuan, J.-P., Wu, C.-F., Wang, J.-H., 2011. Fucoxanthin, a Marine Carotenoid Present in Brown Seaweeds and Diatoms: Metabolism and Bioactivities Relevant to Human Health. *Marine Drugs* 9, 1806–1828. <https://doi.org/10.3390/md9101806>

Peng, J.-H., Cui, T., Sun, Z.-L., Huang, F., Chen, L., Xu, L., Feng, Q., Hu, Y.-Y., 2012. Effects of Puerariae Radix Extract on Endotoxin Receptors and TNF- α Expression Induced by Gut-Derived Endotoxin in Chronic Alcoholic Liver Injury. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2012, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2012/234987>

Peng, X., Ma, J., Chao, J., Sun, Z., Chang, R.C.-C., Tse, I., Li, E.T.S., Chen, F., Wang, M., 2010. Beneficial Effects of Cinnamon Proanthocyanidins on the Formation of Specific Advanced Glycation Endproducts and Methylglyoxal-Induced Impairment on Glucose Consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 6692–6696. <https://doi.org/10.1021/jf100538t>

Pentadecanoic acid, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13849> (Πρόσβαση: 16/12/2022)

Petyaev, I.M., 2016. Lycopene Deficiency in Ageing and Cardiovascular Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2016/3218605>

Playfair, L., 1841. XX. On a new fat acid in the butter of nutmegs. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* 18, 102–113. <https://doi.org/10.1080/14786444108650255>

Plumb, G.W., de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J.C., Williamson, G., 2002. Antioxidant properties of gallocatechin and prodelpinidins from pomegranate peel. *Redox Report* 7, 41–46. <https://doi.org/10.1179/135100002125000172>

Polidori, M.C., Stahl, W., Eichler, O., Niestroj, I., Sies, H., 2001. Profiles of antioxidants in human plasma. *Free Radical Biology and Medicine* 30, 456–462. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00345-2](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00345-2)

Pollmann, H., Breitenbach, J., Sandmann, G., 2017. Development of *Xanthophyllomyces dendrorhous* as a production system for the colorless carotene phytoene. *Journal of Biotechnology* 247, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.02.027>

Prasad, K., 2011. Antioxidant activity of secoisolariciresinol diglucoside-derived metabolites, secoisolariciresinol, Enterodiol, and enterolactone. *Int J Angiol* 9, 220–225. <https://doi.org/10.1007/BF01623898>

Prasain, J.K., Barnes, S., Wyss, J.M., 2021. Kudzu isoflavone C-glycosides: Analysis, biological activities, and metabolism. *Food Frontiers* 2, 383–389. <https://doi.org/10.1002/fft2.105>

Prokudina, E.A., Havlíček, L., Al-Maharik, N., Lapčík, O., Strnad, M., Gruz, J., 2012. Rapid UPLC–ESI–MS/MS method for the analysis of isoflavonoids and other phenylpropanoids. *Journal of Food Composition and Analysis* 26, 36–42. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.12.001>

Pu, F., Mishima, K., Irie, K., Motohashi, K., Tanaka, Y., Orito, K., Egawa, T., Kitamura, Y., Egashira, N., Iwasaki, K., Fujiwara, M., 2007. Neuroprotective Effects of Quercetin and Rutin on Spatial Memory Impairment in an 8-Arm Radial Maze Task and Neuronal Death Induced by Repeated Cerebral Ischemia in Rats. *J Pharmacol Sci* 104, 329–334. <https://doi.org/10.1254/jphs.FP0070247>

Qin, J., Chen, J., Peng, F., Sun, C., Lei, Y., Chen, G., Li, G., Yin, Y., Lin, Z., Wu, L., Li, J., Liu, W., Peng, C., Xie, X., 2022. Pharmacological activities and pharmacokinetics of liquiritin: A review. *Journal of Ethnopharmacology* 293, 115257. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115257>

Quan, L.-H., Zhang, C., Dong, M., Jiang, J., Xu, H., Yan, C., Liu, X., Zhou, H., Zhang, H., Chen, L., Zhong, F.-L., Luo, Z.-B., Lam, S.-M., Shui, G., Li, D., Jin, W., 2020. Myristoleic acid produced by enterococci reduces obesity through brown adipose tissue activation. *Gut* 69, 1239–1247. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-319114>

Rabie, A.B.M., 2010. Effect of genistin on bone formation. *Front Biosci* E2, 764–770. <https://doi.org/10.2741/e136>

Raju, K.S.R., Kadian, N., Taneja, I., Wahajuddin, M., 2015. Phytochemical analysis of isoflavonoids using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Phytochemistry Reviews* 14, 469–498. <https://doi.org/10.1007/s11101-015-9400-x>

Riahi, K., Hosni, K., Raies, A., Oliveira, R., 2019. Unique secondary metabolites of a *Streptomyces* strain isolated from extreme salty wetland show antioxidant and antibacterial activities. *J Appl Microbiol* 127, 1727–1740. <https://doi.org/10.1111/jam.14428>

Ross, J.A., Kasum, C.M., 2002. Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. *Annu. Rev. Nutr.* 22, 19–34. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.22.111401.144957>

Roy, M., Sen, S., Chakraborti, A.S., 2008. Action of pelargonidin on hyperglycemia and oxidative damage in diabetic rats: Implication for glycation-induced hemoglobin modification. *Life Sciences* 82, 1102–1110. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2008.03.011>

Saha, S., Kroon, P.A., 2020. A Simple and Rapid LC-MS/MS Method for Quantification of Total Daidzein, Genistein, and Equol in Human Urine. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 2020, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2020/2359397>

Saldanha, E., Saxena, A., Kaur, K., Kalekhan, F., Venkatesh, P., Fayad, R., Rao, S., George, T., Baliga, M.S., 2019. Polyphenols in the Prevention of Ulcerative Colitis, in: *Dietary Interventions in Gastrointestinal Diseases*. Elsevier, pp. 277–287. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814468-8.00023-5>

Salehi, B., Venditti, A., Sharifi-Rad, M., Kręgiel, D., Sharifi-Rad, J., Durazzo, A., Lucarini, M., Santini, A., Souto, E., Novellino, E., Antolak, H., Azzini, E., Setzer, W., Martins, N., 2019. The Therapeutic Potential of Apigenin. *IJMS* 20, 1305. <https://doi.org/10.3390/ijms20061305>

Sandhir, R., Khan, M., Chahal, A., Singh, I., 1998. Localization of nervonic acid beta-oxidation in human and rodent peroxisomes: impaired oxidation in Zellweger syndrome and X-linked adrenoleukodystrophy. *J Lipid Res* 39, 2161–2171.

Sano, A., Yamakoshi, J., Tokutake, S., Tobe, K., Kubota, Y., Kikuchi, M., 2003. Procyanidin B1 Is Detected in Human Serum after Intake of Proanthocyanidin-rich Grape Seed Extract. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 67, 1140–1143. <https://doi.org/10.1271/bbb.67.1140>

Santana-Gálvez, J., Cisneros-Zevallos, L., Jacobo-Velázquez, D., 2017. Chlorogenic Acid: Recent Advances on Its Dual Role as a Food Additive and a Nutraceutical against Metabolic Syndrome. *Molecules* 22, 358. <https://doi.org/10.3390/molecules22030358>

Sarfraz, A., Javeed, M., Shah, M.A., Hussain, G., Shafiq, N., Sarfraz, I., Riaz, A., Sadiqa, A., Zara, R., Zafar, S., Kanwal, L., Sarker, S.D., Rasul, A., 2020. Biochanin A: A novel bioactive multifunctional compound from nature. *Science of The Total Environment* 722, 137907. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137907>

Satomi, Y., 2017. Antitumor and Cancer-preventative Function of Fucoxanthin: A Marine Carotenoid. *Anticancer Research* 37, 1557–1562. <https://doi.org/10.21873/anticancer.11484>

Satué-Gracia, M.T., Heinonen, M., Frankel, E.N., 1997. Anthocyanins as Antioxidants on Human Low-Density Lipoprotein and Lecithin–Liposome Systems. *J. Agric. Food Chem.* 45, 3362–3367. <https://doi.org/10.1021/jf970234a>

Savych, A., Basaraba, R., Muzyka, N., Ilashchuk, P., 2021. Analysis of fatty acid composition content in the plant components of antidiabetic herbal mixture by GC-MS. *PHAR* 68, 433–439. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.68.e66693>

Seo, D.-B., Jeong, H.W., Lee, Sang-Jun, Lee, Sung-Joon, 2014. Coumestrol Induces Mitochondrial Biogenesis by Activating Sirt1 in Cultured Skeletal Muscle Cells. *J. Agric. Food Chem.* 62, 4298–4305. <https://doi.org/10.1021/jf404882w>

Setchell, K.D.R., Clerici, C., 2010. Equol: Pharmacokinetics and Biological Actions. *The Journal of Nutrition* 140, 1363S–1368S. <https://doi.org/10.3945/jn.109.119784>

Shim, Y.-S., Yoon, W.-J., Hwang, J.-B., Park, H.-J., Seo, D., Ha, J., 2015. Rapid method for the determination of 14 isoflavones in food using UHPLC coupled to photo diode array detection. *Food Chemistry* 187, 391–397. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.077>

Shiratori, K., Ohgami, K., Ilieva, I., Jin, X.-H., Koyama, Y., Miyashita, K., Yoshida, K., Kase, S., Ohno, S., 2005. Effects of fucoxanthin on lipopolysaccharide-induced inflammation in vitro and in vivo. *Experimental Eye Research* 81, 422–428. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2005.03.002>

Simons, R., Vincken, J.-P., Bohin, M.C., Kuijpers, T.F.M., Verbruggen, M.A., Gruppen, H., 2011a. Identification of prenylated pterocarpan and other isoflavonoids in *Rhizopus* spp. elicited soya bean seedlings by electrospray ionisation mass spectrometry: Prenylated isoflavonoids in fungi-challenged soya seedlings by UHPLC/MS. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 25, 55–65. <https://doi.org/10.1002/rcm.4826>

Simons, R., Vincken, J.-P., Roidos, N., Bovee, T.F.H., van Iersel, M., Verbruggen, M.A., Gruppen, H., 2011b. Increasing Soy Isoflavonoid Content and Diversity by Simultaneous Malting and Challenging by a Fungus to Modulate Estrogenicity. *J. Agric. Food Chem.* 59, 6748–6758. <https://doi.org/10.1021/jf2010707>

Simopoulos, A.P., 2008. The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Exp Biol Med (Maywood)* 233, 674–688. <https://doi.org/10.3181/0711-MR-311>

Sissotrin, PubChem. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sissotrin> (Πρόσβαση: 6/1/2023).

Sommer, A., 2001. Vitamin A Deficiency, in: John Wiley & Sons, Ltd (Ed.), *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0002106>

Song, T.T., Hendrich, S., Murphy, P.A., 1999. Estrogenic Activity of Glycitein, a Soy Isoflavone. *J. Agric. Food Chem.* 47, 1607–1610. <https://doi.org/10.1021/jf981054j>

Stephensen, C.B., 2001. Vitamin A, Infection, and Immune Function*. *Annual Review of Nutrition* 21, 167–192. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.21.1.167>

Sugimoto, E., Yamaguchi, M., 2000. Stimulatory effect of daidzein in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Biochemical Pharmacology* 59, 471–475. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(99\)00351-2](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(99)00351-2)

Sugiura, M., Nakamura, M., Ogawa, K., Ikoma, Y., Ando, F., Yano, M., 2008. Bone mineral density in post-menopausal female subjects is associated with serum antioxidant carotenoids. *Osteoporosis International* 19, 211–219. <https://doi.org/10.1007/s00198-007-0457-2>

Sunil, C., Xu, B., 2019. An insight into the health-promoting effects of taxifolin (dihydroquercetin). *Phytochemistry* 166, 112066. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.112066>

Tallima, H., El Ridi, R., 2018. Arachidonic acid: Physiological roles and potential health benefits – A review. *Journal of Advanced Research* 11, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.11.004>

Tay, K.-C., Tan, L.T.-H., Chan, C.K., Hong, S.L., Chan, K.-G., Yap, W.H., Pusparajah, P., Lee, L.-H., Goh, B.-H., 2019. Formononetin: A Review of Its Anticancer Potentials and Mechanisms. *Front. Pharmacol.* 10, 820. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00820>

Tereschuk, M.L., Baigorí, M.D., de Figueroa, L.I.C., Abdala, L.R., 2004. Flavonoids From Argentine Tagetes (Asteraceae) With Antimicrobial Activity, in: Public Health Microbiology. Humana Press, New Jersey, pp. 317–330. <https://doi.org/10.1385/1-59259-766-1:317>

The Ginkgo Tree, <http://scidiv.bellevuecollege.edu/rkr/Ginkgo/Ginkgo.html> (Πρόσβαση: 14/12/2022)

Tricosanoic acid, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/17085> (Πρόσβαση: 16/12/2022)

Tridecanoic acid, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tridecanoic-acid> (Πρόσβαση: 14/12/2022)

Tsamo, D.L.F., Tamokou, J.-D.-D., Kengne, I.C., Ngnokam, C.D.J., Djamalladine, M.D., Voutquenne-Nazabadioko, L., Ngnokam, D., 2021. Antimicrobial and Antioxidant Secondary Metabolites from *Trifolium baccarinii* Chiov. (Fabaceae) and Their Mechanisms of Antibacterial Action. *BioMed Research International* 2021, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2021/3099428>

Tuli, H.S., Tuorkey, M.J., Thakral, F., Sak, K., Kumar, M., Sharma, A.K., Sharma, U., Jain, A., Aggarwal, V., Bishayee, A., 2019. Molecular Mechanisms of Action of Genistein in Cancer: Recent Advances. *Front. Pharmacol.* 10, 1336. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01336>

Uddin, Md.S., Kabir, Md.T., 2019. Emerging Signal Regulating Potential of Genistein Against Alzheimer's Disease: A Promising Molecule of Interest. *Front. Cell Dev. Biol.* 7, 197. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00197>

Uesugi, T., Toda, T., Tsuji, K., Ishida, H., 2001. Comparative Study on Reduction of Bone Loss and Lipid Metabolism Abnormality in Ovariectomized Rats by Soy Isoflavones, Daidzin, Genistin, and Glycitin. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 24, 368–372. <https://doi.org/10.1248/bpb.24.368>

Undecanoic acid, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Undecanoic-acid> (Πρόσβαση: 20/12/2022)

Vacek, J., Klejdus, B., Lojková, L., Kubán, V., 2008. Current trends in isolation, separation, determination and identification of isoflavones: A review. *Journal of Separation Science* 31, 2054–2067. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700569>

Valentín-Blasini, L., Blount, B.C., Rogers, H., Needham, L.L., 2000. HPLC-MS/MS method for the measurement of seven phytoestrogens in human serum and urine. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 10, 799–807. <https://doi.org/10.1038/sj.jea.7500122>

Veberic, R., Slatnar, A., Bizjak, J., Stampar, F., Mikulic-Petkovsek, M., 2015. Anthocyanin composition of different wild and cultivated berry species. *LWT - Food Science and Technology* 60, 509–517. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.033>

Verma, S., Singh, A., Mishra, A., 2013. Gallic acid: Molecular rival of cancer. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 35, 473–485. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.02.011>

Vishwanathan, R., Schalch, W., Johnson, E.J., 2016. Macular pigment carotenoids in the retina and occipital cortex are related in humans. *Nutritional Neuroscience* 19, 95–101. <https://doi.org/10.1179/1476830514Y.00000000141>

Wang, C.-C., Prasain, J.K., Barnes, S., 2002. Review of the methods used in the determination of phytoestrogens. *Journal of Chromatography B* 777, 3–28. [https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(02\)00341-0](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(02)00341-0)

Wang, S., Wang, Y.-J., Su, Y., Zhou, W., Yang, S., Zhang, R., Zhao, M., Li, Y., Zhang, Z., Zhan, D., Liu, R., 2012. Rutin inhibits β -amyloid aggregation and cytotoxicity, attenuates oxidative stress, and decreases the production of nitric oxide and proinflammatory cytokines. *NeuroToxicology* 33, 482–490. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.03.003>

Wang, W., Xu, H., Chen, H., Tai, K., Liu, F., Gao, Y., 2016. In vitro antioxidant, anti-diabetic and antilipemic potentials of quercetagenin extracted from marigold (*Tagetes erecta* L.) inflorescence residues. *J Food Sci Technol* 53, 2614–2624. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2228-6>

Williams, R.J., Spencer, J.P.E., Rice-Evans, C., 2004. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Biology and Medicine* 36, 838–849. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.01.001>

Wilmsen, P.K., Spada, D.S., Salvador, M., 2005. Antioxidant Activity of the Flavonoid Hesperidin in Chemical and Biological Systems. *J. Agric. Food Chem.* 53, 4757–4761. <https://doi.org/10.1021/jf0502000>

Woo, A.H., Lindsay, R.C., 1983. Stepwise Discriminant Analysis of Free Fatty Acid Profiles for Identifying Sources of Lipolytic Enzymes in Rancid Butter. *Journal of Dairy Science* 66, 2070–2075. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(83\)82052-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)82052-9)

Wu, Q., Wang, M., Sciarappa, W.J., Simon, J.E., 2004. LC/UV/ESI-MS Analysis of Isoflavones in Edamame and Tofu Soybeans. *J. Agric. Food Chem.* 52, 2763–2769. <https://doi.org/10.1021/jf035053p>

Wu, Q., Wang, M., Simon, J.E., 2003. Determination of isoflavones in red clover and related species by high-performance liquid chromatography combined with ultraviolet and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 1016, 195–209. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.08.001>

Xanthohumol , PubChem. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Xanthohumol> (Πρόσβαση: 6/1/2023).

Xu, W., Zhou, F., Zhu, Q., Bai, M., Luo, T., Zhou, L., Deng, R., 2022. Calycosin-7-O- β -D-glucoside attenuates palmitate-induced lipid accumulation in hepatocytes through AMPK activation. *European Journal of Pharmacology* 925, 174988. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.174988>

Xu, X., Li, Y., Bai, X., Lu, F., Zhang, Y., Zhang, T., 2021. LC–MS/MS analysis and pharmacokinetics of daidzein and its 7-O-glucuronide in rats after oral administration of 7-O-L-valyl carbamate prodrug. *Bioanalysis* bio-2020-0276. <https://doi.org/10.4155/bio-2020-0276>

Xu, Y., Ibrahim, I., Wosu, C., Ben-Amotz, A., Harvey, P., 2018. Potential of New Isolates of *Dunaliella Salina* for Natural β -Carotene Production. *Biology* 7, 14. <https://doi.org/10.3390/biology7010014>

Yamaguchi, M., Hua Gao, Y., 1998. Anabolic effect of genistein and genistin on bone metabolism in the femoral-metaphyseal tissues of elderly rats: The genistein effect is enhanced by zinc. *Molecular and Cellular Biochemistry* 178, 377–382. <https://doi.org/10.1023/A:1006809031836>

Yokoyama, H., Vandercook, C.E., 1967. Citrus Carotenoids. I. Comparison of Carotenoids of Mature-Green and Yellow Lemons. *Journal of Food Science* 32, 42–48. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1967.tb01954.x>

Yoshida, T., Horinaka, M., Takara, M., Tsuchihashi, M., Mukai, N., Wakada, M., Sakai, T., 2008. Combination of isoliquiritigenin and tumor necrosis factor-related

apoptosis-inducing ligand induces apoptosis in colon cancer HT29 cells. *Environ Health Prev Med* 13, 281–287. <https://doi.org/10.1007/s12199-008-0041-1>

Yu, C., Zhang, P., Lou, L., Wang, Y., 2019. Perspectives Regarding the Role of Biochanin A in Humans. *Front. Pharmacol.* 10, 793. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00793>

Yuenyong, J., Pokkanta, P., Phuangsaibai, N., Kittiwachana, S., Mahatheeranont, S., Sookwong, P., 2021. GC-MS and HPLC-DAD analysis of fatty acid profile and functional phytochemicals in fifty cold-pressed plant oils in Thailand. *Heliyon* 7, e06304. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06304>

Zhang, R., Yao, Y., Wang, Y., Ren, G., 2011. Antidiabetic activity of isoquercetin in diabetic KK -Ay mice. *Nutrition & Metabolism* 8, 85. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-8-85>

Zhang, W., Jiang, S., Qian, D., Shang, E., Duan, J., 2014. Analysis of interaction property of calycosin-7-O- β -d-glucoside with human gut microbiota. *Journal of Chromatography B* 963, 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.05.015>

Zhang, Y., Song, T.T., Cunnick, J.E., Murphy, P.A., Hendrich, S., 1999. Daidzein and Genistein Glucuronides In Vitro Are Weakly Estrogenic and Activate Human Natural Killer Cells at Nutritionally Relevant Concentrations. *The Journal of Nutrition* 129, 399–405. <https://doi.org/10.1093/jn/129.2.399>

Zhang, Z., Li, S., Jiang, J., Yu, P., Liang, J., Wang, Y., 2010. Preventive effects of Flos Perariae (Gehua) water extract and its active ingredient puerarin in rodent alcoholism models. *Chin Med* 5, 36. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-5-36>

Zhao, M., Du, Y.-Q., Yuan, L., Wang, N.-N., 2010. Protective Effect of Puerarin on Acute Alcoholic Liver Injury. *Am. J. Chin. Med.* 38, 241–249. <https://doi.org/10.1142/S0192415X10007816>

Zhou, Y., Cai, Z., 2020. Determination of hormones in human urine by ultra-high-performance liquid chromatography/triple-quadrupole mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 34. <https://doi.org/10.1002/rcm.8583>

2. Ανάπτυξη Βιβλιοθήκης Φασμάτων

Οι βιβλιοθήκες των φασμάτων μάζας αποτελούν ένα πολύτιμο εργαλείο για την ταχεία ταυτοποίηση άγνωστων ενώσεων σε ένα δείγμα. Τα φάσματα μάζας παρέχουν πληροφορίες τόσο για το μοριακό βάρος των μορίων-αναλυτών όσο και για τον κατακερματισμό και τα θραύσματά τους. Σήμερα, οι πλέον διαδεδομένες βιβλιοθήκες φασμάτων μάζας είναι για το GC/MS και περιέχουν φάσματα EI (ηλεκτρονικής πρόσκρουσης) οι οποίες χρησιμοποιούνται ευρέως τις τελευταίες δεκαετίες. Παράλληλα, υπάρχουν εμπορικά διαθέσιμες και μια σειρά ολοκληρωμένων βιβλιοθηκών φασμάτων, όπως η βιβλιοθήκη του Εθνικού Ινστιτούτου Προτύπων και Τεχνολογίας (National Institute of Standards and Technology-NIST) και η Wiley (Heller, 1999; Oberacher και άλλοι, 2013; Stein, 2012).

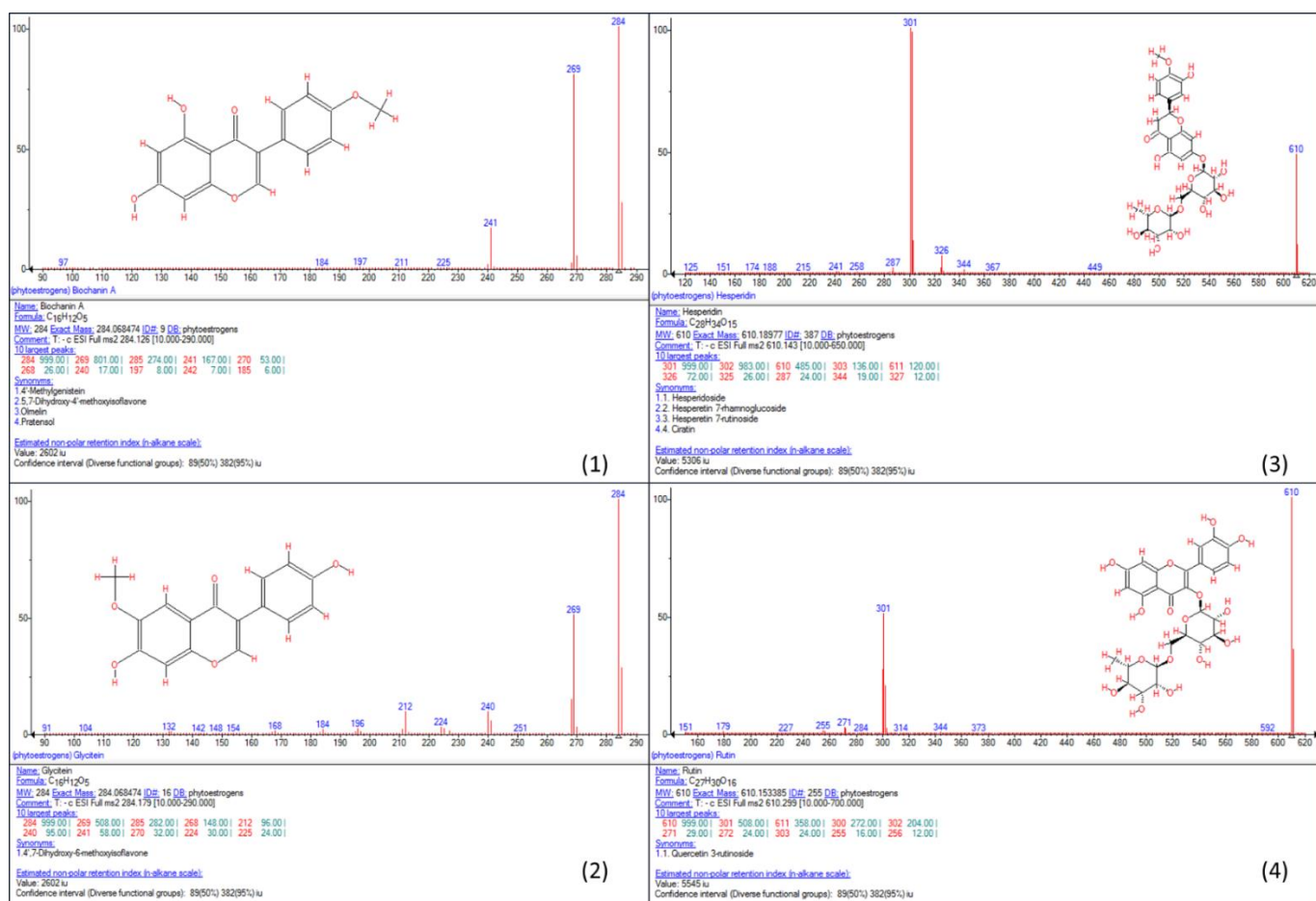
Τα τελευταία χρόνια η χρήση της τεχνικής και οργάνων LC-MS στις αναλύσεις γνωρίζει μια σημαντική -και ολοένα αυξανόμενη- διάδοση, κυρίως λόγω της ανάπτυξης της τεχνικής ιοντισμού με ηλεκτροψεκασμό (Electrospray Ionization). Έως πρόσφατα, δεν υπήρχαν εμπορικά διαθέσιμες βιβλιοθήκες φασμάτων μάζας για ενώσεις πέραν όσων χρησιμοποιούνταν στο GC-MS. Το 2005 η NIST πρόσθεσε μια βιβλιοθήκη φασμάτων MS/MS στην παλαιότερη βιβλιοθήκη φασμάτων μάζας NIST 05 (NIST/EPA/NIH) ("Mass Spectrometry Data Center"). Αυτή περιέχει 5.191 φάσματα 1.943 ενώσεων που δημιουργήθηκαν σε τετραπολικά φασματομέτρα και φασματομέτρα μαζικής παγίδευσης ιόντων. Η βιβλιοθήκη περιέχει φάσματα που παρήχθησαν από διαφορετικούς τύπους οργάνων και τύπων, με αποτέλεσμα να διαφέρουν σημαντικά όσον αφορά την αφθονία ιόντων αλλά και το φασματικό περιεχόμενο (Bristow και άλλοι, 2002; "The NIST 20 Mass Spectral Library & Search Software (NIST 2020/2017/EPA/NIH)").

Οι βιβλιοθήκες των φασμάτων χωρίζονται σε τοπικές, οι οποίες δημιουργούνται από κάθε αναλυτή στο όργανο που χρησιμοποιεί και κοινόχρηστες, εμπορικές που είναι διαθέσιμες στο διαδίκτυο. Οι τοπικές βιβλιοθήκες φασμάτων δημιουργούνται με την ανάλυση πρότυπων ουσιών στο όργανο. Συγκεκριμένα, με τη λειτουργία ενός οργάνου και του λογισμικού του δίνεται η δυνατότητα δημιουργίας μιας νέας βάσης δεδομένων ή της προσθήκης δεδομένων στην ήδη υπάρχουσα βάση. Στην περίπτωση του LC-MS θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι για να είναι συγκρίσιμα τα φάσματα πρέπει να λαμβάνονται στις ίδιες συνθήκες (διαλύτες, τιμή pH κλπ). Οι εμπορικές βιβλιοθήκες

φασμάτων έχουν δημιουργηθεί από εταιρίες/οργανισμούς ως βάσεις δεδομένων των αναλύσεων χιλιάδων ενώσεων με ιοντισμό ηλεκτρονίων και εμπεριέχουν φάσματα που έχουν ληφθεί από πιστοποιημένα εργαστήρια και είναι ταξινομημένα σε γενικές βιβλιοθήκες (NIST, Willey) ή ειδικές με εφαρμογές σε ορισμένα πεδία (Maurer Toxicology, Fiehn Metabolomics). Οι ανοιχτές βάσεις δεδομένων που φιλοξενούνται στο διαδίκτυο ουσιαστικά δεν ελέγχονται και μπορεί οποιοσδήποτε εγγεγραμμένος ερευνητής να συνεισφέρει και να εισάγει δεδομένα. Επειδή συνήθως πρόκειται για δεδομένα ατμοσφαιρικού ιοντισμού, η σύγκριση με αυτά δεν προσφέρει μεγάλη βεβαιότητα για την ταυτοποίηση ενώσεων αφού οι μετρήσεις στη φασματομετρία μαζών είναι μια πολυδύναμη διαδικασία που επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Έτσι, μικρές διαφορές στις συνθήκες ανάλυσης μπορεί να διαφοροποιήσουν σε μεγάλο βαθμό τα αποτελέσματα.

Οι βιβλιοθήκες λειτουργούν με αλγόριθμο ο οποίος συγκρίνει τα φάσματα και ανάλογα με την ακριβή μάζα του μοριακού ιόντος, τη μάζα των κορυφών και τη σχετική ένταση αυτών προτείνονται (ανάλογα με τη ρύθμιση του προγράμματος) οι πιθανότεροι μοριακοί τύποι και οι πιθανές χημικές ενώσεις. Η αναζήτηση σε σύγχρονες ανοιχτές βάσεις δεδομένων (ChemSpider, HMDB, MassBank, LipidMaps, METLIN) δίνει μεγάλο αριθμών πιθανών ενώσεων (hits) από όπου θα πρέπει να γίνει ένας διαχωρισμός με βάση τη θέσπιση κατάλληλων κριτηρίων (π.χ. χρόνος συγκράτησης στη χρωματογραφία, φύση του μορίου κλπ) καθώς και επιπλέον αναλύσεις (Heller, 1999; “Mass Spectrometry Data Center”; Θεοδωρίδης και άλλοι, 2015.).

Στο πλαίσιο διενέργειας της διατριβής κατασκευάστηκε μια τοπική βιβλιοθήκη φασμάτων που περιέχει 296 φάσματα που αντιστοιχούν στα πλέον κοινά 74 βιοδραστικά φαινορικά φυτοοιστρογόνα, ενώ παράλληλα αναπτύχθηκε και μιας μέθοδος χρωματογραφικού διαχωρισμού. Η μέθοδος αυτή αποδείχτηκε πολύ βοηθητική, καθώς πολλά φυτοοιστρογόνα έχουν παρόμοιες δομές και άρα παρόμοιο τρόπο θραυσμάτωσης. Σχετικά παραδείγματα αποτελούν τα μόρια βιοχανίνη Α και γλυσιτεΐνη ή εσπεριδίνη και ρουτίνη. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 51 τα μόρια αυτά έχουν παρόμοια φάσματα. Επομένως, για να είναι βέβαιη η πλήρης ταυτοποίησή τους θα πρέπει να συνοδεύεται και από τον χρόνο έκλυσης που προκύπτει από τον χρωματογραφικό διαχωρισμό.



Εικόνα 40 Φάσματα βιβλιοθήκης των φυτοοιστρογόνων: (1) βιοχανίνη A, (2) γλυσιτεΐνη, (3) εσπεριδίνη και (4) ρουτίνη.

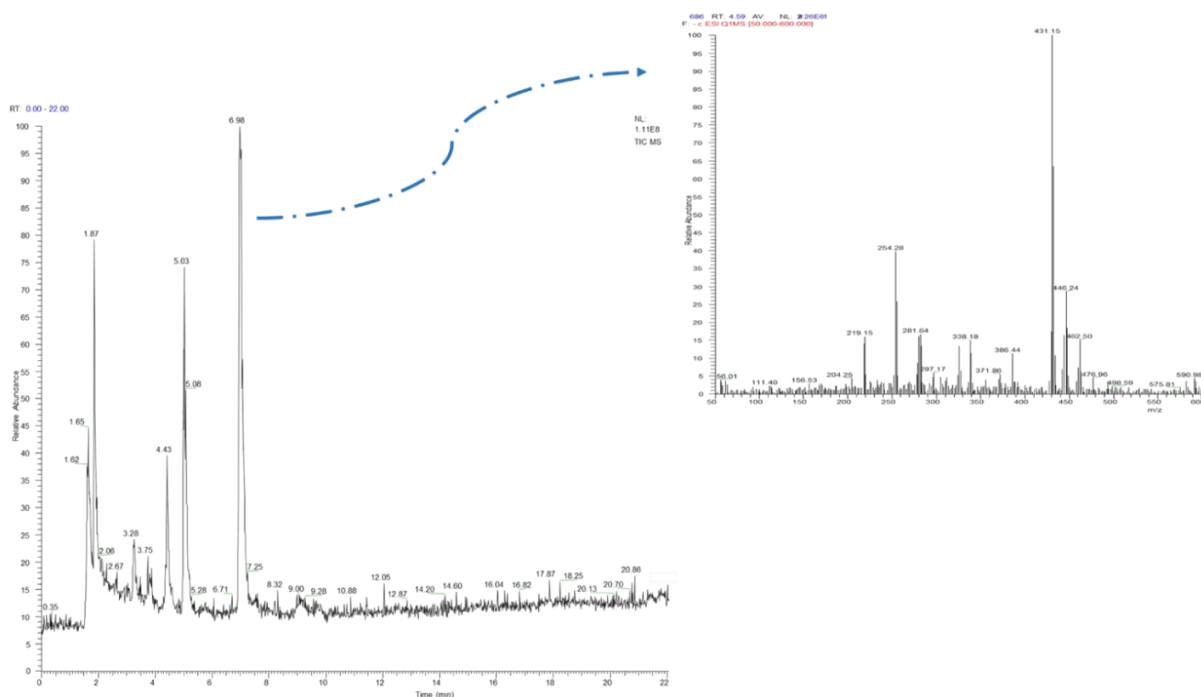
Επίσης, για την αύξηση της ευαισθησίας της μεθόδου ταυτοποίησης είναι χρήσιμοι οι 74 χημικές ενώσεις που έχουν ενταχθεί στη βιβλιοθήκη να μην αναλύονται όλες μαζί. Επειδή η ταυτοποίηση γίνεται με τη σάρωση του δείγματος σε πλήρη μορφή (Full Scan), οι μεγάλοι χρονικοί κύκλοι που πρέπει να ακολουθήσει ο φασματογράφος μάζας για να μπορέσει να σαρώσει όλες τις πληροφορίες που λαμβάνει από τα μόρια που ιονίζει και αυτές να καταγραφούν έχουν ως αποτέλεσμα να χάνεται η πληροφορία και έτσι να μειώνεται η ευαισθησία για την ταυτοποίηση των φυτοοιστρογόνων.

Η ταυτοποίηση των φυτοοιστρογόνων μέσω της βιβλιοθήκης είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί με δύο τρόπους, οι οποίοι αφορούν την ανίχνευση με πλήρη σάρωση. Στον πρώτο πραγματοποιείται η σάρωση του δείγματος μέσω του ενός τετράπολου (Q1MS ή Q3MS) όπου λαμβάνει χώρα και ο ιονισμός των μορίων, τα οποία κατευθύνονται στο εκάστοτε τετράπολο χωρίς τον περαιτέρω κατακερματισμό τους. Στον δεύτερο τρόπο γίνεται χρήση δύο τετραπόλων και ορίζεται μια αρχική μάζα (parent

mass) η οποία διαπερνά το αρχικά ιονισμένο πρώτο τετράπολο και στη συνέχεια ακολουθεί για τα παραγόμενα από το μητρικό ιόντα η πλήρης σάρωση στο τρίτο τετράπολο.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται για την ποιοτική ανίχνευση φυτοοιστρογόνων σε συγκεκριμένα δείγματα (σιτάρι, σόγια, δύο φυτά και δύο ιχθυοτροφές) είναι μετά από διαχωρισμό των 74 φυτοοιστρογόνων σε τρεις υποομάδες και με πλήρη σάρωση MS/MS. Όμως, εάν στόχος είναι μια συγκεκριμένη ομάδα που περιλαμβάνει λιγότερα φυτοοιστρογόνα τότε η ευαισθησία της ανάλυσης θα αυξηθεί κατά μεγάλο βαθμό, καθώς η μέθοδος χρωματογραφικού διαχωρισμού που θα χρησιμοποιηθεί, μπορεί να προσαρμοστεί στην αναζήτηση μόνο αυτών των στόχων και έτσι να μειωθούν οι κύκλοι χρόνου σάρωσης. Μειώνοντας τους κύκλους του χρόνου σάρωσης μεταξύ των αναλυτών-στόχων, αυξάνεται ο χρόνος σάρωσης για τον κάθε αναλυτή και παράλληλα αυξάνεται η ευαισθησία της μέτρησης, καθώς αυξάνεται ο συνολικός αριθμός των ιόντων που φθάνουν στον ανιχνευτή. Η αύξηση της ευαισθησίας μπορεί να επιτευχθεί είτε με τη μείωση του εύρους σάρωσης ή με την αύξηση του χρόνου σάρωσης. Επειδή στην πρώτη περίπτωση είναι δυνατόν να χαθούν πληροφορίες, προτιμάται η δεύτερη (Downard, 2007; Θεοδωρίδης και άλλοι, 2015).

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα ταυτοποίησης παρουσιάζεται στη συνέχεια. Το άγνωστο δείγμα Χ αναλύεται με πλήρη σάρωση (Q1MS) και σε χρόνο 6,98 εμφανίζεται μία κορυφή που δίνει το φάσμα που φαίνεται στην Εικόνα 52.

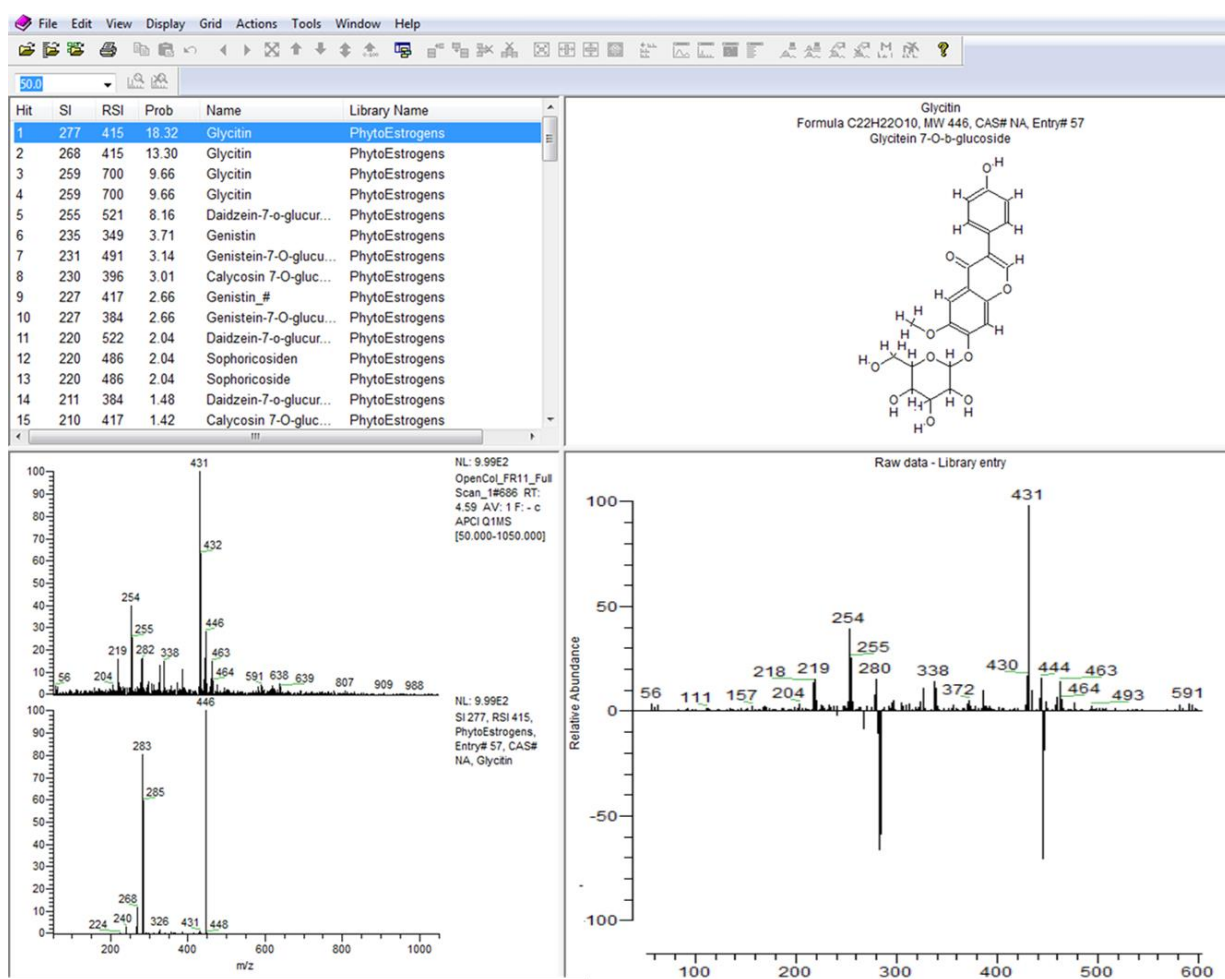


Εικόνα 41 Χρωματογράφημα άγνωστου δείγματος σε σάρωση full scan (Q1MS) (50-600 amu) και φάσμα μάζας της κορυφής σε χρόνο έκλουσης 6,98 min.

Επιλέγοντας το φάσμα μάζας της κορυφής αυτής και τρέχοντας μια αναζήτηση στη βιβλιοθήκη φασμάτων που έχει αναπτυχθεί προκύπτει το παράθυρο που φαίνεται στην Εικόνα 53, το οποίο αποτελείται από τέσσερα μικρότερα παράθυρα. Στο πρώτο παράθυρο (πάνω αριστερά) υπάρχει μία λίστα που εμφανίζει τα φάσματα της βιβλιοθήκης που ταιριάζουν περισσότερο με το άγνωστο δείγμα. Έτσι, παρατηρείται ότι τα τέσσερα πρώτα χρωματογραφήματα δίνουν την γλυσιτίνη ως πιθανό μόριο με πιθανότητες 18,32% (1^ο φάσμα), 13,30% (2^ο φάσμα), 9,66% (3^ο φάσμα) και 9,66% (4^ο φάσμα) (Σύνολο: 50,94%). Στο επόμενο παράθυρο (πάνω δεξιά) εμφανίζονται οι πληροφορίες (μοριακός τύπος, συντακτικός τύπος, μοριακό βάρος κλπ) που έχουν προστεθεί στη βιβλιοθήκη φασμάτων για την χημική ένωση με την οποία γίνεται η σύγκριση του φάσματος της άγνωστης κορυφής. Στην περίπτωση αυτή οι πληροφορίες αφορούν την γλυσιτίνη. Τέλος, στα δύο κάτω παράθυρα γίνεται η σύγκριση του φάσματος μάζας του άγνωστου δείγματος με το προϋπάρχον φάσμα μάζας που έχει αποθηκευτεί στη βάση δεδομένων και χρησιμοποιείται για τις αναζητήσεις μέσω της βιβλιοθήκης.

Είναι ξεκάθαρο ότι το λογισμικό που χρησιμοποιείται για την αναζήτηση εντοπίζει ένα φάσμα μάζας στη βιβλιοθήκη που είναι παρόμοιο με το φάσμα μάζας του

άγνωστου δείγματος και έτσι γίνεται η καταγραφή (Library entry) για τη συγκεκριμένη ένωση.



Εικόνα 42 Παράδειγμα αναζήτησης άγνωστου φάσματος μάζας μέσω της βιβλιοθήκης φασμάτων.

Βιβλιογραφία

Bristow, A.W.T., Nichols, W.F., Webb, K.S., Conway, B., 2002. Evaluation of protocols for reproducible electrospray in-source collisionally induced dissociation on various liquid chromatography/mass spectrometry instruments and the development of spectral libraries. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 16, 2374–2386. <https://doi.org/10.1002/rcm.843>

Downard, K.M., 2007. *Mass Spectrometry: A Foundation Course*.

Heller, S.R., 1999. The History of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Database. *Today's Chemist at Work* 8, 45–46, 49-50.

Mass Spectrometry Data Center, <https://chemdata.nist.gov/> (Πρόσβαση: 15/6/2021)

Oberacher, H., Whitley, G., Berger, B., 2013. Evaluation of the sensitivity of the 'Wiley registry of tandem mass spectral data, MSforID' with MS/MS data of the 'NIST/NIH/EPA mass spectral library': Sensitivity of the Wiley Registry MSMS. *J. Mass Spectrom.* 48, 487–496. <https://doi.org/10.1002/jms.3184>

Sparkman, O.D., 2000. *Mass spectrometry desk reference*, 1st ed. ed. Global View Pub, Pittsburgh, Pa.

Stein, S., 2012. Mass Spectral Reference Libraries: An Ever-Expanding Resource for Chemical Identification. *Anal. Chem.* 84, 7274–7282. <https://doi.org/10.1021/ac301205z>

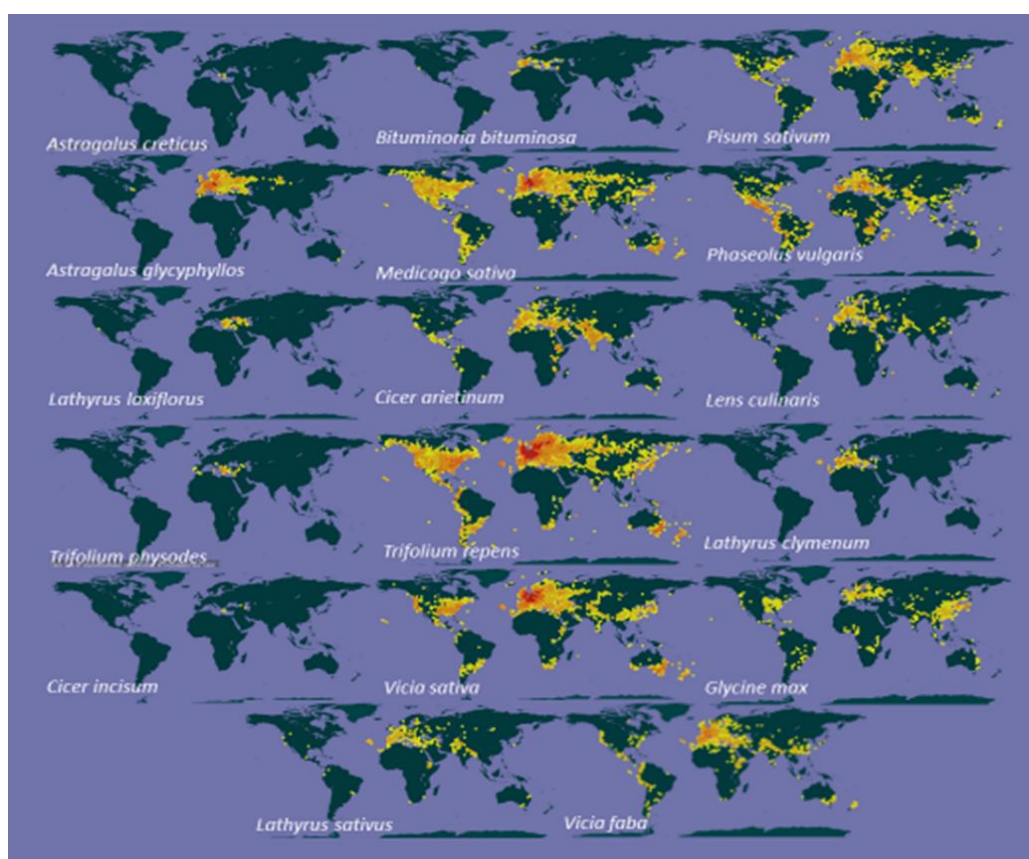
The NIST 20 Mass Spectral Library & Search Software (NIST 2020/2017/EPA/NIH) www.sisweb.com/software/ms/nist.htm (Πρόσβαση: 15/6/2021)

Θεοδωρίδης, Γ., Γηρούση, Σ., Ζαχαριάδης, Γ., Ζώτου, Α., Σαμανίδου, Β., 2015 *Βιοαναλυτική Χημεία*.

3. Φυτοχημικό Περιεχόμενο των Φυτών που Μελετήθηκαν στη Διατριβή
Ορισμένα από τα είδη που μελετήθηκαν είναι αρκετά διαδεδομένα παγκοσμίως.

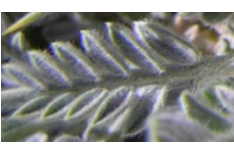
Στους χάρτες της Εικόνας 54 απεικονίζονται με κουκίδες οι περιοχές που εντοπίστηκε κάθε είδους τουλάχιστον μία φορά τα τελευταία 100 χρόνια. Όπως είναι φανερό, τα είδη *Medicago sativa*, *Trifolium repens*, *Cicer arietinum*, *Vicia sativa*, *Vicia faba*, *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, *Lens culinaris*, *Lathyrus sativus* και *Glycine max* έχουν εντοπιστεί σε σχεδόν όλη την υφήλιο. Τα *Astragalus glycyphyllos*, *Lathyrus laxiflorus*, *Trifolium physodes*, *Bituminaria bituminosa* και *Lathyrus clymenum* έχουν βρεθεί μονάχα σε Ευρώπη και Ασία, ενώ τα άγρια είδη *Cicer incisum* και *Astragalus creticus* έχουν εντοπιστεί κυρίως στον ελλαδικό χώρο.

Στον Πίνακα 15 παρουσιάζονται τα εξωτερικά χαρακτηριστικά του κάθε είδους που μελετήθηκε, δείχνοντας ότι τα είδη αυτά μοιράζονται μεταξύ τους πολλά κοινά χαρακτηριστικά, κυρίως σε σχέση με τα άνθη και τα σπέρματά τους.



Εικόνα 43 Παγκόσμιοι χάρτες απεικόνισης εντοπισμού του είδους που αναγράφεται τα τελευταία 100 χρόνια ("Global Biodiversity Information Facility").

Πίνακας 25 Απεικόνιση των εξωτερικών χαρακτηριστικών των ειδών που μελετήθηκαν.

Είδος	 Άνθος	 Φύλλο	 Σπέρματα	 Βλαστός
<i>Astragalus creticus</i> ¹				
<i>Astragalus glycyphyllos</i>				
<i>Lathyrus laxiflorus</i>			 ²	
<i>Trifolium physodes</i>				
<i>Cicer incisum</i> ⁴				
<i>Bituminaria bituminosa</i>				
<i>Cicer arietinum</i> Ρεβιθιά				
<i>Trifolium repens</i> Λευκό τριφύλλι				

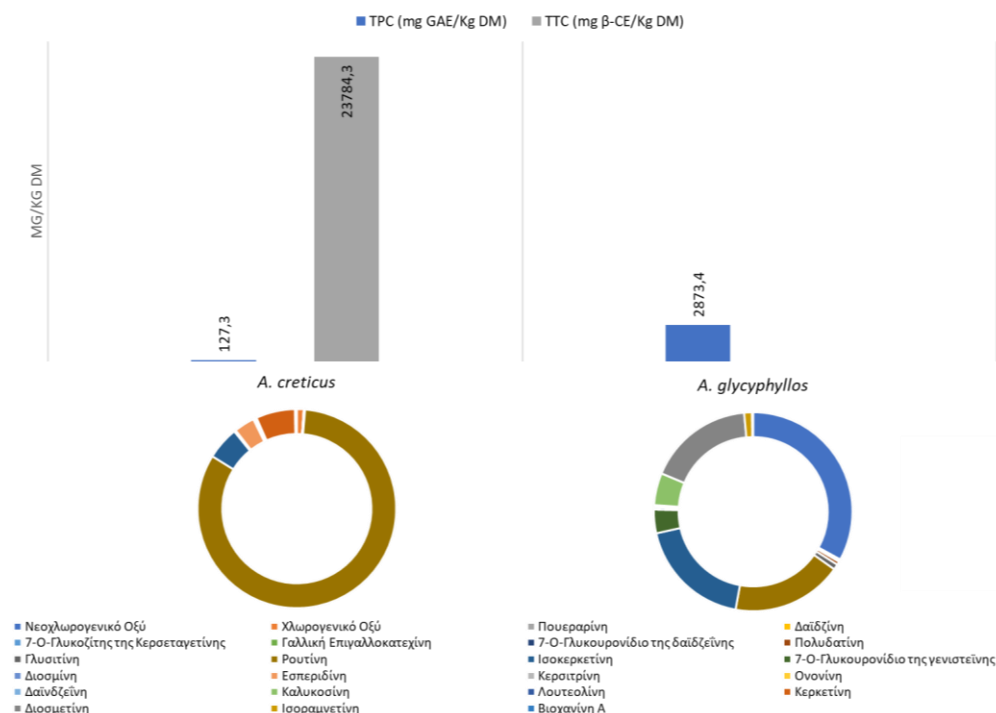
Είδος	 Άνθος	 Φύλλο	 Σπέρματα	 Βλαστός
<i>Vicia sativa</i> Βίκος				
<i>Lathyrus sativus</i> (white) Λαθούρι Meleme 107				
<i>Medicago sativa</i> Mediki 2021 Μηδική				
<i>Vicia faba</i> Κουκιά				
<i>Pisum sativum</i> Αρακάς				
<i>Phaseolus vulgaris</i> Φασόλι				
<i>Lens culinaris</i> Φακή				
<i>Lathyrus clymenum</i> L Λάθυρος το κλύμενον				
<i>Glycine max</i> Σόγια				

*Εικόνες: ("Pl@ntNet"), ¹("Astragalus creticus"), ²(Bitkileri), ³("Trifolium Physodes Steven Ex M.Bieb"), ⁴("Cicer Incisum")

3.1. *Astragalus* (*A. creticus*, *A. glycyphyllos*)

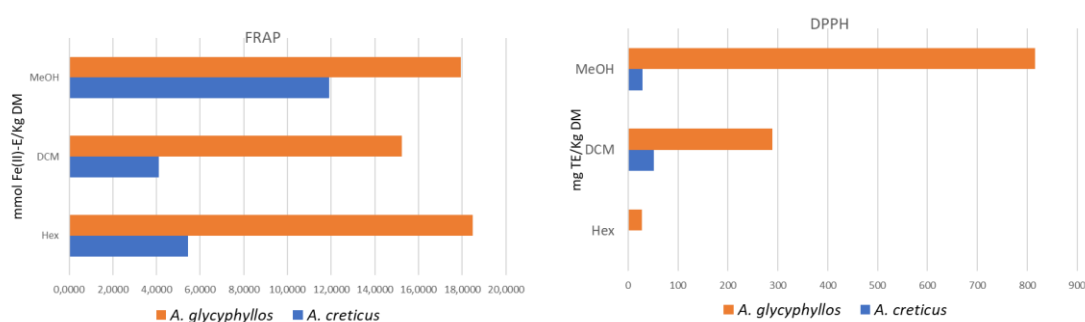
Από το γένος *Astragalus* μελετήθηκαν τα άγρια είδη, *A. creticus* και *A. glycyphyllos*. Οι τιμές TPC των μεθανολικών τους εκχυλίσμάτων είναι 10,5 και 16,2mg GAE/g, αντίστοιχα, χαμηλότερες σε σύγκριση με τιμή που έχει αναφερθεί σε παλαιότερη μελέτη (79,82 mg GAE/g ξηρού εκχυλίσματος). Όσον αφορά το *A. glycyphyllos*, παλαιότερη μελέτη της ολικής περιεκτικότητάς του σε φαινολικά μόρια στο αιθανολικό/υδατικό του εκχύλισμα έδειξαν συγκεντρώσεις παραπλήσιες με αυτές που προσδιορίστηκαν για το μεθανολικό εκχύλισμα της διατριβής. Συγκεκριμένα, οι τιμές TPC που είχαν προσδιοριστεί ήταν 18.500mg GAE /Kg DM και 17.100mg GAE/Kg DM για τα στάδια ανάπτυξης της ανθοφορίας και βλάστησης, αντίστοιχα (Butkutė και άλλοι, 2016), ενώ η τιμή του μεθανολικού εκχυλίσματος του φυτικού ιστού που μετρήθηκε στη διατριβή ήταν 23.784,3mg/Kg DM.

Είναι ενδιαφέρον ότι ενώ τα δύο αυτά είδη ανήκουν στο ίδιο γένος διαφέρουν σημαντικά ως προς το φυτοχημικό τους περιεχόμενο. Το *A. creticus* είναι πλούσιο σε ταννίνες, σε αντίθεση με το *A. glycyphyllos* το οποίο είναι πλουσιότερο σε ολικά φαινολικά. Όμως, όπως φαίνεται στην Εικόνα 55 διαφέρει σημαντικά και η περιεκτικότητά τους στα επιμέρους φυτοοιστρογόνα. Το *A. creticus* είναι πλούσιο σε ρουτίνη, κερκετίνη, ισοκερκετίνη και εσπεριδίνη, ενώ το *A. glycyphyllos* σε νεοχλωρογενικό οξύ, ρουτίνη, ισοκερκετίνη, διοσμετίνη και καλυκοσύνη. Επίσης, στο πρώτο έχουν εντοπιστεί σε μικρότερες ποσότητες χλωρογενικό οξύ, κερσιτρίνη, λουτεολίνη, τα οποία μαζί με την κερκετίνη δεν έχουν εντοπιστεί στο *A. glycyphyllos*, στο οποίο όμως έχουν ανιχνευτεί σε μικρότερες ποσότητες ο 7-O-γλυκοζίτης της κερσεταγετίνης, και η βιοχανίνη A, τα οποία με τη σειρά τους δεν έχουν εντοπιστεί στο *A. creticus*. Η διαφορά αυτή στην περιεκτικότητα των φυτοοιστρογονικών αντιοξειδωτικών πιθανότατα αντανακλά και τη διαφορά που εντοπίζεται τόσο στις ολικές τους περιεκτικότητες όσο και στην αντιοξειδωτική τους δράση.



Εικόνα 44 Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών (TPC) και ταννινών, καθώς και των φυτοιστρογόνων στα δείγματα *A. creticus* και *A. glycyphyllos*.

Όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα των μεθανολικών εκχυλισμάτων, όπως και των εξανικών και διχλωρομεθανικών εκχυλισμάτων, η Εικόνα 56 δείχνει ότι οι μετρήσεις με τις μεθόδους FRAP και DPPH ανέδειξαν ότι το εκχύλισμα του *A. glycyphyllos* διαθέτει την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση.

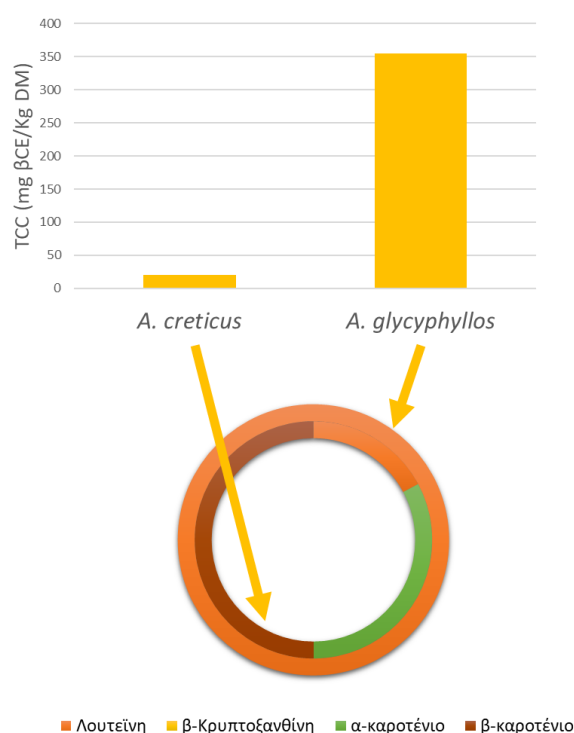


Εικόνα 45 Σχηματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων *Astragalus*.

Στα εκχυλίσματα του εξανίου και διχλωρομεθανίου, μελετήθηκε το περιεχόμενο σε καροτενοειδή και λιπαρά οξέα δείχνοντας ότι η μεγαλύτερη περιεκτικότητα καροτενοειδών περιέχεται στο διχλωρομεθανικό εκχύλισμα. Έτσι, ο ποσοτικός προσδιορισμός της παρουσίας των επιμέρους καροτενοειδών έγινε μόνο στο εκχύλισμα

αυτό, ενώ ο προσδιορισμός της παρουσίας και η ποσοτικοποίηση των επιμέρους λιπαρών οξέων έγινε στο εξανικό εκχύλισμα.

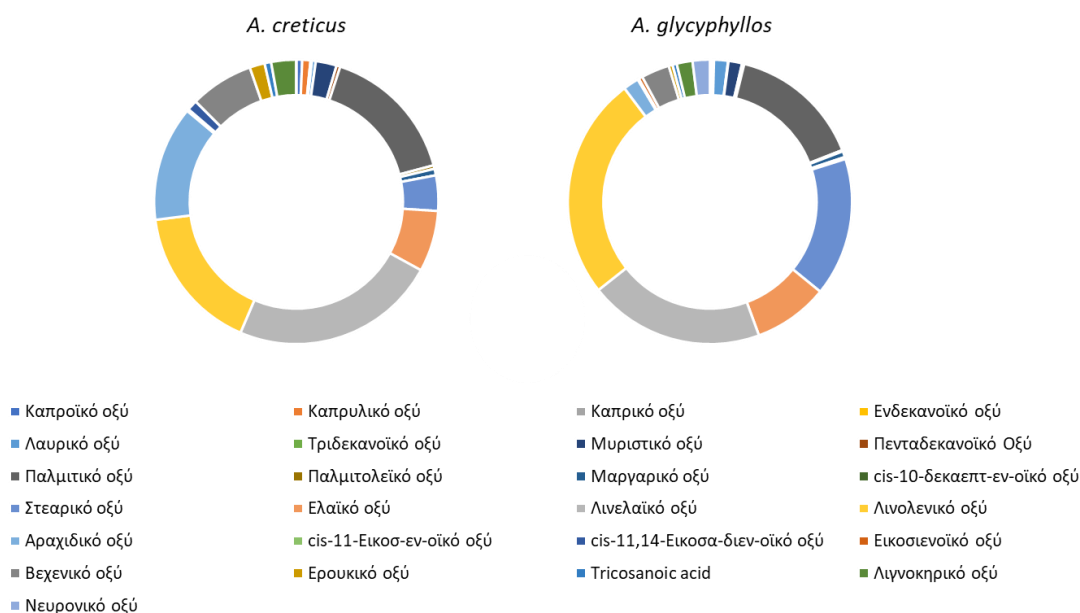
Η μελέτη των διχλωρομεθανικών εκχυλισμάτων ανέδειξε ως πλέον πλούσιο σε καροτενοειδή (TCC) το εκχύλισμα του *A. glycyphyllos*, παρότι στο αντίστοιχο εκχύλισμα του *A. creticus* ανιχνεύτηκε η μεγαλύτερη ποικιλότητα καροτενοειδών. Συγκεκριμένα, στο πρώτο εκχύλισμα ανιχνεύτηκε μόνο η παρουσία της λουτεΐνης, ενώ στο δεύτερο, πέραν της λουτεΐνης βρέθηκαν και α- και β-καροτένιο. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι δεν είχε έως σήμερα μελετηθεί το περιεχόμενο των δυο αυτών φυτών σε καροτενοειδή.



Εικόνα 46 Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας σε καροτενοειδή των δειγμάτων *Astragalus*.

Όσον αφορά το εξανικό εκχύλισμα, η μελέτη της περιεκτικότητάς του σε λιπαρά οξέα έδειξε ότι τα δυο φυτά έχουν σε γενικές γραμμές αντίστοιχη κατανομή λιπαρών οξέων, παρά τις παρακάτω επιμέρους ποσοτικές και ποιοτικές διαφορές που προσδιορίστηκαν. Συγκεκριμένα, στο *A. creticus* ανιχνεύτηκαν σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα τα παρακάτω οξέα που παρουσιάζονται κατά φθίνουσα σειρά: λινελαϊκό, λινολενικό, παλμιτικό, αραχιδικό, βεχενικό και ελαϊκό. Αντίστοιχα, στο *A. glycyphyllos* το μεγαλύτερο σε περιεκτικότητα λιπαρό οξύ ήταν το λινολενικό και ακολουθούν τα λινελαϊκό, στεαρικό, παλμιτικό και ελαϊκό. Επιπλέον, στο *A. glycyphyllos*

εντοπίστηκε και η παρουσία των οξέων ενδεκανοϊκό, τριδεκανοϊκό, *cis*-10-δεκαεπτ-εν-οϊκό, εικοσιενοϊκό και νευρονικό, τα οποία δεν ανιχνεύτηκαν στο *A. creticus* στο οποίο όμως ανιχνεύτηκε το *cis*-11,14-εικοσα-διεν-οϊκό οξύ, το οποίο δεν υπήρχε στο εξανικό εκχύλισμα του *A. glycyphyllos*. Η περιεκτικότητα των λιπαρών οξέων σε αυτά τα είδη δεν έχει μελετηθεί ξανά, ενώ έχει προσδιοριστεί σε άλλα είδη του ίδιου γένους, αφού πρόσφατα οι Mahmoudi και άλλοι δημοσίευσαν το προφίλ των λιπαρών οξέων των *A. gombiformis*, *A. caprinus* και *A. armatus* αναφέροντας ότι το πρώτο περιέχει σε μεγαλύτερη ποσότητα παλμιτικό και λινολεϊκό οξύ, ενώ τα άλλα δυο φυτά περιέχουν τα οξέα λινολεϊκό και το ελαϊκό, με το *A. caprinus* να περιέχει σε μεγαλύτερο ποσοστό το πρώτο και το *A. armatus* το δεύτερο (Mahmoudi και άλλοι, 2021).



Εικόνα 47 Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα δείγματα *Astragalus*.

Σε γενικές γραμμές, το *A. creticus* είναι ένα φυτό ελάχιστα μελετημένο ως προς το φυτοχημικό του περιεχόμενο, αφού έως τις 22/2/2023 στη βάση δεδομένων Scopus υπήρχαν μόνο οκτώ άρθρα για το συγκεκριμένο είδος, από τα οποία μόνο στα δυο μελετάται το φαινολικό περιεχόμενο. Όπως φαίνεται και στον χάρτη της Εικόνας 58 το *A. creticus* εντοπίζεται κυρίως στην περιοχή της Μεσογείου και κατά βάση εντός του Ελλαδικού χώρου, με αποτέλεσμα η σπανιότητά του να αποτελεί αιτία του περιορισμένου αριθμού των μελετών.

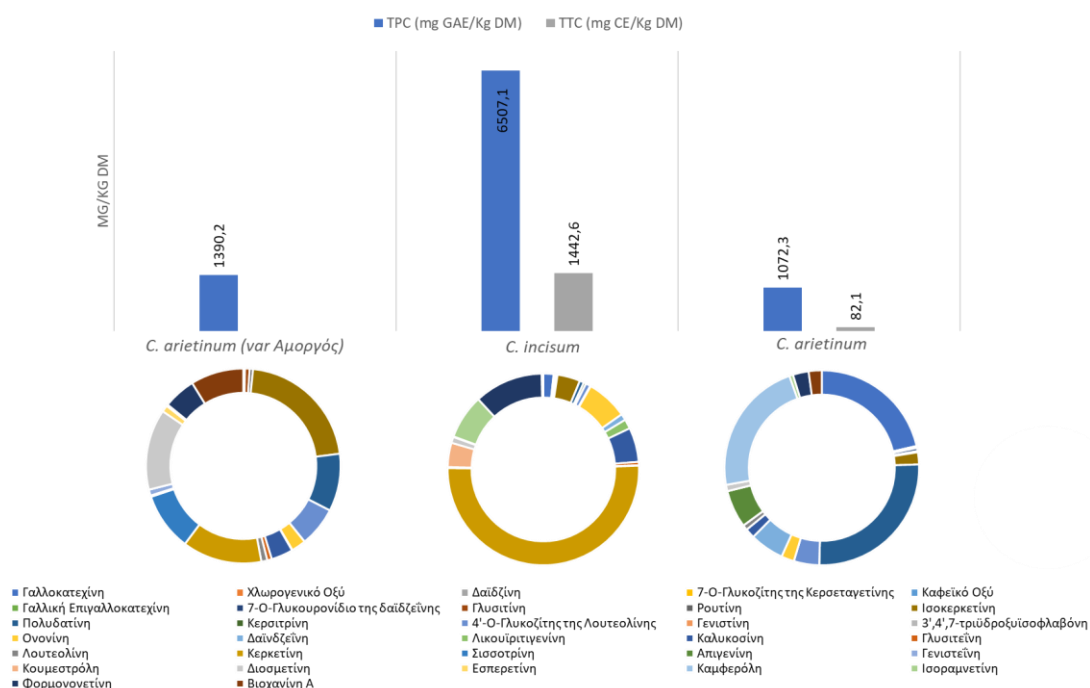
Όμως, συνιστά ένα πολύ σημαντικό είδος, πλούσιο σε δευτερογενείς μεταβολίτες και σημαντικές βιολογικές δράσεις. Συγκεκριμένα, στην έρευνα των Ghaffari και συνεργατών βρέθηκε ότι το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα του φυτού διαθέτει αντιβακτηριακή δράση έναντι των *Bacillus subtilis* (56,30% αναστολή) *Staphylococcus aureus* (29,50% αναστολή), το μεθανολικό του εκχύλισμα ανέστειλε τα *Staphylococcus aureus* και *Escherichia coli* κατά 58,75% και 30,20% αντίστοιχα, ενώ κανένα από τα εκχυλίσματα δεν είχε δράση έναντι των *Salmonella typhi* και *Pseudomonas aeruginosa*. Στην ίδια εργασία μελετήθηκε και η αντιμυκητιασική δράση των εκχυλισμάτων χωρίς να προσδιοριστεί κάποια αξιόλογη δραστηρότητα, με εξαίρεση το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα που ανέστειλε το *Candida albicans* κατά 11,66%. Αντίστοιχα, η μελέτη της φυτοτοξικής τους δράση έδειξε ότι τα δύο εκχυλίσματα εμφανίζουν σημαντική δράση έναντι της ανάπτυξης του *Lemna minor* σε συγκέντρωση 1.000μg/mL με αναστολή της τάξης των 48,78% και 92,68% για το διχλωρομεθανικό και μεθανολικό εκχύλισμα. Τέλος, αξιολογήθηκε η αντιλεϊσμаниκή δράση μεθανολικού εκχυλίσματος έναντι του *Leishmania Donovan* δείχνοντας ότι διαθέτει μια σχετικά χαμηλή δραστηρότητα σε σύγκριση με τα πρότυπα φάρμακα, αμφοτερικίνη Β και πενταμιδίνη (Ghaffari και άλλοι, 2021).

Όσον αφορά τις μελέτες για το φυτό *A. glycyphyllos*, έως σήμερα δεν υπάρχουν πολλές σχετικές ερευνητικές εργασίες, καθώς και για το φυτό αυτό ο αριθμός των μελετών είναι περιορισμένος (Scopus: 39 documents, 22/2/2023). Για το φυτοχημικό περιεχόμενο του είδους υπάρχουν λίγες μόνο αναφορές που επικεντρώνονται κυρίως στο περιεχόμενό του σε σαπωνίνες, ολικά φαινολικά και флаβονοειδή, ενώ υπάρχει μόνο μία έρευνα του 2017 για το φυτοοιστρογονικό περιεχόμενο του *A. glycyphyllos* η οποία περιορίζεται στην ανίχνευση των φυτοοιστρογόνων φορμονονετίνη, βιοχανίνη Α, γενιστεΐνη, δαΐδζεΐνη και κουμπεστρόλη. Από τα μόρια αυτά στο μεθανολικό/υδατικό (8:2) εκχύλισμα του φυτού έχουν ανιχνευτεί τα τρία πρώτα (Butkutė και άλλοι, 2017). Στην ίδια έρευνα μελετήθηκε και η αντιμικροβιακή δράση του *A. glycyphyllos* και το εκχύλισμά του αποδείχθηκε αποτελεσματικό έναντι των μικροβίων *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* και *Proteus aeruginosa* (Butkutė και άλλοι, 2017). Στο δείγμα της διατριβής δεν ανιχνεύτηκαν τα μόρια φορμονονετίνη και γενιστεΐνη, αλλά προσδιορίστηκε η παρουσία των μορίων βιοχανίνη Α και δαΐδζεΐνη

και πιστοποιήθηκε η παρουσία μιας σειράς φυτοοιστογόνων που δεν είχαν μελετηθεί στο παρελθόν.

3.2. *Cicer* (*C. arietinum*, *C. incisum*)

Από το γένος *Cicer* μελετήθηκαν το άγριο είδος *C. incisum* και δύο ποικιλίες του καλλιεργούμενου είδους *C. arietinum* οι οποίες παρελήφθησαν από παραγωγό του φυτού και η δεύτερη -ως βελτιωμένο φυτό- από το Ινστιτούτο Βιομηχανικών & Κτηνοτροφικών Φυτών της Λάρισας. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 59 η αξιολόγηση του μεθανολικού εκχυλίσματος των τριών αυτών φυτών έδωσε διαφορετικές τιμές για το ολικό τους περιεχόμενο σε φαινολικά, ταννίνες και φυτοοιστρογόνα. Συγκεκριμένα, το είδος *C. incisum* προσδιορίστηκε ότι διαθέτει τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινόλες και ταννίνες (TPC και TTC), ενώ το *C. arietinum* περιέχει παρόμοιες ποσότητες ολικών φαινολικών και στις δύο ποικιλίες που μελετήθηκαν και διαφορετικές περιεκτικότητες ολικών ταννινών.



Εικόνα 48 Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας των φαινολικών (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα *Cicer*.

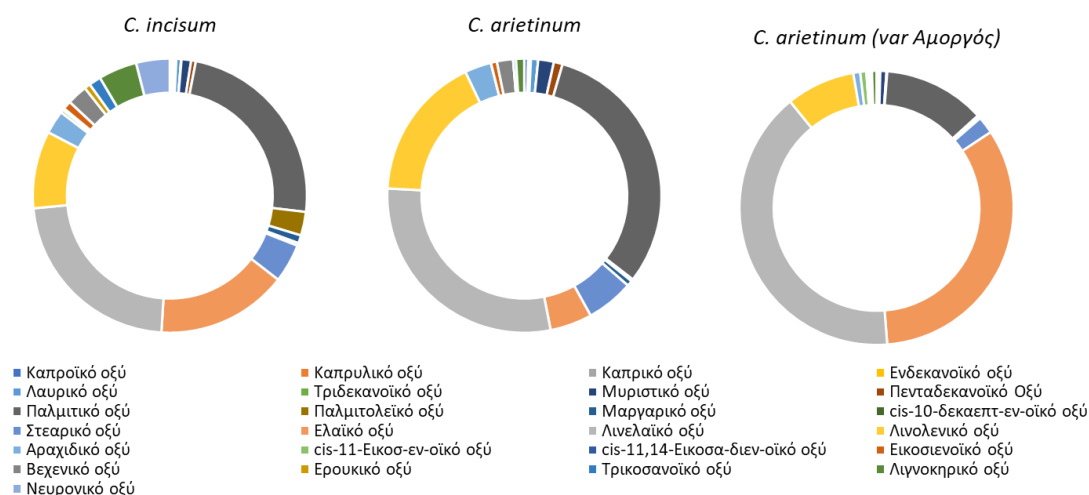
Η ποσοτικοποίηση των επιμέρους φυτοοιστογόνων που εμπεριέχονται στα παραπάνω τρία φυτά έδειξε ότι το *C. incisum* περιέχει σε μεγαλύτερο ποσοστό

κερκετίνη και σε μικρότερη ποσότητα φορμονονετίνη, καλυκοσίνη και ονονίνη. Αντίστοιχα, το *C. arietinum* που παρελήφθη από παραγωγό περιέχει κατά κύριο λόγο καμφερόλη, γαλλοκατεχίνη και δαϊδζεΐνη. Τέλος, το βελτιωμένο *C. arietinum* (var. *Αμοργός*) περιέχει ισοκερκετίνη, κερκετίνη, διοσμετίνη και σισσοτρίνη. Θα πρέπει όμως να επισημανθεί ότι στα τρία φυτά εμπεριέχονται τα παρακάτω 12 κοινά μόρια: γαλλοκατεχίνη, δαϊδζίνη, γλυσιτίνη, ισοκερκετίνη, 4'-Ο-γλυκοζίτης της λουτεολίνης, ονονίνη, δαϊνδζεΐνη, καλυκοσίνη, λουτεολίνη, διοσμετίνη, φορμονονετίνη, βιοχανίνη Α.

Το *C. incisum* είναι είδος με ελάχιστες μελέτες στη βιβλιογραφία, οι οποίες κατά βάση επικεντρώνονται στις γενετικές σχέσεις μεταξύ των ειδών του γένους *Cicer* (M. A. Sudupak και άλλοι, 2004; M. Sudupak και άλλοι, 2002; Mehmet Ali Sudupak και Kence 2004). Στο πλαίσιο της διατριβής, εκτός από το φυτοοιστρογονικό περιεχόμενο του φυτού, προσδιορίστηκε και το περιεχόμενό του σε καροτενοειδή δείχνοντας ότι διαθέτει μια υψηλή περιεκτικότητα σε ολικά καροτενοειδή, χωρίς όμως να περιέχει κάποιο από τα καροτενοειδή που μελετήθηκαν. Όμως, το *C. arietinum* που παρελήφθη από τον παραγωγό περιείχε την υψηλότερη τιμή TCC και β-καροτένιο σε περιεκτικότητα 0,6mg/Kg DM.

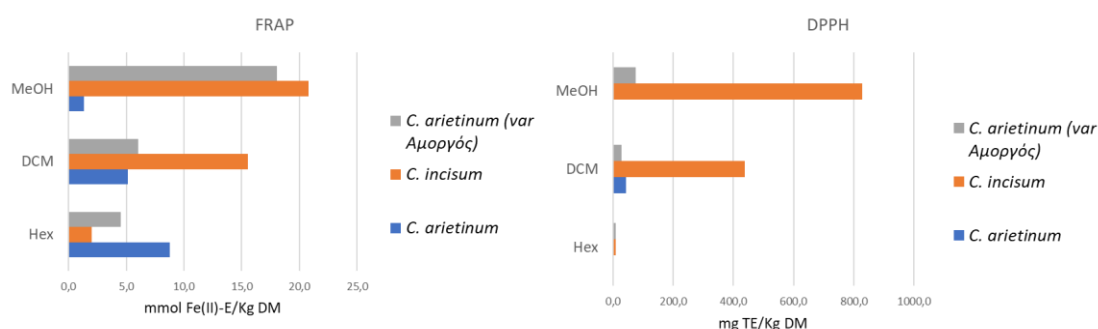
Παρότι το *C. arietinum* ως βασικό διατροφικό φυτό (η γνωστή ρεβιθιά) έχει μελετηθεί αρκετά, εντούτοις οι μελέτες περιορίζονται στο όσπριο και όχι το φυτικό ιστό (Segev και άλλοι, 2010; Sharma και Giri 2022). Σε μία από τις μελέτες έγινε προσδιορισμός των ισοφλαβονών δείχνοντας ότι στο ρεβίθι περιέχονται τα φυτοοιστρογόνα βιοχανίνη Α, φορμονονετίνη, γενιστεΐνη, καλυκοσίνη, ονονίνη και σισσοτρίνη (Zhao και άλλοι, 2009). Στην εργασία αυτή παρουσιάζεται για πρώτη φορά η μελέτη του φυτοοιστρογονικού περιεχομένου ολόκληρου του φυτού. Αντίστοιχα, η μελέτη των καροτενοειδών του επικεντρώνεται στον προσδιορισμό του περιεχομένου των σπερμάτων, στον οποίο έχουν ανιχνευτεί β-καροτένιο και β-κρυπτοξανθίνη (Kaur και Prasad 2021), μαζί με λουτεΐνη, ζεαξανθίνη και βιολαξανθίνη (Rezaei και άλλοι, 2016).

Όσον αφορά τα λιπαρά οξέα που περιέχονται στο εξανικό εκχύλισμα των φυτών, δεν έχει έως τώρα μελετηθεί η παρουσία τους. Στη διατριβή ανιχνεύτηκαν και στα τρία φυτά σε υψηλότερες συγκεντρώσεις τα οξέα παλμιτικό, λινελαϊκό, λινολενικό και ελαϊκό.



Εικόνα 49 Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα δείγματα *Cicer* που μελετήθηκαν.

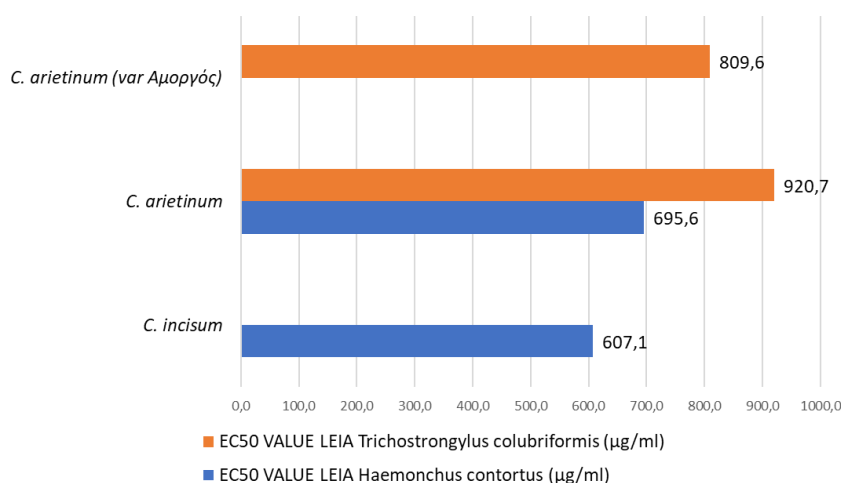
Όσον αφορά την αντιοξειδωτική δράση των τριών φυτών *Cicer* που μελετήθηκαν με τις μεθόδους FRAP και DPPH, ως δραστικότερα προσδιορίστηκαν το διχλωρομεθανικό και μεθανολικό εκχύλισμα του *C. incisum*, ενώ πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση εμφάνισε και το *C. arietinum* (var. Αμοργός). Το μεθανολικό εκχύλισμα του *C. incisum* έδειξε τις μεγαλύτερες τιμές TPC και TTC, γεγονός που εξηγεί και τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση. Εντυπωσιακή ήταν και η αντιοξειδωτική δράση που διαθέτει το εξανικό εκχύλισμα του *C. arietinum* στον προσδιορισμό με τη μέθοδο FRAP.



Εικόνα 50 Σχηματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων *Cicer* που μελετήθηκαν.

Η μελέτη της δραστικότητας των μεθανολικών εκχυλισμάτων των παραπάνω φυτών έναντι των παρασίτων *T. colubriformis* και *H. contortus* έδειξε ότι το εκχύλισμα

του *C. arietinum* είναι ιδιαίτερα δραστικό έναντι και των δύο παρασίτων. Το *C. arietinum* (var Αμοργός) ήταν δραστικό μόνο έναντι του πρώτου και το *C. incisum* μόνο έναντι του δεύτερου. Είναι επίσης ενδιαφέρον το γεγονός πως το *C. incisum* που περιέχει το υψηλότερο ποσοστό ταννινών από τα τρία δείγματα εμφανίζει την αποτελεσματικότερη αντιπαρασιτική δράση έναντι του *H. contortus*. Το αμέσως επόμενο φυτό σε περιεκτικότητα ταννινών είναι το *C. arietinum*, το οποίο εμφανίζει την αμέσως επόμενη καλύτερη αντιπαρασιτική δράση έναντι του *H. contortus*, ενώ το *C. arietinum* (var. Αμοργός) που περιέχει μόνο ίχνη ταννινών δεν εμφανίζει δράση έναντι του παράσιτου. Επιπλέον, οι δύο ποικιλίες του ίδιου είδους *C. arietinum* που έχουν ένα πιο κοινό προφίλ σε σύγκριση με το *C. incisum* ως προς την περιεκτικότητα των αντιοξειδωτικών-φυτοοιστρογόνων είναι δραστικές έναντι του *T. colubriformis*, σε αντίθεση με το εκχύλισμα του *C. incisum* που είναι αδρανές.

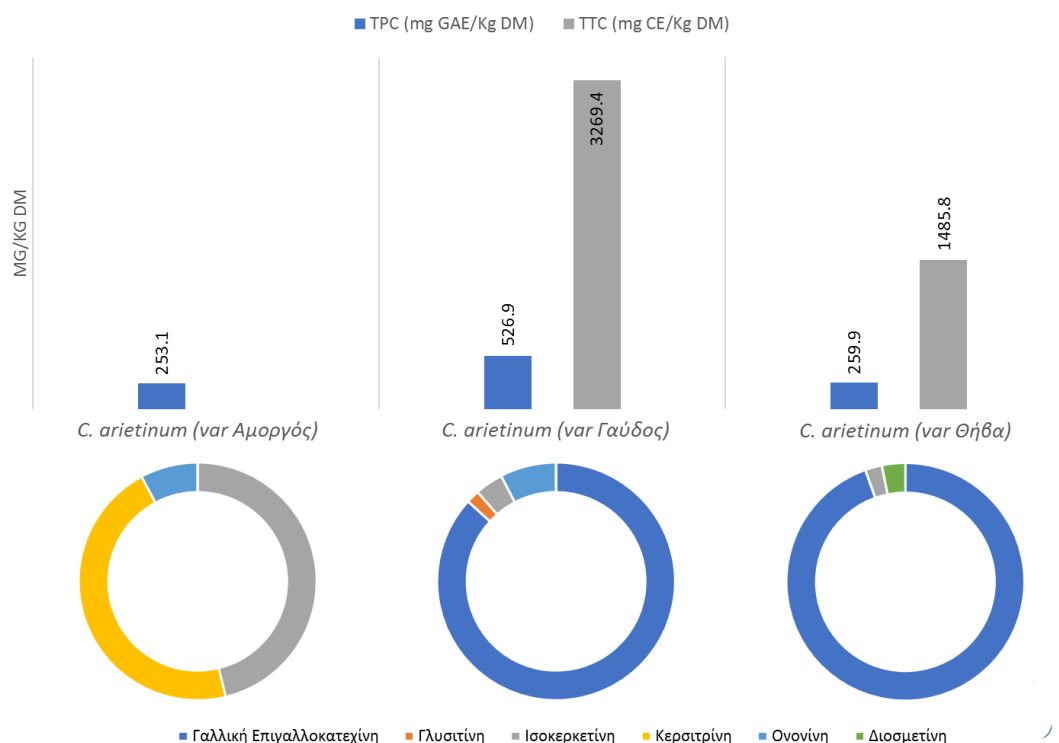


Εικόνα 51 Σχηματική απεικόνιση της αντιπαρασιτικής δράσης των δειγμάτων *Cicer* έναντι των *T. colubriformis* και *H. contortus*.

Εκτός των τριών φυτών, μελετήθηκαν και τα σπέρματα των ποικιλιών που έχουν προέλθει από βελτίωση. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν τα ρεβίθια (*C. arietinum*) των ποικιλιών Αμοργός, Γαύδος και Θήβα, τα οποία δημιουργήθηκαν στο πλαίσιο των βελτιωτικών προγραμμάτων οσπρίων του IB&ΚΦ και είναι προϊόντα επιλογής από τοπικούς πληθυσμούς. Η μελέτη έδειξε ότι και τα τρία σπέρματα έχουν πλούσιο περιεχόμενο σε καροτενοειδή. Συγκεκριμένα το εξανικό-διχλωρομεθανικό εκχύλισμα της ποικιλίας Γαύδος έχει την μεγαλύτερη περιεκτικότητα με συγκέντρωση 670μg/200g

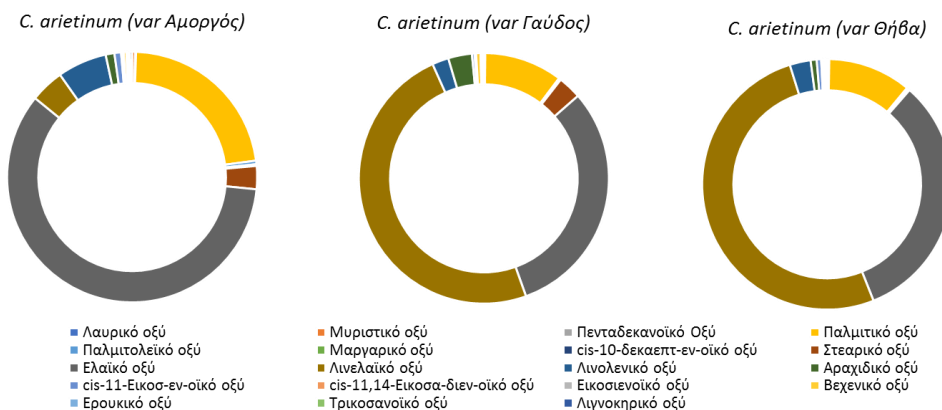
DM εκχυλίσματος και ακολουθούν οι ποικιλίες Αμοργός με συγκέντρωση TCC 442μg/200g DM και Θήβα με 26μg/200g DM. Οι περιεκτικότητες αυτές είναι αρκετά υψηλές, καθώς η ημερήσια συνιστώμενη πρόσληψη βιταμίνης Α κυμαίνεται από 400μg/ημέρα σε βρέφη έως 900μg/ημέρα σε ενήλικες άντρες (“Οι Καλύτερες Τροφές Με Βιταμίνη Α Και η Συνιστώμενη Ημερήσια Πρόσληψη”). Γνωρίζοντας ότι πολλά καροτενοειδή μπορούν να παίξουν το ρόλο της προβιταμίνης Α είναι σαφές πως η κατανάλωση ρεβιθιών μπορεί να συνδράμει σημαντικά σε αυτό. Επιπλέον, η μεγαλύτερη περιεκτικότητα ολικών καροτενοειδών στους φυτικούς ιστούς παρατηρήθηκε για την ποικιλία Αμοργός, με τιμές περίπου 4 φορές μεγαλύτερες σε σύγκριση με αυτές του ξηρού σπέρματος.

Όσον αφορά το μεθανολικό εκχύλισμα των σπερμάτων τους η ποικιλία Αμοργός -σε αντιστοιχία με τον φυτικό ιστό- έχει το φτωχότερο περιεχόμενο σε ταννίνες, ενώ τα σπέρματα των ποικιλιών Γαύδου και Θήβας περιέχουν αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις. Τέλος, το ρεβίθι Γαύδος περιέχει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 63 τα δύο σπέρματα με το υψηλότερο περιεχόμενο σε ταννίνες εμφανίζουν και τη μεγαλύτερη συγκέντρωση γαλλικής επιγαλλοκατεχίνης, επιμερούς μορίου των ταννινών, ενώ το σπέρμα της ποικιλίας Αμοργός περιέχει σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ισοκερκετίνη και κερσιτρίνη.



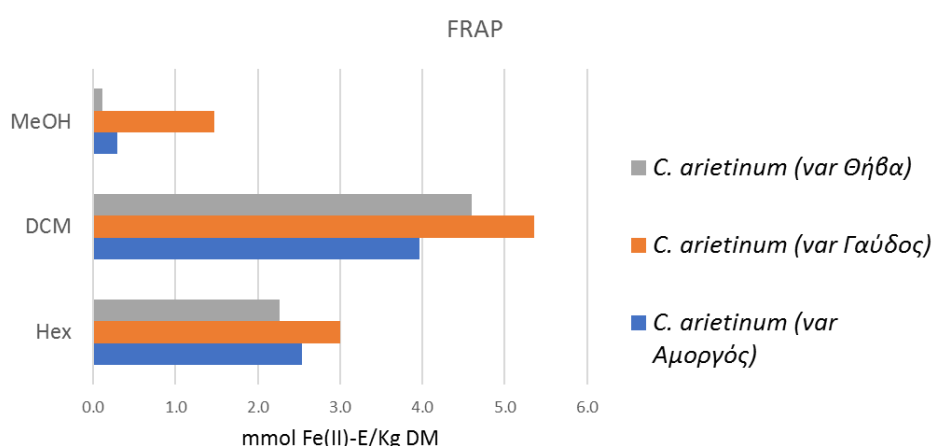
Εικόνα 52 Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας σε φαιολικές ενώσεις (TPC) και ταννίνες (TTC), καθώς και των μεμονομένων αντιοξειδωτικών για τα σπέρματα *Cicer*.

Η μελέτη του περιεχομένου τους σε λιπαρά οξέα επιβεβαιώνει το κοινό προφίλ των σπερμάτων της Γαύδος και Θήβας σε σύγκριση με το ρεβίθι Αμοργός, με κυριότερα λιπαρά οξέα τα λινελαϊκό, ελαϊκό και τρίτο το παλμιτικό οξύ, ενώ η ποικιλία Αμοργός περιέχει κυρίως ελαϊκό και παλμιτικό οξύ. Σε αντιστοιχία με τα παραπάνω, το φυτό της ποικιλίας Αμοργός έχει φτωχότερο περιεχόμενο σε λιπαρά οξέα ως προς τις ποικιλίες Γαύδος και Θήβα.



Εικόνα 53 Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας λιπαρών οξέων στα σπέρματα *Cicer*.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων των σπερμάτων των ρεβιθιών που μελετήθηκαν προσδιορίστηκε με τη μέθοδο FRAP, καθώς οι μετρήσεις με τη μέθοδο DPPH έδωσαν αποτελέσματα χαμηλότερα του ορίου ανίχνευσης. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι στα τρία εκχυλίσματα η ποικιλία Γαύδος επέδειξε την καλύτερη δράση, γεγονός που συνάδει με την υψηλότερη περιεκτικότητα σε μεταβολίτες, καθώς είχε το υψηλότερο περιεχόμενο σε καροτενοειδή, φαινολικά και ταννίνες.

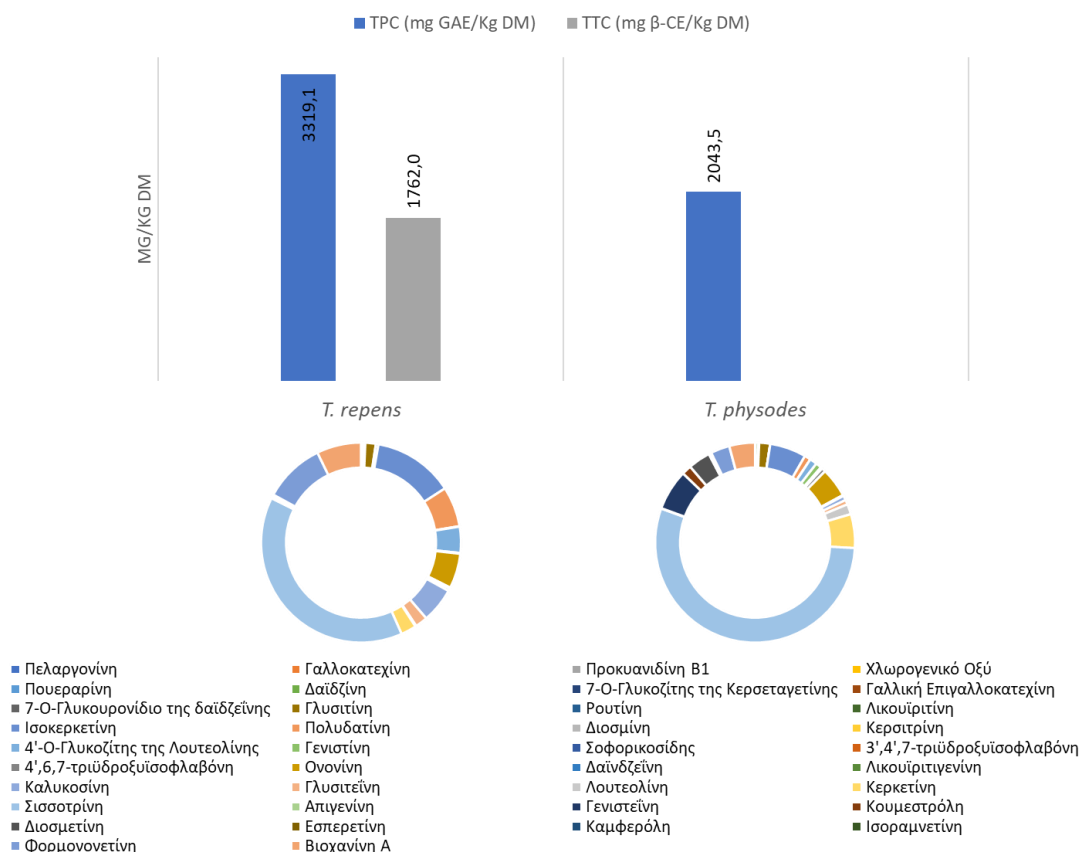


Εικόνα 54 Σχηματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των σπερμάτων *Cicer*.

Είναι επίσης αξιοσημείωτο ότι οι ποικιλίες Θήβα και Γαύδος που εμφανίζουν ένα πιο κοινό προφίλ σε σύγκριση με την ποικιλία Αμοργό, έχουν και άλλα κοινά χαρακτηριστικά, δηλαδή είναι ανθεκτικές στην ξηρασία και μέτρια ανθεκτικές στις χαμηλές θερμοκρασίες -έως -3°C για τη Θήβα και έως -5°C για τη Γαύδο-, ενώ και οι δύο είναι ευαίσθητες στην ασκόχυτα (*Ascochyta rabiei*), σε αντίθεση με την ποικιλία Αμοργός που εμφανίζει ανθεκτικότητα σε όλες τις φυλές της ασκοχύτωσης που υπάρχουν στην Ελλάδα, ενώ είναι ανθεκτική στην ξηρασία, αλλά όχι και τόσο ανθεκτική στις χαμηλές θερμοκρασίες.

3.3. *Trifolium* (*T. repens*, *T. physodes*)

Από το γένος *Trifolium* μελετήθηκαν το άγριο είδος *T. physodes* και το καλλιεργούμενο *T. repens*.



Εικόνα 55 Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών (TPC) και ταννινών, καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα *Trifolium*.

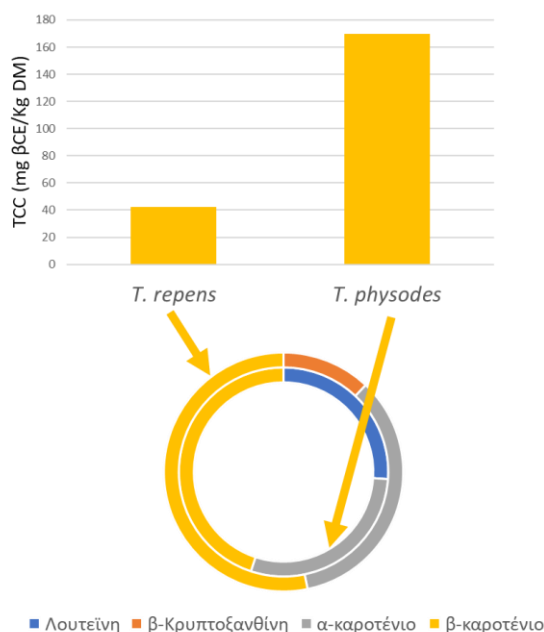
Η σύγκριση των μεθανολικών εκχυλισμάτων των φυτών έδειξε ότι περιέχουν συγκρίσιμους αριθμούς φαινολικών μορίων, όμως το λευκό τριφύλλι (*T. repens*) είναι πλούσιο σε ταννίνες σε σύγκριση με το άγριο είδος (*T. physodes*). Παρόμοια εικόνα είχε παρατηρηθεί για τα δύο μεθανολικά εκχυλίσματα του φυτού *Astragalus*, καθώς το εκχύλισμα του *A. creticus* είχε ιδιαίτερα υψηλή περιεκτικότητα σε ταννίνες, ενώ στο εκχύλισμα του *A. glycyphyllos* δεν ανιχνεύθηκαν ταννίνες. Είναι αξιοσημείωτο ότι και τα δύο δείγματα που στερούνται ταννινών (*T. physodes* και *A. glycyphyllos*) μοιράζονται το ίδιο φυσικό περιβάλλον, καθώς αναπτύσσονται κάτω από το είδος *Abies cerphallonica* (μαύρη ελάτη). Η κοινή τους προέλευση σε σχέση με την απουσία ταννινών χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Όσον αφορά το περιεχόμενο σε ολικά φαινολικά (TPC), η τιμή για το *T. physodes* είναι χαμηλότερη σε σχέση με το *T. repens* και τη βιβλιογραφία. Γενικά, οι τιμές TPC του *T. physodes* είναι σημαντικά χαμηλότερες σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές TPC

άλλων φυτών του ίδιου γένους που έχουν μελετηθεί προηγουμένως. Για παράδειγμα στις μελέτες των αιθανολικών εκχυλισμάτων των ειδών *T. pratense* και *T. repens* (Kolodziejczyk-Czepas 2016a; Jakubczyk και άλλοι 2021), το TPC για το *T. repens* είχε υπολογιστεί ως 192,0mg GAE/g αιθανολικού εκχυλίσματος (Jakubczyk και άλλοι, 2021), τιμή αρκετά υψηλότερη σε σύγκριση με την τιμή που προσδιορίστηκε στη διατριβή για το μεθανολικό εκχύλισμα του *T. repens* που είναι 24,2mg GAE/g εκχυλίσματος.

Όσον αφορά τα φυτοοιστρογόνα που εμπεριέχονται στα δύο φυτά, η σισσοτρίνη είναι ο κύριος μεταβολίτης που ανιχνεύεται στο *T. repens* σε ποσοστό 39% και στο *T. physodes* σε ποσοστό 55% του συνόλου των φυτοοιστρογόνων τους. Στο *T. repens* ακολουθούν τα φυτοοιστρογόνα ισοκερκετίνη (13%), φορμονονετίνη (10%) και βιοχανίνη Α (7%), ενώ για το *T. physodes* ανιχνεύονται η γενιστεΐνη (7%), η κερκετίνη (4%) και η ισοκερκετίνη (4%).

Η μελέτη των καροτενοειδών ανέδειξε το *T. physodes* ως πλουσιότερο με πολύ υψηλή τιμή TCC για το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα (169,5mg β-CE/Kg DM). Ο προσδιορισμός των επιμέρους καροτενοειδών έδειξε ότι και τα δύο φυτά περιέχουν σε μεγαλύτερη ποσότητα β- και α-καροτένιο. Είναι επίσης ενδιαφέρον ότι ως τρίτο σε ποσότητα καροτενοειδές προσδιορίστηκε για το *T. physodes* η ξανθοφύλλη λουτεΐνη και για το *T. repens* η ξανθοφύλλη β-κρυπτοξανθίνη, οι οποίες δεν ανιχνεύονται στο έτερο είδος.



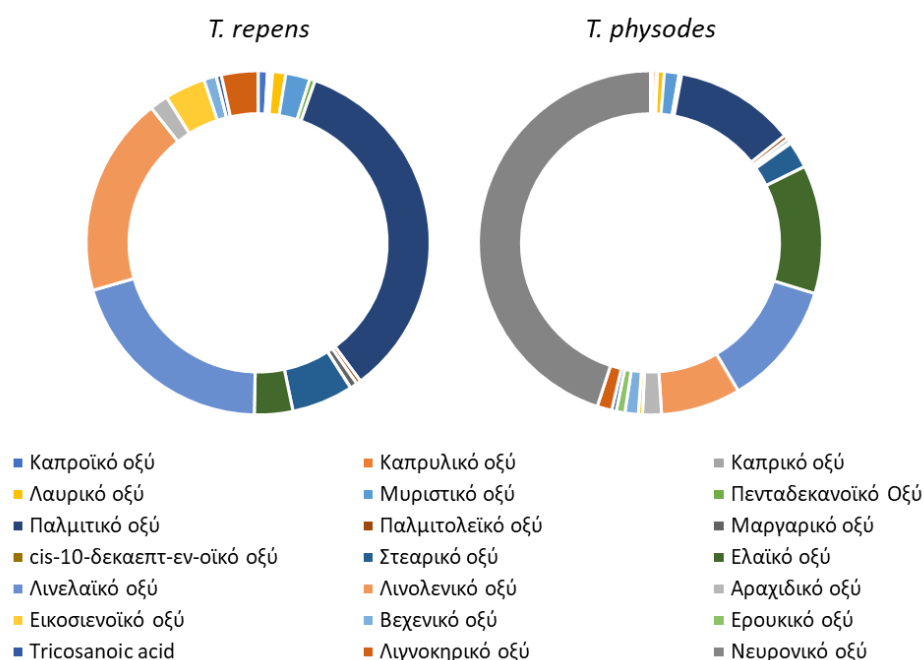
Εικόνα 56 Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας σε καροτενοειδή των δειγμάτων *Trifolium*.

Όσον αφορά το περιεχόμενό τους σε λιπαρά οξέα παρατηρείται μια έντονη διαφοροποίηση, αφού στο *T. repens* κύριο λιπαρό οξύ είναι το παλμιτικό, το οποίο στο *T. physodes* υπάρχει σε ποσοστό 11%. Στη συνέχεια, ακολουθούν τα λιπαρά οξέα λινελαϊκό και λινολενικό. Σύμφωνα με άλλη έρευνα για την περιεκτικότητα των λιπαρών οξέων στο λευκό τριφύλλι, κυριότερο είναι το παλμιτικό και ακολουθούν τα λινελαϊκό, λινολενικό και ελαϊκό οξύ (Bidar και άλλοι, 2008), μόρια που επίσης ανιχνεύτηκαν στο φυτό που μελετήθηκε στη διατριβή.

Στο *T. physodes* αφθονότερο είναι το νευρονικό οξύ, το οποίο απουσιάζει από τον κατάλογο των λιπαρών οξέων του λευκού τριφυλλίου. Ακολουθεί το ελαϊκό και τρίτο είναι το λινελαϊκό που συμμετέχει σε ποσοστό 12%.

Το νευρονικό οξύ βρίσκεται στις τριακυλογλυκερόλες στους σπόρους λίγων μόνο γνωστών φυτών, όπως η κάνναβη, η μπουράντζα (*Borago officinalis* L.), το είδος *Acer truncatum* Bunge κλπ (Taylor και άλλοι, 2015). Το οξύ αυτό ανιχνεύτηκε σε μεγάλη συγκέντρωση στο *T. physodes*, αλλά και σε άλλα φυτά της οικογένεια *Fabaceae* που μελετήθηκαν. Παρότι το νευρονικό οξύ δεν ανιχνεύεται σε μεγάλες ποσότητες στα τριγλυκερίδια των ζώων, εντούτοις είναι ευρέως καταμελημένο στα κλάσματα των σφιγκολιπιδίων των ιστών των σπονδυλωτών ζώων, όπου συνδέεται μέσω ενός αμιδικού δεσμού με μια βάση σφιγγοσίνης. Επίσης, είναι ιδιαίτερα άφθονο στο λευκό στρώμα του εγκεφάλου των ζώων και στον περιφερικό νευρικό ιστό, όπου τα νευρονικά

σφιγγολιπίδια είναι εμπλουτισμένα στο κλάσμα της μυελίνης των μυελινωμένων νευρικών ινών. Τέλος, τα νευρονυλικά σφιγγολιπίδια βρίσκονται και στους σκελετικούς μύες των ψαριών (Taylor και άλλοι, 2015).

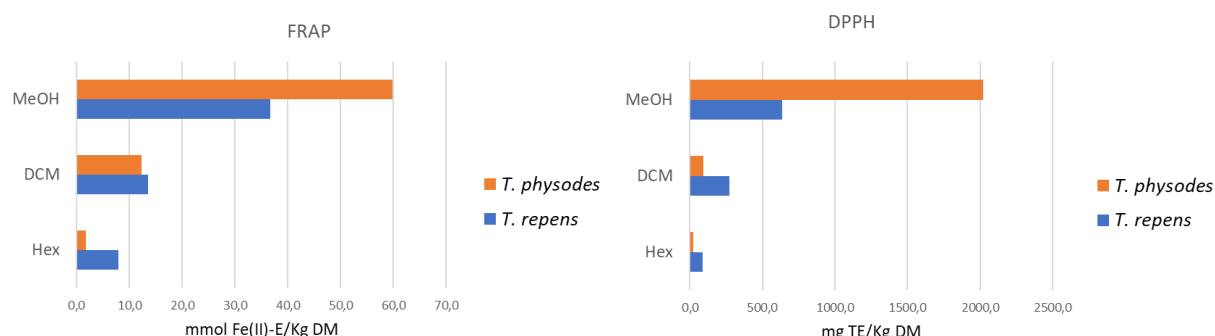


Εικόνα 57 Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα δείγματα *Trifolium*.

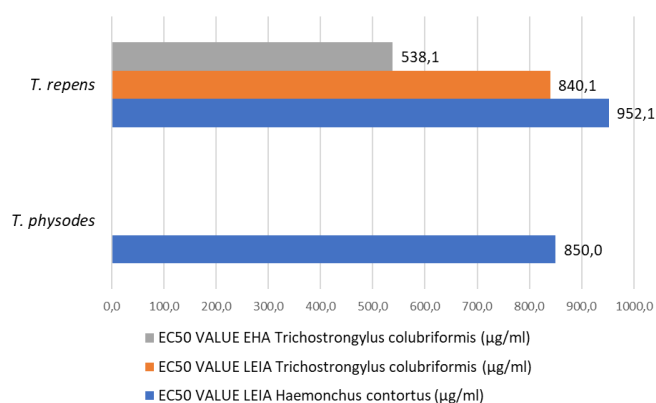
Άλλα είδη του γένους *Trifolium* που έχουν μελετηθεί για το περιεχόμενό τους σε λιπαρά οξέα είναι το *T. angustifolium*, στο οποίο προσδιορίστηκαν ως κύρια τα λιπαρά οξέα: παλμιτικό (29,8%), λινολεϊκό (18,6%) και ελαϊκό οξύ (10,5%) (Ertas και άλλοι, 2015), ενώ το 2007 σε έρευνα για πέντε είδη του γένους *T. balansae* Boiss, *T. stellatum* Lin., Holmboe, *T. constantinopolitanum* Ser., *T. resupinatum* L. var. *resupinatum* L. και *T. Nigrescens* Viv. subsp. *petrisavi* (Clem) βρέθηκε ότι περιέχουν κυρίως οκτώ λιπαρά οξέα με πιο άφθονα τα λινολενικό και παλμιτικό οξύ (Sabudak και άλλοι, 2009).

Η αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των τριών εκχυλισμάτων (εξανικό, διχλωρομεθανικό και μεθανολικό) ανέδειξε ως δραστικότερα τα μεθανολικά εκχυλίσματα των δύο φυτών, με το *T. physodes* να είναι το δραστικότερο παρότι οι τιμές των TPC και TTC του ήταν μικρότερες σε σύγκριση με το *T. repens*. Αντίστοιχα, εμφάνισε σημαντική αντιπαρασιτική δράση έναντι των παρασίτων *Haemonchus contortus* και

Trichostrongylus colubriformis αλλά και έναντι των ανθεκτικών αβγών του δεύτερου. Τέλος, το *T. physodes* ήταν δραστικό μόνο έναντι του *H. contortus*.



Εικόνα 58 Σχηματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων *Trifolium*.



Εικόνα 59 Σχηματική απεικόνιση της αντιπαράσιτικής δράσης των δειγμάτων *Trifolium* έναντι των αβγών και νυμφών *T. colubriformis* και των νυμφών *H. contortus*.

3.4. *Lathyrus* (*L. sativus*, *L. laxiflorus*, *L. clymenum*)

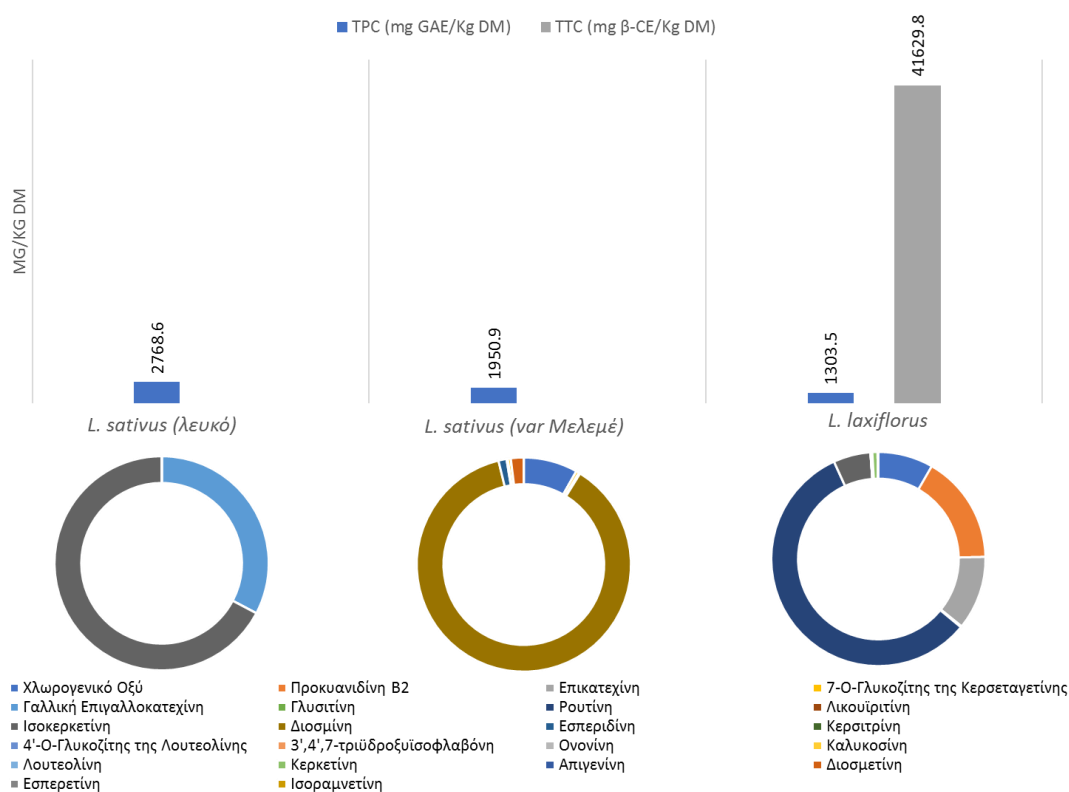
Από το γένος αυτό μελετήθηκαν ένα άγριο είδος (*L. laxiflorus*) και δύο βελτιωμένες ποικιλίες του *L. sativus*, το λευκό και το Μελεμέ, καθώς και τα σπέρματα του *L. clymenum*, που είναι γνωστοί με το όνομα Φάβα Σαντορίνης.

Ο προσδιορισμός του περιεχομένου του *L. laxiflorus* σε καροτενοειδή έγινε για πρώτη φορά και βρέθηκε ότι το διχλωρομεθανικό του εκχύλισμα περιέχει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ολικών καροτενοειδών. Για το μεθανολικό εκχύλισμα του *L. laxiflorus* υπάρχει μόνο μία βιβλιογραφική αναφορά από τους Sraoui και συνεργάτες, οι οποίοι μέτρησαν την τιμή του TPC του υπέργειου τμήματος του φυτού ως 89mg GAE/g εκχυλίσματος (Sraoui και άλλοι, 2012), τιμή συγκρίσιμη με αυτήν που προσδιορίστηκε στη διατριβή (64,8 mg GAE/g μεθανολικού εκχυλίσματος) για ολόκληρο το φυτό. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι είναι εντυπωσιακή η υψηλή περιεκτικότητα του φυτού σε ταννίνες (419,6mg CE/g μεθανολικού εκχυλίσματος), σε

σύγκριση με ποικιλίες του *L. sativus*. Σε προηγούμενη μελέτη της περιεκτικότητας των ταννινών στα σπέρματα λαθουριού (*L. sativus*) από φυτά που καλλιεργούνταν σε διαφορετικές περιοχές του Καναδά πιστοποιήθηκε μεγάλη διακύμανση της συγκέντρωσής τους, με τιμές από 0,89 έως 5,18g CE/Kg DM (Wang και άλλοι, 1998a).

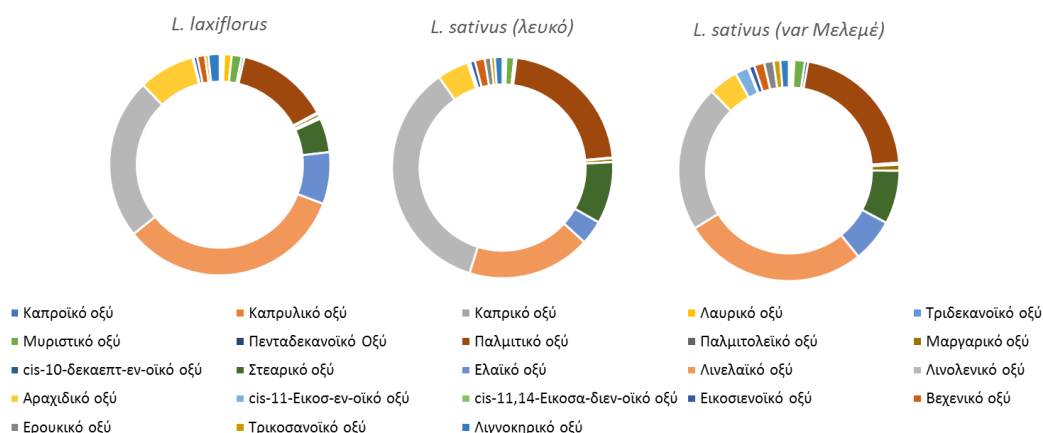
Σε έρευνες που διενεργήθηκαν σε σπέρματα του *Lathyrus* sp. προσδιορίστηκαν οι ολικές φαινολικές ενώσεις και ταννίνες με τιμές TPC από 868 έως 2059mg GAE/kg DM και TTC από 890 έως 5180mg CE/ kg DM (Wang και άλλοι, 1998b). Το εύρος της τιμής του TTC σε διαφορετικά είδη δείχνει ότι το φυτό *L. laxiflorus* περιέχει περίπου 8 φορές υψηλότερη συγκέντρωση ταννινών (41630 mg CE/ kg DM).

Οι δύο ποικιλίες *L. sativus* παρότι περιέχουν συγκρίσιμες συγκεντρώσεις φαινολικών (TPC), ενούτοις παρουσιάζουν μια σημαντική ποιοτική διαφορά στα περιεχόμενα αντιοξειδωτικά/φυτοοιστρογόνα. Στο λευκό *L. sativus* επικρατούν κυρίως οι μεταβολίτες ισοκερκετίνη και γαλλική επιγαλλοκατεχίνη, ενώ η ποικιλία Μελεμέ περιέχει περισσότερα φυτοοιστρογόνα, με αφθονότερα τα μόρια διοςμίνη και χλωρογενικό οξύ.



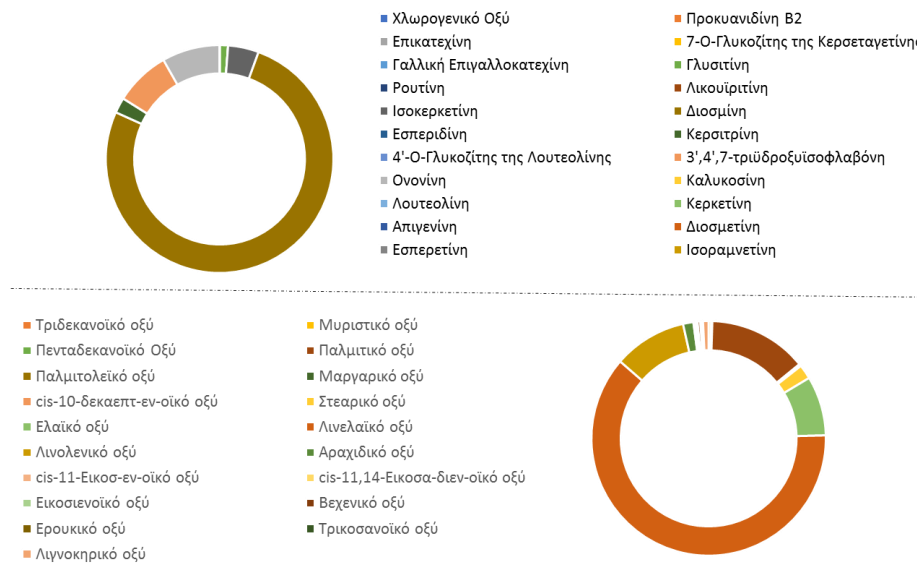
Εικόνα 60 Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών ενώσεων (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα *Lathyrus*.

Όσον αφορά την παρουσία των λιπαρών οξέων στα φυτά *Lathyrus* της μελέτης παρατηρήθηκε ένα σχετικά επαναλαμβανόμενο μοτίβο αφού και στα τρία είδη επικρατούν τα οξέα λινελαϊκό, λινολενικό, παλμιτικό, αραχιδικό, ελαϊκό και στεαρικό. Ανασκόπηση των μελετών για τα λιπαρά οξέα στο είδος *L. sativus* δείχνει ότι αυτά περιέχονται σε εύρος 14-67%, 1-8%, 8-17%, 0-0,5%, 1-58% και 2-14%, αντίστοιχα, ως προς την ολική περιεκτικότητα σε λιπαρά (Hanbury και άλλοι, 2000).



Εικόνα 61 Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα φυτά *Lathyrus* που μελετήθηκαν.

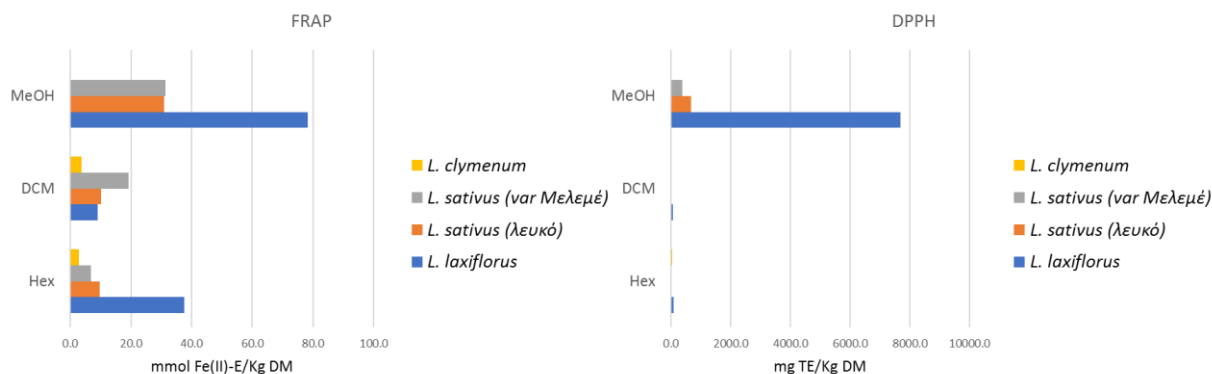
Η μελέτη του σπέρματος του *L. clymenum* έδειξε ότι περιέχει τα καροτενοειδή λουτεΐνη, β-κρυπτοξανθίνη, β-καροτένιο και σημαντική ποσότητα λυκοπενίου, ενώ από τα φαινολικά μόρια περιέχει σε υψηλότερη συγκέντρωση διοσμίνη και μικρότερες περιεκτικότητες ονονίνης, ισοκερκετίνης και 3',4',7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνης. Τέλος, περιέχει σε υψηλότερες συγκεντρώσεις τα λιπαρά οξέα που ανιχνεύονται στα αντίστοιχα φυτά.



Εικόνα 62 Σχηματική απεικόνιση περιεκτικότητας φυτοοιστρογόνων και λιπαρών οξέων στο σπέρμα *L. clymenum*.

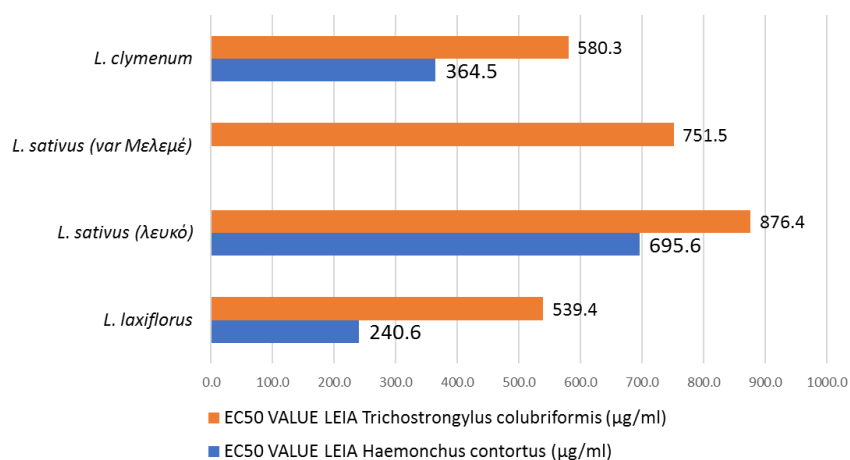
Όσον αφορά την αντιοξειδωτική δράση των φυτών *Lathyrus*, και τα τρία εκχυλίσματα του *L. laxiflorus* διαθέτουν αντιοξειδωτική δράση με τις μεθόδους FRAP και DPPH, με δραστικότερο το μεθανολικό εκχύλισμα στο οποίο έχει εντοπιστεί η παρουσία των μορίων χλωρογενικό οξύ, προκυανιδίνη B2, επικατεχίνη, γαλλική επιγαλλοκατεχίνη και ρουτίνη, όλα γνωστά ως πολύ ισχυρά αντιοξειδωτικά (Χυ και άλλοι, 2012; Sutcliffe και άλλοι, 2017; Enogieu και άλλοι, 2018; Bernatoniene και Korustinskiene 2018).

Αντίστοιχα ισχυρή αντιοξειδωτική δράση εμφανίζουν και τα μεθανολικά εκχυλίσματα των δύο ειδών *L. sativus*, ενώ το εξανικό και διχλωρομεθανικό εκχύλισμά τους έχουν καλύτερη αναγωγική δράση με τη μέθοδο FRAP.



Εικόνα 63 Σχηματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων *Lathyrus*.

Όσον αφορά την αντιπαρασιτική τους δράση, όλα τα μεθανολικά εκχυλίσματα του γένους *Lathyrus* εμφανίζουν αντιπαρασιτική δράση έναντι του *Trichostrongylus colubriformis*, ενώ έναντι του *Haemonchus contortus* δεν ήταν δραστικό μόνο το *L. sativus* (var. Μελεμέ). Η παρατήρηση αυτή είναι πολύ σημαντική, καθώς τα φυτά αυτά μπορεί να χρησιμοποιηθούν στη διατροφή των ζώων ως πλούσια πηγή πρωτεϊνών, αλλά και ως τροφή ωφέλιμη για την υγεία των ζώων αφού είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά και εμφανίζουν σημαντική αντιπαρασιτική δράση έναντι των δύο αυτών παρασίτων που προσβάλλουν τα μηρυκαστικά.



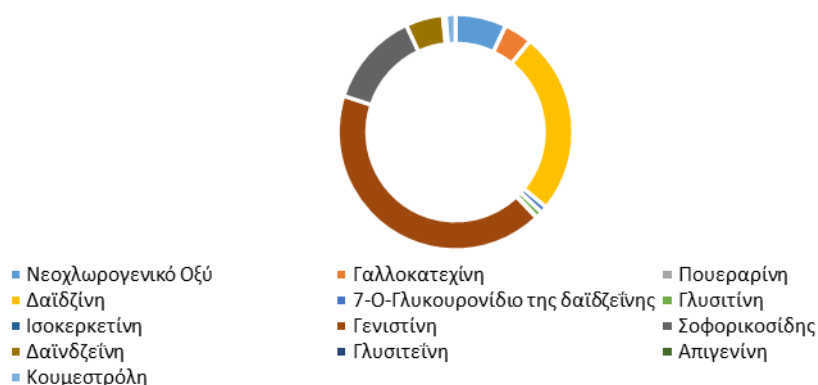
Εικόνα 64 Σχηματική απεικόνιση της αντιπαρασιτικής δράσης των δειγμάτων *Lathyrus* έναντι των *T. colubriformis* και *H. Contortus*.

3.5. *Bituminaria* (*B. bituminosa*)

Η *Bituminaria bituminosa* είναι ένα φυτό διαδεδομένο ευρύτατα στη Μεσογειακή χλωρίδα και γνωστό για το πλούσιο περιεχόμενό του σε δευτερογενείς μεταβολίτες (Acar και άλλοι, 2021). Το μεθανολικό του εκχύλισμα έχει TPC και TTC 14,5mg GAE/g εκχυλίσματος (ή 1826mg GAE/Kg DM) και 2,1mg CE/g εκχυλίσματος (ή 85mg CE/Kg DM), αντίστοιχα. Σε μελέτη του φυτού από τους Ventura και άλλοι, το TPC είχε προσδιοριστεί στο εύρος 7900-13600mg TAE/Kg DM (ισοδυνάμων τανικού οξέος), τιμές που δεν είναι δυνατόν να συγκριθούν με αυτές της διατριβής που είναι εκφρασμένες σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος. Όμως, η τιμή TTC που είχε εκφραστεί σε ισοδύναμα κατεχίνης, όπως και οι τιμές της διατριβής, ήταν στο εύρος 700-5.000mg CE/Kg DM που είναι κατά πολύ υψηλότερες σε σύγκριση με αυτήν που προσδιορίστηκε στη διατριβή (85,3mg CE/Kg DM).

Το άγριο φυτό *B. bituminosa* που μελετήθηκε στη διατριβή είχε μια πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε ολικά καροτενοειδή ($TCC_{HEX} + TCC_{DCM} = 366,6\text{mg } \beta\text{-CE/Kg DM}$) σε σύγκριση με

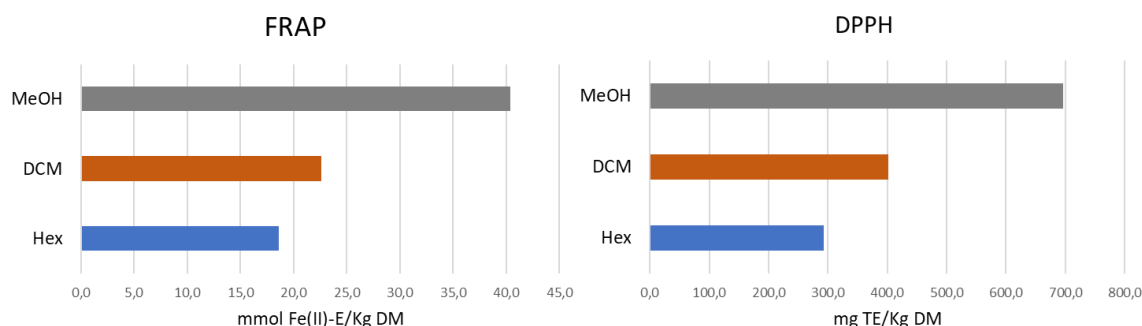
τα υπόλοιπα φυτά που μελετήθηκαν. Θα πρέπει να υπογραμμιστεί ότι έως σήμερα μόνο ελάχιστα από τα φυτά της διατριβής έχουν μελετηθεί ως προς το περιεχόμενό τους σε καροτενοειδή. Η *B. bituminosa* αποτελεί ένα από αυτά, παρότι δεν έχει μελετηθεί ολόκληρο το φυτό αλλά μόνο τα φύλλα και οι κάλοι του (Chaumont και Gudín 1985). Στην εργασία αυτή εκτός από την τιμή του TCC προσδιορίστηκε και η περιεκτικότητα του διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος στα καροτενοειδή λουτεΐνη (1,0 mg/Kg DM) και β-καροτένιο (7,1 mg/Kg DM).



Εικόνα 65 Σχηματική απεικόνιση περιεκτικότητας φυτοοιστρογόνων στο μεθανολικό εκχύλισμα του φυτού *B. bituminosa*.

Η μελέτη του φυτοοιστρογονικού περιεχομένου του μεθανολικού εκχυλίσματος του φυτού ανέδειξε ως αφθονότερη τη γενιστίνη και σε μικρότερες ποσότητες τα μόρια δαϊδζίνη, σοφορικοσίδης, νεοχλωρογενικό οξύ, δαϊδζεΐνη, γαλλοκατεχίνη και κουμestρόλη. Όσον αφορά την παρουσία των λιπαρών οξέων στο εξανικό εκχύλισμα του φυτού, με φθίνουσα σειρά περιεκτικότητας απαντώνται τα οξέα: λινολενικό, παλμιτικό, λινελαϊκό, ελαϊκό, εικοσιενοϊκό και στεατικό. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι η παρουσία του εικοσιενοϊκού οξέος είναι σπάνια στα υπόλοιπα φυτά της οικογένειας που μελετήθηκαν στη διατριβή.

Όσον αφορά τη μελέτη της βιοδραστικότητας, και τα τρία εκχύλιστα του φυτού εμφάνισαν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και με τις δυο μεθόδους μέτρησης (FRAP και DPPH), με το μεθανολικό εκχύλισμα να είναι το ισχυρότερο. Τέλος, προσδιορίστηκε ότι το μεθανολικό εκχύλισμα του φυτού είναι δραστικό έναντι του παρασίτου *Trichostrongylus colubriformis* (EC₅₀ 539,6μg εκχυλίσματος/mL).



Εικόνα 66 Σχηματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης του φυτού *B. bituminosa*.

3.6. *Vicia* (*V. sativa*, *V. faba*)

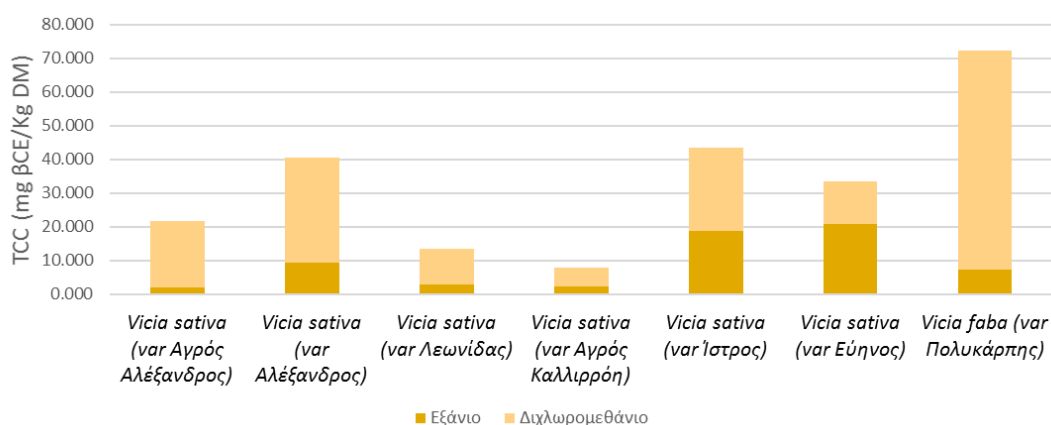
Από το γένος *Vicia* μελετήθηκαν δύο φυτά της ποικιλίας *V. sativa* (var. *Αλέξανδρος* και *Αγρός Αλέξανδρος*) που έχουν καλλιεργηθεί σε διαφορετικές περιοχές, τέσσερις ποικιλίες του ίδιου είδους (*Λεωνίδα*, *Καλλιρρόη*, *Ίστρος*, *Εύηνος*) και μία ποικιλία του γένους *V. faba* (*Πολυκάρπης*). Επιπλέον, μελετήθηκαν τα σπέρματα των *V. sativa* (var. *Αλέξανδρος*, *Ίστρος*, *Εύηνος*) και *V. faba* (*Πολυκάρπης*, *Τανάγρα*), όλα τα παραπάνω προήλθαν από βελτιωμένες ποικιλίες.

Ο προσδιορισμός της ολικής τους περιεκτικότητας σε καροτενοειδή ανέδειξε τις διαφορές που συνεπάγονται οι διαφορετικές συνθήκες καλλιέργειας της ίδιας ποικιλίας *V. sativa* (var. *Αλέξανδρος*) και τις διαφορές μεταξύ των πέντε ποικιλιών *V. sativa*. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το φυτό *V. faba* (*Πολυκάρπης*) που έχει την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε καροτενοειδή.

Τα είδη *Vicia* αποτελούν σημαντικά κτηνοτροφικά φυτά, ειδικά για τις μεσογειακές χώρες όπως η Ελλάδα. Στο παρελθόν έχει μελετηθεί η περιεκτικότητα ορισμένων ειδών του γένους σε καροτενοειδή, καθώς τα καροτενοειδή αποτελούν σημαντικά πρόσθετα στην εκτροφή πουλερικών τόσο για το επιθυμητό χρώμα του κρέατος στα ορνήθια κρεατοπαραγωγής όσο και του θελκτικού χρώματος του κρόκου των αυγών.

Η έρευνα των Barro και Gonzalez για το περιεχόμενο πέντε ειδών *Vicia* (*V. sativa* L., *V. villosa* Roth, *V. ervilia* Willd και *V. monanthos* Desf.) σε καροτενοειδή σε διαφορετικές περιόδους ανάπτυξης (ι. ύψος 20cm, ιι. ύψος 30cm, ιιι. αρχή ανθοφορίας, και ιν. πλήρης ανθοφορία) και τα σπέρματά τους έχει αναδείξει ως πλουσιότερο το στάδιο ανάπτυξης με ύψος 20 cm και τα σπέρματα ως φτωχότερους σε περιεκτικότητα

καροτενοειδών σε σύγκριση με ολόκληρο το φυτό (ως προς ξηρό τους βάρος). Επιπλέον, πλουσιότερο έχει αναδειχθεί το είδος *V. sativa* στα καροτένια λουτεΐνη, ζεαξανθίνη, νεοξανθίνη και βιολοξανθίνη (Barro και González 1981).

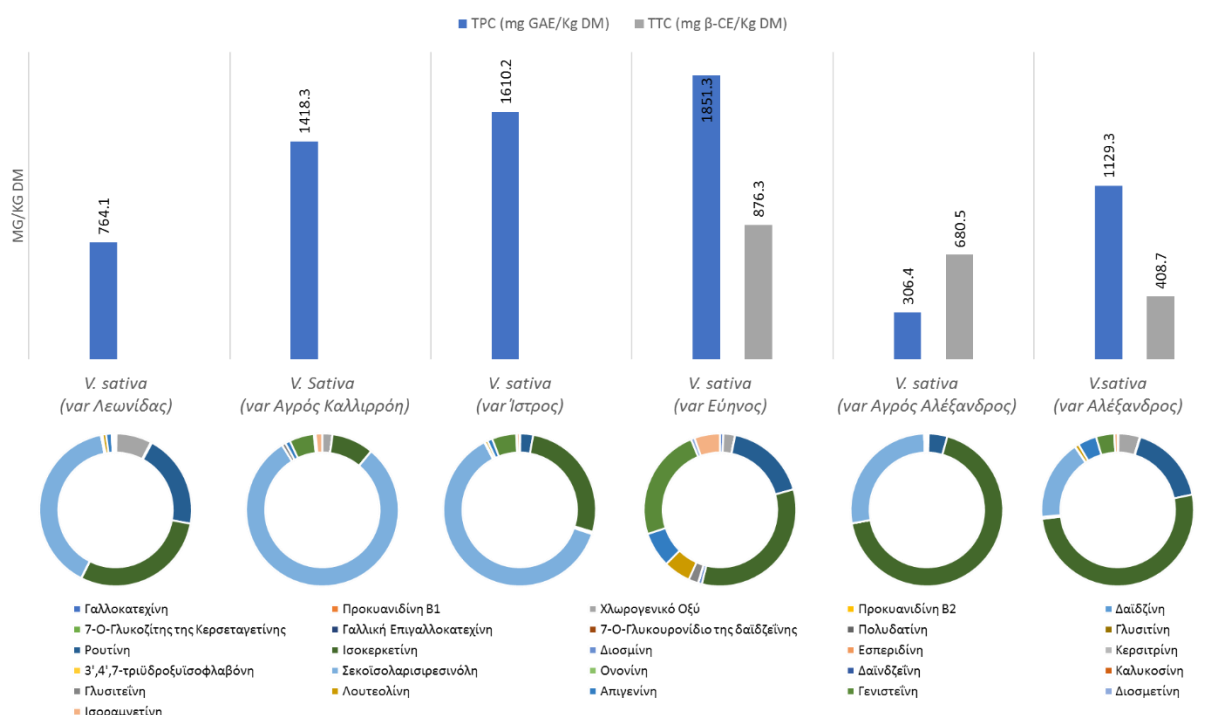


Εικόνα 67 Διάγραμμα απεικόνισης της ολικής περιεκτικότητας σε καροτενοειδή των φυτών *Vicia*.

Στην Εικόνα 79 γίνεται η σύγκριση των TPC, TTC και του φυτοοιστρογονικού περιεχομένου των φυτών *V. sativa*. Με μια πρώτη ματιά είναι σαφές πως το φυτοοιστρογονικό περιεχόμενο της ποικιλίας Εύηνος διαφέρει σημαντικά σε σύγκριση με όλα τα υπόλοιπα *V. sativa*. Συγκεκριμένα, από την ποικιλία αυτή απουσιάζει η σεκοΐσολαρισιρεσινόλη η οποία βρίσκεται σε αρκετά υψηλή συγκέντρωση σε όλες τις υπόλοιπες ποικιλίες. Σε όλα τα φυτά *V. sativa* ανιχνεύτηκαν τα μόρια ισοκερκετίνη και ισολικουϊριτιγενίνη, ενώ η ποικιλία Εύηνος εκτός από τις υψηλότερες τιμές TPC και TTC, εμφάνισε τη μεγαλύτερη ποικιλότητα αντιοξειδωτικών μορίων. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι από τις πέντε ποικιλίες οι τρεις περιέχουν ταννίνες σε πολύ μικρό ποσοστό (<LOD), ενώ φυτά των δυο καλλιεργειών της ποικιλίας Αλέξανδρος και της ποικιλίας Εύηνος είχαν υψηλή περιεκτικότητα ταννινών.

Παλαιότερη μελέτη των φλαβονοειδών στο υπέργειο τμήμα του *V. sativa* στην Αίγυπτο είχε πιστοποιήσει την παρουσία των μορίων απιγενίνη, καμφερόλη, λουτεολίνη και κερκετίνη σε δεσμευμένες μορφές γλυκοπυρανοσίδη και ραμνοπυρανοσίδη (Gamal-Eldeen και άλλοι, 2004). Στα είδη που μελετήθηκαν στη διατριβή ανιχνεύτηκε ελεύθερη απιγενίνη σε όλους τους βίκους εκτός από την ποικιλία Καλλιρρόη. Επίσης, στο φυτό Καλλιρρόη δεν ανιχνεύτηκε ελεύθερη λουτεολίνη, η οποία ανιχνεύτηκε σε όλα τα *V. sativa* εκτός από το ένα εκ των δύο δειγμάτων Αλέξανδρος. Τέλος, στους αναλύτες

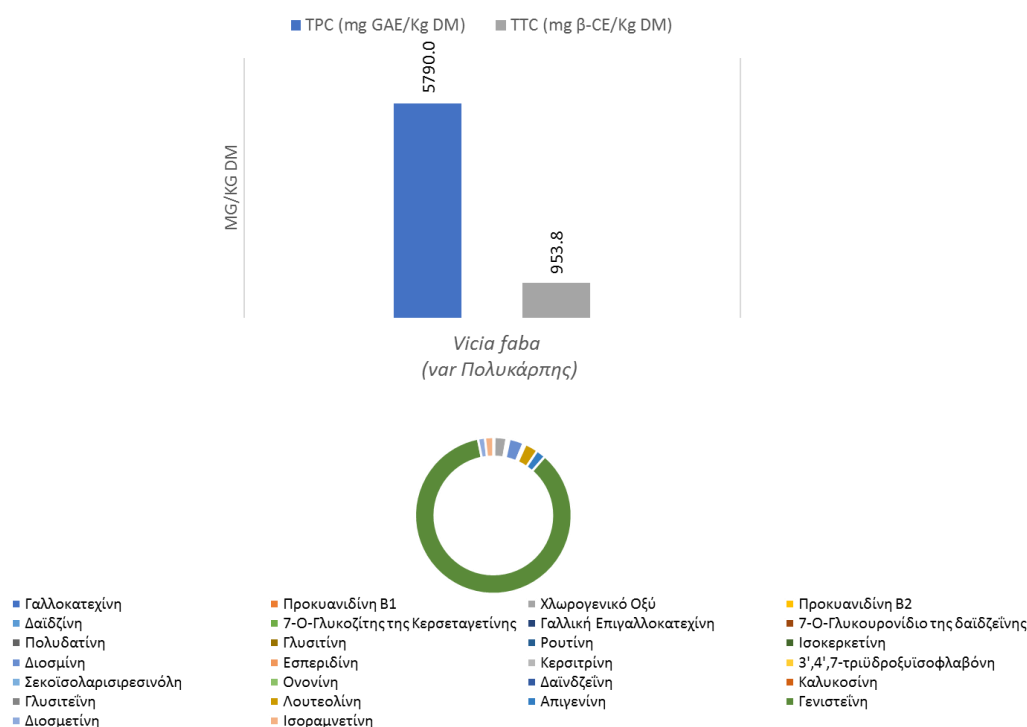
που ανιχνεύτηκαν περιλαμβάνεται η ισοκερκετίνη που αποτελεί τον 3-O-γλυκοζίτη της κερκετίνης και περιέχεται σε όλα τα φυτά βίκος.



Εικόνα 68 Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών ενώσεων (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα *V. sativa*.

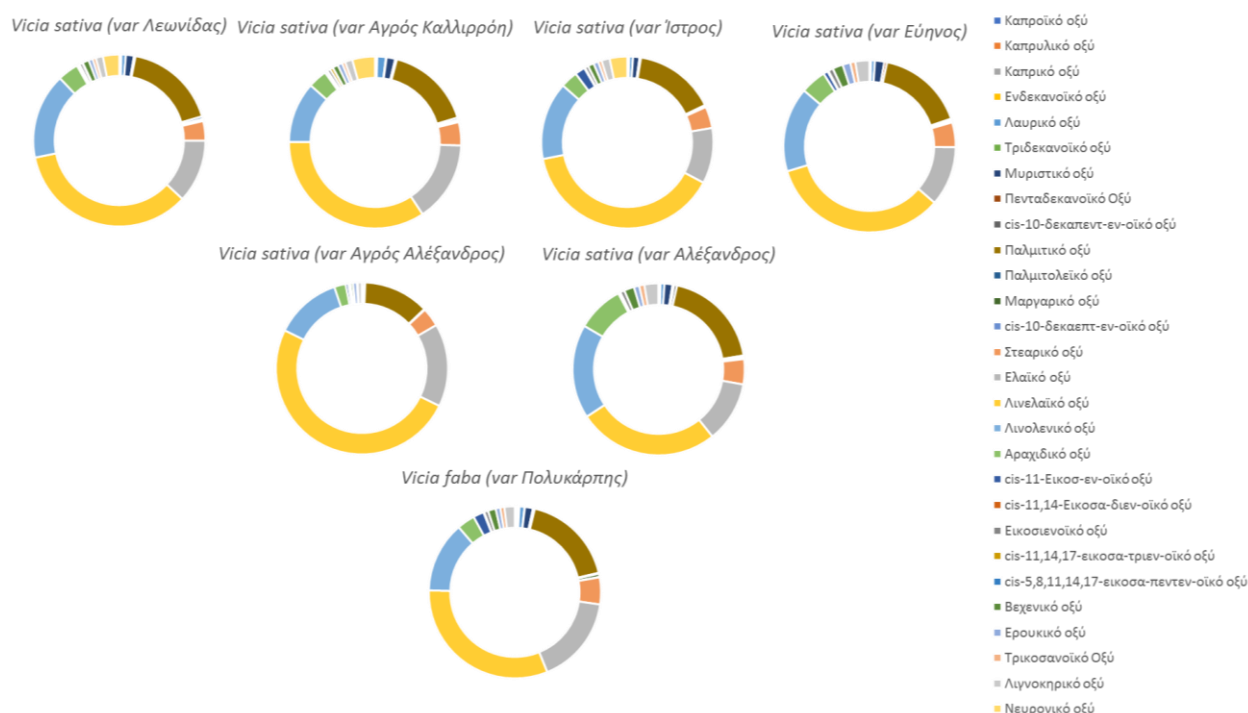
Η μελέτη των μετρήσεων του μεθανολικού εκχυλίσματος του *V. faba* (Πολυκάρπης) έδειξε ότι το συγκεκριμένο φυτό περιέχει μεγαλύτερη ποσότητα ολικών φαινολικών και ταννινών σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ποικιλίες *V. sativa*. Σε παλαιότερη έρευνα της περιεκτικότητας των ολικών φαινολικών σε φυτά *V. faba* με διαφορετικούς γονότυπους και σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης, έχει προσδιοριστεί η τιμή του TPC με εύρος 0-158mg GAE/g DM σε εκχύλισμα 70% αιθανόλης, με τα χαμηλότερα επίπεδα να εμφανίζονται κατά το στάδιο της ωρίμανσης του φυτού (Chaieb και άλλοι, 2011).

Το φυτοοιστρογόνο που ανιχνεύτηκε σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο φυτό *V. faba* (Πολυκάρπης) ήταν η γενιστεΐνη, η οποία εντοπίστηκε σε υψηλή περιεκτικότητα και στις ποικιλίες *V. sativa*, Εύηνος, Καλλιρρόη και Ίστρος, όπως επίσης και σε ένα από τα δύο δείγματα *V. sativa* (Αλέξανδρος). Τέλος, το φυτό *V. faba*, που μελετήθηκε βρέθηκε ότι περιέχει σε ελεύθερη μορφή τα μόρια λουτεολίνη, διοσμίνη και χλωρογενικό οξύ.



Εικόνα 69 Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών ενώσεων (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στο δείγμα *V. faba*.

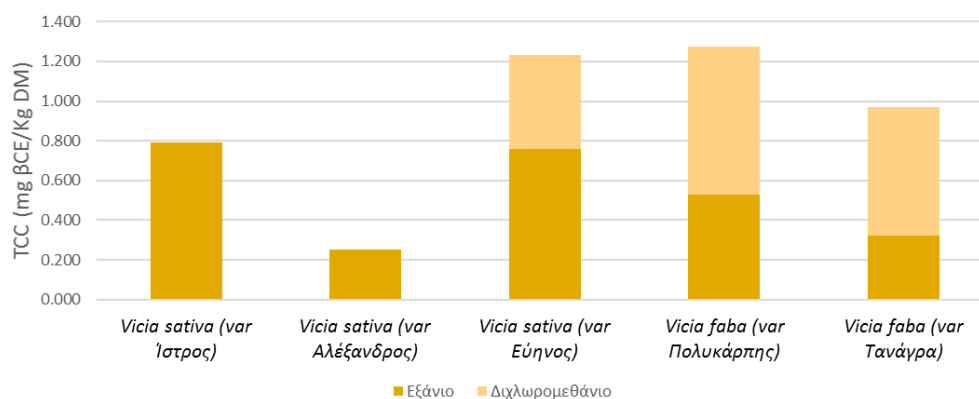
Τα λιπαρά οξέα που περιέχονται στα φυτά αυτά φαίνεται ότι ακολουθούν αντίστοιχο μοτίβο, με διαφορές κυρίως ποσοτικές και όχι ποιοτικές. Τα κύρια λιπαρά οξέα που εντοπίζονται στα δείγματα της *V. sativa* είναι τα οξέα λινελαϊκό, λινολενικό, παλμιτικό, ελαϊκό και σε μικρότερη ποσότητα το στεαρικό, μόρια που συνιστούν τα κύρια λιπαρά οξέα και του φυτού *V. faba* (Πολυκάρπης). Σε μελέτη του 2008 για την περιεκτικότητα λιπαρών οξέων σε διαφορετικούς γονότυπους του είδους *V. faba* σε φύλλα και μίσχους ως κύριο λιπαρό οξύ προσδιορίστηκε το λινολενικό οξύ και ακολουθεί το λινελαϊκό οξύ (Arbaoui και Link 2008).



Εικόνα 70 Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα δείγματα των φυτών *Vicia*.

Από τα σπέρματα *Vicia* στη διατριβή μελετήθηκαν τα είδη του βίκου (*V. sativa*) Ίστρος, Αλέξανδρος και Εύηνος και τα είδη κουκιών (*V. faba*) Πολυκάρπης και Τανάγρα. Πλουσιότερα σε καρτενοειδή αποδείχτηκαν τα *V. faba* (Πολυκάρπης), *V. sativa* (Εύηνος) και *V. faba* (Τανάγρα), με την περιεκτικότητα ολόκληρου του φυτού να είναι υψηλότερη σε σύγκριση με το αντίστοιχο σπέρμα (ως προς το ξηρό βάρος του δείγματος). Πλουσιότερα σε φαινολικά ήταν ο βίκος Εύηνος και Ίστρος, ενώ οι περισσότερες ταννίνες ανιχνεύτηκαν στο κουκί Τανάγρα και τον βίκο Αλέξανδρο.

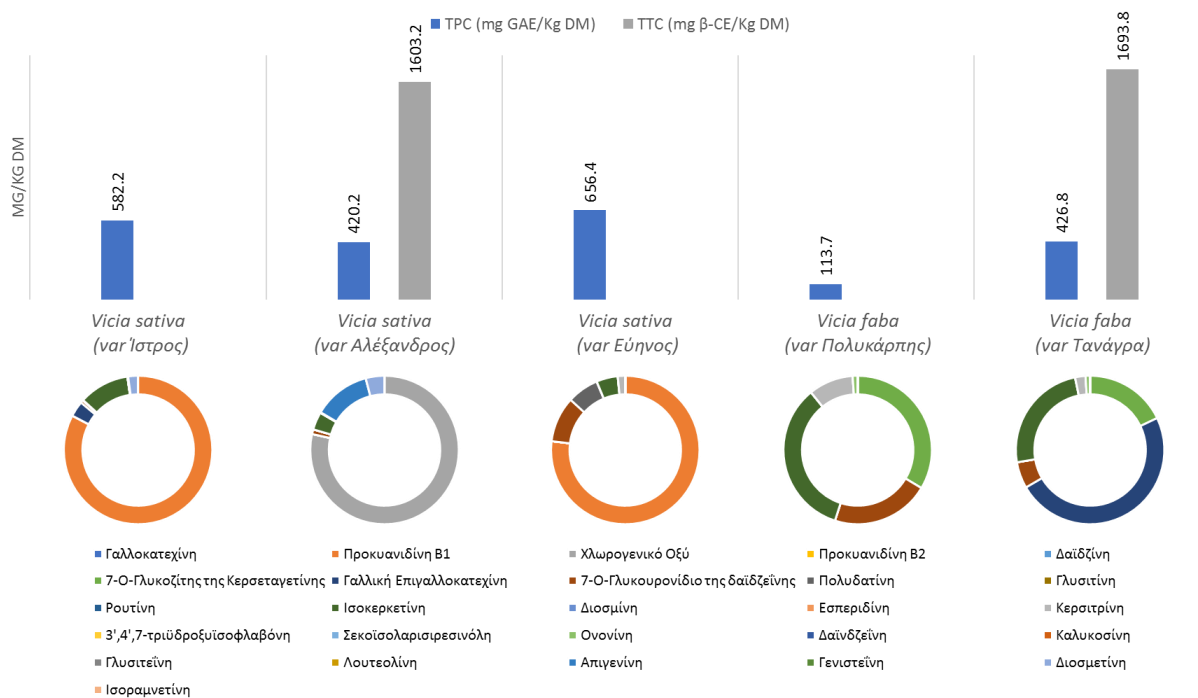
Βιβλιογραφικά, σε έρευνα του φαινολικού περιεχομένου 28 σπερμάτων του είδους *Vicia* της Νότιας Ισπανίας ως πλουσιότερος αναδείχθηκε το σπέρμα του *V. sativa*, ο οποίος περιείχε 4,5 φορές περισσότερες φαινόλες από το σπέρμα *V. faba* (Pastor-Cavada και άλλοι, 2011). Σε μία άλλη εργασία που αφορούσε τον προσδιορισμό της ολικής περιεκτικότητας των φαινολικών σε σπέρματα διαφορετικών γονότυπων *V. faba*, το TPC εκχυλίσματος με 70% αιθανόλης μετρήθηκε σε 16 έως 67mg/g DM (Chaieb και άλλοι, 2011), τιμές μεγαλύτερες αυτών που προσδιορίστηκαν για τις δύο ποικιλίες κουκιών που μελετήθηκαν στη διατριβή.



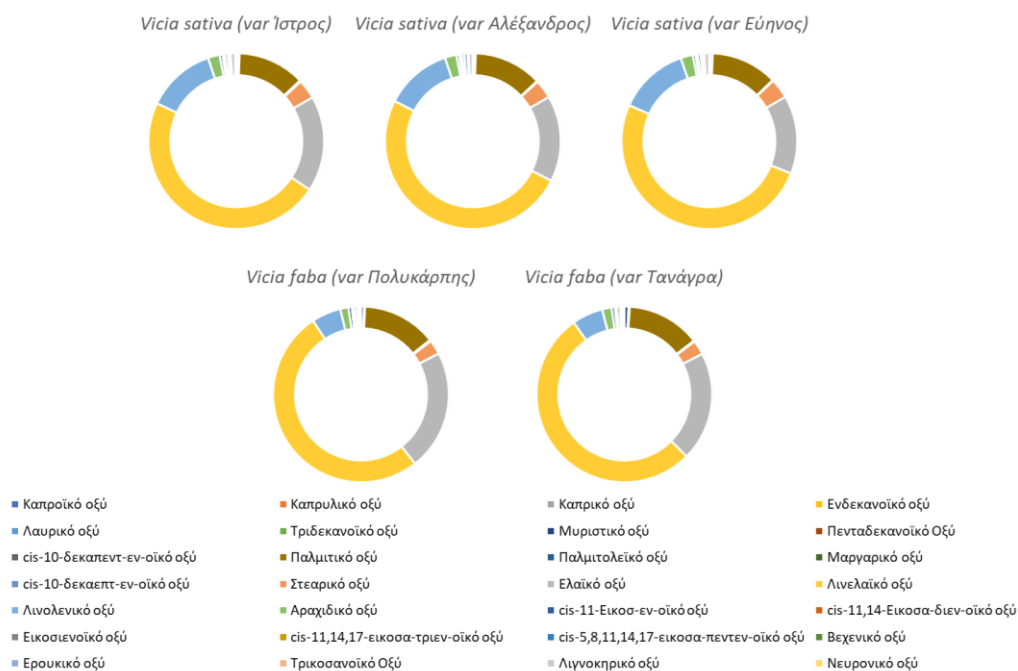
Εικόνα 71 Διάγραμμα απεικόνισης της ολικής περιεκτικότητας καροτενοειδών (TCC) στα σπέρματα *Vicia*.

Το φυτοοιστρογονικό περιεχόμενο των σπερμάτων διαφέρει αρκετά μεταξύ τους, με τους βίκους Ίστρος και Εύηνος να διαθέτουν την υψηλότερη συγκέντρωση προκυανιδίνης B1. Η υπόλοιπη σύνθεση των φυτοοιστρογόνων ήταν και αυτή σημαντικά διαφορετική με την περιεκτικότητα των φυτοοιστρογόνων στον βίκο Αλέξανδρο να διαφέρει σημαντικά σε σύγκριση με τα άλλα δύο σπέρματα. Συγκεκριμένα, στον Αλέξανδρο τα κύρια αντιοξειδωτικά ήταν το χλωρογενικό οξύ και η απιγενίνη, τα οποία δεν ανιχνεύτηκαν στα άλλα δύο σπέρματα *V. sativa*.

Η μελέτη του φυτοοιστρογονικού περιεχομένου των κουκιών έδειξε ότι όλα περιέχουν ισοκερκετίνη, τον 7-O-γλυκοζίτη της κερσεταγετίνης, κερσιτρίνη και ονονίνη, που όμως διαφέρουν ποσοτικά ανάλογα με το φυτό, ενώ η γαλλική επογαλλοκατεχίνη που είναι σε υψηλή συγκέντρωση στο κουκί Τανάγρα δεν ανιχνεύτηκε στην ποικιλία Πολυκάρπης.



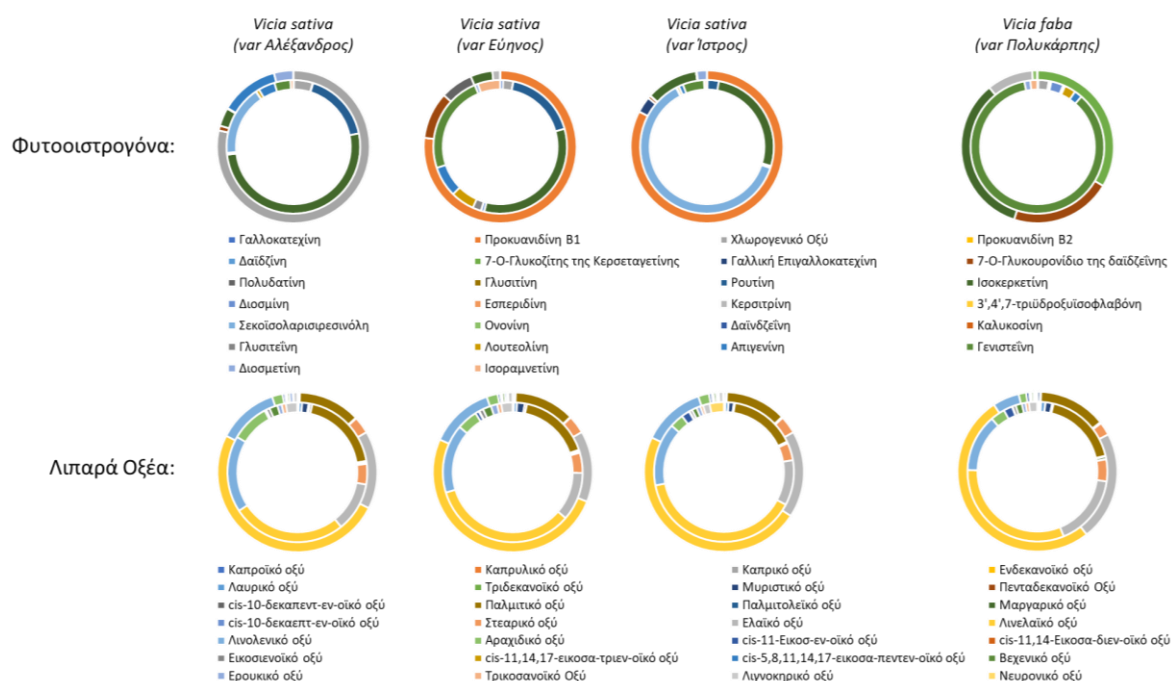
Εικόνα 72 Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών ενώσεων (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα των σπερμάτων *Vicia*.



Εικόνα 73 Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα δείγματα των σπερμάτων *Vicia*.

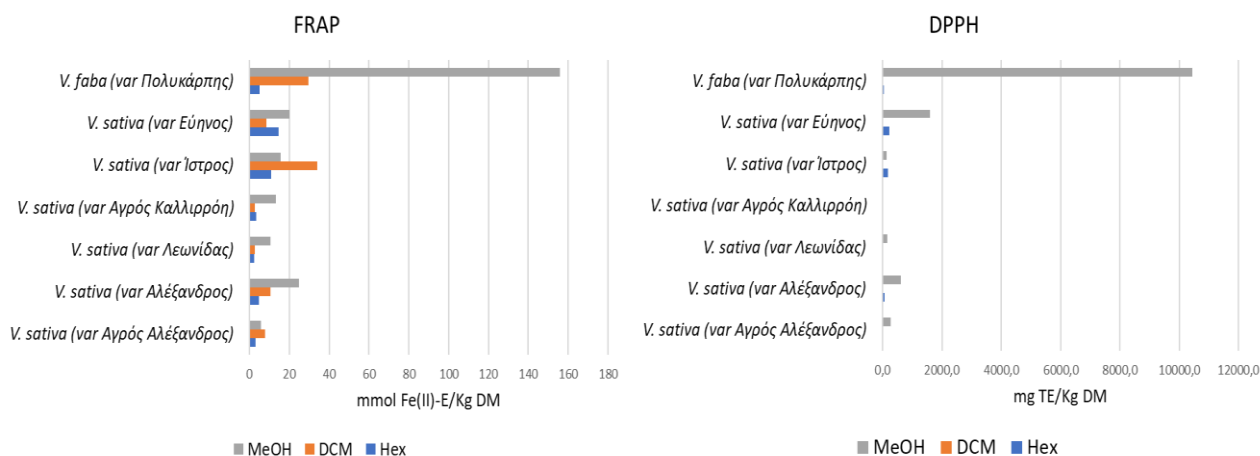
Η μελέτη των λιπαρών οξέων δεν ανέδειξε κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ των φυτών παρά μόνο ότι στα σπέρματα παρατηρήθηκε διαφορά στην ποσοτική

σύσταση. Τέλος, η σύγκριση μεταξύ του φυτού και του αντίστοιχου σπέρματος ανέδειξε διαφορές στην περιεκτικότητά τους, αφού στον βίκο Αλέξανδρο πιστοποιήθηκε η παρουσία των κοινών φυτοοιστρογόνων, ισοκερκετίνη, απιγενίνη και χλωρογενικό οξύ, ενώ στο κουκί Πολυκάρπης δεν ανιχνεύτηκε κάποιο από τα κοινά φυτοοιστρογόνα. Αυτό αποδεικνύει τη διαφορά της βιοσύνθεσης των δευτερογενών μεταβολιτών στα διαφορετικά μέρη του φυτού.

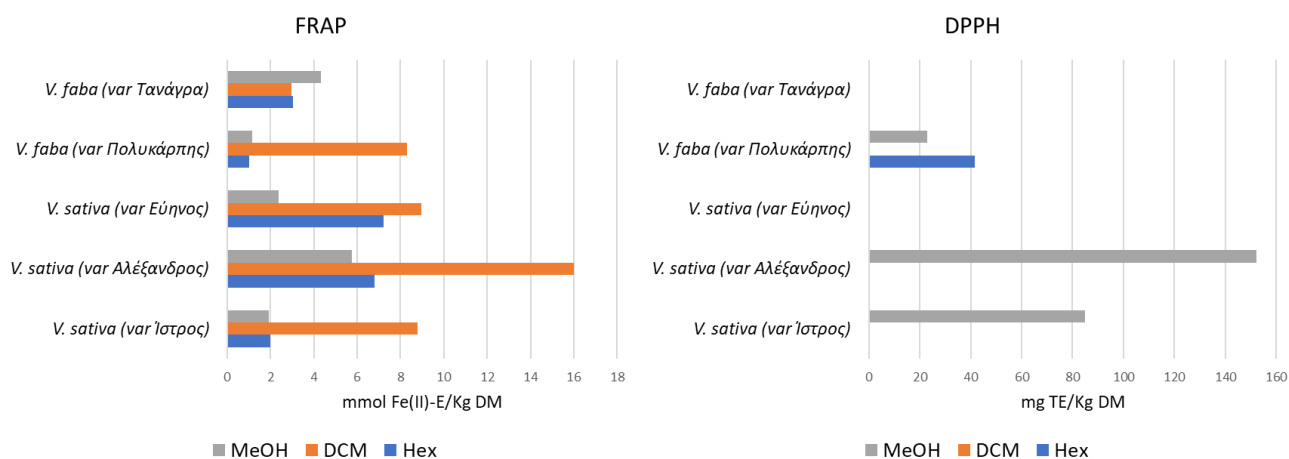


Εικόνα 74 Συγκριτική σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των φυτοοιστρογόνων (πάνω) και των λιπαρών οξέων (κάτω) στα σπέρματα (εξωτερικός κύκλος) και στα αντίστοιχα φυτά (εσωτερικός κύκλος).

Όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα των φυτών *Vicia*, δραστικότερο ήταν το μεθανολικό εκχύλισμα του φυτού *V. faba* (var. Πολυκάρπης) που εμφάνισε την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα με τις μεθόδους FRAP και DPPH, ενώ στα σπέρματα ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση εμφάνισε το σπέρμα του *V. sativa* (var. Αλέξανδρος). Στη μέθοδο FRAP δραστικότερο εκχύλισμα ήταν το διχλωρομεθανικό, ενώ στην DPPH ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση εμφάνισε το μεθανολικό εκχύλισμα της ποικιλίας βίκος Αλέξανδρος, ακολουθούμενο από το μεθανολικό εκχύλισμα του βίκου Ιστρος.

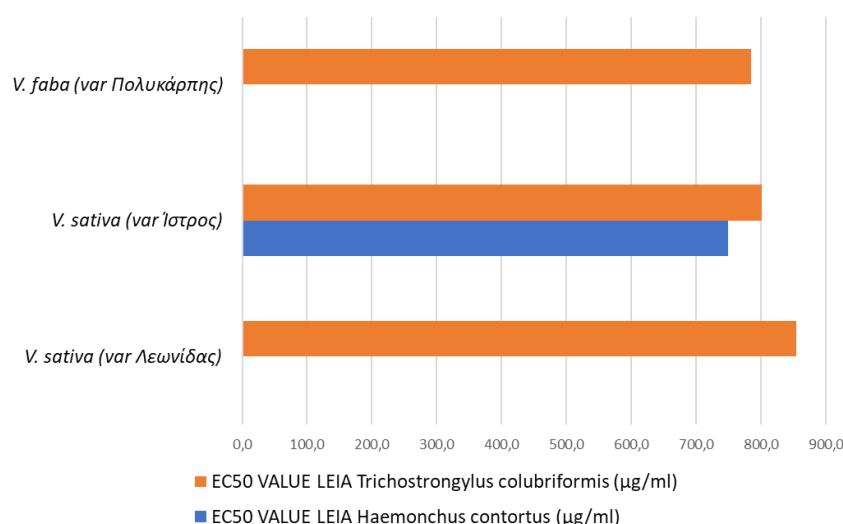


Εικόνα 75 Διάγραμμα απεικόνισης της αντιοξειδωτικής δράσης των φυτών *Vicia*



Εικόνα 76 Διάγραμμα απεικόνισης της αντιοξειδωτικής δράσης των σπερμάτων *Vicia*.

Αντιπαρασιτική δράση έναντι του *T. colubriformis* εμφάνισαν τα μεθανολικά εκχυλίσματα των φυτών *V. sativa* (var. Λεωνίδας), *V. sativa* (var. Ίστρος) και *V. faba* (var. Πολυκάρπη), ενώ έναντι του *H. contortus* μόνο το *V. sativa* (var. Ίστρος).



Εικόνα 77 Αντιπαρασιτική δράση των φυτών *V. faba* και *V. sativa*.

3.7. *Medicago* (*M. sativa*)

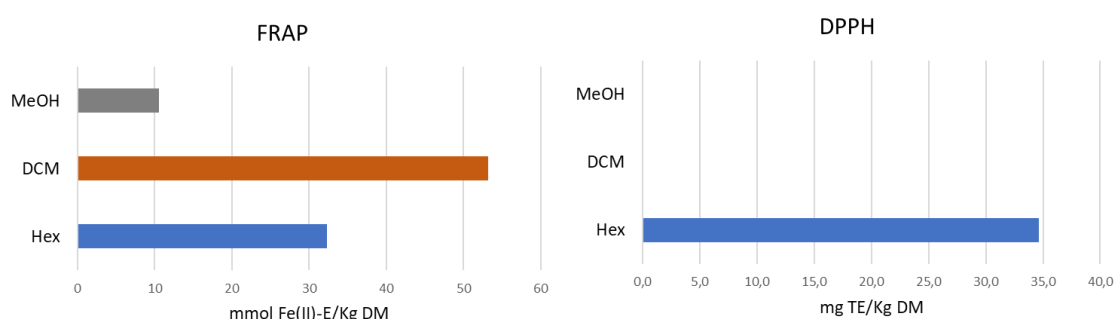
Η μηδική, δηλαδή το φυτό *Medicago sativa* ή αλλιώς τριφύλλι αλφαλφα είναι ένα από τα πλέον διαδεδομένα κτηνοτροφικά φυτά. Στη διατριβή μελετήθηκε η ποικιλία *M. sativa* που προέρχεται από βελτίωση. Η ολική περιεκτικότητα του φυτού σε καροτενοειδή ήταν αρκετά υψηλή, με συνολική τιμή για τα εκχυλίσματα εξανίου και διχλωρομεθανίου να είναι 282,4mg β-CE/Kg DM, ενώ η τιμή 1.711,1mg GAE/Kg DM για τα περιεχόμενα φαινολικά μόρια στο μεθανολικό εκχύλισμα μαρτυρά την υψηλή περιεκτικότητα στα μόρια αυτά. Όσον αφορά την περιεκτικότητα σε ταννίνες, το δείγμα ήταν φτωχό.

Το τριφύλλι αλφαλφα είναι ένα ευρέως μελετημένο είδος της οικογένειας των *Fabaceae*. Το περιεχόμενό του σε καροτενοειδή έχει μελετηθεί και μάλιστα σε έρευνα του 2008 χρησιμοποιήθηκε το φυτό αυτό -λόγω της περιεκτικότητάς του σε καροτενοειδή- ως πρόσθετο για την τροφή των χρυσόψαρων *Carassius auratus*, επιφέροντας σημαντική αύξηση του χρωματισμού του δέρματος όταν η μηδική συμμετείχε μέχρι και 25% (Yanar και άλλοι, 2008). Επίσης, έχουν μελετηθεί τα φύλλα του *M. sativa* τα οποία έχουν αναδειχθεί ως μια πλούσια πηγή φαινολών με TPC 37mg GAE/g DM, όσο και τα άνθη, με υψηλότερη τιμή TPC 263mg GAE/g DM (Ali Esmail Al-Snafi και άλλοι, 2021), επιβεβαιώνοντας την υψηλή περιεκτικότητα των δευτερογενών αυτών μεταβολιτών στο φυτό.

Η μελέτη του φυτοοιστρογονικού περιεχομένου του φυτού ανέδειξε ως πλουσιότερο μεταβολίτη την απιγενίνη (23,1mg/Kg DM) ακολουθούμενη από τη διοσμετίνη και την ισοκερκετίνη. Σε μελέτη του 2020 στην οποία προσδιορίστηκε το πολυφαινολικό περιεχόμενο του φυτού *M. sativa* σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης, ανιχνεύτηκαν 30 πολυφαινόλες. Από αυτές, στο τριφύλλι ανιχνεύτηκαν το καφεϊκό οξύ, η μυρισετίνη, η γενιστίνη, το χλωρογενικό οξύ, η απιγενίνη, η καμφερόλη και η εσπερετίνη, ενώ σε κάποια στάδια ανάπτυξης εντοπίστηκαν και τα μόρια φορμονονετίνη, γενιστεΐνη, γλυσιτεΐνη, δαϊδζίνη και δαϊδζεΐνη (Chiriac και άλλοι, 2020).

Η μελέτη του περιεχομένου σε λιπαρά οξέα έδειξε για ακόμα μία φορά ότι σε υψηλότερες συγκεντρώσεις ευρίσκονται τα λιπαρά οξέα λινολενικό, παλμιτικό, λινελαϊκό, στεαρικό και ελαϊκό. Όμως, στο φυτό που μελετήθηκε βρέθηκε σε παρόμοια ή λίγο χαμηλότερη συγκέντρωση και ελαϊκό οξύ, καθώς και τα λιπαρά οξέα αραχιδικό, μυριστικό, βεχενικό και λιγνοκηρικό. Σε πρόσφατη έρευνα για το φυτό *Medicago sativa* L., var. *Giulia* αποδείχτηκε πως τα κύρια λιπαρά οξέα που περιέχει είναι το λινολενικό και το λινελαϊκό οξύ (Pellegrino και άλλοι, 2022).

Η μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων έδειξε ότι το εξανικό εκχύλισμα εμφάνισε την καλύτερη δράση με τη μέθοδο DPPH, ενώ και στη μέθοδο FRAP η δράση του ήταν αρκετά υψηλή. Δεύτερο σε αποτελεσματικότητα είναι το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα, ενώ η ποικιλία Μηδική εμφανίζει αντιπαρασιτική δράση έναντι των παρασίτων *Haemonchus contortus* (EC₅₀ 629,2μg/mL) και *Trichostrongylus colubriformis* (EC₅₀ 639,3μg/mL).



Εικόνα 78 Διαγραμματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης του *M. sativa*.

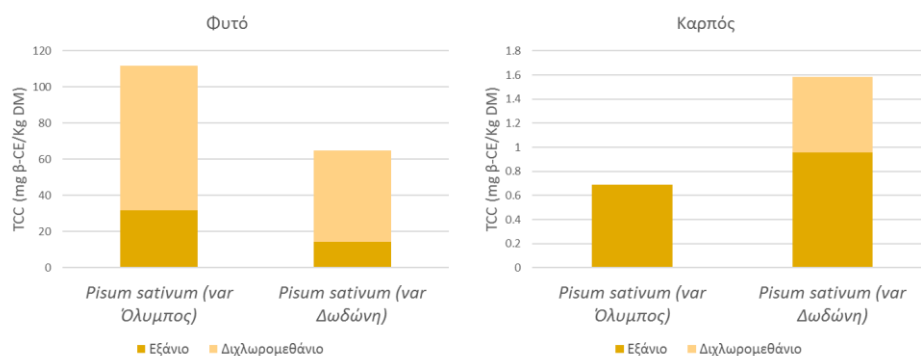
3.8. *Pisum (P. sativum)*

Η μελέτη των δύο γενετικά βελτιωμένων ειδών *Pisum sativum* με τις ονομασίες Όλυμπος και Δωδώνη έγινε στα εκχυλίσματα των φυτών και των σπερμάτων τους. Τα σχετικά αποτελέσματα έδειξαν ότι ο φυτικός ιστός είναι πιο πλούσιος σε μεταβολίτες σε σύγκριση με τα σπέρματα, εμφανίζοντας υψηλότερες τιμές TCC και TPC. Όσον αφορά την περιεκτικότητα σε ταννίνες, μόνο στο φυτό της ποικιλίας Όλυμπος ανιχνεύτηκαν οι μεταβολίτες αυτοί.

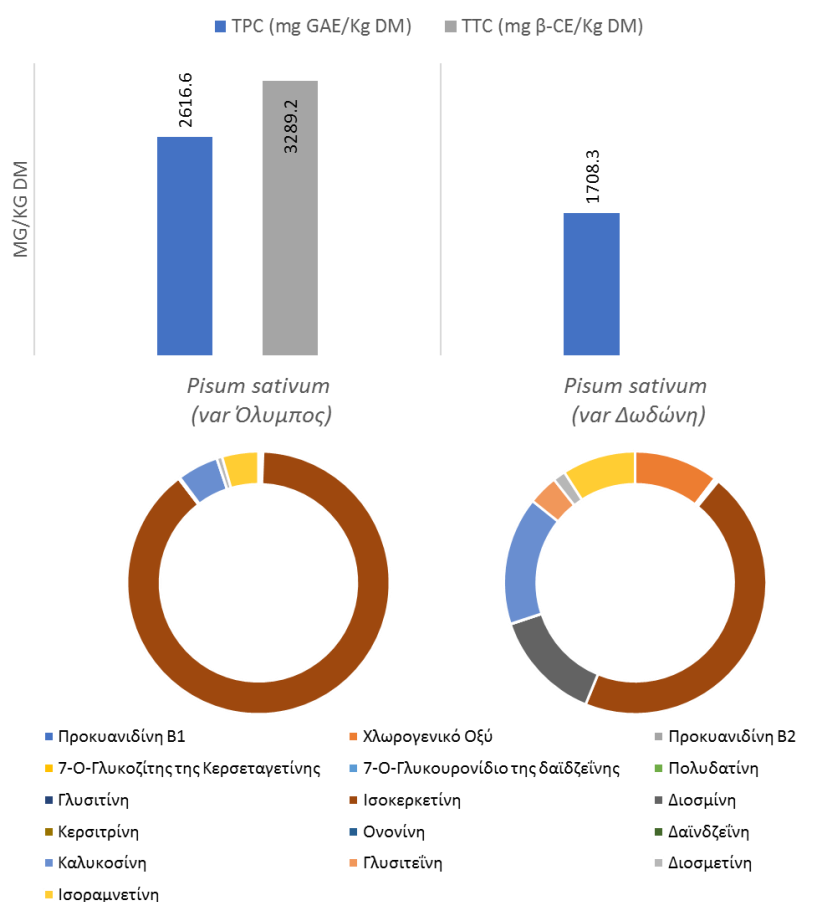
Η μελέτη της περιεκτικότητας των σπερμάτων στις έξι ποικιλίες (Avala, Tristar, Rampart, Turon, Bella, and Greenshaft) μπιζελιού/αρακά σε καροτενοειδή έδειξε ότι περιέχουν νεοξανθίνη, βιολαξανθίνη και λουτεΐνη (Edelenbos και άλλοι, 2001). Στη διατριβή μελετήθηκε μόνο η ολική περιεκτικότητα σε καροτενοειδή και τα αποτελέσματα συνοψίζονται στην Εικόνα 90.

Και στα δύο φυτά του *P. sativum* σε μεγαλύτερη αφθονία ανιχνεύτηκε το φυτοοιστρογόνο ισοκερκετίνη και σε μικρότερη ποσότητα η καλυκοσίνη. Στην ποικιλία Δωδώνη ανιχνεύτηκαν και τα μόρια διοσμίνη, χλωρογενικό οξύ και γλυσιτεΐνη. Αντίστοιχα, τα σπέρματα Όλυμπος και Δωδώνη περιέχουν κυρίως ισοκερκετίνη, ενώ και τα δύο σπέρματα βρέθηκε να περιέχουν κερσιτρίνη που δεν ανιχνεύτηκε στα φυτά.

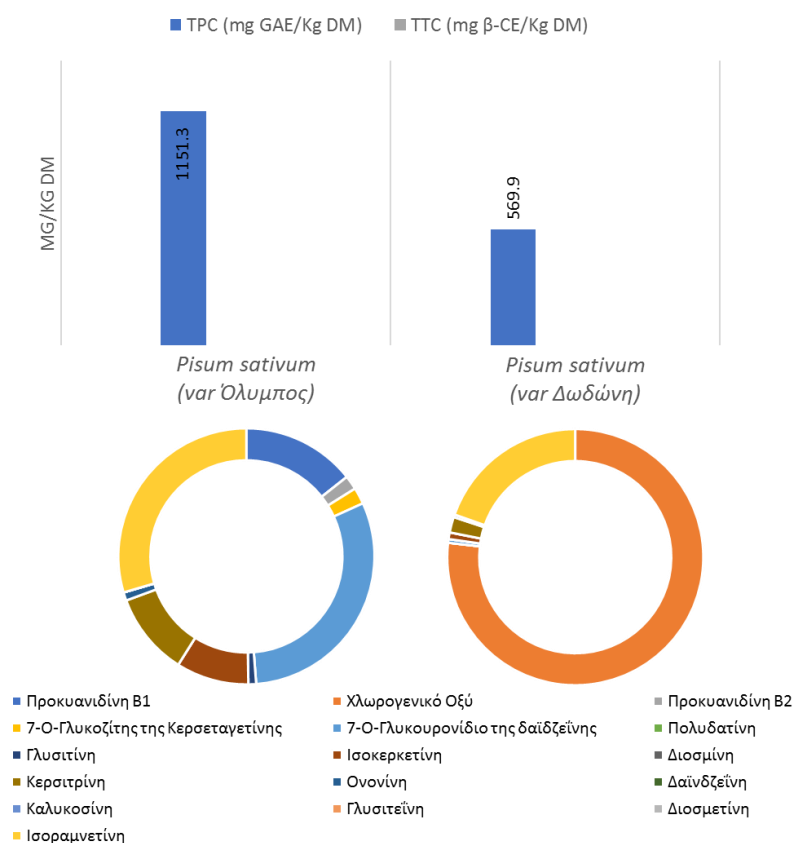
Τα τελευταία χρόνια έχει εκδηλωθεί ένα σημαντικό ερευνητικό ενδιαφέρον για το φαινολικό περιεχόμενο των φυτών *P. sativum*. Σε αυτά έχει εντοπιστεί συνολικά η παρουσία 115 δομικά διαφορετικών φαινολικών ενώσεων, με την πλειονότητά τους να είναι ελεύθερες ή γλυκοσυλιωμένες φλαβονόλες. Ένας σημαντικός αριθμός 3-Ο-γλυκοσιδών της καμφερόλης και της κερκετίνης έχει εντοπιστεί κυρίως στα υπέργεια μέρη, αλλά και τους λοβούς του μπιζελιού, ενώ έχει πιστοποιηθεί και η παρουσία των φαινολικών οξέων π-κουμαρικό, καφεϊκό, φερουλικό, σιναπικό και κινναμικό (Fahim και άλλοι, 2019). Άλλοι δευτερογενείς μεταβολίτες που έχουν βρεθεί σε υψηλές συγκεντρώσεις στο φυτό του μπιζελιού είναι η απιγενίνη και η λουτεολίνη (Rungruangmaitree και Jiraungkoorskul 2017).



Εικόνα 79 Διαγραμματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας καροτενοειδών στα δείγματα *P. sativum* που μελετήθηκαν.

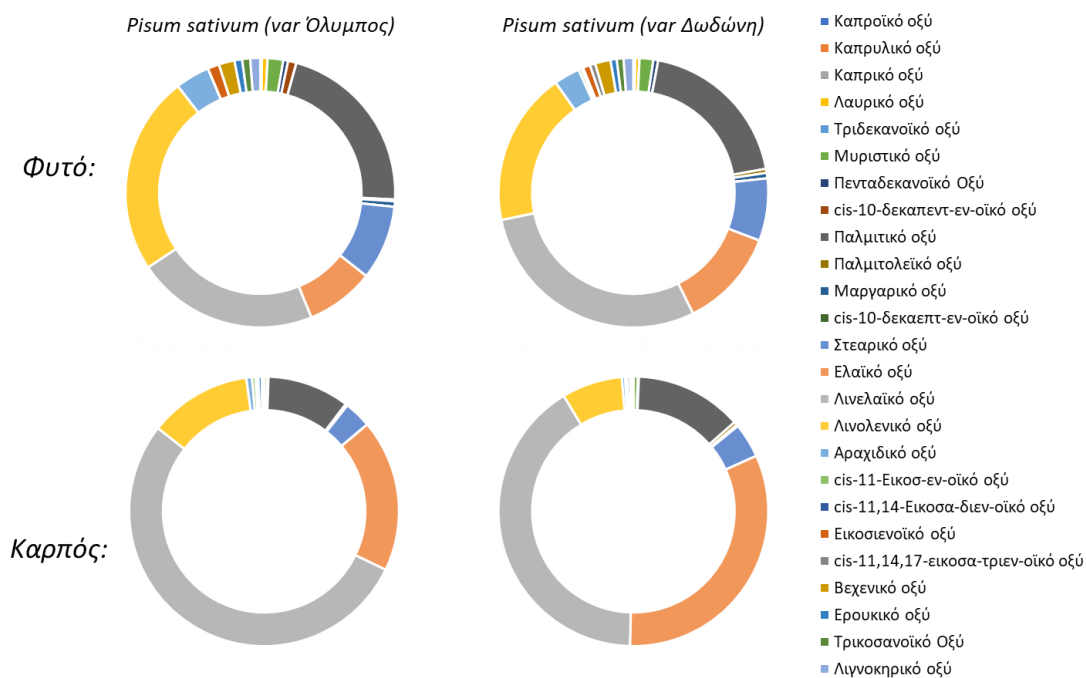


Εικόνα 80 Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα φυτών *P. sativum*.



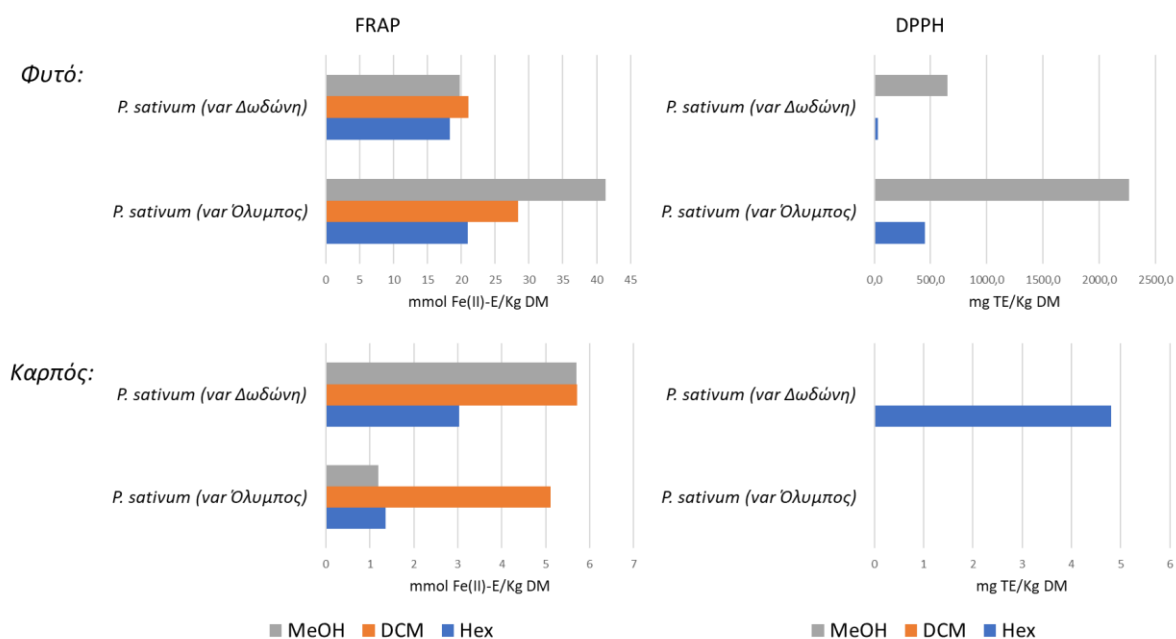
Εικόνα 81 Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα σπερμάτων *P. sativum*.

Η μελέτη των λιπαρών οξέων έδειξε ότι και στα φυτικά αυτά είδη εμπεριέχονται σε υψηλότερη περιεκτικότητα τα οξέα λινελαϊκό, λινολενικό, ελαϊκό, παλμιτικό και στεαρικό, ενώ είναι χαρακτηριστικό ότι το σπέρμα της ποικιλίας Δωδώνη περιέχει ελαϊκό οξύ σε πολύ μεγαλύτερη συγκέντρωση σε σύγκριση με τα υπόλοιπα δείγματα *Pisum*. Η μελέτη των λιπαρών οξέων στα μπιζέλια ξεκίνησε πριν από αρκετά χρόνια πιστοποιώντας ότι τα δύο λιπαρά οξέα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση είναι τα οξέα λινολεϊκό και παλμιτικό (Lee και Mattick 1961).



Εικόνα 82 Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας λιπαρών οξέων σε όλα τα δείγματα *P. sativum* που μελετήθηκαν.

τα αποτελέσματα του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων *Pisum* παρουσιάζονται στην Εικόνα 94 δείχνοντας ότι τα μεθανολικά και διχλωρομεθανικά εκχυλίσματα έχουν καλύτερη απόκριση στη μέθοδο FRAP, ενώ τα εξανικά και διχλωρομεθανικά εκχυλίσματα είναι αυτά που υπερέχουν στη μέθοδο DPPH. Όσον αφορά την αντιπαρασιτική τους δράση η ποικιλία Δωδώνη έδειξε δράση έναντι του *T. colubriformis* με EC_{50} 825,1 μ g μεθανολικού εκχυλίσματος/mL.



Εικόνα 83 Διαγραμματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης όλων των δειγμάτων *P. sativum* που μελετήθηκαν.

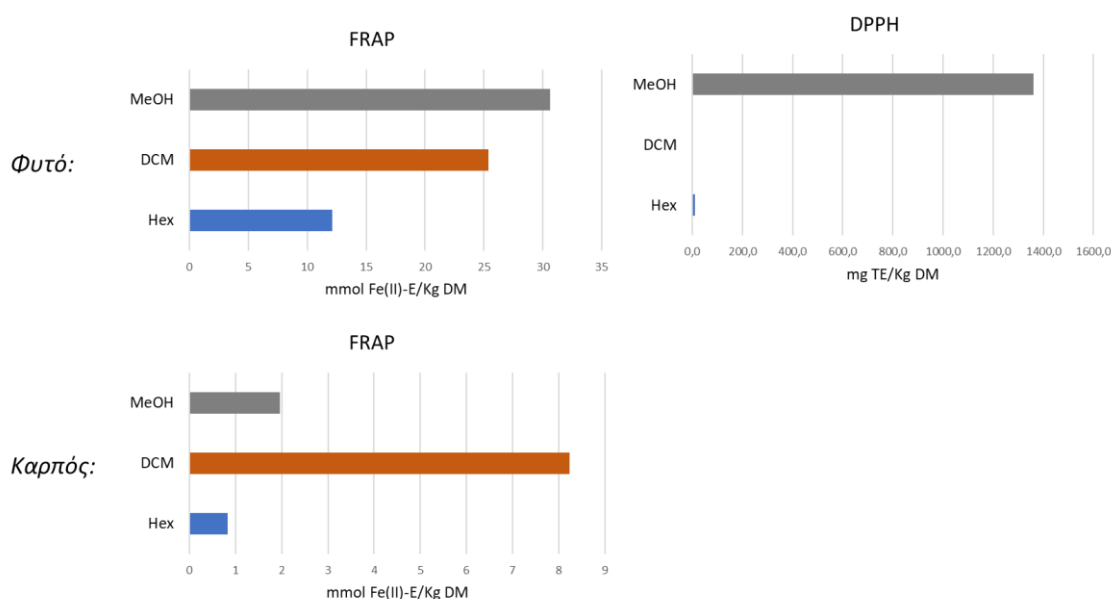
3.9. *Phaseolus* (*P. vulgaris*)

Από το γένος *Phaseolus* μελετήθηκε μία ποικιλία του είδους *P. vulgaris*, της γνωστής φασολιάς, με το όνομα Πυργετός. Η ποικιλία αυτή προέρχεται από το Ινστιτούτο Βιομηχανικών και Κτηνοτροφικών Φυτών της Λάρισας και αποτελεί διασταύρωση της τοπικής ποικιλίας “Καρούμπα” της Λαμίας με την αμερικάνικη Harvester. Η μελέτη του φυτού έγινε είτε με την εκχύλιση ολόκληρου του φυτού ή μόνο των σπερμάτων του.

Η μελέτη της ολικής περιεκτικότητας των δύο δειγμάτων σε καροτενοειδή, έδειξε για μία ακόμη φορά πως το φυτό είναι πλουσιότερο σε σύγκριση με το σπέρμα του αφού το TCC του φυτού ήταν 83,5mg β-CE/Kg DM και του σπέρματος μόλις 0,1mg β-CE/Kg DM. Και στην περίπτωση των ολικών φαινολικών το φυτό εμφάνισε υψηλότερη τιμή TPC (2.132,0mg GAE/Kg DM) σε σύγκριση με το σπέρμα (345,4mg GAE/Kg DM). Το σπέρμα ήταν πλουσιότερος μόνο σε ταννίνες. Άλλωστε, προηγούμενες έρευνες σε σπέρματα φασολιού έχουν δείξει ότι περιέχει μεγάλο αριθμό φαινολικών, όπως φλαβονόλες, προανθοκυανιδίνες, ανθοκυανιδίνες και ταννίνες (Hayat και άλλοι, 2014). Θα πρέπει να επισημανθεί ότι οι ανθοκυανιδίνες περιέχονται μόνο στα μαύρα και μπλε-βιολετί φασόλια (Romani και άλλοι, 2004), ενώ οι προκυανιδίνες σε σχεδόν όλες τις ποικιλίες φασολιών (de Mejía και άλλοι, 2003).

Η μελέτη του φυτοοιστρογονικού περιεχομένου του μεθανολικού εκχυλίσματος του φυτού *P. vulgaris* έδειξε ότι σε υψηλότερη συγκέντρωση εμπεριέχονται τα φυτοοιστρογόνα: κερκετίνη (13,1mg/Kg DM), ρουτίνη (9,7mg/Kg DM), γενιστεΐνη (6,0mg/Kg DM), δαϊδζεΐνη (3,5mg/Kg DM) και λουτεολίνη (2,7mg/Kg DM), ενώ η μελέτη του φυτοοιστρογονικού περιεχομένου των σπερμάτων του φασολιού Πυργετός ανέδειξε ως φυτοοιστρογόνα με την υψηλότερη περιεκτικότητα τα μόρια υδροxyυτυροσώλη (10,9mg/Kg DM) και δαϊδζίνη (3,2mg/Kg DM).

Το προφίλ των λιπαρών οξέων του φυτού *P. vulgaris* (var Πυργετός) είναι παρόμοιο με αυτό του *M. sativa* (var Μηδική), ενώ των σπερμάτων του φασολιού διαφέρει ως προς την ποσότητα εκάστου λιπαρού οξέος. Συγκεκριμένα, σε υψηλότερη συγκέντρωση ανιχνεύτηκε το λινελαϊκό οξύ, ακολουθούμενο από τα οξέα λινολενικό, παλμιτικό, ελαϊκό και στεαρικό, ενώ στο φυτό σε υψηλότερη συγκέντρωση ανιχνεύτηκε το λινολενικό οξύ, ακολουθούμενο από τα οξέα παλμιτικό, λινελαϊκό, στεαρικό και ελαϊκό.



Εικόνα 84 Διαγραμματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων *P. vulgaris*.

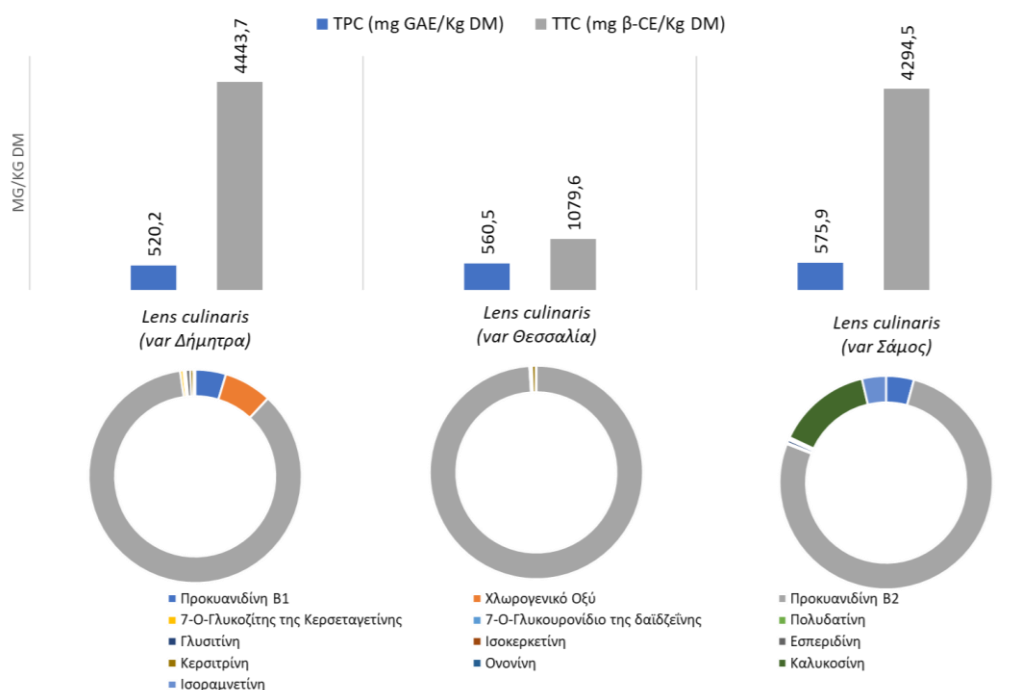
Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των δειγμάτων έδειξε ότι στο φυτό το εκχύλισμα με την αποτελεσματικότερη δράση είναι το μεθανολικό, ενώ στα σπέρματα αποτελεσματικότερο με τη μέθοδο FRAP αναδείχτηκε το διχλωρομεθανικό

εκχύλισμα. Τέλος, το μεθανολικό εκχύλισμα του φυτού Πυργετός προσδιορίστηκε ως δραστικό έναντι του *Haemonchus contortus* (EC₅₀ 813,3μg/mL).

3.10. *Lens* (*L. culinaris*)

Από το γένος *Lens* μελετήθηκαν μόνο τα σπέρματα τριών βελτιωμένων φυτών ποικιλιών φακής *L. culinaris*, των Δήμητρα, Θεσσαλία και Σάμος.

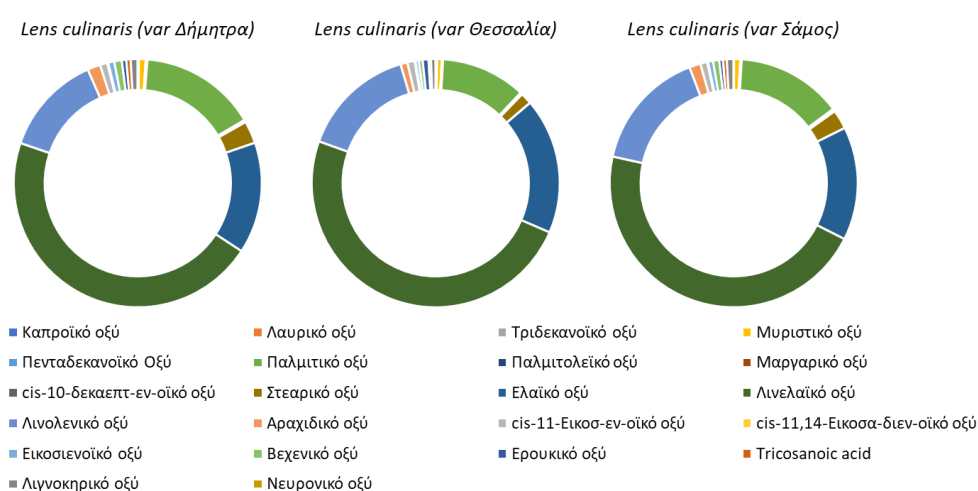
Η μελέτη του περιεχομένου τους σε καροτενοειδή ανέδειξε ως πλουσιότερη την ποικιλία Θεσσαλία με 1,87mg β-CE/Kg DM, ενώ τα ίδια σπέρματα αποδείχτηκαν φτωχά σε ολικές ταννίνες, σύμφωνα με την Εικόνα 96. Επιπλέον, η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά ήταν παρόμοια και στις τρεις ποικιλίες σπερμάτων φακής που μελετήθηκαν. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι βιβλιογραφικά οι τιμές των TPC που έχουν μετρηθεί για τις διάφορες ποικιλίες φακής είναι σε εύρος 0,11-9,68mg GAE/g DM (Zhang και άλλοι, 2018). Τέλος, οι φακές αυτές προσδιορίστηκαν να έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε ταννίνες, γεγονός που επιβεβαιώνεται και βιβλιογραφικά (Pal και άλλοι, 2017).



Εικόνα 85 Σχηματική απεικόνιση της ολικής περιεκτικότητας φαινολικών (TPC) και ταννινών (TTC), καθώς και των φυτοοιστρογόνων στα δείγματα φακής που μελετήθηκαν.

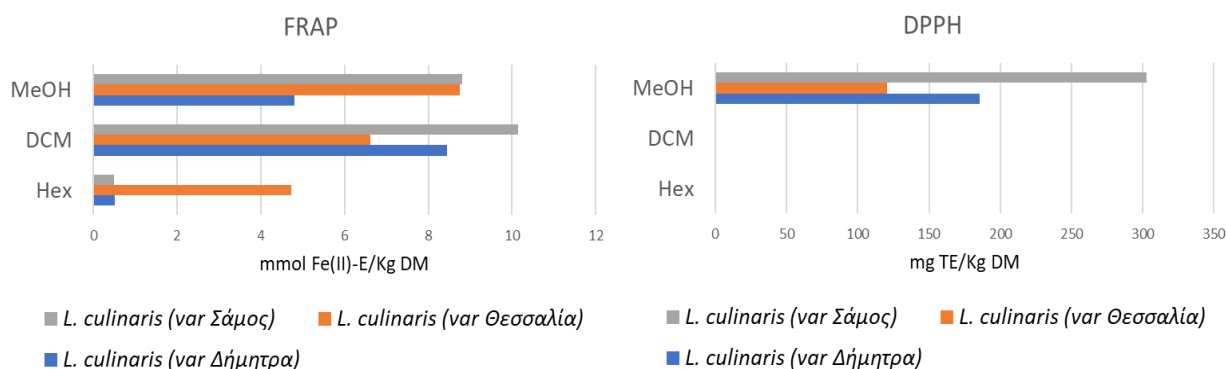
Όσον αφορά την περιεκτικότητα των δειγμάτων σε επιμέρους φυτοοιστρογόνα, η προκυανιδίνη B2 ανιχνεύτηκε και στα τρία είδη σπερμάτων. Μάλιστα, για την ποικιλία

Θεσσαλία η προκυανιδίνη B2 αποτελεί το κύριο φυτοοιστρογόνο, με τα υπόλοιπα φυτοοιστρογόνα να είναι σε πολύ μικρή περιεκτικότητα. Στην ποικιλία Δήμητρα εκτός της προκυανιδίνης B2 σε υψηλή συγκέντρωση ανιχνεύτηκαν το χλωρογενικό οξύ και η προκυανιδίνη B1. Στην ποικιλία Σάμος δεύτερο σε αφθονία φυτοοιστρογόνο ήταν η καλυκοσίνη, ακολουθούμενη από την προκυανιδίνη B1. Σε διάφορες μελέτες που έχουν γίνει σε σπέρματα *L. culinaris* έχει ανιχνευτεί η παρουσία καμφερόλης, γλυκοζυλιομένης κερκετίνης, κατεχίνης, επικατεχίνης και προκυανιδινών B (Zhang και άλλοι, 2018).



Εικόνα 86 Σχηματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των λιπαρών οξέων στα δείγματα φακής που μελετήθηκαν.

Ανάλογα με τις μελέτες σε άλλα σπέρματα ψυχανθών, και στην περίπτωση της ποικιλίας *L. culinaris* παρατηρήθηκε ότι τα λιπαρά οξέα που απαντώνται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στα σπέρματα είναι τα οξέα λινελαϊκό, ελαϊκό, λινολενικό, παλμιτικό και στεαρικό. Είναι δε χαρακτηριστικό ότι τόσο η σύνθεση, όσο και οι ποσότητες των λιπαρών οξέων ήταν σχεδόν πανομοιότυπες στα σπέρματα και των τριών ποικιλιών που μελετήθηκαν στη διατριβή. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται βιβλιογραφικά και για άλλα είδη του γένους (Pal και άλλοι 2017).



Εικόνα 87 Διαγραμματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων φακής.

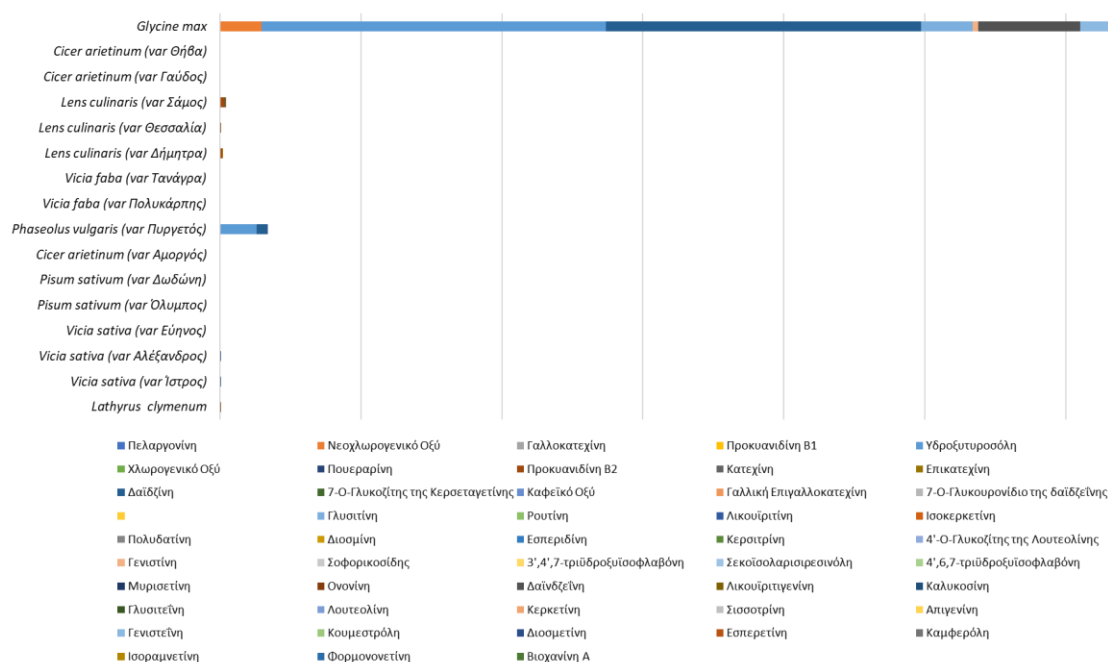
Αντίστοιχα υψηλή είναι και η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων των σπερμάτων φακής. Συγκεκριμένα, η υψηλότερη δράση προσδιορίστηκε με τη μέθοδο DPPH για τα μεθανολικά εκχυλίσματα, με αξιολογότερη της ποικιλίας Σάμος ακολουθούμενη κατά σειρά από τις ποικιλίες Δήμητρα και Θεσσαλία. Στη μέθοδο FRAP η ποικιλία Θεσσαλία παρουσιάζει την καλύτερη δράση και στους τρεις διαλύτες εκχύλισης, ενώ για τις άλλες δύο ποικιλίες *L. culinaris* τα εξανικά εκχυλίσματα είναι τα λιγότερο αποτελεσματικά σε σύγκριση με τα εκχυλίσματα διχλωρομεθανίου και μεθανόλης.

3.11. *Glycine* (*G. max*)

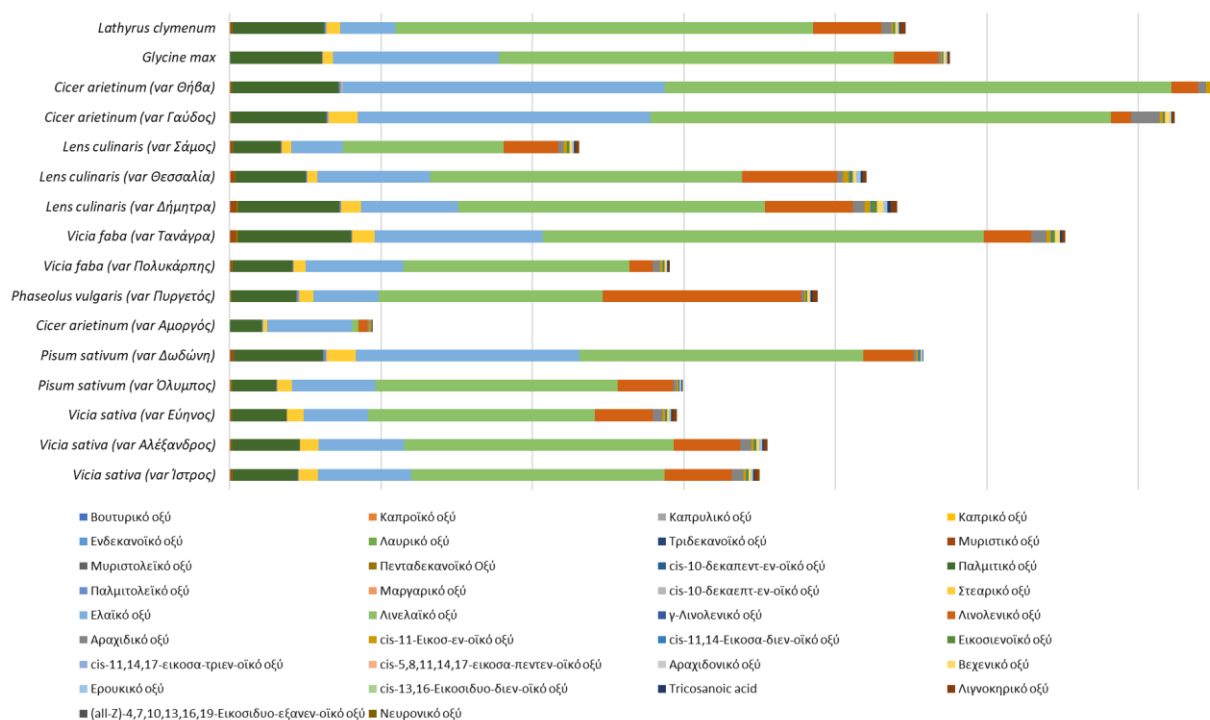
Από το γένος *Glycine* μελετήθηκαν τα σπέρματα της *G. max* (σόγια εμπορίου), οι οποίοι χρησιμοποιούνται ευρύτατα στη διατροφή των ζώων ως μία πολύ καλή πηγή πρωτεϊνών και θρεπτικών συστατικών.

Η μελέτη των σπερμάτων σόγιας προσδιόρισε τιμή TCC πολύ χαμηλότερη (0,25mg β-CE/Kg DM) σε σύγκριση με τα υπόλοιπα σπέρματα που μελετήθηκαν στη διατριβή, τα οποία εμφάνισαν τιμές TCC μεγαλύτερες της σόγιας με εξαίρεση τα σπέρματα φασολιού Πυργετός. Επιπλέον, βρέθηκε να έχει υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά μόρια (565,7mg β-CE/Kg DM), η οποία όμως είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με άλλα σπέρματα, όπως οι *P. sativum* (var Όλυμπος), *V. sativa* (var Εύηνος και Ίστρος) ή παρόμοια των φυτών *C. arietinum* (var Γαύδος), *L. culinaris* (var Σάμος, Θεσσαλία, Δήμητρα) και *P. sativum* (var Δωδώνη). Όσον αφορά το φυτοοιστρογονικό της περιεχόμενο παρατηρήθηκε ότι περιέχει κυρίως δαϊδζίνη (133,6mg/Kg DM), υδροξυτυροσόλη (123,9mg/Kg DM), δαϊδζεΐνη (36,7mg/Kg DM), γλυσιτεΐνη (18,6mg/Kg

DM), νεοχλωρογενικό οξύ (15,1mg/Kg DM) και γενιστεΐνη (10,7mg/Kg DM). Θα πρέπει να επισημανθεί ότι αθροιστικά το σύνολο του φυτοοιστρογονικού περιεχομένου των σπερμάτων της σόγιας είναι πολύ υψηλότερο σε σύγκριση με όλους τα υπόλοιπα σπέρματα Τέλος, από τα λιπαρά οξέα σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα προσδιορίστηκαν τα οξέα λινελαϊκό (5,5g/Kg DM), ελαϊκό (2,3g/Kg DM), παλμιτικό (1,3g/Kg DM) και λινολενικό (0,6g/Kg DM).

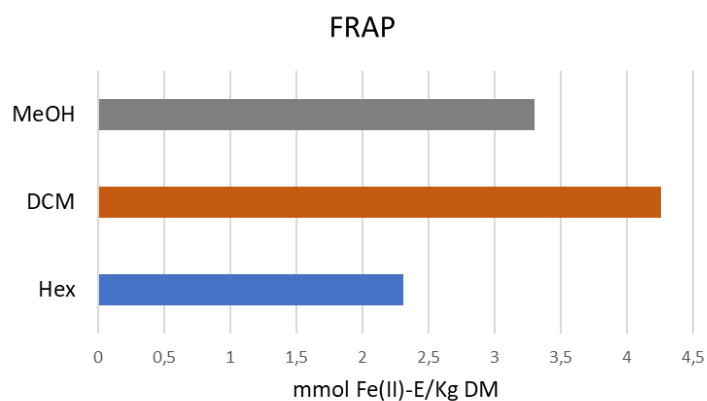


Εικόνα 88 Συγκριτική διαγραμματική απεικόνιση της περιεκτικότητας των δειγμάτων σπερμάτων σε φυτοοιστρογόνα.



Εικόνα 89 Συγκριτική διαγραμματική απεικόνιση της περιεκτικότητας λιπαρών οξέων των δειγμάτων σπερμάτων.

Όσον αφορά την αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων των σπερμάτων της *G. max* δεν ήταν δραστικά στη μέθοδο DPPH, ενώ στη FRAP δραστικότερο ήταν το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα ακολουθούμενο από το μεθανολικό και το εξανικό.



Εικόνα 90 Διαγραμματική απεικόνιση της αντιοξειδωτικής δράσης των σπερμάτων σόγιας.

Βιβλιογραφία

Acar, Z., Gülümser, E., Leblebici, S., Ayan, İ., Darcan, C., 2021. Secondary metabolite changes in tedara (*Bituminaria bituminosa* L.) genotypes in different growing period. *Tarım Bilimleri Dergisi*. <https://doi.org/10.15832/ankutbd.984689>

Ali Esmail Al-Snafi, Hanaa Salman Khadem, Hussein Ali Al-Saedy, Ali M. Alqahtani, Gaber El-Saber Batiha, Jafari-Sales Abolfazl, 2021. A review on *Medicago sativa*: A potential medicinal plant. *Int. J. Biol. Pharm. Sci. Arch.* 1, 022–033. <https://doi.org/10.30574/ijbpsa.2021.1.2.0302>

Arbaoui, M., Link, W., 2008. Effect of hardening on frost tolerance and fatty acid composition of leaves and stems of a set of faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. *Euphytica* 162, 211–219. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9521-4>

Astragalus Creticus GBIF: Global Biodiversity Information Facility. URL https://www.gbif.org/occurrence/gallery?taxon_key=5352729 (Πρόσβαση: 28/8/2022).

Barro, C., González, G., 1981. Identification and estimation of carotenoids in lyophilised meals of four *Vicia* species at five different stages of growth. *J. Sci. Food Agric.* 32, 279–282. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740320312>

Bernatoniene, J., Kopustinskiene, D., 2018. The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress. *Molecules* 23, 965. <https://doi.org/10.3390/molecules23040965>

Bidar, G., Verdin, A., Garçon, G., Pruvot, C., Laruelle, F., Grandmougin-Ferjani, A., Douay, F., Shirali, P., 2008. Changes in Fatty Acid Composition and Content of Two Plants (*Lolium perenne* and *Trifolium repens*) Grown During 6 and 18 Months in a Metal (Pb, Cd, Zn) Contaminated Field. *Water Air Soil Pollut* 192, 281–291. <https://doi.org/10.1007/s11270-008-9655-6>

Bitkileri, K., *Lathyrus laxiflorus* (Deli burçak). URL <http://kocaelibitkileri.com/lathyrus-laxiflorus/#jp-carousel-5495> (Πρόσβαση: 28/2/2022).

Butkutė, B., Lemežienė, N., Dagilytė, A., Cesevičienė, J., Benetis, R., Mikaliūnienė, J., Rodovičius, H., 2016. Mineral Element and Total Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Seeds and Aerial Plant Parts of Perennial Legumes. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 47, 36–45. <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1232092>

Butkutė, B., Padarauskas, A., Cesevičienė, J., Pavilonis, A., Taujenis, L., Lemežienė, N., 2017. Perennial legumes as a source of ingredients for healthy food: proximate, mineral and phytoestrogen composition and antibacterial activity. *J Food Sci Technol* 54, 2661–2669. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2703-8>

Chaieb, N., González, J.L., López-Mesas, M., Bouslama, M., Valiente, M., 2011. Polyphenols content and antioxidant capacity of thirteen faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes cultivated in Tunisia. *Food Research International* 44, 970–977. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.026>

Chaumont, D., Gudin, C., 1985. Division and growth of mesophyll cells isolated from *Psoralea bituminosa* leaves. *Enzyme and Microbial Technology* 7, 437–442. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(85\)90043-2](https://doi.org/10.1016/0141-0229(85)90043-2)

Chiriac, E.R., Chițescu, C.L., Borda, D., Lupoae, M., Gird, C.E., Geană, E.-I., Blaga, G.-V., Boscencu, R., 2020. Comparison of the Polyphenolic Profile of *Medicago sativa* L. and *Trifolium pratense* L. Sprouts in Different Germination Stages Using the UHPLC-Q Exactive Hybrid Quadrupole Orbitrap High-Resolution Mass Spectrometry. *Molecules* 25, 2321. <https://doi.org/10.3390/molecules25102321>

Cicer incisum GBIF: Global Biodiversity Information Facility. URL https://www.gbif.org/occurrence/gallery?taxon_key=2947357 (Πρόσβαση: 28/8/2022).

de Mejía, E.G., Guzmán-Maldonado, S.H., Acosta-Gallegos, J.A., Reynoso-Camacho, R., Ramírez-Rodríguez, E., Pons-Hernández, J.L., González-Chavira, M.M., Castellanos, J.Z., Kelly, J.D., 2003. Effect of Cultivar and Growing Location on the Trypsin Inhibitors, Tannins, and Lectins of Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Grown in the Semiarid Highlands of Mexico. *J. Agric. Food Chem.* 51, 5962–5966. <https://doi.org/10.1021/jf030046m>

Edelenbos, M., Christensen, L.P., Grevsen, K., 2001. HPLC Determination of Chlorophyll and Carotenoid Pigments in Processed Green Pea Cultivars (*Pisum sativum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 49, 4768–4774. <https://doi.org/10.1021/jf010569z>

Enogieru, A.B., Haylett, W., Hiss, D.C., Bardien, S., Ekpo, O.E., 2018. Rutin as a Potent Antioxidant: Implications for Neurodegenerative Disorders. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2018, 1–17. <https://doi.org/10.1155/2018/6241017>

Ertas, A., Boğa, M., Haşimi, N., Yılmaz, M.A., 2015. Fatty Acid and Essential Oil Compositions of *Trifolium angustifolium* var. *angustifolium* with Antioxidant, Anticholinesterase and Antimicrobial Activities. *Iran J Pharm Res* 14, 233–241.

Fahim, J.R., Attia, E.Z., Kamel, M.S., 2019. The phenolic profile of pea (*Pisum sativum*): a phytochemical and pharmacological overview. *Phytochem Rev* 18, 173–198. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9586-9>

Gamal-Eldeen, A.M., Kawashty, S.A., Ibrahim, L.F., Shabana, M.M., El- Negoumy, S.I., 2004. Evaluation of Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antinociceptive Properties of Aerial Parts of *Vicia sativa* and its Flavonoids. *Journal of Natural Remedies* 4, 81–96. <https://doi.org/10.18311/jnr/2004/388>

Ghaffari, M.A., Chaudhry, B.A., Uzair, M., Imran, M., Haneef, M., Ashfaq, K., 2021. Biological and phytochemical investigations of crude extracts of *Astragalus creticus*. *Pak J Pharm Sci* 34, 403–409.

Global Biodiversity Information Facility, URL <https://www.gbif.org/> (Πρόσβαση: 9/12/2022).

Hanbury, C.D., White, C.L., Mullan, B.P., Siddique, K.H.M., 2000. A review of the potential of *Lathyrus sativus* L. and *L. cicera* L. grain for use as animal feed. *Animal Feed Science and Technology* 87, 1–27. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(00\)00186-3](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00186-3)

Hayat, I., Ahmad, A., Masud, T., Ahmed, A., Bashir, S., 2014. Nutritional and Health Perspectives of Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): An Overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54, 580–592. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.596639>

Jakubczyk, K., Łukomska, A., Gutowska, I., Kochman, J., Janiś, J., Janda, K., 2021. Edible Flowers Extracts as a Source of Bioactive Compounds with Antioxidant Properties—In Vitro Studies. *Applied Sciences* 11, 2120. <https://doi.org/10.3390/app11052120>

Kaur, R., Prasad, K., 2021. Technological, processing and nutritional aspects of chickpea (*Cicer arietinum*) - A review. *Trends in Food Science & Technology* 109, 448–463. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.044>

Kolodziejczyk-Czepas, J., 2016. *Trifolium* species – the latest findings on chemical profile, ethnomedicinal use and pharmacological properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 68, 845–861. <https://doi.org/10.1111/jphp.12568>

Lee, F.A., Mattick, L.R., 1961. Fatty Acids of the Lipids of Vegetables. I. Peas (*Pisum sativum*). J Food Science 26, 273–275. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1961.tb01653.x>

Mahmoudi, M., Abdellaoui, R., Boughalleb, F., Yahia, B., Mabrouk, M., Nasri, N., 2021. Characterization of lipids, proteins, and bioactive compounds in the seeds of three *Astragalus* species. Food Chemistry 339, 127824. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127824>

Pal, R.S., Bhartiya, A., Yadav, P., Kant, L., Mishra, K.K., Aditya, J.P., Pattanayak, A., 2017. Effect of dehulling, germination and cooking on nutrients, anti-nutrients, fatty acid composition and antioxidant properties in lentil (*Lens culinaris*). J Food Sci Technol 54, 909–920. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2351-4>

Pastor-Cavada, E., Juan, R., Pastor, J.E., Alaiz, M., Girón-Calle, J., Vioque, J., 2011. Antioxidative Activity in the Seeds of 28 *Vicia* Species from Southern Spain: Antioxidative Activity in the Seeds of 28 *Vicia* Species. Journal of Food Biochemistry 35, 1373–1380. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2010.00459.x>

Pellegrino, E., Nuti, M., Ercoli, L., 2022. Multiple Arbuscular Mycorrhizal Fungal Consortia Enhance Yield and Fatty Acids of *Medicago sativa*: A Two-Year Field Study on Agronomic Traits and Tracing of Fungal Persistence. Front. Plant Sci. 13, 814401. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.814401>

Pl@ntNet, URL <https://identify.plantnet.org/el> (Πρόσβαση: 25/9/2022)

Rezaei, M.K., Deokar, A., Tar'an, B., 2016. Identification and Expression Analysis of Candidate Genes Involved in Carotenoid Biosynthesis in Chickpea Seeds. Front. Plant Sci. 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01867>

Romani, A., Vignolini, P., Galardi, C., Mulinacci, N., Benedettelli, S., Heimler, D., 2004. Germplasm Characterization of Zolfino Landraces (*Phaseolus vulgaris* L.) by Flavonoid Content. J. Agric. Food Chem. 52, 3838–3842. <https://doi.org/10.1021/jf0307402>

Rungruangmaitree, R., Jiraungkoorskul, W., 2017. Pea, *Pisum sativum*, and its anticancer activity. Phcog Rev 11, 39. https://doi.org/10.4103/phrev.phrev_57_16

Sabudak, T., Ozturk, M., Goren, A.C., Kolak, U., Topcu, G., 2009. Fatty acids and other lipid composition of five *Trifolium* species with antioxidant activity. Pharmaceutical Biology 47, 137–141. <https://doi.org/10.1080/13880200802439343>

Segev, A., Badani, H., Kapulnik, Y., Shomer, I., Oren-Shamir, M., Galili, S., 2010. Determination of Polyphenols, Flavonoids, and Antioxidant Capacity in Colored Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Food Science* 75, S115–S119. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01477.x>

Sharma, K.R., Giri, G., 2022. Quantification of Phenolic and Flavonoid Content, Antioxidant Activity, and Proximate Composition of Some Legume Seeds Grown in Nepal. *International Journal of Food Science* 2022, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2022/4629290>

Spanou, C.I., Veskoukis, A.S., Stagos, D., Liadaki, K., Aligiannis, N., Angelis, A., Skaltsounis, A.-L., Anastasiadi, M., Haroutounian, S.A., Kouretas, D., 2012. Effects of Greek legume plant extracts on xanthine oxidase, catalase and superoxide dismutase activities. *J Physiol Biochem* 68, 37–45. <https://doi.org/10.1007/s13105-011-0117-z>

Sudupak, M., Akkaya, M., Kence, A., 2002. Analysis of genetic relationships among perennial and annual *Cicer* species growing in Turkey using RAPD markers. *Theor Appl Genet* 105, 1220–1228. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1060-8>

Sudupak, M.A., Akkaya, M.S., Kence, A., 2004. Genetic relationships among perennial and annual *Cicer* species growing in Turkey assessed by AFLP fingerprinting. *Theor Appl Genet* 108, 937–944. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1505-8>

Sudupak, M.A., Kence, A., 2004. Genetic relationships among perennial and annual *Cicer* species growing in Turkey as revealed by allozymes. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51, 241–249. <https://doi.org/10.1023/B:GRES.0000024009.50555.e8>

Sutcliffe, T., Winter, A., Punessen, N., Linseman, D., 2017. Procyanidin B2 Protects Neurons from Oxidative, Nitrosative, and Excitotoxic Stress. *Antioxidants* 6, 77. <https://doi.org/10.3390/antiox6040077>

Taylor, D.C., Guo, Y., Katavic, V., Mietkiewska, E., Francis, T., Bettger, W., 2015. New Seed Oils for Improved Human and Animal Health: Genetic Manipulation of the Brassicaceae for Oils Enriched in Nervonic Acid, Krishnan, H. (Ed.), *Agronomy Monographs*. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, WI, USA, pp. 219–232. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr51.c10>

Trifolium physodes Steven ex M.Bieb. URL <https://www.gbif.org/species/5359131> (Πρόσβαση: 28/8/2022).

Ventura, M.R., Bastianelli, D., Deniz, S., Saavedra, P., Rey, L., Bonnal, L., González-García, E., 2019. Phenolic and tannin compounds in subtropical shrubs (*Bituminaria bituminosa*, *Chamaecytisus proliferus*, and *Adenocarpus foliosus*) and the effects on in vitro digestibility. *Trop Anim Health Prod* 51, 1757–1761. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01839-9>

Wang, X., Warkentin, T.D., Briggs, C.J., Oomah, B.D., Campbell, C.G., Woods, S., 1998a. Total phenolics and condensed tannins in field pea (*Pisum sativum* L.) and grass pea (*Lathyrus sativus* L.). *Euphytica* 101, 97–102. <https://doi.org/10.1023/A:1018371604056>

Wang, X., Warkentin, T.D., Briggs, C.J., Oomah, B.D., Campbell, C.G., Woods, S., 1998b. Total phenolics and condensed tannins in field pea (*Pisum sativum* L.) and grass pea (*Lathyrus sativus* L.). *Euphytica* 101, 97–102. <https://doi.org/10.1023/A:1018371604056>

Xu, J.-G., Hu, Q.-P., Liu, Y., 2012. Antioxidant and DNA-Protective Activities of Chlorogenic Acid Isomers. *J. Agric. Food Chem.* 60, 11625–11630. <https://doi.org/10.1021/jf303771s>

Yanar, M., Erçen, Z., Özlüer Hunt, A., Büyükçapar, H.M., 2008. The use of alfalfa, *Medicago sativa* as a natural carotenoid source in diets of goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture* 284, 196–200. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.07.050>

Zhang, B., Peng, H., Deng, Z., Tsao, R., 2018. Phytochemicals of lentil (*Lens culinaris*) and their antioxidant and anti-inflammatory effects. *JFB* 1. <https://doi.org/10.31665/JFB.2018.1128>

Zhao, S., Zhang, L., Gao, P., Shao, Z., 2009. Isolation and characterisation of the isoflavones from sprouted chickpea seeds. *Food Chemistry* 114, 869–873. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.026>

Οι καλύτερες τροφές με βιταμίνη Α και η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη, <https://www.fmh.gr/vitamini-a/> (Πρόσβαση: 10/11/2022).

4. Επίλογος

Το κύριο αντικείμενο της διατριβής αφορά την κάλυψη ενός σημαντικού κενού στη διεθνή βιβλιογραφία σχετικά με τις διαθέσιμες αναλυτικές μεθοδολογικές προσεγγίσεις για τον προσδιορισμό και την ποσοτικοποίηση φυσικών βιοδραστικών προϊόντων όπως τα φυτοοιστρογόνα, τα καροτενοειδή και τα λιπαρά οξέα, όλα γνωστά για τη σημαντική τους επίδραση στην υγεία του ανθρώπου και των ζώων.

Έτσι, στο πλαίσιο εκπόνησής της περιλήφθηκε η ανάπτυξη και πλήρης επικύρωση μιας πολυλειτουργικής μέθοδου για τον ταυτόχρονο ταχύ ποσοτικό προσδιορισμό με LC-MS/MS 67 φυτοοιστρογόνων, στα οποία περιλαμβάνονται φαινολικές ενώσεις που ανήκουν σε διαφορετικές κατηγορίες βιοδραστικών μορίων, όπως ισοφλαβονοειδή, φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα, λιγνάνια κλπ. Βασικό πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι περιλαμβάνει ένα μεγάλο εύρος φαινολικών φυτοοιστρογόνων, σε αντίθεση με τις έως σήμερα μεθόδους οι οποίες έχουν τη δυνατότητα να ποσοτικοποιούν πολύ μικρότερο αριθμό φυτοοιστρογόνων (≤ 16) και συνήθως περιορίζονται σε μία μόνο κατηγορία μορίων. Επιπλέον, η μέθοδος αυτή είναι ταχεία (συνολικά διαρκεί μόνο 35min) και με μεγάλη ευαισθησία επειδή η ανίχνευση γίνεται με SRM (Pavlopoulos και άλλοι, 2023; Myrtsi και άλλοι 2023a). Επιπλέον, κατασκευάστηκε και μία βιβλιοθήκη φασμάτων φοιτοοιστρογόνων που περιλαμβάνει 296 φάσματα για 74 φαινολικά φυτοοιστρογόνα. Η βιβλιοθήκη κατασκευάστηκε στο εργαστήριο «Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής» και η καθολικότητά της επιβεβαιώθηκε μέσω διαπίστωσης της δυνατότητάς της να χρησιμοποιείται για την ποιοτική ταυτοποίηση των περιεχομένων φυτοοιστρογόνων σε ποικίλα δείγματα, όπως φυτά και ζωοτροφές χωρίς προαπαιτούμενο την χρήση πρότυπων χημικών ενώσεων. Το τελευταίο είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για την ταυτοποίηση των φυτοοιστρογόνων που περιέχονται σε σιτηρέσια και η παρουσία τους μπορεί να έχει ευεργετική ή αρνητική επίπτωση στη ζωική παραγωγή.

Για το προσδιορισμό των καροτενοειδών αναπτύχθηκε μία μέθοδος ταυτόχρονου ποσοτικού προσδιορισμού 9 βιοδραστικών καροτενοειδών με LC-MS/MS και HPLC-DAD (Myrtsi και άλλοι, 2022a; Myrtsi και άλλοι, 2022b) στα οποία περιλαμβάνονται πολύ σημαντικά για την υγεία καροτενοειδή, όπως το β-καροτένιο και η β-κρυπτοξανθίνη, που αποτελούν πρόδρομα μόρια της βιταμίνης Α και σημαντικές χρωστικές που προσδίδουν ένα θελκτικό χρώμα σε κτηνοτροφικά προϊόντα.

Τέλος, εκσυγχρονίστηκε-βελτιώθηκε η μεθοδολογία της Supelco για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των περιεχομένων βιοδραστικών λιπαρών οξέων, καθώς ο έλεγχος της περιεκτικότητάς τους είναι σημαντικός αφού έχει αποδειχτεί ότι η συμπερίληψη ακόρεστων λιπαρών οξέων στη διατροφή των ζώων βελτιώνει το προφίλ των λιπαρών οξέων του παραγόμενου γάλακτος, κρέατος και αβγών αυξάνοντας την αναλογία ακόρεστων προς κορεσμένων λιπαρών οξέων.

Ως πεδίο ανάπτυξης και πρώτης εφαρμογής των ανωτέρω μεθοδολογικών προσεγγίσεων επιλέχθηκε η οικογένεια των *Fabaceae* (Myrtsi και άλλοι, 2023a; Myrtsi και άλλοι, 2023b). Τα ψυχανθή είναι σημαντικοί φυτογενετικοί πόροι για τη ζωική παραγωγή, καθώς είναι βασικά κτηνοτροφικά φυτά ενώ ταυτόχρονα είναι πλούσια σε πολύτιμα θρεπτικά και βιοδραστικά συστατικά, όπως αντιοξειδωτικά και καλά ευεργετικά για την υγεία λιπαρά οξέα. Επιπλέον, τα φυτά αυτά παρουσιάζουν το πλεονέκτημα της σχετικά εύκολης παραγωγής αφού τα περισσότερα είναι ανθεκτικά σε δύσκολες συνθήκες, όπως η ξηρασία και οι χαμηλές θερμοκρασίες. Όμως, η εκτεταμένη ενσωμάτωσή τους σε σιτηρέσια παραγωγικών ζώων πιθανόν να συνδέεται με υπέρμετρη αύξηση της περιεκτικότητάς τους σε φυτοοιστρογόνα, η οποία εκτός από ευεργετικές ιδιότητες μπορεί να επιφέρει και αρνητικές επιπτώσεις στην παραγωγικότητα.

Τα φυτά της οικογένειας *Fabaceae* αποτελούν πολυδιάστατους φυτικούς οργανισμούς και χαρακτηρίζονται από την υψηλή περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες, πολύτιμα αμινοξέα και άλλα θρεπτικά συστατικά. Στο πλαίσιο της διατριβής, εκτός από την ποσοτική ανάλυση των παραπάνω επιμέρους μεταβολιτών, μελετήθηκε και η ολική περιεκτικότητά τους σε καροτενοειδή (TCC), φαινολικά (TPC) και ταννίνες (TTC), κατηγορίες μορίων που αποτελούν σημαντικά συστατικά της διατροφής. Τα αποτελέσματα της εφαρμογής των μεθόδων έδειξαν:

1. Φαινολικές ενώσεις/Φυτοοιστρογόνα

Υψηλότερη περιεκτικότητα σε ταννίνες βρέθηκε ότι περιέχει το φυτό *L. laxiflorus*, ενώ από τα σπέρματα τα δείγματα *L. culinaris*.

Υψηλότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά (TPC) είχε το φυτό *C. insicum*, ενώ από τα σπέρματα πλούσια ήταν τα δείγματα του *P. sativum*.

Σε συνολική περιεκτικότητα φλαβονοειδών πλουσιότερο ήταν το *L. laxiflorus*, ενώ το *T. physodes* αναδείχτηκε ως το φυτό που περιείχε τη μεγαλύτερη συνολικά συγκέντρωση ισοφλαβονοειδών.

Από τα λιγνάνια ανιχνεύτηκε μόνο η σεκοϊσολαριρεσινόλη στα φυτά *V. sativa*.

Τα σπέρματα σόγιας αναδείχθηκαν τα πλουσιότερα από τα σπέρματα που μελετήθηκαν σε συνολική συγκέντρωση φυτοοιστρογόνων.

2. Καροτενοειδή

Πλουσιότερα φυτά σε TCC ήταν τα άγρια φυτά *A. creticus* και *B. bituminosa*, με μεγαλύτερη περιεκτικότητα και στα δύο το β-καροτένιο.

Όσον αφορά την μελέτη των σπερμάτων των ψυχανθών, η φάβα Σαντορίνης αποδείχτηκε ως ο πλουσιότερος σε καροτενοειδή.

3. Λιπαρά οξέα

Τα φυτά *V. sativa* (Ιστρος) και *L. laxiflorus* περιείχαν την υψηλότερη συγκέντρωση λιπαρών οξέων.

Τα ρεβίθια Γαύδος και Θήβα ήταν τα πλουσιότερα σπέρματα σε λιπαρά οξέα.

Συμπληρωματικά στο φυτοχημικό περιεχόμενο μελετήθηκε και η βιοδραστικότητα των εκχυλισμάτων της διατριβής, τα οποία μελετήθηκαν ως προς την αντιοξειδωτική και αντιπαρασιτική τους δράση. Η αντιοξειδωτική δράση ελέγχθηκε με τις μεθόδους FRAP και DPPH, ενώ η αντιπαρασιτική τους δράση αξιολογήθηκε έναντι των παρασίτων *Haemonchus contortus* και *Trichostrongylus colubriformis* που συνήθως προσβάλλουν τα μικρά μηρυκατικά.

1. Αντιοξειδωτική Δράση

Ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση και με τις δύο μεθόδους παρουσίασαν τα μεθανολικά εκχυλίσματα των φυτών *V. faba* (Πολυκάρπης) και *L. laxiflorus*, τα οποία είναι φυτά που προσδιορίστηκε ότι περιέχουν τις υψηλές συγκεντρώσεις μεμονωμένων αντιοξειδωτικών μορίων.

2. Αντιπαρασιτική Δράση

Τη μεγαλύτερη αντιπαρασιτική δράση από τα δείγματα που μελετήθηκαν εμφάνισε το μεθανολικό εκχύλισμα του *L. laxiflorus* έναντι και των δύο παρασίτων, ενώ το *T. repens* που είχε μια μέτρια δραστικότητα, προσδιορίστηκε ως το δραστικότερο έναντι των ανθεκτικών αβγών του *T. colubriformis*.

Η μελέτη των παραπάνω αποτελεσμάτων υποδεικνύει ότι η αντιπαρασιτική δράση των εκχυλισμάτων πιθανά να οφείλεται σε συνέργεια μεταξύ των μορίων που εμπεριέχουν αφού δεν προσδιορίστηκε κάποιο ξεκάθαρο μοτίβο που να συνδέει τη δραστικότητα με την παρουσία συγκεκριμένων μορίων.

4.1. Συμπέρασμα

Η παρούσα διατριβή επιδίωξε και εν μέρει κατάφερε την συμπλήρωση του μεθοδολογικού υποβάθρου για την μελέτη των κτηνοτροφικών φυτών και ειδικότερα αυτών με υψηλή διατροφική αξία και περιεχόμενο με βιολογικής σημασίας φυσικά προϊόντα. Με τις μεθόδους για τον ποσοτικό και ποιοτικό προσδιορισμό των βιοδραστικών προϊόντων που αναπτύχθηκαν στη διατριβή επιτυγχάνεται η μείωση του χρόνου για τις απαιτούμενες αναλύσεις, ενώ ταυτόχρονα αυξάνεται η διακριτική τους ικανότητα και με τον τρόπο αυτό διευκολύνεται η προσαρμοστικότητα των σιτηρεσίων στην περιεκτικότητα των πρώτων υλών σε φυτοοιστρογόνα, καροτενοειδή και λιπαρά οξέα, ενώ ταυτόχρονα αναδείχτηκαν και Ελληνικά ψυχανθή που μπορούν να ανταχθούν σε σιτηρέσια. Τέλος είναι ευνόητο ότι τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής αύξησαν σημαντικά το διαθέσιμο γνωσιακό υπόβαθρο για την χημική σύσταση και βιοδραστικότητα των Ελληνικών ψυχανθών, μιας σημαντικής κατηγορίας φυτικών ειδών.

Βιβλιογραφία

Myrtsi E.D., Koulocheri S.D., Evergetis, E., Haroutounian, S.A, 2022a, Pigments' analysis of Citrus juicing making by-products by LC-MS/MS and LC- DAD, MethodsX, Volume 9, 101888, ISSN 2215-0161, <https://doi.org/10.1016/j.mex.2022.101888>

Myrtsi, E.D., Koulocheri, S.D., Evergetis, E., Haroutounian, S.A., 2022b, Agro-industrial co-products upcycling: Recovery of carotenoids and fine chemicals from Citrus sp. juice industry co-products. Industrial Crops and Products. 186. 115190. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115190>

Myrtsi, E.D., Koulocheri, S.D., Haroutounian, S.A., 2023a. A Novel Method for the Efficient Simultaneous Quantification of 67 Phytoestrogens in Plants and Foodstuffs. Journal of Food Composition and Analysis (Υπό Δημοσίευση)

Myrtsi, E.D.; Evergetis, E.; Koulocheri, S.D.; Haroutounian, S.A. 2023b Bioactivity of Wild and Cultivated Legumes: Phytochemical Content and Antioxidant Properties. Antioxidants, 12, 852. <https://doi.org/10.3390/antiox12040852>

Pavlopoulos, D.T.; Myrtsi, E.D.; Tryfinopoulou, P.; Iliopoulos, V.; Koulocheri, S.D.; Haroutounian, S.A. 2023. Phytoestrogens as Biomarkers of Plant Raw Materials Used for Fish Feed Production. Molecules, 28, 3623. <https://doi.org/10.3390/molecules28083623>

Παράρτημα

Πίνακας-Π1 Ολική Περιεκτικότητα Καροτενοειδών (TTC) των φυτών *Fabaceae* που μελετήθηκαν σε mg βCE/g Εκχυλίσματος και mg β-CE/Kg Ξηρού Φυτού.

Φυτά	mg β-CE/g Εκχυλίσματος		mg β-CE/Kg Ξηρής Μάζας	
<u>Εκχύλισμα:</u>	Εξάνιο	Διχλωρομεθάνιο	Εξάνιο	Διχλωρομεθάνιο
Άγρια				
<i>Astragalus creticus</i>	0,082±0,001	3,104±0,052	0,433±0,003	19,945±0,311
<i>Astragalus glycyphyllos</i>	1,160±0,010	22,605±0,072	21,022±0,190	354,887±1,205
<i>Bituminaria bituminosa</i>	5,270±0,021	14,211±0,103	95,404±0,378	271,202±2,777
<i>Cicer incisum</i>	0,078±0,000	4,780±0,010	0,204±0,001	53,506±0,102
<i>Lathyrus laxiflorus</i>	0,865±0,005	5,032±0,069	45,889±0,295	37,214±0,488
<i>Trifolium physodes</i>	0,760±0,011	21,199±0,298	1,520±0,031	169,596±2,478
Καλλιεργούμενα				
<i>Cicer arietinum</i>	0,044±0,000	2,540±0,030	0,481±0,005	16,202±0,199
<i>Trifolium repens</i>	0,097±0,001	4,981±0,059	1,240±0,008	42,402±0,465
Βελτιωμένα				
<i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός)	0,333±0,001	0,985±0,002	5,391±0,012	9,330±0,012
<i>Lathyrus sativus</i> (λευκό)	1,353±0,002	2,441±0,003	22,322±0,033	31,411±0,044
<i>Lathyrus sativus</i> (var Μελεμέ)	0,822±0,002	3,787±0,004	8,690±0,020	42,290±0,049
<i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός)	1,314±0,009	5,539±0,005	14,305±0,122	69,244±0,064
<i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος)	0,470±0,000	5,216±0,001	31,940±0,015	79,633±0,019
<i>Pisum sativum</i> (var Δωδώνη)	0,700±0,004	3,997±0,000	14,372±0,088	50,631±0,006
<i>Medicago sativa</i> (var Μηδική)	2,532±0,012	11,660±0,010	56,611±0,224	225,833±0,255
<i>Vicia sativa</i> (var Λεωνίδα)	0,513±0,003	1,855±0,000	2,820±0,011	10,620±0,005
<i>Vicia sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	0,393±0,001	2,345±0,001	1,952±0,003	19,857±0,006
<i>Vicia sativa</i> (var Αγρός Καλλιρρόη)	0,247±0,000	0,346±0,000	2,388±0,001	5,576±0,003
<i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης)	0,857±0,004	7,469±0,051	7,250±0,031	65,002±0,404
<i>Vicia sativa</i> (var Ίστρος)	0,666±0,001	1,802±0,004	18,844±0,013	24,631±0,048
<i>Vicia sativa</i> (var Αλέξανδρος)	1,547±0,002	4,516±0,002	9,230±0,011	31,162±0,014
<i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος)	2,502±0,599	2,240±0,008	20,696±0,259	12,699±0,050

Πίνακας-Π2 Ολική Περιεκτικότητα Καροτενοειδών (TCC) των σπερμάτων *Fabaceae* που μελετήθηκαν σε mg β-CE/g Εκχυλίσματος και mg βCE/Kg Ξηρού Βάρους.

Σπέρματα	mg β-CE/g Εκχυλίσματος		mg β-CE/Kg Ξηρής Μάζας	
<i>Εκχύλισμα:</i>	Εξάνιο	Διχλωρομεθάνιο	Εξάνιο	Διχλωρομεθάνιο
<i>Lathyrus clymenum</i>	0,065±0,001	3,310±0,041	0,455±0,007	23,902±0,289
<i>Glycine max</i>	0,006±0,000	0,020±0,003	0,130±0,005	0,142±0,022
<i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός)	0,051±0,000	0,043±0,001	1,594±0,004	0,621±0,011
<i>Cicer arietinum</i> (var Γαύδος)	0,029±0,000	0,144±0,002	0,986±0,001	2,381±0,030
<i>Cicer arietinum</i> (var Θήβα)	0,032±0,000	0,043±0,000	0,944±0,005	0,858±0,003

Σπέρματα	mg β-CE/g Εκχυλίσματος		mg β-CE/Kg Ξηρής Μάζας	
<i>Lens culinaris</i> (var Δήμητρα)	0,034±0,000	0,181±0,005	0,097±0,000	1,349±0,041
<i>Lens culinaris</i> (var Θεσσαλία)	nd	0,205±0,003	nd	1,891±0,022
<i>Lens culinaris</i> (var Σάμος)	0,013±0,003	0,088±0,006	0,042±0,009	1,032±0,069
<i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός)	0,009±0,000	nd	0,101±0,002	nd
<i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος)	0,087±0,001	nd	0,683±0,008	nd
<i>Pisum sativum</i> (var Δωδώνη)	0,076±0,000	0,091±0,003	0,955±0,001	0,640±0,020
<i>Vicia sativa</i> (var Ίστρος)	0,143±0,001	nd	0,791±0,005	nd
<i>Vicia sativa</i> (var Αλέξανδρος)	0,056±0,002	nd	0,256±0,008	nd
<i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος)	0,155±0,001	0,061±0,006	0,755±0,004	0,512±0,049
<i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης)	0,080±0,001	0,170±0,010	0,530±0,004	0,790±0,061
<i>Vicia faba</i> (var Τανάγρα)	0,050±0,002	0,121±0,002	0,333±0,013	0,640±0,012

Πίνακας-Π3 Ολική Περιεκτικότητα Φαινολικών (TPC) των φυτών *Fabaceae* που μελετήθηκαν σε mg GAE/g Εκχυλίσματος και mg GAE/Kg Ξηρού Φυτού.

Φυτά	mg GAE/g Εκχυλίσματος	mg GAE/Kg Ξηρής Μάζας
Άγρια		
<i>Astragalus creticus</i>	10,5±0,2	1303,5±5,0
<i>Astragalus glycyphyllos</i>	16,2±1,7	2043,5±217,8
<i>Bituminaria bituminosa</i>	14,5±0,2	1798,9±27,3
<i>Cicer incisum</i>	23,5±0,6	1072,3±28,4
<i>Lathyrus laxiflorus</i>	64,8±1,5	6507,1±93,8
<i>Trifolium physodes</i>	27,7±0,3	3319,1±6,0
Καλλιεργούμενα		
<i>Cicer arietinum</i>	10,2±0,1	127,3±1,2
<i>Trifolium repens</i>	24,2±0,0	2873,4±0,7
Βελτιωμένα		
<i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός)	14,2±0,2	1390,2±18,1
<i>Lathyrus sativus</i> (λευκό)	13,1±0,1	2768,6±31,1
<i>Lathyrus sativus</i> (var Μελεμέ)	11,1±0,1	1950,9±24,1
<i>Medicago sativa</i> (var Μηδική)	11,4±0,4	1711,1±58,8
<i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός)	18,9±1,4	2132,0±73,8
<i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος)	19,5±1,2	2616,6±77,9
<i>Pisum sativum</i> (var Δωδώνη)	16,7±0,8	1708,3±52,7
<i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης)	46,9±0,2	5790,0±24,7
<i>Vicia sativa</i> (var Λεωνίδας)	14,7±0,3	764,1±6,8
<i>Vicia sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	16,8±1,0	306,4±17,5
<i>Vicia sativa</i> (var Αλέξανδρος)	14,6±0,1	1129,3±5,9
<i>Vicia sativa</i> (var Αγρός Καλλιρρόη)	12,8±0,2	1418,3±22,2
<i>Vicia sativa</i> (var Ίστρος)	17,6±0,3	1610,2±23,7
<i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος)	35,0±1,5	1851,3±81,2

Πίνακας-Π4 Ολική Περιεκτικότητα Φαινολικών (TPC) των σπερμάτων *Fabaceae* που μελετήθηκαν σε mg GAE/g Εκχυλίσματος και mg GAE/Kg Ξηρού Βάρους.

Σπέρματα	mg GAE/g Εκχυλίσματος	mg GAE/Kg Ξηρής Μάζας
<i>Lathyrus clymenum</i> L	6,7±0,1	34,0±0,5
<i>Glycine max</i>	11,1±0,5	565,7±24,4
<i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός)	4,2±0,1	253,1±2,2
<i>Cicer arietinum</i> (var Γαύδος)	5,8±0,1	526,9±9,1
<i>Cicer arietinum</i> (var Θήβα)	4,4±0,0	259,9±1,2
<i>Lens culinaris</i> (var Δήμητρα)	14,5±0,5	520,2±19,1
<i>Lens culinaris</i> (var Θεσσαλία)	10,5±0,8	560,5±43,1
<i>Lens culinaris</i> (var Σάμος)	12,3±0,9	575,9±19,5
<i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός)	8,2±0,2	345,4±6,8
<i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος)	26,2±6,0	1151,3±265,1
<i>Pisum sativum</i> (var Δωδώνη)	12,7±0,3	569,9±15,0
<i>Vicia sativa</i> (var Ίστρος)	43,7±7,7	582,2±102,5
<i>Vicia sativa</i> (var Αλέξανδρος)	11,2±0,1	420,2±3,1
<i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος)	18,7±1,5	656,4±53,3
<i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης)	23,4±0,2	113,7±0,8
<i>Vicia faba</i> (var Τανάγρα)	9,6±0,5	426,8±21,6

Πίνακας-Π5 Ολική Περιεκτικότητα Ταννινών (TTC) των φυτών *Fabaceae* που μελετήθηκαν σε mg CE/g Εκχυλίσματος και mg CE/Kg Ξηρού Φυτού.

Φυτά	mg CE/g Εκχυλίσματος	mg CE/Kg Ξηρής Μάζας
Αγρια		
<i>Astragalus creticus</i>	194,2±112,5	23784,3±1623,7
<i>Bituminaria bituminosa</i>	2,1±0,7	85,3±8,9
<i>Cicer incisum</i>	31,6±4,1	1442,6±186,1
<i>Lathyrus laxiflorus</i>	419,7±27,2	41629,8±2703
Καλλιεργούμενα		
<i>Cicer arietinum</i>	6,6±3,8	82,1±5,8
<i>Trifolium repens</i>	14,9±8,6	1762,0±36,1
Βελτιωμένα		
<i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος)	25,3±14,6	3289,2±23,8
<i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης)	7,7±4,5	953,8±200,9
<i>Vicia sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	37,4±21,6	680,5±12,7
<i>Vicia sativa</i> (var Αλέξανδρος)	53,0±20,1	408,7±154,4
<i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος)	16,6±9,6	876,3±505,9

Πίνακας-Π6 Ολική Περιεκτικότητα Ταννινών (TTC) των σπερμάτων *Fabaceae* που μελετήθηκαν σε mg CE/g Εκχυλίσματος και mg CE/Kg Ξηρού Βάρους.

Σπέρματα	mg CE/g Εκχυλίσματος	mg CE/Kg Ξηρής Μάζας
<i>Lathyrus clymenum</i>	13,2±7,7	67,3±7,1
<i>Cicer arietinum</i> (var Γαύδος)	35,8±20,9	3269,4±355,4

Σπέρματα	mg CE/g Εκχυλίσματος	mg CE/Kg Ξηρής Μάζας
<i>Cicer arietinum</i> (var Θήβα)	25,3±15,5	1485,8±445,6
<i>Lens culinaris</i> (var Δήμητρα)	124,1±76,6	4443,7±1320,9
<i>Lens culinaris</i> (var Θεσσαλία)	20,2±12,2	1079,6±367,9
<i>Lens culinaris</i> (var Σάμος)	95,4±56,6	4294,5±829,4
<i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός)	38,5±32,4	1628,1±1408,6
<i>Vicia faba</i> (var Τανάγρα)	38,3±22,4	1693,8±215,5
<i>Vicia sativa</i> (var Αλέξανδρος)	42,8±25,0	1603,2±226,7

Πίνακας-Π7 Αποτελέσματα Αντιοξειδωτικής δράσης DPPH για τα φυτά *Fabaceae* που μελετήθηκαν σε mg TE/g Εκχυλίσματος και mg TE/Kg Ξηρού Βάρους.

Φυτά <i>Εκχύλισμα:</i>	mg TE/g Εκχυλίσματος			mg TE/Kg Ξηρής Μάζας		
	Hex	DCM	MeOH	Hex	DCM	MeOH
Άγρια						
<i>Astragalus creticus</i>	<LOD	9,5±0,1	0,2±0,1	<LOD	51,5±0,4	28,9±9,9
<i>Astragalus glycyphyllos</i>	1,5±0,6	18,4±0,2	6,5±0,3	27,2±8,6	289,0±2,6	815,6±46,6
<i>Bituminaria bituminosa</i>	16,2±0,4	21,0±0,0	5,6±0,4	292,3±6,8	402,0±0,7	696,6±57,7
<i>Cicer incisum</i>	3,7±0,2	39,3±0,0	18,2±1,3	9,5±0,6	437,1±0,6	829,0±75,2
<i>Lathyrus laxiflorus</i>	1,6±0,8	8,6±0,3	77,4±0,1	83,6±12,3	63,5±2,2	7679,6±6,7
<i>Trifolium physodes</i>	11,4±1,1	11,8±0,0	14,3±0,3	22,8±2,2	94,4±0,3	2019,2±40,9
Καλλιεργούμενα						
<i>Cicer arietinum</i>	<LOD	6,8±0,0	<LOD	<LOD	43,8±0,1	<LOD
<i>Trifolium repens</i>	7,0±1,2	31,9±0,1	6,2±0,1	89,1±14,7	271,3±0,5	633,9±16,1
Βελτιωμένα						
<i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός)	0,5±0,3	2,9±1,4	0,4±0,1	8,6±5,7	27,5±13,5	76,0±16,4
<i>Lathyrus sativus</i> (λευκό)	<LOD	2,0±0,9	3,2±0,5	<LOD	25,7±12,7	665,5±128,0
<i>Lathyrus sativus</i> (var Μελεμέ)	<LOD	<LOD	2,1±0,7	<LOD	<LOD	377,1±141,1
<i>Medicago sativa</i> (var Μηδική)	1,5±0,6	<LOD	<LOD	34,6±10,3	<LOD	<LOD
<i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός)	1,1±0,8	<LOD	12,5±1,1	11,8±5,6	<LOD	1360,0±146,6
<i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος)	6,6±0,0	<LOD	17,4±9,9	449,6±3,5	<LOD	2265,0±1886,5
<i>Pisum sativum</i> (var Δωδώνη)	1,4±0,8	<LOD	6,2±0,2	29,6±8,8	<LOD	650,9±31,0
<i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπη)	5,6±0,7	<LOD	84,6±8,3	47,4±5,9	<LOD	10443,6±1257,3
<i>Vicia sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	<LOD	<LOD	13,9±0,1	<LOD	<LOD	272,1±2,5
<i>Vicia sativa</i> (var Αλέξανδρος)	10,8±0,3	<LOD	7,9±0,3	64,2±1,9	<LOD	611,3±31,8
<i>Vicia sativa</i> (var Λεωνίδα)	<LOD	<LOD	3,4±1,1	<LOD	<LOD	171,1±69,7

Φυτά	mg TE/g Εκχυλίσματος			mg TE/Kg Ξηρής Μάζας		
<i>Vicia sativa</i> (var Αγρός Καλλιρρόη)	0,6±0,2	<LOD	<LOD	5,9±7,7	<LOD	<LOD
<i>Vicia sativa</i> (var 'Ιστρος)	6,4±0,4	<LOD	1,4±0,9	181,3±11,1	<LOD	129,2±46,1
<i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος)	27,5±4,1	<LOD	30,4±2,8	231,3±34,6	<LOD	1609,9±182,5

Πίνακας-Π8 Αποτελέσματα Αντιοξειδωτικής δράσης DPPH για τα σπέρματα Fabaceae που μελετήθηκαν σε mg TE/g Εκχυλίσματος και mg TE/Kg Ξηρού Βάρους.

Σπέρματα	mg TE/g Εκχυλίσματος			mg TE/Kg Ξηρής Μάζας		
	Hex	DCM	MeOH	Hex	DCM	MeOH
<i>Lathyrus clymenum</i>	5,3±0,2	<LOD	<LOD	37,2±1,2	<LOD	<LOD
<i>Glycine max</i>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<i>Cicer arietinum</i> (var Γαύδος)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<i>Cicer arietinum</i> (var Θήβα)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<i>Lens culinaris</i> (var Δήμητρα)	<LOD	<LOD	3,5±1,7	<LOD	<LOD	185,3±60,7
<i>Lens culinaris</i> (var Θεσσαλία)	<LOD	<LOD	0,9±0,4	<LOD	<LOD	120,6±53,3
<i>Lens culinaris</i> (var Σάμος)	<LOD	<LOD	5,0±0,4	<LOD	<LOD	302,7±19,7
<i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<i>Pisum sativum</i> (var Δωδώνη)	3,3±0,2	<LOD	<LOD	41,7±2,2	<LOD	<LOD
<i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπη)	0,7±0,3	<LOD	7,0±1,0	4,8±1,4	<LOD	22,9±4,7
<i>Vicia faba</i> (var Τανάγρα)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<i>Vicia sativa</i> (var 'Ιστρος)	<LOD	<LOD	6,4±1,6	<LOD	<LOD	85,0±26,6
<i>Vicia sativa</i> (var Αλέξανδρος)	<LOD	<LOD	4,1±0,5	<LOD	<LOD	152,3±23,6
<i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

Πίνακας-Π9 Αποτελέσματα Αντιοξειδωτικής δράσης FRAP για τα φυτά Fabaceae που μελετήθηκαν σε mmol Fe²⁺/g Εκχυλίσματος και mmol Fe²⁺/Kg Ξηρού Βάρους.

Φυτά	mmol Fe ²⁺ /g Εκχυλίσματος			mmol Fe ²⁺ /Kg Ξηρού Βάρους		
<u>Εκχύλισμα:</u>	Hex	DCM	MeOH	Hex	DCM	MeOH
Άγρια						
<i>Astragalus creticus</i>	1,02±0,03	0,97±0,01	0,14±0,07	5,45±0,03	4,11±0,06	11,90±8,40
<i>Astragalus glycyphyllos</i>	0,71±0,00	1,21±0,01	0,22±0,00	18,47±0,02	15,23±0,09	17,87±0,36
<i>Bituminaria bituminosa</i>	0,80±0,01	1,59±0,00	0,33±0,02	18,60±0,01	22,60±0,06	40,40±1,00
<i>Cicer incisum</i>	1,03±0,02	0,80±0,00	0,46±0,01	1,98±0,02	15,56±0,04	20,81±0,41
<i>Lathyrus laxiflorus</i>	0,90±0,00	1,54±0,01	1,20±0,39	37,58±0,06	8,92±0,07	78,30±42,51
<i>Trifolium physodes</i>	0,76±0,01	1,39±0,00	0,52±0,02	1,81±0,01	12,34±0,05	59,80±2,02
Καλλιεργούμενα						
<i>Cicer arietinum</i>	0,62±0,00	0,76±0,01	0,11±0,00	8,76±0,08	5,12±0,01	1,34±0,00
<i>Trifolium repens</i>	1,03±0,00	1,18±0,00	0,31±0,01	7,94±0,05	13,51±0,03	36,63±0,06
Βελτιωμένα						
<i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός)	0,28±0,00	0,64±0,02	0,18±0,00	4,50±0,04	6,00±0,21	18,06±0,02

Φυτά	mmol Fe ²⁺ /g Εκχυλίσματος			mmol Fe ²⁺ /Kg Ξηρού Βάρους		
<i>Lathyrus sativus</i> (λευκό)	0,58±0,01	0,78±0,02	0,15±0,00	9,61±0,22	10,00±0,31	30,85±0,09
<i>Lathyrus sativus</i> (var Μελεμέ)	0,65±0,01	1,72±0,03	0,18±0,00	6,90±0,21	19,22±0,27	31,50±0,08
<i>Medicago sativa</i> (var Μηδική)	1,44±0,04	2,75±0,04	0,07±0,00	32,30±0,88	53,19±0,76	10,60±0,10
<i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός)	1,12±0,05	2,03±0,03	0,28±0,01	12,11±0,62	25,40±0,31	30,61±0,21
<i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος)	0,32±0,02	1,86±0,03	0,33±0,00	21,40±1,00	28,36±0,40	41,31±0,44
<i>Pisum sativum</i> (var Δωδώνη)	0,89±0,03	1,66±0,02	0,19±0,00	18,31±0,58	21,11±0,20	19,82±0,20
<i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης)	0,62±0,02	3,41±0,07	1,28±0,00	5,22±0,09	29,59±0,59	156,00±0,28
<i>Vicia sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	0,61±0,01	0,92±0,00	0,31±0,01	3,03±0,04	7,79±0,05	5,82±0,11
<i>Vicia sativa</i> (var Αλέξανδρος)	0,80±0,01	1,52±0,03	0,34±0,01	4,78±0,07	10,50±0,20	25,02±0,49
<i>Vicia sativa</i> (var Λεωνίδα)	0,41±0,01	0,48±0,01	0,21±0,00	2,25±0,07	2,74±0,04	10,65±0,08
<i>Vicia sativa</i> (var Αγρός Καλλιρρόη)	0,35±0,01	0,17±0,00	0,12±0,00	3,39±0,06	2,70±0,01	13,23±0,02
<i>Vicia sativa</i> (var Ίστρος)	0,38±0,02	2,49±0,05	0,17±0,00	10,81±0,40	34,02±0,70	15,50±0,21
<i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος)	1,73±0,04	1,48±0,02	0,40±0,00	14,50±0,29	8,42±0,11	20,00±0,32

Πίνακας-Π10 Αποτελέσματα Αντιοξειδωτικής δράσης FRAP για τα σπέρματα Fabaceae που μελετήθηκαν σε mmol Fe²⁺/g Εκχυλίσματος και mmol Fe²⁺/Kg Ξηρού Βάρους.

Σπέρματα	mmol Fe ²⁺ /g Εκχυλίσματος			mmol Fe ²⁺ /Kg Ξηρού Βάρους		
<u>Εκχύλισμα:</u>	Hex	DCM	MeOH	Hex	DCM	MeOH
<i>Lathyrus clymenum</i>	0,42±0,00	0,51±0,00	0,04±0,00	2,93±0,00	3,65±0,00	0,21±0,00
<i>Glycine max</i>	0,11±0,01	0,60±0,10	0,07±0,00	2,33±0,21	4,33±0,70	3,33±0,12
<i>Cicer arietinum</i> (var Αμοργός)	0,08±0,00	0,27±0,01	<0,01	2,54±0,05	4,04±0,12	0,29±0,03
<i>Cicer arietinum</i> (var Γαύδος)	0,09±0,00	0,32±0,00	0,02±0,00	3,00±0,04	5,36±0,02	1,50±0,59
<i>Cicer arietinum</i> (var Θήβα)	0,08±0,00	0,23±0,01	<0,01	2,27±0,08	4,64±0,23	0,11±0,04
<i>Lens culinaris</i> (var Δήμητρα)	0,17±0,01	1,13±0,02	0,13±0,00	0,50±0,02	8,40±0,10	4,80±0,02
<i>Lens culinaris</i> (var Θεσσαλία)	0,41±0,02	0,72±0,01	0,16±0,01	4,71±0,32	6,62±0,13	8,68±0,10
<i>Lens culinaris</i> (var Σάμος)	0,16±0,00	0,87±0,02	0,20±0,00	0,49±0,01	10,10±0,22	8,80±0,11
<i>Phaseolus vulgaris</i> (var Πυργετός)	0,08±0,00	1,13±0,00	0,05±0,00	0,83±0,01	8,24±0,04	1,95±0,01
<i>Pisum sativum</i> (var Όλυμπος)	0,17±0,00	0,59±0,00	0,03±0,00	1,36±0,02	5,11±0,04	1,19±0,01
<i>Pisum sativum</i> (var Δωδώνη)	0,24±0,00	0,81±0,01	0,13±0,01	3,03±0,03	5,72±0,11	5,70±0,10
<i>Vicia faba</i> (var Πολυκάρπης)	0,15±0,00	1,77±0,02	0,23±0,01	1,00±0,02	8,30±0,07	1,13±0,02
<i>Vicia faba</i> (var Τανάγρα)	0,46±0,01	0,56±0,00	0,10±0,00	3,03±0,09	2,95±0,01	4,29±0,20
<i>Vicia sativa</i> (var Ίστρος)	0,36±0,01	1,74±0,01	0,14±0,00	1,99±0,03	8,77±0,03	1,92±0,01
<i>Vicia sativa</i> (var Αλέξανδρος)	1,47±0,01	1,74±0,01	0,15±0,01	6,79±0,03	15,99±0,08	5,70±0,23
<i>Vicia sativa</i> (var Εύηνος)	1,48±0,01	1,06±0,02	0,07±0,00	7,21±0,04	9,02±0,20	2,37±0,01

Πίνακας-Π11 Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα άγρια φυτά *Astragalus creticus*, *Astragalus glycyphyllos*, *Bituminaria bituminosa*, *Cicer incisum*, *Lathyrus laxiflorus* και *Trifolium physodes* και στα καλλιεργούμενα φυτά *Cicer arietinum* και *Trifolium repens* σε mg/g Εκχυλίσματος.

Φυτοοιστρογόνα	<i>A. creticus</i>	<i>A. glycyphyllos</i>	<i>B. bituminosa</i>	<i>C. incisum</i>	<i>L. laxiflorus</i>	<i>T.physodes</i>	<i>C. arietinum</i>	<i>T.repens</i>
3',4',7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	0,004±0,001	<0,001	0,010±0,005	nd	0,002±0,000
4',6,7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	nd	nd	0,102±0,005	nd	nd
4'-Ο-Γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	nd	nd	nd	0,036±0,003	0,006±0,001	0,184±0,000	0,041±0,002	0,509±0,001
7-Ο-Γλυκοζίτης της Κερσεταγετίνης	nd	0,002±0,000	nd	0,002±0,000	0,002±0,000	0,018±0,004	nd	0,012±0,005
Απιγενίνη	nd	nd	0,013±0,003	0,061±0,010	0,007±0,000	tr	0,060±0,008	nd
Βιοχανίνη Α	nd	0,002±0,000	nd	0,012±0,003	nd	0,659±0,018	0,021±0,003	0,866±0,119
Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	tr	tr	nd	nd	0,019±0,000	nd	nd	nd
Γαλλοκατεχίνη	nd	nd	0,428±0,061	0,077±0,013	nd	0,011±0,001	0,208±0,106	0,029±0,008
Γενιστεΐνη	nd	nd	nd	nd	nd	1,038±0,004	nd	nd
Γενιστίνη	nd	nd	4,617±0,001	0,001±0,000	nd	0,147±0,003	nd	0,010±0,003
Γλυσιτεΐνη	nd	nd	0,034±0,009	0,026±0,004	nd	0,118±0,003	nd	0,242±0,031
Γλυσιτίνη	0,001±0,000	0,008±0,002	0,102±0,049	0,009±0,001	tr	0,280±0,023	0,002±0,000	0,204±0,055
Δαϊδζίνη	<0,001	0,001±0,000	2,754±0,735	0,005±0,002	nd	0,070±0,009	0,003±0,001	0,015±0,001
Δαϊνδζεΐνη	<0,001	<0,001	0,562±0,000	0,048±0,003	nd	0,023±0,000	0,055±0,009	0,022±0,000
Διοσμετίνη	0,004±0,000	0,149±0,002	nd	0,045±0,003	0,003±0,000	0,568±0,031	0,010±0,001	0,027±0,012
Διοσμίνη	0,006±0,002	0,003±0,001	nd	nd	nd	nd	nd	0,006±0,002
Επικατεχίνη	nd	nd	nd	nd	1,517±0,057	nd	nd	nd
Εσπερετίνη	nd	nd	nd	tr	nd	0,049±0,016	nd	nd
Εσπεριδίνη	0,074±0,007	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ισοκερκετίνη	0,117±0,002	0,162±0,043	0,008±0,000	0,173±0,017	0,763±0,002	0,929±0,064	0,020±0,004	1,576±0,208
Ισολικουϊριτιγενίνη	tr	0,011±0,000	nd	nd	0,004±0,000	tr	tr	tr
Ισοραμνετίνη	nd	nd		tr	nd	nd	tr	
Καλυκοσίνη	0,005±0,001	0,045±0,002	nd	0,260±0,005	tr	0,117±0,004	0,015±0,004	0,681±0,005
Καμφερόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,218±0,004	0,029±0,002
Κατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καφεϊκό Οξύ	nd	nd	nd	0,003±0,001	nd	nd	nd	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>A. creticus</i>	<i>A. glycyphyllos</i>	<i>B. bituminosa</i>	<i>C. incisum</i>	<i>L. laxiflorus</i>	<i>T.physodes</i>	<i>C. arietinum</i>	<i>T.repens</i>
Κερκετίνη	0,140±0,002	nd	nd	2,283±0,000	0,108±0,003	0,864±0,009	nd	0,302±0,006
Κερσιτρίνη	tr	nd	nd	0,018±0,010	tr	nd	nd	0,003±0,001
Κουμειστρόλη	nd	nd	0,146±0,004	0,184±0,010	nd	0,248±0,015	nd	nd
Λικουϊριτιγενίνη	nd	nd	nd	0,072±0,008	nd	nd	nd	0,049±0,004
Λικουϊριτίνη	nd	nd	nd	nd	nd	0,002±0,001	nd	nd
Λουτεολίνη	0,002±0,000	nd	nd	0,003±0,002	0,024±0,009	0,261±0,001	0,008±0,000	0,019±0,008
Μυρισετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νεοχλωρογενικό Οξύ	nd	0,290±0,051	0,770±0,340	nd	nd	nd	nd	nd
Ονονίνη	tr	tr	nd	0,314±0,017	tr	0,753±0,015	0,021±0,008	0,681±0,009
Πολυδατίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Προκυανιδίνη B1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Προκυανιδίνη B2	nd	nd	nd	nd	2,231±0,012	nd	nd	nd
Ρουτίνη	1,812±0,140	0,156±0,015	nd	nd	7,786±0,057	nd	nd	0,051±0,007
Σεκοΐσολαρισειρεσινόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σισσοτρίνη	nd	nd	nd	nd	nd	8,634±0,401	nd	4,697±0,276
Σοφορικοσίδης	nd	nd	1,444±0,747	nd	nd	0,032±0,012	nd	nd
Υδροξυτυροσόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Φορμονονετίνη	nd	nd	nd	0,523±0,017	nd	0,484±0,005	0,025±0,002	1,188±0,003
Χλωρογενικό Οξύ	0,025±0,002	nd	nd	0,011±0,003	1,130±0,017	0,002±0,000	nd	0,025±0,002

Πίνακας-Π12 Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα βελτιωμένα φυτά *Cicer arietinum* (var Αμοργός), *Lathyrus sativus* (λευκό, var. Μελεμέ), *Medicago sativa* (var. Μηδική), *Phaseolus vulgaris* (var. Πυργετός), *Pisum sativum* (var Όλυμπος και Δωδώνη) και *Vicia faba* (var Πολυκάρπη) σε mg/g Εκχυλίσματος.

Φυτοοιστρογόνα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>L. sativus</i> (λευκό)	<i>L. sativus</i> (var Μελεμέ)	<i>M. sativa</i> (var Μηδική)	<i>P.vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>P.sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P.sativum</i> (var Δωδώνη)	<i>V.faba</i> (var Πολυκάρπη)
3',4',7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	<0,001
4',6,7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4'-Ο-Γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	0,113±0,004	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>L. sativus</i> (λευκό)	<i>L. sativus</i> (var Μελεμέ)	<i>M. sativa</i> (var Μηδική)	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>P. sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπη)
7-Ο-Γλυκοζίτης της Κερσεταγετίνης	nd	nd	tr	nd	tr	tr	nd	tr
Απιγενίνη	0,004±0,000	nd	nd	0,154±0,000	tr	nd	nd	0,009±0,000
Βιοχανίνη Α	0,150±0,006	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	nd	tr	tr	nd	nd	nd	nd	<0,001
Γαλλοκατεχίνη	0,004±0,001	nd	nd	nd	0,010±0,001	nd	nd	nd
Γενιστεΐνη	0,017±0,001	nd	nd	nd	0,055±0,001	nd	nd	0,383±0,005
Γενιστίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γλυσιτεΐνη	0,013±0,005	nd	nd	nd	<0,001	nd	0,001±0,000	<0,001
Γλυσιτίνη	0,013±0,001	nd	nd	nd	nd	tr	tr	nd
Δαΐδζίνη	<0,001	nd	nd	nd	<0,001	nd	nd	nd
Δαΐνδζεΐνη	0,001±0,000	nd	nd	<0,001	0,033±0,000	tr	nd	nd
Διοσμετίνη	0,229±0,002	nd	nd	0,006±0,001	tr	nd	nd	0,006±0,000
Διοσμίνη	nd	nd	0,051±0,003	nd	nd	nd	0,004±0,001	0,013±0,001
Επικατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπερετίνη	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπεριδίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ισοκερκετίνη	0,365±0,023	<0,001	nd	0,003±0,001	0,020±0,001	0,033±0,003	0,012±0,002	0,001±0,000
Ισολικουϊριτιγενίνη	0,004±0,001	nd	nd	nd	0,002±0,000	0,002±0,000	0,002±0,000	0,008±0,000
Ισοραμνετίνη	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καλυκοσίνη	0,062±0,012	nd	<0,001	nd	nd	0,002±0,000	0,004±0,000	<0,001
Καμφερόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καφεϊκό Οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κερκετίνη	0,226±0,003	nd	nd	nd	0,121±0,004	nd	nd	nd
Κερσιτρίνη	nd	nd	<0,001	<0,001	0,001±0,000	nd	nd	tr
Κουμεστρόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>L. sativus</i> (λευκό)	<i>L. sativus</i> (var Μελεμέ)	<i>M. sativa</i> (var Μηδική)	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>P. sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπη)
Λικουϊριτιγενίνη	nd	nd	nd	nd	tr	nd	nd	nd
Λικουϊριτίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λουτεολίνη	0,017±0,002	nd	nd	nd	0,025±0,001	nd	nd	0,012±0,000
Μυρισετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νεοχλωρογενικό Οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ονονίνη	0,041±0,011	nd	nd	<0,001	nd	nd	tr	nd
Πολυδατίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Προκυανιδίνη Β1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,001±0,000
Προκυανιδίνη Β2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	<0,001
Ρουτίνη	0,009±0,003	nd	nd	nd	0,090±0,006	nd	nd	nd
Σεκοϊσολαρισερινόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σισσοτρίνη	0,165±0,048	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σοφορικοσίδης	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Υδροxyτυροσόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Φορμονονετίνη	0,092±0,001	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Χλωρογενικό Οξύ	nd	nd	0,005±0,002	tr	nd	tr	0,003±0,002	0,011±0,001

Πίνακας-Π13 Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα βελτιωμένα φυτά *Vicia sativa* στις ποικιλίες που μελετήθηκαν σε mg/g Εκχυλίσματος.

Φυτοοιστρογόνα	<i>V. sativa</i> (var Λεωνίδας)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Καλλιρρόη)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)
3',4',7-τριϋδροxyϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	tr	nd	nd
4',6,7-τριϋδροxyϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4'-Ο-Γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	nd	nd	nd	nd	nd	nd
7-Ο-Γλυκοζίτης της Κερσεταγετίνης	tr	<0,001	nd	<0,001	tr	<0,001

Φυτοοιστρογόνα	<i>V. sativa</i> (var Λεωνίδας)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Καλλιπρόη)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)
Απιγενίνη	0,007±0,001	0,008±0,000	tr	0,044±0,001	nd	0,034±0,003
Βιοχανίνη Α	nd	nd	tr	nd	nd	nd
Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	nd	nd	nd	nd	tr	nd
Γαλλοκατεχίνη	nd	0,001±0,000	nd	0,004±0,002	nd	nd
Γενιστεΐνη	nd	0,042±0,007	0,017±0,002	0,143±0,002	0,002±0,000	0,033±0,002
Γενιστίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γλυσιτεΐνη	0,002±0,000	<0,001	0,003±0,000	0,012±0,004	nd	<0,001
Γλυσιτίνη	tr	nd	<0,001	nd	nd	tr
Δαϊδζίνη	nd	nd	tr	nd	nd	nd
Δαϊνδζεΐνη	nd	nd	nd	<0,001	nd	nd
Διοσμετίνη	0,002±0,000	0,001±0,000	tr	nd	tr	nd
Διοσμίνη	nd	0,003±0,001	nd	0,005±0,000	nd	0,004±0,001
Επικατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπερετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπεριδίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ισοκερκετίνη	0,174±0,017	0,218±0,012	0,030±0,006	0,198±0,006	0,344±0,011	0,440±0,010
Ισολικουϊριτιγενίνη	0,002±0,000	0,004±0,000	0,005±0,000	0,032±0,000	<0,001	0,006±0,000
Ισοραμνετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καλυκοσίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καμφερόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καφεϊκό Οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κερκετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κερσιτρίνη	tr	nd	nd	nd	nd	nd
Κουμεστρόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λικουϊριτιγενίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λικουϊριτίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>V. sativa</i> (var Λεωνίδας)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Καλλιπρόη)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)
Λουτεολίνη	0,004±0,000	0,004±0,000	nd	0,034±0,002	nd	0,007±0,000
Μυρισετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νεοχλωρογενικό Οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ονονίνη	nd	<0,001	nd	tr	nd	tr
Πολυδατίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Προκυανιδίνη B1	0,001±0,000	nd	nd	nd	nd	0,002±0,001
Προκυανιδίνη B2	tr	nd	nd	nd	nd	nd
Ρουτίνη	0,118±0,008	0,022±0,001	nd	0,104±0,010	0,020±0,005	0,145±0,005
Σεκοΐσολαρισεσινόλη	0,233±0,015	0,505±0,054	0,267±0,027	nd	0,138±0,009	0,145±0,063
Σισσοτρίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σοφορικοσίδης	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Υδροxyτυροσώλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Φορμονονετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Χλωρογενικό Οξύ	0,044±0,004	nd	0,007±0,004	0,015±0,003	0,002±0,001	0,039±0,002

Πίνακας-Π14 Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα άγρια φυτά *Astragalus creticus*, *Astragalus glycyphyllos*, *Bituminaria bituminosa*, *Cicer incisum*, *Lathyrus laxiflorus* και *Trifolium physodes* και στα καλλιεργούμενα φυτά *Cicer arietinum* και *Trifolium repens* σε mg/Kg Ξηρού Βάρους.

Φυτοοιστρογόνα	<i>A. creticus</i>	<i>A. glycyphyllos</i>	<i>B. bituminosa</i>	<i>C. incisum</i>	<i>L. laxiflorus</i>	<i>T.physodes</i>	<i>C. arietinum</i>	<i>T.repens</i>
3',4',7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	0,169±0,043	0,066±0,000	1,159±0,618	nd	0,209±0,000
4',6,7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	nd	nd	12,089±0,015	nd	nd
4'-Ο-Γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	nd	nd	nd	1,627±0,148	0,566±0,098	21,957±0,016	0,513±0,006	60,354±0,1
7-Ο-Γλυκοζίτης της Κερσεταγετίνης	nd	0,293±0,010	nd	0,077±0,008	0,231±0,002	2,090±0,512	nd	1,466±0,59
Απιγενίνη	nd	nd	1,659±0,722	0,282±0,140	0,676±0,001	tr	0760±0,021	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>A. creticus</i>	<i>A. glycyphyllos</i>	<i>B. bituminosa</i>	<i>C. incisum</i>	<i>L. laxiflorus</i>	<i>T.physodes</i>	<i>C. arietinum</i>	<i>T.repens</i>
Βιοχανίνη Α	nd	0,204±0,006	nd	0,537±0,094	nd	78,400±2,190	0,264±0,033	102,661±14,6
Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	tr	tr	nd	nd	1,868±0,002	nd	nd	nd
Γαλλοκατεχίνη	nd	nd	53,120±9,954	3,525±0,597	nd	1,308±0,025	2,605±1,376	3,463±0,99
Γενιστεΐνη	nd	nd	nd	nd	nd	123,506±0,535	nd	nd
Γενιστίνη	nd	nd	572,574±0,177	0,066±0,009	nd	17,556±0,401	nd	1,185±0,36
Γλυσιτεΐνη	nd	nd	4,246±0,805	1,169±0,192	nd	14,059±0,391	nd	28,667±3,6
Γλυσιτίνη	0,169±0,040	0,965±0,313	12,658±6,089	0,403±0,048	tr	33,374±2,792	0,025±0,003	24,187±6,5
Δαϊδζίνη	0,023±0,015	0,099±0,011	341,512±91,136	0,212±0,081	nd	8,304±1,026	0,040±0,008	1,661±0,15
Δαϊνδζεΐνη	0,037±0,026	0,092±0,083	69,701±0,020	2,200±0,152	nd	2,802±0,004	0,690±0,111	2,600±0,00
Διοσμετίνη	0,522±0,005	18,829±0,210	nd	2,070±0,251	0,324±0,000	67,649±3,687	0,128±0,016	3,205±1,48
Διοσμίνη	0,740±0,212	0,407±0,054	nd	nd	nd	nd	nd	0,662±0,24
Επικατεχίνη	nd	nd	nd	nd	150,534±5,658	nd	nd	nd
Εσπερετίνη	nd	nd	nd	tr	nd	5,787±1,957	nd	nd
Εσπεριδίνη	9,038±0,904	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ισοκερκετίνη	14,385±0,224	20,375±5,379	1,004±0,068	7,884±0,798	75,717±0,228	110,548±7,617	0,244±0,056	186,870±24,6
Ισολικουΐριτιγενίνη	tr	1,387±0,000	nd	nd	0,402±0,000	tr	tr	tr
Ισοραμνετίνη	nd	nd	nd	tr	nd	nd	tr	nd
Καλυκοσίνη	0,577±0,352	5,707±0,583	nd	11,854±0,238	tr	13,950±0,494	0,194±0,057	80,766±0,5
Καμφερόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2,725±0,017	3,459±0,02
Κατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καφεϊκό Οξύ	nd	nd	nd	0,146±0,021	nd	nd	nd	nd
Κερκετίνη	17,126±0,495	nd	nd	104,125±0,017	10,751±0,318	102,833±1,121	nd	35,769±0,7
Κερσιτρίνη	tr	nd	nd	0,832±0,027	tr	nd	nd	0,410±0,01
Κουμεστρόλη	nd	nd	18,115±1,204	8,382±0,068	nd	29,483±17,397	nd	nd
Λικουΐριτιγενίνη	nd	nd	nd	3,291±0,372	nd	nd	nd	5,819±0,52
Λικουΐριτίνη	nd	nd	nd	nd	nd	0,186±0,091	nd	nd
Λουτεολίνη	0,285±0,002	nd	nd	0,137±0,097	2,409±0,088	31,053±0,134	0,104±0,000	2,258±0,93
Μυρισετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νεοχλωρογενικό Οξύ	nd	36,021±6,274	95,827±31,809	nd	nd	nd	nd	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>A. creticus</i>	<i>A. glycyphyllos</i>	<i>B. bituminosa</i>	<i>C. incisum</i>	<i>L. laxiflorus</i>	<i>T.physodes</i>	<i>C. arietinum</i>	<i>T.repens</i>
Ονονίνη	tr	0,283±0,081	nd	14,311±0,044	tr	89,596±0,305	0261±0,014	80,723±0,0
Πολυδατίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Προκυανιδίνη B1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Προκυανιδίνη B2	nd	nd	nd	nd	221,294±1,708	nd	nd	nd
Ρουτίνη	221,990±17,190	19,674±1,912	nd	nd	772,397±5,675	nd	nd	6,055±1,27
Σεκοΐσολαρισεσινόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σισσοτρίνη	nd	nd	nd	nd	nd	1027,403±47,763	nd	557,110±32,
Σοφορικοσίδης	nd	nd	179,070±86,660	nd	nd	3,777±1,383	nd	nd
Υδροξυτυροσόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Φορμονονετίνη	nd	nd	nd	23,840±0,774	nd	57,647±0,583	0,318±0,020	140,800±0,3
Χλωρογενικό Οξύ	3,043±0,214	nd	nd	0,506±0,120	112,123±1,708	0,283±0,002	nd	2,964±0,28

Πίνακας-Π15 Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα βελτιωμένα φυτά *Cicer arietinum* (var Αμοργός), *Lathyrus sativus* (λευκό, var. Μελεμέ), *Medicago sativa* (var. Μηδική), *Phaseolus vulgaris* (var. Πυργετός), *Pisum sativum* (var Όλυμπος και Δωδώνη) και *Vicia faba* (var Πολυκάρπης) σε mg/Kg Ξηρού Βάρους.

Φυτοοιστρογόνα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>L. sativus</i> (λευκό)	<i>L. sativus</i> (var Μελεμέ)	<i>M. sativa</i> (var Μηδική)	<i>P.vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>P.sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P.sativum</i> (var Δωδώνη)	<i>V.faba</i> (var Πολυκάρπης)
3',4',7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,013±0,003
4',6,7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4'-Ο-Γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	11,071±0,123	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
7-Ο-Γλυκοζίτης της Κερσεταγετίνης	nd	nd	tr	nd	0,017±0,009	tr	nd	tr
Απιγενίνη	0,367±0,005	nd	nd	23,116±2,133	tr	nd	nd	1,074±0,000
Βιοχανίνη Α	14,737±0,640	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	nd	tr	tr	nd	nd	nd	nd	0,046±0,000
Γαλλοκατεχίνη	0,399±0,092	nd	nd	nd	1,069±0,097	nd	nd	nd
Γενιστεΐνη	1,663±0,078	nd	nd	nd	5,956±0,137	nd	nd	47,246±0,59
Γενιστίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γλυσιτεΐνη	1,268±0,453	nd	nd	nd	0,075±0,000	nd	0,104±0,075	0,077±0,027

Φυτοοιστρογόνα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>L. sativus</i> (λευκό)	<i>L. sativus</i> (var Μελεμέ)	<i>M. sativa</i> (var Μηδικη)	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>P. sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρι)
Γλυσιτίνη	1,306±0,087	nd	nd	nd	nd	tr	tr	nd
Δαϊδζίνη	0,053±0,013	nd	nd	nd	0,003±0,000	nd	nd	nd
Δαϊνδζεΐνη	0,142±0,000	nd	nd	0,005±0,002	3,552±0,000	tr	nd	nd
Διοσμετίνη	22,433±0,215	nd	nd	0,970±0,173	tr	nd	nd	0,800±0,008
Διοσμίνη	nd	nd	8,953±0,621	nd	nd	nd	0,386±0,143	1,645±0,172
Επικατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπερετίνη	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπεριδίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ισοκερκτίνη	35,791±2,219	0,023±0,003	nd	0,418±0,141	2,132±0,156	4,251±0,372	1,273±0,198	0,183±0,067
Ισολικουϊριτιγενίνη	0,427±0,083	nd	nd	nd	0,237±0,000	0,214±0,000	0,255±0,000	0,946±0,000
Ισοραμνετίνη	tr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καλυκοσίνη	6,043±0,054	nd	0,047±0,005	nd	nd	0,242±0,003	0,444±0,004	0,063±0,010
Καμφερόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καφεϊκό Οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κερκετίνη	22,136±0,280	nd	nd	nd	13,131±0,484	nd	nd	nd
Κερσιτρίνη	nd	nd	0,019±0,000	0,032±0,000	0,123±0,002	nd	nd	tr
Κουμεστρόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λικουϊριτιγενίνη	nd	nd	nd	nd	tr	nd	nd	nd
Λικουϊριτίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λουτεολίνη	1,650±0,174	nd	nd	nd	2,754±0,090	nd	nd	1,491±0,031
Μυρισετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νεοχλωρογενικό Οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ονονίνη	4,040±0,356	nd	nd	0,002±0,000	nd	nd	tr	nd
Πολυδατίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Προκυανιδίνη B1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,132±0,055
Προκυανιδίνη B2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,045±0,012
Ρουτίνη	0,933±0,326	nd	nd	nd	9,732±0,678	nd	nd	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>L. sativus</i> (λευκό)	<i>L. sativus</i> (var Μελεμέ)	<i>M. sativa</i> (var Μηδική)	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>P. sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάμπη)
Σεκοΐσολαρισεινόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σισσοτρίνη	16,136±4,495	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σοφορικοσίδης	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Υδροξυτυροσόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Φορμονονετίνη	8,974±0,104	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Χλωρογενικό Οξύ	nd	nd	0836±0,019	tr	nd	tr	0,293±0,178	1,381±0,102

Πίνακας-Π16 Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα βελτιωμένα φυτά *Vicia sativa* στις ποικιλίες που μελετήθηκαν σε mg/Kg ξηρού φυτικού βάρους.

Φυτοοιστρογόνα	<i>V. sativa</i> (var Λεωνίδας)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Καλλιπρόη)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)
3',4',7- τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	tr	nd	nd
4',6,7- τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4'-Ο-Γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	nd	nd	nd	nd	nd	nd
7-Ο-Γλυκοζίτης της Κερσεταγετίνης	tr	0,008±0,000	nd	0,009±0,001	tr	0,032±0,014
Απιγενίνη	0,366±0,022	0,784±0,000	tr	2,350±0,025	nd	2,646±0,003
Βιοχανίνη Α	nd	nd	tr	nd	nd	nd
Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	nd	nd	nd	nd	tr	nd
Γαλλοκατεχίνη	nd	0,084±0,005	nd	0,229±0,032	nd	nd
Γενιστεΐνη	nd	3,861±0,619	1,932±0,243	7,563±0,052	0,037±0,009	2,568±0,140
Γενιστίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γλυσιτεΐνη	0,104±0,000	0,123±0,021	0,301±0,000	0,652±0,153	nd	0,037±0,002
Γλυσιτίνη	tr	nd	0,003±0,000	nd	nd	tr

Φυτοοιστρογόνα	<i>V. sativa</i> (var Λεωνίδας)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Καλλιπρόη)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)
Δαϊδζίνη	nd	nd	tr	nd	nd	nd
Δαϊνδζείνη	nd	nd	nd	0,010±0,000	nd	nd
Διοσμετίνη	0,119±0,000	0,114±0,016	tr	nd	tr	nd
Διοσμίνη	nd	0,234±0,063	nd	0,245±0,021	nd	0,284±0,072
Επικατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπερετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπεριδίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ισοκερκετίνη	9,208±0,876	19,951±1,102	3,320±0,702	10,507±0,329	6,270±0,203	33,907±0,805
Ισολικουϊριτιγενίνη	0,130±0,000	0,407±0,000	0,517±0,000	1,718±0,000	0,008±0,000	0,456±0,000
Ισοραμνετίνη	tr	nd	nd	nd	nd	nd
Καλυκοσίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καμφερόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καφεϊκό Οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κερκετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κερσιτρίνη	tr	nd	nd	nd	nd	nd
Κουμμεστρόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λικουϊριτιγενίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λικουϊριτίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λουτεολίνη	0,242±0,026	0,415±0,049	nd	1,818±0,098	nd	0,544±0,010
Μυρισετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νεοχλωρογενικό Οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ονονίνη	nd	0,007±0,000	nd	tr	nd	tr
Πολυδατίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Προκυανιδίνη Β1	0,072±0,002	nd	nd	nd	nd	0,107±0,088
Προκυανιδίνη Β2	tr	nd	nd	nd	nd	nd
Ρουτίνη	6,225±0,430	2,045±0,145	nd	5,524±0,546	0,369±0,091	11,192±0,395

Φυτοοιστρογόνα	<i>V. sativa</i> (var Λεωνίδας)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Καλλιπρόη)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)
Σεκοΐσολαρισερινόλη	12,307±0,035	46,335±0,132	29,824±0,063	nd	2,526±0,021	11,215±0,152
Σισσοτρίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σοφορικοσίδης	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Υδροξυτυροσόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Φορμονονετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Χλωρογενικό Οξύ	2,326±0,231	nd	0,801±0,501	0,776±0,149	0,022±0,002	3,010±0,180

Πίνακας-Π17 Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα σπέρματα *Lathyrus clymenum*, *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris* (var Πυργετός), *Lens culinaris* (var Δήμητρα, Θεσσαλία, Σάμος) και *Pisum sativum* (var Όλυμπος, Δωδώνη) σε mg/g Εκχυλίσματος.

Φυτοοιστρογόνα	<i>L. clymenum</i>	<i>G. max</i>	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>L. culinaris</i> (var Δήμητρα)	<i>L. culinaris</i> (var Θεσσαλία)	<i>L. culinaris</i> (var Σάμος)	<i>P. sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)
3',4',7- τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	<0,001	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4',6,7- τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4'-Ο-Γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
7'-Ο-Γλυκοζίτης της Κερσεταγετίνης	nd	nd	nd	<0,001	nd	nd	<0,001	nd
Απιγενίνη	nd	nd	0,035±0,000	nd	nd	nd	nd	nd
Βιοχανίνη Α	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γαλλοκατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γενιστεΐνη	nd	0,210±0,010	3,880±0,004	nd	nd	nd	nd	nd
Γενιστίνη	nd	0,039±0,000	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γλυσιτεΐνη	nd	tr	0,011±0,000	nd	nd	nd	nd	nd
Γλυσιτίνη	<0,001	nd	nd	nd	nd	<0,001	<0,001	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>L. clymenum</i>	<i>G. max</i>	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>L. culinaris</i> (var Δήμητρα)	<i>L. culinaris</i> (var Θεσσαλία)	<i>L. culinaris</i> (var Σάμος)	<i>P.sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)
Δαϊδζίνη	nd	2,237±0,141	0,075±0,006	nd	nd	nd	nd	nd
Δαϊνδζεΐνη	nd	0,723±0,000	0,293±0,000	nd	nd	nd	nd	nd
Διοσμετίνη	nd	nd	tr	nd	nd	nd	nd	nd
Διοσμίνη	0,003±0,000	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Επικατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπερετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπεριδίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ισοκερκετίνη	<0,001	nd	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Ισολικουϊριτιγενίνη	nd	nd	nd	nd	nd	0,002±0,000	<0,001	<0,001
Ισοραμνετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καλυκοσίνη	nd	nd	nd	nd	nd	0,006±0,000	nd	nd
Καμφερόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καφεϊκό Οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κερκετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κερσιτρίνη	<0,001	nd	nd	<0,001	<0,001	<0,001	tr	tr
Κουμestρόλη	nd	tr	0,823±0,150	nd	nd	nd	nd	nd
Λικουϊριτιγενίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λικουϊριτίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λουτεολίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Μυρισετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νεοχλωρογενικό Οξύ	nd	0,296±0,225	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ονονίνη	<0,001	<0,001	nd	nd	tr	nd	tr	tr
Πολυδατίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Προκυανιδίνη B1	nd	nd	nd	0,001±0,000	nd	0,002±0,001	tr	nd
Προκυανιδίνη B2	nd	nd	nd	0,015±0,002	0,006±0,001	0,032±0,005	tr	nd
Ρουτίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σεκοϊσολαρισιρεσινόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>L. clymenum</i>	<i>G. max</i>	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>L. culinaris</i> (var Δήμητρα)	<i>L. culinaris</i> (var Θεσσαλία)	<i>L. culinaris</i> (var Σάμος)	<i>P.sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)
Σισσοτρίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σοφορικοσίδης	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Υδροξυτυροσώλη	nd	2,440±0,069	0,258±0,018	nd	nd	nd	nd	nd
Φορμονονετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Χλωρογενικό Οξύ	nd	nd	nd	tr	nd	nd	nd	tr

Πίνακας-Π18 Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα σπέρματα *Cicer arietinum* (var Αμοργός, Γαύδος, Θήβα), *Vicia sativa* (var Εύηνος, Ίστρος Αλέξανδρος) και *Vicia faba* (var Πολυκάρπης, Τανάγρα) σε mg/g Εκχυλίσματος.

Φυτοοιστρογόνα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>C. arietinum</i> (var Γαύδος)	<i>C. arietinum</i> (var Θήβα)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπης)	<i>V. faba</i> (var Τανάγρα)
3',4',7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4',6,7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4'-Ο-Γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
7-Ο-Γλυκοζίτης της Κερσεταγετίνης	nd	nd	nd	nd	nd	nd	<0,001	<0,001
Απιγενίνη	nd	nd	nd	nd	nd	<0,001	nd	nd
Βιοχανίνη Α	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	nd	<0,001	<0,001	nd	<0,001	nd	nd	<0,001
Γαλλοκατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γενιστεΐνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γενιστίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γλυσιτεΐνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γλυσιτίνη	nd	<0,001	nd	nd	<0,001	nd	nd	nd
Δαϊδζίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Δαϊνδζεΐνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Διοσμετίνη	nd	nd	<0,001	nd	tr	tr	nd	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>C. arietinum</i> (var Γαύδος)	<i>C. arietinum</i> (var Θήβα)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπης)	<i>V. faba</i> (var Τανάγρα)
Διοσμίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Επικατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπερετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπεριδίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ισοκερκετίνη	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Ισολικουϊριτιγενίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ισοραμνετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καλυκοσίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καμφερόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καφεϊκό Οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κερκετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κερσιτρίνη	<0,001	nd	nd	tr	nd	nd	tr	tr
Κουμειστρόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λικουϊριτιγενίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λικουϊριτίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λουτεολίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Μυρισετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νεοχλωρογενικό Οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ονονίνη	<0,001	<0,001	nd	nd	<0,001	<0,001	tr	tr
Πολυδατίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Προκυανιδίνη Β1	nd	nd	nd	<0,001	0,003±0,001	nd	nd	nd
Προκυανιδίνη Β2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ρουτίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σεκοϊσολαρισεσινόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σισσοτρίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σοφορικοσίδης	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>C. arietinum</i> (var Γαύδος)	<i>C. arietinum</i> (var Θήβα)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπη)	<i>V. faba</i> (var Τανάγρα)
Υδροξυτυροσόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Φορμονονετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Χλωρογενικό Οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	0,002±0,001	nd	nd

Πίνακας-Π19 Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα σπέρματα *Lathyrus clymenum*, *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris* (var Πυργετός), *Lens culinaris* (var Δήμητρα, Θεσσαλία, Σάμος) και *Pisum sativum* (var Όλυμπος, Δωδώνη) σε mg/Kg Ξηρού Βάρους.

Φυτοοιστρογόνα	<i>L. clymenum</i>	<i>G. max</i>	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>L. culinaris</i> (var Δήμητρα)	<i>L. culinaris</i> (var Θεσσαλία)	<i>L. culinaris</i> (var Σάμος)	<i>P. sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)
3',4',7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	0,001±0,000	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4',6,7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4'-Ο-Γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
7-Ο-Γλυκοζίτης της Κερσεταγετίνης	nd	nd	nd	0,003±0,000	nd	nd	0,001±0,000	nd
Απιγενίνη	nd	nd	1,483±0,020	nd	nd	nd	nd	nd
Βιοχανίνη Α	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γαλλοκατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γενιστεΐνη	nd	10,684±0,206	164,247±0,168	nd	nd	nd	nd	nd
Γενιστίνη	nd	1,969±0,015	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Γλυσιτεΐνη	nd	tr	0,500±0,002	nd	nd	nd	nd	nd
Γλυσιστίνη	<0,001	nd	nd	nd	nd	0,009±0,005	<0,001	nd
Δαϊδζίνη	nd	113,650±7,154	3,195±0,014	nd	nd	nd	nd	nd
Δαϊνδζεΐνη	nd	36,740±0,001	12,420±0,000	nd	nd	nd	nd	nd
Διοσμετίνη	nd	nd	tr	nd	nd	nd	nd	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>L. clymenum</i>	<i>G. max</i>	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>L. culinaris</i> (var Δήμητρα)	<i>L. culinaris</i> (var Θεσσαλία)	<i>L. culinaris</i> (var Σάμος)	<i>P.sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)
Διοσμίνη	0,014±0,001	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Επικατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπερετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Εσπεριδίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ισοκερκετίνη	0,001±0,000	nd	0,006±0,000	0,002±0,001	0,000444961	0,004±0,002	0,004±0,002	0,001±0,000
Ισολικουϊριτιγενίνη	nd	nd	nd	0,001±0,000	nd	0,068±0,000	0,014±0,000	0,016±0,002
Ισοραμνετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καλυκοσίνη	nd	nd	nd	nd	nd	0,266±0,000	nd	nd
Καμφερόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κατεχίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καφεϊκό Οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κερκετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Κερσιτρίνη	<0,001	nd	nd	0,003±0,000	0,002±0,000	0,003±0,000	tr	tr
Κουμεστρόλη	nd	tr	34,834±6,332	nd	nd	nd	nd	nd
Λικουϊριτιγενίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λικουϊριτίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λουτεολίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Μυρισετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νεοχλωρογενικό Οξύ	nd	15,053±11,414	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ονονίνη	0,001±0,000	0,002±0,000	nd	nd	tr	nd	tr	tr
Πολυδατίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Προκυανιδίνη B1	nd	nd	nd	0,029±0,015	nd	0,078±0,037	tr	nd
Προκυανιδίνη B2	nd	nd	nd	0,542±0,061	0,298±0,041	1,421±0,231	tr	nd
Ρουτίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σεκοϊσολαρισεσινόλη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σισσοτρίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Σοφορικοσίδης	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>L. clymenum</i>	<i>G. max</i>	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>L. culinaris</i> (var Δήμητρα)	<i>L. culinaris</i> (var Θεσσαλία)	<i>L. culinaris</i> (var Σάμος)	<i>P.sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)
Υδροξυτυροσόλη	nd	123,951±3,516	10,922±0,008	nd	nd	nd	nd	nd
Φορμονονετίνη	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Χλωρογενικό Οξύ	nd	nd	nd	tr	nd	nd	nd	tr

Πίνακας-Π20 Αποτελέσματα ανάλυσης φυτοοιστρογόνων στα σπέρματα *Cicer arietinum* (var. Αμοργός, Γαύδος, Θήβα), *Vicia sativa* (var. Εύηνος, Ίστρος Αλέξανδρος) και *Vicia faba* (var. Πολυκάρπης, Τανάγρα) σε mg/ Kg Ξηρού Βάρους.

Φυτοοιστρογόνα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>C. arietinum</i> (var Γαύδος)	<i>C.arietinum</i> (var Θήβα)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπης)	<i>V. faba</i> (var Τανάγρα)
3',4',7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
4',6,7-τριϋδροξυϊσοφλαβόνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
4'-Ο-Γλυκοζίτης της Λουτεολίνης	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
7-Ο-Γλυκοζίτης της Κερσεταγετίνης	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	<0,001	0,006±0,000
Απιγενίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	0,011±0,002	nd	nd
Βιοχανίνη Α	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Γαλλική Επιγαλλοκατεχίνη	nd	0,032±0,016	0,021±0,013	Nd	0,001±0,000	nd	nd	0,018±0,002
Γαλλοκατεχίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Γενιστεΐνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Γενιστίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Γλυσιτεΐνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Γλυσιτίνη	nd	0,001±0,000	nd	Nd	<0,001	nd	nd	nd
Δαϊδζίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Δαϊνδζεΐνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Διοσμετίνη	nd	nd	<0,001	Nd	tr	tr	nd	nd
Διοσμίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>C. arietinum</i> (var Γαύδος)	<i>C. arietinum</i> (var Θήβα)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπης)	<i>V. faba</i> (var Τανάγρα)
Επικατεχίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Εσπερετίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Εσπεριδίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Ισοκερκετίνη	<0,001	0,001±0,000	<0,001	0,001±0,000	0,005±0,002	0,003±0,000	0,001±0,000	0,009±0,005
Ισολικουϊριτιγενίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Ισοραμνετίνη	nd	nd	nd					
Καλυκοσίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Καμφερόλη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Κατεχίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Καφεϊκό Οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Κερκετίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Κερσιτρίνη	<0,001	nd	nd	Tr	nd	nd	tr	tr
Κουμestρόλη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Λικουϊριτιγενίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Λικουϊριτίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Λουτεολίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Μυρισετίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Νεοχλωρογενικό Οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Ονονίνη	<0,001	<0,001	nd	Nd	<0,001	<0,001	tr	tr
Πολυδατίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Προκυανιδίνη B1	nd	nd	nd	0,018±0,001	0,035±0,015	nd	nd	nd
Προκυανιδίνη B2	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Ρουτίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Σεκοϊσολαρισιρεσινόλη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Σισσοτρίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Σοφορικοσίδης	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Υδροxyτυροσόλη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Φορμονονετίνη	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd

Φυτοοιστρογόνα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>C. arietinum</i> (var Γαύδος)	<i>C. arietinum</i> (var Θήβα)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπη)	<i>V. faba</i> (var Τανάγρα)
Χλωρογενικό Οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	0,069±0,032	nd	nd

Πίνακας-Π21 Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα άγρια φυτά *Astragalus creticus*, *Astragalus glycyphyllos*, *Bituminaria bituminosa*, *Cicer incisum*, *Lathyrus laxiflorus* και *Trifolium physodes* και στα καλλιεργούμενα φυτά *Cicer arietinum* και *Trifolium repens* σε mg/g Εκχυλίσματος.

Λιπαρά Οξέα	<i>A. creticus</i>	<i>A. glycyphyllos</i>	<i>B. bituminosa</i>	<i>C. incisum</i>	<i>L. laxiflorus</i>	<i>T. physodes</i>	<i>C. arietinum</i>	<i>T. repens</i>
Βουτυρικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καπροϊκό οξύ	0,347±0,018	0,111±0,001	0,12±0,004	0,581±0,029	0,301±0,008	0,462±0,001	0,244±0,000	0,256±0,010
Καπρυλικό οξύ	0,486±0,012	0,206±0,004	0,096±0,003	0,55±0,032	0,154±0,004	0,862±0,001	0,129±0,000	0,083±0,007
Καπρικό οξύ	0,09±0,003	0,204±0,002	0,056±0,004	0,335±0,017	0,298±0,008	0,29±0,008	0,046±0,004	0,057±0,002
Ενδεκανοϊκό οξύ	nd	0,024±0,013	nd	0,049±0,007	nd	nd	nd	nd
Λαυρικό οξύ	0,227±0,002	1,916±0,046	0,579±0,017	1,133±0,08	1,313±0,043	1,598±0,126	0,467±0,014	0,36±0,002
Τριδεκανοϊκό οξύ	nd	0,063±0,004	nd	0,088±0,007	0,006±0,002	nd	nd	nd
Μυριστικό οξύ	1,239±0,189	1,851±0,056	1,962±0,083	2,259±0,157	1,752±0,095	3,427±0,357	1,008±0,087	0,664±0,022
Μυριστολεϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Πενταδεκανοϊκό Οξύ	0,225±0,011	0,302±0,015	0,213±0,007	1,106±0,113	0,458±0,04	0,619±0,075	0,567±0,003	0,147±0,002
cis-10-δεκαπεντ-εν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Παλμιτικό οξύ	8,277±0,047	18,282±0,688	36,388±1,324	47,711±4,427	16,203±0,95	28,182±2,971	16,907±0,079	10,028±0,010
Παλμιτολεϊκό οξύ	0,206±0,011	0,171±0,015	0,362±0,052	5,574±0,445	0,211±0,018	1,052±0,111	0,132±0,002	nd
Μαργαρικό οξύ	0,389±0,009	0,812±0,043	0,56±0,023	1,887±0,213	0,603±0,046	0,861±0,082	0,361±0,002	0,202±0,001
cis-10-δεκαεπτ-εν-οϊκό οξύ	nd	0,278±0,016	0,280±0,016	0,624±0,047	0,337±0,022	0,370±0,052	nd	nd
Στεαρικό οξύ	2,101±0,001	18,961±0,989	7,440±0,276	9,127±0,982	5,951±0,439	6,225±0,690	3,050±0,102	1,682±0,026
Ελαϊκό οξύ	3,625±0,012	10,269±0,520	22,478±0,918	30,953±3,326	9,031±0,722	30,035±3,222	2,710±0,114	1,051±0,016
Λινελαϊκό οξύ	12,243±0,045	24,034±1,263	31,796±1,265	45,095±4,673	39,830±2,816	29,126±3,089	15,784±0,438	5,878±0,102
γ-Λινολενικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λινολενικό οξύ	8,644±0,032	30,532±1,483	47,574±1,902	18,255±1,928	28,046±1,960	18,621±1,970	9,331±0,264	5,471±0,101
Αραχιδικό οξύ	6,829±0,083	2,149±0,630	2,617±0,089	5,507±0,628	9,781±0,685	4,389±0,511	1,715±0,128	0,504±0,015

Λιπαρά Οξέα	<i>A. creticus</i>	<i>A. glycyphyllos</i>	<i>B. bituminosa</i>	<i>C. incisum</i>	<i>L. laxiflorus</i>	<i>T. physodes</i>	<i>C. arietinum</i>	<i>T. repens</i>
cis-11-Εικοσ-εν-οϊκό οξύ	0,120±0,002	0,179±0,018	0,145±0,003	0,724±0,071	nd	nd	nd	nd
cis-11,14-Εικοσα-διεν-οϊκό οξύ	0,614±0,029	nd	nd	0,424±0,012	0,17±0,012	nd	nd	nd
Εικοσιενοϊκό οξύ	nd	0,528±0,014	11,253±0,361	1,987±0,229	0,647±0,031	0,974±0,088	0,385±0,041	nd
cis-11,14,17-εικοσα-τριεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
cis-5,8,11,14,17-εικοσα-πεντεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Αραχιδονικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Βεχενικό οξύ	3,771±0,128	3,864±0,143	1,437±0,044	4,775±0,599	1,378±0,249	3,120±0,437	1,047±0,026	0,344±0,001
Ερουκικό οξύ	0,897±0,013	0,525±0,022	nd	1,423±0,184	nd	2,039±0,278	nd	nd
cis-13,16-Εικοσιδυο-διεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Τρικοσανοϊκό οξύ	0,386±0,019	0,587±0,014	0,677±0,013	2,827±0,250	0,547±0,023	1,057±0,159	0,184±0,006	0,138±0,000
Λιγνοκηρικό οξύ	1,486±0,032	2,163±0,006	1,800±0,034	9,105±0,591	2,000±0,098	3,442±0,458	0,53±0,043	1,000±0,006
(all-Z)-4,7,10,13,16,19-Εικοσιδυο-εξανεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νευρονικό οξύ	nd	2,372±0,073	0,770±0,340	7,921±0,103	nd	111,794±9,497	nd	nd

Πίνακας-Π22 Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα βελτιωμένα φυτά *Cicer arietinum* (var Αμοργός), *Lathyrus sativus* (λευκό, var. Μελεμέ), *Medicago sativa* (var. Μηδική), *Phaseolus vulgaris* (var. Πυργετός), *Pisum sativum* (var Όλυμπος και Δωδώνη) και *Vicia faba* (var Πολυκάρπη) σε mg/g Εκχυλίσματος.

Λιπαρά Οξέα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>L. sativus</i> (λευκό)	<i>L. sativus</i> (var Μελεμέ)	<i>M. sativa</i> (var Μηδική)	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>P. sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπη)
Βουτυρικό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Καπροϊκό οξύ	0,179±0,003	0,316±0,022	0,266±0,007	0,318±0,018	0,512±0,034	0,091±0,001	0,079±0,007	0,584±0,025
Καπρυλικό οξύ	0,085±0,008	0,128±0,006	0,274±0,006	0,138±0,010	0,217±0,012	nd	0,049±0,002	0,700±0,040
Καπρικό οξύ	0,086±0,02	0,028±0,009	0,178±0,006	0,145±0,012	0,212±0,011	0,003±0,000	0,047±0,006	0,520±0,032
Ενδεκανοϊκό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	0,041±0,003
Λαυρικό οξύ	0,674±0,032	0,510±0,041	0,551±0,011	2,097±0,141	0,837±0,010	0,332±0,009	0,396±0,043	2,064±0,121

Λιπαρά Οξέα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>L. sativus</i> (λευκό)	<i>L. sativus</i> (var Μελεμέ)	<i>M. sativa</i> (var Μηδική)	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>P. sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπη)
Τριδεκανοϊκό οξύ	nd	nd	0,024±0,002	0,024±0,004	0,006±0,004	nd	0,003±0,003	0,167±0,012
Μυριστικό οξύ	1,711±0,089	2,102±0,167	2,578±0,042	3,123±0,278	2,729±0,171	0,926±0,016	1,302±0,150	3,283±0,163
Μυριστολεϊκό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Πενταδεκανοϊκό Οξύ	0,193±0,014	0,583±0,056	0,769±0,010	0,547±0,045	0,427±0,042	0,280±0,007	0,449±0,062	0,749±0,025
cis-10-δεκαπεντ-εν- οϊκό οξύ	nd	nd	nd	0,653±0,029	nd	0,494±0,015	nd	nd
Παλμιτικό οξύ	28,139±1,37 1	39,009±3,02 5	34,715±0,37 1	33,398±2,459	31,294±4,21 1	10,578±0,127	15,063±2,02 5	38,319±2,074
Παλμιτολεϊκό οξύ	0,600±0,033	0,201±0,029	0,490±0,001	0,274±0,022	0,307±0,046	0,101±0,001	0,385±0,078	0,393±0,018
Μαργαρικό οξύ	0,199±0,007	1,008±0,087	1,427±0,189	0,751±0,053	0,432±0,087	0,328±0,006	0,511±0,070	1,277±0,05
cis-10-δεκαεπτ-εν- οϊκό οξύ	0,128±0,008	nd	nd	0,187±0,106	nd	nd	nd	0,141±0,008
Στεαρικό οξύ	4,763±0,03	16,364±1,29 6	12,898±0,11 7	7,374±0,558	6,84±1,424	4,395±0,049	5,871±0,773	11,041±0,311
Ελαϊκό οξύ	77,578±2,18 5	6,377±0,522	10,423±0,09 3	3,841±0,288	6,252±1,254	4,042±0,008	9,356±1,276	36,112±1,218
Λινελαϊκό οξύ	94,717±2,62 2	32,743±2,55 3	44,598±1,08 2	24,984±1,83	26,722±5,38 4	10,741±0,124	22,799±2,92 5	68,451±2,388
γ-Λινολενικό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Λινολενικό οξύ	19,049±0,45 4	64,132±4,83 9	35,35±0,345	40,890±2,932	38,860±7,70 6	11,752±0,124	14,496±1,92 9	28,972±1,125
Αραχιδικό οξύ	1,914±0,043	8,362±0,635	7,112±0,004	3,729±0,119	3,241±0,753	2,027±0,002	2,437±0,291	7,320±0,220
cis-11-Εικοσ-εν-οϊκό οξύ	1,680±0,047	0,264±0,027	3,187±0,132	Nd	nd	nd	0,283±0,027	4,357±0,038
cis-11,14-Εικοσα- διεν-οϊκό οξύ	0,137±0,002	0,432±0,156	0,267±0,001	0,085±0,017	nd	nd	0,170±0,019	0,307±0,013
Εικοσιενοϊκό οξύ	0,387±0,001	1,275±0,088	1,366±0,004	0,524±0,020	0,458±0,075	0,683±0,005	0,684±0,075	1,656±0,044
cis-11,14,17-εικοσα- τριεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	0,316±0,062	nd	nd	0,503±0,043	nd

Λιπαρά Οξέα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>L. sativus</i> (λευκό)	<i>L. sativus</i> (var Μελεμέ)	<i>M. sativa</i> (var Μηδική)	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>P. sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπη)
cis-5,8,11,14,17- εικοσα-πεντεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Αραχιδονικό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Βεχενικό οξύ	0,269±0,014	2,617±0,205	2,421±0,012	2,542±0,164	1,640±0,387	0,926±0,037	1,456±0,204	3,143±0,072
Ερουκικό οξύ	0,206±0,007	1,662±0,044	2,262±0,013	0,830±0,054	0,726±0,121	0,451±0,031	0,587±0,066	1,886±0,087
cis-13,16-Εικοσιδυο- διεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Τρικοσανοϊκό οξύ	0,552±0,010	1,021±0,06	1,614±0,317	0,728±0,042	0,803±0,173	0,474±0,023	0,632±0,09	1,684±0,079
Λιγνοκηρικό οξύ	1,256±0,026	2,056±0,255	2,068±0,545	2,484±0,12	2,649±0,511	0,591±0,049	0,917±0,147	4,257±0,031
(all-Z)- 4,7,10,13,16,19- Εικοσιδυο-εξανεν- οϊκό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Νευρονικό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd

Πίνακας-Π23 Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα βελτιωμένα φυτά *Vicia sativa* στις ποικιλίες που μελετήθηκαν σε mg/g Εκχυλίσματος.

Λιπαρά Οξέα	<i>V. sativa</i> (var Λεωνίδας)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Καλλιρρόη)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)
Βουτυρικό οξύ	nd	nd	Nd	nd	nd	nd
Καπροϊκό οξύ	0,058±0,005	0,200±0,010	0,161±0,024	nd	0,044±0,000	0,171±0,012
Καπρυλικό οξύ	0,349±0,022	0,299±0,015	0,259±0,045	0,223±0,002	0,048±0,008	0,211±0,018
Καπρικό οξύ	0,393±0,032	0,361±0,025	0,317±0,057	0,322±0,004	nd	0,290±0,028
Ενδεκανοϊκό οξύ	nd	nd	Nd	nd	nd	nd
Λαυρικό οξύ	1,627±0,115	1,678±0,114	2,968±0,474	1,342±0,017	0,054±0,004	1,331±0,139
Τριδεκανοϊκό οξύ	0,037±0,003	0,035±0,005	0,206±0,249	0,026±0,001	0,009±0,001	0,016±0,007
Μυριστικό οξύ	3,049±0,254	2,933±0,194	2,979±0,501	3,314±0,032	0,971±0,032	2,729±0,365
Μυριστολεϊκό οξύ	nd	nd	Nd	nd	nd	nd

Λιπαρά Οξέα	<i>V. sativa</i> (var Λεωνίδας)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Καλλιρρόη)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)
Πενταδεκανοϊκό Οξύ	0,584±0,077	0,650±0,045	0,587±0,084	0,979±0,014	0,357±0,016	0,604±0,065
cis-10-δεκαπεντ-εν-οϊκό οξύ	nd	nd	Nd	nd	nd	0,999±0,042
Παλμιτικό οξύ	35,145±3,513	37,196±3,064	29,681±4,206	31,199±0,26	29,924±0,668	34,766±4,456
Παλμιτολεϊκό οξύ	0,974±0,119	0,361±0,022	0,780±0,109	0,677±0,007	0,186±0,01	0,632±0,071
Μαργαρικό οξύ	0,628±0,009	0,589±0,048	0,518±0,071	0,646±0,005	0,206±0,005	0,597±0,076
cis-10-δεκαεπτ-εν-οϊκό οξύ	0,170±0,024	nd	0,243±0,096	nd	nd	nd
Στεαρικό οξύ	7,413±0,850	9,843±0,789	8,040±0,212	8,837±0,067	8,661±0,014	8,692±0,897
Ελαϊκό οξύ	23,912±2,777	25,412±1,974	27,630±3,479	21,247±0,14	37,988±0,101	21,006±2,130
Λινελαϊκό οξύ	70,277±7,885	95,088±7,359	62,861±8,274	64,145±0,384	122,076±0,317	48,533±4,811
γ-Λινολενικό οξύ	nd	nd	Nd	nd	nd	nd
Λινολενικό οξύ	32,377±3,430	35,477±2,809	20,886±3,005	30,121±0,21	30,481±0,063	32,480±3,390
Αραχιδικό οξύ	7,887±0,699	7,839±0,703	6,539±0,738	9,080±0,019	5,239±0,184	16,175±2,092
cis-11-Εικοσ-εν-οϊκό οξύ	0,718±0,133	4,602±0,034	0,721±0,097	1,580±0,035	1,238±0,041	0,494±0,042
cis-11,14-Εικοσα-διεν-οϊκό οξύ	0,383±0,040	0,399±0,037	0,284±0,036	0,346±0,004	0,320±0,009	0,273±0,023
Εικοσιενοϊκό οξύ	1,147±0,090	1,571±0,127	1,029±0,111	1,763±0,013	0,719±0,056	1,481±0,146
cis-11,14,17-εικοσα-τριεν-οϊκό οξύ	nd	nd	1,050±0,029	nd	nd	nd
cis-5,8,11,14,17-εικοσα-πεντεν-οϊκό οξύ	0,190±0,068	nd	0,031±0,001	nd	nd	nd
Αραχιδονικό οξύ	nd	nd	Nd	nd	nd	nd
Βεχενικό οξύ	2,360±0,168	2,687±0,253	1,874±0,252	3,656±0,076	1,124±0,052	3,468±0,388
Ερουκικό οξύ	1,529±0,129	2,219±0,227	1,562±0,222	2,782±0,023	1,695±0,106	1,836±0,179
cis-13,16-Εικοσιδυο-διεν-οϊκό οξύ	nd	nd	Nd	nd	nd	nd
Τρικοσανοϊκό οξύ	1,281±0,065	1,613±0,161	1,121±0,121	1,765±0,015	0,478±0,037	1,765±0,183
Λιγνοκηρικό οξύ	2,712±0,060	3,719±0,389	2,552±0,257	5,027±0,102	1,748±0,142	4,896±0,641

Λιπαρά Οξέα	<i>V. sativa</i> (var Λεωνίδας)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Καλλιρρόη)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)
(all-Z)-4,7,10,13,16,19- Εικοσιδυο-εξανεν-οϊκό οξύ	nd	nd	Nd	nd	nd	nd
Νευρονικό οξύ	6,180±0,077	8,071±0,791	7,818±0,479	nd	0,103±0,010	nd

Πίνακας-Π24 Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα άγρια φυτά *Astragalus creticus*, *Astragalus glycyphyllos*, *Bituminaria bituminosa*, *Cicer incisum*, *Lathyrus laxiflorus* και *Trifolium physodes* και στα καλλιεργούμενα φυτά *Cicer arietinum* και *Trifolium repens* σε mg/Kg Ξηρού Βάρους.

Λιπαρά Οξέα	<i>A. creticus</i>	<i>A. glycyphyllos</i>	<i>B. bituminosa</i>	<i>C. incisum</i>	<i>L. laxiflorus</i>	<i>T. physodes</i>	<i>C. arietinum</i>	<i>T. repens</i>
Βουτυρικό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Καπροϊκό οξύ	1,841±0,095	2,015±0,025	2,179±0,074	1,510±0,075	15,958±0,402	0,923±0,003	2,664±0,001	3,278±0,128
Καπρυλικό οξύ	2,574±0,062	3,738±0,073	1,738±0,050	1,430±0,083	8,186±0,210	1,724±0,003	1,409±0,004	1,060±0,091
Καπρικό οξύ	0,478±0,018	3,689±0,028	1,008±0,065	0,871±0,045	15,805±0,415	0,581±0,016	0,496±0,046	0,728±0,021
Ενδεκανοϊκό οξύ	nd	0,426±0,233	nd	0,126±0,019	nd	nd	nd	nd
Λαυρικό οξύ	1,203±0,013	34,671±0,825	10,487±0,305	2,945±0,207	69,743±2,285	3,196±0,253	5,091±0,149	4,609±0,028
Τριδεκανοϊκό οξύ	nd	1,140±0,069	nd	0,230±0,018	0,334±0,105	nd	nd	nd
Μυριστικό οξύ	6,567±0,999	33,499±1,006	35,521±1,500	5,874±0,409	93,016±5,042	6,854±0,715	10,986±0,95	8,501±0,279
Μυριστολεϊκό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Πενταδεκανοϊκό οξύ	1,192±0,060	5,458±0,265	3,859±0,123	2,875±0,294	24,331±2,104	1,239±0,149	6,179±0,033	1,886±0,029
cis-10- δεκαπεντ-εν- οϊκό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Παλμιτικό οξύ	43,869±0,248	330,913±12,459	658,631±23,961	124,048±11,509	860,356±50,458	56,365±5,942	184,286±0,86	128,36±0,125
Παλμιτολεϊκό οξύ	1,092±0,057	3,102±0,264	6,545±0,936	14,491±1,156	11,223±0,948	2,105±0,222	1,436±0,025	nd

Λιπαρά Οξέα	<i>A. creticus</i>	<i>A. glycyphyllos</i>	<i>B. bituminosa</i>	<i>C. incisum</i>	<i>L. laxiflorus</i>	<i>T.physodes</i>	<i>C. arietinum</i>	<i>T.repens</i>
Μαργαρικό οξύ	2,064±0,049	14,693±0,786	10,137±0,416	4,907±0,554	32,014±2,437	1,722±0,165	3,933±0,026	2,592±0,012
cis-10-δεκαεπτ- εν-οϊκό οξύ	nd	5,035±0,288	5,075±0,296	1,622±0,123	17,907±1,191	0,740±0,103	nd	nd
Στεαρικό οξύ	11,135±0,008	343,191±17,902	134,665±5,001	23,729±2,553	315,973±23,330	12,451±1,379	33,243±1,11	21,525±0,332
Ελαϊκό οξύ	19,215±0,064	185,867±9,407	406,844±16,624	80,479±8,649	479,56±38,354	60,07±6,444	29,541±1,245	13,455±0,210
Λινελαϊκό οξύ	64,890±0,241	435,007±22,868	575,515±22,892	117,247±12,15	2114,983±149,541	58,253±6,179	172,048±4,774	75,232±1,310
γ-Λινολενικό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Λινολενικό οξύ	45,813±0,167	552,634±26,84	861,092±34,428	47,462±5,012	1489,251±104,051	37,241±3,939	101,709±2,879	70,029±1,297
Αραχιδικό οξύ	36,191±0,44	38,898±11,399	47,372±1,611	14,318±1,634	519,371±36,385	8,777±1,022	18,689±1,396	6,449±0,190
cis-11-Εικοσ-εν- οϊκό οξύ	0,637±0,013	3,245±0,333	2,618±0,050	1,882±0,185	nd	nd	nd	nd
cis-11,14- Εικοσα-διεν- οϊκό οξύ	3,257±0,154	nd	nd	1,104±0,032	9,017±0,643	nd	nd	nd
Εικοσιενοϊκό οξύ	nd	9,558±0,257	203,684±6,536	5,167±0,596	34,335±1,631	1,948±0,175	4,197±0,443	nd
cis-11,14,17- εικοσα-τριεν- οϊκό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
cis-5,8,11,14,17- εικοσα-πεντεν- οϊκό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Αραχιδονικό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Βεχενικό οξύ	19,984±0,678	69,93±2,594	26,018±0,797	12,415±1,558	73,151±13,199	6,240±0,873	11,412±0,284	4,409±0,011
Ερουκικό οξύ	4,752±0,068	9,506±0,396	nd	3,700±0,478	nd	4,078±0,557	nd	nd
cis-13,16- Εικοσιδυο-διεν- οϊκό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Τρικοσανοϊκό οξύ	2,046±0,103	10,633±0,257	12,252±0,235	7,351±0,650	29,070±1,199	2,113±0,319	2,001±0,068	1,764±0,005

Λιπαρά Οξέα	<i>A. creticus</i>	<i>A. glycyphyllos</i>	<i>B. bituminosa</i>	<i>C. incisum</i>	<i>L. laxiflorus</i>	<i>T.physodes</i>	<i>C. arietinum</i>	<i>T.repens</i>
Λιγνοκηρικό οξύ	7,877±0,167	39,146±0,114	32,577±0,610	23,673±1,538	106,212±5,223	6,885±0,916	5,782±0,466	12,802±0,075
(all-Z)- 4,7,10,13,16,19- Εικοσιδυο- εξανεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Νευρονικό οξύ	nd	42,933±1,315	nd	20,595±0,267	nd	223,588±18,994	nd	nd

Πίνακας-Π25 Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα βελτιωμένα φυτά *Cicer arietinum* (var Αμοργός), *Lathyrus sativus* (λευκό, var. Μελεμέ), *Medicago sativa* (var. Μηδική), *Phaseolus vulgaris* (var. Πυργετός), *Pisum sativum* (var Όλυμπος και Δωδώνη) και *Vicia faba* (var Πολυκάρπη) σε mg/ Kg Ξηρού Βάρους.

Λιπαρά Οξέα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>L. sativus</i> (λευκό)	<i>L. sativus</i> (var Μελεμέ)	<i>M. sativa</i> (var Μηδική)	<i>P.vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>P.sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P.sativum</i> (var Δωδώνη)	<i>V.faba</i> (var Πολυκάρπη)
Βουτυρικό οξύ	Nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Καπροϊκό οξύ	2,889±0,052	5,215±0,364	2,817±0,069	7,118±0,411	5,568±0,368	6,191±0,050	1,612±0,141	4,944±0,213
Καπρυλικό οξύ	1,371±0,134	2,106±0,098	2,895±0,060	3,095±0,235	2,362±0,136	nd	1,014±0,036	5,932±0,342
Καπρικό οξύ	1,382±0,328	0,458±0,154	1,886±0,064	3,252±0,276	2,301±0,115	0,208±0,033	0,968±0,131	4,406±0,275
Ενδεκανοϊκό οξύ	Nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	0,344±0,029
Λαυρικό οξύ	10,857±0,513	8,413±0,682	5,819±0,114	46,966±3,160	9,099±0,104	22,565±0,595	8,121±0,888	17,486±1,021
Τριδεκανοϊκό οξύ	Nd	nd	0,254±0,018	0,542±0,083	0,063±0,050	nd	0,058±0,067	1,412±0,099
Μυριστικό οξύ	27,563±1,432	34,675±2,758	27,247±0,448	69,966±6,223	29,662±1,859	62,94±1,099	26,739±3,083	27,807±1,380
Μυριστολεϊκό οξύ	Nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Πενταδεκανοϊκό Οξύ	3,117±0,230	9,614±0,927	8,125±0,109	12,264±1,005	4,64±0,455	19,021±0,453	9,209±1,274	6,344±0,213
cis-10- δεκαπεντ-εν- οϊκό οξύ	Nd	nd	nd	14,617±0,646	nd	33,593±1,002	nd	nd
Παλμιτικό οξύ	453,313±22,088	643,650±49,917	366,937±3,918	748,118±55,080	340,168±45,775	719,276±8,604	309,251±41,582	324,566±17,563

Λιπαρά Οξέα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>L. sativus</i> (λευκό)	<i>L. sativus</i> (var Μελεμέ)	<i>M. sativa</i> (var Μηδικη)	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>P. sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπη)
Παλμιτολεϊκό οξύ	9,671±0,531	3,317±0,474	5,178±0,006	6,141±0,494	3,333±0,498	6,838±0,094	7,912±1,604	3,332±0,149
Μαργαρικό οξύ	3,203±0,119	16,630±1,434	15,084±1,994	16,812±1,187	4,691±0,949	22,271±0,418	10,500±1,447	10,82±0,423
cis-10-δεκαεπτ- εν-οϊκό οξύ	2,065±0,123	nd	nd	4,183±2,385	nd	nd	nd	1,191±0,065
Στεαρικό οξύ	76,724±0,48	270,011±21,376	136,334±1,237	165,180±12,489	74,355±15,483	298,860±3,358	120,532±15,866	93,515±2,631
Ελαϊκό οξύ	1249,774±35,196	105,227±8,619	110,172±0,987	86,045±6,450	67,962±13,627	274,839±0,573	192,087±26,188	305,867±10,320
Λινελαϊκό οξύ	1525,898±42,243	540,266±42,12	471,404±11,436	559,647±40,984	290,472±58,526	730,381±8,433	468,066±60,044	579,780±20,224
γ-Λινολενικό οξύ	Nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Λινολενικό οξύ	306,874±7,322	1058,186±79,843	373,646±3,646	915,934±65,679	422,407±83,767	799,160±8,415	297,601±39,613	245,394±9,530
Αραχιδικό οξύ	30,840±0,695	137,973±10,472	75,174±0,040	83,528±2,661	35,230±8,182	137,828±0,119	50,028±5,972	62,001±1,860
cis-11-Εικοσ-εν- οϊκό οξύ	27,063±0,752	4,355±0,452	33,690±1,390	Nd	nd	nd	5,811±0,546	36,905±0,322
cis-11,14- Εικοσα-διεν- οϊκό οξύ	2,199±0,035	7,132±2,580	2,826±0,013	1,907±0,391	nd	nd	3,495±0,381	2,604±0,112
Εικοσιενοϊκό οξύ	6,235±0,011	21,043±1,454	14,435±0,045	11,730±0,447	4,983±0,813	46,423±0,354	14,042±1,545	14,025±0,373
cis-11,14,17- εικοσα-τριεν- οϊκό οξύ	Nd	nd	nd	7,083±1,389	nd	nd	10,336±0,884	nd
cis-5,8,11,14,17- εικοσα-πεντεν- οϊκό οξύ	Nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Αραχιδονικό οξύ	Nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Βεχενικό οξύ	4,332±0,221	43,178±3,381	25,589±0,122	56,945±3,682	17,828±4,21	62,955±2,492	29,891±4,179	26,619±0,610
Ερουκικό οξύ	3,313±0,105	27,423±0,728	23,904±0,142	18,588±1,21	7,891±1,318	30,678±2,111	12,047±1,358	15,974±0,734
cis-13,16- Εικοσιδυο-διεν- οϊκό οξύ	Nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd

Λιπαρά Οξέα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>L. sativus</i> (λευκό)	<i>L. sativus</i> (var Μελεμέ)	<i>M. sativa</i> (var Μηδική)	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>P. sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπη)
Τρικοσανοϊκό οξύ	8,888±0,164	16,844±0,997	17,058±3,346	16,313±0,936	8,724±1,886	32,256±1,534	12,971±1,848	14,266±0,672
Λιγνοκηρικό οξύ	20,232±0,424	33,918±4,206	21,858±5,765	55,645±2,684	28,797±5,554	40,199±3,357	18,819±3,015	36,060±0,260
(all-Z)- 4,7,10,13,16,19- Εικοσιδυο- εξανεν-οϊκό οξύ	Nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd
Νευρονικό οξύ	Nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd

Πίνακας-Π26 Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα βελτιωμένα φυτά *Vicia sativa* στις ποικιλίες που μελετήθηκαν σε mg/ Kg Ξηρού Βάρους.

Λιπαρά Οξέα	<i>V. sativa</i> (var Λεωνίδας)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Καλλιπρόη)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)
Βουτυρικό οξύ	nd	nd	Nd	nd	nd	nd
Καπροϊκό οξύ	0,320±0,027	5,652±0,279	1,556±0,235	nd	0,220±0,001	1,023±0,069
Καπρυλικό οξύ	1,921±0,124	8,453±0,428	2,503±0,432	1,873±0,019	0,241±0,039	1,257±0,107
Καπρικό οξύ	2,163±0,178	10,220±0,700	3,066±0,551	2,707±0,031	nd	1,733±0,169
Ενδεκανοϊκό οξύ	nd	nd	Nd	Nd	nd	nd
Λαυρικό οξύ	8,950±0,635	47,486±3,225	28,704±4,582	11,27±0,141	0,269±0,019	7,947±0,830
Τριδεκανοϊκό οξύ	0,203±0,018	0,978±0,136	1,997±0,407	0,218±0,007	0,043±0,003	0,098±0,040
Μυριστικό οξύ	16,768±1,395	83,008±5,493	28,805±4,842	27,834±0,265	4,825±0,159	16,293±2,176
Μυριστολεϊκό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	nd
Πενταδεκανοϊκό Οξύ	3,210±0,424	18,403±1,264	5,678±0,809	8,228±0,122	1,772±0,081	3,606±0,390
cis-10-δεκαπεντ-εν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	Nd	nd	5,966±0,253
Παλμιτικό οξύ	193,298±19,31 9	1052,644±86,708	287,015±40,67 0	262,069±2,18 6	148,722±3,318	207,555±26,605
Παλμιτολεϊκό οξύ	5,358±0,653	10,224±0,625	7,542±1,051	5,685±0,057	0,924±0,051	3,771±0,426
Μαργαρικό οξύ	3,453±0,048	16,681±1,354	5,007±0,686	5,427±0,040	1,025±0,023	3,566±0,452
cis-10-δεκαεπτ-εν-οϊκό οξύ	0,935±0,130	nd	2,346±0,926	Nd	nd	nd
Στεαρικό οξύ	40,773±4,674	278,564±22,317	77,742±2,050	74,227±0,567	43,044±0,067	51,892±5,357

Λιπαρά Οξέα	<i>V. sativa</i> (var Λεωνίδας)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Καλλιπρόη)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Αγρός Αλέξανδρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)
Ελαϊκό οξύ	131,517±15,27 2	719,157±55,876	267,182±33,64 6	178,478±1,17 2	188,801±0,502	125,405±12,716
Λινελαϊκό οξύ	386,521±43,36 9	2690,999±208,25 5	607,869±80,00 6	538,819±3,23 0	606,717±1,575	289,74±28,721
γ-Λινολενικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λινολενικό οξύ	178,072±18,86 5	1004,012±79,500	201,966±29,05 4	253,019±1,76 1	151,491±0,313	193,908±20,238
Αραχιδικό οξύ	43,379±3,844	221,853±19,906	63,232±7,133	76,274±0,157	26,036±0,913	96,566±12,491
cis-11-Εικοσ-εν-οϊκό οξύ	3,952±0,731	130,232±0,960	6,972±0,940	13,272±0,293	6,155±0,205	2,948±0,251
cis-11,14-Εικοσα-διεν-οϊκό οξύ	2,105±0,218	11,294±1,039	2,747±0,347	2,904±0,031	1,593±0,043	1,629±0,137
Εικοσιενοϊκό οξύ	6,308±0,498	44,450±3,595	9,953±1,073	14,810±0,109	3,574±0,277	8,840±0,870
cis-11,14,17-εικοσα-τριεν-οϊκό οξύ	nd	nd	10,149±0,282	nd	nd	nd
cis-5,8,11,14,17-εικοσα- πεντεν-οϊκό οξύ	1,048±0,372	nd	0,303±0,011	nd	nd	nd
Αραχιδονικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Βεχενικό οξύ	12,981±0,926	76,055±7,167	18,123±2,434	30,710±0,639	5,588±0,259	20,701±2,317
Ερουκικό οξύ	8,409±0,710	62,792±6,428	15,105±2,150	23,368±0,191	8,424±0,525	10,961±1,068
cis-13,16-Εικοσιδυο-διεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Τρικοσανοϊκό οξύ	7,045±0,357	45,636±4,542	10,843±1,171	14,823±0,125	2,378±0,186	10,538±1,091
Λιγνοκηρικό οξύ	14,915±0,328	105,261±11,012	24,677±2,483	42,224±0,855	8,687±0,708	29,229±3,826
(all-Z)-4,7,10,13,16,19- Εικοσιδυο-εξανεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νευρονικό οξύ	33,991±0,425	228,396±22,385	75,603±4,636	nd	0,513±0,052	nd

Πίνακας-Π27 Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα σπέρματα *Lathyrus clymenum*, *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris* (var Πυργετός), *Lens culinaris* (var Δήμητρα, Θεσσαλία, Σάμος) και *Pisum sativum* (var Όλυμπος, Δωδώνη) σε mg/g Εκχυλίσματος.

Λιπαρά Οξέα	<i>L. clymenum</i>	<i>G. max</i>	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>L. culinaris</i> (var Δήμητρα)	<i>L. culinaris</i> (var Θεσσαλία)	<i>L. culinaris</i> (var Σάμος)	<i>P. sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)
Βουτυρικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καπροϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	0.685±0.004	nd	nd	nd
Καπρυλικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.044±0.004
Καπρικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.002±0.001
Ενδεκανοϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λαυρικό οξύ	nd	nd	0.020±0.002	0.517±0.005	0.030±0,000	0.078±0.008	0.016±0.001	0.182±0.014
Τριδεκανοϊκό οξύ	0.017±0.010	nd	nd	0.126±0.002	nd	0.025±0.004	0.009±0,000	0.007±0.002
Μυριστικό οξύ	1.601±0.031	0.366±0.013	0.625±0.028	3.911±0.004	2.613±0.022	1.866±0.160	1.040±0.021	2.223±0.137
Μυριστολεϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Πενταδεκανοϊκό οξύ	0.657±0.026	0.060±0.003	0.601±0.022	0.98±0.017	0.664±0.003	0.443±0.047	0.484±0	0.538±0.032
cis-10-δεκαπεντ-εν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Παλμιτικό οξύ	60.721±1.237	60.648±1.365	43.105±1.299	67.187±0.066	46.549±0.440	31.751±3.111	29.438±0.587	58.827±0.798
Παλμιτολεϊκό οξύ	0.436±0.009	0.242±0,000	1.269±0.062	0.785±0.004	0.503±0.010	0.333±0.046	0.396±0.006	1.915±0.088
Μαργαρικό οξύ	0.722±0.012	0.451±0.016	0.521±0.014	0.536±0.001	0.315±0.003	0.285±0.034	0.321±0.015	0.524±0.024
cis-10-δεκαεπτ-εν-οϊκό οξύ	0.198±0.006	0.253±0.005	0.379±0.010	nd	0.284±0.002	0.174±0.024	nd	0.265±0.013
Στεαρικό οξύ	8.814±1.887	6.201±0.591	9.079±0.191	12.858±0.110	6.309±0.055	5.778±0.590	9.759±0.743	18.991±0.738
Ελαϊκό οξύ	nd	109.878±4.127	42.973±0.220	63.927±0.367	74.496±0.146	34.063±3.508	54.741±2.969	147.208±6.757
Λινελαϊκό οξύ	275.661±5.079	260.590±7.887	147.758±2.988	202.756±1.318	206.005±1.694	106.097±10.734	159.934±8.782	187.511±8.856
γ-Λινολενικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λινολενικό οξύ	45.104±0.836	29.230±0.874	130.988±6.073	57.981±0.478	62.856±0.515	36.308±3.669	36.869±2.158	33.243±1.596
Αραχιδικό οξύ	6.383±0.089	1.654±0.055	2.409±0.021	7.456±0.027	3.804±0.052	3.397±0.329	2,000±0.219	1.765±0.124
cis-11-Εικοσ-εν-οϊκό οξύ	1.333±0.013	0.979±0.045	0.746±0.007	4.134±0.009	3.957±0.130	2.062±0.212	1.221±0.145	1.161±0.074

Λιπαρά Οξέα	<i>L. clymenum</i>	<i>G. max</i>	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>L. culinaris</i> (var Δήμητρα)	<i>L. culinaris</i> (var Θεσσαλία)	<i>L. culinaris</i> (var Σάμος)	<i>P.sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)
cis-11,14-Εικοσα- διεν-οϊκό οξύ	0.416±0.005	0.381±0.015	0.168±0.002	0.587±0.023	0.491±0.121	0.261±0.032	0.276±0.032	1.563±0.136
Εικοσιενοϊκό οξύ	0.811±0.008	0.385±0.006	0.586±0,000	3.462±0.015	1.771±0.021	1.493±0.115	0.420±0.035	0.394±0.024
cis-11,14,17- εικοσα-τριεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
cis-5,8,11,14,17- εικοσα-πεντεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Αραχιδονικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Βεχενικό οξύ	1.647±0.007	1.515±0.054	1.931±0.025	4.347±0.047	2.111±0.030	1.854±0.131	0.351±0.062	0.281±0.032
Ερουκικό οξύ	0.78±0.029	1.062±0.046	0.468±0.001	nd	nd	nd	1.205±0.160	0.794±0.078
cis-13,16- Εικοσιδυο-διεν- οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Τρικοσανοϊκό οξύ	0.869±0.012	0.374±0.025	1.258±0.015	nd	nd	nd	0.210±0.039	0.314±0.033
Λιγνοκηρικό οξύ	3.441±0.020	1.052±0.031	3.475±0.139	nd	nd	nd	0.632±0.102	nd
(all-Z)- 4,7,10,13,16,19- Εικοσιδυο-εξανεν- οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νευρονικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Πίνακας-Π28 Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα σπέρματα *Cicer arietinum* (var Αμοργός, Γαύδος, Θήβα), *Vicia sativa* (var Εύηνος, Ίστρος Αλέξανδρος) και *Vicia faba* (var Πολυκάρπης, Τανάγρα) σε mg/g Εκχυλίσματος.

Λιπαρά Οξέα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>C. arietinum</i> (var Γαύδος)	<i>C.arietinum</i> (var Θήβα)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπης)	<i>V. faba</i> (var Τανάγρα)
Βουτυρικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Λιπαρά Οξέα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>C. arietinum</i> (var Γαύδος)	<i>C. arietinum</i> (var Θήβα)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπη)	<i>V. faba</i> (var Τανάγρα)
Καπροϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καπρυλικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	0.042±0.011	nd	nd
Καπρικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ενδεκανοϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λαυρικό οξύ	nd	0.024±0.002	0.030±0.005	0.058±0.004	0.098±0.007	0.081±0.017	0.052±0.013	0.073±0.007
Τριδεκανοϊκό οξύ	nd	nd	nd	0.030±0.002	0.034±0.004	nd	0.019±0.008	0.069±0.008
Μυριστικό οξύ	0.376±0.004	0.785±0.044	1.260±0.102	1.282±0.056	1.482±0.072	1.304±0.094	1.518±0.200	4.207±0.198
Μυριστολεϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Πενταδεκανοϊκό Οξύ	0.093±0,000	0.307±0.015	0.423±0.023	0.443±0.023	0.507±0.023	0.452±0.035	0.591±0.070	1.156±0.066
cis-10-δεκαπεντ-εν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Παλμιτικό οξύ	21.129±0.023	62.965±2.285	70.364±0.108	35.999±0.826	43.042±1.816	44.470±2.347	39.678±4.248	74.868±3.67
Παλμιτολεϊκό οξύ	0.431±0.061	0.830±0.042	1.665±0.015	0.090±0.016	0.400±0.016	0.263±0.002	0.435±0.056	0.473±0.025
Μαργαρικό οξύ	0.075±0.006	0.635±0.029	0.404±0.028	0.304±0.015	0.410±0.091	0.276±0.017	0.289±0.044	0.522±0.028
cis-10-δεκαεπτ-εν-οϊκό οξύ	0.131±0.001	0.316±0.014	0.603±0.033	nd	nd	nd	nd	nd
Στεαρικό οξύ	2.812±0.056	18.757±1.960	nd	10.784±0.478	12.498±0.398	12.188±0.668	7.679±1.147	14.513±0.44
Ελαϊκό οξύ	55.920±0.879	193.066±5.937	212.420±6.532	42.494±1.923	61.508±2.234	56.100±3.019	64.416±8.733	110.877±4.15
Λινελαϊκό οξύ	4.115±0.382	304.018±13.827	334.494±15.213	149.674±6.892	167.230±6.009	178.068±9.586	149.372±18.478	291.238±10.9
γ-Λινολενικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λινολενικό οξύ	6.019±0.088	13.305±0.613	17.692±1.763	38.364±1.782	44.413±1.58	43.754±2.315	15.621±1.969	31.364±1.14
Αραχιδικό οξύ	1.062±0.018	19.137±1.101	5.114±0.967	6.616±0.286	7.599±0.286	7.566±0.419	4.424±0.607	9.633±0.118
cis-11-Εικοσ-εν-οϊκό οξύ	0.812±0.073	2.139±0.120	3.795±0.681	1.472±0.033	1.853±0.031	1.745±0.103	1.762±0.450	3.189±0.050
cis-11,14-Εικοσα-διεν-οϊκό οξύ	0.119±0.002	0.320±0.022	0.474±0.079	0.386±0.033	0.421±0.028	0.336±0.03	0.341±0.050	0.670±0.024
Εικοσιενοϊκό οξύ	0.200±0,000	0.844±0.046	0.595±0.091	0.847±0.025	1.008±0.029	1.279±0.034	0.986±0.115	1.869±0,000

Λιπαρά Οξέα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>C. arietinum</i> (var Γαύδος)	<i>C. arietinum</i> (var Θήβα)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπη)	<i>V. faba</i> (var Τανάγρα)
cis-11,14,17-εικοσα- τριεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
cis-5,8,11,14,17- εικοσα-πεντεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Αραχιδονικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Βεχενικό οξύ	0.330±0.004	3.591±0.247	1.816±0.356	1.513±0.059	1.735±0.08	1.657±0.115	1.343±0.214	2.926±0.061
Ερουκικό οξύ	0.222±0.007	0.471±0.031	0.490±0.099	1.282±0.055	1.349±0.079	2.285±0.143	0.492±0.077	0.736±0.006
cis-13,16-Εικοσιδυο- διεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Τρικοσανοϊκό οξύ	0.184±0.097	0.558±0.040	0.459±0.081	0.748±0.024	0.773±0.036	0.730±0.051	0.571±0.096	1.165±0.039
Λιγνοκηρικό οξύ	0.281±0.004	1.602±0.112	1.159±0.171	2.620±0.084	2.829±0.139	2.632±0.203	1.103±0.181	2.24±0.133
(all-Z)- 4,7,10,13,16,19- Εικοσιδυο-εξανεν- οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νευρονικό οξύ	nd	nd	nd	0.096±0.008	0.686±0.012	nd	nd	nd

Πίνακας-Π29 Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα σπέρματα *Lathyrus clymenum*, *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris* (var Πυργετός), *Lens culinaris* (var Δήμητρα, Θεσσαλία, Σάμος) και *Pisum sativum* (var Όλυμπος, Δωδώνη) σε mg/Kg Ξηρού Βάρους.

Λιπαρά Οξέα	<i>L. clymenum</i>	<i>G. max</i>	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>L. culinaris</i> (var Δήμητρα)	<i>L. culinaris</i> (var Θεσσαλία)	<i>L. culinaris</i> (var Σάμος)	<i>P. sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)
Βουτυρικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καπροϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	7.928±0.041	nd	nd	nd
Καπρυλικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.552±0.049
Καπρικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.019±0.007

Λιπαρά Οξέα	<i>L. clymenum</i>	<i>G. max</i>	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>L. culinaris</i> (var Δήμητρα)	<i>L. culinaris</i> (var Θεσσαλία)	<i>L. culinaris</i> (var Σάμος)	<i>P.sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)
Ενδεκανοϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λαυρικό οξύ	nd	nd	0.217±0.021	1.485±0.013	0.347±0.005	0.242±0.025	0.126±0.008	2.274±0.173
Τριδεκανοϊκό οξύ	0.118±0.070	nd	nd	0.361±0.006	nd	0.077±0.014	0.072±0.004	0.086±0.031
Μυριστικό οξύ	11.204±0.218	7.726±0.275	6.620±0.292	11.226±0.013	30.237±0.253	5.783±0.496	8.182±0.168	27.784±1.716
Μυριστολεϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Πενταδεκανοϊκό Οξύ	4.598±0.179	1.269±0.064	6.373±0.238	2.812±0.050	7.679±0.039	1.375±0.146	3.810±0.001	6.720±0.405
cis-10-δεκαπεντ-εν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Παλμιτικό οξύ	425.048±8.662	1279.675±28.799	456.916±13.77	192.827±0.190	538.571±5.089	98.430±9.644	231.680±4.616	735.339±9.972
Παλμιτολεϊκό οξύ	3.049±0.060	5.115±0.005	13.453±0.655	2.253±0.013	5.821±0.118	1.032±0.144	3.119±0.048	23.942±1.100
Μαργαρικό οξύ	5.054±0.082	9.526±0.330	5.525±0.145	1.537±0.002	3.648±0.036	0.884±0.105	2.525±0.116	6.549±0.297
cis-10-δεκαεπτ-εν-οϊκό οξύ	1.389±0.039	5.345±0.107	4.020±0.104	nd	3.288±0.023	0.540±0.073	nd	3.317±0.158
Στεαρικό οξύ	61.701±13.207	130.835±12.478	96.233±2.025	36.902±0.317	72.997±0.641	17.912±1.828	76.806±5.851	237.385±9.224
Ελαϊκό οξύ	nd	2318.436±87.071	455.509±2.337	183.471±1.052	861.920±1.692	105.594±10.875	430.814±23.365	1840.104±84.459
Λινελαϊκό οξύ	1929.626±35.553	5498.449±166.419	1566.239±31.670	581.911±3.783	2383.472±19.602	328.902±33.274	1258.682±69.116	2343.882±110.704
γ-Λινολενικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λινολενικό οξύ	315.727±5.853	616.762±18.436	1388.478±64.372	166.406±1.372	727.247±5.958	112.556±11.373	290.163±16.980	415.544±19.952
Αραχιδικό οξύ	44.678±0.623	34.900±1.167	25.539±0.220	21.400±0.078	44.009±0.597	10.531±1.020	15.737±1.721	22.068±1.554
cis-11-Εικοσ-εν-οϊκό οξύ	9.330±0.088	20.665±0.946	7.910±0.075	11.865±0.027	45.781±1.500	6.393±0.658	9.610±1.138	14.508±0.925
cis-11,14-Εικοσα-διεν-οϊκό οξύ	2.915±0.035	8.036±0.311	1.781±0.026	1.684±0.066	5.685±1.400	0.808±0.100	2.170±0.249	19.532±1.694

Λιπαρά Οξέα	<i>L. clymenum</i>	<i>G. max</i>	<i>P. vulgaris</i> (var Πυργετός)	<i>L. culinaris</i> (var Δήμητρα)	<i>L. culinaris</i> (var Θεσσαλία)	<i>L. culinaris</i> (var Σάμος)	<i>P.sativum</i> (var Όλυμπος)	<i>P. sativum</i> (var Δωδώνη)
Εικοσιενοϊκό οξύ	5.674±0.059	8.126±0.13	6.214±0.003	9.935±0.043	20.487±0.240	4.630±0.358	3.305±0.275	4.930±0.301
cis-11,14,17-εικοσα-τριεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
cis-5,8,11,14,17-εικοσα-πεντεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Αραχιδονικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Βεχενικό οξύ	11.529±0.052	31.97±1.134	20.467±0.264	12.477±0.134	24.430±0.350	5.747±0.406	2.762±0.490	3.513±0.403
Ερουκικό οξύ	5.463±0.205	22.398±0.97	4.963±0.014	7.356±0.015	37.346±0.467	3.436±0.291	9.480±1.258	9.919±0.971
cis-13,16-Εικοσιδυο-διεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Τρικοσανοϊκό οξύ	6.083±0.081	7.886±0.524	13.339±0.154	7.151±0.137	15.522±0.195	3.559±0.167	1.650±0.309	3.924±0.416
Λιγνοκηρικό οξύ	24.088±0.142	22.194±0.646	36.839±1.472	11.609±0.386	29.581±0.342	6.348±0.168	4.973±0.800	nd
(all-Z)-4,7,10,13,16,19-Εικοσιδυο-εξανεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Νευρονικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	0.031±0.013	nd	nd

Πίνακας-Π30 Αποτελέσματα ανάλυσης λιπαρών οξέων στα σπέρματα *Cicer arietinum* (var Αμοργός, Γαύδος, Θήβα), *Vicia sativa* (var Εύηνος, Ίστρος Αλέξανδρος) και *Vicia faba* (var Πολυκάρπης, Τανάγρα) σε mg/ Kg Ξηρού Βάρους.

Λιπαρά Οξέα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>C. arietinum</i> (var Γαύδος)	<i>C.arietinum</i> (var Θήβα)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπης)	<i>V. faba</i> (var Τανάγρα)
Βουτυρικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καπροϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Καπρυλικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	0.191±0.049	nd	nd
Καπρικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ενδεκανοϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λαυρικό οξύ	nd	0.826±0.072	0.904±0.150	0.283±0.017	0.548±0.037	0.374±0.077	0.345±0.087	0.477±0.047
Τριδεκανοϊκό οξύ	nd	nd	nd	0.144±0.010	0.189±0.021	nd	0.129±0.053	0.456±0.052
Μυριστικό οξύ	11.836±0.127	26.69±1.505	37.434±3.015	6.245±0.273	8.256±0.401	6,000±0.430	10.065±1.326	27.637±1.298
Μυριστολεϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Πενταδεκανοϊκό Οξύ	2.941±0.009	10.426±0.505	12.563±0.690	2.158±0.113	2.826±0.127	2.078±0.162	3.917±0.462	7.592±0.433
cis-10-δεκαπεντ-εν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Παλμιτικό οξύ	665.554±0.731	2140.814±77.694	2089.826±3.209	175.317±4.023	239.742±10.113	204.562±10.797	263.067±28.165	491.882±24.14
Παλμιτολεϊκό οξύ	13.561±1.924	28.215±1.430	49.457±0.432	0.436±0.080	2.227±0.090	1.209±0.008	2.885±0.373	3.110±0.167
Μαργαρικό οξύ	2.364±0.193	21.596±0.977	11.997±0.829	1.48±0.074	2.283±0.507	1.268±0.080	1.917±0.295	3.427±0.186
cis-10-δεκαεπτ-εν-οϊκό οξύ	4.128±0.020	10.732±0.481	17.901±0.978	nd	nd	nd	nd	nd
Στεαρικό οξύ	88.584±1.777	637.743±66.647	nd	52.517±2.329	69.615±2.217	56.067±3.074	50.910±7.602	95.348±2.917
Ελαϊκό οξύ	1761.465±27.703	6564.235±201.85	6308.86±193.998	206.944±9.364	342.6±12.441	258.062±13.889	427.079±57.902	728.459±27.29
Λινελαϊκό οξύ	129.613±12.019	10336.613±470.115	9934.477±451.825	728.910±33.564	931.469±33.472	819.111±44.095	990.335±122.508	1913.435±71.94

Λιπαρά Οξέα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>C. arietinum</i> (var Γαύδος)	<i>C.arietinum</i> (var Θήβα)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπη)	<i>V. faba</i> (var Τανάγρα)
γ-Λινολενικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Λινολενικό οξύ	189.605±2.773	452.355±20.825	525.462±52.352	186.833±8.677	247.380±8.801	201.268±10.648	103.569±13.055	206.063±7.526
Αραχιδικό οξύ	33.442±0.562	650.674±37.422	151.900±28.728	32.219±1.394	42.325±1.592	34.802±1.929	29.328±4.023	63.287±0.776
cis-11-Εικοσ-εν-οϊκό οξύ	25.572±2.288	72.725±4.081	112.719±20.219	7.170±0.160	10.320±0.172	8.029±0.472	11.684±2.986	20.952±0.331
cis-11,14-Εικοσα-διεν-οϊκό οξύ	3.764±0.071	10.887±0.761	14.092±2.343	1.880±0.160	2.346±0.156	1.547±0.137	2.258±0.332	4.400±0.158
Εικοσιενοϊκό οξύ	6.304±0.014	28.698±1.568	17.678±2.705	4.126±0.121	5.612±0.159	5.885±0.157	6.536±0.766	12.282±0.002
cis-11,14,17-εικοσα-τριεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
cis-5,8,11,14,17-εικοσα-πεντεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Αραχιδονικό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Βεχενικό οξύ	10.406±0.139	122.096±8.407	53.929±10.583	7.369±0.285	9.664±0.443	7.62±0.527	8.901±1.416	19.221±0.398
Ερουκικό οξύ	6.984±0.229	16.012±1.040	14.559±2.952	6.246±0.266	7.514±0.443	10.512±0.658	3.260±0.513	4.837±0.041
cis-13,16-Εικοσιδυο-διεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Τρικοσανοϊκό οξύ	5.791±3.064	18.966±1.367	13.634±2.397	3.644±0.118	4.305±0.202	3.359±0.236	3.786±0.637	7.656±0.257
Λιγνοκηρικό οξύ	8.848±0.132	54.473±3.808	34.418±5.078	12.76±0.407	15.759±0.777	12.109±0.932	7.316±1.202	14.718±0.875
(all-Z)-4,7,10,13,16,19-Εικοσιδυο-εξανεν-οϊκό οξύ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Λιπαρά Οξέα	<i>C. arietinum</i> (var Αμοργός)	<i>C. arietinum</i> (var Γαύδος)	<i>C.arietinum</i> (var Θήβα)	<i>V. sativa</i> (var Εύηνος)	<i>V. sativa</i> (var Ίστρος)	<i>V. sativa</i> (var Αλέξανδρος)	<i>V. faba</i> (var Πολυκάρπης)	<i>V. faba</i> (var Τανάγρα)
Νευρονικό οξύ	nd	nd	nd	0.466±0.037	3.818±0.066	nd	nd	nd