



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ
ΟΛΙΚΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΚΑΙ ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΣΕ
ΝΩΠΑ ΚΑΙ ΑΠΟΞΗΡΑΜΕΝΑ ΦΥΛΛΑ ΔΑΦΝΗΣ (*Laurus nobilis*)**



ΡΑΠΤΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ, ΑΜ 16074

Επιβλέπων: Χαράλαμπος Καριπίδης
Καθηγητής Σχολής Γεωπόνων, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Άρτα, Οκτώβριος 2022

Comparative evaluation of total antioxidant and phenolic content in fresh and dried laurel leaves

Εγκρίθηκε από τριμελή εξεταστική επιτροπή

Άρτα, Ημερομηνία

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Επιβλέπων καθηγητής

Χαράλαμπος Καριπίδης, Καθηγητής Σχολής Γεωπόνων, Πανεπιστημίου

Ιωαννίνων

2. Μέλος επιτροπής

Παρασκευή Μπέζα , Επίκουρος Καθηγήτρια Σχολής Γεωπόνων,

Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

3. Μέλος επιτροπής

Παρασκευή Υφαντή, Μέλος ΕΔΙΠ Σχολής Γεωπόνων, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

© Ράπτης Γεώργιος, 2022

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. Allrightsreserved

Δήλωση μη λογοκλοπής

Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του Ν. 2121/1993 περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία είναι εξ ολοκλήρου αποτέλεσμα δικής μου ερευνητικής εργασίας, δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές που χρησιμοποιήθηκαν (κάθε είδους, μορφής και προέλευσης) για τη συγγραφή της περιλαμβάνονται στη βιβλιογραφία.

Ράπτης Γεώργιος

Υπογραφή

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θερμές ευχαριστίες, στον επιβλέποντα καθηγητή κο Χαράλαμπο Καριπίδη για την αμέριστη στήριξη και καθοδήγησή του, κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας εργασίας, καθώς και για τη διασφάλιση της επιτυχούς ολοκλήρωσή της.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η δάφνη (*Laurus nobilis*) είναι αρωματικό φυτό της οικογένειας των δαφνοειδών και χρησιμοποιείται καθημερινά στη μαγειρική ως μυρωδικό. Η δάφνη καλλιεργείται συστηματικά στη Μεσόγειο και ευδοκμεί σε ασβεστολιθικά και καλά αρδευόμενα εδάφη. Ακόμη, η δάφνη χρησιμοποιείται καθημερινά σαν μυρωδικό στο φαγητό και έχει σημαντικές φαρμακευτικές ιδιότητες που βοηθάνε στην αντιμετώπιση πολλών ασθενειών.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η περιεκτικότητα σε ολικές φαινολικές ουσίες και η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φύλλων της δάφνης σε νωπή και ξηρή κατάσταση, για να διαπιστωθεί αν ξήρανση των φύλλων της δάφνης έχει επίδραση στην περιεκτικότητά τους σε φαινολικά συστατικά και σε ουσίες με αντιοξειδωτική ικανότητα. Προσδιορισμός των ολικών φαινολικών συστατικών έγινε με την μέθοδο Folin-Ciocalteu και η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα με την μέθοδο DPPH.. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αποξήρανση των φύλλων δεν έχει σημαντική επίδραση στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα αν και παρατηρήθηκε ελάττωση στην περιεκτικότητα των εκχυλισμάτων των φύλλων σε φαινολικές ουσίες.

Λέξεις κλειδιά: δάφνη, φαινολικές ουσίες, αντιοξειδωτική ικανότητα, μέθοδος DPPH, μέθοδος Folin-Ciocalteu

ABSTRACT

Laurel (*Laurus nobilis*) is an aromatic plant of the laurel family and is used daily in cooking as a spice. Laurel is systematically cultivated in the Mediterranean and thrives in calcareous and well-irrigated soils. Also laurel is used daily as a spice in food and has important medical properties that help to treat many diseases.

In this project content of total phenolic substances and the total antioxidant capacity of fresh and dry laurel leaves were studied in order to determine whether drying laurel leaves has an effect on their content of phenolic components and substances with antioxidant capacity. The total phenolics components were determined by the Folin-Ciocalteu method and the total antioxidant capacity by DPPH method. The results showed that the drying of the leaves has no significant effect on the total antioxidant capacity, although a decrease was observed in the content of the leaf extracts in phenolic substances.

Key words: laurel, phenolic substances, antioxidant capacity, DPPH method, Folin-Ciocalteu method

Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	6
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	10
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ	11
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	12
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΑΦΝΗ.....	13
1.1 Προέλευση της δάφνης	13
1.2 Βοτανικά χαρακτηριστικά.....	14
1.3 Ιδιότητες της δάφνης.....	15
1.4 Καλλιέργεια της δάφνης.....	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΤΑ ΑΝΤΙΟΦΕΙΔΩΤΙΚΑ ΚΑΙ Η ΥΠΑΡΞΗ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΔΑΦΝΗ	20
2.1 Γενικά χαρακτηριστικά των αντιοξειδωτικών	20
2.2 Αντιοξειδωτικά στη δάφνη	25
2.3 Δράση των αντιοξειδωτικών	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ	30
3.1 Φαινολικά συστατικά βοτάνων	30
3.2 Κατηγορίες φαινολικών συστατικών.....	31
3.3 Ευεργετικές επιδράσεις φαινολικών συστατικών στην υγεία	31
3.4 Μέθοδοι εκχύλισης φαινολικών συστατικών.....	32
3.5 Μέθοδοι προσδιορισμού φαινολικών συστατικών	33
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	35
ΣΚΟΠΟΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	35
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	35
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	45
ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΕΡΑΣΜΑΤΑ	48
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	50

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Θεωρητική αξία της δάφνης

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Εικόνα 1: Η δάφνη μεταμορφώνεται σε θάμνο

Εικόνα 2: Τα άνθη της δάφνης

Εικόνα 3: Είδη τροφίμων που περιέχουν αντιοξειδωτικά

Εικόνα 4: Απεικόνιση της φαινόλης

Εικόνα 5: Καμπύλη απορρόφησης διαλύματος DPPH

Εικόνα 6: Απεικόνιση του DPPH

Εικόνα 7: Σχέση μεταξύ ποσότητας αντιοξειδωτικού αναφοράς (Trolox) και μείωσης του ποσοστού απορρόφησης του διαλύματος των 60 μMol του DPPH

Εικόνα 8: Μεταχρωματισμός του αντιδραστηρίου Folin – Ciocalteu σε διάφορες συγκεντρώσεις Γαλλικού οξέος

Εικόνα 9: Καμπύλη αναφοράς που αποδίδει την σχέση μεταξύ ποσότητας γαλλικού οξέος και απορρόφησης φωτός σε μήκος κύματος 750nm, μετά την αντίδραση με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu.

Εικόνα 10: Μέσοι και τυπικές αποκλίσεις της ολικής αντιοξειδωτική ικανότητας σε ισοδύναμα Trolox των φύλλων της δάφνης σε νωπή και ξηρή κατάσταση μετά από 14 και 28 ημέρες.

Εικόνα 11: Μέσες τιμές και τυπικές αποκλίσεις της περιεκτικότητας σε φαινολικά συστατικά των φύλλων της δάφνης σε νωπή και ξηρή κατάσταση μετά από 14 και 28 ημέρες

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η δάφνη ανήκει στα αρωματικά φυτά, τα οποία άρχισαν να χρησιμοποιούνται από τον κόσμο πολύ παλιά, τόσο στο φαγητό όσο και στην αντιμετώπιση ασθενειών. Αξίζει να αναφερθεί ότι τα αρωματικά φυτά ευδοκούν περισσότερο στις μεσογειακές χώρες και χαρακτηρίζονται ως τα κύρια στοιχεία που συνθέτουν τη χλωρίδα του φυσικού περιβάλλοντος. Όπως έχει καταγραφεί, τα αρωματικά φυτά χρησιμοποιήθηκαν σε πρώτη φάση υπό τη μορφή αφεψημάτων, προκειμένου να θεραπεύουν από παθήσεις. Φτάνοντας στον 21ο αιώνα, διακρίνεται πως τα αρωματικά φυτά συμβάλουν στη δημιουργία διάφορων προϊόντων όπως τρόφιμα, φάρμακα, ποτά κ.λπ..

Στην περίπτωση της Ελλάδας, διακρίνεται πως τα φυτά αυτά αναπτύσσονται σε πολύ μεγάλες περιοχές, σε βιότοπους και σε αραιοκατοικημένες περιοχές. Ακόμη, χαρακτηριστικό των αρωματικών φυτών είναι η παρουσία των αιθέριων ελαίων που τους δίνει ένα ιδιαίτερο άρωμα. Τα είδη εκείνα που απαντώνται σε όλη τη χώρα παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη ποικιλότητα σε ότι αφορά την απόδοσή τους σε αιθέρια έλαια σε αντίθεση με τα ενδημικά είδη.

Με βάση τα παραπάνω, η εργασία που ακολουθεί εστιάζει σε ένα συγκεκριμένο αρωματικό φυτό, τη δάφνη. Συγκεκριμένα πρόκειται για μια μελέτη που στην οποία γίνεται συγκριτική αξιολόγηση της περιεκτικότητας σε ολικά αντιοξειδωτικά και φαινολικές ουσίες σε νωπά και αποξηραμένα φύλλα δάφνης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΑΦΝΗ

1.1 Προέλευση της δάφνης

Η δάφνη (*Laurus nobilis*) είναι αειθαλής θάμνος με ιδιαίτερη καλλωπιστική αξία, το οποίο είναι αγαπητό φυτό ήδη από τους αρχαίους χρόνους. Χρησιμοποιείται συχνά ως μπαχαρικό στη κουζίνα και ως παραδοσιακό φάρμακο για τη θεραπεία διάφορων μολυσματικών ασθενειών. Η καταγωγή της είναι από τις περιοχές της Μεσογείου.

Γενικά, έχει μεγάλη και πλούσια ανάπτυξη και για αυτό το λόγο μπορεί να αναπτυχθεί και ως δέντρο, με το ανάλογο κλάδεμα. Ανήκει στην οικογένεια Lauraceae, η οποία περιλαμβάνει περισσότερα από 2500 είδη των τροπικών και υποτροπικών περιοχών.

Στην αρχαία Ελλάδα η δάφνη είχε ξεχωριστή σημασία καθώς εξέφραζε κυρίως τον σεβασμό και την επιβράβευση της προσπάθειας. Ακόμη, σύμφωνα με τη μυθολογία η Δάφνη ήταν νύμφη, κόρη του Πηνειού και της Γαίας. Ο θεός Απόλλων την ερωτεύτηκε και άρχισε να την κυνηγά ασταμάτητα. Εξαντλημένη η Δάφνη παρακάλεσε την μητέρα της, τη Γαία, να τη βοηθήσει και έτσι μεταμορφώθηκε σε δέντρο, όταν ο Απόλλων προσπάθησε να την αγκαλιάσει. Ο Απόλλων, τότε, για να παρηγορήσει τον εαυτό του, έκοψε ένα κλαδί από το δέντρο και στεφανώθηκε. Από τότε η δάφνη είναι το ιερό φυτό του θεού Απόλλωνα.



Εικόνα 1: Η δάφνη μεταμορφώνεται σε θάμνο

Πηγή: [Δάφνη \(νύμφη\) - Βικιπαίδεια \(wikipedia.org\)](https://el.wikipedia.org/wiki/Δάφνη_(νύμφη))

Ανθίζει την άνοιξη κατά τον Απρίλιο – Μάιο. Είναι δίοικο φυτό, δηλαδή τα άνθη του αναπτύσσονται ξεχωριστά σε «αρσενικά» και «θηλυκά» φυτά. Στα φυτά που υπάρχουν τα θηλυκά άνθη, κατά το φθινόπωρο σχηματίζονται οι καρποί της δάφνης που μαυρίζουν σταδιακά, μοιάζουν με ελιές και παραμένουν πάνω στο φυτό για μεγάλο χρονικό διάστημα.

1.2 Βοτανικά χαρακτηριστικά

Η δάφνη βάσει της ταξινόμησής της ανήκει στο βασίλειο Plantae, στην οικογένεια Lauraceae, στο γένος Laurus και στο είδος Laurus nobilis.

Όσον αφορά τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της, η δάφνη μπορεί να φτάσει σε ύψος τα 10-15 m, συνήθως όμως όταν φυτεύεται στον κήπο δεν ξεπερνά τα 5 m. Έχει ορθόκλαδη ανάπτυξη και αναπτύσσεται με γρήγορο ρυθμό, ενώ έχει ζωνρή και σχετικά πυκνή βλάστηση. Τα κλαδιά της είναι λεπτά και λαμπερά και τα φύλλα της είναι στενά και λογχοειδή. Συγκεκριμένα, τα φύλλα της είναι μυτερά, ελλειπτικά, παχιά και δερματώδη σε υφή, λεία κατά μήκος των περιθωρίων, πράσινο λαμπερό χρώμα όταν είναι νεαρά και πιο σκούρο πράσινο χρώμα αργότερα. Ακόμη, έχουν ένα ισχυρό, αρωματικό και γλυκό άρωμα το οποίο απελευθερώνεται όταν θρυμματιστούν. Τα φύλλα της είναι επίσης, οξύληκτα, σκούρου πράσινου χρώματος και χρησιμοποιούνται ευρέως στην μαγειρική και στη ζαχαροπλαστική.

Τα άνθη της έχουν ανοιχτό κίτρινο-πράσινο χρώμα και δημιουργούν ζευγάρια, με τη διάμετρό τους να είναι περίπου 1 cm. Τα αρσενικά φτάνουν από 8 μέχρι 12 στήμονες με δυο αδένες στη βάση, ενώ τα θηλυκά άνθη έχουν 2 με 4 στήμονες, ωριμάζουν το φθινόπωρο και διατηρούν ένα γυαλιστερό μαύρο μούρο. Τα άνθη της είναι μικρά σε μέγεθος και η πλειοψηφία των ανθών είναι εσωστρεφής, ενώ ανοίγει μέσω δύο βαλβίδων. Τα μεμονωμένα άνθη της είναι μικρά με λευκά πέταλα και αρσενικά με κίτρινους στήμονες που προσδίδουν ένα συνολικό κρεμώδες λευκό έως κιτρινόλευκο χρώμα.

Ο καρπός της δάφνης, χαρακτηρίζεται ως δρύπη που φέρει σαρκώδες, λεπτό περικάρπιο και μεγάλο σπέρμα. Το χρώμα του κατά την ωρίμανσή του είναι συνήθως κυανόμαυρο ή μαύρο και έχει ωοειδές σχήμα, ενώ το μέγεθός του αντιστοιχεί με εκείνο που φέρει μια μικρή ελιά. Η περίοδος ανάπτυξης των ανθών είναι Μάρτιος – Απρίλιος.



Εικόνα 2: Τα άνθη της δάφνης

Πηγή: [Laurus nobilis - Wild Flowers Provence](https://www.wildflowersprovence.fr/)

1.3 Ιδιότητες της δάφνης

Η δάφνη χρησιμοποιείται καθημερινά με ποικίλους τρόπους, ιδίως στη μαγειρική. Εκτός από τη μαγειρική, η δάφνη χρησιμοποιείται ως φυσικό προϊόν, χάρη στις σημαντικές ιδιότητες που διατηρεί, βοηθά για την αντιμετώπιση διαφόρων παθήσεων. Πιο συγκεκριμένα, τα φύλλα της δάφνης χρησιμοποιούνται σαν φαρμακευτικά βότανα για τη θεραπεία της δυσπεψίας, των ρευματισμών, κ.α.. Επιπλέον, τα φύλλα της έχουν χρησιμοποιηθεί για θεραπεία του σακχαρώδη διαβήτη

και των ημικρανιών. Επίσης, πρόκειται για εκείνα τα φυτά που έχουν αντιεπιληπτικές και αντισπασμωδικές ιδιότητες.

Τα φύλλα της δάφνης έχουν χρησιμοποιηθεί ακόμη και στην ιατρική για τη θεραπεία της επιληψίας, της νόσος του πάρκινσον και της νευρολογίας. Έχει υποστηριχθεί επίσης ότι διαθέτουν αρωματικές, διεγερτικές και ναρκωτικές ιδιότητες. Τα φύλλα του *L. nobilis* παραδοσιακά χρησιμοποιούνται από το στόμα για τη θεραπεία των γαστρεντερικών προβλημάτων όπως επιγαστρικό φούσκωμα καθώς επίσης χρησιμοποιούνται ευρέως στις βιομηχανίες αρωμάτων και σαπουνιών αλλά και για να ανακουφίζουν ασθενείς από τις αιμορροΐδες και τους ρευματικούς πόνους.

Επιπροσθέτως η δάφνη είναι γνωστή για τις πεπτικές της ιδιότητες καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως τσάι και να καταναλωθεί μετά από κάποιο γεύμα, ως πεπτικό βοήθημα, αλλά και για να καταπολεμήσει το πρήξιμο και το φούσκωμα, ως αποχρεμπτικό σε περίπτωση βήχα και λοιμώξεων του θώρακα, ως αντιφλεγμονώδες, αντισηπτικό και αναλγητικό κατά των ρευματισμών και της αρθρίτιδας.

Προσδίδει επίσης ένα έλαιο που λαμβάνεται με απόσταξη ατμού των φύλλων της και της ελαιορητίνης. Το έλαιο αυτό περιέχει κάποια κύρια συστατικά όπως 1,8-κινεόλη, πινένιο, σαβένιο άλλους εστέρες και τερπενοειδή και αναγνωρίζεται γενικά ως ασφαλές για κατανάλωση από τον άνθρωπο ως καρύκευμα, φυσικό άρωμα και εκχύλισμα και χρησιμοποιείται από τη βιομηχανία καλλυντικών για κρέμες, αρώματα και σαπούνια.

Περιέχει ακόμη, τανίνες, φλαβόνες, ευγενόλη, λιναλοόλη, και ανθοκυανίνες. Καθένα από τα χημικά συστατικά ποικίλει ανάλογα με τον τύπο των ειδών ή των ποικιλιών καθώς και τις συνθήκες καλλιέργειας όπως ο καιρός, ο τύπος του εδάφους, η άρδευση, το κλάδεμα και άλλες πρακτικές. Τα φύλλα της δάφνης έχουν επίσης πολλές βιολογικές ιδιότητες, καθώς συντελούν στην επούλωση πληγών και φέρουν αντιοξειδωτική, αντιβακτηριακή, αντική, αναλγητική, αντιμυκητιακή και αντιφλεγμονώδη δράση (Batool et al., 2020).

Όσον αφορά τη διερεύνηση των συστατικών της δάφνης διακρίνεται ότι περιλαμβάνει τα εξής:

- Πτητικά έλαια: Τα αιθέρια έλαια της δάφνης λαμβάνονται με απόσταξη ατμού των φύλλων, δίνοντας ένα κίτρινο υγρό με αρωματική και πικάντικη οσμή.
- Σταθερά έλαια: Οι καρποί της περιέχουν έως και 30% λίπος, το οποίο χρησιμοποιείται για την παραγωγή των λιπαντικών προϊόντων.

- Αλκαλοειδή: Η δάφνη περιλαμβάνει αλκαλοειδή, όπως νοραπορφίνες και αφόρφινες.
- Σεσκιτερπένια: Στις ρίζες της εντοπίζονται σεσκιτερπένια όπως λαυρενοβιολίδη.
- Άλλες ουσίες: Άλλες ουσίες που περιέχονται στη δάφνη είναι νορισοπρενοειδή, τοκοφερόλες, φλαβονοειδή, προανθοκυανιδίνες και αντιοξειδωτικά (Alejo-Armijo et al., 2017)

Η γεύση που έχουν τα φύλλα της δάφνης είναι έντονη και πικρή. Το διαφορετικό άρωμα οφείλεται στην παρουσία αιθέριων ελαίων στα φύλλα και σε άλλα μέρη του φυτού. Επιπλέον χημικά συστατικά της δάφνης είναι οι τανίνες, το κιτρικό οξύ, οι υδατάνθρακες, τα στεροειδή, και τα τριτερπενοειδή. Κάθε ένα από τα παραπάνω χημικά συστατικά ποικίλει ανάλογα με τον τύπο των ειδών. Η τανίνη είναι υγρή γλυκοσίδη που προέχεται από πολυπεπτίδιο και εστέρα πολυμερούς που μπορεί να υδρολυθεί με την έκκριση της χολής και της γλυκόζης. Η τανίνη η οποία έχει απομονωθεί από κάποιο μέρος των φυτών είναι μια κρέμα σε σκόνη, αρωματική που έχει στυπτική γεύση. Χρησιμοποιείται ως στυπτικό για τη γαστρεντερική οδό ή το δέρμα και υπάρχει πιθανότητα να προκαλέσει καταβύθιση της κυτταρικής μεμβράνης (Batoool et al.,2020).

Σε αυτό το σημείο θα αναφερθούν τα σημαντικότερα συστατικά της δάφνης που προσδίδουν μεγάλη θρεπτική αξία. Παρακάτω παρουσιάζονται αυτά τα στοιχεία μέσω ενός πίνακα ανά 100 g δάφνης.

Στοιχείο	Θρεπτική αξία
Ενέργεια	313 (kcal)
Υδατάνθρακες	74.97 g
Πρωτεΐνη	7.61 g
Ολικό λίπος	8.36 g
Χοληστερίνη	0 mg
Φυτικές ίνες	26.3 g
Φολικό οξύ	180 mcg

Νικοτινικό οξύ	2.005 mg
Πυρροδοξίνη	1.740 mg
Ριβοφλαβίνη	0.421 mg
Βιταμίνη Α	6185 IU
Βιταμίνη C	46.5 mg
Ηλεκτρολύτες	
Νάτριο	23 mg
Κάλιο	529 mg
Μεταλλικά στοιχεία	
Ασβέστιο	834 mg
Χαλκός	0.416 mg
Σίδηρο	43 mg
Μαγνήσιο	120 mg
Μαγγάνιο	8.167 mg
Φώσφορος	113 mg
Σελήνιο	2.8 mcg
Ψευδάργυρος	3.7 mg

Πίνακας 1: Θρεπτική αξία της δάφνης

Πηγή: [Δάφνη: Διατροφική αξία, θερμίδες, βιταμίνες και όλα τα συστατικά \(fit4art.com\)](https://fit4art.com)

Με βάση τον παραπάνω πίνακα, το φύλλο της δάφνης φέρει ελάχιστη ποσότητα λιπών και έχει χαμηλή θερμιδική τιμή. Επίσης, είναι γνωστό ως μία από τις καλύτερες και κύριες πηγές λήψης βιταμινών Α και πολλών μετάλλων. Ενώσεις όπως η ευγενόλη, η μεθυλευγενόλη και η ελεμίνη είναι σημαντικές για το πικάντικο άρωμα των φύλλων της (Batoool et al., 2020)

1.4 Καλλιέργεια της δάφνης

Όπως αναφέραμε και νωρίτερα, η δάφνη είναι αειθαλής θάμνος με βαθύ πράσινα και δερματώδη αρωματικά φύλλα που χρησιμοποιούνται στη μαγειρική για να νοστιμίζουν τα φαγητά. Ευδοκμεί σε όλους τους τύπους εδαφών, ακόμη και σε ξερά ασβεστούχα εδάφη παρουσιάζει σχετικά γρήγορη ανάπτυξη, πράγμα που την καθιστά ένα αρκετά ανθεκτικό φυτό. Παρόλα αυτά προτιμάμε να τη φυτεύουμε σε δροσερά και γόνιμα εδάφη που παρουσιάζουν καλή αποστράγγιση. Ωστόσο, η δάφνη είναι ανθεκτική στην ξηρασία, στην ρύπανση αλλά και στην αλατότητα, για αυτό και είναι κατάλληλη τόσο για φύτευση σε δρόμους των πόλεων αλλά και για παραθαλάσσιες φυτεύσεις. Επίσης, προσαρμόζεται σε ηλιοφανείς αλλά και σκιερές θέσεις, ενώ αντέχει και σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες.

Καίριο ρόλο στην ανάπτυξή της και την ανθοφορία της έχει το πότισμα. Σημαντικό είναι επίσης μετά τη φύτευση της δάφνης να υπάρχουν μικρά και συχνά ποτίσματα για να ριζώσει καλύτερα. Αφού αναπτύξει ένα δυνατό ριζικό σύστημα τα ποτίσματα αραιώνουν.

Η δάφνη δεν έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις σε θρεπτικά στοιχεία, το λίπασμα που χρειάζεται πρέπει να έχει αυξημένη περιεκτικότητα σε άζωτο, στις αρχές της Άνοιξης και του Καλοκαιριού αλλά και στις αρχές του φθινοπώρου για να ενισχυθεί η ανάπτυξή της. Η συμπληρωματική προσθήκη σιδήρου βοηθάει επίσης στο να γίνει το φύλλωμά της καταπράσινο.

Η δάφνη δεν έχει πολλούς εχθρούς και ασθένειες, ωστόσο μία μυκητολογική ασθένεια που έχει να αντιμετωπίσει είναι του ωιδίου, η οποία προκαλεί κίτρινες ακανόνιστες κηλίδες στο φύλλωμά της. Όσον αφορά την αντιμετώπισή του, ο ψεκασμός με διάλυμα μαγειρικής σόδας ή με διάλυμα βρέξιμου θειαφιού βοηθά στην αντιμετώπισή τους.

Από εχθρούς, η δάφνη έχει να αντιμετωπίσει τη μελίγκρα και τα κοκκοειδή (ψώρα) που προσβάλουν τα φυτά της δάφνης, τα οποία αντιμετωπίζονται ψεκάζοντας προληπτικά με διάλυμα πράσινου σαπουνιού ή με διάλυμα θεινικού πολτού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΤΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΚΑΙ Η ΥΠΑΡΞΗ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΔΑΦΝΗ

2.1 Γενικά χαρακτηριστικά των αντιοξειδωτικών

Τα αντιοξειδωτικά αποτελούν μια κατηγορία χημικών ουσιών που βρίσκονται στα τρόφιμα και μπορούν να αποτρέψουν ή να μειώσουν το οξειδωτικό στρες του φυσιολογικού συστήματος (Mamta et al., 2014). Τα αντιοξειδωτικά περνούν αρκετές διαδικασίες προτού καταναλωθούν από τους ανθρώπους. Οι ερευνητές στα μέσα του 21^{ου} αιώνα, αφού έκαναν πολλές έρευνες, διαπίστωσαν ότι η διάρκεια ζωής των ανθρώπων αυξάνεται με την κανονική κατανάλωση αντιοξειδωτικών και αποτρέπει πολλές θανατηφόρες ασθένειες. Στα τέλη του 19^{ου} αιώνα, χρησιμοποιούνται για διάφορες βιομηχανικές διεργασίες, όπως είναι η πρόληψη της διάβρωσης μετάλλων. Ακόμη, οι επιστήμονες διαπίστωσαν ότι αυτές οι ουσίες προστατεύουν το μέταλλο από τη διάβρωση και περιορίζουν την οξείδωση των μετάλλων.

Από το 1990 και έπειτα, η αντιοξειδωτική έρευνα έχει αυξηθεί δραματικά, λόγω του δυνητικού ρόλου της στην πρόληψη ασθενειών και στην προώθηση της υγείας. Σε βιολογικά συστήματα όπως ζωικά μοντέλα και κλινικές δοκιμές, η αντιοξειδωτική δράση των καθαρών ενώσεων στα τρόφιμα και στα συμπληρώματα διατροφής, έχει εξεταστεί εκτενώς. Αρκετά μοντέλα μελέτης έχουν προσδιοριστεί σε χημικά και βιολογικά συστήματα για την εξέταση του μηχανισμού δράσης των αντιοξειδωτικών, καθώς επίσης και την αναγνώριση, ιδιαίτερα από φυσικές ουσίες. Περισσότερη έρευνα σε ζωικά μοντέλα και κυτταρικές καλλιέργειες παρείχε χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με θέματα βιοδιαθεσιμότητας, μεταβολισμού και τοξικότητας των αντιοξειδωτικών, υποδηλώνοντας πιθανές κλινικές εφαρμογές αυτών των ουσιών. Ωστόσο όμως τα ζωικά μοντέλα και η ανθρώπινη έρευνα είναι ακριβά και δεν είναι κατάλληλα για τον πρώιμο αντιοξειδωτικό έλεγχο των τροφίμων και των συμπληρωμάτων διατροφής. Για αυτό το λόγο τα μοντέλα κυτταρικής καλλιέργειας έχουν χρησιμοποιηθεί για έγκαιρη διαλογή και μελέτη που προχωρεί σε έρευνα σε ζώα και κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους (Aziz et al., 2019).

Στις βιολογικές / ιατρικές επιστήμες ο όρος «αντιοξειδωτικό» είναι ένας από τους πιο συγκεχυμένους ορισμούς. Στη χημεία ως «αντιοξειδωτικό» νοείται απλώς «μια ένωση που απομακρύνει τα αντιδραστικά είδη, κυρίως που προέρχονται από

οξυγόνο», ενώ σε κυτταρικό πλαίσιο είναι, ο εννοιολογικός ορισμός ενός αντιοξειδωτικού είναι ελάχιστα κατανοητός. Τα μη κλινικά συνιστώμενα αντιοξειδωτικά καταναλώνονται συχνά σε μεγάλες ποσότητες από μεγάλο μέρος του παγκόσμιου πληθυσμού, με την πεποίθηση ότι ο καρκίνος, η φλεγμονή και οι ασθένειες προκαλούνται από υψηλά επίπεδα οξυγόνου (ή είδη αντιδραστικού οξυγόνου) και ότι μέσω του αποκλεισμού της παραγωγής αντιδραστικών ειδών, οργανικών ανισορροπιών / διαταραχές μπορούν να προληφθούν ή / και ακόμη να αντιμετωπιστούν (Salehi et al., 2018)



Εικόνα 3: Είδη τροφίμων που περιέχουν αντιοξειδωτικά

Πηγή:<https://www.evogennutrition.com/blogs/supplement-science/how-important-are-micronutrients-for-health>

Με αυτό το τρόπο λοιπόν τα αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται ευρέως ως συμπλήρωμα διατροφής για την προώθηση της καλής υγείας και την πρόληψη ασθενειών όπως ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές παθήσεις κ.α.. Ακόμη, χρησιμοποιούνται ως συντηρητικά για τρόφιμα, κάτι που ξεκίνησε στα μέσα του 20^{ου} αιώνα, όταν οι επιστήμονες κατέβαλαν προσπάθειες να επεκτείνουν τη ζωή των τροφίμων. Συνδυάζοντας λοιπόν τα αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα που έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε ακόρεστα λιπαρά, κατάφεραν να αποτρέψουν την δυσάρεστη μυρωδιά και γεύση. Περνώντας τα χρόνια, νέες πληροφορίες ήρθαν στο φως και ανακαλύφθηκε ότι μερικές από τις βασικές και ζωτικής σημασίας βιταμίνες, που είναι απαραίτητες για τον ανθρώπινο οργανισμό, μπορούσαν να ταξινομηθούν ως αντιοξειδωτικά. Αυτό σημαίνει ότι οι άνθρωποι, τα τελευταία 100 χρόνια καταναλώνουν αντιοξειδωτικά καθημερινά (Atta et al., 2019).

Δύο είναι οι μεγάλες κατηγορίες που ταξινομούνται τα αντιοξειδωτικά. Οι δύο αυτές κατηγορίες είναι τα φυτικά και τα συνθετικά. Οι δύο αυτές κατηγορίες παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης της οξειδωτικής ισορροπίας. Η υπό-ταξινόμηση με βάση τη διαλυτότητα περιέχει λιποδιαλυτά και υδατοδιαλυτά αντιοξειδωτικά, ενώ αυτά που βασίζονται στους μηχανισμούς δράσης είναι οι απενεργοποιητές μετάλλων, τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά (ριζικοί καθαριστές) και δευτερεύοντα αντιοξειδωτικά (αποσυνθέτες υπεροξειδίου) (Mbah et al., 2019).

Αρχικά, τα συνθετικά αντιοξειδωτικά παράγονται ή συντίθενται τεχνητά χρησιμοποιώντας διάφορες τεχνικές. Είναι κυρίως πολυφαινολικές ενώσεις κυρίως που συλλαμβάνουν τις ελεύθερες ρίζες και σταματούν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις. Συνήθως, τα παράγωγα των πλυφαινολικών περιέχουν περισσότερες από μία υδροξυλ ή μεθοξυ ομάδες. Η αιθοξυκινίνη είναι η μόνη ετεροκυκλική ένωση που περιέχει άζωτο και αναφέρεται ότι, χρησιμοποιείται ως αντιοξειδωτικό στα τρόφιμα και πιο συγκεκριμένα στις ζωοτροφές. Τα συνθετικά φαινολικά αντιοξειδωτικά αντικαθίστανται με αλκυλομάδες για να βελτιώσουν τη διαλυτότητά τους στα λίπη και έλαια και για τη μείωση της τοξικότητά τους. Οι συνθετικές ενώσεις αυτές, που έχουν αντιοξειδωτική δράση χρησιμοποιούνται συνήθως σε φαρμακευτικά προϊόντα, ως συντηρητικά για καλλυντικά και για τη σταθεροποίηση του λίπους, του ελαίου και των λιπιδίων στα τρόφιμα (Mamta et al.,2014).

Από την άλλη μεριά, τα φυσικά αντιοξειδωτικά είναι ενώσεις που βρίσκονται στα τρόφιμα και καταναλώνονται χωρίς πολλή επεξεργασία, όπως φρούτα, λαχανικά, ξηροί καρποί, σπόροι κ.λπ.. Είναι ενώσεις που αντιδρούν με τις ρίζες

λιπιδίων για να τις μετατρέπουν σε πιο σταθερά προϊόντα. Ακόμη, τα φυσικά αντιοξειδωτικά μπορούν να εξαχθούν από φυτά, μικροοργανισμούς και ζωικούς ιστούς. Μπορούν όμως να έχουν και πολλά μειονεκτήματα, όπως υψηλά επίπεδα χρήσης, χαμηλή αντιοξειδωτική απόδοση, ανεπιθύμητη γεύση ή οσμή και πιθανή απώλεια κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Τα μειονεκτήματα αυτά απαιτούν περιστασιακά την αντικατάστασή τους από συνθετικά χημικά, τα οποία είναι φθηνότερα, πιο εύκολα διαθέσιμα, σταθερής ποιότητας και έχουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση. Άλλες πηγές των αντιοξειδωτικών αυτών στα φυτά είναι τα δημητριακά, τα όσπρια, το τσάι, ο καφές, το κρασί, η μύρα, τα βότανα και τα μπαχαρικά όπως θυμάρι, μοσχοκάρυδο, γαρίφαλο κ.α.. Στις ζωικές πηγές περιλαμβάνονται γάλα, λιπίδια ψαριών, αυγά και καροτένια (Mbah et al., 2019).

Επιπλέον, τα φυσικά αντιοξειδωτικά είναι κυρίως φαινολικά που μπορεί να εμφανιστούν σε επιπρόσθετα μέρη των φυτών όπως φύλλα, ρίζες και φλοιό. Σύμφωνα με κάποιες τοξικολογικές μελέτες σχετικά με τη χρήση συνθετικών αντιοξειδωτικών έχουν δείξει τις ανεπιθύμητες ή δυσμενείς επιπτώσεις τους. Οι μελέτες αυτές έχουν παροτρύνει τους ερευνητές να επικεντρώσουν τη μελέτη τους στην εξερεύνηση φυσικών πηγών με εύλογο αντιοξειδωτικό δυναμικό (Anwar et al., 2018).

Τα αντιοξειδωτικά κυμαίνονται από αυτά που δημιουργούνται ενδογενώς από τα κύτταρα του σώματος ή από εξωγενείς παράγοντες όπως τα συμπληρώματα διατροφής. Η αντιοξειδωτική ανεπάρκεια είναι δυνατόν να αναπτυχθεί ως αποτέλεσμα της μειωμένης πρόληψης αντιοξειδωτικών. Με στόχο τη βέλτιστη λειτουργία του οργανισμού, τα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα αποτελούν μια ολοένα και πιο δημοφιλή πρακτική, μέσω της βελτίωσης της προστασίας των ελεύθερων ριζών (Aziz et al., 2019).

Ειδικότερα, οι τύποι αντιοξειδωτικών που λαμβάνονται από φρούτα και λαχανικά είναι οι εξής:

- Πολυφαινόλες: οι πολυφαινόλες είναι μια ομάδα διάφορων ενώσεων χαμηλού και υψηλού μοριακού βάρους που έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες που αποτρέπουν την οξείδωση των λιπιδίων. Τα από αυτά είναι μόνο συζεύγματα και πολυσακχαριτών, τα οποία συνδέονται με μία ή περισσότερες ομάδες δακτυλίων φαινόλης ή μπορεί ακόμη να υπάρχουν ως λειτουργικά παράγωγα όπως εστέρες και μεθυλεστέρες.

- Φλαβονοειδή: Πρόκειται για μια υποκατηγορία πολυφαινόλων που υπάρχουν στα περισσότερα τρόφιμα όπως σιτάρι, πατάτες, κόκκινα μούρα, ροδάκινα και αμύγδαλα. Μια υποκατηγορία των φλαβονοειδών είναι η ανθοκυανίνη που υπάρχει στα μούρα και στο κρασί. Είναι ισχυρό αντιοξειδωτικό με μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα σε σύγκριση με άλλα φλαβονοειδή. Ο τρόπος με τον οποίο οι πολυφαινόλες εμφανίζουν τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες είναι εμποδίζοντας την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL), αποτρέποντας τον σχηματισμό της πλάκας.

- Καροτενοειδή: Τα καροτενοειδή είναι άλλη μια σημαντική κατηγορία αντιοξειδωτικών φυτοχημικών από φρούτα και λαχανικά, όπως πατάτες, καρότα και βερίκοκα.

- Βιταμίνες: Μεταξύ των βιταμινών που λαμβάνονται από φρούτα και λαχανικά, που ενεργούν ως αντιοξειδωτικά, η βιταμίνη C, είναι ένα πολύ ισχυρό υδατοδιαλυτό αντιοξειδωτικό που περιέχεται συνήθως σε εσπεριδοειδή και λαχανικά όπως πορτοκάλια, λεμόνια και τομάτες. Συνίσταται τα φρούτα και τα λαχανικά στα οποία περιέχεται βιταμίνη C, να λαμβάνονται σε μικρές διαιρεμένες δόσεις αντί να έχουν μεγάλη δόση ταυτόχρονα, καθώς η βιταμίνη C εμφανίζει λιγότερη απορρόφηση όταν χορηγείται σε μεγάλες ποσότητες. Η βιταμίνη E είναι άλλη μια βιταμίνη με αντιοξειδωτικές ιδιότητες, η οποία σχετίζεται με την οικογένεια αντιοξειδωτικών τοκοφερόλης. Η βιταμίνη E είναι μια λιποδιαλυτή, μη πολική βιταμίνη που βρίσκεται φυσικά σε φρούτα και λαχανικά όπως ελιές, ηλιέλαιο και ξηρούς καρπούς. Η βιοδιαθεσιμότητα της βιταμίνης E είναι υψηλότερη από αυτή της βιταμίνης C, η οποία ίσως οφείλεται στη διαλυτότητά της στο λίπος και μπορεί να βελτιωθεί περαιτέρω όταν λαμβάνεται με λιπαρά τρόφιμα (Anwar et al., 2018).

Σε γενικές γραμμές, τα αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα έχουν οριστεί ως ουσίες που σε μικρές ποσότητες είναι σε θέση να αποτρέψουν ή να επιβαρύνουν σε μεγάλο βαθμό την οξείδωση των εύκολα οξειδώσιμων υλικών, όπως τα λίπη. Συνεπώς, στην επιστήμη των τροφίμων, τα αντιοξειδωτικά συνήθως εξομοιώνονται με αναστολείς της αλυσίδας υπεροξειδωσης των λιπιδίων, αλλά όχι αποκλειστικά. Πολλά αντιοξειδωτικά έχουν μελετηθεί και χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα αλλά και στα ποτά. Επομένως, για τρόφιμα αλλά και ποτά, τα αντιοξειδωτικά είναι μόρια που μπορούν να εξομοιωθούν με την προστασία μακρομορίων από την οξείδωση. Στα βιολογικά συστήματα, αντιοξειδωτικό ορίζεται ως οποιαδήποτε ουσία που όταν υπάρχει σε χαμηλές

συγκεντρώσεις σε σύγκριση με εκείνες ενός οξειδώσιμου υποστρώματος, καθυστερεί σημαντικά ή αποτρέπει την οξείδωση αυτού του υποστρώματος (Atta et al., 2017). Εν κατακλείδι τα αντιοξειδωτικά αφορούν μόρια που αποτρέπουν την κυτταρική βλάβη που προκαλείται από την οξείδωση άλλων μορίων (Mamta et al., 2014).

2.2 Αντιοξειδωτικά στη δάφνη

Τα αρωματικά φυτά είναι εξαιρετική πηγή αντιοξειδωτικών και χρησιμοποιούνται τόσο στο μαγείρεμα όσο και ως συντηρητικά τροφίμων. Τα αρωματικά φυτά που χρησιμοποιούνται κατά την παρασκευή και επεξεργασία τροφίμων είναι μια εναλλακτική λύση για τα ανθυγιεινά, συνθετικά αντιοξειδωτικά, όπως το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT) και η βουτυλιώμενη υδροξυανισόλη (BHA), τα οποία συμβάλλουν στην εκδήλωση προβλημάτων του ήπατος και στην καρκινογένεση. Τα αρωματικά φυτά που προστίθενται στα τρόφιμα ενισχύουν τη γεύση και την υφή του και μπορούν ακόμη να παρατείνουν τη ζωή τους, χάρη στη παρουσία δραστικών βακτηριοστατικών και βακτηριοκτόνων ενώσεων και στην αναστολή της διαδικασίας οξείδωσης. Παραδείγματα αντιοξειδωτικών ενώσεων που βρίσκονται στα αρωματικά φυτά μπορεί να περιλαμβάνουν ευγενόλη, καφένιο, καρβουκρόλη κ.α. (Słowianek and Leszczyńska, 2016).

Η δάφνη είναι ένα από τα αρωματικά φυτά που φέρει ιδιαίτερα σημαντική αντιοξειδωτική δράση, όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενο κεφάλαιο. Σύμφωνα με την μελέτη του Bozan & Karakaplan, (2017), αξιολογήθηκαν οι αντιοξειδωτικές δραστηριότητες των εκχυλισμάτων των καρπών της, χρησιμοποιώντας προσδιορισμό DPPH, δοκιμασία β-καροτενίου / λινελαϊκού οξέος και τη μέθοδο Rancimat. Ο πυρήνας και ο καρπός της δάφνης εκχυλίστηκαν με διαφορετικές μεθόδους εκχύλισης με διαλύτες διαφορετικής πολικότητας. Η μέθοδος εκχύλισης και οι διαλύτες επηρέασαν σε μεγάλο βαθμό την απόδοση, τη συνολική φαινολική και αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων. Η συνολική φαινολική περιεκτικότητα κυμαίνονταν από 14,2 έως 168,2 mg ισοδύναμου γαλλικού οξέος (GAE/g) σε εκχύλισμα περικαρπίου και από 233-240 mg GAE/g σε εκχύλισμα πυρήνα. Το εκχύλισμα πυρήνα με μέθοδο Soxhlet με 80% αιθανόλη έδειξε την υψηλότερη δραστηριότητα σάρωσης 50,8% στα 12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ από το DPPH (Bozan and Karakaplan, (2017).

Συνεχίζοντας παρακάτω, ο Taroq et al., (2018), προχώρησε σε μία μελέτη για να δείξει την αντιοξειδωτική δράση της δάφνης που παράγεται στο Μαρόκο. Συγκεκριμένα, με τη μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός της

αντιοξειδωτικής δραστηριότητας και της συνολικής περιεκτικότητας σε φαινολικά και φλαβονοειδή αιθανόλης, μεθανόλης, αιθυλίου οξικό και υδατικών εκχυλισμάτων σε φύλλα δάφνης. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας τρεις δοκιμές, όπως δράση σάρωσης ελεύθερων ριζών έναντι 2,2-διφαινυλ-πικρυλυδραζυλίου (DPPH), μείωση του μολυβδαινικού και μείωση της ($\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+2}$). Η συνολική περιεκτικότητα σε φαινολικά και φλαβονοειδή μετρήθηκε με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu και rutin, αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα αιθανόλη αλλά και τα εκχυλίσματα νερού είχαν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση από το οξικό αιθύλιο. Το υδατικό εκχύλισμα εμφάνισε υψηλότερη ρίζα DPPH που καθαρίζει και μειώνει το μολυβδικό $545,8 \pm 5,9$ mg ισοδύναμο με ασκορβικό οξύ / g ξηρού εκχυλίσματος. Η ισχυρή αντιοξειδωτική δράση του νερού, πιθανώς να οφείλεται στην υψηλή περιεκτικότητα σε φαινόλες. Επίσης, εκχυλίσματα αιθανόλης και νερού παρουσίασαν υψηλότερη συνολική περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή με τις τιμές: 153.3 ± 3.6 και 127.2 ± 2.6 mg ισοδύναμου ρουτίνης / g ξηρού εκχυλίσματος, αντίστοιχα. Επομένως, συμπεράνε πως τα εκχυλίσματα των φύλλων της δάφνης παρουσίασαν μια ισχυρή και εξαιρετική αντιοξειδωτική δράση (Tarog et al., 2018).

Σύμφωνα με μια μελέτη που πραγματοποίησε ο Politeo et al., (2006), αναλύθηκαν χημικές συνθέσεις και σχετικές συνολικές αντιοξειδωτικές ικανότητες δώδεκα αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών. Για να είναι δυνατή η σύγκριση των σχετικών αντιοξειδωτικών δυνατοτήτων τους, τα αιθέρια έλαια εκχυλίστηκαν με υδροαπόσταξη από επιλεγμένα αρωματικά φυτά και οι χημικές τους συνθέσεις προσδιορίστηκαν από το σύστημα GC-MS σε δύο τριχοειδείς στήλες συντηγμένου πυριτίου διαφορετικής πολικότητας. Η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα εξετάστηκε με τέσσερις διαφορετικές μεθόδους, οι οποίες είναι: η μέθοδος ριζοσπαστικής ρίζας 2,2-διφαινυλ-1-πικρυλυδραζυλίου (DPPH), προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ισχύος μείωσης του σιδήρου (FRAP), προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης με αντιδραστικά είδη θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARS) και αυτόματος προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας του λίπους (RANCIMAT). Σύμφωνα με την αντιοξειδωτική ικανότητα, το αιθέριο έλαιο της δάφνης κατέλαβε την 3^η θέση στην κατάταξη, σε σύγκριση με τα υπόλοιπα 11 αιθέρια έλαια (Politeo et al., 2006).

2.3 Δράση των αντιοξειδωτικών

Αντιοξειδωτικό είναι μια ουσία που όταν βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις καθυστερεί ή αποτρέπει την οξείδωση ενός υποστρώματος. Ο τρόπος που δρουν οι αντιοξειδωτικές ενώσεις είναι μέσω πολλών χημικών μηχανισμών: μεταφέροντας άτομα υδρογόνου (HAT), μεταφέροντας απλά ηλεκτρόνια (SET) και ικανότητα χηλίωσης μετάλλων μετάβασης (Santos-Sanchez et al., 2019). Τα πλούσια σε αντιοξειδωτικά τρόφιμα μπορούν να δράσουν ως καθαριστές αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και επίσης να βοηθήσουν στη μείωση των επιπτώσεων των χρόνιων παθήσεων που σχετίζονται με την ηλικία (Chrysargyris et al., 2020).

Σχετικά με το οξειδωτικό στρες, έχει λάβει σημαντική επιστημονική προσοχή ως μεσολαβητής στην αιτιολογία πολλών ασθενειών. Το οξειδωτικό στρες είναι αποτέλεσμα ανισορροπίας ανάμεσα στις ελεύθερες ρίζες και τα αντιοξειδωτικά. Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στα κύτταρα τα οποία θεωρούνται ότι παίζουν κύριο ρόλο στη διαδικασία γήρανσης και στην ανάπτυξη ασθενειών. Τα αντιοξειδωτικά είναι η πρώτη γραμμή άμυνας ενάντια στις επιβλαβείς επιπτώσεις των βλαβών που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες και είναι σημαντικό να διατηρηθεί η βέλτιστη υγεία μέσω διαφορετικών μηχανισμών δράσης. Κατά κανόνα, το οξειδωτικό στρες αναφέρεται στην ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών μέσα στο σώμα λόγω ανεπάρκειας αντιοξειδωτικού ή αυξημένου είδους αντιδραστικού οξυγόνου (ROS), ειδών αντιδρώντος αζώτου (RNA) και παραγωγής αντιδραστικών ειδών θείου (RSS), τα οποία οδηγούν σε πιθανή κυτταρική βλάβη. Το ROS είναι ένας συλλογικός όρος που περιλαμβάνει όλες τις εξαιρετικά αντιδραστικές μορφές οξυγόνου, συμπεριλαμβανομένων και των ελεύθερων ριζών (Aziz et al., 2019).

Οξείδωση είναι μια χημική αντίδραση που μπορεί να παράγει ελεύθερες ρίζες, οδηγώντας έτσι σε αλυσιδωτές αντιδράσεις που μπορούν να βλάψουν τα κύτταρα των οργανισμών. Τα αντιοξειδωτικά, όπως οι θειόλες ή το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) σταματούν αυτές τις αλυσιδωτές αντιδράσεις. Για να γίνει η εξισορρόπηση της οξειδωτικής κατάστασης, τα φυτά και τα ζώα διατηρούν πολύπλοκα συστήματα αλληλεπικαλυπτόμενων αντιοξειδωτικών, όπως η γλουταθειόνη και τα ένζυμα (π.χ. καταλάση και υπεροξειδίου δισμουτάση), τα οποία παράγονται εσωτερικά, ή τα διατροφικά αντιοξειδωτικά βιταμίνες C και E. Η αντιοξειδωτική υπεράσπιση της επαγωγής ή της ενδογενούς μείωσης των επιπέδων ROS / RNS είναι ένας γρήγορος και ακριβής δείκτης οξειδωτικού στρες. Η παραγωγή και η συσσώρευση ROS / RNS είναι

ένας κοινός παρονομαστής σε πολλές διαταραχές και περιβαλλοντικές προσβολές, που ταυτόχρονα μπορούν να προκαλέσουν σοβαρή κυτταρική βλάβη που οδηγεί σε φυσιολογική δυσλειτουργία και κυτταρικό θάνατο (Salehi et al., 2018).

Ειδικότερα, όσον αφορά την οξειδωση σημειώνεται ότι είναι μια χημική αντίδραση που περιλαμβάνει τη μεταφορά ηλεκτρονίων από τη μία ένωση στην άλλη και έχει αρνητικά αποτελέσματα φυσιολογικά. Σύμφωνα με τη βιολογία η οξειδωση ξεκινά από τις ελεύθερες ρίζες. Αντιοξειδωτικό είναι η ουσία που θα οξειδωθεί, καθυστερεί σημαντικά ή αναστέλλει τη οξειδωση. Συνεπώς, ο φυσιολογικός ρόλος του αντιοξειδωτικού είναι η πρόληψη βλάβης στα κυτταρικά συστατικά που προκύπτει από χημικές αντιδράσεις που περιλαμβάνουν ελεύθερες ρίζες (Mbah et al., 2019).

Συγκεκριμένα, τα αντιοξειδωτικά μπορεί να είναι μόρια που εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες με την αποδοχή με την αποδοχή ή την προσφορά ηλεκτρονίων για την εξάλειψη της μη ζευγαρωμένης κατάστασης της ρίζας. Τα αντιοξειδωτικά μόρια μπορεί να αντιδρούν άμεσα με τις αντιδραστικές ρίζες και να τα καταστρέψουν, ενώ μπορεί να γίνουν νέες ελεύθερες ρίζες που είναι λιγότερο δραστικές, μεγάλης διάρκειας και λιγότερο επικίνδυνες από αυτές τις ρίζες που έχουν εξουδετερωθεί. Μπορούν ακόμη, να εξουδετερωθούν από άλλα αντιοξειδωτικά ή άλλους μηχανισμούς για τον τερματισμό της ριζικής τους κατάστασης. Παραδείγματος χάρη, πολλά αντιοξειδωτικά έχουν αρωματικές δομές δακτυλίου και είναι ικανά να μετεγκαθιστούν το ζεύγος ηλεκτρονίων. Η βιταμίνη C όταν βρίσκεται σε υδατική κατάσταση και η βιταμίνη E στη φάση λιπιδίων θα αντιδράσουν άμεσα ή εξουδετερώνουν τις ρίζες υδροξυλίου, αλκοξυλίου και λιπιδίου υπεροξυλίου και σχηματίζουν υδροϋπεροξειδία H_2O , αλκοόλης και λιπιδίων αντίστοιχα. Η βιταμίνη E γίνεται ρίζα φαινυλίου και η βιταμίνη C μετατρέπεται σε πολύ σταθερή ρίζα λόγω της μετατοπισμένης δομής της. Επίσης, η βιταμίνη C μπορεί να εξουδετερώσει τη ριζική μορφή άλλων αντιοξειδωτικών όπως η ρίζα γλουταθειόνης και η ρίζα βιταμίνη E, και να αναγεννήσει αυτά τα αντιοξειδωτικά. Η ίδια η βιταμίνη C αναγεννάται εύκολα από το Asc- με αναγωγάσεις που εξαρτώνται από το NADH ή το NADPH. Πολλά αντιοξειδωτικά μπορεί να αντιδρούν με ROS και / ή ενδιάμεσα ελεύθερων ριζών που προκαλούνται από ROS και να τερματίζουν την αλυσιδωτή αντίδραση, σταματώντας έτσι την επαγόμενη από ROS βλάβη (Lü et al., 2010).

Οι ενώσεις πολυυδροξυ ή μονοϋδροξυ φαινόλης με διάφορες υποκαταστάσεις δακτυλίου είναι τα πιο πρόσφατα αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται σε τρόφιμα.

Δεδομένου ότι έχουν χαμηλή ενέργεια ενεργοποίησης, οι ενώσεις μπορούν εύκολα να δώσουν υδρογόνο και η ρίζα αντιοξειδωτικών που προκύπτει να μη είναι σε θέση να ξεκινήσει άλλη ελεύθερη ρίζα, λόγω της σταθεροποίησης των απομεταλλωμένων ριζών ηλεκτρονίων. Το γεγονός ότι τα αντιοξειδωτικά προσδίδουν υδρογόνο, διακρίνεται στο ότι αυτό το στοιχείο καθυστερεί ή ελαχιστοποιεί την έναρξη και διάδοση της αλυσιδωτής αντίδρασης των ελεύθερων ριζών. Η αντιοξειδωτική ελεύθερη ρίζα που προκύπτει δεν υπόκειται σε ταχεία οξείδωση, λόγω της σταθερότητάς της και μπορεί να αντιδράσει με ελεύθερες ρίζες λιπιδίων για να σχηματίσει μια σταθερή σύνθετη ένωση, αποτρέποντας έτσι από την καταστροφή τους (Mbah et al., 2019).

φαινολικών δακτυλίων, κάτι το οποίο τις καθιστά ισχυρά αντιοξειδωτικά (McMurry et al., 1996)

3.2 Κατηγορίες φαινολικών συστατικών

Η ταξινόμηση των φαινολικών ουσιών γίνεται με βάση τον αριθμό και τη θέση των ατόμων άνθρακα. Διακρίνονται σε φλαβονοειδή και μη φλαβονοειδή.

- Στα μη φλαβονοειδή περιλαμβάνονται
 1. Φαινολικά οξέα και παράγωγες αλδεύδες: βενζοϊκά οξέα C6-C1 (γαλλικό οξύ, βανιλικό οξύ, κ.α.), βενζαλδεύδη C6-C1 (βανιλίνη, συριγγική αλδεύη) και κινναμωνικά οξέα C6-C3 (κινναμωνικό οξύ, φερουλικό οξύ, κεφεικό οξύ).

2. Στιλβένια

3. Υδρολύομενες ταννίνες

4. Τυροσόλη και υδροξυτυροσόλη

- Στα φλαβονοειδή C3- C6- C3 περιλαμβάνονται:

1. Φλαβόνες: λουτεολίνη, απιγενίνη

2. Φλαβονόλες: καμφερόλη, κερκετίνη

3. Φλαβανόνες: εσπεριδίνη, ναρινγκενίνη

4. Φλαβονοδιόλες-3: κατεχίνη, γαλλοκατεχίνη

5. Φλαβονοδιόλες-3,4: προκυανιδίνη, προδελφιδίνη

6. Ανθοκυάνες: γλυκοζίτες

7. Ανθοκυανιδίνες

8. Συμπυκνωμένες ταννίνες

(Βαφόπουλου – Μαστρογιαννάκη 2013, Crozier et al., 2009)

3.3 Ευεργετικές επιδράσεις φαινολικών συστατικών στην υγεία

Στην καθημερινή μας διατροφή, τα τρόφιμα που συναντάμε τις περισσότερες φαινόλες είναι κυρίως αφειήματα – εκχυλίσματα, όπως είναι το πράσινο τσάι, το μαύρο τσάι, ο καφές, το κόκκινο κρασί και το κακάο. Τα φρούτα, τα λαχανικά, τα βότανα, τα μπαχαρικά και το ελαιόλαδο έχουν λιγότερη περιεκτικότητα σε φαινόλες και πολυφαινόλες, αλλά περιέχουν εξίσου κάποιες συγκεκριμένες ενώσεις οι οποίες είναι πολύ χρήσιμες για την υγεία, πράγμα που τα καθιστά εξίσου σημαντικά στη

διατροφή μας για την πρόληψη φαινολών. Τα βότανα και τα μπαχαρικά είναι φυτοχημικά πολύπλοκα αλλά περιέχουν φαινολικές ενώσεις οι οποίες δεν εντοπίζονται σε άλλα τρόφιμα και πολλές φορές τα καθιστά ως φυτικά φάρμακα. Οι ενώσεις που συναντώνται κυρίως στα βότανα είναι ροσμαρινικό οξύ, κινναμαλδεύδη, κουρκουμινοειδή και πιπερίνη (Crozier et al., 2009). Η περιεκτικότητα αλλάζει ανάλογα με την ποικιλομορφία, τις αγρονομικές συνθήκες, την καλλιέργεια και τις μεθόδους μαγειρικής και παρασκευής (Anacleto et al., 2019).

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν φαινόλες και πολυφαινόλες, δηλαδή διατροφές πλούσιες σε φρούτα και λαχανικά αλλά και αφεψήματα από φυτικά προϊόντα, συνδέονται με τη μείωση του κινδύνου διάφορων χρόνιων ασθενειών με βασικότερες τις καρδιολογικές παθήσεις, διάφοροι τύποι καρκίνου και με την νευροεκφυλιστική νόσο (DelRion et al., 2015, Anacleto et al., 2019). Τα φαινολικά συστατικά μπορούν να δρουν ως αντιοξειδωτικά. Η μεγαλύτερη ομάδα των φαινολικών ενώσεων είναι τα φλαβονοειδή. Δύο πολύ σημαντικά λειτουργικά χαρακτηριστικά που ανήκουν σε αυτήν την ομάδα είναι η ρουτίνη και η κερσετίνη διότι προσδίδουν ευεργετικές φαρμακολογικές ιδιότητες όπως αντιοξειδωτικές, ηπατοπροστατευτικές, αντινεοπλασματικές και αντιμικροβιακές (Borbdoloi et al., 2016).

Τέλος, σε τρόφιμα όπως μούρα και σταφύλια περιέχονται αρκετά φλαβονοειδή και φαινολικά. Οι κύριες υποομάδες που συναντώνται είναι ανθοκυανίνες, προανθοκυανίνες και κατεχίνες. Αρκετές μελέτες που αφορούν τη δράση των φαινολικών ουσιών επικεντρώνονται κυρίως στα σταφύλια καθώς έχει αναφερθεί ότι αναστέλλουν την οξείδωση της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL).

3.4 Μέθοδοι εκχύλισης φαινολικών συστατικών

Υπάρχει έντονο ενδιαφέρον για την εκχύλιση αλλά και απομόνωση των δευτερογενών προϊόντων των φυτών καθώς παρουσιάζουν θεραπευτικές ιδιότητες. Σημαντικοί παράγοντες για την μελέτη του φυτού που θα μελετηθεί είναι αν το φυτό είναι φρέσκο ή έχει ξεραθεί, τα μέρη του φυτού που επιλέξαμε να μελετήσουμε, ο τρόπος ξήρανσης και ο τόπος και χρόνος αποθήκευσης. Κατά την ξήρανση χάνουν μεγάλη ποσότητα νερού, πράγμα που τα καθιστά πιο εύθραυστα και ίσως ο χρόνος εκχύλισης να είναι μεγαλύτερος (Zhang et al., 2009). Ακόμη, υπάρχουν διάφοροι

τρόποι εκχύλισης των δειγμάτων και για την πλειοψηφία δειγμάτων τροφίμων που προέρχονται από φυτά γίνονται εκχυλίσεις με διαλύτες υγρό / υγρό και στερεό / υγρό.

Οι φαινολικές ενώσεις είναι σχετικά υδρόφιλες, έτσι οι ελεύθερες πολυφαινόλες μπορούν να εκχυλιστούν με νερό, διαλύματα με πολικούς οργανικούς διαλύτες όπως μεθανόλη και αιθανόλη ή διαλυτοποιημένα με νερό. Ακόμη τα υγρά εκχυλίσματα, πολλές φορές αναμιγνύονται και με κάποιον οξικό μεθυλεστέρα ανάλογα με την διαλυτότητα συγκεκριμένων φαινολών που είναι προς μελέτη. Σημαντικό ρόλο παίζει επίσης και το pH του διαλύτη γιατί οι φαινόλες παραμένουν σταθερές και ουδέτερες σε χαμηλό pH και έτσι εκχυλίζονται πιο εύκολα σε οργανικούς διαλύτες (Tsao et al., 2010).

Άλλοι παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν τη μέθοδο εκχύλισης είναι η θερμοκρασία, ο όγκος των δειγμάτων προς τον διαλύτη καθώς και ο αριθμός και ο χρόνος εκχύλισης των μεμονωμένων εκχυλίσεων. Στην εκχύλιση είναι αρκετά συνηθισμένη και η προσθήκη κάποιου αντιοξειδωτικού σε μικρές ποσότητες για την αποφυγή της φαινολικής οξείδωσης. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται στο υδατόλουτρο στους 90°C με κάθετο ψυκτήρα ή με τη χρήση υπερήχων και μικροκυμάτων. Μερικοί ακόμη μέθοδοι εκχύλισης είναι:

- Η εκχύλιση με νερό
- Η εκχύλιση με διαλύτη
- Η εκχύλιση με βρασμό
- Η απόσταξη με υδρατμούς.

Πιο σύγχρονοι μέθοδοι εκχύλισης είναι:

- Η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME)
- Η υπερκρίσιμη εκχύλιση (SFE)
- Η εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) (Stalikas. 2007)

3.5 Μέθοδοι προσδιορισμού φαινολικών συστατικών

Έχουν προταθεί αρκετές μέθοδοι για τον προσδιορισμό και την καταμέτρηση των φαινολικών ενώσεων όπως η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης και αέρια χρωματογραφία, όμως αυτές οι μέθοδοι μπορεί να είναι πολύ ακριβές, να απαιτούν πολύ χρόνο καθώς και ειδικές και προσεκτικές εκχυλίσεις, έχοντας ως αποτέλεσμα να γίνεται μεγάλη κατανάλωση δειγμάτων. Επειδή η ποσότητα των φαινολικών ουσιών

πολλές φορές είναι μικρή σε τρόφιμα φυτικής προέλευσης, αναφέρονται συνήθως σαν ολικά φαινολικά και για αυτό το σκοπό υπάρχουν και μέθοδοι με τη χρήση ενζύμων και χημικών (Shaghghi et al., 2008).

Η πιο συχνή χημική μέθοδο που χρησιμοποιείται για τον έμμεσο προσδιορισμό των ολικών φαινολικών είναι η μέθοδος Folin-Ciocalteu. Ο κύριος μηχανισμός αυτής της μεθόδου είναι μια αλληλεπίδραση οξείδωσης/αναγωγής η οποία ανιχνεύει την παρουσία φαινολών και αναγωγικών παραγόντων. Οι φαινόλες ανιχνεύονται μέσω της μεταφοράς ηλεκτρονίων σε αλκαλικό μέσο και έτσι σχηματίζουν σύμπλοκα φωσφορικού μολύβδου/φωσφορικού οξέος με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Οι αναγωγικές αυτές ενώσεις σχηματίζουν μπλε χρώμα το οποίο φασματοφωτομετρείται στα 725 nm και έπειτα η συγκέντρωση κάθε δείγματος βαθμονομείται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (Medina et al., 2011).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η περιεκτικότητα σε ολικές φαινολικές ουσίες και η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φύλλων της δάφνης σε νωπή και ξηρή κατάσταση, για να διαπιστωθεί αν ξήρανση των φύλλων της δάφνης έχει επίδραση στην περιεκτικότητά τους σε φαινολικά συστατικά και σε ουσίες με αντιοξειδωτική ικανότητα.

Για τον σκοπό αυτό συλλέχθηκαν φύλλα δάφνης στα οποία έγινε προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) και της περιεκτικότητας σε ολικές φαινόλες (TPC) σε μεθανολικό εκχύλισμα των φύλλων, τόσο σε νωπή όσο και σε ξηρή κατάσταση μετά από 14 και 28 ημέρες. Ο προσδιορισμός της ολικής συγκέντρωσης φαινολικών ουσιών έγινε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu και η αντιοξειδωτική τους ικανότητα προσδιορίστηκε με τη μέθοδο DPPH.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Υλικά και αντιδραστήρια

- Δείγματα φύλλων δάφνης τα οποία προέρχονται από ενήλικο δένδρο που βρίσκεται εντός της έκτασης στην οποία είναι οι εγκαταστάσεις του τμήματος Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων στους Κωστακιούς Άρτας

- Απεσταγμένο νερό
- Μεθανόλη
- Folin – Ciocalteu
- Διάλυμα Na_2CO_3 20% (w/v)
- Πρότυπα διαλύματα Γαλλικού οξέος
- Αντιδραστήριο DPPH
- Πρότυπα διαλύματα Trolox

Όργανα και εξοπλισμός

- Ψαλίδι

- Χάρτινες σακούλες
- Αναδευτήρας σωληναρίων (vortex)
- Ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών
- Πιπέτες μεταβλητού όγκου (1000μl, 200 μl, 100 μl)
- Κυψελίδες
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Ελαστική ταινία (para-film)
- Φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους
- Μαγνητικός αναδευτήρας

Διαδικασία εκχύλισης των φύλλων της Δάφνης με μεθανόλη

Τα φύλλα της Δάφνης συλλέχθηκαν στις 26/5/2022 από ενήλικο δένδρο που βρίσκεται εντός της έκτασης στην οποία είναι οι εγκαταστάσεις του τμήματος Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων στους Κωστακιούς Άρτας. Όλα τα φύλλα προέρχονταν από τον ίδιο κλάδο του δένδρου. Τα φύλλα ζυγίστηκαν για να βρεθεί το νωπό τους βάρος. Ακολούθως σε 10 φύλλα έγιναν άμεσα εκχυλίσεις με μεθανόλη, ενώ τα υπόλοιπα τοποθετήθηκαν σε χάρτινες σακούλες και αφέθηκαν να ξηραθούν σε συνθήκες δωματίου στο εργαστήριο.

Πριν την εκχύλιση τα φύλλα τεμαχίστηκαν με ψαλίδι σε όσο το δυνατό μικρότερα τεμάχια. Μέρος από τα της μάζας των τεμαχισμένων φύλλων ζυγίστηκαν σε ζυγό ακριβείας και τοποθετήθηκαν μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα μαζί με καθαρή μεθανόλη για να γίνει η εκχύλιση. Για κάθε 100 mg φυτικού ιστού (φύλλων) χρησιμοποιήθηκαν 1 ml μεθανόλης. Στη συνέχεια το μείγμα ιστών και μεθανόλης υφίστατο δόνηση (vortex) για 1 λεπτό. Έπειτα οι δοκιμαστικοί σωλήνες σφραγίστηκαν με ελαστική ταινία (para-film) για την αποφυγή της εξάτμισης και αφήνονταν στο ψυγείο για 24 ώρες μέχρι να γίνει η μέτρηση σε αντιοξειδωτικά και φαινολικές ουσίες.

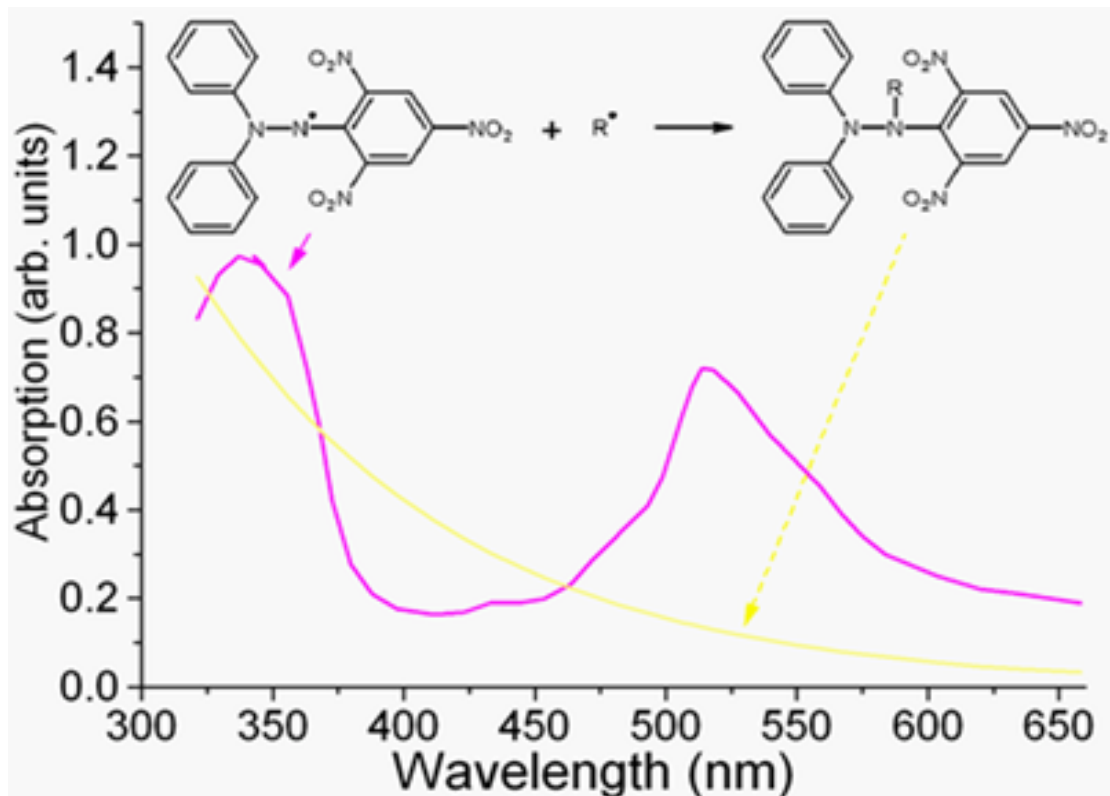
Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και στα ξηρά φύλλα μετά από 14 και 28 ημέρες. Πριν την εκχύλιση των ξηρών φύλλων (10 σε κάθε μεταχείριση) προσδιορίστηκε το βάρος τους (σε ξηρή κατάσταση) για να υπολογισθεί σε κάθε ένα η αναλογία ξήρανσης, με βάση το αρχικό νωπό βάρος που είχε κατά την συλλογή. **Τα αποτελέσματα της TAC και TPC των ξηρών φύλλων αποδόθηκαν σε νωπό βάρος,**

με βάση τον συντελεστή (αναλογία) ξήρανσής τους, για να είναι συγκρίσιμα τα αποτελέσματα των προσδιορισμών μεταξύ των νωπών και ξηρών φύλλων.

Προσδιορισμός Ολικής Αντιοξειδωτικής Ικανότητας (TAC) με την μέθοδο DPPH

Για τον προσδιορισμό της TAC των φύλλων της δάφνης που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία, εφαρμόστηκε η μέθοδος του Διφαινυλοπικρυλυδραζυλίου (DPPH).

Η μέθοδος βασίζεται στη βαθμιαία εξαφάνιση της ιώδους απόχρωσης της σταθερής DPPH ρίζας λόγω της δέσμευσής της από αντιοξειδωτικές ουσίες, οι οποίες έχουν ισχυρή ικανότητα αδρανοποίησης ελευθέρων ριζών. Η μέθοδος στηρίζεται στην αντίδραση των διαφόρων αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχονται στα υπό μελέτη δείγματα φύλλων, με μεθανολικό (MeOH) ή αιθανολικό (EtOH) διάλυμα της σταθερής 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλυδραζυλικής ρίζας (DPPH), η οποία απορροφά έντονα στα 515 nm. Με την προσφορά υδρογόνου/ηλεκτρονίου ανάγεται σε υδραζίνη με αποτέλεσμα τον αποχρωματισμό του διαλύματος. Λόγω της παρουσίας του μονήρους ηλεκτρονίου, το DPPH έχει υψηλή απορρόφηση σε αιθανολικό ή μεθανολικό διάλυμα στα 515 nm. Όσο το ηλεκτρόνιο αυτό δεσμεύεται, η απορρόφηση μειώνεται, και ο βαθμός αποχρωματισμού είναι στοιχειομετρικά ο αριθμός των ηλεκτρονίων που έχουν δεσμευτεί. Η κατανάλωση του DPPH από τα αντιοξειδωτικά, έχει ως αποτέλεσμα την εξασθένηση του πορφυρού χρώματος του διαλύματός του, η οποία παρακολουθείται στα 515 nm, όπου παρατηρείται το μέγιστο του φάσματος της ρίζας.



Εικόνα 5: Καμπύλη απορρόφησης διαλύματος DPPH στα διάφορα μήκη κύματος του ορατού φάσματος. Η ιώδης καμπύλη αφορά την μη δεσμευμένη ρίζα του DPPH από τα αντιοξειδωτικά Η κίτρινη καμπύλη αφορά την δεσμευμένη ρίζα του DPPH. Σε μήκος κύματος 515 nm η απορρόφηση του φωτός από την δεσμευμένη ρίζα του DPPH είναι ελάχιστη, ενώ η μη δεσμευμένη παρουσιάζει μέγιστο απορρόφησης.

Η μεταβολή αυτή (μείωση της απορρόφησης) είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της αντιοξειδωτικής ουσίας και έχει σαν αποτέλεσμα την αντίστοιχη μείωση της οπτικής απορρόφησης στα 515nm.

Η κινητική συμπεριφορά των αντιοξειδωτικών εξαρτάται από το χρόνο αντίδρασης τους και κατηγοριοποιείται ως ταχεία (για χρόνο αντίδρασης <5 min), ενδιάμεση (για χρόνο αντίδρασης 5-30 min) και αργή (για χρόνο αντίδρασης >30 min). Σαν γενικός κανόνας ο χρόνος των 30 min θεωρείται επαρκής για την ολοκλήρωση της αντίδρασης αντιοξειδωτικών που περιέχονται σε κάποιο δείγμα με το αντιδραστήριο DPPH.

Η μεταβολή της απορρόφησης προσδιορίζεται φωτομετρικά και δεν αποδίδεται σε άμεση αντιστοίχιση με την ποσότητα των αντιοξειδωτικών ουσιών που αντέδρασαν με το DPPH, αλλά έμμεσα ως το ποσοστό του DPPH ($\Delta A\%$) που απομένει στο δείγμα και είναι αντιστρόφως ανάλογο με την συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών. Το ποσοστό υπολογίζεται ως :

$$\Delta A\% = \left(\frac{A_0 - A_{30}}{A_0} \right) \times 100$$

Όπου :

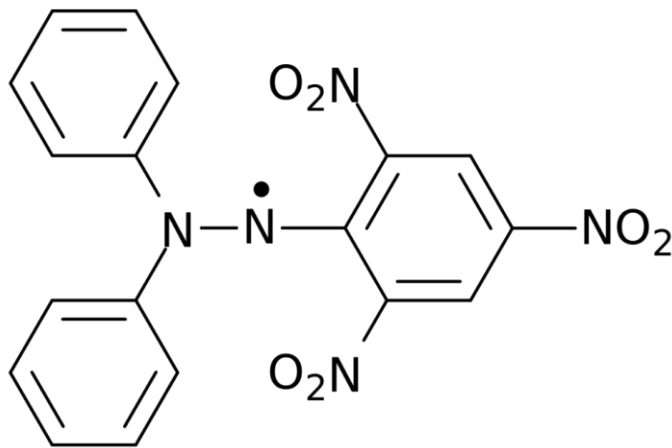
$\Delta A\%$: Ποσοστό μείωση της απορρόφησης του αρχικού διαλύματος του DPPH.

A_0 : Αρχική τιμή απορρόφησης του διαλύματος DPPH (μάρτυρας) ή αλλιώς απορρόφηση σε χρόνο 0.

A_{30} : Τιμή απορρόφησης του DPPH μετά από την προσθήκη ποσότητας αντιοξειδωτικών, μετά από 30 min ($A_0 \geq A_{30}$).

Παρασκευή διαλύματος DPPH

Για την παρασκευή του βασικού αντιδραστηρίου (Standard), χρησιμοποιήθηκαν 2,36 mg DPPH, τα οποία διαλύθηκαν σε 100 mL μεθανόλης και το διάλυμα αυτό (60 μMol) τοποθετήθηκε στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου. Στην συγκεκριμένη συγκέντρωση το διάλυμα αυτό παρουσιάζει τιμές απορρόφησης 0,7 στο μήκος κύματος των 515 nm και έχει ένα έντονο ιώδη χρωματισμό.



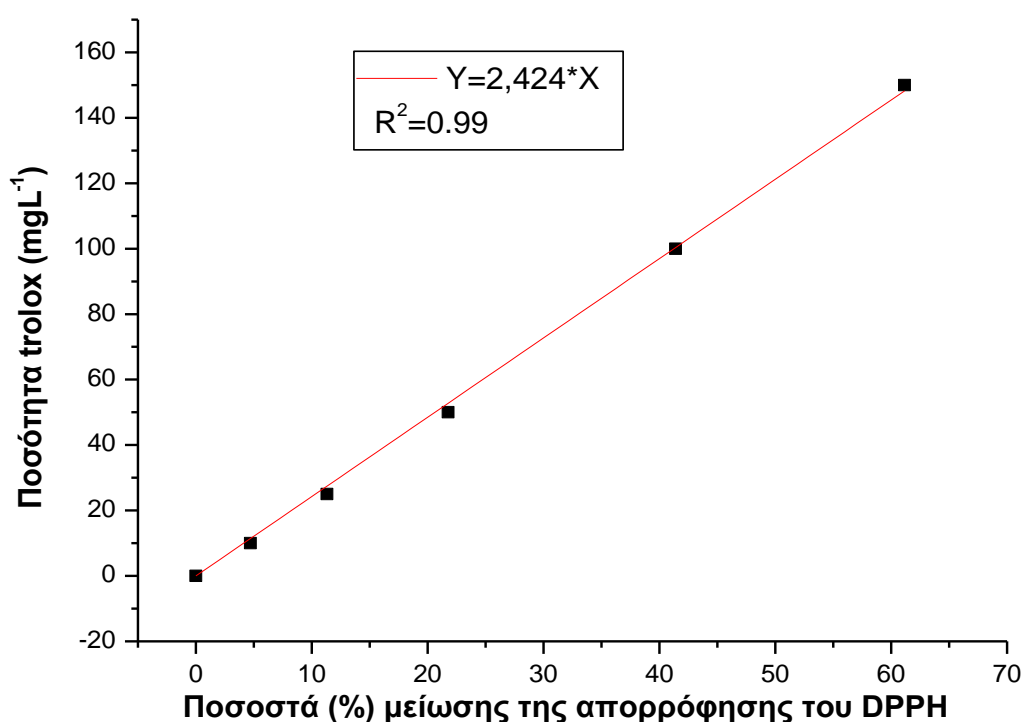
Εικόνα 6: Το DPPH

Πηγή: : [DPPH - DPPH - Wikipedia](#)

Κατασκευή καμπύλης αναφοράς σε ισοδύναμα Trolox για τον προσδιορισμό της TAC

Οι τιμές των ποσοστών μείωσης της απορρόφησης του αρχικού αντιδραστηρίου, συνήθως εκφράζονται σε «ισοδύναμες ποσότητες» κάποιων ισχυρών αντιοξειδωτικών ουσιών αναφοράς, όπως είναι το Trolox (ανάλογο της βιταμίνης E) ή το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), ή το Γαλλικό Οξύ. Οι ποσότητες αυτές αφορούν την ποσότητα του αντιοξειδωτικού αναφοράς, η οποία έχει σαν αποτέλεσμα το αντίστοιχο ποσοστό % (ΔΑ%) αποχρωματισμού του βασικού διαλύματος του DPPH.

Στην παρούσα εργασία ως αντιοξειδωτικό αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το Trolox, μέσω του οποίου καταρτίστηκε καμπύλη αναφοράς που σχετίζει τα ποσοστά μείωσης της απορρόφησης του DPPH (λόγω των αντιοξειδωτικών ουσιών στο κάθε δείγμα) με τις συγκεντρώσεις του Trolox.



Εικόνα 7: Σχέση μεταξύ ποσότητας αντιοξειδωτικού αναφοράς (Trolox) και μείωσης του ποσοστού απορρόφησης του διαλύματος των 60 μMol του DPPH

Για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν συγκεντρώσεις Trolox της τάξεως των 0, 12½, 25, 50, 100 και 150 mgL^{-1} (χιλιοστογραμμάρια ανά λίτρο ή ppm). Από τα ανωτέρω διαλύματα Trolox ελήφθησαν ποσότητες των 50 μL , οι οποίες αντέδρασαν με 1950 μL από το βασικό διάλυμα των 60 μMol του DPPH. Η

καμπύλη αναφοράς που προέκυψε από τις μετρήσεις αυτές παρουσιάζεται στο γράφημα της εικόνας 7.

Η εξίσωση παλινδρόμησης,

$$Y = 2,424 * X \quad (R^2=0,99)$$

αποδίδει την μαθηματική σχέση μεταξύ των ποσοστών μείωσης της απορρόφησης του διαλύματος των 60 μMol του DPPH και των τιμών της ποσότητας του Trolox που αντιστοιχούν σε αυτές.

Κατά την αξιοποίηση της παραπάνω μαθηματικής σχέσης και δεδομένου ότι πολλές φορές πριν τη μέτρηση των δειγμάτων (εκχυλίσματα φυτικών ιστών) προηγείται κάποιος βαθμός αραίωσης του αρχικού εκχυλίσματος, έτσι ώστε μετά την αραίωση να είναι δυνατή η μέτρηση της απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους, η προσδιοριζόμενη από την ανωτέρω μαθηματική σχέση ισοδύναμης ποσότητας Trolox πολλαπλασιάζεται με την αντίστοιχη αραίωση για να προκύψει η TAC του εκάστοτε δείγματος.

Τρόπος εργασίας για τον προσδιορισμό της TAC στα δείγματα των καρπών

Λαμβάνεται ποσότητα 50 μL από το κάθε δείγμα (με βαθμό αραίωσης 1:5 για τα νωπά φύλλα και 1:10 για τα ξηρά φύλλα) και προστίθεται σε πλαστική κυψελίδα «ωφέλιμου» όγκου 2 mL. Ακολούθως προστίθενται στην κυψελίδα 1950 μL αντιδραστήριο DPPH. Οι κυψελίδες καλύπτονται με πλαστικό φιλμ (parafilm) για την αποφυγή εξάτμισης της μεθανόλης και τοποθετούνται σε σκοτεινό μέρος για μισή ώρα. Ο χρόνος αυτός κρίνεται απαραίτητος ώστε να ολοκληρωθεί η αντίδραση του DPPH με τα υπάρχοντα αντιοξειδωτικά στο εκάστοτε δείγμα και να σταθεροποιηθεί ο αποχρωματισμός του αντιδραστηρίου.

Πριν την ακολουθία των μετρήσεων προηγείται μηδενισμός του φασματοφωτόμετρου με καθαρή μεθανόλη και στην συνέχεια λαμβάνονται οι μετρήσεις απορρόφησης του εκάστοτε δείγματος (τιμή απορρόφησης δείγματος σε χρόνο 30 min: A_{30}) στο φασματοφωτόμετρο. Παράλληλα λαμβάνεται και μέτρηση από το Standard διάλυμα του DPPH (μάρτυρας), η οποία ουσιαστικά αφορά την τιμή απορρόφησης σε χρόνο 0 min: A_0 .

Οι μετρήσεις εκφράζονταν σε ποσοστό % ($\Delta A\%$) μείωσης της απορρόφησης του αρχικού διαλύματος του DPPH (λόγω της παρουσίας των αντιοξειδωτικών) και

σύμφωνα με την καμπύλη αναφοράς και την αλγεβρική σχέση που προκύπτει από αυτή, αποδίδονται σε ισοδύναμη ποσότητα Trolox ανά 100g φυτικών ιστών, μετά από πολλαπλασιασμό της αρχικής τιμής με τον βαθμό αραίωσης του εκάστοτε δείγματος.

Προσδιορισμός περιεχομένου σε ολικές φαινόλες με την μέθοδο FOLIN-CIOCALTEU (FC)

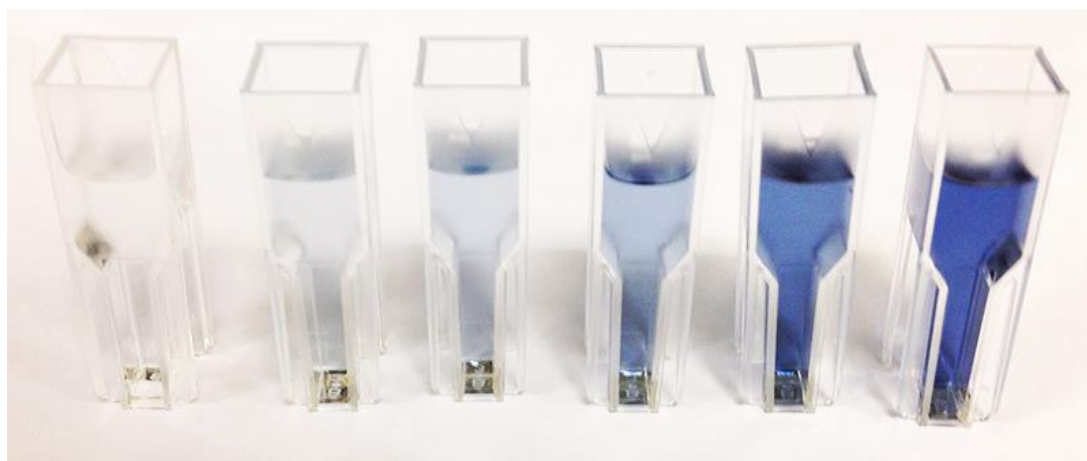
Στην παρούσα εργασία για τον προσδιορισμό του ολικού περιεχομένου των φύλλων της δάφνης σε φαινολικές ουσίες εφαρμόστηκε η μέθοδος Folin-Ciocalteu. Πρόκειται για φωτομετρική μέθοδο που βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών ενώσεων από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Χρησιμοποιείται για την μέτρηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου χωρίς να γίνεται διάκριση μεταξύ μονομερών, διμερών ή μεγαλύτερων φαινολικών συστατικών. Το κύριο αντιδραστήριο της μεθόδου, το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu, είναι διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που σχηματίζονται από φωσφομολυβδαινικά ($H_3PMo_{12}O_{40} \cdot 12H_2O$) και φωσφοβολφραμικά ($H_3PW_{12}O_{40} \cdot nH_2O$) ετεροπολυμερή οξέα. Σε αλκαλικό περιβάλλον, οι φαινολικές ενώσεις οξειδώνονται με ταυτόχρονη αναγωγή των οξέων προς μείγμα οξειδίων του βολφραμίου (W_8O_{23}) και του μολυβδαινίου (Mo_8O_{23}), με χαρακτηριστικό κυανό χρώμα.

Το σχηματιζόμενο κυανό χρώμα παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 750 nm και είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων. Οι φαινολικές ουσίες εκφράζονται σε ισοδύναμα γαλλικού ή καφεϊκού οξέος.

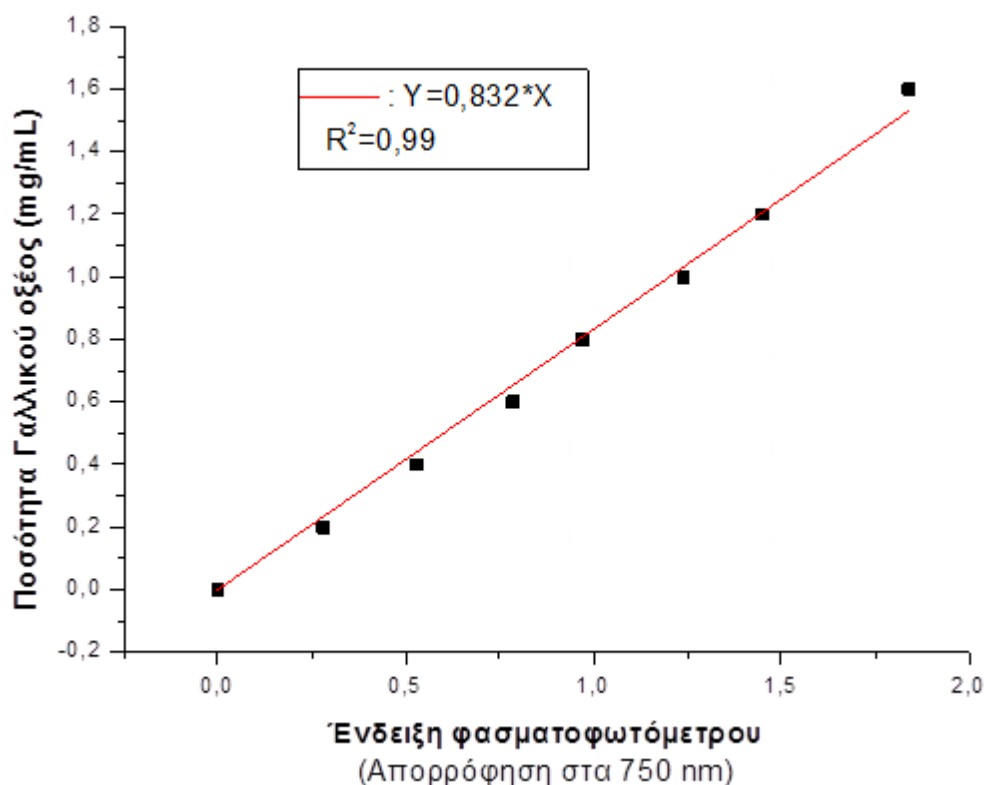
Οι φαινολικές ουσίες αντιδρούν με το αντιδραστήριο FC μόνο σε βασικό περιβάλλον, για το λόγο αυτό πριν από την προσθήκη του αντιδραστηρίου FC, το pH του δείγματος γίνεται βασικό (pH 10) με προσθήκη διαλύματος Na_2CO_3 20%.

Κατασκευή καμπύλης αναφοράς ισοδύναμης ποσότητας Γαλλικού οξέος για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών ουσιών

Οι τιμές απορρόφησης που καταγράφονται στο φασματοφωτόμετρο από τα διάφορα δείγματα, αντιστοιχίζονται σε ισοδύναμη ποσότητα γαλλικού οξέος (ποσότητα σε γαλλικό οξύ που έχει την ίδια τιμή απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 750 nm με το εκάστοτε δείγμα). Για τον σκοπό αυτό καταρτίστηκε μια καμπύλη αναφοράς με την απορρόφηση γνωστών συγκεντρώσεων γαλλικού οξέος στο μήκος κύματος των 750 nm, μετά την αντίδρασή τους με τα παραπάνω αντιδραστήρια. Οι συγκεντρώσεις γαλλικού οξέος που χρησιμοποιήθηκαν για τον σκοπό αυτό ήταν 0 - 0,2 - 0,4 - 0,6 - 0,8 - 1 - 1,2 - 1,4 - 1,6 mg/mL. Η καμπύλη αναφοράς που προκύπτει παρουσιάζεται στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 9).



Εικόνα 8: Μεταχρωματισμός του αντιδραστηρίου Folin – Ciocalteu σε διάφορες συγκεντρώσεις Γαλλικού οξέος



Εικόνα 9: Καμπύλη αναφοράς που αποδίδει την σχέση μεταξύ ποσότητας γαλλικού οξέος και απορρόφησης φωτός σε μήκος κύματος 750nm, μετά την αντίδραση με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu.

Η εξίσωση παλινδρόμησης,

$$Y = 0,832 * X \quad (R^2=0,99)$$

αποδίδει την μαθηματική σχέση μεταξύ των τιμών (ενδείξεων) της απορρόφησης του φασματοφωτόμετρου και των τιμών της ποσότητας του Γαλλικού Οξέος που αντιστοιχούν σε αυτές. Σε περιπτώσεις όπου τα δείγματα πριν την μέτρησή τους έχουν υποστεί αραίωση, οι τιμές που προκύπτουν από την ανωτέρω σχέση πολλαπλασιάζονται με τον βαθμό αραίωσης του δείγματος.

Τρόπος εργασίας για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολών στα δείγματα των εκχυλισμάτων των φύλλων της δάφνης

Σε πλαστική κυψελίδα ωφέλιμου όγκου 2 ml (ονομαστική 4ml), προσθέτουμε 20 μ L από το υπό εξέταση δείγμα (με βαθμού αραίωσης 1:5 τόσο στα νωπά όσο και στα ξηρά φύλλα). Συμπληρώνουμε με 1580 μ L απεσταγμένο νερό (σύνολο όγκου δείγματος και νερού: 1600 μ L). Ακολουθεί η προσθήκη 100 μ L από το αντιδραστήριο FC και αμέσως γίνεται ανάδευση. Μετά από παρέλευση 1 min προστίθενται 300 μ L

διαλύματος Na_2CO_3 20%, σφραγίζονται οι κυψελίδες με πλαστικό φιλμ (parafilm) και τοποθετούνται σε σκοτεινό μέρος για 2 h.

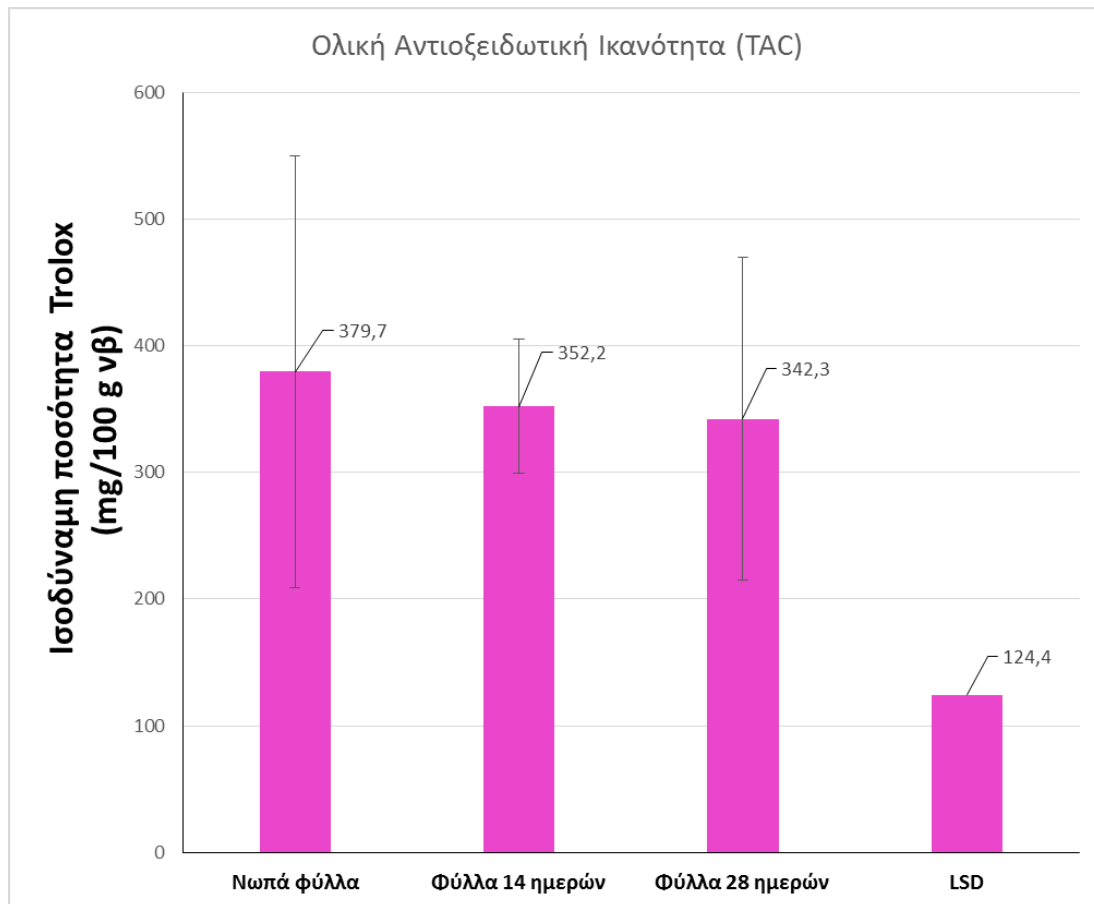
Μετά την παρέλευση του παραπάνω χρονικού διαστήματος προσδιορίζεται η απορρόφηση του εκάστοτε δείγματος σε φασματοφωτόμετρο στα 750 nm. Ο μηδενισμός του οργάνου γίνεται με τα ίδια αντιδραστήρια χωρίς την προσθήκη δείγματος (μόνο με προσθήκη αποσταγμένου νερού όγκου 1600 μL , 100 μL αντιδραστηρίου FC και 300 μL Na_2CO_3 20%).

Οι τιμές απορρόφησης που καταγράφονται στο φασματοφωτόμετρο από τα διάφορα δείγματα, αντιστοιχίζονται σε ισοδύναμη ποσότητα γαλλικού οξέος (ποσότητα σε γαλλικό οξύ που έχει την ίδια τιμή απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 750 nm με το εκάστοτε δείγμα) σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη (Εικόνα 9) και την αλγεβρική σχέση μεταξύ απορρόφησης του φασματοφωτόμετρου και ισοδύναμης ποσότητας γαλλικού οξέος, μετά από πολλαπλασιασμό της αρχική τιμής με τον βαθμό αραιώσης (1:5).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΟΛΙΚΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ (TAC)

Τα αποτελέσματα των προσδιορισμών της TAC των φύλλων της δάφνης σε νωπή κατάσταση και σε ξηρή κατάσταση μετά από 14 και 28, εκπεφρασμένα σε ισοδύναμα Trolox (σε $\text{mg}/100\text{g}$ νωπού βάρους), παρουσιάζονται στην εικόνα 10. Σημειώνεται ότι τα αποτελέσματα των ξηρών φύλλων αποδίδονται και αυτά σε νωπό βάρος με βάση την εκάστοτε αναλογία ξήρανσης.

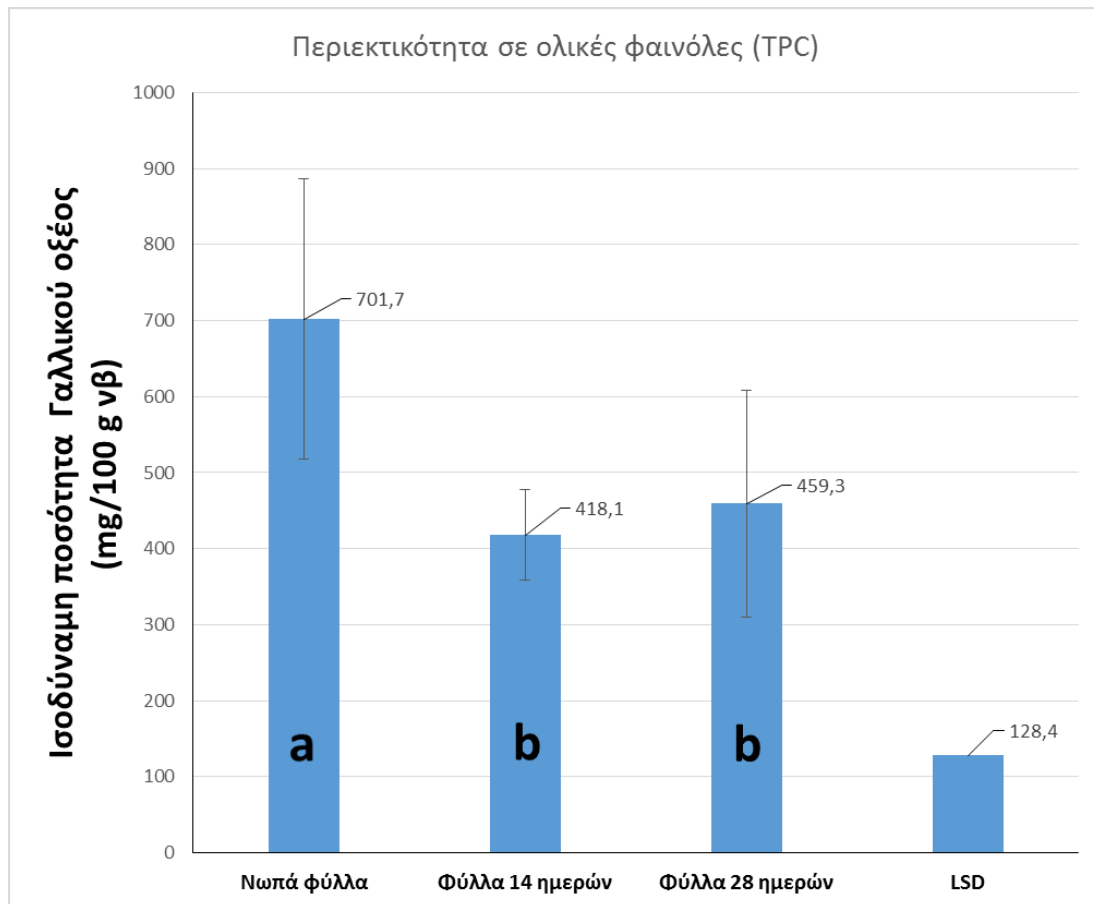


Εικόνα 10: Μέσοι και τυπικές αποκλίσεις της ολικής αντιοξειδωτική ικανότητας σε ισοδύναμα Trolox των φύλλων της δάφνης σε νωπή και ξηρή κατάσταση μετά από 14 και 28 ημέρες. (Οι τιμές των ξηρών φύλλων αποδόθηκαν σε νωπό βάρος με βάση τον συντελεστή ξήρανσής τους).

Η ανάλυση της διασποράς (παράρτημα) των παραπάνω τιμών έδειξε ότι μεταξύ των τριών μεταχειρίσεων δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($F=0,23$ για 2 και 26 ΒΕ, $P=0,8$). Το αποτέλεσμα αυτό φανερώνει ότι η ποσότητα των φύλλων της δάφνης σε ουσίες με αντιοξειδωτικές ιδιότητες δεν μεταβάλλεται σημαντικά με την ξήρανση των φύλλων.

ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΕ ΟΛΙΚΕΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ.

Στην παρακάτω εικόνα 11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των προσδιορισμών της περιεκτικότητας σε ολικές φαινόλες (TPC) των νωπών και ξηρών φύλλων της δάφνης, εκπεφρασμένα σε ισοδύναμα Γαλλικού οξέος (σε mg/100g νωπού βάρους). Και σε αυτή την περίπτωση τα αποτελέσματα που αφορούν τα ξηρά φύλλα έχουν αποδοθεί επί νωπού βάρους με βάση την αναλογία ξήρανσης.



Εικόνα 11: Μέσες τιμές και τυπικές αποκλίσεις της περιεκτικότητας σε φαινολικά συστατικά των φύλλων της δάφνης σε νωπή και ξηρή κατάσταση μετά από 14 και 28 ημέρες. (Οι τιμές των ξηρών φύλλων αποδόθηκαν σε νωπό βάρος με βάση τον συντελεστή ξήρανσής τους). (Οι μέσοι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους σύμφωνα με την δοκιμασία Duncan για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$).

Αντίθετα με την περίπτωση της TAC, η ανάλυση της διασποράς των τιμών της περιεκτικότητας σε ολικές φαινόλες (παράρτημα), έδειξε ότι μεταξύ των τριών μεταχειρίσεων υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($F=11,8$ για 2 και 27 ΒΕ, $P<0,001$). Όπως φαίνεται και στο γράφημα της εικόνας 11, η περιεκτικότητα των φύλλων της δάφνης σε φαινολικές ουσίες παρουσιάζει σημαντική μείωση στα ξερά φύλλα (όταν αυτή ανάγεται στο αρχικό νωπό τους βάρος). Επίσης φαίνεται ότι μεταξύ των αποξηραμένων φύλλων ηλικίας 14 και 28 ημερών δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα προηγούμενα εκτεθέντα αποτελέσματα αναφορικά με την περιεκτικότητα των φύλλων της δάφνης σε φαινολικά συστατικά και σε ουσίες με αντιοξειδωτικές ιδιότητες φανερώνουν ότι η ξήρανση των φύλλων της δάφνης ενώ προκαλεί την ελάττωση της περιεκτικότητάς τους σε φαινολικές ουσίες, δεν έχει σημαντική επίδραση στην περιεκτικότητά τους σε αντιοξειδωτικά συστατικά στα εκχυλίσματα των φύλλων.

Η ελάττωση των φαινολικών ουσιών ήταν αναμενόμενο αποτέλεσμα, καθώς πολλές από αυτές είναι πτητικές ουσίες και οι οποίες φαίνεται ότι απομακρύνονται με την ξήρανση των φύλλων, με αποτέλεσμα την μείωση της περιεκτικότητας σε ολικές φαινόλες στα εκχυλίσματα των ξηρών φύλλων.

Από την άλλη μεριά η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα από τα εκχυλίσματα των φύλλων της δάφνης δεν παρουσίασε σημαντικές μεταβολές με την ξήρανσή τους. Φαίνεται ότι οι ουσίες με αντιοξειδωτική ικανότητα διατηρούνται σε πολύ μεγάλο βαθμό κατά την ξήρανση των φύλλων. Η παρατήρηση αυτή μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι πτητικές φαινολικές ουσίες που αποβάλλονται κατά την ξήρανση των φύλλων πρέπει να έχουν μικρή μόνο επίδραση στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των φύλλων της δάφνης.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας ανάλυσης της διασποράς της ολικής αντιοξειδωτική ικανότητας (TAC) των φύλλων της δάφνης, εκπεφρασμένης ως ισοδύναμης ποσότητας trolox, σε νωπή κατάσταση και ξηρή κατάσταση μετά από 14 και 28 ημέρες.

<i>Προέλευση διακύμανσης</i>	<i>Άθροισμα τετραγώνων</i>	<i>Βαθμοί ελευθερίας</i>	<i>Μέσο Τετράγωνο</i>	<i>F (πειράματος)</i>	<i>τιμή-P</i>	<i>κριτήριο F</i>
Επεμβάσεις (Ηλικία φύλλων)	7457,619	2	3728,81	0,226053	0,799227	3,369016
Υπόλοιπο	428878,3	26	16495,32			
Σύνολο	436335,9	28				

$$\bar{Y}.. = 358,2$$

$$CV_{\text{πειρ}} = 35,84 \%$$

$$LSD = 124,4$$

Πίνακας ανάλυσης της διασποράς της περιεκτικότητας σε ολικές φαινόλες, εκπεφρασμένης ως ισοδύναμης ποσότητας Γαλλικού οξέος (TPC) των φύλλων της δάφνης, εκπεφρασμένης ως ισοδύναμης ποσότητας Γαλλικού οξέος, σε νωπή κατάσταση και ξηρή κατάσταση μετά από 14 και 28 ημέρες.

<i>Προέλευση διακύμανσης</i>	<i>Άθροισμα τετραγώνων</i>	<i>Βαθμοί ελευθερίας</i>	<i>Μέσο Τετράγωνο</i>	<i>F (πειράματος)</i>	<i>τιμή-P</i>	<i>κριτήριο F</i>
Επεμβάσεις (Ηλικία φύλλων)	469702,9	2	234851,5	11,81182	<0,001	3,354131
Υπόλοιπο	536834,4	27	19882,76			
Σύνολο	1006537	29				

$$\bar{Y}.. = 526,37$$

$$CV_{\text{πειρ}} = 26,79 \%$$

$$LSD = 129,38$$

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία:

[Laurus nobilis - Wikipedia](#)

[Δάφνη Απόλλωνος - Laurus nobilis, Lauraceae \(gardenguide.gr\)](#)

[Δάφνη \(νύμφη\) - Βικιπαίδεια \(wikipedia.org\)](#)

[7 μυστικά για την καλλιέργεια της δάφνης | Τα Μυστικά του Κήπου \(mistikakipou.gr\)](#)

[Laurus nobilis - Wild Flowers Provence](#)

[Προσδιορισμός ολικών φαινολικών συστατικών και αντιοξειδωτικής δραστηριότητας διαφόρων ποικιλιών ελληνικού φασκόμηλου \(aegean.gr\)](#)

[DPPH - Wikipedia](#)

Alejo-Armijo A., Altarejos J., Salido S., (2017), Phytochemicals and Biological Activities of Laurel Tree (*Laurus nobilis*), *Natural Product Communications* Vol. 12 (5), 743-757

Anwar H., Hussain G., Mustafa I., (2018), Antioxidants from Natural Sources, Licensee IntechOpen, 4-28

Atta E., Mohamed N., Abdelgawad A., (2017), Antioxidants: an overview on the natural and synthetic types, *Eur. Chem. Bull.*, 6(8), 365-375

Aziz M., Diab A., Mohammed A., (2019), Antioxidant Categories and Mode of Action

Batool S., Khera R., Hanif M., Ayub M., (2020), Bay Leaf, *Medicinal Plants of South Asia*, 63–74

Bozan B., Karakaplan U., (2007), Antioxidants from Laurel (*Laurus Nobilis* L.) berries: influence of extraction procedure on yield and antioxidant activity of extracts, *Acta Alimentaria*, Vol. 36 (3), 321–328

Chrysargyris A., Mikallou M., Petropoulos S., Tzortzakis N., (2020), Profiling of Essential Oils Components and Polyphenols for Their Antioxidant Activity of Medicinal and Aromatic Plants Grown in Different Environmental Conditions, *Agronomy*, 10, 727, 1-28

Lü J.M., Lin P., Yao Q., Chen C., (2010), Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(4), 840–860

Mamta, Misra K., Dhillon G., Brar S., Verma M., (2014), Antioxidants, Springer Science+Business Media New York, 1-26

Politeo O., Jukic M., Milos M., (2006), Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils of Twelve Spice Plants, *Croat. Chem. Acta* 79 (4), 545-552

Salehi B., Martorell M., Arbiser J., Sureda A., Martins N., Maurya P., SharifiRad M., Kumar P., Sharifi-Rad J., (2018), Antioxidants: Positive or Negative Actors?, *Biomolecules*, 8, 124, 1-11

Słowianek M., Leszczyńska J., (2016), Antioxidant properties of selected culinary spices, *Herba Pol*, 62(1), 29-41

Taroq A., Kamari F., Aouam I., Atki Y., Lyoussi B., Abdellaoui A., (2018), *Asian J Pharm Clin Res*, Vol 11, Issue 12, 540-543

Mbah C., Orabueze I., Okorie N., (2019), Antioxidants Properties of Natural and Synthetic Chemical Compounds: Therapeutic Effects on Biological System, *Acta Scientific Pharmaceutical Sciences* 3.6, 28-42