



Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Αξιολόγηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας
σε εκχύλισμα φύλλων δάφνης και στο αιθέριο έλαιο
της δάφνης»**



Φοιτήτριες

Ουσταπασίδου Στυλιανή
Ζάκα Ευγενία

Επιβλέπων καθηγητής: Καριπίδης Χαράλαμπος

ΑΡΤΑ, 2021

Evaluation of total antioxidant capacity in laurel leaf extract and laurel essential oil

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Έχοντας ολοκληρώσει το πρόγραμμα των σπουδών μας στο τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, επιθυμούμε να εκφράσουμε τις ευχαριστίες μας στους ανθρώπους που συνέβαλαν σε όλη μας την εκπαιδευτική σταδιοδρομία. Πρωτίστως, θέλουμε να εκφράσουμε τις μεγάλες μας ευχαριστίες προς τους γονείς μας, για όλη τους τη στήριξη και τη βοήθεια που μας παρείχαν, τόσο σε ηθικό, όσο και σε οικονομικό επίπεδο. Ακολουθως, ευχαριστούμε θερμά όλο το εκπαιδευτικό προσωπικό της Σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας για τις γνώσεις που μας προσέφεραν, αλλά και για την άμεση ανταπόκριση τους σε οποιαδήποτε εκπαιδευτική μας δυσκολία. Τέλος, εκφράζουμε τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μας προς τον Επιβλέποντα Καθηγητή κ. Καριπίδη Χαράλαμπο, τόσο για την βοήθεια που μας προσέφερε στην επίτευξη της μελέτης αυτής, όσο και για τις γενικότερες γνώσεις που αποκομίσαμε κατά την διδασκαλία των μαθημάτων του.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η πτυχιακή εργασία που ακολουθεί έχει ως αντικείμενο την αξιολόγηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας σε εκχύλισμα φύλλων δάφνης και στο αιθέριο έλαιο της δάφνης. Στο πρώτο μέρος της εργασίας (θεωρητικό) γίνεται αναφορά στα βασικά χαρακτηριστικά της δάφνης, όπως η βοτανική ταξινόμηση της και οι ιδιότητες της. Παρουσιάζεται η αντιοξειδωτική ικανότητα των φύλλων της δάφνης και του αιθέριου ελαίου της. Ακολουθεί μία παρουσίαση των χαρακτηριστικών γνωρισμάτων της μεθόδου DPPH, η οποία χρησιμοποιήθηκε στο πειραματικό μέρος της εργασίας. Στο δεύτερο μέρος περιγράφεται η πειραματική διαδικασία που έγινε στις εγκαταστάσεις του τμήματος Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων στους Κωστακιούς Άρτας. Η πειραματική διαδικασία αφορά τον προσδιορισμό της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των φύλλων της δάφνης και του αιθέριου ελαίου της. Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι, τα φύλλα της δάφνης περιέχουν σε νωπή κατάσταση μεγάλες ποσότητες αντιοξειδωτικών ουσιών. Αντίθετα, το αιθέριο έλαιο της δάφνης περιέχει συγκριτικά λιγότερες αντιοξειδωτικές ουσίες από άλλα αρωματικά φυτά.

ABSTRACT

The dissertation that follows has as its object the evaluation of the total antioxidant capacity in laurel leaf extract and laurel essential oil. In the first part of the work (theoretical) reference is made to the basic characteristics of laurel, such as its botanical classification and its properties. The antioxidant capacity of laurel leaves and its essential oil is presented. The following is a presentation of the features of the DPPH method used in the experimental part of the work. The second part describes the experimental process that took place at the facilities of the Department of Agriculture of the University of Ioannina in Kostaki, Arta. The experimental procedure concerns the determination of the total antioxidant capacity of the laurel leaves and its essential oil. The results showed that the bay leaves contain large amounts of antioxidants in the fresh state. In contrast, laurel essential oil contains comparatively fewer antioxidants than other aromatic plants.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

| | |
|--|----|
| ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ | 3 |
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ | 4 |
| ABSTRACT..... | 5 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ | 7 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΙΝΑΚΩΝ..... | 8 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ..... | 9 |
| ΠΙΝΑΚΑΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ | 10 |
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ..... | 11 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΑΦΝΗ | 13 |
| 1.1 Προέλευση της δάφνης..... | 13 |
| 1.2 Βοτανικά χαρακτηριστικά | 16 |
| 1.3 Ιδιότητες της δάφνης..... | 19 |
| 1.4 Δαφνέλαιο | 22 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΤΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΚΑΙ Η ΥΠΑΡΞΗ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΔΑΦΝΗ .. | 24 |
| 2.1 Γενικά χαρακτηριστικά των αντιοξειδωτικών | 24 |
| 2.2 Αντιοξειδωτικά στη δάφνη | 30 |
| 2.3 Δημιουργία ελεύθερων ριζών | 33 |
| 2.4 Δράση των αντιοξειδωτικών..... | 35 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ ΚΑΙ Η ΥΠΑΡΞΗ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΔΑΦΝΗ | 40 |
| 3.1 Αιθέρια έλαια: ιστορικά στοιχεία, σύνθεση, βιοσύνθεση..... | 40 |
| 3.2 Αιθέρια έλαια: Θεραπευτικές και φυσικές χρήσεις | 45 |
| 3.3 Αιθέρια έλαια δάφνης | 47 |
| 3.4 Παραλαβή αιθέριων ελαίων..... | 49 |
| 3.4.1 Είδη απόσταξης..... | 49 |
| 3.4.2 Άλλοι τρόποι παραλαβής..... | 51 |
| 3.5 Αποθήκευση και προστασία αιθέριων ελαίων..... | 52 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΘΟΔΟΣ DPPH | 53 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 56 |
| 5.1 Υλικά και μέθοδοι..... | 56 |
| 5.2 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του μεθανολικού εκχυλίσματος των νωπών φύλλων | 56 |
| 5.3 Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του αιθέριου ελαίου της δάφνης με τη μέθοδο DPPH | 61 |
| 5.3.1 Απόσταξη και παραλαβή του αιθέριου ελαίου (δαφνέλαιου) από τα φύλλα της δάφνης..... | 61 |
| 5.3.1 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) στο αιθέριο έλαιο .. | 64 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ | 69 |
| 6.1 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) των φύλλων της δάφνης | 69 |
| 6.2 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) του αιθέριου ελαίου της δάφνης..... | 69 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 72 |

ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

| | |
|--|--|
| Εικόνα 1: Θαμνώδης δέντρα δάφνης..... | 13 |
| Εικόνα 2: Η χρήση της δάφνης στην αρχαιότητα..... | 15 |
| Εικόνα 3: Φύλλο της δάφνης..... | 17 |
| Εικόνα 4: Τα άνθη της δάφνης..... | 17 |
| Εικόνα 5: <i>Laugus nobilis</i> L..... | 18 |
| Εικόνα 6: Είδη τροφίμων που περιέχουν αντιοξειδωτικά..... | 25 |
| Εικόνα 7: Παρουσίαση της επίπτωσης της οξείδωσης στο μήλο και στο κύτταρο του ανθρώπινου οργανισμού..... | 37 |
| Εικόνα 8: Σύνοψη των τύπων και πηγών ROS και σημείο δράσης των αντιοξειδωτικών..... | 38 |
| Εικόνα 9: Άμεσες αντιδράσεις της βιταμίνης E (TOH) με OH (A) και βιταμίνης C (AscH ⁻) με ROO (B) και αναγέννηση της βιταμίνης E από τη βιταμίνη C..... | 38 |
| Εικόνα 10: Το DPPH..... | 53 |
| Εικόνα 11: Η αναγωγή του DPPH σε DPPH:H..... | 54 |
| Εικόνα 12: Πλαστική κυψελίδα πριν την τοποθέτησή της στο φασματοφωτόμετρο UV..... | 60 |
| Εικόνα 13: Ζύγισμα της Δάφνης..... | 61 |
| Εικόνα 14: Τοποθέτηση της Δάφνης σε γυάλινα δοχεία..... | 62 |
| Εικόνα 15:..... | 63 |
| Εικόνα 16:..... | 63 |
| Εικόνα 17: Σωληνάκι αποσταγμένης δάφνης..... | Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης. |
| Εικόνα 18: Αποστακτική μηχανή..... | 60 |
| Εικόνα 19: Υδροβολείς..... | Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης. |
| Εικόνα 20: Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 5 mL κατά την διαδικασία αντίδρασης των αντιοξειδωτικών ουσιών του αιθέριου ελαίου της δάφνης με το DPPH..... | 64 |
| Εικόνα 21: Φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους..... | 65 |

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

| | |
|---|----|
| Πίνακας 1: Θρεπτική αξία της δάφνης | 21 |
| Πίνακας 2: Κατηγορίες Αντιοξειδωτικών | 28 |
| Πίνακας 3: Δράσεις Ελεύθερων ριζών | 35 |

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

| | |
|---|----|
| Σχήμα 1: Δομές ορισμένων τερπενίων | 43 |
| Σχήμα 2: Βιοσύνθεση μονοτερπενίων και σεσκιτερπενίων..... | 44 |

ΠΙΝΑΚΑΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

| | |
|---|----|
| Γράφημα 2: Σχέση μεταξύ ποσότητας ασκορβικού οξέος και μείωσης του ποσοστού απορρόφησης του διαλύματος των 60 μMol του DPPH | 59 |
| Γράφημα 3: Σχέση μεταξύ των ποσοστών της μείωσης της απορρόφησης του διαλύματος 130 μMol του DPPH σε μήκος κύματος 515 nm και της συγκέντρωσης (mgL^{-1}) του Γαλλικού οξέος σε καθαρή μεθανόλη | 67 |
| Γράφημα 4: Χαρακτηριστική καμπύλη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (μεταβολής του ποσοστού απορρόφησης του διαλύματος του DPPH), για το δείγμα αιθέριου ελαίου από τα φύλλα της δάφνης..... | 69 |

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στα πλαίσια της διερεύνησης του παρόντος θέματος, διαπιστώθηκε ότι η δάφνη ανήκει στα αρωματικά φυτά, τα οποία άρχισαν να χρησιμοποιούνται από το κοινό πολύ παλιά, τόσο στο φαγητό, όσο και στην αντιμετώπιση ποικίλων ασθενειών (Steflitsch and Steflitsch, 2008). Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι, τα αρωματικά φυτά φαίνεται να λαμβάνονται υπόψη στις μεσογειακές χώρες και χαρακτηρίζονται ως τα κύρια στοιχεία που συνθέτουν τη χλωρίδα του φυσικού περιβάλλοντος (Carruba et al., 2002). Όπως έχει καταγραφεί παραπάνω, τα αρωματικά φυτά χρησιμοποιήθηκαν σε πρώτη φάση υπό τη μορφή αφεψημάτων, προκειμένου να θεραπευτεί κανείς από μία πάθηση. Φτάνοντας στον 21^ο αιώνα, διακρίνεται πως τα αρωματικά φυτά συντελούν κατά βάση ως προς την δημιουργία διαφόρων προϊόντων, όπως τροφίμων, φαρμάκων, ποτών, κ.λπ. (Κούκ, 2003).

Στην περίπτωση της Ελλάδας, διακρίνεται πως τα φυτά αυτά αναπτύσσονται σε πολύ μεγάλες ποσότητες σε διάφορες περιοχές, σε βιότοπους και σε μία αραιοκατοικημένες περιοχές. Αναλυτικότερα, τα αρωματικά φυτά που αναπτύσσονται στην ελληνική γη, είναι εμπλουτισμένα με αιθέρια έλαια, γεγονός που τα κάνει να ξεχωρίζουν από τα ενδημικά είδη. Σύμφωνα με διάφορους υπολογισμούς που έχουν γίνει, εκτιμάται ότι πάνω από 2000 είδη αρωματικών φυτών περιλαμβάνουν αιθέρια έλαια (Κοκκίνη, 2008-2009). Γενικότερα, τα αρωματικά φυτά είναι ιδιαίτερα ξεχωριστά, καθώς αναδύουν μία ωραία και συγκεκριμένη μυρωδιά, με βάση την οποία διακρίνονται σε διάφορες κατηγορίες (Steflitsch and Steflitsch, 2008).

Με βάση λοιπόν τα παραπάνω, η εργασία που ακολουθεί, ασχολείται με ένα συγκεκριμένο αρωματικό φυτό, το οποίο είναι η δάφνη. Συγκεκριμένα, πρόκειται για μία μελέτη που περιστρέφεται γύρω από την διερεύνηση των αντιοξειδωτικών και των αιθέριων ελαίων της δάφνης. Το ερευνητικό πεδίο του θέματος περιλαμβάνει την παρουσίαση των χαρακτηριστικών της δάφνης, των αντιοξειδωτικών και των αιθέριων ελαίων. Επιπλέον, η μελέτη επικεντρώνεται στην πραγματοποίηση ενός πειράματος, για τον προσδιορισμό των αντιοξειδωτικών και των αιθέριων ελαίων συγκεκριμένης ποσότητας της δάφνης.

Όσον αφορά την επιλογή του παρόντος θέματος έγκειται στο γεγονός πως κρίθηκε σημαντικό να εκτιμηθεί μέσω ενός πειράματος ο βαθμός ύπαρξης των

αντιοξειδωτικών και των αιθέριων ελαίων στη δάφνη. Η επιλογή του εν λόγω αρωματικού φυτού βασίζεται στο γεγονός ότι αποτελεί ένα φυτό που κέντρισε την προσοχή μας, τόσο από την πλευρά την οσμής και της γεύσης που προσδίδει, όσο και της αντιοξειδωτικής της δράσης και της συμβολής της στην υγεία. Αποτελεί ένα ιδιαίτερα ενδιαφέρον θέμα, καθώς προσδιορίζεται το επίπεδο των αντιοξειδωτικών και των αιθέριων ελαίων της δάφνης, μέσω ενός πειράματος που έχει διεξαχθεί στον εργαστηριακό χώρο της σχολής. Πρόκειται για μία έρευνα που μπορεί να κεντρίσει το ενδιαφέρον του αναγνώστη, καθώς δεν στηρίζεται μόνο σε δευτερογενή στοιχεία (βιβλιογραφική ανασκόπηση), αλλά και σε πρωτογενή (πειραματικό μέρος).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΑΦΝΗ

1.1 Προέλευση της δάφνης

Η δάφνη αποτελεί ένα αρωματικό φυτό που χρησιμοποιείται συχνά ως μπαχαρικό στη μεσογειακή κουζίνα και ως παραδοσιακό φάρμακο για τη θεραπεία διαφόρων μολυσματικών ασθενειών (Ozogul et al., 2014). Είναι ένας αειθαλής αρωματικός θάμνος ή μικρό δέντρο που εντάσσεται στα αυτόχθονα είδη φυτών της Μεσογείου (Konstantinidou et al., 2008). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, υποστηρίζεται πως η προέλευση της δάφνης ορίζεται κατά πάσα πιθανότητα η Νότια Ασία, η οποία στη συνέχεια εξαπλώθηκε στη Μικρά Ασία και σε όλο τον κόσμο (Batoool et al., 2020).



Εικόνα 1: Θαμνώδης δέντρα δάφνης
Πηγή: Erat et al., 2016

Το φυτό δάφνη (*Laurus nobilis*) είναι εγγενές στην περιοχή της νότιας Ευρώπης, της Μέσης Ανατολής, της Δυτικής Ασίας και της Βόρειας Αφρικής. Τα δάση δάφνης φαίνεται να αναπτύσσονται στις ανωτέρω περιοχές και αποτελούν ένα ευρέως διαδεδομένο αρωματικό φυτό. Σε φυσικούς βιότοπους, το δέντρο δάφνης ευδοκιμεί σε φαράγγια, χαράδρες, βουνοπλαγιές και αλσύλλια και μπορεί να βρεθεί να αναπτύσσεται κοντά σε παλιά πέτρινα τείχη¹.

¹ https://leafnetworkkaz.org/resources/PLANT%20PROFILES/Bay_laurel_profile.pdf

Το δέντρο της δάφνης από την αρχαιότητα ήταν το μέσο έκφρασης της δόξας. Μέσα από την ελληνική μυθολογία παρατηρείται πως, ο Απόλλωνας, ως Θεός της προφητείας, της τέχνης, της μουσικής, ήταν εκείνος που υιοθέτησε τη δάφνη ως σύμβολο. Συγκεκριμένα, η νύμφη Δάφνη, η κόρη της Γης και του Πηνειού, μεταμορφώθηκε σε δέντρο, προκειμένου να αποφύγει τον Θεό Απόλλωνα, ο οποίος ήθελε να την αγκαλιάσει. Εκείνος όμως, για να εκπληρώσει την επιθυμία του, έκοψε ένα κλαδί και το φόρεσε στο κεφάλι του². Έτσι, όταν κάποιος λάμβανε τη δάφνη του Απόλλωνα, αποκτούσε τεράστια αναγνώριση στην τέχνη, στον αθλητισμό και σε οποιοδήποτε άλλο γνωστικό τομέα (Alejo-Armijo et al., 2017). Επιπλέον, η δάφνη κατά την αρχαιότητα αποτελούσε το σύμβολο ειρήνης, της ευγένειας και της νίκης³.

Κατά τη διάρκεια του Μεσαίωνα, τα κλαδιά της δάφνης, με βάση την παράδοση, τα χρησιμοποιούσαν για να δημιουργήσουν γιρλάντες και στεφάνια, με σκοπό να τιμήσουν ένα επίτευγμα ή νίκη. Στα πλαίσια της «βράβευσης» ενός ποιητή για παράδειγμα, διεξάγονταν μία τελετή, κατά την οποία γινόταν η στέψη με τα στεφάνια της δάφνης. Έτσι, τα στεφάνια δαφνών κοσμούσαν αρχαίους Έλληνες και Ρωμαίους στρατηγούς και αθλητές σε παρελάσεις νίκης. Στην αρχαία Ρώμη, το στεφάνι δάφνης συνήθιζαν να φορούν αυτοκράτορες και ποιητές. Οι Ρωμαίοι πίστευαν ότι, όταν στεκόταν κάποιος κάτω από ένα δέντρο δάφνης θα προστατευόταν από μόλυνση από πανούκλα και από τους κεραυνούς. Τα στεφάνια δάφνης τα φορούσαν ακόμη και οι θεραπευτές κατά τη διάρκεια τελετών θεραπείας διαφόρων ασθενειών, προκειμένου να αυξηθεί η θετική θεραπευτική ενέργεια και να προστατευτούν από την αρνητική ενέργεια που μπορεί να υπήρχε στο χώρο που διέμενε ο ασθενής. Το φύλλο δάφνης, συνήθιζαν να το καίνε μέσα στο δωμάτιο που βρισκόταν ο ασθενής, αφού περάσει η ασθένεια, για να τον καθαρίσει και να απομακρύνει εντελώς την ασθένεια. Για το λόγο αυτό, οι Ρωμαίοι ονόμασαν τη δάφνη ως το φυτό των «καλών αγγέλων». Επίσης, η δάφνη, ως αρωματικό φυτό, ξεχώριζε λόγω της υπόστασης της και της οσμής που προσέδιδε, τόσο κατά την ελληνική, όσο και τη ρωμαϊκή εποχή (Sanchita and Sharma, 2017).

2

[http://www.moa.gov.cy/moa/fd/fd.nsf/7DBA831578C5A6DCC22581070041826F/\\$file/ATTXUKBA.pdf](http://www.moa.gov.cy/moa/fd/fd.nsf/7DBA831578C5A6DCC22581070041826F/$file/ATTXUKBA.pdf)

³ https://leafnetworkaz.org/resources/PLANT%20PROFILES/Bay_laurel_profile.pdf



Εικόνα 2: Η χρήση της δάφνης στην αρχαιότητα

Πηγή:

<https://prwtokoudouni.weebly.com/uploads/2/1/5/3/21535154/%CE%B4%CE%B1%CF%86%CE%BD%CE%B9.pdf>

Πρόκειται κυρίως για ένα δέντρο με εντομοφιλική επικονίαση, του οποίου οι σπόροι διασκορπίζονται από τα πουλιά. Με βάση τη μακρόχρονη παρουσία του, το δέντρο της δάφνης αντιπροσωπεύει ένα εξαιρετικό μοντέλο για την εξερεύνηση της εξελικτικής ιστορίας των αρχαίων γενεών της Μεσογείου. Πράγματι, αρκετοί συγγραφείς έχουν τονίσει την ανάγκη για μοριακές μελέτες, προκειμένου να εξακριβωθεί η βιογεωγραφική προέλευση της δάφνης. Από τα τέσσερα γένη των Λαυρακιών που μπορεί κανείς να εντοπίσει σήμερα, το *Laurus* θεωρείται το καταλληλότερο και είναι το μόνο που εξακολουθεί να παράγεται στη Μεσογειακή λεκάνη (Rodríguez-Sánchez et al., 2009).

Σήμερα, το δέντρο της δάφνης είναι επιπλέον ένα οικονομικά σημαντικό φυτό, το οποίο χρησιμοποιείται σε διάφορες δραστηριότητες (Alejo-Armijo et al., 2017). Καλλιεργείται εμπορικά για τα φύλλα του στην Τουρκία, την Αλγερία, το Μαρόκο, την Πορτογαλία, την Ισπανία, την Ιταλία, τη Γαλλία και το Μεξικό. Οι επιλεγμένες ποικιλίες περιλαμβάνουν το *Aurea*, που διατηρεί κιτρινωπό νεαρό φύλλωμα, το *Angustifolia* ή Willow-leaf bay, με στενά φύλλα σε σχήμα λόγχης και το *Undulata* με κυματιστά περιθώρια φύλλων⁴.

Τα δέντρα δάφνης έχουν εξαπλωθεί σε χώρες της ΝΑ Ασίας της τροπικής Αμερικής. Κατά βάση, η δάφνη σήμερα παράγεται σε ορεινά βροχερά περιβάλλοντα.

⁴ https://leafnetworkaz.org/resources/PLANT%20PROFILES/Bay_laurel_profile.pdf

Επιπλέον, διακρίνεται ότι τα γένη *Lindera*, *Persea*, *Sassafras* μπορούν να αναπτυχθούν σε εύκρατες περιοχές, ενώ πολλά ακόμη γένη (*Apollonias*, *Laurus*, *Ocotea* και *Persea*), φαίνεται να αναπτύσσονται στα Κανάρια νησιά και στα νησιά Μαδέρα. Όσον αφορά τις παραμεσόγειες περιοχές αναπτύσσεται ως θάμνος ή ως δέντρο αυτοφυές εντός των σκληρόφυλλων αείφυλλων φυτοκοινωνιών (*maquis*). Επίσης πρόκειται για ένα είδος που έχει δημιουργήσει δάση σε διάφορες περιοχές της Ελλάδας, κυρίως στην περιοχή του Αγίου Όρους⁵.

Η δάφνη καλλιεργείται κάτω από διαφορετικές οικολογικές και κλιματολογικές συνθήκες. Αυτό που συντελεί ως προς την άμεση και πλούσια ανάπτυξη της δάφνης είναι το υγρό, αμμώδες έδαφος, καθώς έχει μεγάλη ποσότητα νερού ή τις κατάλληλες υγρές ατμοσφαιρικές συνθήκες. Όταν ο καιρός είναι καλός, τα φύλλα μπορεί να καούν. Ως εκ τούτου, προτιμάται η μερική σκιά, καλά στραγγιζόμενο αμμώδες έδαφος που έχει κάποια υγρασία και εύρος pH 4,5-8,2. Αναπτύσσεται ευρέως στις ακόλουθες χώρες: Ινδία, Πακιστάν, άλλες χώρες της Νοτιοανατολικής Ασίας, ορισμένα νησιά του Ειρηνικού, Αυστραλία, γύρω από τις ακτές της Μεσογείου και της Νότιας Ευρώπης, Ελλάδα, Πορτογαλία, Γαλλία, Τουρκία, Ισπανία, Αλγερία, Μαρόκο, Βέλγιο, Κεντρική Αμερική, Μεξικό, Νότιες Ηνωμένες Πολιτείες και τα Κανάρια Νησιά (Batool et al., 2020).

1.2 Βοτανικά χαρακτηριστικά

Βάσει την βοτανική ταξινόμηση της, η δάφνη ανήκει στο βασίλειο *Plantae*, με διαίρεση *Magnolids*, στη κατηγορία *Magnoliopsida*, στην οικογένεια *Lauraceae*, στο γένος *Laurus* και στο είδος *Laurus nobilis* (Sanchita and Sharma, 2017).

Το δέντρο δάφνης ως θάμνος ή δέντρο μπορεί να έχει συνολικό ύψος 2-20 m, ενώ διατηρεί λεπτά, λαμπερά κλαδιά και στενά επιμήκη-λογχοειδή και δερμάτινα φύλλα (Alejo-Armijo et al., 2017). Πιο συγκεκριμένα, τα φύλλα του είναι μυτερά, ελλειπτικά, παχιά και δερματώδη σε υφή, λεία κατά μήκος των περιθωρίων και έχουν φωτεινό πράσινο και γυαλιστερό χρώμα όταν είναι νεαρά και πιο σκούρο πράσινο όταν ωριμάζουν⁶. Τα φύλλα έχουν ένα ισχυρό, αρωματικό, βολικό, αποχρωματισμένο και γλυκό άρωμα, το οποίο απελευθερώνουν όταν θρυμματιστούν (Hend et al., 2018).

⁵

<https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/BIO348/%CE%A4%CE%AC%CE%BE%CE%B7%20Laurales%20LAURACEAE.pdf>

⁶ https://leafnetworkkaz.org/resources/PLANT%20PROFILES/Bay_laurel_profile.pdf



Εικόνα 3: Φύλλο της δάφνης
Πηγή: Erat et al., 2016

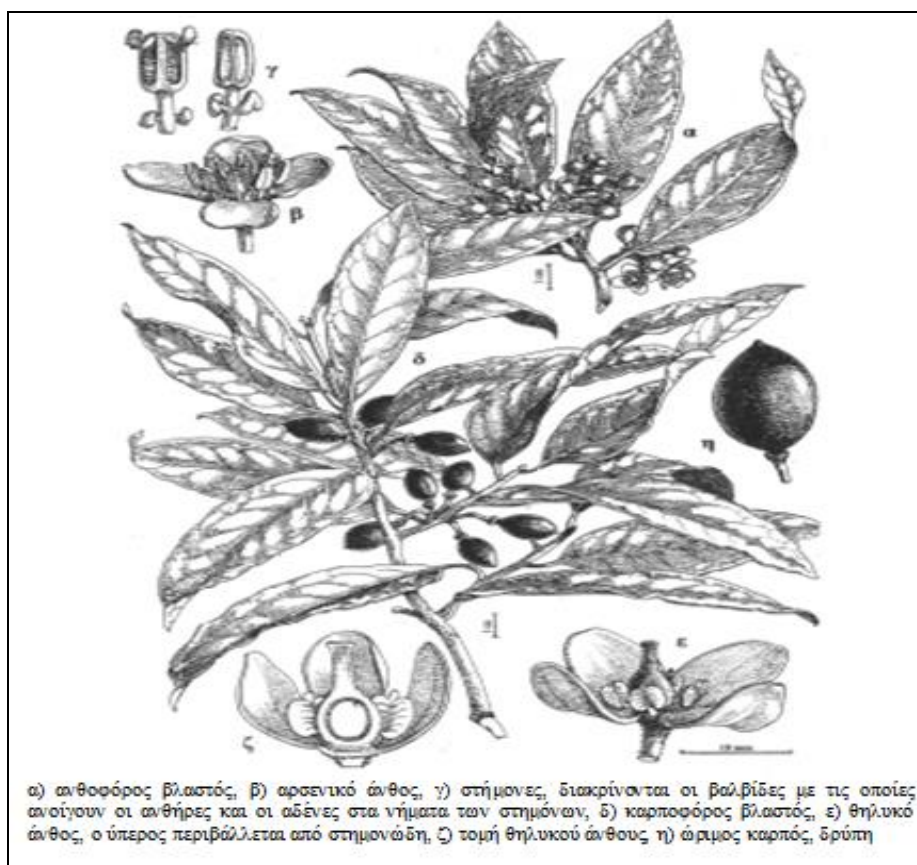
Τα άνθη της δάφνης φέρονται σε ξεχωριστά φυτά (δίοικο είδος). Έχουν ανοιχτό κίτρινο-πράσινο χρώμα και δημιουργούν ζευγάρια⁷. Επίσης, η διάμετρος τους είναι περίπου 1 cm. Τα αρσενικά άνθη έχουν 8-12 στήμονες με δύο αδένες στη βάση, ενώ τα θηλυκά άνθη έχουν 2-4 στήμονες, ωριμάζουν το φθινόπωρο και διατηρούν ένα γυαλιστερό μαύρο μούρο, τύπου δρύπης με έναν σπόρο. Το γένος *Laurus* περιλαμβάνει μόνο δύο είδη, όπως το *Laurus nobilis* L. και το *Laurus azorica* (Seub.) (Alejo-Armijo et al., 2017).



Εικόνα 4: Τα άνθη της δάφνης
Πηγή: Παπάζογλου, 2017

Τα άνθη της δάφνης είναι μικρά σε μέγεθος και διατηρούν ένα «περιάνθιο τετράλοβο, λευκωπό ή υποκίτρινο» χρώμα. Η πλειοψηφία των ανθέρων είναι εσωστρεφής, ενώ ανοίγει μέσω δύο βαλβίδων⁸. Τα μεμονωμένα άνθη είναι μικρά με λευκά πέταλα και αρσενικά με κίτρινες στήμονες που προσδίδουν ένα συνολικό κρεμώδες λευκό έως κίτρινο-λευκό χρώμα (Sanchita and Sharma, 2017).

Όσον αφορά τον καρπό τους, χαρακτηρίζεται ως δρύπη που φέρει «σαρκώδες, λεπτό περικάρπιο και μεγάλο σπέρμα». Το χρώμα του καρπού κατά την περίοδο της ωρίμανσης είναι συνήθως κυανόμαυρο ή μαύρο και έχει ωοειδές σχήμα, ενώ το μέγεθος του αντιστοιχεί με εκείνο που φέρει μία μικρή ελιά. Η περίοδος κατά την οποία αναπτύσσονται τα άνθη της δάφνης είναι ο Μάρτιος - Απρίλιος⁹.



Εικόνα 5: *Laurus nobilis* L.

Πηγή:

<https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/BIO348/%CE%A4%CE%AC%CE%BE%CE%B7%20Laurales%20LAURACEAE.pdf>

8

<https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/BIO348/%CE%A4%CE%AC%CE%BE%CE%B7%20Laurales%20LAURACEAE.pdf>

1.3 Ιδιότητες της δάφνης

Η δάφνη χρησιμοποιείται εδώ και πάνω από 1000 χρόνια. Αποτελεί βασικό συστατικό στο μαγείρεμα και σε πολλές παραδοσιακές πρακτικές (Batool et al., 2020). Είναι βασικό να σημειωθεί ότι, η δάφνη ως φυσικό προϊόν, χάρη στις σημαντικές ιδιότητες που διατηρεί, βοηθά ως προς την αντιμετώπιση διαφόρων παθήσεων. Ειδικότερα, τα φύλλα δάφνης χρησιμοποιούνται ως φαρμακευτικά βότανα για τη θεραπεία των ρευματισμών, της δυσπεψίας κ.λπ.. Πιο πρόσφατα, έχουν χρησιμοποιηθεί στη θεραπεία του σακχαρώδη διαβήτη και των ημικρανιών. Επιπλέον, πρόκειται για εκείνα τα φυτά που έχουν αντιεπιληπτικές και αντισπασμωδικές ιδιότητες (Hend et al., 2018).

Για το λόγο αυτό, τα φύλλα της δάφνης έχουν χρησιμοποιηθεί, στην ιατρική, για τη θεραπεία της επιληψίας, της νευραλγίας και του παρκινσονισμού. Έχει αναφερθεί επίσης ότι διαθέτουν αρωματικές, διεγερτικές και ναρκωτικές ιδιότητες. Αρκετές μελέτες ανέφεραν τις αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες του αιθέριου ελαίου / ή εκχυλισμάτων δαφνών. Τα φύλλα του *L. nobilis* χρησιμοποιούνται παραδοσιακά από το στόμα για τη θεραπεία των συμπτωμάτων των γαστρεντερικών προβλημάτων, όπως επιγαστρικό φούσκωμα. Έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στις βιομηχανίες αρωμάτων και σαπουνιών, αλλά και στα πλαίσια της ανακούφισης των ασθενών από τις αιμορροΐδες και τους ρευματικούς πόνους. Έχουν επίσης διουρητικές και αντιμυκητιασικές ιδιότητες (Caruto et al., 2017).

Είναι γνωστή για τις πεπτικές της ιδιότητες. Συγκεκριμένα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως τσάι και να καταναλωθεί μετά από κάποιο γεύμα (5 φύλλα για 250 ml νερό) ως πεπτικό βοήθημα, αλλά και για την καταπολέμηση του φουσκώματος και του πρηξίματος, ως αποχρεμπτικό σε περίπτωση βήχα και λοιμώξεων του θώρακα, ως αντισηπτικό, αντιφλεγμονώδης και αναλγητικό κατά των ρευματισμών και της αρθρίτιδας. Ακόμη, τα φύλλα της δάφνης έχουν την ιδιότητα να απωθούν τον σκώρο από τις ντουλάπες¹⁰.

Η δάφνη προσδίδει επίσης ένα έλαιο που λαμβάνεται με απόσταξη ατμού των φύλλων της και της ελαιορητίνης. Αυτό το έλαιο της δάφνης περιέχει κάποια κύρια συστατικά, όπως 1,8-κινεόλη, πινένιο, σαβενένιο, 1-λιναλοόλη, ευγενόλη, οξική ευγενόλη, μεθυλεγενόλη, οξική 1-τερπινόλη, φελλανδρένη, άλλους εστέρες και τερπενοειδή. Αυτό το λάδι αναγνωρίζεται γενικά ως ασφαλές για κατανάλωση από

¹⁰ <https://www.artimondo.co.uk/magazine/bay-laurel-history-uses-and-properties/>,

τον άνθρωπο ως καρύκευμα, φυσικό άρωμα και εκχύλισμα και χρησιμοποιείται από τη βιομηχανία καλλυντικών για κρέμες, αρώματα και σαπούνια (Sanchita and Sharma, 2017).

Ακόμη, περιέχει τανίνες, φλαβονες, ευγενόλη, λιναλοόλη, μεθυλ χαβικόλη και ανθοκυανίνες. Η έκταση καθενός από αυτά τα χημικά συστατικά ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο των ειδών ή των ποικιλιών καθώς και τις συνθήκες καλλιέργειας όπως ο τύπος του εδάφους, ο καιρός, η άρδευση, το κλάδεμα και άλλες κηπευτικές πρακτικές. Το φύλλο δάφνης έχει πολλές βιολογικές ιδιότητες, καθώς συντελεί στην επούλωση πληγών και φέρει αντιοξειδωτική, αντιβακτηριακή, αντιακή, ανοσοδιεγερτική, αντιεπιληπτική, αντιχολινεργική, αναλγητική αντιμυκητιακή και αντιφλεγμονώδη δράση (Batool et al., 2020).

Επίσης, στα πλαίσια της διερεύνησης των συστατικών της δάφνης διακρίνεται ότι περιλαμβάνει τα εξής:

- **Πτητικά έλαια:** Το αιθέριο έλαιο δάφνης λαμβάνεται με απόσταξη ατμού των φύλλων της, δίνοντας ένα κίτρινο υγρό με αρωματική, πικάντικη οσμή.
- **Σταθερά έλαια:** Οι καρποί της δάφνης περιέχουν έως και 30% λίπος, το οποίο χρησιμοποιείται για τη παραγωγή των λιπαντικών προϊόντων.
- **Αλκαλοειδή:** Στα πλαίσια της εξέτασης της δάφνης διακρίνεται ότι περιλαμβάνει αλκαλοειδή, όπως νοραπορφίνες, αφόρφινες και βενζυλοτετραϋδροϊσοκινολίνη.
- **Σεσκιτερπένια:** Στις ρίζες της δάφνης εντοπίζονται σεσκιτερπένια όπως λαυρενοβιολίδη.
- **Άλλες ουσίες:** Η δάφνη περιλαμβάνει ακόμη νορισοπρενοειδή, τοκοφερόλες, φλαβονοειδή, προανθοκυανιδίνες και αντιοξειδωτικά (Alejo-Armijo et al., 2017).

Το φύλλο δάφνης έχει έντονη και πικρή γεύση. Η διαφορά στο άρωμα οφείλεται στην παρουσία αιθέριων ελαίων στα φύλλα και σε άλλα μέρη του φυτού. Επιπρόσθετα χημικά συστατικά της δάφνης είναι οι τανίνες, το κιτρικό οξύ, οι υδατάνθρακες, τα στεροειδή και τα τριτερπενοειδή. Κάθε ένα από τα χημικά συστατικά, που έχουν αναφερθεί παραπάνω, ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο των ειδών. Η τανίνη είναι μια υγρή γλυκοσίδη που προέρχεται από πολυπεπτίδιο και εστέρα πολυμερούς που μπορεί να υδρολυθεί με την έκκριση της χολής (3, 4, 5-τρινιδροκίδης βενζοϊκό οξύ) και της γλυκόζης. Η τανίνη ή το τανατικό οξύ, που

έχει απομονωθεί από κάποιο μέρος των φυτών είναι μια κρέμα σε σκόνη, αρωματική, με στυπτική γεύση. Χρησιμοποιείται ως στυπτικό για τη γαστρεντερική οδό ή το δέρμα και μπορεί να προκαλέσει καταβύθιση της πρωτεΐνης της κυτταρικής μεμβράνης (Batoool et al., 2020).

Στο σημείο αυτό, κρίθηκε σημαντικό να γίνει αναφορά ως προς τα σημαντικότερα συστατικά της δάφνης που προσδίδουν τεράστια θρεπτική αξία. Έτσι λοιπόν, παρακάτω παρουσιάζονται αυτά τα στοιχεία , μέσω ενός πίνακα, ανά 100 g δάφνης.

Πίνακας 1: Θρεπτική αξία της 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 |
| Βιταμίνες | |
| Φολικό οξύ | 180 mcg |
| Νικοτινικό οξύ | 2,005 mg |
| Πυριδοξίνη | 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 |

Πηγή: <https://www.nutrition-and-you.com/bay-leaf.html>

Σύμφωνα με το παραπάνω πίνακα, το φύλλο δάφνης φέρει ελάχιστη ποσότητα λιπών κι έχει χαμηλή θερμιδική τιμή. Είναι επίσης γνωστό ως μία από τις καλύτερες και κύριες πηγές λήψης βιταμίνης A και πολλών μετάλλων. Ειδικότερα, τα 100 g δάφνης παρέχουν 313 θερμίδες, 7,61 g πρωτεΐνης, 74,97 g υδατάνθρακες, ένα 8,36 g λίπος, 43 mg σιδήρου (Fe), 834 mg ασβεστίου (Ca), 6185 IU βιταμίνης A, 46,5 mg βιταμίνης C και 529 mg καλίου (K). Στη δάφνη, ενώσεις όπως η ευγενόλη (11% – 12%), η μεθυλ ευγενόλη (9% –12%) και η ελεμίνη (1% –12%) είναι σημαντικές για το πικάντικο άρωμα των φύλλων δάφνης και για τον καθορισμό της αποτελεσματικής ποιότητας των φύλλων της (Batool et al., 2020).

1.4 Δαφνέλαιο

Με τον όρο δαφνέλαιο χαρακτηρίζεται το έλαιο που έχει αντληθεί από τα ποικίλα φυτικά είδη της δάφνης. Ωστόσο, το δαφνέλαιο, είναι εκείνο το προϊόν που περιλαμβάνει τόσο αιθέριο έλαιο όσο και λιπαρά έλαια. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το δαφνέλαιο αφορά ένα συστατικό επιπρόσθετων μερών του φυτού της δάφνης. Υποστηρίζεται ότι στην Ελλάδα και συγκεκριμένα στο Άγιο Όρος επιτυγχάνεται η άντληση δαφνέλαιου με τη συμβολή του βρασμού των καρπών. Πρόκειται για ένα προϊόν που ξεχωρίζει, χάρη στην άρτια ποιότητα του. Όσον αφορά τους καρπούς της δάφνης, διατηρούν 25-30% λιπαρό έλαιο, το οποίο αντλείται με την συμβολή της έκθλιψης και 0,5-0,8% αιθέριο έλαιο. Στην περίπτωση του αιθέριου ελαίου, η άντληση γίνεται μέσω της απόσταξης των φύλλων είτε με ατμό είτε με υδροαπόσταξη είτε με εκχύλιση. Σχετικά με το επίπεδο απόδοσης της δάφνης σε αιθέριο έλαιο αντιστοιχεί στο 0,7% όταν χρησιμοποιούνται χλωρά φύλλα και 1,5-2% όταν χρησιμοποιούνται ξερά (Γκίζας, 2012).

Το δαφνέλαιο χαρακτηρίζεται ως ένα ιδιαίτερα σημαντικό αιθέριο έλαιο, καθώς ανακουφίζει από τους πόνους των αρθρώσεων και των ρευματικών. Έχει ευεργετική δράση στην αντιμετώπιση και στην ανακούφιση στομαχικών παθήσεων, ενώ ταυτόχρονα συντελεί ως προς την πεπτική λειτουργία του οργανισμού. Εξίσου σημαντικό θεωρείται το γεγονός ότι το δαφνέλαιο χρησιμοποιείται από ανθρώπους που αντιμετωπίζουν προβλήματα τριχόπτωσης, που επιθυμούν να δυναμώσουν τα μαλλιά τους, ενώ έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως φυτική βαφή μαλλιών (Ζουρνατζής, 2019).

Ακόμη, αποτελεί ένα φυσικό προϊόν, το οποίο χάρη στις διάφορες ιδιότητες του, μπορεί να προσφέρει τεράστια οφέλη τόσο στο δέρμα του προσώπου, όσο και του σώματος. Χαρακτηρίζεται ως ένα σπουδαίο «ενυδατικό, τονωτικό, αντισηπτικό, ηρεμιστικό και αντιβιοτικό» προϊόν. Ως προς αυτά τα γνωρίσματα του μεγάλο ρόλο διαδραματίζουν τα φύλλα και οι καρποί της δάφνης, τα οποία λαμβάνονται με σκοπό την παραγωγή του και φέρουν ιδιαίτερα αντισηπτικά, αντιφλεγμονώδη και καταπραϋντικά συστατικά. Για το λόγο αυτό το δαφνέλαιο άρχισε να χρησιμοποιείται κατά την περίοδο της αρχαιότητας, προκειμένου να ενισχύσει την ομορφιά των γυναικών. Σήμερα, το δαφνέλαιο χρησιμοποιείται ευρέως, κυρίως για την αντιμετώπιση διαφόρων δερματικών παθήσεων. Χάρη στην ύπαρξη του ελαϊκού οξέος, το δαφνέλαιο προσδίδει στο δέρμα μία απαλή και λαμπερή αισθητική. Χάρη στην αντισηπτική και αντιβιοτική ιδιότητα του, έχει ληφθεί υπόψη στα πλαίσια της πρόληψης ανάπτυξης βακτηρίων, μικροβίων και μυκήτων πάνω στο δέρμα. Αποτελεί ένα σημαντικό προϊόν, καθώς φέρει αντιοξειδωτική ιδιότητα, μέσω της οποίας παρεμποδίζει και σταματά εντελώς την δράση των μικροοργανισμών που προσβάλλουν το δέρμα και τα μαλλιά (Νικολοπούλου, 2018).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΤΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΚΑΙ Η ΥΠΑΡΞΗ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΔΑΦΝΗ

2.1 Γενικά χαρακτηριστικά των αντιοξειδωτικών

Τα αντιοξειδωτικά είναι μια κατηγορία χημικών ουσιών που βρίσκονται φυσικά στα τρόφιμα και μπορούν να αποτρέψουν ή να μειώσουν το οξειδωτικό στρες του φυσιολογικού συστήματος (Mamta et al., 2014). Τα αντιοξειδωτικά περνούν αρκετές διαδικασίες πριν μπορέσουν να 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 επίσης αποτρέπει πολλές θανατηφόρες ασθένειες. Στα τέλη του 19^{ου} αιώνα, τα αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται για διάφορες βιομηχανικές διεργασίες, όπως η πρόληψη της διάβρωσης μετάλλων. Οι επιστήμονες διαπίστωσαν ότι, αυτές οι ουσίες προστατεύουν το μέταλλο από τη διάβρωση και περιορίζουν την οξείδωση των μετάλλων (Atta et al., 2017).

Από τη δεκαετία του 1990, 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, των τροφίμων και των συμπληρωμάτων διατροφής έχει εξεταστεί εκτενώς. Πολλά μοντέλα μελέτης έχουν προσδιοριστεί σε χημικά ή / και βιολογικά συστήματα για την εξέταση του μηχανισμού δράσης των αντιοξειδωτικών, καθώς και την αναγνώριση νέων αντιοξειδωτικών, ιδιαίτερα από φυσικές ουσίες. Περαιτέρω έρευνα σε ζωικά μοντέλα και κυτταρικές καλλιέργειες παρείχε κρίσιμες πληροφορίες σχετικά με θέματα βιοδιαθεσιμότητας, μεταβολισμού και τοξικότητας των αντιοξειδωτικών, υποδηλώνοντας πιθανές κλινικές εφαρμογές αυτών των ουσιών. Ωστόσο, τα ζωικά μοντέλα και η ανθρώπινη έρευνα είναι ακριβά και δεν είναι κατάλληλα για τον πρώιμο αντιοξειδωτικό έλεγχο των τροφίμων και των συμπληρωμάτων διατροφής. Ως εκ τούτου, τα μοντέλα κυτταρικής καλλιέργειας έχουν χρησιμοποιηθεί για έγκαιρη διαλογή και μελέτη που προχωρεί σε έρευνα σε ζώα και σε κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους (Aziz et al., 2019).

Ο όρος «αντιοξειδωτικό» είναι ένας από τους πιο συγκεχυμένους ορισμούς στις βιολογικές / ιατρικές επιστήμες. Στη χημεία, το «αντιοξειδωτικό» νοείται απλώς «μια ένωση που απομακρύνει τα αντιδραστικά είδη, κυρίως αυτά που προέρχονται από οξυγόνο», ενώ σε ένα κυτταρικό πλαίσιο, ο εννοιολογικός ορισμός ενός αντιοξειδωτικού είναι ελάχιστα κατανοητός. Πράγματι, τα μη κλινικά συνιστώμενα αντιοξειδωτικά καταναλώνονται συχνά σε μεγάλες ποσότητες από τον παγκόσμιο πληθυσμό, με βάση 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 / οι διαταραχές μπορούν να προληφθούν και / ή ακόμη και να αντιμετωπιστούν (Salehi et al., 2018).



Εικόνα 6: Είδη τροφίμων που περιέχουν αντιοξειδωτικά

Πηγή: <https://www.proionta-tis-fisis.com/lista-trofon-me-antioxidotiki-drasi/>

Έτσι λοιπόν, τα αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται ευρέως ως συμπλήρωμα διατροφής για την προώθηση της καλής υγείας και την πρόληψη ασθενειών όπως ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές παθήσεις. Επιπλέον, χρησιμοποιούνται επίσης ως συντηρητικά για τρόφιμα, πράγμα που ξεκίνησε στα μέσα του 20^{ου} αιώνα, όταν οι επιστήμονες κατέβαλαν προσπάθειες να παρατείνουν τη ζωή των τροφίμων. Συνδυάζοντας τα αντιοξειδωτικά στα τρόφιμα που έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε ακόρεστα λιπαρά, κατάφεραν να αποτρέψουν την δυσάρεστη μυρωδιά και γεύση. Με το πέρασμα των χρόνων, 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 σήμαινε ότι, τα τελευταία 1000 χρόνια, οι άνθρωποι καταναλώνουν αντιοξειδωτικά καθημερινά (Atta et al., 2017).

Τα αντιοξειδωτικά κατηγοριοποιούνται σε δύο μεγάλες ομάδες, στα φυσικά και συνθετικά. Αυτές οι ομάδες παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης της οξειδωτικής ισορροπίας. Πιστεύεται ότι προστατεύουν τους ανθρώπους από ασθένειες και τη γήρανση. Η υπο-ταξινόμηση με βάση τη διαλυτότητα περιέχει λιποδιαλυτά και υδατοδιαλυτά αντιοξειδωτικά, ενώ αυτά που βασίζονται στους μηχανισμούς δράσης είναι τα πρωτογενή αντιοξειδωτικά (ριζικοί καθαριστές), δευτερεύοντα αντιοξειδωτικά (αποσυνθέτες υπεροξειδίου) και απενεργοποιητές μετάλλων (Mbah et al., 2019).

Τα συνθετικά αντιοξειδωτικά παράγονται ή συντίθενται τεχνητά χρησιμοποιώντας διάφορες τεχνικές. Βασικά είναι πολυφαινολικές ενώσεις κυρίως που συλλαμβάνουν τις ελεύθερες ρίζες και σταματούν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις. Τα πολυφαινολικά παράγωγα συνήθως περιέχουν περισσότερες από μία υδροξυλ ή μεθοξυομάδες. Η αιθοξυκινίνη είναι η μόνη ετεροκυκλική ένωση που περιέχει άζωτο και αναφέρεται ότι, χρησιμοποιείται ως αντιοξειδωτικό στα τρόφιμα, ειδικά στις ζωοτροφές. Συνήθως, τα συνθετικά φαινολικά αντιοξειδωτικά που αναφέρθηκαν είναι υποκατεστημένα με ρ, ενώ οι φυσικές φαινολικές ενώσεις είναι κυρίως υποκατεστημένες με ο. Οι ρ-υποκατεστημένες ουσίες προτιμώνται λόγω της χαμηλότερης τοξικότητάς τους. Τα συνθετικά φαινολικά αντιοξειδωτικά αντικαθίστανται πάντα με αλκυλομάδες για να βελτιώσουν τη διαλυτότητα τους στα λίπη και έλαια και για τη μείωση της τοξικότητάς τους. Αυτές οι συνθετικές ενώσεις 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).

Τα φυσικά αντιοξειδωτικά είναι ενώσεις που βρίσκονται σε τρόφιμα που καταναλώνονται χωρίς πολλή επεξεργασία, όπως φρούτα, λαχανικά, ξηροί καρποί, σπόροι, ζωικοί ιστοί κ.λπ.. Πρόκειται για ενώσεις που αντιδρούν με τις ρίζες λιπιδίων για να τις μετατρέψουν σε πιο σταθερά προϊόντα. Τα φυσικά αντιοξειδωτικά μπορούν να εξαχθούν από φυτά, μικροοργανισμούς και ζωικούς ιστούς. Μπορούν να έχουν πολλά μειονεκτήματα, όπως υψηλά επίπεδα χρήσης, χαμηλή αντιοξειδωτική απόδοση, ανεπιθύμητη γεύση ή οσμή και πιθανή απώλεια κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Αυτά τα μειονεκτήματα απαιτούν περιστασιακά την αντικατάστασή τους από συνθετικά χημικά, τα οποία είναι φθηνότερα, πιο εύκολα διαθέσιμα, σταθερής ποιότητας και έχουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση. Άλλες πηγές αυτών των αντιοξειδωτικών στα φυτά είναι τα δημητριακά, όσπρια, τσάι, καφές, κρασί, μύρα, βότανα και μπαχαρικά (θυμάρι, μοσχοκάρυδο, γαρίφαλο, μαύρο πιπέρι, τζίντζερ, σκόρδο, κουρκουμίνη και παράγωγα). Οι ζωικές πηγές περιλαμβάνουν γάλα, λιπίδια ψαριών, αυγά, γλουταθειόνη (μη πρωτεΐνη σε ζωικούς ιστούς), καροτένια και ουβικινόνη (συνένζυμο Q) (Mbah et al., 2019).

Ακόμη, τα φυσικά αντιοξειδωτικά είτε συντίθενται στο ανθρώπινο σώμα, μέσω της μεταβολικής διαδικασίας, είτε συμπληρώνονται από άλλες φυσικές πηγές. Η δράση τους εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις φυσικές και χημικές τους ιδιότητες και τον μηχανισμό δράσης. Αυτό μπορεί περαιτέρω να χωριστεί σε δύο κατηγορίες, δηλαδή, ενζυματικά αντιοξειδωτικά και μη ενζυματικά αντιοξειδωτικά. Τα ενζυματικά αντιοξειδωτικά παράγονται μοναδικά στο ανθρώπινο σώμα και μπορούν να υποδιαιρεθούν σε πρωτογενή και δευτερογενή αντιοξειδωτικά. Όσο για τα μη ενζυματικά αντιοξειδωτικά αποτελούν μια κατηγορία αντιοξειδωτικών που δεν βρίσκονται φυσικά στο σώμα, αλλά απαιτείται να συμπληρωθούν για τον κατάλληλο μεταβολισμό. Μερικά από τα γνωστά μη ενζυματικά αντιοξειδωτικά είναι ανόργανα άλατα, βιταμίνες, καροτενοειδή, πολυφαινόλες και άλλα αντιοξειδωτικά (Mamta et al., 2014).

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. Αυτές οι μελέτες έχουν

παροτρύνει τους ερευνητές να επικεντρώσουν τη μελέτη τους στην εξερεύνηση των φυσικών πηγών με εύλογο αντιοξειδωτικό δυναμικό (Anwar et al., 2018).

Πίνακας 2: Κατηγορίες Αντιοξειδωτικών

| Ένζυμα | Πρωτεΐνες | Άλλα αντιοξειδωτικά του οργανισμού | Αντιοξειδωτικά των τροφίμων |
|---|--|------------------------------------|--|
| Καταλάση | Μεθειονίνη | Ουρικό οξύ | Βιταμίνες A, C, E |
| Υπεροξειδική Δισμουτάση | Καρνοσίνη | Λιποϊκό οξύ | Ιχνοστοιχεία (Σελήνιο, Χαλκός, Ψευδάργυρος, Μαγγάνιο) |
| Υπεροξειδάση της θειορεδοξίνης | Ταυρίνη | Συνένζυμο Q10 | Ω3 λιπαρά οξέα DHA, EPA, ALA |
| Ένζυμα της οδού της φωσφορικής πεντόζης | Γλουταθειόνη (κυστεΐνη + γλυκίνη + γλουταμινοκό οξύ) | Μελαουνίνη | Ω6 λιπαρό οξύ = συζυγές λινολεϊκό οξύ |
| Αναγωγή γλουταθειόνης | Μεταλλοδευσμικές πρωτεΐνες | DHEA | Πολυφαινόλες (Τανίνες, Λιγνίνες, Φλαβονοειδή, Φενυλπροπανοειδή, Παρα-αμινobenζοϊκό οξύ (PABA), Καροτενοειδή) |
| Αναγωγή θειορεδοξίνης | | | |

Πηγή: Ζαρογιάννη, (2017)

Οι τύποι των αντιοξειδωτικών κυμαίνονται από αυτά που δημιουργούνται ενδογενώς από τα κύτταρα του σώματος ή από εξωγενείς παράγοντες όπως τα συμπληρώματα διατροφής. Η αντιοξειδωτική ανεπάρκεια μπορεί να αναπτυχθεί ως αποτέλεσμα της μειωμένης πρόσληψης αντιοξειδωτικών, της σύνθεσης ενδογενών ενζύμων ή της αυξημένης χρήσης αντιοξειδωτικών. Για να διατηρηθεί η 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 από φρούτα και λαχανικά είναι οι εξής:

- **Πολυφαινόλες:** είναι μια ομάδα διαφόρων ενώσεων χαμηλού και υψηλού μοριακού βάρους που έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες που αποτρέπουν την οξείδωση των λιπιδίων. Τα περισσότερα από αυτά είναι συζεύγματα μόνο και πολυσακχαριτών, που συνδέονται με μία ή περισσότερες ομάδες δακτυλίων φαινόλης ή μπορεί επίσης να υπάρχουν ως λειτουργικά παράγωγα όπως εστέρες και μεθυλεστέρες. Αυτή η κύρια κατηγορία φυσικών αντιοξειδωτικών μπορεί να ληφθεί από τσάι, ιδιαίτερα πράσινο και κόκκινο τσάι, καθώς και φρούτα όπως τα σταφύλια. Ωστόσο, οι πολυφαινόλες από τα τσάγια έχουν

μεγαλύτερη σημασία από ό, τι στα φρούτα λόγω της βιοδιαθεσιμότητάς τους στο αίμα. Περίπου 15-20% των πολυφαινόλων απορροφώνται από το αίμα κατά την κατανάλωσή τους. Αυτή η απορρόφηση ενισχύεται όταν δεν έχουν προσκολληθεί μόρια σακχάρου. Έτσι, τα τσάγια έχουν μεγαλύτερη απορρόφηση πολυφαινόλων από ό, τι τα φρούτα λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σακχάρου.

- **Φλαβονοειδή:** Πρόκειται για μια υποκατηγορία πολυφαινόλων που υπάρχουν άφθονα στα περισσότερα τρόφιμα, όπως πατάτες, σιτάρι, ντομάτες, κόκκινα μούρα, ροδάκινα και αμύγδαλα. Η ανθοκυανίνη είναι μια υποκατηγορία των λαβονοειδών που υπάρχει στα μούρα και στο κόκκινο κρασί. Είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό με μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα σε σύγκριση με άλλα λαβονοειδή. Οι πολυφαινόλες εμφανίζουν τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες εμποδίζοντας την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL), αποτρέποντας έτσι το σχηματισμό πλάκας. Ορισμένοι τύποι πολυφαινόλων έχουν επίσης βρεθεί ότι αναστέλλουν την οξείδωση ορισμένων σημαντικών ενζύμων και έτσι διατηρούν την ορθή λειτουργία τους.
- **Καροτενοειδή:** Είναι μια άλλη σημαντική κατηγορία αντιοξειδωτικών φυτοχημικών από φρούτα και λαχανικά μετά από τις πολυφαινόλες. Εντοπίζονται κυρίως στα λαχανικά, όπως πατάτες, καρότα, παπάγια και βερίκοκα.
- **Βιταμίνες:** Μεταξύ των βιταμινών που λαμβάνονται από φρούτα και λαχανικά, που ενεργούν ως αντιοξειδωτικά, η βιταμίνη C, επίσης γνωστή ως ασκορβικό οξύ, είναι ένα πολύ ισχυρό υδατοδιαλυτό αντιοξειδωτικό που απαντάται συνήθως σε εσπεριδοειδή και λαχανικά όπως πορτοκάλια, λεμόνια και ντομάτες. Συνιστάται τα φρούτα και τα λαχανικά που περιέχουν βιταμίνη C να λαμβάνονται σε μικρές διαιρεμένες δόσεις αντί να έχουν μεγάλη δόση ταυτόχρονα, επειδή η βιταμίνη C εμφανίζει λιγότερη απορρόφηση όταν χορηγείται σε μεγάλες ποσότητες. Μια άλλη βιταμίνη με αντιοξειδωτικές ιδιότητες είναι η βιταμίνη E, η οποία σχετίζεται με την οικογένεια αντιοξειδωτικών τοκοφερόλης. Είναι μια λιποδιαλυτή, μη πολική

βιταμίνη που βρίσκεται φυσικά σε πλούσια σε λιπίδια φρούτα και λαχανικά, όπως ελιές, ηλιέλαιο και ξηρούς καρπούς. Η βιταμίνη E δείχνει υψηλότερη βιοδιαθεσιμότητα από τη βιταμίνη C, η οποία ίσως οφείλεται στη διαλυτότητα της στο λίπος και μπορεί να βελτιωθεί περαιτέρω όταν λαμβάνεται με λιπαρά τρόφιμα (Anwar et al., 2018).

Σε γενικές γραμμές, στα τρόφιμα, τα αντιοξειδωτικά έχουν οριστεί ως ουσίες που σε μικρές ποσότητες είναι σε θέση να αποτρέψουν ή να επιβραδύνουν σε μεγάλο βαθμό την οξείδωση των εύκολα οξειδώσιμων υλικών, όπως τα λίπη. Επομένως, στην επιστήμη των τροφίμων τα αντιοξειδωτικά συνήθως εξομοιώνονται με αναστολείς της αλυσίδας υπεροξείδωσης των λιπιδίων, αλλά όχι αποκλειστικά. Πολλά αντιοξειδωτικά έχουν μελετηθεί και χρησιμοποιούνται σε ένα ευρύ φάσμα τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των ποτών. Επομένως, για τρόφιμα και ποτά, τα αντιοξειδωτικά είναι μόρια που μπορούν να εξομοιωθούν με την προστασία των μακρομορίων από την οξείδωση. Στα βιολογικά συστήματα ο αποδεκτός ορισμός είναι ότι το αντιοξειδωτικό είναι 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). Ουσιαστικά, 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 μια εξαιρετική πηγή αντιοξειδωτικών και μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο στο μαγείρεμα, όσο και ως συντηρητικά τροφίμων. Τα αρωματικά φυτά που χρησιμοποιούνται ευρέως κατά την παρασκευή και επεξεργασία τροφίμων είναι μια εναλλακτική λύση για τα ανθυγιεινά, συνθετικά αντιοξειδωτικά, όπως το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT) και η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη (BHA), που συμβάλλουν στη εκδήλωση προβλημάτων του ήπατος και στην καρκινογένεση. Τα αρωματικά φυτά που προστίθενται στα τρόφιμα ενισχύουν τη γεύση και την υφή του, μπορούν επίσης να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής τους, χάρη στην παρουσία δραστικών βακτηριοστατικών και βακτηριοκτόνων ενώσεων και στην αναστολή της διαδικασίας οξείδωσης. Παραδείγματα αντιοξειδωτικών ενώσεων που βρίσκονται στα αρωματικά φυτά μπορεί να περιλαμβάνουν ευγενόλη, καμφένιο,

καρβακρόλη, πιπερίνη, μυριστικό οξύ, μυριστική και ασκορβικό οξύ (Słowianek and Leszczyńska, 2016).

Ένα από τα αρωματικά φυτά που φέρει ιδιαίτερα σημαντική αντιοξειδωτική δράση, όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενο κεφάλαιο είναι η δάφνη. Σύμφωνα με την μελέτη του Bozan & Karakaplan, (2007), αξιολογήθηκαν οι αντιοξειδωτικές δραστηριότητες των εκχυλισμάτων των καρπών της δάφνης (*Laurus nobilis* L.) χρησιμοποιώντας προσδιορισμό DPPH, δοκιμασία β-καροτενίου / λινελαϊκού οξέος και τη μέθοδο Rancimat. Το περικάρπιο και ο πυρήνας των καρπών εκχυλίστηκαν με διαφορετικές μεθόδους εκχύλισης με διαλύτες διαφορετικής πολικότητας. Η μέθοδος εκχύλισης και οι διαλύτες εκχύλισης επηρέασαν σημαντικά την απόδοση, τη συνολική φαινολική και την αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων. Η συνολική φαινολική περιεκτικότητα κυμαινόταν από 142,4 έως 168,1 mg ισοδύναμου γαλλικού οξέος (GAE)/g σε εκχυλίσματα περικαρπίου και από 233-240,4 mg GAE/g σε εκχυλίσματα πυρήνα. Το εκχύλισμα πυρήνα με μέθοδο Soxhlet με 80% αιθανόλη έδειξε την υψηλότερη δραστηριότητα σάρωσης 50,78% στα 12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ από το DPPH (Bozan and Karakaplan, 2007).

Προχωρώντας παρακάτω, ο Tarog et al., (2018), προχώρησε σε μία μελέτη για να δείξει την αντιοξειδωτική δράση της δάφνης που παράγεται στο Μαρόκο. Συγκεκριμένα, μέσα από την μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας και της συνολικής περιεκτικότητας σε φαινολικά και флаβονοειδή αιθανόλης, μεθανόλης, αιθυλίου οξικό και υδατικά εκχυλίσματα των φύλλων της δάφνης. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας τρεις δοκιμές, όπως δράση σάρωσης ελεύθερων ριζών έναντι 2,2-διφαινυλ πικρυλδραζυλίου (DPPH), μείωση του μολυβδαινικού και μείωση της ($\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}$). Η συνολική περιεκτικότητα σε φαινολικά και флаβονοειδή μετρήθηκε με το αντιδραστήριο Folin Ciocalteu και rutin, αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, τόσο τα αιθανόλη, όσο 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 $545,83 \pm 5,89$ mg ισοδύναμο με ασκορβικό οξύ / g ξηρού εκχυλίσματος. Η ισχυρή αντιοξειδωτική δράση του εκχυλίσματος νερού οφείλεται πιθανώς στην υψηλή περιεκτικότητα σε φαινόλες. Επιπλέον, εκχυλίσματα αιθανόλης και νερού έδειξαν υψηλότερη συνολική περιεκτικότητα σε флаβονοειδή με τις τιμές: $153,33 \pm 3,59$ και $127,25 \pm 2,60$ mg ισοδύναμου ρουτίνης / g ξηρού εκχυλίσματος, αντίστοιχα. Επομένως, κατέληξε στο συμπέρασμα πως τα

εκχυλίσματα των φύλλων της δάφνης παρουσίασαν μια ισχυρή και εξαιρετική αντιοξειδωτική δράση (Taroq et al., 2018).

Όσον αφορά τον Politeo et al., (2006), μέσα από την μελέτη που πραγματοποίησε αναλύθηκαν χημικές συνθέσεις και σχετικές συνολικές αντιοξειδωτικές ικανότητες δώδεκα αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών. Για να καταστεί δυνατή η σύγκριση των σχετικών αντιοξειδωτικών δυνατοτήτων τους, τα αιθέρια έλαια εκχυλίστηκαν με υδροπόσταξη 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: τη μέθοδο 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). Με βάση την αντιοξειδωτική ικανότητα, το αιθέριο έλαιο της Δάφνης κατέλαβε την 3^η θέση στην κατάταξη, εν συγκρίσει με τα υπόλοιπα 11 αιθέρια έλαια (Politeo et al., 2006).

Όσον αφορά τον Ramos et al., (2006), μέσα από την μελέτη που πραγματοποίησε στόχος ήταν να προσδιοριστεί η αντιβακτηριακή και αντιοξειδωτική δράση του αιθέριου ελαίου δάφνης, του αιθανολικού εκχυλίσματος και του ζεστού / κρύου υδατικού εκχυλίσματος. Τα κύρια συστατικά που εντοπίστηκαν στη δάφνη ήταν η ευκαλυπτόλη (27,2%), το οξικό τερπινενύλιο (10,2%), η λιναλοόλη (8,4%), η μεθυλαιγενόλη (5,4%), η σαβενίνη (4,0%) και η καρβακρόλη (3,2%). Το αιθέριο έλαιο δάφνης παρουσίασε ισχυρή αντιβακτηριακή δράση, έναντι όλων των ελεγχόμενων τροφικών αλλοιώσεων και παθογόνων βακτηρίων, ενώ αυτή η δραστηριότητα ήταν λιγότερο έντονη ή ακόμη και ανύπαρκτη στο αιθανολικό εκχύλισμα και στο ζεστό / κρύο υδατικό εκχύλισμα. Σε αντίθεση, το αιθέριο έλαιο δάφνης παρουσίασε χαμηλή αντιοξειδωτική δράση σε σύγκριση με τα υπόλοιπα εκχυλίσματα. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η δάφνη διατηρεί φυσικές αντιοξειδωτικές ιδιότητες και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως συνθετικό συντηρητικό τροφίμων, προκειμένου να ενισχυθεί η ασφάλεια τους και να αυξηθεί η διάρκεια ζωής τους (Ramos et al., 2006).

Με βάση την μελέτη του Yilmaz et al., (2013), στόχος ήταν να αξιολογήσει την αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση του αιθέριου ελαίου που εξάγεται από

τα φύλλα της δάφνης. Το έλαιο αναλύθηκε με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μάζας (GC-MS). Ταυτοποιήθηκαν 27 συνιστώσες, που αντιπροσωπεύουν το 96,6% του αιθέριου ελαίου. Οι κύριες ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν ήταν 1,8-κινεόλη (51,8%), α-τριπινυλ οξικό (11,2%) και σαβενένιο (10,1%). Το αιθέριο έλαιο υποβλήθηκε σε διαλογή για πιθανή αντιοξειδωτική δράση, χρησιμοποιώντας δύο συμπληρωματικά συστήματα δοκιμής: DPPH (2,2-διφαινυλπικρυλυδραζυλ) σάρωση ελεύθερων ριζών και δοκιμασία β καροτενίου / λινελαϊκού οξέος. Και οι δύο αυτές μέθοδοι έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο των φύλλων της δάφνης ήταν λιγότερο ισχυρός αναγωγικός παράγοντας από τα γνωστά συνθετικά αντιοξειδωτικά, βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο και ασκορβικό οξύ (Yilmaz et al., 2013).

Ακόμη, μέσα από την μελέτη Fidan et al., (2019), εξετάστηκε η σύνθεση και τη βιοδραστικότητα του αιθέριου ελαίου δάφνης που αναπτύσσεται στη Βουλγαρία. Η απόδοση του αιθέριου ελαίου ήταν 0,78% στους καρπούς, 0,80% στα κλαδιά και 3,25% στα φύλλα. Τα κύρια συστατικά στον καρπό της δάφνης ήταν 1,8-κινεόλη (33,3%), α-τριπινυλ οξικό (10,3%), α-πινένιο (11,0%), β-elemene (7,5%), σαβενένιο (6,3%), β -Φελλανδρένιο (5,2%), οξικό βορνυλεστέρα (4,4%) και καμφένιο (4,3%). Όσον αφορά το κλαδί της δάφνης εντοπίστηκε 1,8-κινόλη (48,5%), α-τριπινυλ οξικό (13,1%), μεθυλ ευγενόλη (6,6%), β-λιναλοόλη (3,8%), β-πινένιο (3,4%), σαβενένιο (3,3%) και terpinene-4-ol (3,3%). Τέλος, στο φύλλο υπήρξε 1,8-κινόλη (41,0%), α-τριπινυλ οξικό (14,4%), σαβενένιο (8,8%), μεθυλ ευγενόλη (6,0%), β-λιναλοόλη (4,9%) και α -τερινόλη (3,1%). Οι αντιβακτηριακές και αντιμυκητιακές ιδιότητες των αιθέριων ελαίων της δάφνης που εξετάστηκαν έδειξαν πως το φύλλο έφερε αντιβακτηριακή και αντιμυκητιακή δράση έναντι σχεδόν όλων των στελεχών των μικροοργανισμών που εξετάστηκαν (Fidan et al., 2019).

2.3 Δημιουργία ελεύθερων ριζών

Οι ελεύθερες ρίζες είναι μόρια που περιέχουν ένα ή περισσότερα ζεύγη ηλεκτρονίων στο ατομικό ή μοριακό τους τύπο. Γενικά θεωρείται ότι περίπου 10000-20000 ελεύθερες ρίζες προσβάλλουν κάθε κύτταρο κάθε μέρα, εκ των οποίων μερικές είναι καλές για την υγεία που επιτρέπουν στο ανθρώπινο σώμα να καταπολεμά τη

φλεγμονή, να σκοτώνει βακτήρια, ελέγχει τους λείους μυς που ρυθμίζουν την καλή λειτουργία των εσωτερικών οργάνων και των αιμοφόρων αγγείων. Από την άλλη πλευρά, οι ελεύθερες ρίζες διαδραματίζουν ζωτικό ρόλο στην παθογένεση διαφόρων ασθενειών όπως καρδιακές παθήσεις, σακχαρώδης διαβήτης, νόσος Αλτσχάιμερ, νόσος του Πάρκινσον, καρκίνος, αρθρίτιδα και γήρανση κ.λπ. εάν παράγονται με μεγάλο ή ανεξέλεγκτο τρόπο (Qazi and Molvi, 2018).

Το σώμα παράγει συνεχώς ελεύθερες ρίζες λόγω της τακτικής χρήσης οξυγόνου. Αυτές οι ελεύθερες ρίζες ευθύνονται για τη βλάβη των κυττάρων στο σώμα και συμβάλλουν σε διάφορα είδη προβλημάτων υγείας, όπως καρδιακές παθήσεις, σακχαρώδης διαβήτης, εκφυλισμός της ωχράς κηλίδας και καρκίνος. Τα αντιοξειδωτικά που είναι καθαριστές ελευθέρων ριζών βοηθούν στην πρόληψη και αποκατάσταση της βλάβης των κυττάρων που προκαλούνται από αυτές τις ρίζες (Mamta et al., 2014).

Η ελεύθερη ρίζα είναι ένα εξαιρετικά αντιδραστικό χημικό είδος που περιέχει ένα ή περισσότερα ζεύγη ηλεκτρονίων. Οι ελεύθερες ρίζες έχουν διαδραματίσει ζωτικό ρόλο σε πολλές θεμελιώδεις κυτταρικές αντιδράσεις και εμπλέκονται στην αιτιολογία διαφόρων ανθρώπινων διαταραχών. Στον άνθρωπο, για παράδειγμα, η βλάβη από τις ελεύθερες ρίζες αντισταθμίζεται με φυσιολογικά αντιοξειδωτικά, όπως καταλάση, γλουταθειόνη, υπεροξειδάσεις γλουταθειόνης, υπεροξειδίο δισμουτάσες, ουβικινόλη, ουρικό οξύ, βασικά μέταλλα και θεραπευτικά αντιοξειδωτικά από τη διατροφή όπως βιταμίνες E, βιταμίνη C, καροτενοειδή (Mbah et al., 2019).

Οι ελεύθερες ρίζες σε ένα βιολογικό σύστημα μπορούν να παραχθούν από εξωγενείς παράγοντες όπως η ηλιακή ακτινοβολία, λόγω της παρουσίας υπεριώδους ακτινοβολίας. Η υπεριώδης ακτινοβολία προκαλεί την ομολυτική διάσπαση των δεσμών στα μόρια. Ειδικότερα, οι ελεύθερες ρίζες εμφανίζονται επίσης κατά τη διάρκεια εκδήλωσης μιας νόσου. Σε καρδιακή προσβολή, για παράδειγμα, όταν διακόπτεται η παροχή οξυγόνου και γλυκόζης στον καρδιακό μυ, παράγονται πολλές ελεύθερες ρίζες. Ένας άλλος εξωγενής παράγοντας που προάγει το σχηματισμό ελευθέρων ριζών είναι η χημική δηλητηρίαση. Ο οργανισμός, επειδή απαιτεί τη μετατροπή τοξικών ουσιών σε λιγότερο επικίνδυνες ουσίες, προωθεί την απελευθέρωση ελευθέρων ριζών. Η τοξικότητα πολλών φαρμάκων οφείλεται στην πραγματικότητα στη μετατροπή τους σε ελεύθερες ρίζες ή στην επίδραση τους στον σχηματισμό ελευθέρων ριζών. Η παρουσία μολυσματικών ουσιών, προσθέτων,

φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα μπορεί επίσης να γίνει πηγή ελεύθερων ριζών (Santos-Sánchez et al., 2019).

Πίνακας 3: Δράσεις Ελεύθερων ριζών

| Ευεργετικές Δράσεις (σε μέτριες/χαμηλές συγκεντρώσεις) | Βλαβερές Δράσεις (σε αυξημένες συγκεντρώσεις) |
|---|--|
| Κυτταρική απόκριση του στρες | Οξειδωτικό στρες |
| Μεταγωγή σήματος μεταξύ κυττάρων | Εκδήλωση / Επιδείνωση ασθενειών: |
| Κυτταρική διαφοροποίηση | ○ Παχυσαρκία |
| Μεταγραφή γονιδίων | ○ Αρτηριοσκλήρυνση |
| Κυτταρικός πολλαπλασιασμός | ○ Ρευματοπάθειες |
| Φλεγμονή | ○ Φλεγμονές |
| Απόπτωση κυττάρων | ○ Αυτοάνοσα νοσήματα |
| Θετική επίδραση στην αθλητική προσαρμογή | ○ Δερματικές παθήσεις |
| Δράση ως αντιμικροβιακοί παράγοντες στα πλαίσια κυτταροτοξικής απάντησης των φαγοκυττάρων | ○ Τοξικώσεις από μέταλλα |
| | ○ Νόσος Πάρκινσον |
| | ○ Καρδιαγγειακά νοσήματα |
| | ○ Πρόωρη γήρανση |
| | ○ Νόσος Αλτσχάιμερ |
| | ○ Σακχαρώδης διαβήτης |
| | ○ Υπογονιμότητα |
| | ○ Οστεοπόρωση |
| | ○ Σκλήρυνση κατά πλάκας |

Πηγή: Ζαρογιάννη, (2017)

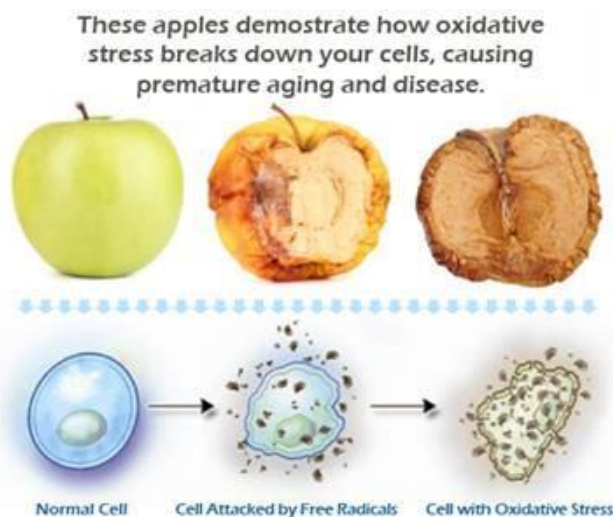
2.4 Δράση των αντιοξειδωτικών

Ένα αντιοξειδωτικό είναι μια ουσία που σε χαμηλές συγκεντρώσεις καθυστερεί ή αποτρέπει την οξείδωση ενός υποστρώματος. Οι αντιοξειδωτικές ενώσεις δρουν μέσω πολλών χημικών μηχανισμών: μεταφορά ατόμων υδρογόνου (HAT), μεταφορά απλού ηλεκτρονίου (SET) και ικανότητα χηλίωσης μετάλλων μετάβασης (Santos-Sánchez et al., 2019). Τα τρόφιμα που είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά 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).

Όσον αφορά το οξειδωτικό στρες έχει λάβει σημαντική επιστημονική προσοχή ως μεσολαβητής στην αιτιολογία πολλών ασθενειών. Το οξειδωτικό στρες είναι αποτέλεσμα ανισορροπίας μεταξύ των ελεύθερων ριζών και των αντιοξειδωτικών. Τα κύτταρα μπορούν να υποστούν βλάβη από τις ελεύθερες ρίζες που θεωρείται ότι παίζουν κύριο ρόλο στη διαδικασία γήρανσης και στην ανάπτυξη ασθενειών. Τα αντιοξειδωτικά είναι η πρώτη γραμμή άμυνας ενάντια στις επιβλαβείς επιπτώσεις των βλαβών των ελεύθερων ριζών και είναι απαραίτητο να διατηρηθεί η βέλτιστη υγεία μέσω διαφορετικών μηχανισμών δράσης. Κατά βάση, 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), που οδηγούν σε πιθανή κυτταρική βλάβη. Το ROS είναι ένας συλλογικός όρος που περιλαμβάνει όλες τις εξαιρετικά αντιδραστικές μορφές οξυγόνου, συμπεριλαμβανομένων των ελεύθερων ριζών. Οι κατηγορίες ROS περιλαμβάνουν ρίζα υδροξυλίου ($\text{OH} \cdot$), ρίζα υπεροξυδίου ($\text{HO}_2 \cdot$), υποχλωριούχο οξύ (HOCl), ρίζα ανιόντων υπεροξειδίου ($\text{O}_2 \cdot^-$), υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), απλό οξυγόνο ($^1\text{O}_2$), ρίζα νιτρικού οξειδίου ($\text{NO} \cdot$), υποχλωριώδης ρίζα ($\text{OCl} \cdot$), υπεροξυνιτρίτης (ONOO) και διαφορετικά λιπιδικά υπεροξείδια. Το RNS προέρχεται από το νιτρικό οξείδιο μέσω της αντίδρασης με $\text{O}_2 \cdot^-$ για να σχηματίσει ONOO^- , ενώ το RSS παράγεται εύκολα από θειόλες μέσω αντίδρασης με ROS (Aziz et al., 2019).

Όσον αφορά την 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) τερματίζουν αυτές τις αλυσιδωτές αντιδράσεις. Για την 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), που 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 σαφής δείκτης οξειδωτικού στρες. Πράγματι, 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).

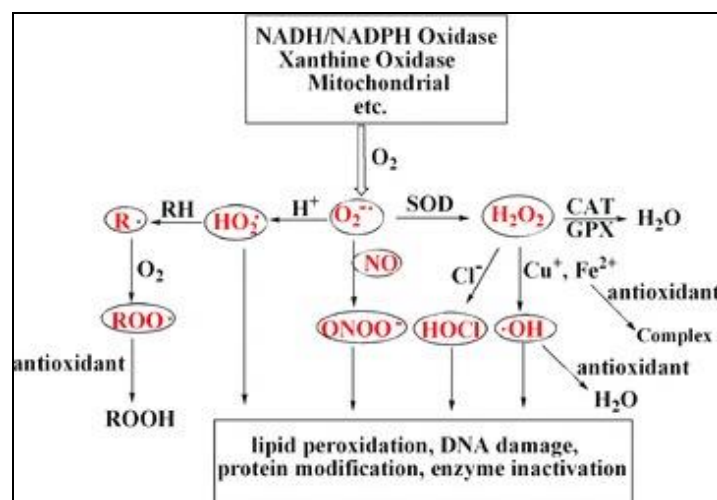


Εικόνα 7: Παρουσίαση της επίπτωσης της οξείδωσης στο μήλο και στο κύτταρο του ανθρώπινου οργανισμού
 Πηγή: Ζαρογιάννη, (2017)

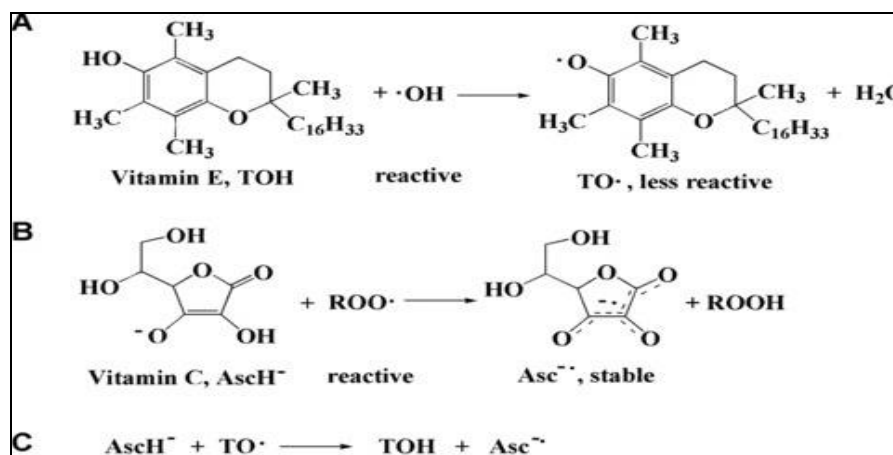
Ειδικότερα, σχετικά με την οξείδωση σημειώνεται ότι είναι μια χημική αντίδραση που περιλαμβάνει τη μεταφορά ηλεκτρονίων από τη μία ένωση στην άλλη και έχει αρνητικά αποτελέσματα φυσιολογικά. Βιολογικά, η οξείδωση ξεκινά συχνά από τις ελεύθερες ρίζες. Ένα αντιοξειδωτικό είναι εκείνη η ουσία που θα οξειδωθεί, καθυστερεί σημαντικά ή αναστέλλει την οξείδωση. Επομένως, ο φυσιολογικός ρόλος του αντιοξειδωτικού είναι η πρόληψη βλάβης στα κυτταρικά συστατικά που προκύπτει από χημικές αντιδράσεις που περιλαμβάνουν ελεύθερες ρίζες (Mbali et al., 2019).

Ειδικότερα, τα αντιοξειδωτικά μπορεί να είναι μόρια που μπορούν να εξουδετερώσουν τις ελεύθερες ρίζες με την αποδοχή ή τη 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, μακράς διάρκειας και λιγότερο επικίνδυνες από αυτές τις ρίζες που έχουν εξουδετερωθεί. Μπορούν να εξουδετερωθούν από άλλα αντιοξειδωτικά ή άλλους μηχανισμούς για τον τερματισμό της ριζικής τους κατάστασης. Για παράδειγμα, πολλά αντιοξειδωτικά έχουν αρωματικές δομές δακτυλίου και είναι ικανά να μετεγκαθιστούν το ζεύγος ηλεκτρονίων (βλ. εικόνα 1). Η βιταμίνη C (AscH_3) στην υδατική φάση και η βιταμίνη E (TOH) στη φάση λιπιδίων θα αντιδράσουν άμεσα ή εξουδετερώνουν τις ρίζες υδροξυλίου, αλκοξυλίου και λιπιδίου υπεροξυλίου ($\text{ROO}\cdot$) και σχηματίζουν υδροϋπεροξειδία H_2O , αλκοόλης και λιπιδίων, αντίστοιχα. Η ίδια η βιταμίνη E

γίνεται ρίζα φαινυλίου και η βιταμίνη C μετατρέπεται σε πολύ σταθερή ρίζα ($\text{Asc}^- \bullet$), λόγω της μετατοπισμένης δομής της. Επιπλέον, η βιταμίνη C μπορεί επίσης να εξουδετερώσει τη ριζική μορφή άλλων αντιοξειδωτικών όπως η ρίζα γλουταθειόνης και η ρίζα βιταμίνης 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 αντιδράσουν άμεσα με ROS και / ή ενδιάμεσα ελευθέρων ριζών που προκαλούνται από ROS και να τερματίσουν την αλυσιδωτή αντίδραση, σταματώντας έτσι την επαγόμενη από ROS βλάβη (Lü et al., 2010).



Εικόνα 8: Σύνοψη των τύπων και πηγών ROS και σημείο δράσης των αντιοξειδωτικών
 Πηγή: Lü et al., 2010



Εικόνα 9: Άμεσες αντιδράσεις της βιταμίνης E (TOH) με $\bullet\text{OH}$ (A) και βιταμίνης C (AscH^-) με $\text{ROO}\bullet$ (B) και αναγέννηση της βιταμίνης E από τη βιταμίνη C

Πηγή: Lü et al., 2010

Οι ενώσεις μονοϋδροξυ ή πολυδροξυ 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 προκύπτουσα ρίζα αντιοξειδωτικών δεν είναι σε θέση να ξεκινήσει άλλη ελεύθερη ρίζα, λόγω της σταθεροποίησης των απομεταλλωμένων ριζών ηλεκτρονίων. Το γεγονός ότι τα αντιοξειδωτικά προσδίδουν υδρογόνο, διακρίνεται ότι αυτό το στοιχείο καθυστερεί ή ελαχιστοποιεί την έναρξη και διάδοση της αλυσιδωτής αντίδρασης των ελεύθερων ριζών. Η προκύπτουσα αντιοξειδωτική ελεύθερη ρίζα δεν υπόκειται σε ταχεία οξείδωση, λόγω της σταθερότητας 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).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ ΚΑΙ Η ΥΠΑΡΞΗ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΔΑΦΝΗ

3.1 Αιθέρια έλαια: ιστορικά στοιχεία, σύνθεση, βιοσύνθεση

Τα φυτά παράγουν πρωτογενείς και δευτερογενείς μεταβολίτες που περιλαμβάνουν μια ολόκληρη σειρά λειτουργιών. Οι πρωτογενείς μεταβολίτες περιλαμβάνουν αμινοξέα, απλά σάκχαρα, νουκλεϊκά οξέα και λιπίδια, είναι ενώσεις που είναι απαραίτητες για κυτταρικές διεργασίες. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες περιλαμβάνουν ενώσεις που παράγονται σε απόκριση στο στρες, όπως η περίπτωση όταν ενεργεί ως αποτρεπτικό μέσο κατά των φυτοφάγων. Τα φυτά μπορούν να παράγουν πολλούς διαφορετικούς τύπους δευτερογενών μεταβολιτών που στη συνέχεια εκμεταλλεύτηκαν οι άνθρωποι για τον ευεργετικό ρόλο τους σε μια διαφορετική σειρά εφαρμογών. Οι μεταβολίτες ενδέχεται να είναι σε θέση να εκτελούν ποικίλους ρόλους λόγω των ειδικών χαρακτηριστικών τους. Τα βασικά χαρακτηριστικά τους περιλαμβάνουν την οσμή, τις φυσιολογικές δράσεις και τη γεύση. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες μπορούν να αναφέρονται ως φυτικά φυσικά προϊόντα. Υπάρχουν τρεις ευρείες κατηγορίες δευτερογενών μεταβολιτών ως φυσικά προϊόντα, όπως τα τερπενοειδή (25.000 τύποι), αλκαλοειδή (12.000 τύποι) και οι φαινολικές ενώσεις (8.000 τύποι). Οι περισσότεροι από αυτούς τους μεταβολίτες έχουν απομονωθεί και χαρακτηριστεί (Hamid et al., 2011).

Τα αιθέρια έλαια αφορούν φυσικές μεταβολικές εκκρίσεις των φυτών, ο ρόλος των οποίων δεν έχει ακόμη κατανοηθεί πλήρως από την επιστήμη. Μερικοί ειδικοί τις θεωρούν αληθινές φυτικές ορμόνες, ρευστές εκδηλώσεις του ανοσοποιητικού συστήματος των φυτών, με την έννοια ότι συμβάλλουν στην απομάκρυνση των παρασίτων, προσελκύοντας, αντίθετα, επικονιαστικούς παράγοντες, που είναι μερικά έντομα και πουλιά (Butnariu and Sarac, 2018).

Πρόκειται κυρίως για εκείνα τα έλαια που έχουν χρησιμοποιηθεί εδώ και αιώνες για διαφορετικούς σκοπούς (Naeem et al., 2018). Κατά καιρούς έχει αναγνωριστεί ότι, οι άνθρωποι εξάγουν τα αιθέρια έλαια από αρωματικά φυτά από την αρχή της ανθρωπότητας. Συγκεκριμένα, τα αιθέρια έλαια από τα αρωματικά φυτά είναι γνωστά από την αρχαιότητα για τη βιολογική τους δράση, κυρίως την

αντιμικροβιακή, αντιμυκητιακή και αντιοξειδωτική ιδιότητα τους (Hector et al., 2004). Η εφαρμογή τους για διάφορους σκοπούς αλλάζει σταδιακά και δεν χρησιμοποιείται μόνο για μαγειρικούς σκοπούς στον κόσμο (Naeem et al., 2018).

Πρόκειται για μικρές, ανοιχτόχρωμες σφαιρικές δομές, τροποποιημένα νήματα, τα οποία συμπεριφέρονται σαν εκκριτικοί αδένες. Είναι αυτοί που δίνουν το άρωμα του αρωματικού φυτού και έχουν ιατρικές θεραπευτικές ιδιότητες, όπως μείωση του πυρετού, καθαρισμός αίματος και ανακούφιση από τον πόνο. Τα αιθέρια έλαια είναι προϊόντα που απομονώνονται από φυτά ή όργανα μέσω φυσικής διεργασίας που έχουν μια ορισμένη πτητικότητα (υψηλότερη ή χαμηλότερη) και διαθέτουν μια ευχάριστη οσμή χαρακτηριστική της πηγής από την οποία προέρχονται (Butnariu and Sarac, 2018).

Τα αιθέρια έλαια σχηματίζονται στον χλωροπλάστη του φύλλου, στο στρώμα της κυστεοειδούς τοιχώματος ή από την υδρόλυση ορισμένων γλυκοζιτών. Μπορούν να βρεθούν σε διαφορετικά μέρη του φυτού. Μερικά θα μπορούσαν να είναι σε φύλλα (ρίγανη), σπόρος (αμύγδαλο), λουλούδι (γιασεμί), φλούδα (περγαμόντο), μούρα (αρκεύθου), ρίζωμα (γαγγαλικό τζίντζερ), ρίζα (angelica archangelica), φλοιός (sassafras), ξύλο (ξύλο αγάρ), ρητίνη (λιβάνι), πέταλα (τριαντάφυλλο). Τα αιθέρια έλαια από διαφορετικά μέρη του ίδιου φυτού μπορεί να έχουν εντελώς διαφορετικές μυρωδιές και ιδιότητες. Για παράδειγμα από το γεράνι μπορεί να ληφθούν αιθέρια έλαια τόσο από τα άνθη, όσο και από τα φύλλα, τα οποία διαφέρουν σε συστατικά, αρώματα και κάποιες άλλες ιδιότητες. Η ποσότητα αιθέριου ελαίου που εξάγεται από το φυτό καθορίζεται από πολλούς αλληλένδετους παράγοντες, κλιματολογικές, εποχιακές και γεωγραφικές συνθήκες, περίοδο συγκομιδής και τεχνικές εκχύλισης. Η απόδοση των αιθέριων ελαίων από τα φυτά μπορεί επίσης να επηρεαστεί από τα στάδια της ανάπτυξης του φυτού (Hamid et al., 2011).

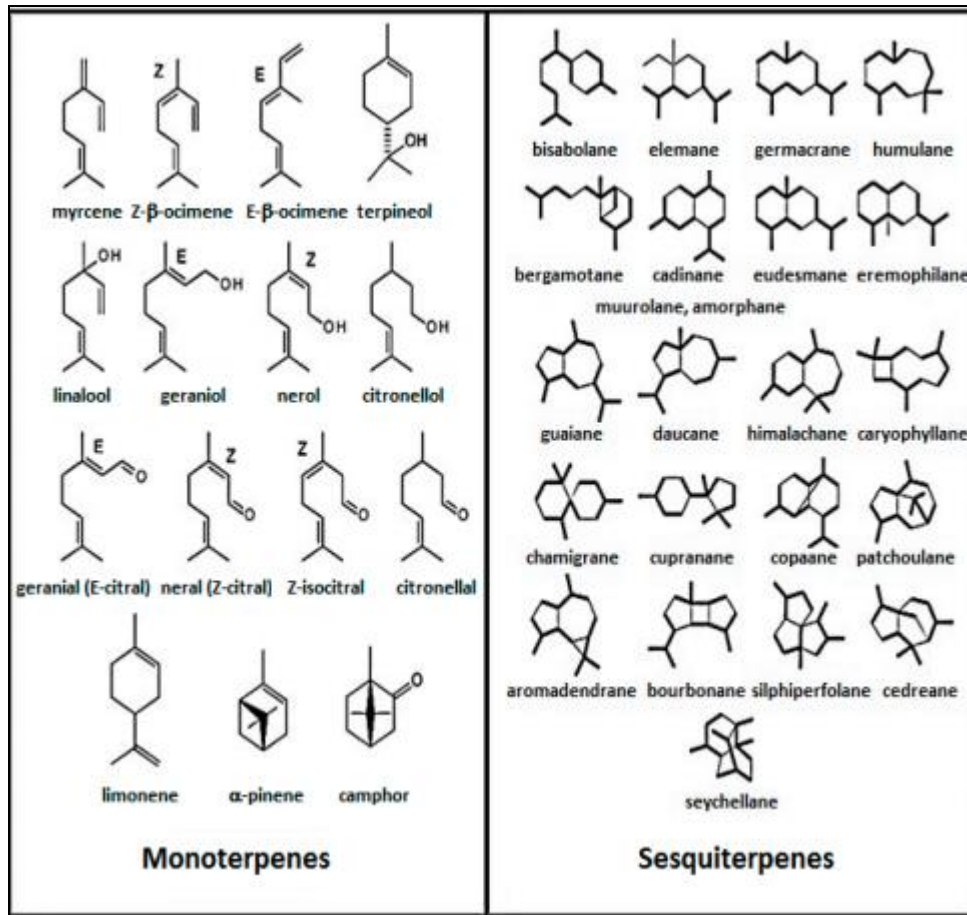
Είναι πολύ συμπυκνωμένες πτητικές ουσίες που εξάγονται από διάφορα μέρη ορισμένων φυτικών ειδών, το καθένα με συγκεκριμένα θεραπευτικά και ενεργητικά αποτελέσματα. Αυτά τα πτητικά υγρά είναι πολύ σύνθετες μοριακές ουσίες, εξαιρετικά ισχυρές και ακριβείς στη δράση. Το αιθέριο έλαιο δεν είναι στην πραγματικότητα λάδι, καθώς δεν περιέχει λιπαρές ουσίες (Butnariu and Sarac, 2018).

Τα αιθέρια έλαια είναι πολύτιμα φυτικά προϊόντα, γενικά σύνθεσης που περιλαμβάνουν τις πτητικές αρχές που περιέχονται στο φυτό και λίγο πολύ τροποποιούνται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας παρασκευής. Τα σταγονίδια λαδιού που αποθηκεύονται στους αδένες ελαίου ή τους σάκους μπορούν να αφαιρεθούν είτε

επιταχύνοντας τη διάχυση μέσω του κυτταρικού τοιχώματος είτε συνθλίβοντας το κυτταρικό τοίχωμα. Οι υιοθετημένες τεχνικές εξαρτώνται από το μέρος των φυτών όπου πρόκειται να εξαχθεί το λάδι, τη σταθερότητα του λαδιού στη θερμότητα και την ευαισθησία των συστατικών του λαδιού σε χημικές αντιδράσεις (Hamid et al., 2011).

Τα αιθέρια έλαια είναι διαλυτά σε αλκοόλη, αιθέρα και σταθερά έλαια, αλλά αδιάλυτα στο νερό. Αυτά τα πτητικά έλαια είναι γενικά υγρά και άχρωμα σε θερμοκρασία δωματίου. Έχουν χαρακτηριστική οσμή, είναι συνήθως υγρά σε θερμοκρασία δωματίου και έχουν μικρή πυκνότητα, με εξαίρεση μερικές περιπτώσεις (κανέλα, σασάφρα και βετιβέρ). Έχουν δείκτη διάθλασης και πολύ υψηλή οπτική δραστηριότητα. Αυτά τα πτητικά έλαια που περιέχονται στα βότανα είναι υπεύθυνα για διαφορετικά αρώματα που εκπέμπουν τα φυτά (Dhifi et al., 2016). Ειδικότερα, πρόκειται για πολύ συμπυκνωμένα αρωματικά έλαια φυτικής προέλευσης που εξάγονται με απόσταξη ατμού, υδροδιάχυση ή πίεση. Παίρνουν τα αρώματα τους και τα θεραπευτικά τους χαρακτηριστικά από χημικά συστατικά που περιλαμβάνουν μονοτερπένια, εστέρες, αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες, φαινόλες και οξείδια (Azzaro, 2019).

Αναλυτικότερα, τα συστατικά αιθέριου ελαίου ανήκουν κυρίως στη μεγάλη πλειονότητα της οικογένειας τερπενίου (βλ. σχήμα 1). Πολλές χιλιάδες ενώσεις που ανήκουν στην οικογένεια των τερπενίων έχουν μέχρι στιγμής εντοπιστεί στα αιθέρια έλαια, όπως λειτουργικά παράγωγα αλκοολών (γερανιόλη, α-διςβολόλη), κετόνες (μενθόνη, ρ-βιτιβόνη) αλδεϋδών (κιτρονελίδιο, πυρετός), εστέρες (γ-τεντυνικός οξικός εστέρας, οξικό άλας) και φαινόλες (θυμόλη). Τα αιθέρια έλαια περιέχουν επίσης μη τερπενικές ενώσεις βιογεννημένες από την οδό φαινυλοπροπανοειδών, όπως η ευγενόλη, η κινναμαλδεΐδη και η σαφρόλη (Dhifi et al., 2016).



Σχήμα 1: Δομές ορισμένων τερπενίων
 Πηγή: Dhifi et al., (2016)

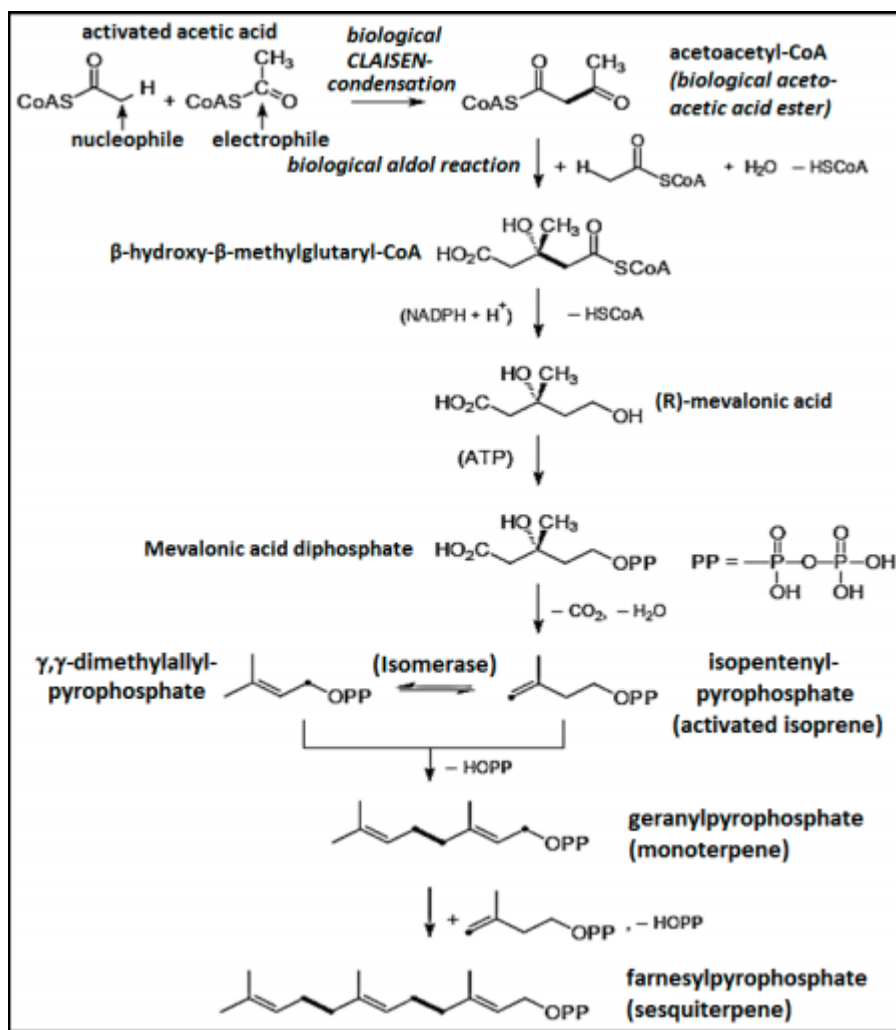
Βιογενετικά, τα τερπενοειδή και τα φαινυλοπροπανοειδή έχουν διαφορετικούς πρωτογενείς μεταβολικούς προδρόμους και παράγονται μέσω διαφορετικών βιοσυνθετικών οδών (βλ. σχήμα 2). Οι οδοί που εμπλέκονται στα τερπενοειδή είναι οι μονοβαλονικές και ανεξάρτητες από τη μεβαλονική (φωσφορική δεοξυξυλουλόζη), ενώ τα φαινυλοπροπανοειδή προέρχονται από τη στενή οδό. Ορισμένοι συγγραφείς έχουν αναθεωρήσει τα βιοσυνθετικά μονοπάτια τερπενοειδών και φαινυλοπροπανοειδών, αντίστοιχα, των ενζύμων και των ενζυματικών μηχανισμών που εμπλέκονται, και πληροφορίες σχετικά με τα γονίδια που κωδικοποιούν αυτά τα ένζυμα. Τα αιθέρια έλαια έχουν πολύ υψηλή μεταβλητότητα στη σύνθεσή τους, τόσο από ποιοτική όσο και από ποσοτική άποψη. Διάφοροι παράγοντες είναι υπεύθυνοι για αυτήν την μεταβλητότητα και μπορούν να ομαδοποιηθούν σε δύο κατηγορίες:

- Εγγενείς παράγοντες που σχετίζονται με το φυτό και αλληλεπίδραση με το περιβάλλον (τύπος εδάφους και κλίμα, κ.λπ.) και την ωριμότητα

του συγκεκριμένου φυτού, ακόμη και κατά τη συγκομιδή κατά τη διάρκεια της ημέρας,

- Εξωγενείς παράγοντες που σχετίζονται με τη μέθοδο εξαγωγής και το περιβάλλον.

Οι παράγοντες που καθορίζουν την απόδοση και τη σύνθεση αιθέριου ελαίου είναι πολυάριθμοι. Σε ορισμένες περιπτώσεις, είναι δύσκολο να απομονωθούν αυτοί οι παράγοντες μεταξύ τους, καθώς είναι αλληλένδετοι και επηρεάζουν ο ένας τον άλλον. Αυτοί οι παράμετροι περιλαμβάνουν τις εποχιακές παραλλαγές, το φυτικό όργανο και το βαθμό ωριμότητας του φυτού, τη γεωγραφική προέλευση και τη γενετική (Dhifi et al., 2016).



Σχήμα 2: Βιοσύνθεση μονοτερπενίων και σεσκιτερπενίων
 Πηγή: Dhifi et al., (2016)

Η χημική σύνθεση του ελαίου, τόσο η ποσοτική, όσο και η ποιοτική, διαφέρει ανάλογα με την τεχνική εκχύλισης. Για παράδειγμα, οι μέθοδοι υδρο-απόσταξης και απόσταξης ατμού αποδίδουν έλαια πλούσια σε τερπένους υδρογονάνθρακες. Αντιθέτως, τα εξαιρετικά κρίσιμα εκχυλισμένα έλαια περιείχαν υψηλότερο ποσοστό οξυγονωμένων ενώσεων. Τα αιθέρια έλαια είναι πολύ σύνθετα μείγματα πτητικών ενώσεων και πολλά περιέχουν περίπου 20 έως 60 μεμονωμένες ενώσεις, αν και μερικά μπορεί να περιέχουν περισσότερα από 100 διαφορετικά συστατικά, όπως αιθέρια έλαια γιασεμιού, λεμονιού και κανέλας (Djilani and Dicko, 2012).

3.2 Αιθέρια έλαια: Θεραπευτικές και φυσικές χρήσεις

Τα αιθέρια έλαια είναι φυσικά αντιμικροβιακά που έχουν τη δυνατότητα να παρέχουν μια ασφαλέστερη εναλλακτική λύση έναντι των συνθετικών αντιμικροβιακών που χρησιμοποιούνται σήμερα στη βιομηχανία τροφίμων (Rafiq et al., 2016). Εκτός από την ευρεία χρήση τους ως αρωματικών υλικών, τα αιθέρια έλαια αντιπροσωπεύουν μια «πράσινη» εναλλακτική λύση στους θρεπτικούς, φαρμακευτικούς και γεωργικούς τομείς, λόγω των αντιμικροβιακών, αντιυικών, νηματοκτόνων, αντιμυκητιακών, εντομοκτόνων και αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων ή ακόμη και δραστηριοτήτων που διεγείρουν στο νευρικό σύστημα. Συνολικά, τα συγκεντρωτικά χαρακτηριστικά έχουν ως αποτέλεσμα ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών: Τα αιθέρια έλαια έχουν προταθεί ως αντιοξειδωτικά και συντηρητικά στα τρόφιμα ή ακόμη ενσωματώνονται ως επιπρόσθετο συστατικό των τροφίμων (Turek and Stintzing, 2013).

Η χρήση φυτικών αιθέριων ελαίων στην περίπτωση των πολύτιμων ξύλων συντελεί ως προς την προστασίας τους από την υγρασία, την μόλυνση και την μυκητιασική βλάβη. Τα αιθέρια έλαια έχουν οφέλη, όπως μπορούν να παρέχουν ασφαλή και φιλικά προς το περιβάλλον συντηρητικά. Είναι αποτελεσματικά κατά των βακτηρίων, των μυκήτων και των εντόμων (Mannes, 2018).

Η δράση των αιθέριων ελαίων αρχίζει με την είσοδο στο ανθρώπινο σώμα μέσω τριών πιθανών διαφορετικών τρόπων, συμπεριλαμβανομένης της άμεσης απορρόφησης μέσω εισπνοής, κατάποσης ή διάχυσης μέσω του ιστού του δέρματος.

- **Απορρόφηση μέσω του δέρματος.** Οι ενώσεις αιθέριου ελαίου είναι λιποδιαλυτές και έτσι έχουν την ικανότητα να διαπερνούν τις

μεμβράνες του δέρματος προτού συλληφθούν από τη μικροκυκλοφορία και στραγγιστούν στην συστηματική κυκλοφορία, η οποία φθάνει σε όλα τα όργανα-στόχους.

- **Εισπνοή:** Ένας άλλος τρόπος με τον οποίο τα αιθέρια έλαια εισέρχονται στο σώμα είναι η εισπνοή. Λόγω της πτητικότητας τους, μπορούν να εισπνευστούν εύκολα μέσω της αναπνευστικής οδού και των πνευμόνων, οι οποίοι μπορούν να τους διανέμουν στην κυκλοφορία του αίματος. Γενικά, η αναπνευστική οδός προσφέρει τον πιο γρήγορο τρόπο εισόδου ακολουθούμενη από τη δερματική οδό.
- **Κατάποση:** Η από του στόματος λήψη αιθέριων ελαίων χρειάζεται προσοχή λόγω της πιθανής τοξικότητας ορισμένων ελαίων. Οι ενώσεις αιθέριου ελαίου που καταναλώνονται / ή οι μεταβολίτες τους μπορούν στη συνέχεια να απορροφηθούν και να παραδοθούν στο υπόλοιπο σώμα μέσω της κυκλοφορίας του αίματος και στη συνέχεια να διανεμηθούν σε μέρη του σώματος. Μόλις τα μόρια αιθέριου ελαίου βρίσκονται στο σώμα, αλληλοσυνδέονται με φυσιολογικές λειτουργίες με τρεις διαφορετικούς τρόπους δράσης:
 - *Βιοχημική (φαρμακολογική):* Αλληλεπιδράσεις στην κυκλοφορία του αίματος και χημική αλληλεπίδραση με ορμόνες και ένζυμα όπως το farnesene.
 - *Φυσιολογική:* Δρώντας (για παράδειγμα φυτορμόνες) σε συγκεκριμένη φυσιολογική λειτουργία. Για παράδειγμα, το αιθέριο έλαιο του μάραθου περιέχει μια μορφή ενώσεων που μοιάζουν με οιστρογόνα που μπορεί να είναι αποτελεσματικά για γυναικεία προβλήματα, όπως η γαλουχία και η εμμηνόρροια.
 - *Ψυχολογική:* Με εισπνοή, η οσφρητική περιοχή του εγκεφάλου (σωματικό άκρο) υφίσταται μια ενέργεια που προκαλείται από τα μόρια αιθέριου ελαίου και στη συνέχεια, οι χημικοί και νευροδιαβιβαστές αγγελιοφόροι παρέχουν αλλαγές στην ψυχική και συναισθηματική συμπεριφορά του ατόμου. Τα αιθέρια έλαια λεβάντας και λεμονιού είναι παραδείγματα για τις ηρεμιστικές και χαλαρωτικές τους ιδιότητες (Djilani and Dicko, 2012).

Οι φαρμακευτικές ιδιότητες των αιθέριων ελαίων των φυτών είναι γνωστές από την αρχαιότητα. Σύμφωνα με την έρευνα (1993) του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ), το 80% των ασθενών στην Ινδία, το 85% στη Βερμανία και το 90% στο Μπαγκλαντές χρησιμοποιεί τα αιθέρια έλαια ως παραδοσιακά φάρμακα. Οι λόγοι για τους οποίους χρησιμοποιούνται ως φάρμακα είναι οι εξής:

- Έχουν αντιυικές ιδιότητες χωρίς να έχουν τοξικότητα.
- Μπορούν να δράσουν ως αντιβακτηριακοί παράγοντες κατά πολλών παθογόνων βακτηριακών στελεχών.
- Συμβάλουν στη μείωση του οξειδωτικού στρες, καθώς διατηρούν αντιοξειδωτική δράση.
- Χρησιμοποιούνται για ψυχολογική και σωματική ευεξία μέσω εισπνοής και έχουν επίδραση στα εγκεφαλικά κύματα και μπορούν να αλλάξουν τη συμπεριφορά, χάρη στο άρωμα που προσδίδουν.
- Συμβάλουν στην αντιμετώπιση κολπικών λοιμώξεων.
- Παρουσιάζουν νευροτοξική επίδραση στα ακάρεα και τα έντομα (Tanu and Harpreet, 2016).

3.3 Αιθέρια έλαια δάφνης

Κατά καιρούς έχουν πραγματοποιηθεί διάφορες μελέτες για την εκτίμηση του επιπέδου των αιθέριων ελαίων της δάφνης. Σύμφωνα με την μελέτη του Verdianrizi and Hadjiakhoondi, (2008), μελετήθηκαν οι χημικές παραλλαγές του αιθέριου ελαίου από τα εναέρια μέρη του φυτού της δάφνης (*Laurus nobilis* L. - Lauraceae). Το φυτικό υλικό συλλέχθηκε σε κάθε φαινολογική κατάσταση (φυτό, πριν από την άνθηση, άνθος, σπόρος). Τα έλαια ελήφθησαν με υδρόσταξη των ξηρανθέντων στον αέρα δειγμάτων. Οι κύριες ενώσεις ήταν 1,8-κινεόλη, ένυδρο trans-σαβενένιο, οξικό α-τερπινύλιο, μεθυλ ευγενόλη, σαβενένιο, ευγενόλη και α-πινένιο (Verdianrizi and Hadjiakhoondi, 2008).

Όσον αφορά τον Caruto et al., (2017), εξετάστηκε η χημική σύνθεση του αιθέριου ελαίου από φύλλα της δάφνης *L. nobilis*, που συλλέχθηκαν στη Νότια Ιταλία. Συνολικά, ταυτοποιήθηκαν 55 ενώσεις, αντιπροσωπεύοντας το 91,6% του συνολικού αιθέριου ελαίου. Το 1,8-Cineole (31,9%), σαβενένιο (12,2%) και λινολοόλη (10,2%) ήταν τα κύρια συστατικά. Οι αντιμικροβιακές και

αντιμυκητιασικές δράσεις του αιθέριου ελαίου και του 1,8-cineole προσδιορίστηκαν *in vitro*. Η κυτταροτοξικότητα του αξιολογήθηκε έναντι της κυτταρικής σειράς SH-SY5Y, καθώς και η επίδραση του ΕΟ στην έκφραση της αδενυλικής κυκλάσης 1 (ADCY1), υποδηλώνοντας πιθανές επιδράσεις αιθέριου ελαίου στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (Carputo et al., 2017).

Στη μελέτη του El et al., (2014), ελήφθησαν τα αιθέρια έλαια δαφνών με τη χρήση μεθόδων εκχύλισης μικροκυμάτων χωρίς διαλύτες (SFME) και υδροπόσταξης (HD) από τα φύλλα και προσδιορίστηκε η αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή τους δράση. Ο χρόνος εκχύλισης μειώθηκε κατά περίπου 43% σε SFME στα 622 W και 67% σε SFME στα 249 W σε σύγκριση με την υδροστατική απόσταξη. Το αιθέριο έλαιο της δάφνης εκχυλίστηκε με SFME στα επίπεδα ισχύος 622 W (100%) και 249 W (40%) και η HD ανέστειλε την οξείδωση που δημιουργήθηκε από την ρίζα ABTS κατά 93,88%, 94,13% και 92,06%, αντίστοιχα. Ισοδύναμες αντιοξειδωτικές ικανότητες Trolox (TEAC) αιθέριων ελαίων ήταν 0,18 mM / mL λάδι για SFME στα 622 W, 1,36 mM / mL λάδι για SFME στα 249 W και 2,40 mM / mL λάδι για HD ($p < 0,05$). Τα αιθέρια έλαια της δάφνης εκχυλίστηκαν με SFME σε επίπεδα ισχύος 100% και 40% και το HD ανέστειλε την υπεροξειδωση του λινελαϊκού οξέος κατά 70,57%, 63,53% και 89,18% αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αναστολής των αιθέριων ελαίων δαφνών που ελήφθησαν από SFME σε διαφορετικά επίπεδα ισχύος και HD στην οξείδωση κατιόντων ριζών DPPH δεν ήταν σημαντικά διαφορετικά. Η ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση κατά της ρίζας DPPH βρέθηκε στο αιθέριο έλαιο που λαμβάνεται από το SFME σε επίπεδο ισχύος 100%. Τα αιθέρια έλαια παρουσίασαν αντιμικροβιακή δράση έναντι του *Staphylococcus aureus* 6538P (El et al., 2014).

Σχετικά με την μελέτη του Elkiran et al., (2018), αξιολογήθηκαν χημικές συνθέσεις αιθέριων ελαίων από σπόρους και φύλλα δάφνης (*Laurus nobilis* L.) χρησιμοποιώντας σύστημα GC-GC / MS. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, ταυτοποιήθηκαν 69 διαφορετικές ενώσεις από το 86,7% του συνολικού ελαίου από τον σπόρο, ενώ 76 ενώσεις προσδιορίστηκαν από το 95,8% του συνολικού ελαίου που εξήχθη από τα φύλλα. Οι κύριες ενώσεις αιθέριου ελαίου από σπόρους δαφνών περιλάμβαναν την ευκαλυπτόλη (17,2%), την α-τριπινυλική οξική ουσία (9,0%), το οξείδιο της καρνοφυλίνης (6,1%), τη σπαθουλενόλη (5,0%) και τη μεθυλ ευγενόλη (4,2%), που αποτελούν το 41,5% των ολικό λάδι. Ωστόσο, η ευκαλυπτόλη (18,0%), το α-τριπινυλ οξικό (13,1%), το σαβενένιο (7,8%), το α-πινένιο (4,5%), 2 (4

μεθοξυφαινυλ) η -N, N, 2-τριμεθυλ-1-πυρρολίνη (4.4 %) ταυτοποιήθηκαν ως οι κύριες ενώσεις αιθέριων ελαίων από φύλλα δάφνης, που αποτελούν το 47,8% του συνολικού ελαίου. Η ευκαλυπτόλη και ο οξικός ατερπινυλεστέρας, που ανήκουν σε μονοτερπενοειδή, προσδιορίστηκαν στις υψηλότερες συγκεντρώσεις και στα δύο έλαια (Elkiran et al., 2018).

3.4 Παραλαβή αιθέριων ελαίων

3.4.1 Είδη απόσταξης

Οι κοινές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την εξαγωγή αιθέριων ελαίων είναι:

- **Υδροαπόσταξη:** Η τεχνική περιλαμβάνει απόσταξη νερού που βρίσκεται σε άμεση επαφή με φρέσκα ή μερικές φορές αποξηραμένα φυτικά υλικά. Το φυτικό υλικό αλέθεται και ζυγίζεται και μετά μεταφέρεται στο Clevenger. Το φυτικό υλικό θερμαίνεται από δύο έως τρεις φορές το βάρος του νερού με άμεσο ατμό. Το δοχείο απόσταξης θερμαίνεται, ενώ οι υδρατμοί και το λάδι απομακρύνονται μέσω υδρόψυκτου συμπυκνωτή.
- **Υδροδιάχυση:** Η υδροδιάχυση είναι μια μέθοδος εξαγωγής αιθέριων ελαίων, όπου ο ατμός σε ατμοσφαιρική πίεση (ατμός χαμηλής πίεσης <0-1 bar) διέρχεται μέσω του φυτικού υλικού από την κορυφή του θαλάμου εξαγωγής, με αποτέλεσμα τα αιθέρια έλαια να διατηρούν το αρχικό άρωμα.
- **Ευελιξία:** Αυτή η διαδικασία ισχύει για άνθη όπως γιασεμί ή τεμπέρι, που έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο και τόσο ευαίσθητη που η θέρμανση θα καταστρέψει τα άνθη πριν απελευθερώσει τα αιθέρια έλαια. Τα πέταλα λουλουδιών τοποθετούνται σε δίσκους άοσμου φυτικού ή ζωικού λίπους που θα απορροφήσουν το αιθέριο έλαιο των λουλουδιών. Τα χρησιμοποιημένα πέταλα αφαιρούνται και αντικαθίστανται με φρέσκα. Αυτή η διαδικασία συνεχίζεται έως ότου το λίπος ή το λάδι κορεστεί με το αιθέριο έλαιο. Αυτό ονομάζεται μείγμα Enfleurage. Η προσθήκη αλκοόλ βοηθά στο διαχωρισμό του αιθέριου ελαίου από τις λιπαρές ουσίες. Στη συνέχεια, το αλκοόλ εξατμίζεται αφήνοντας μόνο το αιθέριο έλαιο, επομένως η μέθοδος enfleurage είναι η καλύτερη μέθοδος.

- **Κρύο πάτημα:** Μια άλλη μέθοδος εξαγωγής αιθέριου ελαίου που δεν έχει υψηλή εφαρμογή στην επιστημονική έρευνα είναι η ψυχρή πίεση. Χρησιμοποιείται για την παραγωγή εσπεριδοειδών ελαίων από περγαμόντο, σταφύλι, λεμόνι κ.λπ.. Τα φρούτα που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για να αποσταχθούν τα αιθέρια έλαια, τοποθετούνται πάνω σε αιχμηρές προεξοχές που βγάζουν τις φλούδες. Σε αυτή τη φάση διαπερνούν τα μικροσκοπικά σακουλάκια που περιέχουν το αιθέριο έλαιο. Ολόκληρο το φρούτο συμπιέζεται για να συμπιέσει το χυμό και να διαχωριστεί με φυγοκέντρωση.
- **Απόσταξη ατμού:** Αυτή είναι η πιο κοινή και παλαιότερη μορφή μέθοδος εξαγωγής αιθέριων ελαίων. Σε αυτήν την τεχνική, το επιθυμητό φυτό (φρέσκο ή μερικές φορές αποξηραμένο) τοποθετείται πρώτα στο δοχείο. Στη συνέχεια προστίθεται ατμός και περνά μέσα από το φυτό που περιέχει αρωματικά μόρια ή έλαια. Έπειτα, το φυτό απελευθερώνει αυτά τα αρωματικά μόρια, τα οποία τοποθετούνται μέσα σε μία συσκευή ψύξης. Το κρύο νερό χρησιμοποιείται για την ψύξη των ατμών. Καθώς κρύνονται, συμπυκνώνονται και μετατρέπονται σε υγρή κατάσταση.
- **Εκχύλιση με διαλύτη:** Αυτή η μέθοδος συντελεί στην εκχύλιση των αιθέριων ελαίων με τη χρήση διαλύτη. Ο διαλύτης που χρησιμοποιείται εξαρτάται από το μέρος του φυτού που θα χρησιμοποιηθεί για εκχύλιση. Για παράδειγμα, φύλλα, ρίζες, φρούτα εκχυλίζονται με βενζόλιο με ή χωρίς μείγμα ακετόνης ή πετρελαϊκού αιθέρα, στο κρύο ή σε σημείο βρασμού, ενώ τα άνθη εκχυλίζονται με αιθέρες. Ο διαλύτης εισέρχεται στο φυτό για να διαλύσει τα κεριά και το χρώμα του λαδιού. Μετά την εκχύλιση, ο διαλύτης απομακρύνεται με απόσταξη υπό μειωμένη πίεση αφήνοντας πίσω το ημιστερεό συμπύκνωμα. Αυτό το συμπύκνωμα εκχυλίζεται με απόλυτη αιθανόλη. Το δεύτερο εκχύλισμα ψύχεται για καθίζηση των κεριών και στη συνέχεια διηθείται. Αυτό το αλκοολικό διάλυμα χωρίς κεριά αποστάζεται υπό μειωμένη πίεση για να απομακρυνθεί το αλκοόλ και τέλος το αιθέριο έλαιο.
- **Διαδικασία υποβοηθούμενης από μικροκύματα (MAP):** Η διαδικασία MAP χρησιμοποιεί φούρνο μικροκυμάτων για να διεγείρει μόρια νερού στον φυτικό ιστό, προκαλώντας ρήξη των κυττάρων και απελευθέρωση του αιθέριου ελαίου που παγιδεύεται στο επιπλέον κυτταρικό ιστό των φυτών. Αυτή η τεχνική έχει αναπτυχθεί και αναφερθεί από πολλούς συγγραφείς, ως τεχνική

για την εξαγωγή αιθέριων ελαίων, προκειμένου να επιτευχθεί καλή απόδοση της ουσίας και να μειωθεί ο χρόνος εκχύλισης. Αυτή η τεχνική έχει επίσης εφαρμοστεί για την εξαγωγή σαπωνίνων από ορισμένα φαρμακευτικά φυτά.

- **Εκχύλιση καρβοξειδίου:** Σε αυτήν την τεχνική, το φυτικό υλικό τοποθετείται σε δοχείο υψηλής πίεσης και διοξείδιο του άνθρακα διέρχεται μέσω του δοχείου. Το διοξείδιο του άνθρακα μετατρέπεται σε υγρό και δρα ως διαλύτης για την εξαγωγή του αιθέριου ελαίου από το φυτικό υλικό. Όταν η πίεση μειώνεται, το διοξείδιο του άνθρακα επιστρέφει σε αέρια κατάσταση χωρίς να αφήνει υπολείμματα. Οι ιδιότητες του αιθέριου ελαίου που εξάγονται με οποιαδήποτε από τις τεχνικές που περιγράφονται παραπάνω εξαρτώνται από τη χημική σύνθεση του ελαίου (Hamid et al., 2011).

3.4.2 Άλλοι τρόποι παραλαβής

Τα αιθέρια έλαια που περιέχονται στα φυτικά κύτταρα απελευθερώνονται μέσω θερμότητας και πίεσης από διάφορα μέρη της φυτικής ύλης, όπως τα φύλλα, τα άνθη, τα φρούτα, τις ρίζες, το ξύλο, το φλοιό κλπ. Η εκχύλιση αιθέριων ελαίων από φυτικό υλικό μπορεί να επιτευχθεί με διάφορες μεθόδους, από τις οποίες η απόσταξη υδρο-απόσταξης και ατμού / νερού είναι η πιο κοινή μέθοδος εκχύλισης (Djilani and Dicko, 2012).

Επιπρόσθετες μέθοδοι απόσταξης είναι η στρόβιλο – απόσταξη (turbo distillation), η υδροδιαχυτική απόσταξη (hydrodiffuser) και η συνεχής απόσταξη (continuous distillation).

- *Στρόβιλο – απόσταξη:* Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή υφίσταται ένας άμβυκας, ο οποίος διατηρεί διπλά τοιχώματα, έτσι ώστε να μπορεί να περάσει ο ατμός και να επιτευχθεί η θέρμανση του περιεχομένου του. Επιπλέον, στον πυθμένα υφίσταται ένα κοπτικό όργανο (στρόβιλο), το οποίο αναλαμβάνει τον τεμαχισμό του φυτού που έχει τοποθετηθεί μέσα στο νερό. Σημειώνεται πως τα σημαντικότερα γνωρίσματα της μεθόδου αυτής είναι η περιορισμένη κατανάλωση ατμού, η υψηλή ταχύτητα απόσταξης, ο χαμηλότερος χρόνος απόσταξης, η άρτια ποιότητα αιθέριου ελαίου, η ολική παραλαβή του αιθέριου ελαίου, η καταλληλότητα της για αποστάξεις διαφόρων αρωματικών φυτών και η χωρητικότητα κατά 200-600 λίτρα.

- *Υδροδιαχυτική απόσταξη*: Βασικό γνώρισμα της μεθόδου είναι πως ο ατμός εισάγεται από πάνω προς τον πυθμένα, ενώ ο άμβυκας δεν θερμαίνεται, αλλά ψύχεται. Τη στιγμή που ο ατμός κυκλοφορήσει εντός του φυτού, θα καταλήξει στα τοιχώματα του άμβυκα και θα λάβει μία υγρή μορφή. Η μέθοδος αυτή φαίνεται να λειτουργεί με υποπίεση. Όσο για τα επιπρόσθετα γνωρίσματα της σημειώνεται ότι περιορίζει κατά 50% το χρόνο απόσταξης, την ποσότητα του ατμού και του νερού για ψύξη και το χώρο, προσδίδει άρτια ποιότητα του αιθέριου ελαίου κι έχει χωρητικότητα 500-4000 λίτρα.
- *Συνεχής απόσταξη*: Αφορά μία ακόμη τεχνική απόσταξης, κατά την οποία ο ατμός εισάγεται και ταυτόχρονα περνά είτε αντίθετα είτε προς την πορεία του φυτού (Δόρδας, 2009).

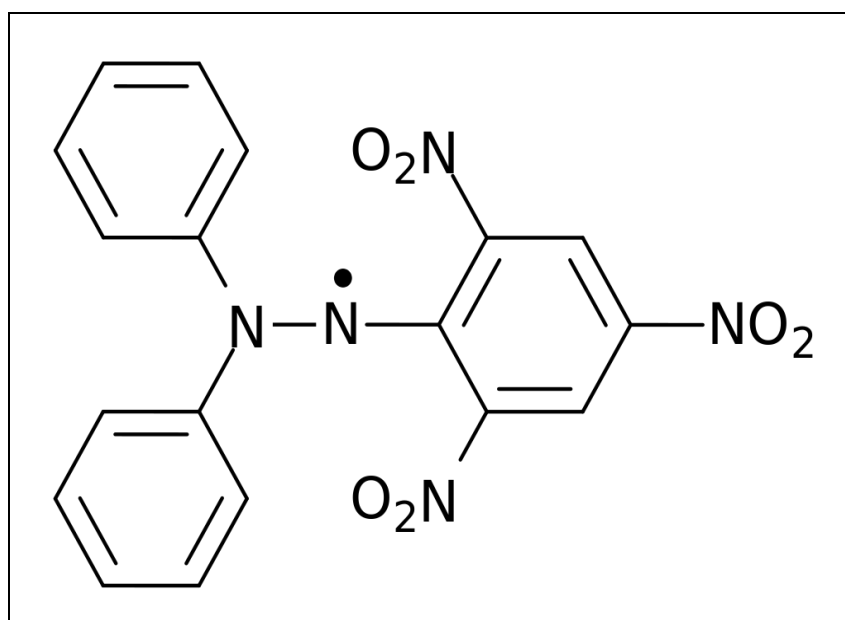
3.5 Αποθήκευση και προστασία αιθέριων ελαίων

Είναι σημαντικό να καταγραφεί ότι για την διατήρηση των αιθέριων ελαίων ενδείκνυται η λήψη κατάλληλων μέτρων αποθήκευσης και προστασίας. Με άλλα λόγια, η αποθήκευση των αιθέριων ελαίων αποτελεί τον κύριο παράγοντα διατήρησης της ποιότητας τους. Αναλυτικότερα, η αποθήκευση των αιθέριων ελαίων είναι δυνατόν να γίνει κάτω από συγκεκριμένες και κατάλληλες συνθήκες, όπως:

- *Αποθήκευση των τελικών προϊόντων σε θερμοκρασία περίπου στους 0 βαθμούς κελσίου.*
- *Καθόλου επαφή ή συνύπαρξη νερού και τελικού προϊόντος*
- *Ερμητικά κλειστά δοχεία αποθήκευσης και πολύ καλά γεμάτα ώστε να μην έρχονται σε επαφή με την ατμόσφαιρα.*
- *Οι υποδοχείς που χρησιμοποιούνται να είναι από ανοξείδωτο χάλυβα (Ζυμαρά, 2017).*

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΘΟΔΟΣ DPPH

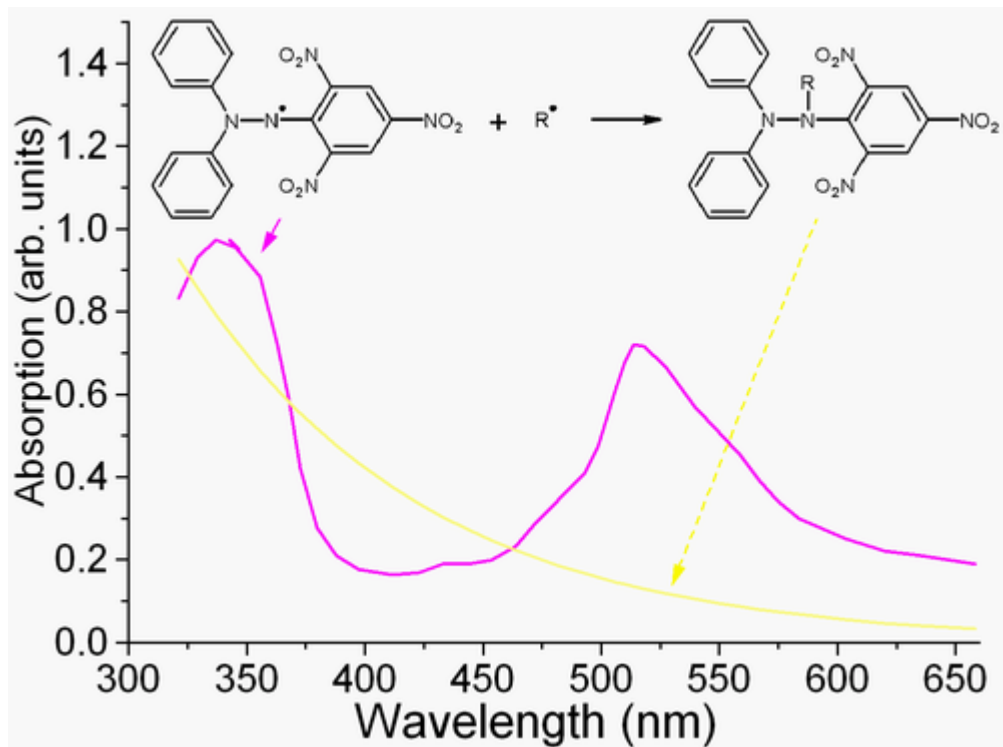
Η μέθοδος παρουσιάστηκε το 1995 από τους Brand- Williams et al., η οποία ανήκει στις ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυτικών δειγμάτων (Brand-Williams et al., 1995). Πρόκειται για μία μέθοδο που χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, βασισμένη στην ικανότητα αλληλεπίδρασης των αντιοξειδωτικών μορίων με μία από τις λίγες σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες οργανικές ρίζες αζώτου, το DPPH (2,2-δι(4-tert-οκτυλφαινυλο)-1-πυκρυλδραζύλιο).



Εικόνα 10: Το DPPH

Πηγή: <https://en.wikipedia.org/wiki/DPPH>

Η ρίζα DPPH μπορεί να αδρανοποιηθεί, είτε μέσω προσθήκης ενός ηλεκτρονίου (single electron transfer, SET) είτε μέσω προσθήκης ενός ατόμου υδρογόνου (hydrogen atom transfer, HAT) (Prior et al., 2005). Η 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλδραζύλιο (DPPH[•]) είναι μία σταθερή ρίζα, φέρει μωβ χρώμα και απορροφά στα 517nm. Όταν προστεθεί μια ουσία με αντιοξειδωτική δράση τότε η ρίζα 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλδραζύλιο (DPPH[•]) ανάγεται, και μετατρέπεται σε 1,1-διφαινυλ-2-πικρυλδραζίνη (DPPH:H).



Εικόνα 11: Η αναγωγή του DPPH σε DPPH·H
 Πηγή: <https://en.wikipedia.org/wiki/DPPH>

Η αναγωγή της ρίζας έχει σαν αποτέλεσμα, την μεταβολή του χρώματος του διαλύματος, από μωβ σε κίτρινο, μεταβολή, που είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της αντιοξειδωτικής ουσίας και την αντίστοιχη μείωση της οπτικής απορρόφησης στα 517nm. Η μεταβολή της απορρόφησης προσδιορίζεται φωτομετρικά (Ρέρη, 2010).

Η διαδικασία που ακολουθείται γενικά έχει ως εξής: Το διάλυμα DPPH σε μεθανόλη αναμιγνύεται με το διάλυμα του δείγματος σε κυψελίδα και παρακολουθείται η απορρόφηση της αντίδρασης στα 515 nm για 30 min ή μέχρι να λάβει σταθερή τιμή. Το ποσοστό (%) του DPPH που παραμένει (% DPPHrem) σε σχέση με το αρχικό $DPPH_{t=0}$ εκφράζεται ως: $\% DPPH_{rem} = 100 \times [DPPH]_{rem} / [DPPH]_{t=0}$, όπου το %DPPHrem είναι αντιστρόφως ανάλογο της συγκέντρωσης των αντιοξειδωτικών. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται με τη τιμή IC50 του αντιοξειδωτικού, διότι έτσι τα αποτελέσματα είναι ανεξάρτητα από την αρχική απορρόφηση του διαλύματος της ρίζας DPPH, δηλαδή το αρχικό σήμα. Ο χρόνος που απαιτείται για την ολοκλήρωση της αντίδρασης υπολογίζεται από την κινητική καμπύλη του DPPH με το αντιοξειδωτικό και είναι γνωστός ως T_{IC50} .

Η μέθοδος DPPH είναι τεχνικά απλή αλλά παρουσιάζει μερικά μειονεκτήματα που περιορίζουν τη χρήση της. Επίσης, αποτελεί μία πολύ σταθερή ρίζα αζώτου, που δεν δείχνει όμως ομοιότητα με τις πολύ ενεργές υπεροξυ-ρίζες που παίρνουν μέρος

στην λιπιδική υπεροξειδωση. Πολλά αντιοξειδωτικά που θα αντιδρούσαν γρήγορα με υπεροξυρίζες, αντιδρούν αργά ή καθόλου με το DPPH. Αυτό εκφράζεται με τις τιμές του T_{IC50} που κυμαίνονται μεταξύ 1,15 min για το ασκορβικό οξύ και 103 min για την ρουτίνη (rutin). Συνεπώς, η αντιοξειδωτική ενεργότητα ενός μίγματος αντιοξειδωτικών δεν μπορεί να ρυθμιστεί ή να προβλεφθεί (Pérry, 2010).

Επίσης, η κινητική μεταξύ του DPPH και των αντιοξειδωτικών δεν είναι γραμμική σε σχέση με τις συγκεντρώσεις του DPPH. Για το λόγο αυτό είναι προτιμότερο να εκφράζεται η αντιοξειδωτική ενεργότητα με χρήση της IC50. Αν και η μέθοδος φαίνεται να περιλαμβάνει μία αντίδραση μεταφοράς ατόμου υδρογόνου, πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι η αντίδραση μεταξύ φαινολών και DPPH βασίζεται σε αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίου. Το κρίσιμο στάδιο για την ταχύτητα της αντίδρασης αυτής περιλαμβάνει μία διαδικασία ταχείας μεταφοράς ηλεκτρονίου από τα φαινοξυ-ανιόντα (ArO^-) στη ρίζα DPPH. Η μεταφορά του ατόμου υδρογόνου από το ουδέτερο μόριο $ArOH$ στο DPPH γίνεται πολύ αργά σε διαλύτες που είναι ισχυροί πρωτονιοδέκτες, όπως η μεθανόλη και η αιθανόλη. Αναφέρεται επίσης ότι, η παρουσία μικρών ποσοτήτων οξέων ή βάσεων μπορεί να επηρεάσει δραματικά την ισορροπία ιονισμού των φαινολών και να προκαλέσει την μείωση ή την ενίσχυση αντίστοιχα των μετρούμενων σταθερών ταχύτητας (Μηνιώτη, 2009).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.1 Υλικά και μέθοδοι

Τα δείγματα των φύλλων Δάφνης που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη προέρχονταν από ενήλικα δένδρα που βρίσκονται εντός της έκτασης στην οποία είναι οι εγκαταστάσεις του τμήματος Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων στους Κωστακιούς Άρτας.

Τα δείγματα αυτά των φύλλων χρησιμοποιήθηκαν για να προσδιορισθεί η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του μεθανολικού τους εκχυλίσματος και του αιθέριου ελαίου τους, που προέρχεται μετά από απόσταξη των φύλλων. Και στις δύο περιπτώσεις εφαρμόστηκε η μέθοδος του DPPH.

5.2 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του μεθανολικού εκχυλίσματος των νωπών φύλλων

Η διαδικασία προσδιορισμού των ολικών αντιοξειδωτικών στην παρούσα εργασία ήταν η εξής:

- 1. Εκχύλιση αντιοξειδωτικών ουσιών:** Αρχικά γινόταν η εκχύλιση των αντιοξειδωτικών ουσιών από τα φύλλα Δάφνης. Χρησιμοποιήθηκαν τμήματα φύλλων, τα οποία τεμαχίζονταν σε όσο το δυνατό μικρά τεμαχίδια. Στην συνέχεια και μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα γινόταν προσθήκη καθαρής μεθανόλης για να πραγματοποιηθεί η εκχύλιση των αντιοξειδωτικών ουσιών. Για κάθε 100 mg φυτικού ιστού (φύλλων) χρησιμοποιήθηκαν 1 ml Μεθανόλης. Ακολούθως το μείγμα ιστών και μεθανόλης υφίστατο δόνηση (vortex) για 1 min. Έπειτα οι δοκιμαστικοί σωλήνες σφραγίζονταν με ελαστική ταινία (para-film) για την αποτροπή της εξάτμισης της μεθανόλης και αφήνονταν σε ηρεμία για 30 min. Συνολικά ελήφθησαν 40 δείγματα εκχυλίσματος από αντίστοιχα 40 τυχαία ώριμα φύλλα δάφνης.
- 2. 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.

3. Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) στα νωπά φύλλα: Πριν την προσθήκη του αντιδραστηρίου DPPH και την μέτρηση της απορρόφησης στο φασματοφωτόμετρο, το κάθε ένα εκχύλισμα των φύλλων της δάφνης αραιώθηκε σε αναλογία 1:5 με μεθανόλη, ώστε οι τιμές απορρόφησης του φασματοφωτόμετρου να βρίσκονται εντός της περιοχής ανάγνωσης του οργάνου. Ακολούθως, με την χρήση μικροπιπέτας ελήφθη ποσότητα 50 ml από το κάθε αραιωμένο εκχύλισμα φυτικών ιστών και προστέθηκε σε πλαστική κυψελίδα «ωφέλιμου» όγκου 2 ml. Στην συνέχεια γινόταν η προσθήκη 1950 ml από το 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 δείγματος και να σταθεροποιηθεί ο αποχρωματισμός του αντιδραστηρίου. Πριν την ακολουθία των μετρήσεων προηγήθηκε μηδενισμός του φασματοφωτόμετρου με καθαρή μεθανόλη και στην συνέχεια λαμβάνονταν οι μετρήσεις απορρόφησης του εκάστοτε δείγματος (τιμή απορρόφησης δείγματος σε χρόνο 30 min: A_{30}) στο φασματοφωτόμετρο. Παράλληλα γινόταν και μέτρηση από το standard διάλυμα του DPPH (μάρτυρας), η οποία αφορούσε την τιμή απορρόφησης σε χρόνο 0 min: A_0 . Οι μετρήσεις εκφράζονταν σε ποσοστό (%) μείωσης της απορρόφησης του αρχικού διαλύματος του DPPH (λόγω της παρουσίας των αντιοξειδωτικών που περιέχονταν στο εκχύλισμα των φύλλων) και μπορεί να θεωρηθεί ως ποσοστό αντιοξειδωτικής ικανότητας ($\Delta A\%$). Οι τιμές αυτές προσδιορίζονται από την σχέση:

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

Όπου:

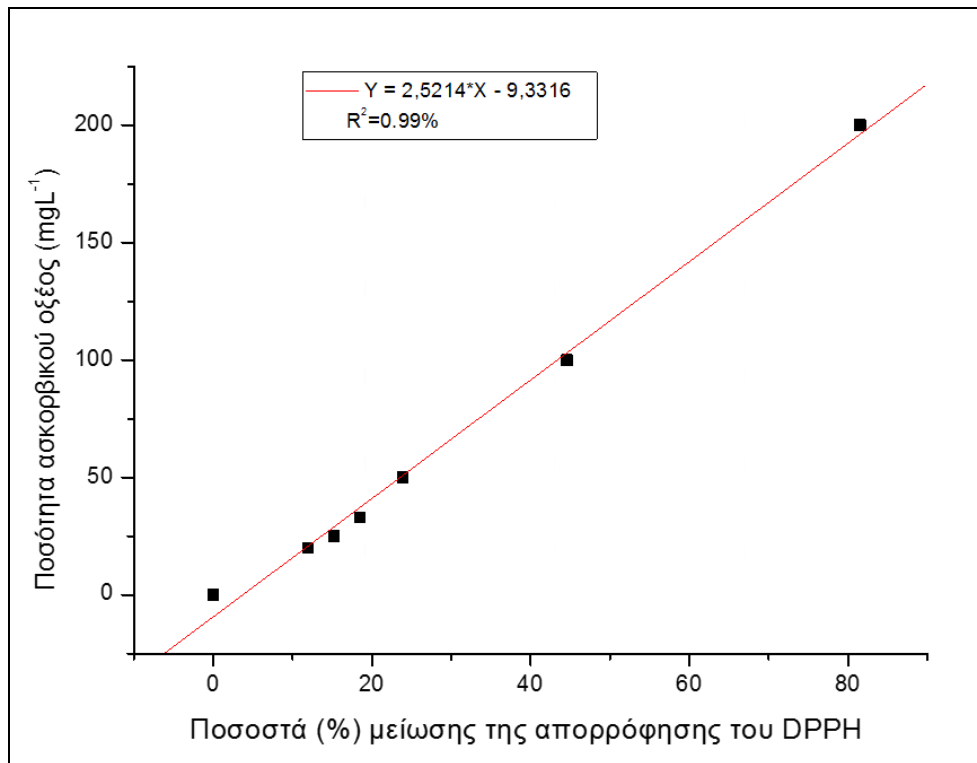
- ◆ $\Delta A\%$: Ποσοστό μείωση της απορρόφησης του αρχικού διαλύματος του DPPH.
- ◆ A_0 : Αρχική τιμή απορρόφησης του διαλύματος DPPH (μάρτυρας) ή αλλιώς απορρόφηση σε χρόνο 0.

- ♦ A₃₀: Τιμή απορρόφησης του DPPH μετά από την προσθήκη ποσότητας εκχυλίσματος των νωπών φύλλων της δάφνης, μετά από 30 min.

Οι τιμές αυτές, αν και μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την στατιστική ανάλυση και σύγκριση των διαφόρων πειραματικών μεταχειρίσεων, 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 το ίδιο αποτέλεσμα (ως ποσοστό %) αποχρωματισμού στο βασικό διάλυμα DPPH (μάρτυρα).

Στην παρούσα εργασία ως αντιοξειδωτικό αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το ασκορβικό οξύ μέσω του οποίου καταρτίστηκε καμπύλη αναφοράς που σχετίζει τα ποσοστά μείωσης της απορρόφησης του DPPH με τις συγκεντρώσεις του ασκορβικού οξέος.

Για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν συγκεντρώσεις ασκορβικού οξέος της τάξεως των 0, 20, 25, 35, 50, 100 και 200 mgL⁻¹ (χιλιοστογραμμάρια ανά λίτρο ή ppm). Από τα ανωτέρω διαλύματα ασκορβικού οξέος ελήφθησαν ποσότητες των 50 μl, οι οποίες αντέδρασαν με 1950 μl από το βασικό διάλυμα των 60 μΜol του DPPH. Η καμπύλη αναφοράς που προέκυψε από τις μετρήσεις αυτές παρουσιάζεται στο γράφημα της παρακάτω εικόνας.



Γράφημα 1: Σχέση μεταξύ ποσότητας ασκορβικού οξέος και μείωσης του ποσοστού απορρόφησης του διαλύματος των 60 μMol του DPPH

Η εξίσωση παλινδρόμησης

$$Y = 2,5214 * X - 9,3316 \quad (R^2=0,99)$$

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

Δεδομένου ότι πριν την μέτρηση των δειγμάτων προηγήθηκε αραίωση του χυμού τους κατά 5 φορές (αραίωση 1/5), οι τιμές αντιστοίχησης σε ισοδύναμα ασκορβικού οξέος που προκύπτουν από την παραπάνω γραμμική σχέση όταν πολλαπλασιαστούν επί 5 φορές, αποδίδουν την ισοδύναμη ποσότητα σε ασκορβικό οξύ που περιέχεται σε 1 λίτρο εκχυλίσματος, που δυνητικά προκύπτει από 100 gr. νωπών φύλλων δάφνης.



Εικόνα 12: Ζυγαριά ακριβείας



Εικόνα 13: Πλαστική κυβελίδα πριν την τοποθέτησή της στο φασματοφωτόμετρο UV

5.3 Προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του αιθέριου ελαίου της δάφνης με τη μέθοδο DPPH

5.3.1 Απόσταξη και παραλαβή του αιθέριου ελαίου (δαφνέλαιου) από τα φύλλα της δάφνης

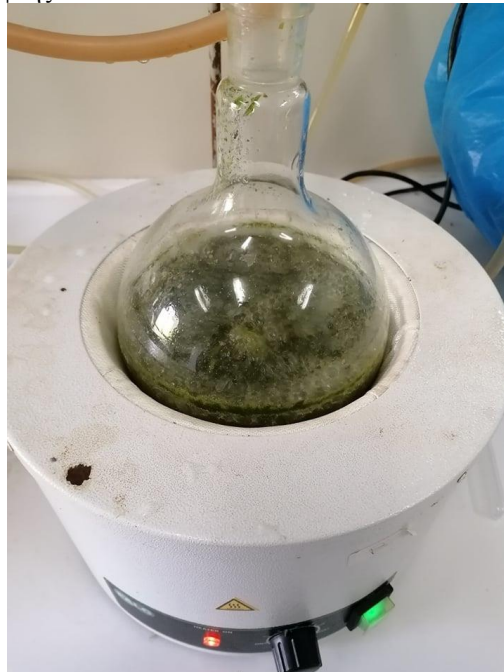
Στα πλαίσια του Πειράματος Απόσταξης ακολουθήσαμε τα παρακάτω βήματα:

- ◆ Αρχικά συλλέχθηκε μια ποσότητα φύλλων δάφνης περίπου 500 g. Η συλλογή των φύλλων πραγματοποιήθηκε κατά τις πρωινές ώρες της ημέρας (07:00-11:00)
- ◆ Στην συνέχεια τα δείγματα των φύλλων πολτοποιήθηκαν με την χρήση ηλεκτρικού πολτοποιητή (μπλέντερ).
- ◆ Ακολούθως μία ποσότητα 50 g τοποθετήθηκε στον άμβικα της αποστακτικής συσκευής τύπου Clevenger
- ◆ Προστέθηκαν 1.000 ml απεσταγμένο νερό στον άμβικα, για την πραγματοποίηση της απόσταξης του δείγματος των φύλλων.
- ◆ Αρχικά για 30 min, η θέρμανση του άμβικα έγινε με την μέγιστη ισχύ και ακολούθως για 90 min με την μείωση στο ήμισυ της ισχύος.
- ◆ Η διαδικασία της απόσταξης επαναλήφθηκε και σε δεύτερη ποσότητα των 50g πολτού φύλλων.

Στη συνέχεια και για κάθε ένα από δύο δείγματα, μετρήθηκε ο όγκος (σε ml) των αιθέριων ελαίων που αποστάχθηκαν, αφαιρέθηκε η τυχόν υγρασία με την χρήση άνυδρου θεικού Νατρίου (Na_2SO_4) και τέλος το αιθέριο έλαιο αποθηκεύτηκε σε γυάλινο φιαλίδιο στον υπερκείμενο χώρο του οποίου, διοχετεύτηκε αέριο άζωτο (N_2) για να αποφευχθεί η οξείδωση των ευαίσθητων συστατικών και η αλλοίωση της σύστασής του και διατηρήθηκε σε θερμοκρασία 4 °C μέχρι να αναλυθεί.



Εικόνα 14: Ζύγισμα της Δάφνης



Εικόνα 15: Τοποθέτηση της Δάφνης σε γυάλινα δοχεία



Εικόνα 16: Συσκευή απόσταξης



Εικόνα 17: Συσκευή αφαίρεσης αζώτου

5.3.2 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) στο αιθέριο έλαιο

Στην περίπτωση του δαφνέλαιου ως βασικό (standard) αντιδραστήριο χρησιμοποιήθηκε διάλυμα ποσότητας 130 μMol DPPH σε οξικό αιθυλεστέρα (διαλύεται ποσότητα 5 mg DPPH σε 100 ml οξικού αιθυλεστέρα). Το διάλυμα αυτό έχει ένα έντονο πορφυρό χρωματισμό και σε φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους, παρουσιάζει στην παραπάνω συγκέντρωση τιμές απορρόφησης της τάξεως του 1,2 περίπου, σε μήκος κύματος των 515 nm. Από το αιθέριο έλαιο της δάφνης ελήφθησαν ποσότητες της τάξεως των 2,8 mg, 6 mg, 9 mg και 12 mg, οι οποίες τοποθετήθηκαν σε υάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες των 5 mL. Ακολούθως έγινε προσθήκη 4 mL του αντιδραστηρίου του DPPH και αμέσως μετά ανάδευση και σφράγιση των δοκιμαστικών σωλήνων με parafilm και τοποθέτηση των σωλήνων σε σκοτεινό μέρος (Μηγιώτη, 2009). Οι αντιοξειδωτικές ουσίες που περιέχονται στα δείγματα του ελαιόλαδου αντιδρούν με το DPPH ποσοτικά και προκαλούν αποχρωματισμό του αντιδραστηρίου.



Εικόνα 18: Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 5 mL κατά την διαδικασία αντίδρασης των αντιοξειδωτικών ουσιών του αιθέριου ελαίου της δάφνης με το DPPH

Μετά από 60 min το περιεχόμενο εκάστου δοκιμαστικού σωλήνα μεταφερόταν σε υάλινη κυψελίδα του φασματοφωτόμετρου και καταγραφόταν η ένδειξη του οργάνου. Ο μηδενισμός του φασματοσφωτόμετρου γινόταν με καθαρό αιθυλεστέρα. Παράλληλα με την μέτρηση του κάθε δείγματος έγινε και μέτρηση της απορρόφησης του standard διαλύματος του DPPH, ως μάρτυρας (A_0). Τα

αποτελέσματα της μείωσης της απορρόφησης του DPPH (A_{60}) λόγω της ποσότητας των αντιοξειδωτικών που περιέχονταν στις τέσσερις ποσότητες δαφνέλαιου εκφράζονταν ως ποσοστό ($\Delta A\%$) μείωσης της απορρόφησης του αρχικού διαλύματος του DPPH (A_0), σύμφωνα με την ίδια αλγεβρική που χρησιμοποιήθηκε και στον υπολογισμό της TAC του εκχυλίσματος των νωπών φύλλων με μόνη την διαφορά ότι στην περίπτωση του αιθέριου ελαίου, ο χρόνος αντίδρασης ήταν 60 min.



Εικόνα 19: Φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους

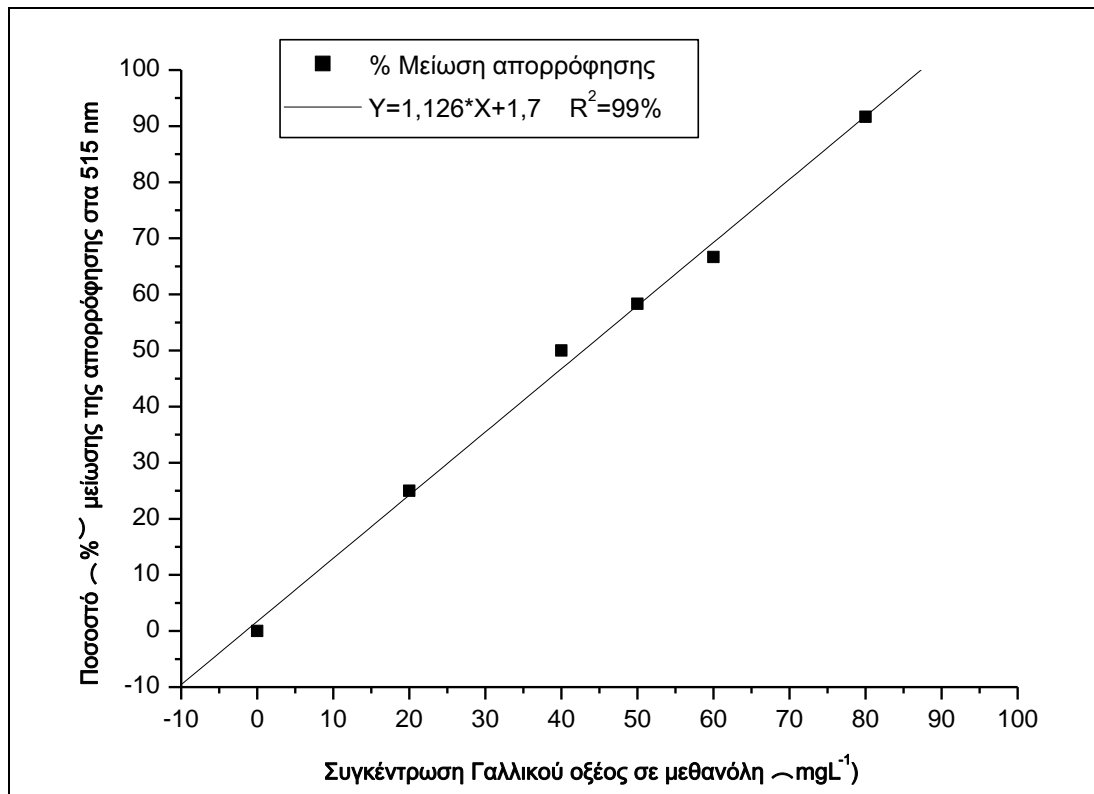
Από τις τέσσερις τιμές ποσοστών μείωσης της απορρόφησης της αρχικής τιμής του DPPH στο φασματοφωτόμετρο (515 nm) και οι οποίες αντιστοιχούν στις τέσσερις ποσότητες δαφνέλαιου που χρησιμοποιήθηκαν, καταρτίστηκε η χαρακτηριστική καμπύλη του δαφνέλαιου που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία και η οποία συσχετίζει την ποσότητα του αιθέριου ελαίου, με την ελάττωση της απορρόφησης του standard αντιδραστηρίου του DPPH στα 515 nm (και κατ' επέκταση με έμμεσο τρόπο με την ολική αντιοξειδωτική του ικανότητα).

Η καμπύλη αυτή είναι ευθεία γραμμή και η εξίσωση της γραμμικής παλινδρόμησης των τιμών απορρόφησης στα 515 nm πάνω στην ποσότητα του δαφνέλαιου, αποδίδει αλγεβρικά την σχέση μεταξύ ποσότητας αιθέριου ελαίου και ποσοστού μείωσης της απορρόφησης του DPPH.

Από την γραμμική εξίσωση, υπολογίσθηκε η ποσότητα εκείνη του δαφνέλαιου, η οποία προκαλεί μείωση κατά 50% της αρχικής απορρόφησης του standard διαλύματος του DPPH (των 4 mL) ή αλλιώς IC_{50} (Inhibitory Concentration 50%). Η τιμή αυτή ανάγεται στην αντίστοιχη ποσότητα μιας γνωστής αντιοξειδωτικής ουσίας, όπως είναι το Γαλλικό οξύ, που έχει το ίδιο αποτέλεσμα

στην μείωση της απορρόφησης του αντιδραστηρίου του DPPH (ελάττωση κατά 50%), ονομάζεται «Ισοδύναμο Γαλλικού Οξέος» και αριθμητικά εκφράζεται είτε σε mMol είτε σε mg Γαλλικού Οξέος ανά kg αιθέριου ελαίου.

Για την αντιστοίχιση αυτή πρώτα καταρτίστηκε πρότυπη καμπύλη (ευθεία) που σχετίζει την ποσότητα του Γαλλικού οξέος σε διάλυμα με μεθανόλη (mgL^{-1}), σε συνάρτηση με την μείωση του ποσοστού της απορρόφησης ποσότητας 4 mL του standard διαλύματος του DPPH, μετά από την αντίδραση του γαλλικού οξέος με το DPPH. Για την υλοποίηση της καμπύλης αναφοράς του Γαλλικού οξέος χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα Γαλλικού οξέος σε μεθανόλη με συγκεντρώσεις 20, 40, 50, 60, και 80 mgL^{-1} . Από το κάθε διάλυμα ελήφθησαν ποσότητες των 170 μL , που τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες των 5 mL. Ακολούθως έγινε η προσθήκη των 4 mL του standard διαλύματος του DPPH και τοποθετήθηκαν σε σκοτεινό μέρος. Μετά από 60 min έγινε η μέτρηση της απορρόφησης του κάθε διαλύματος και υπολογίστηκε το ποσοστό μείωσης της απορρόφησης του. Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται η πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος – DPPH, που προσδιορίστηκε στην παρούσα μελέτη.



Γράφημα 2: Σχέση μεταξύ των ποσοστών της μείωσης της απορρόφησης του διαλύματος 130 μMol του DPPH σε μήκος κύματος 515 nm και της συγκέντρωσης (mgL^{-1}) του Γαλλικού οξέος σε καθαρή μεθανόλη

Σύμφωνα με την παραπάνω εξίσωση της γραμμικής παλινδρόμησης των τιμών των ποσοστών μείωσης της απορρόφησης του φωτός των 515 nm από το DPPH, πάνω στις τιμές της συγκέντρωσης του Γαλλικού οξέος, η κατά το ήμισυ μείωση των ποσοστών απορρόφησης αντιστοιχεί σε συγκέντρωση γαλλικού οξέος της τάξεως των 40 mgL^{-1} . Επομένως η ποσότητα γαλλικού οξέος που περιέχεται στα 170 mL (που χρησιμοποιήθηκαν για να αντιδράσουν με τα 4mL του standard διαλύματος του DPPH) θα είναι:

$$\frac{170 \times 40}{10^6} = 68 \times 10^{-4} \text{mg GA}$$

Η ποσότητα αυτή του Γαλλικού οξέος (GA) αντιστοιχεί στην ποσότητα του αιθέριου ελαίου που προκαλεί ελάττωση κατά 50% της απορρόφησης των 4mL του standard διαλύματος του DPPH. Με αναγωγή της ποσότητας αυτής (της τάξεως των mg) στο kg, προκύπτει η Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα που αφορά το αιθέριο έλαιο της δάφνης που χρησιμοποιήθηκε στην εργασία (Total Antioxidant Capacity - TAC), εκπεφρασμένη σε ισοδύναμο Γαλλικού οξέος.

Για παράδειγμα, έστω ότι ποσότητα Q mg από ένα δείγμα αιθέριου ελαίου προκαλούν μείωση κατά 50% της απορρόφησης του διαλύματος του DPPH (με άλλα λόγια $IC_{50} = Q$), τότε η ποσότητα (TAC) γαλλικού οξέος (GA) που αντιστοιχεί στο kg αυτού του δείγματος αιθέριου ελαίου θα είναι:

$$TAC = \frac{68 \times 10^{-4} \times 10^6}{IC_{50}} = \frac{68 \times 10^2}{IC_{50}} \text{ mg GA / kg αιθέριου ελαίου}$$

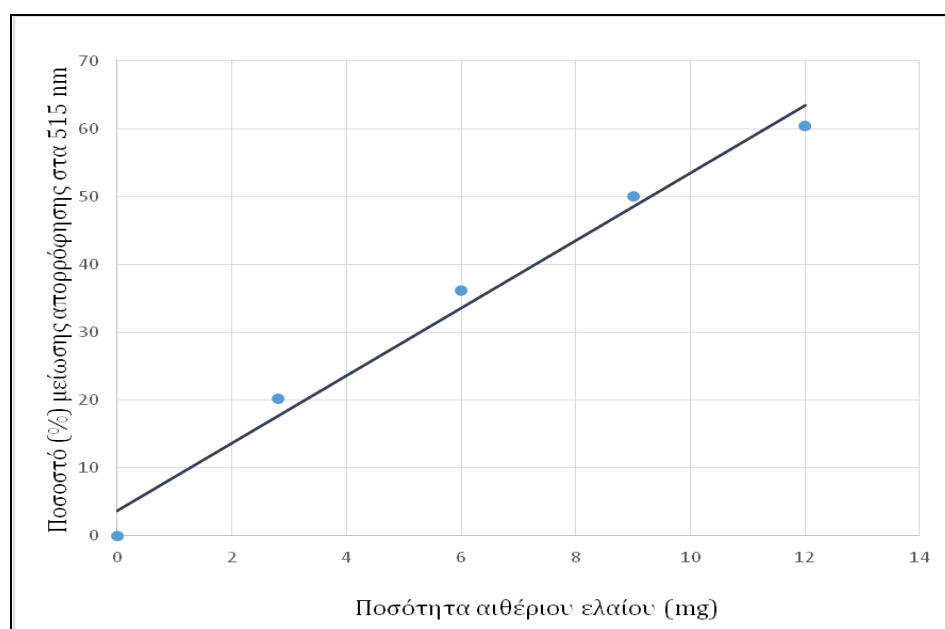
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.1 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) των φύλλων της δάφνης

Για τον προσδιορισμό της TAC των φύλλων της δάφνης πραγματοποιήθηκαν συνολικά 40 μετρήσεις της απορρόφησης του φωτός στα 515 nm, από διαφορετικά δείγματα φύλλων. Η μέση περιεκτικότητα σε ισοδύναμη ποσότητα ασκορβικού οξέος που προσδιορίστηκε από τις μετρήσεις αυτές ήταν $505,4 \pm 24,8$ mg / 100 g νωπών φύλλων και ο συντελεστής παραλλακτικότητας των μετρήσεων ($CV = \text{τυπική απόκλιση} / \text{μέσος} \times 100$) ήταν $CV = 31$ %.

6.2 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) του αιθέριου ελαίου της δάφνης

Στο παρακάτω γράφημα παρουσιάζεται η χαρακτηριστική καμπύλη μείωσης της απορρόφησης του DPPH για το αιθέριο έλαιο της δάφνης που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία.



Γράφημα 3: Χαρακτηριστική καμπύλη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (μεταβολής του ποσοστού απορρόφησης του διαλύματος του DPPH), για το δείγμα αιθέριου ελαίου από τα φύλλα της δάφνης

Όπως ήδη έχει αναφερθεί η σχέση μεταξύ ποσότητας αιθέριου ελαίου και ποσοστού μείωσης της απορρόφησης του φωτός σε μήκος κύματος 515 nm από το

αντιδραστήριο του DPPH, όταν αντιδρά με τις αντιοξειδωτικές ουσίες του αιθέριου ελαίου, είναι γραμμική και αποδίδεται με μια αλγεβρική εξίσωση πρώτου βαθμού. Η εξίσωση αυτή περιγράφει την παλινδρόμηση των ποσοστών μείωσης της απορρόφησης του φωτός πάνω στις τιμές της ποσότητας του αιθέριου και αποδίδεται με την παρακάτω εξίσωση:

$$Y = 4,9842 \times X + 3,6273 \quad R^2 = 0,9836 \text{ ή } 98,3\%$$

Όπου Y: Ποσοστό μείωσης της απορρόφησης του φωτός

X: Ποσότητα αιθέριου ελαίου

R²: Το ποσοστό της ολικής παραλλακτικότητας που εξηγεί η παλινδρόμηση

Στην παραπάνω εξίσωση αν θέσουμε ως Y = 50, η τιμή του X που προκύπτει μας δίνει την τιμή της IC₅₀, δηλαδή την ποσότητα εκείνη του αιθέριου ελαίου που ελαττώνει κατά 50% την απορρόφηση των 4 mL DPPH, συγκέντρωσης 130 μmol. Στην περίπτωση του δαφνέλαιου που χρησιμοποιήθηκε στην εργασία υπολογίζεται IC₅₀ = 9,3 mg.

Σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη απορρόφησης φωτός του Γαλλικού οξέος, η IC₅₀ προσδιορίζεται στα 68×10⁻⁴ mg GA και είναι εκείνη η ποσότητα που προκαλεί το ίδιο αποτέλεσμα στην μείωση της απορρόφησης του φωτός από το DPPH που προκαλείται από τα 9,3 mg του δαφνέλαιου. Με άλλα λόγια αν υποθετικά οι αντιοξειδωτικές ουσίες που περιέχονταν στο δαφνέλαιο ήταν το GA, τότε σε κάθε 9,3 mg δαφνέλαιου θα περιέχονταν 68×10⁻⁴ mg Γαλλικού οξέος. Συνεπώς στο kg (TAC) δαφνέλαιου θα αντιστοιχούν :

$$TAC = \frac{68 \times 10^{-4} \times 10^6}{9,3} = 731 \text{ mg GA/kg δαφνέλαιου}$$

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα μπορούμε να συμπεράνουμε ότι:

- ♦ Τα φύλλα της δάφνης περιέχουν σε νοπή κατάσταση μεγάλες ποσότητες αντιοξειδωτικών ουσιών, οι οποίες στην παρούσα εργασία υπολογίσθηκαν σε περίπου 5 g ισοδύναμης ποσότητας ασκορβικού οξέος ανά χιλιόγραμμο νοπού βάρους των φύλλων. Συγκριτικά να αναφέρουμε ότι σε φύλλα αντράκλας (Portulaca

oleracea) και σε προσδιορισμούς που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο εργαστήριο της σχολής Γεωπονίας, οι αντίστοιχες ισοδύναμες ποσότητες σε ασκορβικό οξύ ήταν περίπου 0,5 g ανά χιλιόγραμμο νωπών φύλλων (Ζώτου και Στέφου, 2019).

- ◆ Αντίθετα το αιθέριο έλαιο της δάφνης περιέχει συγκριτικά λιγότερες αντιοξειδωτικές ουσίες από άλλα αρωματικά φυτά. Στην παρούσα εργασία οι αντιοξειδωτικές ουσίες του δαφνέλαιου υπολογίσθηκαν σε 0,7 g (731 mg /kg) ισοδύναμης ποσότητας Γαλλικού οξέος ανά χιλιόγραμμο δαφνέλαιου. Σε αντίστοιχους προσδιορισμούς το αιθέριο έλαιο της ρίγανης, που έγιναν στο ίδιο εργαστήριο, περιείχε πάνω από 4 g ισοδύναμης ποσότητας σε Γαλλικό οξύ ανά kg ριγανέλαιου (αδημοσίευτα δεδομένα).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική

1. Γκίζας Ν., (2012), Πειραματικά ποιοτικά δεδομένα του αυτοφυούς φυτού "*Corydothymus capitatus*" (Θυμάρι) στην περιοχή Τσαμαντά Φιλιατών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
2. Δόρδας Χ., (2009), Συμπληρωματικές σημειώσεις για το μάθημα των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
3. Ζαρογιάννη Ε., (2017), Οξειδωτικό στρες, ο ένοχος σιγά – σιγά αποκαλύπτεται
4. Ζουρνατζής Α., (2019), Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά της Σάμου και οι θεραπευτικές τους ιδιότητες, Πτυχιακή Διατριβή, ΤΕΙ Κρήτης
5. Ζυμαρά Α., (2017), Οικονομοτεχνική μελέτη εκμετάλλευσης ενός νέου παραγωγού προϊόντος στο χώρο της κοσμετολογίας και της αρωματοθεραπείας, Πανεπιστήμιο Αιγαίου
6. Ζώτου Α., Στέφου Ε., (2019), Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας σε φυτά της *Portulaca oleracea* που καλλιεργήθηκαν σε συνθήκες σκίασης, Πτυχιακή εργασία, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Τμήμα Γεωπονίας
7. Κουκ Μ.Κ., (2003), Ελληνικά αρωματικά φυτά: χρήσεις και έρευνα, ΕΘΙΑΓΕ, 14, 21-24
8. Κοκκίνη Σ. (2008-2009), Φυτικά Προϊόντα Βιολογικώς Δραστικά, Φαρμακευτικά – Αρωματικά Φυτά, Πανεπιστημιακό Τυπογραφείο. Θεσσαλονίκη
9. Μηνιώτη Α., (2009), Ανάπτυξη νέων μεθόδων προσδιορισμού ολικής αντιοξειδωτικής ενεργότητας και εφαρμογή στο ελαιόλαδο. Διδακτορική διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
10. Νικολοπούλου Ε., (2018), Δαφνέλαιο: ένας σύμμαχος των γυναικών για λαμπερά μαλλιά και νεανικό πρόσωπο και σώμα - Ποια τα οφέλη του
11. Παπάζογλου Σ., (2017), Δάφνη (*Laurus nobilis*). Θάμνοι για τον Κήπο
12. Ρέρη Ε., (2010), Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης εκχυλισμάτων από μέντα, φασκόμηλο και τσάι με συνδυασμό *in vitro* μεθόδων, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ξενόγλωσση

1. 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
2. Anwar H., Hussain G., Mustafa I., (2018), Antioxidants from Natural Sources, Licensee IntechOpen, 4-28
3. Atta E., Mohamed N., Abdelgawad A., (2017), Antioxidants: an overview on the natural and synthetic types, Eur. Chem. Bull., 6(8), 365-375
4. Aziz M., Diab A., Mohammed A., (2019), Antioxidant Categories and Mode of Action
5. Azzaro K., (2019), A peek into safe use of essential oils, Pharmacy Today, 22-23
6. Batool S., Khera R., Hanif M., Ayub M., (2020), Bay Leaf, Medicinal Plants of South Asia, 63–74
7. 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
8. Brand-Williams W., Cuvelier M., Berset C., (1995), Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, Food Science and Technology, Volume 28, Issue 1, 25-30
9. Butnariu M., Sarac I., (2018), Essential Oils from Plants, Journal of Biotechnology and biomedical science, Vol-1, Issue 4, 35-43
10. Caputo L., Nazzaro F., Souza L., Aliberti L., Martino L., Fratianni F., Coppola R., De Feo V., (2017), *Laurus nobilis*: Composition of Essential Oil and Its Biological Activities, Molecules, 22, 930, 1-11
11. Carruba A., la Torre R., Matranga A., (2002), International Conference on Medicinal and Aromatic Plant Production in the 21st Century: “Cultivation trials of some aromatic and medicinal and medicinal plants in a semiarid Mediterranean environment, Acta Hort. 576, 247-249
12. 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

13. Dhifi W., Bellili S., Jazi S., Bahloul N., Mnif W., (2016), Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review, *Medicines*, 3, 25, 1-16
14. Djilani A., Dicko A., (2012), The Therapeutic Benefits of Essential Oils, *Nutrition, Well-Being and Health*, 155-178
15. El S., Karagozlu N., Karakaya S., Sahin S., (2014), Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils Extracted from *Laurus nobilis* L. Leaves by Using Solvent-Free Microwave and Hydrodistillation, *Food and Nutrition Sciences*, 5, 97-106
16. Elkiran O., Akbaba E., Bagci E., (2018), Constituents of essential oils from leaves and seeds of *Laurus Nobilis* L.: a chemotaxonomic approach, *Bangladesh J. Bot.* 47(4), 893-901
17. Erat A., Tekocak S., Yilmazer C., Bilir N., (2016), Yield and characteristics of leaf in bay laurel (*Laurus nobilis* L.) populations, *Research & Reviews in BioSciences*, Volume 11, Issue 1, 5-9
18. Fidan H., Stefanova G., Kostova I., Stankov S., Damyanova S., Stoyanova A., Zheljazkov V., (2019), Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Laurus nobilis* L. Essential Oils from Bulgaria, *Molecules*, 24, 804, 1-10
19. Hamid A., Aiyelaagbe O., Usman A., (2011), Essential oils: its medicinal and pharmacological uses, *International Journal of Current Research*, Vol. 33, Issue, 2, 86-98
20. Hector J., Simon J., Ramboatiana R., Behra O., Garvey A., Raskin I., (2004), Malagasy Aromatic Plants: Essential Oils, Antioxidant and Antimicrobial Activities, Publication supported by Can. Int. Dev. Agency (CIDA), 77-81
21. Hend E., Ibrahim M., Mohamed M., (2018), Effect of Post Harvest Storage on the Oil Constituents of *Laurus Nobilis* L. Plant, *Journal of Materials and Environmental Sciences*, Volume 9, Issue 6, 1735-1740
22. Konstantinidou E., Takos I., Merou T., (2008), Desiccation and storage behavior of bay laurel (*Laurus nobilis* L.) seeds, *Eur J Forest Res*, 127, 125–131
23. 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

24. Mamta, Misra K., Dhillon G., Brar S., Verma M., (2014), Antioxidants, Springer Science+Business Media New York, 1-26
25. Mannes T., (2018), Plant essential oils for environment – friendly protection of wood objects against fungi, *Maderas. Ciencia y tecnología* 20(3), 325 – 332
26. 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
27. Naeem A., Abbas T., Ali M., Hasnain A., (2018), Essential Oils: Brief Background and Uses, *Annals of Short Reports*, Volume 1, Issue 1, 1-6
28. Ozogul I., Polat A., Ozogul Y., Boga E., Ozogul F., Ayas D., (2014), Effects of laurel and myrtle extracts on the sensory, chemical and microbiological properties of vacuum-packed and refrigerated European eel (*Anguilla anguilla*) fillets, *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 847–853
29. 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
30. Prior R., Wu X., Schaich K., (2005), Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 4290–4302
31. Qazi M., Molvi K., (2018), Free Radicals and their Management, *American Journal of Pharmacy & Health Research*, 6(04), 1-11
32. Rafiq R., Hayek S., Anyanwu U., Hardy B., Giddings V., Ibrahim S., Tahergorabi R., Kang H., (2016), *Foods*, 5, 28, 1-12
33. Ramos C., Teixeira B., Batista I., Matos O., Serrano C., Neng N., Nogueira J., Nunes M., Marques A., (2006), Antioxidant and antibacterial activity of essential oil and extracts of bay laurel *Laurus nobilis* Linnaeus (Lauraceae) from Portugal, *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 26:6, 518-529
34. Rodríguez-Sa´nchez F., Guzmán B., Valido A., Vargas P., Arroyo J., (2009), Late Neogene history of the laurel tree (*Laurus L.*, Lauraceae) based on phylogeographical analyses of Mediterranean and Macaronesian populations, *Journal of Biogeography*, J. Biogeogr 36, 1270–1281

35. Salehi B., Martorell M., Arbiser J., Sureda A., Martins N., Maurya P., Sharifi-Rad M., Kumar P., Sharifi-Rad J., (2018), Antioxidants: Positive or Negative Actors?, *Biomolecules*, 8, 124, 1-11
36. Sanchita, Sharma A., (2017), Bay Laurel, Kruger Brentt Publishers
37. Santos-Sánchez N., Salas-Coronado R., Villanueva-Cañongo C., Hernández-Carlos B., (2019), Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism
38. Słowianek M., Leszczyńska J., (2016), Antioxidant properties of selected culinary spices, *Herba Pol*, 62(1), 29-41
39. Steflitsch W., Steflitsch M., (2008), Clinical aromatherapy, *Journal of Men's Health*, Volume 5, Issue 1, 74-85
40. Tanu B., Harpreet K., (2016), Benefits of essential oil, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(6), 143-149
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
42. Turek C., Stintzing F., (2013), Stability of Essential Oils: A Review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol.12, 40-53
43. Yilmaz E., Timur M., Aslim B., (2013), Antimicrobial, Antioxidant Activity of the Essential Oil of Bay Laurel from Hatay, Turkey, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 108 – 116
44. Verdianrizi M., Hadjiakhoondi A., (2008), Essential Oil Composition of *Laurus nobilis* L. of Different Growth Stages Growing in Iran, *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, Tübingen, 785-788

Λιαδίκτυο

1. https://leafnetworkkaz.org/resources/PLANT%20PROFILES/Bay_laurel_profile.pdf, Προσπέλαση της σελίδας στις 22/5/2020
2. [http://www.moa.gov.cy/moa/fd/fd.nsf/7DBA831578C5A6DCC22581070041826F/\\$file/ATXUKBA.pdf](http://www.moa.gov.cy/moa/fd/fd.nsf/7DBA831578C5A6DCC22581070041826F/$file/ATXUKBA.pdf), Προσπέλαση της σελίδας στις 22/5/2020
3. <https://prwtokoudouni.weebly.com/uploads/2/1/5/3/21535154/%CE%B4%CE%B1%CF%86%CE%BD%CE%B9.pdf>
4. <https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/BIO348/%CE%A4%CE%AC%CE%BE%CE%B7%20Laurales%20LAURACEAE.pdf>, Προσπέλαση της σελίδας στις 22/5/2020

5. <https://www.artimondo.co.uk/magazine/bay-laurel-history-uses-and-properties/>, Προσπέλαση της σελίδας στις 22/5/2020
6. <https://www.nutrition-and-you.com/bay-leaf.html>
7. <https://www.proionta-tis-fisis.com/lista-trofon-me-antioxidotiki-drasi/>
8. <https://en.wikipedia.org/wiki/DPPH#/media/File:DPPHreact.png>
9. <https://en.wikipedia.org/wiki/DPPH>