



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΝΙΝΟΥ ΣΤΕΛΛΑ
15168
ΠΡΟΚΟΠΗΣ
ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ
15148

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΦΥΛΛΩΝ
ΕΛΙΑΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ
ΔΡΑΣΗΣ



ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2021 | ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΒΑΛΕΝΤΙΝΑ ΣΤΕΦΑΝΟΥ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ : ΒΑΛΕΝΤΙΝΑ ΣΤΕΦΑΝΟΥ

ΜΕΛΟΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : ΔΗΜΗΤΡΑ ΧΟΥΧΟΥΛΑ

ΜΕΛΟΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : ΔΙΟΝΥΣΙΟΣ ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΣ

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ/ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο/χ/κάτωθι υπογεγραμμένος/χ/ΠΡΟΚΟΠΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ του ΠΑΝΑΓΙΩΤΗ, με αριθμό μητρώου 15148 φοιτητής/τρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ του Τμήματος ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο/Η Δηλών/ούσα



ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ/ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο/η κάτωθι υπογεγραμμένος/η ΝΙΝΟΥ ΣΤΕΛΛΑ του ΔΗΜΗΤΡΙΟΥ, με αριθμό μητρώου 15168 φοιτητής/τρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ του Τμήματος ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο/Η Δηλών/ούσα



Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	9
ΣΚΟΠΟΣ.....	10
ABSTRACT	11
A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	12
1. ΕΛΙΑ ΚΑΙ ΦΥΛΛΑ ΕΛΙΑΣ.....	12
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	12
1.2 ΙΣΤΟΡΙΑ	13
1.3 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΦΥΛΛΩΝ ΕΛΙΑΣ	16
1.4 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ.....	18
1.5 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ & ΔΡΑΣΗ	21
2. ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΦΥΛΛΩΝ ΕΛΙΑΣ	26
2.1 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	27
2.2 ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ	35
2.3 ΕΛΕΥΡΩΠΑΪΝΗ & ΥΔΡΟΞΥΤΥΡΟΣΟΛΗ.....	37
3. ΧΡΗΣΕΙΣ ΦΥΛΛΩΝ ΕΛΙΑΣ	39
3.1 ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ	40
3.1.1 ΔΕΡΜΑ ΚΑΙ ΧΡΗΣΕΙΣ.....	41
3.2 ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΦΥΛΛΩΝ ΕΛΙΑΣ.....	41
3.3 ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ	57
3.4 ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ ΦΥΛΛΩΝ.....	57
3.5 ΑΛΛΗΛΕΠΔΡΑΣΗ ΜΕ ΦΑΡΜΑΚΑ	57
3.6 ΕΝΘΥΛΑΚΩΣΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ.....	58
4. ΤΡΟΠΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΦΥΛΛΩΝ ΕΛΙΑΣ	58
4.1 ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΡΙΖΑΣ DRPH.....	59
B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	60
5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	60
5.2 ΟΡΓΑΝΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ.....	61
5.3 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	62
5.4 Γαλλικό οξύ.....	62
5.5 Ποικιλία αγριελιά Ασπροελιάς.....	64
5.6 Ποικιλία Ασπροελιά	66

5.7 Ποικιλία αγριελιά Κορωνέικη.....	67
5.8 Ποικιλία Κορωνέικη.....	69
6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	71
6.1 ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ.....	71
ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	73
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	73
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	74

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΔΙΑΓΡΑΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1: Καμπύλη αναφοράς Γαλλικού οξέος	63
Διάγραμμα 2 : Καμπύλη αναφοράς DPPH σε αγριελιά Ασπροελιά.	65
Διάγραμμα 3 : Καμπύλη αναφοράς DPPH , σε Ασπροελιά.	67
Διάγραμμα 4: Καμπύλη αναφοράς DPPH , σε αγριελιά Κορωνέικη.	69
Διάγραμμα 5: Καμπύλη αναφοράς DPPH , σε κορωνέικη	71
Διάγραμμα 6: Ποσότητα κάθε δείγματος που απαιτείτε για RSC ₅₀ . Error! Bookmark not defined.	

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1 : Ελαιόδεντρο Πηγή: (www.paperhearts.gr)	13
Εικόνα 2:Κορωνέικη ποικιλία ελαιόδεντρου (Σύβρος Λευκάδας 2020).....	14
Εικόνα 3:Ασπροελιά Λευκαδίτικη ποικιλία ελαιόδεντρου ,συγκομιδή (Σύβρος Λευκάδας 2020)	15
Εικόνα 4 : Ελεύθερες ρίζες που επιτίθεται σε υγιές κύτταρο Πηγή (www.123rf.com)	18
Εικόνα 5 : Προϊόντα τα οποία παρασκευάζονται από φύλλα ελιάς.....	40
Εικόνα 6 : Ελευρωπαϊνή και επιδράσεις στην υγεία Πηγή: (www.mdpi.com, 2010).....	43
Εικόνα 7 : Κλαδί ελιάς με φύλλα και καρπό Πηγή (www.botanologia.gr).....	44

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1 : Τα ηλεκτρόνια ριζών σε σχέση με καρβοανιόντα και καρβοκατιόντα Πηγή (repository.kallipos.gr)	19
Σχήμα 2 : Αντιοξειδωτική δράση βιταμινών E και C Πηγή (repository.kallipos.gr)	21
Σχήμα 3 : Σύνθεση Προσταγλανδινών Πηγή (repository.kallipos.gr)	21
Σχήμα 4 : Οι δομές κερσετίνης και αλλισίνης Πηγή (repository.kallipos.gr)	21
Σχήμα 5 : δομές γνωστών αντιοξειδωτικών στην βιομηχανία τροφίμων Πηγή (www.ikee.lib.auth.gr).....	25
Σχήμα 6 : Κυριότερα αντιοξειδωτικά φύλλων ελιάς Πηγή (www.wikipedia.com).....	26
Σχήμα 7 : Φαινολικές ενώσεις που βρίσκονται στα φύλλα της ελιάς Πηγή (www.sciencedirect.com)	29
Σχήμα 8 : Κυριότερα φαινολικά οξέα Πηγή (www.wikipedia.com)	31
Σχήμα 9 : Η βασική δομή και το σύστημα αρίθμησης των φλαβονοειδών Πηγή (www.wikipedia.com).....	32
Σχήμα 10 : Μερικές δομές συντονισμού που σταθεροποιούν την ρίζα των φλαβονοειδών Πηγή (www.nestor.teipel.gr).....	33
Σχήμα 11 : Βιοσύνθεση της ελευρωπαΐνης Πηγή (www.onlinelibrary.wiley.com).....	34
Σχήμα 12 : Χημική δομή ελευρωπαΐνης και παράγωγα των αντιδράσεων της Πηγή (http://195.134.76.37/chemicals/chem_oleuropein.htm)	34
Σχήμα 13 : Δομή φαινολικών ενώσεων στα φύλλα της ελιάς Πηγή (www.researchgate.net).....	35
Σχήμα 14 : Δομή χαρακτηριστικών πολυφαινολών ελαιολάδου και φύλλων ελιάς Πηγή (http://195.134.76.37/chemicals/chem_oleuropein.htm)	37
Σχήμα 15 : Δομή ρίζας DPPH Πηγή (www.dspace.lib.ntua.gr)	60

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1 : Χημική σύσταση των φύλλων ελιάς που προέρχονται από κλάδεμα ή ελαιουργία Πηγή (www.ikee.lib.auth.gr)	16
Πίνακας 2 : Περιεκτικότητα φύλλων ελιάς σε επιλεγμένα ανόργανα στοιχεία Πηγή (www.semanticscholar.org).....	17
Πίνακας 3 : Χαρακτηριστικά φυσικών και συνθετικών αντιοξειδωτικών	24
Πίνακας 4 : Φαινολικές ενώσεις στα φύλλα της ελιάς Πηγή (ir.lib.uth.gr).....	29

Πίνακας 5 : Φαινολικά οξέα.....	30
Πίνακας 6 : Αντιοξειδωτικές ικανότητες φαινολικών ενώσεων καθιερωμένων στην ελιά και στο εκχύλισμα φύλλων Πηγή (www.sciencedirect.com)	38
Πίνακας 7 : Επιδράσεις μεσογειακής διατροφής σε διάφορους τύπους καρκίνου.....	55
Πίνακας 8 : Ποσότητα ανά είδος χλωρών φύλλων που ζυγίστηκαν	61
Πίνακας 9 : Ποσότητες ανά είδος ξερών φύλλων που ζυγίστηκαν.....	61
Πίνακας 10 : Αραιώσεις Γαλλικού οξέος.....	62
Πίνακας 11 : Απορροφήσεις Γαλλικού οξέος.....	63
Πίνακας 12 : Αραιώσεις (Αγριελιά Ασπροελιά).....	64
Πίνακας 13 : Αραιώσεις δείγματος αρχικών αραιώσεων με DPPH.....	64
Πίνακας 14 : Απορροφήσεις DPPH (Αγριελιά Απροελιά).....	65
Πίνακας 15 : Αραιώσεις Ασπροελιάς.....	66
Πίνακας 16 : Αραιώσεις δειγμάτων αρχικών αραιώσεων με DPPH.....	66
Πίνακας 17 : Απορροφήσεις DPPH , σε Ασπροελιά.....	66
Πίνακας 18 : Αραιώσεις αγριελιά Κορωνέικης	68
Πίνακας 19 : Αραιώσεις δείγματος αρχικών αραιώσεων με DPPH.....	68
Πίνακας 20 : Απορροφήσεις DPPH σε αγριελιά Κορωνέικη	68
Πίνακας 21 : Αραιώσεις δείγματος σε Κορωνέικη	69
Πίνακας 22 : Αραιώσεις δείγματος αρχικών αραιώσεων με DPPH.....	70
Πίνακας 23 : Απορροφήσεις DPPH σε Κορωνέικη	70
Πίνακας 24 : Σύγκριση αντιοξειδωτικής δράσης δειγμάτων με πρότυπο	72

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία έχει ως θέμα τις φαρμακευτικές ιδιότητες των φύλλων ελιάς και την μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης δύο ποικιλιών από το νησί της Λευκάδας, την ποικιλία Ασπροελιά και την ποικιλία Κορωνέικη .

Πιο συγκεκριμένα, γίνεται μια μικρή εισαγωγή και ιστορική αναδρομή ανά τους αιώνες των φύλλων ελιάς , ύστερα παρουσιάζεται η χημική σύσταση των φύλλων και ακολουθεί το μέρος για τις ελεύθερες ρίζες και τα αντιοξειδωτικά. Οι φαρμακευτικές ιδιότητες των φύλλων της ελιάς είναι ποικίλες με κυριότερες δράσεις την αντιμικροβιακή, αντικαρκινική, αντιοξειδωτική, αντιθρομβωτική καθώς ενώ παρέχουν προστασία από πολλές ασθένειες.

Εν συνεχεία, παρουσιάζονται οι σημαντικότερες βιοενεργές ουσίες των φύλλων ελιάς με εκτενή αναφορά και έρευνες για τις φαινολικές ενώσεις, την ελευρωπαΐνη και την υδρόξυτυροσόλη. Αξιοσημείωτες είναι και οι χρήσεις των φύλλων στην βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών, φαρμάκων , οι νέες μέθοδοι διατήρησης μέσα από έρευνες καθώς και οι αλληλεπιδράσεις με φάρμακα.

Κλείνοντας, παρουσιάζονται οι τρόποι προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης στα φύλλα ελιάς και η μελέτη της δράσης αυτής που έγινε για τις ποικιλίες Ασπροελιά Λευκάδος και Κορωνέικη τόσο σε φύλλα από το ήμερο μέρος του δέντρου όσο και σε φύλλα από το άγριο μέρος του δέντρου.

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας είναι η αναφορά στις φαρμακευτικές ιδιότητες των φύλλων ελιάς γενικότερα, με σημαντικότερες την αντιοξειδωτική δράση , την αντικαρκινική δράση, την αντιυπερτασική δράση, την αντιθρομβωτική δράση και την δράση ενάντια σε χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις καθώς και η μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας των ποικιλιών Ασπροελιά Λευκάδας και Κορωνέικη στα φύλλα τους.

ABSTRACT

The present dissertation is about the medicinal properties of olive leaves and the study of antioxidant activity of two varieties Asproelia and Koroneiki from Lefkas island. More specifically, getting started, there is a historical retrospection through the centuries of olive leaves. Then follow a presentation of the chemical substance of the leaves and the part of free radicals.

The medicinal properties of olive leaves vary, as they possess antimicrobial, anti-cancer, antioxidant, anticoagulant properties and also protect from various other diseases as well. Furthermore, the most important bioactive substances of the olive leaves are presented with extended report and researches for the phenolic compounds, the oleuropein and hydroxytyrosol. It is worth to mention the uses of the leaves to food, cosmetics and pharmaceutical industry, the new maintenance methods through researches and the interaction with medicines.

Finally, there is the presentation of the way of definition of the antioxidant action from the olive leaves and the study of the action conducted for the varieties. Lefkas Asproelia and Koroneiki olive tree; both to leaves from the tame part of the tree and to leaves from the wild part of the tree.

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΛΙΑ ΚΑΙ ΦΥΛΛΑ ΕΛΙΑΣ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ελιά είναι ένα δέντρο το οποίο κάνει αισθητή την παρουσία του από τα αρχαία χρόνια , στην λεκάνη της μεσογείου .Η επιστημονική του ονομασία είναι olea europaea . Πρόκειται για ένα αειθαλές δέντρο το οποίο ανθίζει στα τέλη Μαΐου και αποδίδει τους ώριμους πλέον καρπούς στα τέλη φθινοπώρου με αρχές του χειμώνα. Αποτελείται από πολλές διαφορετικές μεταξύ τους ποικιλίες.

Τα δύο κύρια προϊόντα του που εκμεταλλεύονται εμπορικά και φαρμακευτικά είναι τα φύλλα και το ελαιόλαδο , το οποίο προκύπτει από την επεξεργασία του ώριμου καρπού. Τόσο το ελαιόλαδο όσο και τα φύλλα του δέντρου αυτού έχουν παρουσιάσει ενδιαφέρον κατά τις δεκαετίες ως προς την διατροφική τους αξία και ως προς τις βιοενεργές τους ουσίες στην ερευνητική κοινότητα.

Μελέτες που έχουν γίνει τόσο στο ελαιόλαδο όσο και στα φύλλα έδειξαν ότι οι πλούσιες αντιοξειδωτικές ιδιότητες τους οφείλονται στην μεγάλη παρουσία φαινολικών ενώσεων. Κύριες πολυφαινόλες είναι εκείνες με μικρό μοριακό βάρος, γνωστότερες των οποίων είναι η ελευρωπαίνη και η υδρόξυτυροσόλη. Αυτές μειώνουν το οξειδωτικό στρες και αναστέλλουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων. Έτσι τα προϊόντα της ελιάς παρουσιάζουν αντικαρκινική, αντιυπερτασική, αντιφλεγμονώδη, αντιμικροβιακή ενώ μειώνουν τα επίπεδα χοληστερόλης επίσης.

Σημειώνεται επίσης ότι στις διαφορετικές ποικιλίες ελαιόδεντρου, παρατηρείται αξιοσημείωτη διαφορά στις συγκεντρώσεις του αντιοξειδωτικού κλάσματος ανά την ποικιλία, ανά την περιοχή καθώς και πριν και μετά τον εμβολιασμό (μπόλιασμα) μιας ποικιλίας . Κάτι που καθιστά ορισμένες ποικιλίες εξαιρετικές και άλλες μέτριες ή καλές.

1.2 ΙΣΤΟΡΙΑ

Η ελιά (*Olea europaea*) είναι δέντρο αιθαλής, που βρίσκεται στην οικογένεια oleacea και προέρχεται από τροπικές και θερμές εύκρατες περιοχές. Πρωτοεμφανίστηκε στην ανατολική μεσόγειο και καλλιεργείται περισσότερο από 7000 χρόνια. Ιστορικές πηγές αναφέρουν ότι εισήλθε στην μεσόγειο και στην Ελλάδα από τους φοίνικες στην προομηρική εποχή. Σύμφωνα με την παράδοση της Ελλάδας, η πατρίδα της ελιάς είναι η Αθήνα, αφού η πρώτη ελιά ανήγαγε, που φυτεύτηκε στην Ακρόπολη ήταν δώρο της θεάς Αθηνάς και συμβόλιζε τον πλούτο. Στην ιστορία και τους μύθους είναι σύμβολο ευημερίας, ειρήνης, γονιμότητας, χαράς, ενώ και οι πρωταθλητές των ολυμπιακών αγώνων στέφονταν με στεφάνι ελιάς κατά την λήξη του αγώνα (776π.Χ.).

Δεν είναι λίγες οι αναφορές του ελαιόδεντρου τόσο στην ιατρική όσο και στην φαρμακευτική. Ο Αριστοτέλης μετέτρεψε την καλλιέργεια του ελαιόδεντρου σε επιστήμη. Εν συνεχεία ο Σόλων νομοθέτησε την προστασία του δέντρου, ενώ ο Όμηρος ονόμασε το λάδι ως το χρυσό υγρό. Ο δε πατέρας της Ιατρικής, ο Ιπποκράτης το περιέγραψε σαν ένα άτομο τέλειο θεραπευτικό. (Ραφτοπούλου, 2018)

Η πρώτη φαρμακευτική πηγή ήταν το 1854 όπου το εκχύλισμα φύλλων ελιάς θέραινε τον πυρετό και την ελονοσία. Στην Ιατρική είναι κορυφαίο ‘‘γιατροσόφι’’ για υπέρταση και διαβήτη, θεραπεύει ρευματικές και νευραλγικές παθήσεις, ενώ μαλακώνει μυϊκούς πόνους και πόνους αρθρώσεων.

Καθώς στη μεσόγειο ανέκαθεν εμφανίζονταν λιγότερα εκφυλιστικά νοσήματα, μειωμένος καρκίνος και μειωμένες καρδιαγγειακές παθήσεις σε σχέση με τον υπόλοιπο κόσμο, αυτό έδωσε στους ερευνητές το έναυσμα για επιπλέον μελέτες επικεντρωμένες στην μεσογειακή διατροφή και πιο συγκεκριμένα στα προϊόντα της ελιάς. Έτσι πιο στοχευμένες μελέτες έγιναν στο ελαιόλαδο και τα φύλλα της ελιάς, πιστεύοντας πως όλες οι ευεργετικές ιδιότητες οφείλονται σε μεγάλο βαθμό στο φαινολικό τους κλάσμα.



Εικόνα 1 : Ελαιόδεντρο Πηγή: (www.paperhearts.gr)

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η αντιοξειδωτική δράση των φύλλων ελιάς δυο διαφορετικών ποικιλιών από την περιοχή της Λευκάδας. Συγκεκριμένα , για την έρευνα χρησιμοποιήσαμε ώριμα φύλλα ελιάς από το επάνω μέρος του δέντρου(μπολιασμένο) και άγρια φύλλα ελιάς από την βάση του στο ίδιο δέντρο(αγριελιά) . Η πρώτη ποικιλία που χρησιμοποιήσαμε είναι η Ασπροελιά , μια τοπική ποικιλία στο νησί και το ιόνιο και η δεύτερη ποικιλία είναι η Κορωνέικη.

Η κορωνέικη ποικιλία σε αντίθεση με την Ασπροελιά χαρακτηρίζεται από λεπτά-κοντά βαθυπράσινα φύλλα , ενώ η Ασπροελιά από πλατιά και αρκετά ποιο μακριά λευκωπά φύλλα. Η κορωνέικη, είναι ποικιλία γνωστή σε όλη την Ελλάδα, αφού καλύπτει το 60 % της παράγωγης της χώρας . Χρησιμοποιείτε αποκλειστικά για παραγωγή ελαιολάδου. Σαν δέντρο έχει μέτρια ανάπτυξη, περίπου 5-7 μετρά .Ο καρπός της είναι σχετικά μικρός, με μέσο βάρος τα 1,3gr ,ενώ η απόδοση της σε ελαιόλαδο κυμαίνεται στο 15-26 % .Σαν ποικιλία είναι πολύ παραγωγική και ανθεκτική στις περιβαλλοντικές συνθήκες της χώρας μας και το ελαιόλαδο που παράγει είναι εκλεκτής ποιότητας με εξαιρετικά αρώματα και γεύση.



Εικόνα 2:Κορωνέικη ποικιλία ελαιόδεντρου (Σύβρος Λευκάδας 2020)

Από την άλλη, η Ασπροελιά Λευκάδας είναι μια γηραιή ποικιλία ελαιόδεντρου. Σαν δέντρο έχει μεγάλη ανάπτυξη περίπου στα 12-15 μέτρα με πολύ μεγάλους κορμούς , ενώ δεν είναι λίγες οι φορές που συναντάμε τέτοια δέντρα με ύψος μεγαλύτερο από

17 μετρά .Η απόδοση της στην παράγωγη ελαιολάδου κυμαίνεται στο 18- 25 % το όποιο είναι εκλεκτικό ελαιόλαδο αφού έχει εξαιρετική οσμή, και λαμπερό πράσινο χρώμα.



Εικόνα 3: Ασπροελιά Λευκαδίτικη ποικιλία ελαιόδεντρου ,συγκομιδή (Σύβρος Λευκάδας 2020)

Η περιοχή από την όποια συλλέχτηκαν τα φύλλα είναι ένα ορεινό χωριό της Λευκάδας που ονομάζεται Σύβρος .Βρίσκεται νότια στο νησί κοντά στον κόλπο της βασιλικής . Σε χαμηλό υψόμετρο στο χωριό κυριαρχούν οι ελιές ενώ υψηλότερα εμφανίζονται αρκετά πλατάνια και κυπαρίσσια . Παραδοσιακά οι κάτοικοι ασχολούνται χρόνια με την γεωργία όπως και με την καλλιέργεια της ελιάς . Με μια μικρή βόλτα μπορεί κανείς να διαπιστώσει ότι στο χωριό υπάρχουν πολλές υπεραιώνιες ελιές που έχουν αντέξει και βρίσκονται εκεί έως και 700 χρόνια. Τα χωράφια από τα οποία συλλέξαμε τα φύλλα που βρίσκονται στην κατοχή μας και συγκεκριμένα , το χωράφι που συλλέχτηκαν τα φύλλα της ποικιλίας Ασπροελιάς διαθέτει ελαιώνες που αριθμούν τα 500 έτη ζωής . Παλιά εκεί περνούσε πόταμος , γι' αυτό και το υπέδαφος είναι πλούσιο σε ανόργανα συστατικά. Έτσι, εκτιμάται πως η ποικιλία της Ασπροελιάς θα εμφανίσει υψηλό ποσοστό φαινολικών ενώσεων και αντιοξειδωτικών .

1.3 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΦΥΛΛΩΝ ΕΛΙΑΣ

Η χημική σύσταση των φύλλων της ελιάς ποικίλει ανάλογα με την προέλευση, τις συνθήκες αποθήκευσης, τις κλιματολογικές συνθήκες, την περιεκτικότητα σε υγρασία καθώς και τον βαθμό μόλυνσης που έχουν από χώμα και έλαια. Επίσης, οι δομικοί υδατάνθρακες και η περιεκτικότητα αζώτου εξαρτώνται κυρίως από την ποικιλία της ελιάς, το δέντρο, τις κλιματολογικές συνθήκες και το έτος συγκομιδής (Omar Sabry et al 2014).

Πίνακας 1 : Χημική σύσταση των φύλων ελιάς που προέρχονται από κλάδεμα ή ελαιουργία Πηγή (www.ir.lib.uth.gr)

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ (g/100g ξ.β)
Οργανική ύλη	76,4 – 92,7
Πρωτεΐνες	6,31 – 10,9
Λίπη	2,28 – 9,57
Ολικό άζωτο	35,2 – 49,2
Ολικές πολυφαινόλες	0,14 – 4,3
Εδώδιμες ίνες	34,9 – 41,3
Λιγνίνες	14,1 – 21,1
Ταννίνες	0,669 – 1,11

Τα φυλλα ελιάς περιεχουν κυριως :

- ↗ Φαινολες και οξέα (τυροσόλη , υδρόξυτυροσόλη & συγγενείς ενώσεις)
- ↗ Βενζοϊκά & κινναμωμικά οξέα
- ↗ Φλαβονοειδη (λουτελίνη, απιγενίνη & συγγενείς ενώσεις)
- ↗ Σεκοϊριδοειδή (ελευρωπαϊνή & συγγενείς ενώσεις)
- ↗ Ελενολικο οξύ & βερμπασκοζιτης
- ↗ Τερπενοειδη (ουρσολικό οξύ, μασλινικό οξύ , ουβαόλη, σκουαλένιο)
- ↗ Βιταμινες (καροτενοειδή , τοκοφερόλες)
- ↗ Φυσικες χρωστικες (καροτενοειδή , χλωροφύλλες)
- ↗ Φυτοστερολες (β-σιτοστερόλη, στιγμαστερόλη)

Η υψηλή περιεκτικότητα των ενώσεων αυτών που βρίσκονται στα φύλλα ελιάς ευθунεται για την ενισχυμένη αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων τους (Tsimidou & Papoti 2010). Τα βιοενεργα συστατικά των φύλλων της ελιάς που απασχολούν κυρίως την κοινότητα είναι τα φαινολικά συστατικά σε αντίθεση με τα τερπενοειδή που απασχολούν λιγότερο. Τα φύλλα ως παραπροϊόν της ελαιοκαλλιέργειας βρίσκονται τα τελευταία χρόνια στο επίκεντρο του επιστημονικού ενδιαφέροντος λόγω της υδρόξυτυροσόλης και ελευρωπαϊνης , συστατικά τα οποία έχουν τεκμηριωμένες βιοενεργες ιδιότητες (Soler Rivas et al 2000, Visioli & Galli

2002, Sotiroudis et al 2003 , Servili et al ,2004, Obied et al ,2005, Visioli et al ,2006 , Boskou 2006, Nenadis & Tsimidou ,2009).

Τα φυτά συνθέτουν τις φαινολικές ενώσεις για να προστατευτούν ενάντια στους μικροοργανισμούς και την ακτινοβολία UV (Roboards et al 1997). Η προστατευτική δράση από την ακτινοβολία των τριχών των φύλλων οφείλεται στα φλαβονοειδή τα οποία μειώνονται με την αύξηση της ηλικίας των φύλλων. Οι βιοφαινόλες που περιέχονται στα φύλλα διαφέρουν από αυτές που περιέχονται σε όλα τα άλλα μέρη του δέντρου της ελιάς (Wollenweber et al 1983).

Η αύξηση των επιπέδων των φαινολικών ενώσεων στα φύλλα επηρεάζεται κυρίως είτε από περίσσεια θρεπτικού συστατικού είτε από έλλειψη του. Όταν υπάρχει έλλειψη αζώτου γίνεται σύνθεση μεταβολιτών που περιέχουν αποκλειστικά άνθρακα στο μόριο τους (φαινολικές ουσίες) και μειώνονται μεταβολίτες που περιέχουν άζωτο (αλκαειδή). Όταν υπάρχει επάρκεια αζώτου ή έλλειψη διαθέσιμου άνθρακα (πχ σκοτάδι) η περίσσεια αζώτου οδηγεί στην σύνθεση δευτερογενών μεταβολιτών οι οποίοι περιέχουν άζωτο στο μόριο τους (Gershenzon et al 1984).

Τα φύλλα φωτοσυνθέτουν και παράγουν υδατάνθρακες απαραίτητους για την δημιουργία λιπαρών οξέων στον ελαιόκαρπο. Στην διαδικασία της φωτοσύνθεσης δεσμεύεται διοξείδιο του άνθρακα στους χλωροπλάστες το οποίο σχηματίζει φωσφορική τριόζη με αποτέλεσμα να παράγεται σακχαρόζη και άλλα σάκχαρα τα οποία συμμετέχουν στον σχηματισμό λιπαρών οξέων του ελαιολάδου (Κυριτσάκης 2007).

Η συγκέντρωση ιχνοστοιχείων και ανόργανων συστατικών στα φύλλα προέρχονται κυρίως από το έδαφος , μέσω των ριζών καθώς και από την ατμόσφαιρα. Φύλλα νεαρής ηλικίας παρουσιάζουν μεγαλύτερο ποσοστό σε N,P,K,Zn,B ενώ φύλλα μεγαλύτερης ηλικίας περιέχουν κυρίως Ca, Mg,Mn,Cu,Fe (Fernandez-Escobar et al 1999).

Πίνακας 2 : Περιεκτικότητα φύλλων ελιάς σε επιλεγμένα ανόργανα στοιχεία Πηγή (www.semanticscholar.org)

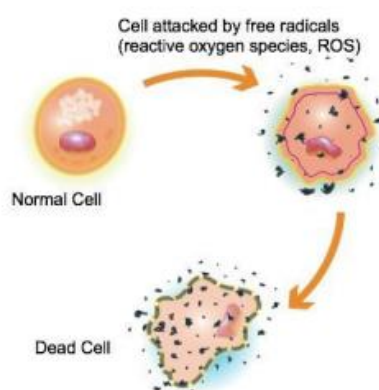
ΑΝΟΡΓΑΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΕΥΡΟΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ
Na	0,24 - 0,63% ξηρής ουσίας
K	0,45 – 0,9% ξηρής ουσίας
Ca	0,83 – 4,5% ξηρής ουσίας
Mg	0,05 – 0,2% ξηρής ουσίας
Cu	15 – 90μg/g ξηρής ουσίας
Pb	1 – 5,8 μg/g ξηρής ουσίας

Το κύριο συστατικό των φύλλων της ελιάς είναι η ελευρωπαϊνή η οποία παρουσιάζεται και στους καρπούς και στο ελαιόλαδο σε μικρότερες ποσότητες. Συγκεκριμένα στα φύλλα βρίσκεται σε ποσοστό 1-14% w/w , στο ελαιόλαδο συναντάται σε ποσοστό 0,005 -10,12% w/w και στα υγρά απόβλητα σε ποσοστό 0,87% w/w (Ruiz-Gutierrez et al 1995). Η περιεχόμενη ελευρωπαϊνή μειώνεται με την αυξησή της ηλικίας των φύλων καθώς μπορεί να υπάρχει είτε σε διαφοροποιημένες μορφές , είτε σαν τμήμα πιο σύνθετων ενώσεων (Savournin et al 2001, Ryan et al 2003, Nenadis & Tsimidou 2009). Τα επίπεδα της ελευρωπαϊνης μπορεί να φτάσουν τα 264mg/g ξηρού φύλλου (εκφρασμένα ως τυροσόλη) (Ryan et al 2003). Η ελευρωπαϊνή χρησιμοποιείται και ως δείκτης ωρίμανσης του ελαιοκάρπου καθώς όσο ωριμάζει τόσο μειώνεται η περιεκτικότητά της σε αυτόν.

Τα φύλλα εξαιτίας των φαινολικών ενώσεων τους παρουσιάζουν ενδιαφέρον για ορισμένες δράσεις τους. Ειδικότερα, για την αντιοξειδωτική, αντιυπερτασική, αντιαθηροσκληρωτική δράση και τις καρδιοπροστατευτικές τους ιδιότητες (Somova et al 2003 & 2004).

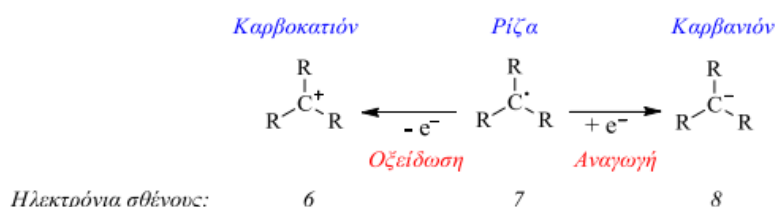
1.4 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

Ελευθερές ρίζες (free radicals) χαρακτηρίζονται οποιοδήποτε μόρια ή άτομα με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια που βρίσκονται στην εξωτερική τους στοιβάδα, τα οποία μπορούν να υπάρξουν αυτόνομα. Συνήθως έχουν περιττό αριθμό ηλεκτρονίων και συμμετέχουν σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής. Κατά τις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής που συμμετέχουν, συχνά μεταβιβάζονται τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια , από ένα στόχο σε έναν άλλο σημαντικ με αποτέλεσμα να δημιουργούνται νέες ελεύθερες ρίζες , υπό την μορφή αλυσιδωτής αντίδρασης. Ουσιαστικά, η βλαπτική επίδραση που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες οφείλεται στις αλυσιδωτές αντιδράσεις που πολλαπλασιάζουν ορισμένες μεταβολές.



Εικόνα 4 : Ελεύθερες ρίζες που επιτίθεται σε υγιές κύτταρο Πηγή (www.123rf.com)

Μαζί με τα καρβοκατιόντα (R_3C^+), τα καρβανιόντα (R_3C^-) και τα καρβένια ($R_2C:$) θεωρούνται ως ενεργά ενδιάμεσα, με την διαφορά ότι διαφέρουν στον αριθμό των ηλεκτρονίων σθένους. Γενικά, είναι αρκετά ασταθείς οντότητες και αντιδρούν εύκολα με άλλες ενώσεις, προσπαθώντας να πάρουν τα ηλεκτρόνια που χρειάζονται ώστε να σταθεροποιηθούν. Διακρίνονται σε ουδέτερες, κατιονικές και ανιονικές ανάλογα με το φορτίο τους. Συνήθως οι κατιονικές και οι ανιονικές περιλαμβάνουν ενδιάμεσα αντιδράσεων.



Σχήμα 1 : Τα ηλεκτρόνια ριζών σε σχέση με καρβοανιόντα και καρβοκατιόντα Πηγή (repository.kallipos.gr)

Πλέον οι πιο σημαντικές ελεύθερες ρίζες είναι αυτές που έχουν κέντρο το οξυγόνο, το άζωτο και τον άνθρακα. Τα κυριότερα δραστικά είδη του οξυγόνου (ROS) είναι O_2^- , $OH\cdot$, ROO^- , O_2 , H_2O_2 , $HOCl$, $NO\cdot$. Μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα στο γενετικό μας υλικό όπως πχ μεταλλάξεις, στις πρωτεΐνες, στους υδατάνθρακες καθώς και στα λιπίδια. Οι ελεύθερες ρίζες και τα ROS σχηματίζονται γενικά είτε με απώλεια ηλεκτρονίου, είτε με πρόσληψη ηλεκτρονίου είτε με ομόλυση (διάσπαση ενός ομοιοπολικού δεσμού). Στον οργανισμό, πιο συγκεκριμένα σχηματίζονται σαν αποτέλεσμα αντιδράσεων όπως παρακάτω.

- Κατά την λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας, των μιτοχονδρίων, στα κύτταρα, που ορισμένα ηλεκτρόνια γλιτώνουν απ'τα μόρια που τα μετακινούν στην αναπνευστική αλυσίδα και περνούν στο οξυγόνο. Έτσι, ανάγουν το οξυγόνο σε σουπεροξειδίο.
- Κατά την δράση των οξειδωτικών ενζύμων (λιποξυγονάσες, υπεροξειδάσες, αφυδρογονάσες και κυκλοοξυγονάσες,)
- Στην παραγωγή των ελευθέρων ριζών υδροξυλίου
- Κατά την λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Ορισμένα κύτταρα παράγουν ρίζες για να εξουδετερώσουν εντελώς τους εισβολείς. Έτσι η διαδικασία είναι εκτός ελέγχου, όπως και στα αυτοάνοσα νοσήματα. Ορισμένες από τις ελευθερες ρίζες που δημιουργούνται προκαλούν βλαβες στα ίδια μας τα κύτταρα.
- Επίσης παράγονται όταν ο οργανισμός έρθει σε επαφή με ορισμένους παράγοντες. Όπως είναι καπνός τσιγάρου, ακτίνες - X, υπεριώδης ακτινοβολία, χημικές ενώσεις, φάρμακα καθώς βρ και ατμοσφαιρικό νέφος.

Οι ελεύθερες ρίζες κατά την παρουσία τους προκαλούν ορισμένες διαταραχές.

- ↪ Προκαλούν διάφορες παθολογικές καταστάσεις και γήρανση, διότι το οξειδωτικό στρες οξειδώνει τα βασικά βιοχημικά συστατικά του κυττάρου (λιπίδια, πρωτεΐνες , DNA) άρα αλλάζουν οι ιδιότητες του κυττάρου
- ↪ Προκαλούν διάφορες καρδιαγγειακές παθήσεις , καρκίνο , νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Parkinson & Alzheimer) , καταράχτη, διαβήτη , αυτοάνοσα
- ↪ Ένα αξιοσημείωτο παράδειγμα ασθένειας λόγω μεγάλου οξειδωτικού στρες και συσσώρευση ελευθέρων ριζών είναι η αθηροσκλήρυνση.

Πιο συγκεκριμένα, οι ελεύθερες ρίζες που υπάρχουν στο υποενδοθηλιακό των αιμοφόρων αγγείων οξειδώνουν τα σωματίδια της LDL χοληστερόλης. Η LDL είναι το κύριο μέσο μεταφοράς της χοληστερόλης στο αίμα και τα κύτταρα. Αρχικά οι ελεύθερες ρίζες και τα ROS οξειδώνουν μόνο τα φωσφολιπίδια της LDL. Συσσωρεύονται μονοκύτταρα στον υποενδοθηλιακό χώρο και μετατρέπονται σε μακροφάγα. Επίσης οξειδώνεται και η πρωτεΐνη της LDL με αποτέλεσμα να είναι πλήρως οξειδωμένη , καθώς μεταφέρεται στο εσωτερικό των μακροφάγων.

Αυτό οδηγεί τα μακροφάγα να μετατραπούν σε αφρώδη κύτταρα και καθώς αυτά συσσωρεύονται κάτω από το ενδοθήλιο , αρχίζει και σχηματίζεται η αθηρωματική πλάκα, η οποία με την πάροδο του χρόνου επιδεινώνει την κατάσταση της υγείας του ανθρώπου . (Θεόδωρος Γ. Σωτηρούδης 2004)

Σημειώνεται ότι , στην λειτουργία τους ως μεταβιβαστές μπορούν για παράδειγμα να λαμβάνουν μέρος στην μεταβίβαση των βιολογικών σημάτων, στη ρύθμιση της μεταγραφής γονιδίων κλπ. Επομένως, η συσσώρευση των ελευθέρων ριζών , οδηγεί τον οργανισμό σε μια κατασταση που ονομάζεται οξειδωτικό στρες και είναι ένας κύριος παραγοντας πρόκλησης των παραπάνω προαναφερθέντων ασθενειών. Το οξειδωτικό στρες χαρακτηρίζεται από υπερβολική παραγωγή ελευθέρων ριζών μέσω περίπλοκων αντιδράσεων στον οργανισμό, καθώς και από ανεπάρκεια αντιοξειδωτικών από τον ίδιο τον οργανισμό.

Γι'αυτό οι βλάβες που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες επηρεάζουν άμεσα τα τρόφιμα. Από την αλλοίωση που δημιουργείται προκαλούν την οξειδωτική τάγγιση , μείωση της θρεπτικής αξίας , καθώς και αλλοίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. Δηλαδή , αλλοίωση χρώματος, αρώματος, υψής ενώ μειώνεται σημαντικά και οι ασφάλεια του ίδιου του τροφίμου. Για την αντιμετώπιση λοιπόν αυτών των φαινομένων συχνά χρησιμοποιούνται ουσίες που σταματούν ή παρεμποδίζουν την οξείδωση. Αυτές οι ουσίες είναι τα αντιοξειδωτικά.

ΑΝΤΙΑΡΑΣΕΙΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΣΤΗ ΦΥΣΗ

Στα ακόλουθα σχήματα φαίνονται η αντιοξειδωτική δράση των βιταμινών E (τοκοφερόλη) και C (ασκορβικό οξύ) , η σύνθεση προσταγλανδινών καθώς και η δράση αρκετών φλαβονοειδών που βρίσκονται σε αρκετά φρούτα , στο ελαιόλαδο και

Αντιοξειδωτικό είναι κάθε ουσία που έχει την ικανότητα να εμποδίσει, να καθυστερήσει ή να αποτρέψει την οξείδωση . Βρίσκεται σε μικρές συγκεντρώσεις σε σ'υγκριση βλασ που οξειδωνεται και εμποδίζει την οξείδωση του υποστρώματος αυτού. Αυτό συμβαίνει γιατί τα μόρια των αντιοξειδωτικών μπορούν να προσφέρουν ένα η περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια καταλύοντας τις αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών. Επίσης έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την μεταφορά ηλεκτρονίων από το οξυγόνο σε οργανικά μόρια και να σταθεροποιούν τις ελεύθερες ρίζες. Τα τελευταία χρόνια μεγάλη κινητοποίηση υπάρχει για τα αντιοξειδωτικά που παράγονται από φυτά , τα λεγόμενα φυτοχημικά αντιοξειδωτικά . Τέτοια είναι και τα αντιοξειδωτικά που συναντώνται στα φύλλα της ελιάς.

Συνήθως τα αντιοξειδωτικά κυκλοφορούν στην αγορά μέσα σε συμπληρώματα διατροφής και λειτουργικά τρόφιμα. Πολλές εταιρείες εντάσσουν σε συμπληρώματα διατροφής ορισμένα αντιοξειδωτικά ένζυμα προκειμένου να μπορεί να τα λαμβάνει κάποιος ως συμπλήρωμα διατροφής , εάν δεν τα λαμβάνει επαρκώς μέσα από την διατροφή. Ωστόσο , αυτά τα ένζυμα δεν είναι αποτελεσματικά , καθώς είναι πρωτεΐνες οι οποίες διασπώνται κατά την πέψη , με αποτέλεσμα να μην προλαβαίνουν να απορροφηθούν από τα κύτταρα μας.

Εάν και τα αντιοξειδωτικά είναι απαραίτητα συστατικά για την διατήρηση της άμυνας του οργανισμού και την υγεία, δεν υπάρχει επιστημονική τεκμηρίωση σε τι ποσότητα πρέπει να τα λαμβάνουμε. Αντιθέτως, ενώ παλαιότερα πιστεύονταν ότι δεν επηρεάζουν αρνητικά τον οργανισμό , πλέον αρκετές έρευνες τονίζουν πως σε μεγάλες ποσότητες μπορεί να υπάρξει τοξικότητα .

Βασικά δομικά χαρακτηριστικά των αντιοξειδωτικών είναι :

- ✓ Το φαινολικό υδροξύλιο
- ✓ Ο αρωματικός πυρήνας που συχνά είναι ετεροκυκλικός
- ✓ Το ετεροκυκλικό οξυγόνο
- ✓ Το συζευγμένο σάκχαρο (π.χ γλυκόζη, γαλακτόζη, ραμνόζη, ξυλόζη, γλυκουρονικά ή γαλακτουρονικά οξέα)

Οι κύριες και πιο γνωστές αντιοξειδωτικές ουσίες είναι :

- Οι βιταμίνες A , C, E
- Τα φλαβονοειδή(κυρίως στην ελιά και τα φύλλα ελιάς)
- Το σελήνιο
- Το β-καροτένιο
- Ο ψευδάργυρος
- Τα διάφορα είδη λυκοπενίου
- Ουσίες που περιέχονται στο κόκκινο σταφύλι, στα σταυρανθή, στο σκόρδο και στο χαμομήλι.

Τα αντιοξειδωτικά λειτουργούν με τους εξής τρόπους

1. Παρεμποδίζουν την λειτουργία των ελευθέρων ριζών και των ROS
2. Σταματούν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις μετάδοσης των ελευθέρων ριζών
3. Πολλές φορές δρουν και συνεργιστικά μεταξύ τους. Δηλαδή εάν ένα αντιοξειδωτικό προσληφθεί (π.χ βιταμίνη C) , βοηθάει στην διατήρηση κάποιου άλλου όπως είναι η τοκοφερόλη (βιταμίνη E).

Υπάρχουν αντιοξειδωτικά μεγάλου MB και μικρού MB. Τα αντιοξειδωτικά μεγάλου MB είναι η δισμουτάση του υπεροξειδίου, η καταλαση , η υπεροξειδάση της γλουταθειοτο ννης , η παραοξανάση και το πρωτεόσωμα. Είναι επίσης οι πρωτεΐνες του πλάσματος (αλβουμίνη, σερουλοπλασμίνη, τρανσφερίνη, ατογλοβίνη) όπως και αρκετές ανόργανες ουσίες και ιχνοστοιχεία (σελήνιο, χαλκός, μαγνήσιο, ψευδάργυρος) . Αυτά συμμετέχουν στην δομή και την καταλυτική δράση των ενζύμων και παίζουν ρόλο στην ενζυμική καταπολέμιση των ελευθέρων ριζών.

Επίσης, τα αντιοξειδωτικά μικρού MB μπορεί να είναι υδατοδιαλυτά ή λιποδιαλυτά. Στα υδατοδιαλυτά μόρια συμπεριλαμβάνονται οι βιταμίνες, κυρίως το ασκορβικό, το ουρικό και μερικές πολυφαινόλες. Στα λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά μικρού MB περιλαμβάνονται η τοκοφερόλη, τα καροτενοειδη, η χολερυθρίνη, κάποιες κινονες και μερικές πολυφαιναντίθετες.

Έτσι, με αφορμή την παραπάνω αναφορά , μπορούμε να διαχωρίσουμε τα αντιοξειδωτικά σε ενδογενή (αντιοξειδωτικά τα οποία το σώμα μας είναι σε θέση να παράγει) και εξωγενή (τα αντιοξειδωτικά τα οποία προσλαμβάνουμε κυρίως από την τροφή ή από μικροοργανισμούς , φυτά και ζώα. Ακόμα υπάρχουν και τα συνθετικά αντιοξειδωτικά τα οποία προέρχονται από χημική σύνθεση ή βιοσύνθεση.

Επιπλέον, σύμφωνα με τους Hall & Currett υπάρχουν τρεις κύριοι τρόποι δράσης των αντιοξειδωτικών.

1. Η δέσμευση των ελευθέρων ριζών
2. Η δέσμευση των μετάλλων
3. Η δέσμευση μοριακού οξυγόνου

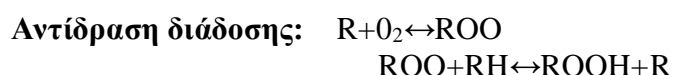
Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται τα πλεονέκτημα και τα μειονεκτήματα των ενδογενών σε σύγκριση με τα συνθετικά αντιοξειδωτικά .

Πίνακας 3 : Χαρακτηριστικά φυσικών και συνθετικών αντιοξειδωτικών

Φυσικά αντιοξειδωτικά	Συνθετικά αντιοξειδωτικά
Αποδεκτά από τους καταναλωτές	Οι καταναλωτές δεν τα προτιμούν
Μεταβλητή σύσταση και δράση	Διαθέσιμα και οικονομικά
Παρουσία και άλλων ουσιών	Δεν αλλοιώνουν γεύση και οσμή
Δεν χρειάζονται έλεγχοι για πιθανούς κινδύνους	Ικανοποιητική αντιοξειδωτική ικανότητα
Μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα	Είναι καθαρές ουσίες
Ανάγκη για μεγάλες ποσότητες	Χρειάζονται μακροχρόνιες δοκιμές και μελέτες πριν βγουν στην αγορά
Αλλοιωμένη γεύση και μυρωδιά	

Τέλος, τα αντιοξειδωτικά μπορούν να χωριστούν σε πρωτοταγή, δευτεροταγή και τριτοταγή, ανάλογα με τις ενέργειες που μπορούν να διενεργήσουν.

Πρωτοταγή αντιοξειδωτικά (AH) : είναι αντιοξειδωτικά τα όποια αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες και τις μετατρέπουν σε σταθερά προϊόντα ή παρεμποδίζουν την δημιουργία της αλυσιδωτής αντίδρασης της οξείδωσης των λιπιδίων .Στην συνέχεια βλέπουμε τις αντιδράσεις αυτοοξείδωσης των λιπιδίων.



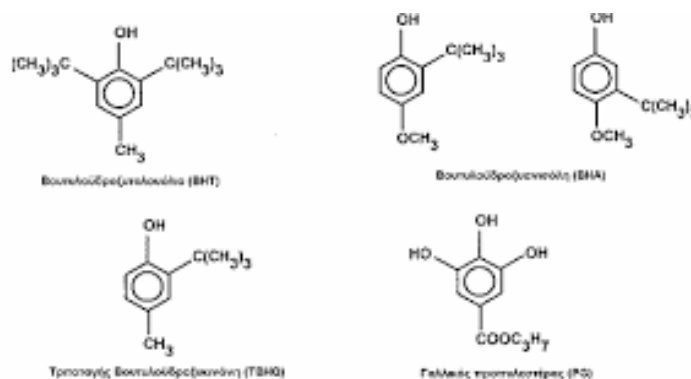
Δευτεροταγή αντιοξειδωτικά :Σε αντίθεση με τα πρωτοταγή αντιοξειδωτικά τα δευτεροταγή δεν μπορούν να μετατρέψουν τις ελεύθερες ρίζες σε πιο σταθερά προϊόντα. Αυτό που κάνουν είναι να τα μετατρέπουν σε χηλικά προ-οξειδωμένα μέταλλα και τα απενεργοποιούν. Οι μηχανισμοί από τα δευτεροταγής αντιοξειδωτικά είναι αρκετά πιο πολύπλοκοι συγκριτικά με τα πρωτοταγή αντιοξειδωτικά . Πιο συγκεκριμένα τα δευτεροταγή αντιοξειδωτικά δρουν με έναν από τους παρακάτω μηχανισμούς :

- I. Τα αντιοξειδωτικά αυτά δεν δρουν ποτέ αποτελεσματικά μόνα τους αλλά σε αλληλεπίδραση με πρωτοταγή αντιοξειδωτικά. Το μίγμα αυτό δρα προς το σπάσιμο της αλυσιδωτής αντίδρασης των λιπιδίων. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι τα κιτρικό οξύ.
- II. Δεσμεύει – καταστέλλει το οξυγόνο.
- III. Μετατρέπει το υδροϋπεροξειδίο σε σταθερά προϊόντα .
- IV. Αναστέλλει τα προοξειδωτικά ένζυμα .
- V. Τροποποιεί τα μεταλλικά προοξειδία σε σταθερά προϊόντα . Το βήμα αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό, διότι τα βαρέα μέταλλα ευνοούν την αποσύνδεση των υδροϋπεροξειδίων των λιπιδίων προς ελεύθερες ρίζες.

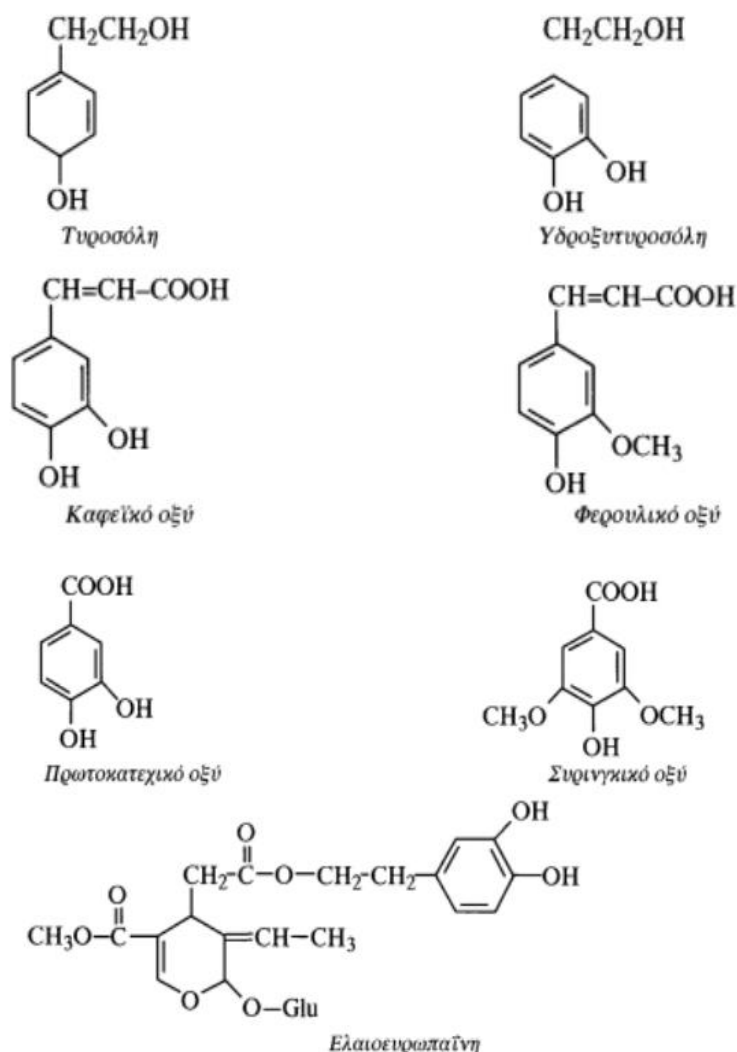
Πρέπει να τονίσουμε ότι το πόσο αποτελεσματικό είναι ένα αντιοξειδωτικό εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Για παράδειγμα αν ένα αντιοξειδωτικό είναι ενεργό υπό συγκεκριμένες συνθήκες και οι συνθήκες αυτές αν μεταβληθούν τότε το αντιοξειδωτικό πιθανόν να απενεργοποιηθεί . Οπότε , δεν μπορούμε να ξεχωρίσουμε ούτε να καθορήσουμε ποιο αντιοξειδωτικό είναι αποτελεσματικότερο .

Τα πιο γνωστά αντιοξειδωτικά τα όποια βρίσκουν εφαρμογή στον χώρο της βιομηχανίας τροφίμων είναι :

- Η βουτυλική υδροξυανισόλη (BHA – E320) , είναι συνθετικό αντιοξειδωτικό και δρα σταθεροποιώντας τις ελεύθερες ρίζες.
- Το Βουτυλικό υδροξυτολουόλιο (BHT- E321) ,δρα όπως BHA .
- Ο Προπυλικός εστέρας του γαλλικού οξέος (PG-E310) , βρίσκεται εφαρμογή σε τρόφιμα τα όποια περιέχουν λίπη και ελαία .
- Η Τεταρτοταγής βουτυλική υδρκινόνη (TBHQ).



Σχήμα 5 : δομές γνωστών αντιοξειδωτικών στην βιομηχανία τροφίμων *Πηγή* (www.ikee.lib.auth.gr)



Σχήμα 6 : Κυριότερα αντιοξειδωτικά φύλλων ελιάς Πηγή (www.wikipedia.com)

2. ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΦΥΛΛΩΝ ΕΛΙΑΣ

Πρόσφατα διάφορες μελέτες έχουν παρουσιάσει την αντιπερτασική , αντικαρκινογονική , αντιφλεγμονώδη, υπογλυκαιμική , αντιμικροβιακή και υποχοληστερολαιμική δράση των φύλλων της ελιάς. Όλα αυτά είναι συνδεδεμένα με τουλάχιστον μια αντιοξειδωτική δράση που σχετίζεται κυρίως με χαμηλού MB πολυφαινόλες όπως η ελευρωπαϊνή . Τα φύλλα όχι μόνο θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε φάρμακα, καλλυντικά και φαρμακευτικά προϊόντα , αλλά επίσης και για να βελτιωθεί η διάρκεια ζωής των τροφίμων και να αναπτυχθούν λειτουργικά τρόφιμα.

Αρκετές φορές χρησιμοποιούνται σε ανάμιξη με υπερώριμες ελιές πριν την επεξεργασία τους, για παραγωγή ελαίων με μια πιο έντονη γεύση και μεγαλύτερη αντοχή στην οξείδωση . Επίσης, χρησιμοποιούνται άμεσα και ως συμπληρωματικά ελαίων . Ακόμα , φαινολικά εκχυλίσματα από φύλλα ελιάς έχουν παρθεί για παραγωγή δισκίων που διατίθενται στο εμπόριο ως διαιτητικά ή συμπληρώματα διατροφής.

Ένα , από τα κυρία συστατικά των φύλων ελιάς είναι η ελευρωπίνη , ένα από τα ιριδοειδή μονοτερπένια . Να σημειωθεί ότι τα φυτικά έλαια αποτελούνται κυρίως από τερπένια που πιστεύεται ότι είναι υπεύθυνα για τις φαρμακολογικές επιδράσεις. Σε μια γρήγορη αναφορά, τα τερπενοειδή προκύπτουν από συνδιασμό μονάδων ισοπροπενίου το οποίο έχει πέντε άτομα άνθρακα και η βασική τους κατηγοριοποίηση βασίζεται στον αριθμό ανθράκων του βασικού τους χημικού σκελετού και συγκεκριμένα των μονάδων ισοπροπενίου που τα αποτελούν. Στο παρελθόν έχουν σημειωθεί αρκετές μελέτες που τονίζουν διαφορετικές φαρμακολογικές δράσεις των φύλλων της ελιάς και των συστατικών τους.

Τα φύλλα της ελιάς βρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες στις βιομηχανίες παραγωγής ελαιολάδου (περίπου 10% συνολικού βάρους ελιών) και συσσωρεύονται κατά το κλάδεμα. Είναι μια φθηνή πρώτη ύλη που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πηγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας. Οι κύριες φαινολικές ενώσεις που βρίσκονται είναι γλυκοζυλιωμένες μορφές ελευρωπαίνης και λιστροσίδης , ενώ έρευνες γίνονται και για τις ελαιοκανθάλη και ελαιασίνη. Οι πολυφαινόλες είναι σε θέση να παρεμποδίσουν οξείδωση , συσσωμάτωση αιμοπεταλίων , αναστολή της λιποξυγενάσης και παραγωγή εικοσανοειδών .

2.1 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Οι OBPs (βιοφαινόλες φύλλων ελιάς) περιλαμβάνουν μεγάλη ομάδα δευτερογενών μεταβολιτών (χημικές ενώσεις με χαμηλό MB) . Τα ευεργετικά οφέλη του παρθένου ελαιολάδου έχουν μελετηθεί κατά κόρον τις τελευταίες δεκαετίες κυρίως λόγω της παρουσίας βιοφαινολών .

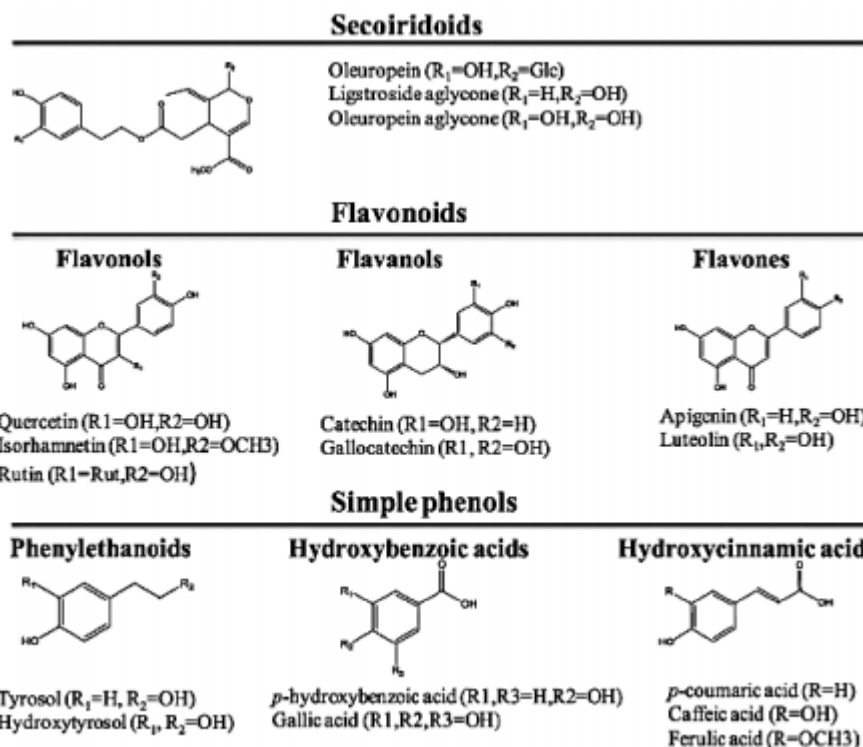
Οι δύο κύριες πηγές βιοφαινολών είναι τα φύλλα της ελιάς και τα απόβλητα από την βιομηχανία ελαιολάδου , ο γνωστός ελαιοπυρήνας . Παρ'όλο που ο ελαιοπυρήνας είναι ρυπογόνο στερεό υπόλειμμα που προκύπτει ύστερα από την εκχύλιση του ελαιολάδου , πρόκειται για μία φθηνή πηγή αρκετών αντιοξειδωτικών , με συγκεντρώσεις έως και 100 φορές υψηλότερες απ'ότι στο ελαιόλαδο .

Λαμβάνοντας ως παράδειγμα την ελευρωπαϊνή έχει αποδειχθεί ότι τα φύλλα της ελιάς έχουν την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση μεταξύ των διάφορων μερών του ελαιόδεντρου. Δηλαδή η ελευρωπαϊνή στο ελαιόλαδο κυμαίνεται μεταξύ 0,005 – 0,12% , στον ελαιοπυρήνα κυμαίνεται έως 0,8% , ενώ στα φύλλα της ελιάς κυμαίνεται μεταξύ 1 – 14% . Είναι φανερή η διαφορά περιεκτικότητας OBPs .

Οι πιο σημαντικές κατηγορίες φαινολικών ενώσεων στα φύλλα της ελιάς είναι τα φαινολικά οξέα, οι φαινολικές αλκοόλες (υδρόξυτυροσόλη, τυροσόλη) , τα φλαβονοειδή (7-0 γλυκοσίδη λουτεολίνης, ρουτίνη, γονιδίνη 7-0- γλυκοσίδη, 4-0- γλυκοσίδη λουτεολίνης) και τα σεκοιριδοειδή (ελευρωπαϊνή) .

Οι φαινολικές ενώσεις είναι ισχυρός προστατευτικός έναντι της οξείδωσης του ελαιολάδου. Έχει γίνει αναφορά πως ο εμπλουτισμός 50-320 λίτρων εξευγενισμένου ελαιολάδου με 1 kg φύλλα ελιάς αρκεί να αποκτήσει αυτό το ελαιόλαδο παρόμοια σταθερότητα όπως αυτή του παρθένου. Επίσης , αν προστεθούν και στο ηλιέλαιο έχει αποδειχθεί ότι επιβραδύνει το τάγγισμα του .

Η κατηγοριοποίηση των φαινολικών ενώσεων γίνεται με πάνω από έναν τρόπους. Το 2000 οι Urquiaga & Leighton τις ομαδοποίησαν ανάλογα με τον αριθμό ατόμων άνθρακα στο μόριο τους . Το 2003 ο Robbins τις κατηγοριοποίησε ανάλογα με τον αριθμό δακτυλίων που περιέχουν. Έτσι, με την τελευταία κατηγοριοποίηση διακρίνονται σε απλές φαινόλες (φαινολικά οξέα και κουμαρίνες) και πολυφαινόλες (φλαβονοειδή και ταννίνες) . Στην συνέχεια ακολουθεί πίνακας φαινολικών ενώσεων στα φύλλα της ελιάς , όπως και πίνακας κατηγοριοποίησης.



Σχήμα 7 : Φαινολικές ενώσεις που βρίσκονται στα φύλλα της ελιάς Πηγή (www.sciencedirect.com)

Πίνακας 4 : Φαινολικές ενώσεις στα φύλλα της ελιάς Πηγή (ir.lib.uth.gr)

Κατηγορίες φαινολικών ενώσεων	Φαινολικές ενώσεις
Φλαβονοειδή	Κερσετίνη-3-ρουτινοζίδη Λουτεολίνη-7-γλυκοζίτη Λουτεολίνη-5-γλυκοζίτη Απιγενίνη-7-γλυκοζίτη
Φαινολικά οξέα	Χλωρογενικό οξύ, καφεϊκό οξύ, <i>p</i> -Υδροξυβενζοϊκό οξύ, πρωτοκατεχουϊκό οξύ, βανιλικό οξύ, συριγγικό οξύ, <i>p</i> -κουμαρικό οξύ, <i>o</i> -κουμαρικό οξύ, φερουλικό οξύ, σιναπικό οξύ, βενζοϊκό οξύ, κινναμικό οξύ, γαλλικό οξύ
Φαινολικές αλκοόλες	Αποκαρβοξυλιωμένη μορφή του άγλυκου της ελαιοευρωπαϊνή (3,4 DHPEA – EDA)
σεκοϊριδοειδή	Ελαιοευρωπαϊνή, Διμεθυλο-ελαιοευρωπαϊνή, παράγωγα τυροσόλης

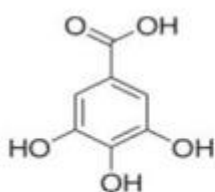
2.1.1 ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ

Ως πίνακας είναι οι φαινόλες με ένα καρβοξύλιο. Αν ο όρος χρησιμοποιείται για φυσικούς μεταβολίτες, προσδιορίζει κυρίως φαινόλες με παράγωγα βενζοϊκού οξέος (C6-C1) που έχουν υποκαταστάτες καρβοξυλικό οξύ και παράγωγα κινναμωμικού οξέος (C6-C3) που έχουν υποκαταστάτες προπενικό οξύ, ενώ ο υποκαταστάτης μπορεί να είναι και αλδεϋδομάδα. Ο ρόλος τους δεν έχει διευκρινιστεί ακριβώς. Η συγκέντρωσή τους μέσα στο φυτό ποικίλει ανάλογα με τις συνθήκες που βρίσκονται και το στάδιο ανάπτυξης του φυτού. Συνήθως βρίσκονται σε ποσοστό 1mg/kg. Είναι η πρώτη κατηγορία ενώσεων που ανιχνεύτηκαν στο παρθένο ελαιόλαδο.

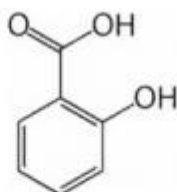
Τα φαινολικά οξέα βρίσκονται σε μορφή εστέρων ή αιθέρων ή γλυκοσιδίων και σε ένα μικρό ποσοστό βρίσκονται σε ελεύθερη μορφή. Τα φαινολικά που είναι παράγωγα του βενζοϊκού βρίσκονται είτε σε ελεύθερη μορφή, είτε σε μορφή εστέρων, ή γλυκοζιτών. Αντιθέτως, τα οξέα που είναι παράγωγα του κινναμωμικού οξέος είναι κυρίως εστεροποιημένα ή σε μορφή αμιδίων ή γλυκοζιτών. Τα πιο γνωστά φαινολικά βρίσκονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 5 : Φαινολικά οξέα (Κωνσταντίνος, 2012)

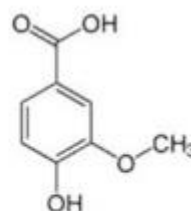
ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΟΞΕΑ	
Παράγωγα βενζοϊκού οξέος	Παράγωγα κινναμωμικού οξέος
Γαλλικό οξύ	Καφεϊκό οξύ
Συριγγικό οξύ	Φερούλικό οξύ
Βανιλλικό οξύ	Σιναπικό οξύ
Βανιλίνη	Π-κουμαρικό οξύ
Π-υδροξυβενζοϊκό οξύ	



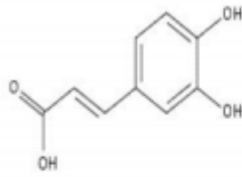
Γαλλικό οξύ



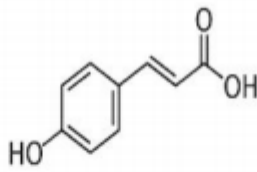
Σαλικυλικό οξύ



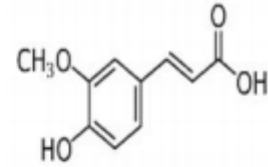
Βανιλλικό οξύ



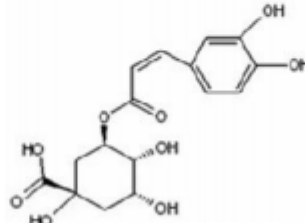
Καφεϊκό οξύ



π-κουμαρικό οξύ



Φερουλικό οξύ



Χλωρογενικό οξύ

Σχήμα 8 : Κυριότερα φαινολικά οξέα Πηγή (www.wikipedia.com)

2.1.2 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΑΛΚΟΟΛΕΣ

Οι φαινολικές αλκοόλες χαρακτηρίζονται από μια ομάδα υδροξυλίων ενωμένη με υποκαταστάτη του αρωματικού δακτυλίου. Στις φαινολικές αλκοόλες ανήκουν οι υδροξυτυροσόλη και η τυροσόλη . Είναι φαινολικά φυτοχημικά που συναντούνται στα φύλλα της ελιάς και στον καρπό της και είναι από τα φυσικά αντιοξειδωτικά που βρίσκονται σε αυτήν. Η υδροξυτυροσόλη είναι υπεύθυνη για την έντονη γεύση και άρωμα του λαδιού αφού είναι πρόδρομος της ελευρωπαίνης . Η υδροξυτυροσόλη σε αντίθεση με την τυροσόλη διαφέρει μια υδροξυλομάδα, πράγμα που την καθιστά σαρωτή ελεύθερων ριζών αυξάνοντας την αντιοξειδωτική της δράση και την αποτελεσματικότητα σε συνθήκες στρες.

2.1.3 ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ

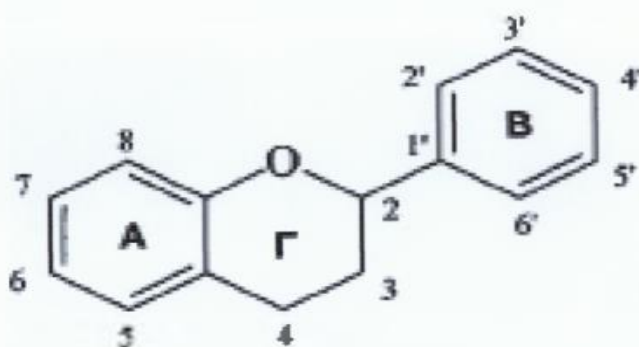
Τα φλαβονοειδή είναι φυσικές χρωστικές που σχηματίζουν ένα σκελετό από αρωματικούς δακτυλίους συνδεδεμένους με ένα ετεροκυκλικό πυρηνικό δακτύλιο διαφορετικού βαθμού οξείδωσης. Τα οποία διαφέρουν κυρίως στο δακτύλιο πυρόνης (παρουσία ή απουσία διπλού δεσμού ή 3-υδρόξυ ή 2-οξο ομάδων) και στον αριθμό των υδροξυλίων στους δακτυλίους A και B. Χωρίζονται σε υποομάδες . Οι οποίες είναι οι ανθοκυανίνες, φλαβόνες, φλαβονόνες, διυδροφλαβονόλες, χαλκόνες , φλαβονόλες, φλαβάνες, προανθοκυανίνες και ισοφλαβονοειδή. Επιπλέον η ορθο-

διφαινολική δομή ορισμένων φαινυλαλκοολών , φαινυλοξέων και φλαβονοειδών δίνει πολύ ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η υδρόξυτυροσόλη , μια ορθο- διφαινολική ένωση που είναι ισχυρό αντιοξειδωτικό .

Τα πιο γνωστά φλαβονοειδή είναι η λουτεολίνη , η ρουτίνη , η απιγενίνη και η 7-0 και η 4'-0-γλυκοζίτες της λουτεολίνης . Μπορεί να είναι είτε προσχηματισμένα κατά την φυσιολογική ανάπτυξη των φυτών , είτε επαγόμενα εξαιτίας μόλυνσης ή έκθεσης σε αντίξοες συνθήκες όπως υπεριώδη ακτινοβολία.

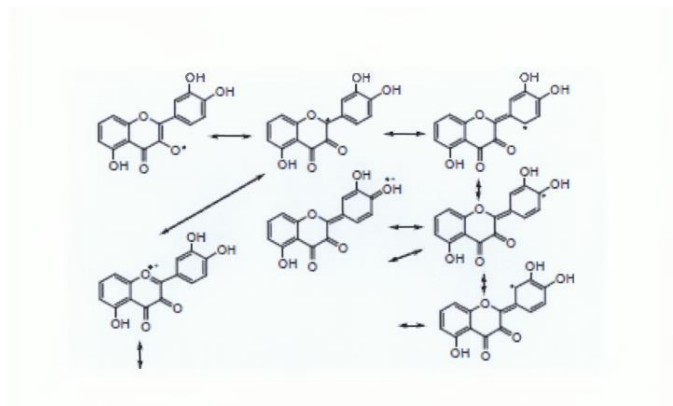
Έτσι τα φλαβονοειδή είναι από τα πιο ισχυρά αντιοξειδωτικά γιατί έχουν ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω στοιχεία .

- 1) Δομή ορθο- κατεχόλης
- 2) 2-3 συζυγικό διπλό δεσμό με 4 – οξο λειτουργική ομάδα
- 3) Ομάδες υδροξυλίου σε θέσεις 3,5



Σχήμα 9 : Η βασική δομή και το σύστημα αρίθμησης των φλαβονοειδών Πηγή (www.wikipedia.com)

Ο βαθμός της υδροξυλίωσης επηρεάζει την αντιοξειδωτική τους δράση η οποία μειώνεται όσο αυξάνονται τα σάκχαρα που υπάρχουν στο μόριο.

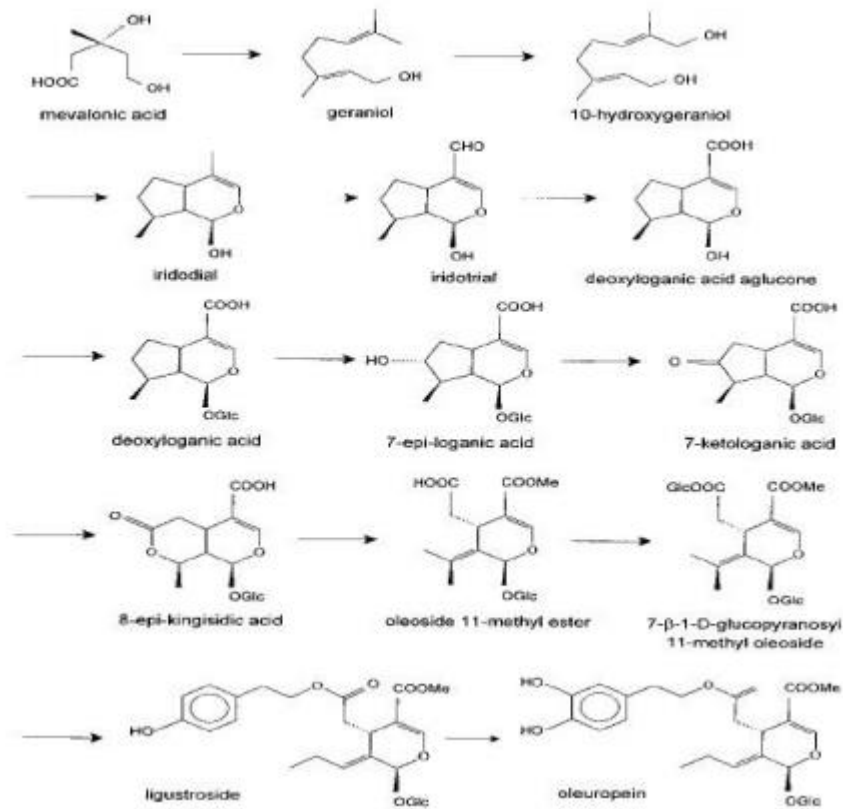


Σχήμα 10 : Μερικές δομές συντονισμού που σταθεροποιούν την ρίζα των φλαβονοειδών Πηγή (www.nestor.teipel.gr)

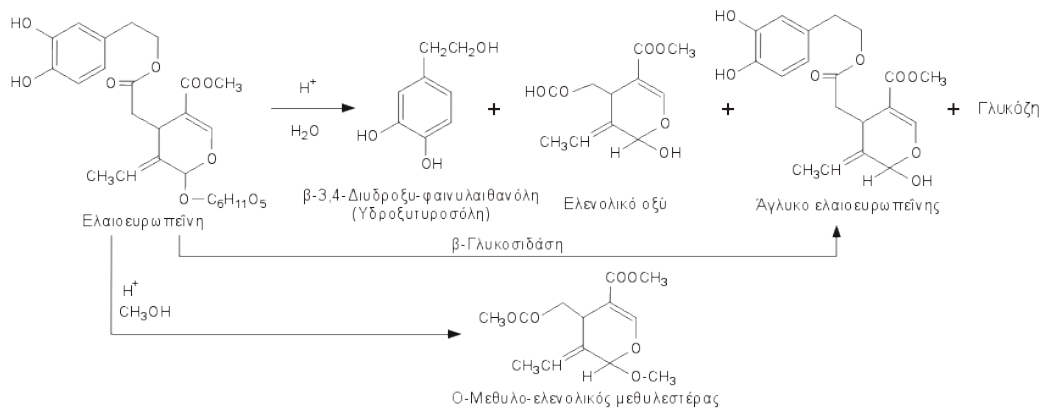
2.1.4 ΣΕΚΟΪΡΙΔΟΕΙΔΗ

Είναι από τις επικρατέστερες ενώσεις στα φύλλα ελιάς. Είναι ηλυκοζιδιομένες ενώσεις που προέρχονται από τον δευτερογενή μεταβολισμό των τερπενίων. Επίσης είναι και πρόδρομες ενώσεις πολλών αλκαλοειδών (Soler-Rivas et al 2000). Οι πιο γνωστές ενώσεις αυτής της κατηγορίας είναι η ελευρωπαϊνή και ο λιγκστροζίτης. Η δομική τους δομή αποτελείται από παράγωγα του ελενολικού οξέος ή παρουσία του ίδιου του ελενολικού οξέος. Η ελευρωπαϊνή είναι ένας κύριος σεκοϊριδοειδής γλυκοζίτης που μπορεί να υδρολυθεί σε υδρόξυτυροσόλη και σε γλυκοζίτη του ελενολικού οξέος ή σε άγλυκο της ελευρωπαϊνής και γλυκόζη. Παρόλο που αρκετές έρευνες έχουν δείξει ότι η ελευρωπαϊνή είναι το κύριο συστατικό στα φύλλα της ελιάς, πρόσφατες μελέτες βρίσκουν σε μεγάλα ποσοστά το άγλυκο της ελευρωπαϊνής (3,4 DHPEA – EDA). Τα σεκοϊριδοειδή δρούν ανασταλτικά στην αυτοοξειδωση και φωτοοξειδωση του λαδιού (Botia et al 2001).

Η βιοσύνθεση της ελευρωπαϊνής γίνεται με διακλάδωση στο μονοπάτι του μεβαλονικού οξέος του δευτερογενούς μεταβολισμού (Soler-Rivas 2000).



Σχήμα 11 : Βιοσύνθεση της ελεωρωπαΐνης Πηγή (www.onlinelibrary.wiley.com)



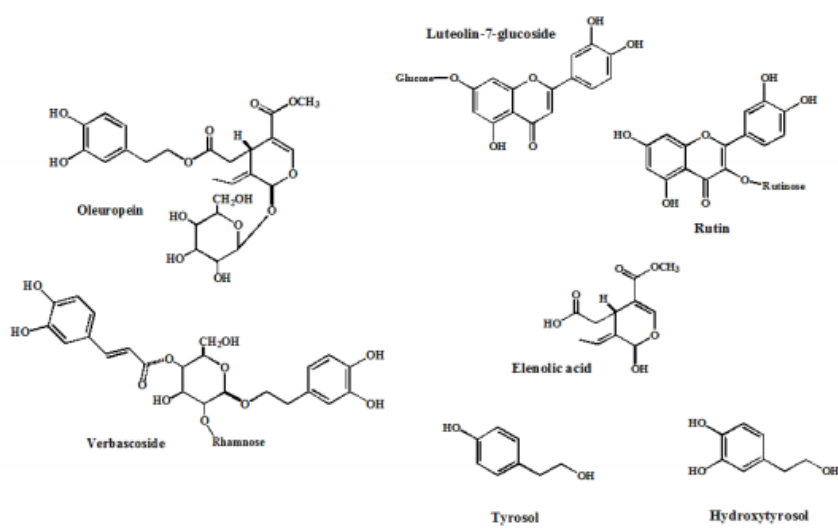
Σχήμα 12 : Χημική δομή ελεωρωπαΐνης και παράγωγα των αντιδράσεων της Πηγή (http://195.134.76.37/chemicals/chem_oleuropein.htm)

2.2 ΠΟΛΥΦΑΙΝΟΛΕΣ

Τα φύλλα ελιάς έχουν γνωστά ευεργετικά αποτελέσματα στον οργανισμό όταν χρησιμοποιούνται σαν παραδοσιακό φυτικό φάρμακο. Αυτά τα αποτελέσματα οφείλονται κυρίως στις φαινολικές ενώσεις. Είναι γνωστό άλλωστε ότι τα φύλλα συγκεντρώνουν την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση του δέντρου(ελευρωπαΐνη 0,005% - 0,12%) [Jaron –Lujan et al 2006]. Οι πολυφαινόλες (φαινολικές ενώσεις PP) είναι ευρέως διαδεδομένες στη φύση όπου έχουν ήδη ταυτοποιηθεί πάνω από 8000 δομές. Αποτελούν προϊόντα δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών . Τα οποία με αυτόν τον όρο περιγράφεται μια μεγάλη ομάδα ενώσεων με ένα ή περισσότερα υδροξύλια απευθείας συνδεδεμένα σε ένα ή περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους . Επίσης , είναι είτε απλά μόρια (φαινολικά οξέα) είτε υψηλά πολυμερισμένες ενώσεις (ταννίνες) .

Βρίσκονται κυρίως είτε μεθυλιωμένες , είτε ως γλυκοζύτες . Επιπλέον , μπορούν επίσης να είναι ενωμένες με καρβοξυλικά και οργανικά οξέα, αμίνες, λιπίδια. Διακρίνονται τουλάχιστον σε 10 κατηγορίες. Η σημαντικότερη κατηγορία πολυφαινολών είναι αυτή που περιέχεται στα φλαβονοειδή. Οι κυριότερες πέντε κατηγορίες είναι:

- 1) Ελευρωπαιοζίτες (ελευρωπαΐνη και βερμπασκοζίτης)
- 2) Φλαβόνες (λουτεολίνη-7-γλυκοσίδη, απιγενίνη-7-γλυκοσίδη, διομετίνη-7-γλυκοσίδη, λουτεολίνη και διομετίνη)
- 3) Φλαβονόλες (ρουτίνη)
- 4) Φλαβανόλες (κατεχίνη)
- 5) Υποκατεστημένες φαινόλες (τυροσόλη, υδρόξυτυροσόλη, βανιλίνη, βανιλικό, καφεϊκό οξύ)



Σχήμα 13 : Δομή φαινολικών ενώσεων στα φύλλα της ελιάς Πηγή (www.researchgate.net)

Οι σημαντικότερες ενώσεις των φύλλων ελιάς που βρίσκονται σε μεγαλύτερη ποσότητα είναι η ελευρωπαΐνη , ακολουθεί η υδρόξυτυροσόλη, στην συνέχεια η φλαβονη-7-γλυκοσίδη , η λουτεολίνη, η απεγινίνη και τέλος ο βερμπασκοζίτης. Ο Verbascoside είναι συζευγμένος γλυκοζΐτης ΗΤ & του καφεϊκού οξέος. Η περιεκτικότητα πολυφαινολών και φλαβονοειδών προσδιορίστηκε σε 2,058mg ισοδύναμα γαλλικού οξέος ανά 100g γαλλικό οξύ στα φύλλα (Makris et al 2007).

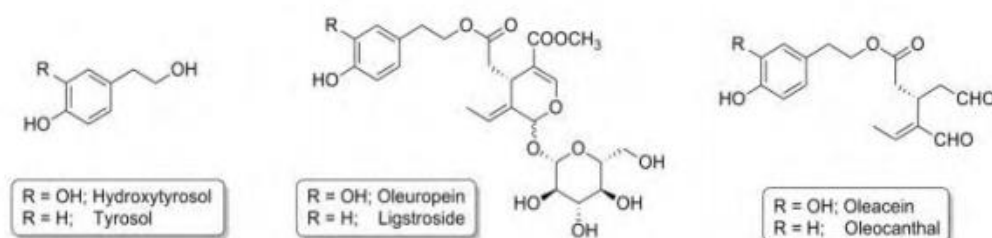
Το πολυφαινολικό περιεχόμενο εμφανίζει ισχυρή αντιοξειδωτική , αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική, αντυπερτασική, νευροπροστατευτική και καρδιοπροστατευτική δράση. Συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί ότι βελτιώνουν την ενδοθηλιακή λειτουργία σε ασθενείς με υπερχοληστερολαιμία , που βρίσκονται στο στάδιο της πρόωρης αθηροσκλήρυνσης. Μετά από 4 μήνες χορήγησης ημερησίως ελαιολάδου με περιεκτικότητα 340mg/kg πολυφαινολών , η λειτουργία αυτή βελτιώθηκε σημαντικά (Widmer et al 2013). Ακόμα διαπιστώθηκε ότι σε ποντικούς SAMP8 οι πολυφαινόλες του έξτρα παρθένου ελαιολάδου είχαν ωφέλιμες επιδράσεις έναντι δυσκολιών που είχαν οι ποντικοί σε μάθηση στην μνήμη, που σχετίζονται με μεγάλη παραγωγή ενός πεπτιδίου β αμυλοειδούς (Farr et al 2012).

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή επιτροπή ασφάλειας τροφίμων (EFSA) υπάρχει σχέση αιτίου αποτελέσματος μεταξύ της πρόσληψης φαινολικών ενώσεων και της προστασίας των λιπιδίων του αίματος από το οξειδωτικό στρες. Για να επιτευχθούν αυτά τα οφέλη , η EFSA προτείνει καθημερινά 5mg υδροξυτυροσόλη ως ελάχιστη πρόσληψη (Martinez-Huelamo et al 2017).

Οι πολυφαινόλες, είναι αυτές οι οποίες είναι υπευθυνες για τις οργανοληπτικές και διατροφικές ιδιότητες των τροφίμων. Η στυφή και πικρή γεύση εξαρτάται συνήθως σε ορισμένα τρόφιμα από την περιεκτικότητα των πολυφαινολών. Η παρουσία των πολυφαινολών στο ελαιόλαδο μειώνεται όσο περισσότερη επεξεργασία υφίστανται αυτό καθώς και όσο αυξάνεται η θερμοκρασία του. Επιπλέον οι PP παρουσιάζουν και άλλες δράσεις , πολλές από τις οποίες είναι ευεργετικές για την υγεία . Οι κυριότερες δράσεις συνοψίζονται παρακάτω.

- I. Επίδραση στην πέψη των μακροθρεπτικών συστατικών
- II. Επίδραση στην απορρόφηση μεταλλικών κατιόντων
- III. Ταννίνες και PP μειώνουν τα επίπεδα σακχάρου και χοληστερόλης στο αίμα
- IV. Προστασία επιθηλιακών κυττάρων του αναπνευστικού συστήματος
- V. Οι τανίνες αυξάνουν τα επίπεδα της HDL και μειώνουν τα επίπεδα της LDL
- VI. Αντικαρκινική δράση
- VII. Αντιμικροβιακή και αντιβακτηριακή δράση
- VIII. Αντιαλλεργικές ιδιότητες
- IX. Αγγειοδιασταλτική δράση διαμέσου της παραγωγής ενδοκυτταρικού NO
- X. Προστασία του DNA από ενδοκυτταρικές προσβολές
- XI. Αντιοξειδωτική δράση

Το ελαιόλαδο είναι αρκετά πλούσιο σε πολυφαινόλες , οι οποίες αποτελούν το ‘‘πολικό κλάσμα’’ του και εμποδίζουν την αυτοξείδωση του, συνεισφέροντας στο χαρακτηριστικό του άρωμα και γεύση.



Σχήμα 14 : Δομή χαρακτηριστικών πολυφαινόλων ελαιολάδου και φύλλων ελιάς Πηγή (http://195.134.76.37/chemicals/chem_oleuropein.htm)

2.3 ΕΛΕΥΡΩΠΑΪΝΗ & ΥΔΡΟΞΥΤΥΡΟΣΟΛΗ

Ανιχνεύτηκε για πρώτη φορά στις ελιές από τους Bonrquelot & vintileSCO το 1908, αλλά η χημική της δομή αναρτήθηκε από τον Panizzi et al 1960 αργότερα . Ορίστηκε ως ο ετεροσιδικός εστέρας του ελενολικού οξέος και της διυδροξυφαινολαιθόλης (Benavente-García et al 2000) . Το κύριο προϊόν αποικοδόμησης της είναι η υδροξυτυροσώλη. Είναι ευρέως γνωστό ότι ενώσεις με ορθοδιαφαινολική δομή έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Η ελευρωπαϊνή είναι η κύρια φαινολική ένωση των φύλλων ελιάς και κυμαίνεται από 17% έως 23% ανάλογα με τον χρόνο συγκομιδής. Ποσότητες φαινολικών ενώσεων βρέθηκαν στο υδατικό διάλυμα φύλλων παρά στο υδρομεθανολικό διάλυμα εκχυλίσματος των ίδιων φύλλων (Makris et al 2007). Στο υδατικό η κύρια ένωση ήταν η ελευρωπαϊνή ενώ στο υδρομεθανολικό ήταν τα φλαβονοειδή. Η χημική ένωση ορθοδιαφαινόλης είναι ισχυρός δότης υδρογόνου και είναι αξιοσημείωτο ότι το BHT (βουτυλιωμένο υδροξυτολουολίο) και η τοκοφερόλη (βιταμίνη E) δεν αφαιρούν το υπεροξειδικό ανιόν , με αποτέλεσμα το εκχύλισμα φύλλων ελιάς να είναι ικανό να προσθέσει σταθερότητα στα τρόφιμα που θα προστεθεί στην βιομηχανία σε υψηλή συγκέντρωση O₂.

Φυσικά η ποσότητα της ελευρωπαϊνής ποικίλει από ποικιλία σε ποικιλία , από δέντρο σε δέντρο και ανά εποχή. Ο Ranalli et al 2006 μελέτησε 7 διαφορετικές ιταλικές ποικιλίες ,αφού συλλέχθηκαν φύλλα σε δύο διαφορετικές περιόδους συγκομιδής , την άνοιξη και το φθινόπωρο .Αποδείχθηκε ότι η μεγαλύτερη μεταβολή οφείλετε στον τύπο ποικιλίας. Ταυτόχρονα , η ποσότητα της ελευρωπαϊνής ήταν μεγαλύτερη στα νεαρά φύλλα και τα πιο πράσινα. Υψηλότερη ήταν επίσης κατά την άνοιξη.

Βέβαια μελετήθηκε πως η ελευρωπαΐνη δεν μπορεί να απορροφηθεί άμεσα στο ανθρώπινο πεπτικό σύστημα , καθώς δεν μπορεί να ανιχνευτεί στο πλάσμα ή στα κόπρανα , επειδή μεταβολίζεται πλήρως σε υδροξυτυροσόλη και άλλα προϊόντα αποικοδόμησης .

Μελέτη έδειξε τις καρδιοπροστατευτικές επιδράσεις της ελευρωπαΐνης. Βρέθηκε να είναι εντελώς μη τοξική σε αρκετά είδη ζώων και να παρέχει αντικαρκινική δράση (Hamdi et al 2008). Ένα αντιβιοτικό ανθρακυκλίνης το DXR(αντινεοπλασματικό) γνωστό ως αδριαμυκίνη, έδειξε να είναι αποτελεσματικό κατά πολλών κακοηθών ασθενειών. Αναφέρθηκε πως η κλινική του χρήση είναι περιορισμένη εξαιτίας των καρδιοτοξικών παρενεργειών που προκαλεί οδηγώντας συχνά σε συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια (Hamdi et al 2008). Η δράση της ελευρωπαΐνης σε αρουραίους που λάμβαναν το DXR έδειξε οξεία θεραπεία από τις παρενέργειες του προστατεύοντας έτσι από την καρδιοτοξικότητα και εξασθενίζοντας την με επιτυχία. Ανέστειλε επίσης την υπεροξειδωση των λιπιδίων μειώνοντας τα είδη του αζώτου στα καρδιομυοκύτταρα. Γι'αυτό η οξεία καρδιοτοξικότητα από DXR μπορεί να αντιμετωπιστεί πλήρως με ελευρωπαΐνη (Andreadou et al 2008).

Αντιοξειδωτικές ικανότητες φαινολικών ενώσεων καθιερωμένων στην ελιά, εκχύλισμα φύλλων .

Πίνακας 6 : Αντιοξειδωτικές ικανότητες φαινολικών ενώσεων καθιερωμένων στην ελιά και στο εκχύλισμα φύλλων Πηγή (www.sciencedirect.com)

Φαινολικές ενώσεις	Ποσοστά (%) (ξηρή βάση)	Ισοδύναμη αντιοξειδωτική ικανότητα (mM)
Εκχύλισμα	-	1,58± 0,06
Ελευρωπαΐνη	24,54	0,088± 0,09
Υδροξυτυροσόλη	1,46	1,57± 0,12
Λουτεολίνη-7-γλυκοζίτη	1,38	0,71 ± 0,04
Απιγενίνη-7-γλυκοζίτη	1,37	0,42± 0,03
Βερμπασκοζίτης	1,11	1,02± 0,07
Τυροσόλη	0,71	0,35±0,35
Βανιλικό οξύ	0,63	0,67± 0,09
Διομετίνη-7-γλυκοζίτη	0,54	0,64± 0,09
Καφεϊκό οξύ	0,34	1,37± 0,08
Λουτεολίνη	0,21	2,25± 0,11
Ρουτίνη	0,05	2,27± 0,05
Διομετίνη	0,05	1,42± 0,07
Βανιλίνη	0,05	0,13-0,01
Κατεχίνη	0,04	2,28± 0,04

Η υδρόξυτυροσόλη (HT) είναι το κύριο προϊόν της αποικοδόμησης της ελευρωπαΐνης. Αποτελεί την κύρια φαινολική ένωση στο ελαιόλαο παρ'όλο που έχει ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα δεν εξάγεται εύκολα από μια φυσική πηγή. Απορροφάται στα έντερα και μεταφέρεται μέσω παθητικής διάχυσης . Οι Tuck & Hayball et al 2002 ανέφεραν ότι η HT απεκρίνεται μέσω του νεφρού και μεταβιβάζεται σε συζυγές της γλυκουρονίδης, συζυγέςθειϊκού άλατος, ομοβανιλικό οξύ, ομοβανιλλική αλκοόλη , 3,4-διυδροξυφαινυλοξικό οξύ και 3,4-διυδροξυφαινυλακεταλδεΰδη . Η HT εξαρτάται από την δόση που απορροφάται στους ανθρώπους μετά την κατάποση και απεκρίνεται στα ούρα ως συζυγή γλυκουρονίδης. Οι Bai et al 1998 & Christian et al 2004 εκτίμησαν την βιοδιαθεσιμότητα της από στόματος , όταν χορηγήθηκε HT σε υδατικό διάλυμα και σε διάλυμα ελαιολάδου. Στο υδατικό διάλυμα η βιοδιαθεσιμότητα προσδιορίστηκε σε 75% ενώ σε διάλυμα ελαιολάδου στο 99%.

Ο Christian et al 2004 που μελέτησε την από στόματος χορήγηση εκχυλίσματος ελιάς σε αρουραίους σε διαφορετικές δόσεις δήλωσε ότι η τιμή LD50 HT ήταν υψηλότερη από 5000mg/kg. Διερεύνησε επίσης την επίδραση χρόνιας τοξικότητας και την χορήγηση στην εγκυμοσύνη και διαπίστωσε πως δεν υπάρχει οποιαδήποτε αρνητική επίπτωση στην υψηλότερη δόση των 2000mg/kg ανά ημέρα.

3. ΧΡΗΣΕΙΣ ΦΥΛΛΩΝ ΕΛΙΑΣ

Η χρήση των φύλλων της ελιάς ήταν γνωστή από την αρχαιότητα. Οι Αιγύπτιοι τα χρησιμοποιούσαν για την ταρίχευση των Φαραώ καθώς γνώριζαν πως ήταν ισχυρό μικροβιοκτόνο. Οι λαοί της μεσογείου χρησιμοποιούσαν τον χυμό των φύλλων ελιάς ως φυσικό γιατρικό. Στις αρχές του 18^{ου} αιώνα πολτοποιούσαν τα φύλλα της ελιάς και τα αναμίγνυαν με κάποιο υγρό για να αντιμετωπίσουν την ελονοσία , ενώ άλλοι λαοί το χρησιμοποιούσαν για την σταθεροποίηση των επιπέδων σακχάρου. Επίσης, δεν ήταν λίγες οι φορές που λαμβάνονταν τα φύλλα για το στομάχι , ως καθαρτικό για το στόμα, ενώ τα αφεψήματα για την θεραπεία της διάρροιας και των λοιμώξεων του αναπνευστικού και του ουροποιητικού συστήματος (Delgado- Pertinez et al 2000 Bellakhdar et al 1991). Όλα αυτά λόγω των εξαιρετικά πολλών φαινολικών ενώσεων που περιέχονται στα φύλλα.

Σήμερα οι φαινολικές ενώσεις χρησιμοποιούνται στην ιατρική, τις βιομηχανίες φαρμακευτικών προϊόντων καθώς και στις βιομηχανίες καλλυντικών. Πρόσφατα έχουν αρχίσει να χρησιμοποιούνται και στην παραγωγή υλικών για συσκευασία τροφίμων αλλά και ως βιολογικά μυκητοκτόνα. Ακόμη, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και στην βιομηχανία τροφίμων καθώς προσδίδουν εξαιρετική διάκεια ζωής στα τρόφιμα όπως και διατηρούν τα θρεπτικά τους συστατικά (Bouaziz et al 2010) . Στις μέρες μας λοιπόν τα προϊόντα από φύλλα ελιάς διατίθενται είτε σε δισκία ως φαρμακευτικά σκευάσματα, είτε ως συμπληρώματα διατροφής , είτε σε φακέλους τσαγιών ή ακόμα και ως εκχυλίσματα.



Εικόνα 5 : Προϊόντα τα οποία παρασκευάζονται από φύλλα ελιάς

3.1 ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ

Από την αρχαιότητα τα φύλλα ελιάς αποτελούσαν ένα φυσικό γιατροσόφι για την θεραπεία από διάφορες παθήσεις. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιείτο ,

- ✚ Από το στόμα για διάφορες παθήσεις του εντέρου
- ✚ Μασώμενα ως καθαριστικό στόματος

- ✚ Ως αφέψημα για καταπολέμιση διάρροιας και θεραπεία λοιμώξεων του ουροποιητικού
- ✚ Ως αφέψημα με ζεστό νερό και φρέσκα φύλλα για θεραπεία της αρτηριακής πίεσης (υπέρταση). Ενώ είναι και ισχυρό διουρητικό .
- ✚ Ως εκχύλισμα αποξηραμένων φύλλων σε ζεστό νερό για θεραπεία του βρογχικού άσθματος
- ✚ Ως τσάι χρησιμοποιώντας 2 κουταλάκια του γλυκού αποξηραμένα φύλλα σε 5-6 oz (~168ml) βραστού νερού για 30 min. Μέγιστη κατανάλωση έως 4 φορές ανά ημέρα.

3.1.1 ΔΕΡΜΑ ΚΑΙ ΧΡΗΣΕΙΣ

Τα εκχυλίσματα φύλλων ελιάς είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικές, μαλακτικές ιδιότητες του δέρματος. Η παρουσία φλαβονοειδών και ελενολικού οξέος στα φύλλα βοηθούν το δέρμα διεγείροντας την ανάπτυξη του συνθετικού ιστού και ενισχύοντας έτσι της προστασία του από την γήρανση.

3.2 ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΦΥΛΛΩΝ ΕΛΙΑΣ

Τα φύλλα της ελιάς είναι επιμήκη αντίθετα, λογχοειδή, δερματοδη, σκουροπράσινα στην ανω επιφάνεια και αργυρόχρωμα στην κάτω, βγαίνουν στον βλαστο δύο-δύο και διατηρούνται για 2 με 3 χρόνια .Στην πάροδο του χρόνου παρατηρούμε ότι η χρήση τους στην καθημερινότητα όλο και αυξάνετε και ο λόγος είναι οι αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Το πρώτο δείγμα χρήσης έρχεται από την αρχαία Αίγυπτο που αναφέρεται ότι εκχύλισμα των φύλλων ελιάς το χρησιμοποιούσαν για διατηρήσή των σώματων των νεκρών (μούμιων), καθώς εμπόδιζε την ανάπτυξη μικροοργανισμών που καταστρέφουν την σάρκα. Στις μέρες μας τα φύλλα ελιάς χρησιμοποιούνται πιστοποιημένα σε φάρμακα , καλλυντικά και φαρμακευτικά προϊόντα .

Το κύριο συστατικό των φύλλων ελιάς είναι η ελευρωπαΐνη, η οποία κυμαίνεται από 1% μέχρι 14% και είναι υπεύθυνο για τις φαρμακευτικές ιδιότητες. Επιπλέον, τα φύλλα της ελιάς περιέχουν τριτερπένιο, φλαβονοειδή και χαλκόνες .

Τα φύλλα από το στάδιο του καθαρισμού/διαλογής του ελαιοκάρπου στο ελαιοτριβείο αποτελούν ένα τμήμα των στερεών αποβλήτων και είναι περίπου το 3-5% του αρχικού βάρους του καρπού. Το στερεό λοιπόν υπόλειμμα είναι κυρίως ο ελαιοπυρήνας και τα φύλλα της ελιάς κατά την διεξαγωγή του λαδιού. Είναι μια οικονομική πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών με συγκεντρώσεις έως και 100 φορές περισσότερες απ'ότι στο ελαιόλαδο , γεγονός που είναι αποτέλεσμα της πολικής

φύσης τόσο του ελαιοπυρήνα όσο και των φαινολών. Έτσι , πλέον όλο και περισσότερες είναι οι έρευνες που εστιάζουν στις διαφορετικές δράσεις που έχει το εκχύλισμα φύλλων ελιάς και την επίδραση του στον ανθρώπινο οργανισμό.

Οι ιδιοτητες των φύλων της ελιάς αποδίδονται κυρίως στα ιριδοειδή των φύλλων και ιδιαίτερα στα σεκοιριδοειδή . Πιο ειδικά στην ελευρωπαϊνή και στην υδροξυτυροσόλη. Τα φύλλα βελτιώνουν την κατάσταση σε ασθένειες όπως , πνευμονία, φυματίωση , γρίπη , ηπατίτιδα και έρπητας , αλλά και λοιμώξεις του ουροποιητικού όπως και χειρουργικές λοιμώξεις.

Τα φύλλα εξαιτίας του πλήθους βιοδραστικών ενώσεων που περιέχουν, βοηθούν στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού, προσδίδουν ενέργεια, έχουν αντι-παρασιτικές, αντι-ικές και αντιμυκητιακές ιδιότητες . Βοηθούν επίσης στην μείωση της αρτηριακής πίεσης, στην ρύθμιση του σακχάρου στο αίμα , στα επίπεδα κακής χοληστερόλης και σε καρδιοπάθειες. Έχει γίνει αναφορά επίσης για την αποτελεσματικότητα της ελευρωπαϊνης κατά του ιού HIV (Erbay 2008).

Τόσο ο καρπός της ελιάς όσο και τα φύλλα του είναι πλούσια σε φυτοχημικά αντιοξειδωτικά. Τα φύλλα έχουν ένα ιδιαίτερο φαινολικό προφίλ με αρκετές φαινολικές ενώσεις και την μεγαλύτερη ποσότητα σε ελευρωπαϊνή και υδροξυτυροσόλη. Συγκεκριμένα , ορισμένα από τα φαινολικά συστατικά της ελιάς είναι (Makris et al 2007)

- ✓ Απλές φαινόλες & οξέα (υδροξυτυροσόλη, τυροσόλη & συγγενείς ενώσεις)
- ✓ Βενζοϊκά & κινναμωμικά οξέα
- ✓ Φλαβονοειδή (λουτελίνη,απιγενίνη & συγγενικές ενώσεις)
- ✓ Σεκοιριδοειδή (ελευρωπαϊνή & συγγενικές ενώσεις)
- ✓ Ελενολικό οξύ & βερμπασκοζίτη
- ✓ Τερπενοειδή (ουρσολικό οξύ,μασλινικό οξύ, ουβαόλη, σκουαλένιο)
- ✓ Βιταμίνες (καροτενοειδή , τοκοφερόλες)
- ✓ Φυσικές χρωστικές (καροτενοειδή, χλωροφύλλες)
- ✓ Φυτοστερόλες (β-σιτοστερόλη, σιγμαστερόλη)

Ιδιαίτερα όσον αφορά την ελευρωπαϊνή , τα επίπεδα της στα φύλλα της ελιάς μπορούν να αγγίξουν μέχρι τα 264mg/g φύλλου, αν και η περιεκτικότητα εξαρτάται από πολλούς παράγοντες , όπως η ηλικία και η ποικιλία (Ryan et al 2003).

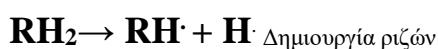
Η ελευρωπαϊνή είναι ο κύριος πολυφαινολικός σεκοιριδοειδής γλυκοζίτης των φύλλων της ελιάς με αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Μπορεί να υποστεί χημικές και ενζυματικές μετατροπές για δημιουργία νέων μοριακών δομών (Κυριτσάκης 2007).Ομοίως με την ελευρωπαϊνή , η υδροξυτυροσόλη έχει εξαιρετικές αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές δράσεις .

Σύμφωνα με τον Erbay (2011) τα φύλλα της ελιάς έχουν σημαντικά οφέλη για την υγεία , μειώνουν τον κίνδυνο για διάφορες ασθένειες και δευτερευόντως, οι βιοενεργές ιδιότητες τους είναι ευεργετικές για την ανθρώπινη υγεία. Πιο αναλυτικά, επιδρούν θετικά στην πήξη

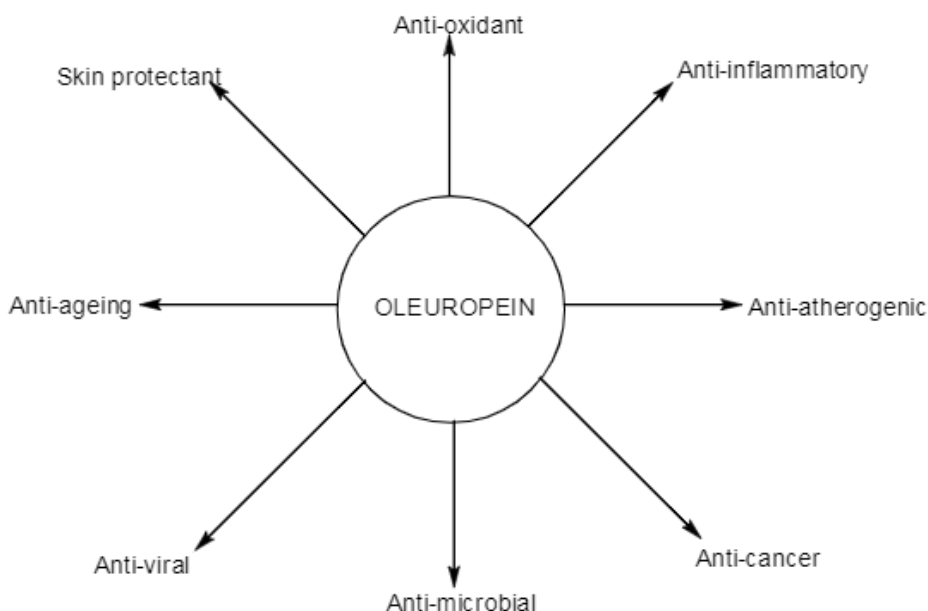
του αίματος και στην ροή των αιμοπεταλίων , ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα, προσφέρουν αντιγηραντική δράση , ενώ ορισμένες προσφέρουν επαναδόμηση του δέρματος. (Souilem et al 2014). Στο πλαίσιο αυτό τα τελευταία χρόνια υπάρχει έντονο επιστημονικό ενδιαφέρον με αποτέλεσμα να ανεβαίνει η εμπορική τους αξιοποίηση.

Η δράση των φύλλων της ελιάς ως αντιοξειδωτικά μέσα γίνεται κυρίως με τους εξής τρόπους :

- ✓ Παρεμβαίνουν στις αλυσιδωτές αντιδράσεις διάδοσης των ελευθέρων ριζών και των ROS , σχηματίζοντας μια σταθερή φαινολική ρίζα και απενεργοποιώντας τις αρχικές ρίζες.



- ✓ Δεσμεύουν τα μεταλλικά ιόντα τα οποία είναι εκκινητές μιας οξείδωσης, δημιουργώντας χηλικό σύμπλοκο. (Mira et al 2002)
- ✓ Αναγεννούν άλλα αντιοξειδωτικά απαραίτητα για τον ανθρώπινο οργανισμό όπως για παράδειγμα η α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E) (Natella et al 1999)



Εικόνα 6 : Ελευροπαΐνη και επιδράσεις στην υγεία Πηγή: (www.mdpi.com, 2010)

Αρκετές από τις επιδράσεις των φύλλων της ελιάς στον οργανισμό είναι :

- Αποτοξινώνουν
- Έχουν αντιοξειδωτική δράση
- Προστατεύουν από τους ιούς και τα βακτήρια (Αντιμικροβιακή δράση)
- Ελαττώνουν την αρτηριακή πίεση και βελτιώνουν την κυκλοφορία του αίματος. (Ανυπερτασική δράση & Αντιθρομβωτική δράση)
- Κατεβάζουν την χοληστερίνη και το σάκχαρο (υπογλυκαιμική δράση)
- Επιταχύνουν την ίαση σε κοινό κρυολόγημα, γρίπη και πνευμονία.
- Έχουν διουρητική δράση.
- Διευκολύνουν την πέψη.
- Μειώνουν τους σπασμούς των εντέρων.
- Έχουν ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση σε ωτίτιδες, λοιμώξεις του ουροποιητικού και μεταχειρουργικές λοιμώξεις.
- Βοηθούν σε χρόνια νοσήματα, όπως αρθρίτιδα και ψωρίαση.
- Δίνουν ενέργεια και χορηγούνται στο σύνδρομο χρόνιας κόπωσης.
- Βοηθούν σε προβλήματα οστεοπόρωσης
- Συμβάλλουν στην πρόληψη και αντιμετώπιση περισσότερων από 100 λοιμωδών ασθενειών
- Βοηθούν στην θεραπεία έναντι των κονδυλωμάτων
- Έχουν αντικαρκινική δράση
- Βοηθούν σε προβλήματα παχυσαρκίας



Εικόνα 7 : Κλαδί ελιάς με φύλλα και καρπό Πηγή (www.botanologia.gr)

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Η βιοδραστικότητα των φύλλων ελιάς έχει αποδοθεί στις κυριότερες βιοενέργειες ενώσεις που την απαρτίζουν καθώς και στα παράγωγα τους. Η συνεργιστική ιδιότητα

μεταξύ των βιοενεργών συστατικών έχει αναφερθεί και παλαιότερα. Μεταξύ των διαφόρων επιπτώσεων στην υγεία η αντιοξειδωτική δραστηριότητα φαίνεται να είναι μια σημαντική εγγενής ιδιότητα των φύλλων ελιάς .(Soler-Rivas et al 2000,Visioli et al 2002 ,Boskou et al 2005 ,Khan et al 2007, Νενάδης και Τσιμίδου 2009). Επομένως , δίνεται ιδιαίτερο ενδιαφέρον στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των μεμονωμένων ενέσεων . Η αντιοξειδωτική δράση της ελευρωπαΐνης και των σεκοΐριδοειδών εξετάστηκε το 2009 από τους Νενάδη και Τσιμίδου .Η ελευρωπαΐνη εκτός από τον σημαντικό προστατευτικό ρολό έναντι ορισμένων φυτοφάγων , παράσιτων και μικροβίων που μπορεί να βλάψουν την ελιά , έχει δοκιμαστεί επανελλημένα με πολλές in vitro αναλύσεις για αντιδραστικές ιδιότητες σάρωσης οξυγόνου και αζώτου. Στοιχεία από παράλληλη εξέταση εκχυλίσματος φύλλων με 25% ελευρωπαΐνη και εκχυλίσματος συστατικών 90% με ενώσεις ελευρωπαΐνη, βερμπασκοζίτης , τυροσόλη , υδρόξη τυροσόλη ,λουτεολίνη-7-0-γλυκοσίδη και λουτεολίνη. Έδειξε ότι υπήρχε εξουδετέρωση της ελεύθερης ρίζας ABTS*,γεγονός που αποδεικνύει την ανωτερότητα της ελευρωπαΐνης και την ομοιότητα με την απόδοση εκχυλίσματος της υδρόξη τυροσόλη .

Η μελέτη αναγνώρισε την σημαντική συμβολή των βερμπασκοζίτη , γλυκοζίτη της λουτεολίνης στη συνολική αντιοξειδωτική δράση του εκχυλίσματος.(Benavente – Garcia et al 2000). Στην μέτρηση εξουδετέρωσης της ρίζας DPPH η ελευρωπαΐνη μείωσε το RSC₅₀ κατά 45% .(Ryan –Martins and Gordon, 2001) Το ελενολικό οξύ και το ισομερές του ουρσολικού οξέος είναι καθιερωμένα πολυλειτουργικά συστατικά πολλών φυσικών προϊόντων .(Liu 1995). Οι Γιν και Τσεν το 2007 δοκίμασαν την δραστηριότητα τους σε λιποσώματα φωσφατιδυλοχολίνης και το συνέκριναν με αυτό της τοκοφερόλης υπό διαφορετικές συνθήκες Θ και pH .Με τις πειραματικές συνθήκες να ποικίλουν αποδείχθηκε ότι είχαν υψηλότερη αποτελεσματικότητα έναντι της βιταμίνης Ε. Τα δύο τριτερπένια εξαρτώμενα από την συγκέντρωση έκαναν σάρωση υπεροξειδίων που ήταν αποτέλεσμα χηλίωσης .

Έτσι, παρόλο που ελεύθερες ρίζες παράγονται καθημερινά με διάφορους μηχανισμούς στο ανθρώπινο σώμα , η υπέρμετρη συσσώρευση τους μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρικές βλάβες . Αυτές οι βλάβες σχετίζονται με τον αυξημένο κίνδυνο καρκίνου και χρόνιων νοσημάτων . Μπορούν όμως να αποτραπούν από τις αντιοξειδωτικές ενώσεις των φύλλων ελιάς οι οποίες εμφανίζουν συνεργιστική δράση και ικανότητα εξάλειψης των ΕΛ.Ρ ενώ η αντιοξειδωτική ικανότητα των φύλλων είναι μεγαλύτερη από την αντιοξειδωτική ικανότητα των βιταμίνης C και βιταμίνης Ε.

ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

Σε έρευνες , τόσο η ελευρωπαΐνη όσο και η υδρόξυτυροσόλη εμφάνισαν αντιμικροβιακή αντι-πρωτοζωική και αντική δραστηριότητα (Sudjana et al 1999). Το

εκχύλισμα φύλλων είναι πολύ χρήσιμο σε περιπτώσεις μυκητιάσεων από μικροοργανισμό *Candida* μπορεί να προκαλέσει πεπτικές διαταραχές, κόπωση και αναπνευστικές ανησυχίες. Φύλλα ελιάς εξετάστηκαν για την αντιμικροβιακή τους δραστηριότητα κατά του *B.cereus*, *B.Subtilis*, *S. Aureus*, *E.Coli*, *P Aeryginosa*, *K rneumoniae*, *C albicans*, *C neoformans*. Το εκχύλισμα αναστέλλει όλα τα προαναφερθέντα βακτήρια και μύκητες υποδηλώνοντας την ευρεία αντιμικροβιακή δράση των φύλλων ελιάς με τρόπο που εξαρτάται από την συγκέντρωση. Σύμφωνα με τις τιμές του ρυθμού ανάπτυξης μικροβίων παρουσία διαφορετικών φύλλων ελιάς σε συγκεντρώσεις, οι μικροοργανισμοί ήταν οι ευαίσθητοι σύμφωνα με την σειρά κατάταξης *B Cereus* > *C Albicans* > *E Coli* > *S Aureus* > *C neoformans* > *K rneumoniae* > *P aeruginosa* > *B Subtilis* > *B cereus* > *C albicans* και παρουσίασαν τιμές IC_{25} κάτω από 1mg/ml. (Pereira et al 2007)

Επίσης η ελευρωπαΐνη και η υδρόξη τυροσόλη έχουν αποδειχθεί ότι αναστέλλουν ή καθυστερούν τον ρυθμό ανάπτυξης πολλών παθογόνων μικροβίων του ανθρώπινου εντερικού ή αναπνευστικού συστήματος, δηλαδή του αιμόφιλου influenza, *Moraxella*, *catarrhalis*, *Sarmonella typhi*, *Vibrio parahaenolyticus*, *Staphylococcus aureus* *Vibrio cholerae* και *Vibrio alginolyticus*. (isignano G et al 1999). Τα φύλλα ελιάς μπορεί να είναι χρήσιμα σε περιπτώσεις όπου η παρατεταμένη χρήση αντιβιοτικών ενθαρρύνει την ανάπτυξη ευκαιριακών λοιμώξεων (Verduyn-Lunel FM et al 1999) ιδιαίτερα έναντι των *Klebsiella* και *Pseudomonas*. Τόσο η ελευρωπαΐνη όσο και η υδρόξη τυροσόλη εμφάνισαν αντιμικροβιακή, αντι-πρωτοζωική και αντική δραστηριότητα (Sudjana et al 2009).

Το εκχύλισμα ελαιόφυλλων αποδεικνύεται ότι έχει αντιμυκητιακές ιδιότητες. Είναι ιδιαίτερα χρήσιμο σε περιπτώσεις υπερανάπτυξης *Candida*, γνωστή ως λοίμωξη ζύμης. Τέλος η Sudjana et al; έδειξε την αντιμικροβιακή δραστηριότητα του εμπορικού εκχυλίσματος φύλλων σε μεγάλο βαθμό κατά του εμπορικού εκχυλίσματος φύλλων σε μεγάλο βαθμό κατά του *Campylobacter Jejuni*, *Helicobacter pylori* και κατά του ανθεκτικού στην μεθιλίνη *S Aureus* (MASA). Η Sudjana et al απέδειξε επίσης ότι αυτά τα εκχυλίσματα παίζουν ρόλο στην ρύθμιση της σύνθεσης της γαστρικής χλωρίδας μειώνοντας επιλεκτικά τα επίπεδα των *H.Pylori* και *C. Jejuni*.

Σε μελέτη που έγινε το 2012 χρησιμοποιήθηκαν αποξηραμένα φύλλα ελιάς από το Ιράν. Φάνηκε η αντιβακτηριακή δραστηριότητα κατά παθογόνων βακτηρίων. Ο Markin ανέφερε ότι εκχύλισμα νερού φύλλων ελιάς με C=0,6% w/v σκότωσε τους μικροοργανισμούς *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* και *K.pneumoniae* μετά από έκθεση 3 ωρών. Σε μία άλλη μελέτη ο Korukluoglu ανέφερε ότι ο τύπος διαλύτη επηρεάζει την φαινολική κατανομή και την αντιμικροβιακή δράση κατά των δοκιμασμένων βακτηρίων. Η εκχύλιση με αιθανόλη έδειξε την υψηλότερη αντιμικροβιακή απόδοση ενάντια της *E.coli* και *S.enteritidis*. Στην μελέτη Pereira δοκιμάστηκε η αντιμικροβιακή δραστηριότητα του υδατικού διαλύματος φύλλων κατά *S.aureus*, *B.subtilis*, *P,aeruginosa*, *E.coli*, *K.pneumoniae* και *B.cereus*. Αποκάλυψε ότι οι ρυθμοί ανάπτυξης των *S.aureus* και *E.coli* μειώθηκαν ενώ το IC_{25} έδειξε τιμή 2,68mg/ml για *s.aureus* και 1,81 mg/ml για *E.coli*.

ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΔΡΑΣΗ

Η ελευρωπαϊνή και η υδρόξυτυροσόλη αναστέλλουν την παραγωγή λευκοτριενίου B4 που εμπλέκεται σε ευρύ φάσμα προφλεγμονωδών μονοπατιών και σε παραγωγή εικοσανοειδών (Visioli et al 2008). Η απιγενίνη αναστέλλει το νιτρικό οξείδιο του φλεγμονώδους μεσολαβητή και την προσταγλανδίνη E2 (De La Puerta et al 1999). Ακόμα ο Visioli et al 1998 έδειξε ότι η ελευρωπαϊνή αυξάνει την παραγωγή οξειδίου του αζώτου στα μακροφάγα κύτταρα που προκαλείται με λιποπολυσακχαρίτη μέσω επαγωγής της επαγωγίσιμης μορφής του ενζύμου σύνθεση του νιτρικού οξειδίου, αυξάνοντας λειτουργική δραστηριότητα των ανοσοϊκανών κυττάρων.

ΑΝΤΙΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Σε ένα δίπλωμα ευρεσιτεχνίας των ΗΠΑ υποστηρίχθηκε ότι η ελευρωπαϊνή έχει ισχυρές αντικές δράσεις κατά της μονοπυρήνωσης, του ιού της ηπατίτιδας, του ροταϊού, του ρινοϊού των βοειδών και του ιού της λευχαιμίας των αιλουροειδών. Μελέτες επίσης έχουν δείξει ότι η ελευρωπαϊνή παρουσιάζει σημαντική αντική δραστηριότητα κατά του αναπνευστικού ιού και του ιού της γρίπης τύπου 3 (Masc, HezD et al 2001).

Υπάρχει επίσης μια αναφορά ότι τα εκχυλίσματα φύλλων ελιάς αυξάνουν την δραστηριότητα του αναστολέα HIV RT 3TC (Walker M 1996). Τα εκχυλίσματα διερευνήθηκαν για την αντική τους δράση κατά του ιού της Ιογενούς αιμορραγικής σηψαιμίας (VHSV). Η μετάδοση HIV από κύτταρα σε κύτταρα παρεμποδίστηκε με δόσοεξαρτώμενο τρόπο και έδειξε EC₅₀ 0,2μg σε ένα in Vitro πείραμα. (Lee-Hvangs, Zhang L, Chang yy2003, Hcang L.). Ένας από τους υποπτούς στόχους της δράσης του εκχυλίσματος είναι η HIV-1 gp41 (υπομονάδα επιφανειακής γλυκοπρωτεΐνης), που είναι υπεύθυνη για την είσοδο του HIV στα φυσιολογικά κύτταρα.

ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Οι φαινολικές ενώσεις των φύλλων της ελιάς έχουν συσχετιστεί με μειωμένη επίπτωση των καρδιακών παθήσεων. Έτσι δίαιτες πλούσιες σε αντιοξειδωτικά εμποδίζουν τα επιβλαβή αποτελέσματα του οξειδωτικού μεταβολισμού απομακρύνοντας έτσι τις ελεύθερες ρίζες και καθυστερώντας έτσι την αθηροσκλήρωση (Dimitrios B 2006). Οι καρδιαγγειακές επιδράσεις των εκχυλισμάτων έχουν μελετηθεί καλά και αποδίδονται στα κύρια συστατικά της ελευρωπαϊνης και της ελεασίνης (Lassere B, Kaizer R, Chanh Ph 1983), τα

σεκοϊριδοειδή που βρίσκονται στα φύλλα ελιάς και είναι υπεύθυνα για τις αγγειοδιασταλτικές και χαλαρωτικές ιδιότητες των εκχυλισμάτων (Kimyga y, Sumiyoshi M 2009).

Μελέτη επίδρασης αντιθρομβωτικής δράσης σε κουνέλια έδειξε τα εξής αποτελέσματα. Κουνέλια που έλαβαν από στόματος αγωγή με ελευρωπαΐνη 100-200mg/kg για 8 εβδομάδες δεν εμφάνισαν καμία επίδραση στον χρόνο θρόμβωσης . όταν δόθηκε δόση υψηλότερη των 200mg/kg η επίδραση ήταν πιο εμφανής. Η αντιθρομβωτική δράση της ελευρωπαΐνης μπορεί να οφείλεται στην τροποποίηση του εξωγενούς αλλά όχι του ενδογενούς συστήματος πήξης (Abdallah et al 2011).

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗΝ ΑΡΤΥΡΙΑΚΗ ΠΙΕΣΗ

Το εκχύλισμα φύλλων ελιάς έχει μελετηθεί επίσης πως βοηθάει στην κυκλοφορία του αίματος και πιο συγκεκριμένα στην ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης. Σύμφωνα με έρευνα που έγινε το 2016 η κατανάλωση 1g φύλλων ελιάς μαζί με 300g λευκό ρύζι μειώνει σημαντικά την γλυκόζη στο αίμα στα 30 και στα 60 λεπτά στους οριακούς διαβητικούς .

Μια μελέτη με 40 μονοζυγωτικά προϋπερταστικά δίδυμα που λάμβαναν ημερήσιες δόσεις 500mg και 1000mg εκχυλίσματος φύλλων μελετήθηκε η συστολή αρτηριακής πίεσης (SBP) και η διαστολική αρτηριακή πίεση (DBP) για 8 εβδομάδες .Η ομάδα που λάμβανε 1000 mg καθημερινός έδειξε μείωση της SBP και DBP . Η ομάδα που λάμβανε 500 mg καθημερινά έδειξε μικρότερη μείωση (Susapit et al 2011).

Ακόμα μια έρευνα του Susalit et al 2011 και συνεργατών του αξιολόγησε την επίδραση του εκχυλίσματος στην αρτηριακή και την διαστολική πίεση σε άτομα με υπέρταση σταδίου I και έδειξε ότι μια δόση 500mg δύο φορές την ημέρα (συνολικά 1000 mg) μπορεί να μειώσει τόσο την αρτηριακή όσο και την διαστολική πίεση. Η αντιυπερτασική δράση συγκρίθηκε με το φάρμακο Captopril σε δόση 12,5-25 mg δύο φορές την ημέρα (Nekooeian AA, Khalili A, Khosravi MB 2014) .Μία άλλη μελέτη χρησιμοποίησε μοντέλα ζώων με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II(DM2) και νεφρική υπέρταση που προκαλείται από στρεπτοζωτοκίνη (ST2) , και νικοτιναμίδη (NA) .Οι αναλύσεις έδειξαν μείωση της SBP λόγω της αντιοξειδωτικής δράσης του εκχυλίσματος που προκλήθηκε από την απελευθέρωση του μονοξειδίου του αζώτου (NO) (Nekooeian AA et al 2014).

ΑΝΤΙΓΗΡΑΝΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Οι φυσιολογικοί άνθρωποι ινοβλάστες υφίστανται αναπαραγωγική γήρανση λόγω γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων . Το πρωτεόσω, μία πολυκαταλυτική μη

γλυκοσωμική πρωτέαση , καθυστερεί την γήρανση στους ανθρώπινους ινοβλάστες. Ο Katjiki et al 2007 απέδειξε ότι η ελευρωπαϊνή ενισχύει το πρωτεόσωμα σε δραστηριότητες in vitro πιο αποτελεσματική , από άλλους γνωστούς χημικούς ενεργοποιητές, πιθανώς μέσω διαμορφωτικών αλλαγών του πρωτεοσώματος .

Επομένως η συνεχής θεραπεία με ελευρωπαϊνή μειώνει την ποσότητα των οξειδωμένων πρωτεϊνών. Είναι σημαντικό ότι οι καλλιέργειες που υποβλήθηκαν σε αγωγή με ελευρωπαϊνή εμφάνισαν καθυστέρηση στην εμφάνιση της γήρανσης , ενώ διάρκεια ζωής τους παρατάθηκε περίπου 15%.(Katjiki M et al2007) .

ΥΠΟΓΛΥΚΑΙΜΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Τα φύλλα ελιάς είναι γνωστό αντιδιαβητικό και αντιυπερτασικό φυτικό φάρμακο (Pereira JA et al 2007).Έχουν χρησιμοποιηθεί επίσης ως ιατρικό βότανο για την θεραπεία για τον διαβητικής υπογλυκαιμίας , της υπέρτασης ,των μολυσματικών ασθενειών και αναγνωρίζονται ευρέως ως παραδοσιακή θεραπεία για τον διαβήτη και την υπέρταση στην Ευρώπη(Komaki E, Yamaguchi S, Maru I et al 2003).Υπάρχουν δύο μηχανισμοί εξήγησης της υπογλυκαιμικής δράσης που είναι (Al-Azzowie et al 2006) :

- ✓ Η πιθανότητα να επιδρά στην απελευθέρωση της ινσουλίνη που προκαλείται από την γλυκόζη
- ✓ Αυξάνει την περιφερειακή πρόσληψη της γλυκόζης. Τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα μειώθηκαν σε διαβητικά κουνέλια που υποβλήθηκαν σε αγωγή με ελευρωπαϊνή , σε σύγκριση με κουνέλια που δεν υποβλήθηκαν. Αναφέρεται επίσης ότι η ελευρωπαϊνή πετυχαίνει την πρόσληψη γλυκόζης από το κύτταρο (Gonzalez et al 1992). Η ελευρωπαϊνή είναι αγωνιστής του TGRS , ενός συζευγμένου με πρωτεΐνη G υποδοχέα που ενεργοποιείται από τα χολικά οξέα και αναφέρεται πως προκαλεί μέρος του ενδοκρινικού συστήματος. Τα χολικά οξέα βοηθούν στον μεταβολισμό διότι μειώνουν την ανάπτυξη παχυσαρκίας και αντιστέκονται στην ινσουλίνη. Η μελέτη αυτή έγινε σε ποντίκια που υποβλήθηκαν σε δίαιτα με αυξημένη περιεκτικότητα σε λιπαρά (Sato et al 2007).

Οι All-Azzawie και Alhamdani et al 2006 μελέτησαν τις υπογλυκαιμικές επιδράσεις της ελευρωπαϊνης σε κουνέλια που τους χορηγούν αλλοξάνη. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα , η ελευρωπαϊνή μπορεί να είναι ευεργετική στην αναστολή της υπεργλυκαιμίας και του οξειδωτικούς στρες που προκαλείτε από τον διαβήτη και προτείνουν ότι η εφαρμογή της ελευρωπαϊνης μπορεί να είναι χρήσιμη στην πρόληψη των διαβητικών επιπλοκών που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες. Οι Kamaki και οι συνεργάτες του et al 2003 μελέτησαν της επίδραση του εκχυλίσματος φύλλων σε μεταγευματική γλυκόζη αίματος σε διαβητικούς αρουραίους . Τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι τόσο η λουτεολίνη όσο και το ελενολικό οξύ έχουν ανασταλτική

επίδραση στην γλυκόζη του αίματος μετά την κυκλοφορία . Η λιλουρόνη επιτάχυνε την πρόσληψη της γλυκόζης από το κύτταρο (Gonzalez M et al 1992). Επίσης , μέρος της υπογλυκαιρικής επιδράσης επιδράσης αποδίδεται στην αντιοξειδωτική ικανότητα της ελευρωπαϊνης (Sato H, Genlt C , Strehle A et al 2007).

Επιπροσθέτως , μία έρευνα των (Jemail et al 2009) αξιολόγησε τις επιπτώσεις της εφαρμογής εκχυλισμάτων ελευρωπαϊνης και υδρόξη τυροσόλη σε διαβητικούς ποντικούς σε συγκεντρώσεις των 16 και 8 mg/kg σωματικού βάρους αντίστοιχα . Αυτή η μελέτη έδειξε ότι τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα ήταν σημαντικά χαμηλότερο ($p < 0,05$) σε διαβητικούς αρουραίους μετά την χορήγηση των εκχυλισμάτων . Τα ποντίκια που έλαβαν εκχύλισμα σε συγκέντρωση 16 mg/kg υψηλότερα επίπεδα ηπατικής συγκέντρωσης γλυκογόνου σε σχέση με αυτούς που η συγκέντρωση του εκχυλίσματος ήταν 8 mg/kg . Η μελέτη χρησιμοποίησε δόση 20 mg/kg σωματικού βάρους για περίοδο 16 εβδομάδων και η επίδραση φάνηκε από την 8^η εβδομάδα χορήγησης . Η μελέτη έδειξε επίσης ότι η ομάδα που έλαβε εκχύλισμα έδειξε σταδιακή μείωση των επιπέδων ερυθροκυτταρικής μηλονδιαδεύδης από την 10^η εβδομάδα .

Έτσι προτάθηκε η χρήση της ελευρωπαϊνης για μείωση των επιπλοκών που προκύπτουν από το οξειδωτικό στρες σε διαβήτη τύπου 241. Επιπλέον σε μια άλλη μελέτη η οποία αξιολόγησε την ικανότητα των κύριων φαινολικών συστατικών του εκχυλίσματος φύλλων ως αναστολείς των AGES . Φάνηκε ότι η λουτεολίνη-7-0-B-D-γλυκοπυρραϊνόςιδη και η λουτεολίνη είναι ισχυροί αναστολείς των AGES ,δηλαδή καθυστερούν την ανάπτυξη των διαβητικών επιπλοκών.

ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Το εκχύλισμα και η ελευρωπαϊνη ανέστειλλαν το πάχος του δέρματος και μείωσαν την ελαστικότητα και την καρκινογένεση του δέρματος όπως και την ανάπτυξη όγκων (Kimura et al 2012). Το αποξηραμένο εκχύλισμα ανέστειλε σημαντικά τον πολλαπλασιασμό και περιόρισε την κλωνογεννητικότητα του μελανώματος σε B16 ποντικό *in vitro*. Το αποξηραμένο εκχύλισμα μπλοκάρει τα B16 κύτταρα που έχουν μπλοκαριστεί στην G(0) / G(1) φάση του κυτταρικού κύκλου και προκαλεί πρόωμη απόπτωση . Τα συνολικά αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι το εκχύλισμα είναι αποτελεσματικό κατά του μελανώματος (Mijartovic et al 2011). Έτσι είναι αποτελεσματικό στην μείωση των επιπέδων 1L-1β και TNF-α μετά από χημειοθεραπεία , ενώ ασκεί θεραπευτική επίδραση και πρόληψη της ανάπτυξης σοβαρής στοματικής βλεννογονίτιδας (Khadija Muhamed et al 2011).

Επιπροσθέτως, σύμφωνα με έρευνες τα φύλλα της ελιάς εμφανίζουν ισχυρή αντικαρκινική δράση. Πολλοί είναι οι επιστήμονες που υποστηρίζουν πως η Μεσογειακή διατροφή παρέχει την προστασία στον ανθρώπινο οργανισμό έναντι ορισμένων μορφών καρκίνου. Περίπου το 80% των καρκίνων είναι αποτέλεσμα

ανθυγιεινού τρόπου ζωής, ειδικά για τον καρκίνο του μαστού, των ωοθηκών, του προστάτη, του παχέος εντέρου και της αναπνευστικής οδού. Έρευνες που έχουν δημοσιευθεί για χώρες που ακολουθούν μεσογειακή διατροφή (Ισπανία, Ιταλία, Ελλάδα) δείχνουν οι χώρες αυτές να έχουν μικρότερα ποσοστά εμφάνισης καρκίνου έναντι χωρών του βορά.

Χωρίς να υπάρχουν σαφή δεδομένα, έχει υποστηριχθεί πως το ελαικό οξύ συνδέεται με μείωση εμφάνισης καρκίνου του μαστού, του παχέος εντέρου και του προστάτη, σε αντίθεση με τροφές πλούσιο σε λινολεϊκό οξύ που αυξάνουν την πιθανότητα καρκίνου καθώς αλληλεπιδρά με το ανθρώπινο γονιδίωμα. (Binukumar & Mathew 2005). Επίσης, οι πολυφαινόλες είναι αντιφλεγμονώδεις ουσίες και προστατεύουν το DNA από βλάβες που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες.

Η ευρωπαϊνή αναγνωρίζει τα φυσιολογικά από τα καρκινικά κύτταρα και προκαλεί απόπτωση μόνο των καρκινικών κυττάρων (Boss 2016). Επίσης, οι πολυφαινόλες έχουν παρόμοια δομή με τα οιστρογόνα και γι' αυτό το λόγο πιστεύεται πως μειώνουν τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη των καρκινικών όγκων που σχετίζονται με τις ορμόνες αυτές.

Μια έρευνα έδειξε ότι το εκχύλισμα φύλλων ελιάς έδειξε αντι-πολλαπλασιαστική επίδραση στα λευχαιμικά κύτταρα μέσω της απόπτωσης (Fares et al., 2011). Επίσης ακατέργαστο εκχύλισμα φύλλων ελιάς πλούσιο κυρίως σε ευρωπαϊνή έχει βρεθεί ότι αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του αδενοκαρκινώματος του μαστού και της ουροδόχου κύστης στον άνθρωπο (Goulas et al 2009). Μελέτες, επιπλέον έδειξαν πως οι πολυφαινόλες αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του παγκρέατος (Goldsmith et al 2015) και του προστάτη (Acquanina et al 2012).

Μία πληθώρα δευτερευόντων συστατικών στο ελαιόλαδο έχουν αναγνωριστεί ως αποτελεσματικά παράγοντες στο μετριασμό της έναρξης προώθησης και εξέλιξης της καρκινογένεσης πολλαπλών σταδίων.

ΚΑΡΔΙΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Εκτός από την αντιυπερτασική και υποχοληστερολαιμική δράση που περιγράφεται στην επιστημονική βιβλιογραφία, οι πολυφαινόλες έχουν και καρδιοπροστατευτικά αποτελέσματα. Η αξιολόγηση έδειξε ότι η χορήγηση 20 mg/kg ευρωπαϊνης πριν από την επαγωγή της ισχαιμίας σε αρουραίους είχε ως αποτέλεσμα μειωμένη απελευθέρωση της κρεατινικής - κινάσης (ck), ο οποίος είναι σημαντικός δείκτης βαρύτητας του καρδιακού τραυματισμού και της οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG), η οποία είναι ευαίσθητος δείκτης της έκθεσης της καρδιάς στο οξειδωτικό στρες. Για την εκτίμηση των συγκεντρωμένων οξειδωτικών μεταβολών η μελέτη μετρήσε και τη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας TBARS (Θειοβαρβιτουρικό οξύ), η οποία

αυξάνεται σημαντικά στον καρδιακό μυ μετά την ισχαιμία, που δείχνει σοβαρή οξειδωτική αλλαγή στη μεμβράνη των φωσφολιπιδίων. Η μελέτη δεν είχε καμία σημαντική αύξηση των TBARS που έλαβαν ελευρωπαΐνη σε σχέση με αυτό που δεν έλαβαν υποδηλώνοντας το καρδιοπροστατευτικό αποτέλεσμα. (Manna C et al 2004).

ΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Εκτός των άλλων το εκχύλισμα από φύλλα ελιάς βοηθάει στην γρήγορη ίαση του κρυολογήματος, της γρίπης και της πνευμονίας εξαιτίας των ενώσεων που περιέχουν. Τα περισσότερα φλαβονοειδή του εκχυλίσματος έχουν αντιμικροβιακή δράση (Pias et al 2011).

ΝΕΥΡΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Σύμφωνα με την θεωρία των ελεύθερων ριζών η γήρανση είναι αποτέλεσμα οξειδωτικού τραυματισμού, κυρίως σε μιτοχόνδρια, κατά την διάρκεια της ζωής ενός ατόμου. Μερικές από τις οξειδωτικές βλάβες δεν μπορούν να εξουδετερωθούν πλήρως, γεγονός που οδηγεί σε κυτταρική δυσλειτουργία. Η μιτοχονδριακές μεμβράνες είναι πολύ ευαίσθητες στην επίθεση των ελευθέρων ριζών λόγω της παρουσίας ενός άνθρακα διπλού δεσμού στις ουρές λιπιδίων των φωσφολιπιδίων του, γεγονός που οδηγεί στην παραγωγή γνωστικών και νευροεκφυλιστικών ασθενειών. In vitro οι Moosmann B & Behl C 1999 καθώς και επιδημιολογικές μελέτες των German JB et al 2000 έχουν επισημάνει τον θετικό αντίκτυπο των φυσικών πολυφαινόλων που έχουν εκχυλιστεί σε συχνότητα που σχετίζεται με τις ηλικιακές διαταραχές όπως η άνοια. Μια μελέτη του Bazoti FN 2006 και των συναργατών του ανέφερε ότι η ελευρωπαΐνη μειώνει ή αποτρέπει την νόσο Alzheimer (AD). Η πιθανή επίδραση της ελευρωπαΐνης στην λειτουργία του εγκεφάλου στην νόσο AD είναι ανάλογη με την αθηροσκλήρωση επειδή και οι δύο είναι ασθένειες που εξαρτώνται από την ηλικία στις οποίες η ανώμαλη συσσώρευση ενός μη φυσιολογικού μεταβολίτη προηγείται των κλινικών συμπτωμάτων των οδηγών στην νόσο (Golde TE & Eckman CB 2001) & (Hofman A et al 1997). Η σχέση μεταξύ καρδιακών παθήσεων, υπερχοληστερολαιμίας και AD είναι λόγω παρόμοιων μηχανισμών αυτών των διαταραχών (Refolo LM et al 2000).

Τα φύλλα της ελιάς εκτός των άλλων προστατεύουν το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα από την καταστροφή που προκαλείται από τον εκφυλισμό που σχετίζεται με την ηλικία και προκαλεί συνήθως Alzheimer ή Parkinson. Έτσι, οι φαινολικές ενώσεις καταστέλλουν την φλεγμονή και μειώνουν την βλάβη που προκαλεί το οξειδωτικό στρες (Mohagheghi et al 2011).

ΥΠΕΡΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΑΙΜΙΑ

Οι φαινολικές ενώσεις των φύλλων σχετίζονται με μειωμένη επίπτωση καρδιαγγειακών παθήσεων και ως αντιοξειδωτικά ελαχιστοποιούσαν τα επιβλαβή αποτελέσματα των ελευθέρων ριζών στο σώμα (Singh I et al 2008). Τα ευεργετικά αποτελέσματα των πολυφαινολών έχουν παρατηρηθεί στο προφίλ λιπιδίων όπως η ολική χοληστερόλη (TC) , η χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη χοληστερόλη (LDL-c) και στα τριγλυκερίδια (TG) (Susalit E et al 2011). Η μείωση που παρατηρήθηκε ήταν μεγαλύτερη της φαινοφιβράτης (αντι-τριγλυκεριδικός παράγοντας) (Keating B et al 1983). Η εφαρμογή εκχυλισμάτων πλούσιων σε πολυφαινόλες μπόρεσε να αποκαταστήσει το λιπιδικό προφίλ ειδικά στις ομάδες που έλαβαν ελευρωπαϊνή και HT σε συγκέντρωση 16mg/kg , δείχνοντας ότι το εκχύλισμα φύλλων που περιέχει ελευρωπαϊνή και HT μπορεί να βελτιώσει σημαντικά την υπερχοληστερολαιμία σε συνδυασμό με την υπογλυκαιμία (Jemai H et al 2009) . Επίσης, πιστεύεται ότι η μέθοδος μπορεί να ενεργοποιήσει την φωσφολιπάση C και τον μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος και πιστεύεται ότι μειώνει το υπεροξειδίο του υδρογόνου (Singh et al 2008).

ΟΦΕΛΗ ΣΤΟ ΔΕΡΜΑ

Οι Ancora et al 2004 έδειξαν ότι τα συστατικά των φαινολικών ενώσεων του ελαιολάδου και κατά συνέπεια κ των φύλλων έχουν άμεση αντιοξειδωτική δράση στο δέρμα ειδικά η ελευρωπαϊνή η οποία δρα ως καθαριστής ελευθέρων ριζών από το επίπεδο του δέρματος. Οι Kimura Y & Sumiyoshi M 2009 πρότειναν ότι η προληπτική δράση των εκχυλισμάτων φύλλων δρά ενάντια στην ακτινοβολία UVB, την καρκινογένεση και ανάπτυξη όγκου και στην αναστολή της έκφρασης VEGF, MMP-2, MMP-9, MMP-13 μέσω μείωσης των επιπέδων COX-2.

ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙΑ ΣΤΗΝ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Μια μελέτη in vitro έδειξε ότι η ελευρωπαϊνή μείωσε την έκφραση του ενεργοποιημένου πολλαπλασιαστή υπεροξειδίου του δείκτη PPAR στα κύτταρα που προέρχονται από μυελό ανθρώπινου οστού (Santiago – Mova R et al 2011). Άλλη μελέτη έδειξε ότι η ελευρωπαϊνή ρυθμίζει το μέγεθος των λιποκυττάρων (Driva R et al 2011). Επιπλέον, έρευνα της Snobodona και των συνεργατών της 2014 έδειξε ότι η ελευρωπαϊνή έχει αντι-λιπογενή δράση αφού αναστέλει την δραστηριότητα και την λειτουργία των λιποκυττάρων.

ΧΡΟΝΙΑ ΚΟΛΙΤΙΔΑ

Η επίδραση της χορήγησης ελευρωπαϊνης σε ασθενείς με χρόνια κολίτιδα δοκιμάστηκε από τον Giner και του συνεργάτες του σε μια μελέτη που αξιολόγησε τα αποτελέσματα μιας δίαιτας συμπληρωμένης με ελευρωπαϊνη που ισοδυναμεί με 500mg/kg για 56 μέρες σε ποντίκια με χρόνια κολίτιδα που προκαλείται από νάτριοθειϊκή δεξτράνη. Η μελέτη έδειξε μείωση της κυτταρικής διήθησης και κατά συνέπεια μείωση των φλεγμονωδών κυττάρων στη θέση του τραυματισμού (Giner E et al 2013).

ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΧΡΟΝΙΑΣ ΚΟΠΩΣΗΣ

Το σύνδρομο CFS σχετίζεται άμεσα με την ανοσολογική δυσλειτουργία , η οποία επιτρέπει την ανάπτυξη λοιμώξεων . Στις ΗΠΑ η χρήση εκχυλίσματος από φύλλα είναι πολύ δημοφιλής σε γιατρούς ομοιοπαθητικής (Michele et al 2002).

ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

Όταν η ελευρωπαϊνη χορηγείτε στο πρώτο στάδιο της αρθρίτιδας εμποδίζει την ανάπτυξη συμπτωμάτων και βελτιώνει την μικροσκοπική εμφάνιση των αρθρώσεων .Όταν χορηγείτε μετά την πλήρη ανάπτυξη της νόσου υπάρχει σημαντική βελτίωση στις φλεγμονώδεις αλλαγές στις αρθρώσεις σε σύγκριση με ασθενείς που δεν έχουν υποστεί αγωγή με ελευρωπαϊνη . Επίσης , η ελευρωπαϊνη παρουσιάζει παρόμοια οφέλη στην οστεοαρθρίτιδα . Σε ασθενείς που χορηγήθηκε το εκχύλισμα φύλλων βελτιώσει το πρήξιμο των αρθρώσεων , την μικροσκοπική εμφάνιση του ιστού των αρθρώσεων και πρόλαβε την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών (Impellizeri et al 2011).

ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ

Τα φύλλα είναι χρήσιμα τόσο στην διέγερση των οστεοβλαστών (κύτταρα που εμπλέκονται στην ανάπτυξη των οστών) όσο και στην αναστολή των οστεοπλαστών (κύτταρα που εμπλέκονται στην απομάκρυνση των οστών). Πρόκειται για πρωτοποριακές μελέτες που μπορεί να οδηγήσουν σε επιπλέον μελέτες μελλοντικά (Gong et al 2012).

Η ελευρωπαϊνη και η υδρόξυτυροσόλη στα 10-100μM δεν είχαν καμία επίδραση στην παραγωγή κολλαγόνου τύπου I και στην δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης σε κύτταρα MC3T3-E1. Αντιθέτως, ελευρωπαϊνη στα 10-100μM και

υδροξυτυροσώλη στα 50-100μM ανέστηλαν στον σχηματισμό πολυπύρηνων οστεοκλαστών με δόσοεξαστώμενο τρόπο. Επιπλέον και οι δύο ενώσεις ανέστηλλαν την οστική απώλεια του δοκιδωτού οστού σε θηλυκά ποντίκια ηλικίας έως 6 εβδομάδων. Άρα, η ελευρωπαΐνη και υδροξυτυροσώλη έχουν κρήσιμες επιπτώσεις στον σχηματισμό και την συντήρηση των οστών και μπορούν να χρησιμοποιηθούν αποτελεσματικά στην θεραπεία των συμπτωμάτων οστεοπόρωσης (Hagiwara et al 2011).

ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΕ ΚΟΝΔΥΛΩΜΑΤΑ (WARTS)

Τα πιο συνηθισμένα κονδυλώματα εμφανίζονται σε γόνατα, χέρια, πόδια, αγκώνες. Ορισμένα και σε στόμα, νύχια ακόμη και γεννητικά όργανα. Δεδομένου ότι προκαλούνται από ιό, τα φύλλα ελιάς είναι ένας αποτελεσματικός παράγοντας για αυτή την δερματική πάθηση (Fedrickson et al 2000).

Πίνακας 7 : Επιδράσεις μεσογειακής διατροφής σε διάφορους τύπους καρκίνου

Τύπος έρευνας	Επίδραση
Επιδημιολογικές μελέτες παρατήρησης	Μειωμένα ποσοστά εμφάνισης διάφορων τύπων καρκίνου
Αναλυτικές επιδημιολογικές μελέτες	Συσχέτιση κατανάλωση μονοακόρεστων λιπαρών με μείωση εμφάνισης καρκίνου του μαστού
Πειραματικές in vivo μελέτες	Καθυστερήση εξέλιξης καρκίνου του μαστού Βελτίωση ιστοπαθολογικού προφίλ κακοήθειας
Ενδείξεις από εμπειρικές in vivo μελέτες και in vitro μελέτες σε ανθρώπους.	Τροποποίηση της έκφρασης των γονιδίων που εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων στο καρκίνο του μαστού. Προστατεύει έναντι του οξειδωτικού στρες. Αντιφλεγμονώδες και ανοσοτροποποιητική δράση.

Γενικότερα, η αντιμικροβιακή δράση των φύλλων ελιάς οφείλεται κυρίως στην ελευρωπαίνη, τα βανιλικά και τα κουμαρικά οξέα, αφού αναστέλλουν την ανάπτυξη ορισμένων βακτηρίων (Soler-Rivas et al 2000). Οι φαινολικές ενώσεις και οι πολυφαινόλες είναι υπεύθυνες για όλες τις επιδράσεις, αφού και η προστασία από τις εκφυλιστικές ασθένειες και άλλες νευρολογικές ή αυτοάνοσα προκύπτει από τα φαινολικά συστατικά (Estruch et al 2006). Η υδρόξυτυροσόλη, αναστέλει την χημικά επαγόμενη συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων και προάγει τα προ-φλεγμονώδη μόρια (Turner et al 2005). Η α-τοκοφερόλη (αντιοξειδωτικός διαλύτης που εμποδίζει από την υπεροξείδωση των λιπιδίων) προστατεύει από ελεύθερες ρίζες, δερματικές

διαταραχές, καρκινογενέσεις και αρτηριοσκλήρυνση (Amstrong et al 1997). Επίσης, όσον αφορά τον καρκίνο, το σκουαλένιο (πολυακόρεστο τριτερπένιο) που βρίσκεται στο ελαιόλαδο και στα φύλλα έως 7mg/g, βρέθηκε πως μειώνει την εμφάνιση καρκίνου του στήθους στις γυναίκες (Newmark 1999).

Τα μονοακόρεστα λιπαρά είναι αυτά που οφείλονται για την μείωση της παχυσαρκίας (Schroder et al 2004). Δίαιτες περιορισμένες σε υδατάνθρακες και αυξημένης περιεκτικότητας σε μονοακόρεστα, αποτελούν ιδανικές εναλλακτικές για δίαιτες χαμηλών λιπαρών για απώλεια κιλών ή συντήρηση (Shai et al 2008). Επίσης, η αύξηση της κατανάλωσης ελαιολάδου και εκχύλισματος φύλλων ελιάς, δεν επιφέρει αύξηση του σωματικού βάρους, εφόσον ακολουθείται ισορροπημένη διατροφή (Berra-Rastrollo et al 2006).

Το ελαιόλαδο και το εκχύλισμα φύλλων επηρεάζει τις λειτουργίες του ενδοθηλίου, μειώνοντας το προθρομβωτικό περιβάλλον, τροποποιώντας την πήξη και θρόμβωση των αιμοπεταλίων (Covas 2007). Σύμφωνα με τους Lopez-Miranda et al 2010, το ελαιόλαδο βοηθάει στην μείωση εμφάνισης καρδιακών νοσημάτων με τους εξής μηχανισμούς:

- ✚ Βελτιώνει το λιπιδικό προφίλ μέσω μείωσης της LDL χοληστερόλης και αύξηση της HDL
- ✚ Βελτιώνει την ευαισθησία της LDL στην οξείδωση και την οξειδωτική αγγειακή βλάβη
- ✚ Βελτιώνει την αρτηριακή πίεση
- ✚ Βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία

Οι πιο δύσκολες νευρολογικές διαταραχές και νευροεκφυλιστικές ασθένειες οφείλονται στο οξειδωτικό στρες που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες. Αν και υπάρχουν αρκετές πληροφορίες για τους μηχανισμούς και την παθολογία αυτών των ασθενειών, οι περισσότερες θεραπείες είναι συμπτωματικές χωρίς να εστιάζουν στην αντιμετώπιση των αιτιών. Σύμφωνα με τον Farooqi 2013, τα φύλλα ελιάς έχουν σημαντικό θετικό αντίκτυπο στο ανοσοποιητικό σύστημα. Έτσι οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες που οφείλονται κυρίως σε φαινολικές ενώσεις, μπορούν να περιορίσουν το αντίκτυπο του οξειδωτικού στρες που οφείλεται για την παθογένεση των νευροεκφυλιστικών διαταραχών.

Τέλος, έρευνα απέδειξε πως η ελαιοκανθάλη προσδίδει προστατευτική δράση στους νευρώνες του εγκεφάλου , επιδρώντας θετικά σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Parkinson, Alzheimer) (Pitt et al 2009). Ο Faroqui 2013 αναφέρει ότι η σιβαόλη και η ερυθροδιόλη συμβάλλουν στην πρόληψη των αστροκυτωμάτων (επιθετική κακοήθεια στο νευρολογικό σύστημα).

3.3 ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Η κατανάλωση φύλλων ελιάς που γίνεται με διάφορους τρόπους είναι ασφαλής, μη τοξική και ανεκτή από την πλειονότητα του πληθυσμού . Δεν υπάρχουν παρενέργειες , εκτός από περιπτώσεις θυρεοειδή, βρογχοκήλης και διαβητικούς. Στις υπερθυροειδικές καταστάσεις και την βρογχοκήλη αρκεί να λαμβάνεται προσεκτικά, ενώ μπορεί να αντιδράσει με διαβητικά φάρμακα καθώς μειώνει το σάκχαρο στο αίμα. Ωστόσο η άφθονη κατανάλωση φύλλων μπορεί να φέρει και δυσμενής επιπτώσεις/ παρενέργειες η οποίες δεν είναι πολύ σοβαρές , είναι ικανές ωστόσο να ταλαιπωρήσουν τον πάσχοντα.

3.4 ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ ΦΥΛΛΩΝ

Οι παρενέργειες που αναφέρθηκαν παραπάνω λόγω υπέρμετρης δόσης συνοψίζονται :

- I. Ερεθισμός στομάχου : μπορεί να προκληθεί σε ορισμένους ανθρώπους από πολύ ισχυρά εκχυλίσματα ή βάμματα. Εάν τα εκχυλίσματα λαμβάνονται με την τροφή περιορίζεται ο ερεθισμός.
- II. Διάρροια : μπορεί να προκληθεί από ερεθισμό στο στομάχι, αλλά οι περιπτώσεις που σημειώθηκαν αφορούσαν άτομα με μόλυνση από Candida. Η Candida δημιουργεί νημάτια στην θέση των ευεργετικών προβιοτικών βακτηρίων του στομάχου. Τα φύλλα καταστρέφουν αυτά τα νημάτια, προκαλώντας όμως διάρροια.
- III. Καούρα : μετά από λήψη βάμματος συμβαίνει συνήθως παλινδρόμηση του εντέρου (ΓΟΠ). Μπορεί το βάμμα να αραιώνεται σε τσάι η νερό για την αποφυγή της καούρας (Jacob et al 2010).

3.5 ΑΛΛΗΛΕΠΔΡΑΣΗ ΜΕ ΦΑΡΜΑΚΑ .

- a. Αυξάνει τις επιδράσεις φαρμάκων που μειώνουν την αρτηριακή πίεση.
 - Αναστολείς ACE (Captopril ,Enalapril, Lisinopril, Monopril)
 - Αναστολείς ασβεστίου (νιφεδιπίνη ,Nonvas c , βεραπαμίλη)

- B-Blockers (Ατενολόλη ,Μετπρολόλη,Προπανάλη)
 - Διουρητικά (Dyazide , Furosemide ,Hydrochlorothiazide)
- b. Λόγω μείωσης σακχάρου μπορεί να αυξήσεις τις επιδράσεις της ινσουλίνης και των φαρμάκων που λαμβάνονται από το στόμα όπως,Actos ,Amarly,Avandia, glipizide ,glyburide ,Glynase ,Glyset , metformin ,Prandin και Precase. Καλύτερα το εκχύλισμα να μην λαμβάνεται με φυτικά προϊόντα σακχάρου γιατί μπορεί να προκληθεί υπογλυκαιμία .
- c. Το εκχύλισμα μπορεί να αυξήσει την δράση των αντιπηκτικών όπως η βερμαρίνη (Warfarin) καθώς αποτρέπει τα αιμοπετάλια να κολλήσουν μεταξύ τους.

Τα φύλλα ελιάς μπορούν να εφαρμοστούν με ασφάλεια για θεραπεία διαφόρων προβλημάτων υγείας όπως λοιμώξεις , φλεγμονώδεις ασθένειες , οξειδωτικό στρες υπέρταση ,διαβήτης τύπου II, θρόμβωση ,ενούρηση και καρκίνος.

3.6 ΕΝΘΥΛΑΚΩΣΗ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΧΡΗΣΗ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ.

Για να σταθεροποιηθεί το εκχύλισμα των φύλλων της ελιάς έγινε μελέτη προκειμένου να γίνει ενθυλάκωση του. Οι Kosaraju έκαναν ενσωμάτωση του εκχυλίσματος σε μικρόσφαιρες χιτοζάνης (chitosan) χρησιμοποιώντας spray dryer. Παρατήρησαν πως η δραστηριότητα των φαινολικών ενώσεων διατηρήθηκε σε εξαιρετικά επίπεδα και μετά την ενθυλάκωση σε spray dryer. Ο Mourtzinος πραγματοποίησε ενθυλάκωση του εκχυλίσματος σε Β- Κυκλοδεξτρίνη αναμιγνύοντας τα συστατικά σε υδατικό μέσο και ακολούθησε ξήρανση σε spray dryer .Διαπίστωσε πως η ενθυλάκωση αύξησε την υδατική διαλυτότητα του φαινολικού υπολείμματος περισσότερο από 150% . Ως εκ τούτου είναι μια σπουδαία μέθοδος ώστε το εκχύλισμα να μπορεί χρησιμοποιηθεί ως πρόσθετο στην τροφή με το πλεονέκτημα της υψηλότερης υδατικής διαλυτότητας και διατηρώντας τις φαινολικές ενώσεις σε εξαιρετική κατάσταση . (Erbay et al 2010).

4. ΤΡΟΠΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΦΥΛΛΩΝ ΕΛΙΑΣ

Η αντιοξειδωτική δράση των φαινολικών ενώσεων εκτιμάται με διαφορετικές τεχνικές που στηρίζονται σε διαφορετικούς μηχανισμούς , αφού οι φαινολικές

ενώσεις δρουν ως αντιοξειδωτικά μέσω διαφόρων μηχανισμών. Οι συνηθέστερες τεχνικές είναι :

- ✚ Εκτίμηση της βλάβης του DNA υπο συνθήκες οξειδωτικού στρες
- ✚ Εκτίμηση της βλάβης πρωτεϊνών
- ✚ Εκτίμηση της οξείδωσης λιπιδίων (TBARS)
- ✚ Δέσμευση ελευθέρων ριζών (*O_2 , *OH , *NO , ABTS** , DPPH)
- ✚ Προσδιορισμός συνολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu
- ✚ Μέτρηση επιπέδων αντιοξειδωτικών ενζύμων , αντιοξειδωτικών και βιταμινών

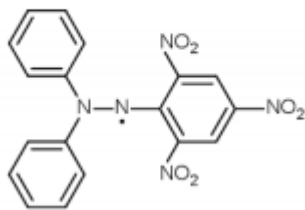
4.1 ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΡΙΖΑΣ DPPH

Το DPPH (2,2-δι(4-τερτ-οκτυλφαινύλο)-1-πυκρλυδραζίλιο) είναι μία από τις λίγες σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες οργανικές ρίζες αζώτου. Πρόκειται για μια ελεύθερη ρίζα που η καταπολέμιση της από τα αντιοξειδωτικά έχει ως αποτέλεσμα την εξασθένιση του πορφυρού χρώματος του διαλύματος του η οποία παρακολουθείται στα 517nm , όπου παρατηρείται το μέγιστο του φάσματος του μορίου της ρίζας.

Για την Παρασκευή διαλύματος DPPH ζυγίστηκαν σε αναλυτικό ζυγό 0,0042gr σκόνη DPPH και διαλύθηκαν σε 125ml οργανικό διαλύτη μεθανόλη (MeOH). Το διάλυμα παρέμεινε για 30min σε ηρεμία στο σκοτάδι και έπειτα χρησιμοποιήθηκε για την φασματοφωτομέτρηση των δειγμάτων. Το ποσοστό του DPPH που παραμένει (%RSC) είναι το ποσοστό εξουδετέρωσης της ελεύθερης ρίζας και υπολογίζεται από την εξής σχέση :

$$\%RSC = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100\%$$

Είναι απαραίτητο το μεθανολικό διάλυμα που παρασκευάστηκε να έχει συγκέντρωση τέτοια ώστε η απορρόφηση να είναι περίπου 1 , δεδομένου ότι το φασματοφωτόμετρο που χρησιμοποιούμε για να δώσει σωστές μετρήσεις πρέπει τα διαλύματα μας να είναι αραιά. Εξάλλου ο νόμος Lambert-Beer δεν ισχύει για πυκνά διαλύματα. Επίσης δεύτερος κύριος παράγοντας χρήσης του διαλύματος DPPH είναι να χρησιμοποιηθεί το αργότερο εντός 2 με 3 ημέρες από την μέρα που παρασκευάστηκε, καθώς έχει πολύ ευαισθησία και μπορεί να εμφανίσει εύκολα λανθασμένες μετρήσεις.



Σχήμα 15 : Δομή ρίζας DPPH Πηγή (www.dspace.lib.ntua.gr)

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Τα φύλλα συλλέχθηκαν την φθινοπωρινή περίοδο στα τέλη Οκτωβρίου 2020 .
Επιλέχθηκαν δυο ποικιλίες για αυτή την έρευνα . Ο
προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής δράσης των φύλλων έγινε χρησιμοποιώντας την
μέθοδο προσδιορισμού ρίζας DPPH . Το διάλυμα DPPH παρασκευάστηκε ζυγίζοντας
περίπου 0,05g σκόνη DPPH και διαλύοντας την σε 125ml MeOH . Το διάλυμα
παρέμεινε για 30' στο σκοτάδι και
έπειτα χρησιμοποιήθηκε άμεσα. Είναι σημαντικό να τονιστεί πως το διάλυμα
DPPH είναι ένα ευαίσθητο διάλυμα το οποίο όταν
παρασκευαστεί πρέπει να χρησιμοποιηθεί άμεσα σε διάστημα εντός 2 ημερών ,
καθώς με την πάροδο των ωρών και του χρόνου αλλοιώνεται και μπορεί πολύ εύκολα
να μας δώσει λανθασμένες μετρήσεις.

Επίσης για αυτή την μέθοδο παρασκευάστηκε και διάλυμα
γαλλικού οξέος το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπο και κατασκευάστηκε πρότυπη
καμπύλη αναφοράς γαλλικού οξέος σε συνάρτηση με το ποσοστό εξουδετέρωσης της
ρίζας DPPH (RSC%). Το διάλυμα γαλλικού οξέος παρασκευάστηκε ζυγίζοντας 0,05g
γαλλικό οξύ και διαλύοντας
τα σε 100ml MeOH. Επίσης το συγκεκριμένο διάλυμα χρησιμοποιήθηκε απευθείας μ
ετά την παρασκευή του εντός της ίδιας ημέρας.

Αρχικά , ζυγίσαμε περίπου 2 gr χλωρών φύλλων από κάθε ποικιλία και τα
προσθέσαμε σε στεγνά φιαλίδια και προσθέσαμε 20 ml διαλύτη MeOH(μεθανόλη).

Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στο σκοτάδι για 7-10 μέρες. Τέλος, αφού η εκχύλιση ολοκληρώθηκε, διηθήσαμε παραλάβαμε το εκχύλισμα .

Πίνακας 8 : Ποσότητα ανά είδος γλωρών φύλλων που ζυγίστηκαν

Ποσότητες ανά ποικιλία γλωρών φύλλων που παραλάβαμε για το πείραμα		
Ασπροελιά	2,0980 g	+ 20ml MeOH
Ασπροελιά (αγρυλίδα)	2,0580 g	+ 20ml MeOH
Κορωνέικη	2,0800 g	+ 20ml MeOH
Κορωνέικη (αγρυλίδα)	2,0350 g	+ 20ml MeOH

Η παραπάνω πειραματική πορεία δεν ολοκληρώθηκε προς την φωτομέτρηση των δειγμάτων λόγω πειραματικών λαθών , εξάτμισης διαλύτη σε ένα από τα τέσσερα δείγματα, έλλειψη αντιδραστηρίων και λόγω περιοριστικών μέτρων (lockdown) .

Η ίδια διαδικασία πραγματοποιήθηκε και με τα ξερά φύλλα ποικιλιών ακολουθώντας την ίδια πειραματική διαδικασία. Ζυγίσαμε περίπου 2 gr ξερών φύλλων από κάθε ποικιλία και τα προθέσαμε σε αποστερημένους γυάλινους περιέκτες και προσθέσαμε 20 ml διαλύτη MeOH(μεθανόλη). Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στο σκοτάδι για 7-10 μέρες. Στις 5/11/20 και αφού έχει ολοκληρωθεί η εκχύλιση προχωρήσαμε σε διήθηση των δειγμάτων μας με διηθητικό χαρτί και παραλάβαμε το εκχύλισμα .

Πίνακας 9 : Ποσότητες ανά είδος ξερών φύλλων που ζυγίστηκαν

Ποσότητες ανά ποικιλία ξερών φύλλων που παραλάβαμε για το πείραμα		
Ασπροελιά	2,0375 g	+ 20ml MeOH
Ασπροελιά (αγρυλίδα)	2,0254 g	+ 20ml MeOH
Κορωνέικη	2,0310 g	+ 20ml MeOH
Κορωνέικη (αγρυλίδα)	2,0155 g	+ 20ml MeOH

5.2 ΟΡΓΑΝΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

- ▽ Αναλυτικός ζυγός (*Precisa, Made in India*)
- ▽ Κυκλοαναδευτήρας (*Vortex*)
- ▽ Φασματοφωτόμετρο (*Spectronic Helios , Made in US*)
- ▽ Πιπέτα (*100μL, 200μL, 1000μL*)

5.3 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- ▽ Μεθανόλη (MeOH)
- ▽ DPPH (2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζύλιο)
- ▽ Γαλλικό οξύ
- ▽ Απιονισμένο νερό
- ▽ Πιπέτες μιας χρήσης
- ▽ Ependorf
- ▽ Ποτήρια ζέσεως
- ▽ Ογκομετρικούς κυλίνδρους
- ▽ Ογκομετρικές φιάλες
- ▽ Κυψελίδες φασματοφωτόμετρου 1cm (περιεκτικότητας 4000mL)

5.4 Γαλλικό οξύ

Πίνακας 10 : Αραιώσεις Γαλλικού οξέος

Επιμέρους αραιώσεις Γαλλικού οξέος					
Αναραίωτο	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
ep ₁ = 300 μl γαλλικό	ep ₂ =150 μl ep ₁ + 150 μl MeOH	ep ₃ =150 μl ep ₂ + 150 μl MeOH	ep ₄ =150 μl ep ₃ + 150 μl MeOH	ep ₅ =150 μl ep ₄ + 150 μl MeOH	ep ₆ =150 μl ep ₅ + 150 μl MeOH

Control: 3400 μl DPPH + 100 μl MeOH

Κυψελίδα γαλλικού : 3400μl DPPH + 100 μl ep

Αφού,έγιναν οι απαραίτητες αραιώσεις τόσο στο γαλλικό οξύ όσο και στα εκχυλίσματα φύλλων ελιάς , τότε ετοιμάστηκαν οι απαραίτητες κυψελίδες ώστε να φωτομετρηθούν . Πριν ξεκινήσει οποιαδήποτε μέτρηση το μηχάνημα μηδενίστηκε με διαλύτη MeOH . Έπειτα για την φωτομέτρηση του γαλλικού οξέος ετοιμάστηκε μια κυψελίδα control η οποία περιείχε 3400μl DPPH + 100μl MeOH προκειμένου ύστερα η συγκεκριμένη απορρόφηση να

αφαιρεθεί από τον υπολογισμό του ποσοστού εξουδετέρωσης ρίζας DPPH (RSC%) κάθε φορά. Στην συνέχεια έγινε η φωτομέτρηση όλων των δειγμάτων γαλλικού οξέος. Η κάθε κυψελίδα περιείχε μέσα 3400μL DPPH + 100μL απο την αραιώση του γαλλικού οξέος κάθε φορά ή απο το αναραίωτο για την πρώτη κυψελίδα. Συνολικά για το γαλλικό οξύ 5 αραιώσεις έως 1:32. Οι απορροφήσεις αναφέρονται παρακάτω

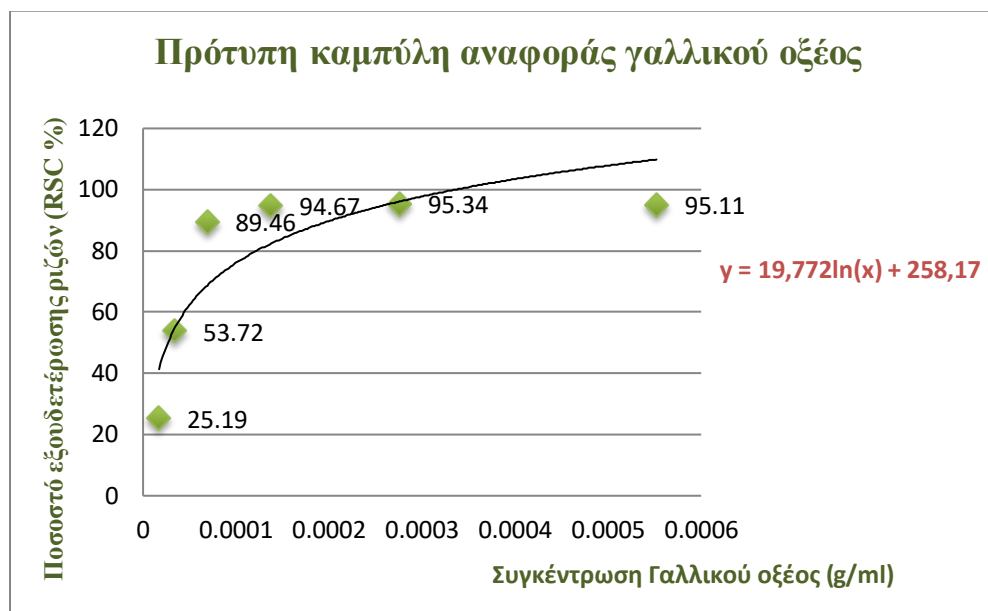
Πίνακας 11 : Απορροφήσεις Γαλλικού οξέος

Απορροφήσεις γαλλικού οξέος	
Αναρραίωτο	0,044
1/2	0,042
1/4	0,048
1/8	0,095
1/16	0,417
1/32	0,674

$A_{Control} : 0,901$

Από τον πίνακα δεδομένων με τις απορροφήσεις γαλλικού οξέος και χρησιμοποιώντας και την απορρόφηση $A_{Control}$ υπολογίστηκε το ποσοστό εξουδετέρωσης % RSC όπως παρακάτω :

$$\%RSC = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100\%$$



Διάγραμμα 1: Καμπύλη αναφοράς Γαλλικού οξέος

➤ $x = 0,0000267 \text{ gr/ml}$

Επομένως , η ποσότητα γαλλικού οξέος που μείωσε την απορρόφηση του στο μισό διαλύματος DPPH είναι 0,0000267 gr/ml (IC_{50}) .

Για την φωτομέτρηση των εκχυλισμάτων ακολουθήθηκαν επίσης 5 αραιώσεις και επίσης η κάθε κυψελίδα περιείχε 3400μl DPPH + 100μl αραιωμένου δείγματος ή

αναραίωτο. Πριν απο την φωτομέτρηση μετρήθηκε νέα απορρόφηση για το control . Για τα δείγματα παρασκευάστηκε και τυφλό για τον λευκό προσδιορισμό με 5 αραιώσεις το οποίο σε κάθε κυψελίδα είχε 3400μl MeOH + 100μl αναραίωτο ή αραιωμένο εκχύλισμα.

5.5 Ποικιλία αγριελιά Ασπροελιάς

Για την μέτρηση αντιοξειδωτικής δράσης του δείγματος ακολουθήθηκαν επιμέρους αραιώσεις με μεθανόλη και προσθήκη μικρής ποσότητας από το αραιωμένο σε διάλυμα DPPH.

Πίνακας 12 : Αραιώσεις (Αγριελιά Ασπροελιά)

Επιμέρους αραιώσεις δείγματος (αγριελιά Ασπροελιάς)						
Αναραίωτο	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	
Ep ₁ = 600 ml δείγμα Ασπροελιά	Ep ₂ = 300ml ep ₁ + 300 ml MeOH	Ep ₃ =300 ml ep ₂ + 300 ml MeOH	Ep ₄ =300 ml ep ₃ + 300 ml MeOH	Ep ₅ =300 ml ep ₄ + 300 ml MeOH	Ep ₆ =300 ml ep ₅ + 300 ml MeOH	

Πίνακας 13 : Αραιώσεις δείγματος αρχικών αραιώσεων με DPPH

Επιμέρους αραιώσεις δείγματος με DPPH (αγριελιά Ασπροελιάς)						
Αναραίωτο	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	
Ep ₁ = 3400 μl DPPH+ 100μl δείγμα	Ep ₂ = 3400μl DPPH + 100 μl ep ₁	Ep ₃ =3400 μl DPPH+ 100 μl ep ₂	Ep ₄ =3400 μl DPPH + 100 μl ep ₃	Ep ₅ =3400 μl DPPH + 100 μl ep ₄	Ep ₆ =3400 μl DPPH + 100 μl ep ₅	

Από τον πίνακα δεδομένων με τις απορροφήσεις του δείγματος και χρησιμοποιώντας και την απορρόφηση A_{Control} υπολογίστηκε το ποσοστό εξουδετέρωσης % RSC της ρίζας DPPH όπως παρακάτω :

Control: 3400 μl DPPH + 100 μl MeOH

Δείγμα : 3400μl DPPH + 100 μl ep(δείγμα)

Τυφλό : 3400μl MeOH +100μl ep

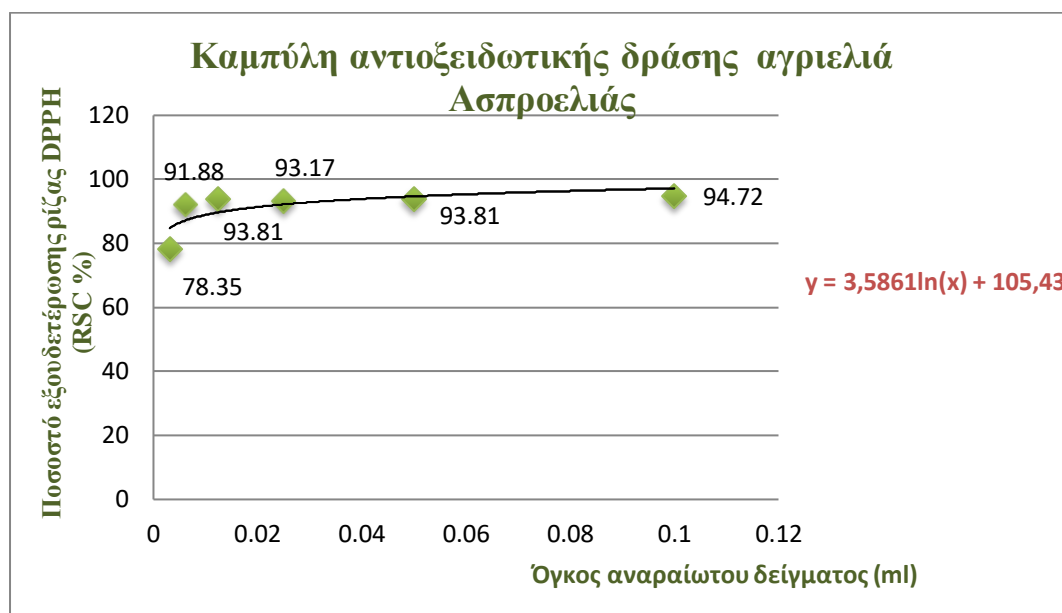
Πίνακας 14 : Απορροφήσεις DPPH (Αγριελιά Ασπροελιά)

Απορροφήσεις DPPH (αγριελιά Ασπροελιάς)	
Αναρραίωτο	0,041
1/2	0,048
1/4	0,053
1/8	0,048
1/16	0,063
1/32	0,168

$A_{Control} : 0,776$

Από τον παρακάτω τύπο υπολογίζουμε το %RSC, για όλες τις εραιώσεις και στην συνέχεια δημιουργούμε διάγραμμα .

$$\%RSC = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100\%$$



Διάγραμμα 2 : Καμπύλη αναφοράς DPPH σε αγριελιά Ασπροελιά.

➤ $x = 1,9 \times 10^{-7}$ ml ή $1,9 \times 10^{-4}$ μl

Επομένως , τα μl του δείγματος που μείωσαν την αρχική απορρόφηση του διαλύματος DPPH στο μισό είναι $1,9 \times 10^{-4}$ μl (IC₅₀)ΑΓΡΙΕΛΙΑ ΑΣΠΡΟΕΛΙΑΣ .

5.6 Ποικιλία Ασπροελιά .

Για την μέτρηση αντιοξειδωτικής δράσης του δείγματος ακολουθήθηκαν επιμέρους αραιώσεις με μεθανόλη και προσθήκη μικρής ποσότητας από το αραιωμένο σε διάλυμα DPPH.

Πίνακας 15 : Αραιώσεις Ασπροελιάς

Επιμέρους αραιώσεις δείγματος (Ασπροελιάς)						
Αναραίωτο	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	
ep ₁ = 600 ml δείγμα Ασπροελιά	ep ₂ = 300ml + 300 ml MeOH	ep ₁ ep ₃ =300 ml + 300 ml MeOH	ep ₂ ep ₄ =300 ml + 300 ml MeOH	ep ₃ ep ₅ =300 ml + 300 ml MeOH	ep ₄ ep ₆ =300 ml + 300 ml MeOH	ep ₅

Πίνακας 16 : Αραιώσεις δειγμάτων αρχικών αραιώσεων με DPPH

Επιμέρους αραιώσεις δείγματος με DPPH (Ασπροελιάς)						
Αναραίωτο	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	
Ep ₁ = 3400 μl DPPH+ 100μl δείγμα	Ep ₂ = 3400μl DPPH + 100 μl ep ₁	Ep ₃ =3400 μl DPPH+ 100 μl ep ₂	Ep ₄ =3400 μl DPPH + 100 μl ep ₃	Ep ₅ =3400 μl DPPH + 100 μl ep ₄	Ep ₆ =3400 μl DPPH + 100 μl ep ₅	

Από τον πίνακα δεδομένων με τις απορροφήσεις του δείγματος και χρησιμοποιώντας και την απορρόφηση A_{Control} υπολογίστηκε το ποσοστό εξουδετέρωσης % RSC της ρίζας DPPH όπως παρακάτω :

Control: 3400 μl DPPH + 100 μl MeOH

Δείγμα : 3400μl DPPH + 100 μl ep_(δείγμα)

Τυφλό : 3400μl MeOH +100μl ep

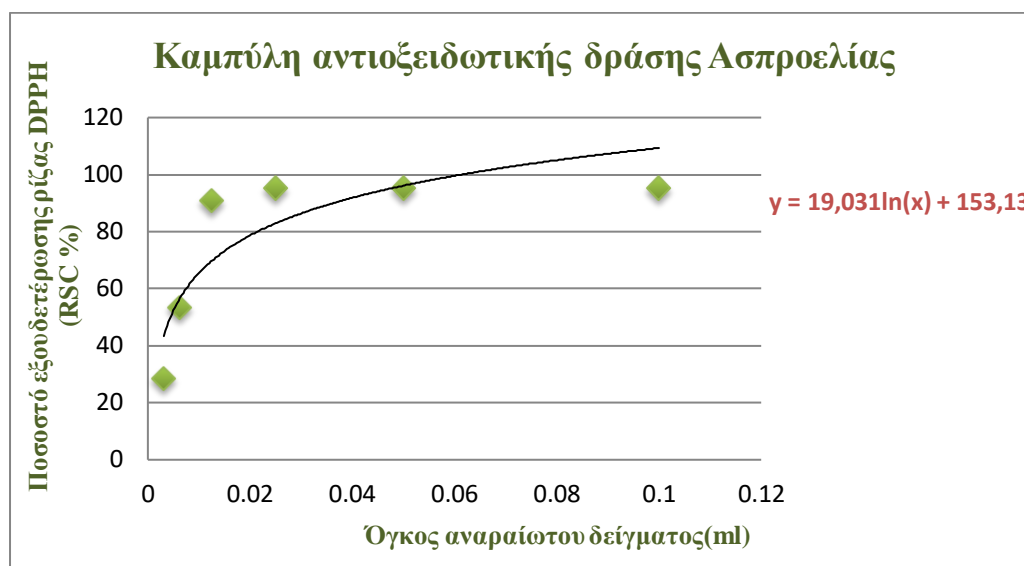
Πίνακας 17 : Απορροφήσεις DPPH , σε Ασπροελιά

Απορροφήσεις DPPH, σε Ασπροελιά	
Αναραίωτο	0,045
1/2	0,046
1/4	0,046
1/8	0,085
1/16	0,430
1/32	0,660

A_{Control} : 0,924

Από τον παρακάτω τύπο υπολογίζουμε το %RSC, για όλες τις εραιώσεις και στην συνέχεια δημιουργούμε διάγραμμα .

$$\%RSC = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100\%$$



Διάγραμμα 3 : Καμπύλη αναφοράς DPPH , σε Ασπροελιά.

➤ $x = 0,0044$ ml ή 4,4 μl

Επομένως , τα μl του δείγματος που μείωσαν την αρχική απορρόφηση του διαλύματος DPPH στο μισό είναι 4,4 μl (IC₅₀)_{ΑΣΠΡΟΕΛΙΑ}.

5.7 Ποικιλία αγριελιά Κορωνέικη

Για την μέτρηση αντιοξειδωτικής δράσης του δείγματος ακολουθήθηκαν επιμέρους αραιώσεις με μεθανόλη και προσθήκη μικρής ποσότητας από το αραιωμένο σε διάλυμα DPPH.

Πίνακας 18 : Αραιώσεις αγριελιά Κορωνέικης

Επιμέρους αραιώσεις (αγριελιά Κορωνέικη)											
Αναραίωτο	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64					
ep ₁ = 600 ml δείγμα Ασπροελιά	ep ₂ = 300ml + 300 ml MeOH	ep ₁ ep ₃ =300 ml + 300 ml MeOH	ep ₂ ep ₄ =300 ml + 300 ml MeOH	ep ₃ ep ₅ =300 ml + 300 ml MeOH	ep ₄ ep ₆ =300 ml + 300 ml MeOH	ep ₅ ep ₇ =300 ml + 300 ml MeOH					

Πίνακας 19 : Αραιώσεις δείγματος αρχικών αραιώσεων με DPPH

Επιμέρους αραιώσεις δείγματος με DPPH (αγριελιά Κορωνέικη)							
Αναραίωτο	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	
Ep ₁ = 3400 μl DPPH+ 100μl δείγμα	Ep ₂ = 3400μl DPPH + 100 μl ep ₁	Ep ₃ =3400 μl DPPH+ 100 μl ep ₂	Ep ₄ =3400 μl DPPH + 100 μl ep ₃	Ep ₅ =3400 μl DPPH + 100 μl ep ₄	Ep ₆ =3400 μl DPPH + 100 μl ep ₅	Ep ₇ =3400 μl DPPH + 100 μl ep ₆	

Από τον πίνακα δεδομένων με τις απορροφήσεις του δείγματος και χρησιμοποιώντας και την απορρόφηση $A_{Control}$ υπολογίστηκε το ποσοστό εξουδετέρωσης % RSC της ρίζας DPPH όπως παρακάτω :

Control: 3400 μl DPPH + 100 μl MeOH

Δείγμα : 3400μl DPPH + 100 μl ep(δείγμα)

Τυφλό : 3400μl MeOH +100μl ep

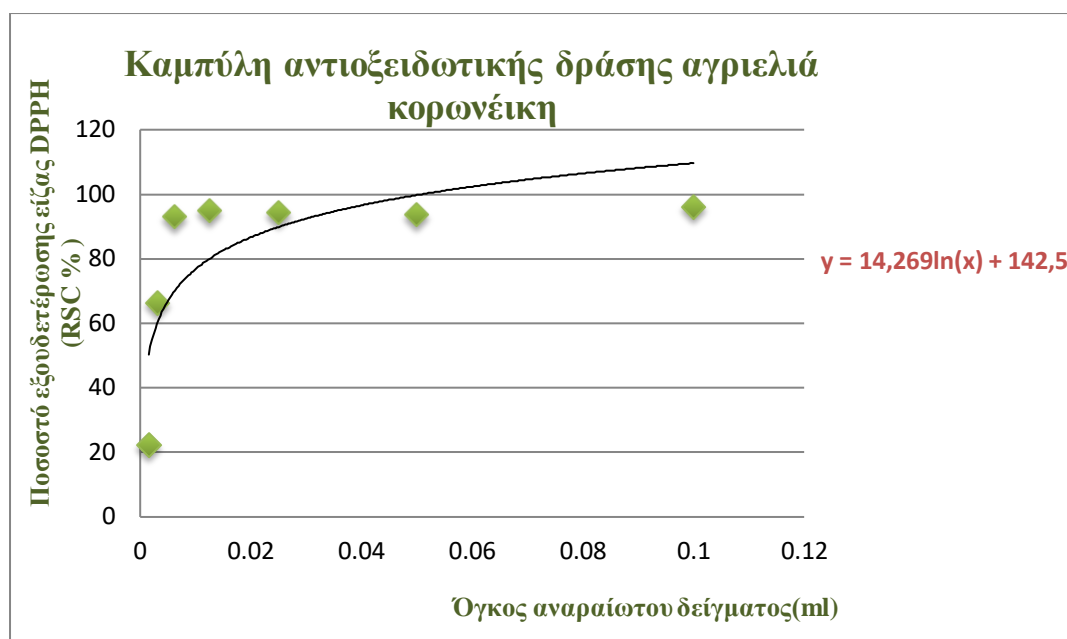
Πίνακας 20 : Απορροφήσεις DPPH σε αγριελιά Κορωνέικη

Απορροφήσεις DPPH, σε αγριελιά Κορωνέικη	
Αναρραίωτο	0,032
1/2	0,049
1/4	0,046
1/8	0,041
1/16	0,054
1/32	0,263
1/64	0,603

$A_{Control}$: 0,776

Από τον παρακάτω τύπο υπολογίζουμε το %RSC, για όλες τις αραιώσεις και στην συνέχεια κάναμε το διάγραμμα .

$$\%RSC = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100\%$$



Διάγραμμα 4: Καμπύλη αναφοράς DPPH , σε αγριελιά Κορωνέικη.

➤ $x = 0,0015 \text{ ml}$ ή $1,5 \mu\text{l}$

Επομένως , τα μl του δείγματος που μείωσαν την απορρόφηση του δείγματος DPPH στο μισό είναι $1,5 \mu\text{l}$ (IC_{50})_{ΑΓΡΙΕΛΙΑ ΚΟΡΩΝΕΪΚΗ} .

5.8 Ποικιλία Κορωνέικη

Για την μέτρηση αντιοξειδωτικής δράσης του δείγματος ακολουθήθηκαν επιμέρους αραιώσεις με μεθανόλη και προσθήκη μικρής ποσότητας από το αραιωμένο σε διάλυμα DPPH.

Πίνακας 21 : Αραιώσεις δείγματος σε Κορωνέικη

Επιμέρους αραιώσεις δείγματος (Κορωνέικη αγριελιά)						
Αναραιώτο	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	
Ep ₁ = 600 ml δείγμα	Ep ₂ = 300ml ep ₁ + 300 ml MeOH	Ep ₃ =300 ml ep ₂ + 300 ml MeOH	Ep ₄ =300 ml ep ₃ + 300 ml MeOH	Ep ₅ =300 ml ep ₄ + 300 ml MeOH	Ep ₆ =300 ml ep ₅ + 300 ml MeOH	

Πίνακας 22 : Αραιώσεις δείγματος αρχικών αραιώσεων με DPPH

Επιμέρους αραιώσεις δείγματος με DPPH (Κορωνέικη)						
Αναρραίωτο	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	
Ep ₁ = 3400 μl DPPH+ 100μl δείγμα	Ep ₂ = 3400μl DPPH + 100 μl ep ₁	Ep ₃ =3400 μl DPPH+ 100 μl ep ₂	Ep ₄ =3400 μl DPPH + 100 μl ep ₃	Ep ₅ =3400 μl DPPH + 100 μl ep ₄	Ep ₆ =3400 μl DPPH + 100 μl ep ₅	

Από τον πίνακα δεδομένων με τις απορροφήσεις του δείγματος και χρησιμοποιώντας και την απορρόφηση A_{Control} υπολογίστηκε το ποσοστό εξουδετέρωσης % RSC της ρίζας DPPH όπως παρακάτω :

Control: 3400 μl DPPH + 100 μl MeOH

Δείγμα : 3400μl DPPH + 100 μl ep_(δείγμα)

Τυφλό : 3400μl MeOH +100μl ep

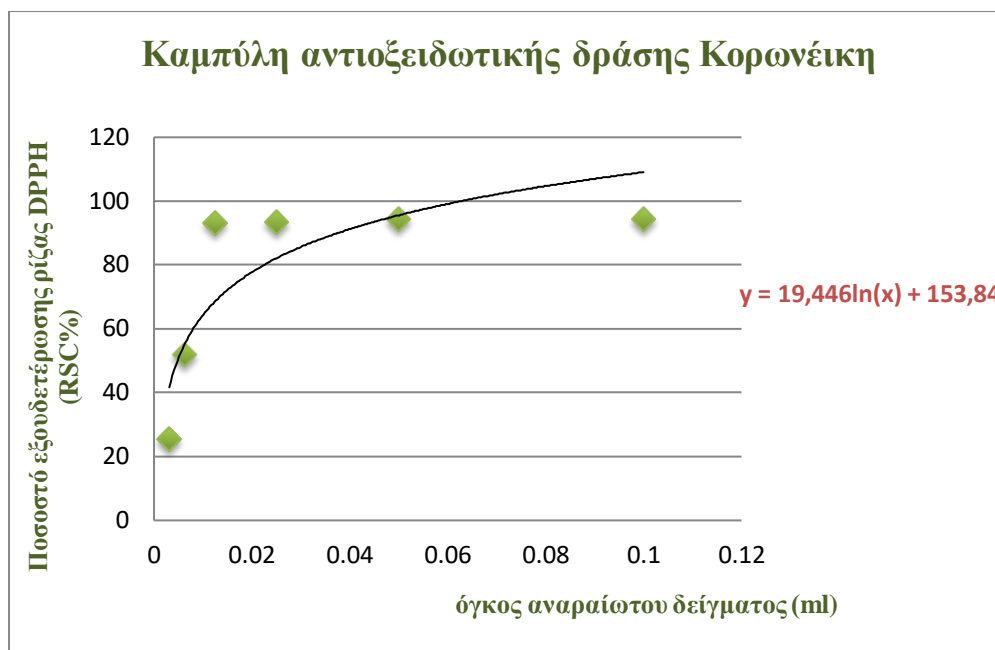
Πίνακας 23 : Απορροφήσεις DPPH σε Κορωνέικη

Απορροφήσεις DPPH, σε Κορωνέικη	
Αναρραίωτο	0,045
1/2	0,045
1/4	0,051
1/8	0,053
1/16	0,373
1/32	0,580

A_{Control} : 0,776

Από τον παρακάτω τύπο υπολογίζουμε το %RSC, για όλες τις αραιώσεις και στην συνέχεια δημιουργούμε διάγραμμα .

$$\%RSC = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100\%$$



Διάγραμμα 5: Καμπύλη αναφοράς DPPH , σε κορωνέικη .

➤ $x = 0,0048\text{ml}$ ή $4,8 \mu\text{l}$

Επομένως , τα μl του δείγματος που μείωσαν την αρχική απορρόφηση του συγκεκριμένου δείγματος στο μισό είναι $4,8 \mu\text{l}$ (IC_{50})_{ΚΟΡΩΝΕΪΚΗ} .

6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.1 ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Για την εύρεση του ποσοστού εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών χρησιμοποιήθηκε ο τύπος :

$$\%RSC = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100\%$$

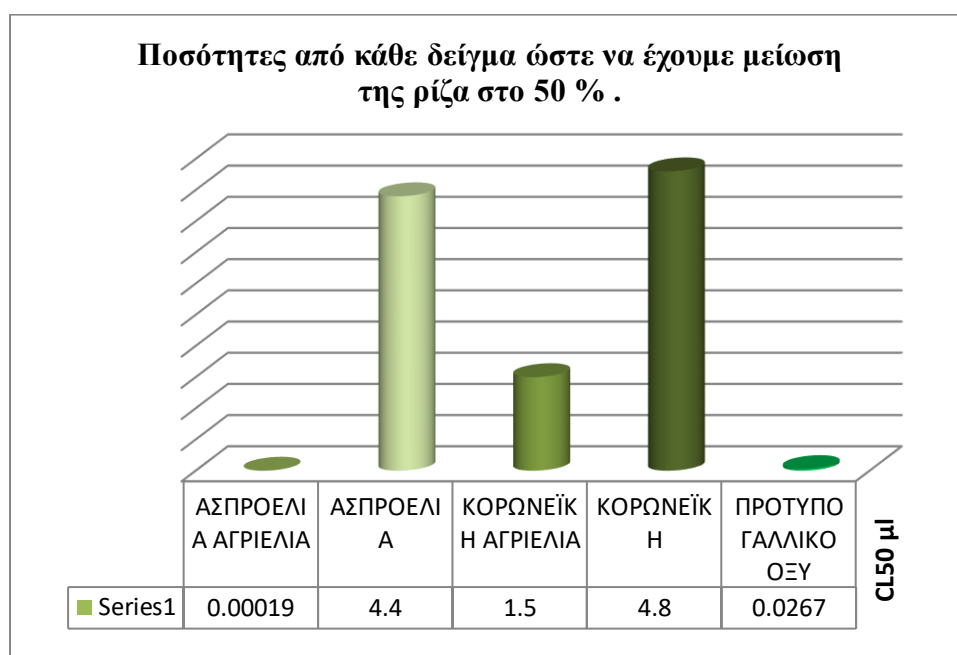
$A_{control}$ είναι οι τιμές απορρόφησης για τον μάρτυρα κάθε φορά , ενώ A_{sample} είναι η τιμές απορρόφησης του κάθε δείγματος. Το IC_{50} υπολογίστηκε σε κάθε δείγμα ξεχωριστά προκειμένου να συγκρίνουμε την αντιοξειδωτική δράση των δειγμάτων

Παρακάτω ακολουθεί συγκεντρωτικός πίνακας των IC₅₀ στα μελετούμενα δείγματα.

Πίνακας 24 : Σύγκριση αντιοξειδωτικής δράσης δειγμάτων με πρότυπο

ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗΣ IC₅₀ (g/ml)

ΠΡΟΤΥΠΟ ΓΑΛΛΙΚΟ ΟΞΥ	0,0000267
ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΦΥΛΛΩΝ ΕΛΙΑΣ (μl)	
ΑΣΠΡΟΕΛΙΑ ΑΓΡΙΕΛΙΑ	0,00019
ΑΣΠΡΟΕΛΙΑ	4,4
ΚΟΡΩΝΕΪΚΗ ΑΓΡΙΕΛΙΑ	1,5
ΚΟΡΩΝΕΪΚΗ	4,8



Διάγραμμα 6: Ποσότητα κάθε δείγματος που απαιτείτε για RSC₅₀.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Λαμβάνοντα υπόψη τα αποτελέσματα της μελέτης των φύλλων ελιάς παρατηρούμε ότι και στις δυο ποικιλίες (Ασπροελιά & Κορωνέικη) το άγριο τμήμα του δέντρου (αγριελιά) υπερτερεί σε αντιοξειδωτική ικανότητα σε αντίθεση με το ήμερο τμήμα του δέντρου. Και τα τέσσερα δείγματα δίνουν μεγάλα ποσοστά δέσμευσης της ρίζας DPPH της τάξης των 95%-60% , αναλόγως κάθε φορά με την αραίωση που βρίσκονται . Γενικά , τα αποτελέσματα αποδεικνύουν ότι αυτά τα εκχυλίσματα φύλλων ελιάς είναι μια ισχυρή πηγή αντιοξειδωτικών.

Η ποσότητα εκχυλίσματος φύλλων ελιάς της αγριελιάς της ποικιλίας Ασπροελιάς που απαιτείται ώστε να επιτύχουμε μείωση της ρίζας DPPH στο 50% είναι μόλις $1,9 * 10^{-7}$ ml ή $1,9 * 10^{-4}$ μl. Ακόμα , παρατηρούμε ότι ενώ έχουμε φτάσει στην 1/32 αραίωση του δείγματος, η απορρόφηση της ρίζας είναι 78,35% .Άρα , καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι το εκχύλισμα από την αγριελιά της Ασπροελιάς έχει μεγάλη αντιοξειδωτική δράση.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συγκρίνοντας τα φύλλα ελιάς του κάθε δέντρου ως προς τα άγρια (αγριελιά) και ως προς τα ήμερα παρατηρείται ότι το μη κεντρωμένο μέρος του δέντρου (αγριελιά) σε σχέση με το μπολιασμένο εμφανίζει ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση καθώς η ποσότητα του δείγματος που απαιτούνται για εξουδετέρωση της ρίζας DPPH στο μισό είναι πολύ λιγότερα σε σχέση με την ποσότητα που απαιτείται από τα φύλλα του κεντρωμένου μέρους. Από αρκετές αναφορές και μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι το άγριο μέρος του δέντρου εμφανίζει ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση και συνεπώς μεγαλύτερα οφέλη για την υγεία.

Συνεπώς, μετά τα προαναφερθέντα για τις χρήσεις και τις επιδράσεις των φαρμακευτικών ιδιοτήτων των φύλλων ελιάς στην ανθρώπινη υγεία και μετά τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης που υπέδειξαν υψηλό αντιοξειδωτικό χαρακτήρα στα μετρηθέντα φύλλα, τα ελαιόφυλλα είναι μια εξαιρετική πηγή αντιοξειδωτικών ουσιών που καταπολεμούν τόσο τις επιβλαβείς ρίζες του οργανισμού μας όσο και προστατεύοντας τον από διάφορες νόσους/ασθένειες/διαταραχές. Άλλωστε δεν είναι τυχαία η χρήση τους από παλαιότερα ως ένα φυσικό γιατροσόφι.

- ✓ <https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A6%CE%BB%CE%B1%CE%B2%CE%BF%CE%BD%CE%BF%CE%B5%CE%B9%CE%B4%CE%AE>
- ✓ http://195.134.76.37/chemicals/chem_oleuropein.htm
- ✓ https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/1437/1/02_chapter_08.pdf
- ✓ http://195.134.76.37/chemicals/chem_oleuropein.ht
- ✓ <https://docplayer.gr/201531185-Anaktisi-viodrastikon-ekhylistaton-apo-fylla-elias-me-hrisi-yperkrisimoy-co2.html>
- ✓ <http://hdl.handle.net/11615/49056>
- ✓ <http://hdl.handle.net/11615/45313>
- ✓ <http://dx.doi.org/10.26253/heal.uth.5618>

Ξένη βιβλιογραφία

- ✓ Reische, D., Lillard, D., Eitenmiller, R., Akoh, C., & Min, D. (1998). Antioxidants. Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology., 423-448
- ✓ Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits
- ✓ <https://www.slideshare.net/mednutrition/ss-86175491>
- ✓ https://www.123rf.com/photo_78003716_oxidative-stress-of-a-healthy-cell-caused-by-an-attack-of-free-radicals.html of natural phenols on olive oil
- ✓ Olalla, 2019, Assessment of the antioxidant activity of an olive oil total polyphenolic fraction and hydroxytyrosol from a Greek *Olea europea* variety in endothelial cells and myoblasts.
- ✓ George Papadopoulos Dimitris Boskou, 01 September 1991 Article Antioxidant effect
- ✓ Gorzynik-Debicka M, Przychodzen P, Cappello F, KubanJankowska A, Marino Gammazza A, Knap N, hzniak M, GorskaPonikowska M, 2019 Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols,
- ✓ Industrial Crops and Products Volume 124, 15 November 2018, Pages 382-388 Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds: Oleuropein, phenolic acids, phenolic alcohols and flavonoids from olive leaves and evaluation of its antioxidant activities
- ✓ Debabrata Biswas c Journal of Functional Foods Volume 36, September 2017, Pages 132-143 Polyphenols and triterpenoids from *Olea europaea* L. in alleviation of enteric pathogen infections through limiting bacterial virulence and attenuating inflammation, panel
- ✓ Bixia Wang 1,2 ,Jipeng Qu 1,3 ,Siyuan Luo 1 ,Shiling Feng 1 ,Tian Li 1 ,Ming Yuan 1 ,Yan Huang 1 ,Jinqiu Liao 1 ,Ruiwu Yang 1 and Chunbang Ding ,, Molecules, 2018 Optimization of Ultrasound Assisted Extraction of Flavonoids from Olive (*Olea europaea*) Leaves, and Evaluation of Their Antioxidant and Anticancer Activities,
- ✓ O Benavente-García a J Castilllo J Lorente A Ortuño J . A Del Riob , Antioxidant activity of phenolic extracted from *Olea europaea* L. leaves, Food Chemistry Volume 68, Issue 4, March 2000, Pages 457-462
- ✓ Ana Paula Pereira 1 ,Isabel CFR Ferreira 1 ,Filipa Marcelino 1 ,Patricia Valentão 2 ,Paula B Andrade 2 ,Rosa Seabra 2 ,Leticia Estevinho 1 ,Albino Bento 1 and José Alberto 54 Pereira , , Molecules 2007 Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves, , 12(5), 1153-1162;

- ✓ L. Fruits and Leaves, S. Silva, L. Gomes, F. Leitão, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Olea europaea*
- ✓ Sedef N El, Sibel Karakaya, Nutrition Reviews, Volume 67, Issue 11, 1 November 2009 Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health, , Pages 632–638,
- ✓ Goulas, V., Exarchou, V., Troganis, A.N., Psomiadou, E., Fotsis, T., Briasoulis, E., & Gerothanassis, I.P. (2009). Phytochemicals in olive-leaf extracts and their antiproliferative activity against cancer and endothelial cells. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53, 600–608.
(2) (PDF) *Phenolic compounds and antioxidant activity of olive leaf extracts*.
- ✓ Papoti, V.T., & Tsimidou, M.Z. (2009). Impact of sampling parameters on the radical scavenging potential of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 3470–3477
(2) (PDF) *Phenolic compounds and antioxidant activity of olive leaf extracts*.
- ✓ Tsimidou, M., Papadopoulos, G., & Boskou, D. (1992). Phenolic compounds and stability of virgin olive oil – Part I. *Food Chemistry*, 45, 141–144
- ✓ Parvaiz M, Hussain K, Shoaib M, William G, Tufail M, Hussain Z, Gohar D, Imtiaz S (2013) A review: therapeutic significance of olive (*Olea europaea* L; oleaceae family). *Global J Pharm* 7(3):333–336
- ✓ Sato H, Genet C, Strehle A (2007) Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*. *Biochem Biophys Res Commun* 362:793–798
- ✓ Sato H, Genet C, Strehle A, Thomas C, Lobstein A (2007) Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*. *Biochem Biophys Res Commun* 362:793–798
- ✓ Tsimidou MZ, Papoti VT (2010) Bioactive ingredients in olive leaves. In: Preedy VR, Watson RR (eds) *Olives and olive oil in health and disease prevention*. Elsevier Inc., Amsterdam, pp 349–356
- ✓ Tan HW, Tuck KL, Stupans I, Hayball PJ (2003) Simultaneous determination of oleuropein and hydroxytyrosol in rat plasma using liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr* 785:187–191
- ✓ Dimitrios B (2006) Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends Food Sci Technol* 17:505–512
- ✓ Bouaziz M, Fki I, Jemai H, Ayadi M, Sayadi S (2008) Effect of storage on refined and husk olive oils composition: stabilization by addition of natural antioxidants from ‘chemlali’ olive leaves. *Food Chem* 108:253–262
- ✓ Santiago-Mora R, Casado-Diaz A, De Castro MD, Quesada-Gomez JM (2011) Oleuropein enhances osteoblastogenesis and inhibits adipogenesis: the effect on differentiation in stem cells derived from bone marrow. *Osteoporos Int* 22(2):675–684
- ✓ Makris D, Boskou G, Andrikopoulos NK (2007) Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *J Food Comp Anal* 20:125–132
- ✓ Gordon MH, Paiva-Martins F, Almeida M (2001) Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. *J Agric Food Chem* 49:2480–2485

- ✓ Singh I, Mok M, Christensen AM, Turner AH, Hawley JA (2008) The effects of polyphenols in olive leaves on platelet function. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 18:127–132
- ✓ Komaki E, Yamaguchi S, Maru I (2003) Identification of anti-amylase components from olive leaf extracts. *Food Sci Technol Res* 9:35–3
- ✓ De la Torre-Carbort K, Jauregui O, Gimeno E, Castel-lote AI, Lamuela-Raventós RM, López-Sabater MC (2005)
- ✓ Soni MG, Burdock GA, Christian MS, Bitler CM, Crea R (2006) Safety assessment of aqueous olive pulp extract as an antioxidant or antimicrobial agent in foods. *Food Chem Toxicol* 44:903–915
- ✓ Fares R, Bazzi S, Baydoun SE, Abdel-Massih RM (2011) The antioxidant and antiproliferative activity of the Lebanese *Olea europaea* extract. *Plant Foods Hum Nutr* 66:58–63
- ✓ Delgado-Pertinez M, Gomez-Cabrera A, Garrido A (2000) Pre-dicting the nutritive value of the olive leaf (*Olea europaea*): digestibility and chemical composition and in vitro studies. *Anim Feed Sci Technol* 87:187–201
- ✓ De Leonardis A, Aretini A, Alfano G, Macciola V, Ranalli G (2008) Isolation of a hydroxytyrosol-rich extract from olive leaves (*Olea europaea* L.) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. *Eur Food Res Technol* 226:653–659
- ✓ Khaliq A, Sabir SM, Ahmad SD, Boligon AA, Athayde ML, Jabbar A, Qamar I, Khan A (2015) Antioxidant activities and phenolic composition of Olive (*Olea europaea*) leaves. *J Appl Bot Food Qual* 88:16–21
- ✓ M Korukluoglu; Y Sahan; A Yigit; ET Ozer; S Gucer; *Journal of Food Processing and Preservation*; 2010; 34, 383-396
- ✓ Kendall M, Batterham M, Obied H, Prenzler PD, Ryan D, Robards K. Zero effect of multiple dosage of olive leaf supplements on urinary biomarkers of oxidative stress in healthy humans. *Nutrition*. 2009;25(3):270-80.
- ✓ Manna C, Migliardi V, Golino P, Scognamiglio A, Galletti P, Chiariello M, et al. Oleuropein prevents oxidative myocardial injury induced by ischemia and reperfusion. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2004;15(8):461-6
- ✓ Mohagheghi F, Bigdeli MR, Rasouljan B, Hashemi P, Pour MR. The neuroprotective effect of olive leaf extract is related to improved blood-brain barrier permeability and brain edema in rat with experimental focal cerebral ischemia. *Phytomedicine*. 2011;18(2-3):170-5
- ✓ Miro-Casas E, Covas MI, Fito M, Farre-Albadalejo M, Marrugat J, de la Torre R. Tyrosol and hydroxytyrosol are absorbed from moderate and sustained doses of virgin olive oil in humans. *Eur J Clin Nutr*. 2003;57(1):186-90.
- ✓ Erbay Z, Icier F. The importance and potential uses of olive leaves. *Food Reviews International*. 2010;26(4):319-34.
- ✓ Wang L, Geng C, Jiang L, Gong D, Liu D, Yoshimura H, et al. The anti-atherosclerotic effect of olive leaf extract is related to suppressed inflammatory response in rabbits with experimental atherosclerosis. *European Journal of Nutrition*. 2008;47(5):235-43.
- ✓ Lasserre B, Kaiser R, Huu Chanh P, Ifansyah N, Gleye J, Moulis C. Effects on rats of aqueous extracts of plants used in folk medicine as antihypertensive agents. *Naturwissenschaften*. 1983;70(2):95-6

- ✓ Khayyal MT, Elghazaly MA, Abdallah DM, Nassar NN, Okpanyi SN, M-H K. Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (*Olea europaea*) in L-NAME induced hypertension in rats. *Arzneimittel-Forschung (Drug Research)*. 2002;52(11):797-802.
- ✓ Susalit E, Agus N, Effendi I, Tjandrawinata RR, Nofiarny D, Perrinjaquet-Mocchetti T, et al. Olive (*Olea europaea*) leaf extract effective in patients with stage-1 hypertension: Comparison with Captopril. *Phytomedicine*. 2011;18(4):251-8.
- ✓] Erbay Z, Icier F. The importance and potential uses of olive leaves. *Food Reviews International*. 2010;26(4):319-34
- ✓ Kiritsakis A. Olive oil- Second Edition, From the tree to the table. Food and Nutrition. Press, Inc., Trumbull, Connecticut, USA. 1998:006611.
- ✓ Visioli F, Poli A, Galli C. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med Res Rev*. 2002; 22: 65–75. doi:10.1002/med.1028
- ✓ Soler-Rivas C, Espin JC, Wichers HJ. Oleuropein and related compounds. *J Sci Food Agric*. 2000; 80: 1013–1023. doi:10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<1013::AID-JSFA571>3.0.CO;2-C
- ✓ Ryan D, Robards K, Prenzler P, Jardine D, Herlt T, Antolovich M. Liquid chromatography with electrospray ionisation mass spectrometric detection of phenolic compounds from *Olea europaea*. *J Chromatogr A*. 1999; 855: 529–537. doi:10.1016/S0021-9673(99)00719-0
- ✓ Servili M, Baldioli M, Selvaggini R, Macchioni A, Montedoro G. Phenolic compounds of olive fruit: one- and two-dimensional nuclear magnetic resonance characterization of Nuzhenide and its distribution in the constitutive parts of fruit. *J Agric Food Chem*. 1999; 47: 12–18. doi:10.1021/jf9806210
- ✓ Visioli F, Bellosta S, Galli C. Oleuropein, the bitter principles of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life Sci*. 1998; 62: 541–546. doi:10.1016/S0024-3205(97)01150-8
- ✓ Andreadou I, Sigala F, Iliodromitis EK, Papaefthimiou M, Sigalas C, Aligiannis N, Savvari P, Gorgoulis V, Papalabros E, Kremastinos DT. Acute doxorubicin cardiotoxicity is successfully treated with the phytochemical oleuropein through suppression of oxidative and nitrosative stress. *J Mol Cell Cardiol*. 2007; 42: 549–558. doi:10.1016/j.yjmcc.2006.11.016
- ✓ Andreadou I, Iliodromitis EK, Mikros E, Constantinou M, Agalias A, Magiatis P, Skaltsounis AL, Kamber E, Tsantili-Kakoulidou A, Kremastinos DT. The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hypolipidemic effects in anesthetized rabbits. *J Nutr*. 2006; 136: 2213–2219. PMID:16857843
- ✓ Visioli F, Galli C, Galli G, Caruso D. Biological activities and metabolic fate of olive oil phenols. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2002; 104: 677–684. doi:10.1002/1438-9312(200210)104:9/10<677::AID-EJLT677>3.0.CO;2-M
- ✓ Visioli F, Bogani P, Galli C. Healthful properties of olive oil minor components, in *Olive Oil, Chemistry and Technology*. Boskou D (Ed.). AOCS Press, Champaign, IL: 2006: 173–190.
- ✓ De la Puerta R, Dominguez MEM, Ruiz-Gutierrez V, Flavill JA, Hoult JRS. Effects of olive oil phenolics on scavenging of reactive nitrogen species and upon nitregeric neurotransmission. *Life Sci*. 2001; 69: 1213–1222. doi:10.1016/S0024-3205(01)01218-8
- ✓ De la Puerta R, Gutierrez VR, Hoult JRS. Inhibition of leukocyte 5-lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. *Biochem Pharmacol*. 1999; 57: 445–449. doi:10.1016/S0006-2952(98)00320-7
- ✓ Visioli F, Caruso D, Galli C, Viappiani S, Galli G, Sala A. Olive oil rich in natural catecholic phenols decrease isoprostane excretion in

- humans. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 278: 797–799. doi:10.1006/bbrc.2000.3879
- ✓ Visioli F, Galli C. Antiatherogenic components of olive oil. *Curr Atheroscler Rep.* 2001; 3: 64–67. doi:10.1007/s11883-001-0012-0
 - ✓ Hamdi HK, Castellon R. Oleuropein, a non-toxic olive iridoid, is an anti-tumor agent and cytoskeleton disruptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 334: 769–778. doi:10.1016/j.bbrc.2005.06.161
 - ✓ Goulas V, Exarchou V, Troganis AN, Psomiadou E, Fotsis T, Briasoulis E, Gerothanassis IP. Phytochemicals in olive-leaf extracts and their antiproliferative activity against cancer and endothelial cells. *Mol Nutr Food Res.* 2009; 53: 600–608. doi:10.1002/mnfr.200800204
 - ✓ Ma SC, He ZD, Deng XL, But PP, Ooi VE, Xu HX, Lee SH, Lee SF. In vitro evaluation of secoiridoid glucosides from the fruits of *Ligustrum lucidum* as antiviral agents. *Chem Pharm Bull.* 2001; 49: 1471–1473. doi:10.1248/cpb.49.1471
 - ✓ Lee-Huang S, Zhang L, Chang YY, Huang PL. Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 307: 1029–1037. doi:10.1016/S0006-291X(03)01292-0
 - ✓ Lee-Huang S, Huang PL, Zhang D, Lee JW, Bao J, Sun Y, Chang YT, Zhang J, Huang PL. Discovery of small-molecule HIV-1 fusion and integrase inhibitors oleuropein and Hydroxytyrosol: Part I. Integrase Inhibition. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007; 354: 872–878. doi:10.1016/j.bbrc.2007.01.071
 - ✓ Bazoti FN, Bergquist J, Markides K, Tsarbopoulos A. Noncovalent Interaction between Amyloid- β -Peptide (1–40) and Oleuropein Studied by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2006; 17: 568–575. doi:10.1016/j.jasms.2005.11.016
 - ✓ Golde TE, Eckman CB. Cholesterol Modulation as an Emerging Strategy for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Drug Discov Today.* 2001; 6: 1049–1055. doi:10.1016/S1359-6446(01)01965-1
 - ✓ Hofman A, Ott A, Breteler MM, Bots ML, Slooter AJ, van Harskamp F, van Duijn CN, Van Broeckhoven C, Grobbee DE. Atherosclerosis, Apolipoprotein E, and Prevalence of Dementia and Alzheimer's Disease in the Rotterdam Study. *Lancet.* 1997; 349: 151–154. doi:10.1016/S0140-6736(96)09328-2
 - ✓ Ancora C, Roma C, Vettor M. Evaluation of cosmetic efficacy of oleuropein. Symposium on the New Frontiers of Dermo-cosmetology: Efficacy, Stability and Safety. Rome, Italy, November 4–6; 2004.
 - ✓ Kimura Y, Sumiyoshi M. Olive leaf extract and its main component oleuropein prevent chronic ultraviolet B radiation-induced skin damage and carcinogenesis in hairless mice. *J Nutr.* 2009; 139: 2079–2086. doi:10.3945/jn.109.104992
 - ✓ Katsiki M, Chondrogianni N, Chinou I, Rivett AJ, Gonos ES. The olive constituent oleuropein exhibits proteasome stimulatory properties in vitro and confers life span extension of human embryonic fibroblasts. *Rejuvenation Res.* 2007; 10: 157–172. doi:10.1089/rej.2006.0513
 - ✓ Moosmann B, Behl C. The Antioxidant Neuroprotective Effects of Estrogens and Phenolic Compounds are Independent from their Estrogenic Properties. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999; 96: 8867–8872. PMID:10430862 [79] German JB, Walzem RL. The Health Benefits of Wine. *Annu Rev Nutr.* 2000; 20: 561–593. doi:10.1146/annurev.nutr.20.1.561
 - ✓ Visioli F, Bellomo G, Montedoro GF, Galli C. Low-density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis.* 1995; 117: 25–32. doi:10.1016/0021-9150(95)05546-9
 - ✓ Andrikopoulos NK, Kaliora AC, Assimopoulou AN, Papageorgiou VP. Inhibitory activity of minor polyphenolic and nonpolyphenolic constituents of olive oil against in vitro low-density lipoprotein oxidation. *J Med Food.* 2002; 5: 1–7. doi:10.1089/109662002753723160

- ✓ Gonzalez M, Zarzuelo A, Gamez MJ, Utrilla MP, Jimenez J, Osuna I. Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta Med.* 1992; 58: 513–515. doi:10.1055/s-2006-961538
- ✓ Al-Azzawie HF, Alhamdani MS. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sci.* 2006; 78: 1371–1377. doi:10.1016/j.lfs.2005.07.029
- ✓ (2) (PDF) Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects (researchgate.net)
- ✓ (PDF) Hypoglycemic and hypolipidemic effects of phenolic olive tree extract in streptozotocin diabetic rats (researchgate.net)
- ✓ Ryan D, Robards K. Phenolic compounds in olives. *Analyst.* 1998; 123: 31–44.2.
- ✓ Somova LI, Shode FO, Ramnanan P, Nadar A. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *Africana* leaves. *J Ethnopharmacol.* 2003; 84: 299–305
- ✓ Japon-Lujan R, Luque-Rodriguez JM, Luque de Castro MD. Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related polyphenols from olive leaves. *J Chromatogr A.* 2006; 1108: 76–82
- ✓ Benavente-García O, Castillo J, Lorente J, Ortuño A, Del Río J A. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chem.* 2000; 68(4): 457–62
- ✓ Susalit E, Agus N, Effendi I, Tjandrawinata RR, Nofiarny D, Perrinjaquet-Moccetti T, et al. Olive (*Olea europaea*) leaf extract effective in patients with stage-1 hypertension: Comparison with Captopril. *Phytomedicine.* 2011; 18: 251–8. DOI: 10.1016/j.phymed.2010.08.016.9.
- ✓ Kontogianni VG, Charisiadis P, Margianni E, Lamari FN, Gerothanassis IP, Tzakos AG. Olive Leaf Extracts Are a Natural Source of Advanced Glycation End Product Inhibitors. *J Med Food.* 2013; 16 (9): 817–22. DOI: 10.1089/jmf.2013.0016
- ✓ Jemai H, El Feki A, Sayadi S. Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *J Agric Food Chem.* 2009; 57(19): 8798–804. DOI: 10.1021/jf901280r.11.
- ✓ Nekooeian AA, Khalili A, Khosravi MB. Oleuropein offers cardioprotection in rats with simultaneous type 2 diabetes and renal hypertension. *Indian J Pharmacol.* 2014; 46(4): 398–403. DOI: 10.4103/0253-7613.135951.
- ✓ Makris D, Boskou G, Andrikopoulos NK. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristic of wine industry and other agricultural solid waste extracts. *J Food Compost Anal.* 2007; 20: 125–32.22.
- ✓ Dimitrios B. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends Food Sci Technol.* 2006; 17: 505–12
- ✓ Jemai H, Bouaziz M, Fki I, El Feki A, Sayadi S. Hypolipidemic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from Chemlali olive leaves. *Chem Biol Interact.* 2008; 176(2–3): 88–98. DOI: 10.1016/j.cbi.2008.08.014.
- ✓ (PDF) Polyphenols benefits of olive leaf (*Olea europaea* L) to human health (researchgate.net)
- ✓ <https://www.researchgate.net/publication/305755353>
- ✓ Singh I, Mok M, Christensen AM, Turner AH, Hawley JA. (2008). The effects of polyphenols in olive leaves on platelet function. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 18:127–132.
- ✓ Gong D, Geng C, Jiang L, Wang L, Yoshimura H, Zhong L. (2012). Mechanisms of olive leaf extract- ameliorated rat arthritis caused by kaolin and carrageenan. *Phytother Res* 26(3):397–402
- ✓ Mijatovic SA, Timotijevic GS, Miljkovic DM, Radovic JM, Maksimovic-Ivanic DD, Dekanski DP, StosicGrujicic SD. (2011). Multiple antimelanoma potential of dry olive leaf extract. *Int J Cancer* 128(8):1955–65

- ✓ Andreadou I, Sigala F, Iliodromitis EK, et al. (2007). Acute doxorubicin cardiotoxicity is successfully treated with the phytochemical oleuropein through suppression of oxidative and nitrosative stress. *J Mol Cell Cardiol* 42:549–558.
- ✓ <http://www.about-olive-leaf-extract.com/olive-leaf-side-effects.html>
- ✓ <http://www.perfectpotion.com.au/news/glossary/olea-europaea-olive-leaf-extract>
- ✓ Goldsmith, C.D.; Stathopoulos, C.E.; Golding, J.B.; Roach, P.D. Fate of the phenolic compounds during olive oil production with the traditional press method. *Int. Food Res. J.* 2014, 21, 101–109.
- ✓ Omar, S.H. Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Sci. Pharm.* 2010, 78, 133–154.
- ✓ Omar, S.H. Cardioprotective and neuroprotective roles of oleuropein in olive. *Saudi Pharm. J.* 2010, 18, 111–121.
- ✓ Acquaviva, R.; di Giacomo, C.; Sorrenti, V.; Galvano, F.; Santangelo, R.; Cardile, V.; Gangia, S.; D’Orazio, N.; Abraham, N.G.; Vanella, L. Antiproliferative effect of oleuropein in prostate cell lines. *Int. J. Oncol.* 2012, 41, 31–38.
- ✓ Sudjana AN, D’Orazio C, Ryan V, Rasool N, Ng J, Islam N, Riley TV, Hammer KA. (2009). Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *Int J Antimicrob Agents* 33: 461–463.
- ✓ Effects of the Olive-Derived Polyphenol Oleuropein on Human Health , *Int. J. Mol. Sci.* 2014, 15, 18508-18524; doi:10.3390/ijms151018508
- ✓ Impact of phenolic-rich olive leaf extract on blood pressure, plasma lipids and inflammatory markers: a randomised controlled trial, *Eur J Nutr* (2017) 56:1421–1432 DOI 10.1007/s00394-016-1188-y
- ✓ . Impellizzeri D, Esposito E, Mazzon E et al (2011) Oleuropein aglycone, an olive oil compound, ameliorates development of arthritis caused by injection of collagen type II in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 339:859–869
- ✓ Marrugat J, Covas M-I, Fitó M et al (2004) Effects of differing phenolic content in dietary olive oils on lipids and LDL oxidation. *Eur J Nutr* 43:140–147. doi:10.1007/s00394-004-0452-8
- ✓ Perona JS, Cabello-Moruno R, Ruiz-Gutierrez V (2006) The role of virgin olive oil components in the modulation of endothelial function. *J Nutr Biochem* 17:429–445
- ✓ (PDF) Ameliorating Effect of Olive Leaf Extract on Cyclosporine-induced Nephrotoxicity in Rats (researchgate.net)
- ✓ Singh, I.; Mok, M.; Christensen, A.M.; Turner, A.H.; Hawley, J.A. The effects of polyphenols in olive leaves on platelet function. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 2008, 18,127–132.
- ✓ Panizzi, L.; Scarpati, M.L.; Oriente, G. The constitution of oleuropein, a bitter glucoside of the olive with hypotensive action. *Gazetta Chimica Italiana* 1960, 90, 1449–1486.
- ✓ Ranalli, A.; Contento, S.; Lucera, L.; Di Febo, M.; Marchegiani, D.; Di Fonzo V. Factors Affecting the Contents of Iridoid Oleuropein in Olive Leaves (*Olea europaea* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006, 54, 434–440.
- ✓ Bai, C.; Yan, X.; Takenakay, M.; Sekiya, S.; Nagata, T. Determination of synthetic hydroxytyrosol in rat plasma by GC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1998, 46, 3998–4001.
- ✓ Khadija Muhamed Ahmed Elad article , The effect of olive leaf extract in decreasing the expression of two pro-inflammatory cytokines in patients receiving chemotherapy for cancer. A randomized clinical trial , 2011
- ✓ Bhaskarapillai Binukumar & Aleyamma Mathew , Dietary fat and risk of breast cancer , : 18 July 2005 , doi:10.1186/1477-7819-3-45
- ✓ Anna Boss, Karen S. Bishop, Gareth Marlow, Matthew P. G. Barnett, Lynnette R. Ferguson , Evidence to Support the Anti-Cancer Effect of Olive Leaf Extract and Future Directions, 2016 , doi.org/10.3390/nu8080513
- ✓ Ilias Faiza, Kholkhal Wahiba
 , Gaouar Nassira , Bekhechi Chahrazed, Bekkara Fawzia Atik , Antioxidant Potential

- of olive (*Olea europaea* L.) from Algeria , J. Nat. Prod. Plant Resour., 2011 , [531 \(scholarsresearchlibrary.com\)](#)
- ✓ Lorenzo M. Refolo, Miguel A. Pappolla, Brian Malester, John LaFrancois, Tara Bryant-Thomas, Rong Wang, G.Stephen Tint, Kumar Sambamurti, Karen Duff , Hypercholesterolemia Accelerates the Alzheimer's Amyloid Pathology in a Transgenic Mouse Model, article 2000, <https://doi.org/10.1006/nbdi.2000.0304>
 - ✓ Tadashi Goto , Keitaro Hagiwara , Nobuaki Shirai , Kaoru Yoshida , Hiromi Hagiwara, Apigenin inhibits osteoblastogenesis and osteoclastogenesis and prevents bone loss in ovariectomized mice , 2013, DOI 10.1007/s10616-014-9694-3
 - ✓ Olga Garcia-Martinez, Ana Rivas, javier Ramos-Torrecillas, Elvira De Luna-Bertos & Concepcion Ruiz, The effect of olive oil on osteoporosis prevention , article 2014, <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.931361>
 - ✓ Ramon Estruch, Miguel Angel Martinez – Gonzalez , 2006, <https://doi.org/10.7326/0003-4819-145-1-200607040-00004>
 - ✓ Theodore G. Andreadis , John F. Anderson , Philip M. Armstrong, Andrew J. Main, Isolations of Jamestown Canyon Virus (Bunyaviridae: *Orthobunyavirus*) from Field-Collected Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Connecticut, 2006 , <https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0169>
 - ✓ HAROLD L. NEWMARK , Squalene, Olive Oil, and Cancer Risk: Review and Hypothesis, 1999, <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb08735.x>
 - ✓ Iris Shai, Dan Schwarzfuchs, Yaakov Henkin, Danit R. Shahar, Shula Witkow, Ilana Greenberg, Rachel Golan, Drora Fraser, Arkady Bolotin, Hilel Vardi, Osnat Tangi-Rozental, Rachel Zuk-Ramot et al 2008 , Weight Loss with a Low-Carbohydrate, Mediterranean, or Low-Fat Diet, DOI: 10.1056/NEJMoa0708681
 - ✓ R.Fernández-Escobar, R.MorenoM.García-Creus , Seasonal changes of mineral nutrients in olive leaves during the alternate-bearing cycle, 1999, 25-45, [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(99\)00045-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(99)00045-X)
 - ✓ Cyril Savournin, Beatrice Baghdikian, Riad Elias, Frida Dargouth-Kesraoui, Kamel Boukef, Guy Balansard, Rapid High-Performance Liquid Chromatography Analysis for the Quantitative Determination of Oleuropein in *Olea europaea* Leaves, article 2001, <https://doi.org/10.1021/jf000596+>
 - ✓ INES URQUIAGA and FEDERICO LEIGHTON , Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress, 2000, <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602000000200004>
 - ✓ Rebecca J. Robbins , Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology, 2003, <https://doi.org/10.1021/jf026182t>
 - ✓ J.M.Botia , A.ortuno, O.Benavente-Garcia, A.G.Baidez, J.Frias, D.Markos, Modulation of the Biosynthesis of Some Phenolic Compounds in *Olea europaea* L. Fruits: Their Influence on Olive Oil Quality, 2001, <https://doi.org/10.1021/jf9913108>
 - ✓ R. J. Widmer, M.A. Freund, A.J.Flammer, J.Sexton, R. Lennon, A.Romani, N.Mulinacci, F.F.Vincery, L.O.Lerman, A.Lerman, Beneficial effects of polyphenol-rich olive oil in patients with early atherosclerosis, 1223–1231(2013) , <https://doi.org/10.1007/s00394-012-0433-2>
 - ✓ **MDPI and ACS Style**
 - ✓ Martínez-Huélamo, M.; Rodríguez-Morató, J.; Boronat, A.; De la Torre, R. Modulation of Nrf2 by Olive Oil and Wine Polyphenols and Neuroprotection. *Antioxidants* **2017**, *6*, 73., <https://doi.org/10.3390/antiox6040073>
 - ✓ Souilem, S., Kobayashi, I., Neves, M.A. et al. Preparation of Monodisperse Food-Grade Oleuropein-Loaded W/O/W Emulsions Using Microchannel Emulsification and Evaluation of Their Storage Stability. *Food Bioprocess Technol* **7**, 2014–2027 (2014). <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1182-9>
 - ✓ Lurdes Mira, M. Tereza Fernandez, Marta Santos, Rui Rocha, M. Helena Florêncio & Keith R. Jennings (2002) Interactions of Flavonoids with Iron and Copper Ions: A Mechanism for their Antioxidant Activity, *Free Radical Research*, 36:11, 1199-1208, DOI: 10.1080/1071576021000016463

- ✓ Fausta Natella, Mirella Nardini, Maurizio Di Felice, and Cristina Scaccini, Benzoic and Cinnamic Acid Derivatives as Antioxidants: Structure–Activity Relation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1999**, 47 (4), 1453-1459, DOI: 10.1021/jf980737wn
- ✓ Walker M. Olive leaf extract. The new oral treatment to counteract most types of pathological organisms. *Explore: The Journal of Science and Healing*. 1996;7:31. [https://scholar.google.com/scholar_lookup?journal=Explore:+The+Journal+of+Science+and+Healing&title=Olive+leaf+extract.+The+new+oral+treatment+to+counteract+most+types+of+pathological+organisms&author=M+Walker&volume=7&publication_year=1996&pages=31 &]
- ✓ Yoshiyuki Kimura, Maho Sumiyoshi, Olive Leaf Extract and Its Main Component Oleuropein Prevent Chronic Ultraviolet B Radiation-Induced Skin Damage and Carcinogenesis in Hairless Mice, *The Journal of Nutrition*, Volume 139, Issue 11, November 2009, Pages 2079–2086, <https://doi.org/10.3945/jn.109.104992>
- ✓ Jason Pitt, William Roth, Pascale Lacor, Amos B. Smith, Matthew Blankenship, Pauline Velasco, Fernanda De Felice, Paul Breslin, William L. Klein, Alzheimer's-associated A β oligomers show altered structure, immunoreactivity and synaptotoxicity with low doses of oleocanthal, 2009, Pages 189-197, <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.07.018>
- ✓ Hassan K. Obied, Malcolm S. Allen, Danny R. Bedgood, Paul D. Prenzler, and Kevin Robards, Investigation of Australian Olive Mill Waste for Recovery of Biophenols, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005** 53 (26), 9911-9920, DOI: 10.1021/jf0518352
- ✓ Nenadis, Nikolaos, and M. Z. Tsimidou. "Oleuropein and related secoiridoids: antioxidant activity and sources other than *Olea europaea* L.(olive tree)." *Chemistry and medicinal value* (2009): 53-74.,
- ✓ Cora J Dillard and J Bruce German , *Phytochemicals: nutraceuticals and human health*, 2000, pages(1744±1756) , doi:10.1002/1097-0010(20000915)80:12<1744::aid-jsfa725>3.0.co;2-w
- ✓ Elisa Giner, María-Carmen Recio, José-Luis Ríos, and Rosa-María Giner, Oleuropein Protects against Dextran Sodium Sulfate-Induced Chronic Colitis in Mice, *Journal of Natural Products* **2013** 76 (6), 1113-1120, DOI: 10.1021/np400175b
- ✓ Fredrickson, WR, F and S Group, Inc. (2000). Method and Composition for Antiviral Therapy with Olive Leaves. U.S. Patent 6: 117:884.
- ✓ M.Bes-Rastrollo, A.Sanchez-Villegas, C. de la Fuente, J. de Irala, J. A Martinez, M.A Martinez –Gonzalez , Olive oil consumption and weight change: The SUN prospective cohort study, 2006,
<https://doi.org/10.1007/s11745-006-5094-6>
- ✓ E. Tzika, V. Papadimitriou, T. G. Sotiroudis, and A. Xenakis, “Chemical and enzymatic oxidation of oleuropein: an EPR study,” *Chemistry and Physics of Lipids*, vol. 130, no. 1, pp. 61-61, 2004., DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2004.04.001>
- ✓ Sotiroudis, Theodore G., et al. "Chemopreventive potential of minor components of olive oil against cancer." *Italian journal of food science* 15.2 (2003): 169-186. Senza titolo -4 (chiriottieditori . it)
- ✓ Cuppett, S., M. Schnepf, and C. Hall. "Natural antioxidants–Are they a reality." *Natural antioxidants, chemistry, health effects and applications* (1997): 12-24.
- ✓ Wollenweber E. 1993. Flavones and flavonols: In: Harborne JB,ed. The flavonoids. Advances in research since 1986. London,UK: Chapman & Hall, 259–335
- ✓ Gershenson, J. (1984). Changes in the levels of plant secondary metabolite production under water and nutrient stress. *Journal of Recent Advances in Phytocchemistry* 18: 273-320
- ✓ Antell, S.E., & Keating, D. (1983). Perception of numerical invariance by neonates. *Child Development*, 54, 695-701.

- ✓ (Pereira AP, Ferreira ICFR, Marcelino F, Valentao P, Andrade PB, Seabra R, Estevinho L, Bento A, Pereira JA (2007) Phe-nolic compounds and antimicrobia activity of olive (*Olea euro-pea* L. Cv. *cobrancosa*) leaves. *Molecules* 12:1153–1162).
- ✓ Nekooeian AA, Khalili A, Khosravi MB. Effects of oleuropein in rats with simultaneous type 2 diabetes and renal hyperten-sion: a study of antihypertensive mechanisms. *J Asian Nat Prod Res.* 2014; 1-10. DOI: 10.1080/10286020.2014.924510.
- ✓ isignano G, Tomaino A, Lo Cascio R, Crisafi G, Ucella N, Saija A (1999) On the in vivo antimicrobial activity of oleuro-pein and hydroxytyrosol. *J Pharm Pharmacol* 51:971–974
- ✓ Verduyn-Lunel FM, Meis JF, Voss A (1999) Nosocomial fungal infections: candidaemia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 34:213–220
- ✓ Sudjana AN, D’Orazio C, Ryan V, Rasool N, Ng J, Islam N, Riley TV, Hammer KA (2009) Antimicrobial activity of com-mercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *Int J Antimicrob Agents* 33:461–463
- ✓ [Olive Polyphenols and the Metabolic Syndrome \(reading.ac.uk\)](#)
- ✓ [IJMS | Free Full-Text | Effects of the Olive-Derived Polyphenol Oleuropein on Human Health | HTML \(mdpi.com\)](#)
- ✓ <https://doi.org/10.3390/ijms151018508>