



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

## **ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΣΕ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΦΥΛΛΩΝ ΕΛΙΑΣ**



ΕΙΣΗΓΗΤΡΙΑ: ΠΕΤΟΥΣΑΚΗ ΣΤΥΛΙΑΝΗ (15082)

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΜΠΑΤΡΙΝΟΥ ΑΝΘΙΜΙΑ

**ΑΘΗΝΑ 2021**

Εγκρίθηκε από τριμελή εξεταστική επιτροπή  
Αθήνα, 2021

#### ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Ανθμία Μπατρίνου Βιολόγος MSc, PhD, Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Επιστημών Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

2. Μέλος επιτροπής: Ειρήνη Στρατή, Χημικός MSc, PhD, Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Επιστημών Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

3. Μέλος επιτροπής: Σπυρίδων Κοντελής Γεωπόνος, PhD, Ακαδημαϊκός Υπότροφος, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Επιστημών Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

## ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΔΗΛΩΣΗ ΜΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ

Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του νόμου περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι είμαι η αποκλειστική συγγραφέας της παρούσας πτυχιακής εργασίας, η οποία δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής, ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές (κάθε είδους, μορφής και προέλευσης) που χρησιμοποιήθηκαν για την συγγραφή της περιλαμβάνονται στην βιβλιογραφία. Δηλώνω, επίσης, ότι αναλαμβάνω τις συνέπειες, όπως αυτές νομίμως ορίζονται, σε περίπτωση που αποδειχθεί διαχρονικά ότι η εργασία αυτή αποτελεί προϊόν λογοκλοπής.

Πετουσάκη Στυλιανή

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην έρευνα αυτή μελετήθηκε ο ρόλος των ελληνικών φυτών, και ιδιαίτερος της ελιάς, ως φυσικά αντιμικροβιακά και αντιοξειδωτικά, καθώς και οι διάφοροι τρόποι παραλαβής των εκχυλισμάτων τους.

Το φύλλο της ελιάς αποτελεί ένα φυτικό υλικό πλούσιο σε ενώσεις με ισχυρή αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση, ενώ παράλληλα είναι μια βιοδιαθέσιμη πηγή με αρκετά χαμηλό κόστος, που δεν αξιοποιείται στο έπακρον. Γίνεται χρήση του από την αρχαιότητα για την καταπολέμηση της ελονοσίας και του πυρετού, ενώ πλέον έχουν αναδειχθεί πολλές επιπλέον ιδιότητες του, όπως η συμβολή στην αντιμετώπιση του ιού του HIV, η αντιμυκητιακή του δράση και η επίδραση του στη ρύθμιση του γλυκαιμικού δείκτη.

Για αυτό το λόγο, βγαίνουν στην αγορά πολλά νέα προϊόντα που περιλαμβάνουν εκχύλισμα ή αιθέριο έλαιο φύλλων ελιάς, όπως συμπληρώματα διατροφής, καλλυντικά προϊόντα, φακελάκια τσαγιού κ.ά..

Η βιβλιογραφική έρευνα ανέδειξε τις αντιμικροβιακές ιδιότητες των φύλλων της ελιάς, χάρη στην περιεκτικότητά τους σε πολυφαινόλες, με κύρια αυτών την ελαιευρωπαΐνη. Οι διαφορετικοί μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για την εκχύλιση των φύλλων και αργότερα για την εξέταση των ιδιοτήτων τους απέδειξαν ότι οι μη συμβατικές μέθοδοι εκχύλισης αποδίδουν καλύτερα εκχυλίσματα. Ακόμη, η ποικιλία της ελιάς και ο τρόπος προκατεργασίας του φυτικού υλικού παίζουν μεγάλο ρόλο στην περιεκτικότητα του εκχυλίσματος σε βιοφαινόλες. Σε κάθε περίπτωση, ανεξάρτητα από τα διαφορετικά αποτελέσματα των διάφορων μελετών, κοινός παράγοντας είναι ότι τα εκχυλίσματα των φύλλων ανέστειλαν την λειτουργία των παθογόνων μικροοργανισμών και τη δημιουργία ελεύθερων ριζών.

Αναμφισβήτητα, η ελιά αποτελεί ένα φυτό με πλούσιες ευεργετικές ιδιότητες οι οποίες θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν σε πολλούς τομείς, πέρα από τον τομέα των τροφίμων. Οι έρευνες που έχουν γίνει πάνω στις ιδιότητες αυτές δεν έχουν δώσει ακόμη τεκμηριωμένες απαντήσεις όσον αφορά το βέλτιστο τρόπο παραλαβής και αξιοποίησης τους, ούτε έχει μελετηθεί πλήρως η βιοενεργή τους δραστηριότητα. Σίγουρα, μελλοντικά, θα υπάρξουν περισσότερες μελέτες που θα εμβαθύνουν περισσότερο σε αυτό και θα φέρουν στην επιφάνεια νέες πληροφορίες για το φύλλο της ελιάς.

## ABSTRACT

The purpose of this research is to examine the role of the Greek plants, and especially the olive tree, as natural antimicrobials and antioxidants, as well as the various ways of receiving their extracts.

Olive leaf is a plant material rich in compounds with strong antimicrobial and antioxidant activity, while at the same time it is a bioavailable source at a fairly low cost, which is not fully utilized. The olive leaves have been used since the ancient times to fight malaria and fever. Nowadays many additional properties have emerged, such as its contribution to the treatment of HIV, its antifungal action and its effect on the regulation of the glycemic index.

For this reason, many new products which include the olive leaf extract or its essential oil have been developed, such as dietary supplements, cosmetic creams, tea bags, etc.

The literature study presented showed that the antimicrobial properties of olive leaves were major attributes of their content of polyphenols, mainly oleuropein. The different methods used to extract the leaves and furthermore examine their properties have shown that non-conventional extraction methods yield better extracts. Also, the variety of the olive tree and the method used to dehydrate the plant material affect the content of the extract in biophenols. In any case, regardless of the different results of the various studies, a common factor is that the leaf extracts inhibited the function of pathogenic microorganisms and the formation of free radicals.

Undoubtedly, the olive tree is a plant rich in beneficial properties that could be exploited in many fields, beyond the food industry. Research on these properties has not yet provided substantiated answers as to which is the optimal method to obtain and utilize them, nor has their bioactive activity been fully studied. Surely, in the future, there will be more studies that will provide more meticulous research and bring to the surface new information about the olive leaf and its properties.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

<i>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</i> .....	4
<i>ABSTRACT</i> .....	5
<i>ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ</i> .....	8
<i>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</i> .....	9
<i>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1</i> .....	10
<i>Η ΕΛΙΑ</i> .....	10
1.1 Αρχαιότητα.....	10
1.2 Ιστορική Αναδρομή.....	10
1.3 Βοτανικά χαρακτηριστικά.....	11
1.3.1 Ρίζες.....	12
1.3.2 Φύλλα .....	12
1.3.3 Άνθη .....	12
1.3.4.Καρπός .....	13
1.4 Καλλιεργητικό περιβάλλον, εδαφοκλιματικές συνθήκες.....	14
1.4.1. Θερμοκρασία.....	14
1.4.2. Καιρικές συνθήκες .....	14
1.4.3. Έδαφος .....	14
1.5. Ποικιλίες ελιάς.....	15
1.5.1. Η Ελιά παγκοσμίως .....	15
1.5.2. Ελληνικά είδη.....	17
<i>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2</i> .....	19
<i>ΦΥΛΛΑ ΕΛΙΑΣ</i> .....	19
2.1. Ορισμός.....	19
2.2. Χημική σύσταση .....	19
2.2.1. Φαινολικές Ενώσεις .....	20
2.2.2. Ελαιοευρωπαϊνή.....	23
2.2.3 Υδροξυτυροσόλη και Verbascoside .....	23
2.2.4. Ελενολικό Ασβέστιο και Μαννιτόλη .....	24
2.2.5. Ανόργανα στοιχεία .....	24
2.3. Βιολογική δράση.....	25
2.3.1. Αντιοξειδωτική ικανότητα φύλλων ελιάς .....	25
2.3.1.1. Υπερχοληστερολαιμία.....	27
2.3.1.2. Καρδιαγγειακές παθήσεις.....	28
2.3.1.3. Καρκίνος.....	28
2.3.2. Αντιμικροβιακή δράση.....	28
2.3.2.1 Αντιμικροβιακή δράση πολυφαινολών.....	29
2.3.2.2. HIV .....	30
2.3.3. Αντιμυκητιακή Δράση.....	31

2.4. Χρήσεις εκχυλίσματος και φύλλων ελιάς .....	31
2.5. Ελληνικά βότανα με αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες .....	33
2.5.1. Θυμάρι.....	33
2.5.2. Φασκόμηλο.....	34
2.5.3. Κρίταμο .....	34
<i>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3</i> .....	36
<i>ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ</i> .....	36
3.1 Συλλογή και προκατεργασία .....	36
3.1.1 Συλλογή φύλλων .....	36
3.1.2. Επεξεργασία φύλλων ελιάς .....	38
3.2. Τεχνικές εκχύλισης .....	40
3.2.1. Συμβατικές τεχνικές εκχύλισης.....	41
3.2.1.1. Διαβροχή (maceration) .....	42
3.2.1.2. Έγχυση (infusion).....	42
3.2.1.3. Αφέψημα (decoction) .....	42
3.2.1.4. Εκχύλιση στερεού-υγρού (Solid liquid extraction) .....	43
3.2.1.5. Εκχύλιση Soxhlet.....	44
3.2.2. Μη συμβατικές τεχνικές εκχύλισης .....	45
3.2.2.1. Υποβοηθούμενη με μικροκύματα εκχύλιση (Microwave Assisted Extraction - MAE).....	46
3.2.2.2. Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους (Ultrasound Assisted Extraction – UAE).....	48
3.2.2.3. Εκχύλιση υπό πίεση υγρού (Pressurized Liquid Extraction PLE).....	49
3.2.2.4. Υπερκρίσιμη εκχύλιση ρευστού (Supercritical Fluid Extraction - SFE).....	50
3.3 Εργαστηριακοί μέθοδοι ανάλυσης αντιμικροβιακών ιδιοτήτων.....	51
3.3.1 Παραλαβή μεθανολικών εκχυλισμάτων φαινολών από φυτικές ύλες.....	51
3.3.2. Απομόνωση και προσδιορισμός της ελαιοευρωπαϊνης από φύλλα ελιάς με διχλωρομεθάνιο και μεθανόλη .....	52
3.3.2 Ερευνητική βιβλιογραφία.....	53
<i>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</i> .....	57
<i>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</i> .....	58

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας 1:</b> Κύρια χαρακτηριστικά φύλλων ελιάς, (Therios, 2009).....	11
<b>Πίνακας 2:</b> Κύρια συστατικά φύλλων ελιάς από κλάδεμα (Κατικαρίδου, 2017).....	19
<b>Πίνακας 3:</b> Δευτερεύοντα συστατικά φύλλων ελιάς (Cruess et al., 1934).....	19
<b>Πίνακας 4:</b> Περιεκτικότητα φύλλων ελιάς σε ανόργανα στοιχεία (Κατικαρίδου, 2017).....	31
<b>Πίνακας 5:</b> Προτεινόμενες δόσεις στερεού εκχυλίσματος φύλλων ελιάς για διάφορες ηλικίες (Μανουσάκη & Τζωτζέ, 2015).....	39
<b>Πίνακας 6:</b> Συμβατικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανάκτηση φυσικών προϊόντων (Handa et al, 2008).....	41
<b>Πίνακας 7:</b> Τεχνικές εκχύλισης στερεού – υγρού σε φύλλα ελιάς.....	43
<b>Πίνακας 8:</b> Εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα σε φύλλα ελιάς.....	46
<b>Πίνακας 9:</b> Αντιμικροβιακή δραστηριότητα σε εκχυλίσματα φύλλων ελιάς.....	52



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Ελλάδα είναι μια χώρα με πληθώρα φυτών που καλύπτουν την γη από τα βουνά της, τις πεδιάδες, μέχρι και τις παραθαλάσσιες εκτάσεις. Το μεσογειακό κλίμα που επικρατεί, ευνοεί την ανάπτυξη μεγάλης ποικιλίας βοτάνων, μέχρι και ως τις πιο αντίξοες συνθήκες. Πολλά από αυτά τα φυτά έχουν ευεργετικές ιδιότητες, γνωστές από την αρχαιότητα, καθώς αξιοποιούνταν με πολλούς διαφορετικούς τρόπους στην καθημερινή ζωή. Τα χρησιμοποιούσαν για την συντήρηση των τροφίμων, την προστασία τους από παθογόνους μικροοργανισμούς, καθώς, επίσης, και τη βελτίωση των οργανοληπτικών τους χαρακτηριστικών. Πέρα από τον τομέα των τροφίμων, τα βότανα χρησιμοποιούνταν για τις φαρμακευτικές τους ιδιότητες με τη μορφή ελιξιρίων, αλοιφών αλλά και χωρίς καμία επιπρόσθετη επεξεργασία, για τη θεραπεία πλήθους ασθενειών. Μέχρι και σήμερα, η παρουσία τους είναι πολύ σημαντική τόσο στον φαρμακευτικό, όσο και στον καλλυντικό τομέα.

Με την πάροδο των χρόνων, αναδεικνύεται, επίσης, η εξέχουσα σημασία του ελαιόδεντρου και των παραπροϊόντων του. Ένα από αυτά είναι και το φύλλο της ελιάς, το οποίο είναι πλούσιο σε πολυφαινόλες και ανόργανα στοιχεία. Το φυτικό υλικό αυτό τις περισσότερες φορές παραμένει αναξιοποίητο, παρά τις αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες του, που έχουν αποδειχθεί μετά από λεπτομερείς έρευνες.

Σκοπός αυτής της μελέτης είναι να γίνει μια βιβλιογραφική έρευνα πάνω στις ιδιότητες κάποιων αρωματικών φυτών κι έπειτα, πιο συγκεκριμένα, στα φύλλα της ελιάς και το ρόλο των πολυφαινολών τους στην αντιμετώπιση της δράσης των ελεύθερων ριζών και κάποιων παθογόνων μικροοργανισμών. Τέλος, εξετάζονται οι διάφοροι τρόποι εκχύλισης των φυτικών υλικών, καθώς και μελέτες που ερευνήσαν την αντιμικροβιακή δράση του εκχυλίσματος των φύλλων της ελιάς.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## Η ΕΛΙΑ

### 1.1 Αρχαιότητα

Η ελιά είναι ένα δέντρο που αποτελεί ιδιαίτερα σημαντικό στοιχείο της ελληνικής ιστορίας και του πολιτισμού της. Από τα αρχαία χρόνια γίνονται αναφορές για την παρουσία της στην καθημερινή ζωή των Ελλήνων, τόσο στη διατροφή, στο εμπόριο, ενώ κατείχε μεγάλο ρόλο και στις θρησκευτικές τους τελετές.

Σύμφωνα με τη μυθολογία η Αθηνά δώρισε στους Αθηναίους την πρώτη ελιά, πάνω στον βράχο της Ακρόπολης, ως υπόσχεση ευημερίας και πλούτου για την πόλη και από αυτήν προήλθαν και οι δώδεκα ελιές της Ακαδημίας, που αντιστοιχούσαν στις δώδεκα πύλες της. Ενδεικτικό της σημασίας της ελιάς για τους Αθηναίους είναι ότι στα νομίσματά τους απεικόνιζαν την Αθηνά με στεφάνι ελιάς στο κράνος της και έναν αμφορέα με λάδι ή ένα κλαδί ελιάς. Επίσης, ένας άλλος μύθος αναφέρει ότι ο Ηρακλής φύτεψε την πρώτη αγριελιά (γνωστή και ως καλλιστέφανος ελιά) στην Ολυμπία, στο ναό της Ήρας, μετά την ολοκλήρωση των δώδεκα άθλων του. Από αυτή την ελιά φτιαχνόταν ο κότινος, ένα στεφάνι από κλαδιά αγριελιάς το οποίο έπαιρναν οι αθλητές όταν διέπρεπαν σ' ένα άθλημα και με το οποίο ήταν στεφανωμένο και το χρυσελεφάντινο άγαλμα του Δία του Φειδία που ανήκει σε ένα από τα επτά θαύματα του αρχαίου κόσμου.

Ο Αρισταίος, γιος του Απόλλωνα, λατρεύτηκε σαν γεωργική θεότητα και προστάτης των ελαιοκαλλιεργητών στη Σικελία και μετά από αυτόν άρχισαν να καλλιεργούνται τα δάση αγριελιάς στην Μεσόγειο και να εμβολιάζονται τα άγρια δέντρα (Πελοποννησιακός ελαιώνας, 2020).

Πολλές αναφορές γίνονται και από σημαντικούς αρχαίους Έλληνες. Ο Σόλωνας, για παράδειγμα, εισήγαγε την πρώτη νομοθεσία για την προστασία των ελαιοπαραγωγών αναγγέλλοντας ότι δεν επιτρέπεται να κόβονται πάνω από δύο ελαιόδεντρα το χρόνο από τους Αθηναϊκούς ελαιώνες. (Σταλίδα, 2020) Επιπλέον, ο Όμηρος ανέφερε το ελαιόλαδο ως το υγρό χρυσάφι της διατροφής, ο Ιπποκράτης χρησιμοποιούσε το έλαιο της ελιάς ως φάρμακο και ο Αριστοτέλης θεωρούσε την καλλιέργεια της επιστήμη.

### 1.2 Ιστορική Αναδρομή

Η καλλιέργεια της ελιάς ξεκίνησε αιώνες πίσω. Είναι άλλωστε μια από τις αρχαιότερες καλλιέργειες που άνθισαν στον κόσμο και προηγείται της καταγραφής της ιστορίας από τον άνθρωπο. Η καλλιέργεια της χρονολογείται 6000 χρόνια πριν και υπάρχουν δυο εκδοχές για

τον τόπο προέλευσης της (Κυριτσάκης, 2007 & Therios, 2009). Κατά την πρώτη, σύμφωνα με γραπτές μαρτυρίες το πρώτο ελαιόδεντρο βρισκόταν στις περιοχές της Μικράς Ασίας, της Παλαιστίνης και της Συρίας. Από εκεί οι Φοίνικες το διέδωσαν στην Κύπρο, την Κρήτη, τα ελληνικά νησιά, την ηπειρωτική Ελλάδα και τη νότια Ιταλία. Έπειτα μέσω των Ελλήνων και των Ρωμαίων μεταφέρθηκε στην Ισπανία και μετά στην υπόλοιπη Ευρώπη και την Αφρική. Σύμφωνα με τις άλλες μαρτυρίες τόπος προέλευσης της ελιάς είναι η Αφρική, και πιο συγκεκριμένα η Αβησσυνία και η Αίγυπτος, από όπου μεταφέρθηκε στην Κρήτη. Καλλιεργήθηκε από τους Σημιτικούς λαούς και έπειτα διαδόθηκε στην Κύπρο και στα βόρεια παράλια της Αφρικής. Στην Αμερική έφτασε από την Πορτογαλία και την Ισπανία, και άρχισε να καλλιεργείται στις αρχές του 16ου αιώνα στο Μεξικό, το Περού και την Αργεντινή, φτάνοντας κατά τα τέλη του 18ου αιώνα στην Καλιφόρνια. Τέλος, στην Αυστραλία έφτασε στις αρχές του 19ου αιώνα, από Ιταλούς μετανάστες, αλλά η κύρια ανάπτυξη δεν ξεκίνησε μέχρι τα μέσα του 20ου αιώνα.

Σύμφωνα με πρόσφατες αρχαιολογικές έρευνες, βρέθηκαν απολιθώματα φύλλων ελιάς (*Olea europaea*) στην Θήρα, ηλικίας 60 χιλιάδων ετών, τα οποία διασώθηκαν λόγω της ηφαιστειακής τέφρας. Παράλληλα, πολλά ευρήματα που βρέθηκαν στο ανάκτορο της Κνωσού και της Φαιστού υποδεικνύουν ότι η ελιά κατείχε σημαντικό ρόλο στην ζωή των ανθρώπων της Μινωικής εποχής. Μεγάλα πιθάρια και δοχεία για την αποθήκευση του ελαιόλαδου, εικόνες ελαιόδεντρων σε τοιχογραφίες και σε κρατήρες, καθώς και τμήματα αρχαίου ελαιοτριβείου επιβεβαιώνουν ότι η ελιά καλλιεργείται και αξιοποιείται από εκείνη την εποχή (Κυριτσάκης, 2007).

### 1.3 Βοτανικά χαρακτηριστικά

Η ελιά είναι ένα αείφυλλο, υποτροπικό δέντρο, που άλλοτε αναπτύσσεται και σαν θάμνος. Είναι υπεραιώνобία, φτάνοντας τα 1000 έτη και παραπάνω, και κύριο χαρακτηριστικό της είναι η μακροζωία και η διατήρηση της παραγωγικότητας. Μάλιστα, στην δυτική Κρήτη βρίσκεται ένα από τα αρχαιότερα δέντρα στον πλανήτη, από το οποίο είχαν χρησιμοποιηθεί κλωνάρια για να φτιαχτούν τα στεφάνια των αθλητών στους Ολυμπιακούς αγώνες το 2004 (Κυριτσάκης, 2007).

Ο κορμός είναι κυλινδρικός, διακλαδιζόμενος και έχει στην επιφάνεια του πολλά εξογκώματα, ενώ ο φλοιός του έχει ανοιχτό γκρι χρώμα. Έχει πολλά λεπτά κλαδιά, τα οποία φέρουν τα φύλλα, τα άνθη και



**Εικόνα 1.** Το ελαιόδεντρο

τους καρπούς. Φτάνει περίπου τα 15-20m ύψος και μετά το κλάδεμα αποκτά ύψος 4-5m. Επιπλέον, είναι ανθεκτική στα διάφορα παράσιτα και έχει την ικανότητα να βλαστάνει ξανά, ακόμη και στην περίπτωση που έχει νεκρωθεί το υπέργειο τμήμα.

### 1.3.1 Ρίζες

Έχει ισχυρό ριζικό σύστημα, το οποίο, σε ξηρές περιοχές, μπορεί να καλύψει μια περιοχή 8 φορές μεγαλύτερο από το φύλλωμα. Οι παχιές ρίζες αναπτύσσονται στα πρώτα 20cm κάτω από το έδαφος και το μεγαλύτερο ποσοστό των ριζών, φτάνει τα 60-70 cm βάθος εδάφους (Therios, 2009).

### 1.3.2 Φύλλα

Τα φύλλα της ελιάς είναι μακρόστενα ή λογχοειδή, διφασικά και λεία και αναπτύσσονται το ένα απέναντι από το άλλο. Έχουν ένα ανοιχτό πράσινο - γκρι χρώμα στο πάνω μέρος, το οποίο οφείλεται στην μεγάλη περιεκτικότητα τους σε τανίνες, και ασημένιο χρώμα στο κάτω μέρος. Οι επιφάνειές τους καλύπτονται από τρίχες, με την κάτω επιφάνεια να παρουσιάζει το μεγαλύτερο αριθμό. Παράλληλα, είναι η μόνη επιφάνεια που διαθέτει στόματα, τα οποία περιορίζουν την απώλεια νερού και προστατεύουν τα φύλλα από την υπερϊώδη ακτινοβολία. Επιπλέον, καλύπτονται από ένα στρώμα κεριού και κυτίνη. Η έκκριση κυτίνης εμφανίζεται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των φύλλων και σταματά όταν ολοκληρώνεται η ανάπτυξη των φύλλων. Ένα κύριο χαρακτηριστικό τους είναι ότι αντικαθίστανται κάθε 2-3 χρόνια, την άνοιξη, συνήθως ταυτόχρονα με την εμφάνιση των καινούριων φύλλων (Κυριτσάκης, 2007).

**Πίνακας 1.** Κύρια χαρακτηριστικά φύλλων ελιάς, (Therios, 2009)

Χαρακτηριστικό	Άνω επιφάνεια	Κάτω επιφάνεια
Στόματα (n/m <sup>2</sup> )	0	470
Τρίχωμα (n/m <sup>2</sup> )	18	143
Πάχος επιδερμίδας (μm)	11.5	4.5
Γωνία επαφής (°)	106.0	125.4

Μέσω των διάφορων χαρακτηριστικών των φύλλων και των καρπών μπορεί να γίνει καλύτερη διάκριση των ποικιλιών της ελιάς, σε ώριμα κι ενήλικα φύλλα, πρώτου έτους. Πολλά από αυτά τα χαρακτηριστικά διαφοροποιούνται με το πέρασμα του χρόνου, όπως για παράδειγμα το πάχος τους, που αυξάνεται κατά την γήρανση (Θέριος, 2005).

### 1.3.3 Άνθη

Τα μπουμπούκια της ελιάς ταξινομούνται ως βλαστοφόρα ή ανθοφόρα. Τα πρώτα είναι μικρά και έχουν κωνικό σχήμα, ενώ τα δεύτερα είναι σφαιρικά και έχουν μεγαλύτερο μέγεθος. Ακόμα, οι λανθασμένοι οφθαλμοί αναπτύσσονται μετά από λάθος κλάδεμα ή μετά από

καταστροφή του βλαστού λόγω ψύξης, ενώ ένα ποσοστό των μπουμπουκιών του καρποφόρου βλαστού δεν ανθίζει εν τέλει.

Οι ταξιανθίες δημιουργούνται στον άξονα κάθε φύλλου. Κάθε ταξιανθία περιέχει 15-30 άνθη, ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες και την ποικιλία, και προέρχονται από μπουμπουκία της τρέχουσας σεζόν (Therios, 2009). Μετά το χειμώνα ανθίζουν και στη συνέχεια αρχίζουν να αναπτύσσονται, παράγοντας ταξιανθίες. Οκτώ εβδομάδες πριν από την πλήρη άνθιση, ο σχηματισμός των λουλουδιών μπορεί να φανεί κάτω από ένα μικροσκόπιο. Κατά τις επόμενες 8 εβδομάδες η ανάπτυξη των λουλουδιών μεταβάλλεται γρήγορα και η ανθοφορία συμβαίνει στα τέλη Μαΐου, ή μια με δύο εβδομάδες νωρίτερα σε νοτιότερες περιοχές.

Τα άνθη της ελιάς είναι μικρά, με κιτρινοπράσινο χρώμα και κάθε ένα από αυτά αποτελείται από μια τετραπέταλη στεφάνη κι ένα βραχύ κυπελλοειδή κάλυκα με τέσσερις λοβούς. Αυτά δημιουργούν ένα κώδωνα, ο οποίος έχει στο εσωτερικό δύο βραχείς στήμονες και έναν ύπερο. (Therios, 2009). Συνήθως αρχίζουν να εμφανίζονται τον Μάιο. Ακόμα, διακρίνονται σε δυο κατηγορίες, τα τέλεια και τα ατελή άνθη. Τα τέλεια άνθη περιέχουν δύο στήμονες και ένα καλά αναπτυγμένο ύπερο (πράσινο χρώμα), ενώ τα ατελή άνθη, που λέγονται και στημονώδη, περιέχουν ανεπτυγμένους μόνο τους στήμονες. Ο ύπερος είναι ατροφικός, διατηρεί ένα πολύ μικρό μέγεθος και δεν είναι ικανός να γονιμοποιηθεί και να αναπτυχθεί σε καρπό, κυρίως λόγω της έλλειψης νερού ή θρεπτικών συστατικών κατά την ανάπτυξη του. Ο ύπερος στα τέλεια άνθη καλύπτει σχεδόν όλο τον εσωτερικό χώρο του άνθους και περιέχει δύο καρπόφυλλα, από τα οποία το καθένα περιέχει δύο σπερμοβλάστες ανατροπές, ικανές να γονιμοποιηθούν και να αναπτυχθούν. Το ποσοστό τέλειων λουλουδιών εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως οι καιρικές συνθήκες, η ποικιλία, ο αριθμός των ταξιανθιών ανά φυτό, η υγρασία του εδάφους και η περιεκτικότητα σε άζωτο των φύλλων κατά την περίοδο της ανθοφορίας (Κυριτσάκης, 2007).

#### *1.3.4.Καρπός*

Ο καρπός της ελιάς ανήκει στην κατηγορία των δρύπεων, δηλαδή των πυρηνόκαρπων και έχει σφαιρικό, ωοειδές σχήμα, μήκους 1-2.5cm και βάρους 1-10g (Therios, 2009). Αποτελείται από το επικάρπιο, το μεσοκάρπιο και το ενδοκάρπιο (Κυριτσάκης, 2007). Το επικάρπιο είναι η εξωτερική επιδερμίδα του καρπού, το μεσοκάρπιο είναι η σάρκα από την οποία προέρχεται το βρώσιμο τμήμα του καρπού και το ενδοκάρπιο αποτελεί τον πυρήνα (ή αλλιώς κουκούτσι) και περικλείεται από ένα ξυλώδες περίβλημα. Ο καρπός έχει πράσινο χρώμα, το οποίο κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης μετατρέπεται σε ανοιχτό μωβ, που έπειτα σκουραίνει και μαυρίζει (Haifa, 2020). Ακόμα, όσο ωριμάζει, η σάρκα γίνεται πιο μαλακή, μειώνεται η περιεκτικότητά της σε σάκχαρα και αυξάνεται η ελαιοπεριεκτικότητά της. Τα κύρια συστατικά της σάρκας είναι το νερό, το ελαιόλαδο, τα σάκχαρα, οι πρωτεΐνες, οι ρητίνες, τα οργανικά οξέα, οι τανίνες, η ελαιοευρωπαΐνη και τα ανόργανα συστατικά (Κυριτσάκης, 2007).

## **1.4 Καλλιεργητικό περιβάλλον, εδαφοκλιματικές συνθήκες**

Το ελαιόδεντρο είναι ένα πολύ ανθεκτικό δέντρο με χαμηλές απαιτήσεις όσον αφορά τη σύσταση του εδάφους και τις κλιματολογικές συνθήκες. Η καλλιέργεια του κατανέμεται μεταξύ 25 - 40 βόρειου και νότιου γεωγραφικού πλάτους, κυρίως στην εύκρατη ζώνη (Haifa, 2020).

### *1.4.1. Θερμοκρασία*

Παρατηρείται κυρίως η ανάπτυξη του στις χώρες της Μεσογείου, που το κλίμα χαρακτηρίζεται από ζεστά καλοκαίρια και ήπιους χειμώνες. Η μέση θερμοκρασία σε αυτές τις περιοχές κυμαίνεται στους 15 - 20C, με ελάχιστη θερμοκρασία τους 4C, και μέγιστη τους 40C (Therios, 2009). Παράλληλα, ενώ δεν ευνοείται η ανάπτυξη του σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των -9C, είναι αναγκαίο να υπάρξει μια περίοδος το χειμώνα με χαμηλές θερμοκρασίες για να ανθοφορήσει το δέντρο. Αυτές οι θερμοκρασίες μπορούν να κυμαίνονται ανάμεσα στους 1.5-10C. Οι πολύ χαμηλές θερμοκρασίες καταστρέφουν το δέντρο και μπορεί να νεκρώσουν τα άνθη του, ενώ αντίθετα, οι πολύ υψηλές θερμοκρασίες το καλοκαίρι μπορεί να προκαλέσουν πτώση των καρπών (Haifa, 2020).

### *1.4.2. Καιρικές συνθήκες*

Παρότι η ελιά θεωρείται πολύ ανθεκτικό δέντρο, φαίνεται ότι παρουσιάζει αδυναμία σε συγκεκριμένες κλιματολογικές συνθήκες. Αρχικά, παρόλο που παρουσιάζει μεγάλη ανοχή στους ανέμους, οι κρύοι άνεμοι σε συνδυασμό με υψηλή υγρασία, καθώς και οι θερμοί άνεμοι, σε συνδυασμό με ξηρασία επηρεάζουν πολύ την ανθοφορία και την καρποφορία του φυτού, οδηγώντας σε χαμηλότερες αποδόσεις. Η ιδανική υγρασία στην οποία η ελιά αναπτύσσεται βέλτιστα είναι περίπου 40-65%. Αν η υγρασία υπερβεί το 80%, τότε υπάρχει κίνδυνος να παρουσιαστούν προβλήματα, όπως πτώση των λουλουδιών και των καρπών ή προσβολή από επιβλαβή έντομα και μύκητες. (Κυριτσάκης, 2007). Επιπλέον, και το χαλάζι ευνοεί την ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων. Εκτός αυτού, μπορεί να τραυματίσει το δέντρο και να καταστρέψει τους καρπούς, καθώς και σε πιο ακραίες περιπτώσεις, το χιόνι προκαλεί σπάσιμο των κλαδιών, ιδιαιτέρως αν φέρουν μεγάλο φορτίο. Είναι σημαντικό να σημειωθεί επίσης η σπουδαιότητα του φωτός στην ωρίμανση του ελαιόκαρπου. Όσο περισσότερο φως λαμβάνει τόσο πιο γρήγορα ωριμάζει ο καρπός και φέρει μεγαλύτερη ποσότητα ελαιολάδου, το οποίο είναι πιο ποιοτικό, λόγω των αρωματικών συστατικών που δημιουργούνται.

### *1.4.3. Έδαφος*

Τα ελαιόδεντρα μπορούν να αναπτυχθούν σε πλήθος εδαφών, από τα άγονα και ξηρά, μέχρι τα πλέον γόνιμα. Ιδανικά ευδοκιμούν σε αμμώδη, καλά στραγγιζόμενα εδάφη, με μεγάλη

περιεκτικότητα σε άζωτο, κάλιο και φώσφορο, τα οποία δεν αποθηκεύουν μεγάλες ποσότητες νερού για μεγάλα χρονικά διαστήματα (Haifa, 2020). Όσο πιο υγρά και αργιλώδη είναι, τόσο μειώνεται η ποιότητα και η ποσότητα του ελαιολάδου, και η ελιά δεν μπορεί να απορροφήσει το κάλιο και το φώσφορο. Ακόμα, δεν επηρεάζονται ιδιαίτερα από την περιεκτικότητα του εδάφους σε βόριο, αλλά όσον αφορά το χλωριούχο νάτριο, η περιεκτικότητα του πρέπει να είναι μικρότερη από 1g/L. Τέλος, όσον αφορά την οξύτητα, προτιμούν μέτρια όξινα με μέτρια αλκαλικά εδάφη, με βέλτιστο pH 6.5-8.5 (Therios, 2009). Αν το pH είναι υψηλότερο από 8.5, η ελιά παρουσιάζει αδύνατη βλάστηση.

## 1.5. Ποικιλίες ελιάς

### 1.5.1. Η Ελιά παγκοσμίως

Η καλλιεργούμενη ελιά ονομάζεται επιστημονικά *Olea europaea* και ανήκει στο γένος *Olea* και στην οικογένεια των ελαϊδών (*Oleaceae*) (Κυριτσάκης, 2007). Στην οικογένεια αυτή συμπεριλαμβάνονται περίπου 30 είδη, από τα οποία τα περισσότερα είναι καλλωπιστικά, όπως το γιασεμί, η πασχαλιά, η μελιά και η αγριομυρτιά. Η *Olea europaea* L. είναι το μόνο είδος που δίνει φαγώσιμους καρπούς και αποτελείται από 46 χρωμοσώματα. Ωστόσο, το είδος αυτό φαίνεται να έχει προέρθει από υβριδισμό και μετάλλαξη, και μέρος σε αυτό έχουν αποτελέσει τα τροπικά και υποτροπικά Αφροασιατικά είδη *O. chrysophilla* και *O. excelsa*. Τα *O. oleaster* και *O. sativa* είναι τα βασικά είδη ελιάς που κυριαρχούν στην Μεσόγειο (Therios, 2009).

Οι ποικιλίες ελιάς που επικρατούν στη σημερινή εποχή έχουν προέρθει από την αγριελιά. Από αυτή προκύπτουν 600 περίπου ποικιλίες, οι οποίες δεν μπορούν να ταξινομηθούν εύκολα, δεδομένου ότι η ίδια ποικιλία μπορεί να έχει διαφορετική ονομασία σε διαφορετικές περιοχές. Εν τούτοις, υπάρχουν κάποια κριτήρια με βάση των οποίων γίνεται η βασική ταξινόμηση των καλλιεργειών της ελιάς, όπου είναι τα ακόλουθα (Therios, 2009):

- Ύψος του δέντρου.
- Χαρακτηριστικά φύλλων και ταξιανθίας.
- Χαρακτηριστικά καρπών (σχήμα, χρώμα, μέγεθος, ποσοστά σάρκας και πυρήνα, αναλογία σάρκας: πυρήνα, σχήμα πυρήνα και σπόρου, ποσοστό ελαίου).
- Πρόωρη ανάπτυξη και παραγωγικότητα.
- Αντοχή σε παράσιτα και ασθένειες.
- Προσαρμογή στο έδαφος και στις κλιματολογικές συνθήκες.
- Χρήση δεικτών DNA για διαχωρισμό ποικιλιών.

Σύμφωνα με αυτά προκύπτουν και οι βασικότερες κατηγορίες, οι οποίες διατεταγμένες αλφαβητικά είναι (Therios, 2009 & Haifa, 2020):

- Αμφίσσης, επιτραπέζια ελιά κατηγορίας ΠΟΠ, που καλλιεργείται στην Αμφίσσα, στην Στερεά Ελλάδα και διατίθεται και για εξαγωγή ελαιολάδου
- Arbequina, μικρή, καφέ ελιά που καλλιεργείται στο Aragon και την Catalonia, στην Ισπανία και είναι κατάλληλη για βρώση και για εξαγωγή ελαιολάδου
- Ascolano, πολύ μεγάλοι, ανοιχτόχρωμοι καρποί, που δεν βγάζουν πολύ πικρία. Το δέντρο προσαρμόζεται εύκολα και μπορεί να σηκώσει μεγάλο βάρος
- Barouni, προέρχεται από την Τυνησία και φέρει μεγάλο καρπό. Τα δέντρα εξαπλώνονται, αντέχουν σε υψηλές θερμοκρασίες και είναι εύκολα στην συγκομιδή
- Barnea, σύγχρονη ποικιλία διπλής χρήσης, που καλλιεργείται ευρέως στο Ισραήλ, αλλά και στο νότιο ημισφαίριο, συγκεκριμένα στην Αυστραλία και την Νέα Ζηλανδία
- Bosana, η πιο κοινή ελιά στην Σαρδηνία, με κύρια χρήση την παραγωγή ελαίου
- Chemléli Sfax, από την οποία παράγεται φρουτώδες έλαιο, με υψηλή περιεκτικότητα σε στερόλες. Καλλιεργείται στην Τυνησία και είναι παραγωγική και ανθεκτική σε ξηρές συνθήκες
- Chetoui, η δεύτερη πιο διαδεδομένη ελιά στην Τυνησία, που δίνει ένα φρουτώδες έλαιο με πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις, που συνεπάγεται σταθερότητα έναντι της οξειδωσης.
- Cornicabra, χρησιμοποιείται κυρίως για ελαιοπαραγωγή, προέρχεται από το Toledo, στην Ισπανία και αποτελεί το 12% της ισπανικής παραγωγής.
- Empeltre, μαύρη ελιά, διπλής χρήσης, που καλλιεργείται στο Pedrola και το Aragon, στην Ισπανία.
- Frantoio και Leccino, προέρχονται από την Τοσκάνη και αποτελούν τις κύριες ποικιλίες για την παραγωγή των ιταλικών ελαιολάδων.
- Gemlik, μικρή, μαύρη ελιά με υψηλή περιεκτικότητα σε έλαιο, από την ομώνυμη περιοχή της Τουρκίας, Gemlik.
- Gordal, ισπανική ελιά που παράγει μεσαίου προς μεγάλου μεγέθους καρπούς
- Hojiblanca, προέρχεται από την Cordoba, της Ισπανίας και το λάδι της είναι γνωστό για την ελάχιστη πικρή του γεύση
- Καλαμάτας, επιτραπέζια ελιά κατηγορίας ΠΟΠ, που χρησιμοποιείται και για την παραγωγή ελαιολάδου. Προήλθε από την ομώνυμη περιοχή, Καλαμάτα, στην Πελοπόννησο, αλλά πλέον καλλιεργείται παγκοσμίως και προσαρμόζεται εύκολα σε ζεστές, αλλά και σε κρύες περιοχές.
- Κορωνέικη, μικρή ελιά από την οποία προκύπτει μεγάλη ποσότητα ελαίου εξαιρετικής ποιότητας. Προέρχεται από την νότια Πελοπόννησο, αλλά πλέον αποτελεί μια από τις κύριες ποικιλίες ελιάς που καλλιεργείται σε όλη την Ελλάδα και επεκτείνεται σε όλο



- τον κόσμο. Το ποσοστό ελαίου που παράγει είναι 27%, και είναι ευαίσθητη στο κρύο, καθώς και σε διάφορους μικροοργανισμούς.
- Lucques, πράσινη, μεγάλη ελιά, που βρίσκεται στα νότια της Γαλλίας
  - Maalot, στρογγυλή ελιά, ανατολικής Μεσογειακής ποικιλίας που προέρχεται από την βορειοαφρικάνικη ποικιλία Chemlali. Είναι ανθεκτική στις ασθένειες και χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο για την παραγωγή ελαιολάδου.
  - Manzanillo, στρογγυλή ελιά, που κατάγεται από το Dos Hermanas, στην Seville, στην Ισπανία. Θεωρείται η καλύτερη ποικιλία για την παραγωγή ελιών διπλής χρήσης και επιτραπέζιων ελιών παγκοσμίως.
  - Mission, ποικιλία διπλής χρήσης, που ξεκίνησε από τα Missions της California και τώρα καλλιεργείται σε όλη την όλη πολιτεία, αλλά και σε άλλες χώρες παγκοσμίως. Έχει υψηλή ανθεκτικότητα στο κρύο, μέτρια στην ξηρασία και χρησιμοποιείται ευρέως για την παραγωγή ελαιολάδου με ψυχρή πίεση.
  - Nabali, γνωστή και ως Baladi, μια παλαιστινιακή ποικιλία που θεωρείται ότι παράγει ένα από τα υψηλότερης ποιότητας ελαιόλαδο στον κόσμο.
  - Picholine, πρόκειται για δέντρο μεσαίου μεγέθους, το οποίο σηκώνει μεγάλο βάρος. Καλλιεργείται κυρίως στα νότια της Γαλλίας
  - Picual, προέρχεται από το Jaen της Ισπανίας και αποτελεί την πιο ευρέως καλλιεργημένη ελιάς στην Ισπανία, φτάνοντας στο 50% της παραγωγής και το 20% της παγκόσμιας παραγωγής. Χρησιμοποιείται ευρέως ως επιτραπέζια ελιά, και το ελαιόλαδο που προκύπτει είναι το πιο πλούσιο σε ελαϊκό οξύ και βιταμίνη E.
  - Rubra, προέρχεται από την Γαλλία και είναι πλέον κατάλληλο για εξαγωγή ελαιολάδου. Το δέντρο είναι μεγάλο, ανθεκτικό, και ευδοκμεί ακόμη και σε ξηροθερμικές περιοχές.
  - Sevillano, πολύ μεγάλος καρπός, με χαμηλή περιεκτικότητα σε λάδι. Το δέντρο είναι δυνατό και απαιτεί πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά έδαφος και καλά στραγγιζόμενο.
  - Souri, έχει υψηλή απόδοση σε λάδι, καλλιεργείται στον Λίβανο, συγκεκριμένα στην Sur (Tyre) και είναι διαδεδομένη στο Levant.

### 1.5.2. Ελληνικά είδη

Στην Ελλάδα, επιπλέον σημαντικά είδη είναι (Therios, 2009 & Haifa, 2020):

- Γαϊδουρολιά (*Olea europaea* var. *major macrocarpa*)  
Καλλιεργείται αποκλειστικά στην Χαλκιδική, για αυτό τον λόγο ονομάζεται αλλιώς ελιά Χαλκιδικής. Το δέντρο έχει ύψος 5-6 m, ανοιχτά πράσινα φύλλα και μεγάλους καρπούς, που φτάνουν περίπου τα 14g. Η αναλογία σάρκας/πυρήνα είναι 9.7:1 και η ελαιοπεριεκτικότητα φτάνει το 17%. Η ελιά που προκύπτει είναι επιτραπέζια.

- Κονσερβολιά (*Olea europaea* var. *med. rotunda*)  
Αποτελεί την πιο διαδεδομένη ποικιλία επιτραπέζιας ελιάς στην Ελλάδα, καθώς το 80% των επιτραπέζιων ελιών ανήκει σε αυτή την κατηγορία. Το δέντρο έχει ύψος 6-8m, είναι αυτο-καρποφόρο και παράγει μεσαίου μεγέθους καρπούς, 6.5g. Η αναλογία σάρκας/πυρήνα είναι 8.28:1. Προτιμά εδάφη κανονικά ή γόνιμα, μπορεί να καλλιεργηθεί σε υψόμετρο έως 600 m και είναι ευαίσθητο στις χαμηλές θερμοκρασίες και τη μόλυνση από δάκο.
- Κοθρέικη - Μανάκι (*Olea europaea* var. *minor rotunda*)  
Είναι ποικιλία διπλής χρήσης και καλλιεργείται στην κεντρική Ελλάδα και την Πελοπόννησο. Τα φύλλα του δέντρου είναι πλατιά και οι καρποί σφαιρικοί, βάρους 3g, με αναλογία σάρκας/πυρήνα είναι 4.7:1. Είναι ανθεκτικό στο κρύο και μπορεί να καλλιεργηθεί σε υψόμετρο έως 800m.
- Μεγαρίτικη (*Olea europaea* var. *argentata*)  
Πρόκειται για μια ελληνική ποικιλία, διπλής χρήσης, που καλλιεργείται κυρίως στα Μέγαρα και σε κάποια μέρη της Πελοποννήσου. Ο καρπός της έχει μέσος βάρος 3.5-4.5g και εμφανίζει κάποια χαρακτηριστικά γκρι σημάδια στην επιδερμίδα του κατά την ωρίμανση. Η αναλογία σάρκας/πυρήνα είναι 9:1 και η ελαιοπεριεκτικότητα φτάνει το 22-25%. Το δέντρο έχει υψηλή ανθεκτικότητα στην ξηρασία και μέτρια στο κρύο και απαιτεί επικονίαση, καθώς είναι εν μέρει μη-καρποφόρο.
- Θρούμπα (*Olea europaea* var. *media oblonga*)  
Καλλιεργείται στην Αττική, τα νησιά του Αιγαίου και την Κρήτη. Είναι ποικιλία διπλής χρήσης και έχει την ιδιότητα να ξεπικρίζει στο δέντρο, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης της.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### ΦΥΛΛΑ ΕΛΙΑΣ

#### 2.1. Ορισμός

Ως “φύλλα ελιάς” ορίζεται ένα μείγμα από φύλλα και κλαδιά που λαμβάνονται από το κλάδεμα των δέντρων, καθώς και από τη συγκομιδή και τον καθαρισμό των ελιών (E & D.R., 2008). Τα περισσότερα από τα φύλλα που μαζεύονται κατά αυτές τις διεργασίες καίγονται ή πετάγονται και είναι λίγα αυτά που διατίθενται για αξιοποίηση.

Τα τελευταία χρόνια πολλοί επιστήμονες έχουν στραφεί στην έρευνα των ευεργετικών ιδιοτήτων των φύλλων της ελιάς. Η πλούσια περιεκτικότητά τους σε φαινολικές ενώσεις και παράγωγα έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να συμβάλει στην καταπολέμηση πλήθους ασθενειών, παράλληλα έχοντας πολύ ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Για τους παραπάνω λόγους, αποτελεί ένα παραπροϊόν της ελαιοκαλλιέργειας που αποτελεί βιοδιαθέσιμη πηγή με αρκετά χαμηλό κόστος, μέσω της οποίας μπορούν να παραχθούν προϊόντα υψηλής προστιθέμενης αξίας.

Ιδιαίτερη προσοχή έχει επιταθεί πάνω στο εκχύλισμα που προκύπτει από τα φύλλα της ελιάς, και στις αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές του ιδιότητες. Το εκχύλισμα φύλλων ελιάς (OLE) είναι ένα σκούρο καφέ υγρό με πικρή γεύση που προέρχεται από τα φύλλα της ελιάς (*Olea europaea* L., Oleaceae) (Sudjana et al., 2009).

#### 2.2. Χημική σύσταση

Πολλοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την χημική σύσταση των φύλλων της ελιάς. Ανάλογα με τις διαφορετικές συνθήκες μεταβάλλεται και η περιεκτικότητά των διαφόρων συστατικών που περιέχει. Οι παράγοντες αυτοί μπορεί να εξαρτώνται άμεσα από το δέντρο, όπως η προέλευση του, η αναλογία των κλαδιών του σε σχέση με τα φύλλα, η ηλικία του και η χρονική περίοδος συλλογής των φύλλων. Ο βιολογικός κύκλος της ελιάς μπορεί να προκαλέσει ποσοτικές και ποιοτικές αλλαγές στις φαινολικές ενώσεις των φύλλων (Brahmi et al., 2013). Επιπλέον, την επηρεάζουν οι κλιματολογικές συνθήκες, η υγρασία και ο βαθμός μόλυνσης από λιπάσματα (Özcan et al., 2017).

**Πίνακας 2.** Κύρια συστατικά φύλλων ελιάς από κλάδεμα (Κατικαρίδου, 2017)

Συστατικά	Περιεκτικότητα (g/100g ξ.β.)
Οργανική Ύλη	76,4 – 92,7
Πρωτεΐνες	6,31 – 10,9
Λίπη	2,28 – 9,57
Ολικό άζωτο <sup>1</sup>	35,2 – 49,2
Ολικές πολυφαινόλες	0,14 – 4,3
Εδώδιμες ίνες	34,9 – 41,3
Λιγνίνες	14,1 – 21,1
Τανίνες	0,669 – 1,11

**Πίνακας 3.** Δευτερεύοντα συστατικά φύλλων ελιάς (Cruess et al., 1934)

Κατηγορία	Συστατικά
Βιταμίνες	Ρετινόλη (A), Θειαμίνη (B1), Ριβοφλαβίνη (B2), Νιασίνη (B3), Πυριδοξίνη (B6), Ασκορβικό οξύ (C), Τοκοφερόλη (E)
Αντιοξειδωτικά	Ελαιοευρωπαϊνή, Υδροξυτυροσόλη, Ρουτίνη, Λουτεΐνη, Απιγενίνη
Μέταλλα και Ιχνοστοιχεία	Ασβέστιο (Ca), Νάτριο (Na), Μαγνήσιο (Mg), Σίδηρος (Fe), Χρώμιο (Cr), Ψευδάργυρος (Zn)

### 2.2.1. Φαινολικές Ενώσεις

Το φύλλο της ελιάς είναι πηγή πολλών φαινολικών ενώσεων. Οι πολυφαινόλες αυτές που εμφανίζονται στα φύλλα είναι αποτέλεσμα του μηχανισμού άμυνας του δέντρου έναντι στην προσβολή από παθογόνους μικροοργανισμούς ή έντομα (Sedef et al., 2009). Είναι πολύ ευαίσθητες στη θερμότητα και το φως, παρουσιάζουν χαμηλή διαλυτότητα στο νερό, υψηλό ρυθμό μεταβολισμού και ταχεία αποβολή από το σώμα, άρα κατά συνέπεια δεν είναι σταθερές (Neda et al., 2015). Συνήθως, προσδιορίζονται με χρωματογραφικές τεχνικές, όπως η αέρια χρωματογραφία (GC) και η υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC).

Συγκεκριμένα, οι κυριότερες κατηγορίες από αυτές είναι (Özcan et al., 2017):

- Oleuropeosides (ελαιοευρωπαϊνή και verbascoside)

<sup>1</sup> g/100g TN (Total Nitrogen – Ολικό άζωτο), το εμπεριεχόμενο άζωτο στα κυτταρικά τοιχώματα των φύλλων

- Φλαβόνες (λουτεολίνη-7-γλυκοσίδη, απιγενίνη-7-γλυκοσίδη, διοσμετίνη-7-γλυκοσίδη, λουτεολίνη και διοσμετίνη),
- Φλαβονόλες (ρουτίνη),
- Φλαβαν-3-όλες (κατεχίνη)
- Υποκατεστημένες φαινόλες (τυροσόλη, υδροξυτυροσόλη, βανιλίνη, βανιλικό οξύ και καφεϊκό οξύ).

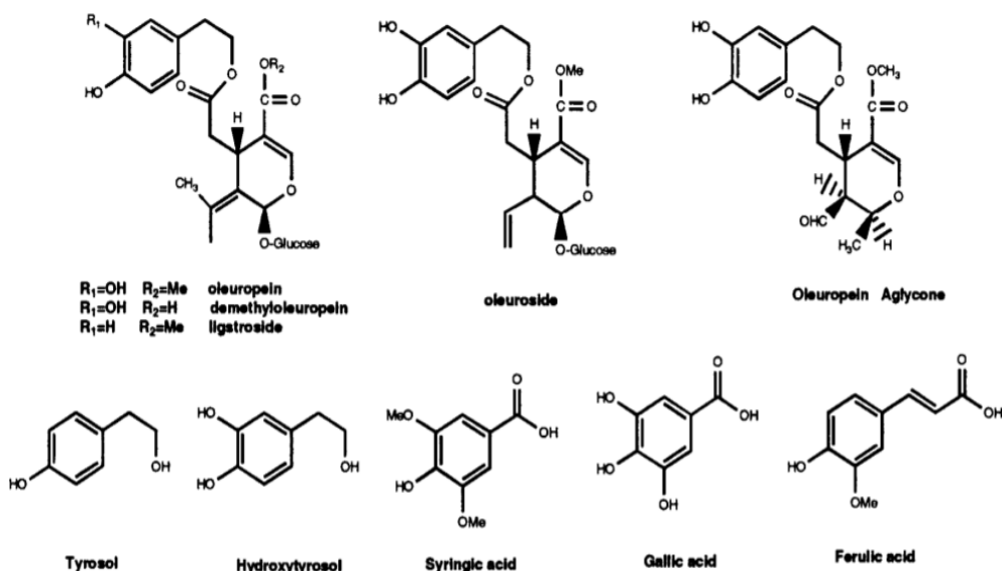
Μια υποκατηγορία των φαινολικών ενώσεων είναι τα γλυκοσίδια. Τα γλυκοσίδια είναι ουσίες που όταν υδρολύονται με ένζυμα, διαλύματα οξέων ή αλκαλίων, ή με βράσιμο αποσυντίθενται σε ένα μη σακχαρώδες μέρος και σε ένα ή περισσότερα σάκχαρα. Το μη σακχαρώδες μέρος είναι υπεύθυνο για τη φαρμακευτική του δράση, ενώ το σακχαρώδες μέρος βοηθάει στην απορρόφηση του από το σώμα, επηρεάζοντας την διαλυτότητα του στο νερό (Fluck, 1990). Στην κατηγορία των γλυκοσιδίων ανήκουν και τα φλαβονοειδή.

Τα φλαβονοειδή είναι μια ομάδα άχρωμων γλυκοσιδίων τα οποία αποτελούνται από δύο αρωματικούς δακτυλίους, που συνδέονται μέσω τριών ανθράκων, και συνήθως σχηματίζουν έναν οξυγονωμένο ετερόκυκλο (Škerget, 2005). Αναστέλλουν ή σκοτώνουν πολλά βακτηριακά στελέχη, αναστέλλουν σημαντικά ιικά ένζυμα, όπως η αντίστροφη τρανσκριπτάση και πρωτεάση, και καταστρέφουν ορισμένα παθογόνα πρωτόζωα (Havsteen, 2002). Υπάρχουν στη μορφή αγλυκόνης (κουερσετίνη, απιγενίνη, λουτεολίνη, διοσμετίνη) ή σε γλυκοσυλιωμένη μορφή (κουερσετίνη-7-O-ρουτινοσίδη, λουτεολίνη-7-O-ρουτινοσίδη, λουτεολίνη-7-O-γλυκοσίδη, λουτεολίνη-5-O-γλυκοζίτη) (Talhaoui, 2015). Ανάλογα με τη δομή του πυρανικού δακτυλίου τους υποδιαιρούνται σε φλαβόνες, φλαβονόλες, φλαβανόνες, ισοφλαβόνες, κατεχίνες και ανθοκυανίνες (Κυριτσάκης, 2007).

Τα φύλλα και τα μπουμπούκια της ελιάς περιέχουν φλαβονοειδή όπως η κουερσετίνη, η καμπεφερόλη και η εσπεριτίνη (Therios, 2009). Η συνολική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες και η συνολική περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή, των φύλλων της ελιάς, προσδιορίστηκαν σε 2,058 mg GAE (ισοδύναμο γαλλικού οξέος) ανά 100 g και 858 mg CTE (ισοδύναμο κατεχίνης) ανά 100 g, αντίστοιχα. Παρόμοιες τιμές έχει η φλούδα των κόκκινων σταφυλιών (Sedef et al., 2009).

Εκατοντάδες χρόνια, χρησιμοποιούνται τα φλαβονοειδή με τη μορφή εκχυλισμάτων για τη θεραπεία διάφορων παθήσεων. Πέρα από την παρουσία τους σε πολλά βότανα, έχει αναγνωριστεί η παρουσία τους σε πλήθος φρούτων και η συνεργιστική τους δράση με τη βιταμίνη C, καθώς έχουν την δυνατότητα να επαναφέρουν την οξειδωμένη βιταμίνη C στην ενεργό αντιοξειδωτική της μορφή (Μανουσάκη & Τζωτζέ, 2015).

Μία άλλη κατηγορία ενώσεων που ανήκει στα φλαβονοειδή είναι τα σεκοϊρικοειδή. Τα σεκοϊριδοειδή είναι μια υποκατηγορία ιριδοειδών. Εκείνα που προέρχονται από τη διάσπαση του δακτυλίου κυκλοπεντανίου στον δεσμό 7,8 που περιέχει φαινόλη, περιορίζονται στην οικογένεια Oleaceae και αποτελούν την κύρια οικογένεια ενώσεων που εμφανίζονται σε φύλλα ελιάς. Από αυτά, η κυριότερη ένωση είναι η ελαιοευρωπαϊνή.



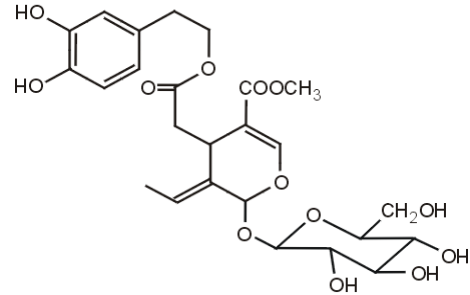
**Εικόνα 2.** Χημικές δομές φαινολικών ενώσεων σε εκχύλισμα φύλλων ελιάς (Briante et al, 2002)

Οι βασικές φαινολικές ενώσεις στα φύλλα της ελιάς είναι η ελαιοευρωπαϊνή, ακολουθούμενη από την υδροξυτυροσόλη, τις φλαβονο-7-γλυκοζίτες λουτεολίνης, απιγενίνης και το verbascoside (Özcan et al., 2017). Επιπλέον, στο εκχύλισμά τους έχουν απομονωθεί και άλλοι 3,4-διυδροξυφαινυλεστέρες και γλυκοσίδια φλαβονοειδών, κυρίως της ρουτίνης και λουτεολίνης (Iama, 2021). Σύμφωνα με τους Somona et al. (2003) εκχυλίσματα φύλλων *Olea europaea* απέδωσαν, επιπλέον τετρακυκλικά και πεντακυκλικά τριτερπένια, στερόλες, ερυθροδιόλη, υβαόλη και ελαιολικό οξύ. Πιο συγκεκριμένα, στο εκχύλισμα των αφρικανικών φύλλων ελιάς το κύριο συστατικό ήταν ένα μείγμα ελαϊνολικού οξέος 1: 1 και του ισομερούς του, ουρσολικού οξέος. Αυτοί οι ερευνητές διαπίστωσαν, επίσης, ότι τα ελληνικά και ευρωπαϊκά φύλλα ελιάς περιείχαν 0,71 και 2,47% ελαϊνολικό οξύ αντίστοιχα. Το ουρσολικό οξύ δεν προσδιορίστηκε σε εκχυλίσματα ελληνικών και ευρωπαϊκών φύλλων ελιάς (Somona et al., 2003). Ακόμα, σύμφωνα με μια άλλη έρευνα, τα υδατικά εκχυλίσματα περιέχουν υψηλότερες ποσότητες φαινολικών ενώσεων και κύρια ένωση την ελαιοευρωπαϊνή, σε αντίθεση με τα υδρομεθανολικά εκχυλίσματα των ίδιων ποικιλιών που έχουν μικρότερες ποσότητες φαινολικών και οι κύριες ενώσεις τους είναι τα φλαβονοειδή (Sedef et al., 2009). Το μεγαλύτερο ποσοστό των ενώσεων αυτών βρίσκεται μέσα στο τρίχωμα των φύλλων. Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί ότι στο τρίχωμα των φύλλων το μέρος των διαλυτών φαινολικών ενώσεων μπορεί να φτάσει έως 70% (Liakopoulos et al., 2006). Σύμφωνα με τους Ryan et al. (2002), μέσα στο τρίχωμα των φύλλων της ελιάς εμπεριέχονται φλαβονοειδή, όπως λουτεολίνη, απιγενίνη και κουερσετίνη, στις γλυκοζιδικές και αγλυκονικές μορφές τους, τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία του φύλλου από την ακτινοβολία UV-B. Μάλιστα, φαίνεται ότι ο αριθμός των τριχών, η ικανότητα απορρόφησης ακτινοβολίας UV-B

και το φαινολικό περιεχόμενο των τριχών των φύλλων μειώνονται με την αύξηση της ηλικίας των φύλλων. Σε νεαρά φύλλα τα φλαβονοειδή αποτελούν το 40% της ξηρής μάζας, ενώ σε ώριμα φύλλα περίπου το 10% (Liakopoulos et al., 2006).

### 2.2.2. Ελαιοευρωπαϊνή

Η ελαιοευρωπαϊνή είναι ένα γλυκοσίδιο του ελενολικού οξέος που έχει εστεροποιηθεί με υδροξυτυροσόλη (Ruíz-Gutiérrez et al., 1995). Ανακαλύφθηκε το 1908 από τον Bourquelot και τον Vintileso (Bourquelot & Vintileso, 1908) και απομονώθηκε από το εκχύλισμα των φύλλων της ελιάς το 1957, αναφέροντας ότι εμφάνιζε πολύ ισχυρές αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, καθώς επίσης και ότι θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά για τη



Εικόνα 3. Χημική δομή ελαιοευρωπαϊνης (Ελαιοευρωπαϊνή, 2021)

μείωση της αρτηριακής πίεσης, την πρόληψη των εντερικών σπασμών, την ανακούφιση της αρρυθμίας και την αύξηση της ροής του αίματος στις στεφανιαίες αρτηρίες (Thevios, 2009). Ωστόσο, υπάρχουν αναφορές που τονίζουν ότι η απορρόφηση της είναι δύσκολη, λόγω του μεγάλου μεγέθους της και της επίπεδης διαμόρφωσης της (Sedef et al., 2009). Είναι μια πολική ένωση και σε αυτή οφείλεται η πικρή γεύση και το χρώμα των ώριμων καρπών την ελιάς. Επιπλέον, ανάγει το φελλίγγειο υγρό και με αλκαλική υδρόλυση παράγει καφεϊκό οξύ και ένα αριστερόστροφο σύμπλοκο, απαλλαγμένο από την πικρή γεύση (Αναγνωστοπούλου & Ταλέλη, 2008). Χάρη σε αυτή το δέντρο διατηρεί υψηλή αντοχή απέναντι σε ασθένειες. Εντοπίζεται στα φύλλα και στους καρπούς της ελιάς, σε ποσότητες 20-100 mg/g ξηρού εκχυλίσματος (Ruíz-Gutiérrez et al., 1995). Ωστόσο, το φύλλο της ελιάς φέρει τη μεγαλύτερη ποσότητα ελαιοευρωπαϊνης από όλα τα υπόλοιπα παράγωγα της, η οποία κυμαίνεται από 1% μέχρι 14%. Αντίστοιχα η περιεχόμενη ελαιοευρωπαϊνή στο ελαιόλαδο κυμαίνεται μεταξύ 0,005% και 0,12% και στην πούλπα της ελιάς φτάνει έως το 0,87% (Sedef et al., 2009). Σύμφωνα με έρευνες, η περιεκτικότητα της ελαιοευρωπαϊνης στο φύλλο της ελιάς, μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας, για αυτό το λόγο χρησιμοποιείται πολλές φορές ως δείκτης ωρίμανσης (Ryan et al., 2002) Σε άλλες έρευνες αναφέρεται ότι η μείωση της συγκέντρωσης της ελαιοευρωπαϊνης με ταυτόχρονη αύξηση της συγκέντρωσης της υδροξυτυροσόλης μπορεί να οφείλεται σε χημικές και ενζυμικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την επεξεργασία του φυτικού υλικού (Özcan et al., 2017).

### 2.2.3 Υδροξυτυροσόλη και Verbascoside

Το δεύτερο σημαντικότερο στοιχείο που περιέχεται στα φύλλα της ελιάς είναι η υδροξυτυροσόλη. Η υδροξυτυροσόλη, ή αλλιώς 3,4-διυδροξυφαινυλαιθανόλη, είναι ένα από τα υδροξυαρωματικά συστατικά των σεκοϊριδοειδών και είναι ένα προϊόν αποικοδόμησης της ελαιουρωπαϊνής. Στο εκχύλισμα φύλλων ελιάς, η ποσότητα υδροξυτυροσόλης είναι 0,2g/100 g φρέσκων φύλλων ελιάς, ενώ η απόδοση υδροξυτυροσόλης ήταν περίπου 33,3% (w/w) σε φυσικές ολικές φαινόλες (De Leonardis et al., 2008)

Το verbascoside είναι ένας συζευγμένος γλυκοζίτης υδροξυτυροσόλης και καφεϊκού οξέος (Liu et al., 2017).

#### *2.2.4. Ελενολικό Ασβέστιο και Μαννιτόλη*

Στα τέλη της δεκαετίας του '60 απομονώθηκε μια ένωση, ονόματι ελενολικό ασβέστιο, το οποίο είναι η κρυσταλλική μορφή του άλατος του ελενολικού οξέος. Πρόκειται για μια ένωση με ισχυρή αντιμικροβιακή δράση, καθώς σκοτώνει τον ιό, χωρίς να επηρεάζει τα υγιή κύτταρα, παρεμβαίνοντας στη διαδικασία παραγωγής ορισμένων αμινοξέων, εμποδίζοντας τη συγκέντρωσή του στην κυτταρική μεμβράνη και συνεπώς τη διείσδυση μολυσμένων κυττάρων ξενιστών, και επιπλέον αναστέλλοντας την αντιγραφή του. Παράλληλα, στους ρετροϊούς, το ελενολικό ασβέστιο εξουδετερώνει την παραγωγή των πρωτεολυτικών ενζύμων της αντίστροφης τρανσκριπτάσης (RT) και της πρωτεάσης, τα οποία στους ρετροϊούς (π.χ. HIV) μεταβάλλουν το RNA των υγιών κυττάρων (Therios, 2009).

Τα φύλλα της ελιάς περιέχουν μια σημαντική ποσότητα μαννιτόλης και γλυκόζης, φτάνοντας μέχρι και το 30,8% (Neda et al., 2015). Η μαννιτόλη είναι μια φυσική πολυαλκοόλη, με σχετική γλυκύτητα 40-50% σε σύγκριση με τη σακχαρόζη, και η ποσότητα της στα φύλλα διαφέρει από εποχή σε εποχή (Drossopoulos & Niavis, 1988).

#### *2.2.5. Ανόργανα στοιχεία*

Υπάρχει μια ξεκάθαρη αλληλεπίδραση ανάμεσα στη συγκέντρωση των ανόργανων συστατικών στα φύλλα της ελιάς και στο έδαφος και την περιβάλλουσα ατμόσφαιρα. Για αυτό το λόγο μια μέθοδος εξέτασης της γονιμότητας του εδάφους, καθώς και της θρεπτικής κατάστασης του δέντρου είναι η ανάλυση των ανόργανων αυτών συστατικών. Πάραυτα, πρακτικά, δεν θεωρείται απόλυτα έγκυρη, διότι δεν υπάρχουν ακριβή στοιχεία για την κατάλληλη περίοδο δειγματοληψίας (Chatzistathis et al., 2010). Έχει παρατηρηθεί, επίσης, ότι η ηλικία των φύλλων παίζει καθοριστικό ρόλο στην συγκέντρωση των ανόργανων στοιχείων. Φύλλα νεαρής ηλικίας παρουσιάζουν μεγαλύτερο ποσοστό σε N, P, K, Zn, B, ενώ όσο αυξάνεται η ηλικία τους εμφανίζουν μεγαλύτερο ποσοστό σε Ca, Mg, Mn, Cu και Fe (Fernández-Escobar et al., 1999). Αντίθετα, ο τύπος του εδάφους δεν επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τη σύσταση, φαίνεται όμως τα αμμώδη και λασπώδη εδάφη με επάρκεια σε N, P, K και νερό να φέρουν καλύτερο ανόργανο περιεχόμενο φύλλων.



**Πίνακας 4.** Περιεκτικότητα φύλλων ελιάς σε ανόργανα στοιχεία (Κατκαρίδου, 2017)

Ανόργανο στοιχείο	Εύρος συγκεντρώσεων
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 – 90 μg/g ξηρής ουσίας
Pb	1 – 5,8 μg/g ξηρής ουσίας

### 2.3. Βιολογική δράση

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, τα φύλλα της ελιάς αποτελούν πηγή πολλών φαινολικών και διάφορων άλλων ουσιών με βιοδραστικά συστατικά, μεταξύ αυτών και οι βιοφαινόλες.

Οι βιοφαινόλες είναι φυσικά μόρια που παρουσιάζουν κάποια ευεργετική επίδραση στον οργανισμό μετά από καθημερινή κατανάλωση (Ho, 1992).

Χάρη στα παραπάνω στοιχεία μπορούν να έχουν μια πληθώρα ευεργετικών δράσεων που με την πάροδο των χρόνων εξετάζεται όλο και περισσότερο. Τις τελευταίες δεκαετίες, γίνονται πολλές έρευνες όσον αφορά την αντιμικροβιακή και την αντιοξειδωτική δράση την οποία έχουν, με σκοπό να γίνει χρήση τους στον τομέα της συντήρησης και επεξεργασίας τροφίμων, της φαρμακευτικής, αλλά και της κοσμετολογίας.

#### 2.3.1. Αντιοξειδωτική ικανότητα φύλλων ελιάς

Τα αντιοξειδωτικά είναι ενώσεις που μπορούν να επιβραδύνουν ή να παρεμποδίσουν την οξείδωση των λιπών και των ελαίων και τις μεταβολές του χρώματος των τροφίμων, αναστέλλοντας τις αντιδράσεις έναρξης και διάδοσης της αυτοοξείδωσης (Κυριτσάκης, 2007). Δρουν δεσμεύοντας τις ελεύθερες ρίζες, τα μέταλλα και το μοριακό οξυγόνο.

Κατατάσσονται σε δύο κατηγορίες, τα φυσικά και τα χημικά συνθετικά, και ανάλογα με τον τρόπο δράση τους χωρίζονται σε πρωτοταγή (κύρια) ή δευτεροταγή (συνεργιστικά). Τα τέσσερα κυριότερα συνθετικά πρόσθετα που χρησιμοποιούνται στον τομέα των τροφίμων είναι η βουτυλο-υδροξυ-ανισόλη (BHA), το βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (BHT), ο γαλλικός προπυλεστέρας και η τριτοταγής βουτυλοϋδροκινόνη (TBHQ) (Σφλώμος, 2018).

Τα φυσικά αντιοξειδωτικά προέρχονται από φυτά με αντιοξειδωτικές δράσεις. Πολλοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την περιεκτικότητα του φυτού σε αντιοξειδωτικές ουσίες,

την αποτελεσματικότητα των ουσιών αυτών, καθώς και την τελική περιεκτικότητα που έχει το εκχύλισμα. Οι κυριότεροι από αυτούς είναι το είδος του φυτού, οι περιβαλλοντολογικές συνθήκες, ο τρόπος επεξεργασίας τους, οι συνθήκες εκχύλισης και η πολικότητα του διαλύτη που χρησιμοποιείται (Κυριτσάκης, 2007). Στην περίπτωση των φύλλων της ελιάς, το φυτικό υλικό μπορεί να συλλεχθεί ανά πάσα στιγμή κατά τη διάρκεια του χρόνου και να προσδώσει εκχύλισμα πλούσιο σε αντιοξειδωτικές ενώσεις. Γενικώς, τα εκχυλίσματα που προκύπτουν από φρέσκα φύλλα ελιάς έχουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση από τα εκχυλίσματα αποξηραμένων φύλλων (Neda et al., 2015).

Εμβαθύνοντας περισσότερο, η αντιοξειδωτική ικανότητα του φυτού επηρεάζεται από την απουσία γλυκοσιδικών τμημάτων στην πολυφαινόλη, τη θέση γλυκοζυλίωσης και τον αριθμό και τη θέση των ελεύθερων και αποστειρωμένων υδροξυλίων (Benavente-Garcia et al., 2000).

Μια από τις πιο σημαντικές κατηγορίες φυσικών αντιοξειδωτικών είναι οι φαινόλες. Πέραν της ικανότητας τους να δεσμεύουν και να αδρανοποιούν ελεύθερες ρίζες, προκαλούν επίσης, απόσβεση του οξυγόνου απλής κατάστασης, για αυτό το λόγο ανήκουν στην κατηγορία των τροφοφαρμάκων (Κυριτσάκης, 2007 & Σφλώμος, 2018). Οι σπουδαιότερες φαινολικές ενώσεις που βρίσκονται στα φύλλα της ελιάς είναι οι βιοφαινόλες, όπως η ελαιοευρωπαϊνή, η υδροξυτυροσόλη και η τυροσόλη, και οι φλαβονοειδείς πολυφαινόλες. Προκειμένου να είναι αποτελεσματικές οι φαινολικές αυτές ενώσεις, πρέπει η συγκέντρωσή τους να είναι υψηλότερη των 200 mg/kg (Κυριτσάκης, 2007). Η δομή που είναι υπεύθυνη για την αντιοξειδωτική τους δράση είναι η ο-διυδροξυ (κατεχόλη) που υπάρχει στις χαρακτηριστικές ομάδες τους (Benavente-Garcia et al., 2000).

Σύμφωνα με μια μελέτη πάνω στην αντιοξειδωτική δράση διαφόρων εκχυλισμάτων που παρελήφθησαν από ελληνικά βότανα και φυτά, τα φύλλα της ελιάς είχαν την μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα (Παπααργηγόριου & Γκιώκα, 2005). Ακόμα, στην ίδια έρευνα παρατηρήθηκε ότι αυξάνοντας την συγκέντρωση του εκχυλίσματος μειώθηκε η δραστηριότητα του, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η οξειδωτική σταθερότητα δεν είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του εκχυλίσματος.

Μια μέθοδος για τη μέτρηση του αντιοξειδωτικού δυναμικού στα τρόφιμα αποτελεί ο υπολογισμός του δείκτη ORAC (Oxygen Radical Absorption Capacity) (Σφλώμος, 2018). Βασίζεται στην μεταφορά ατόμων υδρογόνου και αναλύει την ένταση φθορισμού της φλουορεσκεΐνης που αποσυντίθεται από μια ρίζα υπεροξειδίου. Σε άλλες περιπτώσεις, η αντιοξειδωτική ικανότητα της μελετώμενης ένωσης προσδιορίζεται με τη μέθοδο DPPH<sup>2</sup>, ή τη μέθοδο TEAC<sup>3</sup>, όπου αναλύεται χρωματομετρικά το DPPH ή το ABTS<sup>4</sup> αντίστοιχα (Prior et al., 2005).

---

<sup>2</sup> DPPH: (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

<sup>3</sup> TEAC: Trolox Equivalence Antioxidant Capacity

<sup>4</sup> ABTS: (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid ammonium salt))

Σε μελέτη που διεξάχθηκε πάνω σε φύλλα ελιάς προέκυψε ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα των βιοενεργών συστατικών τους έχει ως εξής: ρουτίνη > κατεχίνη> λουτεολίνη> ολικό εκχύλισμα φύλλων ελιάς > υδροξυτυροσόλη > διοσμετίνη > καφεϊκό οξύ> verbascoside > ελαιοευρωπαϊνή > λουτεολίνη-7-γλυκοσίδη > βανιλικό οξύ > διοσμετίνη-7-γλυκοσίδη > απιγενίνη-7-γλυκοσίδη > τυροσόλη > βανιλίνη, με τη ρουτίνη να έχει την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση (Benavente-Garcia et al., 2000). Επιπλέον, οι Benavente et al. (2000) απέδειξαν ότι οι ισχυρότερες ενώσεις (ρουτίνη, κατεχίνη, λουτεολίνη) είχαν αντιοξειδωτικές δράσεις έως 2,5 φορές μεγαλύτερες της βιταμίνης C και E και φτάνοντας την τάξη του λυκοπενίου. Αυτό εν μέρει οφείλεται στην συνεργική συμπεριφορά αυτών των ενώσεων. Σε άλλες έρευνες έχει αποδειχθεί ότι η ελαιοευρωπαϊνή και η υδροξυτυροσόλη έχουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση από τα BHA και BHT και τις βιταμίνες E και C (Κυριτσάκης, 2007 & Neda et al., 2015). Επίσης, το αιθέριο έλαιο από φύλλα ελιάς έχει αντιοξειδωτική ικανότητα σχεδόν δύο φορές υψηλότερη από το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού και 400% υψηλότερη από τη βιταμίνη C (Neda et al., 2015).

Είναι γνωστό ότι το οξειδωτικό στρες επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τον ανθρώπινο οργανισμό, όντας ένας πολύ βασικός παράγοντας στην γήρανση, τον καρκίνο, τις καρδιακές παθήσεις, την αθηροσκλήρωση και την ρευματοειδή αρθρίτιδα (Ok-Hwan & Boo-Yong, 2010). Είναι, λοιπόν, κατανοητό από τα παραπάνω ότι το εκχύλισμα των φύλλων της ελιάς μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόληψη διαφόρων σοβαρών ασθενειών που συνδέονται με την οξείδωση.

Σε άλλες περιπτώσεις, εκχυλίσματα φύλλων ελιάς έχουν χρησιμοποιηθεί ως πρόσθετα στην επεξεργασία ελαίων για να παρεμποδίσουν αντιδράσεις οξείδωσης και να δημιουργήσουν ένα σταθερότερο προϊόν. Πέραν αυτού, έχει γίνει χρήση τους και σε άλλους τομείς της βιομηχανίας των τροφίμων, ώστε να αποτραπούν τυχόν αλλοιώσεις των θρεπτικών συστατικών ή των οργανοληπτικών στοιχείων του τροφίμου (Bouaziz & Sayadi, 2005).

#### 2.3.1.1. Υπερχοληστερολαιμία

Μια ευεργετική δράση που έχει το εκχύλισμα φύλλων ελιάς είναι ότι βελτιώνει σημαντικά την υπερχοληστερολαιμία σε συνδυασμό με την υπεργλυκαιμία. Σε αυτό οφείλονται οι ιδιότητες των περιεχόμενων φαινολικών ουσιών, ελαιοευρωπαϊνή και υδροξυτυροσόλη. Οι τρόποι με τους οποίους δρα υπογλυκαιμικά η ελαιοευρωπαϊνή είναι η επιρροή της στην απελευθέρωση ινσουλίνης που προκαλείται από γλυκόζη και η επίδραση της στην αύξηση της περιφερειακής πρόσληψης γλυκόζης (Al-Azzawie & Alhamdani, 2006). Σύμφωνα με την έρευνα τους σε κουνέλια με σακχαρώδη διαβήτη, η ελαιοευρωπαϊνή έδρασε ευεργετικά, αναστέλλοντας την υπεργλυκαιμία και το οξειδωτικό στρες (Al-Azzawie & Alhamdani, 2006). Επίσης, η υπογλυκαιμική δράση της ελαιοευρωπαϊνής και της υδροξυτυροσόλης συνδέεται άμεσα με την ικανότητα αυτών να καταπολεμούν το οξειδωτικό στρες, το οποίο είναι ο κύριος παράγοντας που σχετίζεται με τον διαβήτη και την έκκριση ινσουλίνης.

### 2.3.1.2. Καρδιαγγειακές παθήσεις

Οι αντιοξειδωτικές ενώσεις που περιέχονται μέσα στο εκχύλισμα των φύλλων της ελιάς συμβάλουν, επιπροσθέτως, στην πρόληψη των καρδιαγγειακών παθήσεων. Αυτό συμβαίνει διότι παρεμποδίζουν την οξείδωση της LDL χοληστερόλης, μειώνοντας έτσι την πιθανότητα εμφάνισης φλεγμονής και αθηρωματικής πλάκας. Υπεύθυνη για αυτή τη δράση είναι κυρίως η ελαιοευρωπαϊνή, που σύμφωνα με τους Visioli et al. (1998) δρα αυξάνοντας την απόκριση NO, η οποία βοηθάει στην κυτταρική και οργανική προστασία.

### 2.3.1.3. Καρκίνος

Ο καρκίνος είναι μια ασθένεια που δημιουργείται από την γενετική μετάλλαξη υγιών κυττάρων, που συνήθως προκαλείται από το οξειδωτικό στρες. Τα φύλλα της ελιάς έχουν συνδεθεί με αρκετές αντικαρκινικές ιδιότητες λόγω της δυνατότητας τους να προλαμβάνουν και να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες.

Έχουν γίνει πολλές μελέτες πάνω στην αντικαρκινική δράση των φύλλων της ελιάς, για διάφορα είδη καρκίνων. Στην περίπτωση του μελανώματος, το εκχύλισμα από ξερά φύλλα ελιάς εμπόδισε τον πολλαπλασιασμό και την κλωνοποίηση των καρκινικών κυττάρων σε πειραματόζωα ποντίκια (Mijatovic et al., 2009). Στην ίδια έρευνα προέκυψε ότι παράλληλα με την χρήση αντικαρκινικού φαρμάκου, κατάφερε να έχει συνεργιστική δράση, ενισχύοντας τις ιδιότητες του φαρμάκου, χωρίς να εκδηλώνει καμία τοξικότητα. Ανάλογη αντιπολλαπλασιαστική δράση διαπιστώθηκε και για άλλου είδους καρκινώματα, όπως το καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης και το αδενοκαρκίνωμα του μαστού (Goulas et al., 2009). Σε πολλές από αυτές τις έρευνες γίνεται αναφορά στη δράση της ελαιοευρωπαϊνης και της υδροξυτυροσόλης στην καταπολέμηση του καρκίνου. Και οι δύο ενώσεις αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, ενώ πιο συγκεκριμένα, η ελαιοευρωπαϊνή προκαλεί απόπτωση των καρκινικών κυττάρων και η υδροξυτυροσόλη συρρίκνωση των όγκων που δημιουργούνται από αυτά (Cardeno et al., 2013).

### 2.3.2. Αντιμικροβιακή δράση

Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες του φύλλου της ελιάς ήταν εμφανείς από την αρχαιότητα, καθώς χρησιμοποιούνταν αρκετές φορές ως ιατρικό. Πολλές αναφορές γίνονται στη χρήση του εκχυλίσματος των φύλλων της ελιάς, παραδοσιακά, για την αντιμετώπιση της ελονοσίας. Μάλιστα, το 1843 στη Λέσβο, ένας Έλληνας ιατρός κατάφερε να αντιμετωπίσει μια επιδημία ελονοσίας στο νησί (Μανουσάκη & Τζωτζέ, 2015). Η πρώτη βιβλιογραφική αναφορά για την θεραπεία επιδημίας ελονοσίας έγινε από τον Dr. Vincent Giadorou στο Sebenico της Αυστροουγγαρίας. Ακόμα, η πρώτη αναφορά για την αντικτική δράση των φύλλων της ελιάς

έγινε από τον Dr. Harold E. Renis, το 1969, όπου απέδειξε ότι η ελαιοευρωπαϊνή έχει τη δυνατότητα να απενεργοποιήσει πολλούς ιούς (Μανουσάκη & Τζωτζέ, 2015). Σε άλλες περιπτώσεις, χρησιμοποιούνταν για την θεραπεία του πυρετού, αλλά και την πρόληψη εντερικών μυϊκών σπασμών (Benavente-Garcia et al., 2000). Στην Ισπανία, κατά τις αρχές του 19ου αιώνα κάποιοι γιατροί συνταγογραφούσαν τα φύλλα της ελιάς ως αντιπυρετικό και παράλληλα τα χρησιμοποιούσαν για να θεραπεύσουν ασθενείς που έπασχαν από διαλείπων πυρετό (Crueess & Alsberg, 1934). Εκχυλίσματα με ζεστό νερό, φρέσκων φύλλων ή αποξηραμένων, που λαμβάνονται από το στόμα, χρησιμοποιούνταν για την θεραπεία της υψηλής αρτηριακής πίεσης και του βρογχικού άσθματος, αντίστοιχα (Özcan et al., 2017).

Πρόσφατες μελέτες έχουν αποδείξει ότι τα φύλλα της ελιάς εμφανίζουν μεγάλο φάσμα ιδιοτήτων *in vitro* και *in vivo*, συμπεριλαμβανομένης της αντιοξειδωτικής δράσης, της αντιμυκητιακής, της γαστροπροστατευτικής και της αντιπολλαπλασιαστικής επίδρασης στα κύτταρα της λευχαιμίας προκαλώντας απόπτωση. Ακόμα έχουν γίνει αναφορές για την κυτταροτοξική δράση κατά ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του μαστού, τη δράση κατά του ιού HIV, την εξασθένηση του διαβητικού νευροπαθητικού πόνου και τη βελτίωση της νεφροτοξικότητας της γενταμικίνης (Özcan et al., 2017). Επίσης, πολλές αναφορές γίνονται στον ρόλο τους στον έλεγχο του γλυκαιμικού δείκτη, στην απώλεια βάρους, καθώς και στην αύξηση των επιπέδων ενέργειας

#### 2.3.2.1 Αντιμικροβιακή δράση πολυφαινόλων

Η ελαιοευρωπαϊνή έχει σημαντικό ρόλο στην αντιμικροβιακή δράση του εκχυλίσματος. Συγκεκριμένα, πολλές έρευνες υποστηρίζουν ότι προλαμβάνει την καρδιακή νόσο προστατεύοντας τις μεμβράνες από την οξείδωση των λιπιδίων, επηρεάζοντας τη διαστολή των στεφανιαίων αγγείων, ασκώντας αντιαρρυθμική δράση, βελτιώνοντας τον μεταβολισμό των λιπιδίων, προστατεύοντας τα ένζυμα και αποτρέποντας το θάνατο των υπερτασικών κυττάρων σε καρκινοπαθείς, χάρη στις αντικές ιδιότητες της (Somova et al., 2003; Ferreira et al., 2007).

Επίσης, είναι γνωστή η αντιμυκοπλαστική δράση της. Οι Furneri et al. (2002) απέδειξαν ότι η ελαιοευρωπαϊνή έχει την ικανότητα να αναστείλει ή να καθυστερήσει τον ρυθμό ανάπτυξης των μυκοπλασμάτων και πιθανώς σε αυτό οφείλεται το σύστημα ο-διφαινόλης που βρίσκεται στην βασική δομή του (Özcan et al., 2017). Ακόμα, έχει βρεθεί αποτελεσματική έναντι των στελεχών *Mycoplasma fermentans*, τα οποία είναι φυσικά ανθεκτικά στην ερυθρομυκίνη και στις τετρακυκλίνες (Özcan et al., 2017).

Άλλες ευεργετικές ιδιότητες της είναι ότι προκαλεί διαρροή γλουταμινικού νατρίου, καλίου και ανόργανου φωσφορικού άλατος όταν προστίθεται σε καλλιέργειες λακτοβάκιλλου, δεν επηρεάζει τον ρυθμό γλυκόλυσης και προκαλεί μείωση της περιεκτικότητας των κυττάρων σε ATP (Μανουσάκη & Τζωτζέ, 2015). Η δράση της επικεντρώνεται στις μεταβολές που προκαλεί στην πρωτεΐνη που βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη των ιών και των

βακτηριδίων, αλλάζοντας, ως αποτέλεσμα, τη διαπερατότητα της μεμβράνης (Μανουσάκη & Τζωτζέ, 2015). Συν τοις άλλοις, όσον αφορά τη φυσιολογία του κυττάρου των παθογόνων μικροοργανισμών το εκχύλισμα των φύλλων ελιάς φαίνεται να έχει συνδέεται σε μεγάλο βαθμό με αυτή. Για παράδειγμα, μια έρευνα απέδειξε ότι μπορεί να καταλύσει τα μαστίγια του *Listeria monocytogenes*, μειώνοντας έτσι την κινητικότητα του. Ταυτόχρονα, δημιούργησε μεταβολές στην κυτταρική επιφάνεια του κυττάρου και ανέστειλε ελαφρώς τον σχηματισμό βιοφίλμ, σε συγκέντρωση 7.8mg/ml (Liu et al., 2017).

Η υδροξυτυροσόλη, από την άλλη, έχει παρόμοιες ιδιότητες με την ελαιοευρωπαϊνή, ενώ επιπλέον προστατεύει από την αθηροσκλήρωση και αποτρέπει τη διαβητική νευροπάθεια (Kiritsakis et al., 2010).

Και οι δυο αυτές ενώσεις έχουν αποδειχθεί ότι αναστέλλουν ή καθυστερούν τον ρυθμό ανάπτυξης πολλών παθογόνων μικροοργανισμών του ανθρώπινου εντερικού ή αναπνευστικού συστήματος. Συγκεκριμένα αυτοί που αναφέρονται είναι οι *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Salmonella typhi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* και *Vibrio alginolyticus* (Bisignano et al., 1999). Μάλιστα, οι ποσότητες υδροξυτυροσόλης που χρειάζονται για την αναστολή αυτών των βακτηριδίων είναι ελάχιστες.

Σε άλλες περιπτώσεις, τα φλαβονοειδή που εμπεριέχονται στο εκχύλισμα των φύλλων της ελιάς φαίνεται να έχουν σημαντική αντιγηραντική δράση στο δέρμα, καθώς διεγείρουν τα στοιχεία του συνδετικού ιστού και αποκαθιστούν τον ιστό (Sabry, 2014).

#### 2.3.2.2. HIV

Πολύ σημαντική είναι ακόμα η δράση που έχει στη θεραπεία του HIV. Σύμφωνα με τον Lee-Huang et al. (2003), δεν έχει προσδιοριστεί ακόμη ο μηχανισμός δράσης του εκχυλίσματος απέναντι στον HIV, ωστόσο έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει τη δραστηριότητα του αναστολέα HIV-RT 3TC, αναστέλλει την οξεία λοίμωξη HIV-1, τη μετάδοση από κύτταρο σε κύτταρο και την αντιγραφή του ιού. Οι ενέργειες αυτές εμφανίζονται σε συγκέντρωση 0.2g/ml εκχυλίσματος φύλλου ελιάς. Κατά μεγαλύτερο ποσοστό (90%), αυτά οφείλονται στην ελαιοευρωπαϊνή, η οποία απορροφάται από το γαστρεντερικό σωλήνα και μεταβολίζεται σε D-eleolate. Πέρα, όμως, από την άμεση δράση που έχει κατά του ιού του AIDS, βελτιώνει την ανοχή του ανοσοποιητικού συστήματος, μειώνει τις παρενέργειες των φαρμάκων κατά της ασθένειας αυτής και ανακουφίζει από την χρόνια κόπωση, συμβάλλοντας έτσι στην υποστήριξη του νοσούντα (Lee-Huang et al., 2003).

Μια ακόμη έρευνα απέδειξε ότι η ελαιοευρωπαϊνή και το παράγωγο της, υδροξυτυροσόλη, έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν μια πρωτεΐνη της οποίας η παρουσία στον οργανισμό συνδέεται άμεσα με τη μόλυνση από τον ιό του HIV (Μανουσάκη & Τζωτζέ, 2015).

### 2.3.3. Αντιμυκητιακή Δράση

Έχει, επιπλέον, καταγραφεί η αντιμυκητιακή δράση του εκχυλίσματος, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις υπερανάπτυξης της *Candida* (Özcan et al., 2017). Η μυκητοκτόνος δράση των συστατικών των φύλλων της ελιάς εστιάζει κυρίως στην αναστολή της σύνθεσης ορισμένων αμινοξέων, τα οποία είναι απαραίτητα για την επιβίωση των μυκήτων (Μανουσάκη & Τζωτζέ, 2015).

### 2.4. Χρήσεις εκχυλίσματος και φύλλων ελιάς

Η χρήση των φύλλων της ελιάς για το θεραπευτικό τους δυναμικό ξεκινάει από την αρχαιότητα. Σε κάποιες αναφορές λέγεται ότι οι αρχαίοι Αιγύπτιοι χρησιμοποιούσαν εκχυλίσματα φύλλων ελιάς στην διαδικασία της μουμιοποίησης. Επίσης, υπάρχουν στοιχεία που αναφέρουν την φαρμακολογική χρήση αφεψημάτων φύλλων ελιάς με σκοπό την αντιμετώπιση της ελονοσίας, θανατηφόρου πυρετού και υπέρτασης (Ghisalberti, 1998). Πρώτος ανέφερε ο Hanbury στο *Pharmaceutical Journal* συνταγή αντιπυρετικού στην οποία χρησιμοποιούσε ως κύριο συστατικό το υδατικό εκχύλισμα των φύλλων της ελιάς.

Υπό συγκεκριμένες συνθήκες, θα μπορούσε να έχει και συνεργιστική δράση κατά των *Klebsiella* και *Pseudomonas*, δυο γενετικών βακτηρίων που παρουσιάζουν ισχυρή αντοχή σε αντιβιοτικά, αναστέλλοντας τη δράση τους και συμβάλλοντας στην πρόληψη των λοιμώξεων σε περιπτώσεις παρατεταμένης χρήσης αντιβιοτικών (Özcan et al., 2017 & Markin et al., 2003).

Η χρήση του δεν γίνεται μόνο λαμβάνοντας το από το στόμα, αλλά και απευθείας στο δέρμα, με τη μορφή εκχυλίσματος, βάμματος κλπ. Τέτοιου είδους χρήση βοηθάει στην αντιμετώπιση δερματικών παθήσεων, ανακουφίζει και ενυδατώνει το δέρμα, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλει την λειτουργία των παθογόνων μικροοργανισμών.



Επιπλέον, στην αγορά κυκλοφορούν πολλά προϊόντα με τη μορφή κάψουλας, που εμπεριέχουν τις ωφέλιμες ουσίες των φύλλων της ελιάς. Αυτό αποδεικνύει ότι έχουν να αναγνωρίζονται όλο και περισσότερο οι ευεργετικές ιδιότητες των φύλλων της ελιάς. Το ποσοστό της ελαιοευρωπαϊνης που περιλαμβάνουν είναι 4-20% και μπορεί να περιέχουν στερεό εκχύλισμα, σκόνη αποξηραμένων φύλλων ελιάς ή και τα δύο (Μανουσάκη & Τζωτζέ, 2015). Η αποτελεσματικότητά τους εξαρτάται, βέβαια, από το ποσοστό ελαιοευρωπαϊνης που

διαθέτουν. Αυτές που περιέχουν στερεό εκχύλισμα απορροφούνται πιο γρήγορα από αυτές που περιέχουν μόνο αποξηραμένα φύλλα, καθώς οι ίνες των φύλλων καθυστερούν την απορρόφηση τους. Από την άλλη πλευρά, αυτό θα μπορούσε να θεωρηθεί και θετικό

χαρακτηριστικό, εφόσον αυξάνεται ο χρόνος παραμονής τους στο πεπτικό σύστημα, άρα και ο χρόνος δράσης τους.

Στον τομέα των τροφίμων έχουν γίνει αρκετά πειράματα για την πιθανή χρήση του ως φυσικό πρόσθετο, με το ρόλο του συντηρητικού. Τα πειράματα αυτά έδειξαν ότι όταν το εκχύλισμα προστίθενται σε κάποια τρόφιμα αυξάνει σημαντικά τη διατηρητική τους αξία. Για παράδειγμα έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μείωση των βακτηρίων σε γαρίδες και οργανικά φυλλώδη χόρτα (Moore et al., 2011 & Ahmed et al., 2014). Εκτός αυτού, έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει την ποιότητα και διάρκεια ζωής των προϊόντων κρέατος (Hayes et al., 2010). Έχει, επίσης, χρησιμοποιηθεί στο στάδιο της συσκευασίας, όπου ενσωματώθηκε σε μεμβράνη συσκευασίας με σκοπό να εμποδίσει την ανάπτυξη των *E. coli* K12 και *Listeria innocua* (Liu et al., 2017). Επιπλέον, όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, χρησιμοποιείται πολλές φορές για την επεξεργασία υποβαθμισμένων, οξειδωμένων ελαίων.

**Εικόνα 4.** Εκχύλισμα φύλλων ελιάς σε κάψουλες (PowerHealth)

**Πίνακας 4.** Προτεινόμενες δόσεις στερεού εκχυλίσματος φύλλων ελιάς για διάφορες ηλικίες (Μανουσάκη & Τζωτζέ, 2015)

Ηλικία	Είδος αγωγής	Ποσότητα
Ενήλικες	Συντηρητική Αγωγή Πρόληψη Ασθενειών Οξεία Νόσηση	25mg, 2 φορές τη μέρα 75mg, 3 φορές τη μέρα 180mg, 4 φορές τη μέρα
Έφηβοι άνω των 12 ετών	Συντηρητική Αγωγή Πρόληψη Ασθενειών Οξεία Νόσηση	12,5mg, 1 ή 2 φορές τη μέρα 38mg, 3 φορές τη μέρα 90mg, 4 φορές τη μέρα
Παιδιά 6-12 ετών	Συντηρητική Αγωγή Πρόληψη Ασθενειών Οξεία Νόσηση	7mg, 1 ή 2 φορές τη μέρα 18mg, 3 ή 4 φορές τη μέρα 40mg, 4 φορές τη μέρα
Παιδιά 2-6 ετών	Συντηρητική Αγωγή Πρόληψη Ασθενειών Οξεία Νόσηση	5 mg, 1 ή 2 φορές τη μέρα 12mg, 3 φορές τη μέρα 25mg, 5 φορές τη μέρα

Στην αγορά έχουν κυκλοφορήσει πολλά σκευάσματα με συστατικό το εκχύλισμα των φύλλων της ελιάς, όπως συμπληρώματα διατροφής, αντιγηραντικές κρέμες προσώπου, σαμπουάν ή αποστάγματα. Λόγω της ευεργετικής ιδιότητας που έχει στον μεταβολισμό, διατίθενται πρόσφατα στο εμπόριο και ως διαιτητικό προϊόν (Briante et al., 2002).



Μάλιστα, στο εξωτερικό έχουν κυκλοφορήσει πολλά προϊόντα με κύριο συστατικό το φύλλο της ελιάς, όπως φακελάκια τσαγιού ή ακόμη και τσάι φύλλων ελιάς σε κουτάκι.

Παρόλα αυτά, έχουν γίνει κάποιες αναφορές για εμφάνιση κόπωσης, διάρροιας, πονοκέφαλου, και μυϊκών πόνων μετά την κατανάλωση εκχυλίσματος φύλλων ελιάς (Özcan et al., 2017). Σε τέτοιες περιπτώσεις πρέπει να διακόπτεται η χορήγηση του έως ότου απομακρυνθούν τα συμπτώματα. Ταυτόχρονα, δεν συνιστάται να συνδυάζεται η κατανάλωση τους με τη χρήση αντιβιοτικών, καθώς οι αντιμικροβιακές τους ιδιότητες είναι πιθανό να αναστείλουν τη δράση των αντιβιοτικών.

Σε κάθε περίπτωση, είναι απαραίτητο να γίνουν περαιτέρω μελέτες όσον αφορά τις βιοδραστικές ιδιότητες του φύλλου της ελιάς, καθώς και των επιδράσεων που μπορεί να έχει στο ανθρώπινο σώμα μετά την κατανάλωση του.

## 2.5. Ελληνικά βότανα με αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες

Τα φυτά ήταν από την αρχαιότητα η κύρια πηγή από την οποία αντλούσαν οι άνθρωποι τις αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ουσίες, προκειμένου να θεραπεύσουν τις ασθένειες που προσβάλλαν τον ανθρώπινο οργανισμό. Μέσα σε αυτά τα αρωματικά βότανα αναδείχθηκαν περισσότερο για τις ευεργετικές ιδιότητες που διαθέτουν και μέχρι και σήμερα αποτελούν πρώτη ύλη για πολλά φαρμακευτικά σκευάσματα. Ενδεικτικά, κάποια βότανα με ισχυρές αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες, που ακμάζουν στην Ελλάδα, είναι το θυμάρι, το φασκόμηλο και το κρίταμο.

### 2.5.1. Θυμάρι

Το θυμάρι είναι γνωστό για τις θεραπευτικές του ιδιότητες και τις πολλαπλές του χρήσεις, τόσο στον τομέα της βιομηχανίας τροφίμων, της φαρμακοβιομηχανίας, όσο και στη κοσμετολογία και τη μαγειρική. Είναι ένα φυτό αντισηπτικό, αποχρεμπτικό, σπασμολυτικό, στυπτικό, αντιμικροβιακό, διουρητικό, αντιβιοτικό και επουλωτικό, μαλακώνει τον βήχα και τοπικά αυξάνει τη ροή του αίματος προς την περιοχή στην οποία εφαπτεται. Τα επίγεια τμήματα του είναι ιδανικά για την αντιμετώπιση βαθιά εγκατεστημένων λοιμώξεων των πνευμόνων, του βρογχικού άσθματος, του κοκκύτη και γενικότερα του επίμονου βήχα. Επίσης, είναι φυτό κατά της δυσπεψίας και των αερίων, τους πόνους του στομάχου και της εμμηνόρροιας. Λόγω του ότι



**Εικόνα 5.** Άγριο θυμάρι σε ορεινό χωριό της Κρήτης

είναι διεγερτικό βοηθάει άτομα που υποφέρουν από νευρική υπερδιέγερση ή κατάθλιψη και τονώνει πολύ τον οργανισμό.

Το αιθέριο έλαιο του θυμαριού είναι ευρέως διαδεδομένο, για αυτό το λόγο θεωρείται ως ένα από τα δέκα περισσότερο εμπορικά έλαια παγκοσμίως, δεδομένου ότι χρησιμοποιείται ως φυσικό συντηρητικό τροφίμων, έχει σημαντικά αντιοξειδωτικά, αντιβακτηριακά και αντιμυκητιασικά αποτελέσματα και χρησιμοποιείται ως αρωματικό πρόσθετο σε μια ποικιλία τροφίμων και ποτών, όπως και σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας (αρώματα, καλλυντικά, σαπούνια, πόσιμα διαλύματα). Λόγω των πολλαπλών θετικών ιδιοτήτων το αιθέριο έλαιο χρησιμοποιείται για τον κατευνασμό των πονόδοντων, για την παραγωγή στοματικών διαλυμάτων και οδοντοκρεμών, για την καταπολέμηση του πονοκέφαλου, του πυρετού και της παράλυσης (Ζαχαρόπουλου, 2003). Επίσης, η θυμόλη και το θυμάρι έχουν ένα ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα, συμπεριλαμβανομένων των θετικών κατά Gram και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων.



**Εικόνα 6.** Φασκόμηλο σε ορεινό χωριό της Κρήτης

### 2.5.2. Φασκόμηλο

Το φασκόμηλο χρησιμοποιείται ποικίλως για τις θεραπευτικές του ιδιότητες, ως φυτικό υποκατάστατο φαρμάκων, καθώς είναι γνωστό για την έντονη αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική του δράση. Σύγχρονες μελέτες έχουν αναδείξει τις αντιδρωτικές, αντιβιοτικές, αντισηπτικές, αιμοστατικές, σπασμολυτικές, υπογλυκαιμικές και τονωτικές του ιδιότητες. Χρησιμοποιείται με τη μορφή αφεψήματος για τη θεραπεία στοματικών παθήσεων, όπως ουλίτιδα και φαρυγγίτιδα, γαστρεντερικών διαταραχών, δερματικών παθήσεων και σε μερικές περιπτώσεις ως τονωτικό μνήμης. Για αρκετά χρόνια χρησιμοποιείται, επίσης, την περίοδο της εμμηνόπαυσης καθώς συμβάλει στην ρύθμιση των ορμονικών διαταραχών. Ακόμα, σε μικρές δόσεις είναι αντιφλεγματικό, ειδικά για το βλεννογόνο. Πρέπει να δοθεί προσοχή, όμως, διότι σε μεγάλες δόσεις μπορεί να καταστεί τοξικό, αυξάνοντας τη ροή του αίματος στα υπογάστρια όργανα και δημιουργώντας προβλήματα στο νευρικό σύστημα (Vogl et al., 2013). Έχει αναφερθεί μάλιστα ότι η καμφορά, που περιέχεται στο αιθέριο έλαιο του, μπορεί να προκαλέσει κρίσεις σε επιληπτικά άτομα (Σφλώμος, 2018).

### 2.5.3. Κρίταμο

Το κρίταμο από την αρχαιότητα, χρησιμοποιούνταν ως φαρμακευτικό βότανο για τις ποικίλες αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές του ιδιότητες. Μάλιστα, από την εποχή του Ιπποκράτη χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση νεφρικών και εντερικών δυσλειτουργιών. Είναι πλούσιο σε ιώδιο, αμινοξέα, μεταλλικά άλατα και βιταμίνες, όπως οι C, E, K, ενώ παράλληλα έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε καροτενοειδή και φαινολικά παράγωγα, όπως φαινολικά οξέα,

φλαβονοειδή και τανίνες, τα οποία το καθιστούν αντιμικροβιακό. Ακόμα, τα φύλλα μάραθου φαίνεται να είναι πλούσια σε φαιολικές ενώσεις, ιδιαίτερα σε χλωρογενικό οξύ το οποίο είναι αντιοξειδωτικό και έχει επιπλέον αντικές, αντιφλεγμονώδεις και ανοσολογικές ιδιότητες. Οι σπόροι του περιέχουν μεγάλες ποσότητες σε ω-3 και ω-6 λιπαρά, καθιστώντας το δυνητικώς βρώσιμο, λόγω του ότι η σύστασή του σε λιπαρά οξέα είναι παρόμοια με του ελαιόλαδου (Μαλούπα et al., 2013)

Όπως αναφέρεται σε διάφορα εθνοφαρμακολογικά δεδομένα, χρησιμοποιείται ως αντισκορβουτικό, διουρητικό, εμμηναγωγό και αντιμικροβιακό και συχνές αναφορές γίνονται για τη χρήση του ως καθαρτικό του αίματος και ως στοιχείο σε δίαιτες, με σκοπό την απώλεια βάρους. Επίσης, θεωρείται τονωτικό, αποτοξινωτικό και χωνευτικό, χάρις στην δράση του αιθέριου ελαίου του.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΦΥΤΙΚΩΝ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ

#### 3.1 Συλλογή και προκατεργασία

##### 3.1.1 Συλλογή φύλλων

Η συλλογή του φυτικού υλικού παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στο εκχύλισμα που θα προκύψει σε επόμενο στάδιο. Ειδικότερα, υπάρχουν διάφοροι παράγοντες που επηρεάζουν την ποσοτική και ποιοτική απόδοση των φυτών κατά τη συλλογή τους, οι οποίοι αναφέρονται παρακάτω (Ζαχαρόπουλου, 2003):

- Συγκομιδή.  
Η συγκομιδή των φυτών πρέπει να γίνεται τη χρονική περίοδο που τα φυτά βρίσκονται στο βέλτιστο των ευεργετικών τους ουσιών. Για παράδειγμα, τα ενεργά συστατικά στα πράσινα μέρη του φυτού φτάνουν στο μέγιστο μετά το τέλος της περιόδου ανάπτυξης, δηλαδή πριν αρχίσει η περίοδος ανθοφορίας. Παράλληλα, σε κάποια αρωματικά χειλάνθη αυξάνεται το περιεχόμενο τους σε αιθέριο έλαιο τις πρώτες ώρες του απογεύματος (Fluck, 1990). Γενικώς, τα φυτά πρέπει να μαζεύονται με ξηρό και ζεστό καιρό και ηλιοφάνεια.  
Ανάλογα με το μέρος του φυτού, μεταβάλλεται και η περίοδος συγκομιδής. (Ζαχαρόπουλου, 2003).
- Άνθη.  
Τα άνθη συλλέγονται κατά την αρχή της ανθοφορίας.
- Φύλλα.  
Η συλλογή τους γίνεται όταν αρχίσουν να εμφανίζονται τα πρώτα άνθη. Σε μερικές περιπτώσεις, όπως στα αρωματικά φυτά, μαζεύονται μαζί με τα άνθη διότι έχουν παρόμοιες ιδιότητες.
- Ρίζες.  
Οι ρίζες συλλέγονται την άνοιξη, με την πρώτη εμφάνιση των φύλλων, ή το φθινόπωρο, αφότου πέσουν όλα τα φύλλα. Στην περίπτωση των ριζών θα πρέπει να δοθεί μεγάλη προσοχή στον καθαρισμό και το έπειτα το στέγνωμα του φυτικού υλικού. Επίσης, δεν πρέπει να συλλέγονται μετά από βροχή.
- Βολβοί και μπουμπούκια.

Η συγκομιδή των βολβών γίνεται το φθινόπωρο, ενώ των μπουμπουκιών την άνοιξη.

- Στελέχη και φλοιός.

Η συλλογή των στελεχών γίνεται το φθινόπωρο, έπειτα από την πτώση των φύλλων, ενώ το ξύλο μαζεύεται τον χειμώνα.

- Κλίμα.

Στην περίπτωση που τα φυτά καλλιεργούνται, πρέπει οι συνθήκες να είναι παρόμοιες με αυτές στις οποίες αναπτύσσονται φυσικά. Επίσης, το θερμό περιβάλλον συμβάλλει στην παραγωγή αιθέριων ελαίων. Για αυτό το λόγο, τα φυτά που βρίσκονται σε θερμές χώρες είναι πλουσιότερα σε ενεργά συστατικά από αυτά που βρίσκονται σε κρύες χώρες. Κάποια φυτά που ανήκουν στην κατηγορία των χειλανθών έχουν περισσότερους σμηγματογόνους αδένες όταν καλλιεργούνται σε περιοχές με πολύ φως, άρα παράγουν και περισσότερα αιθέρια έλαια (Fluck, 1990).

- Καλλιέργεια

Υπάρχει περίπτωση στην καλλιέργεια ενός αυτοφυούς φυτού να μεταβληθούν κάποιες ιδιότητες που είχε προηγουμένως, είτε αυξανόμενες ή μειούμενες.

- Έδαφος

Η περιεκτικότητα του εδάφους σε θρεπτικά συστατικά παίζει μεγάλο ρόλο στην μετέπειτα περιεκτικότητα των φυτών σε ενεργά συστατικά. Κάποια φυτά ευδοκμούν σε αργιλώδη ή αμμώδη εδάφη, ενώ άλλα αναπτύσσονται καλύτερα σε εδάφη πλούσια σε ασβέστιο. Τα αρωματικά φυτά απαιτούν ξηρό έδαφος. Μάλιστα, σε υγρά εδάφη χάνουν το άρωμα τους.

- Ηλικία φυτού

Το φυτό πρέπει να μην είναι προχωρημένης ηλικίας, αλλά ούτε νεαρό, γιατί σε εκείνες τις περιόδους δεν διαθέτει τα μέγιστα θρεπτικά συστατικά.

- Υγεία φυτού

Οι ασθένειες επηρεάζουν πολύ τον φυτικό ιστό, επομένως τα συλλεγόμενα φυτά πρέπει να είναι εντελώς υγιή.

Αναλύοντας περαιτέρω, υπάρχουν συγκεκριμένα κριτήρια επιλογής των φύλλων της ελιάς (Μανουσάκη & Τζωτζέ, 2015):

- Περιεκτικότητα σε ελαιοευρωπαϊνή

Η περιεκτικότητα των φύλλων της ελιάς σε ελαιοευρωπαϊνή είναι ο σημαντικότερος παράγοντας που πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν κατά τη διαδικασία συλλογή τους, για

αυτό το λόγο πρέπει να επιλέγονται ποικιλίες ελιάς με υψηλή περιεκτικότητα σε αυτή, στα φύλλα της.

- **Ποιότητα των φύλλων**  
Μεγάλη προσοχή πρέπει να δίνεται στην ποιότητα των φύλλων, διότι συνδέεται άμεσα με τα θρεπτικά συστατικά που εμπεριέχονται στα φύλλα. Είναι σημαντικό τα φύλλα να μην είναι κίτρινα, να μην έχουν στίγματα ή τρύπες και να μην έχουν υπολείμματα από φυτοφάρμακα. Επίσης, οι ελιές από τις οποίες παραλαμβάνονται τα φύλλα πρέπει να βρίσκονται μακριά από δρόμους (λόγω της ρύπανσης των καυσαερίων). Η καλύτερη χρονική περίοδος συγκομιδής τους είναι Οκτώβριος με Νοέμβριο, πρωινές ώρες.
- **Ξήρανση φύλλων ελιάς**  
Η μέθοδος που χρησιμοποιείται για την ξήρανση των φύλλων επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την απόδοση τους στα βιοδραστικά συστατικά που περιέχουν. Παρακάτω θα αναλυθούν οι διαφορές ανάμεσα στις διαφορετικές μεθόδους ξήρανσης.

### 3.1.2. Επεξεργασία φύλλων ελιάς

Σε πολλές περιπτώσεις το φυτικό υλικό χρησιμοποιείται κατευθείαν, στη νωπή του κατάσταση, χωρίς να έχει υποβληθεί σε κάποια επεξεργασία προηγουμένως. Σε κάποιες άλλες περιπτώσεις, μετά την παραλαβή και τον καθαρισμό του, καταψύχεται, ώστε να διατηρήσει τα συστατικά του μέχρι να χρησιμοποιηθεί. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων, όμως, το φυτικό υλικό αποξηραίνεται. Ο λόγος για τον οποίο επιλέγεται αυτή η μέθοδος είναι ότι με αυτή τη διαδικασία διακόπτονται



**Εικόνα 7.** Το ελαιόδεντρο

οι ενζυμικές διεργασίες και η φυτική ύλη γίνεται περισσότερο σταθερή μικροβιακά, ενώ παράλληλα δίνει τη δυνατότητα επίτευξης υψηλότερων συγκεντρώσεων (Moreira et al., 2009). Η διαδικασία της ξήρανσης συμβάλλει στη συντήρηση των φυτών και στην διατήρηση των ευεργετικών στοιχείων των αρωματικών φυτών. Επιπρόσθετα, συμβάλλει στην εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων. Ωστόσο, κάποιες έρευνες ανέδειξαν ότι μπορεί να προκαλέσει αντιδράσεις, όπως θερμική αποσύνθεση, απώλειες από πτητικοποίηση ή ενζυματικές αποικοδομήσεις, επηρεάζοντας, ως επακόλουθο, την σταθερότητα και τη δραστικότητα των βιοδραστικών ουσιών (Dorta et al., 2012). Μπορεί να γίνει είτε με φυσικούς ή με τεχνητούς

τρόπους, και ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την επιλογή της μεθόδου είναι η ποσότητα της πρώτης ύλης και ο λόγος για τον οποίο καλλιεργείται ή συλλέγεται (προσωπική ή εμπορική χρήση). Έτσι, οι μέθοδοι αποξήρανσης είναι οι:

- Παραμονή στον αέρα (Φυσική μέθοδος)
- Λυοφιλίωση
- Αποξηραντήρας αέρα ή κενού
- Μικροκύματα

Στην αγορά τα φυτικά παρασκευάσματα υπάρχουν είτε με την μορφή σκόνης, από την αποξηραμένη φυτική ύλη ή από την ξήρανση του εκχυλίσματος της, είτε με την μορφή υγρού εκχυλίσματος (Souza et al., 2008)

Αρχικά, αναφέρονται παρακάτω κάποιοι παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν κατά την αποξήρανση (Ζαχαρόπουλου, 2003):

- Η αποξήρανση θα πρέπει να γίνεται το ταχύτερο δυνατόν μετά την συλλογή των φυτών, ώστε να αποφεύγονται μεταβολές στα ενεργά συστατικά τους
- Αν η αποξήρανση γίνει με τη βοήθεια του ήλιου, τότε το φυτό δεν πρέπει να έχει απευθείας επαφή με τον ήλιο, αλλά να ξηραίνεται σε σκιερό, ξηρό και καλά αεριζόμενο μέρος.
- Τα φυτά δεν πρέπει να καλύπτονται μεταξύ τους, αλλά να είναι αραιά τοποθετημένα, ώστε να μην καθυστερεί η διαδικασία της ξήρανσης.
- Όσα φυτά περιέχουν αιθέρια έλαια ξηραίνονται σε θερμοκρασίες 20-40°C, ενώ τα υπόλοιπα στους 15-80°C (Fluck, 1990).

Μετά την αποξήρανση, το φυτικό υλικό πρέπει να φυλάσσεται σε γυάλινα δοχεία, κλεισμένα αεροστεγώς και προστατευμένα από το φως του ήλιου.

Η μέθοδος που επιλέγεται για την ξήρανση μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την περιεκτικότητα των φύλλων της ελιάς σε βιοδραστικά συστατικά, καθώς και την αντιοξειδωτική της ικανότητα. Γενικώς, έχει αποδειχθεί ότι η ξήρανση σε υψηλές θερμοκρασίες για μικρό χρονικό διάστημα μπορεί να αναστείλει την ενζυμική οξείδωση που προκαλείται από οξειδάσες πολυφαινόλης, και θεωρείται πιο σταθερή και εύκολα ελεγχόμενη μέθοδος (Ortega-García et al., 2008). Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει, επίσης, ότι η ξήρανση με θερμό αέρα, σε υψηλές θερμοκρασίες, πλεονεκτεί έναντι της λυοφιλίωσης. Οι Ahmad-Qasem et al (2016) αναφέρουν ότι η ξήρανση των φύλλων στους 120°C είχε μικρότερες απώλειες, συγκριτικά με την λυοφιλίωση, όμως ανεξάρτητα από τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε, η ξήρανση επέφερε μείωση των φαινολικών συστατικών και της αντιοξειδωτικής ικανότητας των φύλλων. Τα εκχυλίσματα που προήλθαν από φύλλα τα οποία είχαν προηγουμένως επεξεργαστεί με ξήρανση με κατάψυξη είχαν πολύ μικρότερο συνολικό φαινολικό περιεχόμενο και η αντιοξειδωτική τους ικανότητα είχε μειωθεί σημαντικά (Ahmad-Qasem et al., 2013). Ακόμη, κατά την ξήρανση με κατάψυξη, τα ένζυμα διατηρούνται, λόγω

των χαμηλών θερμοκρασιών, κι ως αποτέλεσμα ενεργοποιείται η οξειδωτική τους δράση κατά την απόψυξη.

Αφετέρου, είναι γνωστό ότι οι υψηλές θερμοκρασίες προκαλούν απώλειες των πολυφαινολών σε διάφορα επίπεδα. Η ξήρανση των φύλλων σε θερμοκρασία δωματίου (25°C) διατηρεί πλήρως τα επίπεδα της ελαιοευρωπαϊνης και του verbascoside (Malik & Bradford, 2008).

Σύμφωνα με τους Stamatoroulos et al. (2012), όπως αναφέρεται και στον Πίνακα 6., το ζεμάτισμα των φύλλων της ελιάς με ατμό, μετά τη συλλογή τους, μπορεί να βοηθήσει στη διαδικασία παραλαβής του εκχυλίσματος, μειώνοντας τους χρόνους εκχύλισης και αυξάνοντας τις αποδόσεις πολυφαινολών. Πιο συγκεκριμένα, μετά από έρευνα κατέληξαν στο ότι η ποσότητα της ελαιοευρωπαϊνης που εκχυλίστηκε, μετά από ζεμάτισμα, αυξήθηκε κατά 25-35 φορές, ενώ η αντιοξειδωτική ικανότητα του αιθανολικού εκχυλίσματος έφτανε έως και 13 φορές. Παράλληλα, έχει αναφερθεί και σε άλλες έρευνες ότι η θερμική επεξεργασία με ζεμάτισμα (με ατμό ή ζεστό νερό) μεταβάλλει τους ιστούς των φυτών και αυξάνει την εκχυλισσιμότητα των φαινολικών ενώσεων τους (Alzamora et al., 2003).

Σε μια πρόσφατη έρευνα, συν τοις άλλοις, τα φύλλα της ελιάς αποξηράθηκαν με τη χρήση μικροκυμάτων (2min στα 1250W) , έπειτα εκχυλίστηκαν, και το προκύπτον εκχύλισμα περιείχε συνολική φαινολική περιεκτικότητα 15,55 mg GAE/g και υδροξυτυροσόλη ως την κύρια πολυφαινολική ένωση (Bouallagui et al., 2011).

Στην περίπτωση των υγρών εκχυλισμάτων είναι καλύτερη η ξήρανση με ψεκασμό, διότι έχει τη δυνατότητα να εφαρμόζεται σε θερμοευαίσθητα υλικά, ενώ επίσης είναι λειτουργικά ευέλικτο (Filková et al., 2007).

### 3.2. Τεχνικές εκχύλισης

Εκχύλιση ονομάζεται η διαδικασία της εκλεκτικής παραλαβής μιας ή περισσότερων χημικών ουσιών από ένα υλικό, με τη χρήση κατάλληλου διαλύτη (Μανουσάκη & Τζωτζέ, 2015). Είναι το πρώτο στάδιο για την ανάλυση και τη χρήση των κυτταρικών βιοδραστικών ενώσεων που περιέχονται στα φαρμακευτικά φυτά. Συνεπώς, δίνεται μεγάλη βαρύτητα στην επιλογή της πιο αποτελεσματικής μεθόδου εκχύλισης, ανάλογα με τα αποτελέσματα που είναι επιθυμητά κάθε φορά. Αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι σε πολλές έρευνες, όταν εφαρμόζονται διαφορετικές μέθοδοι στο ίδιο φυτικό υλικό με τον ίδιο διαλύτη, η αποτελεσματικότητα εκχύλισης ποικίλλει σημαντικά. Σύμφωνα με την Kothari (2009) για την επιλογή της μεθόδου με σκοπό την παραλαβή του εκχυλίσματος με την καλύτερη απόδοση και την υψηλότερη καθαρότητα, πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν η φύση των ενώσεων και της πρώτης ύλης. Επιπλέον, πολύ σημαντικό βήμα είναι η επιλογή του κατάλληλου διαλύτη. Συνήθως, για την εκχύλιση θεραπευτικών δραστικών συστατικών χρησιμοποιούνται διαλύτες όπως νερό, αιθανόλη, χλωροφόρμιο, οξικός αιθυλεστέρας, μεθανόλη κ.λπ. (Gupta et al., 2012). Η ποιότητα του εκχυλίσματος επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως, τα μέρη των φυτών που



χρησιμοποιούνται ως πρώτη ύλη, ο διαλύτης που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση, η διαδικασία εκχύλισης, η αναλογία και φυτικού υλικού:διαλύτη κ.λπ.

Μια τυπική διαδικασία εκχύλισης μπορεί να περιέχει τα ακόλουθα βήματα (Handa et al., 2008) :

- Συλλογή, πιστοποίηση φυτικού υλικού και ξήρανση
- Μείωση μεγέθους του φυτικού υλικού
- Εκχύλιση
- Διήθηση
- Συμπύκνωση
- Ξήρανση & ανασύσταση

Οι τεχνικές εκχύλισης των φυτικών υλικών χωρίζονται σε συμβατικές και μη συμβατικές. Στις συμβατικές τεχνικές χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο θερμότητα, πίεση και ανάδευση προκειμένου να εξαχθεί το εκχύλισμα του φυτού, καθιστώντας τις πιο χρονοβόρες και πολυδάπανες διεργασίες (Maran et al., 2013). Με τα χρόνια, έχουν αρχίσει να χρησιμοποιούνται νέες τεχνικές, αναφερόμενες ως μη συμβατικές οι οποίες μειώνουν το χρόνο και το κόστος παραγωγής, ενώ παράλληλα είναι πιο φιλικές στο περιβάλλον.

Οι Gupta et al. (2012) διεξήγαγαν μια έρευνα προκειμένου να συγκρίνουν διάφορες συμβατικές και μη τεχνικές ως προς την εκχύλιση αντιοξειδωτικών και αντιβακτηριακών ενώσεων από φυτικούς σπόρους. Παρασκευάστηκαν διάφορα εκχυλίσματα με τη μέθοδο Soxhlet, με τη βοήθεια υπερήχων (UAE), μικροκυμάτων (MAE) με ή χωρίς διαλείπουσα ψύξη, και με συνεχή ανακίνηση σε θερμοκρασία δωματίου. Η μέθοδος Soxhlet αποδείχθηκε καλύτερη όσον αφορά την υψηλή απόδοση εκχύλισης και την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων. Η MAE με διαλείπουσα ψύξη, η εκχύλιση θερμοκρασίας δωματίου με ανακίνηση και η UAE αποδείχθηκαν καλές στην εκχύλιση αντιβακτηριακών ενώσεων από φυτικούς σπόρους, ενώ η UAE αποδείχθηκε περαιτέρω αποτελεσματική στην εκχύλιση αντιοξειδωτικών ενώσεων. Επίσης, μέσω της MAE έγινε εκχύλιση αντιμυκητησιακών φυτοσυσσωμάτων από σπόρους φυτών. Τέλος, από τους 3 διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν, η μεθανόλη αποδείχθηκε ο καταλληλότερος διαλύτης για εκχύλιση φλαβονοειδών.

Σε μια άλλη μελέτη ανακτήθηκαν 6,8g ελαιοευρωπαϊνης από 100g φρέσκων φύλλων ελιάς με τη χρήση μίγματος νερού-μεθανόλης ως διαλύτη, και το εκχύλισμα χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή υψηλής καθαρότητας υδροξυτυροσόλης (2,3g /100g φρέσκων φύλλων ελιάς) με όξινη υδρόλυση (Bouaziz & Sayadi, 2005).

Παρακάτω γίνεται ανάλυση των δυο αυτών κατηγοριών.

### 3.2.1. Συμβατικές τεχνικές εκχύλισης

Εργαστηριακά, οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι η διαβροχή (maceration) και η εκχύλιση Soxhlet με διάφορους διαλύτες, όπως μίγματα νερού μεθανόλης ή εξανίου (Neda et al., 2015). Σε βιομηχανική κλίμακα είναι απαραίτητο να μην χρησιμοποιούνται τοξικοί διαλύτες, ιδιαίτερα όταν τα προϊόντα πρόκειται να προωθηθούν για ανθρώπινη χρήση.

**Πίνακας 5.** Συμβατικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανάκτηση φυσικών προϊόντων (Handa et al, 2008)

Συμβατικές μέθοδοι	
Εκχύλιση Soxhlet	Εκχύλιση υγρού υπό πίεση (pressurized liquid extraction)
Θερμική εκρόφηση (thermal desorption)	Αντίθετου ρεύματος εκχύλιση (counter current extraction)
Διαβροχή (maceration)	Απόσταξη ατμού (steam distillation)
Φυτική εκρόφηση (phytonic desorption)	Διήθηση (percolation)
Έγχυση (infusion)	Επεξεργασία μεμβράνης (membrane process)
Εκχύλιση έκπλυσης (leaching extraction)	Αφέψημα (decoction)
Εκχύλιση με μεσολάβηση επιφανειοδραστικού (surfactant mediated extraction)	Μέθοδος διαταραχής δείγματος (sample disruption method)
Επιταχυνόμενη εκχύλιση με διαλύτη (accelerated solvent extraction)	Εκχύλιση αιθέριων ελαίων (enfleurage)

#### 3.2.1.1. Διαβροχή (maceration)

Η διαβροχή είναι μια τεχνική εκχύλισης, κατά την οποία η φυτική ύλη βυθίζεται σε κρύο νερό, μέσα σε ένα αεροστεγές δοχείο, για αρκετές μέρες (Ζαχαρόπουλου, 2003).

#### 3.2.1.2. Έγχυση (infusion)

Πρόκειται για μια τεχνική κατά την οποία η φυτική ύλη τοποθετείται σε ένα δοχείο και καλύπτεται με νερό θερμοκρασίας 70-90C για μερικά λεπτά (Ζαχαρόπουλου, 2003). Η αναλογία φυτικής ύλης:νερού είναι συνήθως 2-5:100. Η έγχυση θεωρείται ως η καταλληλότερη μέθοδος για την παραλαβή ευαίσθητων αντιοξειδωτικών και αιθέριων ελαίων από τα φυτά (Σφλώμος, 2018).

#### 3.2.1.3. Αφέψημα (decoction)

Αφέψημα είναι το υγρό που προκύπτει από τη συμπύκνωση του αποστάγματος μιας φυτικής ύλης με θέρμανση ή βρασμό σε νερό (Ζαχαρόπουλου, 2003). Η αναλογία φυτικής ύλης:νερού είναι 1 κ.σ. φυτική ύλη : 4 φλ. νερό. Η τεχνική του βρασμού χρησιμοποιείται κυρίως με σκοπό την παραλαβή των θεραπευτικών συστατικών των φυτών που βρίσκονται στους σπόρους, στα στελέχη και στις ρίζες (Σφλώμος, 2018).

#### 3.2.1.4. Εκχύλιση στερεού-υγρού (Solid liquid extraction)

Η εκχύλιση στερεού υγρού χρησιμοποιείται κυρίως σε βιομηχανικές διεργασίες εκχύλισης για την ανάκτηση βιοδραστικών ενώσεων από τα φύλλα της ελιάς.

Η μεθανόλη αποτελεί έναν πολύ αποτελεσματικό διαλύτη, ιδιαίτερα για την παραλαβή εκχυλισμάτων με υψηλά επίπεδα φλαβονοειδών. Σύμφωνα με τους Rafiee et al., 2012 η εκχύλιση σε 80% μεθανόλη ήταν η πιο αποδοτική, δίνοντας υψηλές τιμές πολυφαινόλων. Ακόμα, έπειτα από ανάλυση με τη μέθοδο DPPH και τη μέθοδο δείκτη οξειδωτικής σταθερότητας (OSI) αποδείχτηκε η υψηλή αντιοξειδωτική δράση των φύλλων της ελιάς, καθώς οι ολικές φαινόλες που ελήφθησαν από τις ποικιλίες μεγαρίτικη, καλαμών και κορωνέικη χρησιμοποιώντας μεθανόλη / νερό (60/40) ως διαλύτη, ήταν 6.094, 5.579 και 6.196 mg GAE / kg ξηρών φύλλων ελιάς, αντίστοιχα (Kiritsakis et al., 2010).

Ένα μεγάλο μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η χρήση διαλυτών οι οποίοι είναι τοξικοί (Tsakona et al., 2012). Προκειμένου το παραγόμενο εκχύλισμα να χρησιμοποιηθεί ως συστατικό στη βιομηχανία των τροφίμων ή των φαρμάκων, θα πρέπει να υποστεί επιπλέον επεξεργασία ώστε να απομακρυνθούν οι τοξικοί διαλύτες. Επίσης, ο μεγάλος χρόνος που απαιτείται για την διεργασία της, καθιστά δύσκολο να προσαρμοστεί σε βιομηχανική κλίμακα. Μια οικονομική και οικολογική λύση είναι η χρήση απεσταγμένου νερού ρυθμισμένου σε pH 3, στους 60°C για 4 ώρες, όπου έχει την υψηλότερη απόδοση εκχύλισης της ελαιοευρωπαϊνης από φύλλα ελιάς. (Ansari et al., 2011). Ακόμα, ο βρασμός των αποξηραμένων φύλλων απέδωσε 96% και 94% ελαιοευρωπαϊνης και verbascoside, αντίστοιχα, κατά την εκχύλιση τους (Malik & Bradford, 2008).

Παρακάτω παρατίθεται ένας πίνακας με επιπλέον έρευνες πάνω στις αντιοξειδωτικές και τις αντιμικροβιακές ιδιότητες των φύλλων της ελιάς, καθώς και τα αποτελέσματά τους.

**Πίνακας 6.** Τεχνικές εκχύλισης στερεού – υγρού σε φύλλα ελιάς

Διαλύτης	Υλικό	Αποτελέσματα	Ποικιλία	Βιβλιογραφία
----------	-------	--------------	----------	--------------

Αιθανόλη 80%	-	CS <sub>50</sub> στα 0,1mg Φαινολικό περιεχόμενο = 3mg CAE/g Μέγιστη αντιοξειδωτική δραστικότητα (82% στα 0.3mg)	-	Fares et al. (2011)
Απεσταγμένο νερό, 80% μεθανόλη, 70% αιθανόλη και 80% ακετόνη	Φρέσκα φύλλα	Φαινολικό περιεχόμενο = 16.52-24.93 mg GAE/g Περιεχόμενο φλαβονοειδών 6.23- 21.47mg κατεχίνης/g DPPH IC <sub>50</sub> = 0.17-0.97 mg*m/L ABTS αντιοξειδωτική ικανότητα: 629.87- 1064.25μmol TE/g	Chetoui	Abaza et al. (2011)
H <sub>2</sub> O:EtOH (1:1)	Φρέσκα φύλλα	Περιεκτικότητα ελαιοευρωπαϊνης = 10.4%	Moraiolo	Briante et al. (2002)
Αποστειρωμένο απεσταγμένο νερό	Αποξηραμένα φύλλα	Αντί-HIV δραστηριότητα, λόγω ελαιοευρωπαϊνης 12.8% EC <sub>50</sub> = 40mg/ml	-	Lee-Huang et al. (2003)
αΜεθανόλη	Αποξηραμένα φύλλα	Ελαιοευρωπαϊνη= 2.44g/100g Υδροξυτυροσόλη= 1.38g/100g	Chemlali	Jemai et al (2009)
Αιθανόλη & νερό (70:30) με ατμό και ζεμάτισμα ζεστού νερού	Φρέσκα φύλλα	Αύξηση στην περιεκτικότητα ελαιοευρωπαϊνης και στην ατιοξειδωτική ικανότητα, 25-35 και 4-13 φορές αντίστοιχα Υψηλότερη δρατικότητα στα δείγματα που υπέστησαν ζεμάτισμα με ζεστό νερό	-	Stamatopoulos et al. (2012)
Μεθανόλη & νερό (4:1)	Φρέσκα φύλλα	Ελαιοευρωπαϊνη = 4.32g/100g	Chemlali	Jemai (2008)
Μεθανόλη & νερό (4:1)	Αποξηραμένα φύλλα	Φαινολικό περιεχόμενο = 15.55mg GAE/g	-	Bouallagui et al. (2011)

### 3.2.1.5. Εκχύλιση Soxhlet

Η εκχύλιση Soxhlet περιλαμβάνει επαναλαμβανόμενη απόσταξη διαλυτών μέσω ενός στερεού δείγματος για την απομάκρυνση της αναλύομενης ουσίας (Demirbaş, 2001). Ανακαλύφθηκε το 1879, από τον von Soxhlet και από τότε έχει αποτελέσει πηγή αναφοράς για πολλές από τις νέες μεθόδους εκχύλισης (Luque de Castro & Priego-Carote, 2010). Το δείγμα τοποθετείται σε ένα φιαλίδιο που γεμίζει σταδιακά με συμπυκνωμένο φρέσκο διαλύτη από μια φιάλη απόσταξης. Όταν το υγρό φτάσει στο επίπεδο υπερχειλίσης, ένα σιφόνι αναρροφά τη

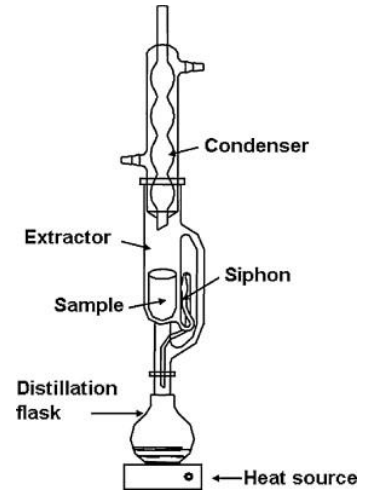
διαλυμένη ουσία από το φιαλίδιο και το πηγαίνει πίσω στη φιάλη απόσταξης, μεταφέροντας έτσι τους εκχυλισμένους αναλύτες στο υγρό. Αυτή η λειτουργία επαναλαμβάνεται έως ότου ολοκληρωθεί η εκχύλιση.

Η τεχνική Soxhlet έχει αρκετά πλεονεκτήματα. Αρχικά, το δείγμα έρχεται συνεχώς σε άμεση επαφή με νέο διαλύτη, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη απόδοση εκχύλισης. Επιπλέον, δεν απαιτείται διήθηση μετά την έκπλυση και η απόδοση του δείγματος μπορεί να αυξηθεί εκτελώντας παράλληλα πολλές ταυτόχρονες εκχυλίσεις. Είναι μια απλή διαδικασία που απαιτεί λίγη εκπαίδευση, ο βασικός εξοπλισμός της έχει χαμηλό κόστος και μπορεί να εκχυλίσει μεγαλύτερη μάζα δείγματος από τις νέες, μη συμβατικές τεχνικές (εκχύλιση με μικροκύματα, εκχύλιση υπερκρίσιμων υγρών κ.λπ.) (Luque de Castro & Priego-Capote, 2010).

Κάποια μειονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι ότι απαιτεί μεγάλο χρόνο εκχύλισης και είναι δύσκολο να αυτοματοποιηθεί.

Το εύρος των διαλυτών που χρησιμοποιούνται είναι περιορισμένο και χρειάζεται μεγάλη ποσότητα αυτών, ενώ ταυτόχρονα το κόστος τους είναι υψηλό. Επίσης, υπάρχει η πιθανότητα να αποικοδομηθούν οι ενώσεις, λόγω τοπικής υπερθέρμανσης (Neda et al., 2015; Luque de Castro & Priego-Capote, 2010).

Σύμφωνα με μια μελέτη, τα αποτελέσματα της εκχύλισης φύλλων ελιάς έδειξαν ότι η απόδοση εκχύλισης μαννιτόλης είναι 57,34% (w/w) και ο συντελεστής κατανομής ισορροπίας για την ίδια περίοδο είναι 194,4 kg αιθανόλης / kg φύλλων ελιάς (Ghoreishi & Shahrestani, 2009).



**Εικόνα 8.** Εκχυλιστής Soxhlet (Luque de Castro & Priego-Capote, 2010)

### 3.2.2. Μη συμβατικές τεχνικές εκχύλισης

Είναι πλέον αποδεκτό ότι οι μη συμβατικές τεχνικές εκχύλισης, υπερτερούν των συμβατικών τεχνικών σε πολλές πλευρές. Οι περισσότερες από αυτές κατά ένα μεγάλο βαθμό είναι αυτοματοποιημένες και πολλές παράμετροι τους μπορούν να ελέγχονται ταυτόχρονα. Πέραν αυτών, έχουν μικρότερους χρόνους εκχύλισης, χαμηλότερο κόστος προετοιμασίας, καλύτερη απόδοση και τα προϊόντα που προκύπτουν από την εκχύλιση είναι αναβαθμισμένης ποιότητας (Gurta et al., 2012). Παράμετροι όπως ο χρόνος και η θερμοκρασία εκχύλισης, η επιλεγμένη μέθοδος και ο διαλύτης επηρεάζουν σημαντικά την ανάκτηση των φαινολών. Ειδικότερα, στην επεξεργασία των φύλλων της ελιάς οι ερευνητές έχουν στραφεί στην μελέτη των υδροαλκοολικών διαλυτών, όπως η μεθανόλη ή η αιθανόλη, λόγω της ικανότητάς τους να εκχυλίσουν τόσο λιπόφιλες όσο και υδρόφιλες φαινόλες (Tsakona et al., 2012). Υδρο-αιθανολικά μίγματα έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την ανάκτηση φαινολών από αποξηραμένο φασκόμηλο (*Salvia officinalis*) (Durling et al., 2007).

Οι μη συμβατικές τεχνικές εκχύλισης που χρησιμοποιούνται κυρίως στην εκχύλιση βιοενεργών ενώσεων από φύλλα ελιάς είναι οι εξής (Neda et al., 2015):

- Υποβοηθούμενη με μικροκύματα εκχύλιση (Microwave Assisted Extraction - MAE)
- Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους (Ultrasound Assisted Extraction – UAE)
- Υπερκρίσιμη εκχύλιση ρευστού (Supercritical Fluid Extraction - SFE)
- Εκχύλιση υπό πίεση υγρού (Pressurized Liquid Extraction PLE)
- Δυναμική εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους (Dynamic ultrasound-assisted extraction - DUAE)
- Εκχύλιση με υπερκρίσιμο νερό (Supercritical Water Extraction SWE)
- Εκχύλιση με υπέρθερμο υγρό (Superheated Liquid Extraction - SLHE)
- Εκχύλιση με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα (Supercritical carbon dioxide extraction –SC-CO<sub>2</sub>)
- Εκχύλιση με συνδυασμό τεχνικών

Έχοντας ως κριτήριο την πολικότητα των ενώσεων, οι περισσότερες πολικές ενώσεις, όπως τα παράγωγα ελαιοευρωπαϊνης, εκχυλίζονται καλύτερα με την εκχύλιση με μικροκύματα, ενώ για τις λιγότερο πολικές ενώσεις, όπως για παράδειγμα η λουτεολίνη ή η απιγενίνη, οι πιο αποτελεσματικές μέθοδοι είναι η εκχύλιση υπερκρίσιμων υγρών και η εκχύλιση υπό πίεση υγρού (Taamalli et al., 2012a).

#### 3.2.2.1. Υποβοηθούμενη με μικροκύματα εκχύλιση (Microwave Assisted Extraction - MAE)

Η εφαρμογή των μικροκυμάτων για φυτικά υλικά αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τον Ganzler και τους συναδέλφους του, το 1986 (Kaufmann & Christen, 2002). Χαρακτηρίζεται ως μια οικολογική μέθοδος για την εκχύλιση βιολογικά ενεργών ενώσεων από διαφορετικά φυτικά υλικά. Στα πλεονεκτήματά της είναι η χαμηλή απαίτηση οργανικών διαλυτών και το χαμηλό κόστος. Ακόμα, είναι πιο αποτελεσματική και εύκολη μέθοδος, έχει υψηλή εκλεκτικότητα, και αποδίδει υψηλότερες ανακτήσεις σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους (Rafiee et al., 2011).

Πρόκειται για μια μη συμβατική μέθοδο εκχύλισης, εργαστηριακής κλίμακας, κατά την οποία μειώνεται σημαντικά ο χρόνος εκχύλισης, σε σύγκριση με την διαβροχή, που απαιτεί τουλάχιστον 5 ώρες (Sanchez-Avila et al., 2009). Πιο συγκεκριμένα, η ποσοτική απομόνωση των αναλυτών στόχων, επιτυγχάνεται από τη MAE σε 5 λεπτά. Σε μια μελέτη που έγινε για την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από υποπροϊόντα κρασιού, η MAE έδωσε καλύτερη απόδοση σε πολύ μικρότερο χρόνο (17 λεπτά), συγκριτικά με την εκχύλιση στερεού - υγρού (24 ώρες) (Perez-Serradilla & Luque de Castro, 2011). Μπορεί, ακόμα, να χρησιμοποιηθεί για την εκχύλιση των αιθέριων ελαίων από το φυτικό υλικό, καθώς η ακτινοβολία έχει την ικανότητα να θερμαίνει αποτελεσματικά όλο το στερεό υλικό (Handa et al., 2008).

Επιπλέον, είναι ένα ετερογενές σύστημα, επομένως οι πιθανότητες που υπάρχουν να συμβεί αποικοδόμηση των φυτοσυστατικών από υπερθέρμανση είναι λίγες, διότι αυτό το φαινόμενο συμβαίνει στα ομοιογενή συστήματα (Gurta et al., 2012). Από την άλλη πλευρά, οι υψηλές θερμοκρασίες εκχύλισης, μπορεί να επηρεάσουν τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες του φυτικού υλικού.

Στα εμπορικά όργανα μικροκυμάτων, η συχνότητα που χρησιμοποιείται συνήθως είναι τα 2450 MHz (2,45 GHz), που έχουν ενεργειακή απόδοση 600-700 W (Jain et al., 2009). Όταν το φυτικό υλικό βυθίζεται μέσα σε έναν διάφανο διαλύτη μικροκυμάτων, η θερμότητα της ακτινοβολίας μικροκυμάτων φτάνει απευθείας στο στερεό χωρίς να απορροφάται από τον διαλύτη, με αποτέλεσμα τη στιγμιαία θέρμανση της υπολειπόμενης υγρασίας στο στερεό. Λόγω της θέρμανσης αυτής, εξατμίζεται η υγρασία και δημιουργείται υψηλή πίεση ατμών που σπάει το κυτταρικό τοίχωμα του υποστρώματος και απελευθερώνει το περιεχόμενο στον διαλύτη (Gurta et al., 2012). Η ακετόνη θεωρείται ως ο καλύτερος διάφανος διαλύτης μικροκυμάτων για την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων (Proestos & Komaitis, 2007), αλλά εκτός από αυτή χρησιμοποιούνται και η μεθανόλη, η αιθανόλη και το νερό.

Οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση των οργανικών ενώσεων με τη χρήση μικροκυμάτων περιλαμβάνουν την ενεργειακή απόδοση των μικροκυμάτων, τον χρόνο έκθεσης, την πίεση, το ιξώδες του δείγματος, την υγρασία και τη φύση της μήτρας, καθώς και τη φύση και τον όγκο του διαλύτη (Reyes-Jurado et al., 2015).

**Πίνακας 7.** Εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα σε φύλλα ελιάς

Διαλύτης	Χρόνος έκθεσης	Αποτελέσματα	Ποικιλία ελιάς	Αναφορές
Αιθανόλη 80%	5 min	Αποτελεσματικότητα εκχύλισης παρόμοια με τις συμβατικές μεθόδους (93-112%) Περιλαμβάνει τριτερπενικά οξέα (ολεναολικό, ουρσολικό, μασλινικό) και τριτερπενικές διαλκοόλες (ουβαόλη και ερυθροδιόλη)	Hojiblanca και Acebuche	Sanchez-Avila et al. (2009)
Μεθανόλη 80%	900W / 15 min	Φαινολικό περιεχόμενο = 88.298mg TAE/g IC <sub>50</sub> σε DPPH = 86.81 μg/ml	Κορωνέικη	Rafiee et al. (2011)
Μεθανόλη 80%	900W / 15 min	Συνολικό φαινολικό περιεχόμενο = 211.385 mg TAE/g	Mishen	Rafiee et al. (2012)
Μεθανόλη 80%	80C, 6 min	Εκχύλιση πιο πολικών ενώσεων, όπως παράγωγα ελαιοευρωπαϊνης κ.α.	Oueslati, Chetoui, Chemlali, El Hor, Jarboui	Taamalli et al. (2012a)

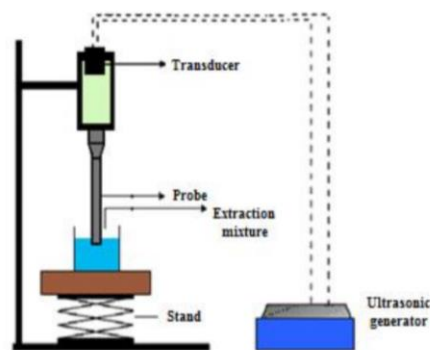
Έχει χρησιμοποιηθεί για την εκχύλιση ελαιοευρωπαϊνης από αποξηραμένα φύλλα ελιάς, μετά από ακτινοβολία μικροκυμάτων στα 800W για 10 λεπτά (Procopio et al., 2009). Επίσης, σε μια έρευνα που έγινε εκχύλιση σε φύλλα ελιάς από την Τυνησία υπό βέλτιστες συνθήκες μεθανόλης: νερού (80:20, v/v), σε θερμοκρασία 80C για 6 λεπτά, βρέθηκαν το σεκοϊριδοειδές 2''-μεθοξυελαιοευρωπαϊνη, το φλαβονοειδές διοσμίνη και το ισομερές του, το ισομερές διγλυκοσίδη λουτεολίνης και το ισομερές ρουτινοσίδη λουτεολίνης (Taamalli et al., 2012). Σύμφωνα με τον Japon-Lujan & de Castro (2007), η ταυτόχρονη εκχύλιση μικρών κλαδιών και φύλλων από ελιά παράγει εκχυλίσματα με υψηλότερη ποικιλία βιοφαινόλων. Ταυτόχρονα, όμως, αν γίνει ξεχωριστή εκχύλιση των φύλλων και των κλαδιών, δίνονται εκχυλίσματα πλουσιότερα σε ελαιοευρωπαϊνη και verbascoside, χωρίς τυροσόλη, α-ταξιφολίνη και υδροξυτυροσόλη ή εκχυλίσματα πλούσια σε αυτές τις τρεις βιοφαινόλες αντίστοιχα (Japon-Lujan & de Castro, 2007).

### 3.2.2.2. Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους (Ultrasound Assisted Extraction – UAE)

Η υποβοηθούμενη εκχύλιση με υπερήχους περιλαμβάνει την εφαρμογή ηχητικών κυμάτων υψηλής έντασης, υψηλής συχνότητας και την αλληλεπίδρασή τους με υλικά. (Gupta et al., 2012). Λόγω της δόνησης των στερεών και των υγρών σωματιδίων, από τους υπέρηχους, η διαλυμένη ουσία διαχέεται γρήγορα από τη στερεή φάση στον διαλύτη, (Cares et al., 2009), παράλληλα αποτρέποντας τον κορεσμό του διαλύτη που περιβάλλει τον φυτικό ιστό.

Δεν απαιτεί πολύπλοκα όργανα, είναι χαμηλού κόστους και μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο σε μικρή όσο και σε μεγάλη κλίμακα. Περαιτέρω πλεονεκτήματα είναι ο βελτιωμένος ρυθμός εκχύλισης, που επιτυγχάνεται με αύξηση των ρυθμών μεταφοράς μάζας και ρήξη του τοιχώματος των κυττάρων λόγω του σχηματισμού μικροκοιλίων. Ως αποτέλεσμα, προκύπτουν υψηλότερες αποδόσεις προϊόντος με μειωμένο χρόνο επεξεργασίας, μικρότερη κατανάλωση διαλυτών και λιγότερες απώλειες θερμικής αποδόμησης και κατανάλωσης νερού και ενέργειας (Rodrigues & Fernandes, 2009). Ένα μεγάλο μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η τοξική επίδραση της ενέργειας υπερήχων (> 20kHz) στα ενεργά συστατικά των φαρμακευτικών φυτών μέσω του σχηματισμού ελεύθερων ριζών (Handa et al., 2008).

Έχουν γίνει πολλές μελέτες για την εφαρμογή της UAE με σκοπό την εκχύλιση διαφορετικών φυσικών μορίων, όπως αντιοξειδωτικών, αιθέριων ελαίων κ.α. από διαφορετικά φυτικά υλικά. Αρχικά, έχει χρησιμοποιηθεί για τον ατομικό προσδιορισμό και την ποσοτικοποίηση



**Εικόνα 9.** Σχηματική αναπαράσταση της μεθόδου UAE (Gupta et al., 2012)



στερολών και λιπαρών αλκοολών σε φύλλα ελιάς (Orozco-Solano et al., 2010). Επιπροσθέτως, σε ένα άλλο πείραμα, τα φύλλα ελιάς απέδωσαν την υψηλότερη ελαιοευρωπαϊνή (92,3%) στο συντομότερο χρόνο εκχύλισης, χρησιμοποιώντας έναν μόνο κύκλο με τη μέθοδο UAE σε συνδυασμό με τη μέθοδο μειωμένης πίεσης (Carcel et al., 2010). Ο χρόνος που απαιτείται για την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από φύλλα ελιάς είναι 15 λεπτά, σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους, που είναι 24h (Ahmad-Qasem et al., 2013). Ακόμα, η UAE δίνει υψηλότερη απόδοση εκχύλισης ορισμένων φλαβονοειδών και συνολικών ισοφλαβόνων σε λιγότερο χρόνο συγκριτικά με την διαβροχή και την εκχύλιση Soxhlet (Sun et al., 2011).

Υπάρχει επιπλέον και η δυναμική εκχύλιση, υποβοηθούμενη με υπερήχους (Dynamic ultrasound-assisted extraction - DUAE) η οποία έχει χρησιμοποιηθεί για την απομόνωση και τον χαρακτηρισμό των τριτερπενικών ενώσεων φύλλων ελιάς (Khajeh et al., 2005) και την εκχύλιση των βιοφαινολών τους.

### 3.2.2.3. Εκχύλιση υπό πίεση υγρού (Pressurized Liquid Extraction PLE)

Η εκχύλιση υπό πίεση υγρού (PLE) είναι μια μέθοδος εκχύλισης η οποία μέσω αυξημένης θερμοκρασίας και πίεσης με υγρούς διαλύτες επιτυγχάνει γρήγορη και αποτελεσματική εκχύλιση των ουσιών από στερεές μήτρες (Martinez et al., 2007).

Οι Xynos et al (2014) εφάρμοσαν την PLE σε φύλλα ελιάς μαζί με αιθανόλη και νερό, στους 150°C και 200°C αντίστοιχα, με σκοπό να αυξήσουν την απόδοση εκχύλισης, την περιεκτικότητα των εκχυλισμάτων σε ελαιοευρωπαϊνή και την αντιοξειδωτική τους δράση. Το HPLC αναγνώρισε 31 διαφορετικές φαινολικές ενώσεις σε αυτά τα εκχυλίσματα, συμπεριλαμβανομένων των σεκοϊριδοειδών, των απλών φαινολών, των φλαβονοειδών, των παραγώγων κινναμικού οξέος, των βενζοϊκών οξέων και επίσης του lucidumoside C, που αναγνωρίστηκε πρώτη φορά. Επιπλέον, όσον αφορά την απόδοση εκχύλισης, η εκχύλιση με αιθανόλη στους 190°C για 3 διαδοχικούς κύκλους ήταν η βέλτιστη, ενώ, όσον αφορά την περιεκτικότητα του εκχυλίσματος σε ελαιοευρωπαϊνή, το μίγμα νερού/αιθανόλης (43:57) στους 190°C για 1 κύκλο εκχύλισης είχε τα καλύτερα αποτελέσματα.

Σε αυτή την κατηγορία συμπεριλαμβάνονται και κάποιες άλλες μέθοδοι, όπως η μέθοδος εκχύλισης υψηλής πίεσης (HPE), η επεξεργασία υψηλής υδροστατικής πίεσης (HPP) και η μέθοδος εξαιρετικά υψηλής πίεσης εκχύλισης (UPE) (Neda et al., 2015). Η HPE είναι μια πολύ γρήγορη μέθοδος, συμβάλλει σε υψηλότερες αποδόσεις εκχύλισης, έχει λιγότερες αποθέσεις, πραγματοποιείται σε θερμοκρασία δωματίου, και αποτρέπει τη θερμική αποικοδόμηση και την απώλεια βιοδραστικότητας των εκχυλισμένων συστατικών. Η HPP είναι μια μη-θερμική μέθοδος η οποία έχει μικρότερο χρόνο εκχύλισης, υψηλότερη απόδοση, λιγότερες αποθέσεις και χαμηλότερη κατανάλωση ενέργειας (Huang et al., 2013). Τέλος, η UPE είναι εξαιρετικά αποτελεσματική για την εκχύλιση βιοδραστικών υλικών από φυτικά υλικά και αποδίδει εκχυλίσματα με υψηλές αντιοξειδωτικές ιδιότητες.

#### 3.2.2.4. Υπερκρίσιμη εκχύλιση ρευστού (Supercritical Fluid Extraction - SFE)

Η υπερκρίσιμη εκχύλιση ρευστού είναι μια νέα οικολογική μέθοδος, φιλική ως προς το περιβάλλον, καθώς κατά κύριο λόγο η εκχύλιση διεξάγεται με την χρήση νερού, μειώνοντας έτσι την χρήση οργανικών διαλυτών (Ghoreishi & Shahrestani, 2009). Βασίζεται στη χρήση διαλυτών στην υπερκρίσιμη κατάσταση τους, πράγμα που σημαίνει ότι υπόκεινται σε θερμοκρασίες και πιέσεις πάνω από τα κρίσιμα σημεία τους. Χρησιμοποιείται κυρίως για την εκχύλιση πτητικών ή αρωματικών ενώσεων, όπως αιθέρια έλαια και καφεΐνη από φυτικά υλικά και σε συνδυασμό με το γεγονός ότι η διεργασία πραγματοποιείται σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος, οι ενώσεις αυτές δεν κινδυνεύουν από θερμική μετουσίωση (Gupta et al., 2012). Ένα ακόμη πλεονέκτημα είναι ότι υπάρχει μεγάλη ευελιξία όσον αφορά τη διαχείριση των μεταβλητών που επηρεάζουν την SFE (π.χ. θερμοκρασία, πίεση). Αυτό δίνει την δυνατότητα στον χειριστή να μεταβάλλει τις συνθήκες ανάλογα με την εκλεκτικότητα κάθε ουσίας. Επίσης, το γεγονός ότι αποτελεί μια διαδικασία που λαμβάνει μέρος στο τέλος της επεξεργασίας του φυτικού υλικού, συντελεί σε προϊόν αναβαθμισμένης ποιότητας, σε σύγκριση με άλλες τεχνικές όπως η εξάτμιση και η απόσταξη (Tabera et al., 2012). Άλλα πλεονεκτήματα είναι η απουσία υπολειμμάτων διαλυτών, η υψηλή διαλυτότητα, οι γρήγοροι ρυθμοί εκχύλισης και το χαμηλό ιξώδες του υπερκρίσιμου υγρού, που επιτρέπει πιο επιλεκτικές εκχυλίσεις (Handa et al., 2008).

Η ευελιξία στη διαχείριση των μεταβλητών που εμπλέκονται στη διαδικασία SFE επιτρέπει σε κάποιον να βελτιστοποιήσει τις πειραματικές συνθήκες, λαμβάνοντας υπόψη την επιλεκτικότητα μιας ουσίας ή κατηγοριών ουσιών που ενδιαφέρουν (Khajeh et al., 2005). Οι παράμετροι που επηρεάζουν την διαδικασία είναι η θερμοκρασία, η πίεση, η υγρασία, ο ρυθμός ροής του διαλύτη, ο χρόνος παραμονής, το μέγεθος των σωματιδίων, η κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων και η προσθήκη συνδιαλύτη (Gupta et al., 2012).

Η εκχύλιση πραγματοποιείται σε εξοπλισμό υψηλής πίεσης είτε κατά παρτίδες ή με συνεχή τρόπο. Και στις δύο περιπτώσεις, ο υπερκρίσιμος διαλύτης έρχεται σε επαφή με το υλικό από το οποίο πρέπει να διαχωριστεί η επιθυμητή ένωση. Στις περισσότερες περιπτώσεις ο διαλύτης που χρησιμοποιείται για την SFE είναι το διοξείδιο του άνθρακα (Handa et al., 2008). Οι λόγοι για τους οποίους επιλέγεται αυτός ο διαλύτης είναι το χαμηλό κόστος του, η καθαρότητα του, η χαμηλή επιφανειακή τάση του και η απουσία τοξικότητας του. Πλην αυτού, η απουσία ελεύθερου οξυγόνου σε αυτό μειώνει τις βλάβες που μπορεί να προκληθούν από οξειδωση (Formato et al., 2013).

Ένα παράδειγμα χρήσης της εκχύλισης υπερκρίσιμου ρευστού αντίστροφης ροής (75 bar, 35°C και 10% αιθανόλη) ήταν για κλασμάτωση προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας από ακατέργαστο εκχύλισμα φύλλων ελιάς σε εξάνιο (Tabera et al., 2012). Σε μια διαφορετική έρευνα, οι Xynos et al. (2012) συνδύασαν την SFE με PLE, χρησιμοποιώντας μη τοξικούς

διαλύτες σε φύλλα ελιάς, καταλήγοντας σε υψηλή απόδοση εκχυλίσματος (44,1%) και υψηλή ανάκτηση της ελαιοευρωπαϊνης (4,6%). Ακόμα, σε πολλές περιπτώσεις, χρησιμοποιείται για την εκχύλιση αντιμικροβιακών ενώσεων, καθώς έχει αποδειχθεί πιο αποτελεσματική σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους.

### 3.3 Εργαστηριακοί μέθοδοι ανάλυσης αντιμικροβιακών ιδιοτήτων

Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για τη μελέτη των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων των φυτικών υλικών. Κάθε διαδικασία μπορεί να αποδώσει διαφορετικά αποτελέσματα, ανάλογα με το φυτικό υλικό που εξετάζεται.

Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα στα περισσότερα πειράματα μετριέται σε δύο βάσεις, MIC (ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση) και MBC (ελάχιστη βακτηριοκτόνος συγκέντρωση) (Neda et al., 2015). Δεν υπάρχουν σαφείς ορισμοί για τις δυο αυτές έννοιες, αναφέρονται, όμως, κάποιοι από αυτούς. Το MIC μπορεί να είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση που απαιτείται για την πλήρη αναστολή του δοκιμαστικού οργανισμού μέχρι και την επώαση 48 ωρών ή η χαμηλότερη συγκέντρωση που αναστέλλει την ορατή ανάπτυξη του δοκιμαστικού μικροοργανισμού. Από την άλλη πλευρά, το MBC μπορεί να είναι η συγκέντρωση όπου το 99,9% ή περισσότερο του αρχικού εμβολίου θανατώνεται ή η χαμηλότερη συγκέντρωση στην οποία δεν παρατηρείται ανάπτυξη μετά την υποκαλλιέργεια σε φρέσκο ζωμό.

Παρακάτω αναφέρονται μερικοί εργαστηριακοί μέθοδοι για την παραλαβή εκχυλισμάτων και τον προσδιορισμό συστατικών που εμπεριέχονται σε αυτά, όπως αναγράφονται στο βιβλίο του Κυριτσάκη Α. (2007).

#### 3.3.1 Παραλαβή μεθανολικών εκχυλισμάτων φαινολών από φυτικές ύλες

Διαδικασία:

- Αρχικά, τοποθετούνται τα φύλλα για τρεις ημέρες σε αερόθερμο κλίβανο (40°C για ξήρανση).
- Διαχωρίζονται τα φύλλα από τους μίσχους και αλέθονται σε μύλο εφοδιασμένο με κόσκινο, που φέρει οπές διαμέτρου 1mm.
- 10g αλεσμένων φύλλων τοποθετούνται μέσα σε γυάλινες κωνικές φιάλες των 500ml και προστίθενται 300ml μεθανόλης.
- Έπειτα, το μίγμα αναδεύεται εν ψυχρώ, με χρήση μαγνητικού αναδευτήρα, για 1h.
- Το μίγμα διηθείται και μεταφέρεται σε εσφυρισμένη σφαιρική φιάλη, όπου απομακρύνεται η μεθανόλη σε περιστροφικό εξατμιστή κενού και θερμοκρασία 40°C.
- Το ξηρό υπόλειμμα που παρέμεινε διαλύεται σε 40ml μεθανόλης / διχλωρομεθάνιου / μίγματος μεθανόλης - διχλωρομεθάνιου (3:2).

- Το διάλυμα τοποθετείται στο ψυγείο για 24h.

### 3.3.2. Απομόνωση και προσδιορισμός της ελαιοευρωπαϊνης από φύλλα ελιάς με διχλωρομεθάνιο και μεθανόλη

Διαδικασία:

- Αρχικά πολτοποιούνται αποξηραμένα φύλλα ελιάς .
- Η σκόνη που προκύπτει εκχυλίζεται με διχλωρομεθάνιο, μεθανόλη και νερό
- Το μεθανολικό εκχύλισμα εξατμίζεται μέχρι ξηρού.
- Δείγμα 130g υποβάλλεται σε χρωματογραφικό διαχωρισμό, με σύστημα διαλυτών  $\text{CH}_2\text{-Cl}_2\text{-MeOH}$ , αυξανόμενης πολικότητας, για την παραλαβή 20 κλασμάτων.
- Τα κλάσματα 8-9 εκχυλίζονται με διαλύτη  $\text{CH}_2\text{-Cl}_2\text{-MeOH}$  (90:10 v/v) και αποδίδουν περίπου 50g ελαιοευρωπαϊνης.
- Τέλος, εξετάζεται η καθαρότητα της προκύπτουσας ελαιοευρωπαϊνης με HPLC και NMR φασματοσκοπία.

### 3.3.2 Ερευνητική βιβλιογραφία

**Πίνακας 8.** Αντιμικροβιακή δραστηριότητα σε εκχυλίσματα φύλλων ελιάς

Εκχύλισμα	Φαινολικές ενώσεις	Συγκέντρωση ενώσεων (mg/kg)	Συγκέντρωση διαλύματος	Αντιμικροβιακό Τεστ	Μικροοργανισμοί	Αντιμικροβιακή δραστηριότητα	Αναφορές
Υδατικό εκχύλισμα από αλεσμένα ξηρά φύλλα, 20% w/v, 121C, 20min, κοσκινισμένο, Λυοφιλοποιημένο			0,6% 0,6% 0,6%  0,6%  15% 20%	Μακροραβίαση, 105-106 cfu/ml, 1-4h, 37C	Escherichia coli Pseudomonas aeruginosa Staphylococcus aureus Klebsiella pneumoniae Microsporium camis Trichophyton mentagrophytes Trichophyton rubrum Candida albicans Bacillus subtilis	>5 log, 3h >5 log, 1h >5 log, 2h >5 log, 1h >5 log, 3d >5 log, 3d >5 log, 3d >5 log, 24h >2.5 log, 4h	Markin et al. (2003)
Υδατικό εκχύλισμα από αλεσμένα ξηρά φύλλα, 2% w/v, 100C, 45min, φιλτραρισμένο, λυοφιλοποιημένο	Ελαιοευρωπαϊνή  Verbascoside 7-O-γλυκοζιτής λουτεολίνης 4'-O-γλυκοζιτής λουτεολίνης 7-O-γλυκοζιτής απιγενίνης	26471,4  966,1 4208,9 1355,9 2333,1		Κινητική ανάπτυξη, IC25 υπολογισμός, 0,05-5 mg / ml., 10 <sup>7</sup> cfu / ml, 24h, 37 ° C, θολερότητα στα 540 nm	Bacillus cereus  Bacillus subtilis Pseudomonas aeruginosa Staphylococcus aureus  Klebsiella pneumoniae Escherichia coli Candida albicans Cryptococcus neoformans	0,63 mg/ml  4,12 mg/ml 3,22 mg/ml 2,68 mg/ml  3,13 mg/ml 0,85 mg/ml 3,00 mg/ml	Pereira et al (2007)
Εκχύλισμα αθανόλης 80% από κατεψυγμένα φύλλα, 6,25g/25ml, φιλτραρισμένο	7-O-γλυκοζιτής λουτεολίνης  4'-O-γλυκοζιτής λουτεολίνης Ελαιοευρωπαϊνή Verbascoside		65 mg/ml		Listeria monocytogenes  Escherichia coli Salmonella enteritidis	25 mg/ml	Liu Yanhong et al (2017)
Εκχύλισμα ακετόνης από αλεσμένα ξηρά φύλλα, 40% w/v, 4h, Soxhlet	Ελαιοευρωπαϊνή	6,053		Προσδιορισμός MIC, ανάλυση μικροραβίασης ζουμού, 0.01-2 mg/ml, 1.6* 10 <sup>7</sup> cfu/ml, 48h	Bacillus cereus  Enterococcus faecalis Staphylococcus aureus Lactobacillus plantarum Lactobacillus brevis Lactobacillus bulgaricus Streptococcus thermophiles Pediococcus cerevisiae Leuconostoc mesenteroides Salmonella typhimurium Salmonella enteritidis Escherichia coli Pseudomonas aeruginosa Klebsiella pneumoniae	68 µg/ml  90 µg/ml 55 µg/ml 30 µg/ml 30 µg/ml 35 µg/ml 37 µg/ml 26 µg/ml 35 µg/ml 110 µg/ml 170 µg/ml 60 µg/ml 32 µg/ml 25 µg/ml	Korukluoglu et al. (2010)

Στον παραπάνω πίνακα φαίνονται τα αποτελέσματα από διάφορες έρευνες που υπάρχουν στην βιβλιογραφία, με βάση το εκχύλισμα των φύλλων ελιάς σε βακτήρια και μύκητες που προσβάλλουν τον ανθρώπινο οργανισμό. Πολλά από τα περιεχόμενα συμπεράσματα ταυτίζονται, ενώ υπάρχουν και περιπτώσεις όπου οι απόψεις και τα αποτελέσματα συγκρούονται.

Οι Markin et al. (2003) εξέτασαν την αντίδραση του OLE σε αντιμικροβιακό και αντιμυκητιακό επίπεδο. Το εκχύλισμα περιεκτικότητας 0.6% w/v, κατέστρεψε όλα τα βακτήρια σε 3h, εκτός του *B. subtilis* που χρειάστηκε 20% w/v, σε 24h. Αυτό ίσως να οφείλεται στην δυνατότητα του βακτηρίου να δημιουργεί σπόρια. Επίσης, όλα τα κύτταρα του *Candida albicans* νεκρώθηκαν έπειτα από επώαση 24h σε εκχύλισμα 15% w/v. Παρατηρήθηκε ότι τα κύτταρα έγιναν άμορφα και το κυτταρικό τοίχωμα άρχισε να παραμορφώνεται. Το ίδιο συνέβη και με τα κύτταρα του *E.coli*, το οποίο μετά από 6h, σε OLE 0,3% άρχισε να χάνει την αρχική του εμφάνιση, ώσπου μετά από 24h σε OLE 0.6% καταστράφηκε πλήρως. Πέρα από αυτά, και τα δερματόφυτα *Microsporium canis*, *Trichophyton mentagrophytes* και *Trichophyton rubrum* σταμάτησαν να αναπτύσσονται έπειτα από επώαση σε εκχύλισμα 1,25%, για 3 ημέρες (Markin et al., 2003).

Οι Pereira et al. (2007) διερεύνησαν την αντιμικροβιακή δράση των εκχυλισμάτων φύλλων ελιάς έναντι των *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus* (Gram +), *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* (Gram-) βακτηρίων και *C. albicans*, *C. neoformans* μυκήτων. Το αποτέλεσμα που προέκυψε ήταν ότι το εκχύλισμα ανέστειλε όλα τα βακτήρια και τους μύκητες, υποδηλώνοντας μια ευρεία αντιμικροβιακή δράση εκχυλισμάτων φύλλων ελιάς, εξαρτώμενη από την περιεχόμενη συγκέντρωση του εκχυλίσματος. Σύμφωνα με τις τιμές του μικροβιακού ρυθμού ανάπτυξης παρουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων εκχυλίσματος φύλλων ελιάς, η αντιμικροβιακή ικανότητα έχει ως εξής: *B. cereus* ~ *C. albicans* > *E. coli* > *S. aureus* > *C. neoformans* ~ *K. pneumoniae* ~ *P. aeruginosa* > *B. subtilis*. Ο *B. Cereus* (Gram +) και ο *C. albicans* ήταν οι πιο ευαίσθητοι μικροοργανισμοί, παρουσιάζοντας τιμές IC25<sup>5</sup> χαμηλότερες από 1 mg/mL (Pereira et al., 2007).

Οι Aurelia et al. (2008) χρησιμοποίησαν τεχνικές αραίωσης άγαρ και μικροαραίωσης ζωμού, και βρήκαν ως αποτέλεσμα ότι το εκχύλισμα φρέσκων φύλλων ελιάς βρέθηκε να είναι πιο δραστικό έναντι των *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori* και *Staphylococcus aureus* [συμπεριλαμβανομένων των ανθεκτικών σε methicillin *S. aureus* (MRSA)] με ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις (MICs) 0,31– 0,78% (v/v) (Sudjana et al., 2009). Εκτός από τους παραπάνω μικροοργανισμούς, εξέτασαν τη δραστικότητα απέναντι σε 79 ακόμη μικροοργανισμούς, οι οποίοι είχαν MIC 6,25-50% (v/v). Η υψηλή αυτή επίδραση που έχει έναντι των *Campylobacter jejuni* και *Helicobacter pylori* μπορεί να επωφελήσει στην σύνθεση της γαστρικής χλωρίδας μειώνοντας επιλεκτικά τα επίπεδα αυτών των δύο οργανισμών (Sudjana et al., 2009). Είναι σημαντικό, βέβαια, να μην ξεχάμε ότι η δραστηριότητα *in vitro* δεν ισούται με τη δραστηριότητα *in vivo*, ειδικά στην περίπτωση του *H. pylori*, για το οποίο είναι γνωστό ότι μόνο μια περιορισμένη επιλογή παραγόντων είναι αποτελεσματική στην εξάλειψη του από το έντερο *in vivo* (Gerrits et al., 2006).

---

<sup>5</sup> IC25: Συγκέντρωση εκχυλίσματος που αναστέλλει το 25% της μικροβιακής ανάπτυξης.

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα των παραπάνω μεθόδων παρατηρούμε ότι παρόλο που υπάρχουν αρκετές ομοιότητες, η πλειονότητα των αποτελεσμάτων διαφέρει. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στους διαφορετικούς τρόπους επεξεργασίας των φύλλων, καθώς στις δυο πρώτες περιπτώσεις το εκχύλισμα των φύλλων προήλθε από αποξηραμένα φύλλα σε σκόνη και θερμάνθηκε σε αυτόκλειστο (Markin et al., 2003), ή είχε ένα στάδιο βρασμού (Pereira et al., 2007) αντίστοιχα, ενώ στην τελευταία περίπτωση το εκχύλισμα προήλθε από φρέσκα φύλλα (Gerrits et al., 2006).

Σύμφωνα με τους Liu Yanhong et al. (2017), η ελαιοευρωπαϊνή και το verbascoside ως μεμονωμένες ενώσεις είναι πιο ισχυρές ως αντιμικροβιακά, σε σύγκριση με το εκχύλισμα φύλλων ελιάς, για την αναστολή του *L. monocytogenes*, επιβεβαιώνοντας ότι μπορεί να είναι τα κύρια συστατικά του εκχυλίσματος που προκαλούν την αναστολή των τροφιμογενών παθογόνων. Αρχικά, το verbascoside φαίνεται να έχει πιο αποτελεσματική δράση από την ελαιοευρωπαϊνή, καθώς ανέστειλε την ανάπτυξη των *L. monocytogenes*, *E. coli* και *S. enteritidis* σε μεγαλύτερο βαθμό. Από την άλλη πλευρά, τόσο η ελαιοευρωπαϊνή, όσο και το verbascoside είναι λιγότερο αποτελεσματικά στην αναστολή των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων *E. coli* O57: H7 και *S. enteritidis* σε σύγκριση με το Gram+ βακτήριο *L. monocytogenes* (Liu et al., 2017). Αυτό συμβαδίζει με το γεγονός ότι τα Gram- βακτήρια είναι λιγότερο ευαίσθητα στις πολυφαινόλες από τα Gram+ (Seow et al., 2014), καθώς οι βακτηριακές μεμβράνες των Gram+ αλληλεπιδρούν με τα υδρόφοβα συστατικά των πολυφαινολών. Αντίθετα, τα Gram- βακτήρια είναι πιο ανθεκτικά στις πολυφαινόλες, επειδή διαθέτουν υδρόφιλο κυτταρικό τοίχωμα (Calo et al., 2015).

Οι Karygianni et al. (2014) διερεύνησαν την αντιμικροβιακή αποτελεσματικότητα του εκχυλίσματος φύλλων ελιάς, έναντι στοματικών μικροοργανισμών. Για το εκχύλισμα χρησιμοποιήθηκαν κονιοποιημένα φύλλα, τα οποία είχαν αποξηραθεί φυσικά, και ακετόνη. Ύστερα από την πειραματική πορεία, προέκυψε ότι το εκχύλισμα απέδωσε μια ήπια αντιμικροβιακή δράση εναντίον των παθογόνων μικροοργανισμών του στόματος. Οι τιμές MIC των εξοντωμένων μικροβιακών στελεχών κυμαίνονταν μεταξύ 0,07 mg/mL για το *S. oralis* και 10,00 mg/mL για τα *C. albicans* και *Escherichia coli*. Οι τιμές MBC έδειξαν την επιμονή των προαιρετικών αναερόβιων παρουσία του εκχυλίσματος του φύλλου (10.00mg/ml). Πιο συγκεκριμένα, το εκχύλισμα ήταν πιο αποτελεσματικό στην αντιμετώπιση Gram-, αναερόβιων παθογόνων μικροοργανισμών, όπως τα *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* και *Fusobacterium nucleatum*.

Οι Korukluoglu et al (2010) εξέτασαν τη δραστηριότητα διάφορων εκχυλισμάτων φύλλων ελιάς, απέναντι σε ένα φάσμα βακτηρίων. Αρχικά, πιο δραστική φαινολική ουσία αποδείχθηκε η ελαιοευρωπαϊνή, αναστέλλοντας την ανάπτυξη όλων των εξεταζόμενων βακτηρίων, εκτός των *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* και *Salmonella enteritidis*. Για την ακρίβεια, καμία φαινολική ένωση δεν εμφάνισε αντιβακτηριακή δραστηριότητα έναντι των

προαναφερθέντων βακτηρίων. Επιπλέον, το υδατικό εκχύλισμα, ήταν πλήρως ανενεργό, σε αντίθεση με τα εκχυλίσματα ακετόνης, αιθυλικής αλκοόλης και διεθυλαιθέρα. Το εκχύλισμα ακετόνης ήταν το πιο δραστικό έναντι των *S. enteritidis*, *B. cereus*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. faecalis*, *S. thermophilus* και *L. bulgaricus*. Αυτό δικαιολογείται από το γεγονός ότι η περιεκτικότητα της ελαιοευρωπαϊνης ήταν μεγαλύτερη σε αυτό το εκχύλισμα (6.053mg/kg). Από την άλλη πλευρά, το εκχύλισμα διεθυλαιθέρα ήταν περισσότερο αποτελεσματικό έναντι των *L. plantarum*, *L. brevis*, *P. aeruginosa* και *S. aureus*. Όσον αφορά το εκχύλισμα αιθυλικής αλκοόλης, η δραστηριότητα του επικεντρωνόταν περισσότερο στο *K. pneumoniae*.

Λαμβάνοντας υπόψη τα προηγούμενα αποτελέσματα ερευνών (π.χ. Markin et al., 2003) για την δραστηριότητα των υδατικών εκχυλισμάτων φύλλων ελιάς, παρατηρείται αντίθεση με την προκειμένη μελέτη. Η αντίθεση αυτή μπορεί να οφείλεται στις διαφορές ανάμεσα στις ποικιλίες της ελιάς που εξετάστηκαν, στην περιεκτικότητα των εκχυλισμάτων σε βιοδραστικές ουσίες, ή ακόμη και στη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω.



## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζονται οι αντιμικροβιακές και οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες που περιλαμβάνονται στα φύλλα της ελιάς καθώς και στο εκχύλισμα τους.

Τα φύλλα της ελιάς είναι ένα παραπροϊόν το οποίο έχει αναγνωρισθεί για τις ευεργετικές ιδιότητες που έχει στον ανθρώπινο οργανισμό, από την αρχαιότητα. Οι ιδιότητες αυτές οφείλονται στις ισχυρά βιοενεργές πολυφαινόλες που περιέχουν, με σημαντικότερες αυτές την ελαιουρωπαΐνη και την υδροξυτυροσόλη. Σύμφωνα με πολλές μελέτες που έχουν γίνει πάνω στην δράση των προαναφερθέντων πολυφαινολών, το εκχύλισμα των φύλλων της ελιάς εμφανίζει αντιμικροβιακή, αντιοξειδωτική, αντιμυκητιακή και αντικαρκινική δράση, αναστέλλοντας τη λειτουργία πολλών παθογόνων μικροοργανισμών και παράλληλα εμποδίζοντας την δημιουργία και ανάπτυξη ελεύθερων ριζών. Έτσι, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόληψη και αντιμετώπιση πολλών ασθενειών που οφείλονται στον οξειδωτικό στρες ή σε βακτήρια και ιούς.

Συγκρίνοντας τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για την παραλαβή του εκχυλίσματος, παρά την αποδοτική εκχύλιση που προέκυπτε με το μηχάνημα Soxhlet, οι μη-συμβατικές μέθοδοι είχαν πιο αποδοτικά αποτελέσματα, έχοντας χαμηλότερο κόστος διεργασίας και μικρότερους χρόνους.

Επιπροσθέτως, η μέθοδος που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση, αλλά και την εξέταση των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων του εκχυλίσματος φύλλων ελιάς παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στο τελικό αποτέλεσμα. Για αυτό το λόγο πολλές έρευνες είχαν αντικρουόμενα αποτελέσματα, χωρίς να αποκλίνουν, βεβαίως, από το κοινό συμπέρασμα ότι το φύλλο της ελιάς αποτελεί ένα φυτικό υλικό με πολλές ευεργετικές ιδιότητες οι οποίες αν αξιοποιούνταν στο έπακρο, θα μπορούσαν να αποτελέσουν ένα προϊόν που θα ήταν πολύτιμο τόσο στον τομέα των τροφίμων, αλλά και της φαρμακευτικής.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### Ξένη βιβλιογραφία

- Abaza, L., Ben Youssef, N., Manai, H., Haddada, M. F., Methenni, K., & Zarrouk, M. (2011). Chetoui olive leaf extracts: influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. *Grasas y Aceites*, 62, 96-104.
- Ahmad-Qasem Margarita Hussam, Enrique Barrajon-Catalan, Vicente Micol, Antonio Mulet, José Vicente García-Pérez, (2013), Influence of freezing and dehydration of olive leaves (var. Serrana) on extract composition and antioxidant potential, *Food Research International*, 50:1, 189-196
- Ahmad-Qasem Margarita H., Begoña H. Ahmad-Qasem, Enrique Barrajon-Catalan, Vicente Micol, Juan A. Cárcel, José V. García-Pérez, (2016), Drying and storage of olive leaf extracts. Influence on polyphenols stability, *Industrial Crops and Products*, 79, 232-239
- Ahmed, A., Rabii, N. S., Garbaj, A. M., and Abolghait, S. K. (2014). Antibacterial effect of olive (*Olea europaea* L.) leaves extract in raw peeled undeveined shrimp *Penaeus semisulcatus*. *Int. J. Vet. Sci. Med.* 2, 53–56
- Al-Azzawie HF, Alhamdani MS (2006) Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sci* 78, 1371–1377
- Alzamora, S. M., Nieto, A., & Castro, M. A. (2003). Structural effects of blanching and osmotic dehydration pretreatments on air drying kinetics of fruit tissues. In J. Welti-Chanes & J. F. Véllez-Ruiz (Eds.), *Transport phenomena in food processing*. CRC Press
- Ansari, M., Kazemipour, M., & Fathi, S. (2011). Development of a simple green extraction procedure and HPLC method for determination of oleuropein in olive leaf extract applied to a multisource comparative study. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 8, 38-47.
- Benavente-Garcia J, Castillo J, Lorente A, Ortuno A, Del Rio JA, (2000), Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chem* 68, 457–462
- Bisignano G, Tomaino A, Lo Cascio R, Crisafi G, Ucella N, Saija A (1999) On the in vivo antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *J Pharm Pharmacol* 51, 971–974
- Bouaziz, M., & Sayadi, S. (2005). Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 107, 497-504.
- Brahmi, F., Mechri, B., Dhibi, M., & Hammami, M. (2013). Variations in phenolic compounds and antiradical scavenging activity of *Olea europaea* leaves and fruits extracts collected in two different seasons. *Industrial Crops and Products*, 49, 256-264.
- Briante R, Patumi M, Terenziani S, Bismuto E, Febbraio F (2002) *Olea europaea* L. leaf extract and derivatives: antioxidant properties. *J Agric Food Chem* 50:4934–4940

- Bouallagui, Z., Han, J., Isoda, H., & Sayadi, S. (2011). Hydroxytyrosol rich extract from olive leaves modulates cell cycle progression in MCF-7 human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 179-184.
- Bourquelot E. & Vintilesco J (1938). “Oleuropein”, a new glucoside from *Olea Europaea* L. *J Pharm Chim*, 28, 303-314
- Bourquelot E. & Vintilesco J., (1908 ), ‘Sur l’oleuropein, nouveau principe de nature glucosidique retire de l’olivier (*Olea europea* L.)’ *Compt. Rend. Hebd. Acad. Sci. Paris*, 147, 533-535
- Calo, J. R., Crandall, P. G., O’Bryan, C. A., and Ricke, S. C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems - A Review. *Food Control*. 54, 111–119
- Carcel, J. A., Garcia-Perez, J. V., Mulet, A., Rodriguez, L., & Riera, E. (2010). Ultrasonically assisted antioxidant extraction from grape stalks and olive leaves. *Physics Procedia*, 3, 147-152.
- Cárdeno, A., Sánchez-Hidalgo, M., Rosillo, M. A., & de la Lastra, C. A. (2013). Oleuropein, a secoiridoid derived from olive tree, inhibits the proliferation of human colorectal cancer cell through downregulation of HIF-1 $\alpha$ . *Nutrition and cancer*, 65(1), 147-156.
- Cares MG, Vargas Y, Gaete L, Sainz J, Alarcon J. (2009). Ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from Quillaja Saponaria Molina. *Physics. Procedia*. 3: 169-178.
- Chatzistathis Th., Therios I., Alifragis D., Dimmasi K. (2010). Effect of sampling time and soil type on Mn, Fe, zn, Ca, Mg, K and P concentrations of olive (*Olea europaea* L., Koroneiki) leaves. *Scientia Horticulturae*, 126, 291-296
- plCrueess W. V. & Alsberg C. L., (1934 ) ‘The Bitter Glycoside of the Olive’, *J. Am. Chem. Soc.*, 56:10, 2115-2117
- 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
- Demirbaş A, (2001), Supercritical fluid extraction and chemicals from biomass with supercritical fluids, *Energy Conversion and Management*, 42:3, 279-294
- Dorta, E., Lobo, M.G., González, M., (2012), Using drying treatments to stabilise mango peel and seed: effect on antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 45, 261–268
- Drossopoulos, J., & Niavis, C. (1988). Seasonal changes of the metabolites in the leaves, bark and xylem tissues of olive tree (*Olea europaea* L.) II. carbohydrates. *Annals of Botany*, 62, 321-327.
- Durling, N. E., Cathpole, O. J., Grey, J. B., Webby, R. F., Mitchell, K. A., Food, L. Y., et al. (2007). Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures. *Food Chemistry*, 101(4), 1417–1424.

- E. Molina-Alcaide, D.R. Yáñez-Ruiz, (2008), Potential use of olive by-products in ruminant feeding: A review, *Animal Feed Science and Technology*, 147:1–3, 247-264
- Fares, R., Bazzi, S., Baydoun, S. E., & Abdel-Massih, R. M. (2011). The antioxidant and anti-proliferative activity of the Lebanese *Olea europaea* extract. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66, 58-63
- Fernández-Escobar, R., Moreno, R., García-Creus M. (1999). Seasonal changes of mineral nutrients in olive leaves during the alternate-bearing cycle. *Sci. Hort.* 82, 25-45.
- Ferreira Isabel C.F.R., Lillian Barros, Maria Elisa Soares, Maria Lourdes Bastos, José Alberto Pereira, (2007), Antioxidant activity and phenolic contents of *Olea europaea* L. leaves sprayed with different copper formulations, *Food Chemistry*, 103:1, 188-195
- Filková, I., Huang, L.X., Mujumdar, A.S., (2007). Industrial spray drying systems. In: Mujumdar (org), A.S. (Ed.), *Handbook of industrial drying*. CRC Press, London, 215–256.
- Formato, A., Gallo, M., Ianniello, D., Montesano, D., & Naviglio, D. (2013). Supercritical fluid extraction of a- and b-acids from hops compared to cyclically pressurized solid liquid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 84, 113-120.
- Furneri, P.R., Marino, A., Saija, A., Uccella, N. and Bisignano, G. (2002) In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 20, 293–296
- Gerrits MM, van Vliet A, Kuipers E, Kusters JG., (2006), *Helicobacter pylori* and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications. *Lancet Infect Dis* 6: 699–709.
- Ghisalberti EL, (1998), Biological and pharmacological activity of naturally occurring iridoids and secoiridoids. *Phytomedicine* 5:2, 47-163
- Ghoreishi, S. M., & Shahrestani, R. G. (2009). Subcritical water extraction of mannitol from olive leaves. *Journal of Food Engineering*, 93, 474-481.
- Goulas, V., Exarchou, V., Troganis, A.N., Psomiadou, E., Fotsis, T., Briasoulis, E. and Gerothanassis, I.P. (2009), Phytochemicals in olive-leaf extracts and their antiproliferative activity against cancer and endothelial cells. *Mol. Nutr. Food Res.*, 53: 600-608
- Gupta, Ankit & Naraniwal, Madhu & Kothari, Vijay. (2012). Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts. *International Journal of Applied and Natural Sciences*.
- Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, and Rakesh DD. (2008), *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*. Trieste: ICS UNIDO.
- Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96, 67-202.

- Hayes, J. E., Stepanyan, V., Allen, P., O'Grady, M. N., and Kerry, J.P. (2010). Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and shelf-life stability of packaged raw minced beef patties. *Meat Sci.* 84, 613–620.
- Ho, C.T., (1992). Phenolic compounds in food. An overview. In *Phenolic compounds in food and their effects on health I*. C.T. Ho, C.Y. Lee and M.T., Huang (Eds), American Chemical Society, Washington DC, 1, 2-7.
- Huang, H.-W., Hsu, C.-P., Yang, B. B., & Wang, C.-Y. (2013). Advances in the extraction of natural ingredients by high pressure extraction technology. *Trends in Food Science & Technology*, 33, 54-62.
- Jain T, Jain V, Panday R, Vyas A, Shukla SS. (2009). Microwave assisted extraction for phytoconstituents - An overview. *Asian J. Res. Chem.* 2: 19-25.
- Japon-Lujan, R., & de Castro, M. D. L. (2007). Small branches of olive tree: a source of biophenols complementary to olive leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4584-4588.
- Jemai, H., Fki, I., Bouaziz, M., Bouallagui, Z., El Feki, A., Isoda, H. et al. (2008). Lipid-lowering and antioxidant effects of hydroxytyrosol and its triacetylated derivative recovered from olive tree leaves in cholesterol-fed rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2630-2636.
- Jemai, H., El Feki, A., & Sayadi, S. (2009). Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 8798-8804.
- Kaufmann BA, Christen P., (2002), Recent extraction techniques for natural products: microwave assisted extraction and pressurized solvent extraction. *Phytochem. Anal.* 13: 105-113
- Karygianni Lamprini, Cecere Manuel, Alexios Leandros Skaltsounis, Argyropoulou Aikaterini, Hellwig Elmar, Aligiannis Nektarios, Wittmer Annette, Al-Ahmad Ali, (2014) 'High Level Antimicrobial Efficacy of Representative Mediterranean Natural Plant Extracts against Oral Microorganisms', *Biomed Research International*, vol 2014
- Khajeh, M., Yamini, Y., Bahramifar, N., Sefidkon, F., & Pirmoradei, M. R. (2005). Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*, 91, 639-644.
- Kiritsakis, K., Kontominas, M. G., Kontogiorgis, C., Hadjipavlou- Litina, D., Moustakas, A., & Kiritsakis, A. (2010). Composition and antioxidant activity of olive leaf extracts from Greek olive cultivars. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87, 369-376
- Korukluoglu, M., Sahan, Y., Yigit, A., Ozer, E.T., Gucer, S., (2010), Antibacterial activity and chemical constitutions of *Olea europaea* L. leaf extracts. *J. Food Process. Preserv.* 34, 383–396.

- Lee-Huang Sylvia, Zhang Li, Huang Philip Lin, Chang Young-Tae, Huang Paul L, (2003), Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 307:4, 1029-1037
- Liakopoulos Georgios, Stavrianakou Sotiria, Karabourniotis George, (2006) Trichome layers versus dehaired lamina of *Olea europaea* leaves: differences in flavonoid distribution, UV-absorbing capacity, and wax yield, *Environmental and Experimental Botany*, 55:3, 294-304
- Liu Yanhong, McKeever Lindsay C., Malik Nasir S. A., (2017), Assessment of the Antimicrobial Activity of Olive Leaf Extract Against Foodborne Bacterial Pathogens, *Frontiers in Microbiology*, 8, 113
- Luque de Castro M.D., F. Priego-Capote, (2010), Soxhlet extraction: Past and present panacea, *Journal of Chromatography A*, 1217:16, 2383-2389
- Malik, N. S., & Bradford, J. M. (2008). Recovery and stability of oleuropein and other phenolic compounds during extraction and processing of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 6, 8-13
- Maran, P. J., Manikandan, S., Nivetha, V. C., & Dinesh, R. (2013). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel using central composite face centered response surface design. *Arabian Journal of Chemistry*
- Markin, D., Duek, L. & Berdicevsky, I. (2003), *In vitro* antimicrobial activity of olive leaves. *Antimikrobielle Wirksamkeit von Olivenblättern in vitro*. *Mycoses*, 46, 132-136
- Martinez, C. R., Gonzalo, R. E., Cruz, M. E., Alvarez, D. J., & Mendez, J. H. (2007). Sensitive determination of herbicides in food samples by non-aqueous CE using pressurized liquid extraction. *Electrophoresis*, 28, 3606-3616
- Mijatovic, S., Radovic, J., Timotijevic, G., Mojic, M., Miljkovic, D., Dekanski, D., & Stosic-Grujicic, S. (2009). Dry olive leaf extract promotes avant-garde apoptosis in melanoma cells; switch from caspase-dependent to caspase-independent pathway. *Planta Medica*, 75(09), SL70.
- Moore, K. L. , Patel, J., Jaroni, D., Friedman, M., and Ravishankar, S. (2011). Antimicrobial activity of apple, hibiscus, olive, and hydrogen peroxide formulations against *Salmonella enterica* on organic leafy greens. *J. Food Prot.* 74, 1676–1683.
- Moreira, G.E.G., Costa, M.G.M., Souza, A.C.R., Brito, E.S., Medeiros, M.F.D., Azeredo, H.M.C., (2009), Physical properties of spray dried acerola pomace extract as affected by temperature and drying aids. *LWT-Food Sci. Technol.* 42, 641–645.
- Neda Rahmanian, Seid Mahdi Jafari, Touseef Ahmed Wani, (2015) Bioactive profile, dehydration, extraction and application of the bioactive components of olive leaves, *Trends in Food Science & Technology*, 42:2, 150-172

- Ok-Hwan Lee, Boo-Yong Lee, (2010), Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract, *Bioresource Technology*, 101:10, 3751-3754
- Orozco-Solano, M., Ruiz-Jimenez, J., & Luque De Castro, M. A. D. (2010). Characterization of fatty alcohol and sterol fractions in olive trees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 7539-7546
- Ortega-García, F., Blanco, S., Peinado, M. A., & Peragón, J. (2008). Polyphenol oxidase and its relationship with oleuropein concentration in fruits and leaves of olive (*Olea europaea*) cv. 'Picual' trees during fruit ripening. *Tree Physiology*, 28:1, 45–54
- Özcan, M.M., Matthäus, B., (2017), A review: benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *European Food Research and Technology*, 243, 89-99
- Pereira AP, Ferreira ICFR, Marcelino F, Valentao P, Andrade PB, Seabra R, Estevinho L, Bento A, Pereira JA (2007) Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europea* L. Cv. cobrancosa) leaves. *Molecules* 12, 1153–1162
- Perez-Serradilla, J. A., & Luque de Castro, M. D. (2011). Microwave Assisted extraction of phenolic compounds from wine lees and spray-drying of the extract. *Food Chemistry*, 124, 1652-1659.
- Prior R. L., Wu X., K. Schaich, (2005), Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *J. Agric. Food Chem.* 53, 4290–4302
- Procopio, A., Alcaro, S., Nardi, M., Oliverio, M., Ortuso, F., Sacchetta, P., et al. (2009). Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of oleuropein and its semisynthetic
- Proestos C, Komaitis M. (2007), Application of microwave assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds. *LWT - Food Sci. Technol.*
- Rafiee, Z., Jafari, S., Alami, M., & Khomeiri, M. (2011). Microwave Assisted extraction of phenolic compounds from olive leaves; a comparison with maceration. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 21, 738-745.
- Rafiee, Z., Jafari, S., Alami, M., & Khomeiri, M. (2012). Antioxidant effect of microwave-assisted extracts of olive leaves on sunflower oil. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14, 1497-1509.
- Reyes-Jurado, F., Franco-Vega, A., Ramírez-Corona, N. *et al.* (2015), Essential Oils: Antimicrobial Activities, Extraction Methods, and Their Modeling. *Food Eng Rev* 7, 275–297
- Rodrigues, S., & Fernandes, F. A. (2009). Ultrasound-assisted extraction. *Stewart Postharvest Review*, 5, 1-11.
- Ruíz-Gutiérrez Valentina, Muriana Francisco J.G., Maestro Roberto, Graciani Enrique, (1995), Oleuropein on lipid and fatty acid composition of rat heart, *Nutrition Research*, 15:1, 37-51

- Ryan Danielle, Antolovich Michael, Paul Prenzler, Kevin Robards, Shimon Lavee, (2002), Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea* L., *Scientia Horticulturae*, 92:2, 147-176
- Sabry OMM (2014) Review: beneficial health effect of olive leaves extracts. *Journal of Natural Sciences Research*, 4, 1–9
- joSanchez-Avila, N., Priego-Capote, F., Ruiz-Jimenez, J., & de Castro, L. M. D. (2009). Fast and selective determination of triterpenic compounds in olive leaves by liquid chromatography tandem mass spectrometry with multiple reaction monitoring after microwave-assisted extraction. *Talanta*, 78, 40-48.
- Sedef N El, Sibel Karakaya (2009) Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health, *Nutrition Reviews*, 67:11, 632–638
- Seow, Y. X., Yeo, C. R., Chung, H. L., and Yuk, H. G, (2014), Plant Essential oils as active antimicrobial agents. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54, 625–644
- Škerget M., P. Kotnik, M. Hadolin, A.R. Hraš, M. Simonič, Ž. Knez, (2005), Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities, *Food Chemistry*, 89, 191-198
- Somova L. I., F.O. Shode, P. Ramnanan, A. Nadar, (2003), Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *africana* leaves, *Journal of Ethnopharmacology*, 84:2–3, 299-305
- Souza, C.R.F., Schiavetto, I.A., Thomazini, F.C.F., Oliveira, E.P., (2008), Processing of *Rosmarinus officinalis* linne extract on spray and spouted bed dryers. *Braz. J.Chem. Eng.* 25:1, 59–69.
- Stamatopoulos Konstantinos, Katsoyannos Evangelos, Chatzilazarou Arhontoula, Konteles Spyros J., (2012), Improvement of oleuropein extractability by optimising steam blanching process as pre-treatment of olive leaf extraction via response surface methodology, *Food Chemistry*, 133:2, 344-351
- Sudjana Aurelia N. Carla D’Orazio, Vanessa Ryan, Nooshin Rasool, Justin Ng, Nabilah Islam, Thomas V. Riley, Katherine A. Hammer, (2009) Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33:5, 461-463
- Sun Y, Liu Z, Wang J. (2011). Ultrasound-assisted extraction of five isoflavones from *Iris tectorum* Maxim. *Sep. Purif. Technol.*
- Taamalli, A., Arraez-Roman, D., Barrajon-Catalan, E., Ruiz-Torres, V., Perez-Sanchez, A., Herrero, M., et al. (2012a). Use of advanced techniques for the extraction of phenolic compounds from Tunisian olive leaves: phenolic composition and cytotoxicity against human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 1817-1825.
- Taamalli, A., Arraez-Roman, D., Ibanez, E., Zarrouk, M., Segura- Carretero, A., & Fernandez-Gutierrez, A. (2012). Optimization of microwave-assisted extraction for the



- characterization of olive leaf phenolic compounds by using HPLC-ESI-TOF-MS/ IT-MS2. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 791-798.
- Tabera, J., Guinda, A., Ruiz-Rodriguez, A., Senorans, F. J., Ibanez, E., Albi, T., et al. (2004). Countercurrent supercritical fluid extraction and fractionation of high-added-value compounds from a hexane extract of olive leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4774-4779.
  - Talhaoui Nassima, Amani Taamalli, Ana María Gómez-Caravaca, Alberto Fernández-Gutiérrez, Antonio Segura-Carretero, (2015), Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits, *Food Research International*, 77:2, 92-108
  - Therios Ioannis (2009) *Olives*, Columns Design, Reading, UK
  - Tsakona, S., Galanakis, C. M., & Gekas, V. (2012). Hydro-ethanolic mixtures for the recovery of phenols from Mediterranean plant materials. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 1384-1393.
  - Visioli, F., Bellosta, S., & Galli, C. (1998). Oleuropein, the bitter principle of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life sciences*, 62(6), 541-546.
  - Vogl S, Picker P, Mihaly-Bison J, Fakhrudin N, Atanasov AG, Heiss EH, Wawrosch C, Reznicek G, Dirsch VM, Saukel J, Kopp B., (2013) Ethnopharmacological in vitro studies on Austria's folk medicine - An unexplored lore in vitro anti-inflammatory activities of 71 Austrian traditional herbal drugs. *Ethnopharmacol*
  - Xynos, N., Papaefstathiou, G., Psychis, M., Argyropoulou, A., Aligiannis, N., & Skaltsounis, A.-L. (2012). Development of a green extraction procedure with super/subcritical fluids to produce extracts enriched in oleuropein from olive leaves. *The Journal of Supercritical Fluids*, 67, 89-93.
  - Xynos, N., Papaefstathiou, G., Gikas, E., Argyropoulou, A., Aligiannis, N., & Skaltsounis, A.-L. (2014). Design optimization study of the extraction of olive leaves performed with pressurized liquid extraction using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 122, 323-330.

### **Ελληνική βιβλιογραφία**

- Fluck Hans (1990) *Τα Φαρμακευτικά Φυτά και οι χρήσεις τους*, Εκδόσεις Στερέωμα-Μπίμπης
- Αναγνωστοπούλου Άννα, Αικατερίνη Ταλέλη (2008) *Τεχνολογία & Ποιότητα Φρούτων & Λαχανικών*, ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΝΕΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ, 7, 338
- Ζαχαρόπουλου Ιγνατίου Μ. (2003) *Σύγχρονη Πλήρης Θεραπευτική με Βότανα*, Εκδόσεις Ψύχαλος, Αθήνα
- Θέριος Ιωάννης Ν., (2005), 'Έλαιοκομία', Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη

- σθΚυριτσάκης Απόστολος Κ., (2007), Ελαιόλαδο Συμβατικό και Βιολογικό, CCITY PUBLISH, Θεσσαλονίκη
- Μαλούπα Ε., Γρηγοριάδου Κ., Λάζαρη Δ., Κρίγκας Ν., (2013) Καλλιέργεια, μεταποίηση και διασφάλιση ποιότητας των Ελληνικών αρωματικών - φαρμακευτικών φυτών: Βασικές αρχές καθετοποιημένης παραγωγής, Εκδόσεις βιβλίων Γεώργιος Κ. Λουπέλης
- Μανουσάκη Γεωργίου Ε., Βασιλείου Ν. Τζωτζέ, (2015) Φύλλα ελιάς, ασπίδα υγείας, ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΕΒΕ
- Παπαρηγορίου, Χ. & Γκιώκα, Γ. (2005). Αντιοξειδωτική δράση μεθανολικών εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών και εμπορικού παρασκευάσματος δενδρολίβανου με τη μέθοδο OSI. Πτυχιακή Διατριβή, ΑΤΕΙΘ, Θεσσαλονίκη
- Σφλώμος Κωνσταντίνος, (2018), Βιολειτουργικά Τρόφιμα, Πρόσθετα & Συμπληρώματα Διατροφής, Εκδόσεις ΝΟΤΑ - ΚΥΡΙΑΚΟΣ ΑΛΕΞΙΟΥ & ΣΙΑ ΕΕ

### **Βιβλιογραφία από το διαδίκτυο**

- Haifa (2020)  
<https://www.haifa-group.com/olives-fertilizer/crop-guide-olives>  
(πρόσβαση 19 Δεκεμβρίου 2020)
- Iama (2021)  
<https://www.iama.gr/ethno/mytilini/moulas.html>  
(πρόσβαση 14 Ιανουαρίου 2021)
- My Greek grocery (2021)  
<https://www.mygreekgrocery.ca/greek-products/greek-rock-samphire-kritamosin-brine-380g>
- μαλΕλαιοευρωπαϊνή (2021) [http://195.134.76.37/chemicals/chem\\_oleuropein.htm](http://195.134.76.37/chemicals/chem_oleuropein.htm)  
(πρόσβαση 20 Μαρτίου 2021)
- Πελοποννησιακός ελαιώνας (2020)  
<https://peloponneseolivegrove.com/olive-oil/mythology/>  
(πρόσβαση 5 Δεκεμβρίου 2020)
- Σταλίδα (2020)  
<https://www.stalida.gr/el/article/10-h-istoria-ths-elias>  
(πρόσβαση 5 Δεκεμβρίου 2020)