

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΓΕΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ
ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ
ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ: ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Μελέτη και αξιολόγηση της βιοδραστικότητας –
τοξικότητας αιθέριων ελαίων και φυτικών
εκχυλισμάτων αρωματικών – φαρμακευτικών
φυτών και προϊόντων τους

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Παναγιώτης Β. Τζεβελέκος
Φυσικός

Επιβλέπων καθηγητής: Πέτρος Α. Ταραντίλης



Ιούνιος 2014
ΑΘΗΝΑ

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΓΕΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ
ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ
ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ: ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

**Μελέτη και αξιολόγηση της βιοδραστικότητας –
τοξικότητας αιθέριων ελαίων και φυτικών εκχυλισμάτων
αρωματικών – φαρμακευτικών φυτών και προϊόντων τους**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Παναγιώτης Β. Τζεβελέκος
Φυσικός

Επιβλέπων καθηγητής: Πέτρος Α. Ταραντίλης

Ιούνιος 2014
ΑΘΗΝΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Μελέτη και αξιολόγηση της βιοδραστικότητας – τοξικότητας αιθέριων
ελαίων και φυτικών εκχυλισμάτων αρωματικών – φαρμακευτικών φυτών
και προϊόντων τους

Παναγιώτης Β. Τζεβελέκος
Φυσικός

Επιβλέπων καθηγητής: Πέτρος Α. Ταραντίλης

Τριμελής επιτροπή:

- 1) Πέτρος Α. Ταραντίλης, Αναπληρωτής Καθηγητής Γ.Π.Α.
- 2) Μόσχος Πολυσίου, Καθηγητής Γ.Π.Α.
- 3) Κωνσταντίνος Μπεθάνης, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Πέτρο Ταραντίλη ο οποίος μου έδωσε την απαραίτητη ώθηση ώστε να ξεκινήσω το παρόν μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών, με εμπιστεύτηκε αρκετά ώστε να συνεργαστώ μαζί του και ήταν πάντα αισιόδοξος παρ' όλες τις δυσκολίες που προέκυπταν στην πορεία της μελέτης μου. Ένα μεγάλο ευχαριστώ στον κ. Πολυσίου ο οποίος ήταν πάντα διαθέσιμος για επικοινωνητικές και ενδιαφέρουσες συζητήσεις και στον κ. Μπεθάνη με τον οποίο αν και δεν συνεργαστήκαμε μου επιβεβαίωσε πως υπάρχει πάντα χώρος και ρόλος για έναν Φυσικό. Ακόμα στην Έφη Σκώττη, την Ειρήνη, το Χάρη και τον Λευτέρη για τη βοήθειά τους στο εργαστήριο, καθώς και στο Θανάση Κιμπάρη για την παραχώρηση των αιθέριων ελαίων από φλισκούνι και σκόρδο. Τέλος σε όλους τους συμφοιτητές μου, και ιδιαίτερα στη Χριστίνα, που έκαναν το πέρασμά μου από το ΓΠΑ κάτι παραπάνω από ευχάριστο.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αντικείμενο της παρούσας μελέτης είναι ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας και της βιοδραστικότητας – τοξικότητας για υδατοδιαλυτά και λιποδιαλυτά προϊόντα αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών, αιθέρια έλαια και μίγματά τους, τα οποία χρησιμοποιούνται συχνά στην παρασκευή χειροποίητων καλλυντικών. Η αντιοξειδωτική ικανότητα των δοκιμών προσδιορίστηκε με τις μεθόδους DPPH, ABTS καθώς και με τη μέθοδο των Folin – Ciocalteu για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών συστατικών. Υδατικά εκχυλίσματα λεβάντας παρασκευάστηκαν με δύο τρόπους και μελετήθηκε η κινητική της εκχύλισης. Η βιοδραστική – τοξική δράση μελετήθηκε με τη μέθοδο MICROTOX™. Τα αιθέρια έλαια και τα μίγματά τους αναλύθηκαν με φασματοσκοπία FT-IR ως προς το χημικό τους προφίλ. Τόσο τα υδατοδιαλυτά όσο και τα λιποδιαλυτά δοκίμια επέδειξαν σημαντικό βαθμό αντιοξειδωτικής ικανότητας. Τα υδατοδιαλυτά συστατικά παρουσίασαν μικρότερη βιοδραστικότητα σε σχέση με τα λιποδιαλυτά, ενώ διαπιστώθηκε συσχετισμός ανάμεσα στην τοξικότητα και παραμέτρους του φάσματος FT-IR για τα αιθέρια έλαια και τα μίγματά τους.

Λέξεις Κλειδιά:

Βιοδραστικότητα, τοξικότητα, αντιοξειδωτική δράση, αιθέρια έλαια, βοτανικά εκχυλίσματα, φασματοσκοπία FT-IR, ABTS, DPPH, Folin – Ciocalteu, Microtox.

ABSTRACT

The current study focuses on the antioxidant capacity and the bioactivity – toxicity of hydrophilic and lipophilic products, essential oils, and mixtures from aromatic – medicinal plants, that are frequently used in the production of homemade cosmetics and toiletries. Antioxidant activity was measured using DPPH and ABTS assays, as well as the Folin – Ciocalteu Total Phenolics assay. Aqueous extracts of lavender using two different methods were produced and studied. MICROTOX™ assay was used for the determination of the toxicity. Essential oils and mixtures were analyzed with FT-IR spectroscopy in regard to their chemical profile. Both hydrophilic and lipophilic products showed significant antioxidant activity. Hydrophilic products were proved to be less bioactive compared to lipophilic products, while correlation between toxicity and FT-IR spectral parameters was observed.

Keywords:

Bioactivity, toxicity, antioxidant activity, essential oils, botanical extracts, FT-IR spectroscopy, ABTS, DPPH, Microtox.

Ευρετήριο Πινάκων

Πίνακας 1: Χημειοταξινόμηση Αιθέριων Ελαίων	6
Πίνακας 2: Βιολογικές δράσεις που αποδίδονται στα αιθέρια έλαια	9
Πίνακας 3: Έρευνες στην αντιοξειδωτική δράση αιθέριων ελαίων	21
Πίνακας 4: Βασικές μέθοδοι μέτρησης αντιοξειδωτικής ικανότητας.....	23
Πίνακας 5: Δείκτες LD ₅₀ για 44 αιθέρια έλαια.....	26
Πίνακας 6: Επικινδυνότητα χρήσης αιθέριων ελαίων στον άνθρωπο	28
Πίνακας 7: Υλικά, κατηγορίες και προέλευση	31
Πίνακας 8: Σύσταση Υδατοδιαλυτών Μιγμάτων Νερών Προσώπου.....	34
Πίνακας 9: Σύσταση μιγμάτων με αιθέρια έλαια.....	35
Πίνακας 10: Δοκίμια μετρήσεων τοξικότητας MICROTOX®	40
Πίνακας 11: Ύψος κορυφής απορρόφησης UV-Vis για λ=274 nm στα εκχυλίσματα λεβάντας.....	44
Πίνακας 12: Folin-Ciocalteu, Απορρόφηση γαλλικού οξέος συναρτήσει συγκέντρωσης.....	45
Πίνακας 13: DPPH, Απορρόφηση και παρεμπόδιση Trolox συναρτήσει συγκέντρωσης.....	46
Πίνακας 14: ABTS, Απορρόφηση και παρεμπόδιση Trolox συναρτήσει συγκέντρωσης.....	47
Πίνακας 15: Folin-Ciocalteu, Απορρόφηση και αντιστοιχία σε ισοδύναμα GA για υδατοδιαλυτά δοκίμια	48
Πίνακας 16: Folin-Ciocalteu, Απορρόφηση και αντιστοιχία σε ισοδύναμα GA για λιποδιαλυτά δοκίμια.....	50
Πίνακας 17: DPPH Απορρόφηση, παρεμπόδιση και ισοδύναμα Trolox για υδατοδιαλυτά δοκίμια	52
Πίνακας 18: DPPH Απορρόφηση, παρεμπόδιση και ισοδύναμα Trolox για λιποδιαλυτά δοκίμια.....	54
Πίνακας 19: ABTS Απορρόφηση, παρεμπόδιση και ισοδύναμα Trolox για υδατοδιαλυτά δοκίμια	55
Πίνακας 20: ABTS Απορρόφηση, παρεμπόδιση και ισοδύναμα Trolox για λιποδιαλυτά δοκίμια.....	57
Πίνακας 21: Δείκτες τοξικότητας για τα υδατοδιαλυτά δοκίμια.....	58
Πίνακας 22: Δείκτες τοξικότητας για τα λιποδιαλυτά δοκίμια.....	60
Πίνακας 23: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο λεβάντα.....	62
Πίνακας 24: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο γεράνι	63
Πίνακας 25: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο παλμαρόζα.....	64
Πίνακας 26: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο καρότο	65
Πίνακας 27: Κορυφές FT-IR για το αιθέριο έλαιο λεμόνι.....	66
Πίνακας 28: Κορυφές FT-IR για το αιθέριο έλαιο γκρέιπφρουτ.....	67
Πίνακας 29: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο πατσουλί.....	68
Πίνακας 30: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο δενδρολίβανο.....	69
Πίνακας 31: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού.....	70

Πίνακας 32: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο φλισκούνι.....	71
Πίνακας 33: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο γωλθερία.....	72
Πίνακας 34: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο κανέλα	73
Πίνακας 35: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο σκόρδο	74
Πίνακας 36: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το μίγμα EOM1	75
Πίνακας 37: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το μίγμα EOM1+GTE	76
Πίνακας 38: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το μίγμα EOM2	77
Πίνακας 39: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το μίγμα EOM2+GTE	78
Πίνακας 40: Μεταβολή ύψους κορυφής απορρόφησης για τα εκχυλίσματα λεβάντας	80
Πίνακας 41: Απορρόφηση ολικών φαινολικών για τα εκχυλίσματα λεβάντας	81
Πίνακας 42: Πειραματικές και θεωρητικές τιμές ισοδύναμων GA για τα μίγματα FW1, FW2.....	83
Πίνακας 43: Πειραματικές και θεωρητικές τιμές ισοδύναμων GA για τα λιποδιαλυτά μίγματα.....	84
Πίνακας 44: Πειραματικές και θεωρητικές τιμές σε ισοδύναμα Trolox για υδατοδιαλυτά μίγματα	85
Πίνακας 45: Πειραματικές και θεωρητικές τιμές σε ισοδύναμα Trolox για λιποδιαλυτά μίγματα	86
Πίνακας 46: Πειραματικές και θεωρητικές τιμές συγκεντρώσεων EC ₅₀ για υδατοδιαλυτά μίγματα	87
Πίνακας 47: Συγκέντρωση με επίδραση 20% για υδατοδιαλυτά συστατικά.....	88
Πίνακας 48: Πειραματικές και θεωρητικές τιμές συγκεντρώσεων EC ₅₀ για λιποδιαλυτά μίγματα.....	89
Πίνακας 49: Συγκέντρωση με επίδραση 20% για λιποδιαλυτά συστατικά	90
Πίνακας 50: Πίνακας συσχετισμών για τα υδατοδιαλυτά δοκίμια	91
Πίνακας 51: Πίνακας συσχετισμών για τα λιποδιαλυτά δοκίμια	91
Πίνακας 52: Συσχέτιση εμβαδού ζωνών απορρόφησης IR και τοξικότητας.....	105
Πίνακας 53: Υπολογισμός στατιστικών παραμέτρων για ανάλυση παλινδρόμησης .	106

Ευρετήριο Σχημάτων

Σχήμα 1: Διδιάστατος χάρτης χημικών συστατικών αιθέριων ελαίων	11
Σχήμα 2: Χημικές Ομάδες και παραδείγματα τοποθετημένα στον χάρτη.....	11
Σχήμα 3: Χημικές Ομάδες και βιολογική δράση τοποθετημένα στο χάρτη.....	12
Σχήμα 4: Το χημικό προφίλ της φαρμακευτικής λεβάντας (<i>Lavandula angustifolia</i>)	13
Σχήμα 5: Φάσμα απορρόφησης UV-Vis για 3 διαδοχικά εκχυλίσματα λεβάντας	43
Σχήμα 6: Διάγραμμα ύψους κορυφής απορρόφησης UV-Vis για τα εκχυλίσματα λεβάντας.....	44
Σχήμα 7: Πρότυπη καμπύλη απορρόφησης Γαλλικού Οξέος με τη μέθοδο Folin - Ciocalteu	45
Σχήμα 8: Πρότυπη καμπύλη παρεμπόδισης Trolox με τη μέθοδο DPPH	46
Σχήμα 9: Πρότυπη καμπύλη παρεμπόδισης Trolox με τη μέθοδο ABTS	47
Σχήμα 10: Συγκέντρωση σε ισοδύναμα GA για υδατοδιαλυτά συστατικά	49
Σχήμα 11: Συγκέντρωση ολικών φαινολικών σε ισοδύναμα GA για λιποδιαλυτά δοκίμια	51
Σχήμα 12: Αντιοξειδωτική δράση DPPH σε ισοδύναμα Trolox για υδατοδιαλυτά συστατικά.....	53
Σχήμα 13: Αντιοξειδωτική δράση DPPH σε ισοδύναμα Trolox για λιποδιαλυτά συστατικά.....	54
Σχήμα 14: Αντιοξειδωτική δράση ABTS σε ισοδύναμα Trolox για υδατοδιαλυτά συστατικά.....	56
Σχήμα 15: Αντιοξειδωτική δράση ABTS σε ισοδύναμα Trolox για λιποδιαλυτά δοκίμια	57
Σχήμα 16: Δείκτες τοξικότητας EC ₅₀ για υδατοδιαλυτά δοκίμια	59
Σχήμα 17: Διαγράμματα για τον υπολογισμό των συναρτήσεων Gamma και Effect για το εκχύλισμα λεβάντας	59
Σχήμα 18: Δείκτες τοξικότητας EC ₅₀ για τα λιποδιαλυτά δοκίμια	61
Σχήμα 19: Διαγράμματα για τον υπολογισμό των συναρτήσεων Gamma και Effect για το αιθέριο έλαιο λεβάντας	61
Σχήμα 20: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο λεβάντα	62
Σχήμα 21: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο γεράνι.....	63
Σχήμα 22: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο παλμαρόζα	64
Σχήμα 23: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο καρότο.....	65
Σχήμα 24: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο λεμόνι.....	66
Σχήμα 25: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο γκρέιπφρουτ.....	67
Σχήμα 26: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο πατσουλί	68
Σχήμα 27: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο δενδρολίβανο	69
Σχήμα 28: Φάσμα FT-IR για το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού	70
Σχήμα 29: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο φλισκούνι.....	71
Σχήμα 30: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο γωλθερία	72
Σχήμα 31: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο κανέλα.....	73
Σχήμα 32: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο σκόρδο	74

Σχήμα 33: Φάσμα FT-IR για το μίγμα EOM1	75
Σχήμα 34: Φάσμα FT-IR για το μίγμα EOM1+GTE	76
Σχήμα 35: Φάσμα FT-IR για το μίγμα EOM2	77
Σχήμα 36: Φάσμα FT-IR για το μίγμα EOM2+GTE	78
Σχήμα 37: Διάγραμμα μεταβολής κορυφής απορρόφησης UV-Vis για τα εκχυλίσματα λεβάντας.....	80
Σχήμα 38: Διάγραμμα απορρόφησης ολικών φαινολικών για τα εκχυλίσματα λεβάντας.....	81
Σχήμα 39: Φάσματα FT-IR για αιθέριο έλαιο λεβάντα και συστατικά του	92
Σχήμα 40: Φάσμα FT-IR για αιθέριο έλαιο γεράνι και συστατικά του	93
Σχήμα 41: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο παλμαρόζα και συστατικά του	94
Σχήμα 42: Φάσματα FT-IR για το αιθέριο έλαιο λεμόνι και τα συστατικά του	95
Σχήμα 43: Φάσματα για το αιθέριο έλαιο γκρέιπφρουτ και συστατικών του	96
Σχήμα 44: Φάσματα FT-IR για το αιθέριο έλαιο δενδρολίβανο και συστατικά του ...	97
Σχήμα 45: Φάσματα FT-IR από το αιθέριο έλαιο φλισκούνι και συστατικά του.....	98
Σχήμα 46: Φάσμα FT-IR της (+-)-μενθόλης.....	98
Σχήμα 47: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο γαλθερίας και το κύριο συστατικό του	99
Σχήμα 48: Φάσματα FT-IR για το αιθέριο έλαιο κανέλας και το κύριο συστατικό του	100
Σχήμα 49: Φάσμα FT-IR για την E-κινναμωμική αλδεΐδη.....	100
Σχήμα 50: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο σκόρδο και τα συστατικά του	101
Σχήμα 51: Φάσματα FT-IR για το μίγμα EOM1 και τα επιμέρους αιθέρια έλαια	102
Σχήμα 52: Φάσματα FT-IR για τα μίγματα EOM2+GT και EOM2.....	104
Σχήμα 53: Διάγραμμα συσχέτισης εμβαδού ζωνών απορρόφησης IR και τοξικότητας	105
Σχήμα 54: Προσεγγιστικές καμπύλες για το συσχετισμό 5 min EC ₅₀ – Εμβαδού ζωνών απορρόφησης IR.....	106
Σχήμα 55: Προσεγγιστικές καμπύλες για το συσχετισμό 15 min EC ₅₀ – Εμβαδού ζωνών απορρόφησης IR.....	107

Ευρετήριο Εικόνων

Εικόνα 1: Απεικόνιση γιατρού πανώλης (Pestarzt)	2
Εικόνα 2: Οι Αιγύπτιοι χρησιμοποιούσαν αιθέρια έλαια κατά τη μουμοποίηση των νεκρών τους	2
Εικόνα 3: Πρόσδεση οσμηγόνου μορίου στον οσφρητικό βλεννογόνο	15
Εικόνα 4: Δημιουργία και πορεία του οσφρητικού νευρικού σήματος στο μεταχμιακό εγκεφαλικό σύστημα.....	16
Εικόνα 5: Παραγωγή υπεροξειδίου στα μιτοχόνδρια	18
Εικόνα 6: Παραγωγή υδροξειδίου με την επίδραση της οξειδάσης της NADPH	18
Εικόνα 7: Παραγωγή υδροξειδίου με την επίδραση της 5-λιπόξυγενάσης	18
Εικόνα 8: Συσκευή MICROTOX [®]	29

Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	i
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	ii
ABSTRACT	iii
Ευρετήριο Πινάκων.....	iv
Ευρετήριο Σχημάτων.....	vi
Ευρετήριο Εικόνων	viii
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 Τα αιθέρια Έλαια.....	1
1.1.1 Βασική Περιγραφή	1
1.1.2 Ιστορική Αναδρομή.....	2
1.1.3 Χημειοταξινόμηση	3
1.1.4 Χημειοταξινόμηση και Βιολογική Δράση.....	5
1.1.5 Διαγράμματα Χημειοταξινόμησης	9
1.1.6 Αρωματοθεραπεία και Αρωμαχολογία.....	14
1.2 Αντιοξειδωτική Ικανότητα	17
1.2.1 Δραστικές Μορφές Οξυγόνου και Αντιοξειδωτικά.....	17
1.2.2 Αιθέρια Έλαια και Αντιοξειδωτική Ικανότητα	20
1.2.3 Μέθοδοι Προσδιορισμού Αντιοξειδωτικής Δράσης	22
1.3 Τοξικότητα	24
1.3.1 Βασικά στοιχεία.....	24
1.3.2 Η τοξικότητα στα αιθέρια έλαια.....	25
1.3.3 Η μέθοδος MICROTOX [®]	29
1.4 Σκοπός.....	30
2. ΥΛΙΚΑ – ΜΕΘΟΔΟΙ.....	31
2.1 Υλικά	31
2.2 Μέθοδοι.....	33
2.2.1 Παρασκευή Εκχυλισμάτων Λεβάντας <i>Lavandula Angustifolia</i>	33
2.2.2 Προετοιμασία υδατοδιαλυτών μιγμάτων.....	33
2.2.3 Προετοιμασία Λιποδιαλυτών Μιγμάτων.....	34
2.2.4 Προσδιορισμός κινητικής εκχύλισης λεβάντας.....	35
2.2.5 Προσδιορισμός συνολικών φαινολικών συστατικών και αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu	36
2.2.6 Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH.....	37

2.2.7	Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο ABTS.....	38
2.2.8	Μέτρηση τοξικότητας με τη μέθοδο MICROTOX [®]	39
2.2.9	FT-IR	42
2.2.10	Στατιστική Επεξεργασία.....	42
3.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	43
3.1	Φάσματα Απορρόφησης UV-Vis Εκχυλισμάτων Λεβάντας.....	43
3.2	Πρότυπη καμπύλη απορρόφησης Γαλλικού οξέος (Folin – Ciocalteu)	45
3.3	Πρότυπη καμπύλη παρεμπόδισης Trolox (DPPH).....	46
3.4	Πρότυπη καμπύλη παρεμπόδισης Trolox (ABTS).....	47
3.5	Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο Folin - Ciocalteu	48
3.5.1	Υδατοδιαλυτά Δοκίμια	48
3.5.2	Λιποδιαλυτά Δοκίμια	50
3.6	Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH	51
3.6.1	Υδατοδιαλυτά Δοκίμια	51
3.6.2	Λιποδιαλυτά Δοκίμια	53
3.7	Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο ABTS	55
3.7.1	Υδατοδιαλυτά Δοκίμια	55
3.7.2	Λιποδιαλυτά Δοκίμια	56
3.8	Προσδιορισμός τοξικότητας με τη μέθοδο MICROTOX [®]	58
3.8.1	Υδατοδιαλυτά Δοκίμια	58
3.8.2	Λιποδιαλυτά Δοκίμια	60
3.9	Φασματοσκοπία FT-IR.....	62
4.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	79
4.1	Εκχυλίσματα Λεβάντας.....	79
4.1.1	Μελέτη εκχύλισης	79
4.2	Ολικά Φαινολικά Συστατικά.....	82
4.2.1	Υδατοδιαλυτά δοκίμια.....	82
4.2.2	Λιποδιαλυτά Δοκίμια	83
4.3	Αντιοξειδωτική Δράση.....	85
4.3.1	Υδατοδιαλυτά Δοκίμια	85
4.3.2	Λιποδιαλυτά Δοκίμια	85
4.4	Βιοδραστηκότητα - Τοξικότητα	86
4.4.1	Υδατοδιαλυτά δοκίμια.....	87
4.4.2	Λιποδιαλυτά δοκίμια	88

4.5	Συσχετισμοί αντιοξειδωτικής δράσης και βιοδραστικότητας	90
4.6	Ανάλυση φασμάτων FT-IR για λιποδιαλυτά δοκίμια	92
4.7	Συσχετισμός Φασμάτων FT-IR και Τοξικότητας.....	104
4.8	Τελικά Συμπεράσματα και Μελλοντική Εργασία	107
5.	Βιβλιογραφία.....	109
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α	114
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β	118

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Τα αιθέρια Έλαια

1.1.1 Βασική Περιγραφή

Τα αιθέρια έλαια αποτελούν μίγματα από σύνθετες, πτητικές οργανικές ενώσεις με έντονη οσμή, που παράγονται κατά το δευτερογενή μεταβολισμό των φυτών σε διάφορα μέρη τους (άνθη, φύλλα, ξυλώδης ιστός, καρπός, σπόροι, ρίζωμα, φλοιός, ρητίνη, σε όλο το φυτό) από εξειδικευμένους εκκριτικούς σχηματισμούς, ενώ παραμένουν στην περιοχή παραγωγής τους χωρίς να κυκλοφορούν σε άλλα σημεία του φυτού. Πολλές φορές, το ίδιο φυτό παράγει διαφορετικά αιθέρια έλαια σε διαφορετικά σημεία του. Αν και σε διαφορετικά πεδία εφαρμογών ο όρος «αιθέριο έλαιο» μπορεί να χρησιμοποιείται με διαφορετικό τρόπο, στην πράξη συνήθως αναφέρεται σε εκείνα τα πτητικά συστατικά που μπορούν να απομονωθούν μέσω απόσταξης ή άλλων αντίστοιχων μεθόδων.

Για τους λόγους που τα φυτά παράγουν αιθέρια έλαια πολλές απόψεις έχουν προταθεί, χωρίς ακόμα να είναι βέβαιο ποιες από αυτές υπερισχύουν [1][2][3]:

- Για να απομακρύνουν φυτοφάγα ζώα. Τα αιθέρια έλαια μαζί με άλλους δευτερογενείς μεταβολίτες καθιστούν το φυτό επικίνδυνο ή μη εύγευστο προς βρώση.
- Για να απομακρύνουν έντομα. Έχει παρατηρηθεί πως η παραγωγή αιθέριου ελαίου σε ένα φυτό αυξάνεται όταν δέχεται επίθεση από έντομα.
- Για να εμποδίσουν προσβολή από βακτήρια, μύκητες ή άλλους μικροοργανισμούς.
- Για να βοηθήσουν την επικονίαση προσελκύοντας μέλισσες ή άλλα ωφέλιμα έντομα.
- Για να βοηθήσουν στην επούλωση πληγών του φυτού.
- Για να βοηθήσουν στην επιβίωση του φυτού σε δύσκολες συνθήκες ανάπτυξης, εμποδίζοντας την ανάπτυξη γειτονικών φυτών.
- Για να βοηθήσουν στην επιβίωση του φυτού σε συνθήκες ξηρασίας ή θερμικού σοκ, εμποδίζοντας την αφυδάτωσή του.

Όπως και να έχει, το σίγουρο είναι πως τα αιθέρια έλαια δίνουν σε κάθε φυτό χαρακτηριστικό άρωμα και γεύση.

1.1.2 Ιστορική Αναδρομή

Ο άνθρωπος ήρθε από πολύ νωρίς σε επαφή με τα βότανα, τα εκχυλίσματα και τα αποστάγματα τους, βρίσκοντας εφαρμογή στην υγιεινή, την αρωματοποιία, τις θρησκευτικές τελετές και άλλες εκφάνσεις τις καθημερινότητάς του. Τις πρώτες αναφορές συναντάμε σε απεικονίσεις και κείμενα των περισσότερων αρχαίων πολιτισμών (Αιγυπτίων, Κινέζων, Ινδών, Ελλήνων, Βίβλος, κ.ά.).

Κατά τη διάρκεια του Μεσαίωνα το εμπόριο των μπαχαρικών αλλά και τα κείμενα του Ιπποκράτη και του Γαληνού έκαναν περισσότερο γνωστή τη χρήση φυτικών αρωματικών ουσιών. Γνωστές είναι οι απεικονίσεις των γιατρών της πανώλης (Pestartzt) οι οποίοι φορούσαν μάσκες με μακρές μύτες στο εσωτερικό των οποίων τοποθετούσαν αρωματικά βότανα και αιθέρια έλαια για προστασία, ενώ σύμφωνα με λαϊκό μύθο, του οποίου η αυθεντικότητα αμφισβητείται, την ίδια τακτική ακολουθούσαν και οι ληστές της εποχής που έκλεβαν τα πτώματα των προσβεβλημένων. Μέχρι τις αρχές του 17ου αιώνα περίπου 60 αιθέρια έλαια χρησιμοποιούνταν σε φάρμακα και αρώματα.[1][2]



Εικόνα 1: Απεικόνιση γιατρού πανώλης (Pestartzt)



Εικόνα 2: Οι Αιγύπτιοι χρησιμοποιούσαν αιθέρια έλαια κατά τη μουμιοποίηση των νεκρών τους

Στο τέλος του 19ου αιώνα ο Koch παρατήρησε τη δράση του τερεβινθέλαιου στο βάκιλο του άνθρακα, ενώ μελέτη του Chamberland επιβεβαίωσε τις αντισηπτικές ιδιότητες 35 αιθέρων ελαίων σε μικροβιακές καλλιέργειες υπονόμων. Ο όρος «αρωματοθεραπεία» αναφέρεται στη θεραπευτική χρήση των αιθέρων ελαίων και χρησιμοποιήθηκε επίσημα για πρώτη φορά από τον R-M. Gattefossé, γάλλο χημικό, το 1937 στο έργο του Les Huilles Essentielles Hormones Végétales. Ο Gattefossé έκαψε σε ανοιχτή φλόγα το χέρι του ενώ εργαζόταν και ενστικτωδώς το βύθισε σε

δοχείο με αιθέριο έλαιο λεβάντας, γινόμενος μάρτυρας μιας γρήγορης και αποτελεσματικής επούλωσης. Το 1938 ο Godissant χρησιμοποίησε αιθέρια έλαια για τη θεραπεία του καρκίνου του δέρματος, γάγγραινας και άλλων δερματικών παθήσεων. Κατά το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο, ο στρατιωτικός χειρουργός J. Valnet πειραματίστηκε με αιθέρια έλαια για επούλωση πληγών και συνέχισε την έρευνά του εκδίδοντας το πρώτο πλήρες βιβλίο αρωματοθεραπείας το 1964.[2][4][5]

Από το σημείο αυτό, όλο και περισσότεροι ερευνητές ασχολήθηκαν με τα αιθέρια έλαια και τις θεραπευτικές τους ιδιότητες. Παράλληλα, η ανάπτυξη των τεχνικών χημικής ανάλυσης έριξε φως στον προσδιορισμό της σύστασή τους και τη σύνδεση μεταξύ χημικών ομάδων και βιολογικής δράσης. Με αυτό τον τρόπο, η αρωματοθεραπεία ξέφυγε από τα πλαίσια συνταγολογιών και εμπειρικής λαϊκής παράδοσης και ξεκίνησε την ένταξή της στα ιατρικά συστήματα του δυτικού κόσμου στο φάσμα των συνοδευτικών θεραπειών. Σήμερα, τα αιθέρια έλαια βρίσκουν εφαρμογή σε πολλούς τομείς της ανθρώπινης παραγωγής όπως στη βιομηχανία φαρμάκων, τροφίμων, αρωμάτων και καλλυντικών.

1.1.3 Χημειοταξινόμηση

Η χημειοταξινόμηση αφορά στη συστηματική ταξινόμηση των φυτών με βάση τη χημική τους σύσταση. Στην πράξη, ερευνάται η παρουσία και η ποσότητα χημικών ενώσεων που μπορούν να περιγράψουν, να χαρακτηρίσουν και να ταξινομήσουν τα φυτά σε διαφορετικές ταξονομικές μονάδες (taxa) και ονομάζονται συστηματικοί δείκτες (systematic markers). Οι χημικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται συνήθως ως συστηματικοί δείκτες είναι δευτερογενείς μεταβολίτες γιατί η παρουσία τους συχνά περιορίζεται σε ορισμένα taxa. Όσον αφορά τη χημική σύσταση, τα taxa αυτά δεν είναι καθορισμένα τόσο συστηματικά όσο σε άλλους τομείς της Γεωπονίας, π.χ. στη μορφολογία των φυτών. Για αυτό το λόγο, θα χρησιμοποιείται από εδώ και πέρα ο όρος *χημειοταξινόμηση*, έναντι του όρου *χημειοταξονόμηση* που περιγράφει ένα αυστηρά καθορισμένο πλαίσιο ταξινόμησης.

Το κεντρικό σημείο της χημειοταξινόμησης είναι η εύρεση του χημειότυπου. Ο χημειότυπος ή χημικός φαινότυπος, είναι το σύνολο των χημικών ενώσεων που διαφοροποιεί το ένα άτομο από ένα άλλο σε κάποια μονάδα, και συνήθως χαρακτηρίζεται από την επικράτηση μίας χημικής ένωσης. Συγκεκριμένα, τα άτομα ενός είδους μπορούν μορφολογικά να διαφέρουν ελάχιστα, αλλά με τη χημειοταξινόμηση να προκύψουν διαφορετικοί χημειότυποι που εκφράζουν το βαθμό

της μεταξύ τους συγγένειας. Από την άλλη πλευρά, άτομα που ανήκουν σε διαφορετικά είδη μπορούν να εμφανίζουν κοινούς χημειότυπους. Εφόσον οι ιδιότητες που αποδίδονται σε ένα φυτό έχουν άμεση σχέση με τη χημική του σύσταση, αντιλαμβάνεται κανείς πως η χημειοταξινόμηση δεν αποτελεί απλά ένα εργαλείο βοτανικής ταξινόμησης αλλά παίζει μεγάλο ρόλο στη μελέτη των εφαρμογών των φυσικών προϊόντων.

Η ίδια σκέψη αφορά και στα αιθέρια έλαια, εφόσον και αυτά αποτελούν μίγματα μεγάλου αριθμού οργανικών ενώσεων. Η εύρεση της χημικής τους σύστασης και η σύνδεσή της με τις βιολογικές τους δράσεις αποτελούν βασικά σημεία στη μελέτη και χρήση τους. Η ανάπτυξη των μεθόδων ενόργανης ανάλυσης, με έμφαση στην αέρια χρωματογραφία, καθιστά στις μέρες μας την ανάλυση και ταυτοποίηση του χημικού περιεχομένου των αιθέριων ελαίων γρήγορη, εύκολη και αξιόπιστη, τουλάχιστον για το μεγαλύτερο μέρος του.

Ο χημειότυπος μπορεί να ποικίλει ακόμα και σε φυτά ίδιου είδους, καθώς εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως το αρχικό πολλαπλασιαστικό υλικό, οι εδαφολογικές και κλιματολογικές συνθήκες, οι συνθήκες καλλιέργειας, ο χρόνος και τρόπος συγκομιδής, η επεξεργασία του φυτικού υλικού, οι συνθήκες παραλαβής του αιθέριου ελαίου κ.ά. Συχνά, όταν μιλά κανείς για το χημειότυπο ενός αιθέριου ελαίου δεν αναφέρεται στο συνολικό χημικό του προφίλ, αλλά στη χημική ένωση με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα.

Όσον αφορά τη χημειοταξινόμηση των αιθέριων ελαίων και των συστατικών τους, πολλοί τρόποι έχουν προταθεί, ανάλογα με το πεδίο εφαρμογής και το κεντρικό σημείο ενδιαφέροντος. Ένας από αυτούς εστιάζει στους βιολογικούς δρόμους και τον ακριβή τρόπο που συνθέτονται οι χημικές ομάδες στο φυτό. Σε γενικές γραμμές, η οδός του σικιμικού οξέος οδηγεί στη σύνθεση των φαινυλοπροπανοειδών παραγώγων και των κουμαρίνων, ενώ η οδός του μεβαλονικού οξέως και της φωσφομεθυλοερυθρίτης στα τερπενοειδή παράγωγα. Η ταξινόμηση αυτή είναι αρκετά περίπλοκη, καθώς χρειάζεται γνώση κάθε σημείου της σύνθεσης και των ενζύμων που εμπλέκονται, κάτι που αρκετές φορές δεν είναι γνωστό.[1][2][3][6]

Η πιο συχνή μέθοδος ταξινόμησης σχετίζεται με τις λειτουργικές ομάδες των συστατικών. Έτσι, τα συστατικά των αιθέριων ελαίων χωρίζονται σε υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, κετόνες, αλδεΐδες, εστέρες κλπ. Και αυτός όμως ο διαχωρισμός δεν μπορεί να καλύψει από το πρίσμα των χρήσεων και εφαρμογών, καθώς χημειότυποι ή συστατικά που ανήκουν στην ίδια λειτουργική ομάδα

εμφανίζουν συχνά διαφορετική βιολογική δράση και χρησιμοποιούνται με διαφορετικό τρόπο.

1.1.4 Χημειοταξινόμηση και Βιολογική Δράση

Προκύπτει λοιπόν από την προηγούμενη ανάπτυξη το ερώτημα αν υπάρχει κάποιος τρόπος ταξινόμησης των αιθέριων ελαίων που να βασίζεται από τη μία πλευρά στη χημική τους σύσταση (χημειοταξινόμηση), αλλά να μπορεί να συμβαδίζει από την άλλη με τις ιδιότητες και χρήσεις που αποδίδονται σε αυτά. Και αυτό, επειδή τα αιθέρια έλαια χρησιμοποιούνται σε ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών, από επαγγελματίες ή απλούς καταναλωτές, ενώ παράλληλα ο αριθμός και η φύση των ιδιοτήτων που τους αποδίδονται οδηγεί πολλές φορές σε σύγχυση.

Για τους λόγους αυτούς, οι ερευνητές της αρωματοθεραπείας προτείνουν την χημειοταξινόμηση των αιθέριων ελαίων στις κατηγορίες και υποκατηγορίες που εμφανίζονται στον Πίνακα 1, σε συνάρτηση με το βασικό τους χημειότυπο, αλλά και τη βασική βιολογική δράση που παρατηρείται σε κάθε μία από αυτές. Παράλληλα, εμφανίζονται και παραδείγματα αιθέριων ελαίων με αυτή την κατηγοριοποίηση.

Στο σημείο αυτό πρέπει να τονιστούν μερικά σημεία. Όταν η δραστική χημική ουσία είναι παράγωγο μονοτερπενοειδών, η λειτουργική ομάδα (αλκοόλη, φαινόλη κλπ.) παίζει σημαντικό ρόλο στη βιολογική δράση, για αυτό και η κατηγοριοποίηση είναι πιο εκτενής. Όταν η δραστική είναι παράγωγο τερπενοειδούς μεγαλύτερου μοριακού βάρους (σεσκιτερπενοειδή), η λειτουργική ομάδα παίζει μικρότερο ρόλο στη βιολογική δράση, για αυτό και η κατηγοριοποίηση είναι μικρότερου εύρους. Παρόμοια ισχύουν και για τα φαινυλοπροπανοειδή, τα οποία έχουν κοινές ιδιότητες και η διαφοροποίηση έγκειται σε αυτή καθαυτή τη δραστική.[2][7][8][9]

Πίνακας 1: Χημειοταξινόμηση Αιθέριων Ελαίων

Κατηγορία	Υποκατηγορία	Χημειότυποι	Αιθέρια Έλαια	Βιολογική Δράση
Μονοτερπενοειδή	Υδρογονάνθρακες	λεμονένιο πινένιο καμφένιο μυρκένιο σαμπινένιο τερπινένιο	Εσπεριδοειδή Κωνοφόρα Στα περισσότερα αιθέρια	Τονωτική Αντιική
	Αλκοόλες	λιναλοόλη κιτρονελλόλη γερανιόλη τερπινεόλη μενθόλη	Λεβάντα Ροδόδενοδρο Κορίανδροσ Πτίγκρειν Θυμάρι Γεράνι Τριαντάφυλλο Παλμαρόζα Ευκάλυπτοσ Νιαουλί Τειϊόδενοδρο Μέντα Δύοσμοσ	Αντισηπτική Τονωτική
	Φαινόλεσ	θυμόλη καρβακρόλη	Θυμάρι Ρίγανη Θρούμπι	Αντισηπτική Ενίςχυση Ανοσοποιητικού Θερμαντική Τονωτική
	Κετόνεσ	θυγιόνη καρβόνη καμφορά	Θούγια Φασκόμηλο Άνηθοσ	Επουλωτική Βλεννολυτική Νευροτοξική

		βερμπενόνη πιπεριτόνη πουλεγόνη	Καμφορά Δενδρολίβανο Ευκάλυπτος Ύσσωπος Φλισκούνη	
	Αλδεΰδες	κιτρονελλάλη κιτράλη γερανιάλη νεράλη	Ευκάλυπτος Κιτρονέλλα Εσπεριδοειδή Λεμονόχορτο Λουίζα Μελισσόχορτο Γεράνι Νερολί Εσπεριδοειδή	Αντιφλεγμονώδης Σπασμολυτική Προσαρμογόνος
	Εστέρες	μυρμηγκικού οξέος οξικού οξέος βαλερικού οξέος. επτανοϊκού οξέος	Γεράνι Ελίχρυσος Ίνουλα Δενδρολίβανο Λεβάντα Δάφνη Ρωμαϊκό Χαμομήλι Υλάνγκ – Υλάνγκ Πτιγκρέιν Μανταρίνι	Σπασμολυτική Αντιμυκητιακή Προσαρμογόνος
	Οξείδια	ευκαλυπτόλη οξείδιο λιναλοόλης	Ευκάλυπτος Μελαλεύκη Ύσσωπος Λεβάντα	Αντιική Αποχρεμπτική

Σεσκιτερπενοειδή	Υδρογονάνθρακες	χαμαζουλένιο καρυοφυλλένιο γερμακρένιο υλανγκένιο	Γερμ. Χαμομήλι Αχίλλεια Γαρύφαλλο Μαύρο Πιπέρι Σολιντάγκο Υλάνγκ - Υλάνγκ	Ηρεμιστική Αντιφλεγμονώδης Αντιαλλεργιογόνος
	Αλκοόλες	μπισαμπολόλη σανταλόλη βιριδιφλορόλη σπαθουλενόλη κεδρόλη πατσουλί	Γερμ. Χαμομήλι Σάνδαλο Νιαουλί Φασκόμηλο Λουίζα Κέδρος Πατσουλί	Αντιφλεγμονώδης Αντιαλλεργιογόνος Φυτοοιστρογόνος Επουλωτική Τωνωτική
	Λακτόνες	αλαντολακτόνη ισολακτόνη ατρεμισίνη	Ίνουλα Αρτεμισία	Βλενολλυτική Αντιμαλαριακή Αλλεργιογόνος Ερεθιστική
Φαινυλοπροπανοειδή		ευγενόλη κινναμωμική αλδεΐδη εστραγκόλη ανηθόλη σαφρόλη μυρυστικήνη	Γαρύφαλλο Κανέλα Βασιλικός Εστραγκόν Άνηθος Σασαφράς Μοσχοκάρυδο	Αντισηπτική Τωνωτική Σπασμολυτική Ερεθιστική Ψυχοτρόπος

1.1.5 Διαγράμματα Χημειοταξινόμησης

Διαβάζοντας κανείς τις βιολογικές δράσεις που αποδίδονται στα αιθέρια έλαια, δεν είναι δύσκολο να οδηγηθεί σε σύγχυση. Κατ' αρχάς, είναι πολλή μεγάλη η λίστα με τις δράσεις αυτές, όπως φαίνεται στον Πίνακα 2, σε τέτοιο σημείο που κάποιος σχηματίζει για τα αιθέρια έλαια την εικόνα της πανάκειας. Ακόμα, όταν εστιάσει κανείς σε μία συγκεκριμένη δράση, π.χ. αντϊική, συναντά μια πληθώρα διαφορετικών επιλογών σε αιθέρια έλαια, χωρίς να γίνεται εμφανής η διαφοροποίηση. Τέλος, διαβάζοντας για ένα συγκεκριμένο αιθέριου έλαιο, π.χ. της λεβάντας, εμφανίζονται συχνά οξύμωρες ιδιότητες, π.χ. χαλαρωτική και τονωτική, χωρίς να γίνεται σαφής ο τελικός τρόπος δράσης.

Πίνακας 2: Βιολογικές δράσεις που αποδίδονται στα αιθέρια έλαια

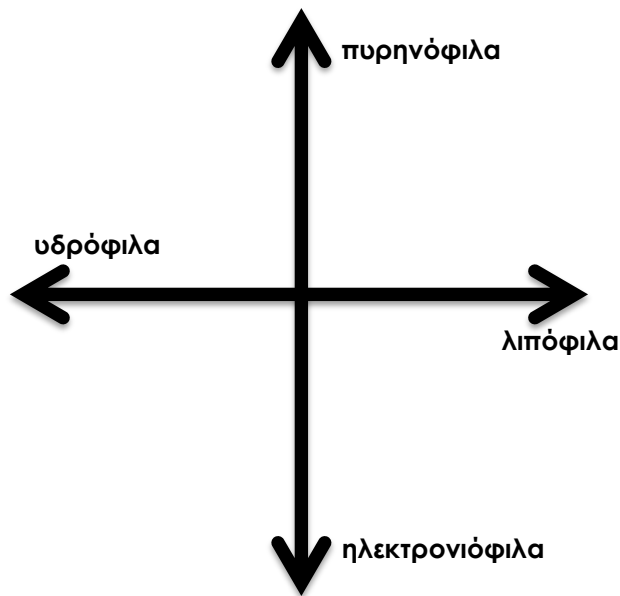
Αγγειοδιασταλτικό	Αντισταμινικό	Αποτοξινωτικό	Λιθολυτικό	Υποτασικό
Αναγέννηση Αρτηριών	Αντικαταθληπτικό	Άφυσο	Λιπολυτικό	Φλεβοτονικό
Αναλγητικό	Αντικνησμάδες	Βλεννολυτικό	Μητροτονικό	Φωτοτοξικό
Ανθελμνητικό	Αντιμολυσματικό	Γαλακταγωγό	Ορμονικό	Χολαγωγό
Ανοσοτονωτικό	Αντιμυκητιακό	Διεγερτικό αναπαραγωγής	Οφθαλμικό	Χωνευτικό
Αντιβακτηριακό	Αντιοξειδωτικό	Διουρητικό	Παρασιτοκτόνο	Ψυχοδραστικό
Αντιβηχικό	Αντιπαρασιτικό	Εμμηναγωγό	Προστατευτικό ακτινοβολίας	
Αντιγαλακταγωγό	Αντιπυρετικό	Εντομοαπωθητικό	Στυπτικό	
Αντιδιαβητικό	Αντιρευματικό	Επουλωτικό	Τονωτικό	
Αντιεπιληπτικό	Αντισηπτικό	Εφιδρωτικό	Τονωτικό αναπνευστικού	
Αντιερεθιστικό	Αντισκληρωτικό	Ηπατικό	Τονωτικό κυκλοφορικού	
Αντιεφιδρωτικό	Αντισπασμωδικό	Ηρεμιστικό	Τονωτικό Παγκρέατος	
Αντημικρανιακό	Αντιφλεγμονώδες	Καθαρτικό	Τονωτικό Πνευματική Λειτουργίας	
Αντιθρομβωτικό	Αποσμητικό	Καρδιοτονωτικό	Τονωτικό τριχωτού	
Αντϊικό	Αποσυμφορητικό	Λεμφοτονικό	Υπερτασικό	

Δύο λογικά συμπεράσματα προκύπτουν από αυτή την εικόνα. Το πρώτο είναι πως η σύσταση των αιθέριων ελαίων είναι τόσο πολύπλοκη, ώστε δεν μπορεί κανείς να μιλά για μία και μόνο δράση του ελαίου βάσει χημειότυπου. Το δεύτερο είναι πως αν και τα αιθέρια έλαια χρησιμοποιούνται σε ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών, χρειάζεται μεγαλύτερη προσοχή και ακρίβεια στην επιλογή τους για συγκεκριμένους σκοπούς. Η επιλογή αυτή δεν μπορεί σε καμία περίπτωση να βασίζεται σε μία αναφορική λίστα δράσεων και ιδιοτήτων, αλλά σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά που θα συνδέουν την επιλογή με το επιδιωκόμενο αποτέλεσμα.

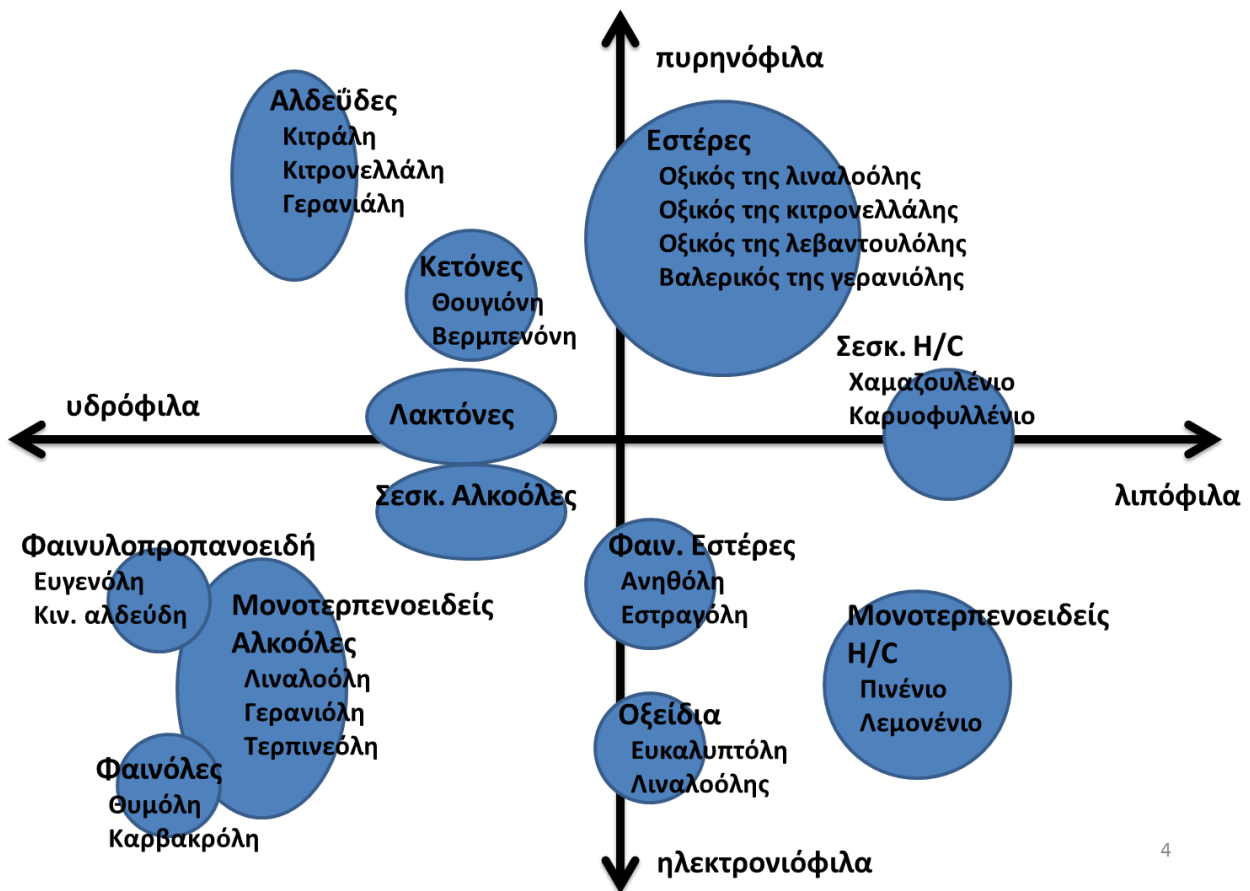
Χρειάζεται λοιπόν ο καθορισμός ενός συστήματος που να εμπεριέχει τη χημειοταξινόμηση βάσει βιολογικής δράσης, όπως αναπτύχθηκε στην παράγραφο 1.1.4, αλλά παράλληλα να χαρτογραφεί εύκολα τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ενός αιθέριου ελαίου που σχετίζονται με τις δράσεις του. Ο P. Franchomme ήταν ο πρώτος που παρατήρησε πως δύο φυσικοχημικές ιδιότητες παίζουν σημαντικό ρόλο στις ιδιότητες ενός αιθέριου ελαίου.

Η πρώτη είναι η πυρηνόφιλη/ηλεκτρονιόφιλη συμπεριφορά ενός χημικού συστατικού και η δεύτερη η υδρόφιλη/λιπόφιλη συμπεριφορά βάσει της πολικότητάς του. Στο σημείο αυτό πρέπει να τονιστεί πως τα αιθέρια έλαια είναι εν γένει λιπόφιλα και δεν διαλύονται εύκολα στο νερό. Παρόλα αυτά συγκεκριμένες χημικές ομάδες όπως οι φαινόλες και οι αλδεΐδες εμφανίζουν μεγαλύτερη πολικότητα και για αυτό θεωρούνται περισσότερο μετατοπισμένες προς το υδρόφιλο τμήμα σε έναν σχετικό άξονα υδρόφιλης/λιπόφιλης συμπεριφοράς.

Μπορεί λοιπόν να κατασκευαστεί ένας διδιάστατος χάρτης με δύο άξονες, έναν άξονα ηλεκτρονιόφιλης/πυρηνόφιλης συμπεριφοράς και έναν άξονα υδρόφιλης/λιπόφιλης συμπεριφοράς, όπως εικονίζεται στο Σχήμα 1. Κάθε χημική ομάδα μπορεί να τοποθετηθεί σε αυτό το χάρτη. Στο Σχήμα 2, εικονίζονται οι χημικές ομάδες των συστατικών των αιθέριων ελαίων μαζί με χαρακτηριστικά παραδείγματα τοποθετημένα στο χάρτη αυτό. Οι χημικές ομάδες στο χάρτη αυτό αποδίδονται ως νέφη (clusters) καθώς κάθε χημική ένωση έχει διαφορετικές συντεταγμένες αλλά οριοθετούν συγκεκριμένες περιοχές.[2][7][8][9]



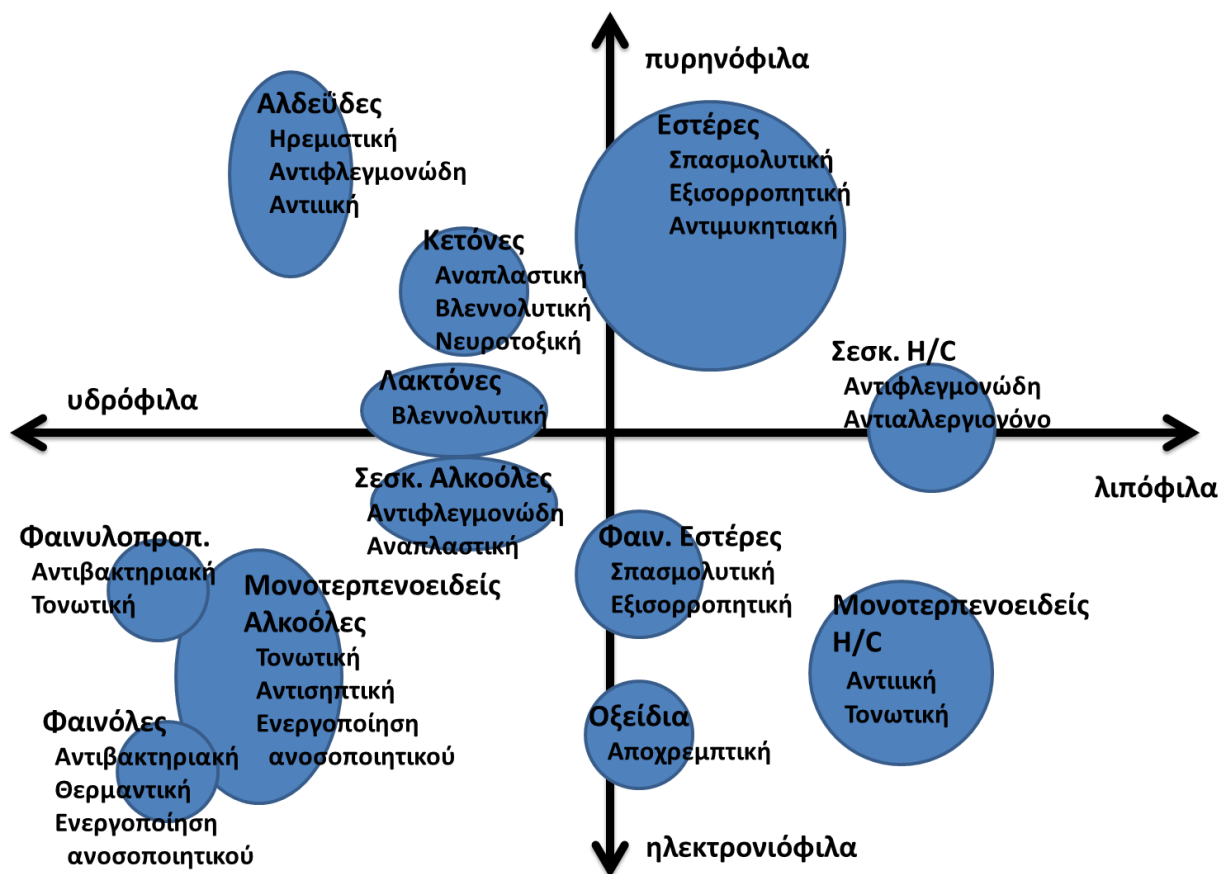
Σχήμα 1: Διδιάστατος χάρτης χημικών συστατικών αιθέριων



4

Σχήμα 2: Χημικές Ομάδες και παραδείγματα τοποθετημένα στον χάρτη

Όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 1.1.4 υπάρχει σύνδεση ανάμεσα στη χημική ομάδα και τη βιολογική της δράση. Αφού έχουν τοποθετηθεί οι χημικές ομάδες στο χάρτη αυτό, μπορούν να τοποθετηθούν και οι αναμενόμενες βιολογικές δράσεις και έτσι να προκύψει το Σχήμα 3.



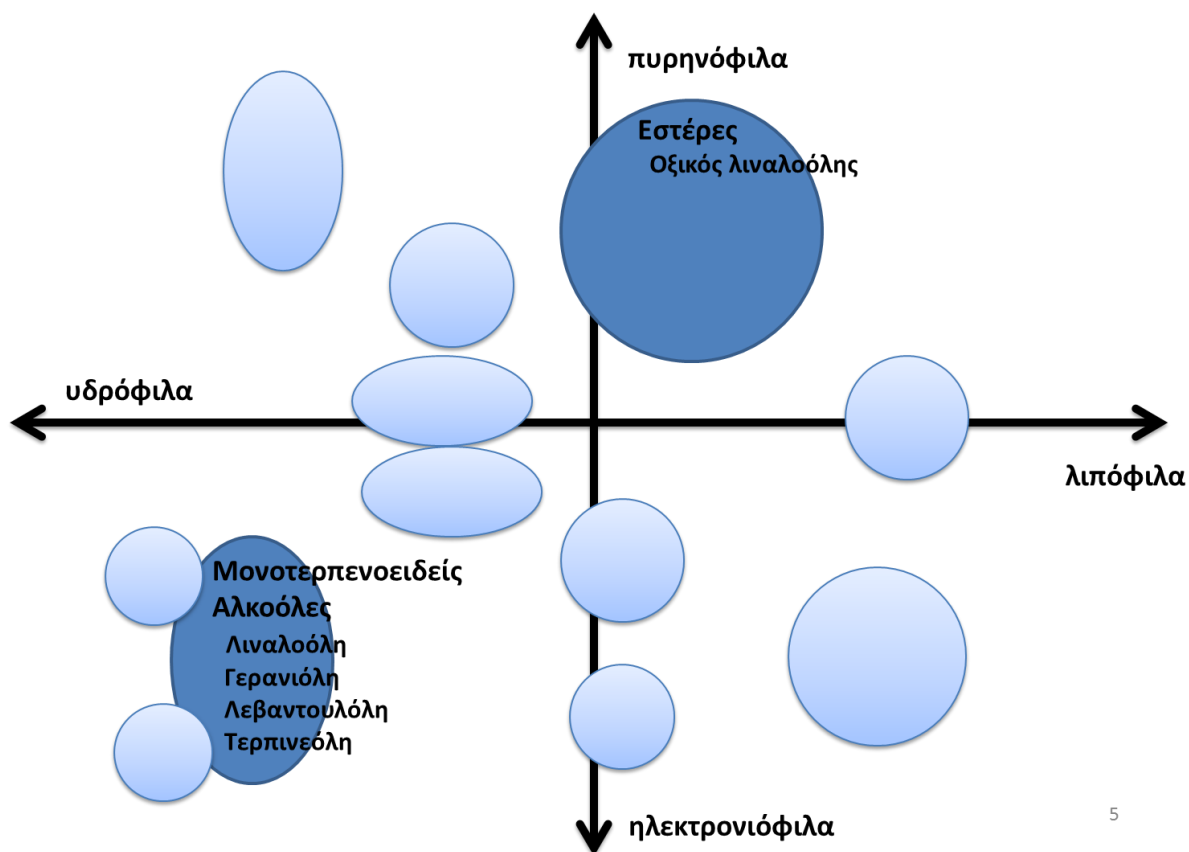
Σχήμα 3: Χημικές Ομάδες και βιολογική δράση τοποθετημένα στο χάρτη.

Μπορεί, λοιπόν, το χημικό προφίλ ενός αιθέριου ελαίου να αποδοθεί σε έναν τέτοιο χάρτη, τρόπος που εμφανίζει τα παρακάτω πλεονεκτήματα: παρουσιάζονται με άμεσο τρόπο τα βασικά χημικά συστατικά του αιθέριου ελαίου, γίνεται εύκολα η αντιστοιχία ανάμεσα στα χημικά συστατικά και τη βιολογική δράση και γίνεται αντιληπτό πως η αναμενόμενη βιολογική δράση δεν στηρίζεται σε ένα μόνο συστατικό αλλά σε περισσότερα, τα οποία μπορούν πολλές φορές να οδηγούν σε αντίθετες δράσεις.

Στο Σχήμα 4, εικονίζεται το χημικό προφίλ του αιθέριου ελαίου της λεβάντας (*Lavandula angustifolia*). Τα κύρια χημικά συστατικά του (χημειότυπος) είναι η

λιναλοόλη, ο οξικός εστέρας της λιναλοόλης και κάποιες ακόμα μονοτερπενοειδείς αλκοόλες (γερανιόλη, λεβαντουλόλη, τερπιν-4-όλη). Αν συγκρίνει κανείς το χημικό προφίλ με τις βιολογικές δράσεις του Σχήματος 3, μπορεί να βγάλει το συμπέρασμα πως ο οξικός εστέρας της λιναλοόλης προσδίδει στο αιθέριο της λεβάντας εξισορροπητική και χαλαρωτική δράση, για την οποία είναι και πιο γνωστό, ενώ οι μονοτερπενοειδείς αλκοόλες της προσδίδουν δράση τονωτική και αντισηπτική.

Γίνεται λοιπόν αντιληπτό, πως η αντιστοιχία βιολογικών δράσεων και αιθέριων ελαίων δεν είναι μια ένα-προς-ένα διαδικασία. Είναι δύσκολο να αποδοθούν μονολεκτικές θεραπευτικές ιδιότητες σε ένα αιθέριο έλαιο και αυτό όχι μόνο γιατί παίζουν και άλλοι παράγοντες ρόλο στον τρόπο που θα αποκριθεί κάθε οργανισμός στη δράση του ελαίου, αλλά και γιατί το ίδιο το χημικό προφίλ του ελαίου είναι πολύπλοκο και διαφορετικά συστατικά προσδίδουν διαφορετικές ιδιότητες. Το γεγονός αυτό κάνει εμφανείς και τις δυσκολίες που εμπίπτουν στους κλινικούς ελέγχους χρήσης των αιθέριων ελαίων, καθώς σε αντίθεση με τα περισσότερα φαρμακευτικά σκευάσματα, τα αιθέρια έλαια δεν είναι μονομόρια (μία δραστική) και δεν είναι εύκολο να συνδεθεί συγκεκριμένη παρατηρούμενη δράση με συγκεκριμένη χημική δραστική.



5

Σχήμα 4: Το χημικό προφίλ της φαρμακευτικής λεβάντας (*Lavandula angustifolia*)

1.1.6 Αρωματοθεραπεία και Αρωμαχολογία

Όπως αναφέρθηκε και στην παράγραφο 1.1.2, ο όρος Αρωματοθεραπεία αναπτύχθηκε για να περιγράψει τη χρήση των αιθέριων ελαίων και αντίστοιχων σκευασμάτων για φαρμακευτικούς, ιατρικούς και θεραπευτικούς σκοπούς. Εδώ πρέπει να γίνει σαφές πως η αρωματοθεραπεία ως κλινική εφαρμογή δεν έχει καμία σχέση με τον τρόπο που χρησιμοποιείται ο όρος για διαφημιστικούς και εμπορικούς σκοπούς ή που συνδέεται με συγκεκριμένα προϊόντα. Αρωματοθεραπεία δεν αποτελεί η χρήση ενός απορρυπαντικού με άρωμα λεβάντας ή η χρήση ενός αρωματικού κεριού.

Η αρωματοθεραπεία αποτελεί ένα συγκεκριμένο πλαίσιο θεραπευτικής εφαρμογής, που ανήκει στην ομάδα των Συνοδευτικών και Εναλλακτικών Θεραπειών (CAM). Ως «συνοδευτική» αναφέρεται στο γεγονός πως η αρωματοθεραπεία μπορεί να χρησιμοποιηθεί συνοδευτικά και συμπληρωματικά με κάποια θεραπεία του επίσημου δυτικού ιατρικού συστήματος, ενώ ως «εναλλακτική» μπορεί να χρησιμοποιηθεί ανεξάρτητα από το δυτικό ιατρικό σύστημα, συνήθως σε συνδυασμό με συστήματα παραδοσιακή ιατρικής.[1][2]

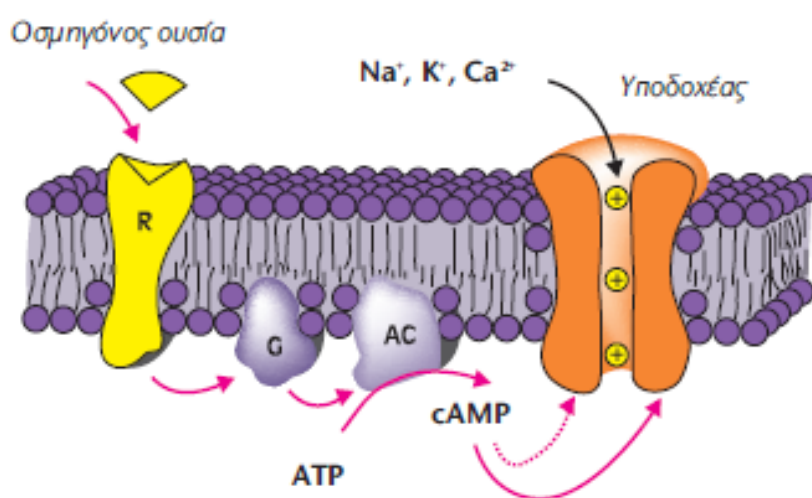
Η αρωματοθεραπεία ακολουθεί το βιοψυχοκοινωνικό ιατρικό μοντέλο, σύμφωνα με το οποίο ο άνθρωπος θεωρείται ολιστικά και όχι με διαχωρισμό σώματος-πνεύματος-ψυχής, η υγεία ορίζεται ως η πλήρης ευεξία σε βιολογικό, ψυχικό, περιβαλλοντικό, κοινωνικό και συμπεριφερολογικό επίπεδο, ενώ μία ασθένεια μπορεί να εκδηλώνεται με διαφορετικούς τρόπους σε διαφορετικούς τομείς και επίπεδα.[10]

Τα αιθέρια έλαια επιδρούν στον οργανισμό με δύο διαφορετικούς τρόπους και δρόμους. Ο πρώτος αφορά στη φαρμακευτική δράση που έχει το χημικό προφίλ του ελαίου, όταν εισέρχεται στον οργανισμό και στην κυκλοφορία του αίματος. Οι τρόποι εισόδου είναι συνήθως μέσω δερματική απορρόφησης, κατάποσης (per os) ή με απορρόφηση από βλεννογόνους κοιλότητες (αναπνευστικό, στόμα, κόλπος, πρωκτός). Μετά την είσοδο, το αιθέριο έλαιο περνά στην κυκλοφορία του αίματος και ακολουθεί τα βιολογικά μονοπάτια του οργανισμού. Αν και οι ταχύτητες απορρόφησης καθορίζονται από πολλούς παράγοντες, τα χημικά συστατικά των ελαίων μπορούν να ανιχνευτούν στο αίμα μετά την πάροδο 5 λεπτών και στην αναπνοή μετά από 20 – 120 λεπτά. Με αυτό τον τρόπο, η βιολογική δράση του ελαίου συνδέεται άμεσα με το χημικό του προφίλ.[11][13]

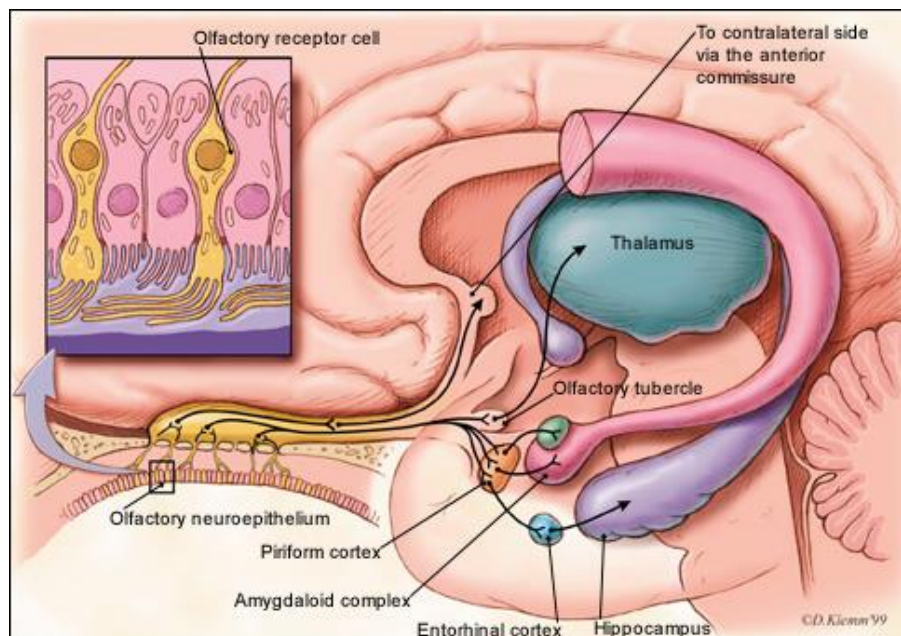
Η συστηματική μελέτη των βιολογικών δράσεων των αιθέριων ελαίων αποτελεί ένα ερευνητικό τομέα ενεργό για περισσότερο από 50 χρόνια. Οι έρευνες εστιάζουν

τόσο στην επίδραση σε ένα συγκεκριμένο σύστημα του οργανισμού (νευρικό, μυϊκό, καρδιαγγειακό, αναπνευστικό κλπ.) όσο και σε συγκεκριμένες παθολογίες. Η βιβλιογραφία είναι πλούσια και το συμπέρασμα που προκύπτει συνήθως είναι πως αν και υπάρχει αμφιβολία για τον ακριβή τρόπο δράσης, η αρωματοθεραπεία λειτουργεί.[11][12]

Ο δεύτερος δρόμος επίδρασης συνδέεται με τη λειτουργία της όσφρησης. Όπως κάθε αισθητικό ερέθισμα, έτσι και οι αρωματικές ουσίες επιδρούν στη διάθεση, τη φυσιολογία και τη συμπεριφορά του ατόμου. Οι αρωματικές χημικές ουσίες διαθέτουν κατάλληλες φυσικοχημικές και στερεοδομικές ιδιότητες ώστε να προσδένονται στον ειδικό υποδοχέα του οσφρητικού επιθήλιου (Εικόνα 3). Η διακριτική ικανότητα του οσφρητικού συστήματος είναι τεράστια, με περίπου 10.000 διαφορετικές ουσίες να αναγνωρίζονται από το οσφρητικό επιθήλιο. Το κύτταρο υποδοχέας αποτελεί και τον πρώτο οσφρητικό νευρώνα. Με την πρόσδεση της οσμηγόνου ουσίας δημιουργείται νευρική ώση που καταλήγει στο οσφρητικό βολβό του εγκεφάλου και στα υπόλοιπα μέρη του μαιχμακού (λιμβικού) συστήματος.



Εικόνα 3: Πρόσδεση οσμηγόνου μορίου στον οσφρητικό βλεννογόνο



Εικόνα 4: Δημιουργία και πορεία του οσφρητικού νευρικού σήματος στο μεταιχμιακό εγκεφαλικό σύστημα

Το μεταιχμιακό σύστημα του εγκεφάλου (ιπποκάμπειος σχηματισμός, αμυγδαλή, υποθάλαμος), μεταξύ άλλων, σχετίζεται άμεσα με τις γνωσιακές λειτουργίες, όπως μνήμη και μάθηση, με συναισθηματικές λειτουργίες, τη ρύθμιση του ενδοκρινολογικού συστήματος και τη σύνδεση ορμονολογικών, ανοσολογικών και αυτόνομων νευρικών ερεθισμάτων και λειτουργιών. Με αυτό τον τρόπο, τα οσφρητικά ερεθίσματα επιδρούν στις φυσιολογικές, γνωσιακές και συναισθηματικές λειτουργίες του οργανισμού.[11][15][16]

Το 1982, το Ινστιτούτο Αίσθησης Οσμής (*Sense of Smell Institute*) στην Αμερική εισήγαγε τον όρο *Αρωμαχολογία* (*Aromachology*) από το συνδυασμό των λέξεων Άρωμα και Ψυχολογία, για να περιγράψει το επιστημονικό παρακλάδι της ψυχολογίας και των νευροεπιστημών που θα ερευνά την επίδραση των οσμηγόνων ερεθισμάτων στη φυσιολογία, τη διάθεση και τη συμπεριφορά, κάτω από την αυστηρά καθορισμένη επιστημονική μεθοδολογία που χρησιμοποιείται στους αντίστοιχους κλάδους.[11]

Από τις έρευνες του κλάδου αυτού, προκύπτουν δύο πιθανοί τρόποι για τον τρόπο που τα οσφρητικά ερεθίσματα επιδρούν στον άνθρωπο. Ο πρώτος αφορά στην φυσιολογική απόκριση του νευρικού και ενδοκρινολογικού συστήματος στο ερέθισμα. Για παράδειγμα, έχει παρατηρηθεί πως η οσμή της λεβάντας δρα στη λειτουργία της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP). Μείωση της

λειτουργίας της σχετίζεται με ηρεμιστική απόκριση. Επίσης, ο εστέρας της λινολοόλης, κύριο συστατικό του αρώματος της λεβάντας, βρέθηκε να έχει παρόμοια δράση. Μπορεί, λοιπόν να αποδοθεί μία νευροφαρμακευτική λειτουργία στις οσμηγόνες ουσίες.[11][17][18]

Ο άλλος τρόπος αφορά στην ψυχολογική και συναισθηματική απόκριση. Μέσω γνωσιακών λειτουργιών μάθησης (συναισθηματική μάθηση, συνειδητή αντίληψη, πίστη και προσδοκία, εμπειρίες και βιώματα, φύλο, κουλτούρα κ.ά.) γίνεται σύνδεση μίας οσμής με συγκεκριμένη αντίδραση. Για παράδειγμα, έχει παρατηρηθεί πώς η αναγνώριση και μόνο της οσμής της λεβάντας οδηγεί σε αίσθηση ευεξίας και χαλάρωσης, ενώ η οσμή της γωλθερίας οδηγεί σε μη ευχάριστη απόκριση καθώς χρησιμοποιείται παραδοσιακά σε πλειάδα φαρμακευτικών σκευασμάτων. Οι φυσιολογικές αντιδράσεις που προκύπτουν στη συνέχεια (εφίδρωση, καρδιακή λειτουργία κλπ.) αντιστοιχούν στη συναισθηματική απόκριση που έχει προηγηθεί, η οποία πολλές φορές δεν μπορεί να ερμηνευτεί παρά μόνο αν ληφθούν υπ' όψιν ατομικά χαρακτηριστικά του δέκτη.[11][15]

Συγκρίνοντας τις μέχρι τώρα έρευνες στην Αρωματοθεραπεία και την Αρωμαχολογία, προκύπτει το συμπέρασμα πως ο τρόπος εφαρμογής επηρεάζει σημαντικά και την βιολογική επίδραση του αιθέριου ελαίου. Όταν αυτό περνάει άμεσα στην κυκλοφορία του αίματος μέσω δερματικής απορρόφησης ή κατάποσης, η ποσότητα και ο τρόπος δράσης είναι τέτοιος ώστε η χημική σύσταση είναι αυτοί που καθορίζει τη βιολογική δράση. Από την άλλη πλευρά, όταν ο τρόπος εφαρμογής βασίζεται αποκλειστικά στην όσφρηση, η βιολογική δράση καθορίζεται στο μεγαλύτερο βαθμό από ψυχογνωσιακούς παράγοντες.[11][15]

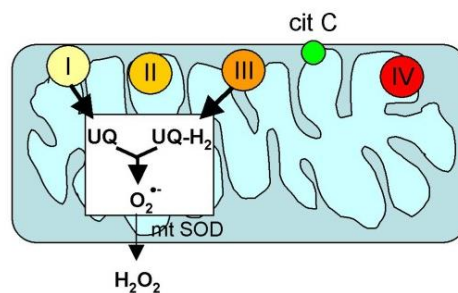
1.2 Αντιοξειδωτική Ικανότητα

1.2.1 Δραστικές Μορφές Οξυγόνου και Αντιοξειδωτικά

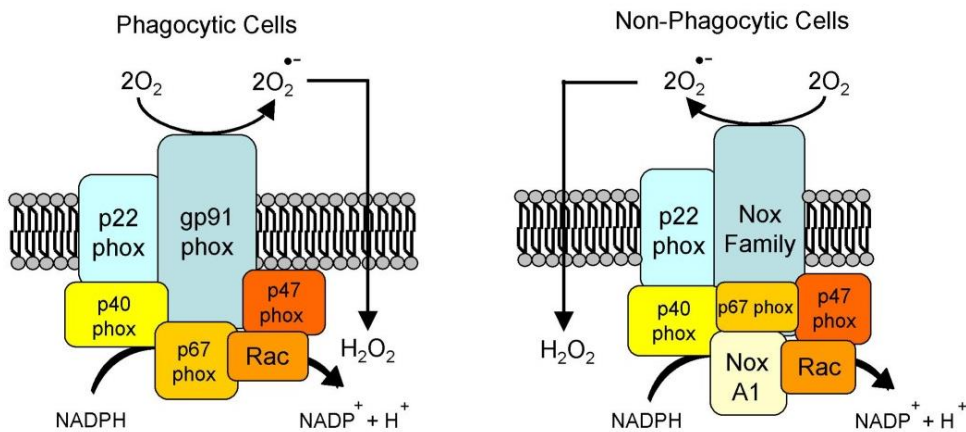
Οι Δραστικές Μορφές Οξυγόνου, (Reactive Oxygen Species, ROS) αποτελούν δραστικές ενδιάμεσες χημικές ουσίες που παράγονται στους ιστούς των ζωντανών οργανισμών, τόσο σε φυσιολογικές συνθήκες όσο και σε παθολογικές. Με τον όρο εμπερικλείονται τόσο οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, όσο και άλλα δραστικά χημικά είδη όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου. Οι κύριες ΔΜΟ που παίζουν ρόλο στις βιολογικές λειτουργίες είναι οι ρίζες υδροξυλίου OH^\bullet και υπεροξειδίου O_2^- . Κατά το φυσιολογικό μεταβολισμό, ο βασικός τρόπος δημιουργίας ΔΜΟ είναι η διαρροή

ηλεκτρονίων στην μιτοχονδριακή αναπνευστική αλυσίδα, Εικόνα 5. Στα φυσιολογικά επίπεδα, οι ΔΜΟ παίζουν σημαντικό ρόλο στα κυτταρικά σήματα και στην ομοιόσταση.[19][20][21][22][23]

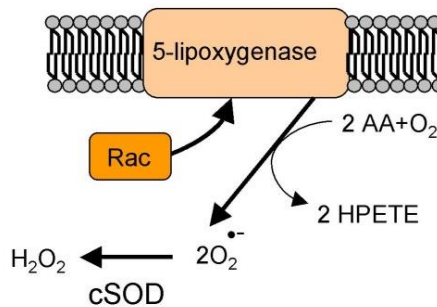
Πολλές φορές όμως, τόσο από ενδογενείς (στέρηση ορού, ανοσολογικοί παράγοντες, αυξητικοί παράγοντες, ορμόνες, υποξία, ογκογόνα Ras) όσο και από εξωγενείς παράγοντες (θερμότητα, ακτινοβολία UV, ακτινοβολία ιονίζουσα) η φυσιολογική παραγωγή ΔΜΟ αυξάνεται σημαντικά, ενώ ενεργοποιούνται και μηχανισμοί όπως η οξειδάση του NADPH (Εικόνα 6) και η 5-λιπόξυγενάση (Εικόνα 7).[24]



Εικόνα 5: Παραγωγή υπεροξειδίου στα μιτοχόνδρια



Εικόνα 6: Παραγωγή υδροξειδίου με την επίδραση της οξειδάσης της NADPH



Εικόνα 7: Παραγωγή υδροξειδίου με την επίδραση της 5-λιπόξυγενάσης

Η κατάσταση αυτή του οξειδωτικού στρες είναι επιζήμια για το κύτταρο, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε αλλοίωση του DNA, σε οξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στα λιπίδια, σε οξείδωση πρωτεϊνών, αμινοξέων και ενζύμων. Έρευνες συνδέουν το οξειδωτικό στρες με φλεγμονές και παθολογίες όπως ο καρκίνος, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η κίρρωση του ήπατος, η αθηρωματική νόσος, η νόσος Alzheimer και άλλες που χαρακτηρίζονται από πρόωρη γήρανση και απόπτωση των κυττάρων.

Ο οργανισμός διαθέτει μηχανισμούς προστασίας από το οξειδωτικό στρες, με ένζυμα όπως η α-1-μικροσφαιρίνη, η υπεροξειδική δισμουτάση, η καταλάση, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, η λακτοπεροξειδάση, η αναγωγή του υπεροξειδίου, καθώς και χημικές ουσίες όπως η τοκοφερόλη (βιταμίνη E), το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), η γλουταθειόνη, το ουρικό οξύ, τα φαινολικά συστατικά, τα καρετονοειδή, και άλλες χημικές ουσίες με την ιδιότητα να ανάγουν τις ΔΜΟ.

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για αντιοξειδωτικές χημικές ενώσεις που απομονώνονται από τα φυτά (φυτοχημικά αντιοξειδωτικά) και χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα για την ενίσχυση των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων ενός τροφίμου (χυμός, γάλα, μαργαρίνη κ.ά.) ή ως συμπληρώματα διατροφής. Στην αγορά κυκλοφορούν πολλά συμπληρώματα διατροφής και λειτουργικά τρόφιμα εμπλουτισμένα με αντιοξειδωτικά ή ακόμα και αντιοξειδωτικά ένζυμα των οποίων όμως η δράση αμφισβητείται καθώς διασπώνται κατά την πέψη.[19][20][21][22][23]

Αν και δεν υπάρχει αμφιβολία ότι τα αντιοξειδωτικά είναι απαραίτητα συστατικά για τη διατήρηση της υγείας, δεν υπάρχει επιστημονική τεκμηρίωση για το αν θα πρέπει να λαμβάνει κανείς αντιοξειδωτικά πρόσθετα και σε ποιες ποσότητες. Σήμερα, όλο και περισσότερες έρευνες δείχνουν ότι η πρόσληψη πρόσθετων αντιοξειδωτικών σε μεγάλες ποσότητες και για μεγάλα χρονικά διαστήματα δρα τοξικά στον οργανισμό.

Είναι γνωστό το πείραμα χημειοπροστασίας από καρκίνο του πνεύμονα που συμπεριέλαβε πολλές χιλιάδες εθελοντές Φιλανδούς καπνιστές [25], οι οποίοι λάμβαναν για αρκετά χρόνια ημερήσιες δόσεις β-καροτενίου μαζί με βιταμίνη E ή βιταμίνη A. Και στις δύο περιπτώσεις, προς μεγάλη έκπληξη των επιστημόνων, αντί να παρατηρηθεί προστατευτική δράση (σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες η αυξημένη κατανάλωση β-καροτενίου στην τροφή συνδέεται με μειωμένο κίνδυνο

καρκινογένεσης) παρατηρήθηκε αυξημένο ποσοστό καρκίνου του πνεύμονα μεταξύ των εθελοντών.

1.2.2 Αιθέρια Έλαια και Αντιοξειδωτική Ικανότητα

Τα αιθέρια έλαια βρίσκουν χρήση σε ένα μεγάλο εύρος προϊόντων, όπως σε ποτά, τρόφιμα, καλλυντικά και προϊόντα κοσμητικής. Μέχρι πρόσφατα, οι εφαρμογές τους βασίζονταν κυρίως στις αρωματικές και γευστικές τους ιδιότητες. Η δράση τους ενάντια σε μεγάλο φάσμα μικροοργανισμών έχει μελετηθεί διεξοδικά και έδωσε χώρο σε χρήση τους ως συντηρητικά τροφίμων.

Τα τελευταία χρόνια, τα αιθέρια έλαια αναγνωρίζονται και ως φυτοχημικά αντιοξειδωτικά και έχουν προταθεί ως αντικατάστατα συνθετικών αντιοξειδωτικών στη βιομηχανία τροφίμων, παράλληλα με τις συντηρητικές και αρωματικές τους ιδιότητες. Ταυτόχρονα, η χρήση αντιοξειδωτικών σε προϊόντα κοσμητικής είναι μεγάλη, τόσο για εμπορικούς και διαφημιστικούς όσο και για πρακτικούς σκοπούς. Και στο πεδίο αυτό, η παρουσία των αιθέριων ελαίων ενισχύεται από τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες.

Η δυσκολία μελέτης της αντιοξειδωτικής δράσης στα αιθέρια έλαια έγκειται στη πολυπλοκότητα του χημικού τους προφίλ. Υπάρχουν αρκετές μελέτες που εστιάζουν σε μεμονωμένα χημικά συστατικά, αλλά η συμπεριφορά τους δεν συνάδει πάντα με αυτή του αιθέριου ελαίου. Συχνά γίνεται αναφορά σε φαινόμενα συνέργειας ή παρεμπόδισης, αλλά η επιστημονική τεκμηρίωση είναι περιορισμένη. Ακόμα, η μεθοδολογία που ακολουθείται για τη μέτρηση αντιοξειδωτικής δράσης αλλάζει δραστικά τα αποτελέσματα. Στις περιπτώσεις στις οποίες ακολουθείται μία μόνο μέθοδος προσδιορισμού και για μικρό αριθμό αιθέριων ελαίων τα αποτελέσματα δεν είναι εύκολα συγκρίσιμα.

Μελέτες όπως αυτές των [22][23][26][27] παρουσιάζουν συγκεντρωτικά αποτελέσματα για τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες ενός μεγάλου αριθμού αιθέριων ελαίων, με διάφορες μεθοδολογίες. Στον Πίνακα 3 αναγράφονται οι σημαντικότερες από αυτές τις έρευνες, ο αριθμός των αιθέριων ελαίων που δοκιμάστηκαν, η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε και τα αιθέρια έλαια ή τα χημικά συστατικά τους που εμφάνισαν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση.

Συμπερασματικά, οι ισχυρότερες αντιοξειδωτικές δράσεις αποδίδονται σε *ορισμένους μονοτερπενοειδείς H/C, σε οξυγονούχα μονοτερπένια και στις φαινόλες.*

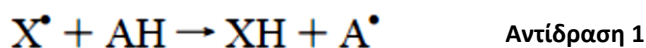
Πίνακας 3: Έρευνες στην αντιοξειδωτική δράση αιθέριων ελαίων

Συγγραφείς	Χρονολογία	Αριθμός Δοκιμίων	Μεθοδολογία	Ισχυρά Αντιοξειδωτικά
G. Ruberto, M. Baratta	2000	100 μεμονωμένα συστατικά	TBARS LA Oxidation	α-τερπινένιο γ-τερπινένιο τερπινολένιο σαμπινένιο θυμόλη καρβακρόλη νερόλη cis-βερμπενόλη γερανιόλη ευγενόλη γερμακρόνη
Mantle et al.	1998	26 αιθ. έλαια	ABTS Iodophenol CL	κανέλα πιμέντο μελισσόχορτο δάφνη θυμάρι υλάνγκ-υλάνγκ
Saleh et al.	2010	248 αιθ. έλαια	DPPH/HPTLC	καμπορά νορολιδόλη κυμένιο θυμόλη καρβακρόλη βορνεόλη λιναλοόλη νεπεταλακτόλη ευγενόλη ευκαλυπτόλη κινναμωμικό οξύ βανιλίνη θουγιένιο καρνοφυλλαδιένιο καψαϊκινόλη ροζεφουράνιο ακαρενόνη
Teixeira et al.	2013	17 αιθ. έλαια	DPPH FRP	γαρύφαλλο ρίγανη θυμάρι

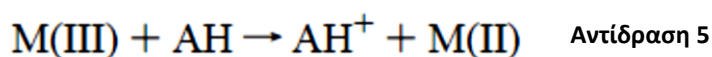
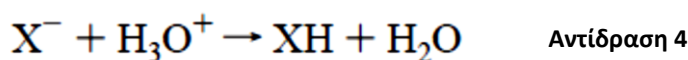
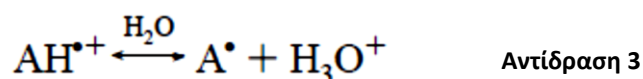
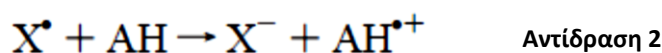
1.2.3 Μέθοδοι Προσδιορισμού Αντιοξειδωτικής Δράσης

Μεγάλος είναι ο αριθμός των μεθόδων που έχουν αναπτυχθεί και χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας μίας χημικής ουσίας. Ο βασικός τρόπος ταξινόμησης των μεθόδων αυτών είναι με βάση το μηχανισμό αντίδρασης. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει το μηχανισμό μεταφοράς ατόμου υδρογόνου (Hydrogen Atom Transfer, HAT), ενώ η δεύτερη το μηχανισμό μεταφοράς μονήρους ηλεκτρονίου (Single Electron Transfer, SET).

Στην HAT κατηγορία περιλαμβάνονται όλες οι μέθοδοι στις οποίες μετράται η ικανότητα μιας πιθανής αντιοξειδωτικής ουσίας να απαλείψει ένα οξειδωτικό ως δότης πρωτονίων, σύμφωνα με την Αντίδραση 1.



Στην SET κατηγορία περιλαμβάνονται όλες οι μέθοδοι στις οποίες μετράται η ικανότητα μίας πιθανής αντιοξειδωτικής ουσίας να μεταφέρει ένα ηλεκτρόνιο ανάγοντας οξειδωτικά όπως μέταλλα, ρίζες, καρβονύλια, σύμφωνα με τις Αντιδράσεις 2, 3, 4, 5. Τέλος, υπάρχει και μία ξεχωριστή κατηγορία μεθόδων στις οποίες μετράται η οξείδωση κάποιων λιπιδίων, διαδικασία στην οποία παράγονται υπεροξείδια και άλλα πτητικά προϊόντα.



Στον Πίνακα 4, εμφανίζονται τα ονόματα και η ταξινόμηση των κυριότερων μεθόδων προσδιορισμού αντιοξειδωτικών, καθώς επίσης η ευκολία υλοποίησης και η βιολογική τους συνάφεια. Οι τρεις μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην παρούσα εργασία, Folin-Ciocalteu, DPPH και ABTS, περιγράφονται αναλυτικότερα σε επόμενο κεφάλαιο.[19]

Πίνακας 4: Βασικές μέθοδοι μέτρησης αντιοξειδωτικής ικανότητας

Αρχικά Μέθοδος	Περιγραφή	Ανίχνευση	Κατηγορία	Ευκολία	Βιολογική Συνάφεια
ORAC	Παρεμπόδιση ROO [•]	Φθορισμομετρία	HAT	++	+++
TRAP	Παρεμπόδιση ROO [•] από AAPH/ABAP	Φθορισμομετρία Φασματοσκοπία	HAT	---	+++
FRAP	Αναγωγή TPTZ προς έγχρωμο παράγωγο	Φασματοσκοπία	SET	+++	--
CUPRAC	Αναγωγή Cu(II) σε Cu(I)	Φασματοσκοπία	SET	+++	
TEAC/ABTS	Οξείδωση ABTS σε ABTS ^{•+}	Φασματοσκοπία	SET	+	-
DPPH	Αναγωγή DPPH [•]	Φασματοσκοπία	SET	+	-
TOSC	Παρεμπόδιση οξείδωσης KMBA και παραγωγής αιθυλενίου	Αέρια Χρωματογραφία	HAT	-	++
TBARS	Οξείδωση λιπιδίων προς MDA που σχηματίζει ροζ παράγωγο με την προσθήκη TBA	Φασματοσκοπία	HAT	+	+++
F-C	Προσδιορισμός φαινολικών μέσω οξειδοαναγωγής	Φασματοσκοπία	SET	+	-
LDLO	In vivo οξείδωση LDL από Cu(II)/AAPH	Φασματοσκοπία	HAT	--	+++
LAO/FTC	Παράγωγα οξείδωσης LA οξειδώνουν Fe(II) σε Fe(III) προς έγχρωμο FTC	Φασματοσκοπία	HAT	+	++
LAO/β-CB	Παράγωγα οξείδωσης LA σπάνε τους διπλούς δεσμούς του β-καροτένιου και το αποχρωματίζουν	Φασματοσκοπία	HAT	++	++

1.3 Τοξικότητα

1.3.1 Βασικά στοιχεία

Ο όρος τοξικότητα χρησιμοποιείται για να περιγράψει τη διαβάθμιση της δυνατότητας μία ουσίας να βλάψει και να επηρεάσει αρνητικά τη φυσιολογία ενός οργανισμού. Η τοξικότητα μπορεί να αναφέρεται καθολικά στην επίδραση σε έναν οργανισμό, π.χ. σε έναν μικροοργανισμό, ένα φυτό, τον άνθρωπο, ή σε συγκεκριμένο τμήμα του οργανισμού, όπως στο κύτταρο (κυτοτοξικότητα) ή σε κάποιο όργανο (π.χ. ηπατοτοξικότητα). Υπάρχει ακόμα διαχωρισμός ανάμεσα στην οξεία τοξικότητα, στην οποία έχουμε άμεση βλάβη ή θάνατο με την εφαρμογή της τοξικής ουσίας, και στην χρόνια τοξικότητα, η οποία αναφέρεται στην επίδραση μιας τοξικής ουσίας στην οποία εκτίθεται ένας οργανισμός για μεγάλο χρονικό διάστημα, μήνες ή έτη.

Κεντρική αρχή στη μελέτη της τοξικότητας μιας ουσίας είναι πως αυτή εξαρτάται από τη δοσολογία της. Φαινομενικά ακίνδυνες ουσίες όπως το νερό ή το ελαιόλαδο μπορούν να οδηγήσουν σε δηλητηρίαση του ανθρώπου σε μεγάλες δόσεις, ενώ γνωστά δηλητήρια όπως αυτό ενός φιδιού δεν προκαλούν προβλήματα σε πολύ μικρές δόσεις. Υπό αυτό το πρίσμα, όλες οι ουσίες μπορούν να είναι εν δυνάμει τοξικές, και για αυτό οι δοκιμές τοξικότητας αφορούν όλες τις ουσίες με τις οποίες ο άνθρωπος έρχεται σε άμεση ή έμμεση επαφή.

Όσον αφορά τα φαρμακευτικά σκευάσματα, τα θεραπευτικά οφέλη συγκρίνονται πάντα με τις ανεπιθύμητες ενέργειες, που καλούνται συχνά και παρενέργειες ή τοξικές δράσεις. Κάθε φορά, η τοξική δράση του φαρμάκου εξαρτάται από το μηχανισμό δράσης του, από τη δοσολογία και από τα ατομικά χαρακτηριστικά του υποκειμένου που το χρησιμοποιεί. Η αλληλεπίδραση με άλλες δραστικές και η εμφάνιση αλλεργικών αντιδράσεων συγκαταλέγονται και αυτές στην τοξική δράση του φαρμάκου. Σημαντικός θεωρείται σε κάθε περίπτωση ο καθορισμός του περιθωρίου ασφαλείας ανάμεσα στη δοσολογία που είναι απαραίτητη για επιθυμητή δράση και στη δοσολογία που προκαλεί ανεπιθύμητες ενέργειες.

Η τοξικότητα μπορεί να μετρηθεί από τη βλάβη που προκαλείται σε έναν οργανισμό, όργανο, ιστό ή κύτταρο. Επειδή κάθε υποκείμενο έχει διαφορετική απόκριση στην τοξική δράση μιας ουσίας, χρησιμοποιούνται στατιστικές μετρήσεις επί πληθυσμού. Ένας συνηθισμένος στατιστικός δείκτης τοξικότητας είναι ο LD₅₀, δηλαδή η δοσολογία που οδηγεί σε θάνατο το 50% του πληθυσμού δοκιμής. Εκφράζεται σε ποσότητα δραστικής (μάζα ή όγκο) ανά μάζα οργανισμού. Συχνά,

γίνεται σύγκριση και μετράται ο λόγος του LD₅₀ με τον ED₅₀, δηλαδή τη δοσολογία στην οποία παρατηρείται επιθυμητό αποτέλεσμα στο 50% του πληθυσμού.

Όταν δεν υπάρχουν αντίστοιχες μετρήσεις, γίνεται σύγκριση μεταξύ «παρόμοιων» ουσιών για τις οποίες υπάρχουν δεδομένα ή μεταξύ επίδρασης σε διαφορετικούς οργανισμούς, λαμβάνοντας υπ' όψιν παράγοντες ασφάλειας. Για παράδειγμα, αν έχει καθοριστεί η δοσολογία ασφαλείας μίας ουσίας σε ποντικούς εργαστηρίου, χρησιμοποιείται ένας παράγοντας ασφάλειας 10, δηλαδή θεωρείται πως το 1/10 της δοσολογίας θεωρείται ασφαλής για τον άνθρωπο. Αν τα πειραματόζωα είναι ψάρια, τότε χρησιμοποιείται ένας παράγοντας ασφάλειας 100, δηλαδή θεωρείται πως το 1/100 της δοσολογίας θεωρείται ασφαλής για τον άνθρωπο. Όσο μεγαλύτερη είναι η βιολογική διαφορά μεταξύ του ανθρώπου και του πειραματόζωου τόσο μεγαλύτερος είναι και ο παράγοντας ασφάλειας. Αν και η μέθοδος αυτή είναι εμπειρική και στερείται αυστηρού επιστημολογικού πλαισίου, χρησιμοποιείται αρκετά συχνά στην πράξη.

Άλλες παράμετροι που λαμβάνονται υπ' όψιν είναι ο τρόπος εισαγωγής της ουσίας στον οργανισμό και το είδος της τοξικότητας που μελετάται. Υπάρχουν διαφορετικά πρωτόκολλα και δείκτες LD₅₀ για εφαρμογή της ουσίας με ενδοφλέβια εισαγωγή, με κατάποση, με δερματική εφαρμογή, εισπνοή αερίου, με εισπνοή ατμών, με εισπνοή μικροσωματιδίων, για οξεία, χρόνια ή επαναλαμβανόμενη τοξικότητα, για ερεθισμό δέρματος, μεταλλακτικότητα, καρκινογένεση, αναπαραγωγική τοξικότητα μίας και δύο γενεών, εμβρυοτοξικότητα κ.ά.

[28][29][30]

1.3.2 Η τοξικότητα στα αιθέρια έλαια

Όπως παρουσιάστηκε και στις προηγούμενες παραγράφους, τα αιθέρια έλαια εμφανίζουν σημαντική βιολογική δράση. Για το λόγο αυτό, είναι αναμενόμενο να εμφανίζουν και τοξική δράση σε συγκεκριμένες περιπτώσεις και δοσολογίες. Καθώς η χρήση τους σε τρόφιμα, ποτά και προϊόντα κοσμητικής είναι μεγάλη, είναι σημαντικό να έχει προσδιοριστεί η τοξικότητά τους. Οι δοκιμές γίνονται συνήθως σε πειραματόζωα και οι δείκτες ανάγονται για τον άνθρωπο. Στον Πίνακα 5 εμφανίζονται οι δείκτες LD₅₀ για κατάποση αιθέριου ελαίου για πειραματόζωο, παιδί 15 kg και ενήλικα 70 kg.[1]

Πίνακας 5: Δείκτες LD₅₀ για 44 αιθέρια έλαια

Επίσημη ονομασία	Κοινή ονομασία	LD ₅₀ τροφκτικό g/kg	LD ₅₀ παιδί 15 kg mL	LD ₅₀ ενήλικας 70 kg mL
<i>Aniba rosaedora</i>	ροδόξυλο	4,3	72	334
<i>Baswellia carteri</i>	λιβάνι	5	83	389
<i>Cananga odorata</i>	υλανγκ-υλάνγκ	>5	83	389
<i>Cedrus atlantica</i>	κέδρος	>5	83	389
<i>Chamaemelum nobile</i>	ρωμ. χαμομήλι	8,56	143	666
<i>Chamomilla recutita</i>	γερμ. χαμομήλι	>5	83	389
<i>Cinnamomum zeylanicum (cort)</i>	ξύλο κανέλας	3,4	57	264
<i>Cinnamomum zeylanicum (fol)</i>	φύλλο κανέλας	2,65	44	206
<i>Citrus aurantium var. amara (flos)</i>	νερολί	>5	83	389
<i>Citrus aurantium var. amara (fol)</i>	πιτγκρέιν	>5	83	389
<i>Citrus bergamia</i>	περγαμόντο	>10	167	778
<i>Citrus reticulate</i>	μανταρίνι	>5	83	389
<i>Commiphora myrrha</i>	μύρο	1,65	28	128
<i>Coriandrum sativum</i>	κόλιανδρος	4,13	69	321
<i>Cupressus sempervirens</i>	κυπαρίσι	>5	83	389
<i>Eucalyptus citriodora</i>	ευκάλυπτος	>5	83	389
<i>Eucalyptus globulus</i>	ευκάλυπτος	4,44	74	345
<i>Foeniculum vulgare var. dulce</i>	μάραθος	3,8	63	296
<i>Hyssopus officinalis</i>	ύσσωπος	1,4	23	109
<i>Juniperus communis</i>	άρκευθος	8	133	622
<i>Lavandula angustifolia</i>	λεβάντα	>5	83	389
<i>Lavandula x indermedia</i>	λεβαντίνη super	>5	83	389
<i>Melaleuca alternifolia</i>	τεϊόδενδρο	1,9	32	148
<i>Melaleuca leucadendron</i>	νιαουλί	3,87	65	301
<i>Mentha x piperita</i>	μέντα	4,5	75	350
<i>Myristica fragrans</i>	μοσχοκάρυδο	2,6	43	202
<i>Ocimum basilicum</i>	βασιλικός	1,4	23	109
<i>Origanum majorana</i>	μαντζουράνα	2,24	37	174
<i>Pelargonium graveolens</i>	γεράνι	>5	83	389
<i>Pimpinella anisum</i>	γλυκάνισος	2,25	38	175
<i>Pinus sylvestris</i>	πεύκο	6,88	115	535
<i>Piper nigrum</i>	μαύρο πιπέρι	>5	83	389
<i>Pogostemon patchouli</i>	πατσουλί	>5	83	389
<i>Rosa damascene</i>	τριαντάφυλλο	>5	83	389
<i>Rosmarinus officinalis</i>	δενδρολίβανο	5	83	389
<i>Salvia officinalis</i>	φασκόμηλο	2,52	42	196
<i>Salvia sclarea</i>	σάλβια κλαίρη	5,6	93	436
<i>Santalum album</i>	σάνδαλο	5,58	93	434
<i>Satureja hortensis</i>	θρούμπι	1,37	23	107
<i>Syzygium aromaticum</i>	γαρύφαλλο	2,65	44	206
<i>Thymus mastichina</i>	Ισπ. μαντζουράνα	>5	83	389
<i>Thymus vulgaris ct. thymol</i>	θυμάρι	4,7	78	366
<i>Vetiveria zizanioides</i>	βετιβέρ	>5	83	389
<i>Zingiber officinalis</i>	πιπερόριζα (τζίντζερ)	5	83	389

Τα περισσότερα αιθέρια έλαια δρουν κυτοτοξικά σε πλήθος gram+ και gram- βακτηρίων. Ως τυπικά λιπόφιλα, διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη και επηρεάζουν τα στρώματα πολυσακχαριτών, λιπαρών οξέων και φωσφολιπιδίων. Οι αλλοιώσεις αφορούν και στις μεμβράνες οργανιδίων, με πιο σημαντική αυτή στα μιτοχόνδρια. Παράλληλα, δρουν ως προοξειδωτικά ενεργοποιώντας την παραγωγή ΔΜΟ. Στα βακτήρια, η βλάβη των μεμβρανών συνδέεται με την απώλεια ιόντων, την αλλαγή δυναμικού, την παρεμπόδιση της αντλίας πρωτονίων και την εξάντληση της δεξαμενής ATP, ενώ παράλληλα επέρχεται θρόμβωση του κυτοπλάσματος και καταστροφή λιπιδίων και πρωτεϊνών. Εν γένει, η κυτοτοξική δράση των αιθέριων ελαίων σχετίζεται περισσότερο με την παρουσία φαινολών, αλδεϊδών και αλκοολών στη σύστασή τους.[1][2][13][14][31]

Κάποια αιθέρια έλαια περιέχουν φωτοενεργά μόρια όπως φουροκουμαρίνες, με αποτέλεσμα να εμφανίζουν φωτοτοξικότητα. Για παράδειγμα, τα αιθέρια έλαια από τη φλούδα εσπεριδοειδών περιέχουν ψοραλένια, τα οποία προσδένουν στο DNA μετά από την έκθεσή τους στην UV-A ακτινοβολία, με κυτοτοξικά και μεταλλακτικά αποτελέσματα. Η δράση αυτή δεν εμφανίζεται απουσία φωτός.[1][2][3][31]

Τα περισσότερα αιθέρια έλαια δεν εμφανίζουν μεταλλακτική δράση στον πυρήνα των κυττάρων, όπως και αντίστοιχη καρκινογόνο δράση, τόσο σε βακτήρια όσο και σε ανώτερους οργανισμούς. Εξαιρέσεις έχουν παρατηρηθεί σε δοκιμές μεμονωμένων χημικών συστατικών, όπως της εστραγόλης, της trans-ανηθόλης, της μενθόνης, της ευγενόλης, της μεθυλοευγενόλης, της πουλεγόνης, της σαφρόλης. Παρόλα αυτά, δεν είναι επιβεβαιωμένο ότι αιθέρια έλαια που περιέχουν τα συστατικά αυτά παρουσιάζουν αντίστοιχες δράσεις.[31]

Λαμβάνοντας υπ' όψιν ερευνητικά στοιχεία όπως τα παραπάνω, καθώς και εμπειρικά στοιχεία από την παραδοσιακή χρήση των αιθέριων ελαίων, συναντά κανείς λίστες που περιγράφουν την επικινδυνότητα χρήσης συγκεκριμένων αιθέριων ελαίων στον άνθρωπο. Συνήθως, τα αιθέρια έλαια χωρίζονται βάσει της επικινδυνότητάς τους σε αυτά που δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται σε καμία περίπτωση, σε αυτά που πρέπει να χρησιμοποιούνται με προσοχή σε πολύ μικρές δόσεις, σε αυτά που πρέπει να αποφεύγονται όταν υπάρχει συγκεκριμένη παθολογία και σε αυτά που δεν εμφανίζουν εξειδικευμένη επικινδυνότητα και ακολουθούν καθιερωμένους τρόπους και δοσολογίες χρήσης. Στον Πίνακα 6 εμφανίζονται τέτοια στοιχεία, καθώς και τα χημικά συστατικά που προσδίδουν τη συγκεκριμένη δράση.

Πίνακας 6: Επικινδυνότητα χρήσης αιθέριων ελαίων στον άνθρωπο

Αιτιολογία Επικινδυνότητας	Βαθμός Επικινδυνότητας	Αιθέριο έλαιο	Χημικά Συστατικά
Υψηλή σύσταση σε κετόνες	+++	<i>Ruta graveolens</i>	μεθυλ-νονυλ-κετόνη
		<i>Santolina</i>	κετόνη αρτεμισίας
		<i>chamaecyparissius</i>	
		<i>Artemisia herba alba</i>	θουγιόνη
		<i>Thuja occidentalis</i>	θουγιόνη
		<i>Artemisia absinthum</i>	θουγιόνη
		<i>Hyssopus officinalis</i> <i>spp. officinalis</i>	πινοκαμόνη
		<i>Mentha pulegium</i>	πουλεγόνη
		<i>Lavandula stoechas</i>	καμφορά
Μέτρια σύσταση σε κετόνες	+	<i>Salvia officinalis</i>	θουγιόνη
		<i>Lavandula latifolia</i>	καμφορά
		<i>Cinnamomum camphora</i>	καμφορά
Υψηλή σύσταση σε φαινόλες	+	<i>Satureja spec.</i>	θυμόλη καρβακρόλη
		<i>Oreganum vulgare</i>	καρβακρόλη
		<i>Thymus vulgaris</i>	θυμόλη
		<i>Syzygium aromaticum</i>	ευγενόλη
Δερματικός Ερεθισμός	++	<i>Syzygium aromaticum</i>	ευγενόλη
		<i>Cinnamomum</i> <i>zeylanicum</i>	κινναμωμική αλδεΐδη
		<i>Oreganum spec.</i>	καρβακρόλη θυμόλη
		<i>Thymus spec.</i>	θυμόλη καρβακρόλη
		<i>Satureja spec.</i>	καρβακρόλη θυμόλη
Φωτοτοξικότητα	+	<i>Angelica archangelica</i>	φουροκουμαρίνες
		<i>Carum carvi</i>	
		<i>Cinnamomum cassia</i>	
		<i>Cinnamomum</i> <i>zeylanicum</i>	
		<i>Citrus aurantifolia per.</i>	
		<i>Citrus aurantium var.</i> <i>amara per.</i>	
		<i>Citrus bergamia per.</i>	
		<i>Citrus limon per.</i>	
		<i>Cuminum cyminum</i>	
		<i>Levisticum Officinale</i>	
Υψηλή τοξικότητα	+++	<i>Amygdalus dulcis var.</i> <i>amara</i>	υδροκυάνιο
		<i>Acorus americanus</i>	ασαρόνη
		<i>Peumus Boldus</i>	ασκαριδόλη
		<i>Armoracia rusticana</i>	ισοθειοκυανικό
		<i>Brassica alba</i>	αλλύλιο
		<i>Sassafras albidum</i> <i>Gaultheria procumbens</i>	σαφρόλη σαλικυλικό μεθύλιο

1.3.3 Η μέθοδος MICROTOX[®]

Η μέθοδος MICROTOX[®] προσδιορίζει την τοξικότητα μιας ουσίας μετρώντας την επίδραση που έχει στη βιοφωταύγεια του θαλάσσιου βακτηρίου *Vibrio fischeri*. Το βακτήριο αυτό είναι gram αρνητικό και χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά για τον έλεγχο της τοξικότητας του πόσιμου νερού. Πλέον χρησιμοποιείται και σε άλλα πειράματα βιολογικού χαρακτήρα, ενώ εμφανίζεται η χρήση του και σε μελέτες τοξικότητας φυσικών προϊόντων και φυτικών εκχυλισμάτων.[32][33][34][35][36][37]

Το φως που εκπέμπει το βακτήριο είναι ανάλογο της μεταβολικής δραστηριότητας των βακτηρίων. Έτσι, οποιαδήποτε παρεμπόδιση της ενζυματικής δραστηριότητας προκαλεί μείωση της βιοφωταύγειας. Το δείγμα προς μέτρηση αναμιγνύεται με μια ποσότητα βακτηρίων και μετά από ένα χρονικό διάστημα 5 και 15 λεπτών μετράται η φωταύγεια των ζωντανών βακτηρίων και συγκρίνεται με αυτή του μάρτυρα (βακτήρια χωρίς το δείγμα). Οι διαφορές που παρουσιάζονται στη βιοφωταύγεια συσχετίζονται με το θάνατο του πληθυσμού.

Στην πράξη, προκύπτει και χρησιμοποιείται ο δείκτης EC₅₀, ο οποίος εκφράσει τη συγκέντρωση στην οποία η φωταύγεια του πληθυσμού μειώνεται στο 50%. Με βάση το χαρακτηριστικό αυτό, προκύπτουν εύκολα, άμεσα και γρήγορα αποτελέσματα. Έχουν αναπτυχθεί διαφορετικά πρωτόκολλα στο μεθοδολογικό πλαίσιο του MICROTOX[®], ώστε να καλύπτονται περιπτώσεις ισχυρά τοξικών και λιγότερο τοξικών ουσιών ή ακόμα και για συγκεκριμένες τοξικές ουσίες.

Η εφαρμογή των πρωτοκόλλων και η εξαγωγή των δεικτών τοξικότητας γίνεται με αυτοματοποιημένη και καθοδηγούμενη διαδικασία, ώστε να μπορεί να εφαρμοστεί ακόμα και από καθαρά τεχνικό προσωπικό. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με το σύντομο χρόνο διεξαγωγής των δοκιμών και τα συνεχώς αναπτυσσόμενα και ευέλικτα πρωτόκολλα, καθιστούν τη μέθοδο MICROTOX[®] ιδιαιτέρως χρήσιμη.



Εικόνα 8: Συσκευή MICROTOX[®]

1.4 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας και βιοδραστικότητας έναντι του βακτηρίου *Vibrio fischeri* για μία σειρά από εμπορικές πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται σε προϊόντα κοσμητικής και κοσμετολογίας, όπως ανθόνερα (υδρολύματα), βοτανικά εκχυλίσματα και αιθέρια έλαια, καθώς και για μίγματά τους.

Τα τελευταία χρόνια, υπάρχει στους καταναλωτές η τάση του «φτιάξ' το μόνος σου» (Do-It-Yourself, DIY) σε μία μεγάλη σειρά από προϊόντα, όπως έπιπλα, παιχνίδια, είδη ένδυσης, είδη τεχνολογίας κ.ά. Αυτό που ξεκίνησε απλά ως προσπάθεια μείωσης ατομικών εξόδων σε βασικά καθημερινά είδη και δημιουργική έκφραση, έχει πάρει τη μορφή κινήματος, καθώς γίνεται συνειδητή προσπάθεια από τους καταναλωτές να αποδεσμευτούν από τους ποιοτικούς και οικονομικούς όρους που επιβάλλουν οι μεγάλοι εμπορικοί οίκοι.

Η τάση αυτή έχει περάσει και στον τομέα των προϊόντων κοσμητικής, προσωπικής φροντίδας και υγιεινής. Μέσω ιστοσελίδων, fora, βιβλίων, σεμιναρίων και προγραμμάτων επιμόρφωσης, οι καταναλωτές μαθαίνουν να φτιάχνουν τα δικά τους καλλυντικά, όπως κρέμες, λοσιόν, γαλακτώματα, σαπούνια, σαμπουάν και πολλά άλλα, χρησιμοποιώντας βασικές πρώτες ύλες και χωρίς εξειδικευμένες γνώσεις. Τα υλικά και οι τρόποι παρασκευής κυκλοφορούν στις μέρες μας εν είδει συνταγών μαγειρικής.

Από την εφαρμογή αυτή προκύπτουν όμως κάποια σημαντικά ερωτήματα. Είναι τελικά τα προϊόντα αυτά συγκρίσιμα με αυτά της βιομηχανικής μαζικής παραγωγής; Οι πρώτες ύλες και η μεθοδολογία παρασκευής στο σπίτι οδηγούν σε ένα προϊόν που διαθέτει τις ιδιότητες που υπόσχεται; Πόσο ασφαλής είναι η παρασκευή προϊόντων που εφαρμόζονται άμεσα στον άνθρωπο από μη εξειδικευμένο προσωπικό και έλλειψη πρωτοκόλλων ασφάλειας και ποιότητας;






Σκοπός λοιπόν της εργασίας αυτής είναι η δοκιμή ως προς την αντιοξειδωτική και τοξική δράση πρώτων υλών και κάποιων τελικών καλλυντικών προϊόντων που παρασκευάζονται με μεθοδολογίες που περιγράφονται σε «φτιάξ' το μόνος σου» οδηγίες και εφαρμόζονται από μεγάλη μερίδα πληθυσμού, ώστε να προκύψουν κάποια πρώτα συμπεράσματα για το κατά πόσον οι μέθοδοι αυτές οδηγούν σε ασφαλή και αποτελεσματικά προϊόντα.




2. ΥΛΙΚΑ – ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Υλικά

Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν για τις μετρήσεις και την παρασκευή των μιγμάτων χωρίζονται σε υδατοδιαλυτές και λιποδιαλυτές και εμφανίζονται στον Πίνακα 7. Οι περισσότερες αποτελούν εμπορικά προϊόντα. Το εκχύλισμα λεβάντας παρασκευάστηκε για τις ανάγκες τις παρούσας εργασίας στο εργαστήριο Χημείας του ΓΠΑ από άνθη λεβάντας προέλευσης Γαλλίας. Τα αιθέρια έλαια από σκόρδο και φλισκούνι είχαν παρασκευαστεί στο εργαστήριο χημείας του ΓΠΑ με υδροαπόσταξη συσκευής Clevenger. Το συντηρητικό GEOGARD™ ULTRA™ αποτελεί μίγμα D-Γλουκονο-1,5-Λακτόνης (74,5%) και βενζοϊκού νατρίου (24,5%).

Πίνακας 7: Υλικά, κατηγορίες και προέλευση

Κατηγορία	Όνομα	Προέλευση
Υδατοδιαλυτά	εκχύλισμα λεβάντας <i>Lavandula angustifolia</i>	Γαλλίας 2012
	ανθόνερο τριαντάφυλλου <i>Rosa Damascena</i>	PRANARŌM
	ανθόνερο λεμονιού <i>Citrus limon</i>	PRANARŌM
	ανθόνερο κενταύριας <i>Centaurea cyanus</i>	PRANARŌM
	εκχύλισμα σπόρων γκρέιπφρουτ 25% σε γλυκερίνη <i>GSE</i>	
	συμπυκνωμένο εκχύλισμα αλόης 10:1 <i>Aloe Vera</i>	
	Συντηρητικό GEOGARD™ ULTRA™	LONZA
Λιποδιαλυτά	αιθέριο έλαιο λεβάντα <i>Lavandula angustifolia</i> ct. linalol, linalol acetate	PRANARŌM
	αιθέριο έλαιο γεράνι <i>Pelargonium graveolens</i> ct. citronellol, geraniol	
	αιθέριο έλαιο παλμαρόζα <i>Cymbopogon martini</i> ct. geraniol	
	αιθέριο έλαιο καρότο <i>Daucus carota</i> ct. carotol, daucol	
	αιθέριο έλαιο λεμόνι <i>Citrus limon</i> ct. limonene	PRANARŌM

αιθέριο έλαιο γκρέιπφουτ <i>Citrus paradisi</i> ct. limonene	PRANAROM
αιθέριο έλαιο πατσουλί <i>Pogostemon cablin</i> ct. patchoulol	NEPACHEM
αιθέριο έλαιο δενδρολίβανο <i>Rosmarinus officinalis</i> ct. verbenone	PRANAROM
αιθέριο έλαιο κανέλα <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ct. eugenol	KARMAKAMET
αιθέριο έλαιο γωλθερία <i>Gaultheria procumbens</i> ct. methyl salicylate	PRANAROM
αιθέριο έλαιο σκόρδο <i>Allium sativum</i> ct. diallyl trisulfur/disulfur	
αιθέριο έλαιο φλισκούνη <i>Mentha pulegium</i> ct. pulegone	
εκχύλισμα πράσινο τσάι <i>Camelia sinensis</i>	

Για τις τεχνικές Folin-Ciocalteu, ABTS και DPPH χρησιμοποιήθηκαν γαλλικό οξύ 1 mg/mL Sigma Aldrich, αντιδραστήριο Folin της εταιρίας Merck, διάλυμα Na₂CO₃ 20%, DPPH 60 μM Sigma Aldrich, Trolox 1,5 mM Sigma Aldrich, αιθανόλη 99,8% Merck, ABTS 7 mM Sigma Aldrich, K₂S₂O₈ 140 mM Sigma Aldrich. Η λήψη των απορροφήσεων έγινε με το φορητό φωτόμετρο Portable Dataloging Spectrophotometer, HACH, DR/2010.

Για την λήψη και την επεξεργασία των φασμάτων FT-IR στα λιποδιαλυτά συστατικά και τα μίγματα τους χρησιμοποιήθηκε η τεχνική ATR στη συσκευή Nicolet 6700, Thermo Electron Corporation και το λογισμικό Omnic 8.2.0.387 της Thermo Fisher Scientific Inc.

Για τη λήψη και την επεξεργασία των φασμάτων UV-Vis στα εκχυλίσματα λεβάντας χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Jasco V-550 UV-Vis spectrometer και το λογισμικό JASCOW Spectral Manager.

Για τη μέτρηση τοξικότητας με τη μέθοδο MICROTOX[®] χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Microtox SDI 500 και το λογισμικό SDI Microtox Omni 4.1.

2.2 Μέθοδοι

2.2.1 Παρασκευή Εκχυλισμάτων Λεβάντας *Lavandula Angustifolia*

Η παρασκευή των εκχυλισμάτων λεβάντας έγινε με τους δύο τρόπους που περιγράφονται παρακάτω.

2.2.1.1 *Εν ψυχρώ με συνεχή ανάδευση*

1 gr ξηρής δρόγης από άνθη λεβάντας προστίθενται σε 100 mL αποσταγμένου νερού σε θερμοκρασία δωματίου και αναδεύονται συνεχώς στις 270 rpm. Το εκχύλισμα λαμβάνεται με διήθηση μετά από 10 min και η διαδικασία επαναλαμβάνεται με το ίδιο φυτικό υλικό στον ίδιο χρόνο, έως ότου ληφθούν 7 διαδοχικά εκχυλίσματα. Τα εκχυλίσματα φυλάσσονται στο ψυγείο το πολύ για 2 ημέρες μέχρι να διεξαχθούν όλες οι μετρήσεις.

2.2.1.2 *Εν θερμώ, χωρίς συνεχή ανάδευση*

1 gr ξηρής δρόγης από άνθη λεβάντας προστίθενται σε 100 mL αποσταγμένου νερού σε θερμοκρασία βρασμού 100° C, αφού αποσυρθεί από την πηγή θερμότητας, αναδεύεται δια χειρός στην αρχή και μετά από 10 min όταν λαμβάνεται με διήθηση το πρώτο εκχύλισμα. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται με το ίδιο φυτικό υλικό στον ίδιο χρόνο, έως ότου ληφθούν 7 διαδοχικά εκχυλίσματα. Τα εκχυλίσματα φυλάσσονται στο ψυγείο το πολύ για 2 ημέρες μέχρι να διεξαχθούν όλες οι μετρήσεις. Για τις μετρήσεις αντιοξειδωτικής δράσης, τοξικότητας, αλλά και για την παρασκευή των μιγμάτων, αποφασίστηκε να χρησιμοποιηθεί το πρώτο εν θερμώ εκχύλισμα.

2.2.2 Προετοιμασία υδατοδιαλυτών μιγμάτων

Χρησιμοποιώντας τις υδατοδιαλυτές πρώτες ύλες και το εκχύλισμα λεβάντας παρασκευάζονται δύο διαφορετικά μίγματα. Τα μίγματα αυτά αντιστοιχούν σε εμπορικά προϊόντα με ονομασίες *νερό προσώπου*, *facial water*, *tonic water* κλπ. Η σύστασή τους αναγράφεται στον Πίνακα 8. Τα μίγματα αυτά χρησιμοποιούνται τόσο στις μετρήσεις αντιοξειδωτικότητας όσο και στις μετρήσεις τοξικότητας.

Πίνακας 8: Σύσταση Υδατοδιαλυτών Μιγμάτων Νερών Προσώπου

Περιγραφή	Κωδικός	Σύσταση/Συγκέντρωση v/v	
Νερό Προσώπου	FW1	Εν θερμώ εκχύλισμα λεβάντας	50%
		Ανθόνερο Τριαντάφυλλου	45%
		Εκχύλισμα Αλόης	3%
		Εκχύλισμα Σπόρων Γκρέιπφρουτ	1%
		Συντηρητικό GEOGARD™ ULTRA™	1%
Νερό Προσώπου	FW2	Εν θερμώ εκχύλισμα λεβάντας	50%
		Ανθόνερο Λεμονιού	22,5%
		Ανθόνερο Κεντάυριας	22,5%
		Εκχύλισμα Αλόης	3%
		Εκχύλισμα Σπόρων Γκρέιπφρουτ	1%
		Συντηρητικό GEOGARD™ ULTRA™	1%

2.2.3 Προετοιμασία Λιποδιαλυτών Μιγμάτων

Χρησιμοποιώντας τις λιποδιαλυτές πρώτες ύλες, δηλαδή τα αιθέρια έλαια, παρασκευάζονται δύο διαφορετικά μίγματα. Τα μίγματα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε καλλυντικές κρέμες και αντίστοιχα προϊόντα προσώπου. Το πρώτο αφορά προϊόντα ημέρας και το δεύτερο προϊόντα νύκτας, καθώς περιέχει κάποια φωτοτοξικά συστατικά. Η σύστασή τους αναγράφεται στον Πίνακα 9. Τα μίγματα αυτά χρησιμοποιούνται τόσο στις μετρήσεις αντιοξειδωτικότητας όσο και στις μετρήσεις τοξικότητας.

Πίνακας 9: Σύσταση μιγμάτων με αιθέρια έλαια

Περιγραφή	Κωδικός	Σύσταση/Συγκέντρωση v/v
Μίγμα με Αιθέρια Έλαια Ημέρας	EOM1	Αιθέριο έλαιο Λεβάντα 25%
		Αιθέριο έλαιο Γεράνι 25%
		Αιθέριο έλαιο Παλμαρόζα 25%
		Αιθέριο Έλαιο Καρότο 25%
Μίγμα με Αιθέρια Έλαια Νύκτας	EOM2	Αιθέριο Έλαιο Λεμόνι 25%
		Αιθέριο Έλαιο Γκρέιπφρουτ 25%
		Αιθέριο Έλαιο Πατσουλί 25%
		Αιθέριο Έλαιο Δενδρολίβανο 25%

2.2.4 Προσδιορισμός κινητικής εκχύλισης λεβάντας

Για σύγκριση των δύο τεχνικών εκχύλισης λεβάντας (εν θερμώ χωρίς ανάδευση, εν ψυχρώ με ανάδευσης) και την εξαγωγή καμπύλων κινητικής, τα εκχυλίσματα αναλύονται με φασματοσκοπία UV-Vis. Από τα 7 διαδοχικά εκχυλίσματα για κάθε τεχνική εκχύλισης, ετοιμάζονται υδατικά διαλύματα συγκέντρωσης 5% v/v και 100% v/v (καθαρά). Η απορρόφηση μετράται από 200 nm – 700 nm, με ταχύτητα σάρωσης 400 nm/sec και εύρος ζώνης παραθύρου 2 nm.

Για τα πρώτα 3 εκχυλίσματα χρησιμοποιούνται τα διαλύματα με 5% v/v συγκέντρωση ώστε η καμπύλη απορρόφησης να είναι εντός ορίων, ενώ για τα επόμενα εκχυλίσματα χρησιμοποιούνται τα καθαρά διαλύματα. Ως δείγμα ελέγχου χρησιμοποιείται αποσταγμένο νερό. Το λογισμικό καταγράφει την καμπύλη απορρόφησης, από την οποία μετράται το ύψος για τις υψηλότερες κορυφές. Τα δεδομένα ύψος – αριθμός εκχυλίσματος καταγράφονται σε διάγραμμα, το οποίο και αναπαριστά την καμπύλη εκχύλισης.

2.2.5 Προσδιορισμός συνολικών φαινολικών συστατικών και αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

Αρχικά, κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς με βάση το γαλλικό οξύ. Παρασκευάζεται διάλυμα γαλλικού οξέος σε νερό συγκέντρωσης 1 mg/mL. Στη συνέχεια παρασκευάζονται με αραιώση 7 διαλύματα γαλλικού οξέος με συγκεντρώσεις (0 – 0,05 – 0,1 – 0,2 – 0,4 – 0,6 – 0,8 – 1) mg/mL.

Για κάθε διάλυμα ακολουθείται η εξής διαδικασία: Σε 1,5 mL H₂O προστίθενται 25 mL διαλύματος δοκιμής και 125 mL αντιδραστηρίου Folin. Μετά από 3 min, προστίθενται 375 mL διαλύματος Na₂CO₃ συγκέντρωσης 20% w/v και 475 mL H₂O, ώστε το διάλυμα να αποκτήσει όγκο 2,5 mL. Η διαδικασία πραγματοποιείται σε τριπλέτες δοκιμίων για στατιστικούς λόγους. Τα τελικά διαλύματα αφήνονται σε συνθήκες σκότους για 2 h. Στη συνέχεια, για κάθε διάλυμα μετράται η απορρόφηση σε φωτόμετρο UV-Vis στα 725 nm. Τα αποτελέσματα καταγράφονται σε γράφημα απορρόφησης – συγκέντρωσης γαλλικού οξέος και υπολογίζεται η συνάρτηση με γραμμική παρεμβολή.[38]

Η ίδια διαδικασία, πέρα από την παρασκευή διαλυμάτων διαδοχικών συγκεντρώσεων, ακολουθείται και για τον προσδιορισμό των συνολικών φαινολικών συστατικών για κάθε δοκίμιο, υδατοδιαλυτό, λιποδιαλυτό ή μίγμα. Για την αντιστοιχία συνολικών φαινολικών συστατικών των δοκιμίων σε ισοδύναμο γαλλικού οξέος, χρησιμοποιείται η συνάρτηση απορρόφησης – συγκέντρωσης γαλλικού οξέος της καμπύλης αναφοράς.

Τα υδατοδιαλυτά συστατικά και τα μίγματά τους FW1, FW2 χρησιμοποιούνται καθαρά στις μετρήσεις αυτές. Τα αιθέρια έλαια και τα μίγματά τους EOM1, EOM2, καθότι λιποδιαλυτά, διαλύονται σε μεθανόλη σε αναλογία 1:1 v/v και χρησιμοποιούνται ως διαλύματα. Το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού, καθότι πυκνό, με μεγάλο ιξώδες και ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, διαλύεται σε μεθανόλη σε αναλογία 1:200 v/v. Δοκιμάζονται επίσης παραλλαγές των μιγμάτων EOM1 και EOM2 (1:1 v/v σε MeOH) με προσθήκη εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού (1:200 v/v σε MeOH) σε αναλογία 2:1 v/v.

Με τη μέθοδο αυτή ανιχνεύονται τόσο φαινολικά και πολυφαινολικά συστατικά, όσο και άλλοι αναγωγικοί παράγοντες. Έτσι, αν και η μέθοδος χρησιμοποιείται συνήθως για τα ολικά φαινολικά συστατικά, μπορεί να δείξει γενικότερη αντιοξειδωτική δράση που οφείλεται και σε άλλα συστατικά.

2.2.6 Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο DPPH

Με τη μέθοδο αυτή χρησιμοποιείται η ρίζα του DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας ενός δείγματος. Το διάλυμα DPPH έχει αρχικά μωβ χρώμα. Με την προσθήκη αντιοξειδωτικού, λαμβάνει χώρα μηχανισμός SET και το διάλυμα αποχρωματίζεται.[39]

Αρχικά κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς με βάση το αντιοξειδωτικό Trolox (6-υδροξύ-2,5,7,8-τετραμεθυλχρωμαν-2-καρβοξυλικό οξύ). Παρασκευάζεται διάλυμα Trolox σε αιθανόλη συγκέντρωσης 2 mM. Στη συνέχεια παρασκευάζονται με διαδοχικές αραιώσεις 7 διαλύματα συγκεντρώσεων (0 – 0,25 – 0,5 – 1 – 1,5 – 2 – 2,5) mM.

Για κάθε διάλυμα ακολουθείται η εξής διαδικασία: Παρασκευάζεται διάλυμα DPPH σε αιθανόλη, συγκέντρωσης 2 mM. Σε 3 mL διαλύματος DPPH προστίθενται 30 μL διαλύματος Trolox. Σε ένα βοθρείο δεν προστίθεται διάλυμα Trolox. Τα τελικά διαλύματα αφήνονται σε συνθήκες σκότους για 30 min. Στη συνέχεια, για κάθε διάλυμα μετράται η απορρόφηση σε φωτόμετρο UV-Vis στα 515 nm. Η διαδικασία πραγματοποιείται σε τριπλέτες δοκιμίων για στατιστικούς λόγους.

Στη συνέχεια υπολογίζεται ο % δείκτης παρεμπόδισης του αντιοξειδωτικού από τη σχέση:

$$\text{Παρεμπόδιση}_{DPPH} (\%) = \frac{A_o - A_\delta}{A_o} \quad \text{Εξίσωση 1}$$

με A_o την απορρόφηση χωρίς το αντιοξειδωτικό και A_δ την απορρόφηση με την προσθήκη δείγματος

Τα αποτελέσματα καταγράφονται σε διάγραμμα παρεμπόδισης – συγκέντρωσης Trolox και υπολογίζεται η συνάρτηση με γραμμική παρεμβολή.

Η ίδια διαδικασία, πέρα από την παρασκευή διαλυμάτων διαδοχικών συγκεντρώσεων, ακολουθείται και για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης για κάθε δοκίμιο, υδατοδιαλυτό, λιποδιαλυτό ή μίγμα. Για την αντιστοιχία αντιοξειδωτικής δράσης σε ισοδύναμα Trolox, χρησιμοποιείται η συνάρτηση παρεμπόδισης – συγκέντρωσης Trolox της καμπύλης αναφοράς.

Τα υδατοδιαλυτά δοκίμια και τα μίγματά τους FW1, FW2 χρησιμοποιούνται καθαρά στις μετρήσεις αυτές. Τα αιθέρια έλαια και τα μίγματά τους EOM1, EOM2 χρησιμοποιούνται επίσης καθαρά. Το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού διαλύεται πρώτα

σε αιθανόλη σε αναλογία 1:200 v/v. Οι παραλλαγές των μιγμάτων EOM1, EOM2 με προσθήκη πράσινου τσαγιού (1:200 v/v) ετοιμάζονται σε αναλογία 2:1 v/v.

2.2.7 Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο ABTS

Με τη μέθοδο αυτή χρησιμοποιείται το ABTS (2,29-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας ενός δείγματος. Η εφαρμογή της μεθόδου χωρίζεται σε δύο φάσεις. Στην πρώτη φάση στο διάλυμα του ABTS, που έχει χρώμα μπλε-πράσινο, προστίθεται $K_2S_2O_8$ για την μετατροπή του ABTS σε ελεύθερη ρίζα. Το χρώμα του υγρού μετά την προσθήκη αυτή γίνεται σκούρο μπλε. Στην δεύτερη φάση, συνήθως μετά το πέρας 12 ωρών, σε συνθήκες σκότους, πραγματοποιείται το πείραμα της αντιοξειδωτικής ικανότητας προσθέτοντας στο μίγμα ABTS- $K_2S_2O_8$ το δείγμα, όπου ακολουθεί αποχρωματισμός.[40]

Αρχικά κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς με βάση το αντιοξειδωτικό Trolox. Παρασκευάζεται διάλυμα Trolox σε αιθανόλη συγκέντρωσης 7 mM (19,2 mg ABTS σε 5 mL δις αποσταγμένο H_2O) και με διαδοχικές αραιώσεις 6 διαλύματα συγκεντρώσεων (0 – 0,25 – 0,5 – 1 – 1,5 – 2) mM.

Στη συνέχεια παρασκευάζεται διάλυμα οξειδωτικού $K_2S_2O_8$ συγκέντρωσης 140 mM (88 mg σε 5 mL δις αποσταγμένο H_2O). Στο διάλυμα ABTS προστίθενται 88 μ L διαλύματος $K_2S_2O_8$ και αφήνεται σε συνθήκες σκότους για μία ημέρα. Την επόμενη μέρα, παρασκευάζεται διάλυμα ABTS σε αιθανόλη, τέτοιο ώστε η απορρόφησή του στα 734 nm να είναι 0,7. Το διάλυμα διατηρείται σε θερμοκρασία 25° C.

Σε 3 mL διαλύματος ABTS/EtOH προστίθενται 30 mL διαλύματος Trolox, αφήνονται 6 min σε συνθήκες σκότους στους 25° C και μετράται η απορρόφηση σε φωτόμετρο UV-Vis στα 734 nm. Σε ένα βοθρείο δεν προσθέτω αντιοξειδωτικό. Η διαδικασία πραγματοποιείται σε τριπλές δοκιμίων για στατιστικούς λόγους.

Στη συνέχεια υπολογίζεται ο % δείκτης παρεμπόδισης του αντιοξειδωτικού από τη σχέση:

$$\text{Παρεμπόδιση}_{ABTS} (\%) = \frac{A_o - A_\delta}{A_o} \quad \text{Εξίσωση 2}$$

με A_o την απορρόφηση χωρίς το αντιοξειδωτικό και A_δ την απορρόφηση με την προσθήκη δείγματος

Τα αποτελέσματα καταγράφονται σε διάγραμμα παρεμπόδισης – συγκέντρωσης Trolox και υπολογίζεται η συνάρτηση με γραμμική παρεμβολή.

Η ίδια διαδικασία, πέρα από την παρασκευή διαλυμάτων διαδοχικών συγκεντρώσεων, ακολουθείται και για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης για κάθε δοκίμιο, υδατοδιαλυτό, λιποδιαλυτό ή μίγμα. Για την αντιστοιχία αντιοξειδωτικής δράσης σε ισοδύναμα Trolox, χρησιμοποιείται η συνάρτηση παρεμπόδισης – συγκέντρωσης Trolox της καμπύλης αναφοράς.

Τα υδατοδιαλυτά δοκίμια και τα μίγματά τους FW1, FW2 χρησιμοποιούνται καθαρά στις μετρήσεις αυτές. Τα αιθέρια έλαια και τα μίγματά τους EOM1, EOM2 χρησιμοποιούνται επίσης καθαρά. Το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού διαλύεται πρώτα σε αιθανόλη σε αναλογία 1:200 v/v. Οι παραλλαγές των μιγμάτων EOM1, EOM2 με προσθήκη πράσινου τσαγιού (1:200 v/v) ετοιμάζονται σε αναλογία 2:1 v/v.

2.2.8 Μέτρηση τοξικότητας με τη μέθοδο MICROTOX[®]

Όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 1.3.3, η μέθοδος MICROTOX[®] προσδιορίζει την τοξικότητα μιας ουσίας μετρώντας την επίδραση που έχει στη βιοφωταύγεια του θαλάσσιου βακτηρίου *Vibrio fischeri*, με την εξαγωγή του δείκτη EC₅₀. Το πρωτόκολλο που ακολουθείται για τις δοκιμές τοξικότητας ονομάζεται *Basic Test 81.9%* και εφαρμόζεται με τη βοήθεια λογισμικού.[41]

Αρχικά, ετοιμάζονται υδατικά διαλύματα με τα δοκίμια, τόσο για τα υδατοδιαλυτά όσο και για τα λιποδιαλυτά συστατικά. Για τα υδατοδιαλυτά, τα διαλύματα ετοιμάζονται απ' ευθείας, σε αραιώσεις 1:16 v/v, με εξαίρεση τα ανθόνερα λεμονιού και κενταύριας που χρησιμοποιούνται καθαρά.

Για τα λιποδιαλυτά (αιθέρια έλαια και μίγματα) ακολουθείται η εξής διαδικασία: θερμαίνονται 100 mL αποσταγμένου νερού στους 40 °C και προστίθενται 62,5 μL αιθέριου ελαίου ενώ ακολουθεί ανάδευση για 15 min. Για το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού, προστίθενται 10 μL σε 2500 μL αποσταγμένου νερού (αραίωση 1:200 v/v) και στη συνέχεια προστίθενται 250 μL του διαλύματος σε 100 mL αποσταγμένου νερού 40 °C, με ανάδευση για 15 min, ώστε να προκύψει τελικό διάλυμα σε αραιότητα 1:80000 v/v (1:200 * 1:400).

Οι αραιώσεις για όλα τα δοκίμια αναγράφονται αναλυτικά στον Πίνακα 10. Για κάποια συστατικά χρειάστηκαν δοκιμές σε περισσότερες από μία αραιώσεις. Η επιλογή των αραιώσεων έγινε με χρήση του πρωτοκόλλου *Screening Test*, το οποίο

επιτρέπει τον προσδιορισμό των αραιώσεων ώστε ο δείκτης EC₅₀ να υπολογίζεται με γραμμική παρεμβολή και όχι με στατιστική παρεκβολή.

Πίνακας 10: Δοκίμια μετρήσεων τοξικότητας MICROTOX®

Κατηγορία	Δοκίμιο	Αραίωση v/v
Υδατοδιαλυτά	Εκχύλισμα Λεβάντας	1:10
	Ανθόνερο Τριαντάφυλλου	1:10
	Ανθόνερο Λεμονιού	καθαρό
	Ανθόνερο Κενταύριας	καθαρό
	Εκχύλισμα Σπόρων Γκρέιπφρουτ	1:10
	Εκχύλισμα Αλόης	1:15
	Συντηρητικό GEOGARD™ ULTRA™	1:10, 1:15
	FW1	1:10, 1:15, 1:20
	FW2	1:10, 1:15, 1:20
Λιποδιαλυτά	Αιθέριο έλαιο Λεβάντα	1:1600
	Αιθέριο έλαιο Γεράνι	1:1600
	Αιθέριο έλαιο Παλμαρόζα	1:1600
	Αιθέριο έλαιο Καρότο	1:1600
	Αιθέριο έλαιο Λεμόνι	1:1600
	Αιθέριο έλαιο Γκρέιπφρουτ	1:1600
	Αιθέριο έλαιο Πατσουλί	1:1600
	Αιθέριο έλαιο Δενδρολίβανο	1:1600
	Αιθέριο έλαιο Φλισκούνι	1:1600
	Αιθέριο έλαιο Γωλθερία	1:1600
	Αιθέριο έλαιο Κανέλα	1:3200
	Αιθέριο έλαιο Σκόρδο	1:1600
	Εκχύλισμα Πράσινου Τσαγιού (GTE)	1:80000
	EOM1	1:1600, 1:1
	EOM2	1:1600, 1:1
	EOM1 + GTE	1:1600, 1:80000, 3:2
EOM2 + GTE	1:1600, 1:80000, 3:2	

Τα λυοφιλωμένα βακτήρια ενεργοποιούνται με προσθήκη διαλύματος ενεργοποίησης, διατηρούνται σε φιαλίδια σε συγκεκριμένη θέση στη συσκευή σε θερμοκρασία 15 °C (όπως και τα δοκίμια) και χρησιμοποιούνται μέσα σε 3 h. Η συσκευή ανιχνεύει ένταση φωτός στα 490 nm, μήκος κύματος στο οποίο αντιστοιχεί η βιοφωταύγεια των βακτηρίων.

Από τα αρχικά διαλύματα των δοκιμίων, ετοιμάζονται 7 διαδοχικές αραιώσεις, με παράγοντα αραιώσης 2, με μέγιστη συγκέντρωση στα 81,9% της αρχικής. Αρχικά μετράται η εκπομπή φωτός των βακτηρίων χωρίς την προσθήκη ουσίας δοκιμής. Στη συνέχεια προστίθενται τα δοκίμια από τις 7 διαδοχικές αραιώσεις στα βακτήρια και μετράται η εκπομπή φωτός (7 αντίστοιχες μετρήσεις) μετά από 5 και 15 min. Διόρθωση χρώματος δεν είναι απαραίτητη, καθώς όλα τα δείγματα είναι άχρωμα.

Οι μετρήσεις τοξικότητας λαμβάνονται μετά από 5 και 15 min και εκφράζονται με το δείκτη EC₅₀ που αντιστοιχεί σε 50% μείωση της φωταύγειας των βακτηρίων. Υπολογίζονται επίσης οι τιμές του δείκτη EC₂₀, που αντιστοιχεί σε 20% μείωση της φωταύγειας, καθώς σύμφωνα με τις οδηγίες του ISO 11348 (2007) [42] οι τιμές αυτές θεωρούνται οι μέγιστες επιτρεπτές για την παρουσία μιας τοξικής ουσίας στο νερό.

Ο υπολογισμός της τοξικής επίδρασης περιλαμβάνει τον παράγοντα διόρθωσης R_t που αντιστοιχεί στο λόγο της έντασης φωτός του δείγματος ελέγχου σε χρόνο t I_t προς την αρχική ένταση I_o .

$$R_t = \frac{I_t}{I_o} \quad \text{Εξίσωση 3}$$

Η παρεμπόδιση της βιοφωταύγειας των βακτηρίων υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\text{Παρεμπόδιση}_{MICROTOX} (\%) = \frac{E_c - E_i}{E_c} \quad \text{Εξίσωση 4}$$

όπου E_c η εκπομπή του δείγματος ελέγχου και E_i η εκπομπή του δοκιμίου.

Η τοξική επίδραση υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\text{Επίδραση}_{MICROTOX} (\%) = \frac{G_t}{1 + G_t} \quad \text{Εξίσωση 5}$$

όπου η διόρθωση γάμμα G υπολογίζεται από τη σχέση:

$$G = \frac{I_{ol}}{I_t} - 1 \quad \text{Εξίσωση 6}$$

με I_{ol} την ένταση φωτός από τα βακτήρια που χάθηκαν και I_t την τελική ένταση φωτός σε χρόνο t .

Το λογισμικό υπολογίζει τη συνάρτηση μεταξύ του παράγοντα γάμμα G και της συγκέντρωσης C της τοξικής ουσίας (βάση της αρχικής συγκέντρωσης) από την εξίσωση:

$$\log C = b \log G + \log a \quad \text{Εξίσωση 7}$$

Επίδραση EC₅₀ αντιστοιχεί σε G=1 (εξίσωση 5) και μηδενισμό του λογαρίθμου του στην εξίσωση 7.

2.2.9 FT-IR

Για τα λιποδιαλυτά συστατικά, αιθέρια έλαια και μίγματα EOM1, EOM2, λήφθηκαν φάσματα FT-IR με την τεχνική ATR με σκοπό τον εντοπισμό χαρακτηριστικών χημικών ομάδων και σύγκριση του χημικού προφίλ των αιθέριων ελαίων με πρότυπα φάσματα χημικών ουσιών που αναμένονται από τη βιβλιογραφία να περιέχονται σε αυτά. 100 μL δείγματος τοποθετούνται σε πλάκες ZnSe κατάλληλες για υγρά δείγματα και ATR τεχνική, ενώ γίνεται χρήση του Smart APK αξεσουάρ.

2.2.10 Στατιστική Επεξεργασία

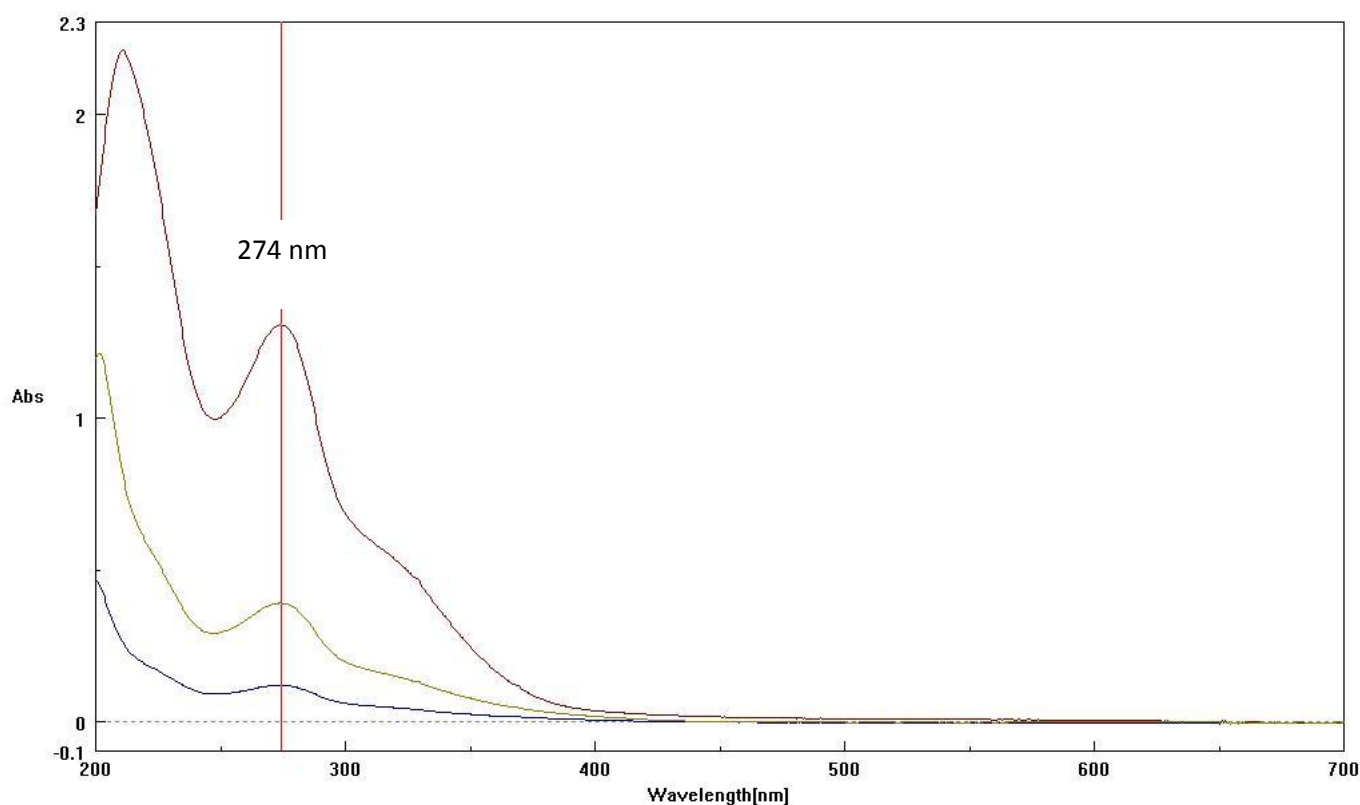
Τα δεδομένα που προκύπτουν από τις μετρήσεις επεξεργάζονται στατιστικά για την εξαγωγή μέσων τιμών, τυπικών αποκλίσεων, διαγραμμάτων και άλλων στατιστικών μεγεθών με τη βοήθεια των λογισμικών Microsoft Excel[®] 2010, Origin[®] Pro 8 και IBM[®] SPSS[®] Statistics ver. 20.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Φάσματα Απορρόφησης UV-Vis Εκχυλίσμάτων Λεβάντας

Το φάσμα απορρόφησης UV-Vis για τα εκχυλίσματα λεβάντας εμφανίζει τοπικό μέγιστο για $\lambda=274$ nm, όπως φαίνεται στο Σχήμα 5, η οποία μεταβάλλεται για κάθε διαδοχικό εκχύλισμα. Το ύψος της κορυφής για κάθε εκχύλισμα και τύπο εκχύλισης, με αναγωγή για συγκέντρωση 100% v/v, αναγράφεται στον Πίνακα 11. Η Εκχύλιση Α είναι εν ψυχρώ με ανάδευση, ενώ η Εκχύλιση Β εν θερμώ χωρίς ανάδευση.

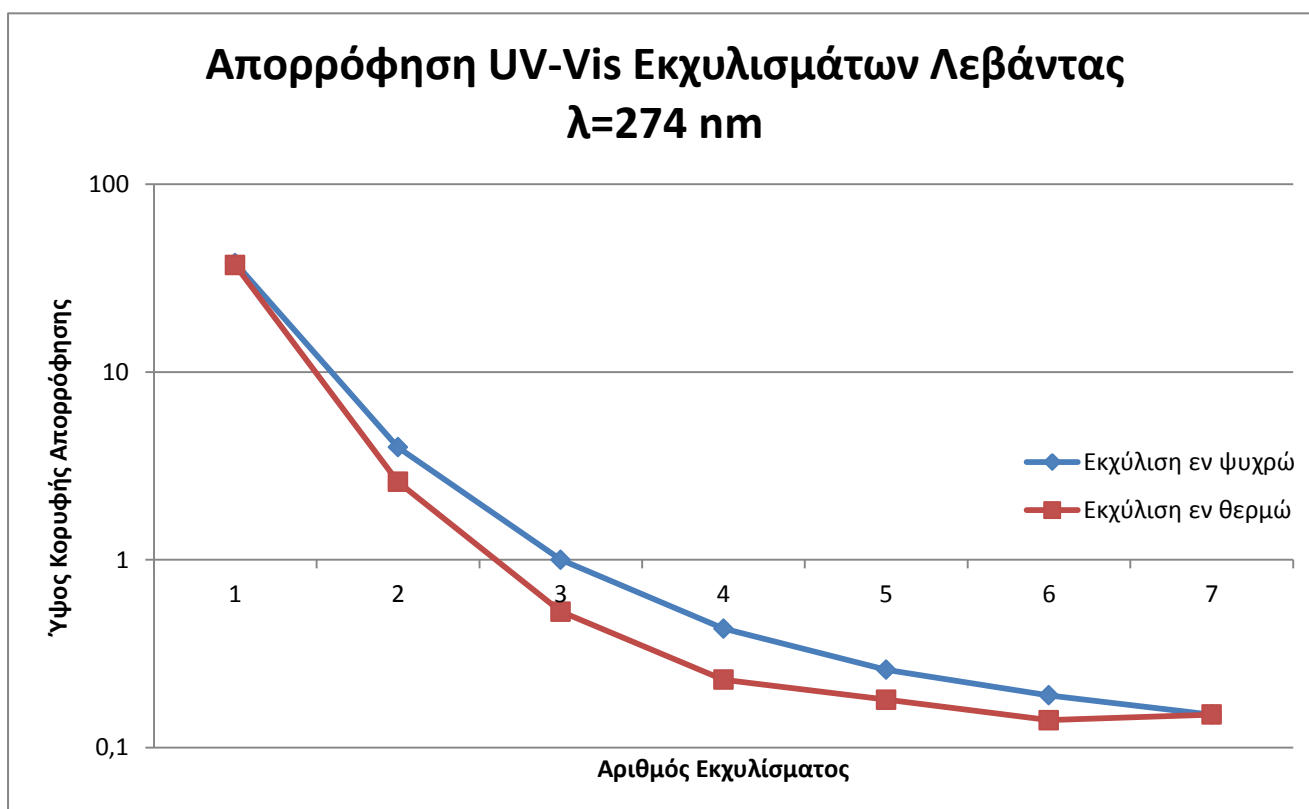
Στο Σχήμα 6, απεικονίζονται τα δεδομένα απορρόφησης του Πίνακα 11 σε μορφή διαγράμματος.



Σχήμα 5: Φάσμα απορρόφησης UV-Vis για 3 διαδοχικά εκχυλίσματα λεβάντας

Πίνακας 11: Ύψος κορυφής απορρόφησης UV-Vis για $\lambda=274$ nm στα εκχυλίσματα λεβάντας

Αριθμός Εκχυλίσματος	Ύψος Κορυφής Εκχύλιση Α	Ύψος Κορυφής Εκχύλιση Β
1	37,99	37,04
2	3,97	2,60
3	1,00	0,53
4	0,43	0,23
5	0,26	0,18
6	0,19	0,14
7	0,15	0,15



Σχήμα 6: Διάγραμμα ύψους κορυφής απορρόφησης UV-Vis για τα εκχυλίσματα λεβάντας

3.2 Πρότυπη καμπύλη απορρόφησης Γαλλικού οξέος (Folin – Ciocalteu)

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων απορρόφησης για την εξαγωγή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς γαλλικού οξέος με τη μέθοδο Folin – Ciocalteu για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης από το φαινολικό περιεχόμενο, αναγράφονται στον Πίνακα 12.

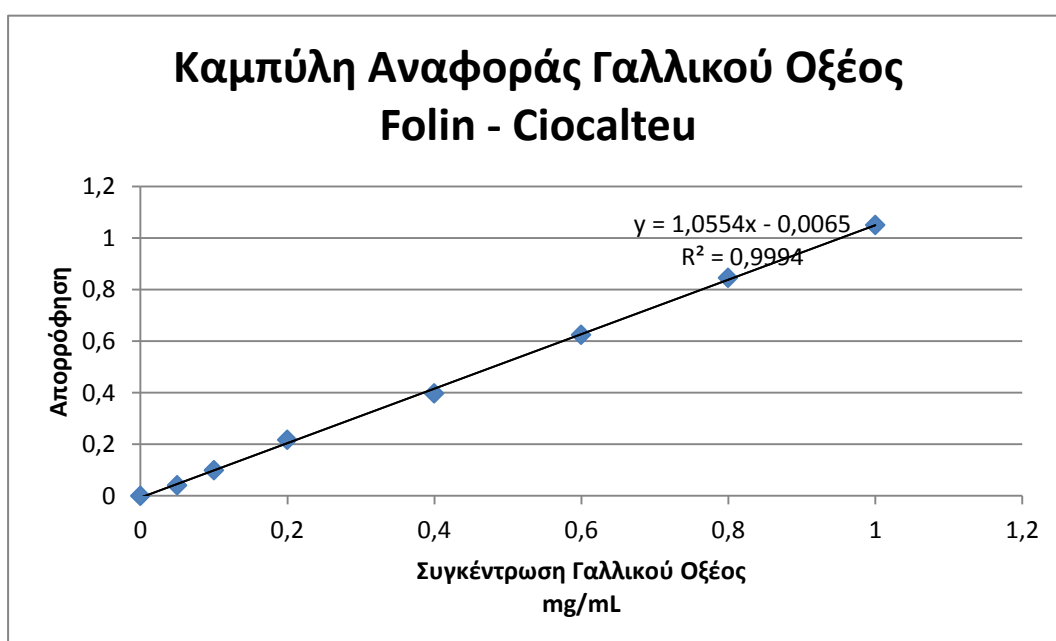
Πίνακας 12: Folin-Ciocalteu, Απορρόφηση γαλλικού οξέος συναρτήσει συγκέντρωσης

Συγκέντρωση Γαλλικού Οξέως mg/mL	Απορρόφηση
0,00	0,000
0,05	0,041
0,10	0,099
0,20	0,217
0,40	0,397
0,60	0,624
0,80	0,846

Από τα δεδομένα προκύπτει η παρακάτω καμπύλη αναφοράς απορρόφησης – συγκέντρωσης γαλλικού οξέος. Με γραμμική παρεμβολή υπολογίζεται η εξίσωση απορρόφησης – συγκέντρωσης γαλλικού οξέος (και τα αντίστοιχα σφάλματα):

$$A = 1,06 \cdot C - 0,006 \quad \text{Εξίσωση 8}$$

$$\delta\alpha = 0,01 \quad \delta\beta = 0,005$$



Σχήμα 7: Πρότυπη καμπύλη απορρόφησης Γαλλικού Οξέος με τη μέθοδο Folin - Ciocalteu

3.3 Πρότυπη καμπύλη παρεμπόδισης Trolox (DPPH)

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων απορρόφησης για την εξαγωγή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς Trolox με τη μέθοδο DPPH για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης, αναγράφονται στον Πίνακα 13. Η % παρεμπόδιση υπολογίζεται βάσει της Εξίσωσης 2.

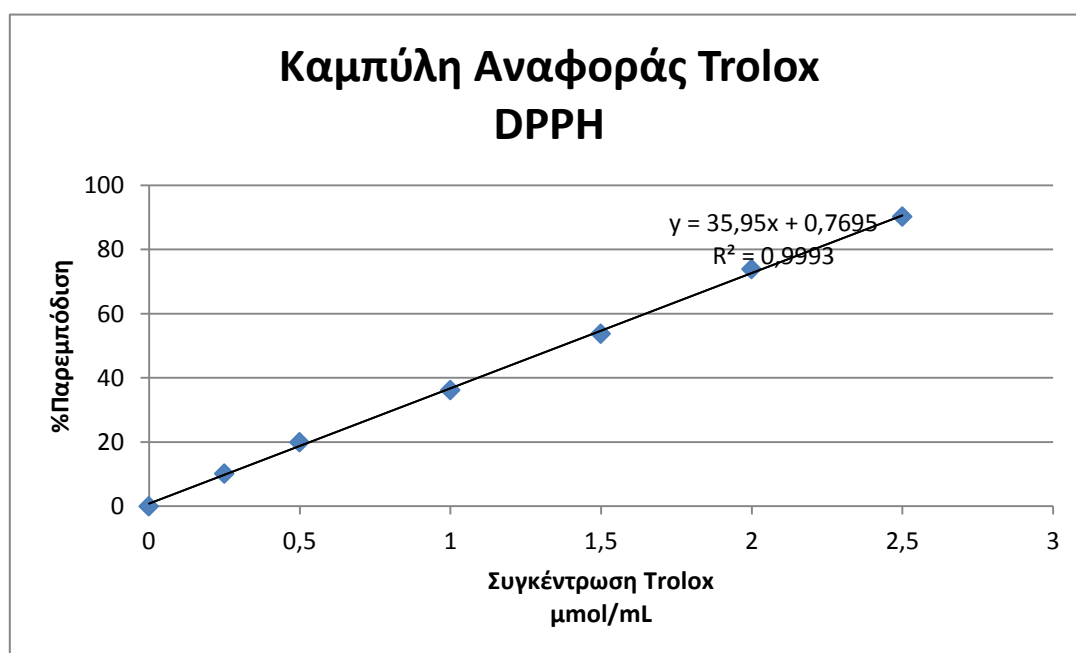
Πίνακας 13: DPPH, Απορρόφηση και παρεμπόδιση Trolox συναρτήσει συγκέντρωσης

Συγκέντρωση Trolox μmol/mL	Απορρόφηση	Παρεμπόδιση %
0,00	0,694	0,0
0,25	0,624	10,1
0,50	0,556	19,9
1,00	0,443	36,2
1,50	0,321	53,7
2,00	0,181	73,9
2,50	0,068	90,2

Από τα δεδομένα προκύπτει η παρακάτω καμπύλη αναφοράς παρεμπόδισης – συγκέντρωσης Trolox. Με γραμμική παρεμβολή υπολογίζεται η εξίσωση απορρόφησης – συγκέντρωσης Trolox:

$$\text{Π\%} = 35,9 \cdot C + 0,8 \quad \text{Εξίσωση 9}$$

$$\delta\alpha = 0,4 \quad \delta\beta = 0,6$$



Σχήμα 8: Πρότυπη καμπύλη παρεμπόδισης Trolox με τη μέθοδο DPPH

3.4 Πρότυπη καμπύλη παρεμπόδισης Trolox (ABTS)

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων απορρόφησης για την εξαγωγή της πρότυπης καμπύλης αναφοράς Trolox με τη μέθοδο ABTS για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης, αναγράφονται στον Πίνακα 14. Η % παρεμπόδιση υπολογίζεται βάσει της Εξίσωσης 3.

Πίνακας 14: ABTS, Απορρόφηση και παρεμπόδιση Trolox συναρτήσει συγκέντρωσης

Συγκέντρωση Trolox μmol/mL	Απορρόφηση	Παρεμπόδιση %
0,00	0,687	0,00
0,25	0,603	12,2
0,50	0,512	25,5
1,00	0,378	45,0
1,50	0,255	62,9
2,00	0,125	81,8
2,50	0,000	100,0

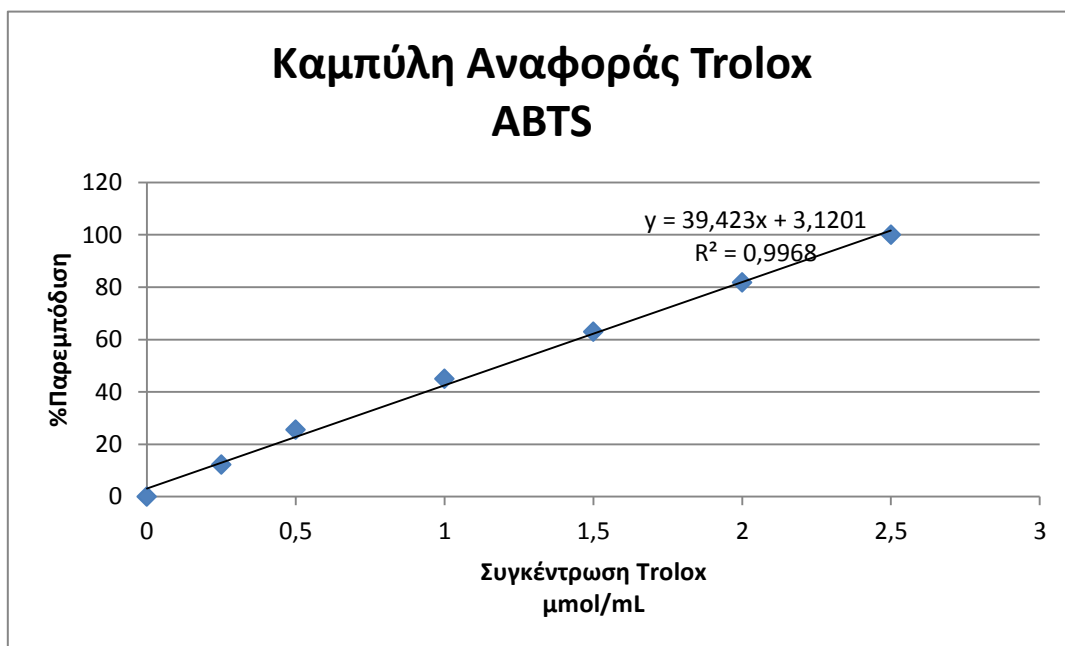
Από τα δεδομένα προκύπτει η παρακάτω καμπύλη αναφοράς παρεμπόδισης – συγκέντρωσης Trolox. Με γραμμική παρεμβολή υπολογίζεται η εξίσωση απορρόφησης – συγκέντρωσης Trolox:

$$\text{Π\%} = 39 \cdot C + 3$$

Εξίσωση 10

$$\delta\alpha = 1$$

$$\delta\beta = 1$$



Σχήμα 9: Πρότυπη καμπύλη παρεμπόδισης Trolox με τη μέθοδο ABTS

3.5 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο Folin - Ciocalteu

3.5.1 Υδατοδιαλυτά Δοκίμια

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων απορρόφησης για τα υδατοδιαλυτά συστατικά και μίγματα FW1, FW2, αναγράφονται στον Πίνακα 15. Με βάση την εξίσωση 8 υπολογίζεται η συγκέντρωση σε ισοδύναμα μg γαλλικού οξέος ανά mL συστατικού. Το σφάλμα στην απορρόφηση αντιστοιχεί στην τυπική απόκλιση των 3 μετρήσεων. Το σφάλμα στην αντιστοιχία σε ισοδύναμα GA υπολογίζεται από τη σχέση μετάδοσης σφάλματος:

$$\delta C = \sqrt{\left(\frac{\partial C}{\partial a} \delta a\right)^2 + \left(\frac{\partial C}{\partial \beta} \delta \beta\right)^2 + \left(\frac{\partial C}{\partial A} \delta A\right)^2}$$
$$\delta C = \sqrt{\left(\frac{\alpha + \beta}{\alpha^2} \delta a\right)^2 + \left(\frac{1}{\alpha} \delta \beta\right)^2 + \left(\frac{1}{\alpha} \delta A\right)^2} \quad \text{Εξίσωση 11}$$

όπου C: συγκέντρωση γαλλικού οξέος

a: κλίση της ευθείας αναφοράς (εξίσωση 8)

β: τομή άξονα y της ευθείας αναφοράς (εξίσωση 8)

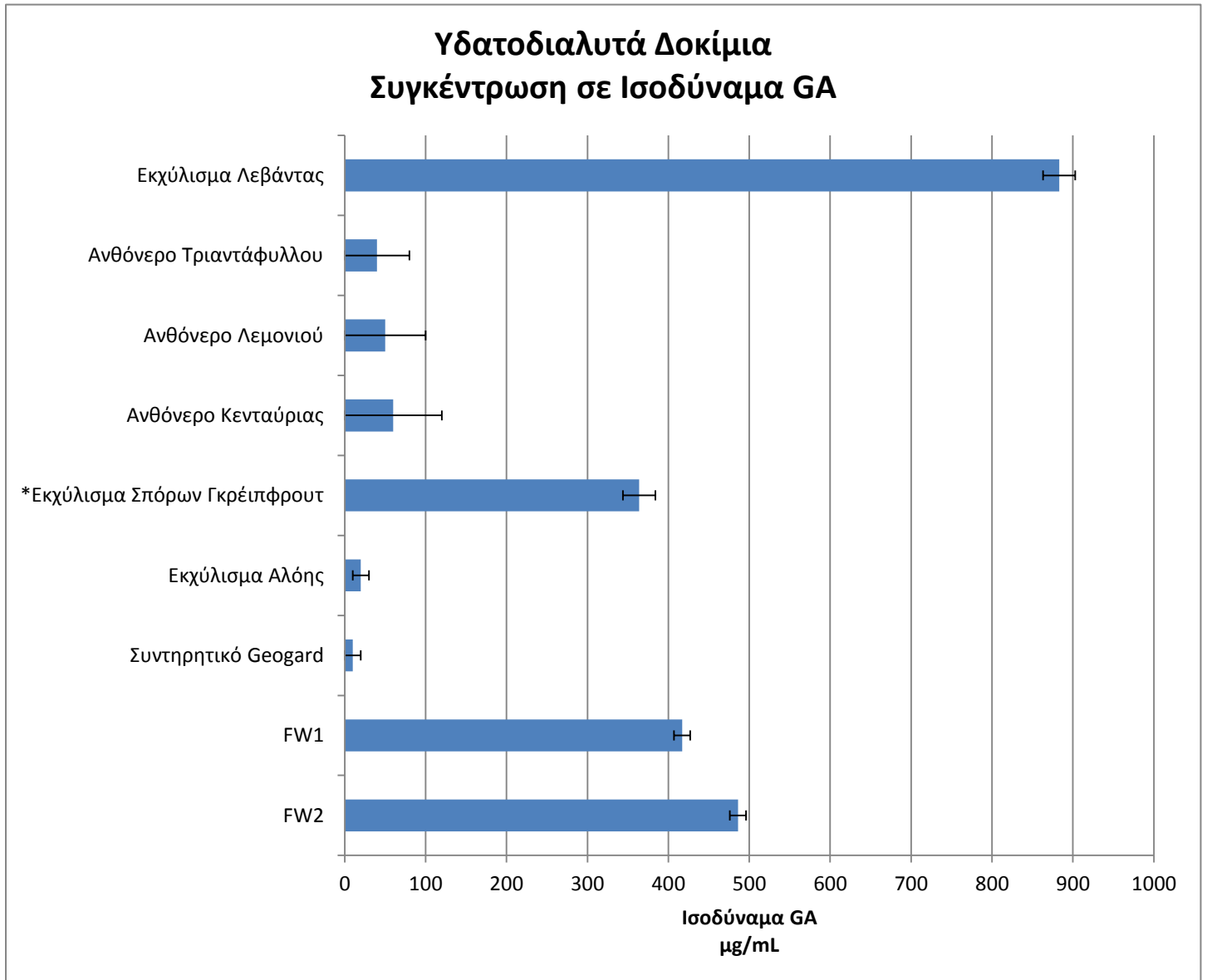
A: απορρόφηση

δ...: τα αντίστοιχα σφάλματα

Πίνακας 15: Folin-Ciocalteu, Απορρόφηση και αντιστοιχία σε ισοδύναμα GA για υδατοδιαλυτά δοκίμια

Δοκίμιο	Απορρόφηση	Ισοδύναμα GA μg/mL
Εκχύλισμα Λεβάντας	0,93 ± 0,02	883 ± 20
Ανθόνερο Τριαντάφυλλου	0,00 ± 0,04	40 ± 40
Ανθόνερο Λεμονιού	0,001 ± 0,001	50 ± 50
Ανθόνερο Κενταύριας	0,005 ± 0,004	60 ± 60
Εκχύλισμα Σπόρων Γκρέιπφρουτ	0,38 ± 0,02	364 ± 20
Εκχύλισμα Αλόης	0,004 ± 0,001	10 ± 10
Συντηρητικό Geogard	0,001 ± 0,001	10 ± 10
FW1	0,436 ± 0,004	417 ± 10
FW2	0,504 ± 0,007	483 ± 10

Η συγκέντρωση σε ισοδύναμα μg γαλλικού οξέος ανά mL υλικού για κάθε συστατικό και τα μίγματα FW1, FW2 απεικονίζονται σε διάγραμμα στο Σχήμα 10. Όλα τα συστατικά αντιστοιχούν σε συγκεντρώσεις 100% v/v, εκτός από το εκχύλισμα σπόρων γκρέιπφρουτ σε συγκέντρωση 25% v/v.



Σχήμα 10: Συγκέντρωση σε ισοδύναμα GA για υδατοδιαλυτά συστατικά

3.5.2 Λιποδιαλυτά Δοκίμια

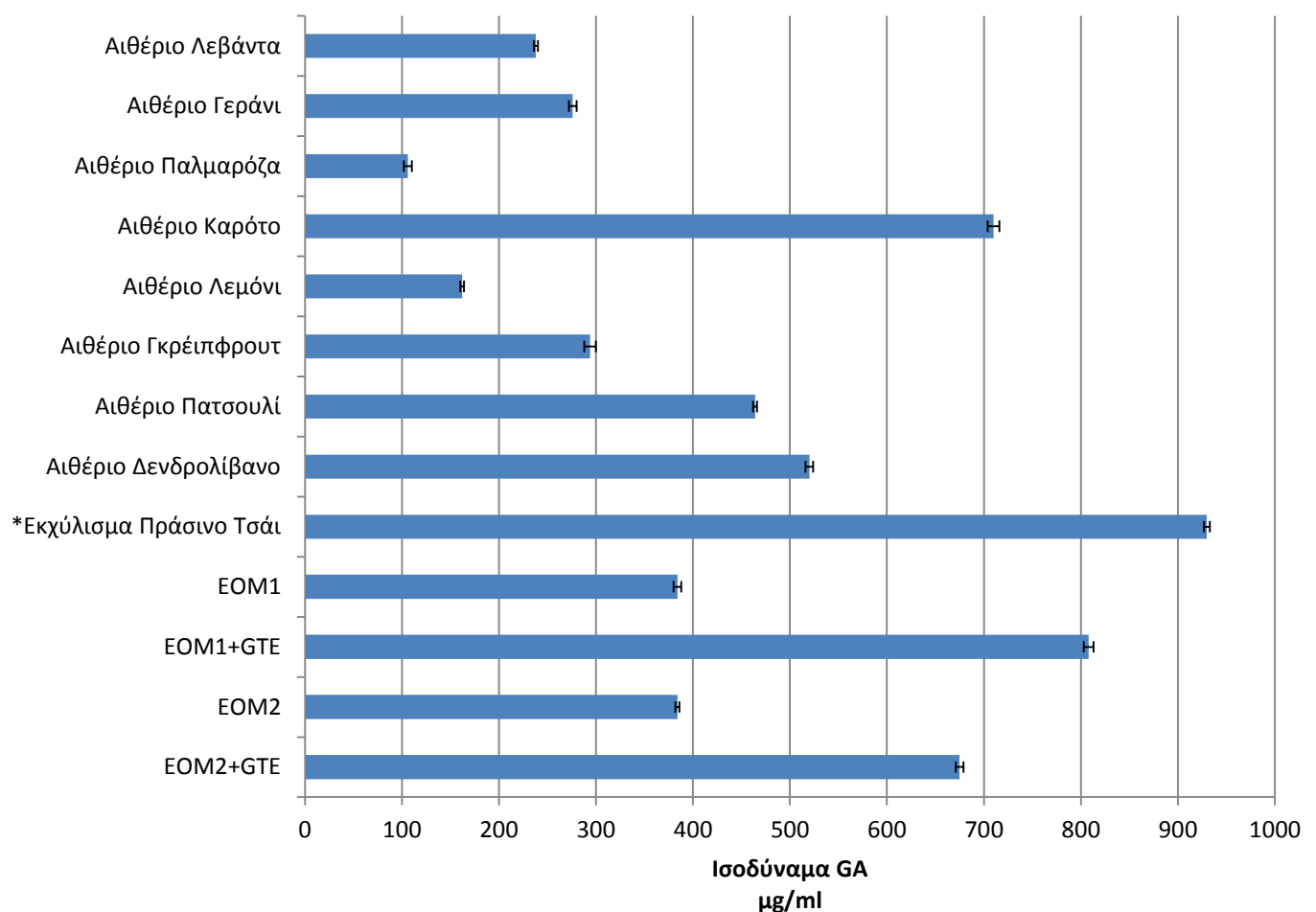
Τα αποτελέσματα των μετρήσεων απορρόφησης για τα λιποδιαλυτά συστατικά και μίγματα EOM1, EOM2, EOM1+GTE, EOM2+GTE αναγράφονται στον Πίνακα 16. Με βάση την εξίσωση 8 υπολογίζεται η συγκέντρωση σε ισοδύναμα μg γαλλικού οξέος ανά mL καθαρού συστατικού, εκτός από το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού (αραίωση 1:1 v/v σε MeOH με αναγωγή σε mL καθαρής ουσίας για τα αιθέρια και τα EOM1, EOM2, το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού αντιστοιχεί σε διάλυμα 1:200 v/v). Το σφάλμα στην απορρόφηση αντιστοιχεί στην τυπική απόκλιση των 3 μετρήσεων. Το σφάλμα στην αντιστοιχία σε ισοδύναμα GA υπολογίζεται ομοίως με τα υδατοδιαλυτά, από την Εξίσωση 11.

Πίνακας 16: Folin-Ciocalteu, Απορρόφηση και αντιστοιχία σε ισοδύναμα GA για λιποδιαλυτά δοκίμια

Δοκίμιο	Απορρόφηση	Ισοδύναμα GA $\mu\text{g/mL}$
Αιθέριο Έλαιο Λεβάντα	$0,120 \pm 0,006$	238 ± 2
Αιθέριο Έλαιο Γεράνι	$0,14 \pm 0,02$	267 ± 4
Αιθέριο Έλαιο Παλμαρόζα	$0,05 \pm 0,02$	106 ± 4
Αιθέριο Έλαιο Καρότο	$0,37 \pm 0,03$	710 ± 6
Αιθέριο Έλαιο Λεμόνι	$0,080 \pm 0,005$	162 ± 2
Αιθέριο Έλαιο Γκρέιπφρουτ	$0,15 \pm 0,03$	294 ± 6
Αιθέριο Έλαιο Πατσουλί	$0,240 \pm 0,002$	464 ± 2
Αιθέριο Έλαιο Δενδρολίβανο	$0,27 \pm 0,02$	520 ± 2
*Εκχύλισμα Πράσινο Τσάι	$0,98 \pm 0,03$	930 ± 3
EOM1	$0,20 \pm 0,01$	384 ± 4
*EOM1+GTE	$0,85 \pm 0,05$	808 ± 5
EOM2	$0,197 \pm 0,001$	384 ± 2
*EOM2+GTE	$0,71 \pm 0,04$	675 ± 4

Η συγκέντρωση σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος σε $\mu\text{g/mL}$ για κάθε συστατικό και τα μίγματα απεικονίζονται σε διάγραμμα στο Σχήμα 11.).

Λιποδιαλυτά Δοκίμια Συγκέντρωση σε Ισοδύναμα GA



Σχήμα 11: Συγκέντρωση ολικών φαινολικών σε ισοδύναμα GA για λιποδιαλυτά δοκίμια

3.6 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο DPPH

3.6.1 Υδατοδιαλυτά Δοκίμια

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων απορρόφησης για τα υδατοδιαλυτά συστατικά και μίγματα FW1, FW2, αναγράφονται στον Πίνακα 17. Με βάση τις εξισώσεις 1 και 9 υπολογίζεται η % παρεμπόδιση και η αντιστοιχία σε ισοδύναμα Trolox. Το σφάλμα στην απορρόφηση αντιστοιχεί στην τυπική απόκλιση των 3 μετρήσεων. Το σφάλμα στην παρεμπόδιση και στην αντιστοιχία σε ισοδύναμα Trolox υπολογίζεται από τις σχέσεις μετάδοσης σφάλματος και τις εξισώσεις 1 και 9:

$$\delta\Pi = \frac{\partial\Pi}{\partial A_s} \delta A_s = \frac{100}{A_o} \delta A_s \quad \text{Εξίσωση 12}$$

$$\delta C = \sqrt{\left(\frac{\partial C}{\partial a} \delta a\right)^2 + \left(\frac{\partial C}{\partial \beta} \delta \beta\right)^2 + \left(\frac{\partial C}{\partial \Pi} \delta \Pi\right)^2}$$

$$\delta C = \sqrt{\left(\frac{\Pi - \beta}{\alpha^2} \delta \alpha\right)^2 + \left(\frac{1}{\alpha} \delta \beta\right)^2 + \left(\frac{1}{\alpha} \delta \Pi\right)^2}$$

Εξίσωση 13

όπου Π: η % παρεμπόδιση

A_{δ} : η απορρόφηση του δείγματος

A_0 : η απορρόφηση χωρίς το δείγμα

C: η συγκέντρωση Trolox

α : κλίση της ευθείας αναφοράς (εξίσωση 9)

β : τομή άξονα y της ευθείας αναφοράς (εξίσωση 9)

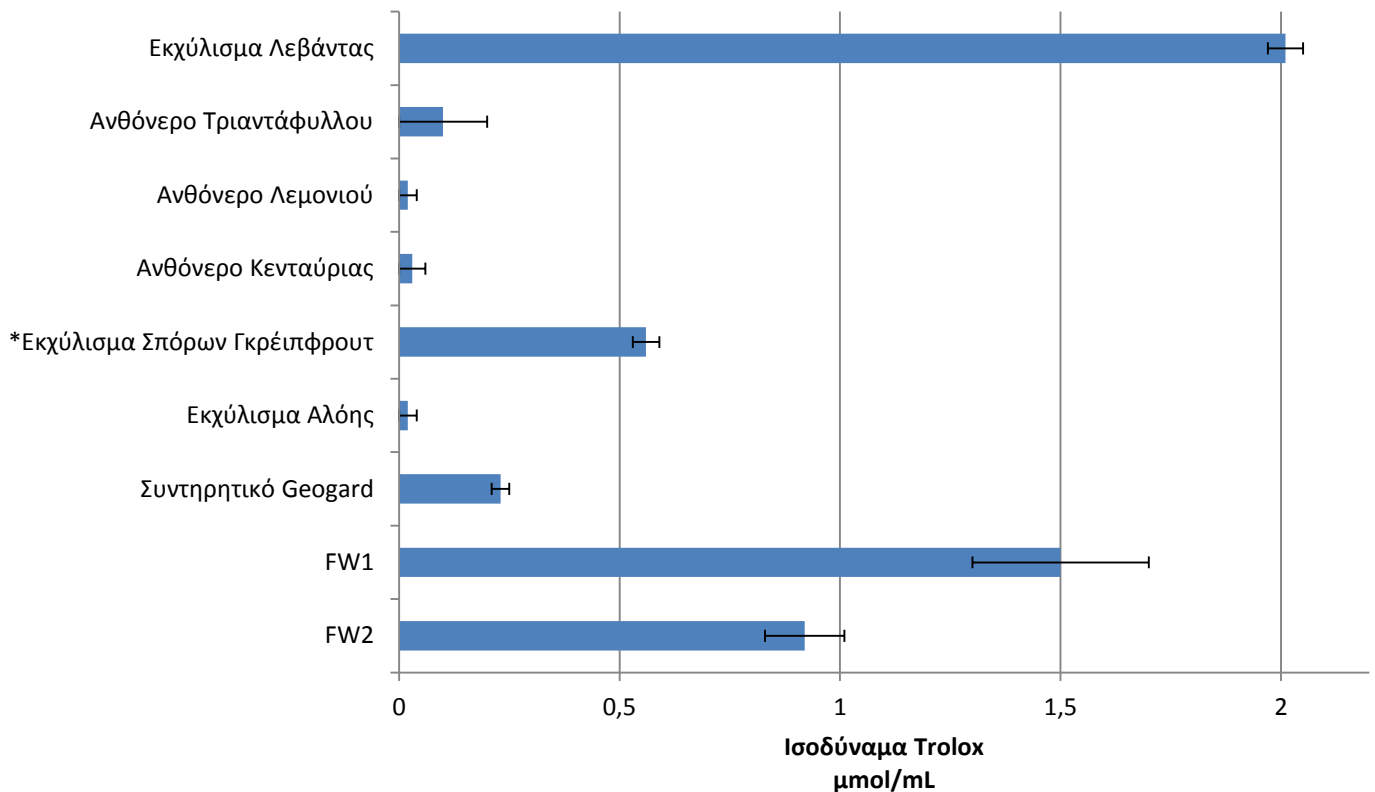
$\delta \dots$: τα αντίστοιχα σφάλματα

Πίνακας 17: DPPH Απορρόφηση, παρεμπόδιση και ισοδύναμα Trolox για υδατοδιαλυτά δοκίμια

Δοκίμιο	Απορρόφηση	Παρεμπόδιση %	Ισοδύναμα Trolox μmol/mL
Εκχύλισμα Λεβάντας	0,20 ± 0,09	73 ± 1	2,01 ± 0,04
Ανθόνερο Τριαντάφυλλου	0,72 ± 0,04	5 ± 5	0,1 ± 0,1
Ανθόνερο Λεμονιού	0,660 ± 0,001	1,0 ± 0,1	0,02 ± 0,02
Ανθόνερο Κενταύριας	0,661 ± 0,001	1 ± 1	0,03 ± 0,03
Εκχύλισμα Σπόρων Γκρέιπφρουτ	0,58 ± 0,01	21 ± 1	0,56 ± 0,03
Εκχύλισμα Αλόης	0,738 ± 0,002	1,0 ± 0,3	0,02 ± 0,02
Συντηρητικό Geogard	0,664 ± 0,001	9,0 ± 0,1	0,23 ± 0,02
FW1	0,33 ± 0,04	53 ± 6	1,5 ± 0,2
FW2	0,44 ± 0,02	34 ± 3	0,92 ± 0,09

Η αντιοξειδωτική δράση σε αντιστοιχία με ισοδύναμα μmol Trolox ανά mL δοκιμίου για κάθε συστατικό και τα μίγματα FW1, FW2 απεικονίζονται σε διάγραμμα στο Σχήμα 12. Όλα τα συστατικά αντιστοιχούν σε συγκεντρώσεις 100% v/v, εκτός από το εκχύλισμα σπόρων γκρέιπφρουτ σε συγκέντρωση 25% v/v.

Υδατοδιαλυτά Δοκίμια Αντιοξειδωτική Δράση DPPH σε Ισοδύναμα Trolox



Σχήμα 12: Αντιοξειδωτική δράση DPPH σε ισοδύναμα Trolox για υδατοδιαλυτά συστατικά

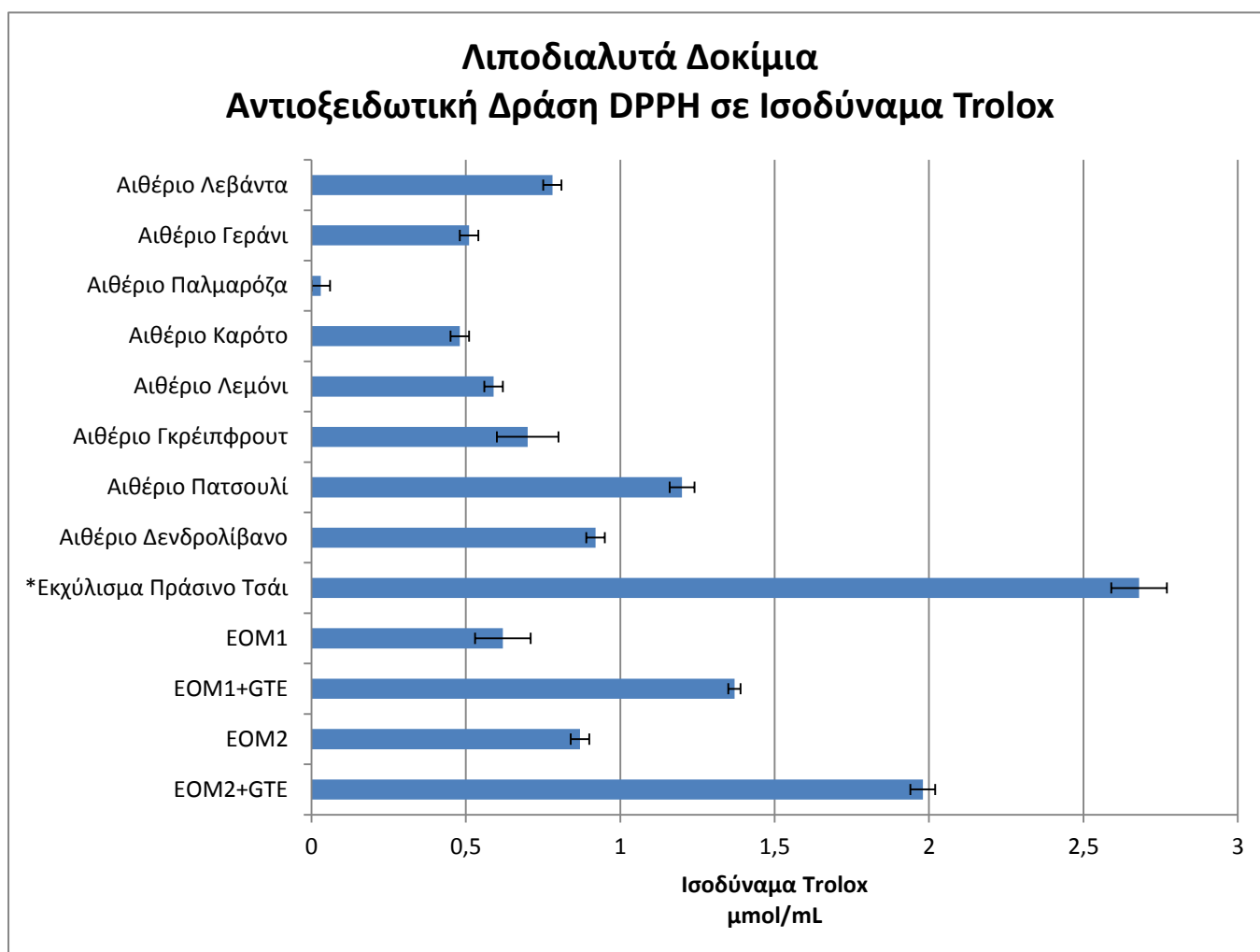
3.6.2 Λιποδιαλυτά Δοκίμια

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων απορρόφησης για τα λιποδιαλυτά συστατικά και μίγματα EOM1, EOM2, EOM1+GTE, EOM+GTE2 αναγράφονται στον Πίνακα 18. Με βάση τις εξισώσεις 1 και 9 υπολογίζεται η % παρεμπόδιση και η αντιστοιχία σε ισοδύναμα Trolox. Το σφάλμα στην απορρόφηση αντιστοιχεί στην τυπική απόκλιση των 3 μετρήσεων. Το σφάλμα στην παρεμπόδιση και στην αντιστοιχία σε ισοδύναμα Trolox υπολογίζεται όπως και για τα υδατοδιαλυτά συστατικά από τις εξισώσεις 12 και 13.

Η αντιοξειδωτική δράση σε αντιστοιχία με ισοδύναμα μmol Trolox ανά mL δοκιμίου για κάθε συστατικό και τα μίγματα απεικονίζονται σε διάγραμμα στο Σχήμα 13. Όλα τα συστατικά αναφέρονται στην ίδια συγκέντρωση (αραίωση 1:1 σε MeOH), εκτός από το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού (αραίωση 1:200 σε MeOH).

Πίνακας 18: DPPH Απορρόφηση, παρεμπόδιση και ισοδύναμα Trolox για λιποδιαλυτά δοκίμια

Δοκίμιο	Απορρόφηση	Παρεμπόδιση %	Ισοδύναμα Trolox μmol/mL
Αιθέριο Λεβάντα	0,478 ± 0,006	28,7 ± 0,9	0,78 ± 0,03
Αιθέριο Γεράνι	0,566 ± 0,007	19 ± 1	0,51 ± 0,03
Αιθέριο Παλμαρόζα	0,681 ± 0,007	2 ± 1	0,03 ± 0,03
Αιθέριο Καρότο	0,57 ± 0,01	18 ± 1	0,48 ± 0,03
Αιθέριο Λεμόνι	0,533 ± 0,007	22 ± 1	0,59 ± 0,03
Αιθέριο Γκρέιπφρουτ	0,5 ± 0,03	27 ± 4	0,7 ± 0,1
Αιθέριο Πατσουλί	0,38 ± 0,01	44 ± 1	1,20 ± 0,04
Αιθέριο Δενδρολίβανο	0,449 ± 0,009	34 ± 1	0,92 ± 0,03
Εκχύλισμα Πράσινο Τσάι	0,05 ± 0,02	97 ± 3	2,68 ± 0,09
EOM1	0,53 ± 0,02	23 ± 3	0,62 ± 0,09
EOM1+GTE	0,334 ± 0,001	50,1 ± 0,1	1,37 ± 0,02
EOM2	0,465 ± 0,006	31,9 ± 0,9	0,87 ± 0,03
EOM2+GTE	0,19 ± 0,01	72 ± 1	1,98 ± 0,04



Σχήμα 13: Αντιοξειδωτική δράση DPPH σε ισοδύναμα Trolox για λιποδιαλυτά συστατικά

3.7 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με τη μέθοδο ABTS

3.7.1 Υδατοδιαλυτά Δοκίμια

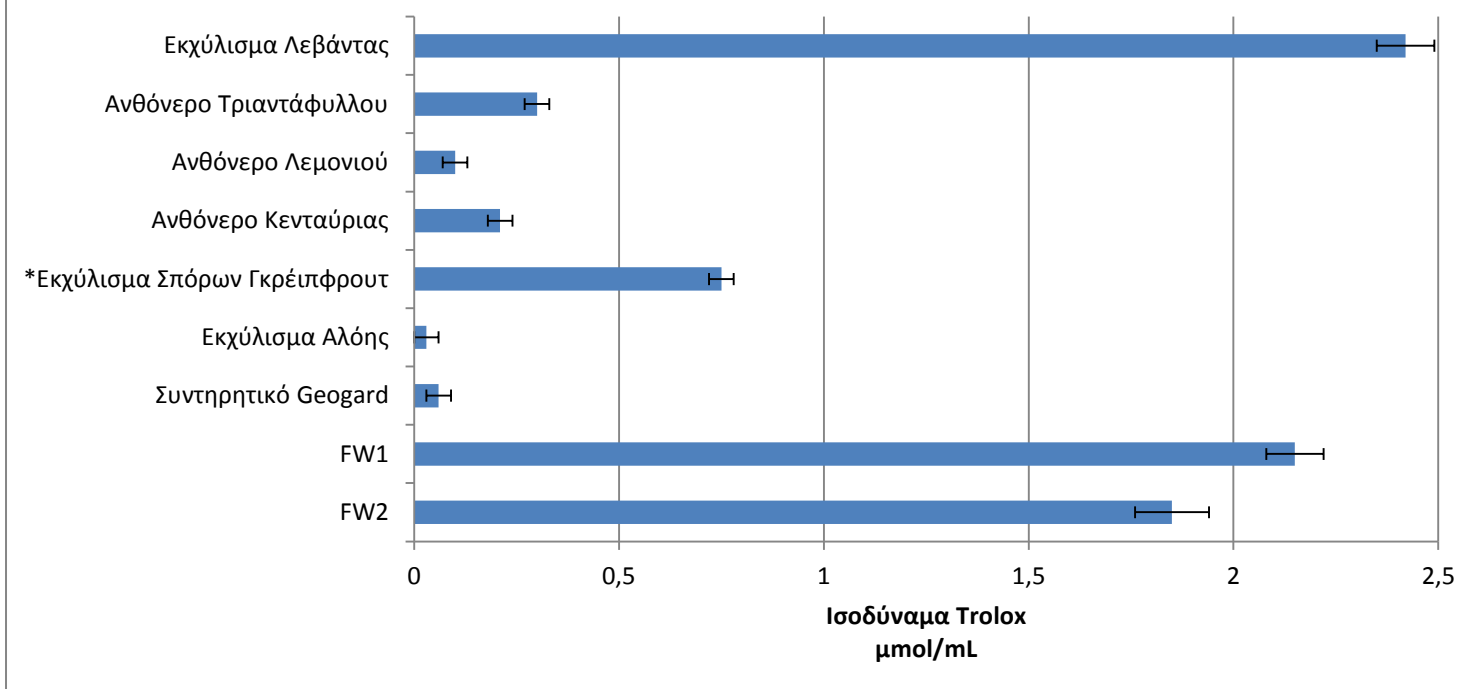
Τα αποτελέσματα των μετρήσεων απορρόφησης για τα υδατοδιαλυτά συστατικά και μίγματα FW1, FW2, αναγράφονται στον Πίνακα 19. Με βάση τις εξισώσεις 2 και 10 υπολογίζεται η % παρεμπόδιση και η αντιστοιχία σε ισοδύναμα Trolox. Το σφάλμα στην απορρόφηση αντιστοιχεί στην τυπική απόκλιση των 3 μετρήσεων. Το σφάλμα στην παρεμπόδιση και στην αντιστοιχία σε ισοδύναμα Trolox υπολογίζεται από τις σχέσεις μετάδοσης σφάλματος που εμφανίζονται παραπάνω στις εξισώσεις 12 και 13, καθώς ο τρόπος υπολογισμού της παρεμπόδισης με τη μέθοδο DPPH και ABTS είναι ίδιος.

Πίνακας 19: ABTS Απορρόφηση, παρεμπόδιση και ισοδύναμα Trolox για υδατοδιαλυτά δοκίμια

Δοκίμιο	Απορρόφηση	Παρεμπόδιση %	Ισοδύναμα Trolox μmol/mL
Εκχύλισμα Λεβάντας	0,018 ± 0,005	97,4 ± 0,7	2,42 ± 0,07
Ανθόνερο Τριαντάφυλλου	0,594 ± 0,005	13,9 ± 0,7	0,3 ± 0,03
Ανθόνερο Λεμονιού	0,634 ± 0,001	6,8 ± 0,1	0,1 ± 0,03
Ανθόνερο Κενταύριας	0,603 ± 0,001	11,3 ± 0,1	0,21 ± 0,03
Εκχύλισμα Σπόρων Γκρέιπφρουτ	0,473 ± 0,003	32,3 ± 0,4	0,75 ± 0,03
Εκχύλισμα Αλόης	0,686 ± 0,004	0,3 ± 0,3	0,03 ± 0,03
Συντηρητικό Geogard	0,653 ± 0,001	5,4 ± 0,1	0,06 ± 0,03
FW1	0,090 ± 0,007	87 ± 1	2,15 ± 0,07
FW2	0,17 ± 0,02	75 ± 3	1,85 ± 0,09

Η αντιοξειδωτική δράση σε αντιστοιχία με ισοδύναμα μmol Trolox ανά mL δοκιμίου για κάθε συστατικό και τα μίγματα FW1, FW2 απεικονίζονται σε διάγραμμα στο Σχήμα 14. Όλα τα συστατικά αντιστοιχούν σε συγκεντρώσεις 100% v/v, εκτός από το εκχύλισμα σπόρων γκρέιπφρουτ σε συγκέντρωση 25% v/v.

Υδατοδιαλυτά Δοκίμια Αντιοξειδωτική Δράση ABTS σε ισοδύναμα Trolox



Σχήμα 14: Αντιοξειδωτική δράση ABTS σε ισοδύναμα Trolox για υδατοδιαλυτά συστατικά

3.7.2 Λιποδιαλυτά Δοκίμια

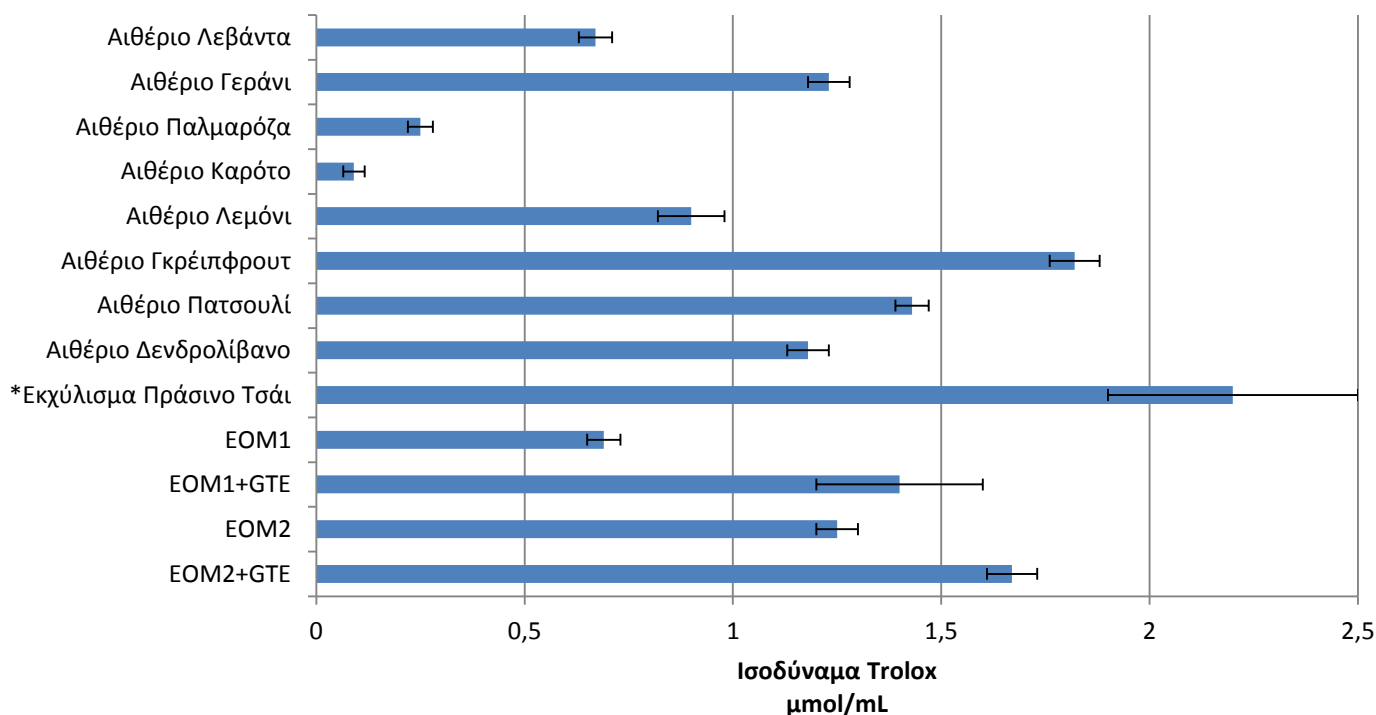
Τα αποτελέσματα των μετρήσεων απορρόφησης για τα λιποδιαλυτά συστατικά και μίγματα EOM1, EOM2, EOM1+GTE, EOM+GTE2 αναγράφονται στον Πίνακα 20. Με βάση τις εξισώσεις 2 και 10 υπολογίζεται η % παρεμπόδιση και η αντιστοιχία σε ισοδύναμα Trolox. Το σφάλμα στην απορρόφηση αντιστοιχεί στην τυπική απόκλιση των 3 μετρήσεων. Το σφάλμα στην παρεμπόδιση και στην αντιστοιχία σε ισοδύναμα Trolox υπολογίζεται όπως και για τα υδατοδιαλυτά συστατικά από τις εξισώσεις 12 και 13.

Η αντιοξειδωτική δράση σε αντιστοιχία με ισοδύναμα μmol Trolox ανά mL δοκιμίου για κάθε συστατικό και τα μίγματα απεικονίζονται σε διάγραμμα στο Σχήμα 15. Όλα τα συστατικά αναφέρονται στην ίδια συγκέντρωση (αραίωση 1:1 σε MeOH), εκτός από το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού (αραίωση 1:200 σε MeOH).

Πίνακας 20: ABTS Απορρόφηση, παρεμπόδιση και ισοδύναμα Trolox για λιποδιαλυτά δοκίμια

Δοκίμιο	Απορρόφηση	Παρεμπόδιση %	Ισοδύναμα Trolox $\mu\text{mol/mL}$
Αιθέριο Λεβάντα	$0,49 \pm 0,01$	29 ± 1	$0,67 \pm 0,04$
Αιθέριο Γεράνι	$0,34 \pm 0,01$	51 ± 1	$1,23 \pm 0,05$
Αιθέριο Παλμαρόζα	$0,601 \pm 0,003$	$12,9 \pm 0,4$	$0,25 \pm 0,03$
Αιθέριο Καρότο	$0,644 \pm 0,004$	$6,7 \pm 0,6$	$0,09 \pm 0,03$
Αιθέριο Λεμόνι	$0,42 \pm 0,02$	38 ± 3	$0,9 \pm 0,08$
Αιθέριο Γκρέιπφρουτ	$0,18 \pm 0,01$	74 ± 1	$1,82 \pm 0,06$
Αιθέριο Πατσουλί	$0,281 \pm 0,001$	$58,7 \pm 0,1$	$1,43 \pm 0,04$
Αιθέριο Δενδρολίβανο	$0,35 \pm 0,01$	49 ± 1	$1,18 \pm 0,05$
Εκχύλισμα Πράσινο Τσάι	$0,08 \pm 0,08$	88 ± 12	$2,2 \pm 0,3$
EOM1	$0,48 \pm 0,01$	30 ± 1	$0,69 \pm 0,04$
EOM1+GTE	$0,28 \pm 0,05$	59 ± 7	$1,4 \pm 0,2$
EOM2	$0,328 \pm 0,006$	$51,8 \pm 0,9$	$1,25 \pm 0,05$
EOM2+GTE	$0,22 \pm 0,01$	68 ± 1	$1,67 \pm 0,06$

Λιποδιαλυτά Συστατικά Αντιοξειδωτική Δράση ABTS σε ισοδύναμα Trolox



Σχήμα 15: Αντιοξειδωτική δράση ABTS σε ισοδύναμα Trolox για λιποδιαλυτά δοκίμια

3.8 Προσδιορισμός τοξικότητας με τη μέθοδο MICROTOX®

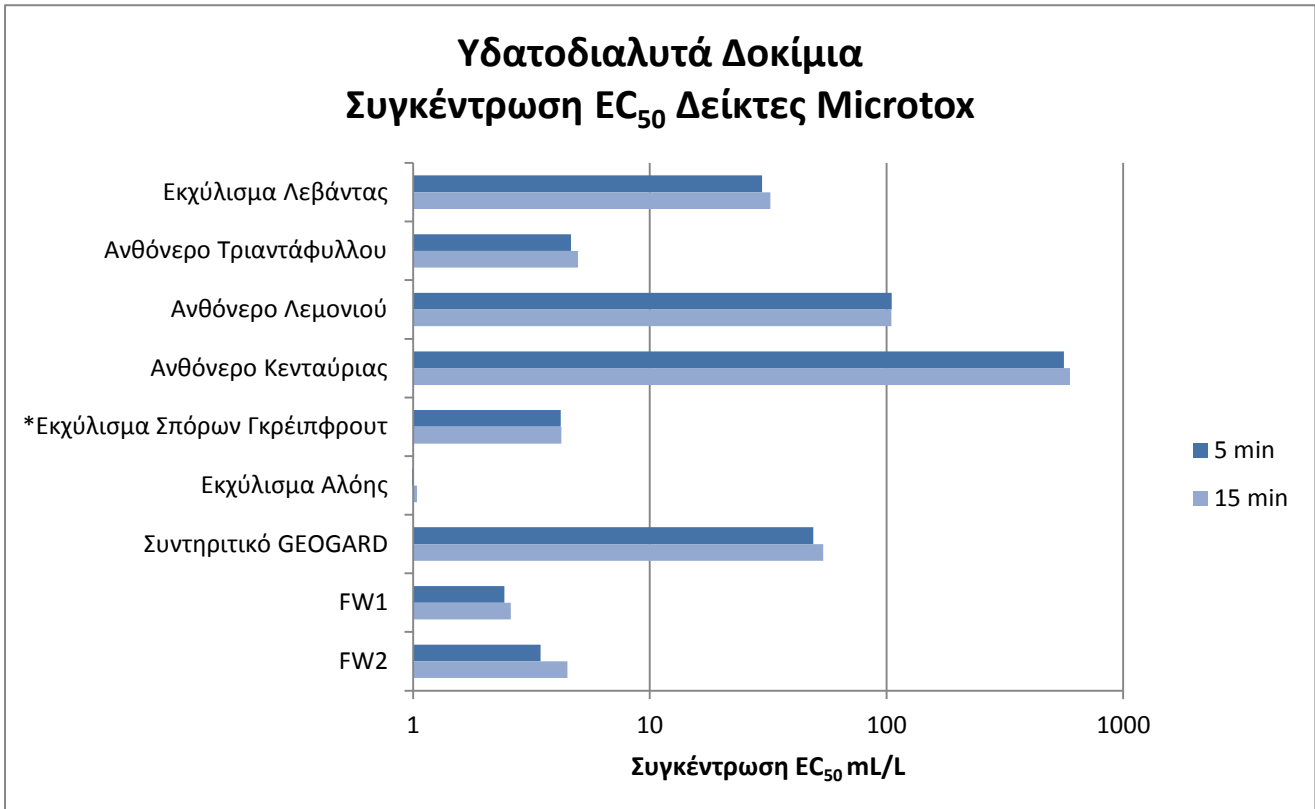
3.8.1 Υδατοδιαλυτά Δοκίμια

Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις τοξικότητας για τα υδατοδιαλυτά συστατικά και τα μίγματα FW1, FW2 για χρόνο παραμονής 5 και 15 min εμφανίζονται στον Πίνακα 21. Οι τιμές EC₅₀ υπολογίζονται από το λογισμικό από τις εξισώσεις 5, 6, 7 που παρουσιάστηκαν παραπάνω. Αναγράφονται επίσης τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης για τις τιμές των EC₅₀ ως στατιστικοί δείκτες. Με βάση τις αρχικές συγκεντρώσεις των υπό δοκιμή διαλυμάτων, οι τιμές EC₅₀ ανάγονται σε mL/L διαλύματος ουσίας. Με γκριζό χρώμα αναγράφονται τιμές από παρεκβολή. Το συντηρητικό αναφέρεται σε mg/L.

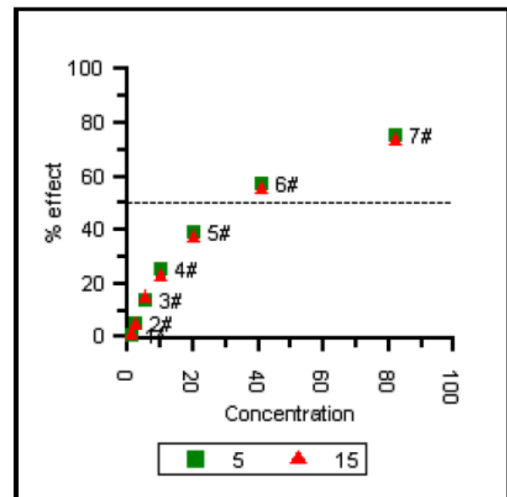
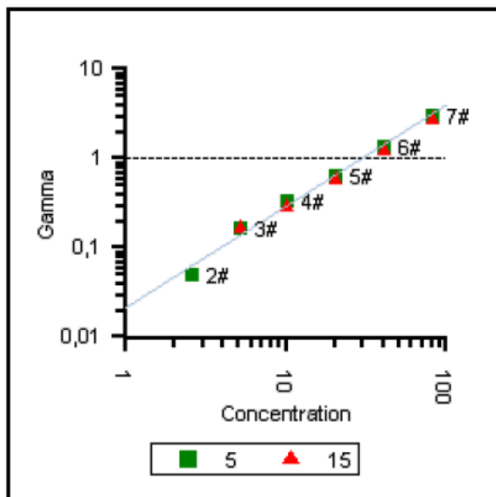
Πίνακας 21: Δείκτες τοξικότητας για τα υδατοδιαλυτά δοκίμια

Δοκίμιο	Αραίωση	EC ₅₀ (5min) %	EC ₅₀ (5 min) 95% Διάστημα Εμπιστοσύνης %	EC ₅₀ (15min) %	EC ₅₀ (15 min) 95% Διάστημα Εμπιστοσύνης %	EC ₅₀ (5min) mL/L	EC ₅₀ (15min) mL/L
Εκχύλισμα Λεβάντας	1:10	29,79	24,94 35,58	32,28	28,08 37,10	29,79	32,28
Ανθόνερο Τριαντάφυλλου	1:10	4,65	3,70 5,86	4,98	3,61 6,86	4,65	4,98
Ανθόνερο Λεμονιού	καθαρό	10,52	9,46 11,68	10,50	8,75 13,05	105,2	105,0
Ανθόνερο Κενταύριας	καθαρό	56,11	51,77 60,82	59,63	51,47 69,08	561,1	596,3
*Εκχύλισμα Σπόρων Γκρέιπφρουτ	1:10	4,21	3,18 5,57	4,23	2,85 6,28	4,21	4,23
*Εκχύλισμα Αλόης	1:15	1,27	0,76 2,14	1,56	0,79 3,10	0,85	1,40
Συντηρητικό Geogard	1:10	4,91	0,65 26,10	5,40		49,1 mg/L	54,0 mg/L
FW1	1:10	2,38	0,60 9,43	2,41	0,35 16,72	2,38	2,41
	1:15	3,73	2,12 6,55	4,07	2,17 7,63	2,47	2,71
FW2	1:20	6,92	4,50 10,65	8,98		3,46	4,49

Στο Σχήμα 17 εμφανίζονται σε μορφή διαγράμματος τα αποτελέσματα του παραπάνω πίνακα. Για το FW1 παρουσιάζεται ο μέσος όρος. Στο Σχήμα 17 εμφανίζονται τα διαγράμματα παρεμβολής για το εκχύλισμα λεβάντας για τον προσδιορισμό των εξισώσεων 6, 7 και των τιμών EC_{50} , όπως προκύπτουν από το λογισμικό ως παράδειγμα. Τα αντίστοιχα διαγράμματα για όλα τα δοκίμια παρουσιάζονται στο Παράρτημα Β.



Σχήμα 16: Δείκτες τοξικότητας EC_{50} για υδατοδιαλυτά δοκίμια



Σχήμα 17: Διαγράμματα για τον υπολογισμό των συναρτήσεων Gamma και Effect για το εκχύλισμα λεβάντας

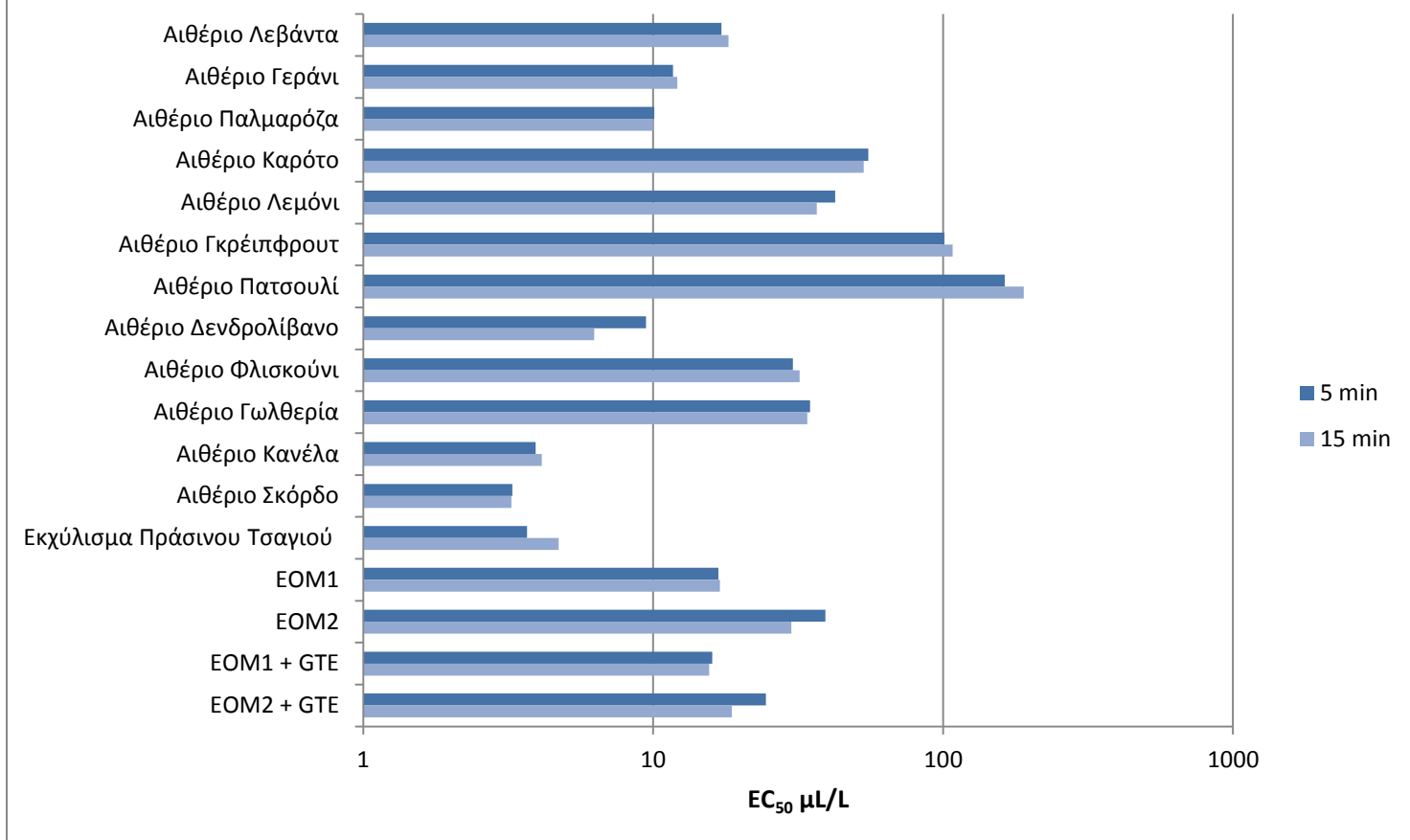
3.8.2 Λιποδιαλυτά Δοκίμια

Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις τοξικότητας για τα λιποδιαλυτά συστατικά και τα μίγματα EOM1, EOM2, EOM1+GTE, EOM2+GTE για χρόνο παραμονής 5 και 15 min εμφανίζονται στον Πίνακα 22, όπως και για τα υδατοδιαλυτά συστατικά. Στο Σχήμα 18 εμφανίζονται σε μορφή διαγράμματος τα αποτελέσματα του πίνακα. Στο Σχήμα 19 εμφανίζονται τα διαγράμματα παρεμβολής για το αιθέριο έλαιο λεβάντας όπως προκύπτουν από το λογισμικό ως παράδειγμα.

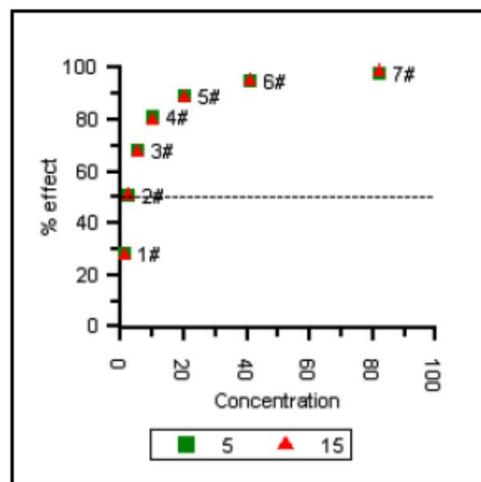
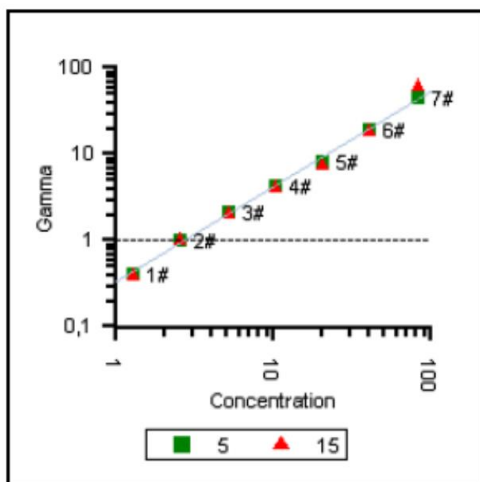
Πίνακας 22: Δείκτες τοξικότητας για τα λιποδιαλυτά δοκίμια

Δοκίμιο	Αραίωση	EC ₅₀ (5min) %	EC ₅₀ (5 min) 95% Διάστημα Εμπιστοσύνης %	EC ₅₀ (15min) %	EC ₅₀ (15 min) 95% Διάστημα Εμπιστοσύνης %	EC ₅₀ (5min) μL/L	EC ₅₀ (15min) μL/L
Αιθέριο έλαιο Λεβάντα	1:1600	2,75	2,48 3,04	2,91	2,35 3,61	17,2	18,2
Αιθέριο έλαιο Γεράνι	1:1600	1,87	1,65 2,13	1,93	1,72 2,17	11,7	12,1
Αιθέριο έλαιο Παλμαρόζα	1:1600	1,62	1,36 1,94	1,60	1,33 1,92	10,1	9,99
Αιθέριο έλαιο Καρότο	1:1600	8,84	8,37 9,33	8,52	8,10 8,96	55,2	53,2
Αιθέριο έλαιο Λεμόνι	1:1600	6,79	4,78 9,55	5,87	4,39 7,84	42,4	36,7
Αιθέριο έλαιο Γκρέιπφρουτ	1:1600	16,2	12,9 20,2	17,2	14,2 20,9	101	108
Αιθέριο έλαιο Πατσουλί	1:1600	26,1	16,6 40,8	30,4	10,9 85,0	163	190
Αιθέριο έλαιο Δενδρολίβανο	1:1600	1,51	1,35 1,69	1,00	0,88 1,13	9,45	6,26
Αιθέριο έλαιο Φλισκούνι	1:1600	4,86	4,41 5,34	5,12	4,65 5,64	30,3	32,0
Αιθέριο έλαιο Γωλθερία	1:1600	5,56	3,88 8,02	5,45	4,02 7,37	34,8	34,0
Αιθέριο έλαιο Κανέλα	1:3200	1,26	1,03 1,54	1,32	1,01 1,72	3,93	4,13
Αιθέριο έλαιο Σκόρδο	1:1600	0,52	0,39 0,72	0,52	0,30 0,91	3,27	3,24
Εκχύλισμα Πράσινου Τσαγιού	1:80000	46,1	41,5 51,3	29,3	28,7 30,0	3,67	4,72
EOM1	1:1600, 1:1	2,68	2,31 3,12	2,72	2,32 3,20	16,8	17,0
EOM2	1:1600, 1:1	6,28	5,82 6,78	4,81	4,50 5,13	39,3	30,0
EOM1 + GTE	1:1600, 1:80000, 3:2	4,22	3,98 4,46	4,10	3,83 4,39	16,0	15,6
EOM2 + GTE	1:1600, 1:80000, 3:2	8,73	7,63 10,0	6,68	5,85 7,62	24,5	18,7

Λιποδιαλυτά Δοκίμια EC₅₀ Δείκτες Microtox



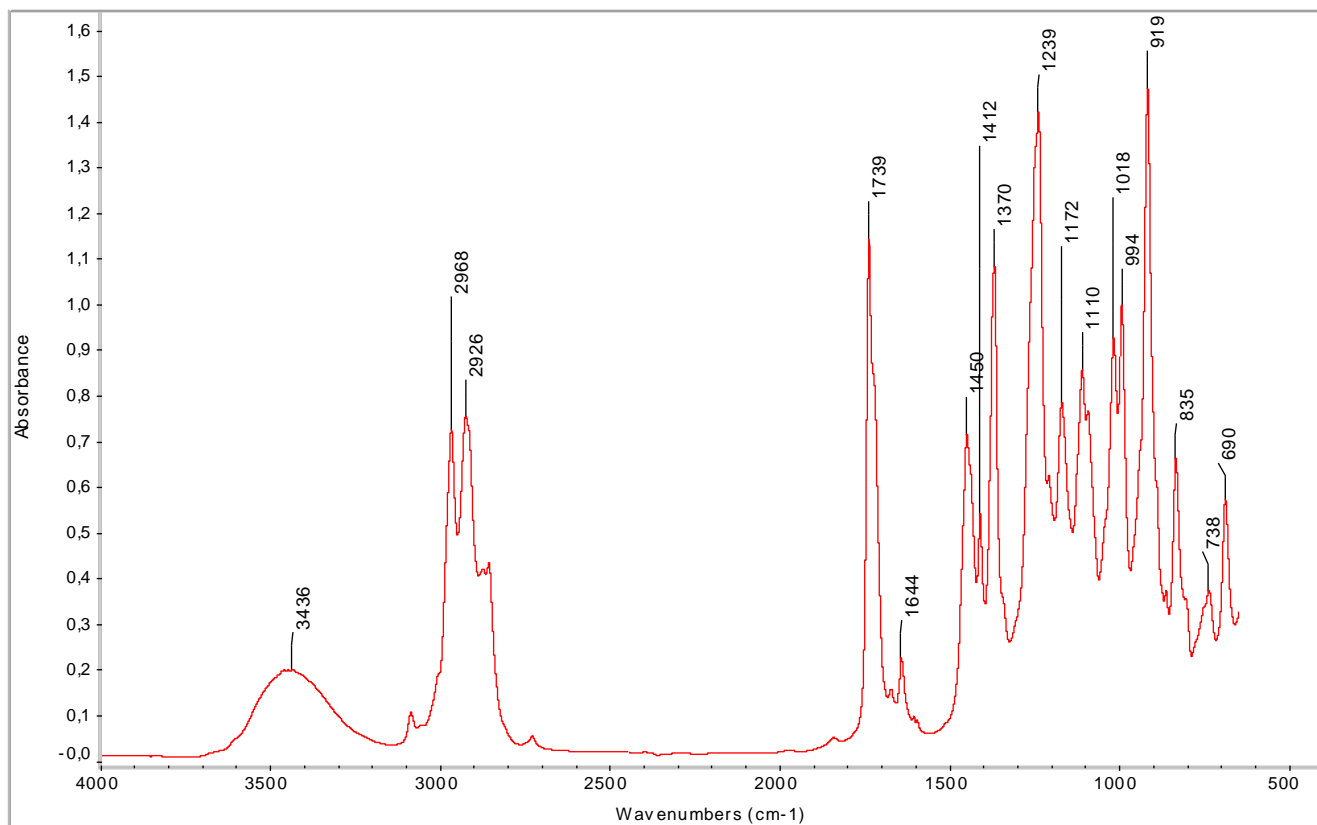
Σχήμα 18: Δείκτες τοξικότητας EC₅₀ για τα λιποδιαλυτά δοκίμια



Σχήμα 19: Διαγράμματα για τον υπολογισμό των συναρτήσεων Gamma και Effect για το αιθέριο έλαιο λεβάντας

3.9 Φασματοσκοπία FT-IR

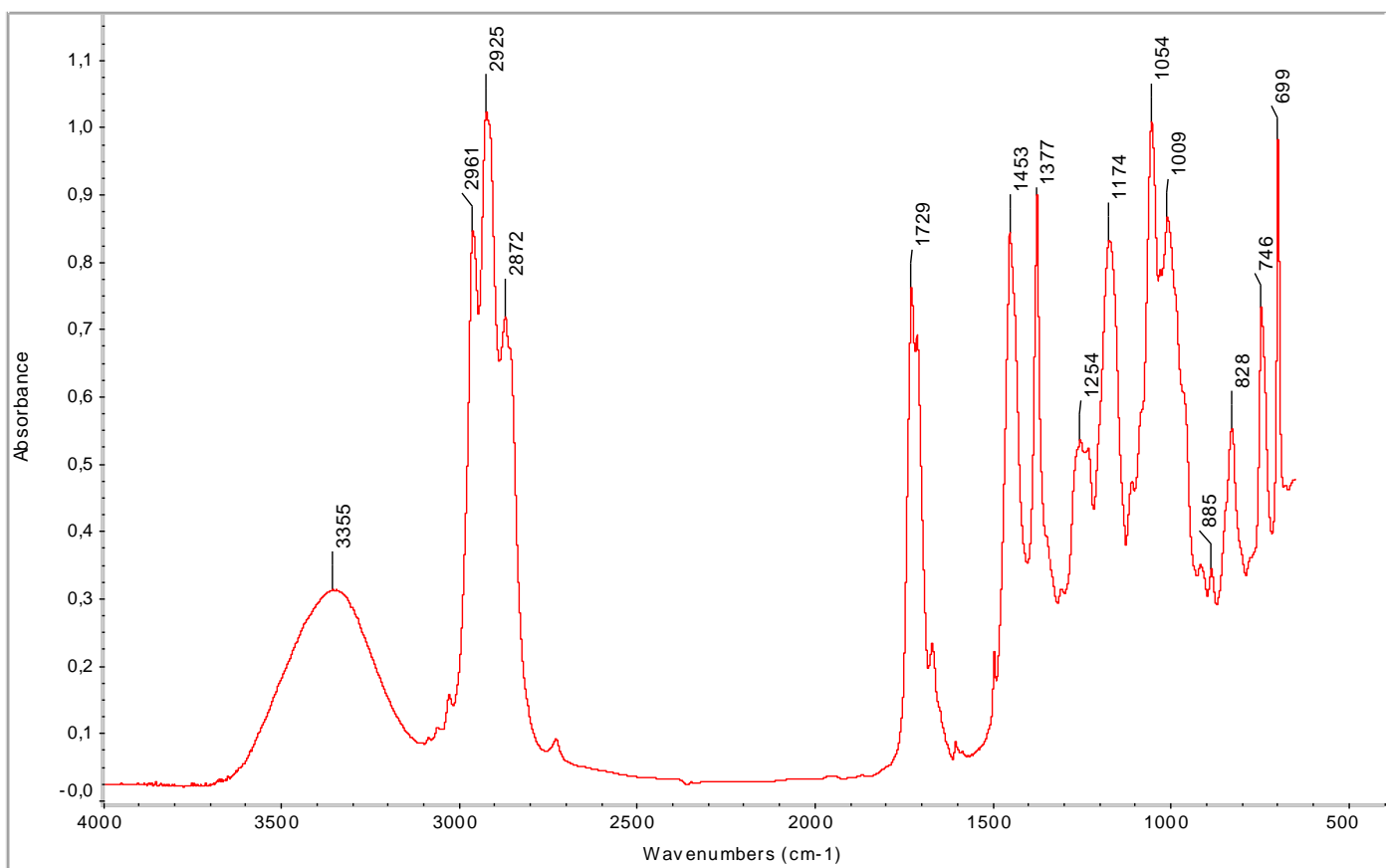
Για τα αιθέρια έλαια και τα μίγματα EOM1, EOM2, EOM1+GTE, EOM2+GTE παραλαμβάνονται τα φάσματα FT-IR με την τεχνική ATR. Τα φάσματα και οι πίνακες με τις κυριότερες κορυφές δίνονται παρακάτω.



Σχήμα 20: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο λεβάντα

Πίνακας 23: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο λεβάντα

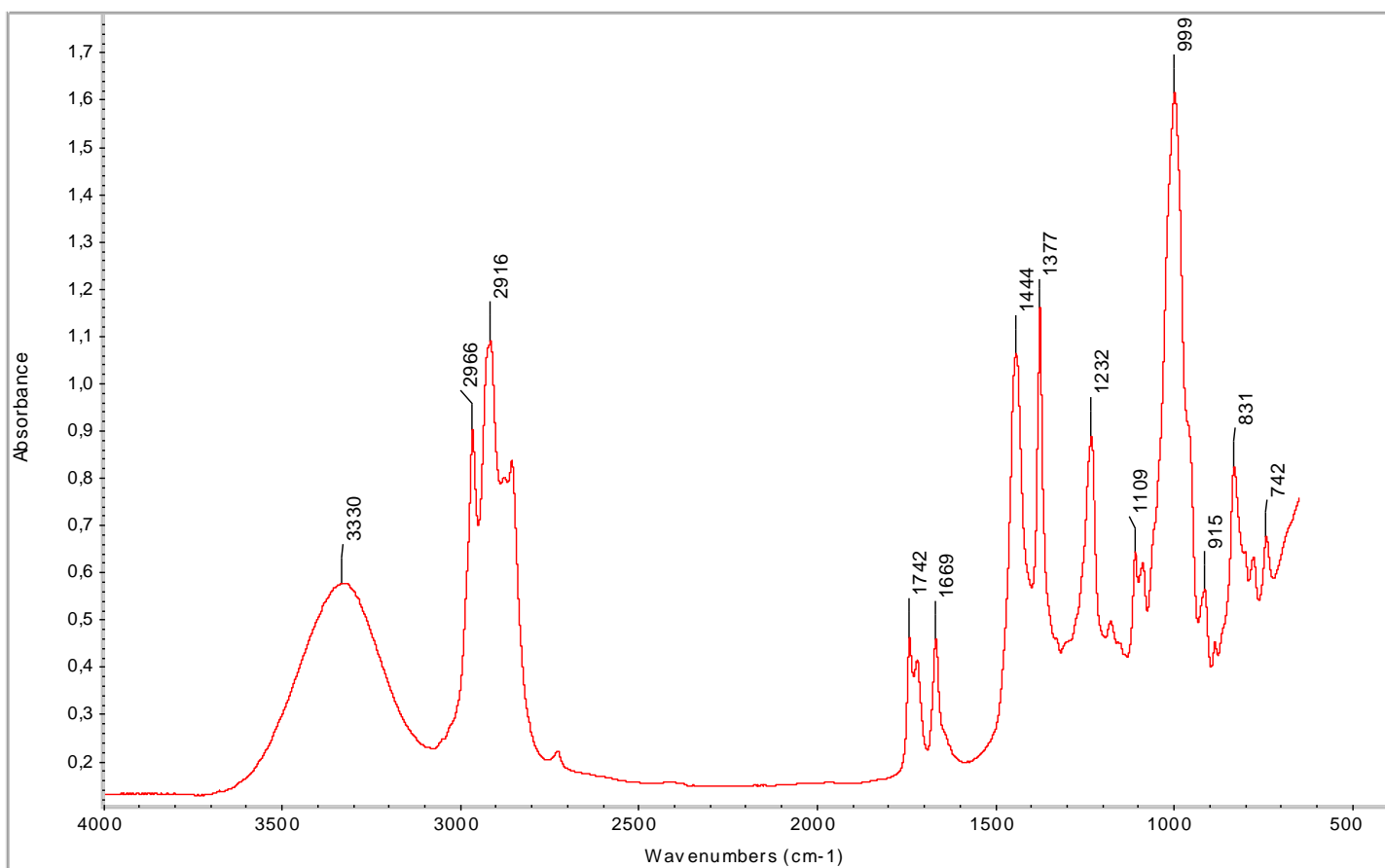
Κυματαριθμός cm ⁻¹	Απορρόφηση
690	0,571
738	0,372
835	0,661
919	1,477
994	1,001
1018	0,924
1110	0,856
1172	0,782
1239	1,422
1370	1,081
1412	0,538
1450	0,712
1644	0,224
1739	1,147
2926	0,751
2968	0,723
3436	0,196



Σχήμα 21: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο γεράνι

Πίνακας 24: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο γεράνι

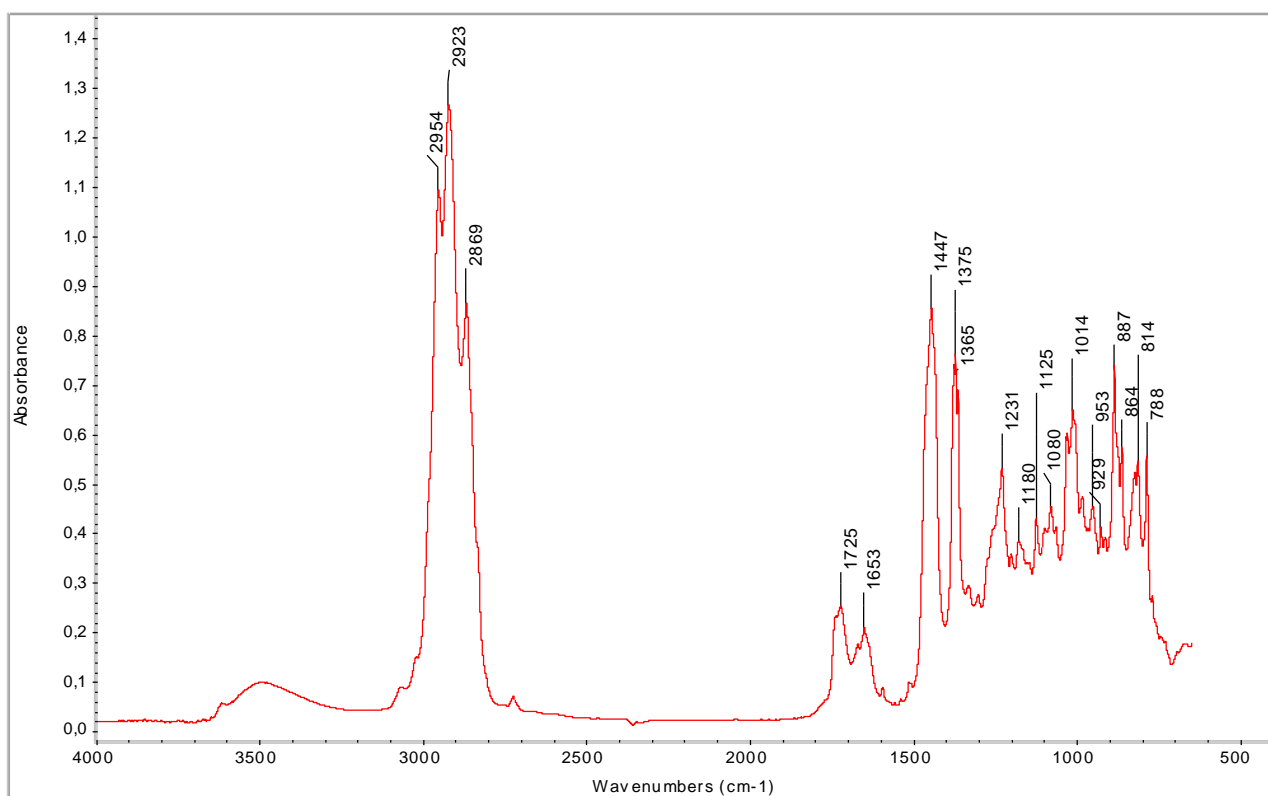
Κοματαριθμός cm ⁻¹	Απορρόφηση
699	0,999
746	0,734
828	0,551
885	0,342
1009	0,865
1054	1,007
1174	0,830
1254	0,534
1377	0,898
1453	0,842
1729	0,762
2872	0,715
2925	1,023
2961	0,845
3355	0,311



Σχήμα 22: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο παλμαρόζα

Πίνακας 25: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο παλμαρόζα

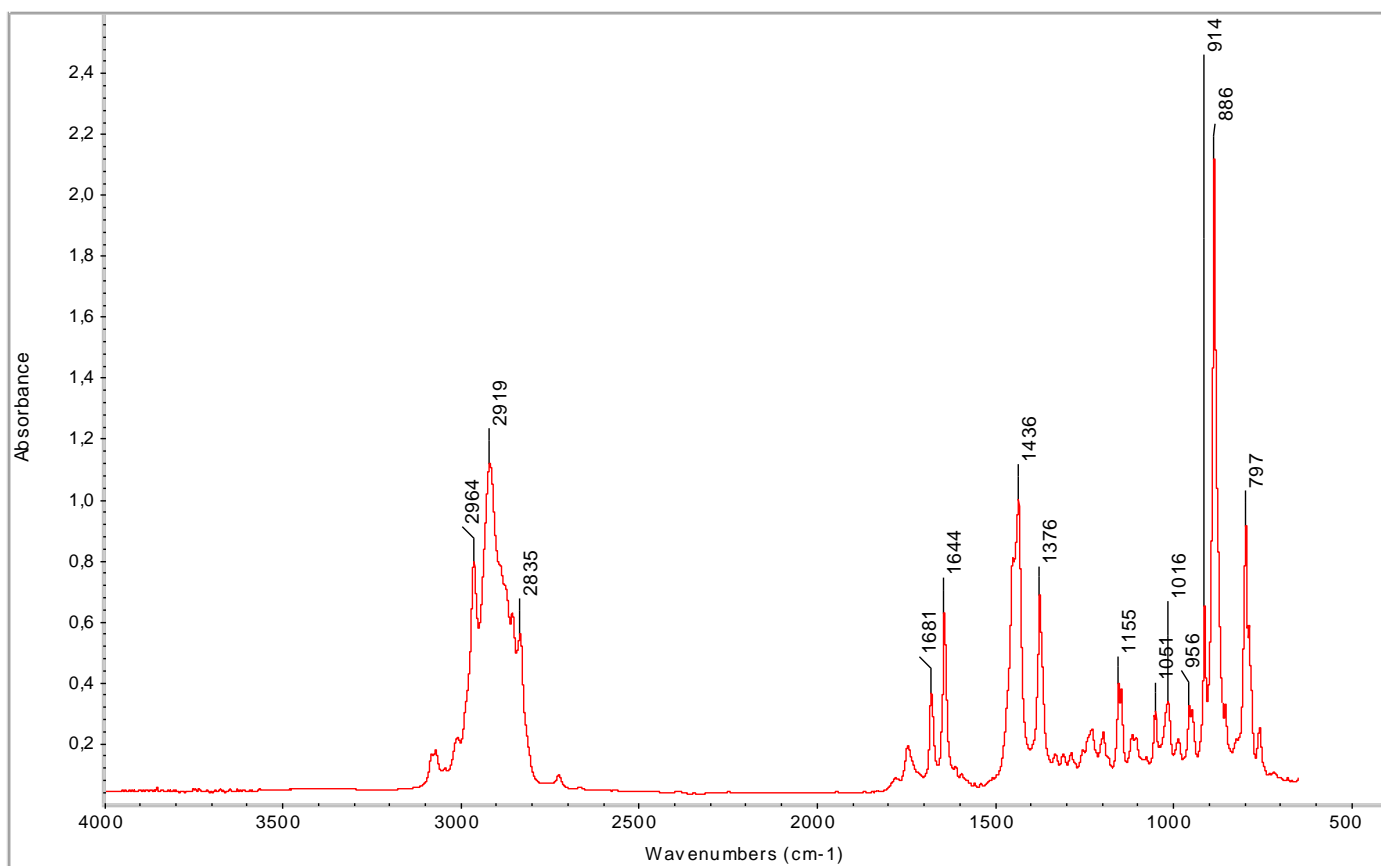
Κυματαριθμός cm ⁻¹	Απορρόφηση
742	0,672
831	0,821
915	0,560
999	1,614
1109	0,639
1232	0,885
1377	1,160
1444	1,060
1669	0,455
1742	0,458
2916	1,086
2966	0,900
3330	0,573



Σχήμα 23: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο καρότο

Πίνακας 26: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο καρότο

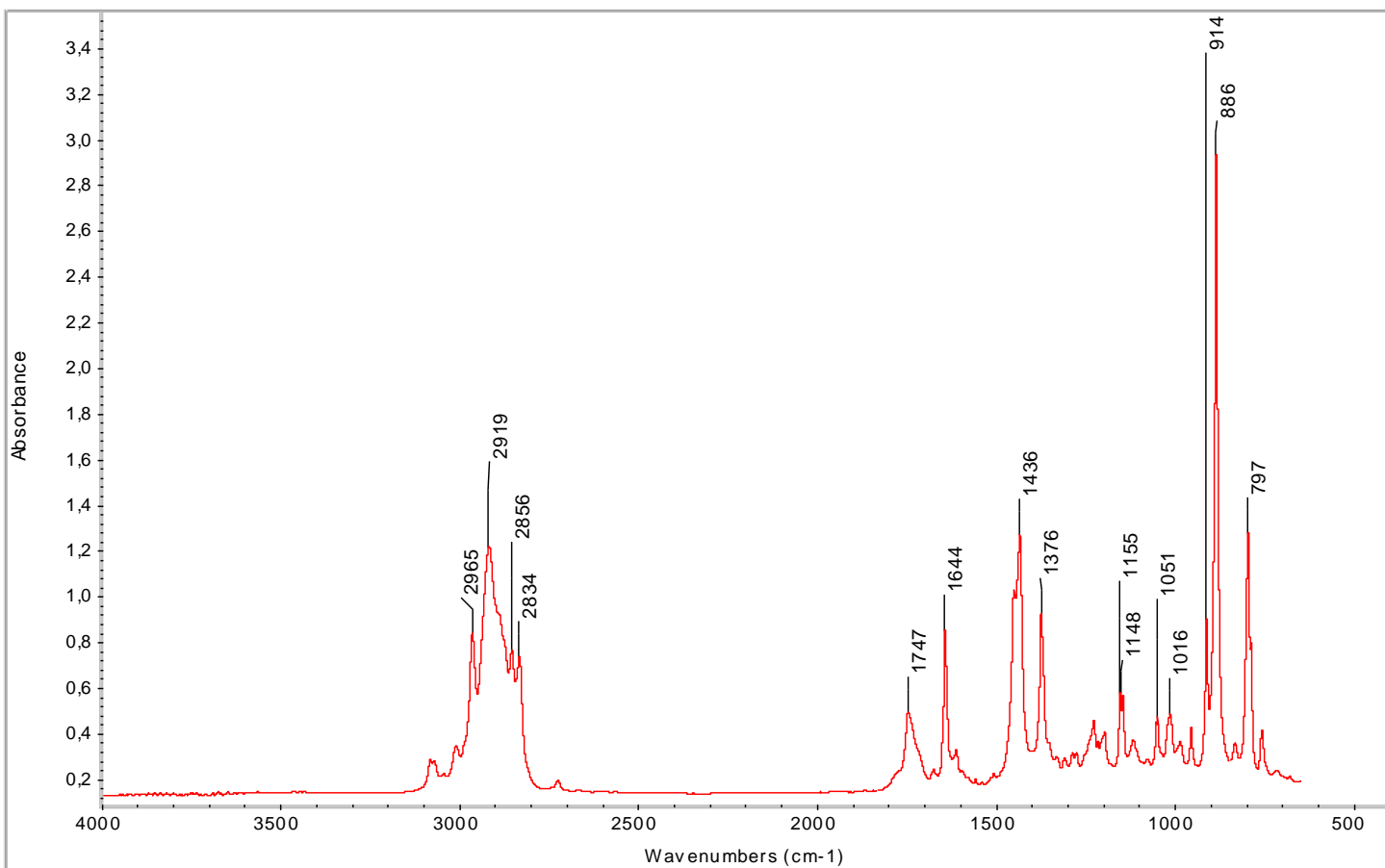
Κυματ αριθμός cm^{-1}	Απορρόφηση
788	0,559
814	0,545
864	0,572
887	0,736
929	0,413
953	0,453
1014	0,646
1080	0,451
1125	0,428
1180	0,381
1231	0,529
1365	0,688
1375	0,761
1447	0,854
1653	0,205
1725	0,250
2869	0,862
2923	1,265
2954	1,093



Σχήμα 24: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο λεμόνι

Πίνακας 27: Κορυφές FT-IR για το αιθέριο έλαιο λεμόνι

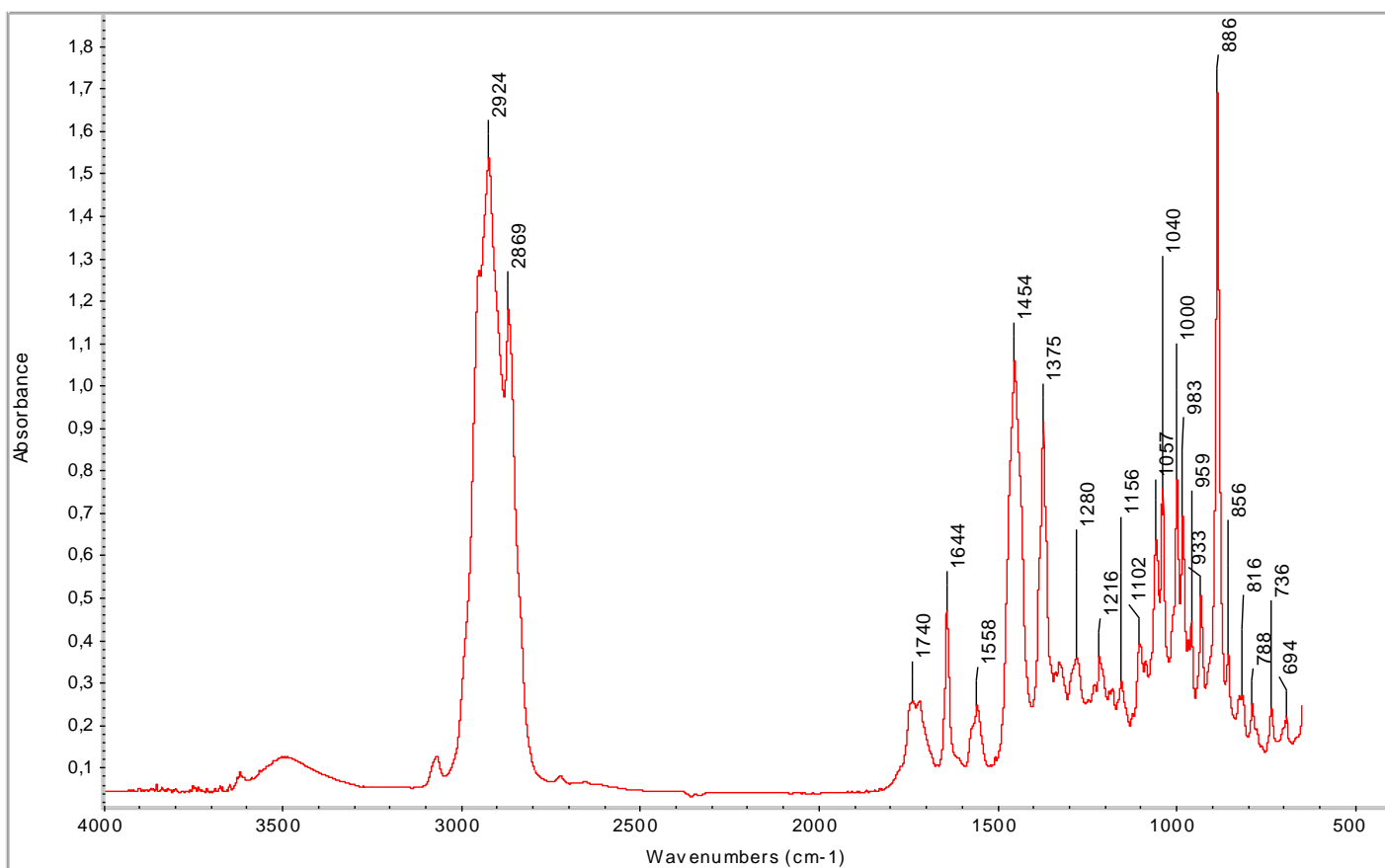
Κοματαριθμός cm ⁻¹	Απορρόφηση
797	0,929
886	2,138
914	0,643
956	0,316
1016	0,331
1051	0,299
1155	0,389
1376	0,685
1436	0,996
1644	0,630
1681	0,364
2835	0,556
2919	1,115
2964	0,789



Σχήμα 25: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο γκρέιπφρουτ

Πίνακας 28: Κορυφές FT-IR για το αιθέριο έλαιο γκρέιπφρουτ

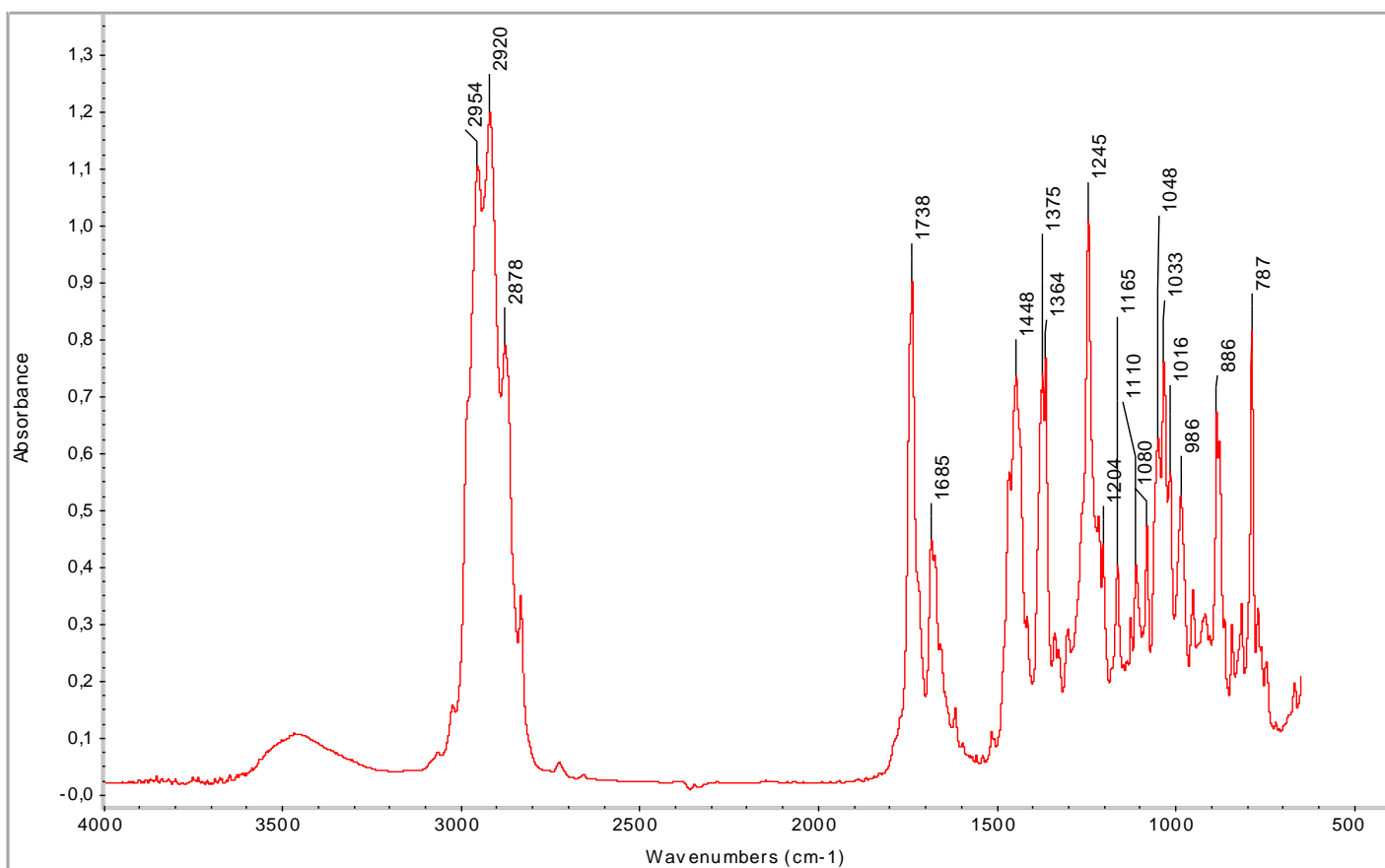
Κοματαριθμός cm ⁻¹	Απορρόφηση
797	1,294
886	2,949
914	0,895
1016	0,481
1051	0,466
1148	0,558
1155	0,573
1376	0,929
1436	1,270
1644	0,857
1747	0,487
2834	0,730
2856	0,763
2919	1,214
2965	0,834



Σχήμα 26: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο πατσουλί

Πίνακας 29: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο πατσουλί

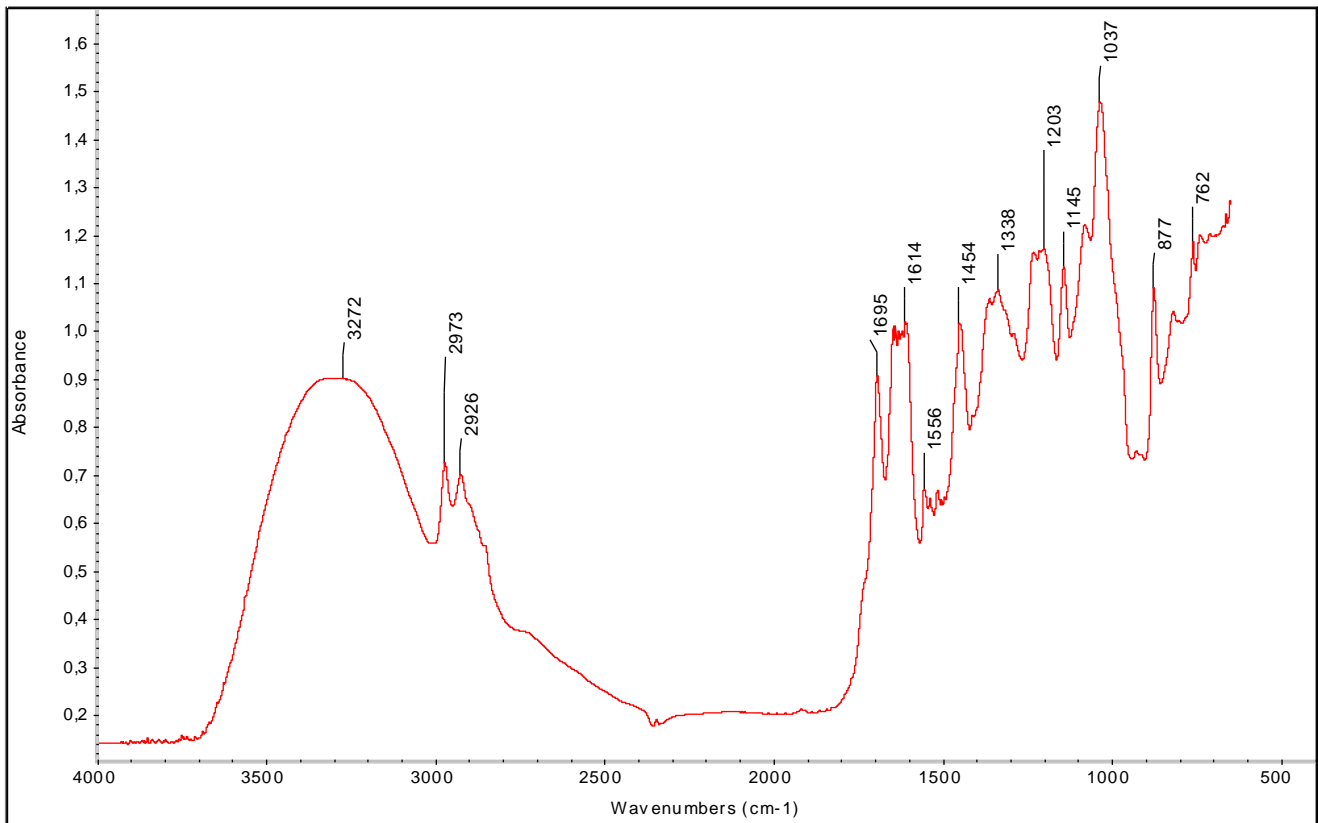
Κυματαριθμός cm ⁻¹	Απορρόφηση
694	0,217
736	0,237
788	0,245
816	0,267
856	0,366
886	1,692
933	0,502
959	0,441
983	0,692
1000	0,789
1040	0,754
1057	0,632
1102	0,388
1156	0,299
1216	0,358
1280	0,356
1375	0,911
1454	1,054
1558	0,243
1644	0,466
1740	0,251
2869	1,176
2924	1,533



Σχήμα 27: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο δενδρολίβανο

Πίνακας 30: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο δενδρολίβανο

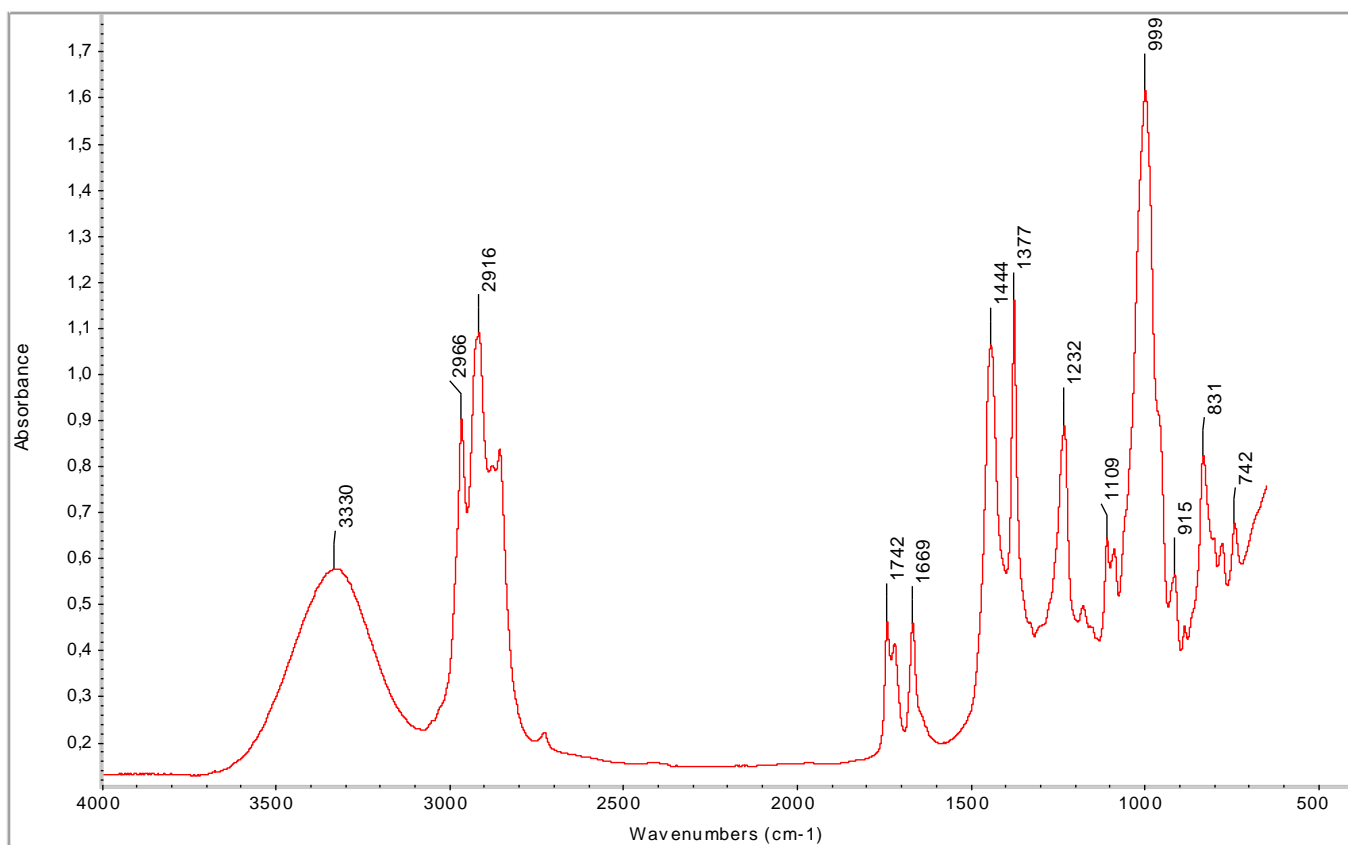
Κυματαριθμός cm^{-1}	Απορρόφηση
787	0,816
886	0,671
986	0,526
1016	0,564
1033	0,761
1048	0,624
1080	0,470
1110	0,401
1165	0,400
1204	0,440
1245	1,010
1364	0,770
1375	0,737
1448	0,733
1685	0,446
1738	0,901
2878	0,786
2920	1,196
2954	1,101



Σχήμα 28: Φάσμα FT-IR για το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού

Πίνακας 31: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού

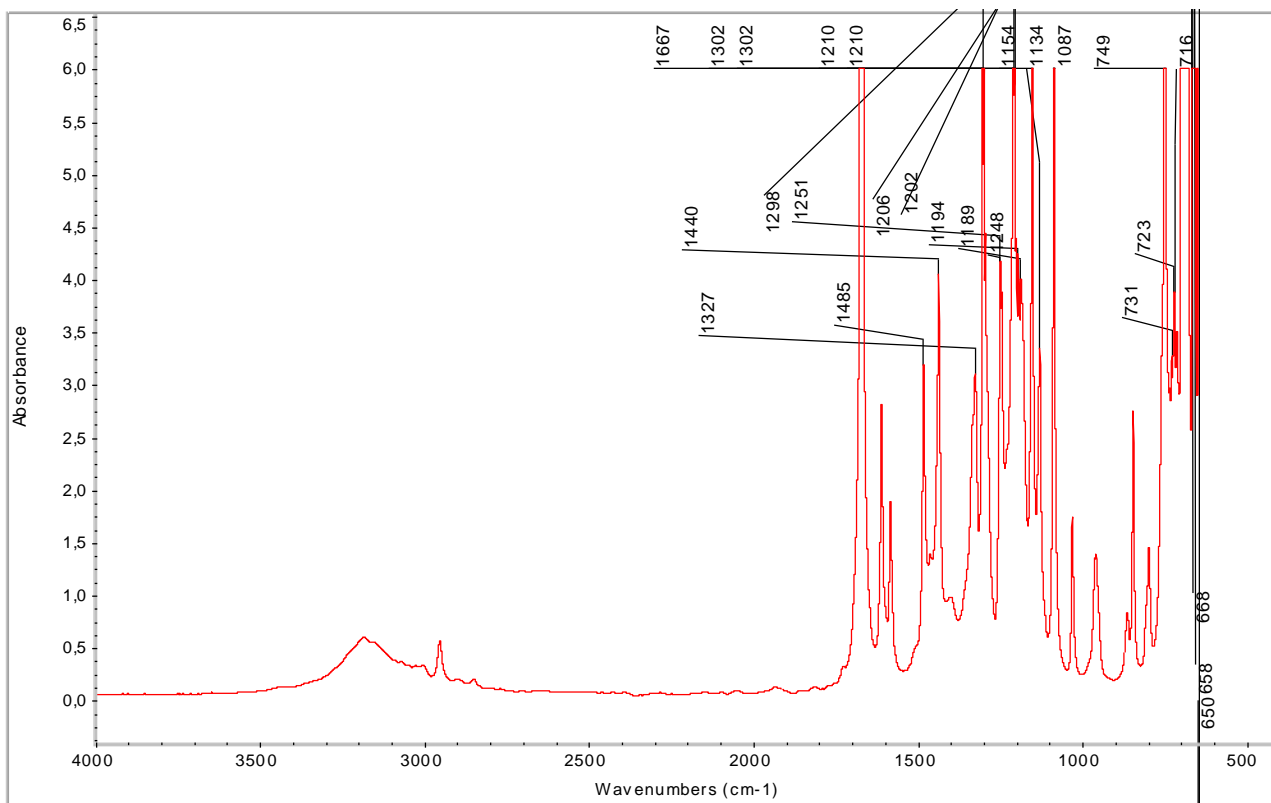
Κυματαριθμός cm^{-1}	Απορρόφηση
762	1,184
877	1,089
1037	1,478
1145	1,131
1203	1,170
1338	1,085
1454	1,015
1556	0,668
1614	1,015
1695	0,903
2926	0,698
2973	0,722
3272	0,899



Σχήμα 29: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο φλισκούνι

Πίνακας 32: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο φλισκούνι

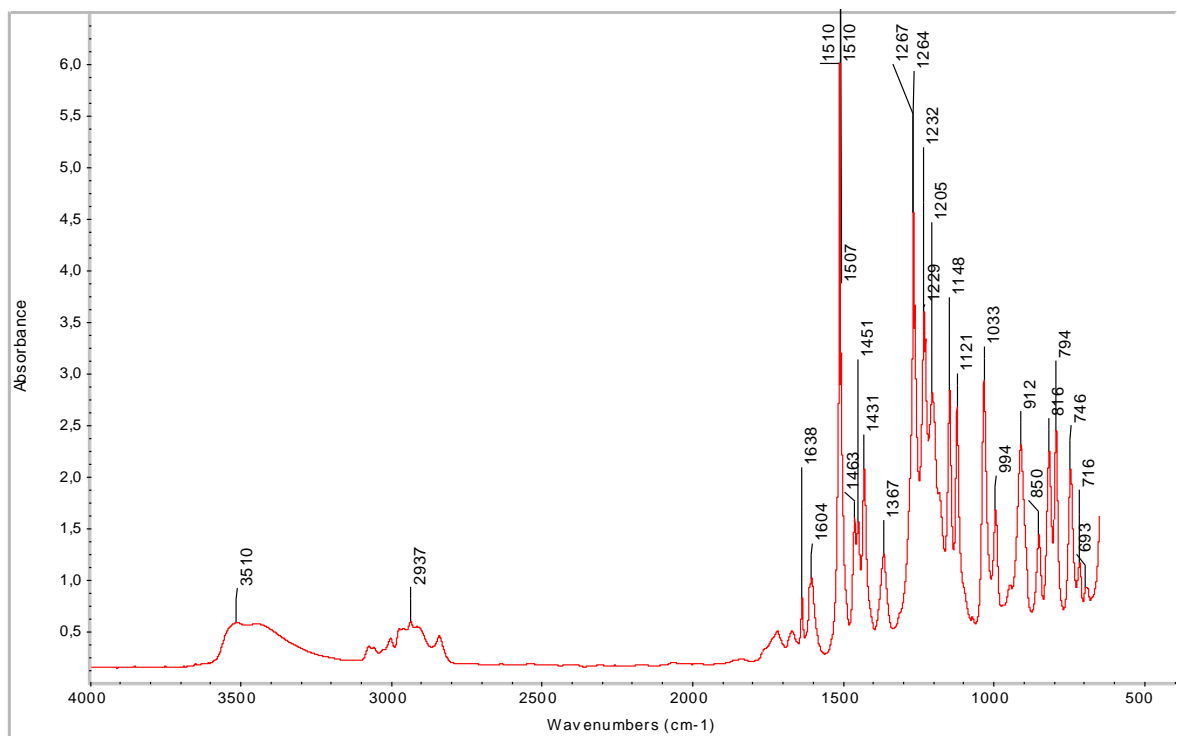
Κυματαριθμός cm ⁻¹	Απορρόφηση
742	0,672
831	0,821
915	0,560
999	1,614
1109	0,639
1232	0,885
1377	1,160
1444	1,060
1669	0,455
1742	0,458
2916	1,086
2966	0,900
3330	0,573



Σχήμα 30: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο γαλθερία

Πίνακας 33: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο γαλθερία

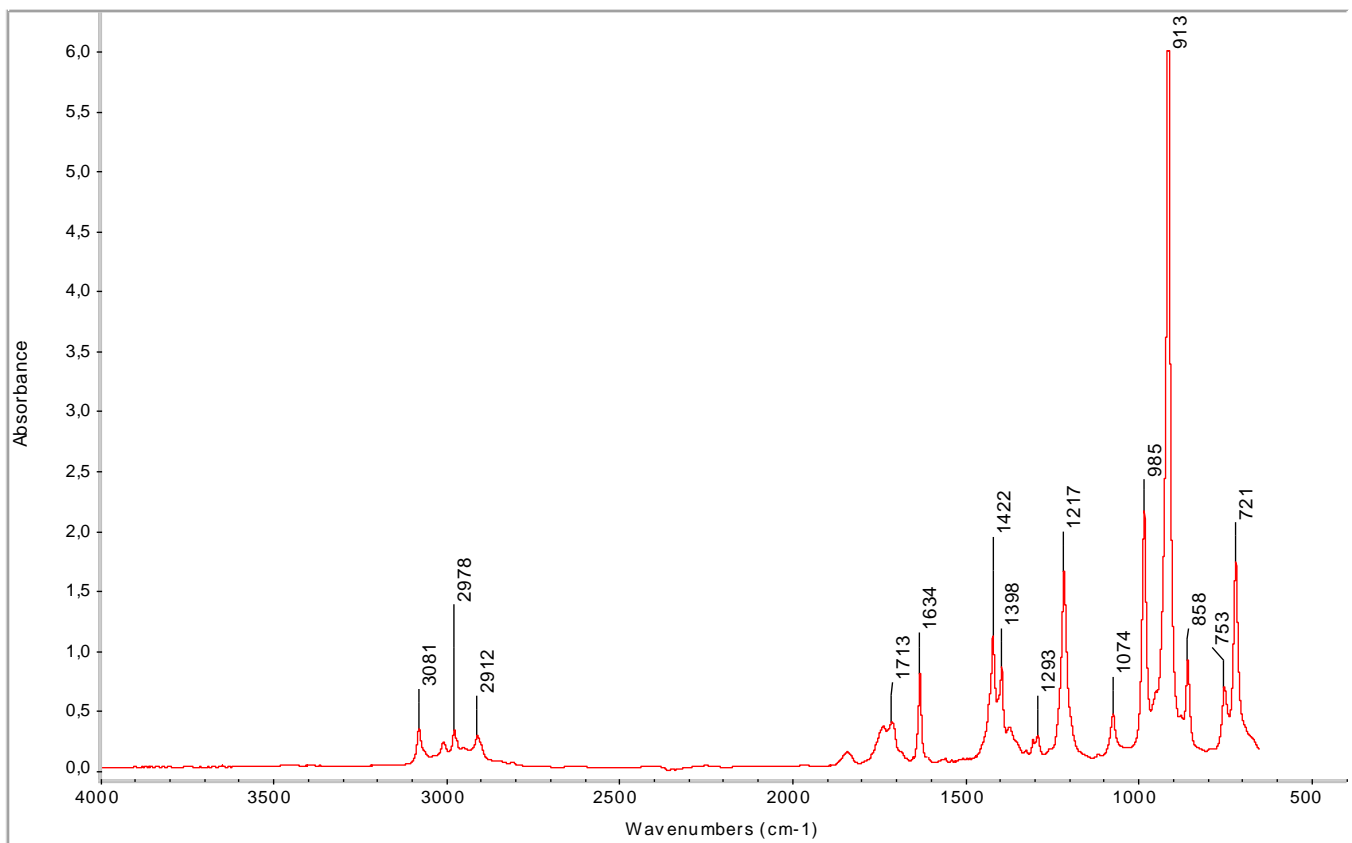
Κυματριθμός cm ⁻¹	Απορρόφηση
650	6,000
658	6,016
668	6,412
716	3,500
723	3,885
731	3,214
749	6,238
1087	6,429
1134	3,348
1154	6,366
1189	4,028
1194	3,953
1202	4,244
1206	4,409
1210	6,138
1210	6,138
1248	3,909
1251	4,172
1298	4,447
1302	6,051
1302	6,051
1327	3,106
1440	4,064
1485	3,183
1667	6,384



Σχήμα 31: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο κανέλα

Πίνακας 34: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο κανέλα

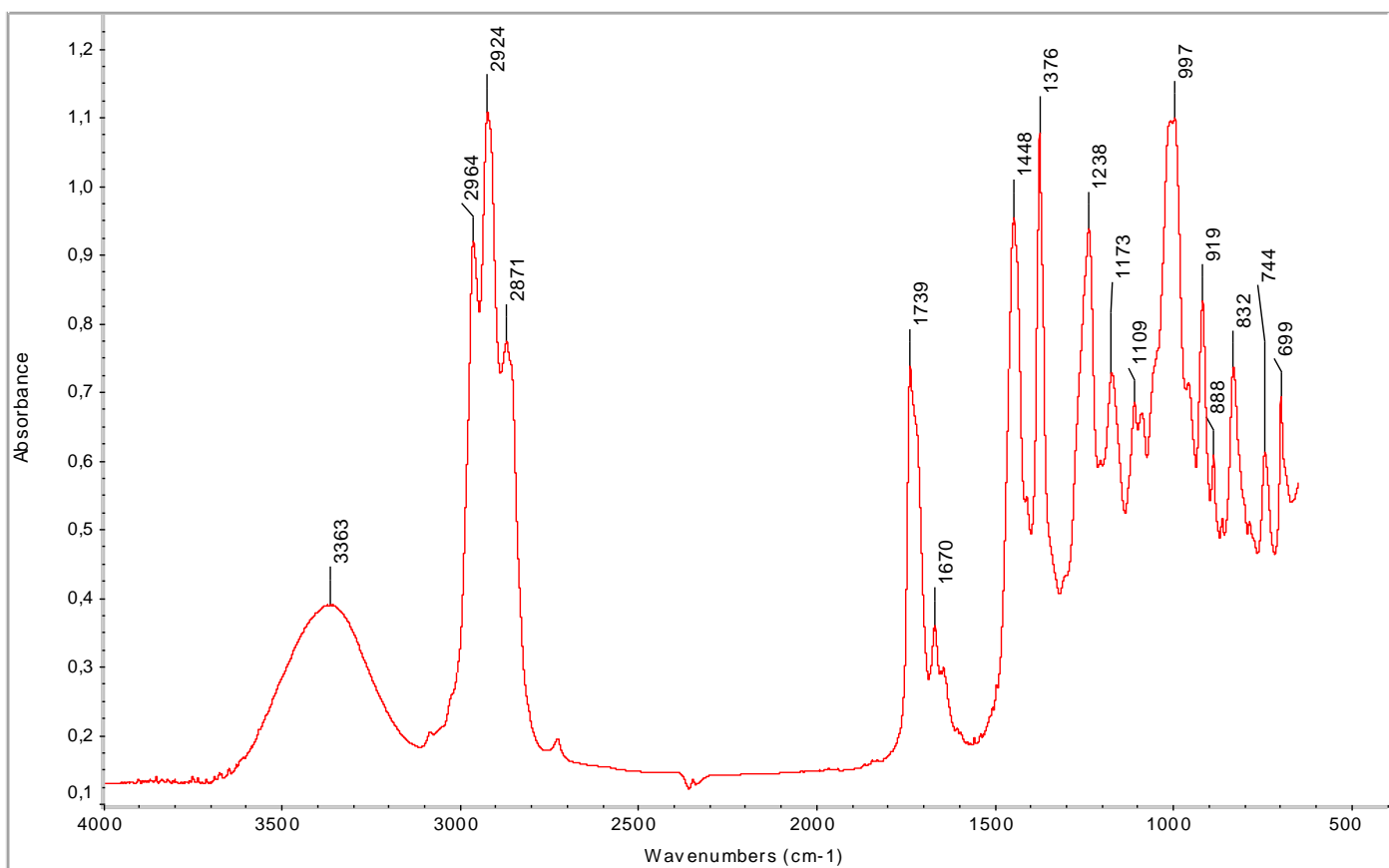
Κυματ αριθμός cm ⁻¹	Απορρόφηση
693	0,908
716	1,155
746	2,070
794	2,463
816	2,241
850	1,426
912	2,299
994	1,675
1033	2,950
1121	2,697
1148	2,842
1205	2,803
1229	3,345
1232	3,590
1264	3,670
1267	4,552
1367	1,244
1431	2,062
1451	1,562
1463	1,601
1507	3,235
1510	6,002
1510	6,002
1604	1,007
1638	0,808
2937	0,578
3510	0,567



Σχήμα 32: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο σκόρδο

Πίνακας 35: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το αιθέριο έλαιο σκόρδο

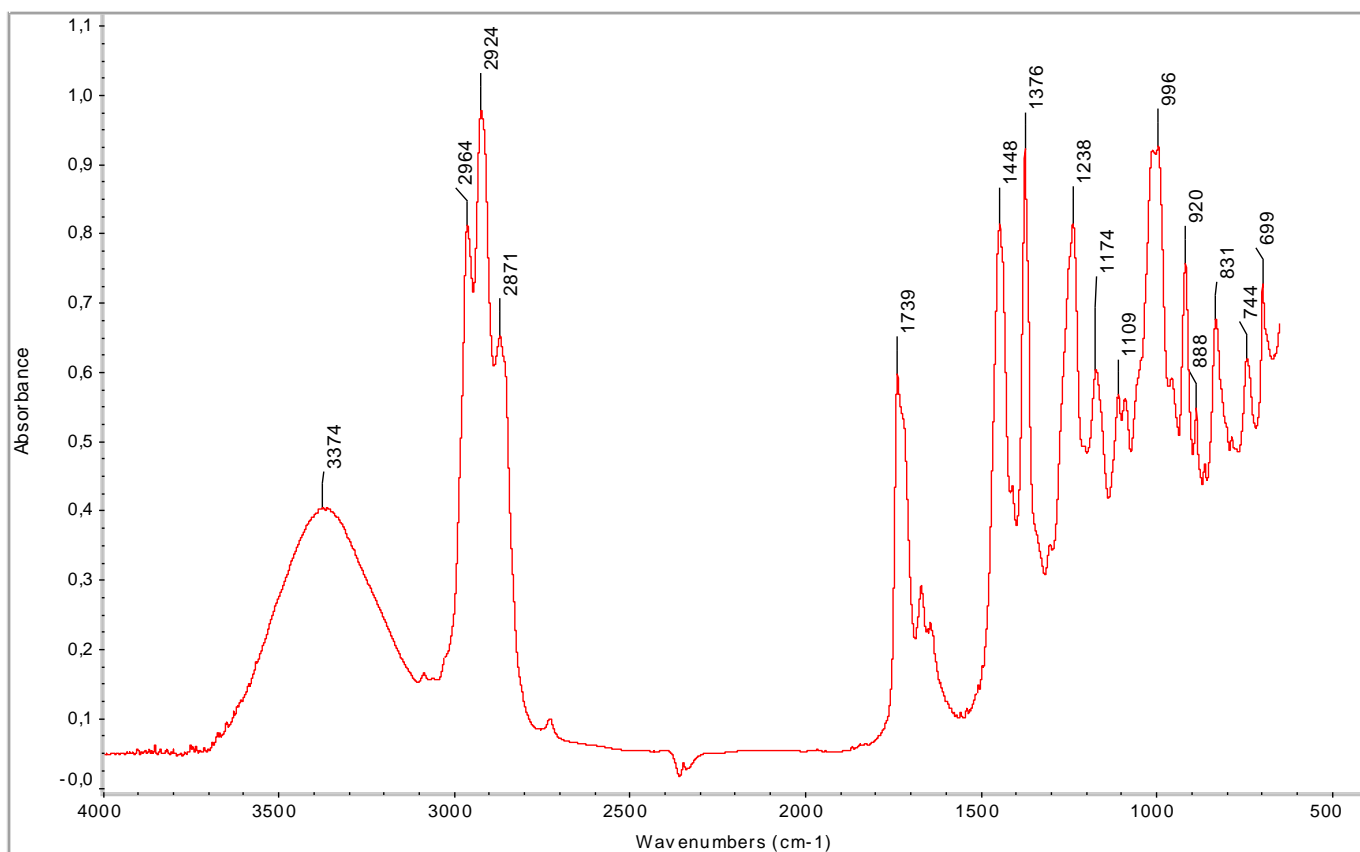
Κοματαριθμός cm ⁻¹	Απορρόφηση
721	1,736
753	0,689
858	0,907
913	6,327
985	2,171
1074	0,454
1217	1,653
1293	0,278
1398	0,851
1422	1,122
1634	0,810
1713	0,397
2912	0,276
2978	0,330
3081	0,337



Σχήμα 33: Φάσμα FT-IR για το μίγμα EOM1

Πίνακας 36: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το μίγμα EOM1

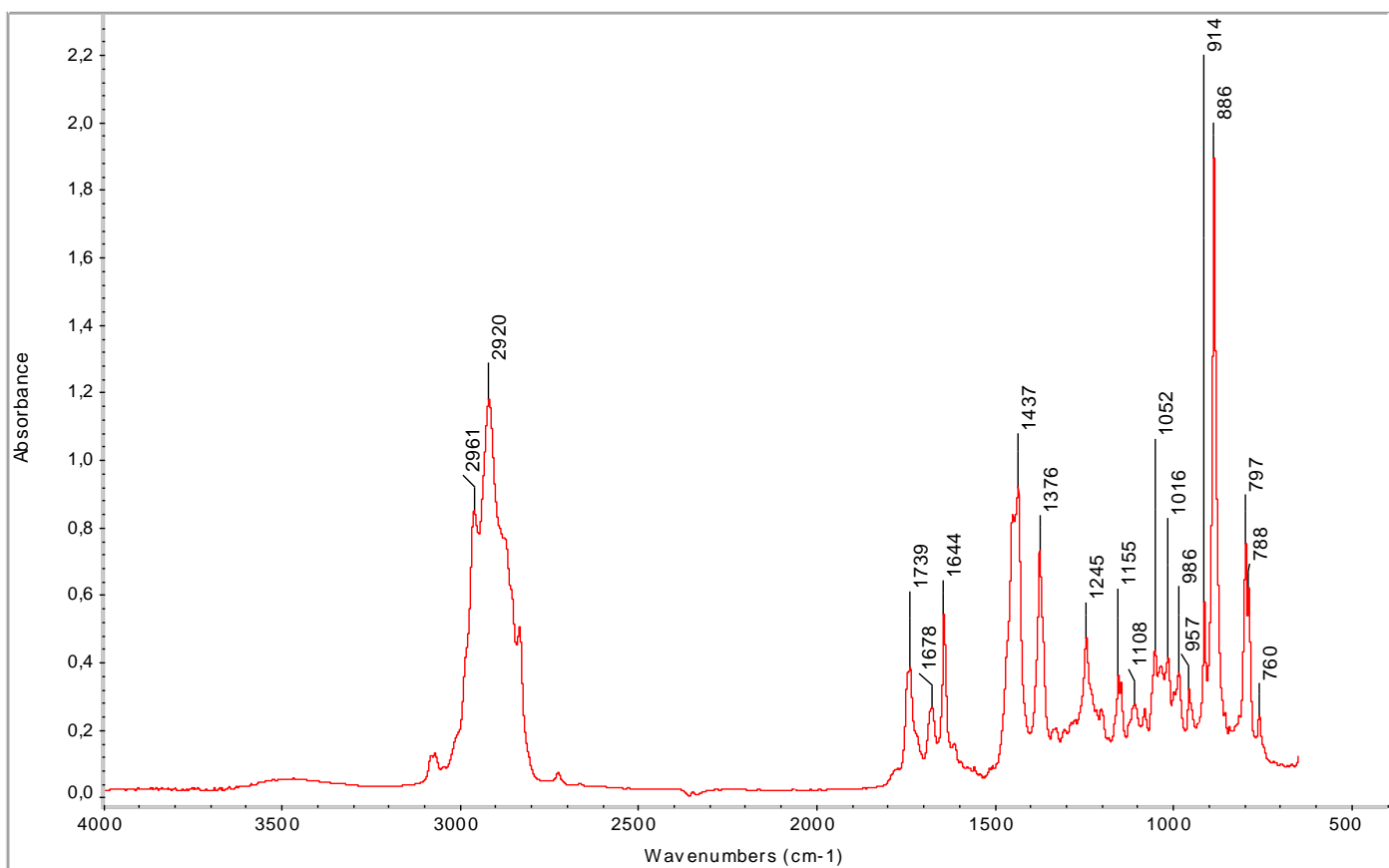
Κοματαριθμός cm^{-1}	Απορρόφηση
699	0,692
744	0,609
832	0,733
888	0,607
919	0,831
997	1,097
1109	0,683
1173	0,726
1238	0,936
1376	1,082
1448	0,952
1670	0,357
1739	0,737
2871	0,771
2924	1,105
2964	0,919
3363	0,387



Σχήμα 34: Φάσμα FT-IR για το μίγμα EOM1+GTE

Πίνακας 37: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το μίγμα EOM1+GTE

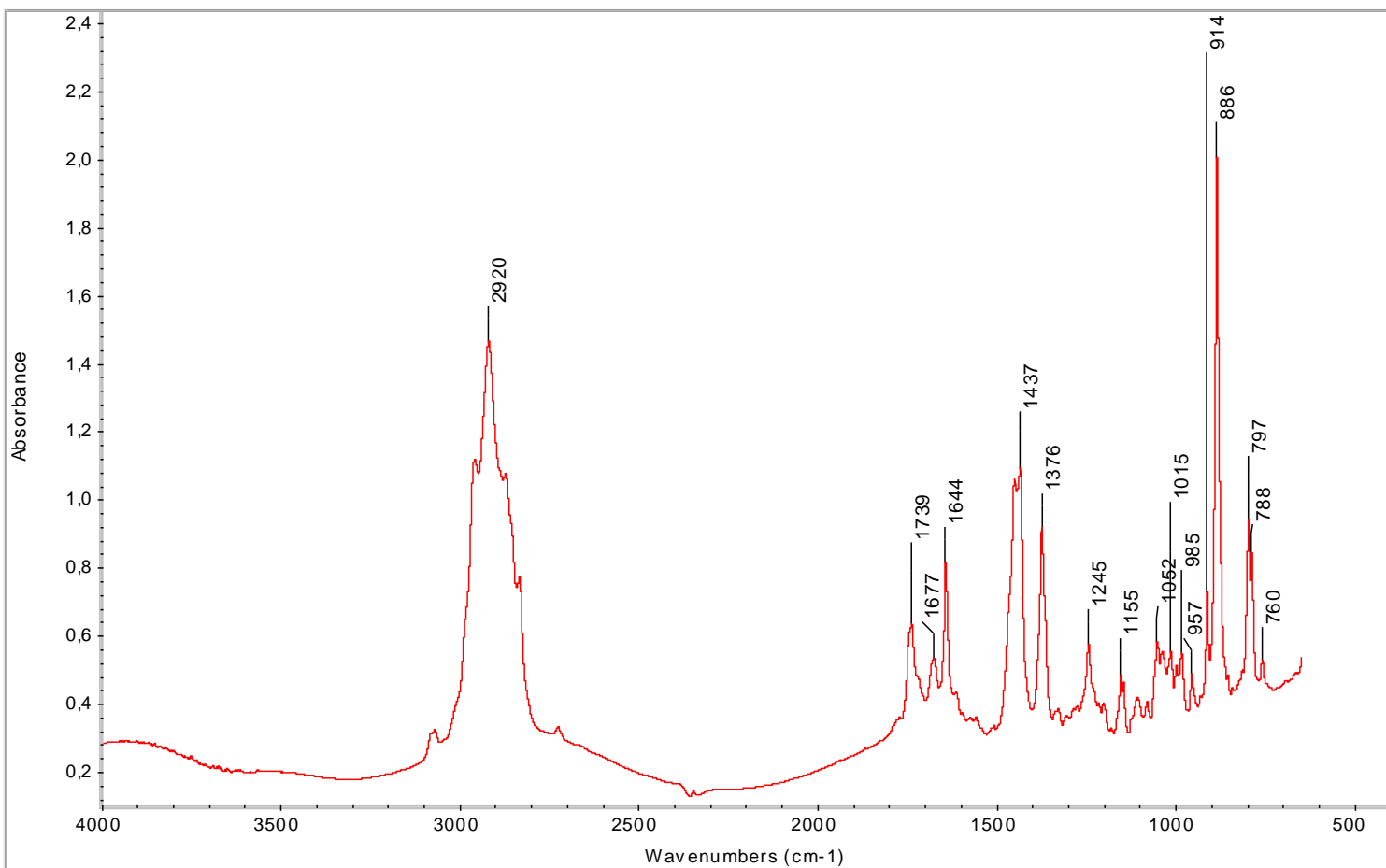
Κοματαριθμός cm^{-1}	Απορρόφηση
699	0,726
744	0,618
831	0,674
888	0,547
920	0,756
996	0,924
1109	0,566
1174	0,602
1238	0,813
1376	0,925
1448	0,812
1739	0,597
2871	0,650
2924	0,977
2964	0,811
3374	0,401



Σχήμα 35: Φάσμα FT-IR για το μίγμα EOM2

Πίνακας 38: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το μίγμα EOM2

Κοματαριθμός cm^{-1}	Απορρόφηση
760	0,238
788	0,616
797	0,757
886	1,916
914	0,574
957	0,315
986	0,363
1016	0,410
1052	0,433
1108	0,270
1155	0,357
1245	0,471
1376	0,734
1437	0,917
1644	0,542
1678	0,260
1739	0,382
2920	1,177
2961	0,845



Σχήμα 36: Φάσμα FT-IR για το μίγμα EOM2+GTE

Πίνακας 39: Κορυφές απορρόφησης FT-IR για το μίγμα EOM2+GTE

Κυματαριθμός cm ⁻¹	Απορρόφηση
760	0,523
788	0,841
797	0,946
886	2,031
914	0,723
957	0,484
985	0,545
1015	0,551
1052	0,580
1155	0,481
1245	0,572
1376	0,916
1437	1,090
1644	0,816
1677	0,529
1739	0,632
2920	1,463

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Εκχύλισμα Λεβάντας

Τα υδατικά εκχύλισμα αποτελούν πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται συχνά σε χειροποίητα καλλυντικά σκευάσματα. Ως μέσο εκχύλισης προτείνεται το νερό που είναι εύκολα προσβάσιμο, φτηνό και ακίνδυνο, ενώ η προετοιμασία ενός υδατικού εκχυλίσματος δεν απαιτεί εξειδικευμένη γνώση και εξοπλισμό.

Συνήθως σε εγχειρίδια βοτανοθεραπείας, αναφέρονται τρία είδη παρασκευασμάτων: το *αφέψημα*, στο οποίο το φυτικό υλικό έρχεται σε θερμοκρασία βρασμού μαζί με το νερό και παραμένει σε βρασμό για 5 – 20 min (ριζώματα, σπόροι, φλοιοί κλπ.), το *έγχυμα*, στο οποίο το φυτικό υλικό προστίθεται σε νερό σε θερμοκρασία βρασμού που έχει αποσυρθεί από την πηγή θερμότητας και παραμένει σε αυτό για 5 – 20 min (άνθη, φύλλα κλπ.) και τέλος το *διάβρεγμα*, στο οποίο το φυτικό υλικό προστίθεται σε νερό σε θερμοκρασία δωματίου και παραμένει σε αυτό για κάποιες ώρες. [43][44]

Τα άνθη της λεβάντας αποτελούν μια πρώτη ύλη που είναι εύκολα προσβάσιμη ενώ οι ιδιότητες που αποδίδονται στα προϊόντα της λεβάντας (εκχύλισμα, ανθόνερο, αιθέριο έλαιο) είναι τέτοιες που να την καθιστούν ως ένα από τα πιο συνήθη συστατικά χειροποίητων καλλυντικών. Τα άνθη αποτελούν ευαίσθητα μέρη, οπότε χρησιμοποιήθηκαν δύο τρόποι εκχύλισης, σε αντιστοιχία με αυτούς που περιγράφονται παραπάνω, η εν θερμώ εκχύλιση χωρίς συνεχή ανάδευση (αφέψημα) και η εν ψυχρώ εκχύλιση με συνεχή ανάδευση (διάβρεγμα).

4.1.1 Μελέτη εκχύλισης

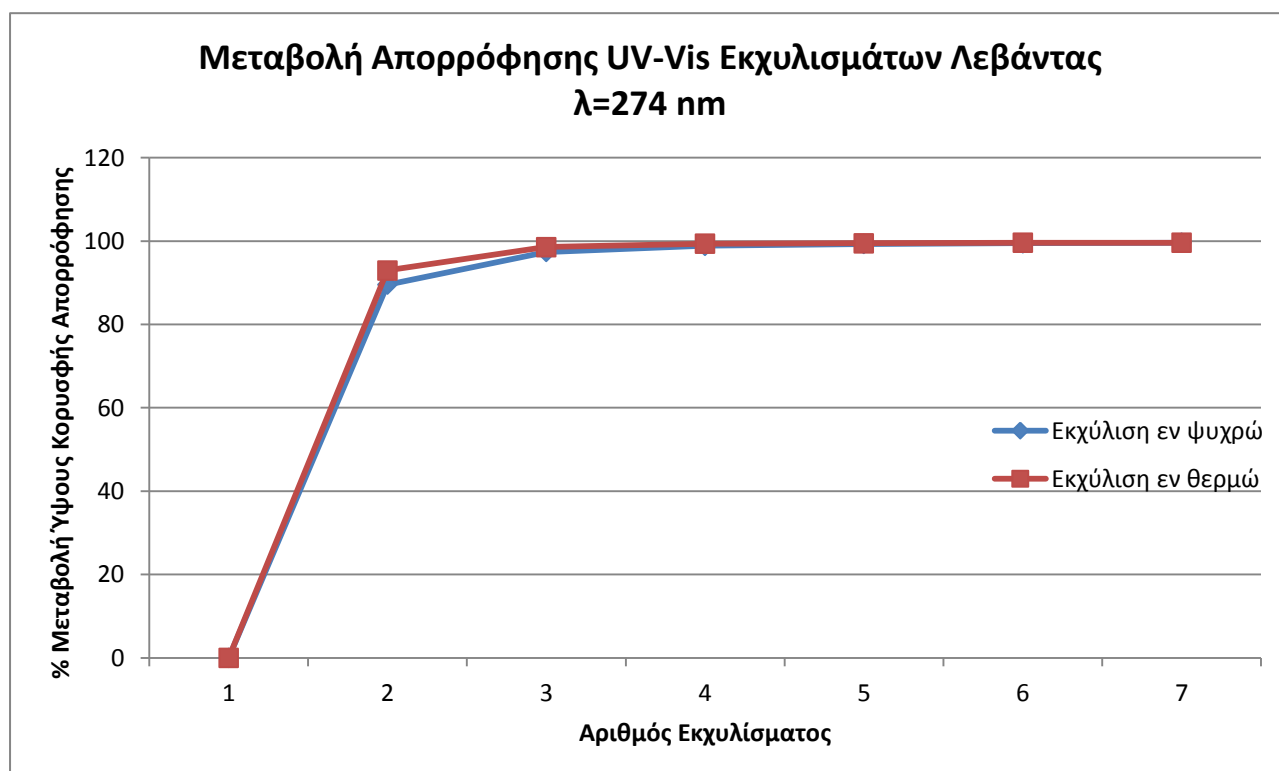
Ο πρώτος τρόπος μελέτης των τρόπων εκχύλισης είναι μέσω των φασμάτων απορρόφησης UV-Vis για κάθε εκχύλισμα. Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 6 στην παράγραφο 3.1 τα φάσματα παρουσιάζουν κορυφές απορρόφησης για $\lambda_{\max}=274$ nm και $\lambda_{\max}=210$ nm. Οι κορυφές αυτές ταιριάζουν με αυτές που εμφανίζουν η λιναλοόλη και η καμφορά, συστατικά που αναμένονται να βρεθούν στο εκχύλισμα της λεβάντας, ενώ το p-κουμαρικό οξύ που επίσης περιέχεται παρουσιάζει απορρόφηση για 286 nm και 209 nm.

Μελετώντας τον τρόπο μεταβολής τους ύψους των κορυφών για κάθε διαδοχικό εκχύλισμα, και ειδικότερα για την κορυφή με $\lambda_{\max}=274$ nm που είναι εμφανής σε όλα τα εκχυλίσματα, είναι εμφανές πώς το ύψος μειώνεται δραματικά από το 3 εκχύλισμα

και μετά, ενώ στο 7 εκχύλισμα η μεταβολή του ύψους αγγίζει το 100% και για τους δύο τρόπους, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 40 και το Σχήμα 37.

Πίνακας 40: Μεταβολή ύψους κορυφής απορρόφησης για τα εκχυλίσματα λεβάντας

Αριθμός Εκχυλίσματος	% Μεταβολή Ύψους Κορυφής Εκχύλιση Α	% Μεταβολή Ύψους Κορυφής Εκχύλιση Β
1	0,000	0,000
2	89,55	92,98
3	97,37	98,57
4	98,87	99,38
5	99,32	99,51
6	99,50	99,62
7	99,61	99,60



Σχήμα 37: Διάγραμμα μεταβολής κορυφής απορρόφησης UV-Vis για τα εκχυλίσματα λεβάντας

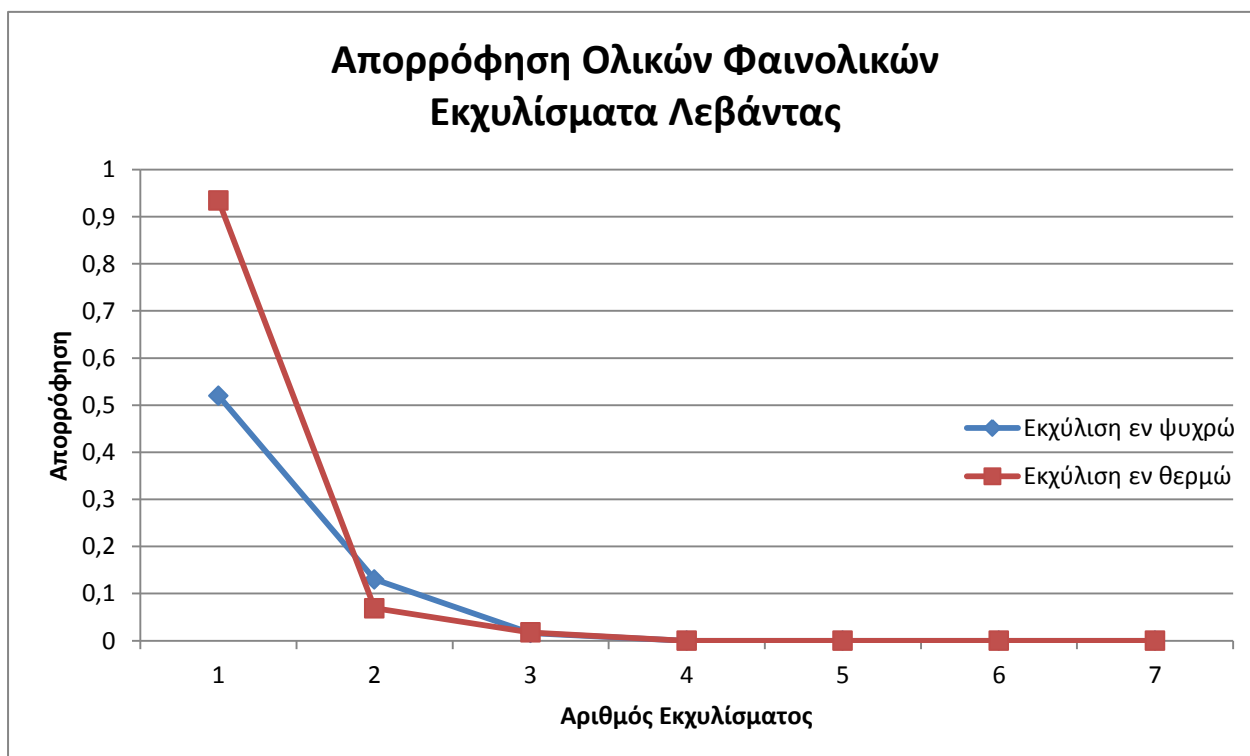
Συγκρίνοντας τους δύο τρόπους εκχύλισης, μπορεί κανείς να παρατηρήσει πως δεν υπάρχουν ιδιαίτερες διαφορές, πέρα από το γεγονός πως η εν θερμώ εκχύλιση δίνει ελαφρώς πιο ασθενή διαδοχικά εκχυλίσματα πέρα από το πρώτο. Η συνεχή

ανάδευση στην εν ψυχρώ εκχύλιση θεωρείται απαραίτητη και σε αυτό το σημείο πρέπει να δώσει προσοχή ο ανειδίκευτος παρασκευαστής.

Μελέτη της εκχύλισης μπορεί να γίνει και με βάση τα ολικά φαινολικά συστατικά που περνούν στα εκχυλίσματα, χρησιμοποιώντας της μέθοδο Folin-Ciocalteu. Έτσι, τα αποτελέσματα της απορρόφησης στα 725 nm δίνονται στον Πίνακα 41 και το Σχήμα 42.

Πίνακας 41: Απορρόφηση ολικών φαινολικών για τα εκχυλίσματα λεβάντας

Αριθμός Εκχυλίσματος	Απορρόφηση Εκχύλιση Α	Απορρόφηση Εκχύλιση Β
1	0,51 ± 0,03	0,93 ± 0,02
2	0,13 ± 0,02	0,069 ± 0,003
3	0,016 ± 0,001	0,018 ± 0,003
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0



Σχήμα 38: Διάγραμμα απορρόφησης ολικών φαινολικών για τα εκχυλίσματα λεβάντας

Και με αυτή τη μέθοδο, μπορεί κανείς να παρατηρήσει πως και για τους δύο τρόπους εκχύλισης, μετά το τρίτο διαδοχικό εκχύλισμα ο αριθμός των ολικών φαινολικών έχει ουσιαστικά μηδενιστεί. Με την εν θερμώ εκχύλιση η ποσότητα των φαινολικών στο πρώτο εκχύλισμα είναι πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με την εν ψυχρώ εκχύλιση, ενώ όπως και από τα φάσματα UV-Vis, τα επόμενα εν θερμώ εκχυλίσματα είναι πιο ασθενή σε σχέση με τα εν ψυχρώ. Προκύπτει λοιπόν πως η εν θερμώ εκχύλιση που εφαρμόζεται συνήθως και από τους ανειδίκευτους παρασκευαστές αποτελεί έναν πετυχημένο τρόπο εκχύλισης.

4.2 Ολικά Φαινολικά Συστατικά

4.2.1 Υδατοδιαλυτά δοκίμια

Από τα αποτελέσματα της παραγράφου 3.5.1 γίνεται φανερό πως το εκχύλισμα λεβάντας είναι πλούσιο σε φαινολικά συστατικά. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται ως σημαντικότερα φαινολικά συστατικά στη λεβάντα τα φλαβονοειδή δελφινιδίνη, μαλβινίδη (που είναι υπεύθυνα για το χρώμα στα άνθη της λεβάντας) με γλυκοζίτες του p-κουμαρικού οξέος, ενώ συχνά ανιχνεύεται η παρουσία ροσμαρινικού και χλωρογενικού οξέος [45]. Υπολογίζοντας πως 1 g ανθών λεβάντας παράγουν εκχύλισμα 100 mL και από τα αποτελέσματα του Πίνακα 15, προκύπτει πως 1 g από άνθη λεβάντας αντιστοιχεί σε 88 mg γαλλικού οξέος, ποσό υψηλό σε σύγκριση με άλλα βοτανικά εκχυλίσματα [32][46]. Η αντιοξειδωτική δράση σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος δεν πρέπει να συσχετιστεί μόνο με φαινολικά συστατικά αλλά και με άλλους αναγωγικούς παράγοντες όπως η λιναλοόλη.

Τα ανθόνερα από τριαντάφυλλο, λεμόνι και κενταύρια εμφανίζουν ελάχιστη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά, που αγγίζει τα όρια του πειραματικού σφάλματος. Συνήθως τα υδrolύματα μεταφέρουν τα υδατοδιαλυτά συστατικά της απόσταξης και κάποια από τα συστατικά που υπάρχουν και στο αιθέριο έλαιο. Τα αιθέρια έλαια για τα συγκεκριμένα φυτά έχουν πολύ μικρή περιεκτικότητα σε φαινολικά τερπενοειδή, οπότε δεν αναμένεται και παρουσία φαινολικών στα ανθόνερά τους. Ακόμα, καθότι άχρωμα, δεν μεταφέρουν χρωμοφόρα φλαβονοειδή.

Το εκχύλισμα από τους σπόρους γκρέιπφρουτ αναφέρεται να περιέχει μεγάλο αριθμό από φαινολικά συστατικά όπως κατεχίνες, επικατεχίνη, προκυανιδίνες, ναρινγενίνη, ασκορβικό οξύ και τοκοφερόλες [47]. Από το πείραμα προκύπτει η παρουσία φαινολικών συστατικών, ενώ αν υπολογιστεί πως το εμπορικό προϊόν

περιέχει 25% εκχύλισμα, η αντιστοιχία σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος υπολογίζεται σε 1,456 mg ανά mL εκχυλίσματος.

Το εκχύλισμα αλόης δεν εμφανίζει περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά. Το συντηρητικό GEOGARD, παρότι περιέχει βενζοϊκό νάτριο σε περιεκτικότητα 24,75% w/w, δεν εμφανίζει απορρόφηση φαινολικών σε διάλυση 20 mg/mL, δηλαδή στο 1% w/w, περιεκτικότητα που προτείνεται για καλλυντικά σκευάσματα.

Τα μίγματα FW1 και FW2 εμφανίζουν περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά που οφείλεται κυρίως στο εκχύλισμα λεβάντας και λιγότερο στο εκχύλισμα σπόρων γκρέιπφρουτ. Για τη μελέτη παρουσίας φαινομένων συνέργιας ή παρεμπόδισης, συγκρίνονται η πραγματική αντιστοιχία σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος, σε σχέση με τη θεωρητική που προκύπτει από τις τιμές των επιμέρους συστατικών και την περιεκτικότητά τους στα μίγματα. Για τη θεωρητική τιμή υπολογίστηκαν ξεχωριστές τιμές απορρόφησης για τα εκχυλίσματα λεβάντας, καθώς χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικά παρασκευάσματα σε κάθε περίπτωση. Τα αποτελέσματα αποτυπώνονται στον Πίνακα 42.

Η διαφορά πειραματικής και θεωρητικής τιμής δεν είναι σημαντικά διαφορετική από αυτή της θεωρητικής τιμής, όπως προκύπτει από τις τιμές της rms απόκλισης, ενώ η διαφορά ανάμεσα στα δύο μίγματα οφείλεται καθαρά στη μικρή διαφορά ισοδύναμων GA που παρατηρήθηκε στα ξεχωριστά εκχυλίσματα λεβάντας. Καταλήγει κανείς πως δεν παρατηρούνται φαινόμενα συνέργιας ή παρεμπόδισης ως προς τη συγκέντρωση σε ολικά φαινολικά και ισχυρούς αναγωγικούς παράγοντες.

Πίνακας 42: Πειραματικές και θεωρητικές τιμές ισοδύναμων GA για τα μίγματα FW1, FW2

Μίγμα	Ισοδύναμα GA $\mu\text{g/mL}$ Πειραματική Τιμή	Ισοδύναμα GA $\mu\text{g/mL}$ Θεωρητική Τιμή	RMS Απόκλιση $\mu\text{g/mL}$
FW1	417 \pm 10	420 \pm 20	2
FW2	486 \pm 10	470 \pm 20	11

4.2.2 Λιποδιαλυτά Δοκίμια

Η αντιοξειδωτική δράση των αιθέριων ελαίων δε μελετάται συνήθως με τη μέθοδο των Folin-Ciocalteu και αυτό γιατί δεν είναι κανείς σίγουρος για τα συστατικά τα οποία συμμετέχουν στην αντίδραση [19]. Από τη μία πλευρά, η μέθοδος είναι ευαίσθητη όχι μόνο σε φαινολικά συστατικά αλλά και σε άλλους αναγωγικούς παράγοντες. Από την άλλη πλευρά, τα φαινολικά συστατικά στα αιθέρια

έλαια δεν είναι φλαβονοειδή και πολυφαινόλες όπως σε φυτικά εκχυλίσματα, αλλά φαινολικά τερπενοειδή τα οποία καταλαμβάνουν συνήθως μικρό μέρος της σύστασης του ελαίου. Είναι λοιπόν δύσκολο να αποδοθούν οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες που ανιχνεύονται με τη μέθοδο αυτή για συγκεκριμένα συστατικά στα αιθέρια έλαια.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν στην παράγραφο 3.5.2 δείχνουν πως τα αιθέρια έλαια εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση αντίστοιχη με αυτή του γαλλικού οξέος και μάλιστα σε σημαντικό βαθμό. Από αυτά που δοκιμάστηκαν, το αιθέριο έλαιο από τους σπόρους του καρότου εμφανίζει τη μεγαλύτερη δράση. Τα κύρια συστατικά του είναι η καροτόλη και η δαυκόλη και οι δύο αλκοόλες που μπορούν να δράσουν ως αναγωγικοί παράγοντες. Τα περισσότερα αιθέρια αντιστοιχούν σε ισοδύναμα της τάξης των 100 mg GA ανά mL αιθέριου.

Ιδιαίτερη περίπτωση αποτελεί το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού. Αποτελεί ιδιαίτερα συμπυκνωμένη μορφή εκχυλίσματος, τέτοια ώστε χρειάζεται πολύ μεγάλη αραιώση για να γίνουν μετρήσεις. Με αναγωγή προκύπτει πως 1 mg εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού ισοδυναμεί με 186 mg GA. Για το λόγο αυτό και χρησιμοποιείται ως συστατικό σε ποτά συνήθως σε αναλογίες της τάξης του 0,01%. Οι μετρήσεις σε κάθε περίπτωση συνοδεύονται από αβεβαιότητα στον προσδιορισμό της ακριβής ποσότητας εκχυλίσματος, καθώς το μεγάλο του ιξώδες καθιστά δύσκολο την ακριβή ογκομέτρηση.

Για τα μίγματα EOM1, EOM2, EOM1+GTE και EOM2+GTE έγινε πάλι σύγκριση πειραματικών και θεωρητικών τιμών για να διαπιστωθεί αν εμφανίζονται φαινόμενα συνέργιας ή παρεμπόδισης. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον Πίνακα 43. Οι πειραματικές και οι θεωρητικές τιμές δεν διαφέρουν σημαντικά, όπως φαίνεται και από τις τιμές της rms απόκλισης, έτσι δεν είναι εύκολο να αποδώσει κανείς τις διαφορές στις τιμές σε συνέργια ή παρεμπόδιση.

Πίνακας 43: Πειραματικές και θεωρητικές τιμές ισοδύναμων GA για τα λιποδιαλυτά μίγματα

Μίγμα	Ισοδύναμα GA $\mu\text{g/mL}$ Πειραματική Τιμή	Ισοδύναμα GA $\mu\text{g/mL}$ Θεωρητική Τιμή	RMS Απόκλιση $\mu\text{g/mL}$
EOM1	384 ± 4	333 ± 2	36
EOM1+GTE	808 ± 5	771 ± 2	26
EOM2	384 ± 2	360 ± 2	17
EOM2+GTE	675 ± 4	713 ± 2	27

4.3 Αντιοξειδωτική Δράση

4.3.1 Υδατοδιαλυτά Δοκίμια

Στις παραγράφους 3.6.1 και 3.7.1 παρουσιάστηκαν τα αποτελέσματα για την αντιοξειδωτική δράση των υδατοδιαλυτών συστατικών και μιγμάτων τους με τις μεθόδους DPPH και ABTS. Το εκχύλισμα λεβάντας παρουσιάζει τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση (201 $\mu\text{mol Trolox}$ ανά gr ανθών λεβάντας για DPPH, 242 $\mu\text{mol Trolox/mL}$ για ABTS) όπως και το εκχύλισμα των σπόρων γκρέιπφρουτ ειδικά αν γίνει η αναγωγή στο 100% της συγκέντρωσης (224 $\mu\text{mol Trolox}$ ανά mL για DPPH, 300 $\mu\text{mol Trolox/mL}$ για ABTS). Τα ανθόνερα, τα εκχύλισμα αλόης και το συντηρητικό GEOGARD στη διάλυση που χρησιμοποιείται δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερη δράση.

Τα μίγματα FW1 και FW2 εμφανίζουν και αυτά σημαντική αντιοξειδωτική δράση. Όπως και με τη δοκιμή Folin-Ciocalteu έτσι και εδώ γίνεται σύγκριση μεταξύ πειραματικών και θεωρητικών τιμών για παρουσία φαινομένων συνέργιας ή παρεμπόδισης. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον Πίνακα 44. Οι πειραματικές τιμές παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με τις θεωρητικές, εκτός από την DPPH για το FW2, γεγονός που καθιστά αναγκαία την περαιτέρω μελέτη αντίστοιχων δειγμάτων για φαινόμενα συνέργιας, ειδικότερα με τη μέθοδο ABTS.

Πίνακας 44: Πειραματικές και θεωρητικές τιμές σε ισοδύναμα Trolox για υδατοδιαλυτά μίγματα

Μίγμα	Μέθοδος	Ισοδύναμα Trolox $\mu\text{mol/mL}$ Πειραματική Τιμή	Ισοδύναμα Trolox $\mu\text{mol/mL}$ Θεωρητική Τιμή	RMS Απόκλιση
FW1	DPPH	$1,5 \pm 0,2$	$1,06 \pm 0,05$	0,31
	ABTS	$2,15 \pm 0,03$	$1,35 \pm 0,04$	0,57
FW2	DPPH	$0,92 \pm 0,09$	$1,02 \pm 0,02$	0,07
	ABTS	$1,85 \pm 0,09$	$1,29 \pm 0,04$	0,40

4.3.2 Λιποδιαλυτά Δοκίμια

Στις παραγράφους 3.6.2 και 3.7.2 παρουσιάστηκαν τα αποτελέσματα για την αντιοξειδωτική δράση των λιποδιαλυτών συστατικών και μιγμάτων τους με τις μεθόδους DPPH και ABTS. Τα αιθέρια έλαια εμφανίζουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση και με τις δύο μεθόδους. Αυτό όμως που γίνεται φανερό είναι πως για αρκετά αιθέρια έλαια, οι δύο μέθοδοι εμφανίζουν μεγάλες διαφορές (γεράνι, παλμαρόζα,

καρότο, γκρέιπφρουτ, πατσουλί). Το γεγονός αυτό έχει παρουσιαστεί και σε άλλες αντίστοιχες μελέτες και οφείλεται στην ευαισθησία κάθε μεθόδου σε διαφορετικά αντιοξειδωτικά συστατικά [19][20][21][22][23]. Το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού εμφανίζει εξαιρετικά υψηλή αντιοξειδωτική δράση, καθώς με αναγωγή προκύπτει πως 1 mL εκχυλίσματος ισοδυναμεί με 536 μmol και 440 μmol Trolox για τις μεθόδους DDPH και ABTS αντίστοιχα.

Συγκρίνοντας τα μίγματα EOM1 και EOM2, το δεύτερο εμφανίζει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση και με τις δύο μεθόδους, γεγονός που δικαιολογεί την επιλογή των συγκεκριμένων αιθέριων για προϊόντα νύχτας, τα οποία παραδοσιακά θεωρούνται πιο «ισχυρά». Η προσθήκη πράσινου τσαγιού αυξάνει όπως είναι αναμενόμενο την αντιοξειδωτική δράση. Όπως και με τα υδατοδιαλυτά δοκίμια γίνεται σύγκριση μεταξύ πειραματικών και θεωρητικών τιμών για παρουσία φαινομένων συνέργειας ή παρεμπόδισης. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον Πίνακα 45. Οι τιμές για την rms απόκλιση μεταξύ πειραματικών και θεωρητικών τιμών δεν συνιστούν κάποια σημαντική ένδειξη τέτοιων φαινομένων, με μόνη εξαίρεση το μίγμα EOM2+GTE με τη μέθοδο DPPH.

Πίνακας 45: Πειραματικές και θεωρητικές τιμές σε ισοδύναμα Trolox για λιποδιαλυτα μίγματα

Μίγμα	Μέθοδος	Ισοδύναμα Trolox $\mu\text{mol/mL}$ Πειραματική Τιμή	Ισοδύναμα Trolox $\mu\text{mol/mL}$ Θεωρητική Τιμή	RMS Απόκλιση
EOM1	DPPH	$0,62 \pm 0,09$	$0,45 \pm 0,02$	0,12
	ABTS	$0,69 \pm 0,04$	$0,56 \pm 0,02$	0,09
EOM1+GTE	DPPH	$1,37 \pm 0,02$	$1,34 \pm 0,04$	0,02
	ABTS	$1,4 \pm 0,2$	$1,22 \pm 0,04$	0,13
EOM2	DPPH	$0,87 \pm 0,03$	$0,85 \pm 0,03$	0,01
	ABTS	$1,25 \pm 0,05$	$1,33 \pm 0,03$	0,06
EOM2+GTE	DPPH	$1,98 \pm 0,04$	$1,62 \pm 0,04$	0,25
	ABTS	$1,67 \pm 0,06$	$1,78 \pm 0,05$	0,08

4.4 Βιοδραστικότητα - Τοξικότητα

Η βιοδραστικότητα για κάθε δοκίμιο μετρήθηκε με τη μέθοδο MICROTOX και τα αποτελέσματα παρουσιάστηκαν στην παράγραφο 3.8. Πριν σχολιαστούν οι τιμές EC_{50} αξίζει να σημειωθεί πως ο χαρακτηρισμός «τοξικό» βρίσκει διαφορετικής σημασίας σε διαφορετικές έρευνες. Σύμφωνα με το πρότυπο ISO:11348-3:2007 [42], τοξικές θεωρούνται οι συγκεντρώσεις που οδηγούν σε επίδραση μεγαλύτερη του 20%.

4.4.1 Υδατοδιαλυτά δοκίμια

Αρχικά, πρέπει να αναφερθεί πως οι τιμές EC_{50} σε αναγωγή mL/L κυμαίνονται σε πολύ μεγαλύτερη τάξη μεγέθους σε σύγκριση με ελεγμένες τοξικές ουσίες όπως εντομοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, βιομηχανικά απόβλητα ή παράγωγα πετρελαίου, των οποίων οι τιμές κυμαίνονται στην τάξη των mg/L.[48]

Τα ανθόνερα κενταύριας και λεμονιού παρουσιάζουν τη μικρότερη τοξικότητα, ενώ το ανθόνερο τριαντάφυλλου σαφώς μεγαλύτερη, με το εκχύλισμα λεβάντας να εμφανίζει ενδιάμεση τοξικότητα, που συμφωνεί και με μελέτες τοξικότητας για αντίστοιχα βοτανικά εκχυλίσματα. Άξιο αναφοράς αποτελεί η τοξικότητα που εμφανίζει το εκχύλισμα αλόης, η οποία είναι και η μεγαλύτερη από όλα τα υδατοδιαλυτά συστατικά. Εδώ πρέπει να ληφθεί υπ' όψιν ότι το εκχύλισμα αλόης είναι σε συμπυκνωμένη μορφή 10:1, αν και οι λόγοι συνδέονται περισσότερο με αυτή καθ' αυτή την τοξικότητα που παρουσιάζει το εκχύλισμα αλόης, καθώς και η πιθανότητα προσθήκης συντηρητικού στο εκχύλισμα. Το συντηρητικό GEOGARD εμφανίζει τοξική δράση της τάξης των 10 mg/L.

Όπως και για τις μετρήσεις αντιοξειδωτικής δράσης, γίνεται σύγκριση μεταξύ πειραματικών και θεωρητικών τιμών EC_{50} για τα μίγματα FW1, FW2 για ανάδειξη φαινομένων συνέργιας ή παρεμπόδισης. Καθώς μικρές τιμές των EC_{50} συνιστούν ισχυρότερη δράση και με τη μορφή της εξίσωσης 6, ο αρμονικός μέσος ταιριάζει περισσότερο από τον αριθμητικό μέσο για τον υπολογισμό των θεωρητικών τιμών. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον Πίνακα 46. Αν και οι πειραματικές τιμές κινούνται συστηματικά σε μικρότερες από τις θεωρητικές, γεγονός που μπορεί να οφείλεται και στην αδυναμία του αρμονικού μέσου να περιγράψει την επίδραση πολλών συστατικών, η απόκλιση βρίσκεται μέσα στα πλαίσια του διαστήματος εμπιστοσύνης.

Πίνακας 46: Πειραματικές και θεωρητικές τιμές συγκεντρώσεων EC_{50} για υδατοδιαλυτά μίγματα

Μίγμα	Χρόνος min	Συγκέντρωση EC_{50} Πειραματική Τιμή mL/L	Συγκέντρωση EC_{50} Θεωρητική Τιμή mL/L	RMS Απόκλιση
FW1	5	2,43	5,24	1,99
	15	2,59	5,65	2,16
FW2	5	3,46	6,77	2,34
	15	4,49	7,46	2,10

Εφόσον συγκεντρώσεις με επίδραση μικρότερη του 20% θεωρούνται, μπορούν να υπολογιστούν οι οριακές συγκεντρώσεις EC₂₀, μεγαλύτερες των οποίων καθιστούν το δοκίμιο τοξικό, υπολογίζοντας από την εξίσωση 6 το C για G=0,25. Οι τιμές αναγράφονται στον Πίνακα 47. Όπως και με τις τιμές EC₅₀, είναι φανερό πώς το εκχύλισμα αλόης είναι αυτό που εμφανίζει την ισχυρότερη δράση. Οι τιμές είναι συγκρίσιμες με αυτές που συναντάμε και σε άλλες αντίστοιχες μελέτες [32][42].

Πίνακας 47: Συγκέντρωση με επίδραση 20% για υδατοδιαλυτά συστατικά

Δοκίμιο	EC ₂₀ 5min mL/L	EC ₂₀ 15 min mL/L
Εκχύλισμα Λεβάντας	8,86	8,37
Ανθόνερο Τριαντάφυλλου	2,01	2,17
Ανθόνερο Λεμονιού	38,6	36,9
Ανθόνερο Κενταύριας	127	146
*Εκχύλισμα Σπόρων Γκρέιπφρουτ	1,36	1,48
*Εκχύλισμα Αλόης	0,52	0,91
Συντηρητικό Geogard	29,1	32,1
FW1	2,06	2,57
FW2	4,53	-----

4.4.2 Λιποδιαλυτά δοκίμια

Αρχικά, πρέπει να αναφερθεί πως οι τιμές EC₅₀ σε αναγωγή μL/L κυμαίνονται σε μικρότερη τάξη μεγέθους σε σύγκριση με τα υδατοδιαλυτά συστατικά. Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο αν αναλογιστεί κανείς τη γενικότερη δραστηριότητα των αιθέριων ελαίων, ιδιαίτερα σε αντισηπτικές εφαρμογές.

Από τα αιθέρια έλαια που δοκιμάστηκαν και για την αντιοξειδωτική τους δράση, τα αιθέρια λεβάντας, γερανίου, παλμαρόζας και δενδρολίβανου εμφάνισαν την πιο ισχυρή δράση. Το γεγονός αυτό έρχεται σε συμφωνία με τις βιβλιογραφικές αναφορές πως τα αιθέρια έλαια που περιέχουν μεγάλο ποσοστό σύστασης σε φαινόλες και κετόνες εμφανίζουν και τη μεγαλύτερη βιοδραστηριότητα.

Για λόγους σύγκρισης, συμπεριλήφθηκαν στην δοκιμή τέσσερα αιθέρια έλαια που θεωρούνται τοξικά, η γωλθερία (σαλικυλικό μεθύλιο), το φλισκούνη (πουλεγόνη), η κανέλα (κιννωμωμική αλδεύδη) και το σκόρδο (διάλλυλο σουλφίδια). Τα δύο πρώτα παρουσίασαν τιμές συγκρίσιμες με αυτές των άλλων αιθέριων ελαίων, αλλά το αιθέρια κανέλας και σκόρδου παρουσίασαν πολύ ισχυρότερη δράση σε σχέση με τα

υπόλοιπα ($EC_{50} < 10 \mu\text{L/L}$), δικαιολογώντας τις πολλές προφυλάξεις που συνοδεύουν τη χρήση τους. Στην ίδια τάξη μεγέθους κινούνται οι τιμές για το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού.

Τα μίγματα παρουσίασαν ενδιάμεση βιοδραστικότητα σε σχέση με τα υπόλοιπα αιθέρια έλαια. Η προσθήκη εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού ενισχύει ελαφρώς τη δραστικότητα, ενώ το δεύτερο μίγμα αποδεικνύεται λιγότερο τοξικό από το πρώτο. Και πάλι γίνεται σύγκριση πειραματικών και θεωρητικών τιμών για να διαπιστωθούν φαινόμενα συνέργειας ή παρεμπόδισης. Οι θεωρητικές τιμές υπολογίζονται βάση του αρμονικού μέσου. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 48.

Οι τιμές για το EOM1 εμφανίζουν αμελητέα απόκλιση. Οι πειραματικές τιμές για το EOM2 είναι ελαφρώς μεγαλύτερες, γεγονός που μπορεί να υποδεικνύει πως η τοξική δράση του δενδρολίβανου παρεμποδίζεται παρουσία των υπόλοιπων αιθέριων στο μίγμα. Με την προσθήκη εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού και στα δύο μίγματα, η απόκλιση στις τιμές υποδεικνύει παρεμπόδιση. Σε κάθε πάντως περίπτωση οι αποκλίσεις είναι εντός της ίδιας τάξης μεγέθους.

Πίνακας 48: Πειραματικές και θεωρητικές τιμές συγκεντρώσεων EC_{50} για λιποδιαλυτά μίγματα

Μίγμα	Χρόνος min	Συγκέντρωση EC_{50} Πειραματική Τιμή $\mu\text{L/L}$	Συγκέντρωση EC_{50} Θεωρητική Τιμή $\mu\text{L/L}$	RMS Απόκλιση
EOM1	5	16,8	15,3	1,06
	15	17,0	15,6	0,99
EOM1+GTE	5	16,0	6,75	6,54
	15	15,6	8,12	5,29
EOM2	5	39,3	27,5	8,34
	15	30,0	19,8	7,21
EOM2+GTE	5	24,5	9,38	10,7
	15	18,7	8,70	7,07

Όπως και με τα υδατοδιαλυτά συστατικά, μπορεί να υπολογιστεί η συγκέντρωση στην οποία εμφανίζεται επίδραση 20%, πάνω από την οποία το δείγμα θεωρείται τοξικό. Οι τιμές αναγράφονται στον Πίνακα 49. Και από αυτές γίνεται φανερό πως η κανέλα και το σκόρδο αποτελούν τα αιθέρια με την ισχυρότερη βιοδραστικότητα.

Πίνακας 49: Συγκέντρωση με επίδραση 20% για λιποδιαλυτά συστατικά

Δοκίμιο	EC ₂₀ 5min μL/L	EC ₂₀ 15 min μL/L
Αιθέριο έλαιο Λεβάντα	4,89	5,47
Αιθέριο έλαιο Γεράνι	3,43	3,56
Αιθέριο έλαιο Παλμαρόζα	3,09	3,08
Αιθέριο έλαιο Καρότο	13,7	13,2
Αιθέριο έλαιο Λεμόνι	3,31	3,11
Αιθέριο έλαιο Γκρέιπφρουτ	17,8	18,0
Αιθέριο έλαιο Πατσουλί	66,9	52,9
Αιθέριο έλαιο Δενδρολίβανο	2,16	1,37
Αιθέριο έλαιο Φλισκούνι	9,24	10,6
Αιθέριο έλαιο Γωλθερία	14,2	13,7
Αιθέριο έλαιο Κανέλα	1,00	1,15
Αιθέριο έλαιο Σκόρδο	0,52	0,52
Εκχύλισμα Πράσινου Τσαγιού	1,94	1,05
EOM1	4,90	5,32
EOM2	9,23	7,01
EOM1 + GTE	7,95	7,71
EOM2 + GTE	11,6	8,86

4.5 Συσχετισμοί αντιοξειδωτικής δράσης και βιοδραστικότητας

Με σκοπό να διαπιστωθεί αν υπάρχουν στατιστικοί συσχετισμοί ανάμεσα στην αντιοξειδωτική δράση όπως προσδιορίστηκε με τις μεθόδους Folin-Ciocalteu, DPPH και ABTS και την τοξικότητα, υπολογίστηκε ο συσχετισμός Pearson για κάθε πιθανό ζευγάρι ανάμεσα στις τιμές ισοδύναμων γαλλικού οξέος, Trolox και των τιμών EC₅₀. Τα αποτελέσματα για τα υδατοδιαλυτά συστατικά αναγράφονται στον Πίνακα 50 και τα αποτελέσματα για τα λιποδιαλυτά συστατικά αναγράφονται στον Πίνακα 51.

Για τα υδατοδιαλυτά δοκίμια, υπάρχει σημαντικός συσχετισμός ανάμεσα στις μεθόδους προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης Folin-Ciocalteu, DPPH και ABTS, ενώ δεν προκύπτει συσχετισμός ανάμεσα σε κάποια από τις παραπάνω μεθόδους και τις τιμές τοξικότητας EC₅₀.

Για τα λιποδιαλυτά δοκίμια οι συσχετισμοί μεταξύ των μεθόδων αντιοξειδωτικότητας είναι στατιστικά μικρότεροι σε σχέση με αυτούς στα υδατοδιαλυτά. Πιο συγκεκριμένα, υπάρχει συσχετισμός ανάμεσα στη μέθοδο DPPH και αυτές των Folin-Ciocalteu και ABTS, αλλά ο συσχετισμός ανάμεσα στις μεθόδους Folin-Ciocalteu και ABTS είναι εξαιρετικά μικρός. Όπως και για υδατοδιαλυτά δοκίμια, δεν προκύπτει συσχετισμός με τις τιμές τοξικότητας EC₅₀.

Πίνακας 50: Πίνακας συσχετισμών για τα υδατοδιαλυτά δοκίμια

Συσχετισμοί					
		Folin	DPPH	ABTS	EC50
Folin	Pearson Correlation	1	0,943**	0,927**	-0,407
	Sig. (2-tailed)		,000	,000	,277
	N	9	9	9	9
DPPH	Pearson Correlation	0,943**	1	0,964**	-0,393
	Sig. (2-tailed)	,000		,000	,296
	N	9	9	9	9
ABTS	Pearson Correlation	0,927**	0,964**	1	-0,428
	Sig. (2-tailed)	,000	,000		,250
	N	9	9	9	9
EC50	Pearson Correlation	-0,407	-0,393	-0,428	1
	Sig. (2-tailed)	,277	,296	,250	
	N	9	9	9	9

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Πίνακας 51: Πίνακας συσχετισμών για τα λιποδιαλυτά δοκίμια

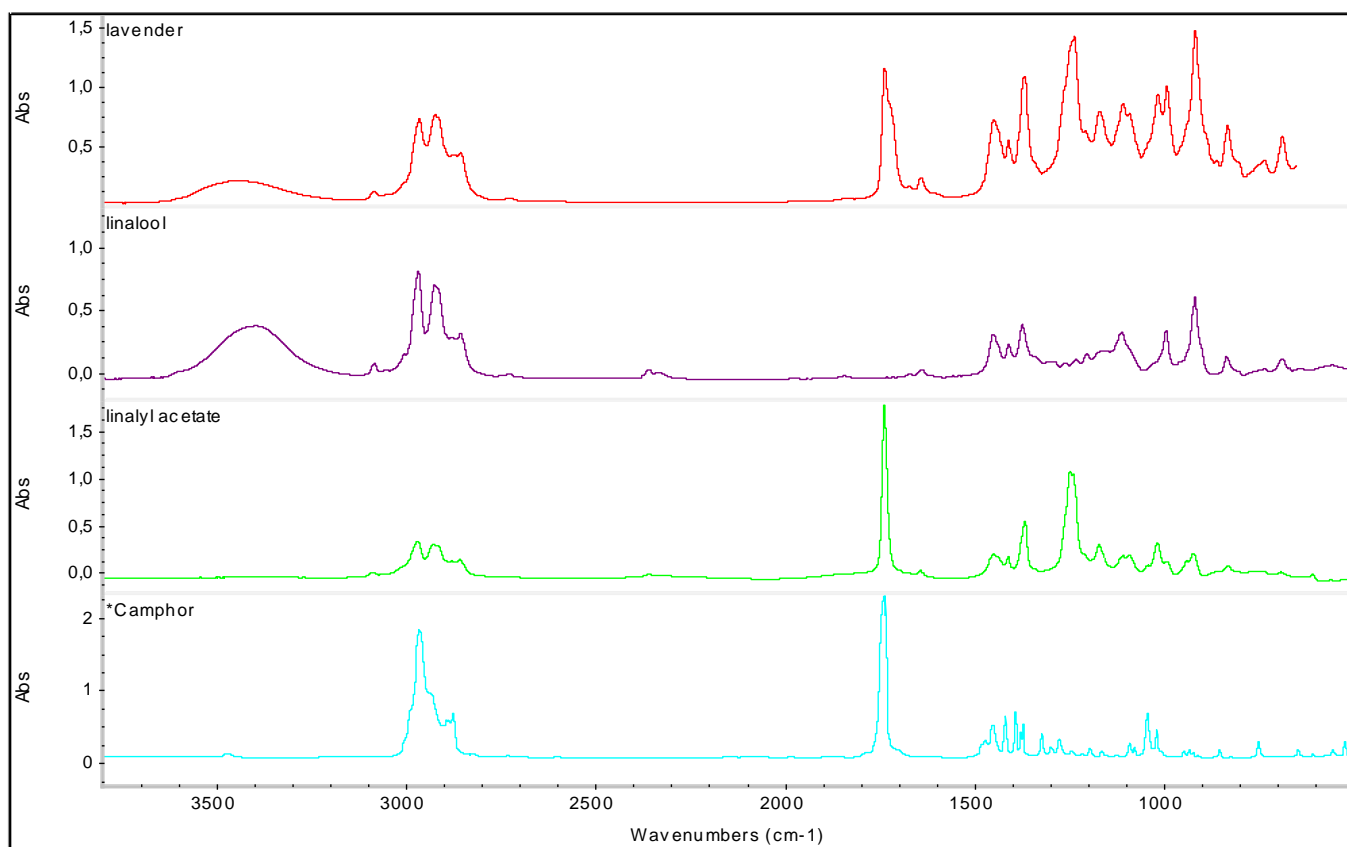
Συσχετισμοί					
		Folin	DPPH	ABTS	EC50
Folin	Pearson Correlation	1	0,783**	0,445	-0,096
	Sig. (2-tailed)		,002	,128	,756
	N	13	13	13	13
DPPH	Pearson Correlation	0,783**	1	0,779**	-0,063
	Sig. (2-tailed)	,002		,002	,838
	N	13	13	13	13
ABTS	Pearson Correlation	0,445	0,779**	1	0,163
	Sig. (2-tailed)	,128	,002		,595
	N	13	13	13	13
EC50	Pearson Correlation	-0,096	-0,063	0,163	1
	Sig. (2-tailed)	,756	,838	,595	
	N	13	13	13	13

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

4.6 Ανάλυση φασμάτων FT-IR για λιποδιαλυτά δοκίμια

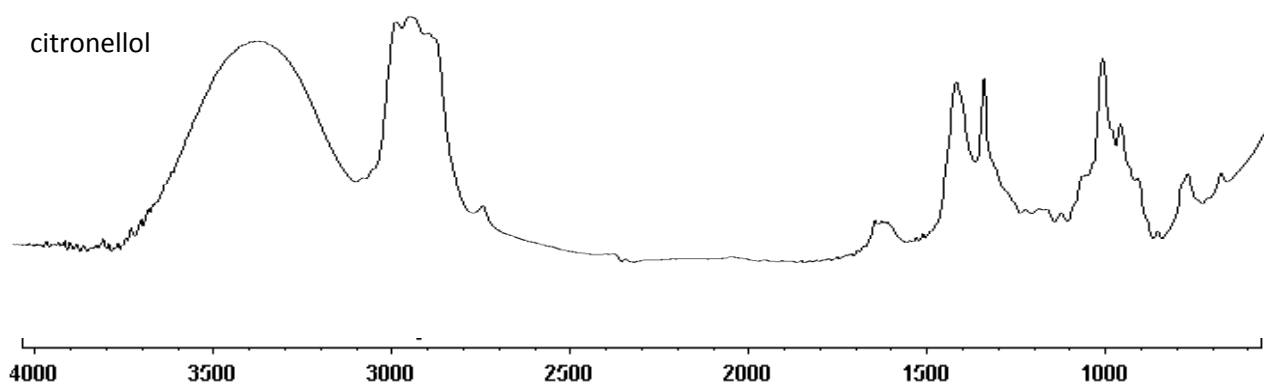
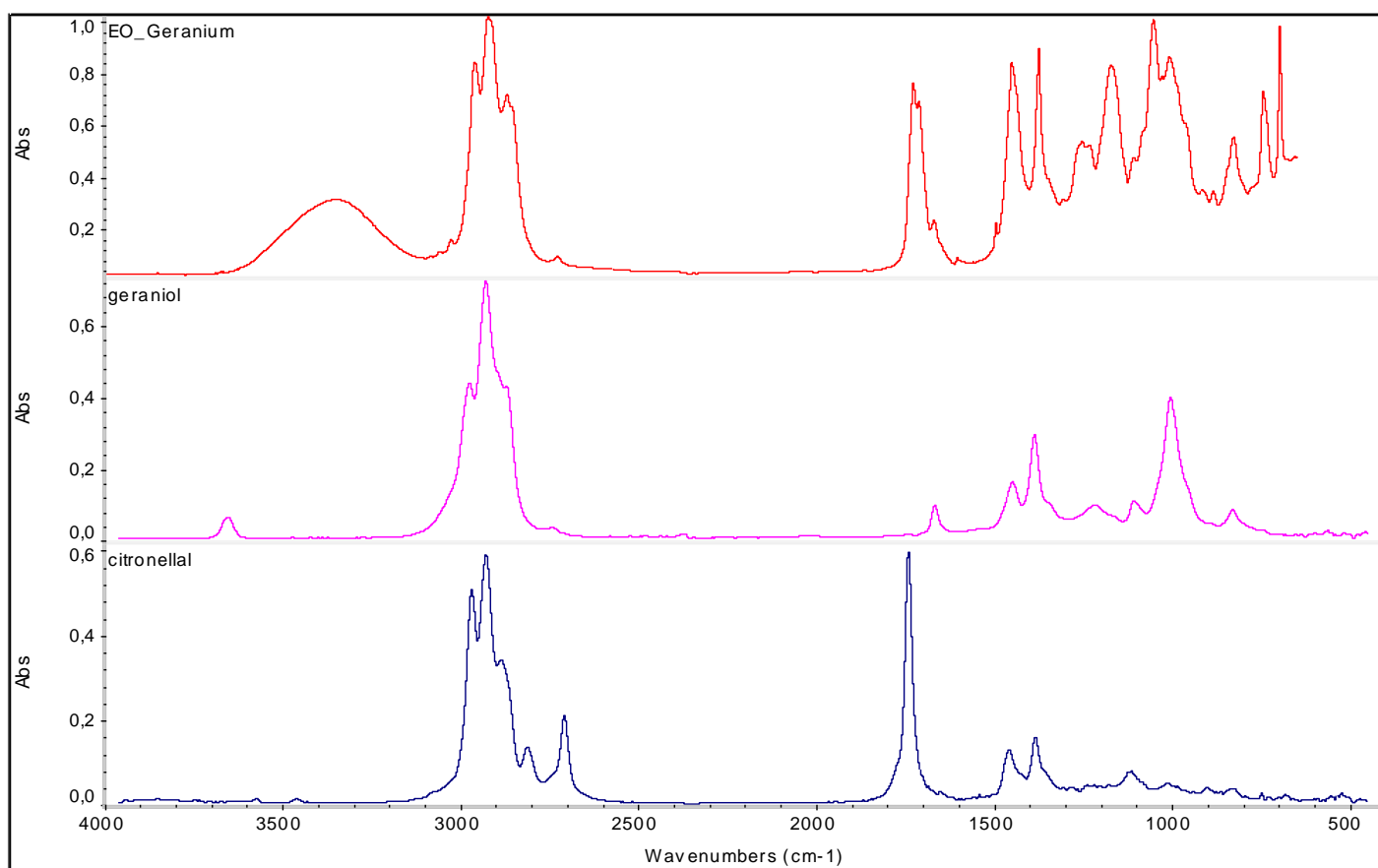
Πριν ξεκινήσει ο σχολιασμός πρέπει να αναφερθεί πως όπου χρειάστηκε, τα πρότυπα φάσμα IR για χημικά συστατικά λήφθησαν από τράπεζες φασμάτων [49][50].

Το φάσμα της για το αιθέριο έλαιο λεβάντας παρατίθεται με τα φάσματα της R-λιναλοόλης και του οξικού εστέρα της, τα οποία αποτελούν τα βασικά συστατικά του, καθώς και με το φάσμα της καμφοράς, καθότι η παρουσία καμφοράς στο αιθέριο είναι ενδεικτική για το είδος της λεβάντας που χρησιμοποιήθηκε (Σχήμα 39). Μεγάλη πτώση της κορυφής στα 3436 cm^{-1} είναι ενδεικτική της οξείδωσης της λιναλοόλης. Η παρουσία του οξικού εστέρα της λιναλοόλης προσδιορίζεται από τις κορυφές στα 1739 cm^{-1} και 1239 cm^{-1}



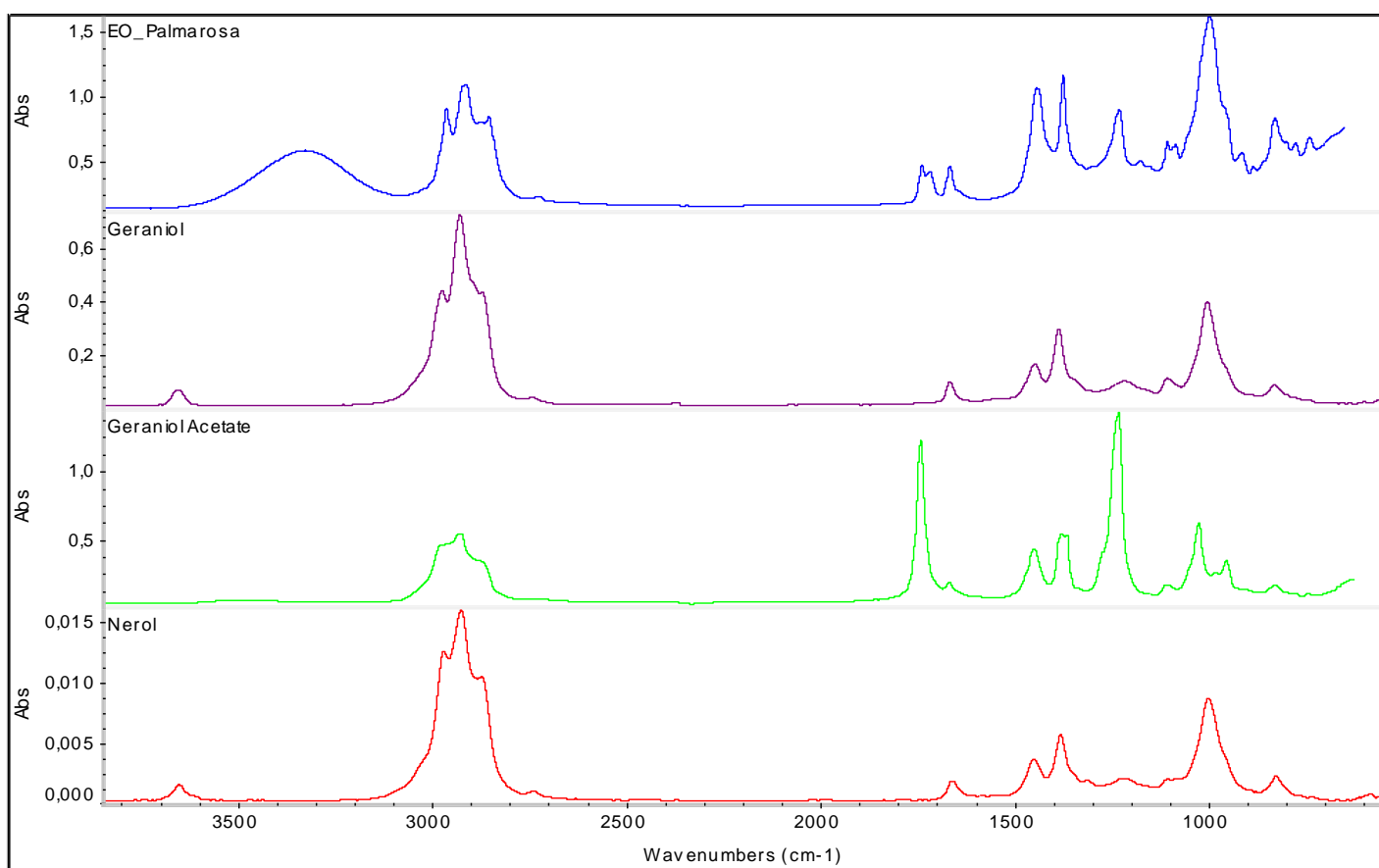
Σχήμα 39: Φάσματα FT-IR για αιθέριο έλαιο λεβάντα και συστατικά του

Στο Σχήμα 40 παρατίθενται τα φάσματα για το αιθέριο έλαιο γερανίου καθώς και της γερανιόλης, της κιτρονελλάλης και της κιτρονελλόλης, τα οποία αποτελούν βασικά συστατικά του. Οι κορυφές στα 3355, 2961, 2925, 2872, 1453, 1377, 1054, 1009 cm^{-1} είναι χαρακτηριστικές της κιτρονελλόλης. Μεγάλο ύψος στην κορυφή στα 1729 cm^{-1} και μείωση του ύψους της κορυφής στα 3355 cm^{-1} είναι χαρακτηριστικό οξείδωσης της κιτρονελλόλης προς κιτρονελλάλη.



Σχήμα 40: Φάσμα FT-IR για αιθέριο έλαιο γεράνι και συστατικά του

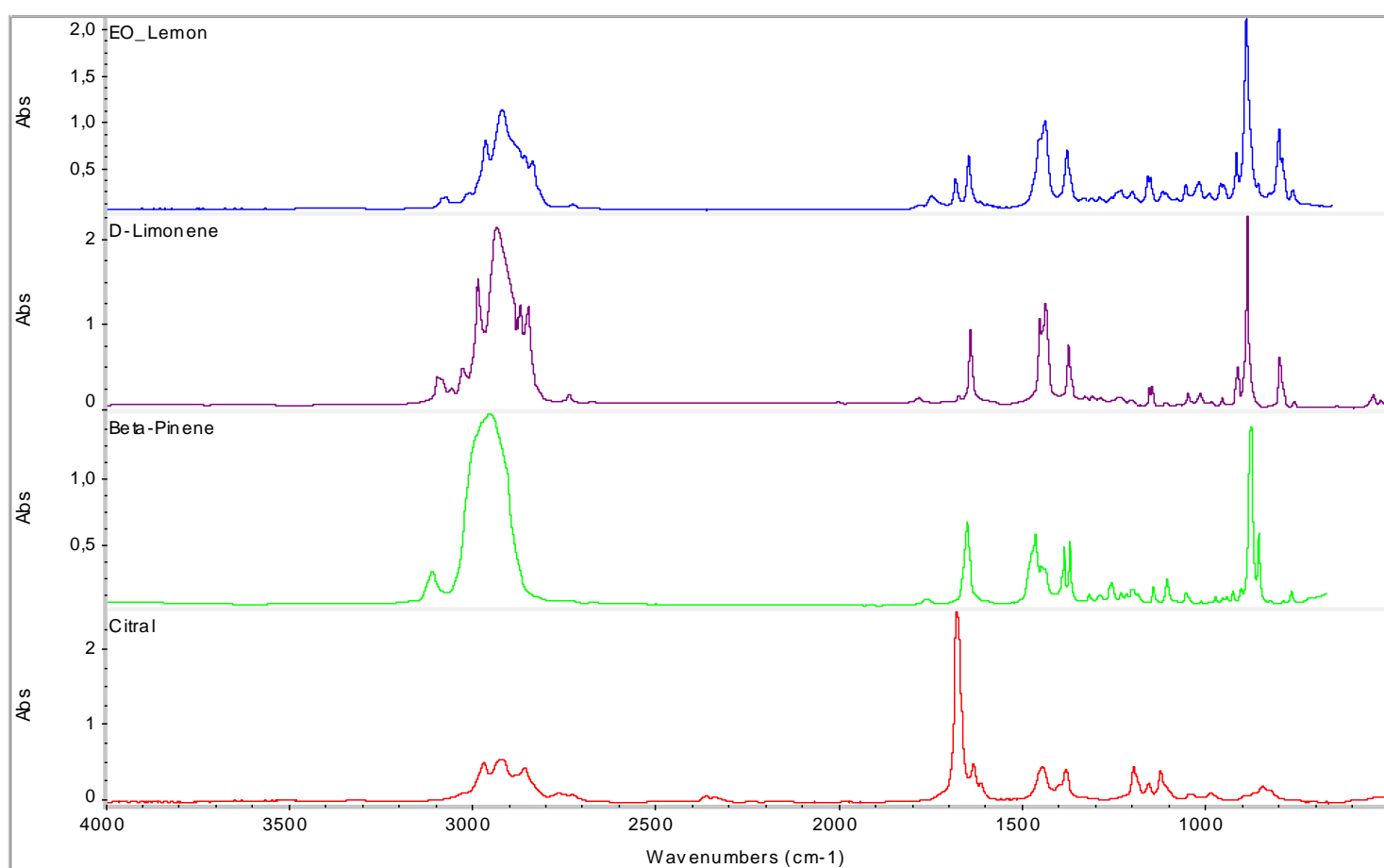
Στο σχήμα 41 παρατίθενται τα φάσματα για το αιθέριο έλαιο παλμαρόζα, καθώς και τα φάσματα της γερανιόλης, του οξικού της εστέρα και της νερόλης, που αποτελούν κύρια συστατικά του. Παρατηρούνται αρκετές επικαλύψεις κορυφών, όπως στα 2966, 2916, 1444, 1377 και 999 cm^{-1} . Η κορυφή στα 1232 cm^{-1} είναι χαρακτηριστική του οξικού εστέρα της γερανιόλης. Η κορυφή στα 3330 cm^{-1} δεν αντιστοιχεί με κάποια από τα συστατικά που παρουσιάζονται, υπάρχει πιθανότητα να αντιστοιχεί σε συστατικά που αναφέρονται βιβλιογραφικά όπως η S-λιναλοόλη και η κιτρνελλόλη. [51]



Σχήμα 41: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο παλμαρόζα και συστατικά του

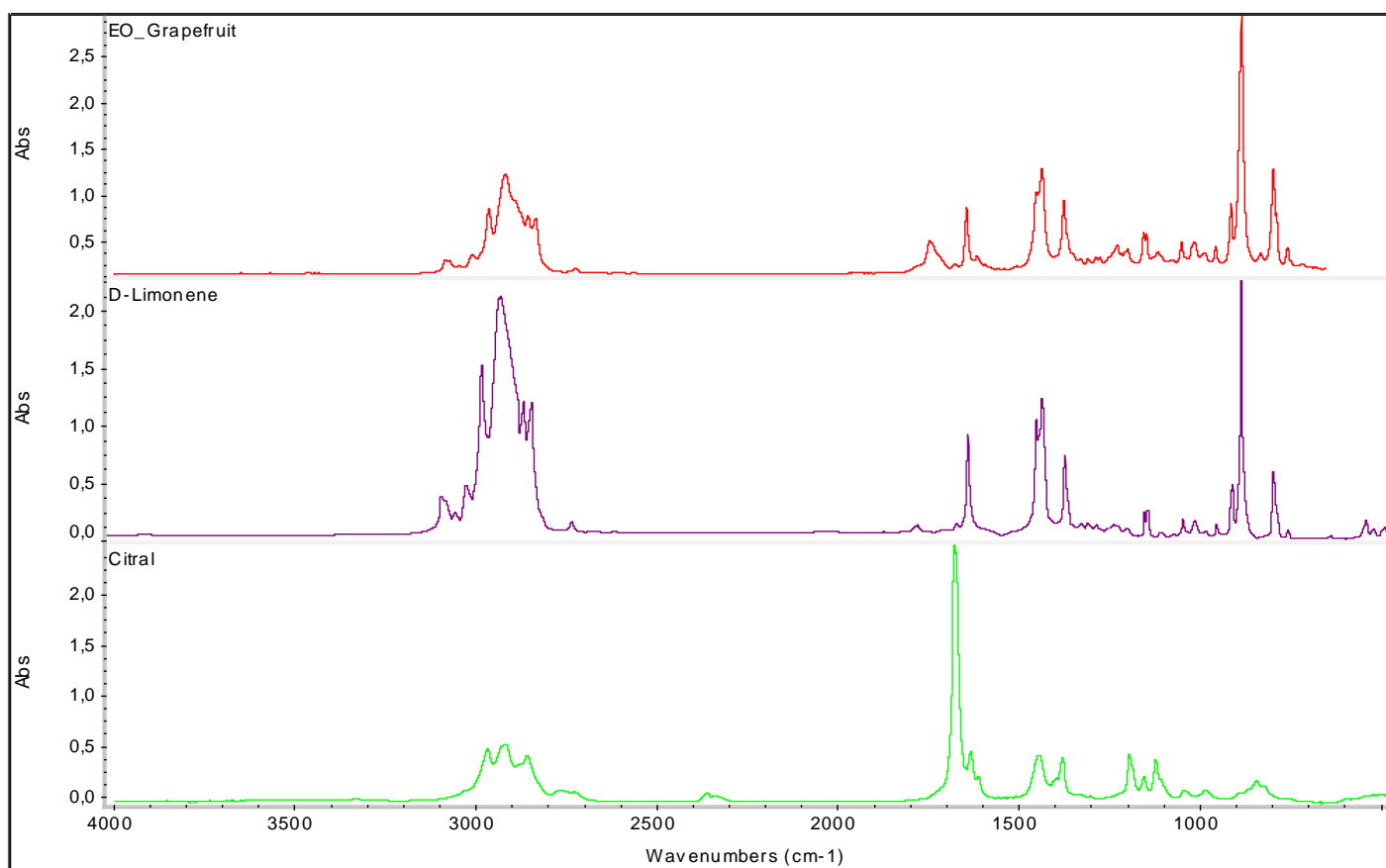
Το φάσμα IR για το αιθέριο έλαιο καρότο έχει ήδη παρατεθεί στο Σχήμα 23. Για τα βασικά συστατικά του δαυκόλη και καροτόλη δεν βρέθηκαν ελεύθερα διαθέσιμα φάσματα για αντιπαράθεση. Η ευρεία κορυφή στα 3500 cm^{-1} μπορεί να αποδοθεί σε παρουσία αλκοολών.

Το φάσμα IR για το αιθέριο έλαιο λεμόνι, μαζί με τα φάσματα των κύριων συστατικών του D-λιμονένιο και β-πινένιο, καθώς και τη κιτράλης, παρατίθενται στο Σχήμα 42. Παρατηρούνται έντονες επικαλύψεις κορυφών, ενώ οι μικρές κορυφές λίγο ψηλότερα από τα 1700 cm^{-1} μπορεί να αποδοθεί στη μικρή παρουσία των κιτράλων.



Σχήμα 42: Φάσματα FT-IR για το αιθέριο έλαιο λεμόνι και τα συστατικά του

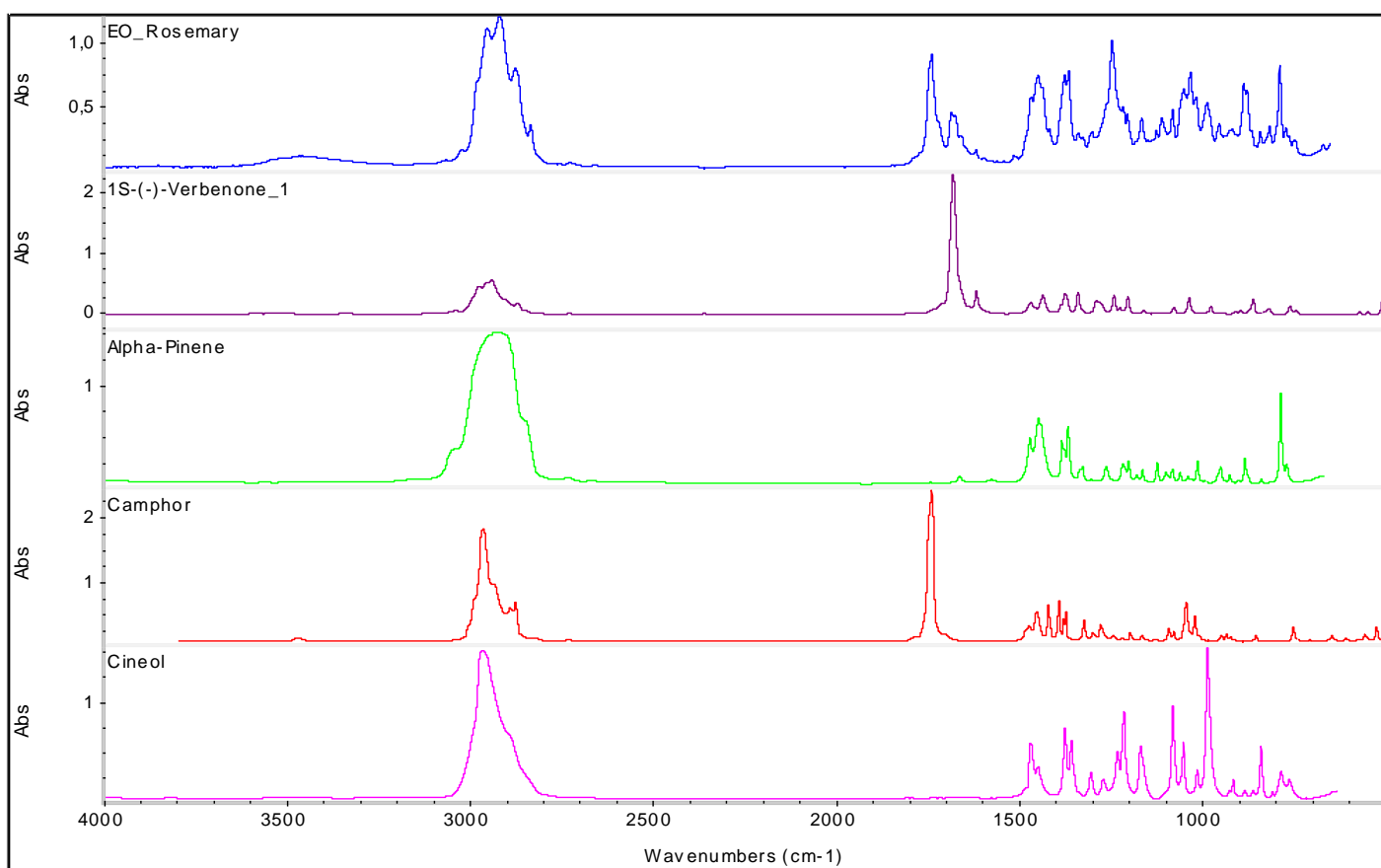
Στο Σχήμα 43 παρατίθενται τα φάσματα για το αιθέριο έλαιο γκρέιφρουτ και το βασικό συστατικό του λιμονένιο, καθώς και το φάσμα της κιτράλης. Όπως και με το φάσμα από το αιθέριο έλαιο λεμόνι, το κύριο συστατικό καθορίζει το φάσμα του αιθέριου. Η μικρή κορυφή στα 1747 cm^{-1} αντιστοιχεί σε μίγμα κιτράλων (κιτράλη, γερανιαάλη, νεράλη).



Σχήμα 43: Φάσματα για το αιθέριο έλαιο γκρέιφρουτ και συστατικών του

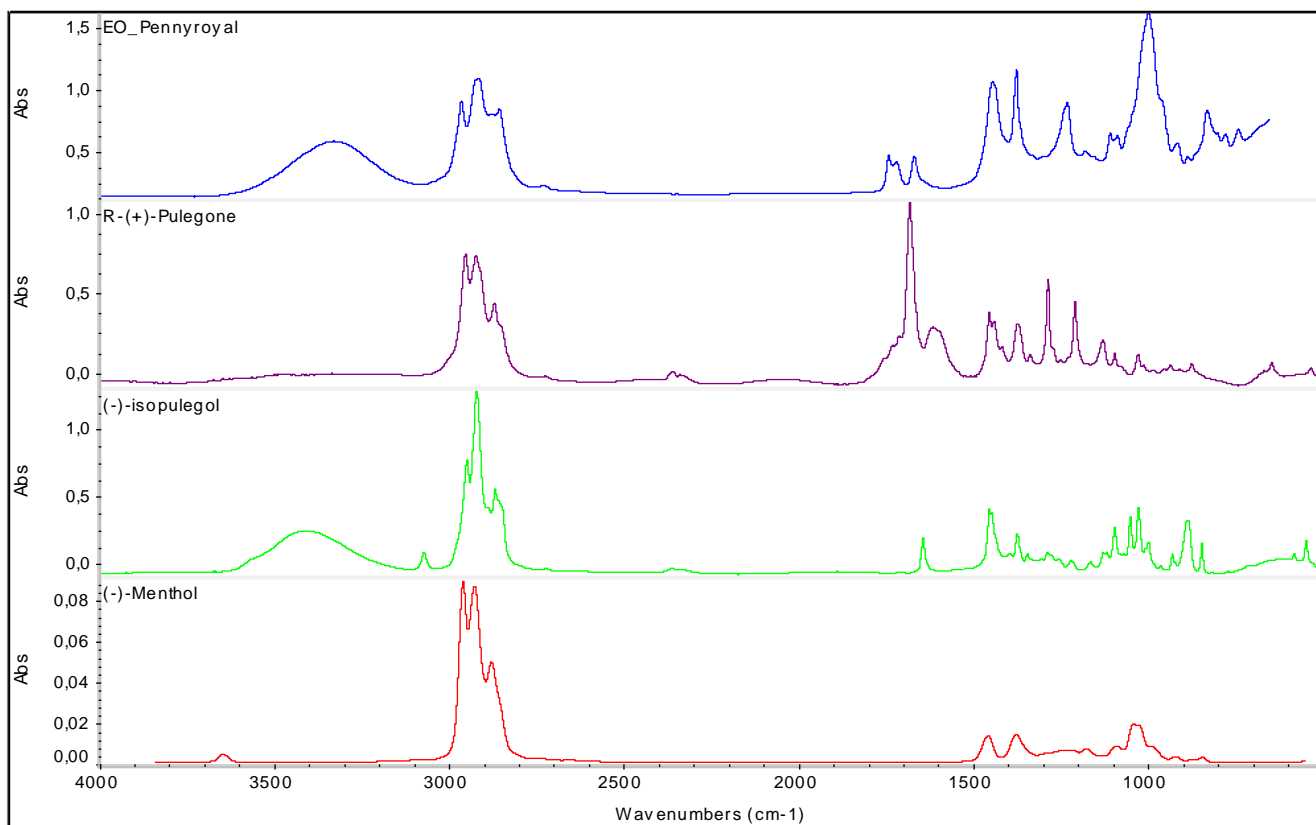
Το φάσμα IR για το αιθέριο έλαιο πατσουλί έχει ήδη παρατεθεί στο Σχήμα 26. Για το βασικό του συστατικό την πατσουλόλη δεν βρέθηκαν ελεύθερα διαθέσιμα φάσματα για αντιπαραθεση. Η ευρεία κορυφή στα 3500 cm^{-1} μπορεί να αποδοθεί σε παρουσία αλκοόλης.

Το φάσμα IR για το αιθέριο έλαιο δενδρολίβανο χημειότυπου βερμπενόνης παρατίθεται στο Σχήμα 44. Μαζί παρατίθενται τα φάσματα της βερμπενόνης και του α-πινένιου που αποτελούν βασικά συστατικά, καθώς και της καμφοράς και 1,8-κινεόλης που αποτελούν διαφορετικούς χημειότυπους του δενδρολίβανου. Η κορυφή στα 1685 cm^{-1} αντιστοιχεί στη βερμπενόνη, η κορυφή στα 1738 cm^{-1} στην καμφορά και η κορυφή στα 1245 cm^{-1} στην κινεόλη. Γίνεται λοιπόν φανερό πως το αιθέριο έλαιο με χημειότυπο βερμπενόνης περιέχει και καμφορά και κινεόλη.

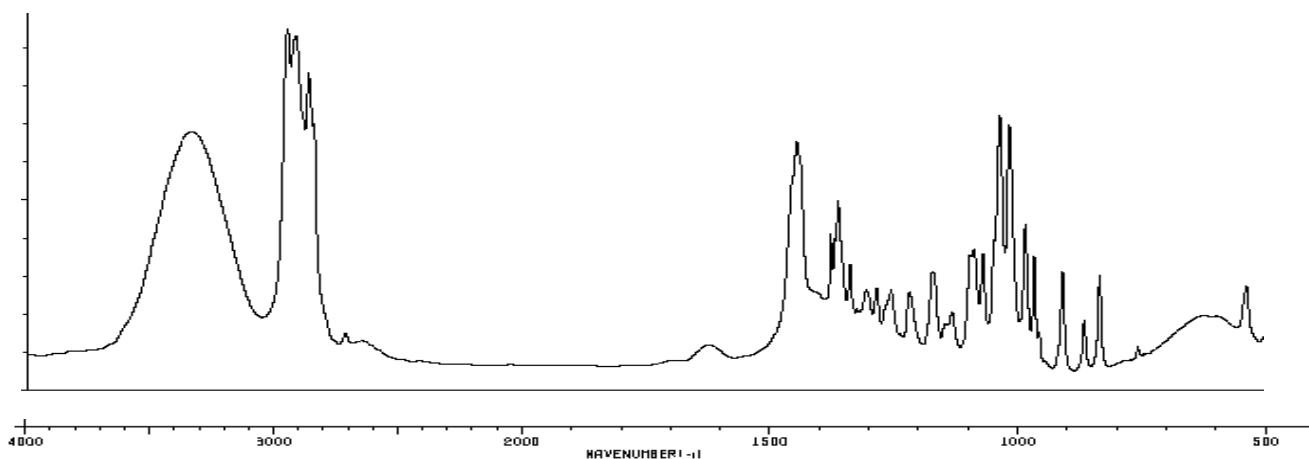


Σχήμα 44: Φάσματα FT-IR για το αιθέριο έλαιο δενδρολίβανο και συστατικά του

Το φάσμα για το αιθέριο έλαιο φλισκούνη παρατίθεται στο Σχήμα 45. Μαζί εικονίζονται τα φάσματα για την R-(+) πουλεγόνη, την (-)-ισοπουλεγόνη και την (-)-μενθόλη, που αποτελούν κύρια συστατικά του. Επίσης στο Σχήμα 46 δίνεται το φάσμα για την (+/-)-μενθόλη. Η ευρεία κορυφή στα 3330 cm^{-1} καθώς και η κορυφή στα 999 cm^{-1} αντιστοιχεί κυρίως στην παρουσία (+/-)-μενθόλης ή άλλων ισομερών της, ενώ η παρουσία της τοξικής πουλεγόνης στο αιθέριο είναι μικρή, καθώς η κορυφή στα 1682 cm^{-1} που αντιστοιχεί στην πουλεγόνη είναι χαμηλού ύψους.

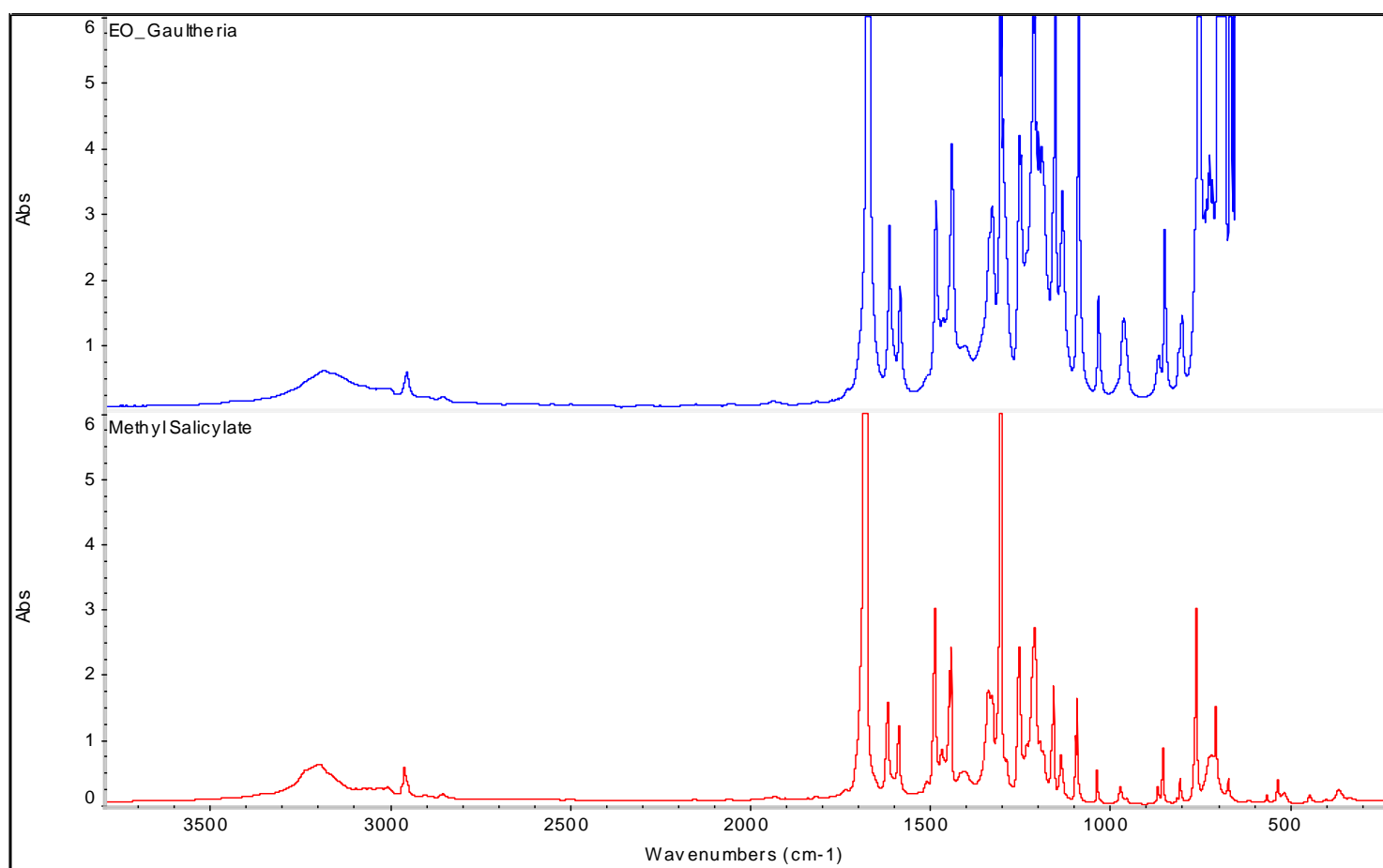


Σχήμα 45: Φάσματα FT-IR από το αιθέριο έλαιο φλισκούνη και συστατικά του



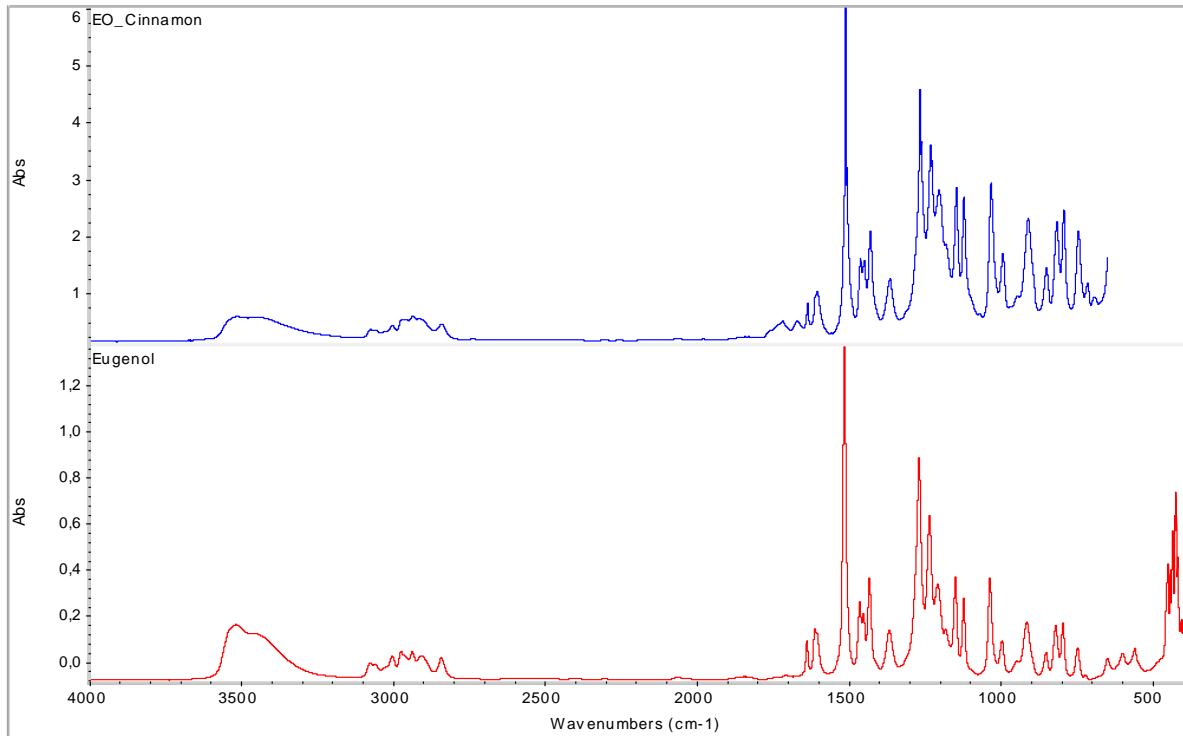
Σχήμα 46: Φάσμα FT-IR της (+/-)-μενθόλης

Το φάσμα για το αιθέριο έλαιο γωλθερίας και για το σαλικυλικό μεθύλιο, το κύριο συστατικό της, παρουσιάζονται στο Σχήμα 47. Αρκετές κορυφές είναι ιδιαίτερα υψηλές και για αυτό παρατηρούνται φαινόμενα ψαλιδισμού. Τα φάσματα σχεδόν ταυτίζονται, γεγονός που επιβεβαιώνει τη μεγάλη περιεκτικότητα του αιθέριου ελαίου σε σαλικυλικό μεθύλιο.

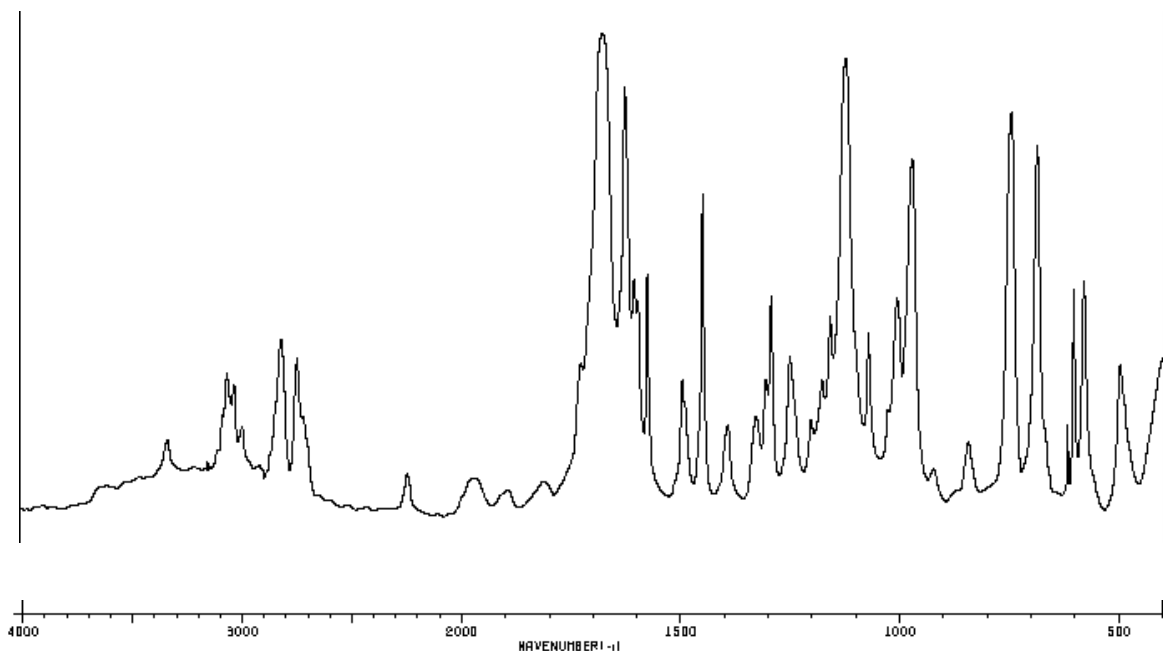


Σχήμα 47: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο γωλθερίας και το κύριο συστατικό του

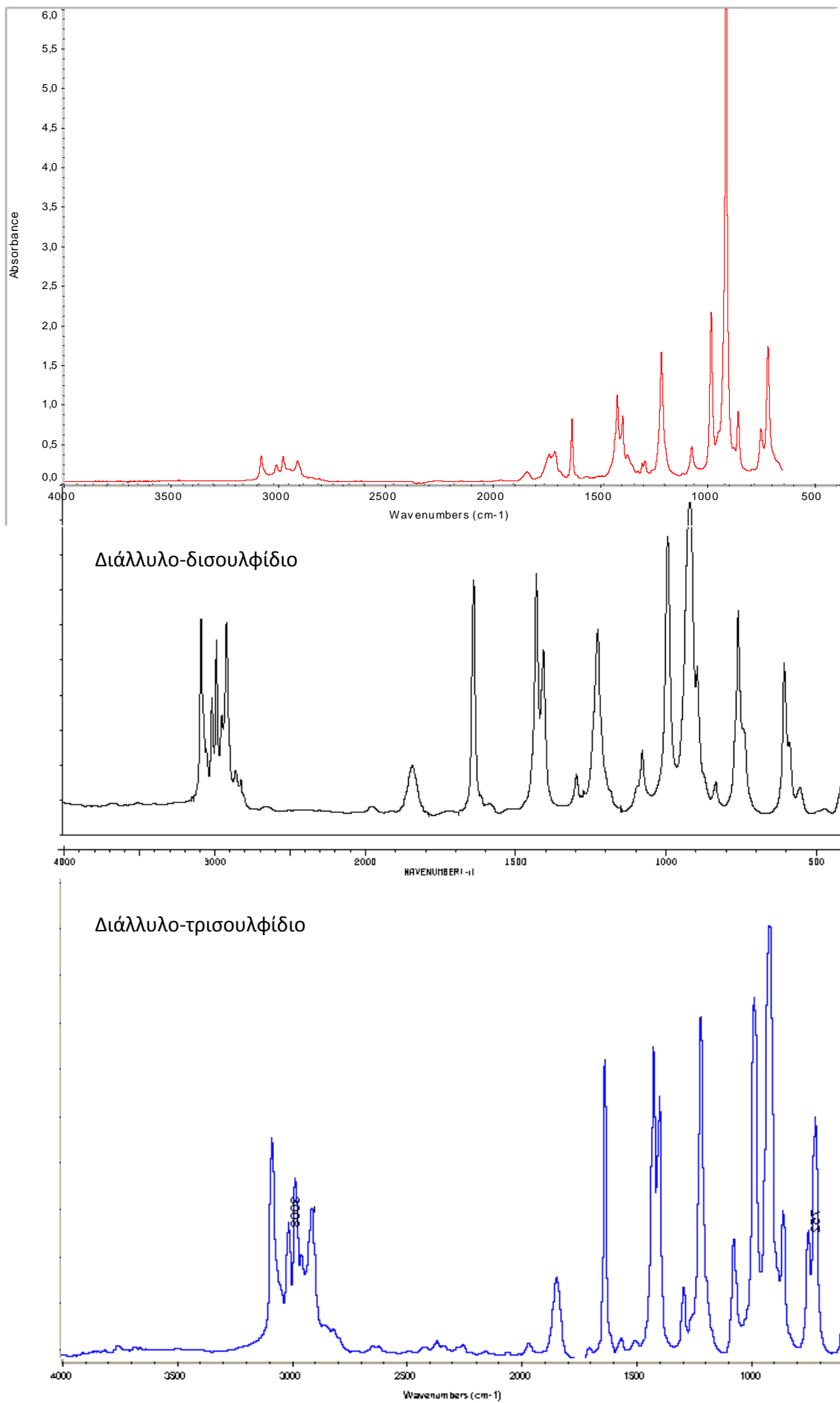
Στο Σχήμα 48 δίνεται το φάσμα για το αιθέριο έλαιο κανέλας και την ευγενόλη. Στο σχήμα 49 έχουμε το φάσμα της E-κινναμωμικής αλδεΐδης. Συγκρίνοντας τα φάσματα γίνεται φανερό πως το αιθέριο έλαιο περιέχει ευγενόλη και όχι κινναμωμική αλδεΐδη. Η περιεκτικότητα σε ευγενόλη είναι χαρακτηριστικό του αιθέριου έλαιου από το είδος *Cinnamomum zeylanicum* που προέρχεται από τα φύλλα του φυτού.[52]



Σχήμα 48: Φάσματα FT-IR για το αιθέριο έλαιο κανέλας και το κύριο συστατικό του



Σχήμα 49: Φάσμα FT-IR για την E-κινναμωμική αλδεΐδη

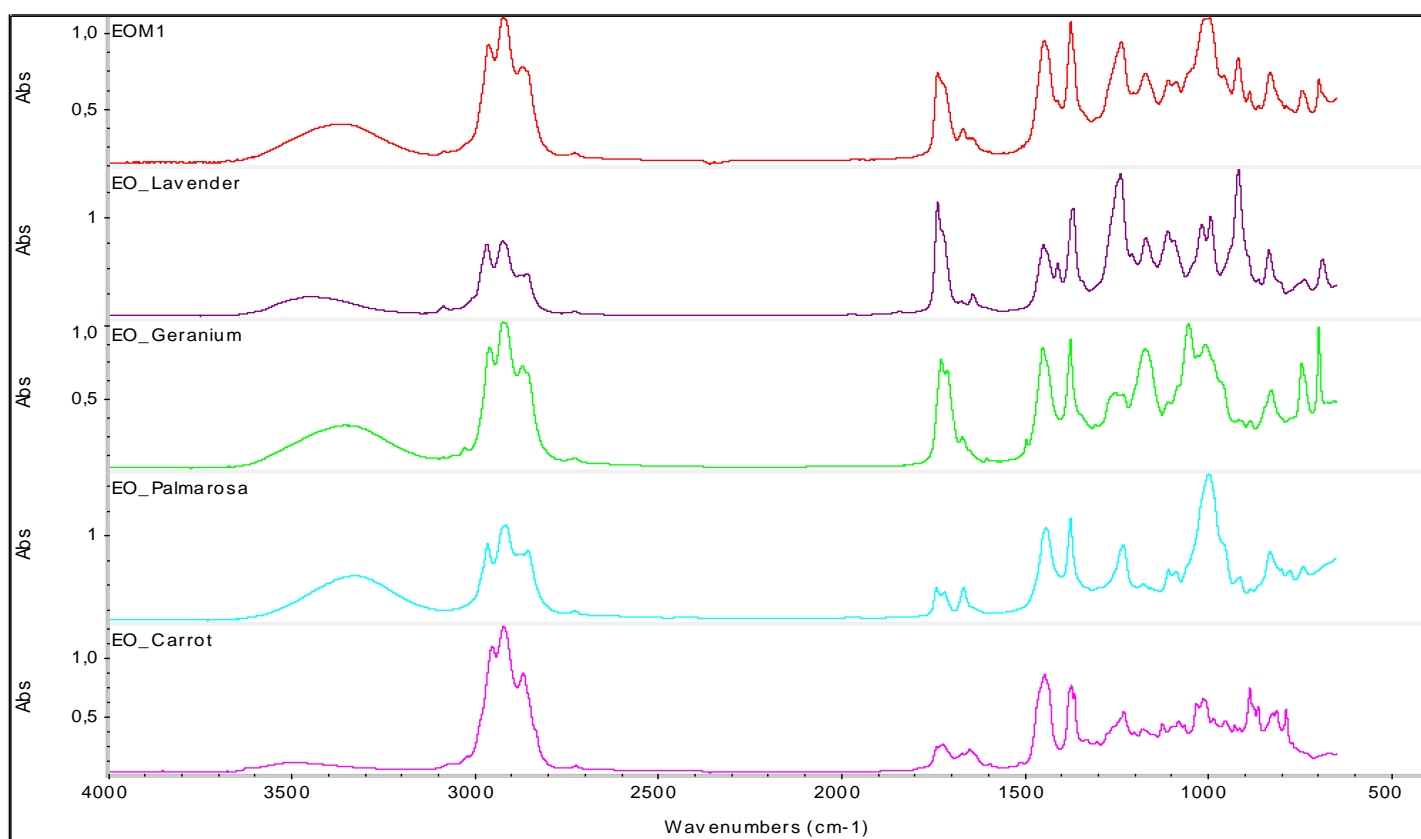


Σχήμα 50: Φάσμα FT-IR για το αιθέριο έλαιο σκόρδο και τα συστατικά του

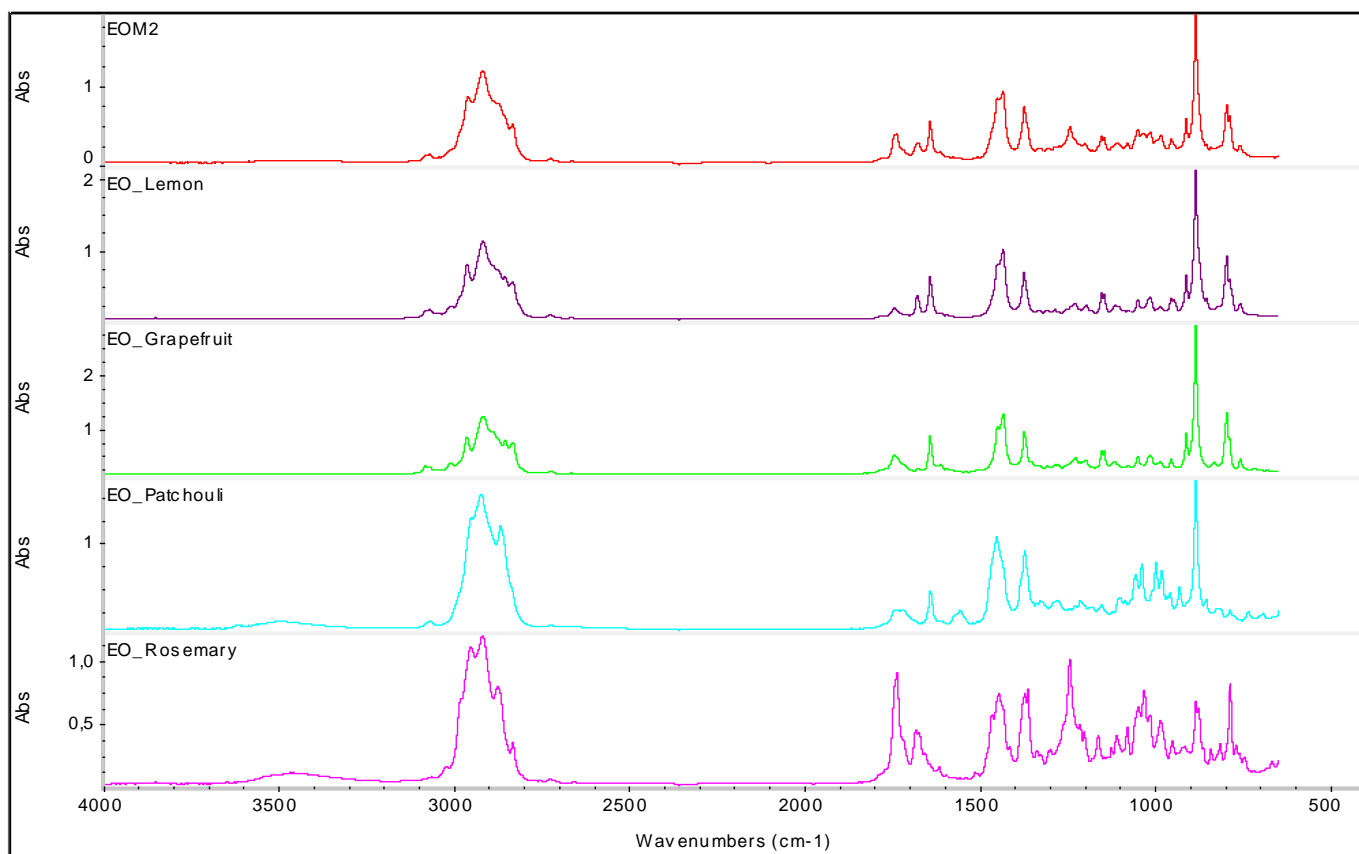
Στο Σχήμα 50 που προηγήθηκε εμφανίζονται τα φάσματα για το αιθέριο έλαιο σκόρδο, το διάλλυλο-δισουλφίδιο και το διάλλυλο τρισουλφίδιο που αποτελούν κύρια συστατικά του. Οι κορυφές από τα δύο συστατικά στα 913 cm^{-1} συμπίπτουν και έτσι προκύπτει μία κορυφή με μεγάλο ύψος. Αντίθετα, οι κορυφές κοντά στα 3000 cm^{-1} εμφανίζονται μικρότερες στο αιθέριο σε σχέση με τα συστατικά.

Στο Σχήμα 51 παρατίθενται τα φάσματα από το μίγμα EOM1 καθώς και τα επιμέρους αιθέρια έλαια που το απαρτίζουν. Παρατηρεί κανείς πως αρκετές κορυφές συμπίπτουν, γεγονός που ενισχύει την αρχική θέση πως τα συγκεκριμένα αιθέρια έλαια «ταιριάζουν» μεταξύ τους. Ίδια συμπεράσματα προκύπτουν και για το μίγμα EOM2, όπως φαίνεται στο Σχήμα 52.

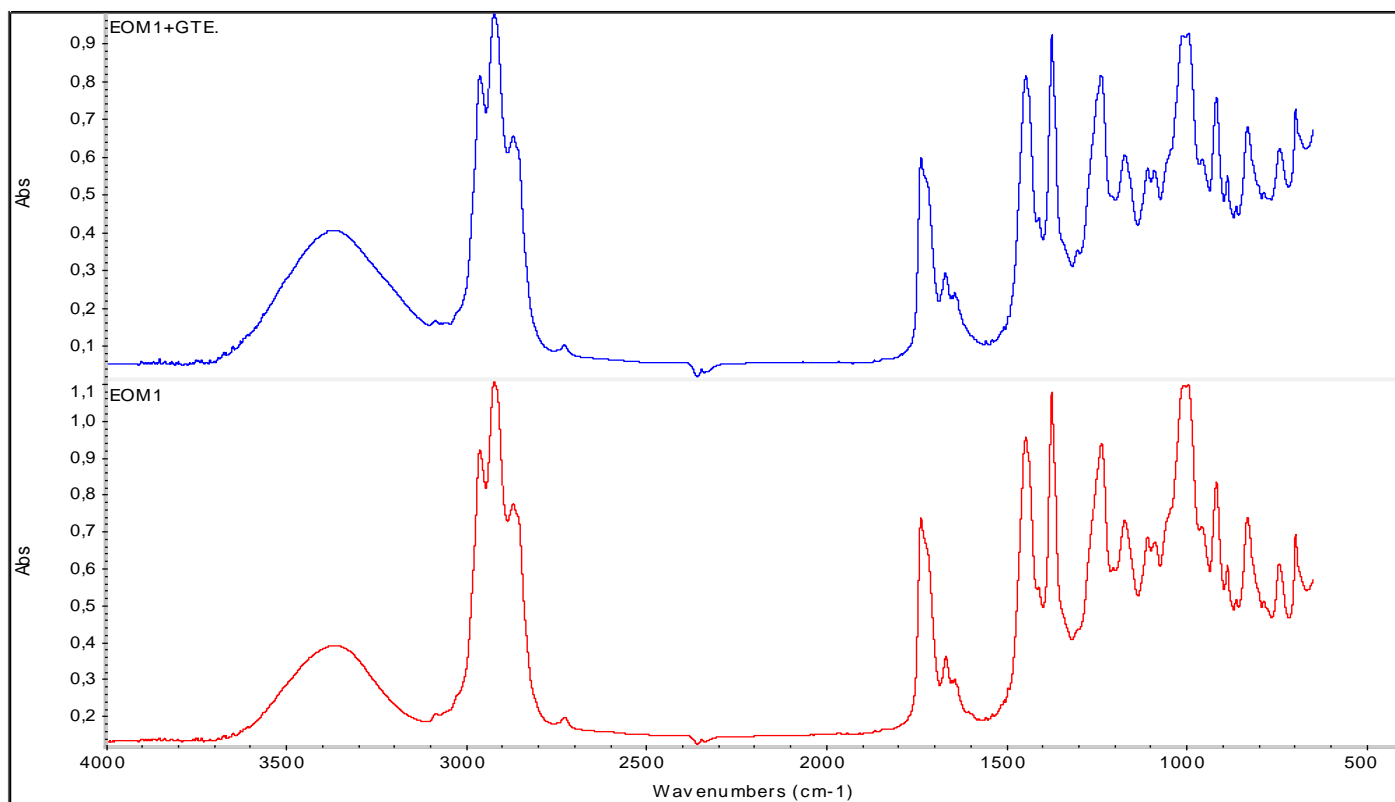
Στο Σχήμα 53 συγκρίνεται το φάσμα του μίγματος EOM1+GTE που περιέχει και εκχύλισμα πράσινου τσαγιού με αυτό του μίγματος που δεν περιέχει το εκχύλισμα. Τα φάσματα είναι σχεδόν πανομοιότυπα και με δυσκολία παρατηρεί κανείς διαφορές. Ίδια συμπεράσματα προκύπτουν και από το σχήμα 54, στο οποίο παρουσιάζεται το φάσμα του μίγματος EOM2+GTE που περιέχει και εκχύλισμα πράσινου τσαγιού, καθώς και το φάσμα του ίδιου μίγματος χωρίς την παρουσία του εκχυλίσματος.



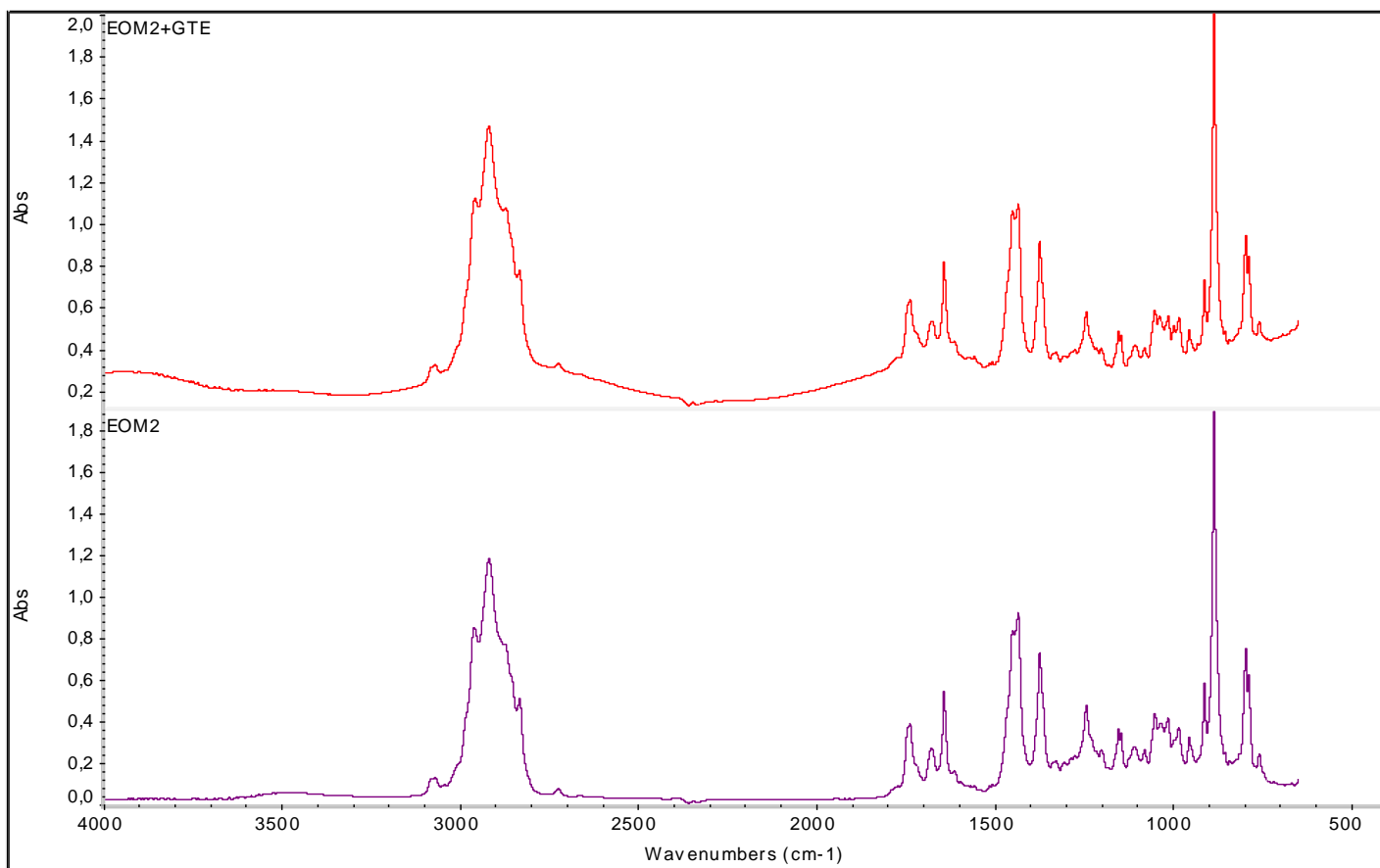
Σχήμα 51: Φάσματα FT-IR για το μίγμα EOM1 και τα επιμέρους αιθέρια έλαια



Σχήμα 52: Φάσματα FT-IR για το μίγμα EOM2 και τα επιμέρους αιθέρια έλαια



Σχήμα 53: Φάσματα FT-IR για τα μίγματα EOM1+GT και EOM1



Σχήμα 52: Φάσματα FT-IR για τα μίγματα EOM2+GT και EOM2

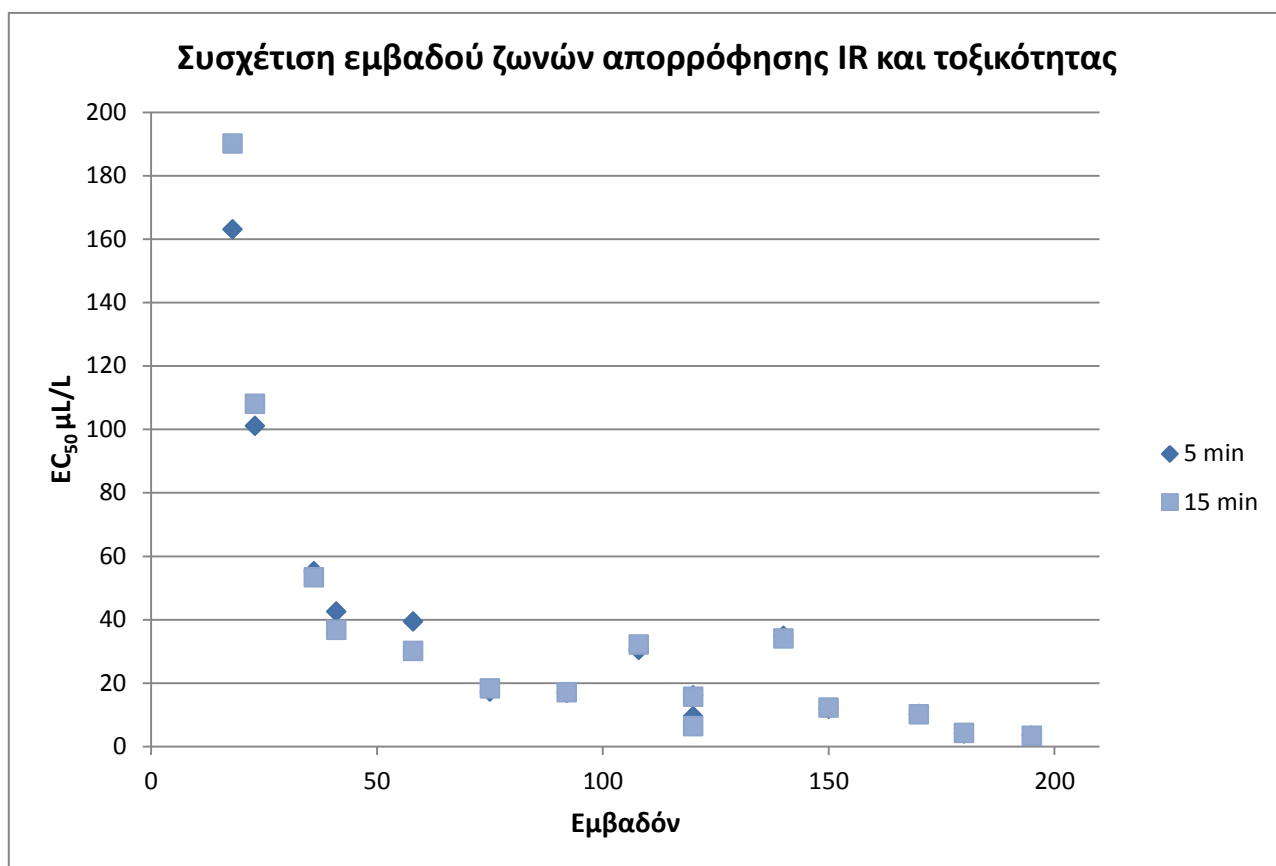
4.7 Συσχετισμός Φασμάτων FT-IR και Τοξικότητας

Όπως αναφέρθηκε και στην παράγραφο 1.3.2 η τοξικότητα στα αιθέρια έλαια συνδέεται συχνά με την παρουσία συγκεκριμένων χημικών ομάδων στα συστατικά τους, με κυριότερα τα οξυγονούχα τερπένια όπως αλκοόλες, φαινόλες και κετόνες. Οι αλκοόλες εμφανίζουν απορρόφηση στο φάσμα IR στις περιοχές από $3200 - 3650 \text{ cm}^{-1}$ και από $970 - 1250 \text{ cm}^{-1}$. Οι αλδεΐδες και οι κετόνες εμφανίζουν απορρόφηση IR στις περιοχές από $2690 - 2840 \text{ cm}^{-1}$ και από $1675 - 1780 \text{ cm}^{-1}$. Για τα σουλφίδια του σκόρδου, οι περιοχές απορρόφησης των δεσμών C-S και S-S κυμαίνονται στα $500 - 1000 \text{ cm}^{-1}$.

Για τις συγκεκριμένες περιοχές απορρόφησης, μετρήθηκαν τα εμβαδά κάτω από τις κορυφές για τα φάσματα των αιθέριων ελαίων και των μιγμάτων τους και οι τιμές παρατίθενται σε σχέση με τις EC_{50} στον Πίνακα 52. Η γραφική τους παράσταση δίνεται στο Σχήμα 55.

Πίνακας 52: Συσχέτιση εμβαδού ζωνών απορρόφησης IR και τοξικότητας

Δοκίμιο	Εμβαδόν	EC ₅₀ 5 min μL/L	EC ₅₀ 15 min μL/L
Αιθέριο Έλαιο Λεβάντα	75	17,2	18,2
Αιθέριο Έλαιο Γεράνι	150	11,7	12,1
Αιθέριο Έλαιο Παλμαρόζα	170	10,1	9,99
Αιθέριο Έλαιο Καρότο	36	55,2	53,2
Αιθέριο Έλαιο Λεμόνι	41	42,4	36,7
Αιθέριο Έλαιο Γκρέιπφρουτ	23	101	108
Αιθέριο Έλαιο Πατσουλί	18	163	190
Αιθέριο Έλαιο Δενδρολίβανο	120	9,45	6,26
Αιθέριο Έλαιο Φλισκούνι	108	30,3	32,0
Αιθέριο Έλαιο Γωλθερία	140	34,8	34,0
Αιθέριο Έλαιο Κανέλα	180	3,93	4,13
Αιθέριο Έλαιο Σκόρδο	195	3,27	3,24
EOM1	92	16,8	17,0
EOM1+GTE	120	16,0	15,6
EOM2	58	39,3	30,0
EOM2+GTE	52	24,5	18,7

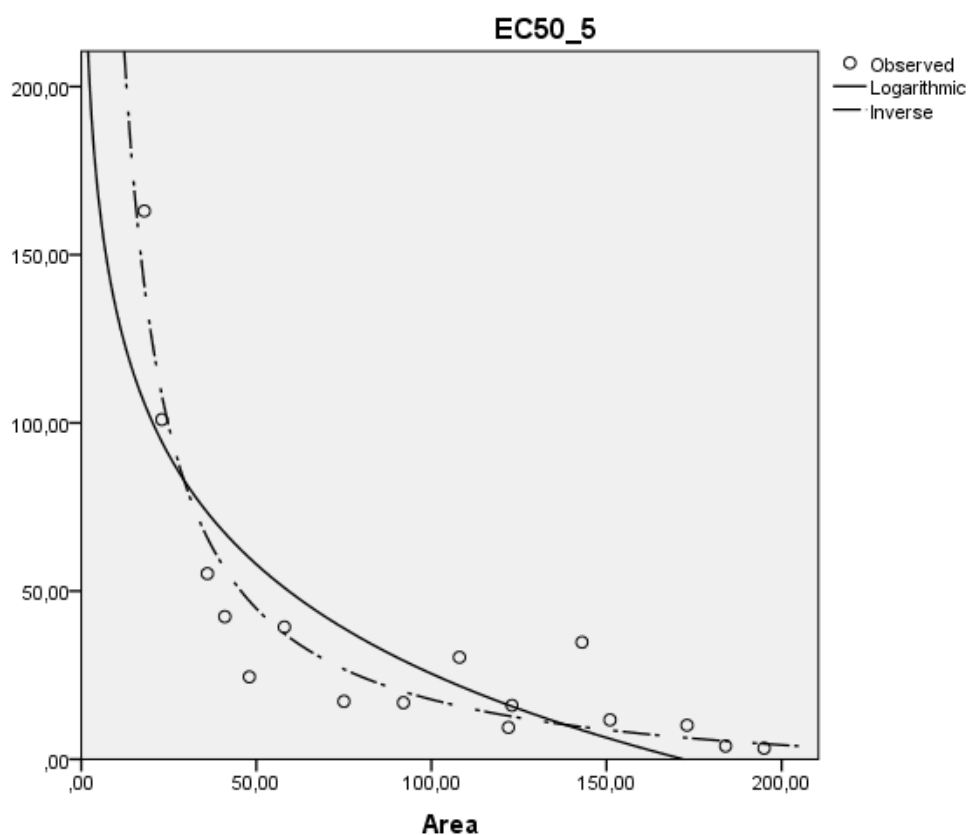


Σχήμα 53: Διάγραμμα συσχέτισης εμβαδού ζωνών απορρόφησης IR και τοξικότητας

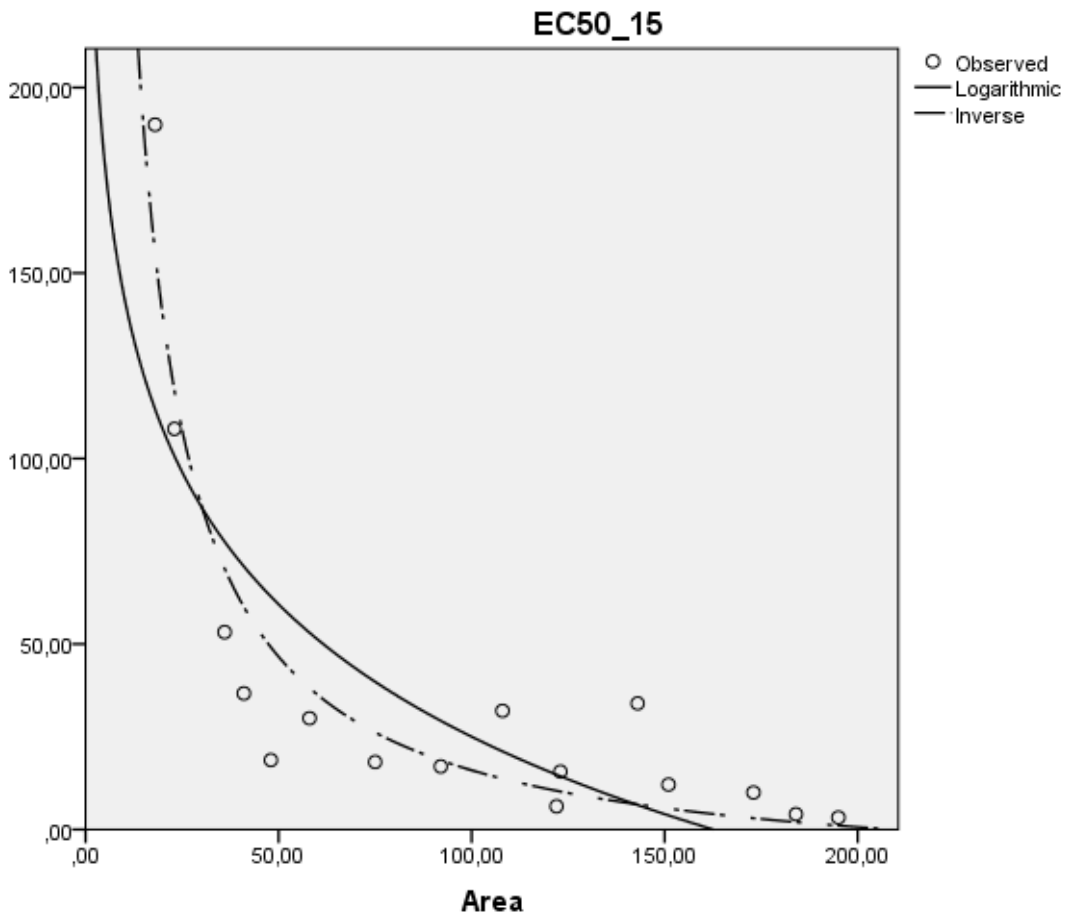
Από τη μορφή του διαγράμματος γίνεται φανερός ο συσχετισμός των δεδομένων με κάποια αντίστροφη ή λογαριθμική συνάρτηση. Για το λόγο αυτό γίνεται ανάλυση παλινδρόμησης με παρεμβολή αντίστροφης και λογαριθμικής καμπύλης με χρήση του λογισμικού SPSS. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον Πίνακα 53 και τα διαγράμματα στο Σχήμα 54 και 55. Από τις τιμές R^2 προκύπτει πως καλύτερη παρεμβολή αντιστοιχεί στην αντίστροφη συνάρτηση με $R^2 > 0,9$.

Πίνακας 53: Υπολογισμός στατιστικών παραμέτρων για ανάλυση παλινδρόμησης

Υπολογισμός Στατιστικών Παραμέτρων							
Dependent Variable: EC50_5							
Equation	Model Summary					Parameter Estimates	
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1
Logarithmic	0,719	35,803	1	14	,000	241,557	-46,933
Inverse	0,909	140,566	1	14	,000	-9,293	2704,710
Dependent Variable: EC50_15							
Equation	Model Summary					Parameter Estimates	
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1
Logarithmic	0,648	25,814	1	14	,000	262,092	-51,481
Inverse	0,873	96,282	1	14	,000	-14,645	3060,851



Σχήμα 54: Προσεγγιστικές καμπύλες για το συσχετισμό 5 min EC₅₀ – Εμβαδού ζωνών απορρόφησης IR



Σχήμα 55: Προσεγγιστικές καμπύλες για το συσχετισμό 15 min EC_{50} – Εμβαδού ζωνών απορρόφησης IR

4.8 Τελικά Συμπεράσματα και Μελλοντική Εργασία

Τα τελικά συμπεράσματα της παρούσας εργασίας μπορούν να συνοψιστούν στα παρακάτω σημεία:

- Υδατοδιαλυτά και λιποδιαλυτά συστατικά που προτείνονται ως πρώτες ύλες για χειροποίητα καλλυντικά από ανειδίκευτους παρασκευαστές εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση. Συγκεκριμένα υδατοδιαλυτά συστατικά συνεισφέρουν περισσότερο στην αντιοξειδωτική δράση ενός προϊόντος, δεδομένης της συγκέντρωσης που χρησιμοποιείται, σε σχέση με τα αιθέρια έλαια. Το εκχύλισμα πράσινου τσαγιού προσφέρει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση ακόμα και σε μικρές ποσότητες.
- Οι μέθοδοι προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης Folin-Ciocalteu, DPPH και ABTS εμφανίζουν διαφορετική ευαισθησία για τα υδατοδιαλυτά και λιποδιαλυτά

συστατικά. Για τα πρώτα υπάρχει ισχυρός συσχετισμός ανάμεσα στις μεθόδους, ενώ για τα δεύτερα ασθενής.

- Τα υδατοδιαλυτά συστατικά εμφανίζουν μικρότερη τοξική δράση έναντι του βακτηρίου *Vibrio fischeri* σε σχέση με τα αιθέρια έλαια, με τους δείκτες τοξικότητας τρεις περίπου τάξεις μεγέθους μικρότερους.
- Η μέγιστη μη τοξική ποσότητα για τα αιθέρια έλαια έναντι του βακτηρίου *Vibrio fischeri* προκύπτει τρεις τάξεις μεγέθους μικρότερη από τη συνιστώμενη συγκέντρωση σε καλλυντικά σκευάσματα.
- Τα κύρια συστατικά ενός αιθέριου ελαίου καθορίζουν την εικόνα στο IR φάσμα του. Για το λόγο αυτό, είναι εύκολος ο προσδιορισμός του χημειότυπου ενός αιθέριου ελαίου με την IR φασματοσκοπία. Το ίδιο ισχύει και για μίγματα αιθέριων ελαίων.
- Υπάρχει συσχετισμός ανάμεσα στην τοξική δράση του αιθέριου ελαίου και του εμβαδού περιοχών του IR φάσματός τους που αντιστοιχούν στις ζώνες απορρόφησης των οξυγονούχων τερπενίων και άλλων βιοδραστικών ομάδων.

Μελλοντικές εργασίες θα μπορούσαν να εστιάσουν στα παρακάτω σημεία:

- Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης αιθέριων ελαίων με άλλες μεθόδους και σύγκριση των μεθόδων ώστε να διαπιστωθούν συσχετισμοί και ευαισθησία που επιδεικνύει η κάθε μέθοδος σε συγκεκριμένες χημικές ομάδες συστατικών τους.
- Μελέτη υποβάθμισης αιθέριων ελαίων και αλλαγής των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων τους που αφορά στην απλή τους χρήση από ανειδίκευτους χρήστες. Η μελέτη αυτή μπορεί να γίνει τόσο μέσω μεθόδων προσδιορισμού αντιοξειδωτικής δράσης, όσο και με τη χρήση της φασματοσκοπίας IR.
- Μελέτη βοτανικών εκχυλισμάτων που χρησιμοποιούνται συχνά σε παρασκευές χειροποίητων καλλυντικών, όπως καλέντουλας, άρνικας, σαμπούκου κλπ.
- Συσχετισμός τοξικότητας που προσδιορίζεται με τη μέθοδο MICROTOX με άλλες μεθόδους, έτσι ώστε να είναι πιο σαφής η σύνδεση της τοξικότητας μίας ουσίας από το βακτήριο *Vibrio fischeri* στον ανθρώπινο οργανισμό.
- Έλεγχος τοξικότητας συγκεκριμένων χημικών ουσιών που περιέχονται στα αιθέρια έλαια ώστε να γίνει ο συσχετισμός μεταξύ τοξικότητας βιοδραστικών ομάδων και αιθέριων ελαίων.
- Έλεγχος συσχετισμού τοξικότητας και παραμέτρων που εμφανίζονται στην IR φασματοσκοπία (ύψη, εμβαδά, περιοχές απορρόφησης κλπ.).

5. Βιβλιογραφία

- [1]: Price, S. and Price, L., *Aromatherapy for Health Professionals*, Elsevier LTD, UK, 2007.
- [2]: Schnaubelt, K., *Advanced Aromatherapy: The science of essential oil therapy*, Healing Arts Press, Canada, 1998.
- [3]: Συλλογικό έργο, *Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Applications*, edited by Baser, K. H. C. and Buchbauer, G., CRS Press, USA, 2010.
- [4]: Gatefousse, R.-M., *Gattefousse's Aromatherapie*, Aurau, 1994.
- [5]: Valnet, J., *The Practice of Aromatherapie*, Random House, UK, 2004.
- [6]: Samuelsson, G., *Φαρμακευτικά Προϊόντα Φυσικής Προελεύσεως*, απόδοση στην Ελληνική: Κορδοπάτης, Π., Μάνεση-Ζούπα, Ε., Πάϊρας, Γ., Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Κρήτη, 2004.
- [7]: Franchomme, P., Penoel, D., *L' Aromatherapie exactement*, Limoges, 1990.
- [8]: Schnaubelt, K., *Medical Aromatherapy: Healing with essential oils*, Frog Books, UK, 1999.
- [9]: Bowles, E. J., *The Chemistry of Aromatherapeutic Oils*, Allen and Unwin, USA, 2004.
- [10]: Δετοράκης, Ι., *Βασικές Αρχές Υγιεινής*, Παρισιάνου Α.Ε., Ελλάδα, 2003.
- [11]: Herz, R. S., Aromatherapy Facts and Fictions: A Scientific Analysis of Olfactory Effects on Mood, Physiology and Behavior, *International Journal of Neuroscience*, 2009, 119:2, pp. 263 – 290.
- [12]: Vickers, A., Why aromatherapy works (even if it doesn't) and why we need less research, *British Journal of General Practice*, 50(455), pp. 444–445.
- [13]: Lahlou, M., Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action, *Flavour and Fragrance Journal*, 2004, 19, pp. 159–165.
- [14]: Cooke, B., and Ernst, E., Aromatherapy: A systematic review, *British Journal of General Practice*, 2000, 50, pp. 493–496.
- [15]: Herz, R. S., Odor-associative learning and emotion: Effects on perception and behavior, *Chemical Senses*, 2005, 30, pp. 250–251.
- [16]: Κωνσταντινίδης Ι, Κωνσταντινίδης Ι, Ψηφίδης Α., *Διαταραχές της Οσφρησης – Οσφρησιμετρία*, http://www.iatrikionline.gr/Orl_23/5.pdf

- [17]: Lis-Balchin, M., and Hart, S., Studies on the mode of action of the essential oil of lavender (*Lavandula angustifolia* P. Miller), *Phytotherapy Research*, 1999, 13, pp. 540–542.
- [18]: Elisabetsky, E., Marschener, J., & Souza, D. O., Effects of linalool on glutaminergic system in the rat cerebral cortex, *Neurochemistry Research*, 1995, 20, pp. 461–465.
- [19]: Prior, R., Wu, X., Schaich, K., Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53, pp. 4290 – 4302.
- [20]: Miguel, M. G., Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review, *Molecules*, 2010, 15, 9252-9287.
- [21]: Bajpai, V., Sharma, A., Kim, S. H., Baek, K-H., Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Essential Oil Obtained by Microwave-Assisted Hydrodistillation from Sawdust of *Chamaecyparis obtuse*, *Food Technology and Biotechnology*, 2013, 51 (3), pp. 360–369.
- [22]: Mantle, D., Anderton, J., Falkous, G., Barnes, M., Jones, P., Perry, E. Comparison of methods for determination of total antioxidant status: application to analysis of medicinal plant essential oils, *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part B, 1998, 121, pp. 385–391.
- [23]: Saleh, M., Clark, S., Woodart, B., Deolu-Sobogun, Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Essential Oils, *Ethnicity and Disease*, 2010, S1-78 – S1-82.
- [24]: Novo, E., Parola, M., Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis, *Fibrogenesis and Tissue Repair*, 2008, 1:5.
- [25]: Συλλογικό έργο, The Alpha-Tocopherol Beta Carotene Cancer Prevention Study Group, The Effect of Vitamin E and Beta Carotene on the Incidence of Lung Cancer and Other Cancers in Male Smokers, *The New England Journal of Medicine*, 1994, 330, pp. 1029-1035.
- [26]: Ruberto, G., Baratta, M., Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems, *Food Chemistry*, 2000, 69, pp. 167-174.
- [27]: Teixeira, B. et al, Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils, *Industrial Crops and Products*, 2013, 43, pp. 587-595.

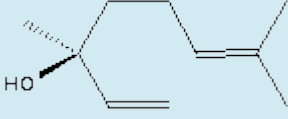
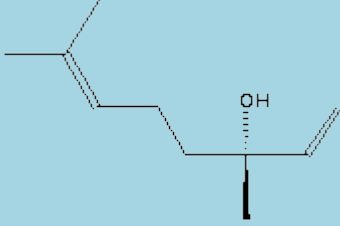
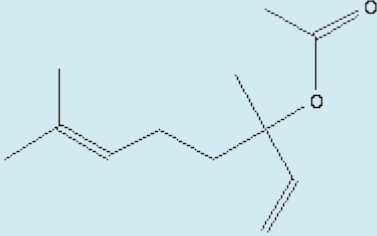
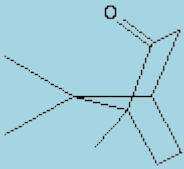
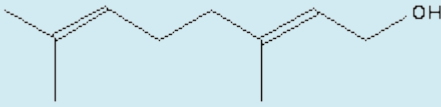
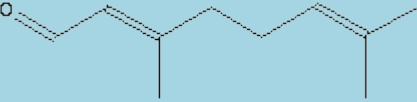
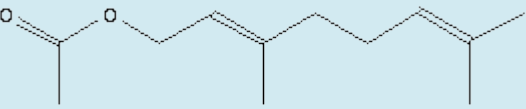
- [28]: Συλλογικό έργο, *The Book of Modern Toxicology*, ed. by Hodgson, E., Wiley&Sons, NY, 2010.
- [29]: National Library of Medicine, Environmental Health and Toxicology, *Toxicology Tutors*, <http://sis.nlm.nih.gov/enviro/toxtutor.html>
- [30]: Συλλογικό έργο, *Principles of Toxicology*, ed. by Williams, P., James, R., Roberts, S., Wiley&Sons, NY, 2000.
- [31]: Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., Biological effects of essential oils – A review, *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46, pp. 446-475.
- [32]: Skotti, E., Anastasaki, E., Kanellou, G., Polissiou, M., Tarantilis, P., Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and aromatic plants, *Industrial Crops and Products*, 2014, 53, 46-54.
- [33]: Conforti, F., Ioele, G., Statti, G.A., Marrelli, M., Ragno, G., Menichini, F., Antiproliferative activity against human tumor cell lines and toxicity test on Mediterranean dietary plants, *Food Chem. Toxicol.* 46, pp. 3325–3332.
- [34]: Zhang, J., Liu, S., Dou, R., Liu, H., Zhang, J., Evaluation of the toxicity of ionic liquid mixture with antagonism and synergism to *Vibrio qinghaiensis* sp.Q67, *Chemosphere*, 82, pp. 1024–1029.
- [35]: Backhaus, T., Scholze, M., Grimme, L.H., The single substance and mixture toxicity of quinolones to the bioluminescent bacterium *Vibrio fischeri*, *Aquatic Toxicology*, 2000, 49, pp. 49–61.
- [36]: Cotou, E., Papathanassiou, E., Tsangaris, C., 2002, Assessing the quality of marine coastal environments: comparison of scope for growth and Microtox® bioassay results of pollution gradient areas in eastern Mediterranean (Greece), *Environmental Pollution*, 2002, 119, pp. 141–149.
- [37]: Parvez, S., Venkataraman, C., Mukherji, S., A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals, *Environ. Int.*, 2006, 32, pp. 265–268.
- [38]: Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Methods Enzymol.*, 1999, 299, pp. 152–178.
- [39]: Surveswaran, S., Cai, Y.-Z., Corke, H., Sun, M., Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants, 2007, *Food Chemistry*, 2007, 102, pp. 938–953.

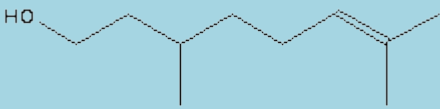

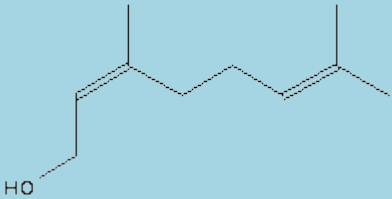
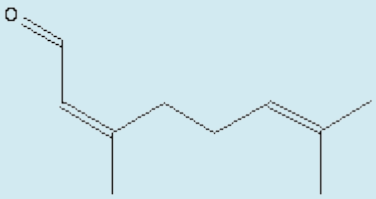
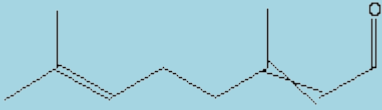
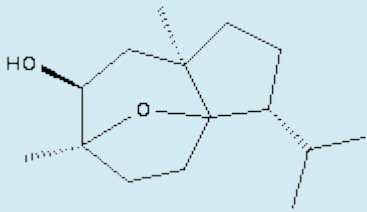
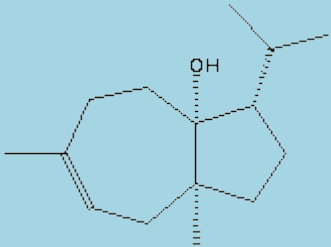
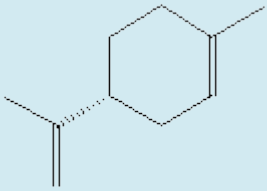
- [40]: Ree, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., *Free Radic. Biol. Med*, 1999, 26, pp. 1231–1237.
- [41]: AZUR, *Microtox Manual*, vol. 1–4, Azur Environmental (formerly Microbics Corporation), 1997, Carlsbad, CA.
- [42]: ISO 11348-3:2007
Water quality -- Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of Vibrio fischeri (Luminescent bacteria test) -- Part 3: Method using freeze-dried bacteria
- [43]: M. Grieve, C. F. Leyel, and Mrs. C. F. Leyel, *A Modern Herbal*, Tiger Books, New Edition, 1996.
- [44]: Murray, M., Pizzorno, J., *The Encyclopedia of Natural Medicine*, Atria Books, 2012.
- [45]: Συλλογικό έργο, *Lavender, the genus Lavandula*, ed. by Lis-Balchin, M., Medicinal and aromatic plants – industrial profiles, vol. 29.
- [46]: Βενετσάνου, Κ., *Μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών και αφεψημάτων από μίγματα επιλεγμένων βοτάνων*, Μεταπτυχιακή Εργασία, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, ΠΜΣ Γενικού Τμήματος, Θετικές Επιστήμες στη Γεωπονία, Κλάδος III: Μελέτη και Αξιοποίησης Φυσικών Προϊόντων, 2014.
- [47]: Xu, W., et al, Antibacterial effect of Grapefruit Seed Extract on food-borne pathogens and its application in the preservation of minimally processed vegetables, *Postharvest Biology and Technology*, 2007, Vol. 45-1, pp. 126-133.
- [48]: James, R., Dindal, A., Willenberg, Z., Riggs, K., *Strategic Diagnostics Inc. Microtox® Rapid Toxicity Testing System*, Environmental Technology Verification Report, ETV Advanced Monitoring Systems Center, 2003, http://www.epa.gov/etv/pubs/01_vr_microtox.pdf
- [49]: NIST Chemistry WebBook, <http://webbook.nist.gov/>
- [50]: Spectral Database for Organic Compounds SDBS, http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre_index.cgi
- [51]: Canjewala, D., Cymbopogon essential oils: Chemical compositions and bioactivities, *International Journal of Essential Oil Therapeutics*, 2009, 3, pp. 56-65

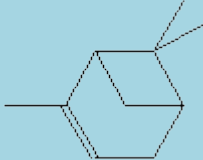

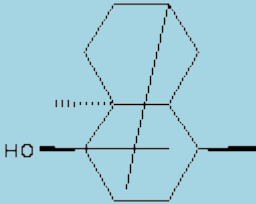
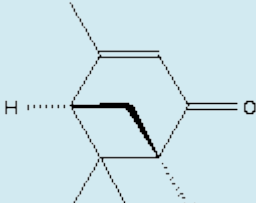
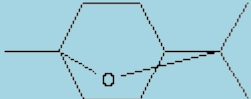
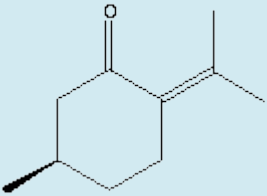
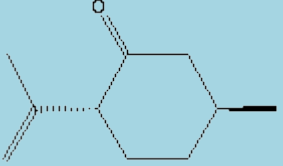
[52]: Wang, R., Wang, R., Yang, B., Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2009, Vol. 10-2, pp. 289-292.

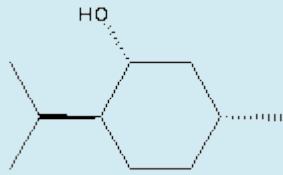
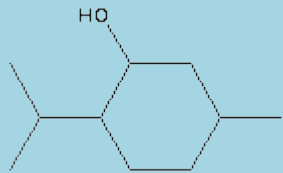
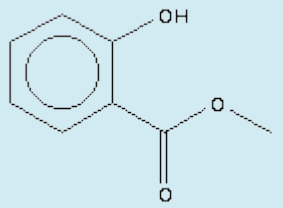
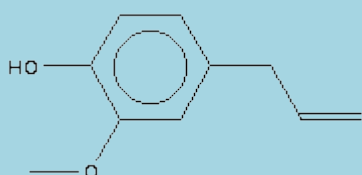
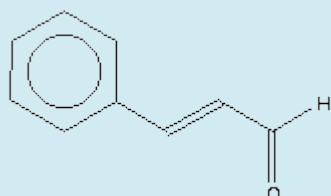


ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

Ονόματα και δομές κύριων συστατικών των αιθέριων ελαίων που χρησιμοποιήθηκαν στην εργασία.

R-Λιναλοόλη	
S-Λιναλοόλη	
Οξικός Εστέρας Λιναλοόλης	
Καμφορά	
Γερανιόλη	
Γερανιάλη (Κιτράλη Α)	
Οξικός Εστέρας Γερανιόλης	

Κιτρονελλόλη	
Κιτρονελλάλη	
Νερόλη (cis-Γερανιόλη)	
Νεράλη (Κιτράλη Β)	
Κιτράλη (cis&trans)	
Δαυκόλη	
Καροτόλη	
D-Λιμονένιο	

<p>α-Πινένιο</p>	
<p>β-Πινένιο</p>	
<p>Πατσουλόλη</p>	
<p>S-(-)-Βερμπενόνη</p>	
<p>1,8-Κινεόλη (Ευκαλυπτόλη)</p>	
<p>R-(+)-Πουλεγόνη</p>	
<p>cis-Ισοπουλεγόνη</p>	

(-)-Μενθόλη	
Μενθόλη	
Σαλικυλικό Μεθύλιο	
Ευγενόλη	
Κινναμωμική Αλδεΐδη	
Διάλλυλο Δισουλφίδιο	
Διάλλυλο Τρισουλφίδιο	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β

Δεδομένα MICROTOX™

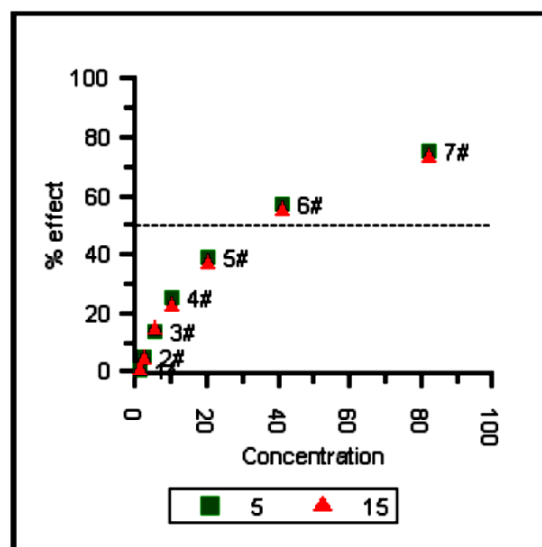
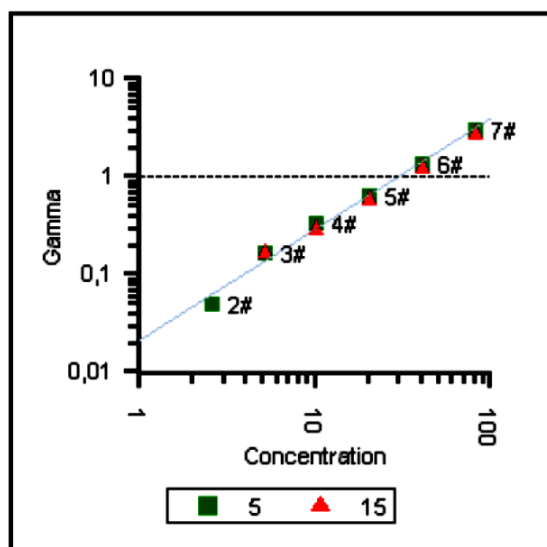
Εκχύλισμα Λεβάντας

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 29,79%
(95% Confidence Range: 24,94 to 35,58)
95% Confidence Factor: 1,194
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,8743 \times \text{LOG G} + 1,474$
Correction Factor: 1,085
Slope: 1,134
Coeff of Determination (R²): 0,9915

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 32,28%
(95% Confidence Range: 28,08 to 37,10)
95% Confidence Factor: 1,149
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,9735 \times \text{LOG G} + 1,509$
Correction Factor: 0,9898
Slope: 1,022
Coeff of Determination (R²): 0,9951



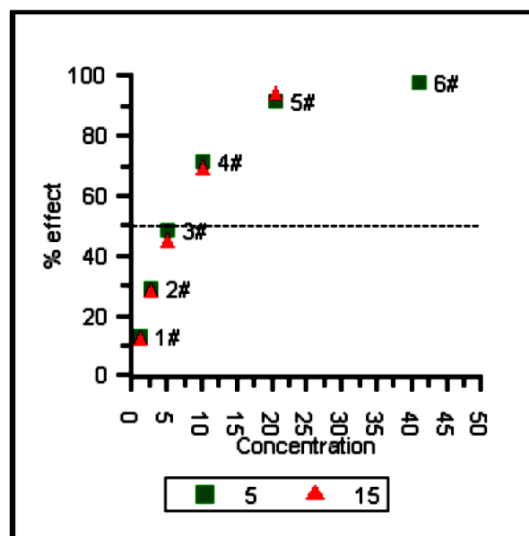
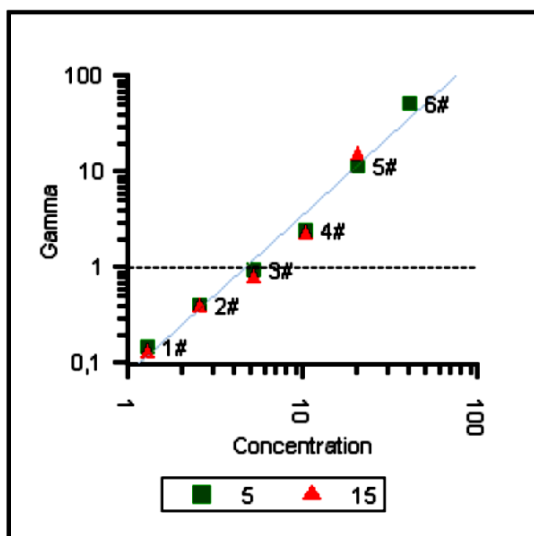
Ανθόνερο Τριαντάφυλλο

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 4,653%
(95% Confidence Range: 3,695 to 5,858)
95% Confidence Factor: 1,259
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,5929 \times \text{LOG G} + 0,6677$
Correction Factor: 1,282
Slope: 1,657
Coeff of Determination (R^2): 0,9828

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 4,976%
(95% Confidence Range: 3,609 to 6,861)
95% Confidence Factor: 1,379
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,5992 \times \text{LOG G} + 0,6969$
Correction Factor: 1,435
Slope: 1,616
Coeff of Determination (R^2): 0,9682



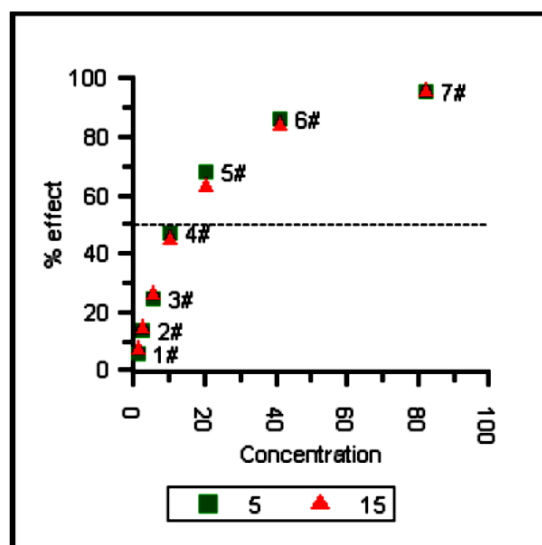
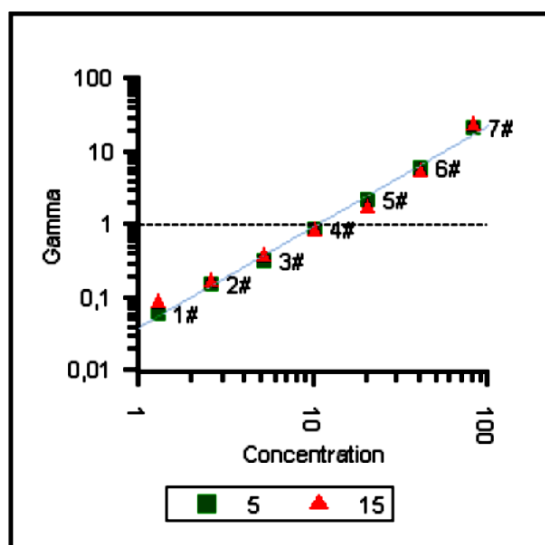
Ανθόνηρο Λεμόνι

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 10,52%
(95% Confidence Range: 9,464 to 11,68)
95% Confidence Factor: 1,111
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,7223 \times \text{LOG G} + 1,022$
Correction Factor: 1,176
Slope: 1,378
Coeff of Determination (R^2): 0,9956

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 10,50%
(95% Confidence Range: 8,447 to 13,05)
95% Confidence Factor: 1,243
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,7532 \times \text{LOG G} + 1,021$
Correction Factor: 1,314
Slope: 1,303
Coeff of Determination (R^2): 0,9814



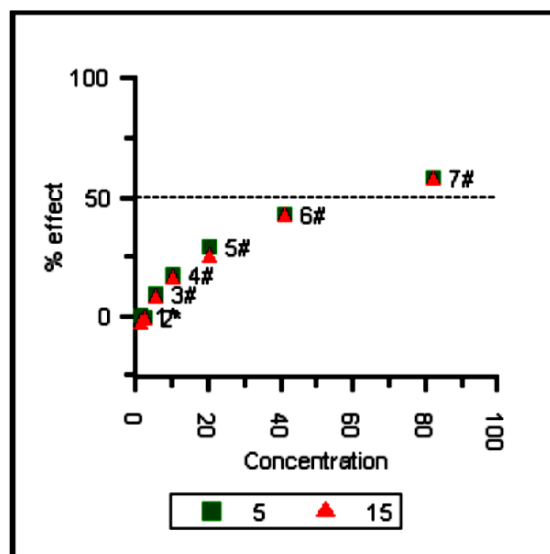
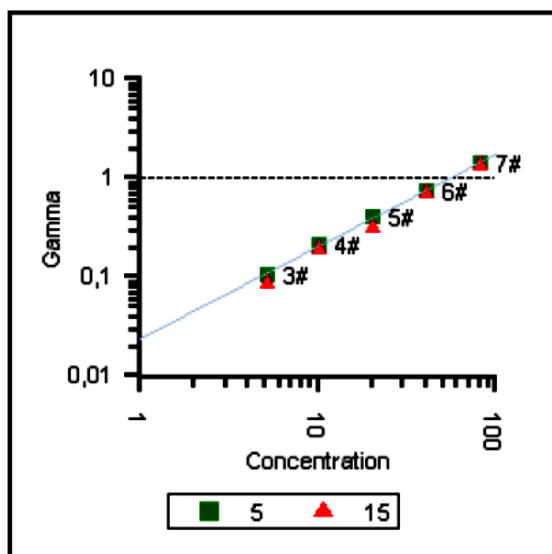
Ανθόνερο Κενταύρια

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 56,11%
(95% Confidence Range: 51,77 to 60,82)
95% Confidence Factor: 1,084
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,073 \times \text{LOG G} + 1,749$
Correction Factor: 1,147
Slope: 0,9308
Coeff of Determination (R^2): 0,9990

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 59,63%
(95% Confidence Range: 51,47 to 69,08)
95% Confidence Factor: 1,158
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,016 \times \text{LOG G} + 1,775$
Correction Factor: 1,156
Slope: 0,9814
Coeff of Determination (R^2): 0,9970



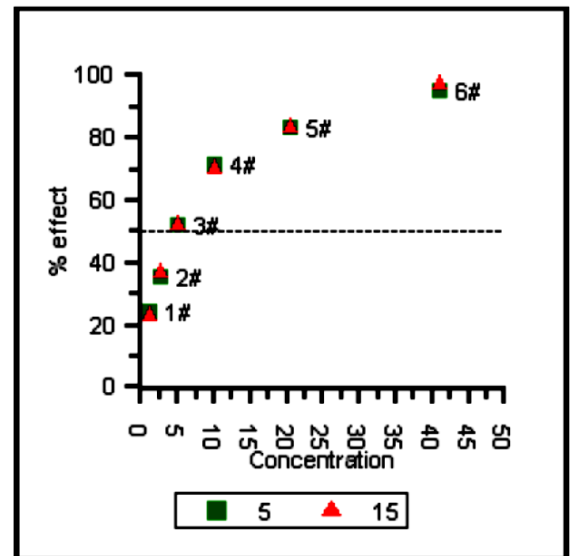
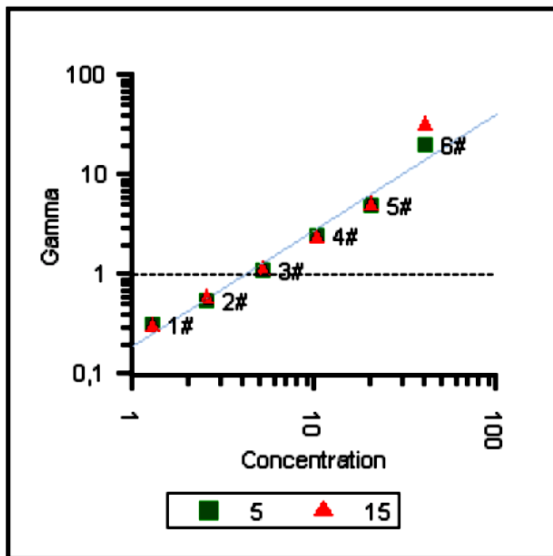
Εκχύλισμα Σπόρων Γκρέιπφρουτ

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 4,205%
(95% Confidence Range: 3,177 to 5,565)
95% Confidence Factor: 1,324
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,8383 \times \text{LOG G} + 0,6238$
Correction Factor: 1,220
Slope: 1,164
Coeff of Determination (R^2): 0,9761

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 4,227%
(95% Confidence Range: 2,847 to 6,277)
95% Confidence Factor: 1,485
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,7569 \times \text{LOG G} + 0,6260$
Correction Factor: 1,360
Slope: 1,258
Coeff of Determination (R^2): 0,9524



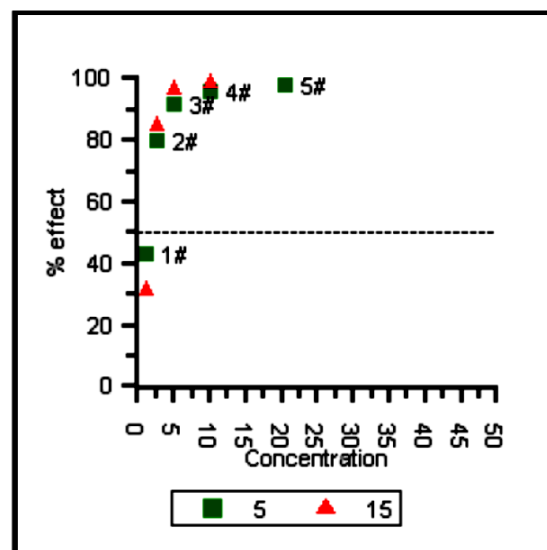
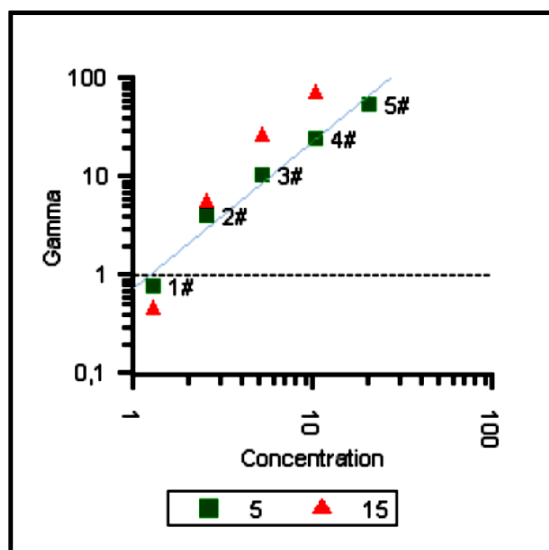
Εκχύλισμα Αλόης

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 1,271%
(95% Confidence Range: 0,7558 to 2,138)
EC50 value was calculated from extrapolated data.
95% Confidence Factor: 1,682
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,6510 \times \text{LOG G} + 0,1042$
Correction Factor: 1,089
Slope: 1,494
Coeff of Determination (R^2): 0,9729

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 1,561%
(95% Confidence Range: 0,7860 to 3,102)
95% Confidence Factor: 1,987
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,3986 \times \text{LOG G} + 0,1935$
Correction Factor: 0,9436
Slope: 2,413
Coeff of Determination (R^2): 0,9619



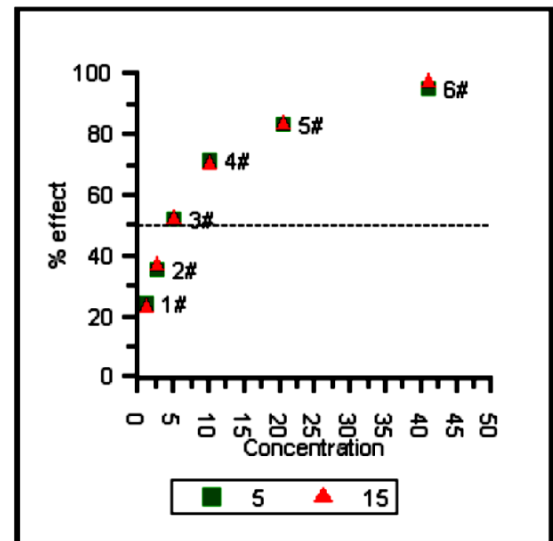
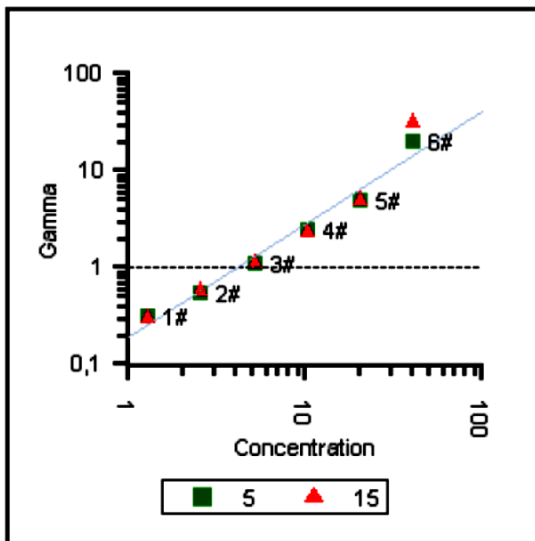
Συντηρητικό GEOGARD®

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 4,205%
 (95% Confidence Range: 3,177 to 5,565)
 95% Confidence Factor: 1,324
 Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,8383 \times \text{LOG G} + 0,6238$
 Correction Factor: 1,220
 Slope: 1,164
 Coeff of Determination (R²): 0,9761

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 4,227%
 (95% Confidence Range: 2,847 to 6,277)
 95% Confidence Factor: 1,485
 Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,7569 \times \text{LOG G} + 0,6260$
 Correction Factor: 1,360
 Slope: 1,258
 Coeff of Determination (R²): 0,9524



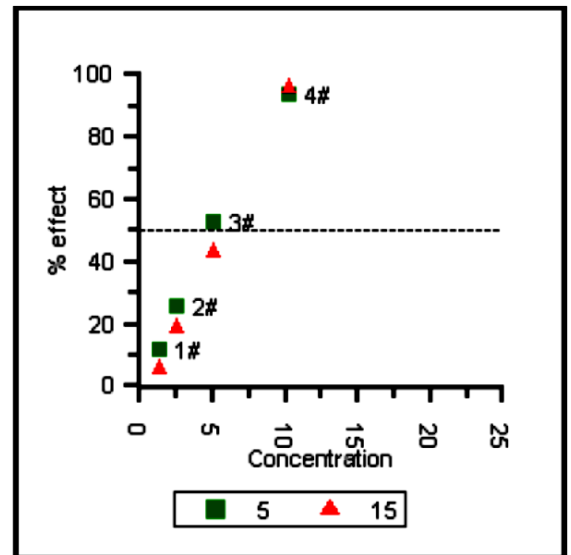
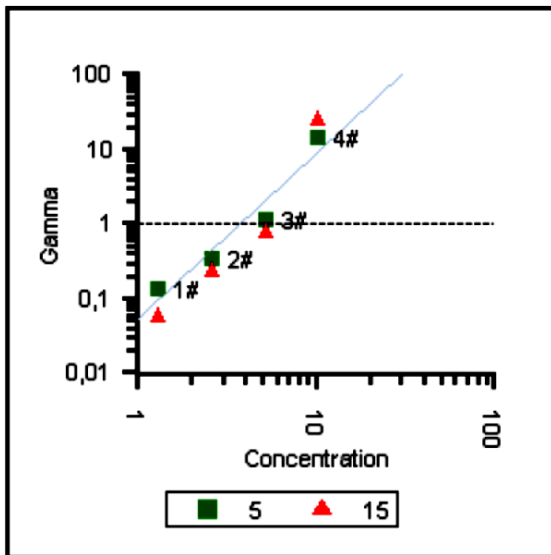
Μίγμα FWI

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 3,730%
(95% Confidence Range: 2,124 to 6,549)
95% Confidence Factor: 1,756
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,4268 \times \text{LOG G} + 0,5717$
Correction Factor: 1,110
Slope: 2,210
Coeff of Determination (R^2): 0,9431

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 4,072%
(95% Confidence Range: 2,173 to 7,633)
95% Confidence Factor: 1,874
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,3309 \times \text{LOG G} + 0,6098$
Correction Factor: 1,039
Slope: 2,812
Coeff of Determination (R^2): 0,9307



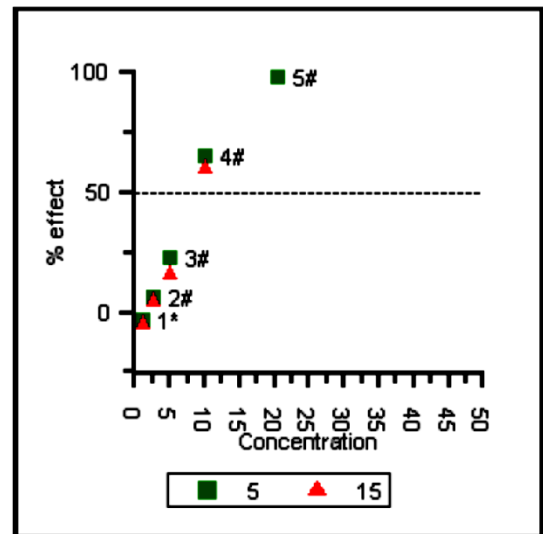
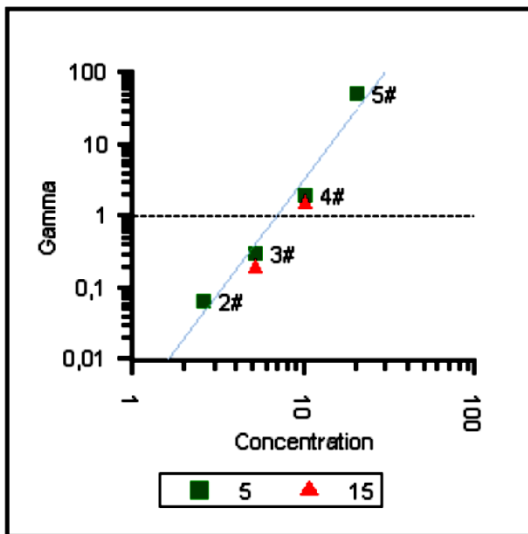
Μίγμα FW2

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 6,922%
(95% Confidence Range: 4,498 to 10,65)
95% Confidence Factor: 1,539
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,3053 \times \text{LOG G} + 0,8402$
Correction Factor: 1,084
Slope: 3,166
Coeff of Determination (R^2): 0,9667

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 8,976%
EC50 was calculated from two points.
Cannot calculate regression confidence factor for two points.
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,3356 \times \text{LOG G} + 0,9531$
Correction Factor: 1,110
Slope: 2,979



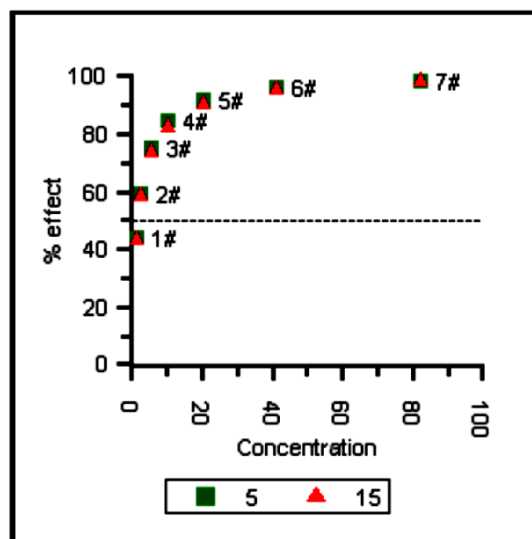
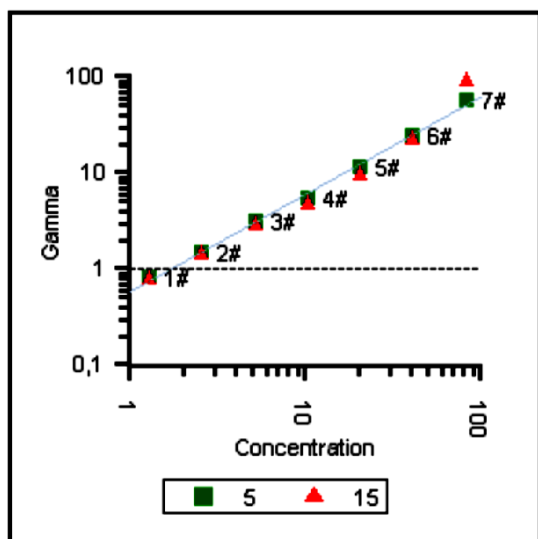
Αιθέριο Έλαιο Λεβάντα

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 1,724%
(95% Confidence Range: 1,509 to 1,970)
95% Confidence Factor: 1,143
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,9840 \times \text{LOG G} + 0,2366$
Correction Factor: 1,017
Slope: 1,014
Coeff of Determination (R^2): 0,9974

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 2,030%
(95% Confidence Range: 1,370 to 3,007)
95% Confidence Factor: 1,482
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,9010 \times \text{LOG G} + 0,3074$
Correction Factor: 0,9509
Slope: 1,082
Coeff of Determination (R^2): 0,9746



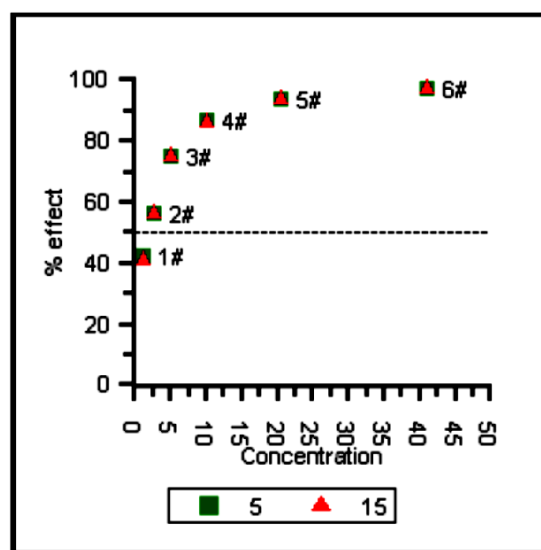
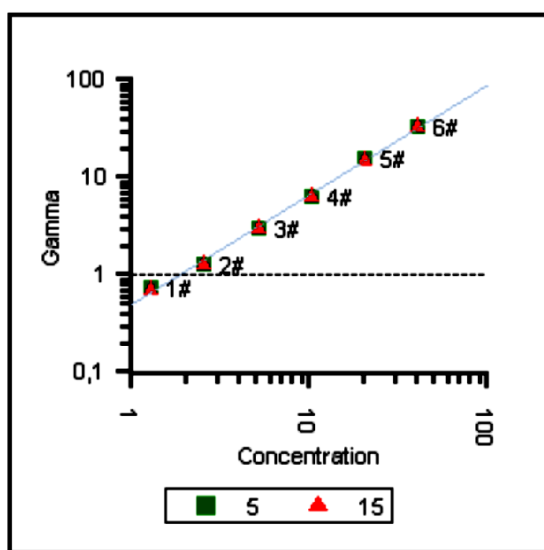
Αιθέριο Έλαιο Γεράνι

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 1,874%
(95% Confidence Range: 1,645 to 2,134)
95% Confidence Factor: 1,139
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,8869 \times \text{LOG G} + 0,2728$
Correction Factor: 1,160
Slope: 1,124
Coeff of Determination (R^2): 0,9973

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 1,928%
(95% Confidence Range: 1,716 to 2,166)
95% Confidence Factor: 1,124
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,8789 \times \text{LOG G} + 0,2850$
Correction Factor: 1,214
Slope: 1,135
Coeff of Determination (R^2): 0,9978



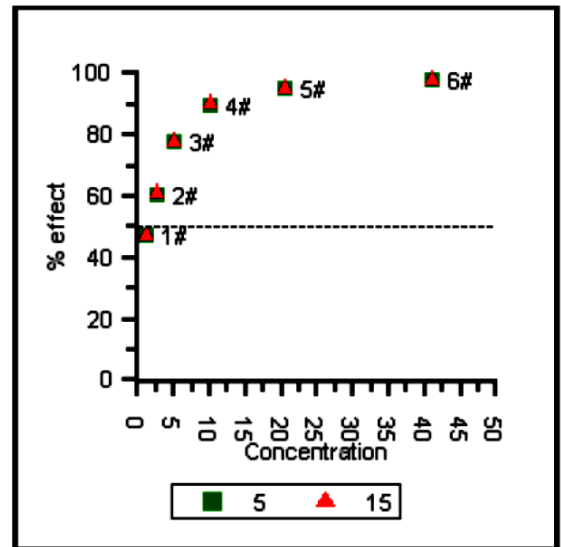
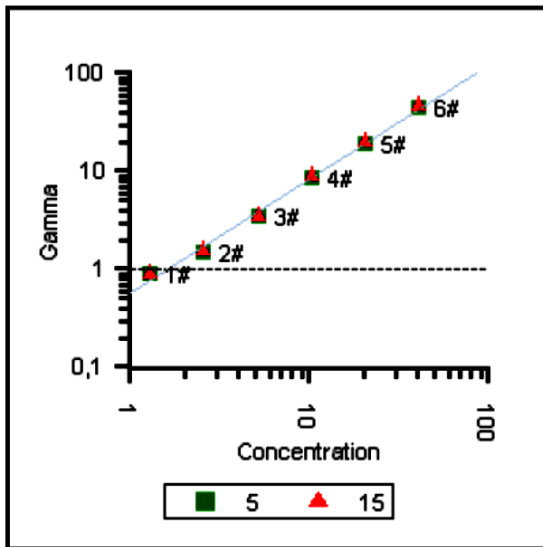
Αιθέριο Έλαιο Παλμαρόζα

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 1,620%
(95% Confidence Range: 1,355 to 1,936)
95% Confidence Factor: 1,195
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,8568 \times \text{LOG G} + 0,2095$
Correction Factor: 1,229
Slope: 1,162
Coeff of Determination (R^2): 0,9955

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 1,598%
(95% Confidence Range: 1,333 to 1,916)
95% Confidence Factor: 1,199
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,8484 \times \text{LOG G} + 0,2036$
Correction Factor: 1,344
Slope: 1,173
Coeff of Determination (R^2): 0,9954



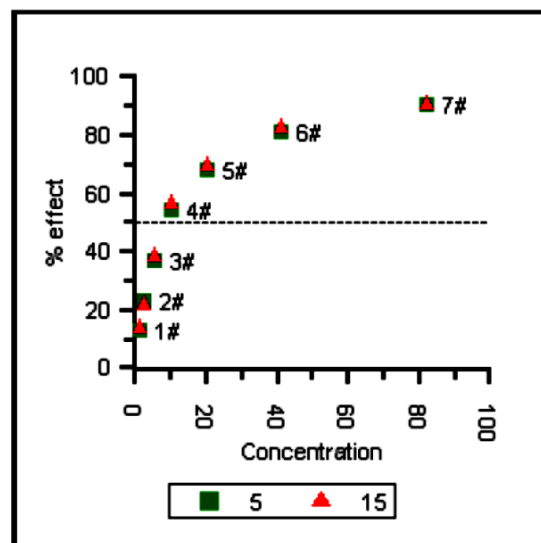
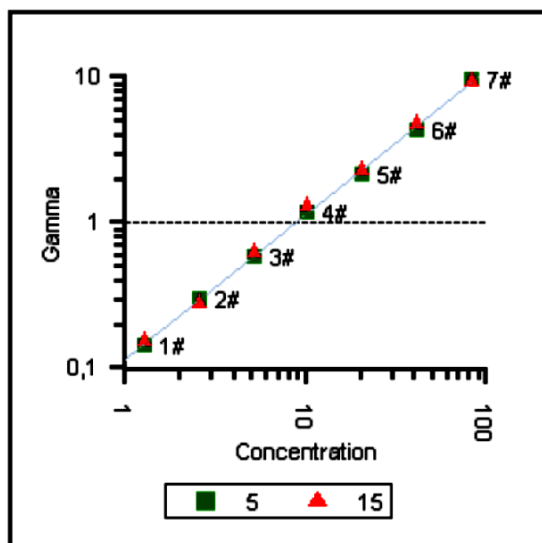
Αιθέριο Έλαιο Καρότο

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 8,837%
(95% Confidence Range: 8,373 to 9,326)
95% Confidence Factor: 1,055
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,008 \times \text{LOG G} + 0,9463$
Correction Factor: 1,199
Slope: 0,9906
Coeff of Determination (R^2): 0,9989

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 8,517%
(95% Confidence Range: 8,096 to 8,960)
95% Confidence Factor: 1,052
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,006 \times \text{LOG G} + 0,9303$
Correction Factor: 1,323
Slope: 0,9929
Coeff of Determination (R^2): 0,9990



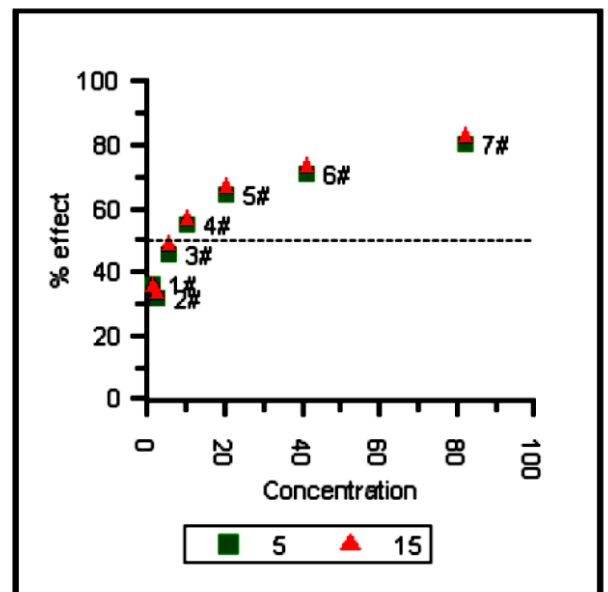
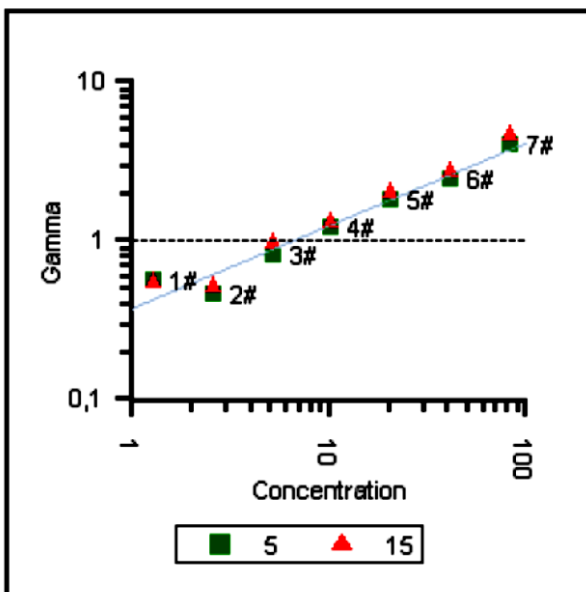
Αιθέριο Έλαιο Λεμόνι

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 6,758%
 (95% Confidence Range: 4,784 to 9,545)
 95% Confidence Factor: 1,413
 Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,837 \times \text{LOG G} + 0,8298$
 Correction Factor: 1,163
 Slope: 0,5209
 Coeff of Determination (R^2): 0,9571

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 5,866%
 (95% Confidence Range: 4,391 to 7,836)
 95% Confidence Factor: 1,336
 Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,779 \times \text{LOG G} + 0,7683$
 Correction Factor: 1,347
 Slope: 0,5462
 Coeff of Determination (R^2): 0,9717



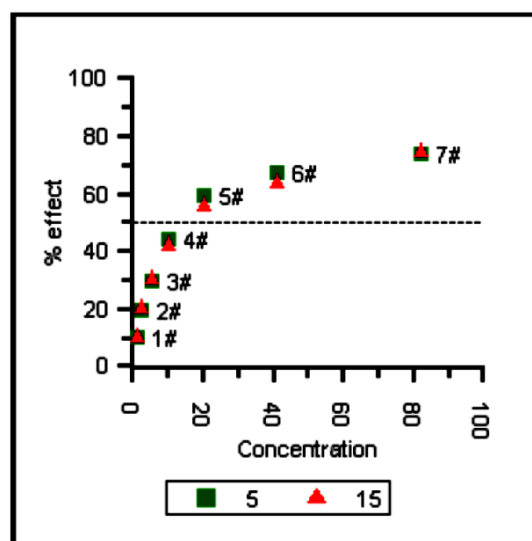
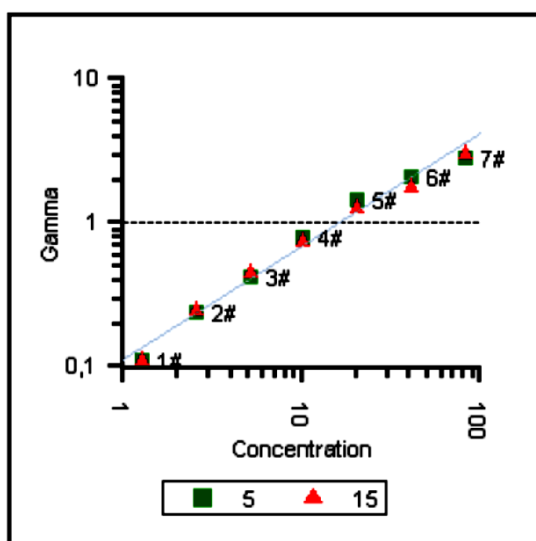
Αιθέριο Έλαιο Γκρέιπφρουτ

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 16,16%
(95% Confidence Range: 12,93 to 20,19)
95% Confidence Factor: 1,250
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,252 \times \text{LOG G} + 1,208$
Correction Factor: 1,276
Slope: 0,7848
Coeff of Determination (R^2): 0,9824

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 17,20%
(95% Confidence Range: 14,19 to 20,86)
95% Confidence Factor: 1,213
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,290 \times \text{LOG G} + 1,236$
Correction Factor: 1,468
Slope: 0,7654
Coeff of Determination (R^2): 0,9872



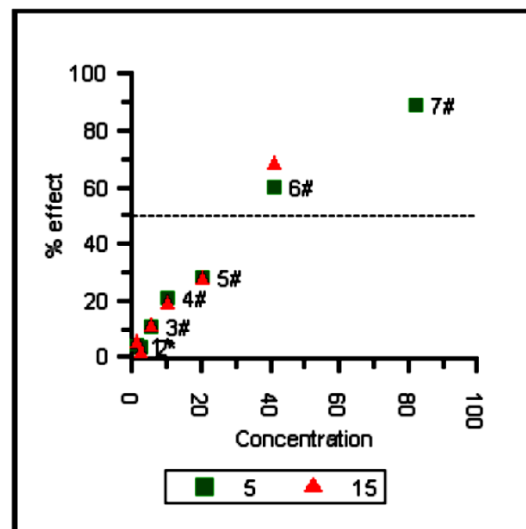
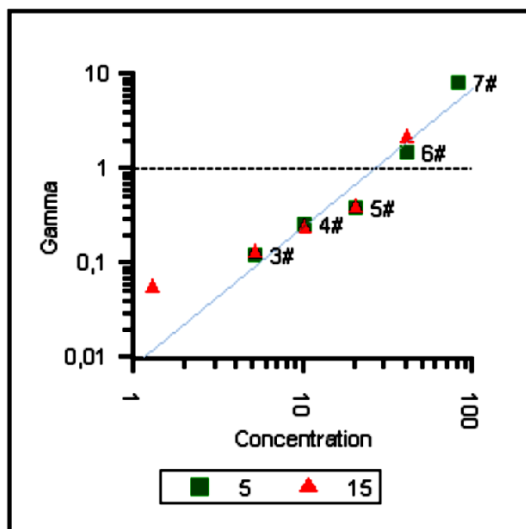
Αιθέριο Έλαιο Πατσουλί

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 26,05%
(95% Confidence Range: 16,64 to 40,78)
95% Confidence Factor: 1,566
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,6423 \times \text{LOG G} + 1,416$
Correction Factor: 1,114
Slope: 1,466
Coeff of Determination (R^2): 0,9418

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 30,38%
(95% Confidence Range: 10,87 to 84,96)
95% Confidence Factor: 2,796
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,9220 \times \text{LOG G} + 1,483$
Correction Factor: 1,021
Slope: 0,9748
Coeff of Determination (R^2): 0,8988



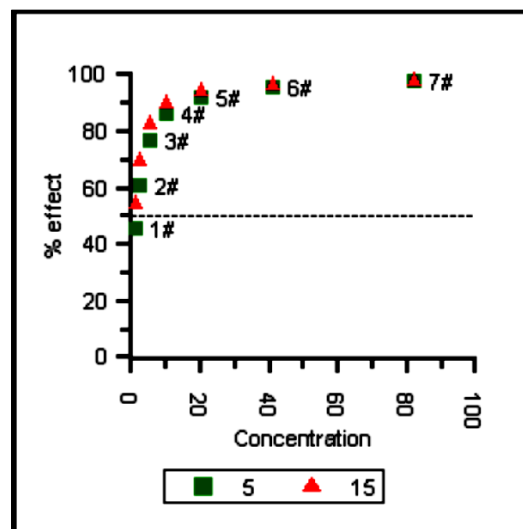
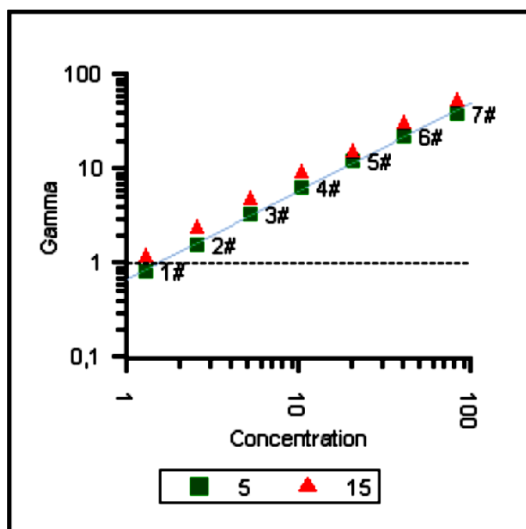
Αιθέριο Έλαιο Δενδρολίβανο

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 1,512%
(95% Confidence Range: 1,352 to 1,691)
95% Confidence Factor: 1,119
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,066 \times \text{LOG G} + 0,1796$
Correction Factor: 1,122
Slope: 0,9366
Coeff of Determination (R^2): 0,9983

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 1,001%
(95% Confidence Range: 0,8849 to 1,132)
EC50 value was calculated from extrapolated data.
95% Confidence Factor: 1,131
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,097 \times \text{LOG G} + 0,0003$
Correction Factor: 1,280
Slope: 0,9102
Coeff of Determination (R^2): 0,9984



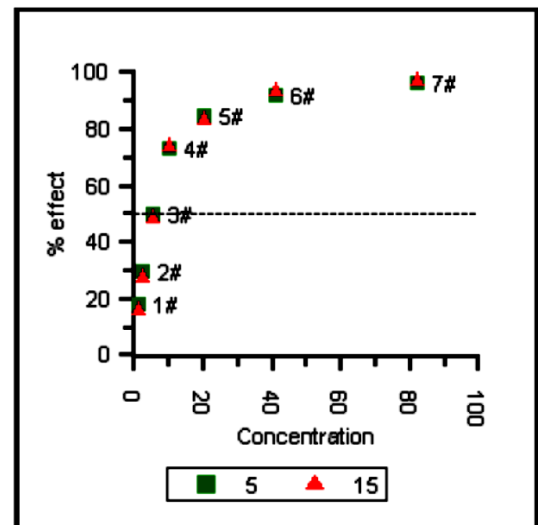
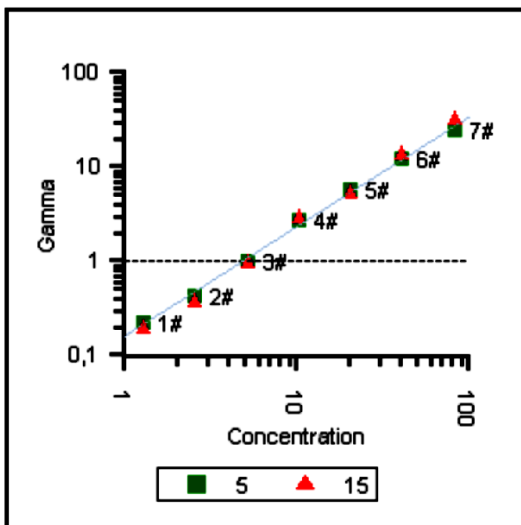
Αιθέριο Έλαιο Φλισκούνη

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 4,854%
(95% Confidence Range: 4,410 to 5,341)
95% Confidence Factor: 1,100
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,8576 \times \text{LOG G} + 0,6861$
Correction Factor: 1,161
Slope: 1,163
Coeff of Determination (R^2): 0,9972

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 5,124%
(95% Confidence Range: 4,651 to 5,644)
95% Confidence Factor: 1,102
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,7968 \times \text{LOG G} + 0,7096$
Correction Factor: 1,236
Slope: 1,251
Coeff of Determination (R^2): 0,9971



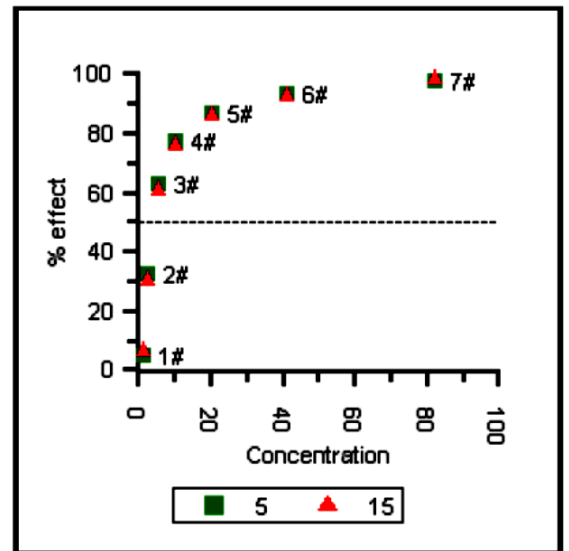
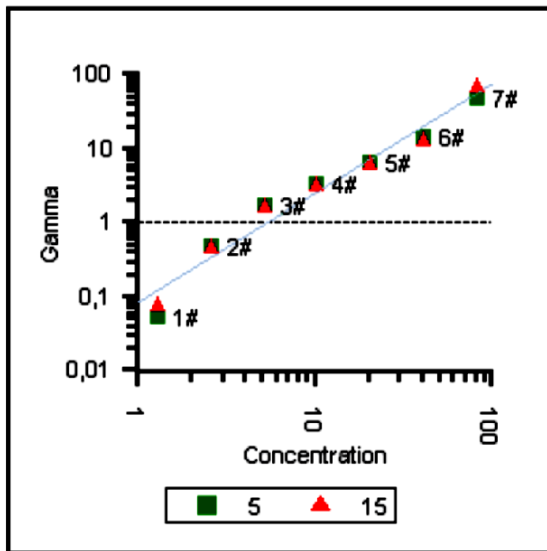
Αιθέριο Έλαιο Γωλθερία

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 5,575%
(95% Confidence Range: 3,876 to 8,019)
95% Confidence Factor: 1,438
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,6483 \times \text{LOG G} + 0,7463$
Correction Factor: 1,016
Slope: 1,476
Coeff of Determination (R^2): 0,9567

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 5,446%
(95% Confidence Range: 4,022 to 7,374)
95% Confidence Factor: 1,354
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,6578 \times \text{LOG G} + 0,7360$
Correction Factor: 1,064
Slope: 1,475
Coeff of Determination (R^2): 0,9702



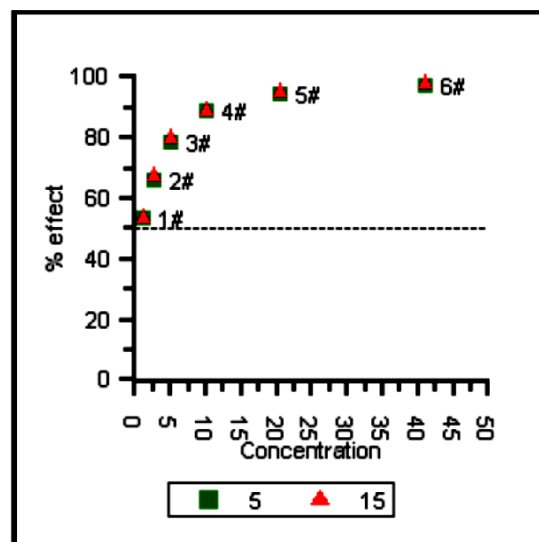
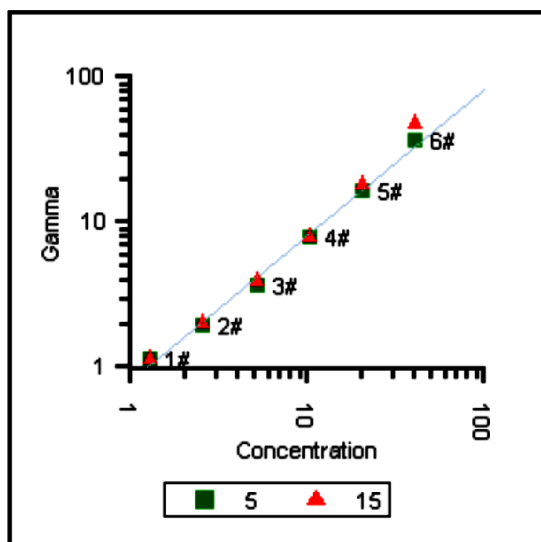
Αιθέριο Έλαιο Κανέλα

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 1,259%
(95% Confidence Range: 1,031 to 1,538)
EC50 value was calculated from extrapolated data.
95% Confidence Factor: 1,221
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,9909 \times \text{LOG G} + 0,1002$
Correction Factor: 1,207
Slope: 1,004
Coeff of Determination (R^2): 0,9954

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 1,322%
(95% Confidence Range: 1,013 to 1,724)
95% Confidence Factor: 1,304
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,9234 \times \text{LOG G} + 0,1211$
Correction Factor: 1,368
Slope: 1,074
Coeff of Determination (R^2): 0,9915



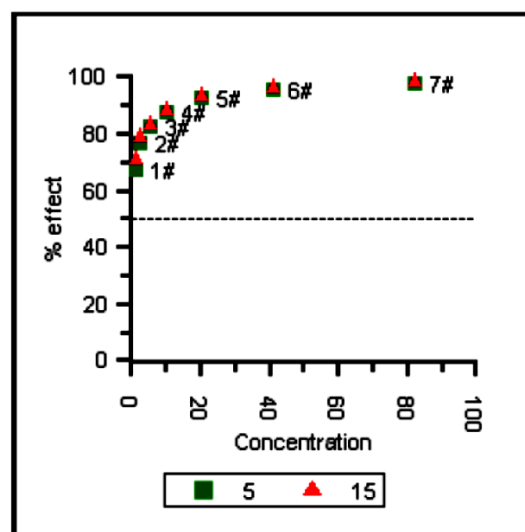
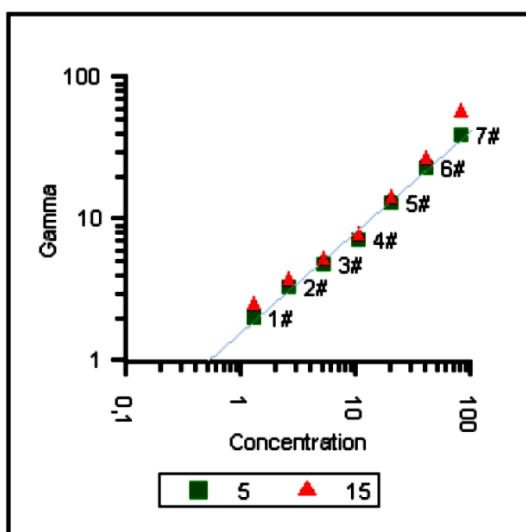
Αιθέριο Έλαιο Σκόρδο

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 0,5323%
(95% Confidence Range: 0,3919 to 0,7231)
EC50 value was calculated from extrapolated data.
95% Confidence Factor: 1,358
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,399 \times \text{LOG G} - 0,2738$
Correction Factor: 1,188
Slope: 0,7099
Coeff of Determination (R^2): 0,9934

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 0,5186%
(95% Confidence Range: 0,2957 to 0,9098)
EC50 value was calculated from extrapolated data.
95% Confidence Factor: 1,754
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,321 \times \text{LOG G} - 0,2851$
Correction Factor: 1,366
Slope: 0,7404
Coeff of Determination (R^2): 0,9783



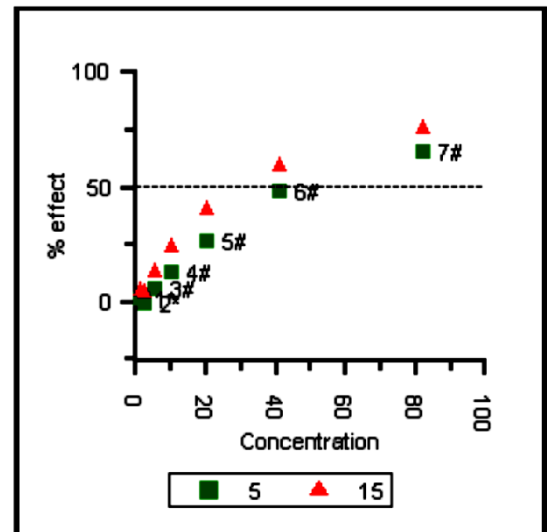
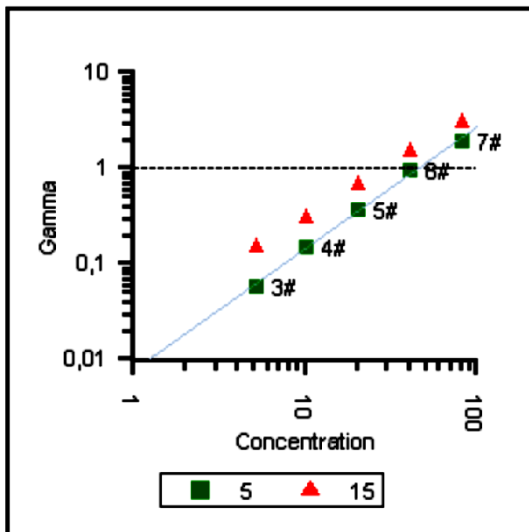
Εκχύλισμα Πράσινου Τσαγιού

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 46,12%
(95% Confidence Range: 41,47 to 51,28)
95% Confidence Factor: 1,112
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,7843 \times \text{LOG G} + 1,664$
Correction Factor: 1,118
Slope: 1,272
Coeff of Determination (R^2): 0,9979

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 29,34%
(95% Confidence Range: 28,65 to 30,04)
95% Confidence Factor: 1,024
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,9044 \times \text{LOG G} + 1,467$
Correction Factor: 1,283
Slope: 1,106
Coeff of Determination (R^2): 0,9998



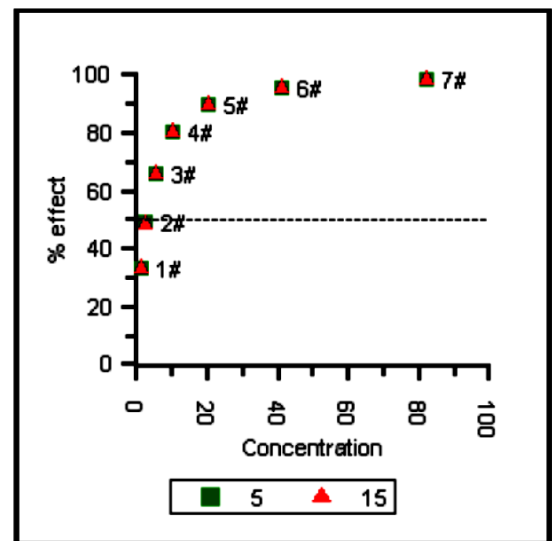
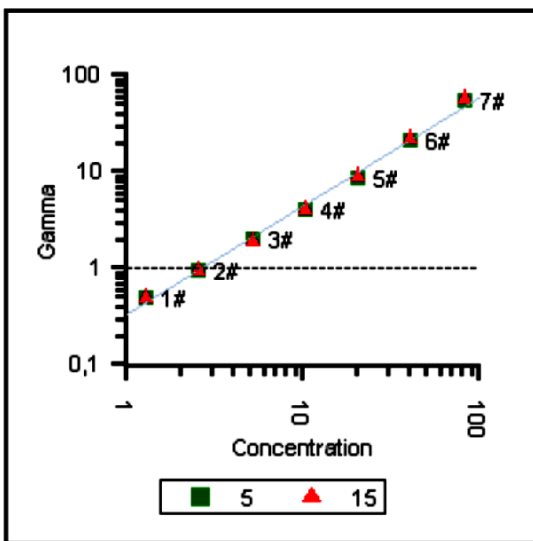
Μίγμα EOMI

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 2,683%
(95% Confidence Range: 2,310 to 3,116)
95% Confidence Factor: 1,162
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,8874 \times \text{LOG G} + 0,4286$
Correction Factor: 1,210
Slope: 1,122
Coeff of Determination (R^2): 0,9954

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 2,722%
(95% Confidence Range: 2,319 to 3,196)
95% Confidence Factor: 1,174
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,8721 \times \text{LOG G} + 0,4349$
Correction Factor: 1,335
Slope: 1,141
Coeff of Determination (R^2): 0,9947



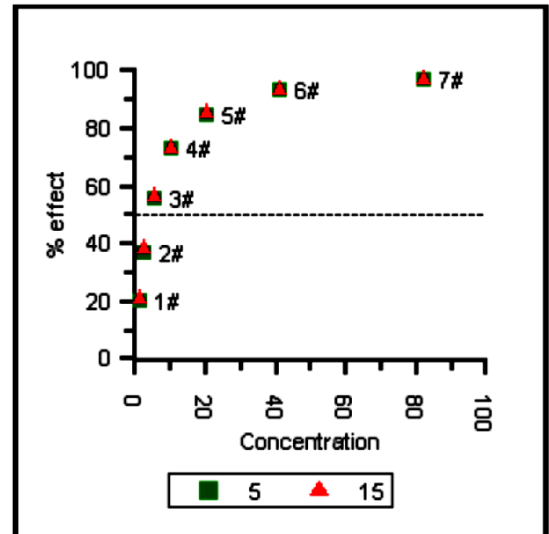
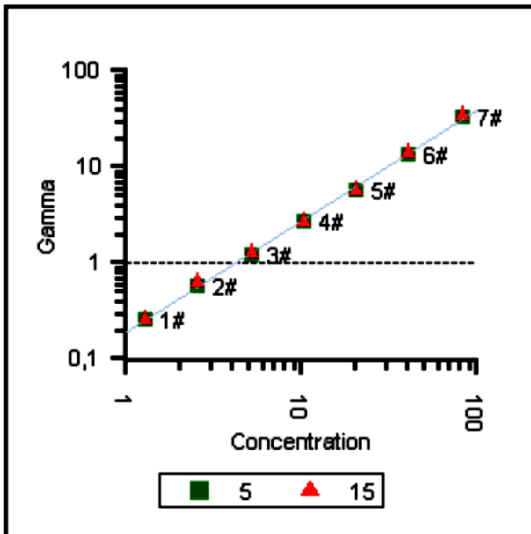
Μίγμα EOMI+GTE

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 4,216%
 (95% Confidence Range: 3,984 to 4,461)
 95% Confidence Factor: 1,058
 Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,8646 \times \text{LOG G} + 0,6249$
 Correction Factor: 1,244
 Slope: 1,156
 Coeff of Determination (R²): 0,9991

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 4,099%
 (95% Confidence Range: 3,828 to 4,390)
 95% Confidence Factor: 1,071
 Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 0,8663 \times \text{LOG G} + 0,6127$
 Correction Factor: 1,382
 Slope: 1,153
 Coeff of Determination (R²): 0,9987



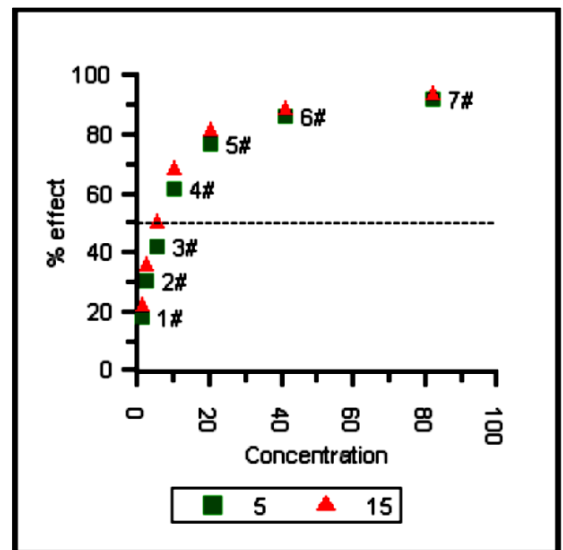
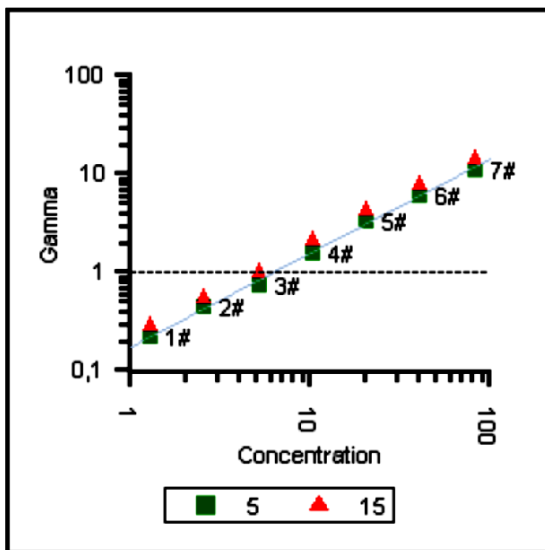
Μίγμα EOM2

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 6,282%
(95% Confidence Range: 5,824 to 6,776)
95% Confidence Factor: 1,079
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,044 \times \text{LOG G} + 0,7981$
Correction Factor: 1,224
Slope: 0,9561
Coeff of Determination (R^2): 0,9980

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 4,806%
(95% Confidence Range: 4,502 to 5,131)
95% Confidence Factor: 1,068
Estimating Equation:
 $\text{LOG C} = 1,050 \times \text{LOG G} + 0,6818$
Correction Factor: 1,384
Slope: 0,9515
Coeff of Determination (R^2): 0,9987



Μίγμα EOM2+GTE

Data: 5 Mins

EC50 Concentration: 8,734%
(95% Confidence Range: 7,630 to 9,997)
95% Confidence Factor: 1,145
Estimating Equation:
LOG C = 1,117 x LOG G + 0,9412
Correction Factor: 1,188
Slope: 0,8892
Coeff of Determination (R²): 0,9929

Data: 15 Mins

EC50 Concentration: 6,679%
(95% Confidence Range: 5,852 to 7,622)
95% Confidence Factor: 1,141
Estimating Equation:
LOG C = 1,118 x LOG G + 0,8247
Correction Factor: 1,341
Slope: 0,8889
Coeff of Determination (R²): 0,9937

