



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

**ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ
ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ολιστική αξιολόγηση εκχυλισμάτων καρπών άρκευθου (*Juniperus communis* L.) και χαρακτηρισμός ενώσεων του ελαίου από τον πυρήνα των καρπών



ΤΣΙΤΣΙΡΙΓΚΑ ΘΕΟΦΑΝΕΙΑ-ΜΑΡΙΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΣΦΟΥΓΓΑΡΗΣ ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ

ΒΟΛΟΣ, 2025

Ολιστική αξιολόγηση εκχυλισμάτων καρπών άρκευθου (*Juniperus communis* L.) και χαρακτηρισμός ενώσεων του ελαίου από τον πυρήνα των καρπών

Holistic valorization of *Juniperus communis* L. berries extracts and Characterization of Berry Kernel Oil Compounds

ΤΣΙΤΣΙΡΙΓΚΑ ΘΕΟΦΑΝΕΙΑ-MARIA

Τριμελής εξεταστική επιτροπή

Σφουγγάρης Αθανάσιος, Καθηγητής Διαχείρισης Οικοσυστημάτων και Βιοποικιλότητας, Τμήμα Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Λαλάς Σταύρος, Καθηγητής Ποιότητας Τροφίμων, Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Μαδέσης Παναγιώτης, Αναπληρωτής Καθηγητής Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας την πτυχιακή μου θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Σφουγγάρη Αθανάσιο του Τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος που αφιέρωσε χρόνο για την εύρεση του θέματος της παρούσας έρευνας, τη συνεχή καθοδήγησή του, καθώς και για τις χρήσιμες συμβουλές που πρόσφερε.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου και στον καθηγητή κ. Σταύρο Λαλά του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής που με φιλοξένησε στους εργαστηριακούς χώρους του Τμήματός του, την άψογη συνεργασία καθόλη τη διάρκεια της εκπόνησης του πειραματικού μέρους της πτυχιακής μου. Ευχαριστώ επίσης και όλη την ομάδα του και συγκεκριμένα τον μεταδιδάκτορα ερευνητή κ. Αθανασιάδη Βασίλειο, τον υποψήφιο διδάκτορα κ. Καλομπάτσιο Δημήτριο για την βοήθεια και καθοδήγηση στην πειραματική διαδικασία καθώς και τη Δρα. Μποζίνου Ελένη για τη βοήθειά της.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω τα μέλη της Τριμελούς Επιτροπής κ. Σφουγγάρη Αθανάσιο, κ. Σταύρο Λαλά και τον κ. Μαδέση Παναγιώτη, Αναπληρωτή Καθηγητή για την αξιολόγηση της πτυχιακής μου.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	vi
ABSTRACT	vii
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Καρποφόρα αυτοφυή δέντρα και θάμνοι.....	1
1.1.1 Οικολογία – απαιτήσεις των ειδών.....	1
1.1.2 Παραγωγή καρπών και χρήσεις τους.....	2
1.1.3 Βιοδραστικά συστατικά των καρπών.....	3
1.2 Μέθοδοι εκχύλισης καρπών/φρούτων.....	4
1.2.1 Εκχύλιση Soxhlet	4
1.2.2 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα –MAE.....	5
1.2.3 Εκχύλιση με παλλόμενα ηλεκτρικά πεδία –PEF.....	6
1.2.4 Εκχύλιση με υγρό υπό πίεση –PLE	6
1.2.5 Εκχύλιση με υποβοήθηση των ενζύμων – EAE	7
1.2.6 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους –UAE	7
1.3 Μέθοδοι παραλαβής βιοδραστικών συστατικών.....	8
1.4 Αντιοξειδωτική δράση καρπών και φρούτων	12
1.5 Άркеυθος : Στοιχεία οικολογίας του είδους	13
1.5.1 Συστηματική ταξινόμηση και μορφολογία του είδους.....	13
1.5.2 Οικολογία- Εδαφοκλιματικές συνθήκες.....	15
1.5.3. Χρήσεις της άркеυθου	16
2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	16
3.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	17
3.1 Εκχύλιση των καρπών	17
3.1.1 Συλλογή καρπών, επεξεργασία και εκχύλιση υπό διαφορετικές συνθήκες.....	17
3.2 Προσδιορισμός βιοδραστικών συστατικών	24
3.2.1 Μέθοδος προσδιορισμού ολικών πολυφαινόλων (TPC)	24
3.2.2 Μέθοδος προσδιορισμού ασκορβικού οξέος - Βιταμίνης C (AAC).....	25
3.3 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης	26
3.3.1 Μέθοδος FRAP	26
3.3.2 Μέθοδος DPPH.....	26

3.4 Ανάλυση HPLC για τον προσδιορισμό των πολυφαινολικών ενώσεων στη βέλτιστη εκχύλιση	28
3.5 Στατιστική Ανάλυση	28
3.6 Αξιολόγηση του ελαίου των καρπών	28
3.6.1 Δοκιμασία τιμής υπεροξειδίου- PV	29
3.6.2 DPPH	30
3.6.3 Ποσοτικοποίηση λιπαρών οξέων	31
3.6.4 Πτητικές ενώσεις	31
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	32
4.1 Αριστοποίηση μεθοδολογίας εκχύλισης.....	32
4.2 Αποτελεσματικότητα παραλαβής βιοδραστικών συστατικών	35
4.3 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης	37
4.4 Ανάλυση PLS και προσδιορισμός βέλτιστων συνθηκών εκχύλισης.....	38
4.5 Προσδιορισμός των βιοδραστικών συστατικών	40
4.6 Αξιολόγηση του ελαίου των καρπών	42
4.6.1 Δοκιμασία τιμής υπεροξειδίου- PV.....	42
4.6.2 DPPH	42
4.6.3 Ποσοτικοποίηση λιπαρών οξέων	42
4.6.4 Πτητικές ενώσεις	43
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	49
5.1 Βελτιστοποίηση συνθηκών εκχύλισης	49
5.2 Βιοδραστικά συστατικά των καρπών άρκευθου	50
5.3 Αντιοξειδωτική δράση καρπών	52
5.4 Πτητικές ενώσεις	53
5.5 Δυνητικές χρήσεις των καρπών άρκευθου	53
6. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ	54
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	55

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Βλαστός του <i>Juniperus communis</i>	14
Εικόνα 2 .Καρποί του <i>Juniperus communis</i>	15

Εικόνα 3 Οι προς μελέτη καρποί του <i>Juniperus communis</i> .	18
Εικόνα 4. Θρυμματισμένοι καρποί του <i>J.communis</i> .	18
Εικόνα 5. Ξήρανση καρπών στον λιοφυλιωτή -freeze dryer Biobase BK-FD10P.	18
Εικόνα 6. Εξάτμιση για απομάκρυνση του εξανίου.	19
Εικόνα 7. Απολιπασμένη σκόνη.	20
Εικόνα 8. Εκχύλιση με ανάδευση.	21
Εικόνα 9. Εκχυλίσματα.	21
Εικόνα 10. Δείγματα πριν την μέτρηση με την μέθοδο Folin-Ciocalteu –TPC.	25
Εικόνα 11. Δείγματα πριν την μέτρηση με την μέθοδο ACC.	25
Εικόνα 12. Δείγματα πριν την μέτρηση με την μέθοδο FRAP.	26
Εικόνα 13. Δείγματα πριν την μέτρηση με την μέθοδο DPPH.	27
Εικόνα 14. Προς μελέτη δείγματα ελαίου.	29
Εικόνα 15. Δείγματα μετά τη δοκιμασία PV – πριν την μέτρηση.	30
Εικόνα 16 - Διάγραμμα 1. Τρισδιάστατα διαγράμματα παραμέτρων που επηρεάζουν τις δοκιμασίες εκχυλισμάτων αρκεύθου.	34
Εικόνα 17 – Διάγραμμα 2. Διαγράμματα Pareto.	36
Εικόνα 18- Διάγραμμα 3 . PCA για τις μετρηθείσες μεταβλητές.	37
Εικόνα 19 - Διάγραμμα 4. Το προφίλ πρόβλεψης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) για κάθε μεταβλητή και η συνάρτηση επιθυμητότητας με έλεγχο εξωτερίκευσης για τη βελτιστοποίηση των εκχυλισμάτων των καρπών, διάγραμμα Α. Γράφημα μεταβλητής σημασίας (VIP), με επισήμανση των τιμών VIP για κάθε μεταβλητή πρόβλεψης στην τεχνική STE, διάγραμμα Β.	39
Εικόνα 20 - Διάγραμμα 5. Χρωματογράφημα HPLC στα 280 nm του βελτιστοποιημένου εκχυλίσματος από <i>J. communis</i> L., που απεικονίζει τις ταυτοποιημένες πολυφαινολικές ενώσεις.	41

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Οι ανεξάρτητες μεταβλητές και η κωδικοποίηση τους ως παράμετροι και επίπεδα που χρησιμοποιήθηκαν για την βελτιστοποίηση της εκχύλισης.	22
Πίνακας 2. Πλάνο Box-Behnken σχεδιασμού 15 δοκιμών με διαφορετικές συνθήκες διαλύτη, θερμοκρασίας και διάρκειας και το ακριβές βάρος ξηρής ουσίας καρπών κάθε δείγματος. ..	22
Πίνακας 3. Τα πειραματικά αποτελέσματα από τις μεθόδους με βάση τις εξεταζόμενες μεταβλητές.	32
Πίνακας 4. Μέγιστη προβλεπόμενη απόδοση και βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης για την κάθε μέθοδο.	35
Πίνακας 5. Πολυμεταβλητή ανάλυση συσχέτισης των μετρημένων μεταβλητών.	38
Πίνακας 6. Μέγιστη επιθυμητότητα για όλες τις μεταβλητές χρησιμοποιώντας το προφίλ πρόβλεψης κάτω από τις βέλτιστες συνθήκες.	39
Πίνακας 7. Οι πολυφαινολικές ενώσεις που τακτοποιήθηκαν μέσω των βέλτιστων συνθηκών εκχύλισης.	40
Πίνακας 8. Λιπαρά οξέα και το ποσοστό τους.	43
Πίνακας 9. Ταξινόμηση των πτητικών ενώσεων.	44

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αυτοφυής χλωρίδα της Ελλάδας κρύβει έναν πλούτο ειδών, οι ιδιότητες των οποίων, μέσω της αξιοποίησης τους από τον άνθρωπο, μπορούν να συμβάλουν αποτελεσματικά σε ποικίλους τομείς της ζωής του. Ένα τέτοιο είδος είναι και το *Juniperus communis*, η κοινή άρκευθος. Παρουσιάζει ευρεία εξάπλωση τόσο στην Ελλάδα όσο και σε άλλες χώρες. Χάρη στα βιοδραστικά συστατικά που περιέχει ο καρπός του, μεταξύ άλλων και πολυφαινόλες, έχει χρησιμοποιηθεί παραδοσιακά από πολλούς λαούς τόσο στην ιατρική όσο και στον γαστρονομικό τομέα. Οι ιδιότητες του, μεταξύ άλλων, η αντιοξειδωτική, η αντιμικροβιακή και η αντιφλεγμονώδης, παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον μέχρι και σήμερα. Έτσι, ο σκοπός αυτής της έρευνας είναι η παραλαβή εκχυλίσματος που να περιλαμβάνει τα συστατικά του καρπού της άρκευθου και η ανάλυση αυτών, εστιάζοντας στην βελτιστοποίηση της διαδικασίας. Συγκεκριμένα, μέσω μιας σειράς πειραμάτων, εντοπίστηκαν και προσαρμόστηκαν οι παράμετροι της εκχύλισης, ο διαλύτης, η θερμοκρασία και η διάρκεια εκχύλισης, όπου με τη βοήθεια κατάλληλων πρωτοκόλλων [Folin-Ciocalteu (FC), FRAP, DPPH, AAC] και της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC), προσδιορίστηκε και τακτοποιήθηκε το πολυφαινολικό προφίλ των καρπών. Τα αποτελέσματα ενίσχυσαν την άποψη ότι για τη λήψη ενός βέλτιστου εκχυλίσματος που να περιλαμβάνει το μεγαλύτερο δυνατό αριθμό και συγκέντρωση πολυφαινολών είναι απαραίτητη η προσαρμογή των προαναφερθέντων συνθηκών στο άριστο. Τα ποσοστά αύξησης προσεγγιστικά ήταν 174,1% για FC, 139,66% για ACC, 205,8% για FRAP και 221,2% για DPPH. Επιπλέον, διενεργήθηκαν δοκιμασίες προκειμένου να χαρακτηριστούν οι ενώσεις του ελαίου (λιπαρά οξέα, πτητικές ενώσεις), να εκτιμηθεί η αντιοξειδωτική ικανότητα, καθώς και ο βαθμός οξείδωσης του. Βρέθηκε να έχει ένα πλούσιο περιεχόμενο πτητικών ουσιών, καθώς και σημαντικά λιπαρά οξέα, με μια ικανοποιητική αντιοξειδωτική ικανότητα με χαμηλό βαθμό οξείδωσης. Με βάση αυτά τα ευρήματα, αποδεικνύεται ότι οι καρποί της άρκευθου είναι πολλά υποσχόμενοι και με περαιτέρω έρευνα και πειράματα μπορούν να αξιοποιηθούν κατάλληλα σε διάφορες βιομηχανίες.

Λέξεις κλειδιά :

Πολυφαινόλες, αντιοξειδωτικά, Folin-Ciocalteu (FC), FRAP, DPPH, AAC, TPC, HPLC, Box-Behnken, PLS, λιπαρά οξέα, πτητικές ενώσεις

ABSTRACT

The wild flora of Greece comprises a rich variety of plant species with bioactive properties that can be effectively utilized in diverse applications. One such species is *Juniperus communis* (common juniper), known for its extensive distribution in Greece and other regions. Owing to the bioactive constituents of its fruits—particularly polyphenols—the species has been traditionally employed in both medicinal and culinary contexts. This study aims to extract and analyze the key phytochemical components of juniper berries, with an emphasis on optimizing extraction parameters to enhance yield and bioactivity. A series of experiments were conducted to determine the optimal conditions for extraction, including solvent type, temperature, and extraction duration. The total polyphenolic content and antioxidant capacity of the extracts were evaluated using established protocols: Folin-Ciocalteu (FC), Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), and AAC assays. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) was employed to characterize the polyphenolic profile. Results demonstrated significant increases in extraction efficiency under optimized conditions, with relative increases of 174.1% (FC), 139.66% (AAC), 205.8% (FRAP), and 221.2% (DPPH). Further analyses assessed the composition of the essential oil, focusing on volatile compounds and fatty acid profiles, as well as the oil's antioxidant capacity and oxidative stability. The oil was found to be rich in volatile constituents and essential fatty acids, with satisfactory antioxidant activity and a low oxidation index. These findings suggest that *Juniperus communis* fruits possess valuable phytochemical properties, supporting their potential application in pharmaceutical, food, and cosmetic industries. Continued research and development could further enhance their industrial utilization

Keywords:

Polyphenols, antioxidants , Folin-Ciocalteu (FC), FRAP,DPPH, AAC, TPC, HPLC, Box–Behnken , PLS, fatty acids, volatile compounds

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Καρποφόρα αυτοφυή δέντρα και θάμνοι

1.1.1 Οικολογία – απαιτήσεις των ειδών

Πρόσφατες έρευνες έχουν αποκαλύψει ότι τα πρότυπα βλάστησης επηρεάζονται σταθερά από οικολογικούς παράγοντες, όπως η τοπογραφία της περιοχής, τα χαρακτηριστικά του εδάφους, καθώς και από ανθρώπινες δραστηριότητες που ασκούν πίεση στο περιβάλλον. Η σύσταση και η γονιμότητα του εδάφους παίζουν σημαντικό ρόλο στον αριθμό και στην ανάπτυξη των φυτικών ειδών σε μια περιοχή. Το υψόμετρο επηρεάζει επίσης την ποικιλία των φυτών, όπως και άλλα τοπογραφικά χαρακτηριστικά (Rahman et al., 2021). Η βλάστηση στους μεσογειακούς βιοτόπους, όπως είναι σήμερα, είναι αποτέλεσμα φυσικής επιλογής υπό την πίεση ενός ιδιαίτερου κλίματος σε συνδυασμό με την ανθρώπινη παρέμβαση (Papanikolaou et al., 2011). Τα μεσογειακά οικοσυστήματα, όπως και αυτά της Ελλάδας, χαρακτηρίζονται από το ιδιαίτερο μεσογειακό κλίμα με ήπιους και υγρούς χειμώνες, με ισχυρούς ανέμους που φέρνουν βροχές και χιονοπτώσεις σε μεγαλύτερα υψόμετρα και τα ζεστά και ξηρά καλοκαίρια εξαιτίας υποτροπικών συστημάτων υψηλής πίεσης, περιορίζοντας τις βροχοπτώσεις. Αυτός ο συνδυασμός έχει κινήσει το ενδιαφέρον των επιστημόνων, καθώς προσφέρει δυνατότητες για τη μελέτη της εξέλιξης και λειτουργίας των οικοσυστημάτων. Τα όρια αυτών δεν καθορίζονται μόνο από το κλίμα, αλλά και από τη δομή της βλάστησης, τη σύνθεση της χλωρίδας και από ιστορικούς παράγοντες (Rundel et al., 2016). Αυτά τα οικοσυστήματα παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία βλάστησης, από ψηλά δάση (όπως αυτά της πεύκης και της δρυός) μέχρι θαμνώνες και λιβάδια. Όλα αυτά τα είδη επηρεάζουν με διαφορετικό τρόπο τη μικροβιακή ζωή στο έδαφος. Για παράδειγμα, τα υπολείμματα των δέντρων παρέχουν πολυάριθμες πηγές άνθρακα που ευνοούν την ανάπτυξη διαφόρων μικροβιακών κοινοτήτων που παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποσύνθεση και ανανέωση της οργανικής ύλης (Panico et al., 2022). Έτσι η Ελλάδα, έχοντας τα παραπάνω χαρακτηριστικά περιέχει υψηλή βιοποικιλότητα και ιδιαίτερα πλούσια χλωρίδα. Τα ιθαγενή φανερόφυτα, δηλαδή τα δένδρα και οι μεγαλύτεροι θάμνοι, εμφανίζουν μεγάλη ποικιλότητα και υπερβαίνουν κατά πολύ σε αριθμό τα 200 είδη (Κοράκης, 2024). Η χλωρίδα της Ελλάδας περιλαμβάνει περίπου 6.600 ταξινομικές μονάδες (taxa), εκ των οποίων τα 5.752 είναι αυτοφυή ή επιγενή είδη. Το ποσοστό των

ενδημικών φυτών φτάνει το 22% ήτοι 1.462 taxa. Οι αριθμοί αυτοί είναι ιδιαίτερα υψηλοί για μια χώρα με σχετικά μικρή γεωγραφική έκταση, τόσο στην Ευρώπη όσο και στην Μεσόγειο (Κοράκης, 2015). Η χώρα μας φιλοξενεί σημαντικό αριθμό σπάνιων και απειλούμενων ειδών, με ορισμένα να παρουσιάζουν γεωγραφική απομόνωση στα πολυάριθμα ελληνικά νησιά, ενώ άλλα ανήκουν στην ενδημική χλωρίδα των ορεινών οικοσυστημάτων υψηλού υψομέτρου. (Petaloudi et al., 2022). Σύμφωνα με τον Κοράκη (2015), χαρακτηριστικά παραδείγματα σε βόρεια και κεντρική Ελλάδα που εκτείνονται σε ορεινούς όγκους αποτελούν: Η οξιά (*Fagus sylvatica*), η ερυθρελάτη (*Picea abies*), η δασική πεύκη (*Pinus sylvestris*), η απόδισκη δρυς (*Quercus petraea*), ο ψευδοπλάτανος (*Acer pseudoplatanus*) και το πλατανοειδές σφενδάμι (*Acer platanoides*) (Κοράκης, 2015). Από την άλλη μεριά, είδη που απαντώνται σε χαμηλότερα υψόμετρα, σε παραθαλάσσιες και νησιωτικές περιοχές είναι: Η ελιά (*Olea europaea*), η χαρουπιά (*Ceratonia siliqua*), ο σχίνος (*Pistacia lentiscus*), η μυρτιά (*Myrtus communis*), η τραχεία πεύκη (*Pinus brutia*), η κουκουναριά (*Pinus pinea*), η φοινικική άρκευθος (*Juniperus phoenicea*).

1.1.2 Παραγωγή καρπών και χρήσεις τους

Η παραγωγή καρπών από δέντρα και θάμνους αποτελεί ένα πολύτιμο αγαθό της φύσης. Επηρεάζεται από μια πληθώρα βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων, όπως το μέγεθος σπόρου και φυτού, ο ανταγωνισμός των διαφόρων γειτονικών ειδών (Minor, 2019), το κλίμα, η διαθεσιμότητα πόρων, καθώς και η ενδογενής δυναμική και διαθεσιμότητα επικονιαστών (Garcia-Barreda et al., 2021). Όσο μεγαλύτερος είναι ο σπόρος του φυτού τόσο μεγαλύτερη ενέργεια επενδύει το φυτό σε αυτόν με αποτέλεσμα τη λιγότερη παραγωγή καρπών (Minor et al., 2019). Η ύπαρξη της βιοποικιλότητας και γενικά η λειτουργία του οικοσυστήματος εξαρτάται σημαντικά από τις διατροφικές σχέσεις των ζώων με τα αυτοφυή καρποφόρα είδη (García et al., 2018). Από τα αρχαία χρόνια μέχρι και σήμερα χρησιμοποιούνται τόσο από τα ζώα όσο και από τον άνθρωπο, έχοντας θετικό αντίκτυπο στη ζωή τους. Οι καρποί των φυτικών ειδών χαρακτηρίζονται από περιεχόμενο πλούσιο σε βιταμίνες, μέταλλα, πρωτεΐνες και υδατάνθρακες αποτελώντας μια πολύτιμη πηγή ενέργειας. Μπορεί να θεωρηθεί ότι έχουν φαρμακευτική δράση, συμβάλλοντας θετικά στον τομέα της υγείας (Rathore, 2009). Σύμφωνα με μελέτες, η κατανάλωση των καρπών δέντρων και θάμνων παραδοσιακά στην ιβηρική χερσόνησο προσφέρει ποικίλες ευεργετικές ιδιότητες, καθώς αυτοί αποτελούν εξαιρετικές πηγές οργανικών οξέων, τοκοφερολών

και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Η αντιοξειδωτικής τους ικανότητα τα καθιστά λειτουργικά τρόφιμα, συμβάλλοντας στον τομέα των τροφίμων αντικαθιστώντας τα συνθετικά πρόσθετα (Νικήσιανης, 2022).

Ένα παράδειγμα αυτοφυούς είδους στην Ελλάδα με μεγάλο εύρος αξιοποίησης των καρπών του αποτελεί η κρανιά (*Cornus mas*), με βαθυκόκκινα φρούτα που μοιάζουν με κεράσι. Λόγω των πολύτιμων βιοδραστικών ενώσεων του (φαινολικές ενώσεις, βιταμίνη C και φλαβονοειδή) διαθέτει αντιοξειδωτική δράση, καθώς και ιδιότητες δέσμευσης ελεύθερων ριζών. Πολύ συχνή είναι η χρήση του για την παρασκευή λικέρ, αλλά ενσωματώνεται και σε μαρμελάδες και αρτοσκευάσματα. Ένα άλλο πολυχρησιμοποιημένο είδος είναι το κυνόροδο (*Rosa canina*), με ιδιότητες όπως το προηγούμενο είδος και εφαρμογές στον τομέα της γαστρονομίας (σιρόπι). Αξιοσημείωτο είδος είναι και ο σαμπούκος (*Sambucus nigra*), οι καρποί του οποίου είναι ιδιαίτερα σημαντικοί για φαρμακευτικούς σκοπούς χάρη στην αντική, αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση του. Χρησιμοποιείται επίσης και ως πρόσθετο σε διάφορα γλυκά (Karapatzak et al., 2023).

1.1.3 Βιοδραστικά συστατικά των καρπών

Οι φυτικοί μεταβολίτες (πρωτογενείς, δευτερογενείς) αποτελούν σημαντικό μέρος των φυτικών ειδών για την εύρυθμη λειτουργία, ανάπτυξη και επιβίωση τους (Reshi et al., 2023). Πρόκειται για οργανικές ουσίες που παράγονται μέσω ενζυμικά βοηθούμενων σύνθετων αντιδράσεων, γνωστών και ως μεταβολικών οδών (Sponsel, 2023). Ο ρόλος των πρωτογενών μεταβολιτών (λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες κ.λπ.) αφορά διεργασίες απολύτως απαραίτητες για την ανάπτυξη των φυτών. Αυτές είναι η κυτταρική διαίρεση, η αναπνοή και η φωτοσύνθεση. Από την άλλη πλευρά, οι δευτερογενείς σχετίζονται με τις αλληλεπιδράσεις του φυτού με το περιβάλλον και με την άμυνα. Επιπλέον, συμβάλλουν στο χρώμα, σε συγκεκριμένα αρώματα, γεύσεις και στις αντιδράσεις σε διάφορες καταπονήσεις (Reshi et al., 2023). Ο όρος «βιοδραστικές ενώσεις» αφορά εκείνες τις χημικές ουσίες που είναι βιολογικά σημαντικές, απαντώνται στη φύση, αποτελούν μέρος της τροφικής αλυσίδας και είναι ικανές να επιδρούν στην ανθρώπινη υγεία (Fotsing et al., 2021). Έτσι, οι δευτερογενείς μεταβολίτες αποτελούν βιοδραστικά συστατικά (Fotsing et al., 2021), (Zandavar et al., 2023). Περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα ουσιών από τις οποίες οι πιο σημαντικές είναι οι πολυφαινόλες, τα φλαβονοειδή, οι τοκοφερόλες, οι οργανοσουλφιδικές ενώσεις και τα καροτενοειδή. Οι ουσίες αυτές διαφέρουν σημαντικά ως προς την

χημική τους δομή, καθώς κάποιες είναι λιπόφιλες και άλλες υδρόφιλες, παράγοντες που επηρεάζουν τον τρόπο που κατανέμονται στο φυσικό περιβάλλον (Πριλή, 2021). Η αυξημένη σύνθεση βιοδραστικών ενώσεων θεωρείται ως μια ωφέλιμη αντίδραση των φυτών στην παρουσία στρεσογόνων παραγόντων (Szwajkowska-Michałek et al., 2020). Οι αισθητήρες και υποδοχείς είναι υπεύθυνοι για την αναγνώριση τυχόν εξωτερικών παθογόνων οδηγώντας στον αμυντικό μηχανισμό και τελικά σε αυτή την αντίδραση (Reshi et al., 2023). Τα δέντρα, για παράδειγμα στα μέρη που είναι πιο ευαίσθητα στη δράση παθογόνων, αποθηκεύουν τις μεγαλύτερες ποσότητες βιοδραστικών ενώσεων, όπως μεταξύ άλλων και οι καρποί που αποτελούν πηγές βιολογικά ενεργών ενώσεων (Szwajkowska-Michałek et al., 2020).

1.2 Μέθοδοι εκχύλισης καρπών/φρούτων

Η εκχύλιση αποτελεί διαδικασία απομόνωσης των δραστικών συστατικών που βρίσκονται στα διάφορα μέρη του μέρη του φυτού με την βοήθεια εκλεκτικών διαλυτών. Με αυτό επιτυγχάνεται διαχωρισμός των διαλυτών συστατικών, τα οποία είναι και τα επιθυμητά, από τα αδιάλυτα συστατικά (Fotsing et al., 2021), (Azwanida, 2015). Η εκχύλιση είναι ο διαχωρισμός των φαρμακευτικά δραστικών τμημάτων του φυτού με τη χρήση εκλεκτικών διαλυτών μέσω τυποποιημένων διαδικασιών. Ο σκοπός κάθε εκχύλισης είναι να διαχωριστούν οι διαλυτοί φυτικοί μεταβολίτες, αφήνοντας πίσω το αδιάλυτο κυτταρικό στέλεχος (Azwanida, 2015). Προκειμένου να χρησιμοποιηθεί ο κατάλληλος τρόπος εκχύλισης είναι σημαντικό να ληφθούν υπόψη το φυτικό υλικό που πρόκειται να μελετηθεί, ο διαλύτης, ο χρόνος εκχύλισης, το μέγεθος των σωματιδίων καθώς και η ανάδευση. Έτσι καθορίζεται και η ποιότητα ενός εκχυλίσματος. (Fotsing et al. 2021). Αναφορικά με τις μεθόδους υπάρχουν οι συμβατικές (κλασικές, όπως η εκχύλιση Soxhlet) και μη συμβατικές - καινοτόμες, (όπως εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα-MAE, εκχύλιση με παλλόμενα ηλεκτρικά πεδία – PEF, εκχύλιση με υγρό υπό πίεση -PLE , εκχύλιση με υποβοήθηση των ενζύμων – EAE, εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους – UAE)(Fotsing et al., 2021), (Martins et al., 2023), (Zheng et al., 2025).

1.2.1 Εκχύλιση Soxhlet

Η συσκευή εκχύλισης Soxhlet αποτελείται από τα εξής κύρια εξαρτήματα: θάλαμο εκχύλισης (Abubakar et al. 2020) - θήκη δείγματος (που ονομάζεται δακτύλιος), μια φιάλη με στρογγυλό πυθμένα, ένα σιφόνι, έναν συμπτυκνωτή και μια πηγή θερμότητας

(Martins, et al., 2023). Έτσι μέσα σε πορώδη σακούλα (δαχτυλήθρα) βρίσκεται το δείγμα (Abubakar et al., 2020) και με τον διαλύτη να συμπληρώνει την φιάλη (Martins et al. 2023) όπου στην συνέχεια θερμαίνεται με συνέπεια να εξατμίζεται και διερχόμενος από τον συμπυκνωτή ρέει προς το θάλαμο εκχύλισης (Abubakar et al., 2020). Φτάνοντας το σημείο υπερχειλίσης, το διάλυμα επιστρέφει στην φιάλη μέσω του σιφονιού μαζί με τα βιοδραστικά συστατικά. Αυτό συνεχίζεται μέχρι την λήψη πλήρους εκχύλισης. Συμπυκνώνεται μέσω εξάτμιση (Martins et al. 2023).

Μερικά από τα πλεονεκτήματα της διαδικασίας αποτελούν η απλότητα στην λειτουργία της, η αντοχή της σε υψηλές θερμοκρασίες, το χαμηλό της κόστος , έλλειψη φιλτραρίσματος (Ghenabzia et al., 2023) καθώς και η καλύτερη μεταφορά μάζας λόγω της επαναλαμβανόμενης επαφής μεταξύ του δείγματος και του διαλύτη (Martins et al., 2023). Όμως απαιτείται μεγάλο χρονικό διάστημα καθώς και μεγάλες ποσότητες διαλύτη ο οποίος δεν ενδείκνυται για ενώσεις υψηλής πτητικότητας ή θερμοευαίσθητες ενώσεις (Martins et al., 2023) .

1.2.2 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα –MAE

Οι Zheng et al. αναφέρουν πως «η εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα χρησιμοποιεί ενέργειες μικροκυμάτων από 300 MHz έως 300 GHz» (Zheng et al., 2025). Τα μικροκύματα μέσω της αντίδρασης τους με πολικές ενώσεις στο φυτικό υλικό προκαλούν θερμότητα. Αυτό σύμφωνα με τους Zhang et al. (2018) γίνεται μέσω μηχανισμών ιοντικής αγωγιμότητας και διπολικής περιστροφής (Zhang, 2018). «Η μεταφορά θερμότητας και μάζας του MAE συμβαίνει προς την ίδια κατεύθυνση από το εσωτερικό του φυτικού υλικού στο μέσο διαλύτη», σημειώνουν οι Garavand et al. (Garavand et al., 2019). Η θερμότητα που προκαλείται στον διαλύτη και το φυτικό υλικό από τα μικροκύματα παράγεται από την αλληλεπίδραση αυτών με τα πολικά μόρια μέσω διπολικής περιστροφής. Όσο μεγαλύτερη είναι η διηλεκτρική σταθερά των διαλυτών τόσο εντονότερη είναι και η θέρμανση. Αναφορικά με το ιξώδες, το χαμηλό σηματοδοτεί την κίνηση των ιόντων άρα και την διάλυση των συστατικών (Chibuye et al., 2023). Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται χωρίς την παρουσία φωτός κάτι που είναι πολύ σημαντικό λόγω της ευαισθησίας των φαινολικών ενώσεων. Το μικρό χρονικό διάστημα για την εκτέλεση του θεωρείται επίσης ένα πλεονέκτημα καθώς έτσι περιορίζονται οι αρνητικές συνέπειες της δράσης

των ενζύμων. Σημαντικό είναι να δίνεται προσοχή στην θερμοκρασία της διαδικασίας.

«Η MAE δίνει την δυνατότητα ταυτόχρονης εξαγωγής πολλών δειγμάτων με γρήγορο ρυθμό» υπογραμμίζουν οι Garcia-Salas et al. (Garcia-Salas, 2010).

1.2.3 Εκχύλιση με παλλόμενα ηλεκτρικά πεδία –PEF

Λόγω της χρήσης μη υψηλών θερμοκρασιών, αυτή η τεχνική αποτελεί μια μη θερμική διαδικασία εκχύλισης (Patra et al., 2022). Περιλαμβάνει ένα μια μονάδα παραγωγής παλμών υψηλής τάσης, έναν θάλαμο επεξεργασίας, ένα σύστημα χειρισμού ρευστών και συστήματα ελέγχου και παρακολούθησης (Niu et al., 2020). «Η ηλεκτροπόρωση (ή ηλεκτροδιάτρηση) είναι ο κύριος μηχανισμός πίσω από την εκχύλιση με παλμικό ηλεκτρικό πεδίο», τονίζεται από τους Patra et al. (Patra et al., 2022). Όταν τα κύτταρα του φυτικού υλικού εκτεθούν σε ηλεκτρικό πεδίο, οι μεμβράνες υφίστανται διάτρηση αυξάνοντας την διαπερατότητα επιτρέποντας την διέλευση ιόντων και μορίων. Αυτή είναι και η αρχή της τεχνικής (Niu, et al., 2020). Η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου, ο αριθμός, η διάρκεια και η συχνότητα των παλμών καθώς και άλλοι παράγοντες καθορίζουν την αποδοτικότητα της τεχνικής αυτής (Naliyadhara et al., 2022). Η Panja σημειώνει πως τα πλεονεκτήματα του PEF περιλαμβάνουν τη μη θερμική του φύση, την επιλεκτική εκχύλιση, τον μικρότερο χρόνο εκχύλισης και την καθαρή διαδικασία (Panja, 2018).

1.2.4 Εκχύλιση με υγρό υπό πίεση –PLE

Η εκχύλιση με υγρό υπό πίεση (PLE) στηρίζεται στην χρήση οργανικών διαλυτών εφαρμόζοντας υψηλές θερμοκρασίες και πιέσεις. Έτσι το υλικό καθώς είναι τοποθετημένο στο θάλαμο εκχύλισης μαζί με τον διαλύτη, δέχεται θερμοκρασίες γύρω στους 40–200 °C και πίεση 500-3000 psi για 5 -15 λεπτά. Το εκχύλισμα μεταφέρεται σε ένα φιαλίδιο με τη βοήθεια ενός συμπιεσμένου αερίου (Garcia- Salas et al., 2010).

Όπως αναγράφονται και από την Panja τα πλεονεκτήματα του συστήματος είναι τα εξής :

- Οι υψηλές θερμοκρασίες επιτρέπουν την παραλαβή μεγαλύτερων ποσοτήτων πολυφαινολών
- Η αισθητή θερμότητα ενός υγρού είναι μικρότερη από τη θερμότητα εξάτμισης, κάτι που οδηγεί σε εξοικονόμηση ενέργειας.
- Λόγω της φύσης των διαλυτών που χρησιμοποιούνται , η διαδικασία είναι φιλική προς το περιβάλλον.
- Οι διαλύτες έχουν χαμηλό κόστος, καθώς ένα μεγάλο μέρος τους είναι νερό σε υγρή μορφή .
- Ο εξοπλισμός εξαγωγής είναι απλός. (Panja, 2018)

1.2.5 Εκχύλιση με υποβοήθηση των ενζύμων – EAE

Η εκχύλιση με τη βοήθεια ενζύμων (EAA) χαρακτηρίζεται για την χρήση νερού ως διαλύτη αντί για οργανικό διαλύτη (Iqbal et al., 2021). Καθώς τα ενζυμα διασπούν τα κυτταρικά τοιχώματα του φυτικού υλικού, ο διαλύτης διεισδύει προς τα βιοδραστικά συστατικά (Usman et al., 2022). Τα πολυχρησιμοποιημένα ενζυμα ,μεταξύ άλλων, αποτελούν η κυτταρίνη, η πηκτινάση , η πρωτεάση χρησιμοποιούνται συνήθως. (Panja, 2018). Μεγάλο ρόλο στην τεχνική αυτή διαδραματίζει το είδος και η συγκέντρωση των ενζύμων, το μέγεθος του δείγματος, η αναλογία μεταξύ υλικού και διαλύτη καθώς και η διάρκεια εκχύλισης (Ghenabzia et al., 2023). Η ενζυμική υδρόλυση δηλαδή λειτουργεί με την επώαση του διαλύτη και του υλικού σε θερμοκρασίες 35–50°C, με κατάλληλο pH (προτιμότερο είναι το όξινο). Η διαδικασία αποπερατώνεται σε υψηλές θερμοκρασίες (Panja, 2018).

Το κύριο πλεονέκτημα της EAE είναι ότι είναι φιλική προς το περιβάλλον που διαπιστώνεται με την χρήση νερού έναντι σε άλλους οργανικούς διαλύτες. Διατηρεί την ακεραιότητα των ευαίσθητων ενώσεων λόγω χαμηλής θερμοκρασίας και εξοικονομεί ενέργεια. Όμως χρειάζεται ένα μεγάλο χρονικό διάστημα για να ολοκληρωθεί (1 ώρα έως 48 ώρες) (Panja, 2018).

1.2.6 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους –UAE

Η τεχνική αυτή βασίζεται στην αρχή της σπηλαιώσης, όπου μέσω συμπίεσης και διαστολής, αυξάνεται η διαπερατότητα του κυτταρικού τοιχώματος (Iqbal et al., 2021). Οι Carrillo-Hormaza et al. τονίζουν πως «η σπηλαιώση είναι μια διαδικασία

μεταφοράς μάζας μεταξύ του υγρού διαλύτη εκχύλισης και του στερεού φυτικού υλικού» (Carrillo-Hormaza, 2020). Στην επιφάνεια του υλικού δημιουργούνται και καταρρέουν φυσαλίδες με συνέπεια μιας μικρής εκτόξευσης οδηγώντας τελικά σε κατακερματισμό των σωματιδίων (Machado et al., 2019). Όλο αυτό οδηγεί σε υψηλές θερμοκρασίες και πιέσεις. Η ένταση της σπηλαιώσης εξαρτάται από τη συχνότητα και τη δόνηση που παράγεται από την μετατόπιση πλάτους του αισθητήρα. Ιδανικότερες συχνότητες είναι μεταξύ 20 και 40 kHz για την αύξηση του φαινομένου (Carrillo-Hormaza et al., 2020).

Αποτελεί οικολογική τεχνική κάνοντας χρήση λιγότερου με αποτέλεσμα το χαμηλό κόστος (Panja, 2018).

1.3 Μέθοδοι παραλαβής βιοδραστικών συστατικών

Τα εκχυλίσματα αποτελούνται από μείγμα διαφόρων τύπων βιοδραστικών ή φωτοχημικών ενώσεων έχοντας διαφορετικούς βαθμούς πολικότητας μεταξύ τους (Sasidharan et al., 2010). Έτσι προκειμένου να προσδιοριστεί η πιθανή παρουσία συγκεκριμένων ενώσεων με την ποσότητα τους, μετά από την εκχύλιση, απαραίτητος είναι ο καθαρισμός τους όπου στην συνέχεια να καθίσταται δυνατή η ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των βιοδραστικών συστατικών (Patra et al., 2022).

Μερικές από τις μεθόδους είναι η χρωματογραφία λεπτής στιβάδας TLC, η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC, η αέρια χρωματογραφία GC, η χρωματογραφία στήλης και η φασματοσκοπία υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier (FTIR) (Ivanović et al., 2020), (Sasidharan et al., 2010).

Η χρωματογραφία λεπτής στιβάδας TLC χρησιμοποιείται για την αρχική αξιολόγηση βιοδραστικών συστατικών (Assouguem et al. 2025). Οι ενώσεις διαχωρίζονται σε μια επίπεδη επιφάνεια, εξαρτώμενες από την πολικότητα. (Kagan et al., 2014). Συγκεκριμένα, η στατική φάση είναι μια στρώση προσροφητικού υλικού (αλουμίνα, silica gel, κυτταρίνη) στερεή επικαλυμμένου σε γυάλινες πλάκες. Η κινητή φάση ,ο διαλύτης, κινείται προς τα πάνω μέσω της σταθερής φάσης, με την βοήθεια τριχοειδούς δράσης. Το δείγμα καθώς εφαρμόζεται στα κατώτερα σημεία της πλακάς με πιπέτα, ο διαλύτης ανεβαίνοντας παρασύρει τις ενώσεις με διαφορετικούς

ρυθμούς, επιτυγχάνοντας τον διαχωρισμό τους, επηρεαζόμενος από την πολικότητα του υλικού, του διαλύτη και της στερεάς φάσης (Coskun, 2016).

Στην υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC η κινητή φάση διέρχεται μέσα από στήλες υπό υψηλή πίεση ίση με 10-400 atm και υψηλό ρυθμό ροής (0,1-5 cm//sec). Η χρήση μικρών σωματιδίων σε συνδυασμό με υψηλή πίεση στον ρυθμό ροής του διαλύτη ενισχύει την δυνατότητα διαχωρισμού της HPLC σε σύντομο χρονικό διάστημα (Coskun, 2016).

Η αέρια χρωματογραφία GC βασίζεται στον διαχωρισμό των συστατικών μέσω της κατανομής τους μεταξύ μια κινητικής αέριας φάσης και στατικής υγρής φάσης που βρίσκεται σε σωλήνα μικρής διαμέτρου, στήλη, αφού το υλικό εισαχτεί στην στήλη ως στενή ζώνη (Bartle et al., 2002). Η κινητή φάση αποτελείται από αέρια όπως το He ή το N₂ και ρέει υπό ελεγχόμενη πίεση μέσα από την στήλη. Το δείγμα εξατμίζεται και εισέρχεται σε μια αέρια κινητή φάση. Τα συστατικά που περιέχονται στο δείγμα διαμοιράζονται μεταξύ της κινητής φάσης και της σταθερής φάσης στο στερεό φορέα (Coskun, 2016). Ένας ανιχνευτής καταγράφοντας τα συστατικά καθώς εξέρχονται από τη στήλη και παράγει σήματα που χρησιμοποιούνται για την απόκτηση δεδομένων (Bartle et al., 2002).

Η χρωματογραφία στήλης δεν απαιτεί ιδιαίτερη τεχνολογία. Η κινητή φάση που χαρακτηρίζεται και ως «έκλουσμα» αποτελείται από ένα υγρό και η στερεή φάση από στερεό ή υγρό. Το «έκλουσμα» είναι το υγρό που χρησιμοποιείται ως κινητή φάση και η στατική φάση είναι συνήθως στερεό ή υγρό. Το δείγμα καθώς τοποθετείται σε μια πορώδη στατική φάση, η κινητή φάση εφαρμόζεται (με μεγάλη πίεση) και παρασέρνει τα συστατικά με διαφορετικούς ρυθμούς ανάλογα τους προς την στατική φάση (Raj et al. 2022).

Από την άλλη, η φασματοσκοπία υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier (FTIR) αποτελεί μια μη χρωματογραφική μέθοδο.

Η παρασκευή δειγμάτων για το FTIR γίνεται με διάφορους τρόπους. Για υγρά δείγματα, εφαρμόζεται σταγόνα ανάμεσα σε δύο πλάκες χλωριούχου νατρίου, δημιουργώντας μια λεπτή μεμβράνη. Τα στερεά δείγματα μπορούν να αλεστούν με βρωμιούχο κάλιο (KBr) και στη συνέχεια να συμπιεστούν σε διαφανές δισκίο.

Εναλλακτικά , περιλαμβάνει την διάλυση του σε διαλύτη όπως το μεθυλενοχλωρίδιο και το διάλυμα στη συνέχεια να τοποθετηθεί σε μια μόνο πλάκα αλατιού προκειμένου να εξατμιστεί ο διαλύτης αφήνοντας μια λεπτή μεμβράνη του αρχικού υλικού στην πλάκα (Sasidharan et al., 2010).

Για περεταίρω ανάλυση, προκειμένου να μελετηθούν δομικά τα συστατικά που προκύπτουν από το εκχύλισμα , χρησιμοποιούνται διάφοροι μέθοδοι όπως η UV-Ορατή, FTIR, Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού - NMR και φασματοσκοπία μάζας. Οι τεχνικές αυτές βασίζονται στην διέλευση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας μέσα από ένα μόριο το οποίο απορροφά ένα μέρος της ακτινοβολίας αυτής που καταγράφεται και αποτυπώνεται σε ένα φάσμα που χρησιμοποιείται για εξαγωγή πληροφοριών (Mahato et al., 2019).

Η φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού και υπέρυθρου χρησιμοποιείται για την αναγνώριση μορίων που περιέχουν αρωματικές ομάδες ή άλλες χημικές ομάδες που απορροφούν στην περιοχή UV. Οι φαινολικές ενώσεις αναγνωρίζονται στην περιοχή UV-Visible. Αυτές περιλαμβάνουν ανθοκυανίνες, τανίνες, πολυμερείς χρωστικές, φαινολικό οξύ, φλαβονοειδή, κουμαρίνες, λιμονοειδή, σάκχαρα και χρωστικές (Mahato et al., 2019).

«Ο συνδυασμός της συγκεκριμένης τεχνικής με το μετασχηματισμό Fourier (FTIR) αποτελεί προηγμένο αναλυτικό εργαλείο που προσφέρει αναλυτικά δεδομένα υψηλής ανάλυσης για τη διαλεύκανση σύνθετων μορίων», όπως υπογραμμίζεται από τους Mahato et al. (Mahato et al., 2019) .

Στην φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού – NMR όταν το δείγμα εκτεθεί σε μαγνητικό πεδίο, οι πυρήνες των ατόμων, ανταποκρίνονται σε συγκεκριμένες συχνότητες, ανάλογα με το χημικό περιβάλλον στο οποίο βρίσκονται. Οι συχνότητες ονομάζονται χημικές μετατοπίσεις και δίνουν πληροφορίες για τα διαφορετικά είδη χημικών ομάδων που υπάρχουν στο μόριο και τον τρόπο που είναι συνδεδεμένες μεταξύ τους (Simpson et al., 2012).

Στην φασματοσκοπία μάζας το δείγμα ιοντίζεται μέσω ηλεκτρονίων που λειτουργούν ως πηγή ενέργειας. Τα ιόντα που προκύπτουν επιταχύνονται και διαχωρίζονται ανάλογα με τον λόγο μάζας προς φορτίου. Έτσι δίνονται πληροφορίες για την σχετική

μοριακή μάζα ενώσεις, για τον τρόπο που διασπάται το μόριο και επιτρέπει την σύγκριση φάσματος με φάσματα γνωστών ουσιών για την ταυτοποίηση του (Medhe et al., 2018).

Επίσης, φασματοφωτομετρικές τεχνικές που βασίζονται σε αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων (π.χ. DPPH, ABTS, FRAP, FC-TPC) αποτελούν υποκατηγορία των φασματοσκοπικών μεθόδων και χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση των βιοδραστικών ιδιοτήτων (Sik et al., 2022).

«Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (FC) είναι ένα μείγμα φωσφομολυβδαινικού και φωσφοβολφραμικού που χρησιμοποιείται για την χρωματομετρική *in vitro* ανάλυση φαινολικών και πολυφαινολικών αντιοξειδωτικών», όπως αναφέρεται από τους Christodoulou et al. (Christodoulou et al., 2022). Βασίζεται σε μια αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίων στην οποία τα αντιοξειδωτικά δρουν ως δότης ηλεκτρονίων και το αντιδραστήριο F-C δρα ως οξειδωτικό. Η αντίδραση αυτή πραγματοποιείται υπό βασικές συνθήκες και προκαλεί αλλαγή του χρώματος με μέτρηση στα 760 nm (Pérez et al., 2023).

Η μέθοδος DPPH πρόκειται για δοκιμασία δέσμευσης ελεύθερων ριζών με χρήση μιας π-ρίζας, αρωματικών βενζοϊκών δακτυλίων (Christodoulou et al., 2022). Βασίζεται στην μεταφορά ηλεκτρονίων από το αντιοξειδωτικό σε μια ελεύθερη ρίζα. Όταν συμβαίνει αυτό το χρώμα αλλάζει, λειτουργώντας ως δείκτης και το δείγμα μετριέται στα 517 nm (Munteanu et al., 2021).

Η μέθοδος FRAP μετρά την ικανότητα των αντιοξειδωτικών να ανάγουν τρισθενή ιόντα σιδήρου (Fe^{3+}) σε δισθενή (Fe^{2+}) κάτω από όξινες συνθήκες (για διατήρηση της διαλυτότητας του σιδήρου). Αυτό οδηγεί στο χρωματισμό του διαλύματος το οποίο μετριέται στα 593nm (μέγιστη απορρόφηση) (Munteanu et al., 2021).

Η δοκιμή ABTS μετρά την ικανότητα των αντιοξειδωτικών να εξουδετερώνουν το σταθερό κατιόν ρίζας 2,2'-αζινοδις(3-αιθυλοβενζοθιαζολιν-6-σουλφονικού οξέος) ($\text{ABTS}^{\bullet+}$), ένα μπλε-πράσινο χρωμοφόρο. Ανάλογα με την ποσότητα των αντιοξειδωτικών ενώσεων στο μείγμα, το χρώμα αποχρωματίζεται αναλόγως και μετριέται στα 734 nm (Munteanu et al., 2021).

1.4 Αντιοξειδωτική δράση καρπών και φρούτων

Οι ελεύθερες ρίζες είναι χημικές ενώσεις με υψηλή δραστηριότητα λόγω της παρουσίας ασύζευκτων ηλεκτρονίων. Τα O_2^- , υδροξύλιο (OH^-), υδροϋπεροξύλιο (HOO^-), υπεροξύλιο (ROO^-) και αλκοξύλιο (RO^-) είναι μερικά παραδείγματα. Εξαιτίας της αστάθειάς τους επιδιώκουν να σταθεροποιηθούν αποσπώντας από γειτονικά σταθερά μόρια ηλεκτρόνια και έτσι μετατρέπονται σε ελεύθερες ρίζες οδηγώντας σε μια αλυσιδωτή αντίδραση. Οι διαδικασίες που ακολουθούν έχουν ως αποτέλεσμα την διάσπαση των κυττάρων (Kaur et al., 2001).

Η αντιοξειδωτική δράση μιας βιοδραστικής ένωσης συνίσταται στην εξουδετέρωση ελεύθερων ριζών, την παρεμπόδιση λιπιδικής υπεροξειδωσίας και την πρόληψη οξειδωτικών αλλοιώσεων των κυττάρων (Zou et al., 2015).

Τα φυσικά αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στα φυτά, ανήκουν στην ομάδα των φαινολικών ενώσεων. Αυτές βρίσκονται συνδεδεμένες με μόρια σακχάρων (μονοσακχαρίτες ή πολυσακχαρίτες) ή εμφανίζονται ως λειτουργικά παράγωγα όπως εστέρες και μεθυλεστέρες. Μια ευρέως διαδεδομένη σημαντική αντιοξειδωτική ουσία που είναι υποκατηγορία των πολυφαινόλων είναι τα φλαβονοειδή (βρίσκονται, μεταξύ άλλων, σε κόκκινα μούρα και ροδάκινα) (Haseeb et al., 2018). Η αντιοξειδωτική δράση των φλαβονοειδών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον αριθμό και τη θέση των υδροξυλομάδων στο μόριο (Farkas et al., 2004). Ισχυρά αντιοξειδωτικά είναι και οι ανθοκυανίνες, μια υποκατηγορία φλαβονοειδών που υπάρχει στα μούρα. Τα καροτενοειδή είναι μια άλλη σημαντική κατηγορία φυτοχημικών αντιοξειδωτικών μετά τις πολυφαινόλες (βρίσκονται, μεταξύ άλλων, σε παπάγια και βερίκοκο) (Haseeb et al., 2018). Οι βιταμίνες A, C (ασκορβικό οξύ) και E (τοκοφερόλη) συγκαταλέγονται επίσης στα αντιοξειδωτικά. Οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες, όπως το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), δρουν στο υδατικό περιβάλλον εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες. Αντίθετα οι λιποδιαλυτές βιταμίνες, όπως η τοκοφερόλη, εντοπίζονται στις κυτταρικές μεμβράνες, εμποδίζοντας την αποδόμησή τους (Christodoulou et al., 2022).

Υπάρχουν πολλές μέθοδοι για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης, που στηρίζονται στη χρήση αντιδραστηρίων που δημιουργούν ελεύθερες ρίζες και σε διαφορετικούς μηχανισμούς ανίχνευσης της ικανότητας εξουδετέρωσής τους από το

υλικό. Η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC), προσδιορίζει τη γενική ικανότητα ενός δείγματος να εξουδετερώνει ελεύθερες ρίζες, ανεξάρτητα από τη φύση και συγκέντρωση των επιμέρους αντιοξειδωτικών που περιέχει. Έχουν αναπτυχθεί πολλές μέθοδοι για τη μέτρηση της TAC, όπως FRAP, DPPH, ABTS (Harasym et al., 2014).

1.5 Άρκευθος : Στοιχεία οικολογίας του είδους

1.5.1 Συστηματική ταξινόμηση και μορφολογία του είδους

Κλάση: Pinopsida

Τάξη: Pinales

Οικογένεια: Cupressaceae

Γένος: *Juniperus*

Είδος: *communis* (Bais et al., 2014)

Η άρκευθος είναι ένας αυτοφυής αειθαλής γυμνόσπερμος θάμνος ή μικρό δέντρο ύψους έως 10 μ.. Ο φλοιός έχει χρώμα κοκκινωπό-καφέ και είναι λεπτός, συχνά ξεφλουδισμένος σε μακριές λωρίδες. Οι νεαροί βλαστοί του είναι τριγωνικοί παρουσιάζοντας εμφανείς αυλακώσεις. Ίδιο σχήμα έχουν και τα κλαδιά του τα οποία είναι λεπτά, λεία και συχνά λαμπερά, με τους κόμβους να αναπτύσσονται σε τρεις κατευθύνσεις, αντίθετα με άλλα είδη της οικογένειας Cupressaceae (Thomas et al., 2007). Τα φύλλα του είναι πράσινα και βελονοειδή, τοποθετημένα σε σπειροειδείς ομάδες των τριών. Κάθε φύλλο φέρει μια λεύκη λωρίδα στην εσωτερική επιφάνεια

του (Raina et al., 2019), η οποία κάποιες φορές διακόπτεται από μια πράσινη γραμμή προς την βάση, όπου συχνά υπάρχει ένας αδένας που εκκρίνει ρητίνη από τον αξονικό ιστό. Δεν υπάρχει ενήλικο φύλλωμα σε αυτό το είδος αρκεύθου. Το νεανικό φύλλωμα έχει μήκος 5–12 mm, με μυτερή κορυφή, αρθρωμένο στη βάση, πολύ αγκαθωτό και τοποθετημένο όρθια έως ανοιχτά. Οι οφθαλμοί έχουν μήκος περίπου 3 mm και φέρουν μυτερά λέπια (Thomas et al., 2007). Είναι δίοικο με αρσενικούς και θηλυκούς κώνους που επικονιάζονται με τον άνεμο σε ξεχωριστά φυτά. Οι καρποί που μοιάζουν με μούρα είναι υποσφαιρικοί, με αρχικό πράσινο χρώμα που μετατρέπεται σε μωβ-μαύρο χρώμα με μπλε κηρώδη επίστρωση όταν ωριμάσουν. Έχουν διάμετρο 4-12 mm και τρία (περιστασιακά έξι) σαρκώδη συγχωνευμένα λέπια, με το κάθε ένα να παρέχει έναν μόνο σπόρο (Raina et al., 2019). Οι αρσενικοί κώνοι, έχουν διάμετρο 8 mm, με 3–6 έλικες στημόνων. Οι θηλυκοί είναι μασχαλιαίοι, περίπου 2 mm όταν είναι νεαροί και 5–10 mm όταν είναι ώριμοι (Thomas et al., 2007). Οι σπόροι είναι σκληροί με τριγωνικό σχήμα και βρίσκονται 1-3 σε κάθε καρπό (Enescu et al., 2016).



Εικόνα 1. Βλαστός του *Juniperus communis*.



Εικόνα 2 .Καρποί του *Juniperus communis*.

1.5.2 Οικολογία- Εδαφοκλιματικές συνθήκες

Το *Juniperus communis* είναι ευρέως διαδεδομένο στην κεντρική και βόρεια Ευρώπη, αλλά νοτιότερα οι πληθυσμοί του περιορίζονται σε διάσπαρτες ορεινές περιοχές γύρω από τη λεκάνη της Μεσογείου (García et al., 2001). Στην κεντρική και βόρεια Ευρώπη, εμφανίζεται τόσο σε πεδινές περιοχές όπως βοσκοτόπια, εγκαταλειμμένα χωράφια και αποψιλωμένες εκτάσεις, όσο και σε μεγάλα υψόμετρα, όπως σε υπαλπικά λιβάδια πάνω από τα όρια των δασών στα ευρωσιβηρικά βουνά και σε ξηρές θαμνώδεις εκτάσεις στα γύρω μεσογειακά βουνά. Απαντάται επίσης στο όριο τάιγκα-τούνδρας στη βόρεια Ευρώπη (García et al., 2000-2001). Είναι προσαρμοσμένο στη χαμηλή διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών στο έδαφος (Gonçalves et al., 2022). Το είδος παρουσιάζει ευρεία οικολογική προσαρμοστικότητα, καθώς μπορεί να επιβιώσει κάτω από ποικίλες περιβαλλοντικές συνθήκες. Απαντάται σε υψόμετρα έως 2400 m. Φύεται σε ποικίλα εδαφικά υποστρώματα, σε ανοιχτά λιβάδια σε αμιγείς ή μικτές συστάδες (Jocienė et al., 2023). Ανθίζει Απρίλιο – Ιούνιο (Tirmenstein, 1999). Είναι ανθεκτικό στην ξηρασία και το κρύο, αλλά απαιτεί άπλετο φως. Μπορεί να αναπτυχθεί σε όξινα αμμώδη ή ασβεστούχα εδάφη και προτιμά τα ελεύθερα στραγγιζόμενα εδάφη και τις βραχώδεις εξάρσεις (Enescu et al., 2016). Λόγω της αντοχής του στον παγετό, μπορεί να αναπτυχθεί σε φτωχά εδάφη και σε σκληρά περιβάλλοντα (Beikircher et al., 2008).

1.5.3. Χρήσεις της άρκευθου

Η άρκευθος είναι ένα από τα πιο χρήσιμα είδη θάμνων πολλαπλών χρήσεων παγκοσμίως. Χάρη στην υψηλή περιεκτικότητα σε αιθέρια έλαια, τα εκχυλίσματα από τα κλαδιά, τα φύλλα και τους καρπούς του έχουν χρησιμοποιηθεί στην παραδοσιακή ιατρική (για ουρολοιμώξεις, δερματίτιδες, διουρητικό). Το ξύλο έχει αποδειχθεί ακόμη και κατάλληλο για τεχνητά οστικά εμφυτεύματα. Τα κλαδιά, τα φύλλα και κυρίως οι καρποί αποτελούν σημαντική διατροφική πηγή για πολλά μικρά και μεγάλα ζώα, όπως πουλιά, ελάφια, βοοειδή, άλογα και πρόβατα (Enescu et al., 2016). Σύμφωνα με τους Bais et al. (2014) το φυτό έχει αναφερθεί ως «διουρητικό, με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, αντιμυκητιακή, αναλγητική, ηπατοπροστατευτική, αντιδιαβητική, αντιυπερλιπιδαιμική, αντιμικροβιακή, αντιοξειδωτική, αντιβακτηριακή δράση, καθώς και νευροπροστατευτική επίδραση στη νόσο του Πάρκινσον» (Bais et al., 2014). Οι καρποί του φυτού έχουν χρησιμοποιηθεί παραδοσιακά για τη θεραπεία ημικρανίας, ρευματικής αρθρίτιδας και ουρικής αρθρίτιδας. Στη Ρουμανία, οι καρποί της αρκεύθου χρησιμοποιούνται παραδοσιακά ως έγχυμα ή βάμμα εσωτερικά για διουρητικές και αντισηπτικές επιδράσεις και εξωτερικά για διάφορες δερματικές παθήσεις. Οι καρποί έχουν επίσης αντισηπτική και στυπτική δράση (Raina et al., 2019). «Τα εκχυλίσματα του *J. communis* έχουν δείξει προστατευτική δράση στον νευρικό ιστό», υπογραμμίζουν οι Raina et al. (2019). Οι καρποί της αρκεύθου χρησιμοποιούνται επίσης και στον τομέα της γαστρονομίας (ως μπαχαρικό) και ως φυσικό συστατικό στις βιομηχανίες καλλυντικών και τροφίμων, ιδίως στην παραδοσιακή παραγωγή τζιν (Albrecht et al., 2022).

2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η παραλαβή ενός βέλτιστου εκχυλίσματος από καρπούς της αρκεύθου (*Juniperus communis*) μέσω της βελτιστοποίησης των παραμέτρων της εκχύλισης. Στοχεύει στην ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των βιοδραστικών συστατικών προκειμένου να αξιολογηθούν οι ιδιότητες του εκχυλίσματος αυτού. Επιδιώκει επίσης τον χαρακτηρισμό των ενώσεων που εμπεριέχονται στο έλαιο του καρπού.

3.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Εκχύλιση των καρπών

3.1.1 Συλλογή καρπών, επεξεργασία και εκχύλιση υπό διαφορετικές συνθήκες

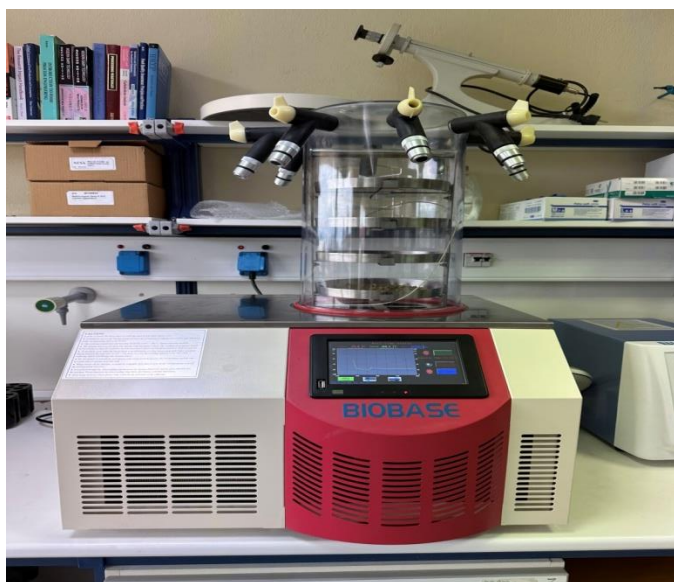
Η συλλογή των καρπών της αρκεύθου πραγματοποιήθηκε προσεκτικά σε ημιορεινή περιοχή της Καλαμπάκας. Προκειμένου να γίνει δυνατή η ανάλυσή τους ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα. Αρχικά έγινε σπάσιμο των καρπών με χρήση σφυριού ώστε να γίνουν θρύψαλα. Σε αυτό το σημείο παρατηρήθηκε χαρακτηριστική οσμή, σαν ρετσίι και κολλώδη υφή. Έπειτα το υλικό χωρίστηκε σε 4 μικρούς δίσκους όπου και ζυγίστηκε. Στο κάθε δίσκο το καθαρό βάρος του υλικού ήταν περίπου 30 g. Συγκεκριμένα: δίσκος 1=34,11 gr, δίσκος 2 = 35,49 gr , δίσκος 3 = 32,34 gr και δίσκος 4 = 33,15 gr. Συνολική ποσότητα υλικού 135,09 gr. Στη συνέχεια, για να γίνει απομάκρυνση της υγρασίας επιλέχτηκε η τεχνική της λιοφυλίωσης - ξήρανση με κατάψυξη. Έτσι, χρησιμοποιήθηκε ο λιοφυλιωτής -freeze dryer Biobase BK-FD10P (Jinan, China) που διαθέτει θάλαμο κατάψυξης και αντλία κενού (Tsitsirigka et al., 2025). Εκεί το υλικό αφέθηκε για 24 ώρες με πίεση 7 Pa και θερμοκρασία -60°C. Μετά το πέρας της διαδικασίας αυτής, η ποσότητα του υλικού ανερχόταν στα 116,97gr. Άρα το 13,41 % ήταν υγρασία. Επόμενο βήμα ήταν η μετατροπή του δείγματος σε μορφή σκόνης ώστε να αυξηθεί η αποτελεσματικότητα της διαδικασίας εκχύλισης. Αυτό έγινε με τη βοήθεια ενός αναμίκτη. Στη συνέχεια, το υλικό πέρασε από ηλεκτρικό κόσκινο Analysette 3 PRO (Fritsch GmbH, Oberstein, Germany) αποτελούμενο από 5 πλαίσια με διαφορετική διάμετρο το κάθε ένα (1,6 mm, 800 μm, 400 μm, 200 μm, 100 μm) και συλλέχτηκε το τελικό δείγμα σκόνης με την επιθυμητή διάμετρο (<400 μm). Τα δείγματα κοσκινίστηκαν 2 φορές και πριν τη δεύτερη φορά πέρασαν ξανά από το αναμίκτη τα δείγματα με διάμετρο μέχρι τα 400 μm. Η λεπτόκοκκη μορφή είναι επιθυμητή επειδή έχει καλύτερη επιφάνεια επαφής με τον διαλύτη. Τα δείγματα φυλάσσονταν κάθε φορά στην κατάψυξη στους -40°C μέχρι την στιγμή της χρήσης τους για τη διατήρηση των δραστικών συστατικών τους.



Εικόνα 3 Οι προς μελέτη καρποί του *Juniperus communis*.



Εικόνα 4. Θρυμματισμένοι καρποί του *J.communis*.



Εικόνα 5. Ξήρανση καρπών στον λιοφυλιωτή -freeze dryer Biobase BK-FD10P.

Λόγω της ύπαρξης κολλώδους ουσίας στο καρπό, χρειάστηκε να γίνει απολίπανση ώστε να απομακρυνθεί και να διευκολυνθεί η εκχύλιση. Για αυτό το σκοπό, από την λεπτόκοκκη σκόνη που δημιουργήθηκε, χρησιμοποιήθηκαν τα 50 gr. Για πρακτικούς λόγους χωρίστηκαν σε 2 δείγματα των 25 gr. Έτσι σε δύο φιάλες των 500 ml προστέθηκαν σε κάθε ένα τα 25 gr σκόνης (συγκεκριμένα στο 1ο ήταν 25,57 gr, και στο 2ο ήταν 25,06 gr) και 250 ml εξάνιο (Hexane) τα οποία μετρήθηκαν με ογκομετρικό κύλινδρο. Τυλίχτηκαν με αλουμινόχαρτο για προστασία από το φως και αφέθηκαν για εκχύλιση υπό ανάδευση, με μαγνητικό αναδευτήρα (Heidolph Instruments GmbH & Co. KG Schwabach, Γερμανία) για 24 ώρες. Έπειτα από αυτό το διάστημα, τα δυο εκχυλίσματα που προέκυψαν, διηθήθηκαν. Τα μέσα που χρησιμοποιήθηκαν για την διήθηση ήταν δύο σφαιρικές φιάλες των 250 ml, φελιζολ, διηθητικό χαρτί και χωνί. Έπειτα ακολούθησε η εξάτμιση για να απομακρυνθεί το εξάνιο. Η θερμοκρασία στη διαδικασία αυτήν ήταν 35°C. Μετά από την εξάτμιση το καθαρό βάρος του ελαίου στην πρώτη φιάλη ήταν 3,28 gr και στη δεύτερη ήταν 3,26 gr. Άρα από τα 25 gr της μιας φιάλης το 12 % ήταν έλαιο και της άλλης το 13,04 %. Αυτό το έλαιο που προέκυψε τοποθετήθηκε σε φιαλίδιο Eppendorf των 2 ml και αποθηκεύτηκε στην κατάψυξη για μελλοντική χρήση. Το στερεό υλικό που απέμεινε ήταν αυτό που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση. Αφού συλλέχτηκε ένα μεγάλο δίσκο, τοποθετήθηκε σε φούρνο – κλίβανο επώασης για 1 ώρα ώστε να εξατμιστεί το εξάνιο που περιλάμβανε. Έπειτα μετρήθηκε η ποσότητα η οποία ήταν 41,58 gr.



Εικόνα 6. Εξάτμιση για απομάκρυνση του εξανίου.

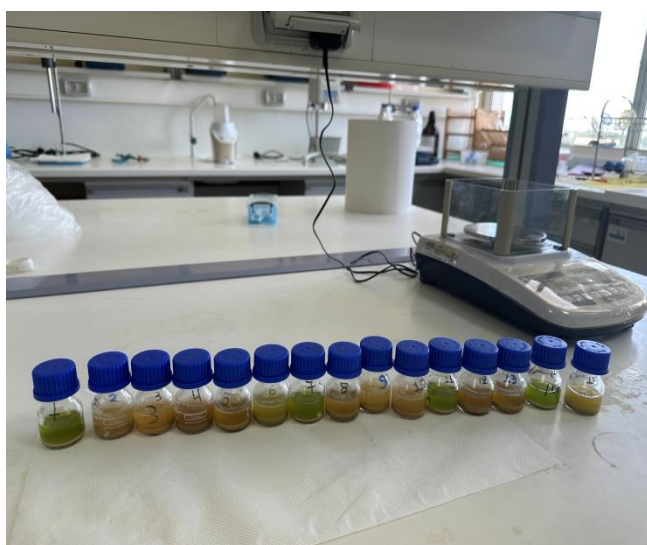


Εικόνα 7. Απολιπασμένη σκόνη.

Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε με την χρήση ενός πολυπαραγοντικού συστήματος, όπως παρουσιάζεται στο πίνακα 1, το οποίο περιλάμβανε διακυμάνσεις στις τιμές της θερμοκρασίας (T , $^{\circ}\text{C}$), του χρόνου εκχύλισης και της συγκέντρωσης αιθανόλης (CEtOH , %, v/v). Η συμβατική ανάδευση με μαγνητικό αναδευτήρα (Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Germany) ήταν η μέθοδος εκχύλισης που επιλέχτηκε με αναλογία στερεού προς υγρό 1:20 gr/ml και 500 rpm. Τα δείγματα ήταν 15. Έτσι, χρησιμοποιώντας φιάλες, προστέθηκε σε κάθε ένα 0,5 gr υλικού και 10 ml διαλυτή και τοποθετήθηκαν σε ποτήρι ζέσεως που περιείχε έλαιο πάνω σε θερμαντικές πλάκες. Η βύθιση της φιάλης μέσα στο έλαιο βοηθούσε στην σταθερότητα της θερμοκρασίας περιβάλλοντος. Μετά το πέρας της εκχύλισης η κάθε φιάλη μεταφέρθηκε ξεχωριστά με πιπέτα σε δύο Eppendorf του 1 ml και ακολούθως σε φυγοκέντρηση (Remi Elektrotechnik Ltd. Palghar, India) για 5 λεπτά στις 10.000 στροφές.



Εικόνα 8. Εκχύλιση με ανάδευση.



Εικόνα 9. Εκχυλίσματα.

Η μέθοδος απόκρισης επιφανειών–RSM (Response Surface Methodology), περιλαμβάνοντας ένα σχέδιο Box–Behnken, χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των βέλτιστων παραμέτρων εκχύλισης για το συνολικό περιεχόμενο πολυφαινόλων (TPC, Total Polyphenol Content), ασκορβικού οξέος (AAC, Ascorbic Acid Content), την αντιοξειδωτική δύναμη αναγωγής του σιδήρου (FRAP, Ferric Reducing Antioxidant Power) και την αντιριζική δράση (DPPH, Radical Scavenging Activity). Στόχος του σχεδιασμού ήταν η μεγιστοποίηση της απόδοσης των καρπών σε ολικές πολυφαινόλες, ασκορβικό οξύ και αντιοξειδωτική δράση. Το σχέδιο περιλάμβανε 15

πειραματικές δοκιμές με τρεις βασικούς παράγοντες, με κάθε δοκιμή να επαναλαμβάνεται τρεις φορές, οι οποίες διαφοροποιούνταν μεταξύ τους με βάση τις τρεις ανεξάρτητες μεταβλητές- οι οποίες ήταν και κωδικοποιημένες: συγκέντρωση αιθανόλης στο νερό (C, % v/v) ως X1, θερμοκρασία (T, °C) ως X2 και χρόνος εκχύλισης (t, min) ως X3. Κάθε μεταβλητή αξιολογήθηκε σε τρία επίπεδα, τα οποία ήταν και αυτά κωδικοποιημένα: (-1), (0) και (+1). Για το διαλύτη το -1 αντιπροσώπευε την τιμή 0 που σημαίνει ότι ο διαλύτης ήταν καθαρό νερό, το 0 αντιστοιχούσε στην τιμή 50 που σημαίνει ότι ο διαλύτης αποτελούταν 50% από νερό και 50% από αιθανόλη και το 1 παρέπεμπε στην τιμή 100 που σημαίνει ότι ο διαλύτης αποτελούταν μόνο από αιθανόλη. Τα κωδικοποιημένα επίπεδα σε θερμοκρασία και χρόνο συμβολίζουν τους διαφορετικούς βαθμούς κελσίου και την διάρκεια της εκχύλισης σε λεπτά αντίστοιχα. Υπολογίστηκε ο μέσος όρος των αποτελεσμάτων (Tsitsirigka et al., 2025).

Πίνακας 1. Οι ανεξάρτητες μεταβλητές και η κωδικοποίηση τους ως παράμετροι και επίπεδα που χρησιμοποιήθηκαν για την βελτιστοποίηση της εκχύλισης.

(Tsitsirigka et al., 2025)

Ανεξάρτητες μεταβλητές	Κωδικοποιημένες παράμετροι	Κωδικοποιημένα επίπεδα		
		-1	0	1
C (% v/v)	X ₁	0	50	100
T (°C)	X ₂	20	50	80
t (min)	X ₃	30	60	90

Πίνακας 2. Πλάνο Box-Behnken σχεδιασμού 15 δοκιμών με διαφορετικές συνθήκες διαλύτη, θερμοκρασίας και διάρκειας και το ακριβές βάρος ξηρής ουσίας καρπών κάθε δείγματος.

(Tsitsirigka et al., 2025)

Δείγματα	C (% v/v)	T (°C)	T (min)	Βάρος (gr)
1	1 (100)	0 (50)	1 (90)	0,4999
2	-1 (0)	1 (80)	0 (60)	0,5003
3	-1 (0)	0 (50)	-1 (30)	0,5005

4	0 (50)	1 (80)	1 (90)	0,5006
5	0 (50)	0 (50)	0 (60)	0,4999
6	0 (50)	-1 (20)	-1 (30)	0,5006
7	1 (100)	1 (80)	0 (60)	0,5013
8	0 (50)	0 (50)	0 (60)	0,5024
9	-1 (0)	-1 (20)	0 (60)	0,5023
10	-1 (0)	0 (50)	1 (90)	0,5
11	1 (100)	0 (50)	-1 (30)	0,502
12	0 (50)	1 (80)	-1 (30)	0,5015
13	0 (50)	0 (50)	0 (60)	0,5004
14	1 (100)	-1 (20)	0 (60)	0,5006
15	0 (50)	-1 (20)	1 (90)	0,5018

Η ακρίβεια πρόβλεψης του μοντέλου αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων, με αποτέλεσμα μια πολωνυμική εξίσωση δεύτερης τάξης που περιέγραφε τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των τριών ανεξάρτητων μεταβλητών:

$$Y_k = \beta_0 + \sum_{i=1}^2 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

όπου οι ανεξάρτητες μεταβλητές συμβολίζονται με X_i και X_j , και η προβλεπόμενη μεταβλητή απόκρισης ορίζεται από το Y_k . Στο μοντέλο, οι συντελεστές τομής και παλινδρόμησης β_0 , β_i , β_{ii} και β_{ij} αντιπροσωπεύουν τους γραμμικούς, τετραγωνικούς και αλληλεπιδραστικούς όρους, αντίστοιχα. (Tsitsirigka et al., 2025)

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το κάθε εκχύλισμα μεταφέρθηκε ξεχωριστά σε δύο Eppendorf του 1ml. Για την πραγματοποίηση των παρακάτω μεθόδων χρησιμοποιούνταν ένα από τα δυο Eppendorf από το κάθε δείγμα, κάνοντας τις απαραίτητες αραιώσεις ώστε να χρησιμοποιηθούν ως βάση, από την οποία

δημιουργούνταν 3 επαναλήψεις. Επίσης, κάθε φορά παρασκευάζονταν και τα δυο μηδενικά-τυφλά (B) δείγματα ως μάρτυρες, όπου στην ουσία «καθοδηγούσαν» το σύστημα.

3.2 Προσδιορισμός βιοδραστικών συστατικών

3.2.1 Μέθοδος προσδιορισμού ολικών πολυφαινόλων (TPC)

Για τον προσδιορισμό της συνολικής περιεκτικότητας σε πολυφαινόλες (TPC) χρησιμοποιήθηκε η ευρέως γνωστή μέθοδος Folin-Ciocalteu. Έτσι, πραγματοποιήθηκε αρχικά αραίωση 1:50 προσθέτοντας 980 μl H_2O σε 20 μl εκχυλίσματος, σε κάθε ένα από τα 15 δείγματα. Έπειτα αναδεύτηκαν με το vortex. Οι 3 επαναλήψεις έγιναν με την χρήση Eppendorf όπου με πιπέτα ακριβείας μεταφέρθηκαν 100 μl δείγματος και 100 μl αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu. Στα τυφλά χρησιμοποιήθηκαν δύο Eppendorf όπου προστέθηκαν 100 μl H_2O και 100 μl του αντιδραστηρίου. Ακολούθησε ανάδευση με vortex και προσθήκη 800 μl Na_2CO_3 (5% w/v) σε όλα τα δείγματα (εκτός των αραιωμένων εκχυλισμάτων –βάσεις). Έπειτα μεταφέρθηκαν σε υδατόλουτρο στους 40°C, για 20 min. Τέλος, έγινε μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων στο φασματοφωτόμετρο στα 740 nm, αφού πρώτα έγινε μηδενισμός της απορρόφησης με βάση τους μάρτυρες. Το γαλλικό οξύ χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπη ουσία προκειμένου να δημιουργηθεί η καμπύλη βαθμονόμησης ώστε να καθίσταται δυνατή η ποσοτικοποίηση των συνολικών πολυφαινόλων. Η συγκέντρωση τους εκφράστηκε ως ισοδύναμα mg γαλλικού οξέος (GAE) ανά λίτρο και έπειτα ως mg GAE ανά γραμμάριο ξηρού βάρους (dw), χρησιμοποιώντας την εξίσωση (2):

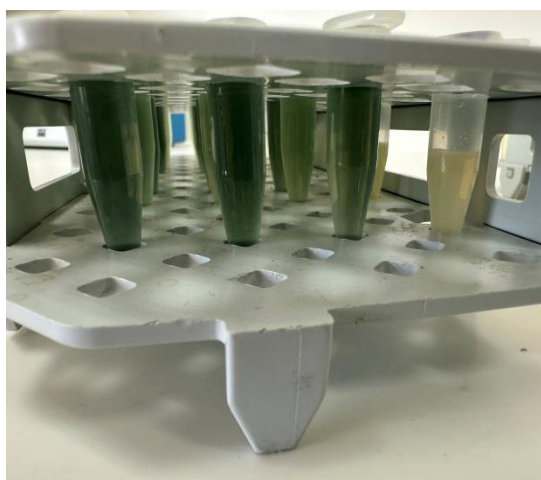
$$\text{TPC (mg GAE/g dw)} = \frac{CTP \times V}{w} \quad (2) , \quad \text{όπου } V \text{ ο όγκος της μέσης εκχύλισης σε λίτρα και } w \text{ το ξηρό βάρος των καρπών σε γραμμάρια (Tsitsirigka et al., 2025).}$$



Εικόνα 10. Δείγματα πριν την μέτρηση με την μέθοδο Folin-Ciocalteu –TPC.

3.2.2 Μέθοδος προσδιορισμού ασκορβικού οξέος - Βιταμίνης C (AAC)

Σε αυτή την μέθοδο τα εκχυλίσματα αραιώθηκαν σε 1:1, άρα σε 500 μl δείγματος προστέθηκαν 500 μl H₂O. Στη συνέχεια σε κάθε Eppendorf των επαναλήψεων (3) προστέθηκαν 100 μl δείγματος, 500 μl 10% Folin και 900 μl 10% TCA. Τα τυφλά –B δημιουργήθηκαν όπως και οι επαναλήψεις των δειγμάτων με τη διαφορά ότι αντί για 100 μl δείγματος, προστέθηκαν 100 μl H₂O. Έγινε ανάδευση και μεταφέρθηκαν στο σκοτάδι όπου παρέμειναν για 10 min. Η μέτρησή τους στο φασματοφωτόμετρο έγινε στα 760 nm μετρώντας τη συγκέντρωσή του με τη βοήθεια καμπύλης με βάση το ασκορβικό οξύ.



Εικόνα 11. Δείγματα πριν την μέτρηση με την μέθοδο ACC.

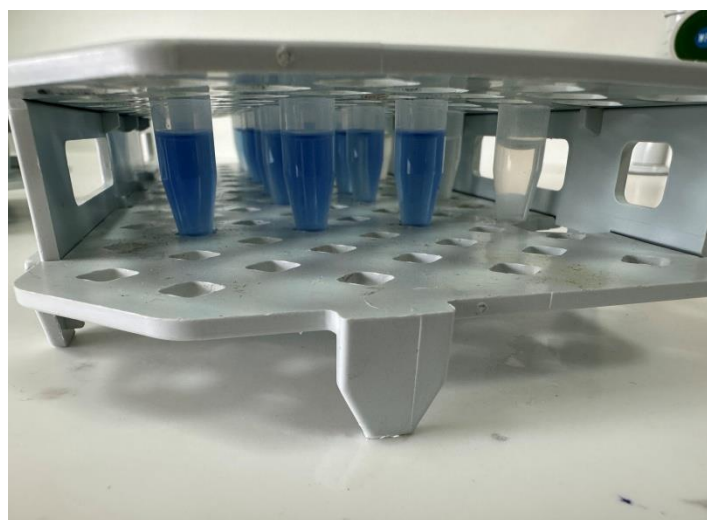
3.3 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης

3.3.1 Μέθοδος FRAP

Σε αυτή την μέθοδο τα εκχυλίσματα αραιώθηκαν 1:50, δηλαδή σε 20 μl δείγματος προστέθηκαν 980 μl H₂O. Έπειτα, σε κάθε Eppendorf των επαναλήψεων μεταφέρθηκαν 50μl δείγματος και 50 μl του αντιδραστηρίου FeCl₃. Στα τυφλά –B , η μόνη διαφορά ήταν τα 50μl H₂O αντί του δείγματος. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν όλα σε υδατόλουτρο για 30 min στους 37°C. Μετά το πέρας του χρόνου προστέθηκαν 900μl αντιδραστηρίου TPTZ σε όλα και αναδεύτηκαν. Παρέμειναν σε ακινησία για 5 min και ύστερα μετρήθηκαν στα 620 nm. Η μείωση της αντιοξειδωτικής δύναμης (PR) μετρήθηκε σε μmol ισοδύναμων ασκορβικού οξέος (AAE) ανά γραμμάριο ξηρού βάρους δείγματος, χρησιμοποιώντας καμπύλη βαθμονόμησης ασκορβικού οξέος (CAA, 50–500 μmol/L in 0.05 M HCl) όπως στην εξής εξίσωση (3):

$$PR (\mu\text{mol AAE/g dw}) = \frac{CAA \times V}{w} \quad (3), \text{ όπου } V \text{ ο όγκος της μέσης}$$

εκχύλισης σε λίτρα και w το ξηρό βάρος των καρπών άρκευθου σε γραμμάρια (Tsitsirigka et al., 2025).



Εικόνα 12. Δείγματα πριν την μέτρηση με την μέθοδο FRAP.

3.3.2 Μέθοδος DPPH

Αρχικά εδώ πρέπει να μετρηθεί η αρχική απορρόφηση στα 515 nm. Έτσι αναμείχτηκαν 25μl μεθανόλης και 975 μl αραιωμένου διαλύματος DPPH (100μmol/L σε MeOH) και έγινε μέτρηση $A_{515(i)}$. Και σε αυτή την μέθοδο τα δείγματα αραιώθηκαν σε 1:50. Σε κάθε Eppendorf των επαναλήψεων προστέθηκαν 25μl

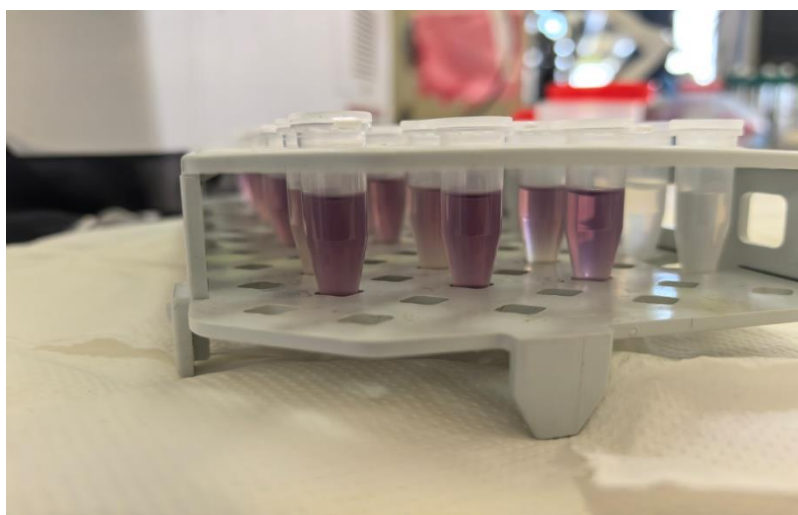
δείγματος και 975μl αραιωμένου διαλύματος DPPH. Στους μάρτυρες προστέθηκε μόνο μεθανόλη. Έπειτα, παρέμειναν στο σκοτάδι για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια αναδεύτηκαν και μετρήθηκαν στα 515nm, $A_{515}(f)$, αφού μηδενίστηκε πρώτα με μεθανόλη. Για τη μέτρηση του ποσοστού δέσμευσης ελευθέρων ριζών, χρησιμοποιήθηκε η παρακάτω εξίσωση (4):

$$\text{Δέσμευση (\%)} = \frac{A_{515}(i) - A_{515}(f)}{yA_{515}(i)} \times 100 \quad (4)$$

Για την εκτίμηση της δράσης κατά των ελευθέρων ριζών (AAR), εκφρασμένη ως μmol AAE/gr ξηρού βάρους, χρησιμοποιήθηκε καμπύλη βαθμονόμησης ασκορβικού οξέος (CAA) στην παρακάτω εξίσωση (5):

$$AAR (\mu\text{mol AAE/g dw}) = \frac{CAA \times V}{w} \quad (5)$$

όπου V ο όγκος της μέσης εκχύλισης σε λίτρα και w το ξηρό βάρος των καρπών σε γραμμάρια (Tsitsirigka et al., 2025).



Εικόνα 13. Δείγματα πριν την μέτρηση με την μέθοδο DPPH.

3.4 Ανάλυση HPLC για τον προσδιορισμό των πολυφαινολικών ενώσεων στη βέλτιστη εκχύλιση

Το πολυφαινολικό προφίλ του εκχυλίσματος καρπών αρκεύθου εξετάστηκε περαιτέρω μέσω υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC), Shimadzu CBM-20A και ανιχνευτή συστοιχίας διόδων Shimadzu SPD-M20A. Οι ταυτοποιημένες ενώσεις συγκρίθηκαν με πρότυπα υψηλής καθαρότητας με βάση το χρόνο κατακράτησης και το φάσμα UV. Οι ενώσεις διαχωρίστηκαν σε στήλη Phenomenex Luna C18 και διατηρήθηκαν στους 40°C. Η κινητή φάση αποτελούνταν από 0.5% υδατικό φορμικό οξύ (A) και ένα μείγμα 0.5% φορμικού οξέος σε ακετονιτρίλιο/νερό (6:4) (B). Το πρόγραμμα εκτελέστηκε ως εξής: ξεκίνησε από 5% B και αυξήθηκε στο 40% B, στη συνέχεια αυξήθηκαν στο 50% B σε 10 λεπτά, κάνοντας περαιτέρω αύξηση στο 70% B στα επόμενα 10 λεπτά, και στη συνέχεια διατηρήθηκε αυτό το επίπεδο για 10 λεπτά. Ο ρυθμός ροής της κινητής φάσης ήταν ρυθμισμένος στο 1 mL/min. Η εξακρίβωση των ενώσεων επιτεύχθηκε με σύγκριση ανάμεσα στον χρόνο κατακράτησης και το φάσμα απορρόφησης των πρότυπων χημικών ενώσεων. Η ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων έγινε με καμπύλη βαθμονόμησης με εύρος από 0 έως 50 µg/mL.

3.5 Στατιστική Ανάλυση

Μετά την ολοκλήρωση των παραπάνω μεθόδων πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση στα αποτελέσματα για τον εντοπισμό των βέλτιστων συνθηκών εκχύλισης των καρπών. Για την απεικόνιση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι μέσες τιμές $\pm$ την τυπική απόκλιση (SD) από τρεις ξεχωριστές αναλύσεις. Για να ελεγχθεί εάν οι διαφορές μεταξύ των μέσων όρων ήταν στατιστικά σημαντικές, πραγματοποιήθηκε μονοπαραγοντική ανάλυση διακύμανσης (ANOVA). Σε $p < 0,05$, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμή πολλαπλών συγκρίσεων Tukey HSD για να καθοριστεί η στατιστική σημασία (Tsitsirigka et al., 2025).

3.6 Αξιολόγηση του ελαίου των καρπών

Για την ανάλυση του ελαίου των καρπών χρησιμοποιήθηκαν τα κατεψυγμένα δείγματα που προέκυψαν έπειτα από τη διαδικασία που περιγράφεται στη ενότητα 3.1.1.



Εικόνα 14. Προς μελέτη δείγματα ελαίου.

3.6.1 Δοκιμασία τιμής υπεροξειδίου- PV

Η τιμή αυτή δείχνει το βαθμό οξείδωσης των λιπιδίων. Η καθιερωμένη πρότυπη μέθοδος IDF 74A:1991 χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της τιμής υπεροξειδίου. Σχηματίζεται ένα κόκκινο-ροζ σύμπλοκο (Fe^{+3} –θειοκυανικό) μετά από αντίδραση με υδροϋπεροξειδία (Tsitsirigka et al. 2025). Αρχικά ζυγίστηκαν 0,025 gr ελαίου (0,0303 gr), έγινε προσθήκη 1ml διχλωρομεθανίου (DCM)/αιθανόλης (EtOH), 3:2 v/v και έγινε ανακίνηση σε voltrex. Σε μια σειρά αποτελούμενη από 3 Eppendorf έγινε προσθήκη 20μl του παραπάνω δείγματος, 1960 μL από το μείγμα 3:2 v/v διχλωρομεθανίου/αιθανόλης, 10 μl (ίδιο όγκο) διαλύματος θειοκυανικού αμμωνίου και θεικού σιδήρου (II) αμμωνίου. Έγινε ανακίνηση σε voltrex, έπειτα αφέθηκε 5 λεπτά στο σκοτάδι και ύστερα έγινε μέτρηση στα 500 nm. Στα δυο B χρησιμοποιήθηκε ο διαλύτης (DCM/EtOH) αντί για έλαιο. Η καμπύλη βαθμονόμησης χρησιμοποίησε διαλύματα υπεροξειδίου του υδρογόνου 50–500 μmol/L σε διχλωρομεθάνιο/αιθανόλη, $R^2 = 0,9950$ και τα αποτελέσματα υπολογίστηκαν ως mmol H_2O_2 ανά kg ελαίου (Tsitsirigka et al. 2025). Το PV υπολογίστηκε με βάση την εξίσωση (6) :

$$PV(\text{mmol} \frac{\text{H}_2\text{O}_2}{\text{kg oil}}) = \frac{CH_{202} \times V}{W} \quad (6),$$

όπου το CH₂₀₂ υποδηλώνει την συγκέντρωση σε μmol/L, το V δείχνει τον όγκο του μέσου εκχύλισης σε L και το W είναι το βάρος του δείγματος ελαίου αντίδρασης.



Εικόνα 15. Δείγματα μετά τη δοκιμασία PV – πριν την μέτρηση.

3.6.2 DPPH

Χρησιμοποιήθηκε ένα καθιερωμένο πρωτόκολλο (Tsitsirigka et al. 2025). Αρχικά ζυγίστηκε 0,1 gr ελαίου (0,1040 gr) και έγινε προσθήκη 1 ml οξικού αιθυλεστέρα και επακόλουθη φυγοκέντρωση. Στη συνέχεια σε 3 Eppendorf προστέθηκαν 50 μl του παραπάνω δείγματος και 950 μL DPPH (100 μM σε οξικό αιθυλεστέρα). Αφέθηκαν για 30 λεπτά στο σκοτάδι. Το σύστημα μηδενίστηκε με οξικό αιθυλεστέρα και έπειτα λήφθηκε η αρχική απορρόφηση στα 515 nm με χρήση 950 μL DPPH και 50 μl οξικό αιθυλεστέρα, B. Τα δείγματα μετρήθηκαν στα 515 nm μετά τα 30 λεπτά. Οι εξισώσεις για την αξιολόγηση είναι ίδιες με αυτές στην ενότητα 3.3.2. Δημιουργήθηκε καμπύλη βαθμονόμησης ($R^2 = 0,999$) με 50–500 μM διαλύματος Trolox σε οξικό αιθυλεστέρα, δεδομένης της λιποφιλικότητας της ένωσης Trolox.

Επομένως, τα αποτελέσματα ήταν μM ισοδύναμη αντιοξειδωτική ικανότητα Trolox (TEAC) ανά kg ελαίου (Tsitsirigka et al. 2025).

3.6.3 Ποσοτικοποίηση λιπαρών οξέων

Τα λιπαρά οξέα μετατράπηκαν στους αντίστοιχους μεθυλεστέρες τους (FAMES) μέσω της εφαρμογής του πρωτοκόλλου με βάση τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 796/2002 της Επιτροπής, Παράρτημα XB (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2002). Αρχικά σε δοκιμαστικό σωλήνα των 5ml ζυγίστηκε 0,1 gr (0,1123 gr) ελαίου, προστέθηκαν 2ml εξανίου και έγινε ανακίνηση. Στην συνέχεια εφαρμόστηκαν 0,2 ml μεθανολικού διαλύματος 2 N υδροξειδίου του καλίου και έγινε ανακίνηση για 30 δευτερόλεπτα. Το διαυγές κομμάτι, που περιείχε τους μεθυλεστέρες, μεταγγίστηκε (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2002). Η ποσοτικοποίηση έγινε με τη βοήθεια του χρωματογράφου GC-FID. Η ταυτοποίηση πραγματοποιήθηκε συγκρίνοντας τις διάφορες χρωματογραφικές κορυφές με τα πρότυπα αναφοράς FAME Mix C 8 –C 24. Η σύνθεση των δειγμάτων, εκφρασμένη σε % των συνολικών λιπαρών οξέων, προσδιορίστηκε από τις περιοχές κορυφών GC χρησιμοποιώντας τη μέθοδο κανονικοποίησης (χωρίς συντελεστές διόρθωσης) (Tsitsirigka et al. 2025).

3.6.4 Πτητικές ενώσεις

Εφαρμόστηκε η μεθοδολογία μικροεκχύλισης στερεάς φάσης υπερκείμενου χώρου (HS-SPME). Σε γυάλινο φιαλίδιο των 25 mL προστέθηκε 1 gr ελαίου (1.0143 gr) με μαγνητικό αναδευτήρα (Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Germany), το οποίο στη συνέχεια σφραγίστηκε με διάφραγμα PTFE/σιλικόνης, έγινε έγχυση της ίνας SPME και ακολούθησε εκχύλιση με ανάδευση για 40 λεπτά στους 40°C 500 rpm. Στη συνέχεια η ίνα μεταφέρθηκε στον εγχυτήρα GC για ανάλυση. Η προσέγγιση κανονικοποίησης χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της σύνθεσης του δείγματος αναλύοντας τις περιοχές κορυφής GC (χωρίς συντελεστές διόρθωσης). Οι ποσότητες πτητικών ενώσεων αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας τα μέσα δεδομένα από διάφορες εκτελέσεις GC-MS και εκφράστηκαν ως ποσοστό επιφάνειας κορυφής (Tsitsirigka et al. 2025).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Αριστοποίηση μεθοδολογίας εκχύλισης

Προκειμένου να βρεθεί το άριστο της εκχύλισης, τα αποτελέσματα των 15 δειγμάτων συγκρίθηκαν μεταξύ τους. Αυτά παρουσιάζονται στον πίνακα 3. Οι συγκεκριμένες συνθήκες εκχύλισης επηρέασαν σημαντικά την εκχύλιση των καρπών της, αρκεύθου, καθώς παρατηρήθηκαν διακυμάνσεις στα αποτελέσματα των αναλύσεων. Οι συνολικές πολυφαινόλες (21,13–57,32 mg GAE/g dw) και το συνολικό ασκορβικό οξύ (1,16–2,65) παρουσίασαν διπλή συσχέτιση, ενώ τριπλή συσχέτιση παρατηρήθηκε στις αντιοξειδωτικές αναλύσεις που υπολογίστηκαν ως $\mu\text{mol AAE/gr dw}$ (116,79–351,29 για FRAP και 134,84–436,2 για DPPH). Τα δείγματα 9 και 10 παρουσίασαν την χαμηλότερη απόδοση στη λήψη βιοδραστικών ενώσεων, καθώς και στη συνολική αντιοξειδωτική δράση. Σε αυτά, πιθανότατα ο λόγος για αυτές τις τιμές ήταν ο διαλύτης, καθώς και στα δυο δείγματα χρησιμοποιήθηκε αποκλειστικά νερό. Από την άλλη πλευρά, τα δείγματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε μείγμα αιθανόλης-νερού 50% (v/v) αποδείχθηκαν τα πλουσιότερα σε βιοδραστικές ενώσεις, όπως τα δείγματα 4, 5, 6, 8, 12, 13 και 15. Συγκεκριμένα τα δείγματα 4,5,12,13 μπορούν να θεωρηθούν ως τα πιο αποδοτικά. Στα 4 και 12 παρατηρείται διαφορετική τιμή μόνο στο χρόνο ενώ στα 5 και 13 οι τιμές είναι ίδιες και στις 3 παραμέτρους. Αυτά τα αποτελέσματα τόνισαν τη σημασία της πολικότητας του διαλύτη.

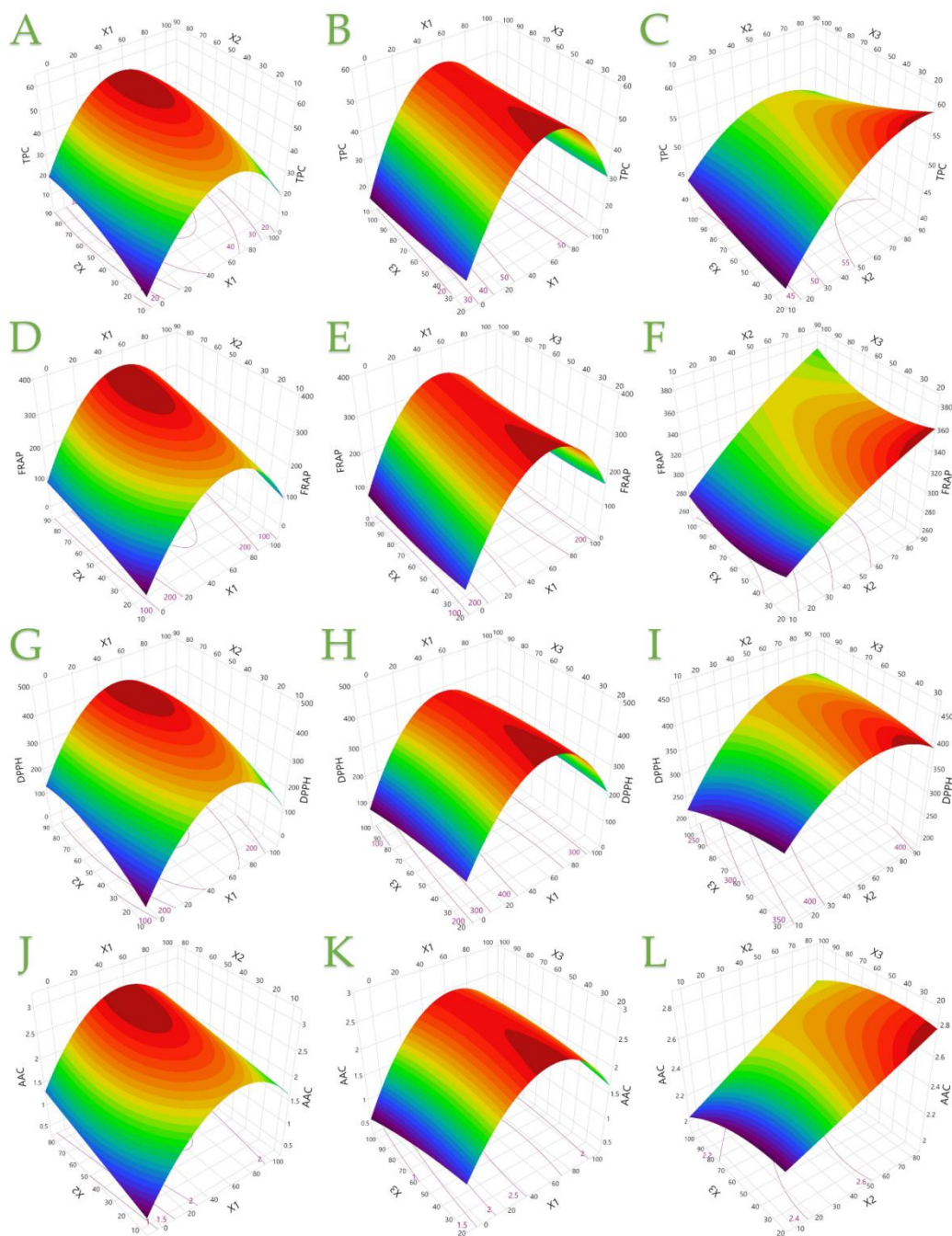
Πίνακας 3. Τα πειραματικά αποτελέσματα από τις μεθόδους με βάση τις εξεταζόμενες μεταβλητές.

Δείγματα	Ανεξάρτητες μεταβλητές			Αποκρίσεις *			
	X_1 (C, %)	X_2 (T, °C)	X_3 (t, min)	TPC(mg GAE/g dw)	FRAP($\mu\text{mol AAE/g dw}$)	DPPH($\mu\text{mol AAE/g dw}$)	AAC(mg/g dw)
1	1 (100)	0 (50)	1 (90)	39.65	223.95	269.17	2.14
2	-1 (0)	1 (80)	0 (60)	31.51	168.56	233.22	1.84
3	-1 (0)	0 (50)	-1 (30)	27.77	137.12	244.50	1.62
4	0 (50)	1 (80)	1 (90)	52.22	351.29	413.89	2.64
5	0 (50)	0 (50)	0 (60)	51.32	314.25	436.20	2.51
6	0 (50)	-1 (20)	-1 (30)	46.21	299.39	380.51	2.45
7	1 (100)	1 (80)	0 (60)	38.16	235.48	304.76	2.28
8	0 (50)	0 (50)	0 (60)	51.39	312.31	390.55	2.61

9	-1 (0)	-1 (20)	0 (60)	21.13	116.79	134.84	1.23
10	-1 (0)	0 (50)	1 (90)	24.05	126.81	163.57	1.16
11	1 (100)	0 (50)	-1 (30)	39.96	226.65	292.33	2.09
12	0 (50)	1 (80)	-1 (30)	57.32	345.85	399.83	2.65
13	0 (50)	0 (50)	0 (60)	56.58	328.68	423.75	2.55
14	1 (100)	-1 (20)	0 (60)	27.76	151.76	204.44	1.82
15	0 (50)	-1 (20)	1 (90)	46.44	289.56	329.43	2.34

*Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τον μέσο όρο τριπλών προσδιορισμών. TPC: συνολική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες. FRAP: αντιοξειδωτική δύναμη αναγωγής σιδήρου. DPPH: αντιριζική δράση. AAC: περιεκτικότητα σε ασκορβικό οξύ.

Η Εικόνα 14 - Διάγραμμα 1 (A–L) παρουσιάζει τρισδιάστατα διαγράμματα που δείχνουν τη διαδικασία βελτιστοποίησης για κάθε δοκιμή χρησιμοποιώντας τις παραμέτρους που αναλύθηκαν. Η χρωματική απεικόνιση του διαγράμματος, που κυμαίνεται από μπλε (χαμηλά επίπεδα) έως κόκκινο (υψηλά επίπεδα), απεικονίζει την επίδραση κάθε παραμέτρου. Για παράδειγμα, φαίνεται ότι για να επιτευχθεί η υψηλότερη τιμή TPC (>50 mg GAE/g dw), οι άριστες τιμές των παραμέτρων X1 και X2 ήταν περίπου 60 και 80, αντίστοιχα. Αντίθετα, χαμηλές τιμές και των δύο παραμέτρων (~0 και ~10) μπορεί να οδηγήσουν σε πολύ χαμηλότερες τιμές TPC (~10 mg GAE/gr dw).



Εικόνα 16 - Διάγραμμα 1. Τρισδιάστατα διαγράμματα παραμέτρων που επηρεάζουν τις δοκιμασίες εκχυλισμάτων αρκεύθου.

Για το TPC, το διάγραμμα (A) αντιπροσωπεύει τη συνδιακύμανση του X1 (συγκέντρωση αιθανόλης, C, % v/v) και του X2 (θερμοκρασία εκχύλισης, T, °C). Το διάγραμμα (B) δείχνει τη συνδιακύμανση του X1 και του X3 (χρόνος εκχύλισης, t, min). Το διάγραμμα (C) απεικονίζει τη συνδιακύμανση του X2 και του X3. Για το FRAP, το διάγραμμα (D) δείχνει τη συνδιακύμανση των X1 και X3, ενώ το διάγραμμα (E) απεικονίζει τη συνδιακύμανση των X2 και X3. Για το DPPH, το διάγραμμα (G) απεικονίζει τη συνδιακύμανση των X1 και X2, το διάγραμμα (H) απεικονίζει τη συνδιακύμανση των X1 και X3, το διάγραμμα (I) απεικονίζει τη συνδιακύμανση των X2 και X3. Για το AAC, το διάγραμμα (J) αντιπροσωπεύει τη συνδιακύμανση των X1 και X2, το διάγραμμα (K) απεικονίζει τη συνδιακύμανση των X1 και X3, ενώ το διάγραμμα (L) απεικονίζει τη συνδιακύμανση των X2 και X3 (Tsitsirigka et al., 2025).

4.2 Αποτελεσματικότητα παραλαβής βιοδραστικών συστατικών

Όσο αφορά στη μέθοδο TPC τα αποτελέσματα κυμαίνονταν από 21.13 μέχρι 57.32 mg GAE/g ξηρής ουσίας, σύμφωνα με τον πίνακα 3. Η μέγιστη τιμή ήταν 57.92 ± 6.81 mg GAE/g ξηρής ουσίας. Σημειώθηκε αύξηση 174.1% με εύρος από 141.8% έως 206.3%.

Στη μέθοδο ACC οι τιμές κυμαίνονταν από 1.16 μέχρι 2.65 mg/g ξηρής ουσίας με μέγιστη τιμή 2.78 ± 0.2 mg/g ξηρής ουσίας. Η αύξηση ήταν 139,66%.

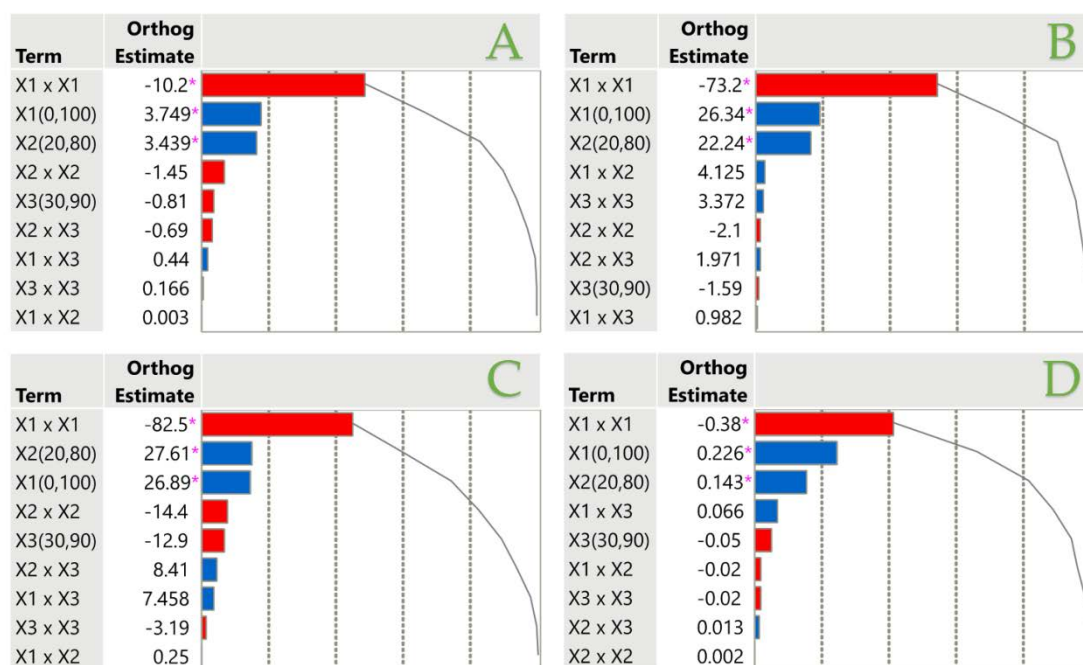
Όπως φαίνεται και στον πίνακα 4, για την απόκτηση των μέγιστων τιμών σε κάθε μέθοδο (TPC, AAC, FRAP, DPPH) παρατηρούνται μεταξύ τους διαφοροποιήσεις στον συνδυασμό των τιμών των παραμέτρων. Ο μέσης πολικότητας διαλύτης φάνηκε ο ιδανικός για την απόκτηση των βιοδραστικών ενώσεων, ενώ η θερμοκρασία ήταν αποδοτικότερη σε υψηλές τιμές. Μεγαλύτερη διαφοροποίηση φάνηκε στον χρόνο εκχύλισης. Η αποτελεσματικότητα φαίνεται και στην σύγκριση των πινάκων 3 και 4.

Πίνακας 4. Μέγιστη προβλεπόμενη απόδοση και βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης για την κάθε μέθοδο.

Μέθοδοι	Βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης			Μέγιστη προβλεπόμενη απόκριση
	X ₁ (C, %)	X ₂ (T, °C)	X ₃ (t, min)	
TPC (mg GAE/g dw)	55	80	30	57.92 ± 6.81
FRAP (μmol AAE/g dw)	57	80	90	357.19 ± 34.09
DPPH (μmol AAE/g dw)	54	63	38	433.03 ± 33.42
AAC (mg/g dw)	58	80	60	2.78 ± 0.2

Με τη βοήθεια ανάλυσης Pareto Plot με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$, (Εικόνα 15 - Διάγραμμα 2), φάνηκε ότι οι παράμετροι X₁ και X₂ επηρεάζουν σημαντικά την εκχύλιση ενώ η X₃ δεν φαίνεται να έχει τέτοια επίδραση. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε ορθογώνιος μετασχηματισμός για να συμπεριληφθούν ορθογώνιες κωδικοποιημένες εκτιμήσεις. Ο λόγος t είναι μια ζωτική παράμετρος για την αξιολόγηση του μεγέθους κάθε παραμέτρου εκχύλισης και υπολογίστηκε διαιρώντας κάθε παράμετρο με το

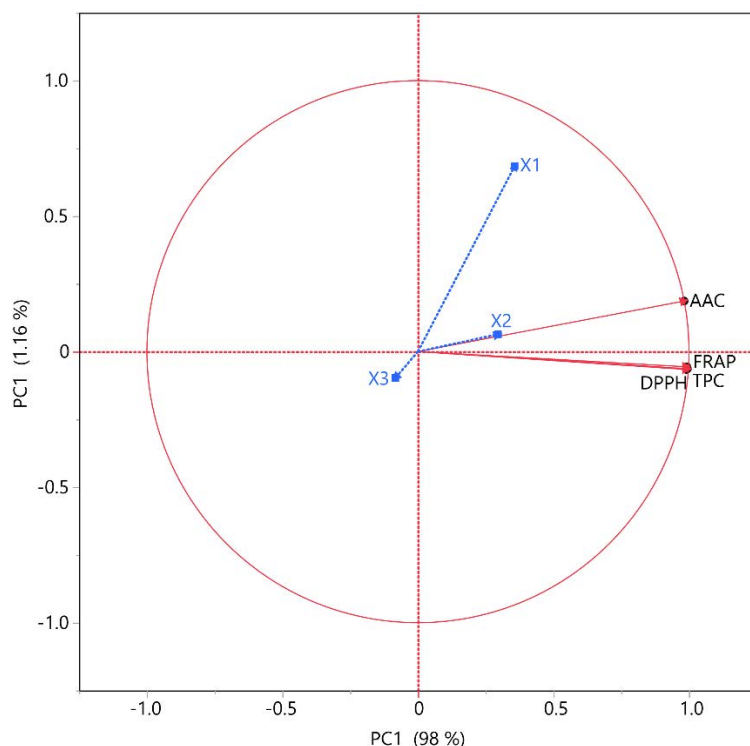
τυπικό σφάλμα της. Οι συνολικοί λόγοι t απεικονίζονται από τη σωρευτική γραμμή στο διάγραμμα, προσφέροντας περαιτέρω κατανόηση της περιγραφικής ισχύος κάθε εκτίμησης. Στη συνέχεια, η δήλωση στατιστικής σημασίας ($p < 0,05$) έγινε με τη χρήση ροζ αστερίσκων (Tsitsirigka et al. 2025).



Εικόνα 17 – Διάγραμμα 2. Διαγράμματα Pareto.

Απεικονίζουν τη σημασία κάθε εκτίμησης παραμέτρου στην τεχνική εκχύλισης με ανάδευση για τις αναλύσεις TPC (A), FRAP (B), DPPH (C) και AAC (D). Τα διαγράμματα υποδεικνύουν τη στατιστική σημασία με ροζ αστερίσκο ($p < 0,05$), ενώ οι θετικές τιμές απεικονίζονται με μπλε γραμμές και οι αρνητικές τιμές με κόκκινες γραμμές (Tsitsirigka et. al, 2025).

Η Εικόνα 16 - Διάγραμμα 3 περιλαμβάνει ένα διάγραμμα PCA (ανάλυση κύριων συνιστωσών), όπου η κύρια συνιστώσα (PC) 1 εξηγεί το 98,0% της μεταβλητότητας, παρουσιάζοντας θετική συσχέτιση των παραμέτρων εκχύλισης X1 και X2 με όλες τις εξεταζόμενες μεταβλητές (δηλ. TPC, TFC, FRAP, DPPH και AAC). Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι προκειμένου να ληφθεί το βέλτιστο της εκχύλισης χρειάζεται και είναι δυνατό να τροποποιηθούν οι τιμές των παραγόντων επιβεβαιώνοντας τα παραπάνω. Η αποτελεσματικότητα των επιλεγμένων παραμέτρων επιβεβαιώνεται επίσης από τη στενή ομαδοποίηση αυτών των παραμέτρων, η οποία υποδηλώνει ότι οι ενώσεις αντιδρούν με παρόμοιο τρόπο στις αλλαγές των συνθηκών εκχύλισης (Tsitsirigka et al., 2025).



Εικόνα 18- Διάγραμμα 3 . PCA για τις μετρηθείσες μεταβλητές.

Κάθε μεταβλητή X παρουσιάζεται με μπλε χρώμα.

4.3 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης

Δύο διαφορετικές *in vitro* μέθοδοι, γνωστές ως FRAP και DPPH εφαρμόστηκαν προκειμένου να προσδιοριστεί η αντιοξειδωτική δράση των καρπών του αρκεύθου. Ο πίνακας 3 δείχνει ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα κυμαίνεται από 116,79 $\mu\text{mol AAE/gr}$ ξηρού βάρους έως και 351,29 $\mu\text{mol AAE/gr}$ ξηρού βάρους με την μέθοδο FRAP, ενώ, με την μέθοδο DPPH κυμαίνεται από 134,84 $\mu\text{mol AAE/g}$ ξηρού βάρους έως και 436.20 $\mu\text{mol AAE/g}$ ξηρού βάρους. Σύμφωνα με τον πίνακα 4 η προβλεπόμενη μέγιστη απόδοση μέσω των βέλτιστων συνθηκών για την μέθοδο FRAP είναι $357,19 \pm 34,09$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ξηρού βάρους και για την μέθοδο DPPH είναι $433,03 \pm 33,42$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ξηρού βάρους. Για την μέθοδο FRAP υπήρξε

αύξηση 205,8% με εύρος από 176,7 % έως 235,0%. Για την DPPH υπήρξε αύξηση 221,2% με εύρος από 196,4% έως 245,9%.

Επίσης, σύμφωνα με τον πίνακα 5 οι μεταβλητές έχουν θετική και ισχυρή συσχέτιση ($>0,96$), καθώς η μέγιστη τιμή συσχέτισης είναι 1. Το εύρημα αυτό ενισχύει την άποψη ότι οι πολυφαινόλες των καρπών της αρκεύθου έχουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Οι δύο αντιοξειδωτικές προσεγγίσεις έδειξαν έναν καλό συντελεστή συσχέτισης (άνω του 0,97), υποδηλώνοντας ότι τα αντιοξειδωτικά πιθανώς διαθέτουν το ίδιο ισχυρό δυναμικό για τη μείωση του σιδήρου (III) και την εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών (Tsitsirigka et al., 2025).

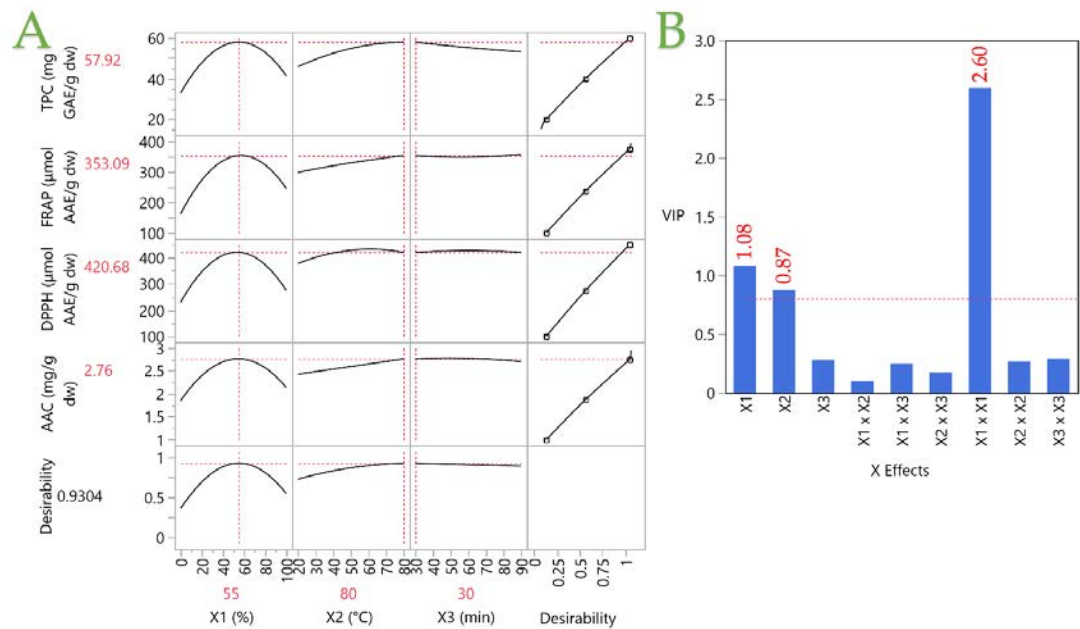
Πίνακας 5. Πολυμεταβλητή ανάλυση συσχέτισης των μετρημένων μεταβλητών.

Αποκρίσεις	TPC	FRAP	DPPH	AAC
TPC	–	0.9877	0.9834	0.9650
FRAP		–	0.9753	0.9635
DPPH			–	0.9609
AAC				–

4.4 Ανάλυση PLS και προσδιορισμός βέλτιστων συνθηκών εκχύλισης

Χρησιμοποιώντας το μοντέλο μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) αξιολογήθηκε η επίδραση των διαφορετικών παραμέτρων των συνθηκών εκχύλισης (X1, X2 ,X3) και το διάγραμμα απεικονίζεται στην Εικόνα 17 - Διάγραμμα 4. Αυτό, φανερώνει την επιρροή που έχουν οι συνθήκες εκχύλισης στα εκχυλίσματα δίνοντας τις βέλτιστες τιμές για την κάθε παράμετρο της κάθε μεθόδου με τις βέλτιστες αποκρίσεις. Η παράμετρος X1(συγκέντρωση του διαλύτη) είχε τη σημαντικότερη επίδραση με την μέγιστη απόδοση να είναι στο 55% v/v. Η παράμετρος X2 (θερμοκρασία) είχε εξίσου σημαντική επιρροή δίνοντας μέγιστο στους 80 °C. Αναφορικά με την παράμετρο X3 (διάρκεια εκχύλισης), αυτή δεν επηρέασε αρκετά τη λήψη του βέλτιστου εκχυλίσματος, οπότε επιλέχτηκε η μικρότερη διάρκεια, 30 λεπτά. Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4 B, από το διάγραμμα σημαντικότητας διακύμανσης (VIP), η μεταβλητή

X1 αναδείχτηκε ως η πιο καθοριστική παράμετρος στη διαδικασία εκχύλισης με την μέθοδο PLS (Tsitsirigka et al., 2025).



Εικόνα 19 - Διάγραμμα 4. Το προφίλ πρόβλεψης μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS) για κάθε μεταβλητή και η συνάρτηση επιθυμητότητας με έλεγχο εξωτερίκευσης για τη βελτιστοποίηση των εκχυλισμάτων των καρπών, διάγραμμα Α. Γράφημα μεταβλητής σημασίας (VIP), με επισήμανση των τιμών VIP για κάθε μεταβλητή πρόβλεψης στην τεχνική STE, διάγραμμα Β.

Μια κόκκινη διακεκομμένη γραμμή σηματοδοτεί το όριο σημαντικότητας 0,8, υποδεικνύοντας τη σχετική σημασία κάθε μεταβλητής στο μοντέλο (Tsitsirigka et. al, 2025).

Τα πειραματικά αποτελέσματα και οι προβλέψεις του μοντέλου PLS βρίσκονται σε συμφωνία, όπως αποδεικνύεται στον πίνακα 6 από τον υψηλό συντελεστή συσχέτισης 0,996 και τον σημαντικό συντελεστή προσδιορισμού (R²) 0,993. Τιμή $p < 0,0001$ υποδηλώνει ότι οι αποκλίσεις μεταξύ των πραγματικών και των προβλεπόμενων τιμών είναι στατιστικά ασήμαντες (Tsitsirigka et al., 2025).

Πίνακας 6. Μέγιστη επιθυμητότητα για όλες τις μεταβλητές χρησιμοποιώντας το προφίλ πρόβλεψης κάτω από τις βέλτιστες συνθήκες.

(Tsitsirigka et al., 2025)

Μέθοδοι	Τιμές μοντέλου PLS	Πειραματικές τιμές
TPC (mg GAE/g dw)	57,92	55,11 ± 1,54

FRAP (μmol AAE/g dw)	353,09	351,98 ± 20,41
DPPH (μmol AAE/g dw)	420,68	421,37 ± 31,6
AAC (mg/g dw)	2,76	2,57 ± 0,07

4.5 Προσδιορισμός των βιοδραστικών συστατικών

Το πείραμα αυτό, μέσω της HPLC κατάφερε να ποσοτικοποιήσει 11 πολυφαινόλες στους καρπούς της αρκεύθου οι οποίες παρατίθενται στον πίνακα 7. Το διάγραμμα 5 απεικονίζει ένα χρωματογράφημα που περιλαμβάνει όλες τις ταυτοποιημένες ενώσεις. Η χλωριούχος πελαργονίνη 2,33 mg/g ξηρής ουσίας και η κατεχίνη 1,14 mg/g ξηρής ουσίας ήταν οι πιο άφθονες ποσοτικοποιημένες πολυφαινόλες με ποσοστό 43,07% και 21,07 % από τις συνολικές ενώσεις, αντίστοιχα.

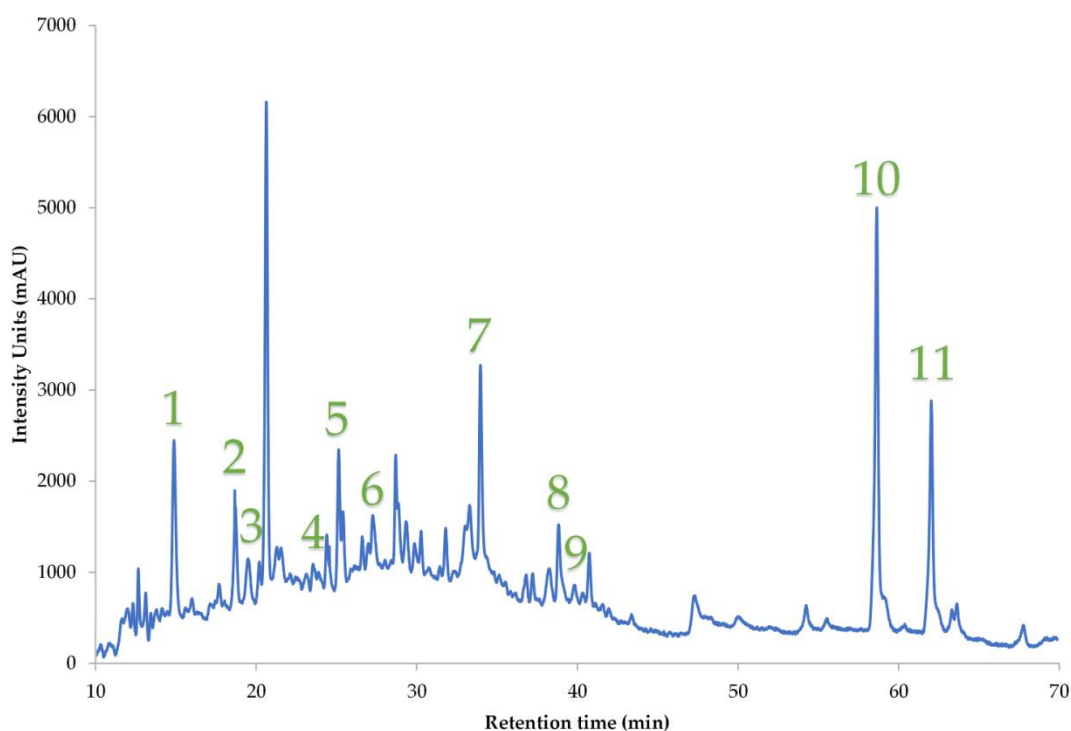
Πίνακας 7. Οι πολυφαινολικές ενώσεις που τακτοποιήθηκαν μέσω των βέλτιστων συνθηκών εκχύλισης.

A/A	Πολυφαινολικές Ενώσεις	Συγκέντρωση (mg/g dw)
1.	3-υδροξυτυροσόλη	0,31 ± 0,01
2.	Χλωριούχος πελαργονίνη	2,33 ± 0,13
3.	Κατεχίνη	1,14 ± 0,07
4.	Ομοβανιλικό οξύ	0,16 ± 0,01
5.	Επικατεχίνη	0,18 ± 0,01
6.	Συρινγικό οξύ	0,27 ± 0,02

A/A	Πολυφαινολικές Ενώσεις	Συγκέντρωση (mg/g dw)
7.	Ρουτίνη	0,32 ± 0,01
8.	Κεμπφερόλη-3-γλυκοζίτης	0,21 ± 0,01
9.	Απιγενίνη-7- O- γλυκοζίτης	<LOQ *
10.	Απιγενίνη	0,32 ± 0,02
11.	Κεμφερόλη	0,16 ± 0
	Σύνολο ταυτοποιημένων	5,41 ± 0,27

*Η συγκέντρωση της ουσίας ήταν κάτω από το όριο ποσοτικοποίησης.

Η Εικόνα 18 – Διάγραμμα 5 αντιπροσωπεύει ένα χρωματογράφημα που περιλαμβάνει όλες τις ταυτοποιημένες ενώσεις.



Εικόνα 20 - Διάγραμμα 5. Χρωματογράφημα HPLC στα 280 nm του βελτιστοποιημένου εκχυλίσματος από *J. communis* L., που απεικονίζει τις ταυτοποιημένες πολυφαινολικές ενώσεις.

1: 3-υδροξυτυροσώλη 2: χλωριούχο πελαργονίνη 3: κατεχίνη 4: ομοβανιλικό οξύ 5: επικατεχίνη 6: συρινγικό οξύ 7: ρουτίνη 8: καεμφερόλη-3-γλυκοσίδη 9: απιγενίνη-7-O-γλυκοσίδη 10: απιγενίνη 11: καεμφερόλη (Tsitsirigka et al. 2025).

4.6 Αξιολόγηση του ελαίου των καρπών

4.6.1 Δοκιμασία τιμής υπεροξειδίου- PV

Η οξείδωση των λιπιδίων αποτελεί μια σημαντική αλλοίωση που επηρεάζει κυρίως τα ακόρεστα λιπαρά οξέα και οδηγεί στην εμφάνιση ανεπιθύμητων γεύσεων και οσμών. (Buthelezi, 2018) Πρόκειται για μια διαδικασία που συμβαίνει φυσικά όταν το τρόφιμο εκτίθεται σε ακατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης, σε συνθήκες περιβάλλοντος (υψηλή θερμοκρασία, φως, οξυγόνο) (Zhang, 2021) και έχει ως κύρια προϊόντα τα υδροϋπεροξειδία (Buthelezi, 2018). Η μέση τιμή των δειγμάτων ήταν $12,31 \pm 0,34$ mmol H₂O₂ /kg ελαίου. Σε μια γενική εικόνα, η ποιότητα είναι ελάχιστα κατώτερη από άλλα έλαια του εμπορίου. Όμως δεν μπορεί να θεωρηθεί αρκετά υποβαθμισμένη αναφορικά με τα δεδομένα που αναφέρουν οι Gilbraith et al. (2021).

4.6.2 DPPH

Η μέση τιμή των δειγμάτων ήταν $399,83 \pm 34,18$ μmol TEAC/kg. Το αποτέλεσμα αυτό αποδεικνύει και ισχυροποιεί την άποψη ότι οι καρποί της αρκεύθου αποτελούν ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό δυναμικό.

4.6.3 Ποσοτικοποίηση λιπαρών οξέων

Τα λιπαρά οξέα χωρίζονται σε κορεσμένα και ακόρεστα με βάση την απουσία ή την ύπαρξη διπλών δεσμών (Baum, 2012). Μερικά από τα κύρια ακόρεστα που βρίσκονται στα τρόφιμα είναι το ολεϊκό (σε ελαιόλαδο, έλαιο ελαιοκράμβης), το παλμιτολεϊκό (σε ιχθυέλαιο), το Cis –βακτενικό (σε λίπη μηρυκαστικών) κτλ. Από τα πολυακόρεστα είναι το λινολεϊκό (σε ηλιέλαιο, καλαμποκέλαιο), το άλφα (α)-λινολενικό (λινέλαιο, καρυδέλαιο), το εικοσαπενταενοϊκό (ιχθυέλαιο, ψάρια πλούσια σε έλαια) κτλ. (Lunn, 2006). «Συμβάλλουν τόσο στην παραγωγή όσο και στην αποθήκευση ενέργειας, στην κατασκευή μεμβρανών και στην γονιδιακή έκφραση», αναφέρουν οι Bajramova et al. (2022). Ο πίνακας 8 παρουσιάζει τα λιπαρά οξέα που εντοπίστηκαν στο έλαιο των καρπών και αποτελούν ένα πολύ ενθαρρυντικό αποτέλεσμα.

Πίνακας 8. Λιπαρά οξέα και το ποσοστό τους.

Λιπαρά οξέα	Ποσοστό (%)
C16:0 (Παλμιτικό οξύ)	6,22 ± 0,4
C16:1 (Παλμιτολεϊκό οξύ)	0,56 ± 0,03
C18:0 (Στεατικό οξύ)	2,13 ± 0,08
C18:1 (Ελαϊκό οξύ)	58,75 ± 2,76
C18:2 (Λινολεϊκό οξύ)	23,42 ± 1,5
C18:3 (α-λινολενικό οξύ)	8,92 ± 0,46

4.6.4 Πτητικές ενώσεις

Οι πτητικές ενώσεις έχουν χαμηλό μοριακό βάρος, <300 Da, και εξατμίζονται εύκολα σε θερμοκρασία δωματίου (Kalua et al. 2005). Στο έλαιο των καρπών της αρκεύθου εντοπίστηκαν 58 τέτοιες ενώσεις, όπως φαίνεται και στον πίνακα 9. Αποτελείται κυρίως από σεσκιτερπενοειδή (71,5%), καθώς τα σεσκιτερπένια αποτελούν το 64,3%, υποδεικνύοντας ισχυρή παρουσία σεσκιτερπενικών υδρογονανθράκων. Τα οξυγονωμένα σεσκιτερπενοειδή συνεισφέρουν μόνο το 1,0%. Τα μονοτερπενοειδή (26,3%) αποτελούν τη δεύτερη πιο σημαντική ομάδα, με τα μονοτερπένια (25,9%) να επιδεικνύουν επικράτηση μονοτερπενικών υδρογονανθράκων, ενώ τα οξυγονωμένα μονοτερπενοειδή παραμένουν ελάχιστα στο 0,3%. Οι υπόλοιπες ενώσεις αποτελούν δευτερεύοντα συστατικά (Tsitsirigka et al. 2025). Έτσι, φαίνεται ότι το χαρακτηριστικό του εκχυλίσματος είναι τα τερπενοειδή με βάση υδρογονάνθρακες.

Πίνακας 9. Ταξινόμηση των πτητικών ενώσεων.

A/A	Θερμοκρασία δωματίου (λεπτά)	Χημική ένωση	Χημική ομάδα	Αριθμός CAS
1.	9.329	Τρικυκλένιο	Μονοτερπένια	508-32-7
2.	10.249	(1R)-α-πινένιο	Μονοτερπένια	7785-70-8
3.	12.228	(-)-β-Πινένιο	Μονοτερπένια	18172-67-3
4.	14.047	Μυρσένιο	Μονοτερπένια	123-35-3
5.	14.6	(-)-α-Πινένιο	Μονοτερπένια	7785-26-4
6.	15.103	μ -Κυμένιο	Αλκυλοβενζόλια	535-77-3
7.	15.838	D-Λιμονένιο	Μονοτερπένια	5989-27-5
8.	16.524	(E)-β-Οκιμένιο	Μονοτερπένια	3779-61-1
9.	17.201	α-Οκιμένιο	Μονοτερπένια	502-99-8
10.	17.6	γ-Τερπινένιο	Μονοτερπένια	99-85-4
11.	17,91	ένυδρο <i>cis</i> -σαβινένιο	Οξυγονωμένα μονοτερπενοειδή	15537-55-0
12.	19.141	<i>p</i> -Κυμενένιο	Αλκυλοβενζόλια	1195-32-0
13.	19.547	Τερπινολένιο	Μονοτερπένια	586-62-9

A/A	Θερμοκρασία δωματίου (λεπτά)	Χημική ένωση	Χημική ομάδα	Αριθμός CAS
14.	20.434	(±)-Λιναλοόλη	Τερπενοειδείς αλκοόλες	78-70-6
15.	21.106	α-Καμφολενάλη	Τερπενοειδή Αλδεΐδες	4501-58-0
16.	21.476	οξικό 1-οκτεν-3- υλεστέρα	Εστέρες τερπενοειδών	2442-10-6
17.	22.253	Σαβινόλιο	Τερπενοειδείς αλκοόλες	471-16-9
18.	23.207	Πινοκαρβόνη	Κετόνες	30460-92- 5
19.	25.045	Τερπινεν-4-όλη	Τερπενοειδείς αλκοόλες	562-74-3
20.	25.288	(±)-Μυρτενάλη	Τερπενοειδή Αλδεΐδες	564-94-3
21.	25.895	(-)-α-Τερπινεόλη	Τερπενοειδείς αλκοόλες	10482-56- 1
22.	26.27	(±)-Βερβενόνη	Κετόνες	80-57-9
23.	27.845	Καρβεόλη	Τερπενοειδείς αλκοόλες	99-48-9

A/A	Θερμοκρασία δωματίου (λεπτά)	Χημική ένωση	Χημική ομάδα	Αριθμός CAS
24.	28.249	οξικό φενχύλιο	Εστέρες τερπενοειδών	13851-11-1
25.	28.661	(-)-Καρβόνη	Μονοτερπενοειδείς κετόνες	6485-40-1
26.	29.325	Κιτρονελλόλη	Τερπενοειδείς αλκοόλες	106-22-9
27.	30.553	οξική τερπινεν-4-όλη	Εστέρες τερπενοειδών	4821-04-9
28.	31.273	α-Φενχένιο	Οξυγονωμένα μονοτερπενοειδή	471-84-1
29.	32.456	(±)-οξικός βορνυλεστέρας	Εστέρες τερπενοειδών	76-49-3
30.	33.118	<i>p</i> -Κυμένιο	Αλκυλοβενζόλια	99-87-6
31.	33.488	(±)-α-Πινένιο	Μονοτερπένια	80-56-8
32.	33.752	1,2-Διαθυλοβενζόλιο	Αλκυλοβενζόλια	135-01-3
33.	33.989	Νεοδιυδροκαρβεόλη	Τερπενοειδείς αλκοόλες	18675-34-8
34.	34.883	οξικό μυρτενύλιο	Εστέρες τερπενοειδών	1079-01-2

A/A	Θερμοκρασία δωματίου (λεπτά)	Χημική ένωση	Χημική ομάδα	Αριθμός CAS
35.	35.277	οξικός περιλλυλεστέρας	Εστέρες τερπενοειδών	15111-96-3
36.	35.772	α-Τερπινένιο	Μονοτερπένια	99-86-5
37.	36.048	(±)-Καμφένιο	Οξυγονωμένα μονοτερπενοειδή	79-92-5
38.	36.674	2-Καρένιο	Οξυγονωμένα μονοτερπενοειδή	554-61-0
39.	37.331	α-Κουμπεβένιο	Σεσκιτερπενοειδή	17699-14-8
40.	38.783	Κοπένιο	Σεσκιτερπένια	3856-25-5
41.	39.268	Οξικός νερυλεστέρας	Εστέρες τερπενοειδών	141-12-8
42.	39.836	γ-Καδινένιο	Σεσκιτερπένια	39029-41-9
43.	42.093	(-)-ισοκαρνοφυλλένιο	Σεσκιτερπένια	118-65-0
44.	42.889	γ-Μουρολενίου	Σεσκιτερπενοειδή	30021-74-0
45.	43.981	Χουμουλένιο	Σεσκιτερπένια	6753-98-6

A/A	Θερμοκρασία δωματίου (λεπτά)	Χημική ένωση	Χημική ομάδα	Αριθμός CAS
46.	45,73	Γερμακρένιο D	Σεσκιτερπένια	23986-74-5
47.	46.095	α-Λονγκιπινένιο	Σεσκιτερπενοειδή	5989-08-2
48.	46.684	α-Μουρολενίου	Σεσκιτερπενοειδή	31983-22-9
49.	47.13	α-Αμορφένιο	Σεσκιτερπενοειδή	23515-88-0
50.	47.841	δ-Καδινένιο	Σεσκιτερπένια	483-76-1
51.	48.12	Κουβενένιο	Σεσκιτερπένια	29837-12-5
52.	48.436	(-)-α-Καδινένιο	Σεσκιτερπένια	24406-05-1
53.	50.597	Κλόβεν	Σεσκιτερπένια	469-92-1
54.	51.267	(-)-α-Ιμαχαλένιο	Σεσκιτερπενοειδή	3853-83-6
55.	51.918	(-)-Εποξειδίο του χουμουλενίου II	Οξυγονωμένα σεσκιτερπενοειδή	19888-34-7
56.	55.263	Αλλοαρωμαδενδρένιο	Σεσκιτερπένια	25246-27-9

A/A	Θερμοκρασία δωματίου (λεπτά)	Χημική ένωση	Χημική ομάδα	Αριθμός CAS
57.	57.578	β-Οπλοπενόνη	Οξυγονωμένα σεσκιτερπενοειδή	28305-60-4
58.	63.651	Σκλαρένιο	Οξυγονωμένα σεσκιτερπενοειδή	511-02-4

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1 Βελτιστοποίηση συνθηκών εκχύλισης

Η ανάπτυξη του σχεδίου με τα 15 δείγματα διαφορετικών τιμών στους 3 παράγοντες (η συγκέντρωση του διαλύτη σε αιθανόλη, η θερμοκρασία εκχύλισης και η διάρκεια εκχύλισης) επέτρεψε τον εντοπισμό του καλύτερου συνδυασμού αυτών των παραγόντων με αποτέλεσμα την παραλαβή του βέλτιστου εκχυλίσματος. Η πολικότητα του επιλεγμένου διαλυτή, αποτελώντας μια από τις σημαντικές ιδιότητες του, επηρεάζει σημαντικά την εκχύλιση των βιοδραστικών ενώσεων, καθορίζοντας τη δυνατότητα λήψης τους (Athanasiadis et.al., 2023). Η απομόνωση πολυφαινολών πραγματοποιείται καλύτερα με τη βοήθεια πολικών διαλυτών. Δύο από αυτούς είναι η αιθανόλη (Sultana et al., 2009), αλλά και το νερό (Palaiogiannis et al., 2023). Μέσω της συνδυασμένης χρήσης νερού και οργανικού διαλυτή, το αποτέλεσμα της εκχύλισης μπορεί να περιλαμβάνει ένα μεγαλύτερο εύρος απομονωμένων ουσιών που εξαρτάται από τη διάλυση αυτών στο νερό και στον οργανικό διαλυτή. Συγκεκριμένα η χρήση αιθανόλης και νερού φαίνεται να αποτελούν την καλύτερη επιλογή για την παραλαβή των φαινολικών ουσιών (Sun et al., 2015). Αυτό φαίνεται και στην παρούσα μελέτη όπου για την παραλαβή του άριστου αποτελέσματος χρησιμοποιήθηκε μίγμα νερού με 55% αιθανόλη. Ο παράγοντας της θερμοκρασίας είναι εξίσου σημαντικός καθώς με την αύξηση της ενισχύεται η διαχυτικότητα και η διαλυτότητα των βιοδραστικών ενώσεων, με παράλληλη μείωση του ιξώδους του διαλυτή και της επιφανειακής τάσης (Hapsaria et al., 2021). Για αυτόν το λόγο η

καταλληλότερη θερμοκρασία στο συγκεκριμένο πείραμα ήταν 80 °C. Η αύξηση του χρόνου επαφής σε υψηλές θερμοκρασίες επιτρέπει σε αυτές τις ενώσεις να διαχυθούν στο διαλύτη εκχύλισης (Hapsaria et al., 2021). Παρόλα αυτά στη συγκεκριμένη μελέτη φάνηκε να μην είχε σημαντική επίδραση και έτσι ορίστηκε η ελάχιστη δυνατή, 30 λεπτά.

5.2 Βιοδραστικά συστατικά των καρπών άρκευθου

Αυτή η μελέτη αποκάλυψε το πλούσιο περιεχόμενο των καρπών άρκευθου σε βιοδραστικά συστατικά, όπως οι πολυφαινόλες και το ασκορβικό οξύ. Αυτό συμφωνεί με τη μελέτη των Belon et al. (2023) όπου μέσω δοκιμών με διάφορους διαλύτες και τεχνικές εκχύλισης, που εφάρμοσαν σε καρπούς ενός έτους και καρπούς δεύτερου έτους, το μέγιστο των φαινολικών ενώσεων προέκυψε με 70% αιθανόλη με διαβροχή με αναλογία βιομάζας/διαλύτη 1:5, για 1,5 ώρα σε θερμοκρασία 45 °C και ήταν $56,15 \pm 0,29$ mg GAE/g DE και το ασκορβικό οξύ ήταν $35,3 \pm 0,12$ mg/g DE για τους καρπούς ενός έτους και για τους καρπούς δεύτερου έτους με μεθανόλη και διαβροχή για τα φαινολικά που ήταν $11,01 \pm 0,23$ mg GAE/g DE, ενώ για το ασκορβικό οξύ το μέγιστο ήταν $2,5 \pm 0,15$ mg/g DE που πάρθηκε με 70% αιθανόλη και υπερήχους με αναλογία βιομάζας προς διαλύτη 1:3,5 στους 45 °C για 15 λεπτά (Belon et.al. 2023). Το φαινολικό προφίλ των καρπών του πρώτου έτους αυτής της μελέτης συμφωνεί πλήρως με το άριστο αποτέλεσμα της παρούσας μελέτης. Σημαντική διαφορά έχει η περιεκτικότητα σε ασκορβικό οξύ, καθώς στην παραπάνω μελέτη για τους καρπούς πρώτου έτους το αποτέλεσμα ήταν κατά 1.270 % υψηλότερο από αυτό της παρούσας, ενώ οι καρποί δεύτερου έτους παρουσίασαν παρόμοια τιμή με την παρούσα.

Μια άλλη μελέτη, των Akbulut et al. 2023 που αφορά το είδος *Juniperus drupacea*, όπου οι καρποί εκχυλίστηκαν με μεθανόλη και νερό, ξεχωριστά με συσκευή Soxhlet, ποσοτικοποίησε τα συνολικά φαινολικά συστατικά. Στο εκχύλισμα μεθανόλης βρέθηκαν 37,597 mg GAE/g DW και 31,682 mg GAE/g DW στο εκχύλισμα νερού, (Akbulut et al., 2023) τα οποία ευθυγραμμίζονται με συναφή αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο πίνακα 3. Οι Popescu et al. (2023) όταν εξέτασαν τα συστατικά του καρπού *J. communis* που εκχυλίστηκε με αιθυλική αλκοόλη: απεσταγμένο νερό (1:1 v / v), σε αναλογία φυτικού υλικού: διαλύτη 1:50 (w / v), για 24 ώρες σε

θερμοκρασία 15 °C, πήραν τιμές πολυφαινολών από $13,69 \pm 0,01$ mg GAE/g DW έως $24,01 \pm 0,02$ mg GAE/g DW. Η τιμή αυξανόταν με την ωρίμανση των καρπών (Popescu et al. 2023). Η υψηλότερη τιμή αυτής της έρευνας συμφωνεί με τις χαμηλότερες τιμές της παρούσας. Από την άλλη πλευρά, σύμφωνα με το πείραμα των Mërtiri et al.(2024) που μελέτησαν τους καρπούς από τα είδη *Juniperus communis* και *Juniperus oxycedrus*, το φαινολικό προφίλ ήταν $3,04 \pm 0,09$ mg GAE/g DW για το *Juniperus communis* και $2,12 \pm 0,05$ mg GAE/g DW για το *Juniperus oxycedrus*. Χρησιμοποιήθηκε η εκχύλιση με υπερήχους και το διάλυμα εκχύλισης που εφαρμόστηκε αποτελούνταν από ένα μείγμα αιθανόλης 70% (v / v) και οξικού οξέος (9:1 v / v), στους 25 °C, 15 λεπτά, 40 kHz και αναλογία φυτικού υλικού: διαλύτη 1:10 (w / v). Τα αποτελέσματα αυτά είναι αδύναμα συγκριτικά με αυτά της παρούσας έρευνας, καθώς η μικρότερη τιμή που λήφθηκε ήταν 21,13 mg GAE/g DW (Mërtiri et al., 2024).

Όλα αυτά τονίζουν τη σημαντικότητα βελτίωσης των παραμέτρων εκχύλισης για την απόκτηση βέλτιστου εκχυλίσματος από τους καρπούς της αρκεύθου. Φαίνεται όμως ότι επηρεάζεται και από άλλους ποικίλους παράγοντες. Η μέθοδος εκχύλισης για παράδειγμα φαίνεται να επηρεάζει το αποτέλεσμα σε συνδυασμό με τις βέλτιστες συνθήκες. Η ωριμότητα του καρπού είναι μια ακόμη παράμετρος που χρειάζεται να ληφθεί υπόψη. Τέλος, λόγω της διαφοροποίησης στην γονιμότητα του εδάφους μεταξύ των περιοχών, οι ποσότητες βιοδραστικών ουσιών που συντίθενται εξαρτώνται από αυτήν, άρα και η εμφάνισή τους στα εκχυλίσματα.

Αναφορικά με την ταυτοποίηση των βιοδραστικών συστατικών, το πείραμα έδειξε ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Σύμφωνα με συναφείς μελέτες όπως αυτή των Mërtiri et al. (2024), το πολυφαινολικό προφίλ των καρπών των *Juniperus communis* και *Juniperus oxycedrus*, χαρακτηριζόταν από απιγενίνη, κατεχίνη, ελλαγικό οξύ, γαλλική επικατεχίνη, κεμφερόλη, πρωτοκατεχικό οξύ, 3-D-γαλακτοσίδη κερσετίνης, συρινγικό οξύ, θεαφλαβίνη. Αυτά απομονώθηκαν μέσω της εκχύλισης με υπερήχους με μείγμα αιθανόλης 70% (v / v) και οξικού οξέος (9:1 v / v), στους 25 °C, 15 λεπτά, 40 kHz και αναλογία φυτού :διαλύτη 1:10 (w / v) (Mërtiri et al., 2024). Από αυτά, η απιγενίνη, η κατεχίνη, η καμφερόλη και το συρινγικό οξύ ήταν και αυτές που

εντοπίστηκαν στην παρούσα έρευνα. Ένα άλλο πείραμα που έγινε σε καρπούς του *J. communis*, *J. exelsa*, *J. foetidissima*, *J. oxycedrus* από τους Yaglioglu and Eser (2017) τα εκχυλίσματα λήφθηκαν με μεθανόλη χρησιμοποιώντας την τεχνική της διαβροχής. Στο πρώτο και τρίτο είδος βρέθηκαν οι ενώσεις ρουτίνη, κερσιτρίνη, σενιντίν Α, στο δεύτερο είδος βρέθηκε η ρουτίνη και η σενιντίν Α, ενώ στο τελευταίο είδος βρέθηκε μόνο η ρουτίνη (Yaglioglu and Eser, 2017). Η ρουτίνη ήταν η κοινή ένωση μεταξύ της προαναφερθείσας και παρούσας μελέτης.

Συγκρίνοντας αυτά τα αποτελέσματα με τις ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη, υπάρχουν κάποιες κοινές ενώσεις και κάποιες ενώσεις που εντοπίστηκαν στις παραπάνω μελέτες και δεν βρέθηκαν στην παρούσα και το αντίστροφο. Σημειώνεται περιορισμός της έρευνας λόγω μικρού αριθμού εντοπισμένων ενώσεων. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα που αναφέρεται παραπάνω αναφορικά με τους παράγοντες που επηρεάζουν την απόκτηση βιοδραστικών ουσιών. Επιπρόσθετα, στη βάση όλων αυτών, μέσω περισσότερης έρευνας και πειραμάτων, το εκχύλισμα της αρκεύθου μπορεί να εμπλουτιστεί περισσότερο ενισχύοντας τις ιδιαίτερες ιδιότητες, όπως η αντιφλεγμονώδης, αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή ικανότητα (Fierascu et al., 2018).

5.3 Αντιοξειδωτική δράση καρπών

Οι δυο δοκιμές που εφαρμόστηκαν, DPPH και FRAP, έδειξαν την ικανότητα των καρπών αρκεύθου να έχουν αντιοξειδωτική δράση και μάλιστα σημαντική. Πολύ ενθαρρυντικό ήταν το αποτέλεσμα των Mrid et al. (2019), όπου μέσω της αξιολόγησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας των καρπών με υδατικά και μεθανολικά εκχυλίσματα βρήκαν μέσω δοκιμής FRAP 5.346 $\mu\text{mol AAE/g dw}$ με μεθανόλη και 1.464 $\mu\text{mol AAE/g dw}$ με νερό. Αυτό έγινε με 4,5 g άγουρων καρπών και προσθήκη 45 mL μεθανόλης 80% ή dH_2O και εκχυλίστηκε υπό συνεχή ανακίνηση (250 στροφές/λεπτό) και στο σκοτάδι για 6 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Αυτό το αποτέλεσμα υπερτερεί κατά πολύ έναντι του παρόντος πειράματος (Mrid et al. 2019). Επίσης, μια μελέτη από τους Tang et al. (2019) που σύγκρινε τον λυκίσκο με καρπούς του γένους *Juniper* βρήκε ότι αντιοξειδωτικό δυναμικό του *Juniper* ήταν $11,47 \pm 0,06 \mu\text{mol AAE/g dw}$ μέσω της δοκιμής FRAP και $20,28 \pm 0,06 \mu\text{mol AAE/g dw}$ μέσω της

δοκιμής DPPH. Η τεχνική που εφαρμόστηκε εδώ ήταν δύο γραμμάρια άρκευθου εμποτίστηκαν με 20 mL αιθανόλης 30% (w/v). Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε σε αναδευόμενο επωαστήρα στις 120 rpm, 4 °C για 12 ώρες. Τα αποτελέσματα αυτά υστερούν αρκετά έναντι της προηγούμενης αλλά και της παρούσας έρευνας.

5.4 Πτητικές ενώσεις

Το περιεχόμενο του ελαίου του άρκευθου αποδείχτηκε πλούσιο σε πτητικές ενώσεις και συμφωνεί με αποτελέσματα άλλων μελετών όπως αυτή των Höferl M et al. (2014) και των Dimitrov et al. (2024) με κάποιες κοινές ενώσεις όπως το λιμονένιο, το α-πινένιο, β-πινένιο, το σαβινένιο, το γερμακρένιο-D. Επίσης και στην έρευνα των Salamon et al. (2023) βρέθηκαν οι προηγούμενες ενώσεις εκτός από το γερμακρένιο-D.. Στην πρώτη μελέτη το έλαιο ήταν έτοιμο από εμπορικό προϊόν (από καρπούς) ενώ στις άλλες δυο οι ενώσεις απομονώθηκαν μέσω της υδροαπόσταξης.

5.5 Δυνητικές χρήσεις των καρπών άρκευθου

Οι καρποί της άρκευθου αποδείχτηκαν μέσω της μελέτης αυτής ως μια πολύ σημαντική πηγή βιοδραστικών συστατικών που θα μπορούσε να αξιοποιηθεί σε ποικίλους τομείς. Όπως αναφέρθηκε και στην ενότητα 5.3, οι καρποί περιέχουν ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό δυναμικό και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στον τομέα της υγείας. Το προφίλ του ελαίου του με βάση τον πλούτο των ενώσεων που περιέχει το καθιστά ελπιδοφόρο για χρήση του στην κοσμετολογία. Έχουν αντισηπτική και στυπτική δράση (Raina et al., 2019) ενισχύοντας τη θέση τους στην φαρμακοβιομηχανία. Καλή πηγή μπορεί να θεωρηθεί και στον τομέα τροφίμων και ποτών με τη χρήση τους ως φυσικό συστατικό στον αρωματισμό (Raina et al., 2019) και την παραγωγή (Albrecht and Madisch, 2022).

6. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Η αξιοποίηση των φυσικών πόρων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ζωή του ανθρώπου. Τα φυτικά είδη που φύονται στην Ελλάδα έχουν μεγάλο ενδιαφέρον επειδή μπορούν να προσφέρουν τις ιδιαίτερες ιδιότητές τους σε ποικίλους τομείς. Συγκεκριμένα, τα φυτά αναπαράγουν, σε διάφορα μέρη τους, ουσίες με μεγάλο θρεπτικό ενδιαφέρον. Αυτές οι ουσίες αποτελούν τα βιοδραστικά συστατικά. Αυτό συμβαίνει λόγω της συνεισφοράς του εδάφους και του κλίματος. Όμως πολλές φορές ο άνθρωπος πραγματοποιεί υπερεκμετάλλευση των πόρων και μέσω των ενεργειών του υποβαθμίζει το περιβάλλον, προκαλώντας αρνητικές συνέπειες για την ανάπτυξη της βλάστησης. Για το λόγο αυτό, είναι απαραίτητος ο έλεγχος των δραστηριοτήτων του και ο σεβασμός του προς τους φυσικούς πόρους προκειμένου να καθίσταται δυνατή η ανάπτυξη της βιοποικιλότητας η οποία με τη σειρά της θα συνεχίζει να προσφέρει τα αγαθά της.

Η επεξεργασία των αγαθών της φύσης με τη βοήθεια προηγμένης τεχνολογίας και περαιτέρω έρευνας μπορεί να οδηγήσει στη λήψη ενός φυσικού υλικού που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αντικαταστάτης των επεξεργασμένων και πολλές φορές τοξικών συστατικών των διαφόρων προϊόντων των βιομηχανιών. Συγκεκριμένα, η έρευνα πάνω στις μεθόδους εκχύλισης, η οποία αποτελεί σημαντικό στάδιο για τη λήψη των συστατικών των φυτών, θα επέτρεπε την ενισχυμένη απόδοση και διατήρηση της ποιότητας των εκχυλισμάτων, με παράλληλη μείωση των αρνητικών επιδράσεων στο περιβάλλον. Οι πράσινες τεχνικές εκχύλισης είναι κάποιες από αυτές. Οι προσπάθειες βελτίωσης των παραμέτρων εκχύλισης, όπως ο διαλύτης, η θερμοκρασία και ο χρόνος, αποτελούν μείζονος σημασίας και υπάρχουν περιθώρια βελτίωσης των διαδικασιών προκειμένου να βρεθεί ο βέλτιστος συνδυασμός.

Προκειμένου, τα άριστα φυτικά εκχυλίσματα να πιστοποιηθούν για τα δραστικά συστατικά τους, είναι απαραίτητο, μελλοντικά πειράματα να ερευνήσουν περαιτέρω τον τρόπο λειτουργίας τους πάνω στην ανθρώπινη υγεία.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική βιβλιογραφία

1. Ευρωπαϊκή Επιτροπή (2002), Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 796/2002, Παράρτημα ΧΒ, ανάκτηση στο: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/?uri=CELEX:32002R0796>
2. Κοράκης, Γ. (2015). Δασική Βοτανική [Προπτυχιακό εγχειρίδιο]. Κάλλιπος, Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις. DOI: <https://dx.doi.org/10.57713/kallipos-915>
3. Κοράκης, Γ. (2024). Ξενικά δένδρα και θάμνοι στην Ελλάδα [Προπτυχιακό εγχειρίδιο]. Κάλλιπος, Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις. DOI: <https://dx.doi.org/10.57713/kallipos-894>
4. Νικήσιανης, Ν. (2022). Οικονομική και πολιτισμική σημασία αυτοφυών καρποφόρων φυτών (Έργο: Ανάδειξη τοπικών παραδοσιακών ποικιλιών και αυτοφυών οπωροφόρων δέντρων και θάμνων EcoVariety, Ενότητα Εργασίας 2: Αναπαραγωγή & αξιολόγηση αυτοφυών καρποφόρων φυτών). Θεσσαλονίκη: ΣΥΣΤΑΔΑ Ο.Ε.Δ. ΤΣΙΑΡΑΣ, Δ. ΠΑΛΑΣΚΑΣ, Α. ΖΑΧΑΡΙΑΔΗΣ. Ανάκτηση από: https://ecovariety.gr/wp-content/uploads/2022/05/%CE%A014_Ecovariety%20%CE%A3%CF%85%CF%83%CF%84%CE%AC%CE%B4%CE%B1.pdf
5. Πριλή, Ε.-Δ. (2021). Ανασκόπηση στη χρήση των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων (ΠΗΠ) για την εκχύλιση βιοδραστικών ουσιών από φυτά και παραπροϊόντα βιομηχανίας τροφίμων (Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία, Σχολή Επιστημών Τροφίμων, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Αιγάλεω). Ανάκτηση από https://polynoe.lib.uniwa.gr/xmlui/bitstream/handle/11400/1226/%ce%a0%ce%a1%ce%99%ce%9b%ce%97%20%ce%95%ce%a5%ce%a3%ce%a4%ce%91%ce%98%ce%99%ce%91-%ce%94%ce%97%ce%9c%ce%97%ce%a4%ce%a1%ce%91_19023.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

1. Abubakar A.R. & M. Haque (2020). Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Pharm Bioallied Sci.*, 12(1), 1–10. Ανάκτηση από <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7398001/>
2. Akbulut H.F. , M. Akbulut (2023). Mineral composition, the profile of phenolic compounds, organic acids, sugar and in vitro antioxidant capacity, and antimicrobial activity of organic extracts of *Juniperus drupacea* fruits, *Food Sci Nutr.* 30 11(10):6435–6446. doi: 10.1002/fsn3.3586, PMCID: PMC10563755, PMID: 37823141, ανάκτηση από: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10563755/>
3. Albrecht U. & Madisch, A. (2022). Therapeutic potentials associated with biological properties of *Juniperus communis* L. berry oil and its therapeutic use in several diseases – A review. *Bioactive Compounds in Health and Disease*, 5(9), σελ .174–185. DOI : <https://doi.org/10.31989/bchd.v5i9.999>
4. Assouguem A., S. Annemer , M. Kara & A. Lazraq, A. (2025). Innovative approaches in the extraction, identification, and application of secondary metabolites from plants. *Phyton*, 94(6), 1631–1668. <https://doi.org/10.32604/phyton.2025.065750>
5. Athanasiadis V, T. Chatzimitakos, E. Bozinou, K. Kotsou,D. Palaiogianni, S. I. Lalas & . (2023). Optimization of Extraction Parameters for Enhanced Recovery of Bioactive Compounds from Quince Peels Using Response Surface Methodology, *Foods*, 12(11), 2099; DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12112099>
6. Azwanida N.N. (2015). A review on the extraction methods used in medicinal plants: Principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3). <https://dx.doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
7. Bais S., N. S. Gill, N. Rana, S. Shandil (2014). A Phytopharmacological Review on a Medicinal Plant: *Juniperus communis*, DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/634723>, International Scholarly Research Notices
8. Bajramova A., P. Spégel (2022). A comparative study of the fatty acid profile of common fruits and fruits claimed to confer health benefits, *Journal of Food*

- Composition and Analysis, Volume 112, 104657, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104657>
9. Bartle K. D., P. Myers (2002). History of gas chromatography, TrAC Trends in Analytical Chemistry Volume 21, Issues 9–10, 10, Pages 547-557, DOI: [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00806-3](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00806-3)
 10. Beikircher B. & S. Mayr (2008). The hydraulic architecture of *Juniperus communis* L. ssp. *communis*: Shrubs and trees compared. Plant, Cell and Environment, 31(11), 1545–1556. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01860.x>
 11. Belov T., D. Terenzhev, K.N. Bushmeleva, L. Davydova, K. Burkin, I. Fitsev, A. Gatiyatullina, A. Egorova, E. Nikitin (2023). Comparative Analysis of Chemical Profile and Biological Activity of *Juniperus communis* L. Berry Extracts, Plants, 12(19), 3401 DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12193401>
 12. Baum S.J., P.M.Kris-Etherton, W.C. Willett, A.H. Lichtenstein, L. L. Rudel, K.C. Maki, J. Whelan, C.E. Ramsden, R.C. Block (2012), Fatty acids in cardiovascular health and disease: A comprehensive update. Journal of Clinical Lipidology, Volume 6, Issue 3, σελ 216-234, <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2012.04.077>
 13. Buthelezi N.M.D, S.Z. Tesfay, K. Ncama, L.S. Magwaza (2018), Destructive and non-destructive techniques used for quality evaluation of nuts: A review, Scientia Horticulturae, Volume 247, σελ. 138-146, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.12.008>
 14. Carrillo-Hormaza L. , L. Duque, S. López-Parra, E. Osorio (2020). High-intensity ultrasound-assisted extraction of *Garcinia madruno* biflavonoids: Mechanism, kinetics, and productivity, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107676>, Biochemical Engineering Journal Volume 161, 107676
 15. Chibuye B, I. Singh Sen , L. Chimuka, K.K. Maseka (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. Scientific African, 19, e01585. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>
 16. Christodoulou M. C., J.C. Orellana Palacios, G. Hesami, S. Jafarzadeh, J.M. Lorenzo, R. Domínguez, A. Moreno, M. Hadidi (2022). Spectrophotometric

- Methods for Measurement of Antioxidant Activity in Food and Pharmaceuticals, Antioxidants, 11(11), 221;., DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11112213>, Antioxidants: Sources, Methods, Health Benefits and Industrial Applications
17. Coskun O. (2016). Separation techniques: Chromatography, North Clin Istanbul 3(2):156–60 doi: 10.14744/nci.2016.32757, ανάκτηση από: https://jag.journalagent.com/nci/pdfs/NCI_3_2_156_160.pdf
 18. Dimitrov F., L. Panghyová, V. Vargová, S. Baxa, M. Polovka, M. Kopuncová, B. Tobolková, S. Hrouzková, J. Sádecká (2024). Gas-chromatographic analyses of volatile organic compounds in essential oils extracted from Slovak juniper berries and needles (*Juniperus communis* L.), Journal of Food Composition and Analysis , Volume 133, 106419, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106419>
 19. Enescu C.M., T. Houston Durrant, G. Caudullo, G. & D. de Rigo (2016). *Juniperus communis* in Europe: Distribution, habitat, usage and threats. In European Atlas of Forest Tree Species (pp. e01d2de+). Luxembourg: Publ. Off. EU. https://ies-ows.jrc.ec.europa.eu/efdac/download/Atlas/pdf/Juniperus_communis.pdf
 20. Farkas O, Jakus J, Héberger K. (2004). Quantitative Structure – Antioxidant Activity Relationships of Flavonoid Compounds, *Molecules*, 9(12), 1079-1088, ανάκτηση από : <https://doi.org/10.3390/91201079>
 21. Fierascu I. , C. Ungureanu, S. M. Avramescu, C. Cimpeanu, M. I. Georgescu, , R. C. Fierascu, A. Ortan , A. N. Sutan , V. Anuta , A. Zanfirescu , C. E. Dinu-Pirvu , B. S. Velescu (2018). Genoprotective, antioxidant, antifungal and anti-inflammatory evaluation of hydroalcoholic extract of wild-growing *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) native to Romanian southern sub-Carpathian hills, *BMC Complementary and Alternative Medicine* volume 18, 3, ανάκτηση από: <https://bmccomplementmedtherapies.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-017-2066-8>
 22. Fotsing F. Y. S., J.J. B. Kezetas, G. E-S. Batiha,, I. Ali and B. L. Nd-jakou (2021). Extraction of Bioactive Compounds from Medicinal Plants and Herbs, *Natural Medicinal Plants*, DOI: 10.5772/intechopen.98602 , ανάκτηση από: <https://www.intechopen.com/chapters/77433>

23. Garavand F, S. Rahaei, N Vahedikia, S. M. Jafari (2019). Different techniques for extraction and micro/nanoencapsulation of saffron bioactive ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 89, 26–44. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.05.005>
24. García D., I. Donoso, & J. Rodríguez-Pérez, (2018). Frugivore biodiversity and complementarity in interaction networks enhance landscape-scale seed dispersal function. *Functional Ecology*, 32(12), 2635–2800. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13213>
25. García D., R. Zamora, J.M. Gómez & J.A. Hódar, (2001). Frugivory at *Juniperus communis* depends more on population characteristics than on individual attributes. *Journal of Ecology*, 89(4), 639–647. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2001.00577.x>
26. García D., R. Zamora, J.M. Gómez, P. Jordano, & J.A. Hódar (2000- 2001). Geographical variation in seed production, predation and abortion in *Juniperus communis* throughout its range in Europe. *Journal of Ecology*, 88(3), 435–446. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2000.00459.x>
27. Garcia-Barreda S., G. Sangüesa-Barreda, J. Madrigal-González, F. Seijo, ,González de Andrés E., J.J. Camarero (2021). Reproductive phenology determines the linkages between radial growth, fruit production and climate in four Mediterranean tree species, *Agricultural and Forest Meteorology*, Volume 307, 108493, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2021.108493>
28. Garcia-Salas P., A. Morales-Soto, A. Segura-Carretero & A. Fernández-Gutiérrez A (2010). Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples, *Molecules*. 3 15(12):8813–8826. DOI: 10.3390/molecules15128813, PMCID: PMC6259353 PMID: 21131901, ανάκτηση από: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6259353/>
29. Ghenabzia I. , H. Hemmami , I.B. Amor ,S. Zeghoud, B.B. Seghir , R. Hammoudi ,(2023). Different methods of extraction of bioactive compounds and their effect on biological activity: A review, *International Journal of Secondary Metabolite*, Vol. 10, No. 4, 469–494 ,DOI : <https://doi.org/10.21448/ijsm.1225936>, Published at <https://dergipark.org.tr/en/pub/ijsm>
30. Gilbraith WE, JC. Carter, KL. Adams, KS. Booksh, JM. Ottaway (2021). Improving Prediction of Peroxide Value of Edible Oils Using Regularized

31. Gonçalves A.C., J.D. Flores-Félix , P. Coutinho, G. Alves, & L.R. Silva (2022). *Juniperus communis* L. as a promising source of bioactive compounds and biomedical activities: A review on recent trends. *Int. J. Mol. Sci.*, 23(6), 3197. <https://doi.org/10.3390/ijms23063197>
32. Hapsaria S., I. Yohed , R.A. Kristianita, N. Jadid , H. W. Aparamarta , S. Gunawan (2021). Phenolic and flavonoid compounds extraction from *Calophyllum inophyllum* leaves, *Arabian journal of Chemistry*, Original article 03 2021:15 103666 DOI: 10.1016/j.arabjc.2021.103666, ανάκτηση από: <https://arabjchem.org/phenolic-and-flavonoid-compounds-extraction-from-calophyllum-inophyllum-leaves/>
33. Harasym J. , R. Oledzki (2014). Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma , *Nutrition* Volume 30, Issue 5, Pages 511-517 DOI : <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.08.019> ,
34. Haseeb A. , H. Ghulam , M. (2018). Antioxidants from Natural Sources, DOI: 10.5772/intechopen.75961, Antioxidants in Foods and Its Applications, ανάκτηση από: <https://www.intechopen.com/chapters/60270>
35. Höferl M, I. Stoilova, E. Schmidt, J. Wanner, L. Jirovetz, D. Trifonova, L. Krastev, A. Krastanov (2014). Chemical Composition and Antioxidant Properties of Juniper Berry (*Juniperus communis* L.) Essential Oil. Action of the Essential Oil on the Antioxidant Protection of *Saccharomyces cerevisiae* Model Organism, Antioxidants, 3(1):81-98, <https://doi.org/10.3390/antiox3010081>
36. Iqbal A., P. Schulz, & S.S.H. Rizvi (2021). Valorization of bioactive compounds in fruit pomace from agro-fruit industries: Present insights and future challenges. *Food Bioscience*, 44, 101384. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101384>
37. Ivanović M, M. Islamčević Razboršek, M. Kolar (2020). Innovative Extraction Techniques Using Deep Eutectic Solvents and Analytical Methods for the Isolation and Characterization of Natural Bioactive Compounds from Plant Material, *Plants*, 9(11), 1428, DOI : <https://doi.org/10.3390/plants9111428>
38. Jocienė L, E. Krokaitė , T. Rekašius , R. Vilčinskis , A. Judžentienė , V. Marozas , E. Kupčinskienė (2023). Ionomics Parameters of Populations of

- Common Juniper (*Juniperus communis* L.) Depending on the Habitat Type, *Plants*, 12(4), 961, DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12040961>
39. Kagan I. A., M. D. Flythe (2014). Thin-layer Chromatographic (TLC) Separations and Bioassays of Plant Extracts to Identify Antimicrobial Compounds, *J Vis Exp.* 27;(85):51411. doi: 10.3791/51411, PMCID: PMC4158999, PMID: 24747583, ανάκτηση από: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4158999/>
 40. Kalua C.M, M.S. Allen, D.R. Bedgood Jr, A.G. Bishop, P.D. Prenzler, K. Robards (2005), Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review, *Food Chemistry* ,Volume 100, Issue 1, 2007, σελ. 273-286, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.059>
 41. Karapatzak E., O. Dichala, K. Papanastasi, I. Manthos, I. Ganopoulos, A. Karydas , A.V Badeka, I.S. Kosma, D. Kyrkas, P. Yfanti, N. Nikisianis, G. Patakioutas, E. Maloupa, & N. Krigas (2023). A multifaceted evaluation approach for Greek native neglected and underutilized forest fruit trees and shrubs as natural sources of antioxidants: Consolidating the framework for their sustainable agronomic exploitation. *Plants*, 12(8), 1642. <https://doi.org/10.3390/plants12081642>
 42. Kaur C. & H.C. Kapoor (2001). Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium’s health. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 36(7), 703–725 DOI : <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.00513.x>
 43. Lunn J., H.E. Theobald (2006). The health effects of dietary unsaturated fatty acids, *Nutrition Bulletin*, Volume31, Issue3, σελ. 178-224, <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2006.00571.x>
 44. Machado , R. Faccio, M. Pistón (2019). Characterization of the effects involved in ultrasound-assisted extraction of trace elements from artichoke leaves and soybean seeds, , *Ultrasonics Sonochemistry* Volume 59, 104752 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104752>
 45. Mahato N, M. Sinha, K. Sharma, R. Koteswararao , MH. Cho (2019). Modern Extraction and Purification Techniques for Obtaining High Purity Food-Grade Bioactive Compounds and Value-Added Co-Products from Citrus Wastes, *Foods* 2019, 8(11), 523 DOI: <https://doi.org/10.3390/foods8110523>, Nutraceuticals, Functional Foods, and Novel Foods

46. Martins R, A. Barbosa, B. Advinha, H. Sales, R. Pontes, J. Nunes (2023). Green Extraction Techniques of Bioactive Compounds: A State-of-the-Art Review, *Processes* 2023, 11(8), 2255, DOI : <https://doi.org/10.3390/pr11082255>
47. Medhe S (2018). Mass Spectrometry: Analysers an Important Tool, *International Journal of Chemical Sciences* 16(3):1-8, ανάκτηση από: https://www.researchgate.net/publication/327418667_Mass_Spectrometry_Analysers_an_Important_Tool
48. Mërtiri I, B. Păcularu-Burada, N. Stănciuc (2024). Phytochemical Characterization and Antibacterial Activity of Albanian *Juniperus communis* and *Juniperus oxycedrus* Berries and Needle Leaves Extracts, *Antioxidants* (Basel). 13 13(3):345. doi: 10.3390/antiox13030345, PMCID: PMC10968248, PMID: 38539878, ανάκτηση από: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10968248/>
49. Minor D.M. & R.K. Kobe (2019). Fruit production is influenced by tree size and size-asymmetric crowding in a wet tropical forest. *Ecology and Evolution*, 9(3), 1458–1472. <https://doi.org/10.1002/ece3.4867>
50. Mrid R. B. , N. Bouchmaa, Y. Bouargalne, B. Ramdan, K. Karrouchi, I. Kabach, M. El Karbane, A. Idir, A. Ziad, M. Nhiri (2019). Phytochemical Characterization, Antioxidant and In Vitro Cytotoxic Activity Evaluation of *Juniperus oxycedrus* Subsp. *oxycedrus* Needles and Berries, *Molecules*. 30 24(3):502. DOI: 10.3390/molecules24030502, PMCID: PMC6384603 PMID: 30704127, ανάκτηση από: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6384603/>
51. Munteanu IG, C. Apetrei (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review, *Int J Mol Sci*. 25 22(7):3380. DOI: 10.3390/ijms22073380, PMCID: PMC8037236, PMID: 33806141, ανάκτηση από: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8037236/> και <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/7/3380>
52. Naliyadhara N, A. Kumar, S. Girisa, U. D. Daimary, M. Hegde, A. B. Kunnumakkara (2022). Pulsed electric field (PEF): Avant-garde extraction escalation technology in food industry, *Trends in Food Science & Technology* Volume 122, Pages 238-255, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.019>

53. Niu D., X.A. Zeng, E. F. Ren, F.Y. Xu, J. Li, M.S. Wang & R. Wang (2020). Review of the application of pulsed electric fields (PEF) technology for food processing in China. *Food Research International*, 137, 109715. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109715>
54. Palaogiannis, D., Chatzimitakos, T., Athanasiadis, V., Bozinou, E., Makris D.P., Lalas S.I. (2023). Successive solvent extraction of polyphenols and flavonoids from *Cistus creticus* L. leaves. *Oxygen*, 3(3), 274–286. <https://doi.org/10.3390/oxygen3030018>
55. Panico SC, V. Memoli, L. Santorufo , S. Aiello, R. Barile, A. De Marco, G. Maisto (2022). Soil Biological Responses under Different Vegetation Types in Mediterranean Area, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022, 19(2), 903, <https://doi.org/10.3390/ijerph19020903>
56. Panja P. (2018). Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials, *Current Opinion in Food Science* Volume 23, Pages 173-182 <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.11.012>
57. Papanikolaou A., N.M. Fyllas, A.D. Mazaris & P.G. Dimitrakopoulos (2011). Grazing effects on plant functional group diversity in Mediterranean shrublands. *Biodiversity and Conservation*, 20(12). <https://doi.org/10.1007/s10531-011-0112-2>
58. Patra A., S. Abdullah & R.C. Pradhan (2022). Review on the extraction of bioactive compounds and characterization of fruit industry by-products. *Bioresources and Bioprocessing*, 9, 14. <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00498-3>
59. Pérez M, I. Dominguez-López, R. M Lamuela-Raventós (2023). The Chemistry Behind the Folin–Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern, *J Agric Food Chem.* 10 71(46):17543–17553. doi: 10.1021/acs.jafc.3c04022, PMID: 37948650, ανάκτηση από: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10682990/>
60. Petaloudi L.-M. ,P. Ganatsas , M. Tsakalimi (2022). Exploring Biodiversity and Disturbances in the of Peri-Urban Forests of Thessaloniki, Greece , *Sustainability* 2022, 14(14), 8497 , Forest Biodiversity, Conservation and Sustainability – Series II , DOI : <https://doi.org/10.3390/su14148497>

61. Petaloudi L.-M. ,P. Ganatsas , M. Tsakalidimi (2022). Exploring Biodiversity and Disturbances in the of Peri-Urban Forests of Thessaloniki, Greece, Sustainability 2022, 14(14), 8497, DOI: <https://doi.org/10.3390/su14148497>, Forest Biodiversity, Conservation and Sustainability – Series II
62. Popescu D.I. , O.R. Botoran, R. Cristea , C. Mihăescu , N.A. Şuţan (2023). Effects of geographical area and harvest times on chemical composition and antibacterial activity of *Juniperus communis* L. pseudo-fruits extracts: A statistical approach. Horticulturae, 9(3), 325. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030325>
63. Rahman A.U., S.M. Khan, Z. Ahmad, S. Alamri, M. Hashem , M. Ilyas , A. Aksoy, C. Dülgeroğlu, G. Khan, S. Ali (2021). Impact of multiple environmental factors on species abundance in various forest layers using an integrative modeling approach. Global Ecology and Conservation, 29, e01712. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2021.e01712>
64. Raina R. , P.K Verma, R. Peshin, H. Kour (2019). Potential of *Juniperus communis* L as a nutraceutical in human and veterinary medicine, Heliyon. 31 5(8):e02376. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02376, PMCID: PMC6726717 PMID:31508527,ανάκτηση από: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6726717/>
65. Raina R. , P.K Verma, R. Peshin, H. Kour (2019). Potential of *Juniperus communis* L as a nutraceutical in human and veterinary medicine, Heliyon Volume 5, Issue 8e02376, DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e02376, ανάκτηση από: [https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440\(19\)36036-0](https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440(19)36036-0)
66. Raj B., J. Soosamma, Chandrakala, V. & Kumari, G.H. (2022). Green extraction techniques for phytoconstituents from natural products. Medicinal Plants. <https://www.intechopen.com/chapters/82283>
67. Rathore M. (2009). Nutrient content of important fruit trees from arid zone of Rajasthan, Journal of Horticulture and Forestry Vol. 1(7) pp. 103-108, Διαθέσιμο online <https://www.academicjournals.org/jhf> , ©2009 Academic Journals. Ανάκτηση από: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=2d90c5f0fc2ac1235fd174297400d063e39eae8>
68. Reshi ZA, W. Ahmad, A.S. Lukatkin, S.B Javed (2023). From Nature to Lab: A Review of Secondary Metabolite Biosynthetic Pathways, Environmental

- Influences, and In Vitro Approaches, *Metabolites*, 28 13(8):895. doi: 10.3390/metabo13080895, PMID: 37623839, ανάκτηση από: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10456650/>
69. Rundel P.W., M. Kalin, R.M Cowling, J.E Keeley (2016). Mediterranean Biomes: Evolution of Their Vegetation, Floras, and Climate, *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 47(1), DOI:10.1146/annurev-ecolsys-121415-032330, ανάκτηση από: https://www.researchgate.net/publication/308037314_Mediterranean_Biomes_Evolution_of_Their_Vegetation_Floras_and_Climate
70. Salamon I, P. Otepka, M. Kryvtsova, O. Kolesnyk, M. Hrytsyna (2023). Selected Biotopes of *Juniperus communis* L. in Slovakia and Their Chemotype Determination. *Horticulturae*, 9(6):686, <https://doi.org/10.3390/horticulturae9060686>
71. Sasidharan S., Y Chen, D Saravanan, K.M. Sundram, L Yoga Latha (2010). Extraction, Isolation and Characterization of Bioactive Compounds from Plants' Extracts, *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2;8(1):1–10, ανάκτηση από: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3218439/>, PMID: 22238476
72. Sik B., R. Székelyhidi, E. Lakatos, V. Kapcsándi, & Z. Ajtony, (2022). Analytical procedures for determination of phenolics active herbal ingredients in fortified functional foods: An overview. *European Food Research and Technology*, 248, 329–344. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03908-6>
73. Simpson A.J., M.J. Simpson & R. Soong (2012). Nuclear magnetic resonance spectroscopy and its key role in environmental research. *Environmental Science & Technology*, 46(21), 11488–11496. <https://doi.org/10.1021/es302154w>
74. Sponsel V. M. (2023). Plant Metabolites: primary vs. secondary, EBSCO, ανάκτηση από: <https://www.ebsco.com/research-starters/anatomy-and-physiology/plant-metabolites-primary-vs-secondary>
75. Sultana B., F. Anwar, M. Ashraf (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167–2180, DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules14062167>

76. Sun C., Z. Wu, Z. Wang & H. Zhang (2015). Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant properties of Beijing propolis extracts. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 2015, 595393. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4553316/>
77. Szwajkowska-Michałek L., A. Przybylska-Balcerek, T. Rogoziński, K. Stuper-Szablewska (2020). Phenolic Compounds in Trees and Shrubs of Central Europe, *Appl. Sci.* 2020, 10(19), 6907, Bioactive Compounds from Various Sources: Beneficial Effects and Technological Applications, <https://doi.org/10.3390/app10196907>
78. Tang J., F.R. Dunshea, H.A.R. Suleria (2019). LC-ESI-QTOF/MS Characterization of Phenolic Compounds from Medicinal Plants (Hops and Juniper Berries) and Their Antioxidant Activity, *Foods*, 9(1), 7; DOI: <https://doi.org/10.3390/foods9010007>, Extraction and Characterization of Polyphenols from Food Matrix
79. Thomas P. A., M. El-Barghathi, M., A. Polwart (2007). Biological Flora of the British Isles: *Juniperus communis* L, *Journal of Ecology* Volume95, Issue6 November 2007, σελ 1404-1440, DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2007.01308.x>
80. Tirmenstein D. (1999). *Juniperus communis*, common juniper. Στο: Fire Effects Information System, [Online]. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Fire Sciences Laboratory (Producer). Forest Service, USDA, ανάκτηση από : <https://research.fs.usda.gov/feis/species-reviews/juncom>
81. Tsitsirigka T., D. Kalompatsios, V. Athanasiadis, E. Bozinou, A. I. Sfougaris & S. I. Lalas (2025). Valorization of the Bioactive Potential of *Juniperus communis* L. Berry Extracts Using a Box–Behnken Design and Characterization of Kernel Oil Compounds. *Separations* 2025, Advances in the Analysis of Bioactive Plant Extracts: Separation Techniques and Their Applications,12(8), 209, DOI: <https://doi.org/10.3390/separations12080209>
82. Usman, I., M. Hussain, A. Imran, M. Afzaal, F. Saeed, M. Javed, A. Afzal,I. Ashfaq, E. Al Bawi, S. A. Saewan (2022). Traditional and innovative approaches for the extraction of bioactive compounds, *International Journal of Food Properties* Volume 25, - Issue 1, σελ 1215-1233, DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2074030>

83. Yaglioglu A. S. , F. Eser (2017). Screening of some Juniperus extracts for the phenolic compounds and their antiproliferative activities, South African Journal of Botany, Volume 113, Pages 29-33, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.07.005>
84. Zandavar H., M. A. Babazad (2023). Secondary Metabolites: Alkaloids and Flavonoids in Medicinal Plants , Herbs and Spices-New Advances, DOI: 10.5772/intechopen.108030, ανάκτηση από : <https://www.intechopen.com/chapters/84231>
85. Zhang N., Y. Li, S. Wen. Y. Sun, J. Chen, Y. Gao, A. Sagymbek, X. Yu (2021). Analytical methods for determining the peroxide value of edible oils: A mini-review, Food Chemistry, Volume 358, 129834, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129834>
86. Zhang Q.-W., L.-G. Lin & W.-C. Ye (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review , Chinese Medicine volume 13, 20 , BMC Part of Springer Nature, ανάκτηση από : <https://cmjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13020-018-0177-x>
87. Zheng S. Z. Huang, L. Dong, D. Li, X. Hu, F. Chen, C. Ma (2025). Sustainable Extraction Technology of Fruit and Vegetable Residues as Novel Food Ingredients, Foods 2025, 14(2), 331, doi : <https://doi.org/10.3390/foods14020331>
88. Zou Z., W. Xi, Y. Hu, C. Nie, Z. Zhou (2015). Antioxidant activity of Citrus fruits, Food Chemistry, Volume 196, 1 April 2016, Pages 885-896, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.072>

Για τις εικόνες :

1. WIKISPECIES, free species directory (2024). Εικόνα 1 από το διαδίκτυο, Ανάκτηση από : https://species.wikimedia.org/wiki/Juniperus_communis?uselang=frr
2. Juniperus communis , International dendrology Society , Tress and shrubs online (2025). Εικόνα 2 από το διαδίκτυο, ανάκτηση από <https://www.treesandshrubsonline.org/articles/juniperus/juniperus-communis/> , Πρόσβαση στις 27-08-2025