

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**Μελέτη της Χημικής Σύστασης Αιθερίων Ελαίων
ορισμένων Αρωματικών Φυτών της Ελληνικής Χλωρίδας**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Χρυσανγή Γαρδέλη

ΑΘΗΝΑ 2009

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ
ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ
ΧΛΩΡΙΔΑΣ

STUDY OF ESSENTIAL OIL COMPOSITION OF SOME
AROMATIC PLANTS OF GREEK FLORA

ΧΡΥΣΑΥΓΗ ΓΑΡΔΕΛΗ
ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Επιβλέπων

Μιχαήλ Κωμαΐτης – Καθηγητής

Μέλη

Αθανάσιος Κουτίνης – Καθηγητής

Σταυριανός Γιαννιώτης – Αναπληρωτής Καθηγητής

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Μιχαήλ Κωμαΐτης – Καθηγητής

Αθανάσιος Κουτίνης – Καθηγητής

Σταυριανός Γιαννιώτης – Αναπληρωτής Καθηγητής

Κωνσταντίνα Τζιά – Καθηγήτρια

Θεοφάνης Κωνσταντινίδης – Επίκουρος Καθηγητής

Μαρία Καψοκεφάλου – Επίκουρη Καθηγήτρια

Βασιλική Ευαγγελίου – Λέκτορας

ΑΘΗΝΑ 2009

“Η έγκριση της παρούσης διδακτορικής διατριβής
υπό του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν
υποδηλώνει αποδοχήν των γνώσεων του συγγραφέως”

[Νόμος 5343/1932, άρθρο 202]

Η ολοκλήρωση μιας διδακτορικής διατριβής ήταν πάντα για μένα ένα μεγάλος στόχος, τον οποίο πάλεψα να πετύχω πολύ σκληρά όλα αυτά τα χρόνια. Στην πορεία αυτή συνέβαλλαν ακαδημαϊκοί δάσκαλοι, συνάδελφοι, φίλοι και παιδιά.

Η εργασία με τον Καθηγητή κ. Μιχαήλ Κωμαίτη, ο οποίος επέβλεψε την παρούσα διδακτορική διατριβή και που όλα αυτά τα χρόνια είχε διττό ρόλο, ως διοικητικός προϊστάμενος και δάσκαλος ήταν πολύ εποικοδομητική. Κυρίως τον ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε όταν έπρεπε να προχωρήσω ανεξάρτητα.

Ευχαριστώ θερμά τον Αν. Καθ. κ. Σταυριανό Γιαννιώτη, ο οποίος παρά το πιεστικό πρόγραμμά του λόγω των διοικητικών του αρμοδιοτήτων, μοιράστηκε πολλές φορές τους προβληματισμούς μου και συνέβαλλε ουσιαστικά στη διαμόρφωση του τρίτου μέρους της παρούσας εργασίας.

Τον Καθηγητή κ. Αθανάσιο Κουτίνα ευχαριστώ για τη συμμετοχή του στην τριμελή συμβουλευτική επιτροπή και τη μελέτη του παρόντος κειμένου.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον Επίκουρο Καθηγητή Συστηματικής Βοτανικής κ. Θεοφάνη Κωνσταντίδη. Η όρεξη και η αγάπη του για το αντικείμενο της βοτανικής ήταν για εμένα μια διδακτική και ευχάριστη εμπειρία. Η συμβολή του στην συλλογή και την αναγνώριση του φυτικού υλικού ήταν καθοριστική. Τον ευχαριστώ για το χρόνο που αφιέρωσε οποιαδήποτε στιγμή προέκυπταν απορίες και ανάγκη για διευκρινίσεις. Θεωρώ τον εαυτό μου πολύ τυχερό για αυτή τη συνεργασία.

Η συμμετοχή στην εξεταστική επιτροπή της Καθηγήτριας Κας Κωνσταντίνας Τζιά ήταν καθοριστική στην διαμόρφωση του τελικού κειμένου, καθώς οι εύστοχες παρατηρήσεις της βοήθησαν στην ανάδειξη των αποτελεσμάτων της εργασίας μου. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να την ευχαριστήσω για όσα με δίδαξε και κατά το παρελθόν καθώς είχα την τύχη να συνεργαστώ μαζί της.

Η συνεργασία με την Επίκουρη Καθηγήτρια Κα Μαρία Καψοκεφάλου ήταν πάντα εποικοδομητική. Την ευχαριστώ για την στήριξη που μου παρείχε όλα τα χρόνια εκπόνησης της διδακτορικής εργασίας μου τόσο σε προσωπικό όσο και σε ερευνητικό επίπεδο.

Ευχαριστώ θερμά για την συμμετοχή στην εξεταστική επιτροπή τη Λέκτορα Κα Βασιλική Ευαγγελίου. Η συμβολή της ήταν καθοριστική στη διεξαγωγή πειραμάτων που αφορούσαν στη χρήση πηκτών. Την ευχαριστώ για τις χρήσιμες υποδείξεις στην παρουσίαση των αποτελεσμάτων, για το χρόνο που αφιέρωσε και την στήριξη σε προσωπικό επίπεδο που μου παρείχε όλο αυτό το διάστημα.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επίκουρη Καθηγήτρια Κα Σωτηράκογλου για τη σημαντική βοήθεια στη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, για την αμεσότητα της συνεργασίας, τη φιλική της διάθεση και το χρόνο που αφιέρωσε σε βάρος του δικού της παραγωγικού χρόνου.

Στο σημείο αυτό, καθώς αναφέρομαι σε ακαδημαϊκούς δασκάλους θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή του ΤΕΙ Αθηνών κ. Σπύρο Παπαδάκη για την εποικοδομητική συνεργασία που είχαμε όλα τα χρόνια που εργαζόμουν ως Εργαστηριακή Συνεργάτιδα στο Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, καθώς και για την μετέπειτα φιλία και το ενδιαφέρον του για την ολοκλήρωση της διδακτορικής εργασίας μου.

Η εύρεση του φυτικού υλικού αλλά και η συλλογή του έγινε με τη βοήθεια της Κας Αναστασίας Γαρδέλη. Αγαπημένης μου θείας, που ζει στη Ζάκυνθο και γνωρίζει τα πάντα (με τον δικό της τρόπο) για τα φυτά και το τόπο που αυτά φύονται. Την ευχαριστώ θερμά για την προθυμία της και τη διάθεσή της να με βοηθήσει παρόλα τα προσωπικά της προβλήματα.

Στο εργαστήριο είχα την τύχη να γνωρίσω και να συνεργαστώ με τον μεταδιδάκτορα κ. Αθανάσιο Μαλλούχο. Η ερευνητική του εμπειρία, η αγάπη του για την έρευνα, η προθυμία του και η φιλική του διάθεση ήταν αυτά που με βοήθησαν καθοριστικά σε πολλά στάδια της εργαστηριακής μου πορείας. Ήταν αυτός που με καθοδήγησε τόσο στη χρήση αναλυτικών οργάνων όσο και αναλυτικών τεχνικών.

Τις αμέτρητες ώρες της εργαστηριακής ζωής τις μοιράστηκα κυρίως με την Κα Βασιλική Παπαγεωργίου, η οποία το ίδιο χρονικό διάστημα εκπονούσε τη διδακτορική της εργασία στο εργαστήριο Χημείας και Ανάλυσης Τροφίμων. Μοιραστήκαμε όλες τις αγωνίες και τις ανησυχίες, τις επιτυχίες και τις αποτυχίες που συνεπάγεται η επιστημονική έρευνα. Ήταν συνοδοιπόρος σ' αυτήν τη διαδρομή.

Τον διδάκτορα Χαράλαμπο Προεστό, ευχαριστώ για τις ευχάριστες στιγμές που περάσαμε στο εργαστήριο και το αστείρευτο χιούμορ του. Τους μεταπτυχιακούς φοιτητές κ.κ. Μαρία Δαουάχερ, Χρίστο Κόκκινο και Δήμητρα Σοφουλάκη για τη βοήθειά τους και την άψογη συνεργασία που είχαμε. Τους φοιτητές του εργαστηρίου: την Ευδοξία, τη Μαρίνα, το Σάκη, την Ειρήνη, τη Δήμητρα, το Γιάννη, το Στέφανο, το Χριστόφορο και την Κλεοπάτρα για τη φιλότιμη προσπάθειά τους και τη ζεστή τους διάθεση.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου που όλα αυτά τα χρόνια είχαν το κουράγιο να μοιράζονται τις αγωνίες μου, να με εμπυχώνουν και να με προτρέπουν να ολοκληρώσω γρήγορα την παρούσα διατριβή.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, το σύζυγό μου και τις κόρες μου Ελένη και Νόνη για την υπομονή, τη συμπάρασταση και την κατανόησή τους όλα αυτά τα χρόνια. Στην ερώτηση « Όλο διαβάζεις μαμά. Τόσα πολλά είναι αυτά που έχεις να μάθεις;» Ελπίζω να δώσουν την απάντηση μόνες τους όταν μεγαλώσουν.

*Στις κόρες μου
Ελένη και Νόνη*

Εισαγωγή

		Σελίδες
I.	Αρωματικά φυτικά είδη	1
I.1	Ταξινομικές μονάδες	1
I.2	Οικογένεια <i>Labiatae</i> (<i>Lamiaceae</i> , Χειλανθή ή Χειλοστέφανα	2
I.2.1	<i>Rosmarinus officinalis</i> (κ. Δενδρολίβανο, αρισμαρής, rosmary)	2
I.2.2	<i>Salvia fruticosa</i> Miller (Syn.: <i>S. triloba</i> L. fil.) (κ. φασκομηλιά ή ελληνικό φασκόμηλο, greek sage)	3
I.2.3	<i>Coridothymus capitatus</i> Reinchenb. fil. (Syn.: <i>Thymus capitatus</i> (L.) Hoffmanns & Link, κ. θυμάρι).	5
I.2.4	<i>Satureja thymbra</i> (κ. θρούμπι) I	7
I.3	<i>Sideritis</i> spp.(κ. τσάι του βουνού)	9
I.4	<i>Mentha</i> spp. (κ.μέντα)	10
I.5	<i>Mentha</i> spp. (κ.δυόσμος)	11
I.6	<i>Foeniculum vulgare</i> Miller (κ.μάραθος)	12
I.7	<i>Myrtus communis</i> L. (κ. μυρτιά)	14
I.8	<i>Pistacia lentiscus</i> L. (κ. σχίνος)	15
II.	Βιοσύνθεση	17
II.1	Γενικά	17
II. 2	Βιοσύνθεση τερπενίων	17
II. 3	Βιοσύνθεση των φαινυλοπροπανοειδών	21
III.	Χημεία αιθερίων ελαίων	23
III. 1	Γενικά	23
III.2	Μη τερπενικοί υδρογονάνθρακες	23
III.3	Τερπενοειδή	24

III.3.1	Μονοτερπένια	24
III.3.1.1	Άκυκλα μονοτερπένια	25
III.3.1.2	Κυκλικά μονοτερπένια	26
III.3.1.2.a	Μονοκυκλικά μονοτερπένια	26
III.3.1.2.b	Δικυκλικά μονοτερπένια	27
III.3.1.2.c	Τρικυκλικά μονοτερπένια	28
III.3.2	Σεσκιτερπένια	28
III.3.2.1	Άκυκλα σεσκιτερπένια	29
III.3.2.1.a	Μονοκυκλικά σεσκιτερπένια	29
III.3.2.1.b	Δικυκλικά Σεσκιτερπένια	30
III.3.2.2	Διάφορα άλλα σεσκιτερπένια (miscellaneous)	31
III.3.3	Διτερπένια	32
III.4	Φαινυλοπροπανοειδή	34
IV.	Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή και τη σύσταση των αιθερίων ελαίων στα φυτά	35
IV.1	Γενικά	35
IV.1.1	Μεταβολές στη φυσιολογία του φυτού	35
IV.1.1.1	Το στάδιο ανάπτυξης των οργάνων	35
IV.1.1.2	Το μέρος του φυτού που αναλύεται	36
IV.1.1.3	Το εκκριτικό όργανο που παράγει τα αιθέρια έλαια	36
IV.1.1.4	Εποχιακή διακύμανση	36
IV.1.1.5	Μηχανικές και χημικές βλάβες	37
IV.1.2	Περιβαλλοντικοί παράγοντες	37
IV.1.2.1	Το κλίμα	37
IV.1.2.2	Γεωγραφική θέση	37

IV.1.2.3	Γενετικοί παράγοντες	38
IV.2	Ο Ρόλος Των Αιθερίων Ελαίων	38
IV.3	Αντιοξειδωτική Δράση Αιθερίων Ελαίων	39
V.	Προετοιμασία δείγματος πτητικών συστατικών αιθερίων ελαίων	41
V. 1	Γενικά	41
V.2	Σύγχρονες μέθοδοι προετοιμασίας δείγματος πτητικών συστατικών αιθερίων ελαίων	41
V. 3	Απόσταξη	43
V. 4	Εκχύλιση	44
V. 5	Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (solid-phase microextraction, SPME)	45
V. 5. 1	Εφαρμογές της τεχνικής SPME στην ανάλυση αιθερίων ελαίων	47
V. 6	Μηχανική Παραλαβή	49
V. 7	Σχόλιο στις μεθόδους απομόνωσης πτητικών συστατικών	49
V. 8	Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός συστατικών αιθερίων ελαίων	49
V.8.1	Αέρια χρωματογραφία – φασματοσκοπία μάζας (GC-MS)	49
V.8.1.1	Οργανολογία GC-MS	51
V.8.1.2	Εφαρμογή της αέριας –υγρής χρωματογραφίας στην ανάλυση αιθερίων ελαίων	53
V.8.2	Σχετικός Χρόνος Κατακράτησης (Relative Retention Indices – RRI)	54
V.8.3	Η τεχνική του εσωτερικού προτύπου	55
VI.	Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας- DPPH Radical Scavenging Method	57
VII.	Ξήρανση	61
VII.1	Αφυδάτωση με κατάψυξη-εξάχνωση ή λυοφιλίωση (freeze drying)	61
VII.1.1	Οι ιδιότητες των αφυδατωμένων προϊόντων με την τεχνική της λυοφιλίωσης	63
VII.1.2	Η συγκράτηση του αρώματος κατά τη διάρκεια της ξήρανσης με	63

	λυοφιλίωση	
VII.1.3	Ο ρόλος των «υλικών φραγμού» στην ξήρανση	64
VII.2	Βιοπολυμερή	65
VII.2.1	Πήξη βιοπολυμερών	65
VII.2.2	Άμυλο	68
VII.2.2.1	Τροποποιημένα άμυλα	69
VII.2.3	Ζελατίνη	70
	<i>Σκοπός της εργασίας</i>	71
	<i>Πειραματικό μέρος</i>	73
I.	Υλικά	73
I.1	Φυτικό υλικό	73
I.2	Διάλυμα πρότυπων ουσιών	75
I.3	Διαλύτες –Αντιδραστήρια	77
I.4	Παρασκευή διαλυμάτων και πηκτών βιοπολυμερών	77
II.	Όργανα	77
III.	Πειραματική διαδικασία	78
	Πρώτο Μέρος. Αρωματικά φυτά-Μελέτη της επίδρασης της μεθόδου παραλαβής-απομόνωσης	78
III.1	Προετοιμασία δείγματος αιθερίων ελαίων <ul style="list-style-type: none"> ➤ Με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης Clevenger (<u>Μέθοδος I</u>) ➤ Απομόνωση αιθερίων ελαίων με τη μέθοδο Headspace SPME (Solid Phase MicroExtaction) (Μέθοδος II) 	78
III.1.1	Προσδιορισμός συστατικών αιθερίων ελαίων με αέρια χρωματογραφία-φασματοσκοπία μάζας (GC/MS)	80
III.1.2	Ημιποσοτικός προσδιορισμός συστατικών	81
III.2	Δεύτερο μέρος - Αρωματικά φυτά –Μελέτη της εποχιακής	82

	διακύμανσης	
III.2.1	Συλλογή και Αποθήκευση φυτικών δειγμάτων	82
III.2.2	Διαδικασία Ξήρανσης με έκθεση στον αέρα	82
III.2.3	Παραλαβή αιθερίων ελαίων με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης σε συσκευή Clevenger	83
III.2.4	Προσδιορισμός συστατικών αιθερίων ελαίων με αέρια χρωματογραφία-φασματοσκοπία μάζας (GC/MS)	84
III.2.5	Πρότυπα διαλύματα	85
III.2.6	Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο δέσμευσης ελευθέρων ριζών [με χρήση της ελεύθερης ρίζας DPPH (1,1- diphenyl-2-picryl hydrazyl)]	85
III.3	Τρίτο Μέρος. Μελέτη της επίδρασης του χρόνου ξήρανσης και της μείωσης των απωλειών πτητικών συστατικών κατά την ξήρανση κατάψυξη- εξάχνωση (ή λυοφιλίωση). Σύγκριση με τη συμβατική ξήρανση στον αέρα	86
III.3.1	Φυτικό υλικό	86
III.3.2	Παρασκευή διαλυμάτων και πηκτών βιοπολυμερών	86
III.3.3	Προσδιορισμός υγρασίας	87
III.3.4	Ξήρανση με λυοφιλίωση	87
III.3.4.1	Ξήρανση με λυοφιλίωση φυτικού υλικού και υλικών φραγμού	88
III.3.5	Μέθοδος της Υδροαπόσταξης	88
III.3.6	Προσδιορισμός συστατικών αιθερίου ελαίου μάραθου σε GC-FID	88
IV.	Στατιστική επεξεργασία	89
	<i>Αποτελέσματα-Συζήτηση</i>	
I.	Πρώτο Μέρος-Αρωματικά φυτά. Μελέτη της επίδρασης της μεθόδου παραλαβής-απομόνωσης	91
I.1	Ρίγανη (<i>Origanum vulgare</i>)	91
I.2	Τσαϊ του βουνού (<i>Sideritis</i> spp.)	100
I.3	Μέντα (<i>Mentha</i> spp.)	107
I.4	Δυόσμος (<i>Mentha</i> spp.)	113

Δεύτερο μέρος - Αρωματικά φυτά –Μελέτη της εποχιακής διακύμανσης

Π.1.1	Χημική σύσταση και εποχική διακύμανση του αιθερίου ελαίου της Μυρτιάς	119
Π.1.2	Χημική σύσταση και εποχική διακύμανση του αιθερίου ελαίου του Σχίνου	128
Π.1.3	Χημική σύσταση και εποχική διακύμανση του αιθερίου ελαίου του Θυμαριού	139
Π.1.4	Χημική σύσταση και εποχική διακύμανση του αιθερίου ελαίου στη Θρούμπη	148
Π.1.5	Χημική σύσταση και εποχική διακύμανση του αιθερίου ελαίου του Φασκόμηλου	157
Π.1.6	Χημική σύσταση και εποχική διακύμανση του αιθερίου ελαίου του Δενδρολίβανου	168
Π.2	Αντιοξειδωτική Δράση	177
Π.2.1	Αντιοξειδωτική δράση πρότυπων ουσιών	177
Π.2.2	Αντιοξειδωτική δράση αιθερίων ελαίων	179
	Τρίτο Μέρος- Μελέτη της επίδρασης του χρόνου ξήρανσης και της μείωσης των απωλειών πτητικών συστατικών κατά την ξήρανση με λυοφιλίωση. Σύγκριση με τη συμβατική ξήρανση στον αέρα	
III.1	Χημική σύσταση και εποχιακή διακύμανση του αιθερίου ελαίου του Μάραθου	184
III.2	Μελέτη της επίδρασης της ξήρανσης με κατάψυξη στη σύσταση του αιθερίου ελαίου του μάραθου	190
III.3	Μελέτη της επίδρασης βιοπολυμερών διαλυμάτων και πηκτών στις απώλειες πτητικών συστατικών κατά την ξήρανση με κατάψυξη	195
	Συμπεράσματα-Προτάσεις	201
	Περίληψη	204
	Abstract	206
	Παράρτημα	
	Ορισμοί	208
	Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου δενδρολίβανου από	209

διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού	
Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου φασκόμηλου από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού	210
Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου μυρτιάς από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού	211
Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου σχίνου από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού	212
Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου του φυτού θρούμπι από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού	213
Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου θυμαριού από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού	214
Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου μάραθου από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού	215
ΦΑΣΜΑΤΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ	216-236
<i>Βιβλιογραφία</i>	237

Ευρετήριο Σχημάτων

	Σελίδες	
Σχήμα 1 :	Παραγωγή τερπενίων μέσω της φωτοσυνθετικής οδού (IPP: πυροφωσφορικό ισοπεντύλιο και DMPP: πυροφωσφορικό διμεθυλαλλύλιο)	3
Σχήμα 2:	Χημική δομή της rotundifolone	13
Σχήμα 3:	Μεβαλονικό οξύ	18
Σχήμα 4:	Βιοσύνθεση τερπενίων	18
Σχήμα 5 :	Βιοσύνθεση της d-καμφορά από το πυροφωσφορικό γερανύλιο	19
Σχήμα 6 :	Βιοσύνθεση τριτερπενίων και στεροειδών	20
Σχήμα 7:	Βιοσύνθεση των φαινυλοπροπανοειδών	22
Σχήμα 8:	Ποσοστό (%) συστατικών σε συνάρτηση με το χρόνο έκθεσης της ίνας (PDMS-100μm, Supelco) στην εκχύλιση αιθερίου ελαίου από το φυτό κέδρος με SPME	48
Σχήμα 9:	Αντίδραση 1: Αναγωγή ελεύθερης ρίζας DPPH από το αντιοξειδωτικό RH	57
Σχήμα 10:	Το τριπλό σημείο	62
Σχήμα 11 :	Σχηματική παρουσίαση ενός δικτύου πηκτής	67
Σχήμα 12:	Παράγοντες που επηρεάζουν την πήξη: (α) ο χρόνος και (β) η συγκέντρωση	68
Σχήμα 13:	Η δομή της αμυλόζης	69
Σχήμα 14 :	Η δομή της αμυλοπηκτίνης	69
Σχήμα 15 :	Χρωματογράφημα (TIC) συστατικών του αιθερίου ελαίου της ρίγανης που παραλήφθηκε με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης και προσδιορίστηκαν με GC/MS.	91
Σχήμα 16 :	Χρωματογράφημα (TIC) συστατικών του αιθερίου ελαίου της ρίγανης που απομονώθηκε με τη μέθοδο SPME και προσδιορίστηκαν με GC/MS.	92
Σχήμα 17:	Σύγκριση των ποσοστών των χημικών ομάδων που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο της ρίγανης και παραλήφθηκαν-απομονώθηκαν με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME αντίστοιχα και αναλύθηκαν σε GC-MS.	97

Σχήμα 18:	Διάγραμμα των συνολικών μέσων ποσοστών των συστατικών του αιθερίου ελαίου της ρίγανης, όπως εκτιμήθηκαν από τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME.	98
Σχήμα 19:	Διάγραμμα των μέσων όρων των τιμών των χημικών ομάδων που συνιστούν το άρωμα της ρίγανης και με τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME.	98
Σχήμα 20:	Χρωματογράφημα συστατικών του αιθερίου ελαίου του τσαγιού που παραλήφθηκε με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης και προσδιορίστηκαν με GC/MS.	100
Σχήμα 21:	Χρωματογράφημα συστατικών του αιθερίου ελαίου του τσαγιού που απομονώθηκε με τη μέθοδο SPME και προσδιορίστηκαν με GC/MS.	100
Σχήμα 22:	Σύγκριση των ποσοστών των χημικών ομάδων που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο του τσαγιού που παραλήφθηκαν-απομονώθηκαν με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME αντίστοιχα και αναλύθηκαν σε GC-MS.	105
Σχήμα 23:	Διάγραμμα των συνολικών μέσων ποσοστών των συστατικών του αιθερίου ελαίου του τσαγιού, όπως εκτιμήθηκαν από τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME.	106
Σχήμα 24:	Διάγραμμα των μέσων όρων των τιμών των χημικών ομάδων που συνιστούν το άρωμα του τσαγιού και με τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME.	106
Σχήμα 25:	Χρωματογράφημα συστατικών του αιθερίου ελαίου της μέντας που παραλήφθηκε με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης και προσδιορίστηκαν με GC/MS.	107
Σχήμα 26:	Χρωματογράφημα συστατικών του αιθερίου ελαίου της μέντας που απομονώθηκε με τη μέθοδο SPME και προσδιορίστηκαν με GC/MS.	107
Σχήμα 27:	Σύγκριση των ποσοστών των χημικών ομάδων που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο της μέντας. που παραλήφθηκαν-απομονώθηκαν με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME αντίστοιχα και αναλύθηκαν σε GC-MS.	111
Σχήμα 28:	Διάγραμμα των συνολικών μέσων ποσοστών των συστατικών του αιθερίου ελαίου της μέντας, όπως εκτιμήθηκαν από τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME.	112
Σχήμα 29:	Διάγραμμα των μέσων όρων των τιμών των χημικών ομάδων που συνιστούν το άρωμα της μέντας και με τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME.	112
Σχήμα 30:	Χρωματογράφημα συστατικών του αιθερίου ελαίου του δυόσμου που παραλήφθηκαν με την μέθοδο της υδροαπόσταξης και προσδιορίστηκαν με GC/MS.	113

Σχήμα 31:	Χρωματογράφημα συστατικών του αιθερίου ελαίου του δυόσμου που απομονώθηκαν με τη μέθοδο SPME και προσδιορίστηκαν με GC/MS.	113
Σχήμα 32:	Σύγκριση των ποσοστών των χημικών ομάδων που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο του δυόσμου που παραλήφθηκαν-απομονώθηκαν με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME αντίστοιχα και αναλύθηκαν σε GC-MS.	117
Σχήμα 33:	Διάγραμμα των συνολικών μέσων ποσοστών των συστατικών του αιθερίου ελαίου του δυόσμου, όπως εκτιμήθηκαν από τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME.	117
Σχήμα 34:	Διάγραμμα των μέσων όρων των τιμών των χημικών ομάδων που συνιστούν το άρωμα του δυόσμου και με τις δύο μεθόδους: υδροαπόσταξης και SPME	118
Σχήμα 35 :	Διάγραμμα (biplot) των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών των συστατικών του αιθερίου της μυρτιάς	121
Σχήμα 36:	Διακριτικές συναρτήσεις (D1 και D2) των χημικών ομάδων που διακρίνουν τις εποχές συλλογής της μυρτιάς. D1: α-πινένιο, λιναλοόλη, οξικός εστέρας της λιναλοόλης, οξικός εστέρας της μυρτενόλης, μυρτενόλη, λιμονένιο. D2: 1,8 κινεόλη.	121
Σχήμα 37:	Διάγραμμα (biplot) των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών των συστατικών του αιθερίου ελαίου του σχίνου.	130
Σχήμα 38:	Διακριτικές συναρτήσεις (D1 και D2) των χημικών ομάδων που διακρίνουν τις εποχές συλλογής του σχίνου. D1: μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες, οξυγονωμένα σεσκιτερπένια και σεσκιτερπενικοί υδρογονάνθρακες. D2: οξυγονωμένα μονοτερπένια.	131
Σχήμα 39:	Βιοσύνθεση θυμόλης – καρβακρόλης (1: γ-τερπινένιο, 2: p -κυμένιο, 3: θυμόλη, 4: καρβακρόλη, 5:τερπινεν-4-όλη. 6: p-κυμένιο-8-όλη, 7: κουμινλική αλκοόλη	140
Σχήμα 40:	Διάγραμμα (biplot) των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών των συστατικών του αιθερίου ελαίου του θυμαριού	141
Σχήμα 41:	Διακριτικές συναρτήσεις (D1 και D2) των τεσσάρων συστατικών του αιθερίου ελαίου του θυμαριού που διακρίνουν τις εποχές συλλογής του. D1: καρβακρόλη, γ-τερπινένιο, p-κυμένιο. D2: βορνεόλη.	142
Σχήμα 42:	Διάγραμμα (biplot) των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών των συστατικών του αιθερίου της θρούμπης	150
Σχήμα 43:	Διακριτικές συναρτήσεις (D1 και D2) των πέντε συστατικών του αιθερίου ελαίου της θρούμπης, που διακρίνουν τις εποχές συλλογής του φυτού. D1:θυμόλη, p-κυμένιο, γ-τερπινένιο, <i>trans</i> -καρυοφυλλένιο. D2: καρβακρόλη.	150

Σχήμα 44:	Βιοσύνθεση καμφοράς	158
Σχήμα 45:	Διάγραμμα (biplot) των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών των συστατικών του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου.	159
Σχήμα 46:	Διακριτικές συναρτήσεις (D1 και D2) των χημικών ομάδων που διακρίνουν τις εποχές συλλογής του φασκόμηλου. D1: οξυγονωμένα διτερπένια και οξυγονωμένα σεσκιτερπένια D2: οξυγονωμένα μονοτερπένια και μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες.	160
Σχήμα 47:	Διάγραμμα (biplot) των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών των συστατικών του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου.	169
Σχήμα 48:	Διακριτικές συναρτήσεις (D1 και D2) των χημικών ομάδων που διακρίνουν τις εποχές συλλογής του δενδρολίβανου. D1: οξυγονωμένα σεσκιτερπένια και σεσκιτερπενικοί υδρογονάνθρακες. D2: μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες και οξυγονωμένα μονοτερπένια.	170
Σχήμα 49:	Μέσοι όροι τιμών IC ₅₀ των αιθερίων των υπό εξέταση φυτών.	179
Σχήμα 50:	Τιμές IC ₅₀ του αιθερίου ελαίου των φυτών <i>Coridothymus capitatus</i> L. <i>Satureja thymbra</i> L. στα διάφορα στάδια ανάπτυξης.	180
Σχήμα 51:	Αντιοξειδωτική ικανότητα του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου (<i>S. fruticosa</i>) στα διάφορα στάδια ανάπτυξής του.	181
Σχήμα 52:	Συσχέτιση των τιμών IC ₅₀ με τα ποσοστά των κύριων ομάδων στο φασκόμηλο.	181
Σχήμα 53:	Αντιοξειδωτική ικανότητα του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου (<i>R. officinalis</i>) στα διάφορα στάδια ανάπτυξής του.	182
Σχήμα 54:	Συσχέτιση των τιμών IC ₅₀ με τα ποσοστά των κύριων ομάδων στο δενδρολίβανο.	183
Σχήμα 55:	Καμπύλη ξήρανσης του μαραθου(■) και η αντίστοιχη απόδοση σε αιθέριο έλαιο v/w(%)(□)	191
Σχήμα 56:	Πειραματική πορεία μελέτης της επίδρασης βιοπολυμερών στην συγκράτηση αιθερίων ελαίων με ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση.	196
Σχήμα 57:	Απώλειες της <i>trans</i> -ανηθόλης (■) και της ισοανηθόλης (□) με τη χρήση βιοπολυμερών διαλυμάτων (S, starch) ή πηκτών (G, gelatine) ως υλικά φραγμού.	199
Σχήμα 58:	Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου δενδρολίβανου από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού	
Σχήμα 59:	Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου φασκόμηλου από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού	

- Σχήμα 60:** Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου μυρτιάς από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού
- Σχήμα 61:** Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου σχίνου από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού
- Σχήμα 62:** Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου του φυτού θρούμπι από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού
- Σχήμα 63:** Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου θυμαριού από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού
- Σχήμα 64:** Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου μάραθου από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού

Ευρετήριο Πινάκων

	Σελίδες
Πίνακας 1: Σύσταση αιθερίου ελαίου θυμαριού από τον Ελλαδικό χώρο	6
Πίνακας 2: Χημειότυποι του είδους <i>Foeniculum vulgare</i> ssp. <i>capillaceum</i> (ή <i>vulgare</i>)	13
Πίνακας 3: Συνοπτική παρουσίαση σύγχρονων μεθόδων προετοιμασίας δείγματος πτητικών συστατικών αιθερίων ελαίων	
Πίνακας 4: Τύποι ίνας που χρησιμοποιούνται στην τεχνική SPME	
Πίνακας 5: Εφαρμογές της SPME στην απομόνωση αιθερίων ελαίων αρωματικών φυτών	49
Πίνακας 6: Φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα της μελέτης της εποχικής διακύμανσης της σύστασης αιθερίων ελαίων	74
Πίνακας 7 : Φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα της μελέτης επίδρασης της μεθόδου παραλαβής- απομόνωσης.	75
Πίνακας 8: Πρότυπες ουσίες	76
Πίνακας 9: Ποσότητα φυτών που χρησιμοποιήθηκε για τη μέθοδο SPME.	79
Πίνακας 10: Σύσταση (%) του αιθερίου ελαίου της ρίγανης (<i>Origanum vulgare</i>) που παραλήφθηκε-απομονώθηκε με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME, αντίστοιχα, και προσδιορίστηκε με GC/MS	92
Πίνακας 11: Σύσταση (%) του αιθερίου ελαίου του τσαγιού του βουνού (<i>Sideritis</i> spp.) που παραλήφθηκε-απομονώθηκε με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME, αντίστοιχα, και προσδιορίστηκε με GC/MS.	101
Πίνακας 12: Σύσταση (%) του αιθερίου ελαίου της μέντας (<i>Mentha</i> spp.) που παραλήφθηκε-απομονώθηκε με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME, αντίστοιχα, και προσδιορίστηκε με GC/MS.	108
Πίνακας 13 : Σύσταση (%) του αιθερίου ελαίου του δυόσμου (<i>Mentha</i> spp.) που παραλήφθηκε-απομονώθηκε με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME, αντίστοιχα, και προσδιορίστηκε με GC/MS	114
Πίνακας 14: Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του μυρτιάς (<i>Myrtus communis</i> L.). Ανάλυση με GC-MS.	123
Πίνακας 15: Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του Σχίνου (<i>Pistacia lentiscus</i> L.). Ανάλυση με GC-MS.	132

Πίνακας 16:	Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του θυμαριού (<i>Coridothymus capitatus</i> L.). Ανάλυση με GC-MS.	143
Πίνακας 17:	Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του φυτού θρούμπι (<i>Satureja thymbra</i> L.). Ανάλυση με GC-MS.	152
Πίνακας 18:	Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου (<i>Salvia fruticosa</i> L.). Ανάλυση με GC-MS.	162
Πίνακας 19:	Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.). Ανάλυση με GC-MS.	172
Πίνακας 20:	Τιμές IC ₅₀ προτύπων ουσιών.	177
Πίνακας 21:	Η απόδοση σε αιθέριο έλαιο ανά εποχή συλλογής του μάραθου (συλλογή 2005).	184
Πίνακας 22:	Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του μάραθου (<i>Foeniculum vulgare</i> L.). Ανάλυση με GC-MS.	186
Πίνακας 23:	Αρχική υγρασία των δειγμάτων του μάραθου.	190
Πίνακας 24 :	Ποσοτικός προσδιορισμός των κύριων συστατικών του αιθερίου ελαίου του μάραθου (με τη χρήση εσωτερικού προτύπου και ανάλυση σε GC-FID) (φυτικό υλικό: φρέσκο, αφυδατωμένο με ξήρανση με ρεύμα θερμού αέρα και αφυδατωμένο με ξήρανση με λυοφιλίωση).	192
Πίνακας 25:	Συγκέντρωση σε ppm της ισοανηθόλης και της <i>trans</i> -ανηθόλης στο αιθέριο έλαιο του μάραθου με τη χρήση υλικών φραγμού.	197
Πίνακας 26 :	Συγκέντρωση σε ppm της ισοανηθόλης και της <i>trans</i> -ανηθόλης στο αιθέριο έλαιο του μάραθου που διέφυγε κατά την ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση και τη χρήση υλικών φραγμού.	198

Ευρετήριο Εικόνων

	Σελίδες	
Εικόνα 1:	Ανθισμένο φυτό δενδρολίβανου	2
Εικόνα 2:	Φυτό φασκόμηλου, περιοχή Αγαλά Ζακύνθου, Αύγουστος 2005	4
Εικόνα 3:	Φυτό θυμαριού, περιοχή Ρόξα Ζακύνθου, Αύγουστος 2005	5
Εικόνα 4:	Φυτό θρούμπης, περιοχή Ρόξα Ζακύνθου, Αύγουστος 2005	7
Εικόνα 5:	Τσάι του βουνού	9
Εικόνα 6.1:	Ταξιανθία μέντας	10
Εικόνα 6.2:	Φυτό μέντας	10
Εικόνα 7.1:	Φυτό δυόσμου	11
Εικόνα 7.2:	Φύλλα δυόσμου	11
Εικόνα 8:	Ταξιανθία μάραθου	12
Εικόνα 9 :	Κλάδος με άνθος μυρτιάς	14
Εικόνα 10:	Σχίνος, περιοχή Κοιλιωμένος, Ζακύνθου, Αύγουστος 2005	15
Εικόνα 11:	Συσκευή Clevenger για την παραλαβή αιθερίων ελαίων από αρωματικά φυτά.	44
Εικόνα 12:	Συσκευή SPME και διαδικασία απομόνωσης.	46
Εικόνα 13:	Συσκευή Αέρια χρωματογραφίας – Φασματοσκοπία μάζας (GC-MS)	50
Εικόνα 14:	Διάγραμμα ενός τυπικού αεριοχρωματογράφου τριχοειδούς στήλης συζευγμένου με φασματογράφο μάζας	51
Εικόνα 15:	Τετραπολικό φασματόμετρο μαζών	15
Εικόνα 16:	Η ιδεατή συμπεριφορά ενός υλικού φραγμού	65
Εικόνα 17:	Μέθοδος SPME	79
Εικόνα 18:	Εισαγωγή στον αέριο χρωματογράφο	80
Εικόνα 19:	Συσκευή Clevenger που χρησιμοποιήθηκε για την παραλαβή αιθερίων ελαίων από τα αρωματικά φυτά	83

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

I. Αρωματικά φυτικά είδη

Η ομάδα των αγγειωδών φυτικών ειδών περιλαμβάνει περίπου 350.000 διαφορετικά είδη, με τα αρωματικά φυτά να αποτελούν μια σχετικά μικρή ομάδα αποτελούμενη από 18.000 είδη. Πολλά από τα αρωματικά φυτά χαρακτηρίζονται και ως φαρμακευτικά, διότι περιέχουν ουσίες με αποδεδειγμένες θεραπευτικές ιδιότητες. Κοινό χαρακτηριστικό των αρωματικών φυτών είναι ότι τα διάφορα φυτικά μέρη τους (φύλλα, άνθη, κλπ.) περιέχουν αιθέρια έλαια, τα οποία τους προσδίδουν χαρακτηριστική οσμή. Τα αιθέρια έλαια μπορεί να εμφανίζονται σε όλα τα όργανα των φυτών (βλαστό, ρίζα, φύλλα, άνθη, καρπούς). (Σκουμπρής, 1985). Η χημική σύσταση των αιθέριων ελαίων μπορεί να διαφέρει στα επιμέρους όργανα του ίδιου φυτού π.χ. στην κανέλα το αιθέριο έλαιο των φύλλων περιέχει 50-80% ευγενόλη, ενώ αντίθετα του φλοιού περιέχει μεγάλη ποσότητα κινναμωμικής αλδεϋδης (Φοίτος, 1984).

Οι εδαφοκλιματικές συνθήκες της Ελλάδας ευνοούν ιδιαίτερα την ανάπτυξη αρωματικών φυτών και μάλιστα εξαιρετικής ποιότητας. Η ελληνική χλωρίδα είναι πλουσιότατη σε είδη, περιλαμβάνοντας ένα πολύ σημαντικό αριθμό σπάνιων ειδών, που απαντώνται αποκλειστικά μόνο στον ελλαδικό χώρο. Έτσι, εμφανίζονται στην Ελλάδα ως αυτοφυή είδη, ορισμένα από τα πλέον εξαιρετικά μπαχαρικά, βότανα και αρωματικά φυτά στον κόσμο, όπως η ρίγανη, το θυμάρι, το τσάι του βουνού και άλλα. Εντούτοις, η συλλογή αυτοφυών φυτών παρουσιάζει αρκετά προβλήματα, όπως δυσκολία ανεύρεσης των φυτών, ανομοιογένεια υλικού, αδυναμία έγκαιρου προσδιορισμού της ποσότητας του προϊόντος, δυσκολίες διατήρησης και επιτόπου μεταποίησης του προϊόντος καθώς και δυσκολία ανεύρεσης εργατικού δυναμικού (Πρόγραμμα: *Επενδυτικές Δυνατότητες*, 2003). Ταυτόχρονα, δημιουργεί προβλήματα στην μακροχρόνια επιβίωση των αρωματικών φυτών.

Η πλειονότητα των ελληνικών αρωματικών φυτών ανήκει στις οικογένειες Apiaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Pinaceae, από τις οποίες πιο ενδιαφέρουσα μπορεί να θεωρηθεί αυτή των Lamiaceae (ή αλλιώς Labiatae). Η οικογένεια των Lamiaceae περιλαμβάνει 320 είδη στην Ελλάδα και πολλά μέλη της παράγουν αιθέρια έλαια. Αντιπροσωπεύονται σε όλους τους τύπους βλάστησης σε κλιματικά διαφορετικές περιοχές ενώ πολλά από αυτά είναι ενδημικά (Kokkini et al., 1994).

I.1 Ταξινομικές μονάδες

Η έννοια του είδους στα φυτά αποτελεί τη θεμελιώδη μονάδα βιολογικής ταξινόμησης, βάσει της οποίας όλες οι άλλες βαθμίδες, ανώτερες ή κατώτερες του είδους γίνονται καταληπτές. Το είδος αναφέρεται σε περιορισμένο σύνολο ατόμων, που

χαρακτηρίζεται από κοινά, σταθερά και κληρονομήσιμα γνωρίσματα. Οι μεγαλύτερες από το είδος ταξινομικές μονάδες είναι οι εξής : Το **γένος** το οποίο περιλαμβάνει ένα ή περισσότερα είδη, η **οικογένεια**, η οποία περιλαμβάνει ένα ή περισσότερα γένη, η **τάξη** η οποία περιλαμβάνει μία ή περισσότερες οικογένειες, η **κλάση**, η οποία περιλαμβάνει μία ή περισσότερες τάξεις και το **άθροισμα** (φύλο ή διαίρεση), το οποίο περιλαμβάνει μία ή περισσότερες κλάσεις. Αλλά και εντός του είδους έχουμε το **υποείδος**, την **ποικιλία** και τη **μορφή** ([Φοίτος, 1984](#)).

I.2 Οικογένεια *Labiatae* (*Lamiaceae*, Χειλανθή ή Χειλοστέφανα)

Στην Οικογένεια αυτή ανήκουν φυτά μονοετή ή πολυετή, με τετράγωνο βλαστό, ποώδη, θαμνώδη ή ημιθαμνώδη, με αρωματικά φύλλα, σπάνια δέντρα ή αναρριχώμενα. Τα φύλλα των χειλανθών είναι συνήθως απλά, αντίθετα και σταυροειδώς τοποθετημένα ή κατά σπονδύλους, χωρίς παράφυλλα, πλούσια σε αδένες που εκκρίνουν αιθέριο έλαιο. Στην οικογένεια των Χειλανθών ταξινομούνται 200 γένη με 3.200 περίπου είδη που εξαπλώνονται παγκοσμίως (Αυστραλία, ΝΔ. Ασία, Αφρική, Ευρώπη και Ν. Αμερική) με επίκεντρο την περιοχή της Μεσογείου. Αντιπροσωπευτικά γένη για την Ελλάδα είναι τα *Teucrium*, *Mentha*, *Rosmarinus*, *Salvia*, *Sideritis*, *Satureja*, *Thymus*, *Origanum* κ.ά. ([Στεφανάκη-Νικηφοράκη, 1999](#)).

I.2.1 *Rosmarinus officinalis* L. (κ. δενδρολίβανο, αρισμαρής, rosmary)



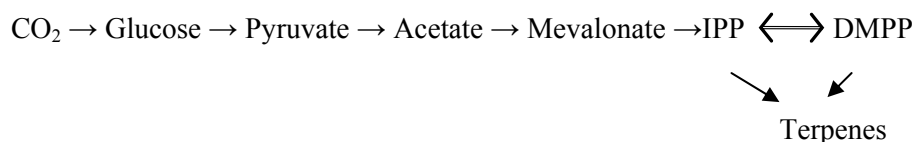
Εικόνα 1: Ανθισμένο φυτό δενδρολίβανου

Το είδος *Rosmarinus officinalis*, κοινώς δενδρολίβανο, ανήκει στην οικογένεια Lamiaceae και είναι πολυετής θάμνος. Ο βλαστός του είναι ορθόκλαδος, τετραγωνικός, πολύκλαδος και πυκνόφυλλος. Το ύψος φτάνει τα 0,5-1,2m. Τα φύλλα του είναι δερματώδη,

γραμμοειδή και άμισχα. Τα άνθη είναι λευκά, ρόδινα ή ελαφρώς γαλαζωπά και φύονται πολλά μαζί στις μασχάλες των φύλλων και ανθίζουν κυρίως τον Απρίλιο με Μάιο. Καλλιεργείται σε κήπους και απαντάται αυτοφυές και ημιαυτοφυές σε ξηρές και πετρώδεις περιοχές της Ν. Ελλάδας. Είναι γηγενές στην περιοχή της Μεσογείου. Καλλιεργείται για εμπορικούς σκοπούς στη Νότια Ευρώπη. Το φυτό βρίσκεται σε όλη την Ελλάδα, καλλιεργούμενο σε κήπους και σε πάρκα. Υπάρχει ως αυτοφυές σε ορεινές περιοχές κυρίως της Πελοποννήσου, της Εύβοιας και σε διάφορα νησιά. Στην Ζάκυνθο φύτευται στην περιοχή του Λαγανά και του Φάρου Κερίου. Συγκεκριμένα το φυτό που μελετήθηκε στην παρούσα διατριβή συλλέχθηκε από την περιοχή του Λαγανά.

Η απόδοση του φυτού *Rosmarinus* (φύλλα και άνθη) σε αιθέριο έλαιο κυμαίνεται μεταξύ 1,3-3,1% (Vokou & Margaritis, 1986; Papageorgiou et al., 2008) τα κύρια συστατικά του οποίου είναι το λιμονένιο και η 1,8 κινεόλη.

Το αιθέριο έλαιο του δενδρολίβανου χαρακτηρίζεται γενικά από ουσίες που ανήκουν στις ομάδες των αιθέρων και αλκοολών. Η συγκέντρωση του αιθερίου ελαίου δεν παρουσιάζει διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια του έτους και εμφανίζει υψηλές τιμές ακόμα και κατά τους χειμερινούς μήνες. Το γεγονός αυτό μπορεί να εξηγηθεί από τη χαμηλή φωτοσυνθετική ικανότητα του φυτού η οποία όμως παραμένει σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, με αποτέλεσμα τη σταθερή παραγωγή αιθερίου ελαίου (Σχήμα 1). Σημαντικό επίσης είναι ότι η συγκέντρωση αιθερίου ελαίου στα φύλλα είναι υψηλότερη από ότι στα άνθη (Vokou & Margaritis, 1986).



Σχήμα 1: Παραγωγή τερπενίων μέσω της φωτοσυνθετικής οδού (IPP: πυροφωσφορικό ισοπεντύλιο και DMPP: πυροφωσφορικό διμεθυλ-αλλύλιο)

1.2.2 *Salvia fruticosa* Miller (Syn.: *S. triloba* L. fil.) (κ. φασκομηλιά ή ελληνικό φασκόμηλο, greek sage)



Εικόνα 2: Φυτό φασκόμηλου, περιοχή Αγαλά Ζακύνθου, Αύγουστος 2005

Το είδος *Salvia fruticosa*, κοινώς φασκόμηλο, είναι θαμνώδες φυτό με χνοώδη φύλλα και ιώδη άνθη, ανήκει στα αγγειόσπερμα δικότυλα φυτά, στην τάξη Λαμιώδη (Lamiales), και την οικογένεια των Λαμίδων ή Χειλανθών (Lamiaceae ή Labiatae). Το όνομα του γένους *Salvia* προέρχεται από το λατινικό ρήμα *salvare* (=σώζω ζωές).

Είναι φυτό θαμνώδες, πολυετές και αυτοφυές, ιδιαίτερα διαδεδομένο σε μεσογειακού τύπου οικοσυστήματα, στην νότια Ελλάδα και σε νησιά του Αιγαίου και του Ιονίου, σε υψόμετρο από 0-1350m (Hanlidou et al., 1998). Στην Ελλάδα υπάρχουν πλέον των 24 ειδών *Salvia* (Pappa, 2001).

Φύεται κυρίως σε ξηρά, ηλιόλουστα και βραχώδη άγονα μέρη. Πρόκειται για πολυετές φυτό με πολλούς κλάδους έως 50 cm ύψος ή περισσότερο, ξυλώδες στη βάση του με μαλακούς βλαστούς. Τα φύλλα του είναι επιμήκη, οξύληκτα, χνοώδη και γκριζοπράσινα. Κάθε χειμώνα εμφανίζει νέους μαλακούς βλαστούς, ενώ στο τέλος της άνοιξης εμφανίζονται τα άνθη με χρώμα αχνιώδες. Το αυτοφυές φασκόμηλο συλλέγεται από την εποχή της ανθοφορίας (Μάιος – Ιούνιος) μέχρι και το Σεπτέμβριο. Η καλύτερη πάντως εποχή για τη συλλογή του, είναι όταν βρίσκεται στο στάδιο της πλήρους άνθησης. Όλα τα είδη του φασκόμηλου πολλαπλασιάζονται με σπέρματα, παραφυάδες ή μοσχεύματα.

Τα φύλλα με τη μορφή αφεψήματος χρησιμοποιούνται ως αντιδιαβητικό καθώς επίσης και στη θεραπεία του πονόδοντου και των εντερικών διαταραχών (Kokkini et al., 2003). Σε αρκετούς θάμνους φασκόμηλου σχηματίζονται σκληρά, χνοώδη σφαιρίδια, οφειλόμενα σε προσβολή εντόμων. Επειδή αυτά μοιάζουν με καρπούς, αποκαλούνται «μήλα της φασκομηλιάς», απ' όπου το φυτό πήρε και το όνομά του.

Η συγκέντρωση του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου είναι μικρότερη κατά τους χειμερινούς μήνες συγκριτικά με τους καλοκαιρινούς (Pappa, 2001). Κύρια συστατικά του είναι η 1,8 κινεόλη ακολουθούμενη από την καμφορά, την α -θουγιόνη, β -θουγιόνη και το *trans*-καρνοφυλλένιο. Επιπλέον της ομάδας των οξυγονωμένων μονοτερπενίων, το αιθέριο

έλαιο του φυτού περιέχει και συστατικά της ομάδας των σесκιτερπενίων και διτερπενίων (*Pitarokili et al., 2003; Perry et al 1996*).

I.2.3 *Coridothymus capitatus* Reinchenb. fil. (Syn.: *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns & Link, κ. θυμάρι).



Εικόνα 3: Φυτό θυμαριού, περιοχή Ρόξα Ζακύνθου, Αύγουστος 2005

Το είδος *Coridothymus capitatus*, κοινώς θυμάρι, είναι πολυετής θάμνος ύψους έως 50 cm, με έντονη οσμή ρίγανης (*Στεφανάκη-Νικηφοράκη, 1999*). Έχει δυνατό βλαστό, όρθιο, τετραγωνικό και με βραχύ τρίχωμα. Τα φύλλα είναι μικρά, γραμμοειδή και άμισχα, μήκους 1-10 mm. Τα άνθη είναι μικρά και ροδόχρωμα και διατάσσονται σε επάκριους, πυκνούς στάχεις μήκους 4-16 mm. Αυτοφύεται σε λιβάδια και χέρσα μέρη των Μεσογειακών χωρών, ανάμεσα σε φρύγανα και θαμνώνες, σε χαμηλά και μέσα υψόμετρα (από το επίπεδο της θάλασσας έως 600 -1400m). Το θυμάρι φύεται σ' όλες τις περιοχές της Ελλάδας εκτός από το βόρειο τμήμα της χώρας. Σε μεγάλα υψόμετρα απαντάται μόνο σε περιοχές της Κρήτης (*Kokkini and Vokou, 1989*). Η άνθηση αρχίζει από το Μάιο μέχρι και τον Ιούλιο. Ευδοκιμεί τόσο σε θερμές όσο και ψυχρές περιοχές, με προτίμηση τις χαμηλού υψόμετρου ή ημιορεινές. Αναπτύσσεται καλά σε ξηρικές εκτάσεις, ενώ σε ποτιστικές δίνει μεγαλύτερη παραγωγή, αλλά κατώτερης ποιότητας προϊόν. Ως προς το έδαφος δεν έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις, ενώ τα καλύτερα θεωρούνται τα μέσης συστάσης, ασβεστούχα και χαλκώδη εδάφη. Ακατάλληλα εδάφη θεωρούνται εκείνα που έχουν πολύ υγρασία. Το φυτό δεν πρέπει να ξεριζώνεται για τη λήψη του προϊόντος, γιατί συγκρατεί το επιφανειακό έδαφος και ελαττώνει τη διάβρωσή του.

Είναι πολύτιμο μελισσοκομικό φυτό, ενώ στο φλοιό της ρίζας του αποδίδονται φαρμακευτικές ιδιότητες.

Με το όνομα θυμάρι (Thyme) αναφέρονται τα περίπου 350 είδη του γένους *Thymus*, τα οποία απαντώνται στην Ευρώπη, τη Β. Αφρική και την Ασία. Στον ελλαδικό χώρο υπάρχουν περίπου 31 αυτοφυή είδη του γένους *Thymus*, ορισμένα από τα οποία είναι ενδημικά. Σήμερα, το γενικώς αποδεκτό λατινικό όνομα του φυτού είναι *Coridothymus capitatus* (ισπανική ρίγανη), μπορεί όμως να διακινείται στο εμπόριο ως “ρίγανη” καθώς έχει παρόμοια οσμή με αυτή και η οποία οφείλεται στην παρουσία της καρβακρόλης στο αιθέριο έλαιό του (*Δαφερέρα, 2006*).

Η σύσταση του αιθερίου ελαίου του θυμαριού από διάφορες περιοχές της Ελλάδας έχει μελετηθεί όπως φαίνεται στον **Πίνακα 1**.

Πίνακας 1 : Σύσταση αιθερίου ελαίου θυμαριού από τον Ελλαδικό χώρο

Περιοχή συλλογής	Περίοδος συλλογής	Περιεκτικότητα σε καρβακρόλη (%)	Περιεκτικότητα σε θυμόλη (%)
Εύβοια (<i>Lagouri et al., 1993</i>)	Ανθοφορία (υπέργειο τμήμα)	82,3	0,3
Κρήτη (<i>Skoula and Grayer, 2005</i>)	Καλοκαίρι (καρποφορία)	5-63	0,4-34
Πελοπόννησος (Ταΰγετος) (<i>Karousou et al., 2005</i>)	Ανθοφορία (υπέργειο τμήμα)	81,46	1,46

Στη διεθνή βιβλιογραφία έχουν καταγραφεί τρεις διαφορετικοί χημειότυποι για το φυτό (βλέπε ορισμό χημειότυπου στο Παράρτημα) ανάλογα με την επικρατούσα φαινόλη. Στην πρώτη ομάδα ανήκουν αιθέρια έλαια που χαρακτηρίζονται από υψηλή συγκέντρωση καρβακρόλης, στη δεύτερη εκείνα που χαρακτηρίζονται από υψηλή συγκέντρωση θυμόλης αντίστοιχα, ενώ στην τρίτη ομάδα τα αιθέρια έλαια που περιέχουν θυμόλη-καρβακρόλη σε αναλογία 1:2 (*Fleisher et al. 1984*).

Η εποχιακή διακύμανση της σύστασης του αιθερίου ελαίου του θυμαριού έχει επίσης μελετηθεί από τους *Hedhili et al. 2002*, σε μηνιαία βάση, από τον Ιανουάριο έως το Δεκέμβριο του 1998. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η συγκέντρωση των συστατικών του αιθερίου ελαίου μεταβάλλεται με το στάδιο ανάπτυξης του φυτού, με την περίοδο της καρποφορίας (Αύγουστος) να αποτελεί το στάδιο με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση καρβακρόλης (71,8%). Το ποσοστό της καρβακρόλης κυμάνθηκε από 38,3-71,8%, ενώ μεγάλες διακυμάνσεις παρατηρήθηκαν και στη συγκέντρωση του *p*-κυμενίου, αντίστροφα από αυτές της καρβακρόλης.

1.2.4 *Satureja thymbra* L.(κ. θρούμπι)



Εικόνα 4: Φυτό θρούμπης, περιοχή Ρόξα Ζακύνθου, Αύγουστος 2005

Το είδος *Satureja thymbra*, κοινώς θρούμπι, είναι φυτό ημιξυλώδες με θυσανώδη μορφή και μικρά επιμήκη φύλλα, με βραχύ τρίχωμα και έντονη οσμή. Το ύψος του φθάνει τα 20-30 cm. Δημιουργεί συστάδες που ανήκουν στα φρύγανα και είναι αυτοφυές σε άγονες ξηρές περιοχές. Πολύτιμο στη μελισσοκομία.

Τόσο στο θυμάρι όσο και στο θρούμπι τα άνθη περιέχουν επίσης ποσότητα αιθερίου ελαίου όπως και τα φύλλα. Και τα δύο φυτά παρουσιάζουν το φαινόμενο του εποχικού διμορφισμού, προκειμένου να αντιμετωπίσουν τις υψηλές θερμοκρασίες που επικρατούν κατά τους καλοκαιρινούς μήνες. Στο τέλος της άνοιξης αλλάζουν τα χειμερινά μεγάλα φύλλα τους με μικρότερα (*Vokou & Margaris, 1986*). Η υψηλότερη παραγωγή αιθερίου ελαίου παρατηρείται πριν το καλοκαίρι, τόσο από τα χειμερινά όσο και από τα θερινά φύλλα. Οι *Vokou, & Margaris (1986)*, επιπλέον διαπίστωσαν ότι και στα δύο φυτά η συγκέντρωση του αιθερίου ελαίου εμφανίζει μία περιοδικότητα με τις χαμηλότερες τιμές να εμφανίζονται τον Ιανουάριο –Φεβρουάριο και τις υψηλότερες τον Ιούνιο λίγο μετά την ανθοφορία αντίστοιχα. Φαίνεται ότι η παραγωγή αιθερίου ελαίου στα φύλλα συμπίπτει με την περίοδο ανάπτυξης του φυτού, όσο προχωρά προς την ανθοφορία και μετά την καρποφορία. Και οι δύο πορείες σχετίζονται με τις υψηλές θερμοκρασίες του καλοκαιριού.

Το φυτό *S. thymbra* έχει μελετηθεί εκτενώς από ερευνητές στην Ελλάδα (*Kokkini et al., 1989; Karpouhtsis. et al., 1989*) όπως και σε άλλες χώρες της Μεσογείου (*Soković et al.*

2002; Vokou and Margaris, 1986). Οι Kokkini and Vokou (1989), βρήκαν ότι το αιθέριο έλαιο του φυτού χαρακτηρίζεται κυρίως από υψηλά ποσοστά θυμόλης και πολύ μικρά ποσοστά καρβακρόλης και ότι το άθροισμα των δύο φαινολών (θυμόλης και καρβακρόλης) έχουν μικρότερη συγκέντρωση από αυτήν των δύο μονοτερπικών υδρογονανθράκων *p*-κυμένιο και *γ*-τερπινένιο. Υψηλά ποσοστά θυμόλης έχουν βρεθεί επίσης για το ίδιο φυτό από περιοχές στη Σαρδηνία, το Ισραήλ και την Τουρκία (Capone et al. 1988; Fleisher & Fleisher, 2005; Müller-Riebau, 1997). Ειδικότερα στα δείγματα από τη Σαρδηνία παρατηρήθηκε επιπλέον υψηλό ποσοστό *trans*-καρνοφυλλενίου (2,52-7,27%). Μελετώντας την εποχική διακύμανση των συστατικών του αιθερίου ελαίου του φυτού βρέθηκε (Müller-Riebau, 1997) ότι τόσο η συγκέντρωση του αιθερίου ελαίου στο φυτό όσο και η περιεκτικότητα του ελαίου σε φαινόλες είναι χαμηλότερη την άνοιξη και υψηλότερη τον Ιούνιο –Ιούλιο.

Στο δεύτερο μέρος της παρούσας διδακτορικής διατριβής χρησιμοποιείται το φυτό *Origanum vulgare* ssp. *hirtum*, για τη μελέτη της επίδρασης της μεθόδου παραλαβής-απομόνωσης στη σύσταση του αιθερίου ελαίου του φυτού. Επιπλέον και για λόγους σύγκρισης με το είδος *Satureja thymbra*, παρατίθενται σχετικές πληροφορίες για το φυτό *Origanum vulgare* ssp. *hirtum*, που είναι γνωστό ως ελληνική ρίγανη, και ανήκει επίσης στην οικογένεια Labiatae. Το αιθέριο έλαιο του φυτού *Origanum vulgare*, χαρακτηρίζεται επίσης από την παρουσία των φαινολών θυμόλης και καρβακρόλης καθώς και των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων *γ*-τερπινένιου και *p*-κυμένιου. Από σχετική μελέτη βρέθηκαν μεγάλες διακυμάνσεις στη σύσταση του αιθερίου ελαίου ανάλογα με την περιοχή, αλλά δεν προέκυψε συσχέτιση μεταξύ της απόδοσης σε αιθέριο έλαιο του φυτού και των περιεχόμενων ποσοτήτων θυμόλης, καρβακρόλης, *γ*-τερπινένιου και *p*-κυμένιου. Η απόδοση σε αιθέριο έλαιο είναι υψηλότερη σε χαμηλά υψόμετρα και αυξάνεται κατά τους θερινούς μήνες (summer thermal efficiency). Παρομοίως και οι συγκεντρώσεις των τεσσάρων κύριων συστατικών αυξάνουν αυξανόμενης της θερμοκρασίας (Vokou et al., 1993). Από την ίδια μελέτη προέκυψε ότι οι περιβαλλοντικές συνθήκες επηρεάζουν το άθροισμα των τεσσάρων κύριων συστατικών περισσότερο παρά τη σχετική αναλογία των φαινολών. Επιπλέον υποστηρίζεται ότι η διάκριση σε χημειότυπους (βλέπε ορισμό στο Παράρτημα) θα πρέπει να γίνεται με βάση την ύπαρξη των βιοσυνθετικών μονοπατιών που οδηγούν στην παραγωγή συγκεκριμένων συστατικών και όχι στη συγκέντρωση των συστατικών αυτών (Vokou et al., 1993).

I.3 *Sideritis* spp.(κ. τσάι του βουνού)



Εικόνα 5: Τσάι του βουνού

Το Ελληνικό τσάι του βουνού είναι πολυετές φυτό, ανήκει στην οικογένεια των χειλανθών (Lamiaceae) και στο γένος *Sideritis*. Αυτοφύεται, σχεδόν αποκλειστικά στις ορεινές περιοχές της Ελλάδας και περιλαμβάνει τα είδη: *Sideritis athoa* Papanikolaou & Kokkini (τσάι βλάχικο, αυτοφύεται στον Άθω, την Πίνδο και στα ορεινά της Σαμοθράκης), *Sideritis cladestina* Chaub. & Bory (τσάι του Μαλεβού ή του Ταϋγέτου, αυτοφύεται στα όρη του Πάρνωνα, του Ταϋγέτου και της Κυλλήνης), *Sideritis scardica* Griseb. (τσάι του Ολύμπου, αυτοφύεται στον Όλυμπο, τον Κίσαβο και το Πήλιο) *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. (τσάι του Παρνασσού, αυτοφύεται σε Παρνασσό και σε όρη της Αιτωλίας, Δωρίδας και Φθιώτιδας), *Sideritis syriaca* L. (τσάι της Κρήτης γνωστό ως μαλοτήρα ή καλοκοιμηθιά, αυτοφύεται κυρίως στα Λευκά Όρη και τον Ψηλορείτη) και *Sideritis euboea* Heldr. (αυτοφύεται στη Δίρφυ) (Γκόλιαρης, 1999).

Το φυτό είναι πολυετής πόα, ύψους μέχρι 50cm. Έχει βλαστό ισχυρό, τετράγωνο, όρθιο, απλό, που καλύπτεται με πυκνό, λευκό τρίχωμα. Τα φύλλα του έχουν χρώμα λευκοπράσινο και καλύπτονται επίσης με πυκνό τρίχωμα.

Η σύσταση του αιθερίου ελαίου των ειδών *Sideritis* χαρακτηρίζεται κυρίως από την παρουσία των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων: α -πινένιο και β -πινένιο (Kirimer et al., 2004; Ozean et al., 2001).

1.4 *Mentha* spp. (κ.μέντα)



Εικόνα 6.1: Ταξιανθία μέντας



Εικόνα 6.2: Φυτό μέντας

Η μέντα είναι ποώδες αρωματικό φυτό του γένους *Mentha* της οικογένειας των Χειλανθών (Labiatae) και φύεται κυρίως σε εύκρατες περιοχές. Έχει άνθη εύοσμα, λευκά ή ιώδη που ενώνονται σε ταξιανθία. Είναι φαρμακευτικό φυτό και χρησιμοποιείται για την ατονία ή θεραπεία διαταραχών του πεπτικού συστήματος, ως τονωτικό της καρδιάς και του νευρικού συστήματος, ως αντιβακτηριακό και για τον αρωματισμό της στοματικής κοιλότητας (οδοντόκρεμες) (Agnihotri et al., 2005). Τέλος, βρίσκει χρήση στη μαγειρική ως καρύκευμα, καθώς και ως αφέψημα. Το αιθέριο έλαιο είναι χρησιμοποιείται για υποδεέστερα προϊόντα αρωματοποιίας και σαπωνοποιίας. Η ελληνική γλωρίδα περιλαμβάνει διάφορα είδη μέντας, όπως: μέντα η πράσινη (*Mentha viridis*, δυόσμος), μέντα η πιπερώδης (*Mentha piperita*) και μέντα η πουλέγιος (*Mentha pulegium*) .

Η **μέντα η πουλέγιος** (*Mentha pulegium*) είναι γνωστή με την κοινή ονομασία φλησκούνι, βληχώνι, φλεσκούνι ή βληχούνι και χρησιμοποιείται κυρίως ως αρωματικό φαγητών (άρτυμα). Είναι πολυετές φυτό, με όρθιο ή πλάγιο βλαστό, λίγο τριχωτό ή σχεδόν λείο και πρασινωπό. Τα φύλλα του είναι μικρά, ωοειδή ή προμήκη με μικρό μίσχο. Τα άνθη του βρίσκονται σε μασχαλιαίους σπονδύλους, με χρώμα ρόδινο ή ιώδες. Η άνθηση αρχίζει τον Ιούνιο και διαρκεί μέχρι και τον Οκτώβριο (<http://el.wikipedia.org/>).

Το αιθέριο έλαιο φυτών από πολλές περιοχές στον κόσμο: Κούβα, Χιλή, Ανγκόλα, Ιταλία, Αυστρία, Μαρόκο, Ιαπωνία κ.ά., έχει μελετηθεί και έχει διαπιστωθεί ότι η χημική του σύσταση παρουσιάζει μεγάλες ποσοτικές όσο και ποιοτικές διαφορές (Agnihotri. et al.,

2005). Τα κύρια συστατικά του ελαίου ανήκουν στην κατηγορία των οξυγονωμένων μονοτερπενίων της ομάδας του π -μενθανικού δακτυλίου και διακρίνονται από τη θέση του οξυγόνου στο δακτύλιο σε C-3 (πουλεγόνη, μενθόνη, οι παράγωγές τους αλκοόλες και εστέρες, πιπεριτενόνη, πιπεριτόνη και τα εποξείδια τους) και C-6 (καρβόνη και τα παραγωγά της) (Karousou et al., 1998).

Η ανάλυση του αιθερίου ελαίου του φυτού *Mentha pulegium* έδειξε ότι το κύριο συστατικό του είναι η πουλεγόνη (Díaz-Maroto et al., 2007).

1.5 *Mentha* spp. (κ.δύσμος)



Εικόνα 7.1 : Φυτό δυόσμου

Εικόνα 7.2: Φύλλα δυόσμου

Ο δυόσμος είναι ένα ποώδες αρωματικό φυτό της οικογένειας των Χειλανθών (Labiatae). Τα φύλλα του είναι απλά, ακέραια, λεία, αντίθετα, μικρόμισχα, λογχοειδή – νοοειδή και ελαφρώς ή βαθέως πριονωτά ανάλογα με την ποικιλία.

Ο δυόσμος είναι το καλύτερο αφέψημα κατά των πονοκεφάλων. Οι Ρωμαίοι μετά τις σκληρές οινοποσίες έπιναν δυόσμο ή ακόμη φορούσαν στεφάνια από δυόσμο για να εμποδίσουν τον επερχόμενο πονοκέφαλο. Ο Διοσκουρίδης τον συνιστούσε ως αντιεμετικό, για τους πόνους των αυτιών, της κοιλιάς και για το έλκος του στομάχου. Θεωρείται άριστο τονωτικό και χωνευτικό, ενώ βοηθά στη μετρίαση των εμετών της εγκυμοσύνης και της ναυτίας ενώ τέλος θεωρείται και αφροδισιακό.

Το αιθέριο έλαιο του δυόσμου χαρακτηρίζεται από υψηλό ποσοστό (-)καρβόνης (Handa et al., 1964; Kokkini et al., 1995). Η οσμή του είναι διαφορετική από της μέντας. Το έλαιο του δυόσμου χρησιμοποιείται σε τσίγλες, οδοντόκρεμες και στοματικά διαλύματα. Η οσμή της (-)καρβόνης διαφέρει από εκείνη της (+)καρβόνης. Η οσμή της (-)καρβόνης είναι περισσότερο δροσερή, γλυκιά και διάχυτη (Καρούσου, 1995).

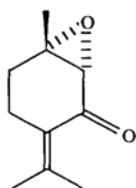
1.6 *Foeniculum vulgare* Miller (κ.μάραθος)



Εικόνα 8: Ταξιανθία μάραθου

Ο μάραθος (*Foeniculum vulgare*) ανήκει στα αγγειόσπερμα, δικότυλα φυτά, στην τάξη Lamiales και την οικογένεια των Σκιαδανθών (Umpelliferae). Μπορεί να είναι μονοετές, δυετές ή πολυτές (Piccaglia & Marotti, 2001). Φύεται σε όλη τη λεκάνη της Μεσογείου, αλλά έχει εισαχθεί ως καλλιεργούμενο είδος και σε άλλες χώρες όπως η Ρωσία, η Ινδία, η Κίνα και η Ιαπωνία (Miraldi, 1999). Σύμφωνα με τη συστηματική ταξινόμηση του φυτού υπάρχουν δύο υποείδη: α) το ssp. *piperitum*, ένα πολυετές και αποκλειστικά αυτοφυούμενο φυτό και β) το ssp. *vulgare* (Gilib.) Holmboe (ή *capillaceum*) στο οποίο υπάρχουν τρεις ποικιλίες: i) η var. *azoricum*, η οποία καλλιεργείται μόνο για τα πράσινα μέρη της, ως λαχανικό (Piccaglia & Marotti, 2001). ii) η var. *dulce* μονοετές ή δυετές φυτό με καρπούς γλυκιάς γεύσης και iii) η var. *vulgare*, πολυετές φυτό με καρπούς πικρής γεύσης. Ο μάραθος χρησιμοποιείται ως αρωματικό φυτό κυρίως σε λικέρ, ψωμί, σαλάτες, ψάρια και τυριά. Το αιθέριο έλαιο των καρπών του χρησιμοποιείται τόσο από τη βιομηχανία αρωμάτων όσο και από τη φαρμακοβιομηχανία, καθώς τονώνει τη λειτουργία της καρδιάς και του πεπτικού συστήματος (Gross et al., 2002; Damjanović, et al., 2005). Οι καρποί του επίσης βρέθηκε να έχουν διουρητικές, αναλγητικές και αντιπυρετικές ιδιότητες (Faudale et al., 2008).

Τα υποείδη, οι ποικιλίες και οι πληθυσμοί δεν διαχωρίζονται εύκολα μορφολογικά και γι' αυτό για τη βοτανική τους κατάταξη συχνά απαιτείται η ανάλυση του αιθερίου ελαίου τους (Muckensturm et al., 1997). Οι περισσότερες μελέτες έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο των φύλλων του φυτού έχει παρόμοια σύσταση είτε προέρχεται από τα φύλλα ή από διάφορα άλλα μέρη του φυτού (καρποί, στελέχη) εκτός από εκείνο που προέρχεται από τις ρίζες (Guillén. & Manzanos 1996). Το υποείδος *piperitum* χαρακτηρίζεται από την παρουσία της rotundifolone (2-5% στα φύλλα και 25% στους καρπούς) (chemical marker), της πιπεριτόνης και του οξειδίου της πιπεριτόνης, του λιμονενίου καθώς και από την απουσία της *trans*-ανηθόλης και της εστραγόλης (Muckensturm et al., 1997).



Σχήμα 2 : Χημική δομή της rotundifolone

Η rotundifolone είναι ένα μονοτερπένιο με χαρακτηριστικά πικρή γεύση. Σε αντίθεση το υποείδος *capillaceum* (ή *vulgare*) χαρακτηρίζεται από τρεις χημειότυπους, όπως παρουσιάζονται στον **Πίνακα 2** (*Muckensturm et al., 1997*).

Πίνακας 2: Χημειότυποι του είδους *Foeniculum vulgare* ssp. *capillaceum* (ή *vulgare*)

Χημειότυπος εστραγόλης	εστραγόλη >40%
Χημειότυπος εστραγόλης/ <i>t</i> -ανηθόλης	ίσες ποσότητες εστραγόλης και <i>t</i> -ανηθόλης
Χημειότυπος <i>t</i> -ανηθόλης	<i>t</i> -ανηθόλη >40%

Στην ποικιλία *dulce* η γλυκιά γεύση οφείλεται στη χαμηλή περιεκτικότητα σε φενχόνη και την υψηλή σε *trans*-ανηθόλη. Η ποικιλία *vulgare* σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία περιέχει τουλάχιστον 60% *trans*-ανηθόλη και 15% φενχόνη (*Miraldi, 1999*). Τέλος, στην ποικιλία *azoricum* βρέθηκε ότι η συγκέντρωση του λιμονενίου φθάνει το 15%, ενώ στις άλλες δεν ξεπερνά το 2-5% (*Muckensturm et al., 1997*).

Τα κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου που προκύπτει από τα διάφορα μέρη του φυτού είναι διάφορα παράγωγα του φαινυλοπροπανίου και τερπένια. Από αυτά τα σημαντικότερα είναι η *trans*-ανηθόλη (υπεύθυνη για τη γλυκιά γεύση), η φενχόνη (στον πικρό μάραθο) και η εστραγόλη (μεθυλο-χαβικόλη ή ισο-ανηθόλη που προσφέρει ένα πιο λεπτό και εκλεπτισμένο άρωμα) (*Križmana et al., 2006 ; Choi et al., 2004*). Άλλα συστατικά του αιθερίου ελαίου είναι τα: α -πινένιο, α -φελλανδρένιο και λιμονένιο. Συχνά τα παραπάνω συστατικά μαζί με την ανισαλδεύδη (προϊόν αποικοδόμησης της *trans*-ανηθόλης που σχηματίζεται πιθανόν κατά την προετοιμασία του δείγματος) χρησιμοποιούνται ως χημικοί δείκτες για την διάκριση των ποικιλιών. Οι αυτοφυούμενες ποικιλίες του μάραθου έχει βρεθεί ότι περιέχουν μικρότερες ποσότητες *trans*-ανηθόλης και μεγαλύτερες ισο-ανηθόλης. Στην τελευταία ένωση πρόσφατα αποδόθηκαν πιθανές ιδιότητες καρκινογένεσης (*Križmana et al., 2006 ; Barazani et al., 2002*).

I.7 *Myrtus communis* L. (κ. μυρτιά)



Εικόνα 9: Κλάδος με άνθος μυρτιάς

Το είδος *Myrtus communis*, κοινώς μυρτιά, ανήκει στην οικογένεια Myrtaceae. Πρόκειται για ένα αειθαλή θάμνο ή μικρό δέντρο που μεγαλώνει μέχρι 5m ύψος. Ο θάμνος της μυρτιάς ήταν πολύ γνωστός από τα αρχαία χρόνια και ήταν αφιερωμένος στη θεά Αφροδίτη. Η μυρτιά πολλαπλασιάζεται γρήγορα με παραφυάδες και μοσχεύματα και πολύ σπάνια γίνεται δέντρο. Τα πιο χρήσιμα μέρη της μυρτιάς είναι τα φύλλα που συλλέγονται σε όλες τις εποχές του έτους και οι καρποί της που συλλέγονται όταν ωριμάσουν.

Τα φύλλα της μυρτιάς έχουν μήκος 3-5 cm και περιέχουν ένα ιδιαίτερα εύοσμο αιθέριο έλαιο. Τα άνθη της είναι άσπρα ή και ασπρόμαυρα και έχουν την ιδιότητα να προκαλούν στην αρχή ερεθιστικές καταστάσεις, λόγω των στυπτικών και αρωματικών ουσιών που περιέχουν. Έχουν πέντε σέπαλα και πέταλα και ένα ιδιαίτερα μεγάλο αριθμό στημόνων. Τα κλαδιά της είναι λεπτά και έχουν όρθια θέση.

Η μυρτιά είναι πολύ διαδεδομένη στην Ελλάδα και φύτεται τις περισσότερες φορές σε υγρό έδαφος, οπότε και έχει μεγαλύτερη αρωματική ικανότητα.

Οι καρποί της έχουν στυφή γεύση ενώ τα φύλλα της θεωρούνται πολύτιμα, γιατί από αυτά λαμβάνεται με απόσταξη το αιθέριο έλαιο. Η σύσταση του αιθερίου ελαίου της μυρτιάς έχει μελετηθεί από πολλούς ερευνητές ([Boelens & Jimenez, 1991, 1992](#); [Bradesi et al., 1997](#); [Chalchat et al., 1998](#); [Koukos et al., 2001](#); [Ozek et al., 2000](#)). Οι Bradesi et al. (1997) έχουν προτείνει τη διάκριση του αιθερίου ελαίου του φυτού με βάση διαφορετικούς χημειότυπους. Έτσι διακρίνονται δύο ομάδες, ανάλογα με τον αν περιέχουν οξικό εστέρα της μυρτενόλης α) αυτή που περιέχει τον οξικό εστέρα της μυρτενόλης και β) αυτή που δεν τον περιέχει. Κάθε μία από αυτές τις ομάδες διακρίνεται περαιτέρω σε δύο υποομάδες που

καθορίζονται βάση την αναλογία α -πινενίου/οξικού εστέρα της μυρτενόλης ή α -πινενίου/κινεόλης.

Η μυρτιά καλλιεργείται για το έλαιό της που προορίζεται κυρίως για την αρωματοποιία, ως καρύκευμα από τη βιομηχανία τροφίμων (*Chalchat et al., 1998*) ακόμη και ως διακοσμητικός θάμνος λόγω της ανοχής της σε θερμά και ξηρά καλοκαίρια. Στη Σαρδηνία φτιάχνουν το κατάλληλο για την πέψη λικέρ “μύρτο”, μαραίνοντας τον καρπό της μυρτιάς σε αιθανόλη. Η μυρτιά είναι φυτό που συμβολίζει τη νίκη. Στους αθλητικούς αγώνες στην αρχαία Ελλάδα οι νικητές στέφονταν με στεφάνι από μυρτιά. Τέλος, χρησιμοποιείται συχνά στη θεραπεία του άσθματος, για το βήχα και τον πονόλαιμο, καθώς επίσης ως αντισηπτικό ή ως υπογλυκαιμικός παράγοντας (hypoglycaemic agent) (*Elfellah et al., 1984*).

1.8 *Pistacia lentiscus* L. (κ. σχίνος)



Εικόνα 10 : Σχίνος, περιοχή Κοιλιωμένος, Ζακύνθου, Αύγουστος 2005

Το είδος *Pistacia lentiscus*, κοινώς σχίνος, ανήκει στην Οικογένεια Anacardiaceae (Ανακαρδιίδες) και φύεται σε πολλές χώρες της λεκάνης της Μεσογείου. Είναι αειθαλής θάμνος ή δέντρο, φθάνει μέχρι 4m ύψος, είναι πολύκλαδο με ωοειδή, δερματώδη φύλλα που φύονται ανά 2-4 ζεύγη και είναι αρωματικά. Ο καρπός είναι δρύπη μικρού μεγέθους, αρχικά είναι πράσινος, κατόπιν κόκκινος και τέλος όταν ωριμάσει, κατά τον Σεπτέμβριο-Οκτώβριο, γίνεται μαύρος (*Σεραϊδής, 2000*). Φύεται σε πετρώδεις θέσεις και παραλιακές εκτάσεις σε πεδινά και ορεινά μέρη (*Ζαννέτου-Παντελή, 1998*). Από το φυτό απομονώνονται φαρμακευτικές ουσίες για τη θεραπεία της υπέρτασης καθώς και ουσίες με διουρητικές ιδιότητες (*Bentley & Trimen, 1980*).

Η ποικιλία *Pistacia lentiscus* var. Chia ήταν γνωστή από την αρχαιότητα, αναφερόμενη από το Γαληνό και τον Διοσκουρίδη. Πρώτος ο Διοσκουρίδης αναφέρει ότι από τον σχίνο (ποικιλία που υπάρχει μόνο στη Χίο) λαμβάνεται ένα διαφανές ρετσίνι (μαστίχα). Η ρητίνη αυτή είναι φαρμακευτική, αρωματική, χρησιμοποιείται στην ζαχαροπλαστική και προς μάσηση. Εκτός από τη ρητίνη, φαρμακευτικές ιδιότητες αποδίδονται και στους καρπούς (Σεραϊδής, 2000).

Για το αιθέριο έλαιο του σχίνου που φύεται στην Ελλάδα υπάρχουν περιορισμένα στοιχεία (Gardeli, et al., 2008), ενώ στη βιβλιογραφία υπάρχουν δεδομένα για το αντίστοιχο έλαιο από το φυτό στις περιοχές της Αιγύπτου, της Τυνησίας, της Ισπανίας και της Σαρδηνίας. Το αιθέριο έλαιο από το αιγυπτιακό φυτό χαρακτηρίζεται από τα συστατικά: δ-3-καρένιο, β-μπισαμπολένιο και β-μπουρμπουνένιο (Pooter et al., 1991). Στη Σαρδηνία το αιθέριο έλαιο του φυτού βρέθηκε να περιέχει ως κύρια συστατικά το β-πινένιο, το *trans*-καρνοφυλλένιο και το β-φελλανδρένιο (Congiu et al., 2002). Αντίστοιχα στο αιθέριο έλαιο του φυτού από την Τυνησία ως κύρια συστατικά προσδιορίστηκαν το α-πινένιο, το γ-τερπινένιο και η τερπινεν-4-όλη (Douissa et al., 2005). Οι περισσότεροι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η διαφορά στη σύσταση του αιθερίου ελαίου που παρατηρείται ανάλογα με την περιοχή μπορεί να εξηγηθεί μόνο από την ύπαρξη χημειότυπων (Zrira et al., 2003; Pooter et al., 1991).

II. Βιοσύνθεση

II.1 Γενικά

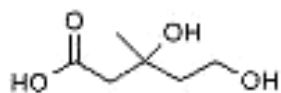
Τα φυτά συνθέτουν μια πολυπληθή ομάδα ενώσεων με ετερόκλητη μοριακή δομή, τα προϊόντα του λεγόμενου δευτερογενούς μεταβολισμού, οι οποίες εμπλέκονται σε μια σειρά φυσιολογικών λειτουργιών. Η παραδοσιακή διάκριση του μεταβολισμού σε πρωτογενή και δευτερογενή οφείλεται στο γεγονός ότι οι δευτερογενείς μεταβολίτες δεν εμπλέκονται άμεσα σε ζωτικές διαδικασίες που σχετίζονται με την ανάπτυξη και τη διαχείριση ενέργειας των φυτικών κυττάρων. Εκτός αυτού, κατά το παρελθόν δεν είχαν διασαφηνιστεί οι ρόλοι τους οποίους επιτελούν και υπήρχε ως εκ τούτου η αντίληψη ότι οι ενώσεις αυτές αποτελούν περιττά υποπροϊόντα του πρωτογενούς μεταβολισμού (*Buchanan et al., 2000*). Ένα βασικό χαρακτηριστικό των δευτερογενών μεταβολιτών είναι το γεγονός ότι συμμετέχουν σε εξειδικευμένες λειτουργίες, συσσωρεύονται κατά περίπτωση σε κύτταρα και ιστούς, οι μοριακές δομές τους παραλλάσσουν ευρέως μεταξύ των φυτικών ειδών και η παρουσία τους συνήθως συνδέεται με τη μορφολογική και φυσιολογική εξειδίκευση των κυττάρων (*Haslam 1986*). Από την άλλη πλευρά, ο πρωτογενής μεταβολισμός παρουσιάζει πολύ μεγαλύτερη ομοιογένεια, αφού οι ολιγάριθμοι πρωτογενείς μεταβολίτες δεν παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ των κυττάρων ενός φυτού ή μεταξύ διαφορετικών φυτικών ειδών. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες προέρχονται από βιοσυνθετικές πορείες οι οποίες αποτελούν προέκταση του πρωτογενούς μεταβολισμού και εμπλέκονται σε μια σειρά από οικοφυσιολογικούς ρόλους που περιλαμβάνουν την άμυνα των φυτών έναντι παθογόνων και φυτοφάγων, την αντιμετώπιση αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης, την αναπαραγωγή μέσω προσέλευσης επικονιαστών αλλά και τη διασπορά των σπερμάτων και την αλληλοπάθεια (*Mizutani 1999; Buchanan et al., 2000; Λιακόπουλος, 2003*)

II. 2 Βιοσύνθεση τερπενίων

Οι δευτερογενείς μεταβολίτες κατατάσσονται σε τρεις μεγάλες ομάδες, τα τερπενοειδή, τις αζωτούχες ενώσεις, τα φαινολικά συστατικά και λοιπές κατηγορίες όπως λιπαρά οξέα και ακετυλενίδια. Η κατάταξη γίνεται με βάση τη βιοσυνθετική προέλευση του βασικού ανθρακικού σκελετού και την ιδιαίτερη δομή κάθε μορίου (*Buchanan et al., 2000*).

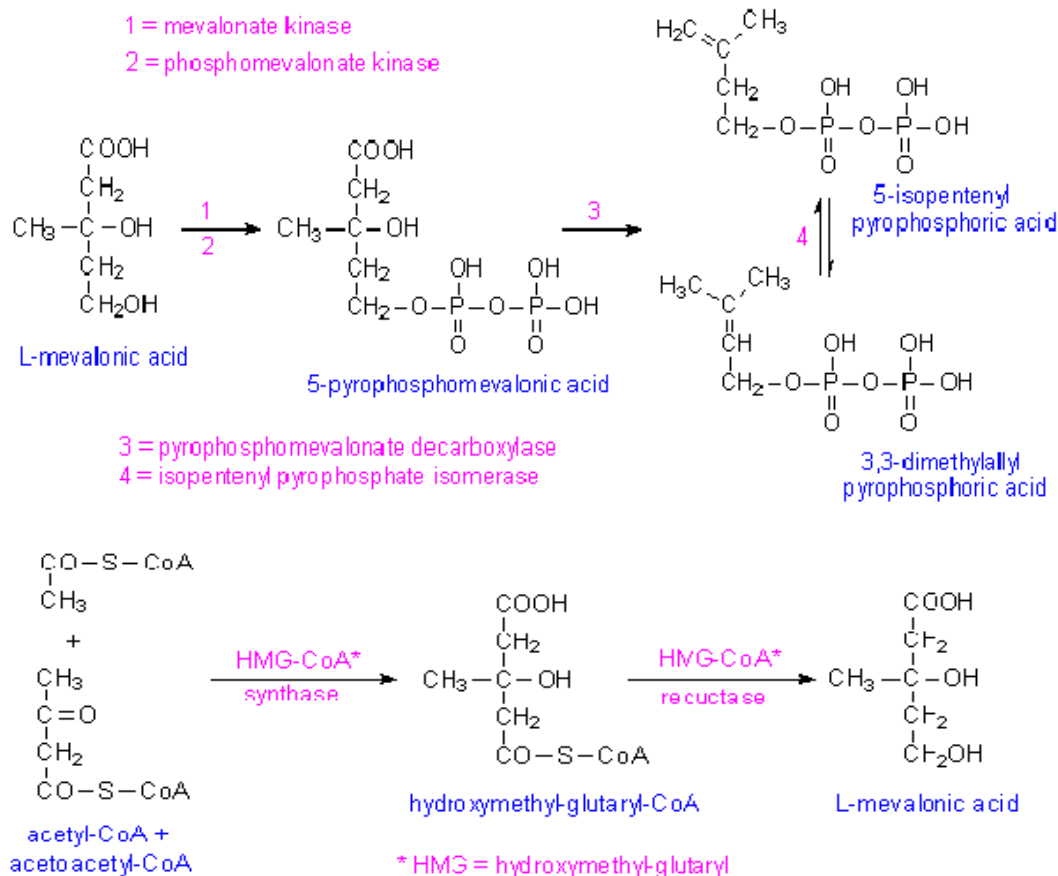
Τα τερπένια συνιστούν την πολυπληθέστερη κατηγορία δευτερογενών μεταβολιτών με περίπου 25000 μέλη. Συναντώνται σε μεγάλο αριθμό ανώτερων φυτών αλλά και σε βρύοφυτα, μύκητες και βακτήρια. Η βιοσύνθεσή τους ξεκινά από το **οξικό** ή το **σικιμικό οξύ**. Το οξικό οξύ, το οποίο σχηματίζεται από υδατάνθρακες μέσω του πυροσταφυλικού οξέος, είναι η

πρόδρομος ένωση πολλών σημαντικών φυσικών προϊόντων. Δύο κύριοι οδοί ξεκινούν από το οξικό οξύ, η οδός του ακυλο-πολυμηλονικού οξέος, που οδηγεί σε λιπαρά οξέα και πολυκετίδια και η οδός του **μεβαλονικού οξέος (Σχήμα 3)**, που οδηγεί σε τερπένια και στεροειδή. Από το σικιμικό οξύ ξεκινούν βιοσυνθετικοί οδοί που καταλήγουν σε αρωματικά αμινοξέα και γαλλικό οξύ (πρόδρομη ένωση ταννινών). Από τα αρωματικά οξέα παράγονται τα φαινολοπροπάνια και ακολούθως παράγωγες ουσίες, που αποτελούν συστατικά αιθέριων ελαίων.



Σχήμα 3: Μεβαλονικό οξύ

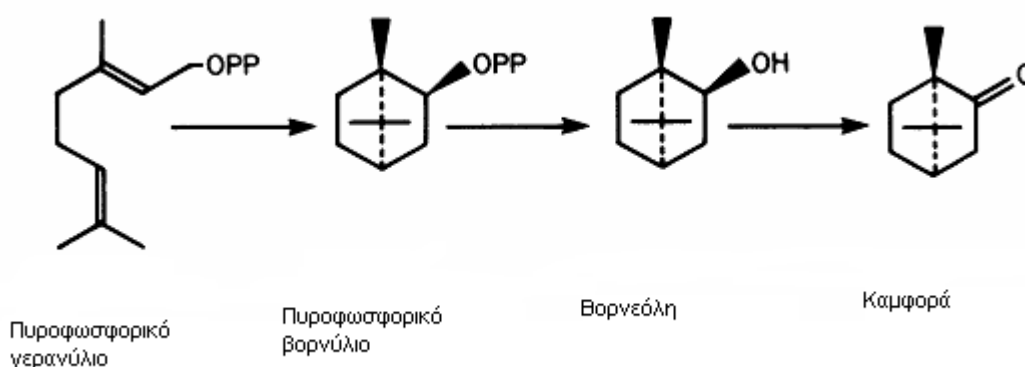
Η βιοσύνθεση του μεβαλλονικού οξέος ξεκινά από το ακέτυλο-CoA. Δύο μόρια της βασικής αυτής μονάδας συμπυκνώνονται προς ακετοακετυλο-CoA. Μαζί με ένα ακόμη ακέτυλο-CoA υφίσταται αλδολική συμπύκνωση και ακολούθως υδρόλυση, δίνοντας ως προϊόν το 3-υδροξυ-3-μεθυλο-γλουρυλο-CoA. Αυτό παράγει μεβαλονικό οξύ με αναγωγή της θειολεστερικής ομάδας από NADPH. Το μεβαλονικό οξύ μετατρέπεται σε πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο μέσω φωσφορυλίωσης και αποκαρβοξυλίωσης. Στη βιοσύνθεση των τερπενίων, το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο (IPP) κατέχει βασικό ρόλο, αφού περιέχει την απαραίτητη για τη βιοσύνθεσή τους ενεργή μονάδα ισοπρενίου (**Σχήμα 4**).



Σχήμα 4: Βιοσύνθεση τερπενίων

Κατά τα επόμενα στάδια της βιοσύνθεσης το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο μετατρέπεται σε πυροσφωσφορικό διμεθυλαλλύλιο (DMAPP), με τη βοήθεια ενός ενζύμου που φέρει την ομάδα SH. Παρ'όλο που το ισοπρένιο αποτελεί τη βάση σχηματισμού των τερπενίων δεν είναι η πρόδρομη ουσία *in vivo*. Αντ'αυτού οι δύο προαναφερόμενες, C5-πυροσφωσφορικές ενώσεις, οι πυροφωσφορικό ισοπεντύλιο (IPP) και πυροφωσφορικό διμεθυλ-αλλύλιο (DMAPP) αποτελούν τα **βιολογικά ισοδύναμα** της δομικής μονάδας του ισοπρενίου (Bώkov 1983).

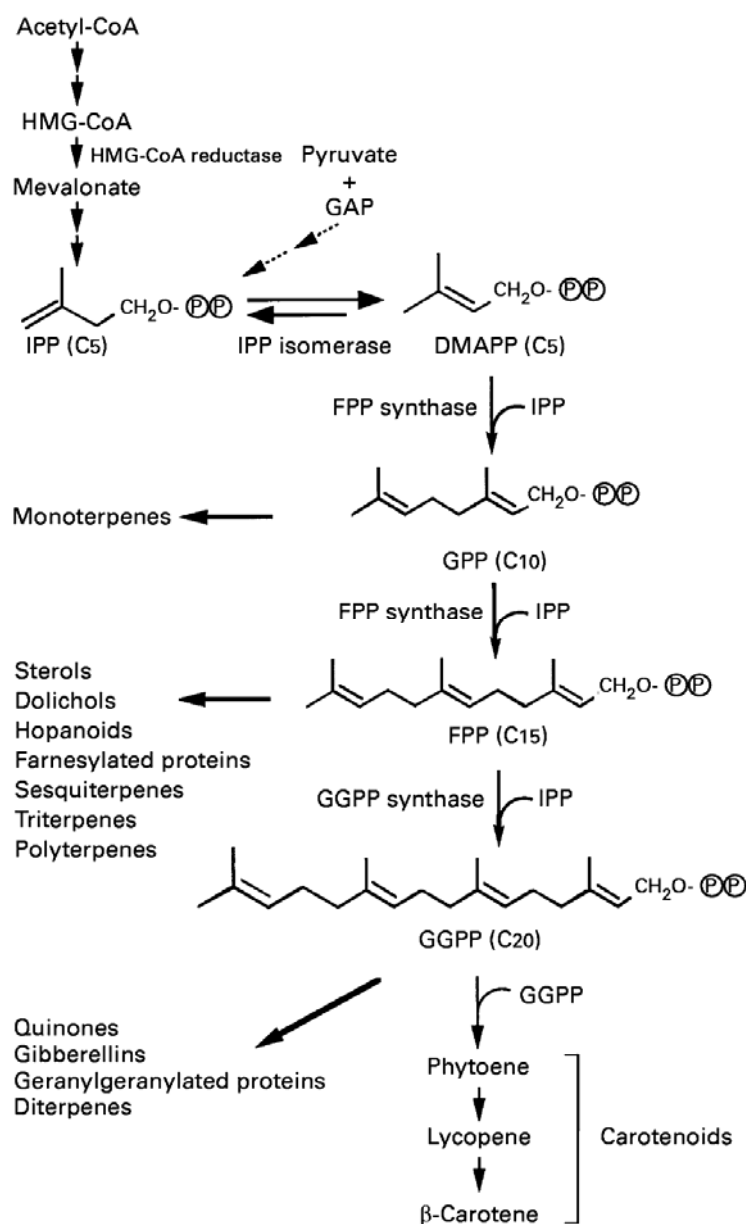
Η αλλυλική πυροφωσφορική ομάδα (OPP) αποτελεί μια εύκολα αποχωρούσα ομάδα. Έτσι η υποκατάσταση της από τον πυρηνόφιλο δεσμό C=C του πυροφωσφορικού ισοπεντενυλίου, ακολουθούμενη από απώλεια ενός πρωτονίου, στο ενδιάμεσο καρβοκατιόν που σχηματίζεται, οδηγεί, με σύζευξη κεφαλής ουράς, στο σχηματισμό του **πυροφωσφορικού γερανυλίου (GPP)** από το οποίο συντίθενται τα μονοτερπένια. (παράδειγμα βιοσύνθεση καμφοράς, Σχήμα. 5)



Σχήμα 5 : Βιοσύνθεση της d-καμφορά από το πυροφωσφορικό γερανύλιο (Croteau et al., 1981).

Συμπύκνωση του πυροφωσφορικού γερανυλίου με ένα μόριο πυροφωσφορικού ισοπεντενυλίου οδηγεί στο **πυροφωσφορικό φαρνεσύλιο**, από το οποίο είναι δυνατό να προέλθουν διάφορα σεσκιτερπένια. Με βάση τα παραπάνω προκύπτει πως τα C₁₀ και C₁₅ πυροφωσφορικά αποτελούν τις πρόδρομες ενώσεις των μονοτερπενίων και σεσκιτερπενίων, αντίστοιχα. Περαιτέρω αντίδραση του πυροφωσφορικού φαρνεσυλίου με πυροφωσφορικό φαρνεσύλιο οδηγεί στο σχηματισμό του σκουαλενίου. Από το σκουαλένιο προκύπτουν τα τριτερπένια και τα στεροειδή (Σχήμα 6).

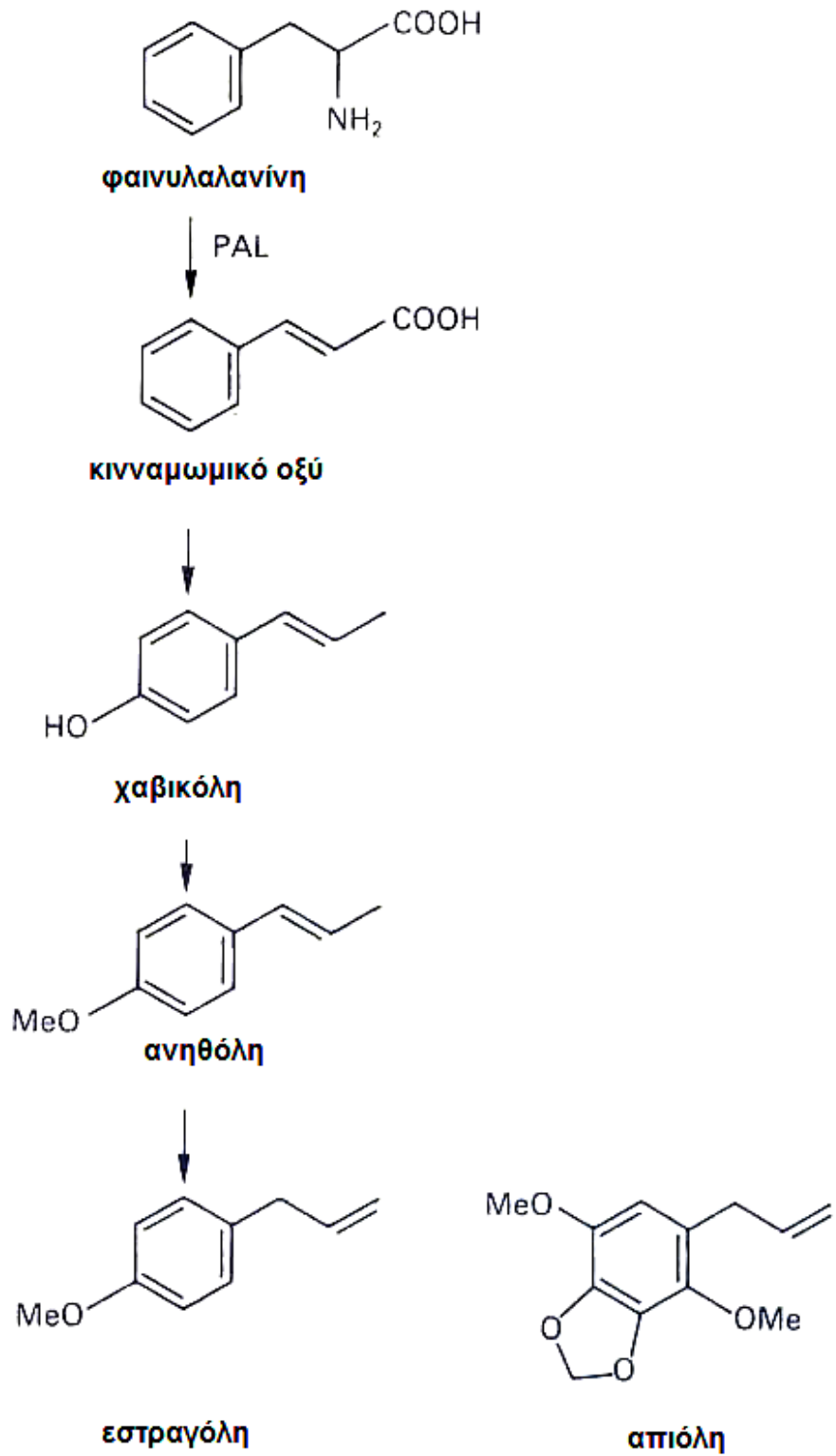
Η βιοσύνθεση δηλαδή των αιθέριων ελαίων, όπως και των περισσοτέρων ισοπrenoειδών γίνεται από το ενεργό ισοπρένιο στο κυτόπλασμα, εκτός από ορισμένες ενώσεις, όπως τα καροτενοειδή, που παράγονται στα πλαστίδια (χλωροπλάστες, χρωμοπλάστες). Κατά την βιοσύνθεση των προϊόντων αυτών, χρησιμοποιούνται δύο «ισοδύναμα ισοπρενίου», το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο και το πυροφωσφορικό διμεθυλαλλύλιο. Τα μόρια αυτά, που περιέχουν πέντε άτομα άνθρακα, προέρχονται από τη συμπύκνωση τριών μονάδων ακετύλο-CoA. Σαν ενδιάμεσο προϊόν παράγεται το μεβαλονικό οξύ, το οποίο αρχικά βρέθηκε σαν αυξητικός παράγοντας σε μικροοργανισμούς. Το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο βρίσκεται σε ισοζύγιο μέσα στο κύτταρο με το πυροφωσφορικό διμεθυλαλλύλιο.



Σχήμα 6 : Βιοσύνθεση τριτερπενίων και στεροειδών

II. 3 Βιοσύνθεση των φαινυλοπροπανοειδών

Ο κύκλος του σικιμικού οξέος οδηγεί στην παραγωγή της φαινυλαλανίνης (αρωματικό αμινοξύ) το οποίο μέσω του ενζύμου λυάση της φαινυλαλανίνης (phenylalanine ammonia lyase, PAL), που δρα επί του αζώτου του αμινοξέος, μετατρέπεται στο *τρανς*-κινναμωμικό οξύ. Αυτό το βιοχημικό μονοπάτι οδηγεί στη βιοσύνθεση αλκαλοειδών καθώς και λιγνανών, φλαβονοειδών και κουμαρινών. Τα φαινυλοπροπανοειδή αποτελούν τα απλούστερα παράγωγα του κινναμωμικού οξέος. Μετατροπές επί του μορίου του κινναμωμικού οξέος αφορούν στην απώλεια οξυγόνου από την πλευρική αλυσίδα είτε στη θέση του διπλού δεσμού της ίδιας αλυσίδας. Η θέση του διπλού δεσμού καθορίζει το σχηματισμό των δύο ισομερών της ανηθόλης και της εστραγόλης (**Σχήμα 7**), (*Hay & Waterman, 1993*).



Σχήμα 7: Βιοσύνθεση των φαινυλοπροπανοειδών

III. Χημεία αιθερίων ελαίων

III. 1 Γενικά

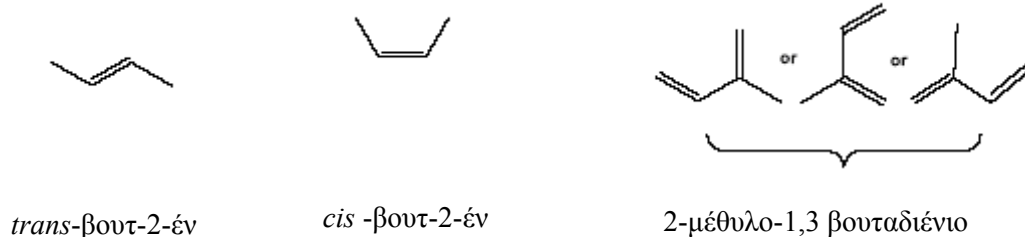
Με τον όρο αιθέρια έλαια ορίζονται μίγματα πτητικών ουσιών που προσδίδουν στο φυτό που τα παράγει τη χαρακτηριστική του οσμή. Μολονότι ο όρος έχει πια καθιερωθεί μπορεί να θεωρηθεί και ως παραπλανητικός δεδομένου ότι δεν πρόκειται για έλαια (δηλ. μίγματα γλυκεριδίων) αλλά για τερπενικές ουσίες χαμηλού μοριακού βάρους, κυρίως μονο- και σεσκιτερπενία και σε μικρότερο βαθμό διτερπένια αλλά και φαινυλοπροπανοειδή λιπαρά οξέα και εστέρες τους ή ακόμα και προϊόντα αποικοδόμησης αυτών.

Τα αιθέρια έλαια είναι υγρά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και δεν έχουν καμία σχέση με τα « λίπη και έλαια». Τα αιθέρια έλαια διαφέρουν με την ομάδα των « λιπών και ελαίων» τόσο στις φυσικές όσο και στις χημικές τους ιδιότητες.

Τα συστατικά των αιθερίων ελαίων διακρίνονται σε τερπενικούς και μη τερπενικούς υδρογονάνθρακες.

III.2 Μη τερπενικοί υδρογονάνθρακες

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν αλκάνια ή αλκένια με μικρό αριθμό ατόμων άνθρακα ή αλκοόλες και αλδεΐδες που έχουν προκύψει ως προϊόντα



μεταβολισμού ή αποικοδόμησης των φωσφολιπιδίων και των λιπαρών οξέων. Τέτοιες ενώσεις είναι η το *trans*-βουτ-2-έν και το *cis* -βουτ-2-έν. Μόρια με τρία άτομα άνθρακα συνδέονται μόνο σε ευθεία αλυσίδα. Τέσσερα άτομα άνθρακα και περισσότερα μπορεί να συνδέονται σε ευθεία αλυσίδα ή σε διακλάδωση. Το ισοπρένιο (2-μέθυλο-1,3 βουταδιένιο) είναι ένα τέτοιο μόριο.

III.3 Τερπενοειδή

Τα τερπένια (ή ισοπρενοειδή) είναι μια από τις μεγαλύτερες χημικές κατηγορίες φυσικών προϊόντων. Η σύνθεσή τους είναι αποτέλεσμα αποκλειστικά φυσικών ενζυματικών αντιδράσεων. Η δομή τους προκύπτει από τη συνένωση κεφαλής – ουράς μονάδων ισοπρενίου (2-μέθυλο-1,3-βουταδιένιο). Ο άνθρακας 1, ονομάζεται κεφαλή της ισοπρενικής μονάδας, ενώ ο άνθρακας 4 θεωρείται η ουρά της. Περισσότερα από 30.000 τερπενοειδή έχουν απομονωθεί από φυτά, μικροοργανισμούς και ζώα.

Τα τερπένια ταξινομούνται ανάλογα με τον αριθμό των ισοπρενικών μονάδων που περιέχουν. Έτσι, τα **μονοτερπένια** είναι ενώσεις με 10 άτομα άνθρακα και βιοσυντίθενται από δύο μονάδες ισοπρενίου, τα **σεσκιτερπένια** έχουν 15 άτομα άνθρακα και προέρχονται από τρία μόρια ισοπρενίου κ.λπ.

Πίνακας 2: Ταξινόμηση τερπενίων με βάση τον αριθμό των μονάδων ισοπρενίου που περιέχουν.

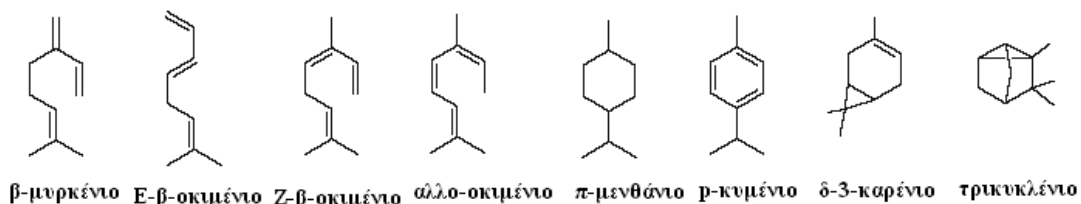
Ταξινόμηση των τερπενίων		
Αριθμός ατόμων άνθρακα	Μονάδες ισοπρενίου	Ταξινόμηση
10	2	Μονοτερπένιο (C ₁₀ H ₁₆)
15	3	Σεσκιτερπένιο (C ₁₅ H ₂₄)
20	4	Διτερπένιο (C ₂₀ H ₃₂)
25	5	Σεστερτερπένιο
30	6	Τριτερπένιο
40	8	Τετρατερπένιο

Τα μονο- και τα σεσκιτερπένια απαντούν κυρίως στα φυτά, ενώ τα υψηλότερης τάξης τερπένια απαντούν τόσο στα φυτά όσο και στα ζώα και πολλά παρουσιάζουν αξιόλογη βιολογική δραστηριότητα. Παρακάτω αναλύεται η κάθε κατηγορία τερπενίων

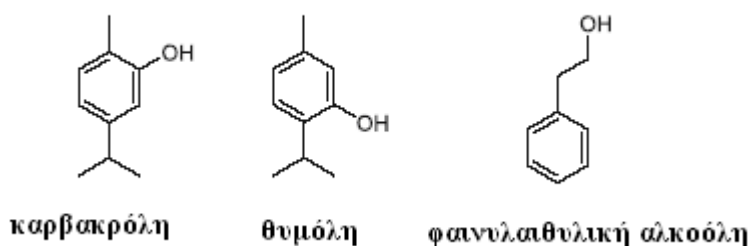
III.3.1 Μονοτερπένια

Τα μονοτερπένια, όπως και προηγούμενα αναφέρθηκε συντίθενται από δύο μόρια ισοπρενίου. Μπορεί να είναι άκυκλα όπως τα β-μυρκενίο, (E)-β-οκιμένιο, (Z)-β-οκιμένιο και το άλλο-οκιμένιο, ή κυκλικά όπως τα π-μενθάνιο και p-κυμένιο. Τα κυκλικά μονοτερπένια

μπορεί να είναι μονοκυκλικά όπως τα *π*-μενθάνιο και *p*-κυμένιο, δικυκλικά όπως το δ -3-καρένιο και τρικυκλικά όπως το τρικυκλένιο.

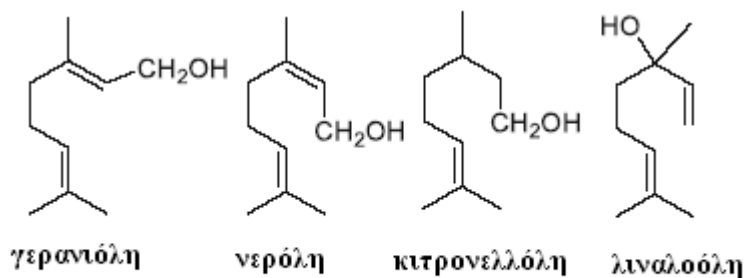


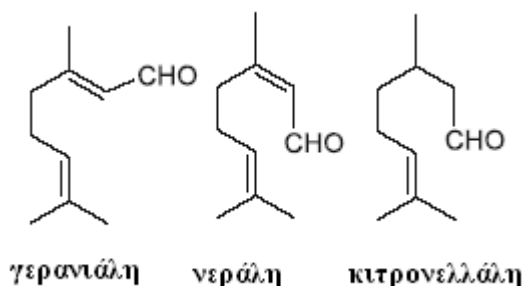
Μονοτερπένια που η δομή τους περιέχει βενζολικό δακτύλιο όπως το *p*-κυμένιο, η καρβακρόλη, η θυμόλη και η φαινυλαιθυλική αλκοόλη συναντώνται συχνά ως συστατικά αιθερίων ελαίων αρωματικών όπως τη ρίγανη (*Origanum* sp.), το θυμάρι (*Thymus* sp.), το θρούμπι (*Satureja* sp.) κ.ά.. Στην κατηγορία των μονοτερπενίων ανήκουν και τα φαινυλοπροπανοειδή τα οποία προκύπτουν από διαφορετικό βιοσυνθετικό κύκλο (βλ. βιοσύνθεση φαινυλοπροπανοειδών).



III.3.1.1 Άκυκλα μονοτερπένια

Η ομάδα αυτή των μονοτερπενίων έχει πολύ λίγα μέλη και περιέχει τα τριένια, το μυρκένιο και τα οκιμένια καθώς και τις αλκοόλες γερανιόλη, νερόλη, κιτρονελλόλη λιναλοόλη κλπ. Η κιτράλη είναι το μίγμα της γερανιάλης και της νεράλης. Η κιτρονελλάλη είναι επίσης μία άκυκλη αλδεΐδη που ανήκει στην ομάδα αυτή των μονοτερπενίων.





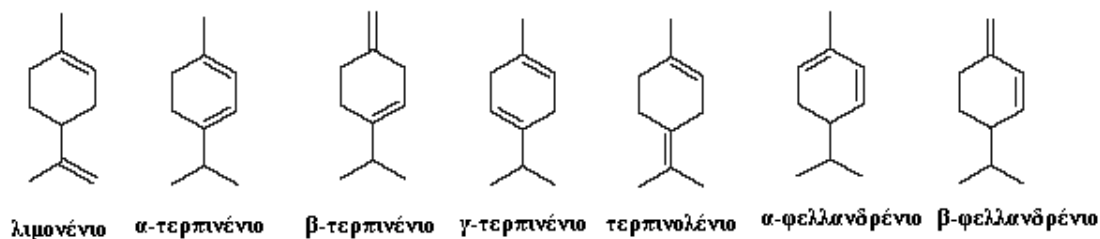
III.3.1.2 Κυκλικά μονοτερπένια

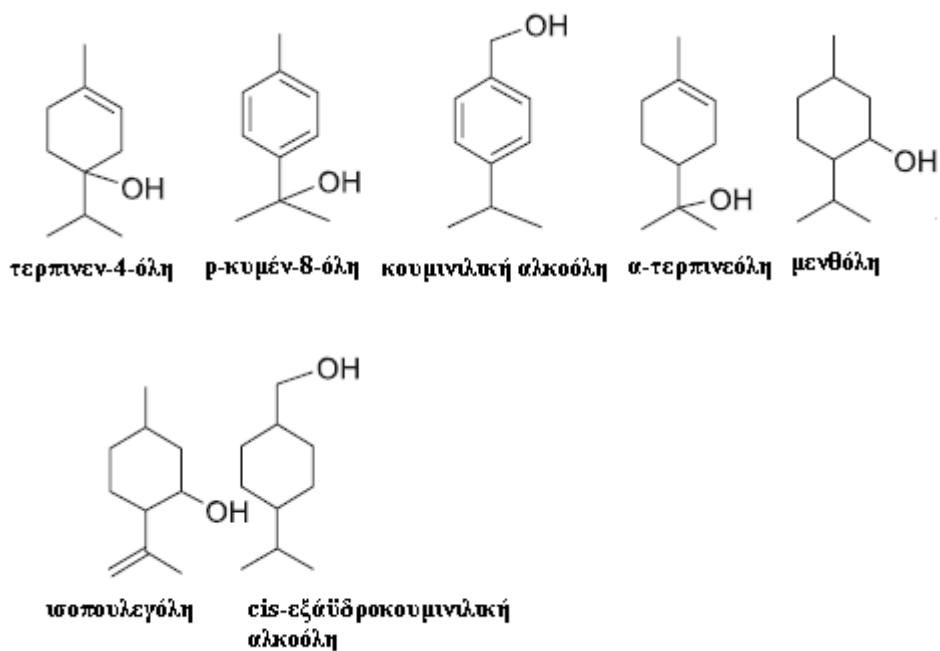
Ανάλογα με το αριθμό των δακτυλίων τα κυκλικά μονοτερπένια διακρίνονται σε :

1. Μονοκυκλικά μονοτερπένια
2. Δικυκλικά μονοτερπένια
3. Τρικυκλικά μονοτερπένια

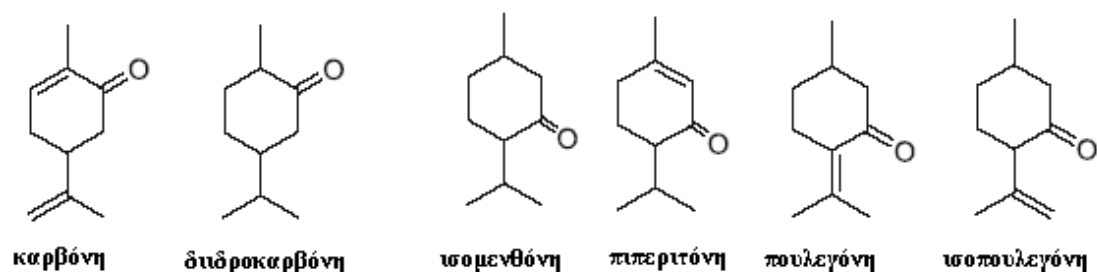
III.3.1.2.a Μονοκυκλικά μονοτερπένια

Τα μονοτερπένια της δομής του *π*-μενθανίου που διαθέτουν δηλαδή σκελετό 1-μεθυλ-4-ισοπρόπυλ-κυκλοεξανίου, αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα μονοτερπενίων. Στα μονοκυκλικά μονοτερπένια ανήκουν και αυτά με δομή *π*-μενθαδιενίου όπως τα: λιμονένιο, *α*-τερπινένιο, *β*-τερπινένιο, *γ*-τερπινένιο, τερπινολένιο, *α*-φελλανδρένιο και *β*-φελλανδρένιο. Μονοτερπένια όπως το *p*-κυμένιο και τα υδροξυλιωμένα παράγωγά του θυμόλη και το ισομερές αυτής καρβακρόλη πάντα βρίσκονται μαζί με τα *α*-τερπινένιο, *γ*-τερπινένιο και την τερπινέν-4-όλη. Επίσης συστατικά όπως τα *p*-κυμέν-8-όλη και η κουμινλική αλκοόλη επίσης προκύπτουν από το *p*-κυμένιο. Στην κατηγορία των μονοκυκλικών μονοτερπενίων ανήκουν και οι μονοτερπενικές αλκοόλες: *α*-τερπινεόλη, μενθόλη, ισοπουλεγόλη και *cis*-εξαϋδροκουμινυλική αλκοόλη.





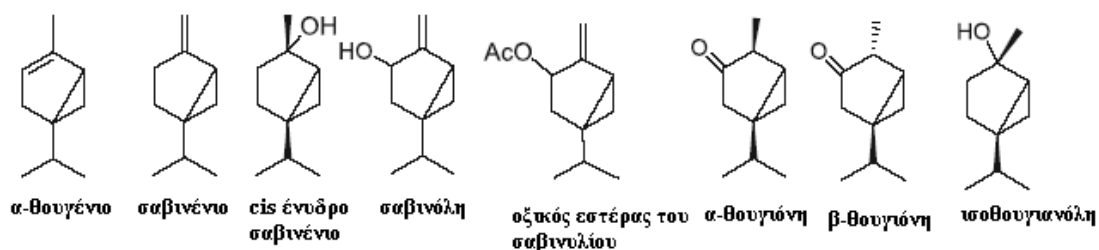
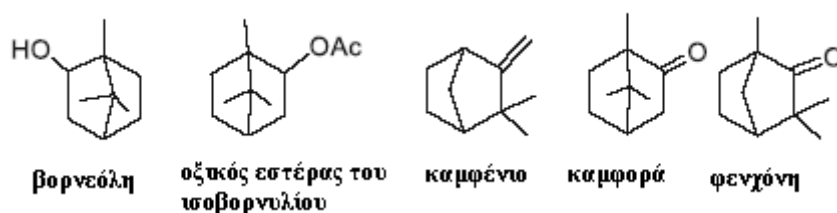
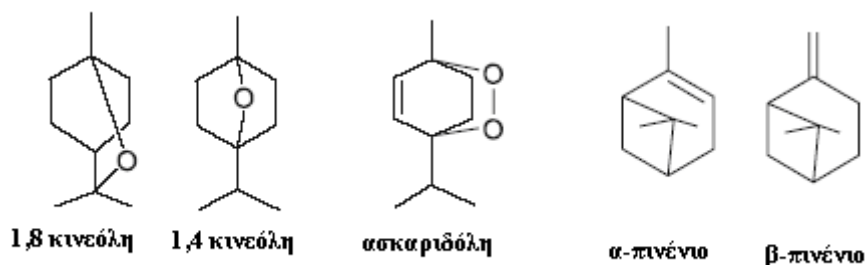
Οι μονοτερπενικές κετόνες που ανήκουν στην ομάδα αυτή είναι οι: καρβόνη, διδροκαρβόνη, ισομενθόνη, πιπεριτόνη, πουλεγόνη (ή πιπεριτενόνη) και ισοπουλεγόνη.



III.3.1.2.b Δικυκλικά μονοτερπένια

Οι κυκλικοί αιθέρες 1,8 κινεόλη, η 1,4 κινεόλη μαζί με την ασκαριδόλη είναι δικυκλικά οξυγονωμένα μονοτερπένια. Στην ομάδα αυτή ανήκουν επίσης τα μονοτερπένια της δομής του πινανίου (*α*-πινένιο και *β*-πινένιο) καθώς και η βορνεόλη, ο οξικός εστέρας του ισοβορνυλίου, το καμφένιο, η καμφορά και η φενχόνη. Επίσης μονοτερπένια της δομής του θουγιανίου (που έχουν στη δομή τους ένα δακτύλιο κυκλοπροπανίου [3,1,0]) *α*-θουγένιο,

σαβινένιο, το *cis* ισομερές του ένυδρου σαβινενίου, η σαβινόλη, ο οξικός εστέρας του σαβινυλίου, α -θουγιόνη, β -θουγιόνη και η ισοθουγιανόλη, ανήκουν στην ομάδα αυτή. Τέλος στα δικυκλικά μονοτερπένια κατατάσσονται τα μονοτερπένια της δομής καρενίου (που έχουν στη δομή τους ένα δακτύλιο κυκλοπροπανίου [4,1,0]) με κύριο εκπρόσωπο το δ -3-καρένιο .



III.3.1.2.c Τρικυκλικά μονοτερπένια

Κύριος εκπρόσωπος των τρικυκλικών μονοτερπενίων είναι το τρικυκλένιο.

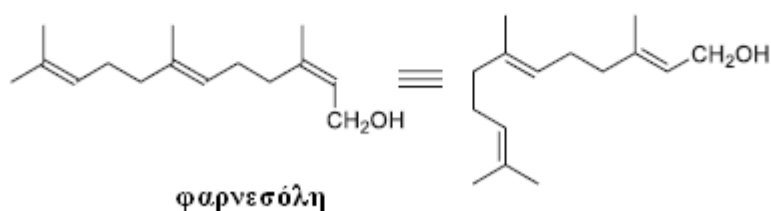
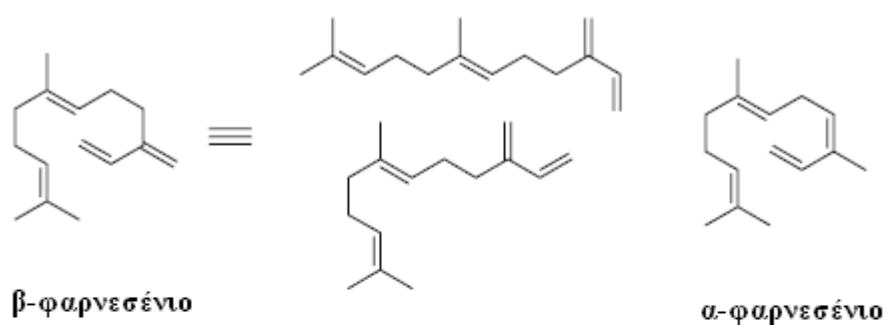
III.3.2 Σεσκιτερπένια

Τα σεσκιτερπένια είναι ακόρεστα συστατικά τα οποία σχηματίζονται με την προσθήκη ενός ισοπρενίου στο μόριο των μονοτερπενίων και έχουν το μοριακό τύπο $C_{15}H_{24}$.

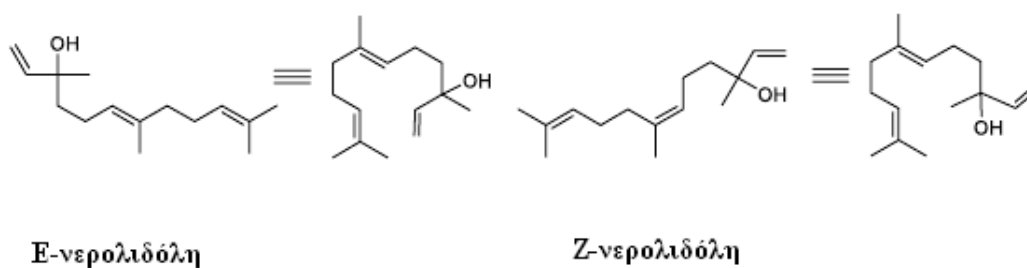
Η δομή τους μπορεί να είναι ευθεία, διακλαδισμένη ή κυκλική. Τα κυκλικά σесκιτερπένια διακρίνονται σε μονοκυκλικά, δικυκλικά και τρικυκλικά.

III.3.2.1 Άκυκλα σесκιτερπένια

Εκπρόσωποι αυτής της ομάδας είναι το β -φαρνεσένιο που είναι συστατικό του λυκίσκου, το α -φαρνεσένιο που είναι το δομικό ισομερές του (structural isomer) και η φαρνεσόλη η οποία απαντάται κυρίως στα αιθέριο έλαιο ανθέων όπως του τριαντάφυλλου και του κυκλάμινου.

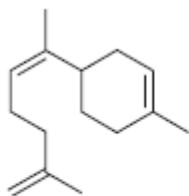


Ακόμα συχνά απαντώμενο άκυκλο σесκιτερπένιο είναι η νερολιδόλη, ισομερές της φαρνεσόλης που στη φύση βρίσκεται συνήθως με την *E* ισομερή μορφή παρά με τη *Z*.

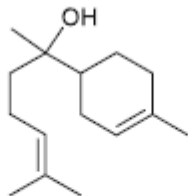


III.3.2.1.a Μονοκυκλικά σесκιτερπένια

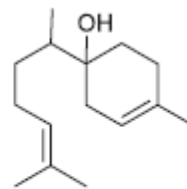
Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα σεσκιτερπένια τύπου μπισαμπολενίου καθώς και τα οξυγονωμένα παράγωγά του α -μπισαμπολόλη και β -μπισαμπολόλη τα οποία αποτελούν κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου του χαμομηλιού.



μπισαμπολένιο

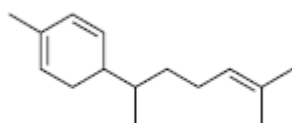


α -μπισαμπολόλη



β -μπισαμπολόλη

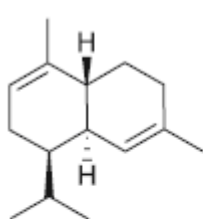
Ένας άλλος εκπρόσωπος της ομάδας των μονοκυκλικών σεσκιτερπενίων είναι το ζινγκιμπερένιο που αποτελεί κύριο συστατικό του αιθέριου ελαίου της αρμπαρόριζας.



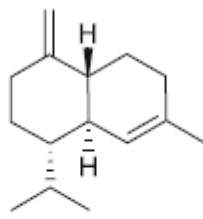
ζινγκιμπερένιο

III.3.2.1.b Δικυκλικά Σεσκιτερπένια

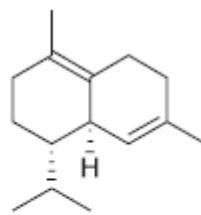
Κύριος εκπρόσωπος της ομάδας των δικυκλικών σεσκιτερπενίων είναι το καδινένιο το οποίο απαντάται με τρεις ισομερείς μορφές α -καδινένιο, γ -καδινένιο και δ -καδινένιο. Τα συστατικά αυτά βρίσκονται στο αιθέριο έλαιο του σκίνου και είναι γνωστά ως σεσκιτερπένια τύπου ναφθαλινίου.



α-καδινένιο

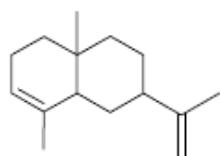


γ-καδινένιο

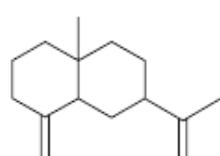


δ-καδινένιο

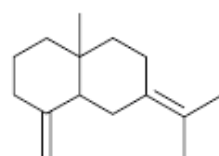
Τα α -, β -, γ - και δ -σελινένια ανήκουν στην ομάδα των δικυκλικών σεσκιτερπενίων και είναι συστατικά του αιθερίου ελαίου του σέλιου.



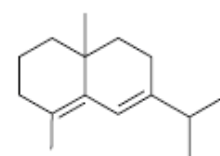
α-σελινένιο



β-σελινένιο

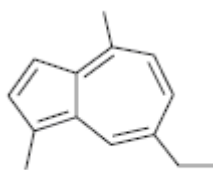


γ-σελινένιο



δ-σελινένιο

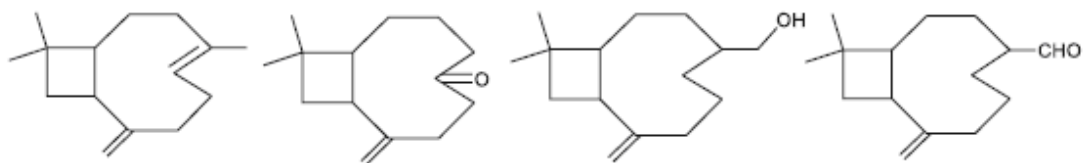
Τέλος γνωστή ομάδα ενώσεων που ανήκει στην κατηγορία αυτή είναι τα αζουλένια τα οποία ευθύνονται για το μπλέ χρώμα των αιθερίων ελαίων των οποίων αποτελούν συστατικά. Κύριος εκπρόσωπος της ομάδας αυτής είναι το χαμαζουλένιο.



χαμαζουλένιο

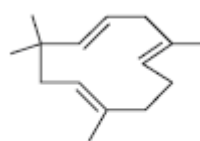
III.3.2.2 Διάφορα άλλα σεσκιτερπένια (miscellaneous)

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα παράγωγα του καρυοφυλενίου, το β -καρυοφυλλένιο (ή *trans*-καρυοφυλλένιο) και το χουμουλένιο.



trans-καρνοφυλλένιο

παράγωγα καρνοφυλλενίου

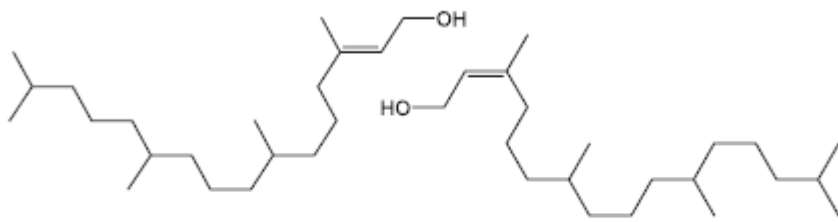


χουμουλένιο

III.3.3 Διτερπένια

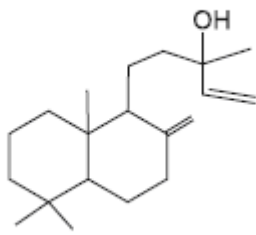
Συνένωση κεφαλής –ουράς τεσσάρων μονάδων ισοπρενίου οδηγεί στην δημιουργία των διτερπενίων ($C_{20}H_{32}$). Για την παραλαβή τους με τη μέθοδο της απόσταξης απαιτείται μεγαλύτερος χρόνος (όπως και για τα σεσκιτερπένια), καθώς είναι βαρύτερα από τα μονοτερπένια.

Τυπικοί εκπρόσωποι της ομάδας αυτής είναι η φυτόλη, μία άκυκλη διτερπενική αλκοόλη, η οποία απαντάται σε δύο ισομερής μορφές την *trans*-φυτόλη και τη *cis*-φυτόλη και η μανουλοόλη μια δικυκλική διτερπενική αλκοόλη.



trans-φυτόλη

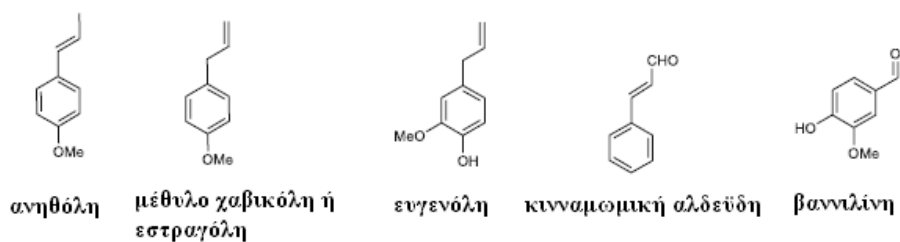
cis-φυτόλη



μανουλοόλη

III.4 Φαινυλοπροπανοειδή

Οι ενώσεις που ανήκουν στην ομάδα των φαινυλοπροπανοειδών αποτελούν μια ξεχωριστή κατηγορία συστατικών των αιθερίων ελαίων. Περιέχουν στο μόριό τους ένα βενζολικό δακτύλιο. Κύριοι εκπρόσωποι της κατηγορίας αυτής είναι η ανηθόλη, η μέθυλοχαβικόλη (ή εστραγόλη), η ευγενόλη, η κινναμωμική αλδεΐδη και η βανιλίνη (*Baser and Demirci, 2007*).



IV. Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή και τη σύσταση των αιθερίων ελαίων στα φυτά

IV.1 Γενικά

Τα αιθέρια έλαια μαζί με τα αλκαλοειδή και τα φαινολικά συστατικά είναι σημαντικά συστατικά του δευτερογενούς μεταβολισμού του φυτού. Η αξία τους κρίνεται τόσο από τη μέχρι σήμερα γνωστή χρήση τους από τη βιομηχανία φαρμάκων, τροφίμων και αρωμάτων, αλλά και από τις αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητές τους που ενισχύουν τη χρήση των αιθερίων ελαίων στα τρόφιμα. Καθίσταται έτσι τις περισσότερες φορές απαραίτητο να είναι γνωστή η κατάλληλη εποχή συλλογής, ώστε να επιτυγχάνεται η επιθυμητή σύσταση και απόδοση σε αιθέριο έλαιο. Για να γίνει αυτό εφικτό, θα πρέπει να είναι γνωστοί οι παράγοντες που καθορίζουν τη χημική σύσταση καθώς και την απόδοση του αιθερίου ελαίου στα φυτά.

Στη συνέχεια αναλύονται κάποιοι από αυτούς τους παράγοντες οι οποίοι και συζητούνται στην παρούσα εργασία (*Figueiredo et al. 2008*).

IV.1.1 Μεταβολές στη φυσιολογία του φυτού

Οι μεταβολές στη φυσιολογία του φυτού αφορούν:

- Το στάδιο ανάπτυξης των οργάνων (φύλλα, άνθη, καρποί)
- Το μέρος του φυτού (φύλλα, άνθη κ.λπ.) που αναλύεται
- Το εκκριτικό όργανο που παράγει τα αιθέρια έλαια
- Την εποχική διακύμανση
- Τις μηχανικές και χημικές βλάβες

IV.1.1.1 Το στάδιο ανάπτυξης των οργάνων

Το στάδιο ανάπτυξης των οργάνων του φυτού (φύλλα, άνθη, καρποί) είναι καθοριστικό για τη σύσταση του αιθερίου ελαίου του φυτού. Στις περισσότερες περιπτώσεις η απόδοση σε αιθέριο έλαιο είναι αυξημένη την περίοδο της ανθοφορίας. Ταυτόχρονα, η αναλογία κάποιων συστατικών αυξάνεται από 10%, που μπορεί να βρισκόταν στα αρχικά στάδια, σε 50-70% στο στάδιο της πλήρους άνθησης. Σύμφωνα με τους *Mañez et al. (1991)*, οι αλλαγές που παρατηρούνται στη σύσταση των πτητικών συστατικών κατά την ωρίμανση των οργάνων οφείλονται σε αντιδράσεις κυκλοποίησης και αφυδάτωσης των συστατικών.

IV.1.1.2 Το μέρος του φυτού που αναλύεται

Στις περισσότερες περιπτώσεις η σύσταση του αιθερίου ελαίου εξαρτάται από το μέρος του φυτού που αναλύεται: άνθη, πράσινα μέρη (φύλλα, βλαστοί), φλοιοί, ολόκληροι καρποί, περικάρπιο ή μόνο σπόροι, ρίζες κ.α.

Στο είδος *Achillea plarmica*, έχει βρεθεί ότι τα μονοτερπένια υπάρχουν μόνο στα άνθη και σχεδόν καθόλου στα πράσινα μέρη και τις ρίζες. Υψηλές συγκεντρώσεις μονοτερπενίων κυρίως α -φελλανδρενίου, λιμονενίου και φενχόνης στο αιθέριο έλαιο των ανθέων σχετίζονται με τη διαδικασία της επικονίασης. Η συγκέντρωση των τερπενοειδών είναι γενικά μεγαλύτερη στα αναπαραγωγικά όργανα, συνήθως, στην περίοδο πριν και τα διάρκεια της άνθησης. Επίσης, εξαιτίας του προστατευτικού ρόλου που παρέχουν στο φυτό έναντι φυσικών εχθρών, η συγκέντρωσή τους είναι αυξημένη στα νεαρά όργανα παρά στα ώριμα.

IV.1.1.3 Το εκκριτικό όργανο που παράγει τα αιθέρια έλαια

Οι διαφορές στη σύσταση του αιθερίου ελαίου στα διάφορα μέρη του φυτού μπορεί να εξηγηθεί εν μέρει και από την ετερογενή κατανομή των εκκριτικών οργάνων (τριχίδια, πόροι) στο φυτό. Συχνά από τα όργανα αυτά δεν εκκρίνονται τα ίδια συστατικά, ενώ μπορεί και ο μηχανισμός έκκρισης να είναι διαφορετικός ή ακόμα και να μην αναπτύσσονται ταυτόχρονα σε όλα τα μέρη του φυτού. Το είδος και η θέση των οργάνων αυτών είναι χαρακτηριστικά για κάθε οικογένεια.

IV.1.1.4 Εποχική διακύμανση

Σε πολλά είδη η σύσταση του αιθερίου ελαίου τους μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια του έτους, γεγονός που καθορίζει και την εποχή συλλογής του φυτού. Έτσι, ανάλογα με την εποχή παρατηρούνται αλλαγές στην ταυτότητα του κύριου συστατικού (*Crithmum maritimum*) ή ακόμη και της κύριας ομάδας (*Achillea millefolium*, οικ. Asteraceae). Συχνά οι μεταβολές στη σύσταση όσο και στην απόδοση σε αιθέριο έλαιο συνδέονται με τις καιρικές συνθήκες που επικρατούν τους διάφορους μήνες του έτους (διάρκεια ηλιοφάνειας, θερμοκρασία, υγρασία) ή ακόμη και με επιμολύνσεις από παθογόνους μικροοργανισμούς (ιδιαίτερα κατά τους μήνες με υψηλή βροχόπτωση).

Σε κάθε περίπτωση η εποχή συλλογής επιλέγεται βάσει του επιθυμητού συνδυασμού σύστασης και απόδοσης σε αιθέριο έλαιο.

IV.1.1.5 Μηχανικές και χημικές βλάβες

Η συγκέντρωση των δευτερογενών μεταβολιτών στο φυτό επηρεάζεται από πληγές ή προσβολές που μπορεί να προκληθούν από αρπακτικά πτηνά ή ακόμη και από την εφαρμογή ζιζανιοκτόνων. Στις περιπτώσεις αυτές νέα συστατικά μπορεί να παραχθούν ή ακόμη μπορεί να παρατηρείται αύξηση στη συγκέντρωση ή/και αλλαγή στις αναλογίες των ήδη υπαρχόντων συστατικών. Η αντίδραση ενός υγιούς φυτού σε οποιοδήποτε είδος μηχανικής ή χημικής βλάβης επιπλέον εξαρτάται και από το στάδιο ανάπτυξης του φυτού, τη διαθεσιμότητα του νερού, την ηλιοφάνεια κ.α.

IV.1.2 Περιβαλλοντικοί παράγοντες

IV.1.2.1 Το κλίμα

Η παραγωγή των αιθερίων ελαίων εξαρτάται άμεσα από τις κλιματικές συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον ανάπτυξης του φυτού. Το κλίμα είναι ίσως ο μοναδικός παράγοντας που διαφεύγει του ανθρώπινου ελέγχου, γι' αυτό και θεωρείται καθοριστικός στην ποιότητα των αιθερίων ελαίων. Έτσι, εξαιτίας των άνυδρων και θερμών καλοκαιρινών μηνών των τελευταίων ετών παρατηρήθηκε μείωση στην απόδοση σε αιθέριο έλαιο του δενδρολίβανου (στην Τυνησία) από 60-70 tn στους 20 tn για τα έτη 2002 και 2003 αντίστοιχα (*Ouahada, 2004*). Οι *Turtola et al (2003)* έδειξαν ότι υπό συνθήκες ξηρασίας η συγκέντρωση των τερπενίων αυξάνεται, ενώ μειώνεται η ανάπτυξη στα φυτά *Pinus sylvestris* και *Picea abies*. Στα είδη *Coriandrum sativum* και *Thymus vulgaris* η απόδοση σε αιθέριο έλαιο αυξάνει με την αύξηση της άρδευσης. Σε συνθήκες ξηρασίας μειώνεται η φωτοσυνθετική δραστηριότητα των φυτών και μεταβάλλεται η ικανότητα πρόσληψης θρεπτικών συστατικών. Κάτω από τέτοιες συνθήκες στρες, τα φυτά είναι περισσότερο επιρρεπή σε παθογόνους οργανισμούς και φυτοφάγα ζώα.

IV.1.2.2 Γεωγραφική θέση

Από πολλές βιβλιογραφικές αναφορές επιβεβαιώνεται ότι συχνά τόσο η απόδοση όσο και η σύσταση του αιθερίου ελαίου για το ίδιο είδος φυτού εξαρτάται από τη γεωγραφική θέση της καλλιέργειας. Έτσι, στη βιβλιογραφία παρατηρείται μία αξιοσημείωτη ποικιλότητα στην περιεκτικότητα των συστατικών αιθερίου ελαίου σε κάποια είδη φυτών (π.χ. *T. vulgaris*) που υποδηλώνει την ύπαρξη χημειοτύπων. Η ύπαρξη χημειοτύπων είναι το αποτέλεσμα διαφορών στις περιβαλλοντικές συνθήκες, στις συνθήκες καλλιέργειας (γεωγραφικό ύψος,

ηλιοφάνεια, τύπος εφάδους), οι οποίες καταλήγουν και σε γενετικές διαφοροποιήσεις των ειδών.

IV.1.2.3 Γενετικοί παράγοντες

Η παραγωγή και η χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων από τα φυτά είναι γενετικά καθορισμένη. Ωστόσο, μικρές διαφορές στο γονότυπο ατόμων του ίδιου είδους επηρεάζουν σημαντικά τη χημική σύσταση των δευτερογενών μεταβολιτών (δημιουργία χημειοτύπων), χωρίς να μεταβάλλουν την μορφολογία του

(<http://encyclopedia.thefreedictionary.com/chemotype>; Nemeth 2005).

IV.2 Ο Ρόλος Των Αιθερίων Ελαίων

Ορισμένα τερπένια θεωρούνται, λόγω του ζωτικού ρόλου τον οποίο επιτελούν, ως πρωτογενείς μεταβολίτες, όπως ορισμένες φυτορμόνες (αμπισικό οξύ (C_{15}) και γιββερελλίνες(C_{20})) (Taiz and Zeiger 1998), συστατικά των μεμβρανών (στερόλες (C_{30})) (Seigler 1998) και φωτοσυνθετικές και φωτοπροστατευτικές χρωστικές (φυτόλη στο μόριο της χλωροφύλλης και καροτενοειδή (C_{40})) (Taiz and Zeiger 1998). Ωστόσο στην πλειονότητά τους τα τερπενοειδή αποτελούν δευτερογενείς μεταβολίτες, η σύνθεση μάλιστα των οποίων συνδέεται στενά με τη διαφοροποίηση. Μίγματα τερπενοειδών (όπως η λιναλοόλη και το λιμονένιο) ή άλλων ουσιών συσσωρεύονται συνήθως σε κύτταρα με υψηλή εξειδίκευση όπως αδενώδεις τρίχες ή αδένες, με τη μορφή αιθερίων ελαίων. Οι δομές αυτές, είτε έχουν καθαρά αμυντικούς ρόλους, αφού τα προϊόντα τους παρουσιάζουν τοξική ή απωθητική δράση έναντι παθογόνων και φυτοφάγων (Taiz and Zeiger 1998 ; Jacobson 1982), είτε συμβάλλουν στην προσέλκυση των επικονιαστών ή των φυτοφάγων (Seigler 1998 ; Pichersky and Gershenzon 2002). Ορισμένα τερπένια όπως το (E)-β-οκιμένιο παίζουν ρόλο στην επαγόμενη άμυνα των φυτικών ιστών έναντι εντόμων, αφού προσελκύουν αρπακτικά είδη και συνεπώς συμβάλουν στην καταπολέμηση των φυτοφάγων (Dicke et al., 1990). Ορισμένα μονοτερπένια, συστατικά αιθερίων ελαίων δρουν ως φερομόνες εντόμων όπως η γερανιόλη, το μυρκενίο, το λιμονένιο και το α-και β-πινένιο (Pichersky and Gershenzon 2000). Υπάρχουν ενδείξεις ότι ορισμένα πτητικά συστατικά, μεταξύ αυτών και τερπένια, διαδραματίζουν ρόλο σημάτων συναγερμού, αφού ελευθερώνονται από τραυματισμένους φυτικούς ιστούς και επάγουν αμυντικούς μηχανισμούς σε γειτονικά, μη τραυματισμένα φυτά (Pichersky and Gershenzon 2000). Επίσης, ορισμένα μονοτερπένια ασκούν αλληλοπαθητική δράση (Anaya 1999; Inderjit and Keating, 1999) όπως η πικουερόλη A του φυτού *Piqueria trinervia* η οποία σε συγκεντρώσεις

50–200 rpm παρεμποδίζει την ανάπτυξη ανταγωνιστικών φυτών (Seigler 1998) . Άλλα συμμετέχουν στην επαγόμενη άμυνα έναντι παθογόνων και δρουν ως φυτοαλεξίνες.

Στο σημείο αυτό να διευκρινιστεί ότι με τον όρο «αλληλοπάθεια» νοείται κάθε βιοχημικού τύπου αλληλεπίδραση μεταξύ φυτών-συμπεριλαμβανομένων και των μικροοργανισμών- τόσο βλαβερού όσο και ωφέλιμου χαρακτήρα (Bókov 1983). Ανάμεσα στις ουσίες που έχει βρεθεί να έχουν τοξική δράση, κυρίαρχη θέση κατέχουν οι απλές φαινόλες, το βενζοϊκό και κυνναμωμικό οξύ καθώς και τα παράγωγά τους και ακολουθούν κουμαρίνες, φλαβονοειδή, ταννίνες, τερπένια, στεροειδή, κινόνες, κυανιδρίνες και σουλφίδια.

Η παραγωγή των αιθερίων ελαίων γίνεται σε ειδικευμένα εκκριτικά όργανα του φυτού. Ο πραγματικός ρόλος των αιθερίων ελαίων για τα φυτά δεν είναι μέχρι σήμερα γνωστός. Είναι γνωστό ότι είναι πρόδρομες ουσίες δραστικών μεταβολιτών. Επίσης μειώνουν την απώλεια του νερού με τη διαπνοή έχουν δηλαδή αντιδιαπνευστική δράση. Τα αιθέρια έλαια προσελκύουν τα έντομα που μαζεύουν γύρη και βοηθούν έτσι στην αναπαραγωγή με επικονίαση. Τέλος τα αιθέρια έλαια λόγω των διάφορων συστατικών που διαθέτουν έχουν αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες (Azaz et al., 2005; Panizzi et al., 1993; Yadegarinia et al., 2006; Chorianopoulos et al., 2006) .

IV.3 Αντιοξειδωτική Δράση Αιθερίων Ελαίων

Τα αιθέρια έλαια των αρωματικών φυτών, εκτός από τη συνεισφορά τους στο άρωμα των τροφίμων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σε μικρές ποσότητες για την πρόληψη ή καθυστέρηση αντιδράσεων αποικοδόμησης των λιπαρών υλών. Η χρήση των αιθερίων ως φυσικά αντιοξειδωτικά έχει προταθεί από πολλούς ερευνητές κυρίως στις περιπτώσεις τροφίμων όπου το άρωμά τους συνδέεται με τη χρήση συγκεκριμένων αιθερίων αρωματικών φυτών (Ruberto & Baratta 2000). Η αντιοξειδωτική δράση των αιθερίων ελαίων αρωματικών φυτών μπορεί να οφείλεται είτε στα κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου, είτε σε συστατικά που περιέχονται σε μικρές αναλογίες όπως ακόμη και στη συνδυαστική δράση των δύο προηγούμενων (Politeo et al., 2006).

Μέχρι σήμερα έχει μελετηθεί εκτενώς και αποδειχθεί η υψηλή αντιοξειδωτική δράση της θυμόλης και της καρβακρόλης, δύο υδροξυλιωμένων φαινολικών ενώσεων. Μάλιστα η ισχυρή αντιοξειδωτική δράση των δύο αυτών συστατικών που ανήκουν στην ομάδα των οξυγονωμένων μονοτερπενίων, συνδέεται περισσότερο με την παρουσία του –OH, παρά με το φαινολικό δακτύλιο (Shahidi 1997). Άλλες ενώσεις της ομάδας των οξυγονωμένων μονοτερπενίων παρουσιάζουν μικρότερη αντιοξειδωτική δράση, η οποία πάντως κάθε φορά εξαρτάται από τη χαρακτηριστική ομάδα που υπάρχει στο μόριο της ένωσης. Οι αλκοόλες, όπως και προηγουμένως αναφέρθηκε, και κυρίως οι αλλυλικές αλκοόλες είναι οι

περισσότερο δραστικές (π.χ. νερόλη, *cis*-βερμπενόλη γερανιόλη κ.α). Εξαίρεση στα προηγούμενα, χωρίς να μπορεί να δοθεί κάποια εξήγηση, αποτελεί η λιναλοόλη, μία τεταρτοταγής αλλυλική αλκοόλη η οποία εμφανίζει προοξειδωτική δράση, αλλά η αντιοξειδωτική της δράση δεν έχει διαπιστωθεί με καμία μέθοδο. Τέλος, οι μονοτερπενικές αλδεΐδες και κετόνες δεν κατατάσσονται στις ενώσεις με αντιοξειδωτική δράση. Οι σесκιτερπενικοί υδρογονάνθρακες όπως και οι μονοτερπενικοί έχουν πολύ μικρή αντιοξειδωτική δράση, ενώ τα οξυγονωμένα σесκιτερπένια με αλλυλικό -OH είναι περισσότερο δραστικά. (*Ruberto & Baratta 2000*).

V. Προετοιμασία δείγματος πτητικών συστατικών αιθερίων ελαίων

V.1 Γενικά

Τα αιθέρια έλαια είναι υγρά, και δεν αφήνουν κηλίδα σε διηθητικό χαρτί σε αντίθεση με τα λιπαρά έλαια. Είναι άχρωμα έως υποκίτρινα με ελάχιστες εξαιρέσεις (γαρυφαλλέλαιο, αιθέριο έλαιο χαμομηλιού). Δεν διαλύονται παρά ελάχιστα στο νερό, ενώ είναι διαλυτά σε αιθέρα, αιθανόλη και στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες. Κατά την παραμονή τους επί πολύ χρόνο μετά την παραλαβή τους σκουραίνουν, ρητινοποιούνται και παρουσιάζουν αλλοιώσεις στην οσμή τους. Αιτία αυτών αποτελούν οι αντιδράσεις αυτοοξειδώσεις, πολυμερισμού και υδρόλυσης των εστέρων. Η υγρασία, η θερμοκρασία και το φως επηρεάζουν τα αιθέρια έλαια, γι' αυτό πρέπει να φυλάσσονται σε μικρά και καλά κλεισμένα δοχεία γυάλινα ή μεταλλικά από ανοξειδωτο χάλυβα και σε θερμοκρασία 0 °C (Γαβαλάς 2004).

Οι κλασικές μέθοδοι παραλαβής των αιθερίων ελαίων είναι η απόσταξη, η εκχύλιση (κυρίως για άνθη ή άλλα φυτικά υλικά ευπαθή στην απόσταξη) και η μηχανική έκθλιψη (Σουλελής 2000; Bicchi 2000). Διεθνώς ως «αιθέριο έλαιο» ορίζεται το προϊόν παραλαβής με απόσταξη με ατμό (steam distillation, SD), υδροαπόσταξη (hydrodistillation, HD), ή έκθλιψη (expression) του φυτού ή μέρους αυτού (Bicchi 2000).

V.2 Σύγχρονες μέθοδοι προετοιμασίας δείγματος πτητικών συστατικών αιθερίων ελαίων

Τελευταία έχουν αναπτυχθεί νέες τεχνικές προετοιμασίας (Πίνακας 3) δειγμάτων πτητικών συστατικών αιθερίων ελαίων οι οποίες τις περισσότερες φορές συνδυάζονται και με ανάλυση σε αέριο χρωματογράφο. Τέτοιες είναι: η στατική ή δυναμική αέρια χρωματογραφία υπερκείμενου χώρου (static or dynamic headspace, HS-GC), η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Microextraction, SPME), η ταυτόχρονη απόσταξη-εκχύλιση (simultaneous distillation-extraction, SDE), η εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά (supercritical fluid extraction, SFE), η εκχύλιση με μικροκύματα (microwave assisted extraction, MAE), η εκχύλιση με μικροκύματα χωρίς τη χρήση διαλύτη (solvent free microwave extraction, SFME), η εκχύλιση με υπέρηχους (ultrasonic extraction ή sonication), και η υγρή εκχύλιση υπό πίεση (pressurized liquid extraction PLE ή accelerated solvent extraction) (Luque de Castro et al., 1999).

Πίνακας 3: Συνοπτική παρουσίαση σύγχρονων μεθόδων προετοιμασίας δείγματος πτητικών συστατικών αιθερίων ελαίων

Μέθοδος	Αρχή μεθόδου
Στατική αέρια χρωματογραφία υπερκείμενου χώρου (Static headspace gas chromatography)	Έμμεση μέθοδος προσδιορισμού των πτητικών συστατικών σε υγρά ή στερεά δείγματα. Στηρίζεται στην ανάλυση της αέριας φάσης ενός κλειστού συστήματος που βρίσκεται σε θερμοδυναμική ισορροπία (Poole et al., 1983; Bicchi 2000).
Δυναμική αέρια χρωματογραφία υπερκείμενου χώρου (dynamic headspace gas chromatography)	Τα πτητικά συστατικά παγιδεύονται πάνω σε ένα κατάλληλο υπόστρωμα, ανακτώνται με τη βοήθεια θέρμανσης ή διαλύτη και αναλύονται σε GC (Poole et al., 1983; Bicchi 2000).
Ταυτόχρονη απόσταξη-εκχύλιση (Likens and Nickerson) (Simultaneous Distillation-Extraction) (Nickerson et al., 1966)	Τα συστατικά του αιθερίου ελαίου αποστάζονται. Οι σχηματιζόμενοι υδρατμοί συμπυκνώνονται και στη συνέχεια εκχυλίζονται με ένα οργανικό διαλύτη. Οι Godefroot et al. (1981) περιέγραψαν μια συσκευή μικροαπόσταξης –εκχύλισης (microsteam distillation-extraction) όπου δεν είναι απαραίτητη η συμπύκνωση του εκχυλίσματος πριν την ανάλυση με GC.
Εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά (supercritical fluid extraction)	Στηρίζεται στην υψηλή εκχυλιστική ικανότητα ενός ρευστού (υγρού ή αερίου), όταν αυτό βρίσκεται σε συνθήκες υπερκρίσιμης κατάστασης.
Εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων (Microwave assisted extraction)	Στηρίζεται στη διαφορετική ικανότητα των συστατικών να απορροφούν την ενέργεια των μικροκυμάτων. Η ικανότητα αυτή καθορίζεται από τη διηλεκτρική σταθερά του συστατικού (Luque de Castro et al., 1999).
Εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων χωρίς διαλύτη (Solvent Free Microwave Extraction)	Συνδυάζει την ακτινοβολία των μικροκυμάτων με την ξηρή απόσταξη.

Εκχύλιση με χρήση υπερήχων (Ultrasonic extraction)	Η εφαρμογή των υπερήχων με χρήση διαλύτη προκαλεί κυτταρική λύση του φυτικού υλικού, με αποτέλεσμα την καλύτερη διείσδυση του διαλύτη και την αύξηση της απόδοσης εκχύλισης των συστατικών του αιθερίου ελαίου λόγω μεταφοράς μάζας (Huie 2002).
Εκχύλιση με εφαρμογή υψηλής πίεσης (Pressurized Liquid Extraction)	Στηρίζεται στην εφαρμογή υψηλής πίεσης, ώστε ο διαλύτης εκχύλισης να διατηρείται σε υγρή κατάσταση, ενώ η θερμοκρασία εκχύλισης είναι υψηλότερη από το σημείο ζέσεως του διαλύτη (Huie 2002).

V. 3 Απόσταξη

Είναι η πιο απλή και συνήθης μέθοδος παραλαβής αιθερίων ελαίων. Βασίζεται στη διαφορά του σημείου ζέσεως των συστατικών ενός διαλύματος. Περιλαμβάνει την υδροαπόσταξη, την υδρο-ατμοαπόσταξη, την απόσταξη με υδρατμούς και άλλα είδη απόσταξης. Η απόσταξη είναι γνωστή από αρχαιοτάτων χρόνων. Αναφέρεται ότι η τουρπεντίνη (turpentine) και η καμφορά είναι τα πρώτα συστατικά αιθερίου ελαίου που απομονώθηκαν με απόσταξη στην Ελλάδα από τον Ηρόδοτο (484-425π.χ.) (E. Hernandez 2000).

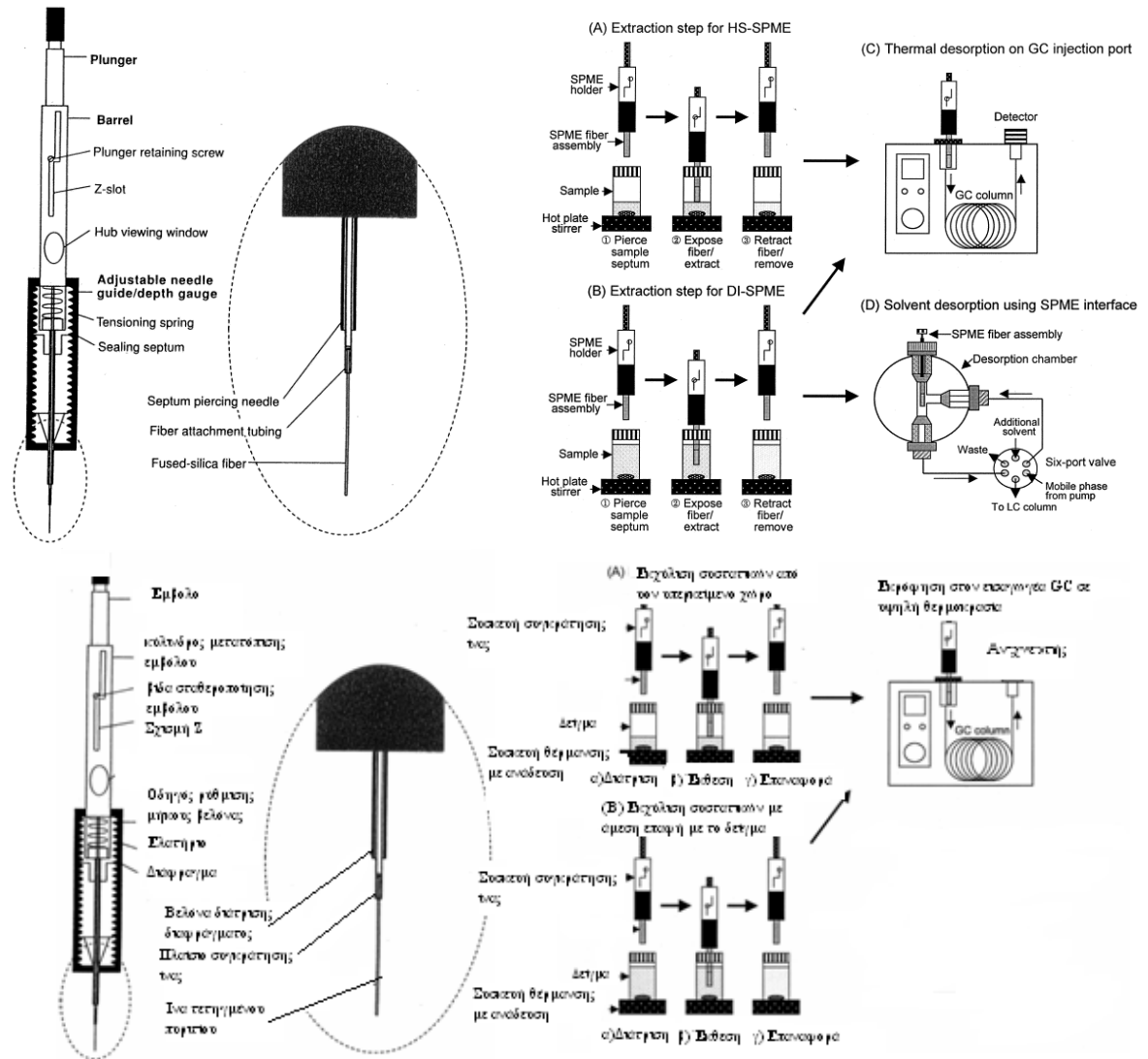
Η συσκευή της υδροαπόσταξης η οποία χρησιμοποιείται μέχρι και σήμερα ονομάζεται clevenger από το όνομα αυτού που την σχεδίασε το 1928. Σε πολλές φαρμακοποιίες περιγράφεται η συσκευή ενώ αυτή που περιλαμβάνεται στην Ευρωπαϊκή φαρμακοποιία περιγράφεται στην **Εικόνα 11**. Το προς απόσταξη φυτικό υλικό, τοποθετείται σε σφαιρική φιάλη με νερό. Όταν αρχίσει ο βρασμός οι σχηματιζόμενοι υδρατμοί οι οποίοι αποτελούν ένα ομογενές μίγμα αιθερίου ελαίου και ατμού συμπυκνώνονται στον ψυκτήρα (F,G). Το αιθέριο έλαιο και το νερό συλλέγονται στο διαβαθμισμένο σωλήνα J-L. Η κατώτερη υδατική στοιβάδα ανακυκλώνεται μέσω της διαδρομής M-B (Bicchi 2000). Χαρακτηριστικό της μεθόδου αυτής είναι ότι το νερό και το φυτικό υλικό βρίσκονται σε άμεση επαφή. Σήμερα χρησιμοποιείται μόνο σε εργαστηριακή κλίμακα (Καλλιτζάκης 1995).

V. 5 Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (solid-phase microextraction, SPME)

Η τεχνική μικροεκχύλισης στερεής φάσης αναπτύχθηκε από τους *Arthur & Pawliszyn (1990)* και αποτελεί μία νέα μέθοδο προετοιμασίας δειγμάτων, η οποία απαλοίζει τα περισσότερα μειονεκτήματα που παρουσιάζουν οι προαναφερθείσες τεχνικές.

Η συσκευή της SPME (**Εικόνα 12**) αποτελείται από μία τριχοειδή ίνα τύπου πυριτίου 1 cm (fused silica fiber), η οποία επικαλύπτεται στην εξωτερική της επιφάνεια από τη στατική φάση συνδεδεμένη σε ένα ατσάλινο έμβολο και από μία συσκευή συγκράτησης (holder) της ίνας που μοιάζει με μικροσύριγγα.

Το δείγμα τοποθετείται σε φιαλίδιο με διάτρητο πώμα το οποίο σφραγίζεται με ένα διάφραγμα (septum). Πριν την ανάλυση, η ίνα πρέπει να καθαρίζεται προς αποφυγή θορύβου στο χρωματογράφημα. Η σύριγγα εισάγεται τρυπώντας το διάφραγμα μέσα στο φιαλίδιο και πιέζοντας το έμβολο προς τα κάτω. Έτσι εκτίθεται η ίνα στον υπερκείμενο χώρο (headspace SPME) ή μέσα στο δείγμα (direct immersion SPME), εφόσον αυτό είναι υγρό και αφήνεται, ώστε να επιτευχθεί ισορροπία κατανομής μεταξύ της στατικής φάσης της ίνας και του δείγματος. Η μέγιστη ευαισθησία αποκτάται, όταν το σύστημα φτάσει σε ισορροπία, πράγμα που σημαίνει ότι το ποσό της ουσίας που έχει προσροφηθεί δεν αυξάνεται με περαιτέρω παράταση του χρόνου εκχύλισης. Ωστόσο, η συγκέντρωση της ουσίας που έχει προσροφηθεί από την ίνα είναι ανάλογη με την αρχική της ποσότητα, γεγονός το οποίο επιτρέπει πολλές φορές τον ποσοτικό προσδιορισμό, πριν επέλθει πλήρης ισορροπία στο σύστημα. Κατόπιν, η ίνα εκτίθεται στον εισαγωγέα του αέριου χρωματογράφου ή σε ειδικό σύστημα εισαγωγής υγρής χρωματογραφίας όπου εκροφώνται οι ουσίες από τη στατική φάση.



Εικόνα 12: Συσκευή SPME και διαδικασία απομόνωσης.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την απομόνωση των ουσιών με την τεχνική SPME αναφέρονται παρακάτω και θα πρέπει να βελτιστοποιούνται πριν από κάθε ανάλυση.

- Στατική φάση (τύπος της ίνας)
- Ανάδευση
- Θερμοκρασία
- Ιοντική ισχύς και pH
- Όγκος του δείγματος.

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάλυση με SPME είναι οι συνθήκες εκρόφησης από την ίνα. Συνήθως, στην αέρια χρωματογραφία χρησιμοποιούνται liner με

μικρή εσωτερική διάμετρο (< 1mm) ή κρυογονική ψύξη στη αρχή της τριχοειδούς στήλης που έχουν ως αποτέλεσμα τη βελτίωση των χρωματογραφημάτων, επειδή οι κορυφές γίνονται πιο οξείες. Επίσης, η θερμοκρασία και ο χρόνος εκρόφησης είναι απαραίτητο να βελτιστοποιούνται για κάθε ανάλυση (*Prosen et al., 1999; Lord et al., 2000; Kataoka et al., 2000; Zhang et al., 1993; Boyd-Boland et al., 1994; Bartelt, 1997; Roberts et al., 2000; www.supelco.com*).

Πίνακας 4: Τύποι ίνας που χρησιμοποιούνται στην τεχνική SPME (*Reineccius 2007*).

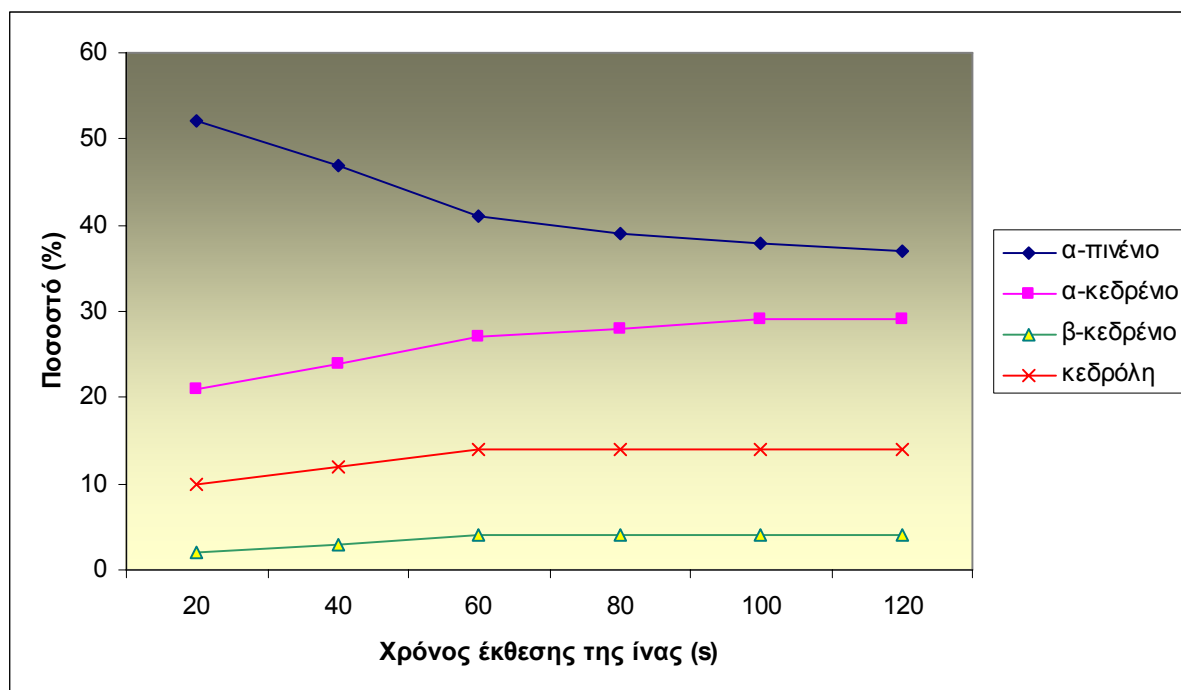
Υλικό ίνας	Εφαρμογή
Poly(dimethylsiloxane)ή PDMS	Μη πολική ίνα για μη πολικά συστατικά
Poly(dimethylsiloxane)/divinylbenzene ή PDMS/DVB	ή Ιδανική για πολικά συστατικά, ιδιαίτερα για την ομόλογη σειρά των αμινών
Polyacrylate ή PA	Υψηλής πολικότητας ίνα για γενική χρήση, ιδανική για φαινολικά
Carboxen/poly(dimethylsiloxane) ή CAR/PDMS	ή Για αέρια/πηκτικά συστατικά και συστατικά σε μικρή συγκέντρωση (trace analysis)
Carbowax/divinylbenzene ή CAR/DVB	Για πολικά συστατικά, ιδιαίτερα αλκοόλες
Carbowax/templated resin	Για εφαρμογές στην HPLC
Divinylbenzene/Carboxen// poly(dimethylsiloxane) ή DVB/CAR/PDMS	Ιδανική για ευρύ φάσμα συστατικών διαφορετικής πολικότητας

V. 5. 1 Εφαρμογές της τεχνικής SPME στην ανάλυση αιθερίων ελαίων

Η τεχνική της SPME χρησιμοποιήθηκε αρχικά στην ανάλυση ρύπων σε υγρά απόβλητα, γρήγορα όμως βρήκε εφαρμογές στην απομόνωση πτητικών συστατικών στα τρόφιμα. Η ευαισθησία της και η εκλεκτικότητα που παρουσιάζει, εξαιτίας των διαφορετικής πολικότητας των ινών, την καθιστά χρήσιμη και στην απομόνωση συστατικών των αιθερίων ελαίων (*Huie 2002*). Ωστόσο, οι μελέτες σε σχέση με την επίδραση των παραμέτρων (τύπος ίνας, φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ίνας/συστατικού, θερμοκρασία και χρόνος αποκατάστασης ισορροπίας, ρυθμός διάχυσης συστατικού από τον υπερκείμενο χώρο προς το υλικό της ίνας) που υπεισέρχονται στη διαδικασία εκχύλισης με την SPME συστατικών των αιθερίων ελαίων από αρωματικά φυτά είναι σχετικά περιορισμένες στη βιβλιογραφία (*Bicchi et al 2000*).

Η μελέτη της επίδρασης του χρόνου έκθεσης της ίνας στην απομόνωση των πτητικών συστατικών από το αιθέριο έλαιο του κέδρου που έγινε από τους *Coleman et al. 1997*, για τα

τέσσερα βασικά συστατικά που φαίνονται στο **Σχήμα 8**, έδειξε ότι το ποσοστό των χαμηλού μοριακού βάρους συστατικών (όπως το α -πινένιο) μειώνεται με το χρόνο έκθεσης της ίνας, ενώ αντιθέτως στα υψηλότερου μοριακού βάρους συστατικά το ποσοστό προσρόφησης από το υλικό της ίνας αυξάνει.



Σχήμα 8: Ποσοστό (%) συστατικών σε συνάρτηση με το χρόνο έκθεσης της ίνας (PDMS-100 μ m, Supelco) στην εκχύλιση αιθερίου ελαίου από το φυτό κέδρος με SPME (*Coleman et al. 1997*).

Οι *Bicchi et al. (2000)* μελέτησαν την απόδοση οκτώ διαφορετικών ειδών ιών στην απομόνωση συστατικών των αιθερίων ελαίων από διάφορα φυτά όπως φαίνονται στον **Πίνακα 5**. Βρέθηκε ότι με την SPME η ανάκτηση των λιγότερο πτητικών και περισσότερο πολικών συστατικών είναι πολύ καλή. Το υλικό της ίνας, που φαίνεται να είναι κατάλληλο για την απομόνωση της κατηγορίας των συστατικών αυτών, είναι εκείνο που αποτελείται από PDMS για τα λιγότερο πολικά συστατικά και από DVB, CAR ή και τα δύο υλικά, για τα περισσότερα πολικά συστατικά αντίστοιχα.

Πίνακας 5: Εφαρμογές της SPME στην απομόνωση αιθερίων ελαίων αρωματικών φυτών

Υλικό ίνας	Φυτό
PDMS 7μm	(δεν αναφέρεται κάποια εφαρμογή)
PDMS 30μm	(δεν αναφέρεται κάποια εφαρμογή)
PDMS 100μm	Φασκόμηλο, δενδρολίβανο, βαλεριάνα
CAR/DVB 65μm	θυμάρι
CAR/PDMS 75 μm	(δεν αναφέρεται κάποια εφαρμογή)
PA 85 μm	θυμάρι
PDMS/DVB 65 μm	Φασκόμηλο, δενδρολίβανο, βαλεριάνα
CAR/DVB/PDMS 50/30 μm (2cm)	Φασκόμηλο, δενδρολίβανο, θυμάρι, βαλεριάνα

V. 6 Μηχανική Παραλαβή

Ακολουθώντας τη μέθοδο της μηχανικής παραλαβής, τα αιθέρια παραλαμβάνονται μόνο με μηχανικά μέσα (expression or pressing). Η παραλαβή συνήθως γίνεται με συμπίεση ή σύνθλιψη του προς κατεργασία φυτικού υλικού. Η μέθοδος χρησιμοποιείται σε ξηρούς καρπούς και φλοιούς εσπεριδοειδών.

V. 7 Σχόλιο στις μεθόδους προετοιμασίας δείγματος πτητικών συστατικών αιθερίων ελαίων

Σχετικά με τις μεθόδους προετοιμασίας δείγματος που αναφέρθηκαν προηγουμένα, πρέπει να τονιστεί ότι καμία από αυτές δεν είναι ικανή να οδηγήσει πλήρως στην ποιοτική και ποσοτική παραλαβή όλων των αρωματικών συστατικών του αιθερίου ελαίου του φυτού. Ακόμα και ο συνδυασμός δύο μεθόδων συχνά εισάγει περισσότερα σφάλματα. Έτσι η επιλογή της μεθόδου προετοιμασίας δείγματος θα πρέπει να στηρίζεται στην αξιολόγηση των πλεονεκτημάτων της κάθε μία από αυτές για την επίτευξη των στόχων της έρευνας. ([Reineccius 2007](#)).

V. 8 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός συστατικών αιθερίων ελαίων

V.8. 1 Αέρια χρωματογραφία – φασματοσκοπία μάζας (GC-MS)

Από τις αρχές της δεκαετίας του '70 ξεκίνησαν οι πρώτες αναλύσεις για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό διαφόρων ενώσεων σε φρούτα και λαχανικά, με χρήση της αεριοχρωματογραφίας (GC). Ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος ανιχνευτής ήταν ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας FID (Flame Ionization Detector).

Τον ίδιο καιρό, η εφαρμογή της φασματοσκοπίας μαζών (MS-Mass Spectroscopy) διευρυνόταν σε πολλούς τομείς, λόγω της ανάπτυξης των τεχνικών παραγωγής ιόντων από μη πτητικά ή θερμικώς ασταθή μόρια.

Η φασματοσκοπία μαζών είναι ίσως η τεχνική που παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ποικιλία εφαρμογών, παρέχοντας πληροφορίες σχετικά με τη σύσταση του εξεταζόμενου δείγματος, τη δομή ανόργανων, οργανικών και βιολογικών μορίων, την ποιοτική και ποσοτική σύσταση σύνθετων μιγμάτων, καθώς και την ισοτοπική αναλογία σε δείγματα.



Εικόνα 13: Συσκευή Αέρια χρωματογραφίας – Φασματοσκοπία μάζας (GC-MS)

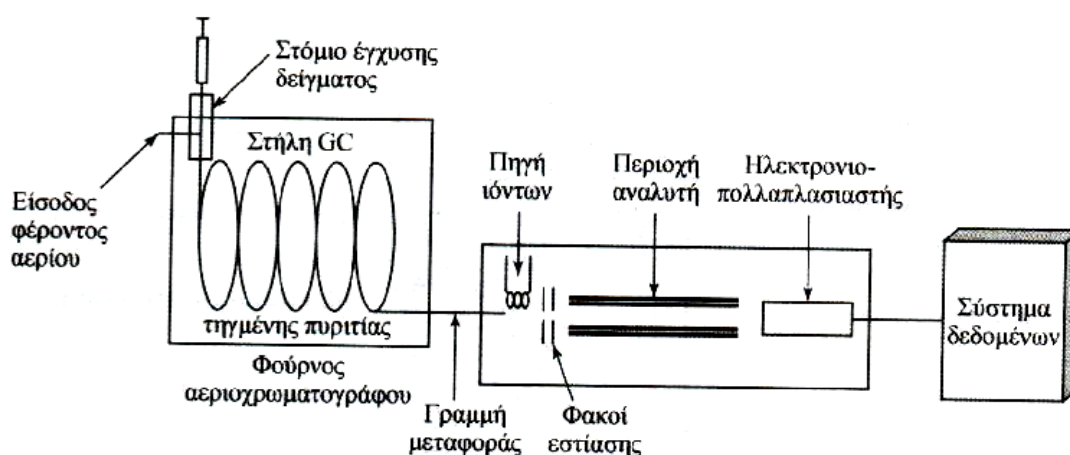
Εντούτοις, η χρησιμότητά της στην ανάλυση πολύπλοκων μιγμάτων περιορίζεται λόγω του μεγάλου πλήθους παραγόμενων θραυσμάτων διαφορετικών τιμών m/z . Για το λόγο αυτό,

έχουν αναπτυχθεί τεχνικές στις οποίες φασματογράφοι μαζών συζευγνύονται με συστήματα διαχωρισμού. Όταν δύο ή περισσότερες τεχνικές ή όργανα διαχωρισμού συνδέονται για τη δημιουργία ενός νέου και αποτελεσματικότερου οργάνου, τότε η προκύπτουσα τεχνική συχνά αναφέρεται ως “συζευγμένη τεχνική” (hyphenated technique). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η σύζευξη της αεριοχρωματογραφίας με τη φασματοσκοπία μαζών (GC-MS) (Εικόνα 13), μία τεχνική που έχει γίνει ένα από τα χρησιμότερα εργαλεία για την ανάλυση πολύπλοκων οργανικών και βιοχημικών μιγμάτων.

V.8.1.1 Οργανολογία GC-MS

Στην αεριοχρωματογραφία, ο διαχωρισμός των πτητικών συστατικών βασίζεται στην κατανομή τους μεταξύ ενός μη πτητικού υγρού (στατική φάση), καθηλωμένου σε στερεό φορέα ή στα τοιχώματα ανοικτών τριχοειδών στηλών και ενός αερίου (κινητή φάση, φέρον αέριο).

Αρχικά, το δείγμα εισάγεται στον αεριοχρωματογράφο, όπου το μίγμα των συστατικών εξαερώνεται. Τα συστατικά κινούνται μέσα στη στήλη με διαφορετικές ταχύτητες, που εξαρτώνται από τη τάση των ατμών τους και από τις αλληλεπιδράσεις τους με τη στατική φάση. Οι διαχωριζόμενες ενώσεις κατόπιν εισέρχονται απευθείας στο φασματογράφο μάζας (Εικόνα 14).



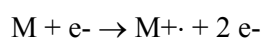
Εικόνα 14: Διάγραμμα ενός τυπικού αεριοχρωματογράφου τριχοειδούς στήλης συζευγμένου με φασματογράφο μάζας.

Οι ουσίες που εισέρχονται στο φασματογράφο μαζών θραυσματοποιούνται παράγοντας ιόντα (ion fragments). Η θραυσματοποίηση των ενώσεων είναι δυνατόν να γίνει

με διάφορους τρόπους, αλλά συνήθως επιτυγχάνεται με δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας (ιοντισμός με πρόσκρουση ηλεκτρονίων-Electron Impact).

Τα αέρια μόρια τα οποία εξέρχονται από τη στήλη διαχωρισμού του αεριοχρωματογράφου, εισέρχονται στην πηγή ιοντισμού του φασματογράφου μαζών. Εκεί βομβαρδίζονται με μία δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας (70 eV), η οποία είναι αρκετή για να προκαλέσει την απώλεια ενός ηλεκτρονίου από το μόριο, καθώς και να οδηγήσει στη διάσπαση συγκεκριμένων χημικών δεσμών.

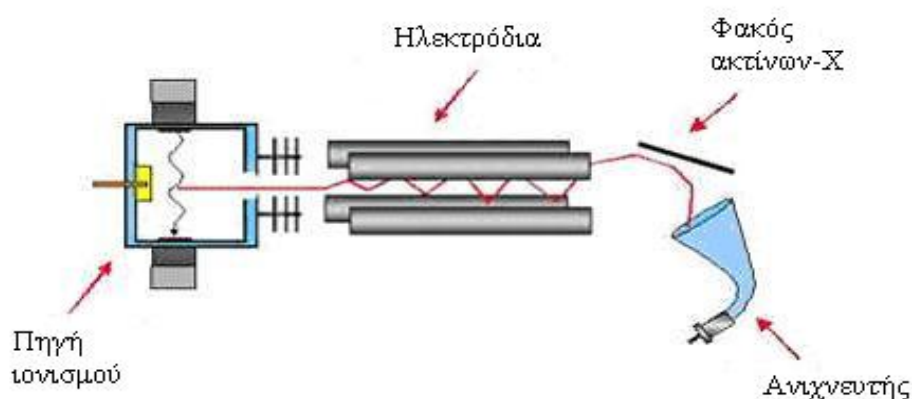
Το πρωταρχικό προϊόν θραυσματοποίησης είναι μονοφορτισμένα θετικά ιόντα (M^{+}). Το M αντιπροσωπεύει το μόριο της ουσίας και το M^{+} το μοριακό ιόν της. Το μοριακό ιόν εμπεριέχει αρκετή ενέργεια, η οποία οδηγεί στη διάσπαση χημικών δεσμών και στη δημιουργία νέων θετικών ιοντικών θραυσμάτων.



Τα ιόντα που παράγονται στην πηγή των ιόντων ωθούνται στον αναλυτή μαζών, επιταχυνόμενα από μια σειρά ηλεκτροδίων. Υπάρχουν αρκετοί διαφορετικοί τύποι αναλυτών μαζών, όπως ο αναλυτής μαγνητικού τομέα απλής και διπλής εστίασης (magnetic sector single and double focusing), ο τετραπολικός αναλυτής (quadrupole), ο αναλυτής παγίδας ιόντων (ion trap) και ο αναλυτής χρόνου πτήσης (time-of-flight).

Ο συνηθέστερος τύπος φασματόμετρου μαζών είναι ο τετραπολικός αναλυτής μαζών. Το όργανο αυτό έχει μικρό μέγεθος, χαμηλό κόστος και είναι μηχανικά ανθεκτικότερο σε σχέση με τους περισσότερους τύπους φασματόμετρων μαζών. Επίσης έχει το πλεονέκτημα των υψηλών ταχυτήτων σάρωσης, ώστε ολόκληρο το φάσμα μαζών να λαμβάνεται σε χρόνο μικρότερο των 100 ms.

Ο τετραπολικός αναλυτής μαζών αποτελείται από 4 παράλληλες μεταλλικές ράβδους συμμετρικά τοποθετημένες ως προς τη δέσμη ιόντων και διαγωνίως συνδεδεμένες ηλεκτρικά μεταξύ τους. Κάθε ζεύγος ράβδων συνδέεται με τον πόλο πηγής τάσης που περιέχει μία συνεχή (U) και μια εναλλασσόμενη τάση $\{V=V_0\cos(\omega t)\}$ υψίσυχνη, στην περιοχή των ραδιοσυχνοτήτων, συνιστώσα (Εικόνα 15).



Εικόνα 15 : Τετραπολικό φασματόμετρο μαζών

Για δεδομένη συχνότητα και δεδομένες U και V , μόνο ιόντα με ορισμένη τιμή λόγου m/z θα εξέλθουν από το τετραπολικό φίλτρο, ενώ τα υπόλοιπα θα προσκρούσουν στους πόλους και θα χάσουν το φορτίο τους. Η μεταβολή των τιμών m/z γίνεται είτε μεταβάλλοντας τη συχνότητα του εναλλασσόμενου ρεύματος και διατηρώντας σταθερές τις τιμές U και V , είτε διατηρώντας σταθερή τη συχνότητα του εναλλασσόμενου ρεύματος και μεταβάλλοντας τις τιμές U και V , με τέτοιο τρόπο όμως, ώστε ο λόγος U/V να παραμένει σταθερός.

Με κατάλληλο ανιχνευτή μπορεί να μετρηθεί το ηλεκτρικό ρεύμα που παρέχουν τα ιόντα με διαφορετικό λόγο m/z . Το διάγραμμα που δείχνει την ένταση του μετρούμενου ρεύματος (σε σχετικές μονάδες), ως συνάρτηση του λόγου m/z , ονομάζεται φάσμα μαζών. Επειδή τα ιόντα που παράγονται φέρουν κατά κανόνα φορτίο ίσο με τη μονάδα, ο λόγος m/z αντιστοιχεί αριθμητικά με το μοριακό βάρος του ιόντος. Το μοριακό βάρος εκφράζεται σε μονάδες ατομικής μάζας (amu, atomic mass units) με βάση το ισότοπο του ^{12}C , που κατά συνθήκη αντιστοιχεί ακριβώς σε 12,000000 amu.

Η ένταση των ιόντων που φθάνουν στον ανιχνευτή καταγράφεται και παρουσιάζεται με τη μορφή του συνόλου των εντάσεων των ιόντων (TIC: Total Ion Current) ως γράφημα παρόμοιο με εκείνο ενός τυπικού αεριοχρωματογράφου. Πιο συγκεκριμένα, στον άξονα Y παρουσιάζεται η ένταση του συνόλου των ιόντων που φθάνουν στον ανιχνευτή, ενώ στον άξονα X παρουσιάζεται ο χρόνος ή αριθμοί σάρωσης (scan numbers). Σε κάθε αριθμό σάρωσης, το όργανο έχει σαρώσει ένα πλήρες εύρος περιοχής λόγων m/z (π.χ. 40-500 m/z).

Τα φασματόμετρα μαζών μπορούν να ρυθμιστούν έτσι, ώστε να σαρώνουν ένα εύρος m/z από 10 φορές/s μέχρι 1 φορά/s. Επομένως, κάθε αριθμός σάρωσης αντιστοιχεί με ένα φάσμα μάζας σε συγκεκριμένη χρονική στιγμή. Με αυτόν τον τρόπο λαμβάνονται τα φάσματα μαζών ολικής σάρωσης (full scan).

Ένας άλλος τρόπος ανάλυσης με φασματόμετρο μαζών, είναι η τεχνική σάρωσης ιόντων με συγκεκριμένο λόγο m/z , και όχι ολόκληρης περιοχής m/z . Αυτή αναφέρεται ως SIM (single ion monitoring). Με αυτόν τον τρόπο αυξάνεται σημαντικά η ευαισθησία, η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα αλλά χάνονται οι πληροφορίες που αφορούν τη δομή της ανιχνευόμενης ουσίας.

V.8.1.2 Εφαρμογή της αέριας –υγρής χρωματογραφίας στην ανάλυση αιθερίων ελαίων

Καθώς η αέρια – υγρή χρωματογραφία (GLC-gas liquid chromatography), αποτελεί ένα πολύ καλό αναλυτικό εργαλείο στην ανάλυση συστατικών αιθερίων ελαίων, οι

προσπάθειες πολλών επιστημών στράφηκαν στη δημιουργία βιβλιοθηκών συστατικών αιθέριων ελαίων από θερμοκρασιακά προγραμματισμένα πρότυπα χρωματογραφήματα, ώστε τα αποτελέσματα του ποιοτικού προσδιορισμού των συστατικών αιθέριων ελαίων από διαφορετικά εργαστήρια να είναι συγκρίσιμα. Γρήγορα όμως διαπιστώθηκε ότι τα αποτελέσματα των αναλύσεων διαφορετικών εργαστηρίων δε μπορούσαν να είναι συγκρίσιμα καθώς όπως αποδείχτηκε το θερμοκρασιακό πρόγραμμα και το υλικό κατασκευής της στήλης του χρωματογράφου επηρέαζαν σημαντικά την επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων (*Analytical Methods Committee, 1980*).

Στα πρώτα πειράματα που έγιναν, με καλά αποτελέσματα (υψηλή αναπαραγωγικότητα και αποτελεσματικότητα), προς την κατεύθυνση της λύσης του προβλήματος, με στήλες πληρώσεως, τα εργαστήρια ακολουθούσαν μια σταθερή διαδικασία για την κατασκευή της στήλης (στην προετοιμασία της στατικής φάσης και του υλικού πληρώσεως).

Με την πρόοδο των αναλυτικών τεχνικών η χρήση των στηλών πληρώσεως περιορίστηκε και αντικαταστάθηκε από τις τριχοειδείς στήλες, οι οποίες πλέον διατίθενται στην αγορά από πολλούς προμηθευτές. Έτσι δεν είναι δυνατός ο έλεγχος της κατασκευής των στηλών από τα εργαστήρια.

Με το θέμα αυτό ασχολήθηκε η Υπο – Επιτροπή για τα Αιθέρια Έλαια που ανήκει στην Επιτροπή για Αναλυτικές Μεθόδους (*Analytical Methods Committee*), προκειμένου να γίνουν συγκρίσιμα τα αποτελέσματα των αναλύσεων διαφορετικών εργαστηρίων που χρησιμοποιούν στήλες από διαφορετικούς προμηθευτές. Η επιτροπή στηρίχτηκε σε εργασία του *Van de Dool (1974)*, στην οποία περιγράφεται μια μέθοδος για το χαρακτηρισμό των στηλών GLC χρησιμοποιώντας τους Σχετικούς Χρόνους Κατακράτησης (*Relative Retention Indices – RRI*s) μιας ομάδας 6 συστατικών. Χρησιμοποιώντας τα RRI του μίγματος των 6 συστατικών σε μια συγκεκριμένη στήλη, με μια σειρά υπολογισμών καταλήγει σε ένα αριθμητικό αποτέλεσμα αντιπροσωπευτικό της πολικότητας της συγκεκριμένης στήλης το οποίο καλείται *g – pack value*. Τα πειράματα του *Van de Dool* έγιναν σε στήλες πληρώσεως και δύο είδη στατικών φάσεων: την SE – 30 ως μη πολική στήλη και την Carbowax 20M ως πολική στήλη. Η έννοια του *g – pack value* μπορεί να εφαρμοστεί σε οποιαδήποτε στήλη.

V.8.2 Σχετικός Χρόνος Κατακράτησης (Relative Retention Indices – RRI)

Το μίγμα ενώσεων που χρησιμοποιείται στα πειράματα που αναφέρονται παραπάνω, είναι γνωστό ως NC (*Netherlands Committee*) μίγμα. Αποτελείται από 6 συστατικά με χαρακτηριστικές ομάδες όμοιες με αυτές που συναντώνται στα αιθέρια έλαια. Επιπλέον τα δύο από τα τρία ζευγάρια συστατικών εκλούνται πολύ κοντά είτε σε πολική είτε σε άπολη

στήλη. Το μίγμα NC αποτελείται από λεμονένιο, λιναλοόλη, οξικό αστέρα της λιναλοόλης, ακετοφενόνη, ναφθαλίνιο και κινναμωμική αλκοόλη.

Στον υπολογισμό του Σχετικού Χρόνου Κατακράτησης των συστατικών χρησιμοποιείται και μία ομόλογη σειρά ζυγών υδρογονανθράκων (C₈-C₂₄). Τα κανονικά αλκάνια μπορούν να χρησιμοποιηθούν με πολύ καλά αποτελέσματα ως συστατικά αναφοράς καθώς βρίσκονται σε καθαρή μορφή, είναι εξαιρετικά σταθερά και εμφανίζουν τις λιγότερες χρωματογραφικές ανωμαλίες. Επιπλέον η χρήση μιας οποιασδήποτε άλλης ομόλογης σειράς ενώσεων σε συνθήκες προγραμματιζόμενης λειτουργίας παρουσιάζει πολλές αποκλίσεις από τη γραμμικότητα χρόνου έκλουσης – αριθμού ατόμων C. Η απόκλιση αυτή είναι ακόμα μεγαλύτερη για τις ομόλογες σειρές πολικών ενώσεων και αυτός είναι ένας ακόμη λόγος για την επιλογή της ομόλογης σειράς n-αλκανίων.

Ο Σχετικός Χρόνος Κατακράτησης δίνεται από τον παρακάτω τύπο:

$$RRI = \frac{\{200 \times (Rtc - Rtn)\}}{Rt(n + 2) - Rtn} + 100n$$

Όπου:

n: ο αριθμός των ατόμων άνθρακα του πρώτου υδρογονάνθρακα,

Rtc: ο χρόνος κατακράτησης (RRI) του υπό εξέταση συστατικού

Rtn: ο χρόνος κατακράτησης του υδρογονάνθρακα που προηγείται του συστατικού, και

Rt(n+2): ο χρόνος κατακράτησης του υδρογονάνθρακα που έπεται του συστατικού.

V.8.3 Η τεχνική του εσωτερικού προτύπου

Το εμβαδό (επιφάνεια) μιας χρωματογραφικής κορυφής υπό ορισμένες προϋποθέσεις (σταθερές πειραματικές συνθήκες, ανίχνευση στην περιοχή γραμμικής αποκρίσεως του ανιχνευτή κλπ.) είναι **ανάλογο** της ποσότητας ενός συστατικού.

Εάν ο ανιχνευτής αποκρίνεται πανομοιότυπα σε όλα τα συστατικά ενός μείγματος ουσιών, οι σχετικές επιφάνειες των κορυφών είναι ίσες με τις αντίστοιχες ποσότητες των συστατικών. Συχνά όμως αυτό δεν συμβαίνει και η ευαισθησία του ανιχνευτή είναι διαφορετική για διαφορετικές ενώσεις (η ευαισθησία ενός ανιχνευτή ιονισμού φλόγας ποικίλλει ανάλογα με τον αριθμό ατόμων άνθρακα στο μόριο της ουσίας κλπ.). Στις περιπτώσεις αυτές η μετατροπή της τιμής της μετρούμενης παραμέτρου σε αναλυτική πληροφορία (στην επιθυμητή π.χ. συγκέντρωση) πραγματοποιείται με μία από τις διαθέσιμες τεχνικές ποσοτικοποίησης (Χατζηγιάννου, Θ., Ευσταθίου, Κ., 1992). Στην παρούσα

διατριβή χρησιμοποιήθηκε η τεχνική του εσωτερικού προτύπου η οποία περιγράφεται στη συνέχεια.

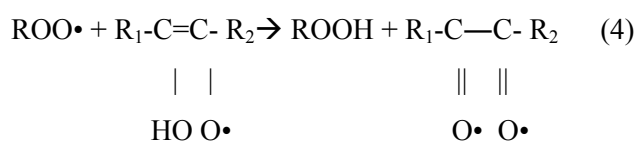
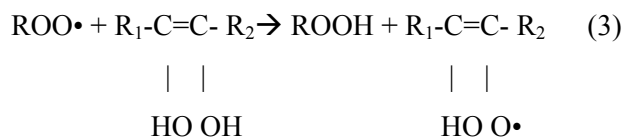
Η αρχή της τεχνικής βασίζεται στην παραδοχή ότι αν για οποιοδήποτε λόγο αυξηθεί ή μειωθεί η ευαισθησία του ανιχνευτή κατά τον προσδιορισμό του συστατικού A, κατά το ίδιο ποσοστό θα αυξηθεί ή θα ελαττωθεί η ευαισθησία του ανιχνευτή και για ένα άλλο συστατικό B, του οποίου η μέτρηση βασίζεται στην ίδια αρχή και μπορεί να πραγματοποιηθεί με τον ίδιο ανιχνευτή. Προϋποτίθεται αναλογική σχέση μεταξύ της μετρούμενης παραμέτρου και της αναλυτικής πληροφορίας (π.χ. συγκέντρωση) και για τα δύο συστατικά. Έτσι ο λόγος σημάτων P_A/P_B , που αντιστοιχεί στα συστατικά A και B, παραμένει σταθερός και ανεξάρτητος από τις διακυμάνσεις της ευαισθησίας του ανιχνευτή. Εάν θέλουμε να προσδιορίσουμε μόνο το συστατικό A, τότε, ρυθμίζουμε την περιεκτικότητα του δείγματος στο συστατικό B, το οποίο θα αποτελέσει και το εσωτερικό πρότυπο (ή συστατικό-πρότυπο). Έτσι ισχύει η σχέση:

$$F = \frac{P_A / P_B}{X_A / X_B}$$

Όπου το F είναι ένας εμπειρικός παράγοντας αποκρίσεως για κάθε συστατικό ο οποίος προσδιορίζεται πειραματικά, P_A και P_B είναι οι συγκεντρώσεις του συστατικού A και της ουσίας αναφοράς B (προτύπου) και X_A , X_B τα εμβαδά των αντίστοιχων κορυφών. Όταν χρησιμοποιείται η μέθοδος του εσωτερικού προτύπου, οι σχετικές επιφάνειες των κορυφών για δύο ενώσεις παραμένουν σταθερές και ανεξάρτητες από την ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου.

Αναγκαίες προϋποθέσεις για την εφαρμογή της μεθόδου του εσωτερικού προτύπου είναι: α) η δυνατότητα σύγχρονης μέτρησης των σημάτων του συστατικού και του εσωτερικού προτύπου (συστατικό-πρότυπο). β) Να μην προϋπάρχει στο δείγμα το συστατικό-πρότυπο ή εάν προϋπάρχει, να είναι επακριβώς γνωστή η περιεκτικότητά του, ώστε να είναι εφικτή η ρύθμιση της τιμής P_B .

Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με τη στοιχειομετρική φύση της αντίδρασης, οδηγεί στην αναγωγή δύο μορίων DPPH από δύο μόρια αντιοξειδωτικού AH. Εάν ωστόσο το μόριο έχει δύο γειτονικά σημεία διαθέσιμα για τη δέσμευση του υδρογόνου, τα οποία συνδέονται εσωτερικά της αλυσίδας (όπως π.χ. στην περίπτωση του αντιοξειδωτικού ασκορβικό οξύ $R_1COH=R_2COH$), μπορεί να ακολουθήσει περαιτέρω απόσπαση υδρογόνου, όπως φαίνεται στις αντιδράσεις (3) και (4):



Το γεγονός αυτό οδηγεί στην αναγωγή δύο μορίων DPPH από ένα μόριο ασκορβικού οξέος (*Molyneux, 2004*).

Το ελεύθερο ηλεκτρόνιο της ελεύθερης ρίζας DPPH δίνει δυνατή απορρόφηση στα 517nm και το διάλυμα στην κατάσταση αυτή χαρακτηρίζεται από ένα μωβ-κυανό χρώμα. Καθώς το ελεύθερο ηλεκτρόνιο ενώνεται με το υδρογόνο του αντιοξειδωτικού RH, το οποίο δεσμεύει την ελεύθερη ρίζα, σχηματίζεται η ανηγμένη μορφή DPPH-H και η απορρόφηση του διαλύματος της ρίζας DPPH μειώνεται από 9660 (που ήταν στα 517nm) στα 1640 mol x L⁻¹ x cm, σύμφωνα με το νόμο του Beer-Lambert (*Molyneux, 2003*). Η διαδικασία αυτή χαρακτηρίζεται από αποχρωματισμό του αρχικού διαλύματος, δίνοντας τελικά ένα κιτρινόχρωμο διάλυμα. Η ένταση του τελικού αποχρωματισμού εξαρτάται στοιχειομετρικά από τον αριθμό των δεσμευόμενων ηλεκτρονίων (*Prakash, 2001*).

Τα αντιοξειδωτικά συστατικά μπορεί να είναι υδατοδιαλυτά, λιποδιαλυτά, αδιάλυτα, ή δεσμευμένα σε κυτταρικά τοιχώματα, και συνεπώς όχι απαραίτητα διαθέσιμα για να αντιδράσουν με τη ρίζα DPPH. Η απόσπασή τους, δηλαδή, παίζει καθοριστικό ρόλο στον ποσοτικό προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας των τροφίμων, διότι αντιδρούν σε διαφορετικό βαθμό και η αντίδραση δεν ολοκληρώνεται πάντα σε ένα λογικό χρονικό εύρος για τη μέθοδο. Για το λόγο αυτό, έχει επιλεγθεί ως σημείο λήξης της μεθόδου, για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας, η ποσότητα του δείγματος που μπορεί να μειώσει την αρχική απορρόφηση του διαλύματος DPPH κατά 50% (EC₅₀ – efficient concentration value ή IC₅₀ –inhibition concentration). Σημειώνεται, ότι όσο υψηλότερη είναι η αντιοξειδωτική ικανότητα, τόσο χαμηλότερη είναι η τιμή της EC₅₀, πράγμα που αποτελεί μειονέκτημα, ειδικά στις περιπτώσεις παρουσίασης των αποτελεσμάτων με γραφήματα (*Molyneux, 2004*).

Μία διαφορά της μεθόδου DPPH σε σχέση με άλλες δημοσιευμένες μεθόδους, αφορά στην έκταση της αντίδρασης του δείγματος και της DPPH σε μεθανολικό διάλυμα. Η αντίδραση ενός υδατικού διαλύματος μεθανόλης DPPH με το δείγμα για 4h στους 35°C διευκολύνει την εκχύλιση των αντιοξειδωτικών συστατικών από το δείγμα, γεγονός που αυξάνει την αντιοξειδωτική δραστηριότητα του δείγματος. Επίσης, η ρίζα DPPH αντιδρά με όλο το δείγμα, χωρίς να απαιτείται προηγουμένως εκχύλιση του στερεού δείγματος, ενώ όταν ο χρόνος είναι επαρκής η ρίζα DPPH αντιδρά και με ασθενή αντιοξειδωτικά (*Prakash, 2001*).

Συνήθως στην περίπτωση φυτικών εκχυλισμάτων τα αποτελέσματα της μεθόδου εκφράζονται ως ισοδύναμα DPPH /g υλικού του δείγματος. Τα συνήθη πρότυπα αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται για τη σύγκριση της δραστηριότητάς τους σε σχέση με αυτή του εξεταζόμενου αντιοξειδωτικού, είναι το ασκορβικό οξύ και η α-τοκοφερόλη. Η χρήση τους διασφαλίζει ουσιαστικά, ότι η διαδικασία «λειτουργεί σωστά» (*Molyneux, 2004*).

Πολύ λογικά, αναμένεται τα τρόφιμα με υψηλή αντιοξειδωτική δράση να έχουν και μεγαλύτερη ικανότητα να δεσμεύσουν ελεύθερες ρίζες στο ανθρώπινο σώμα, από ότι έχουν τα τρόφιμα με χαμηλή δράση. Για το λόγο αυτό, είναι σημαντικό να είναι γνωστή όχι μόνο η βασική σύσταση των τροφών (π.χ. πρωτεΐνες, φυτικές ίνες, μεταλλικά άλατα, βιταμίνες), αλλά και η σύσταση τους σε αντιοξειδωτικά συστατικά (*Prakash, 2001*).

Η μέθοδος DPPH βρίσκει εφαρμογή στον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης των αιθερίων ελαίων και περιγράφεται αναλυτικά από τον *Bondet και τους συνεργάτες του (1997)*. Το διάλυμα της DPPH παρουσιάζει αρχικά έντονη απορρόφηση στα 517 nm, εμφανίζοντας ένα βαθύ μωβ χρώμα. Στη συνέχεια η απορρόφηση μειώνεται και το διάλυμα αποχρωματίζεται σταδιακά. Ο αποχρωματισμός που παρατηρείται, είναι ανάλογος του βαθμού της αναγωγής και συνεπώς της αντιοξειδωτικής δράσης της ουσίας. Η σταδιακή μείωση της απορρόφησης σημαίνει χαμηλή συγκέντρωση σχηματιζόμενων υπεροξειδίων και συνεπώς, μεγάλη αντιοξειδωτική ικανότητα (*Bondet, 1997*).

Ενδεικτικά, αναφέρεται χρήση της μεθόδου για την εκτίμηση των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του αιθερίου ελαίου της ρίγανης σε σύγκριση με την αντιοξειδωτική ικανότητα φυσικών και συνθετικών αντιοξειδωτικών, όπως της α-τοκοφερόλης, του ασκορβικού οξέος και του BHT (*Kulusic et al, 2004*).

Επίσης, με τη μέθοδο αυτή, προσδιορίζονται τα άτομα υδρογόνου ή η ικανότητα παραχώρησης ηλεκτρονίων από εκχυλίσματα. Κατά τη διάρκεια της οξείδωσης λιπιδίων, σχηματίζονται πολλές ελεύθερες ρίζες διαφορετικής ενεργότητας (OH^\bullet , O_2^\bullet , R^\bullet , ROO^\bullet , RO^\bullet , κ.λ.π.). Η μέθοδος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας μεμονωμένων συστατικών, αλλά και εκχυλισμάτων των φυτών (*Brand-Williams, 1995*).

Σε πείραμα προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης της ρίγανης χρησιμοποιήθηκαν συγκριτικά ως αντιοξειδωτικά το ασκορβικό οξύ, η α-τοκοφερόλη και το

συνθετικό αντιοξειδωτικό BHT. Τα αντιοξειδωτικά αυτά έδειξαν την υψηλότερη δραστηριότητα, ενώ η δραστηριότητα της ρίγανης και των κλασμάτων ή των καθαρών συστατικών της ήταν χαμηλότερες, ωστόσο σημαντικές. Σημειώνεται, ότι η μέθοδος δεν εξαρτάται από την πολικότητα του υποστρώματος. Η δημιουργία των ελεύθερων ριζών παρεμποδίζεται από το διάλυμα του DPPH. Η παρεμπόδιση αυτή συμβολίζεται με I% και υπολογίζεται με τον εξής τρόπο: $I\% = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}) \times 100$, όπου A_{blank} η απορρόφηση του τυφλού και A_{sample} η απορρόφηση του εξεταζόμενου δείγματος (*Δαφερέρα, 2001*).

Ωστόσο, η ένδειξη της ικανότητας δέσμευσης ριζών δεν αποτελεί πάντοτε δείκτη για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης. Η αντιοξειδωτική δράση εξαρτάται και από άλλους μηχανισμούς, όπως π.χ. η αποσύνθεση των υπεροξειδίων (*Cakir et al, 2003*). Η εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας ενός αιθερίου ελαίου είναι απαραίτητη και για τη χρήση της σωστής ποσότητάς του σε ένα τρόφιμο. Επειδή λοιπόν η ευαισθησία και η εξειδίκευση κάθε μεθόδου είναι διαφορετικές, είναι αδύνατη η χρήση ίσων ποσοτήτων αντιοξειδωτικών για τη διεξαγωγή ελέγχου. Το γεγονός αυτό βέβαια δυσχεραίνει τη σύγκριση των αποτελεσμάτων των μεθόδων, αλλά τουλάχιστον δημιουργεί μία ολοκληρωμένη εικόνα για τη δραστηριότητα του αιθερίου ελαίου (*Kulisic et al, 2004*).

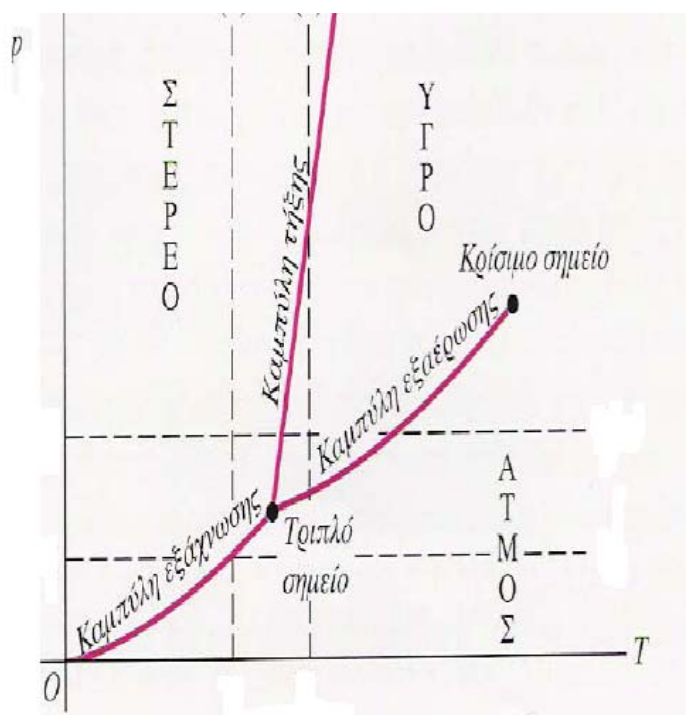
VII. Ξήρανση

Ο απλούστερος τρόπος για ξήρανση ενός προϊόντος είναι η έκθεσή του στον ήλιο. Ο τρόπος αυτός είναι ο παλαιότερος, χρησιμοποιείται όμως ακόμα και σήμερα σε οικιακή κυρίως βάση για την ξήρανση ορισμένων προϊόντων π.χ. σταφίδες και σύκα. Έχει το μειονέκτημα ότι διαρκεί πολλές ημέρες και το προϊόν εκτίθεται στις συνθήκες του περιβάλλοντος (αστάθμητες καιρικές συνθήκες, διακύμανση της θερμοκρασίας, σκόνη, έντομα).

Σήμερα η ξήρανση γίνεται συνήθως σε συσκευές που λέγονται ξηραντήρια. Η αφυδάτωση στα ξηραντήρια πραγματοποιείται συνήθως με την έκθεση του προϊόντος σε ρεύμα ζεστού και ξηρού αέρα. Ο αέρας αυτός αφ' ενός μεταφέρει την απαιτούμενη θερμότητα προκειμένου να εξατμιστεί το νερό από το προϊόν και αφ' ετέρου απομακρύνει τους υδρατμούς που παράγονται από την εξάτμιση αυτή του νερού. Κατά την διαδικασία της ξήρανσης του προϊόντος σε ξηραντήρια το νερό από την υγρή φάση εξατμίζεται και έτσι ξηραίνεται το προϊόν. Υπάρχει και μια άλλη μέθοδος ξήρανσης, γνωστή ως λυοφιλίωση, κατά την οποία το προϊόν πρώτα καταψύχεται και στη συνέχεια ξηραίνεται.

VII.1 Αφυδάτωση με κατάψυξη-εξάχνωση ή λυοφιλίωση (freeze drying)

Η αφυδάτωση με κατάψυξη-εξάχνωση ή λυοφιλίωση είναι μία διεργασία με την οποία το νερό από τη στερεά κατάσταση (πάγος) μεταφέρεται στην αέρια κατάσταση (υδρατμός), χωρίς να μεσολαβήσει η υγρή κατάσταση. Η μετατροπή αυτή ονομάζεται εξάχνωση (sublimation) και συμβαίνει, μόνο όταν η τάση ατμών του νερού και η θερμοκρασία διατηρούνται κάτω από το τριπλό σημείο (σημείο στο οποίο βρίσκονται και οι τρεις καταστάσεις (**Σχήμα 10**). Έτσι όπως φαίνεται και από το σχήμα, για να επιτελεσθεί η αφυδάτωση με κατάψυξη-εξάχνωση (εξάτμιση χωρίς τήξη) επιτυχώς, η απόλυτη πίεση στο θάλαμο ξήρανσης θα πρέπει να διατηρείται κάτω από τα 4,58 Torr (610.5Pa) και η θερμοκρασία κάτω από τους 0° C. Για να απομακρυνθούν οι ατμοί του νερού από το τρόφιμο, θα πρέπει η πίεση των ατμών στο θάλαμο εξάχνωσης να είναι χαμηλότερη από την πίεση των ατμών στην επιφάνεια του πάγου, γεγονός που επιτυγχάνεται με τη χρήση αντλίας κενού. Τέλος, οι υδρατμοί που απάγονται από το τρόφιμο συμπυκνώνονται και έτσι η διαδικασία ολοκληρώνεται.



Σχήμα 10: Το τριπλό σημείο

Για τη φυσική αυτή μεταβολή, μετατροπή στερεού σε αέριο, απαιτείται, σημαντική προσφορά ενέργειας, λόγω θερμοδυναμικής απαίτησης για την αλλαγή της φάσης, έστω και αν η διαδικασία γίνεται σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες. Η λανθάνουσα θερμότητα εξαέρωσης του πάγου είναι πολύ υψηλή, μεγαλύτερη (ανά μονάδα μάζας), από τις θερμότητες τήξης και εξάτμισης (τήξη πάγου 80 cal/g (0°C), εξάτμιση νερού 540 cal/g (100°C), εξαέρωση πάγου $678,5 \text{ cal/g}$ (-20°C). Συνεπώς η αφυδάτωση με κατάψυξη είναι μία επεξεργασία που περιλαμβάνει μεταφορά μάζας και θερμότητας και η ταχύτητα της αφυδάτωσης εξαρτάται από το μέγεθος των αντιστάσεων σ' αυτή τη μεταφορά.

Η διαδικασία της ξήρανσης με κατάψυξη επιτελείται ουσιαστικά σε τρία στάδια: α) κατάψυξη του προς ξήρανση τροφίμου, β) πρωτογενής ξήρανση και γ) δευτερογενής ξήρανση. Ο σκοπός του πρώτου σταδίου είναι να μετατραπεί το ελεύθερο νερό σε πάγο. Στο στάδιο αυτό η ταχύτητα κατάψυξης επηρεάζει τη δομή του τελικού προϊόντος. Εάν το νερό καταψυχθεί γρήγορα, το μέγεθος των κρυστάλλων του πάγου που θα σχηματιστούν θα είναι μικρό, οι πόροι στο τελικό προϊόν θα είναι επίσης μικρού μεγέθους και για το λόγο αυτό θα απαιτηθεί μεγαλύτερος χρόνος αφυδάτωσης. Ενώ αντίθετα χαμηλές ταχύτητες κατάψυξης οδηγούν σε μικρότερους χρόνους αφυδάτωσης, λόγω της ανοικτής δομής, η οποία σχηματίζεται όταν εξαχνώνονται μεγάλοι παγοκρύσταλλοι. Οι μεγάλοι παγοκρύσταλλοι μπορούν να προξενήσουν βλάβη στη δομή του τροφίμου, και γι' αυτό στα ευαίσθητα τρόφιμα απαιτείται ταχεία κατάψυξη και σχηματισμός μικρών παγοκρυστάλλων (Λάζος, 1992).

Κατά το στάδιο της πρωτογενούς ξήρανσης μειώνεται η πίεση στο χώρο του θαλάμου ξήρανσης, με αποτέλεσμα ο πάγος που έχει δημιουργηθεί κατά το προηγούμενο στάδιο να εξαχνώνεται. Στο τέλος της πρωτογενούς ξήρανσης όλο το ελεύθερο νερό έχει απομακρυνθεί. Για την απομάκρυνση και του δεσμευμένου νερού (το ροφημένο με τα συστατικά του τροφίμου), στο τέλος της διαδικασίας ρυθμίζεται η λειτουργία της αντλίας κενού στο μέγιστο ώστε να απομακρυνθεί και το δεσμευμένο νερό.

VII.1.1 Οι ιδιότητες των αφυδατωμένων προϊόντων με την τεχνική της λυοφιλίωσης

Τα πλεονεκτήματα της αφυδάτωσης με κατάψυξη-εξάχνωση έναντι των άλλων μεθόδων αφορούν στην ποιότητα του προϊόντος. Η δομή του τροφίμου δεν επηρεάζεται, αφού παρατηρείται μικρή έως καθόλου συρρίκνωση. Το άρωμα και η γεύση γενικά δεν επηρεάζονται, χωρίς όμως να αποκλείονται οι απώλειες σε πτητικά συστατικά, όπως του οξικού οξέος και των αλκοολών τα οποία επίσης έχουν την ικανότητα εξάχνωσης (<http://www.wikipedia>). Τέλος, τα αφυδατωμένα με λυοφιλίωση προϊόντα ενυδατώνονται γρήγορα και εύκολα, εξαιτίας της πορώδους δομής τους, ιδιότητα που είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε φαρμακευτικά σκευάσματα.

Η ξήρανση με κατάψυξη βρίσκει εφαρμογές στη φαρμακοβιομηχανία, τη βιομηχανία τροφίμων και τη βιομηχανία χημικών.

Πρόκειται για μία ακριβή μέθοδο επεξεργασίας, αφού ο μηχανολογικός εξοπλισμός είναι τρεις φορές ακριβότερος από εκείνο των άλλων μεθόδων, ενώ επιπλέον η κατανάλωση ενέργειας είναι μεγάλη λόγω συχνά του μεγάλου χρόνου που απαιτείται για να ολοκληρωθεί η διαδικασία. Έτσι, χρησιμοποιείται κυρίως για τη συντήρηση θερμοευαίσθητων προϊόντων, όπως είναι οι πρωτεΐνες, τα ένζυμα, οι μικροοργανισμοί και το πλάσμα του αίματος.

VII.1.2 Η συγκράτηση του αρώματος κατά τη διάρκεια της ξήρανσης με λυοφιλίωση

Για πάρα πολλά τρόφιμα και για τα αρωματικά φυτά το άρωμα είναι ένα σημαντικό ποιοτικό χαρακτηριστικό. Συνήθως στο άρωμα συμβάλλει ένας μεγάλος αριθμός πτητικών συστατικών, των οποίων η πτητικότητα σε σχέση με εκείνη του νερού είναι μεγαλύτερη. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι, όταν ένα υδατικό διάλυμα αυτών των συστατικών συμπυκνωθεί μέσω εξάτμισης, οι απώλειες σε πτητικά συστατικά θα είναι μεγαλύτερη από του νερού (*King, 1974*). Στην ξήρανση με λυοφιλίωση αντιθέτως, παρατηρείται μία πολύ καλή συγκράτηση στα πτητικά συστατικά των τροφίμων. Πειράματα που έγιναν σε μοντέλα τροφίμων έδειξαν ότι τα πτητικά συστατικά δεν μετακινούνται κατά την ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση και ότι δύσκολα διέρχονται από τους πόρους που έχουν δημιουργηθεί κατά την εξάχνωση του πάγου. Γι' αυτό δόθηκαν δύο πιθανές εξηγήσεις (*Coumans 1994*). Σύμφωνα με την πρώτη στο συμπυκνωμένο διάλυμα που απομένει, λόγω εξάχνωσης του πάγου, τα πτητικά συστατικά δημιουργούν ένα πολύπλοκο σύμπλεγμα με τα υπόλοιπα συστατικά του

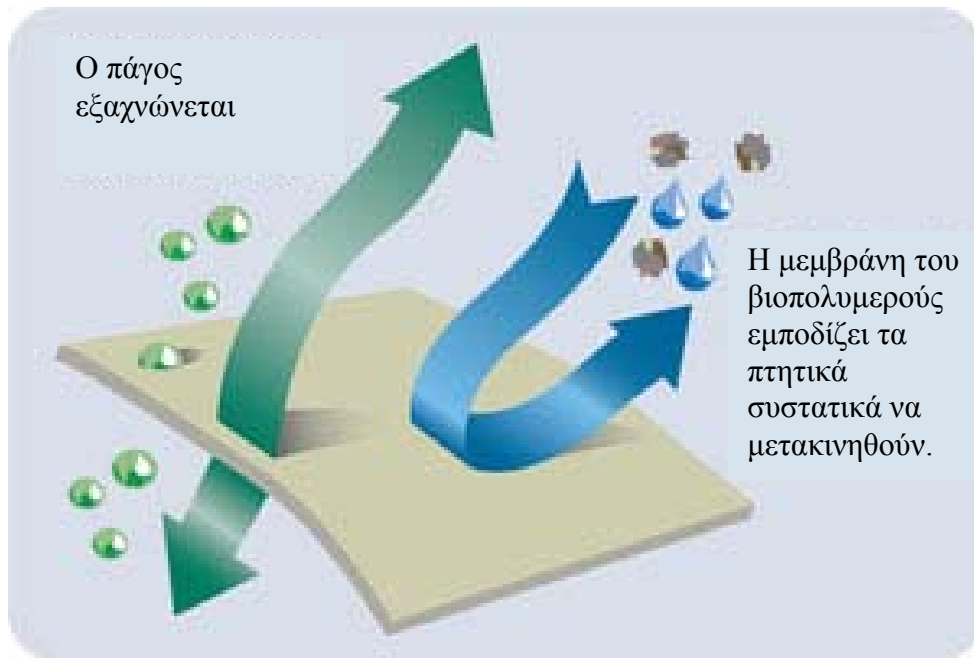
τροφίμου και έτσι συγκρατούνται. Η δεύτερη αφορά στη διαφορά του συντελεστή διάχυσης του νερού και των πτητικών συστατικών. Σε ένα συμπυκνωμένο διάλυμα ο συντελεστής διάχυσης του νερού είναι μεγαλύτερος από το συντελεστή διάχυσης των πτητικών συστατικών και συνεπώς από το διάλυμα αυτό ευκολότερα αποχωρούν τα μόρια του νερού. Επίσης αποδείχθηκε πειραματικά ότι οι απώλειες πτητικών συστατικών μειώνονται, όταν ο ρυθμός κατάψυξης είναι αργός..

Αργότερα οι *Coumans και οι συνεργάτες του (1994)* προσθέτουν ότι απώλεια στα πτητικά συστατικά μπορεί να παρατηρηθεί, μόνο όταν αυτά βρίσκονται κοντά στους κρυστάλλους του πάγου. Η πιθανότητα να συμβεί το τελευταίο είναι μεγαλύτερη, όταν η συγκέντρωση των αρωματικών συστατικών είναι μεγάλη και όταν το πάχος της μεσεπιφάνειας μεταξύ πάγου και συμπυκνωμένου διαλύματος είναι μικρή.

Οι *Abascal και οι συνεργάτες (2005)* υποστηρίζουν ότι με τη μέθοδο της ξήρανσης με κατάψυξη-εξάχνωση μπορεί να μην μεταβάλλεται το σύνολο των πτητικών συστατικών, αλλάζει όμως η αναλογία τους και ιδιαίτερα η συγκέντρωση της ουσίας η οποία είναι υπεύθυνη για το χαρακτηριστικό άρωμα του φυτού.

VII.1.3 Ο ρόλος των «υλικών φραγμού» στην ξήρανση

Σε κάθε μέθοδο ξήρανσης ή συμπύκνωσης σκοπός είναι ο ολικός ή μερικός διαχωρισμός του νερού από τα υπόλοιπα συστατικά του τροφίμου. Τις περισσότερες φορές όμως αυτό δεν είναι εφικτό, αφού μαζί με το νερό αποχωρούν και χρήσιμα για το τελικό προϊόν συστατικά. Ως επακόλουθο αυτής της παρατήρησης προτάθηκε η χρήση των «υλικών φραγμού», μέσω των οποίων ο διαχωρισμός ενός μίγματος θα εξαρτάται από το συντελεστή διάχυσης κάθε συστατικού στο μέσο αυτό. Όπως απεικονίζεται και στην **Εικόνα 16**, η ιδεατή συμπεριφορά ενός υλικού φραγμού θα ήταν εκείνη, όπου τα μόρια του νερού στην αέρια κατάσταση θα εξέρχονταν από τη μεμβράνη του υλικού φραγμού ενώ, αντίθετα θα εμπόδιζε την έξοδο των πτητικών συστατικών. Όπως προτάθηκε από τον *King 1974* μία τέτοια ιδανική συμπεριφορά έχουν οι υδατάνθρακες, οι οποίοι, δημιουργώντας ένα στρώμα γύρω από το προς ξήρανση προϊόν, λειτουργούν ως «σφουγγάρι» που ρουφά και εκδιώκει από το προϊόν την περιεχόμενη υγρασία.



Εικόνα 16: Η ιδεατή συμπεριφορά ενός υλικού φραγμού

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκαν δύο βιοπολυμερή, η ζελατίνη, μια πρωτεΐνη και ένας υδατάνθρακας υπό μορφή τροποποιημένου άμυλου ως προς τη συμπεριφορά τους ως υλικά φραγμού των πτητικών συστατικών αιθερίου ελαίου κατά την ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση (λυοφιλίωση).

VII.2 Βιοπολυμερή

Από τις σημαντικότερες κατηγορίες βιομορίων είναι οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες. Τα συγκεκριμένα βιοπολυμερή μοιράζονται κάποιες πολύ χρήσιμες ιδιότητες όπως την ενυδάτωση και την ικανότητα κατακράτησης νερού, το ιξώδες, την πήξη και την ικανότητα να δράσουν ως γαλακτωματοποιητές ή αφριστικοί παράγοντες. Οι πιο πάνω ιδιότητες αξιοποιούνται κατά κόρον στη βιομηχανία τροφίμων.

VII.2.1 Πήξη βιοπολυμερών

Η πιο σημαντική ιδιότητα των βιοπολυμερών είναι η ικανότητά τους να δημιουργούν πηκτές. Οι πηκτές τους αποτελούνται από ένα συνεχές δίκτυο από βιολογικά μακρομόρια που είναι διεσπαρμένο σε ένα υγρό, συνήθως νερό. Το δίκτυο δημιουργείται από διασταυρώσεις των αλυσίδων του βιοπολυμερούς. Ο σχηματισμός ενός δικτύου πηκτής από την κατάσταση διαλύματος, συνήθως προκαλείται από κάποια αλλαγή, π.χ. στο pH, τη θερμοκρασία, την ιονική ισχύ κ.α. Η κατάσταση της προκύπτουσας πηκτής επίσης επηρεάζεται από τις ίδιες αυτές παραμέτρους.

Πρέπει να σημειωθεί ότι ενώ όλα τα βιοπολυμερή μπορούν να προσδώσουν αύξηση του ιξώδους σε υδατικά διαλύματα, δεν μπορούν όλα να σχηματίσουν πηκτές. Επίσης υπάρχουν και περιπτώσεις βιοπολυμερών που από μόνα τους δεν πήζουν, αλλά μίγματά τους δρουν συνεργιστικά και σχηματίζουν πηκτές. Γενικά τα διάφορα βιοπολυμερή παρουσιάζουν διαφορές στον τρόπο που θα επιτευχθεί η πήξη καθώς και στην ποιότητα, τη σταθερότητα και τις οργανοληπτικές ιδιότητες της προκύπτουσας πηκτής.

Οι πηκτές μπορούν να διαιρεθούν σε δύο βασικούς τύπους (*Durrani, 1992*):

- Χημικές πηκτές: Οι αλυσίδες διασταυρώνονται σε ένα σημείο («point junction») ή μέσω ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ συγκεκριμένων ατόμων της αλυσίδας. Οι προκύπτοντες δεσμοί είναι μόνιμοι και άρα οι πηκτές δεν λιώνουν με θέρμανση.
- Φυσικές πηκτές: Αυτές αποτελούνται από εκτεταμένες ζώνες διασταύρωσης ("junction zones") μεταξύ τμημάτων αλυσίδων και σταθεροποιούνται από μη ομοιοπολικούς δεσμούς (π.χ. δεσμοί υδρογόνου, δυνάμεις Van der Waals, υδρόφοβες δυνάμεις).

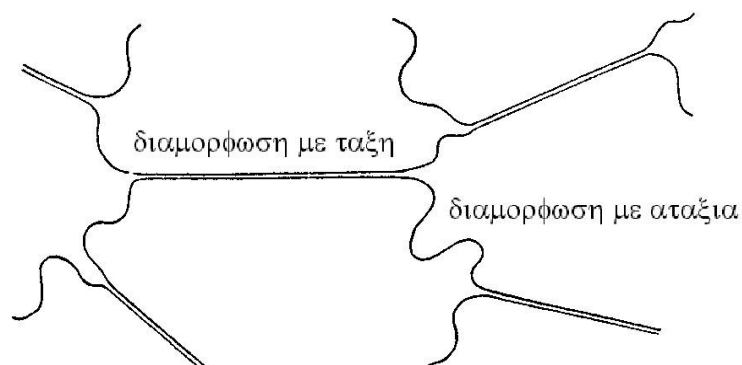
Ο σχηματισμός πηκτής είναι μία διαδικασία μετάβασης από την αταξία (διάλυμα) στην τάξη (πηκτή) και εξαρτάται από το δεύτερο νόμο της θερμοδυναμικής:

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S$$

Για να γίνει η εν λόγω μετάβαση, η ΔG πρέπει να έχει αρνητική τιμή. Στην περίπτωση άτακτων εύκαμπτων αλυσίδων, η εντροπία ευνοεί την (άτακτη) κατάσταση του διαλύματος. Σημαντική συμβολή στην εντροπία έχουν και οι ηλεκτροστατικές απώσεις μεταξύ των αλυσίδων καθώς και κάποιες δομικές ανωμαλίες και διακλαδώσεις. Η ενθαλπία ευνοεί τη διαμοριακή σύζευξη (δηλαδή ευνοεί τη δημιουργία δεσμών και άρα πηκτής). Η παρουσία συγκεκριμένων αλληλεπιδράσεων όπως η ικανότητα δημιουργίας μη ομοιοπολικών δεσμών (π.χ. δεσμοί υδρογόνου, υδροφοβικοί δεσμοί) μεταξύ των αλυσίδων, οι ηλεκτροστατικές έλξεις, οι αλληλεπιδράσεις με το νερό, αλλά και η δυσκαμψία της αλυσίδας και η δυνατότητα καλού πακεταρίσματος των αλυσίδων δρουν προς την κατεύθυνση της τάξης. Η ισορροπία ανάμεσα σε αυτές τις δύο αντίθετες κατευθύνσεις επηρεάζεται από αλλαγές στη θερμοκρασία. Η πήξη επέρχεται είτε με θέρμανση ή με ψύξη. Επίσης μπορεί να είναι αντιστρεπτή (δηλαδή η πηκτή να λιώνει με θέρμανση) ή μη.

Οι πηκτές των βιοπολυμερών ανήκουν στην κατηγορία των φυσικών πηκτών που, όπως αναφέρθηκε, σταθεροποιούνται από δευτερεύοντες, ατομικά πολύ ασθενείς, δεσμούς οι οποίοι, προκειμένου να μπορέσει να υπερνικηθεί το εντροπικό πλεονέκτημα προς την αταξία, πρέπει να δράσουν συνεργιστικά (π.χ. για την περίπτωση των πολυσακχαριτών, σε μία ευρεία περιοχή που πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον 15-25 μονοσακχαρίτες σε κάθε συμμετέχουσα αλυσίδα).

Για τη δημιουργία ενός εκτεταμένου και ενυδατωμένου δικτύου, και όχι ενός στερεού ιζήματος, απαιτείται να υπάρχουν κάποιες περιοχές αταξίας μέσα στην πηκτή (**Σχήμα 11**).



Σχήμα 11 : Σχηματική παρουσίαση ενός δικτύου πηκτής.

Αυτό επιτυγχάνεται με διάφορους τρόπους, όπως η ταυτόχρονη ύπαρξη περιοχών με ή χωρίς υποκαταστάτες (π.χ. γαλακτομαννάνες) ή η παρουσία ενός σακχάρου που δεν ταιριάζει στην υδατανθρακική αλυσίδα (π.χ. η ραμνόζη στις πηκτίνες). Παρόλο που οι περιοδικές ακολουθίες μιας αλυσίδας ευνοούν την υιοθέτηση διαμόρφωσης με τάξη, η ύπαρξη των ανωμαλιών αναγκάζει την αλυσίδα να συνδυαστεί με περισσότερες αλυσίδες. Ταυτόχρονα καθορίζει την πυκνότητα και τη διανομή των διασταυρώσεων άρα και τη μορφή της πηκτής όσον αφορά την ενυδάτωση και το μέγεθος των πόρων.

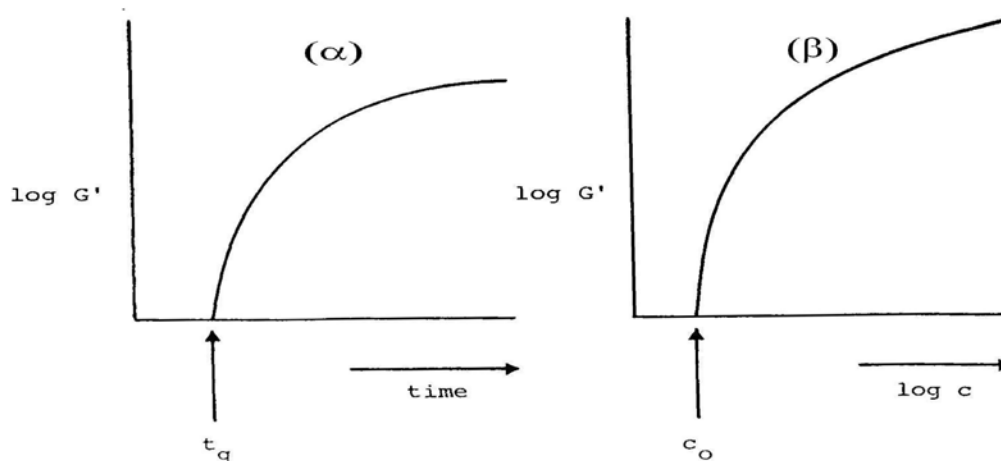
Σύμφωνα με τη θεωρία Flory–Stockmayer, για ένα πολυμερές που έχει f πιθανές θέσεις σύνδεσης (λειτουργικότητες) ανά αλυσίδα, υπάρχει μια κρίσιμη ποσότητα αυτών, α_c , που πρέπει να αντιδράσουν, πριν να δημιουργηθεί το τρισδιάστατο δίκτυο.

$$\alpha_c = \frac{1}{f - 1}$$

Για τιμές του α μικρότερες από α_c , μόνο συσσωματώματα περιορισμένου μεγέθους μπορούν να προκύψουν. Μόλις το α φτάσει την τιμή α_c , το οποίο συμβαίνει μετά από ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα t_g (*gelation time*), ένα μόριο με αυξημένο μέγεθος συγκριτικά με τα υπόλοιπα, γίνεται “*gel fraction*”. Στο σημείο αυτό (*gel point*) το ιξώδες και το αναλογικό μέσο μοριακό βάρος τείνουν στο άπειρο. Καθώς ο βαθμός διασταύρωσης των αλυσίδων αυξάνεται, η ισχύς της πηκτής αυξάνεται απότομα (**Σχήμα 12,α**) μέχρι ενός σημείου που υπάρχει ισορροπία μεταξύ της δημιουργίας και του σπασίματος δεσμού.

Ταυτόχρονα, σημαντικό ρόλο στην πήξη για ένα δεδομένο χρόνο t ($t > t_g$) παίζει και ένας δεύτερος παράγοντας, αυτός της συγκέντρωσης. Δεν μπορεί να υπάρξει πήξη για συγκεντρώσεις μικρότερες της c_0 (κρίσιμη συγκέντρωση πήξης) (**Σχήμα 12,β**).

Σε πολλά βιοπολυμερή άλλοι κρίσιμοι για την πήξη παράγοντες είναι το pH και η παρουσία αλάτων ή άλλων συνδιαλυτών (π.χ. σάκχαρα).



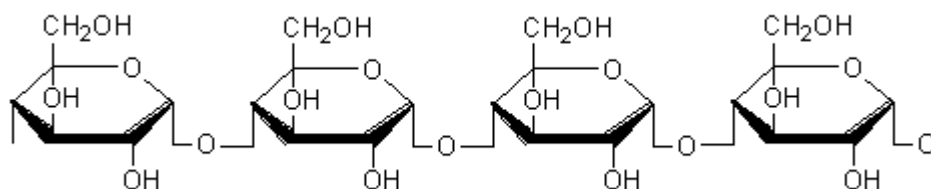
Σχήμα 12: Παράγοντες που επηρεάζουν την πήξη: (α) ο χρόνος και (β) η συγκέντρωση.

VII.2.2 Άμυλο

Το άμυλο είναι η κύρια αποταμιευτική ύλη των φυτών και μία από τις κύριες πηγές ενέργειας και θρεπτικών συστατικών των ανθρώπων. Βρίσκεται σε ρίζες, σπέρματα, βολβούς και φρούτα σε μορφή κόκκων χαρακτηριστικών για κάθε φυτό. Η αφθονία του αμύλου στη φύση και το χαμηλό του κόστος καθιστά το άμυλο ευρέως χρησιμοποιούμενο όχι μόνο από τη βιομηχανία των τροφίμων.

Το άμυλο απαντάται στη φύση με τη μορφή κόκκων των οποίων το σχήμα, το μέγεθος και οι γενικές ιδιότητες είναι χαρακτηριστικές του βοτανικού είδους από το οποίο προέρχονται. Οι αμυλόκοκκοι αποτελούνται από δύο βασικά συστατικά, την αμυλόζη και η αμυλοπηκτίνη. Και τα δύο αυτά συστατικά είναι υψηλού μοριακού βάρους πολυσακχαρίτες των οποίων η αναλογία εξαρτάται από την πηγή προέλευσης του αμύλου, προσδίδοντας έτσι διαφορετικές ιδιότητες σε αυτά. Τα περισσότερα άμυλα περιέχουν 20-30% αμυλόζη, ενώ υπάρχουν ποικιλίες, όπως αυτή του κηρώδους αραβοσίτου που περιέχουν έως και 100% αμυλοπηκτίνη (waxy starch), είναι δηλ. πρακτικά απαλλαγμένα αμυλόζης (Noel et al., 1993).

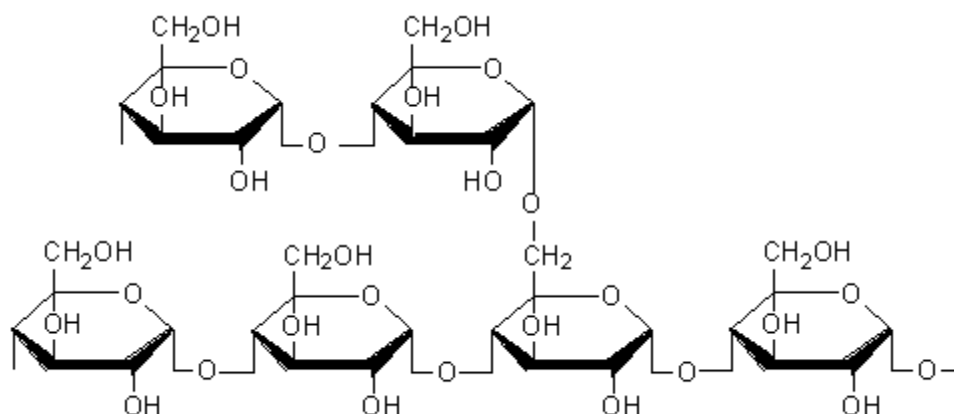
Η αμυλόζη είναι γραμμικό πολυμερές που αποτελείται από 250-2.000 περίπου μονάδες D-γλυκόζης συνδεδεμένες με α -(1 \rightarrow 4) γλυκοζιτικούς δεσμούς. Έχει σαν επαναλαμβανόμενη μονάδα τη μαλτόζη (Σχήμα 13) (Κωμαϊτης, 2008).



Σχήμα 13: Η δομή της αμυλόζης

Ο βαθμός πολυμερισμού και συνεπώς και το μοριακό βάρος της αμυλόζης εξαρτάται από τη φυτική προέλευση από το στάδιο ανάπτυξης του φυτού καθώς και από τη μέθοδο απομόνωσής της (BeMiller, 1993).

Η αμυλοπηκτίνη είναι ένα μακρομόριο που επίσης αποτελείται από μονάδες D-γλυκόζης. Η σύνδεση των δομικών μονάδων είναι η ίδια με αυτή του μορίου της αμυλόζης με τη διαφορά ότι υπάρχει υψηλός αριθμός διακλαδώσεων, κάθε 20-30 μονάδες γλυκόζης, στις οποίες η σύνδεση γίνεται με α -(1 \rightarrow 6) γλυκοζιτικούς δεσμούς (Σχήμα 14). Η αμυλοπηκτίνη είναι πολύ ετερογενής όσο αφορά το μοριακό βάρος το οποίο κυμαίνεται μεταξύ 10-200.000.000 και εξαρτάται από τους ίδιους παράγοντες που καθορίζουν και το μοριακό βάρος της αμυλόζης.



Σχήμα 14: Η δομή της αμυλοπηκτίνης

VII.2.2.1 Τροποποιημένα άμυλα

Για να βελτιωθούν οι ιδιότητες των αμύλων υποβάλλονται σε σειρά από χημικές ή φυσικές διεργασίες. Άμυλα τροφίμων που παράγονται από την επεξεργασία οιοδήποτε αμύλου φυτικής προέλευσης με ορισμένες χημικές ενώσεις και έχουν τροποποιημένα φυσικά χαρακτηριστικά λέγονται τροποποιημένα άμυλα.

Τα άμυλα τροποποιούνται χημικά είτε :

- με ήπιες αντιδράσεις αποικοδόμησης του μορίου π.χ. ήπια οξείδωση, μέτρια οξείδωση, όξινο υποπολυμερισμός,
- με αντιδράσεις των υδροξυλομάδων του μορίου με χημικά αντιδραστήρια οπότε επιτυγχάνεται ακετυλίωση, φωσφορυλίωση ή διάζευξη μορίων (*Κωμαϊτης, 2008*).

VII.2.3 Ζελατίνη

Η ζελατίνη είναι ένα προϊόν που προκύπτει από τη μερική υδρόλυση του κολλαγόνου του δέρματος, των οστών και ζωικών συνδετικών ιστών (*U.S. Pharmacopoeia, 1965*). Διαφέρει από τα άλλα βιοπολυμερή καθώς τα περισσότερα από αυτά είναι πολυσακχαρίτες όπως η πηκτίνη, η καραγενάνη, η ξανθάνη κ.ά., ενώ η ζελατίνη είναι μία ζωική πρωτεΐνη που δομείται από όλα τα απαραίτητα αμινοξέα εκτός από την τρυπτοφάνη. Κατά την προσθήκη κρύου νερού η ζελατίνη απορροφά νερό και διογκώνεται. Κατά την ενυδάτωση αυτή τα πρωτεϊνικά μόρια της ζελατίνης που βρίσκονται υπό μορφή ΖΙΚ-ZAK πολυπεπτιδικών αλυσίδων ενώνονται μεταξύ τους προς σχηματισμό χωροπλέγματος. Το απορροφούμενο νερό παγιδεύεται και ακινητοποιείται σε χωρόπλεγμα όπως παγιδεύεται σ' ένα σφουγγάρι. Ένα μέρος του απορροφούμενου νερού συγκρατείται από τα μόρια της ζελατίνης με δεσμούς υδρογόνου. Κατά τη θέρμανση της ενυδατωμένης ζελατίνης το σύστημα υγροποιείται μετατρέπόμενο σε κολλοειδές αιώρημα στερεού σε υγρό. Κατά την ψύξη του αιωρήματος σχηματίζεται η πηκτή (*Κωμαϊτης, 2008*).

Η ζελατίνη χρησιμοποιείται ευρέως από την βιομηχανία τροφίμων ως παράγοντας πήξης αλλά και ως σταθεροποιητής ή πηκτωματογόνο (γιαούρτι, παγωτό, κονσέρβες κρέατος, σούπες, φρουτοχυμοί). Η χρήση της στηρίζεται στην ικανότητά της να δημιουργεί δυνατές και ελαστικές πηκτές σε μικρές συγκεντρώσεις, που έχουν την ιδιότητα να λιώνουν στο στόμα (οι πηκτές ζελατίνης λιώνουν σε ~ 37°C), παρά την θρεπτική της αξία

ΣΚΟΠΟΣ

Ένα από τα κύρια γνωρίσματα των αρωματικών φυτών είναι η ύπαρξη αιθερίων ελαίων που τους προσδίδουν τη χαρακτηριστική οσμή τους. Τα αιθέρια έλαια είναι μίγματα συστατικών κυρίως τερπενικής δομής που έχουν πολύ σημαντικές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων (ως αρωματικά και αντιοξειδωτικά), φαρμάκων και καλλυντικών.

Στην ελληνική και διεθνή βιβλιογραφία που αναφέρεται στη μελέτη της σύστασης αιθερίων ελαίων αρωματικών φυτών συναντά κανείς έναν μεγάλο αριθμό διαφορετικών μεθόδων απομόνωσης και παραλαβής, τα αποτελέσματα των οποίων συχνά δεν οδηγούν στα ίδια συμπεράσματα σχετικά με τη χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του υπό εξέταση φυτού. Στο πρώτο μέρος της παρούσας εργασίας συγκρίνεται η μέθοδος παραλαβής αιθερίων ελαίων, Clevenger με μια μέθοδο απομόνωσης, την μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME). Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε σε αυτό το μέρος συλλέχθηκε την περίοδο του Ιουνίου του 2004 από τις περιοχές της Εύβοιας και της Αττικής. Η ταυτοποίηση των συστατικών του αιθερίου ελαίου που συνεισφέρουν στο άρωμα του φυτού και στις δύο περιπτώσεις έγινε με τη χρήση αέριας χρωματογραφίας-φασματοσκοπίας μάζας (**Πρώτο μέρος. Αρωματικά φυτά.-Μελέτη της επίδρασης της μεθόδου παραλαβής-απομόνωσης**).

Η γνώση της χημικής σύστασης των αιθερίων ελαίων μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην ταξινόμηση των φυτικών ειδών. Επιπλέον η μελέτη της μεταβολής της σύστασης των αιθερίων ελαίων προσφέρει χρήσιμες πληροφορίες για τον καλύτερο χρόνο συλλογής των φυτών. Σκοπός της εργασίας είναι να μελετηθεί η χρονική μεταβολή της σύστασης των αιθερίων ελαίων έξι αρωματικών φυτών, συγκεκριμένα των *Myrtus communis* L. (μυρτιά), *Pistacia lentiscus* L. (σχίνος), *Coridothymus capitatus* Reinchenb. fil. (θυμάρι), *Satureja thymbra* L. (θρούμπι), *Salvia officinalis* Miller (φασκόμηλο) και *Rosmarinus officinalis* L. (δενδρολίβανο). Για το σκοπό αυτό συλλέχθηκαν από το νησί της Ζακύνθου, τα παραπάνω φυτά κατά τη διάρκεια των ετών 2005 και 2006 σε τρεις διαφορετικές χρονικές περιόδους, Φεβρουάριο, Μάιο και Αύγουστο που αντιστοιχούν και σε διαφορετικό στάδιο του βιολογικού τους κύκλου. Ακολουθήθηκε η διαδικασία της ξήρανσης του φυτικού υλικού με έκθεση στον αέρα, η παραλαβή του αιθερίου ελαίου έγινε σε συσκευή Clevenger. Η ποιοτική ανάλυση και η εκατοστιαία σύσταση των αιθερίων ελαίων των φυτών έγινε με τη χρήση αέριας χρωματογραφίας-φασματοσκοπίας μάζας. Όλα τα αιθέρια έλαια εξετάστηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση με τη μέθοδο της DPPH. (**Δεύτερο μέρος. Αρωματικά φυτά-Μελέτη της εποχιακής διακύμανσης**).

Τις περισσότερες φορές πριν την ανάλυση φυτικών δειγμάτων απαιτείται η ξήρανσή τους καθώς η συνέχιση των λειτουργιών της αναπνοής και της διαπνοής στους φυτικούς ιστούς, προκαλεί φυσιολογικές μεταβολές που μειώνουν την ποιότητα και το χρόνο ζωής τους. Με την

ξηράνση, η μείωση της περιεχόμενης υγρασίας του φυτού έχει σαν αποτέλεσμα την καθυστέρηση ή και τον τερματισμό φυσιολογικών, μικροβιακών και ενζυματικών αντιδράσεων που υποβαθμίζουν την ποιότητα του φυτού και μειώνουν τη διάρκεια ζωής του.

Εκτός από τη ξήρανση του φυτικού υλικού με έκθεση στον αέρα που είναι μια παραδοσιακή μέθοδος απομάκρυνσης της υγρασίας, η ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση (ή λυοφίλιωση) είναι μια σύγχρονη μέθοδος που τα τελευταία χρόνια βρίσκει εφαρμογές στην συντήρηση κυρίως φαρμακευτικών φυτών. Παρ'ότι θεωρείται μια από τις καλύτερες μεθόδους συντήρησης των τροφίμων, ερευνητικές εργασίες δείχνουν ότι η εφαρμογή αυτής της μεθόδου στα φυτά επιφέρει σοβαρές αλλαγές στο προφίλ ουσιών όπως τα πτητικά, τα φαινολικά και τα καροτενοειδή και έτσι η χρήση της θα πρέπει να αξιολογείται ανά περίπτωση.

Έχοντας υπόψη τα παραπάνω ο τρίτος στόχος της διατριβής είναι η μελέτη της επίδρασης της τεχνικής της ξήρανσης με κατάψυξη-εξάχνωση (ή λυοφίλιωση) στη σύσταση του αιθερίου ελαίου αρωματικών φυτών. Η μελέτη έγινε στο μάραθο (*Foeniculum vulgare* Miller) και εξετάστηκε η επίδραση του χρόνου ξήρανσης (σε 7, 15 και 24 ώρες) στη σύσταση του αιθερίου ελαίου. Μάλιστα τα αποτελέσματα της μεθόδου συγκρίθηκαν με αυτά της ξήρανσης με ρεύμα θερμού αέρα στους 60°C για 48h. Επιπλέον εξετάστηκε και η επίδραση διαλυμάτων και πηκτών βιοπολυμερών ως υλικών φραγμού στη συγκράτηση των πτητικών συστατικών του αιθερίου ελαίου του μάραθου. **(Τρίτο μέρος. Αρωματικά φυτά.-Μελέτη της επίδρασης του χρόνου ξήρανσης και της μείωσης των απωλειών πτητικών συστατικών κατά την ξήρανση με λυοφιλίωση. Σύγκριση με τη συμβατική ξήρανση στον αέρα.)**

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Πειραματικό Μέρος

I. Υλικά

I.1 Φυτικό υλικό

Στο πρώτο μέρος της εργασίας προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της μεθόδου παραλαβής – απομόνωσης αιθερίων ελαίων χρησιμοποιήθηκαν φυτά ρίγανης, τσαγιού του βουνού, μέντας και δυόσμου (**Πίνακας 7**). Στον ίδιο Πίνακα καταγράφεται η προέλευση και το μέρος του φυτού που χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου (**Πρώτο μέρος. Αρωματικά φυτά-Μελέτη της επίδρασης της μεθόδου παραλαβής-απομόνωσης**).

Τα φυτά του σχίνου, της μυρτιάς, του θυμαριού, της θρούμπης, του φασκόμηλου και του δενδρολίβανου επιλέχθηκαν για την μελέτη της εποχικής διακύμανσης της σύστασης του αιθερίου ελαίου τους (**Δεύτερο μέρος. Αρωματικά φυτά-Μελέτη της εποχικής διακύμανσης**). Γι' αυτό το σκοπό, η συλλογή των φυτών έγινε σε τρεις διαφορετικές περιόδους του χρόνου, Φεβρουάριο, Μάιο και Αύγουστο κατά τη διάρκεια των ετών 2005 και 2006 (**Πίνακας 6**), από το νησί της Ζακύνθου. Στον **Πίνακα 6** επιπλέον καταγράφονται το στάδιο ωρίμανσης στο οποίο βρίσκεται το κάθε φυτό την αντίστοιχη περίοδο καθώς και οι γεωγραφικοί παράμετροι συλλογής (υψόμετρο, τοποθεσία). Τα γεωγραφικά δεδομένα παρήχθησαν με την εφαρμογή Συστήματος Γεωγραφικού Εντοπισμού (GPS, WGS84 MAGELLAN GPS 2000XL).

Τέλος στο τρίτο μέρος της εργασίας μελετήθηκε η επίδραση της μεθόδου ξήρανσης, σε δύο δείγματα του φυτού του μάραθου. Το πρώτο συλλέχθηκε από τη Ζάκυνθο το Μάρτιο του 2008 και το άλλο προμηθεύτηκε από λαϊκή αγορά των Αθηνών την ίδια περίοδο. Επιπλέον στο τρίτο μέρος μελετήθηκε και η χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του ίδιου φυτού το οποίο συλλέχθηκε από την περιοχή της Ζακύνθου το 2005 κατά τους μήνες Φεβρουάριο, Μάιο και Αύγουστο (**Πίνακας 6**).

Η συλλογή και η αναγνώριση του φυτικού υλικού έγινε με τη βοήθεια του Επίκουρου Καθηγητή Γ.Π.Α. Θεοφάνη Κωνσταντινίδη (Εργαστήριο Συστηματικής Βοτανικής).

Πίνακας 6 : Φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα της μελέτης της εποχικής διακύμανσης της σύστασης αιθερίων ελαίων

Όνομασία	Τοποθεσία		Μήνας συλλογής	Υψόμετρο (m)
	στο νησί της Ζακύνθου	Στάδιο ωρίμανσης		
<i>Pistacia lentiscus</i> L. (Σχίνος)	37 ⁰ 43' 31N 20 ⁰ 47' 47E	Πριν την άνθηση	Φεβρουάριος	360
		Πλήρης άνθηση	Μάιος	
		Καρποφορία	Αύγουστος	
<i>Myrtus communis</i> L. (Μυρτιά)	37 ⁰ 42' 59N 20 ⁰ 50' 36E	Καρποφορία	Φεβρουάριος	20
		Πριν την άνθηση	Μάιος	
		Πλήρης άνθηση	Αύγουστος	
<i>Coridothymus capitatus</i> Reinchenb. fil. (Θυμάρι)	37 ⁰ 44' 02N 20 ⁰ 42' 29E	Πριν την άνθηση	Φεβρουάριος	35
		Πλήρης άνθηση	Μάιος	
		Καρποφορία	Αύγουστος	
<i>Satureja thymbra</i> L. (Θρούμπι)	37 ⁰ 44' 02N 20 ⁰ 42' 29E	Πριν την άνθηση	Φεβρουάριος	35
		Πλήρης άνθηση	Μάιος	
		Καρποφορία	Αύγουστος	
<i>Rosmarinus officinalis</i> L (Δενδρολίβανο)	37 ⁰ 42' 59N 20 ⁰ 50' 36E	Πριν την άνθηση	Φεβρουάριος	20
		Πλήρης άνθηση	Μάιος	
		Μετά την καρποφορία	Αύγουστος	
<i>Salvia fruticosa</i> Miller (Φασκόμηλο)	37 ⁰ 43' 11N 20 ⁰ 48' 59E	Πριν την άνθηση	Φεβρουάριος	186
		Πλήρης άνθηση	Μάιος	
		Μετά την καρποφορία	Αύγουστος	
<i>Foeniculum vulgare</i> Miller (Μάραθος)	37 ⁰ 42' 59N 20 ⁰ 50' 36E	Μετά την καρποφορία	Φεβρουάριος	20
		Πριν την άνθηση	Μάιος	
		Πλήρης άνθηση	Αύγουστος	

Πίνακας 7: Φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα της μελέτης επίδρασης της μεθόδου παραλαβής- απομόνωσης.

Αρωματικό φυτό	Προέλευση	Μέρος φυτού	Είδος	Οικογένεια
Ρίγανη (Ιούνιος 2004)	Εύβοια	Φύλλα	<i>Origanum vulgare</i> L.	Labiatae
Τσαϊ του βουνού (Ιούνιος 2004)	Εύβοια	Φύλλα	<i>Sideritis spp.</i>	Labiatae
Μέντα (Ιούνιος 2004)	Εύβοια	Φύλλα	<i>Mentha spp.</i>	Labiatae
Δυόσμος (Ιούλιος 2004)	Αν. Αττική	Φύλλα	<i>Mentha spp.</i>	Labiatae

1.2 Διάλυμα πρότυπων ουσιών

Οι πρότυπες ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση των ενώσεων των συστατικών των αιθερίων ελαίων και τα RRI, όπως υπολογίστηκαν παρουσιάζονται στον **Πίνακα 8**.

Πίνακας 8 : Πρότυπες ουσίες

α/α	Πρότυπο	Προέλευση	RRI (CP-Sil8)	RRI (DB-Wax)
	(+)- α -πινένιο >99,5%	Fluka (Buchs, Germany)	940 \pm 1,2	1017 \pm 0,2
	(-)- β -πινένιο	Fluka (Buchs, Germany)	975 \pm 1,2	1093 \pm 0,4
	β -μυρκένιο	Fluka (Buchs, Germany)	991 \pm 1,3	1157 \pm 0,3
	R-(-)- α -φελλανδρένιο	Fluka (Buchs, Germany)	1001 \pm 0,2	1206 \pm 0,4
	α -τερπινένιο	Fluka (Buchs, Germany)	1012 \pm 0,9	1174 \pm 0,4
	<i>p</i> -κυμένιο	Fluka (Buchs, Germany)	1020 \pm 0,9	1266 \pm 0,01
	λιμονένιο	Kit No. 85C, essential oil fingerprint Kit	1023 \pm 0,1	1197 \pm 0,2
	1,8 κινεόλη	Fluka (Buchs, Germany)	1026 \pm 1,0	1210 \pm 0,1
	γ -τερπινένιο	Fluka (Buchs, Germany)	1053 \pm 0,8	1243 \pm 0,01
	λιναλοόλη 97%	Acros Organics (Geel, Belgium)	1096 \pm 0,2	1554 \pm 0,6
	(1R)-ενδο-(+)-φενχυλική αλκοόλη 96%	Acros Organics (Geel, Belgium)	1106 \pm 1,0	1588 \pm 0,01
	(-)- <i>trans</i> -πινοκαρβεόλη	Fluka (Buchs, Germany)	1131 \pm 0,6	1662 \pm 0,7
	καμφορά	Fluka (Buchs, Germany)	1135 \pm 0,7	1514 \pm 0,9
	(+)-ισοπουλεγόλη 99%	Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)	1139 \pm 0,7	1576 \pm 0,01
	(-)-βορνεόλη >99,5%	Fluka (Buchs, Germany)	1158 \pm 0,9	1708 \pm 0,3
	(+)-4-τερπινεόλη	Fluka (Buchs, Germany)	1171 \pm 0,7	1605 \pm 0,7
	μυρτενόλη	Fluka (Buchs, Germany)	1190 \pm 0,6	1798 \pm 0,7
	κιτρονελλόλη 95%	ACROS	1228 \pm 0,7	1775 \pm 0,5
	L(-)-καρβόνη 99%	Acros Organics (Geel, Belgium)	1238 \pm 0,8	1737 \pm 0,4
	<i>p</i> -ανισαλδεϋδη	Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)	1250 \pm 0,6	2026 \pm 0,8
	γερανιόλη 99%	Acros Organics (Geel, Belgium)	1255 \pm 0,4	1856 \pm 0,4
	οξικός εστέρας της λιναλοόλης	Kit No. 85C, essential oil fingerprint Kit	1258 \pm 0,1	1559 \pm 0,6
	<i>trans</i> -ανηθόλη	Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)	1282 \pm 0,7	1828 \pm 0,3

θυμόλη	AppliChem, Darmstadt	1293±0,3	2192±0,2
καρβακρόλη	Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)	1303±0,3	2221±0,4
<i>trans</i> -καρνοφυλένιο ή β- καρνοφυλένιο (-)-οξείδιο του καρνοφυλενίου 95%	Sigma-Aldrich, GmbH, Germany Acros Organics (Geel, Belgium)	1414±1,0	1594±0,01
α+β-Θουγιόνη	Fluka (Buchs, Germany)	1576±1,0	1984±0,2
Even n-paraffins (C8 thru C24)	PolyScience, Niles, Illinois		Kit No. 85C, essential oil fingerprint Kit
NC Mixture Even n-paraffins (C ₈ thru C ₂₄)	PolyScience, Niles, Illinois		Kit No. 85C, essential oil fingerprint Kit

I.3 Διαλύτες –Αντιδραστήρια

- Διχλωρομεθάνιο (*p.a. FISHER SCIENTIFIC*)
- Μεθανόλη (*p.a. MERCK*)
- *n*-τετραδεκάνιο (*p.a standard for GC, >99,5%, FLUKA*)
- Κιτρονελλόλη (*ACROS ORGANICS*)
- Άνυδρο Na₂SO₄ (*p.a. MERCK*)
- DPPH (1-διφαινυλο-2-πικραλυδραζόλη, *SIGMA*)

I.4 Παρασκευή διαλυμάτων και πηκτών βιοπολυμερών

Για την παρασκευή διαλυμάτων πηκτών και βιοπολυμερών χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα υλικά:

- Ζελατίνη (ICN Biomedicals, Catalogue Number 960317)
- Άμυλο (Cerestar)
- Απιονισμένο νερό

II. Όργανα

Τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν στη διατριβή ήταν:

1. Αέριος χρωματογράφος (*FISONS*)
2. Φασματογράφος μάζας συνδεδεμένος με αέριο-χρωματογράφο (*FISONS*) (GC 8000series, Model: 8060, MS: MD-800)
3. Συσκευή Solid Phase Microextraction (*SUPELCO*)
4. Συσκευή υδροαπόσταξης CLEVINGER

5. Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης ορατού-υπεριώδους (*JASCO V-530, Tokyo, Japan*)
6. Συσκευή ξήρανσης με κατάψυξη (freeze dryer) Unicryo MC2L-60° C
7. Ζυγός φαρμακευτικός (*OHAUS*) ($\pm 0,01$ g)
8. Ζυγός ακριβείας (*METTLER AE-200*) ($\pm 0,0001$ g)
9. Φούρνος (*HERAEUS TAI*)

III. Πειραματική διαδικασία

III. Πρώτο Μέρος. Αρωματικά φυτά-Μελέτη της επίδρασης της μεθόδου παραλαβής-απομόνωσης

III.1 Προετοιμασία δείγματος αιθερίων ελαίων

➤ Με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης Clevenger (Μέθοδος I)

Για την παραλαβή του αιθερίου ελαίου με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης χρησιμοποιήθηκε συσκευή τύπου Clevenger. Η συσκευή και η διαδικασία περιγράφεται αναλυτικά στην § III.2.3 του πειραματικού μέρους. Το ξηρό δείγμα (10g) (§III.2.2, Πειραματικό μέρος), τοποθετείται μαζί με 100 mL απιονισμένου νερού και 7mL εσωτερικού πρότυπου διαλύματος τετραδεκανίου (140ppm) στη σφαιρική φιάλη και θερμαίνεται με τη χρήση θερμομανδύα. Η διαδικασία ολοκληρώνεται όπως αναλυτικά περιγράφεται στην παράγραφο III.2.3 του πειραματικού μέρους. Η ανάλυση κάθε δείγματος έγινε τέσσερις φορές.

Για την παρασκευή του εσωτερικού προτύπου ζυγίστηκαν 0,14 g *n*-τετραδεκάνιο σε ζυγό ακριβείας ($\pm 0,0001$ g) και διαλύθηκαν σε 50 mL μεθανόλης. Το διάλυμα ήταν τελικής συγκέντρωσης 2.800ppm (mg/L). Από αυτό προέκυψε το διάλυμα εργασίας τελικής συγκέντρωσης 140ppm και χρησιμοποιήθηκε στην υδροαπόσταξη με τη μέθοδο Clevenger.

➤ Απομόνωση αιθερίων ελαίων με τη μέθοδο Headspace SPME (Solid Phase MicroExtraction) (Μέθοδος II)

Η απομόνωση των συστατικών αιθερίων από αρωματικά φυτά πραγματοποιήθηκε και με την τεχνική *headspace SPME*.

Οι συνθήκες ανάλυσης των δειγμάτων ήταν οι ακόλουθες: Χρησιμοποιήθηκε η ίνα DVB/CAR/PDMS 50/30 μ m (2cm) (divinylbenzene-Carboxen-polydimethylsiloxane, Supelco). Σε φιαλίδιο όγκου 4 mL με βιδωτό διάτρητο πώμα, μεταφέρθηκε μικρή ποσότητα δείγματος (όπως φαίνεται στον Πίνακα 9), 3 μ L εσωτερικού προτύπου κιτρονελλόλης

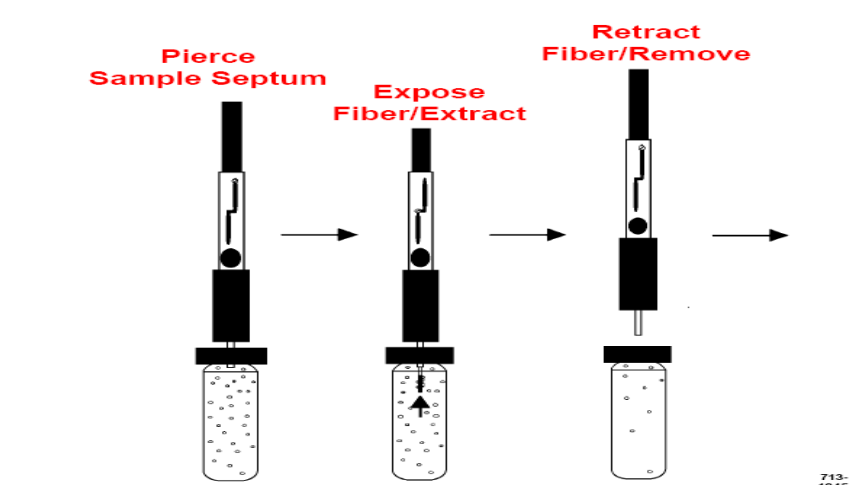
3252rpm. Το φιαλίδιο σφραγίζεται και το περιεχόμενο αφήνεται σε ηρεμία για 20min σε υδατόλουτρο στους 40°C. Η σύριγγα της SPME εισάγεται, τρυπώντας το διάφραγμα μέσα στο φιαλίδιο και πιέζοντας το έμβολο προς τα κάτω, όπου και εκτίθεται η ίνα στον υπερκείμενο χώρο (Εικόνα 17).

Πίνακας 9: Ποσότητα φυτών που χρησιμοποιήθηκε για τη μέθοδο SPME.

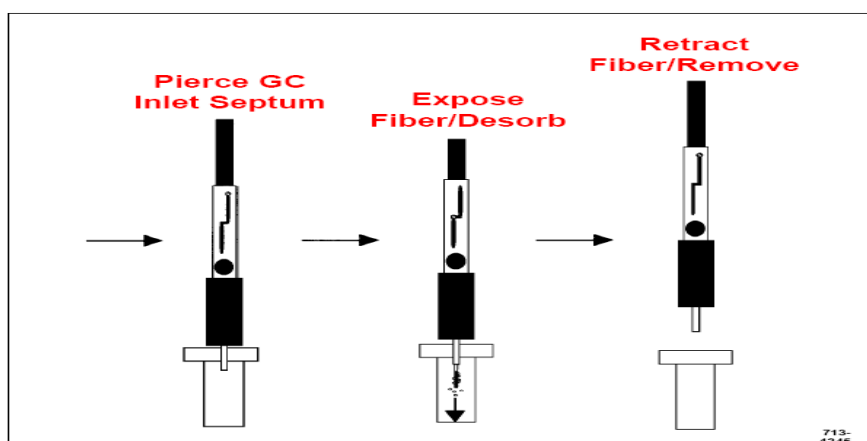
Ρίγανη	Τσάι του βουνού	Μέντα	Δυόσμος
0,1863g	0,217g	0,1769g	0,2016g
0,2304g	0,1872g	0,2073g	0,1856g
0,0921g	0,1278g	0,1505g	0,1732g
0,1564g	0,1549g	0,1699g	0,1865g

Για την παρασκευή του *εσωτερικού προτύπου διαλύματος κιτρονελλόλης*, ζυγίστηκαν 0,0813g κιτρονελλόλης σε ζυγό ακριβείας ($\pm 0,0001g$) και διαλύθηκαν σε 25 mL μεθανόλης. Η προκύπτουσα συγκέντρωση ήταν 3.252rpm. Η κιτρονελλόλη χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο για τη μέθοδο της SPME.

Η ισορροπία κατανομής μεταξύ της στατικής φάσης της ίνας και του δείγματος πραγματοποιήθηκε για 15min σε υδατόλουτρο στους 40°C. Το μήκος της ίνας στον υπερκείμενο χώρο διατηρείτο σταθερό. Η εκρόφιση των πτητικών από την ίνα πραγματοποιήθηκε στον εισαγωγέα του αέριου χρωματογράφου-φασματογράφου μάζας σε θερμοκρασία 250°C για 1 min, σε λειτουργία *splitless* (Εικόνα 18). Πριν από κάθε ανάλυση, η ίνα τοποθετείτο στον εισαγωγέα του αέριου χρωματογράφου προς εκδίωξη τυχόν εναπομεινασών πτητικών ουσιών. Η ανάλυση κάθε δείγματος έγινε δύο φορές.



Εικόνα 17: Μέθοδος SPME



Εικόνα 18: Εισαγωγή στον αέριο χρωματογράφο

III.1.1 Προσδιορισμός συστατικών αιθερίων ελαίων με αέρια χρωματογραφία-φασματοσκοπία μάζας (GC/MS)

Η ανάλυση των αιθερίων ελαίων και για τις δύο μεθόδους παραλαβής, πραγματοποιήθηκε σε αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας. Τα προς ανάλυση δείγματα αραιώθηκαν 1/100 (v/v) με πεντάνιο. Ποσότητα 1 μL εισήχθη στον εισαγωγέα σε λειτουργία *splitless* για 30s. Το πρόγραμμα θερμοκρασίας του φούρνου του αέριου χρωματογράφου ήταν το ακόλουθο:

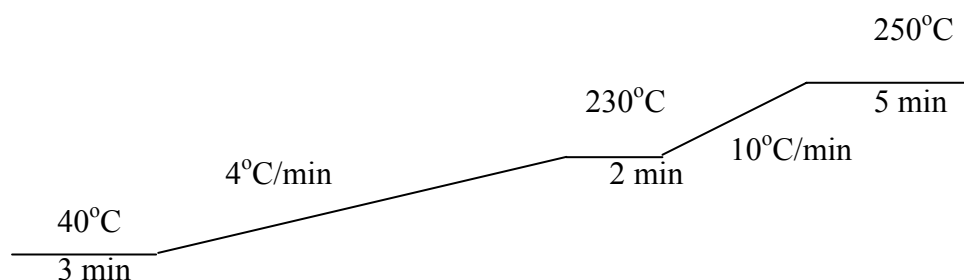
Θερμοκρασία εισαγωγέα: 230°C

Θερμοκρασία *interface*: 250°C

Θερμοκρασία πηγής ιόντων: 200°C

Τριχοειδής στήλη: CP-Sil8 (30m X 0,32mm, $df=0,25\mu\text{m}$) της Chrompack.

Φέρον αέριο: Ήλιο υψηλής καθαρότητας με ταχύτητα ροής 1,5 mL/min (30 kPa).



Ο τρόπος λειτουργίας του φασματογράφου μάζας ήταν *electron impact*, με την ενέργεια ορισμένη στα 70 eV και εύρος μαζών 29-400 m/z. Η ταυτοποίηση των συστατικών έγινε με: i) σύγκριση των σχετικών δεικτών κατακράτησης (RRI) με τους αντίστοιχους πρότυπων ουσιών (πειραματικών και βιβλιογραφίας, [Adams, 2001](#)) και με ii) σύγκριση των δεδομένων φασματοσκοπίας μαζών με τα αντίστοιχα πρότυπων ουσιών (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany, Acros Organics, Geel, Belgium, Fluka, Buchs, Germany and

AppliChem, Wiley [<http://eu.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-04-70047852.html>] και NIST [<http://www.nist.gov/srd/nist1a.htm>]. Η ανάλυση κάθε δείγματος γινόταν εις τριπλούν. Το λογισμικό καταγραφής και επεξεργασίας δεδομένων ήταν το MASSLAB 1.2.7 (FISONS). Ο ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε διαιρώντας τα εμβαδά των κορυφών των ενώσεων με το εμβαδόν της κορυφής του εσωτερικού προτύπου και πολλαπλασιάζοντας αυτόν το λόγο με τη συγκέντρωση του εσωτερικού προτύπου (εκφρασμένη σε $\mu\text{g/L}$ ή mg/L). Τα εμβαδά των κορυφών υπολογίστηκαν είτε από το χρωματογράφημα ολικής σάρωσης (*full scan*), είτε επιλέγοντας συγκεκριμένα θραύσματα (m/z).

III.1.2 Ημιποσοτικός προσδιορισμός συστατικών

Τα συστατικά που ανιχνεύθηκαν καθώς και το % ποσοστό τους στο μίγμα, παρουσιάζονται σε πίνακες. Το % ποσοστό κάθε συστατικού είναι ο μέσος όρος τριών ή δύο επαναλήψεων. Για την ποσοτικοποίηση των συστατικών χρησιμοποιήθηκε ο τύπος

$$\frac{E_x}{E_{E.Π.}} \times \frac{m_x}{m_{E.Π.}} \times 100, \text{ όπου } E_x \text{ το εμβαδό του εκάστοτε συστατικού, } m_x \text{ η μάζα του}$$

συστατικού, $E_{E.Π.}$ το εμβαδό του εσωτερικού προτύπου και $m_{E.Π.}$ η μάζα του εσωτερικού προτύπου. Η επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων της μεθόδου ελέγχθηκε με τον υπολογισμό της τυπικής απόκλισης (Standard Deviation, SD) σε κάθε περίπτωση.

III.2 Δεύτερο μέρος - Αρωματικά φυτά –Μελέτη της εποχικής διακύμανσης

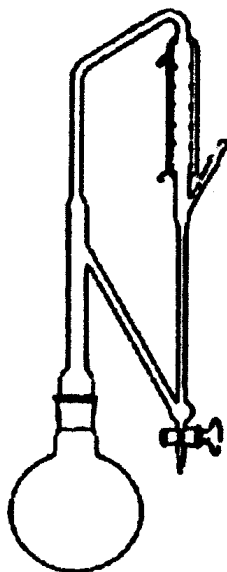
III.2.1 Συλλογή και Αποθήκευση φυτικών δειγμάτων

Η συγκομιδή των δειγμάτων (περίπου 500 g) πραγματοποιήθηκε κατά τις πρωινές ώρες. Για κάθε δειγματοληπτική περίοδο, οι δειγματοληψίες πραγματοποιούνταν από τον ίδιο θάμνο, και συγκεκριμένα από 10-15 σημεία αυτού, ή από παράπλευρους θάμνους της ίδιας υψομετρικής διαβάθμισης, ούτως ώστε να ελαχιστοποιούνται παράγοντες όπως γενετικές διαφοροποιήσεις, διάρκεια έκθεσης στο φως κ.α., που μπορεί να μεταβάλλουν τη χημική τους σύσταση και να οδηγήσουν σε αποκλίσεις από τις συνθήκες που επιβάλλει ο αντικειμενικός σκοπός της έρευνας. Μετά από τη συγκομιδή, τα δείγματα των φυτών μεταφέρονταν με καθαρά χάρτινα κιβώτια σε κατάλληλα διαμορφωμένους χώρους για περαιτέρω φυσική ξήρανση με έκθεση στον αέρα (§ III.2.2, Πειραματικό μέρος).

III.2.2 Διαδικασία Ξήρασης με έκθεση στον αέρα

Για την ξήρανση με έκθεση στον αέρα, το φυτικό υλικό τεμαχίζοταν σε μικρότερα κομμάτια τα οποία τοποθετούνταν σε αλουμινένιους δίσκους με απορροφητικό χαρτί, οι οποίοι είχαν ζυγιστεί προηγουμένως σε ζυγό ακριβείας (για να αφαιρεθεί το βάρος τους από το εξεταζόμενο βάρος του δείγματος). Έπειτα ακολουθούσε η τοποθέτηση αυτών σε σκοτεινό δωμάτιο και με τη βοήθεια κλιματιστικού η υγρασία παρέμενε σταθερά χαμηλή και η θερμοκρασία κυμαινόταν από 24 °C έως 25 °C. Όταν το βάρος των δειγμάτων σταθεροποιείτο για δύο ημέρες, τα δείγματα συλλέγονταν και θρυματίζονταν. Το φυτικό υλικό το οποίο δεν προοριζόταν για άμεση ανάλυση συσκευαζόταν σε γυάλινες φιάλες, ερμητικά κλειστές, αφού πρώτα είχε διαβιβαστεί ρεύμα αζώτου για την προστασία αυτού από την οξείδωση και αποθηκεύονταν σε σκοτεινό χώρο, χωρίς υγρασία. Η ανάλυση του φυτικού υλικού γινόταν εντός τριών μηνών από τη περίοδο συλλογής του.

ΠΙ.2.3 Παραλαβή αιθερίων ελαίων με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης σε συσκευή Clevenger



Εικόνα 19: Συσκευή Clevenger που χρησιμοποιήθηκε για την παραλαβή αιθερίων ελαίων από τα αρωματικά φυτά

Η παραλαβή των αιθερίων ελαίων, από το αφυδατωμένο φυτικό υλικό (§ΠΙ.2.2, **Πειραματικό μέρος**), έγινε με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης σε συσκευή Clevenger. Η μέθοδος αυτή είναι η πιο γνωστή και η πιο διαδεδομένη για την απομόνωση των αιθερίων ελαίων από αρωματικά φυτά.

Η συσκευή όπως φαίνεται και στην εικόνα αποτελείται από ένα κύριο μέρος που περιέχει ένα γυάλινο κατακόρυφο σωλήνα και ψυκτήρα που είναι συνδεδεμένος με βαθμονομημένο σωλήνα (4 mL x 0,05 mL) με στρόφιγγα. Ένας σωλήνας επιστροφής της υδατικής φάσης του αποστάγματος συνδέει το κάτω μέρος του βαθμονομημένου σωλήνα με τον κατακόρυφο σωλήνα. Η σφαιρική φιάλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν με εσφυρισμένο τοίχωμα και χωρητικότητα 1000mL. Το δείγμα (30g) τοποθετείται με ποσότητα 300 mL απιονισμένου νερού στη σφαιρική φιάλη και θερμαίνεται με τη χρήση θερμομανδύα. Οι υδρατμοί που σχηματίζονται μαζί με τα πτητικά συστατικά φτάνουν στον ψυκτήρα, στον οποίο κυκλοφορεί νερό βρύσης και υγροποιούνται. Το νερό ανακυκλώνεται, ενώ η φάση του αιθερίου ελαίου βρίσκεται υπερκείμενα του νερού και σταδιακά συγκεντρώνεται στο βαθμονομημένο σε mL σωλήνα του κύριου μέρους της συσκευής. Πρακτικά, όταν η ποσότητα του αιθερίου ελαίου που έχει αποσταχθεί δεν αυξάνεται άλλο, η διαδικασία έχει ολοκληρωθεί. Συνήθως διαρκεί 3h. Το αιθέριο έλαιο, ο όγκος του οποίου, μετράται άμεσα σε mL και εκφράζεται σε mL/100g ξηρού δείγματος, συλλέγεται και φυλάσσεται στην

κατάψυξη, με προσθήκη μικρής ποσότητας άνυδρου Na_2SO_4 , μέχρι την ανάλυσή του με GC-MS.

III.2.4 Προσδιορισμός συστατικών αιθερίων ελαίων με αέρια χρωματογραφία-φασματοσκοπία μάζας (GC/MS)

Η ανάλυση των αιθερίων ελαίων που παραλήφθηκαν με την μέθοδο που περιγράφηκε στην § III.2.3 του πειραματικού μέρους, πραγματοποιήθηκε σε αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας. Τα προς ανάλυση δείγματα αραιώθηκαν 1/100 (v/v) με διχλωρομεθάνιο. Ποσότητα 1 μL εγχύθηκε στον εισαγωγέα σε λειτουργία *split* (split ratio 1/30). Το πρόγραμμα θερμοκρασίας του φούρνου του αέριου χρωματογράφου ήταν το ακόλουθο:

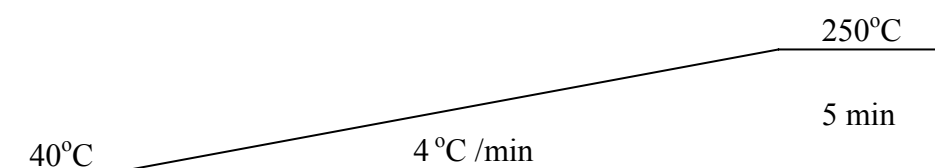
Θερμοκρασία εισαγωγέα: 230°C

Θερμοκρασία γραμμής μεταφοράς (*interface*): 270°C

Θερμοκρασία πηγής ιόντων: 200°C

Τριχοειδείς στήλες : CP-Sil8 (30m X 0,32mm, df=0,25 μm) της Chrompack και DB-Wax (30m X 0,25mm, df=0,25 μm) της J&W

Φέρον αέριο: Ήλιο υψηλής καθαρότητας με ταχύτητα ροής 1,0 mL/min (30 kPa).



Ο τρόπος λειτουργίας του φασματογράφου μάζας ήταν *electron impact*, με την ενέργεια ορισμένη στα 70 eV και εύρος σάρωσης μαζών 30-400 m/z. Η ταυτοποίηση των συστατικών έγινε με: i) σύγκριση των σχετικών δεικτών κατακράτησης (RRI) με τους αντίστοιχους πρότυπων ουσιών (πειραματικών και βιβλιογραφίας, *Adams, 2001*). Για τον υπολογισμό των RRI χρησιμοποιήθηκαν υδρογονάνθρακες με άρτιο αριθμό ευθείας αλυσίδας ατόμων άνθρακα ($\text{C}_8\text{-C}_{24}$) (Niles, Illinois, USA), ii) σύγκριση των δεδομένων φασματοσκοπίας μαζών με τα αντίστοιχα πρότυπων ουσιών (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany, Acros Organics, Geel, Belgium, Fluka, Buchs, Germany and AppliChem, Wiley [<http://eu.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-04-70047852.html>] και NIST [<http://www.nist.gov/srd/nist1a.htm>]. Η ανάλυση κάθε δείγματος γινόταν εις τριπλούν.

III.2.5 Πρότυπα διαλύματα

Η παρασκευή των διαλυμάτων των πρότυπων ουσιών (**Πίνακας 8**) έγινε αραιώνοντας 100μL πρότυπης ουσίας μέχρις όγκου 10mL σε διαλύτη διχλωρομεθάνιο. Το διάλυμα εργασίας ήταν ένα μίγμα που προέκυψε από την ανάμιξη των προηγούμενων διαλυμάτων με υδρογονάνθρακες (C₈ –C₂₄) ως εξής: ποσότητα 50μL από όλες τις ουσίες και τους υδρογονάνθρακες εκτός από την θυμόλη (100μL) και την καρβακρόλη (30μL). Ποσότητα 1μL από το διάλυμα εργασίας εισήχθη στον αέριο χρωματογράφο με την τεχνική *split*.

III.2.6 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη μέθοδο δέσμευσης ελευθέρων ριζών [με χρήση της ελεύθερης ρίζας DPPH (1,1- diphenyl-2-picryl hydrazyl)]

Στο δεύτερο μέρος της εργασίας εξετάστηκε επιπλέον η αντιοξειδωτική δράση των συστατικών των αιθερίων ελαίων των φυτών με χρήση της σταθερής ρίζας DPPH (1-διφαινυλο-2-πικραλδραζόλη), σύμφωνα με τη μέθοδο του *Molyneux (2004)*. Παρασκευάστηκε διάλυμα αιθερίου ελαίου σε MeOH συγκέντρωσης 50 g/L και διάλυμα DPPH σε MeOH συγκέντρωσης 10⁻⁴ M. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 2 mL δείγματος (σε αυξανόμενη συγκέντρωση από 0-25g/L) και 2 mL διαλύματος DPPH, ακολούθησε ανάδευση του μίγματος σε vortex και παραμονή για 30min σε σκοτεινό μέρος. Η μέτρηση της απορρόφησης έγινε στα 517nm, σε φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης, και χρησιμοποιήθηκε κυψελίδα όγκου 4 mL. Το τυφλό δείγμα περιείχε 2mL δμ. DPPH και 2mL μεθανόλης. Ο μηδενισμός του φασματοφωτομέτρου έγινε με MeOH.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των δειγμάτων εκφράζεται ως EC_{50%} (efficient concentration value) ή IC_{50%} (Inhibition Concentration):

$$EC_{50\%} = [(A_T - A_\Delta) / A_T] * 100$$

Όπου A_T και A_Δ είναι οι τιμές της απορρόφησης του τυφλού και του υπό εξέταση δείγματος αντίστοιχα.

Η συγκέντρωση του δείγματος που μειώνει την αρχική απορρόφηση του τυφλού δ/τος κατά 50% βρίσκεται από την γραφική παράσταση των ποσοστών μείωσης της απορρόφησης με τη συγκέντρωση των δειγμάτων (0.5, 1.2, 2, 2.8, 4, 6.5, 12, 20, 25 g/L)

III.3 Τρίτο Μέρος. Μελέτη της επίδρασης του χρόνου ξήρανσης και της μείωσης των απωλειών πτητικών συστατικών κατά την ξήρανση με κατάψυξη- εξάχνωση (ή λυοφιλίωση). Σύγκριση με τη συμβατική ξήρανση στον αέρα

III.3.1 Φυτικό υλικό

Στο τρίτο μέρος εξετάζεται :

α) η *χημική σύσταση* του αιθερίου ελαίου του μάραθου, που συλλέχθηκε από την περιοχή της Ζακύνθου το 2005 κατά τους μήνες Φεβρουάριο, Μάιο και Αύγουστο.

β) η επίδραση της *ξήρανσης με κατάψυξη- εξάχνωση (λυοφιλίωση)* στη σύσταση του αιθερίου ελαίου του μάραθου. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε δείγμα το οποίο συλλέχθηκε πάλι από τη Ζάκυνθο κατά την περίοδο του Μαρτίου 2008. Το δείγμα μεταφέρθηκε στο εργαστήριο μέσα σε φορητά ψυγεία και αφού τεμαχίστηκε, τοποθετήθηκε σε προζυγισμένα δισκάκια και παρέμεινε στην κατάψυξη (στους -20 °C) μέχρι τη λυοφιλίωσή του. Η ξήρανση με κατάψυξη πραγματοποιήθηκε σε τρεις χρόνους : 7, 15 και 24h.

γ) η *επίδραση των υλικών φραγμού* στη συγκράτηση των πτητικών συστατικών του αιθερίου ελαίου του μάραθου. Για το σκοπό αυτό η προμήθεια του φυτικού υλικού έγινε από λαϊκή αγορά της περιοχής των Αθηνών.

Και στις δύο περιπτώσεις το φυτικό υλικό αποτελείτο από το υπέργειο τμήμα του φυτού (χωρίς καρπούς και άνθη).

III.3.2 Παρασκευή διαλυμάτων και πηκτών βιοπολυμερών

- Η απαιτούμενη ποσότητα ζελατίνης, ώστε τελικά να προκύψουν διαλύματα με συγκεντρώσεις 2,5, 5 και 10 %κ.β., ζυγίζεται σε ποτήρι ζέσεως που περιέχει απιονισμένο νερό. Το μίγμα αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου για 1h περίπου, ώστε να διαβραχεί η ζελατίνη από το νερό. Ακολουθεί θέρμανση στους 60°C υπό ανάδευση, μέχρι να διαλυθεί η ζελατίνη. Αν χρειάζεται (εξαιτίας της εξάτμισης του νερού), γίνεται ρύθμιση του βάρους με προσθήκη ή εξάτμιση νερού. Όλες οι χρησιμοποιούμενες συγκεντρώσεις οδηγούν σε πηκτές.
- Η κατάλληλη ποσότητα αμύλου, ώστε τελικά να προκύψουν διαλύματα με συγκεντρώσεις 20 και 40 % κ.β. διασπείρεται σε απιονισμένο νερό και κατόπιν θερμαίνεται

στους 90°C υπό συνεχή ανάδευση. Ακολουθεί, αν χρειάζεται, ρύθμιση του βάρους. Το συγκεκριμένο άμυλο δεν πήζει.

- Τα προκύπτοντα διαλύματα ζελατίνης και αμύλου, μεταφέρονται σε ψυγείο στους 5°C. Πριν τη διαδικασία της λυοφιλίωσης, απομακρύνονται από το ψυγείο και με τη βοήθεια ελαφριάς θέρμανσης έρχονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ή, αντίστοιχα οι πηκτές, λιώνουν. Συγκεκριμένη ποσότητα φυτού εμβαπτίζεται στα διαλύματα και μεταφέρεται σε καταψύκτη στους -20°C.

III.3.3 Προσδιορισμός υγρασίας

Ο προσδιορισμός της υγρασίας του φυτικού υλικού σε κάψες έγινε με ξήρανση σε φούρνο στους 105°C για 24 h (*Shitanda et al., 2006; Chen et al., 2000*). Μετά την ξήρανση οι κάψες με το ξηρό φυτικό υλικό μεταφέρθηκαν σε ξηραντήρα για 30 min και στη συνέχεια ζυγίστηκαν με ακρίβεια 0,1 mg. Η υγρασία εκφράζεται επί ξηρής βάσης .

III.3.4 Ξήρανση με λυοφιλίωση

Η ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση (λυοφιλίωση) πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία -40 έως -60 °C και πίεση -0.1mbar. Μικρά τεμάχια του φυτού (μήκους έως 3 cm) τα οποία είχαν τοποθετηθεί σε ειδικά προζυγισμένα δισκάκια (βλέπε § III.3.1, πειραματικό μέρος) εξέρχονται από την κατάψυξη και τοποθετούνται στα ειδικά ράφια του λυοφιλοποιητή. Στο τέλος της διαδικασίας το ξηρό δείγμα ζυγίζεται και η περιεχόμενη υγρασία του υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\%Y = ((W-D)/W)*100 \text{ (1)}$$

όπου W: βάρος δείγματος πριν την επεξεργασία, D: βάρος λυοφιλοποιημένου δείγματος.

Οι χρόνοι ξήρανσης που εξετάστηκαν ήταν οι 7, 15 και 24 ώρες. Η διαφορά βάρους πριν και μετά τη λυοφιλίωση αντιστοιχεί στην περιεχόμενη υγρασία του δείγματος μετά την ξήρανση και υπολογίζεται με τη βοήθεια της σχέσης (1).

Η ξήρανση με ρεύμα θερμού αέρα πραγματοποιήθηκε σε ηλεκτρικό φούρνο (*HERAEUS TAI*) στους 60°C για 48 h (*Venskutonis 1997*).

III.3.4.1 Ξήρανση με λυοφιλίωση φυτικού υλικού και υλικών φραγμού

Προζυγισμένη ποσότητα δείγματος που έχει εμβαπτιστεί στα διαλύματα βιοπολυμερών αρχικά καταψύχεται στους -20 °C. Στη συνέχεια τοποθετείται στο θάλαμο κενού του ξηραντήρα. Οι συνθήκες αφυδάτωσης είναι αυτές που περιγράφονται στην § III.3.4 του Πειραματικού μέρους.

III.3.5 Μέθοδος της Υδροαπόσταξης

Η μέθοδος περιγράφεται αναλυτικά στην § III.2.3 του πειραματικού μέρους. Για την παρασκευή του εσωτερικού προτύπου ζυγίστηκαν 55,6 mg *n*-τετραδεκάνιο σε ζυγό ακριβείας και διαλύθηκαν σε 5 mL διχλωρομεθανίου. Το διάλυμα εργασίας ήταν τελικής συγκέντρωσης 3.177 ppm (mg/L).

III.3.6 Προσδιορισμός συστατικών αιθερίου ελαίου μάραθου σε GC-FID

Η ανάλυση των συστατικών του αιθερίου ελαίου που απομονώθηκαν από το φυτό του μάραθου και που ξηράθηκε με τη μέθοδο της λυοφιλίωσης και την προσθήκη πηκτών πραγματοποιήθηκε μετά από αραίωση 1/100 σε διχλωρομεθάνιο σε αέριο χρωματογράφο, ο οποίος ήταν εξοπλισμένος με εισαγωγή *split-splitless* (split ratio 1/40) και ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID). Η καταγραφή των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό CHROMCARD (CE Instruments). Οι συνθήκες λειτουργίας του οργάνου για την ανάλυση ήταν οι ακόλουθες:

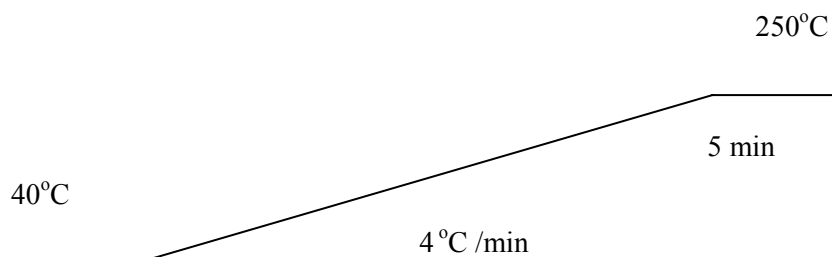
Θερμοκρασία εισαγωγέα: 230°C

Θερμοκρασία ανιχνευτή: 270°C

Τριχοειδής στήλη: Equity 5 (30 m x 0.25 mm, film thickness 0.25 μm) της Supelco.

Φέρον αέριο: Ήλιο υψηλής καθαρότητας με ταχύτητα ροής 2,32 mL/min (135 kPa).

Το πρόγραμμα θερμοκρασίας του φούρνου του αέριου χρωματογράφου ήταν το ακόλουθο:



Η ποσοτική ανάλυση βασίστηκε στη μέθοδο του εσωτερικού προτύπου, το οποίο ήταν *n*-tetradecane (reference substance for gas chromatography, Aldrich). Σε όλα τα δείγματα γινόταν προσθήκη γνωστής ποσότητας εσωτερικού προτύπου (3.177 mg/L *n*-τετραδεκανίου) και η ανάλυσή τους γινόταν εις τριπλούν. Ο ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων πραγματοποιήθηκε διαιρώντας τα εμβαδά των κορυφών των ενώσεων με το εμβαδόν της κορυφής του εσωτερικού προτύπου και πολλαπλασιάζοντας αυτόν το λόγο με τη συγκέντρωση του εσωτερικού προτύπου (εκφρασμένη σε mg/L). Η ταυτοποίηση των συστατικών έγινε με τη βοήθεια των σχετικών δεικτών κατακράτησης (Relative Retention Index, RRI) των συστατικών με τους αντίστοιχους των πρότυπων ουσιών καθώς και με GC/MS.

IV. Στατιστική επεξεργασία

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με χρήση του προγράμματος STATGRAPHICS Plus 4.0 για τα Windows (StatPoint, Inc., VA). Η ανάλυση διασποράς ή διακύμανσης (One-way ANOVA) χρησιμοποιήθηκε για να εξετασθεί εάν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών των κύριων συστατικών αιθερίων ελαίων στη μελέτη της εποχικής διακύμανσης. Για να προσδιοριστεί ποιες μέσες τιμές διαφέρουν στατιστικά χρησιμοποιήθηκε το τεστ LSD (least significant difference test). Ως σημαντικές θεωρήθηκαν τιμές με $p < 0,05$ σε επίπεδο σημαντικότητας 95%. Με τη χρήση της Ανάλυσης Κυρίων Συνιστωσών (Principal Component Analysis –PCA) προέκυψαν οι κύριες συνιστώσες που χαρακτηρίζουν την εποχική διακύμανση της σύστασης των αιθερίων ελαίων των έξι φυτών που μελετήθηκαν στο δεύτερο μέρος της παρούσας διατριβής. Επιπλέον η διακριτική ή διαχωριστική ανάλυση (Discriminant Analysis) των κυρίων συστατικών ή των κυρίων χημικών ομάδων που συνιστούν το αιθέριο έλαιο κάθε φυτού πληροφορεί για εκείνα τα συστατικά που είναι υπεύθυνα για τη διάκριση των εποχών μεταξύ τους.

Στη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης (Δεύτερο μέρος) η συσχέτιση (correlation) μεταξύ των δύο μεταβλητών πραγματοποιήθηκε εκτιμώντας τον συντελεστή γραμμικής

συσχέτισης (r) κατά Pearson (Pearson correlation coefficient, r) και της στατιστικής του σημασίας (p), όπου για $p < 0,01$ θεωρήθηκε σημαντική (σε επίπεδο σημαντικότητας 99%).

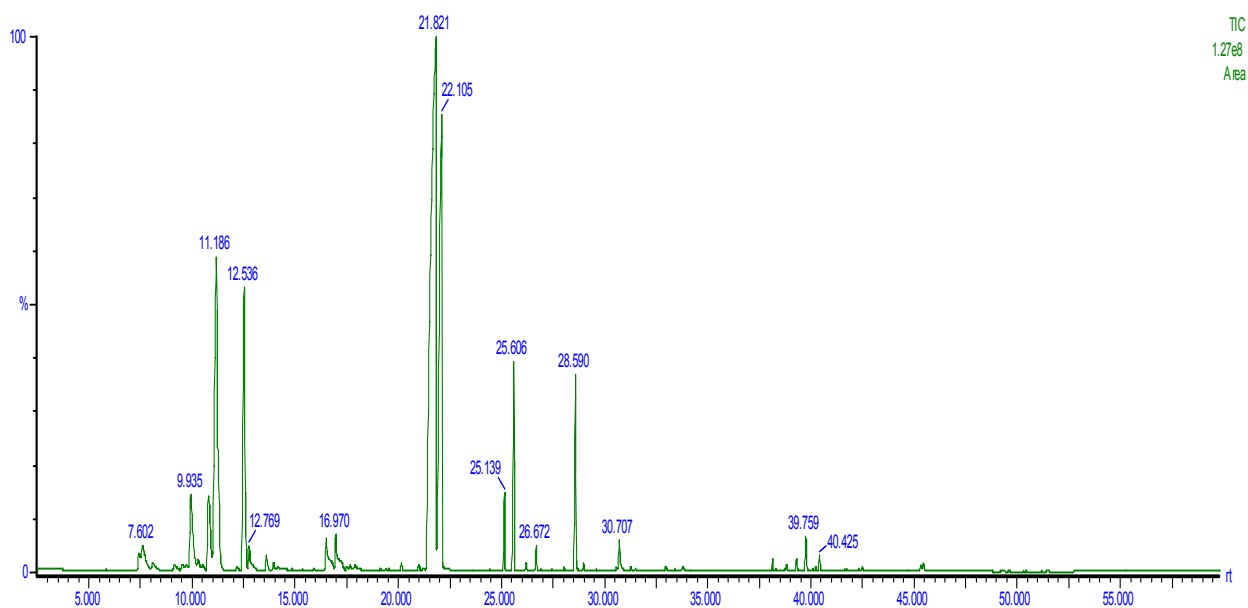
Στο Πρώτο μέρος της παρούσας διατριβής η σύγκριση των αποτελεσμάτων της υδροαπόσταξης και της SPME έγινε με την εφαρμογή της ανάλυσης διασποράς (Two-way ANOVA) με δύο παράγοντες, τη μέθοδο επεξεργασίας και τις κύριες χημικές ομάδες των συστατικών των φυτών.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

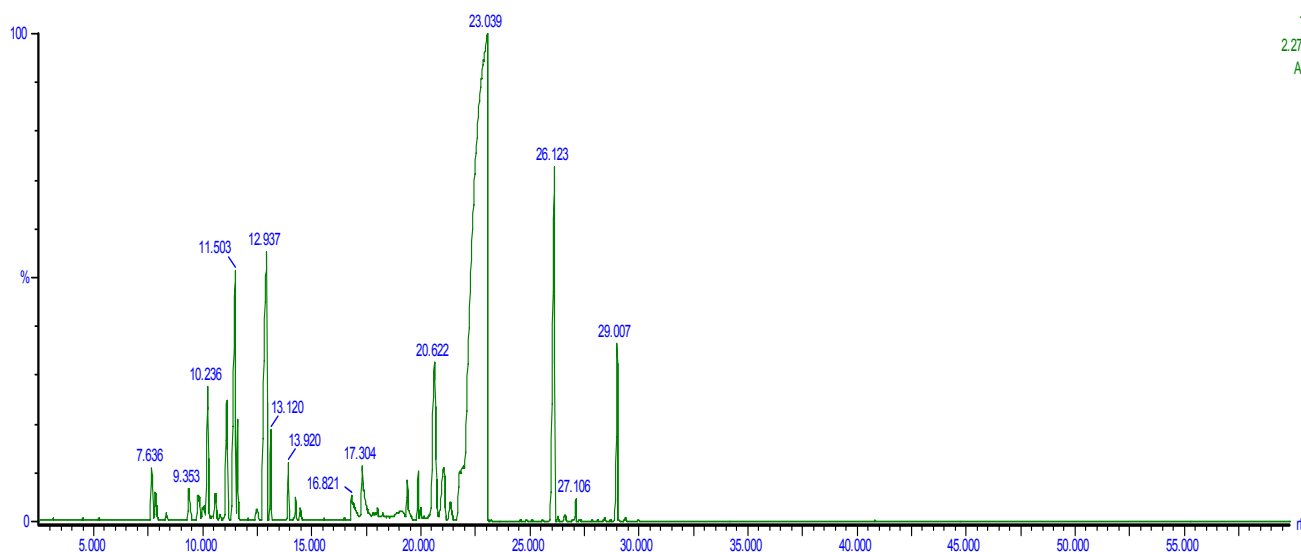
I. Πρώτο Μέρος- Αρωματικά φυτά.Μελέτη της επίδρασης της μεθόδου παραλαβής-απομόνωσης

Η μελέτη της επίδρασης της μεθόδου παραλαβής-απομόνωσης πτητικών συστατικών έγινε στα φυτά ρίγανη, τσάι, μέντα και δυόσμο και τα αποτελέσματα του ποιοτικού και ποσοτικού προσδιορισμού της σύστασης του αιθερίου ελαίου τους παρουσιάζονται στη συνέχεια.

I.1 Ρίγανη (*Origanum vulgare*)



Σχήμα 15. Χρωματογράφημα (TIC) συστατικών του αιθερίου ελαίου της ρίγανης που παραλήφθηκε με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης και προσδιορίστηκαν με GC/MS.



Σχήμα 16 : Χρωματογράφημα (TIC) συστατικών του αιθέριου ελαίου της ρίγανης που απομονώθηκε με τη μέθοδο SPME και προσδιορίστηκαν με GC/MS.

Η ποιοτική και ποσοτική ανάλυση του αιθέριου ελαίου της ρίγανης που παραλήφθηκε-απομονώθηκε με τις δύο μεθόδους φαίνεται στον **Πίνακα 10**.

Πίνακας 10: Σύσταση (%) του αιθέριου ελαίου της ρίγανης (*Origanum vulgare*) που παραλήφθηκε-απομονώθηκε με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME, αντίστοιχα, και προσδιορίστηκε με GC/MS

Ένωση	Σύσταση %- Μέθοδος υδροαπόσταξης	Σύσταση %- Μέθοδος SPME	Αξιοπιστία Ταυτοποίησης ^a
ΜΟΝΟΤΕΡΠΗΝΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ			
[$C_{10}H_{16}$] και [$C_{10}H_{14}$]			
α -θουγένιο [$C_{10}H_{16}$]	3,75±0,29	-	a
α -πινένιο [$C_{10}H_{16}$]	2,62±0,35	1,99±0,92	ab
καμφένιο [$C_{10}H_{16}$]	1,35±0,34	0,46±0,31	a
β -πινένιο [$C_{10}H_{16}$]	2,57±0,31	0,86±0,11	ab
σαβινένιο [$C_{10}H_{16}$]	-	0,86±0,51	a
β -μυρκένιο [$C_{10}H_{16}$]	2,77±0,44	-	ab
α -φελανδρένιο [$C_{10}H_{16}$]	4,58±0,36	2,34±0,07	a
δ -3-καρένιο [$C_{10}H_{16}$]	tr	-	a
α -τερπινένιο [$C_{10}H_{16}$]	3,82±0,98	2,09±0,24	ab

<i>p</i> -κυμένιο [$C_{10}H_{14}$]	0,36±0,13	-	ab
<i>o</i> -κυμένιο [$C_{10}H_{14}$]	-	3,54±0,77	a
λιμονένιο[$C_{10}H_{16}$]	-	1,78±0,48	ab
(<i>E</i>)-β-οκιμένιο [$C_{10}H_{14}$]	0,29±0,13	0,22±0,09	a
γ-τερπινένιο[$C_{10}H_{14}$]	6,44±1,22	2,18±0,85	a
αλλο-οκιμένιο[$C_{10}H_{14}$]	-	1,61±0,51	a
α-τερπινολένιο[$C_{10}H_{14}$]	0,45±0,2	-	a
ΟΞΥΓΟΝΩΜΕΝΑ ΜΟΝΟΤΕΡΠΗΝΙΑ			
υδρόξυ εστέρας του			a
σαβινενίου	0,40±0,28	2,91±0,66	
λιναλοόλη [$C_{10}H_{18}O$]	1,94±0,09	0,36±0,2	a
άγνωστο 1 [$C_{12}H_{18}O_2$]	0,7±0,10	tr	a
βορνεόλη [$C_{10}H_{18}O$]	3,29±0,24	4,41±0,26	ab
τερπινεν-4-όλη [$C_{10}H_{18}O$]	-	0,49±0,03	a
α-τερπινεόλη [$C_{10}H_{18}O$]	1,62±0,19	-	a
διυδροκαρβεόλη [$C_{10}H_{18}O$]	0,3±0,02	-	a
πιπεριτόλη [$C_{10}H_{18}O$]	0,3±0,07	-	a
καρβόνη [$C_{10}H_{14}O$]	0,09±0,09	-	a
εστέρας της γερανιόλης [$C_{12}H_{20}O_2$]	0,17±0,21	-	a
ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΗΝΙΑ			
ισοκαρνοφυλλένιο [$C_{15}H_{24}$]	3,05±0,39	-	a
<i>trans</i> - καρνοφυλλένιο[$C_{15}H_{24}$]	-	2,76±1,64	ab
α-χουμουλένιο[$C_{15}H_{24}$]	0,05±0,03	-	a
β-φαρνεσένιο[$C_{15}H_{24}$]	tr	0,06 ±0,01	a
πατσουλένιο[$C_{15}H_{24}$]	0,05±0,03	-	a
β-σελινένιο[$C_{15}H_{24}$]	-	1,14±0,41	a
β-μπισαμπολένιο[$C_{15}H_{24}$]	0,05±0,02	-	a
δ-καδινένιο[$C_{15}H_{24}$]	-	0,64±0,31	a
β-σεσκιφελλανδρένιο[$C_{15}H_{24}$]	0,18±0,07	0,64±0,03	a
ΟΞΥΓΟΝΩΜΕΝΑ ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΗΝΙΑ			
οξείδιο του καρνοφυλλενίου[$C_{15}H_{24}O$]	0,22±0,03	-	ab
α-μπισαμπολόλη [$C_{15}H_{26}O$]	0,13±0,02	-	a
άγνωστο 2 [$C_{18}H_{36}O$]	0,15±0,02	-	a

ΦΑΙΝΟΛΕΣ

καρβακρόλη [$C_{10}H_{14}O$]	-	tr	ab
θυμόλη [$C_{10}H_{14}O$]	48,54±0,42	50,42±0,03	ab

ΑΛΕΙΦΑΤΙΚΟΙ**ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ**

ισοβούτυλο βενζόλιο (benzene 2-methylpropyl) [$C_{10}H_{14}$]	-	0,12±0,08	a
1,7 οκταδιένιο, 2,6 διμεθύλιο [$C_{10}H_{18}$]	-	0,30±0,15	a
4,6 εξαδεκένιο [$C_{16}H_{32}$]	-	0,05±0,01	a
1,3 δωδεκένιο [$C_{12}H_{20}$]	-	0,07±0,01	a
οκταδεκάνιο [$C_{18}H_{38}$]	0,05±0,02	-	a

ΑΛΚΟΟΛΕΣ

2-εξεν-1-όλη [$C_6H_{12}O$]	-	0,5±0,01	a
1-εξανόλη [$C_6H_{12}O$]	-	0,10±0,07	a
7-οκτεν-4-όλη [$C_8H_{16}O$]	0,12±0,02	1,93±0,64	a
3-οκτανόλη [$C_8H_{18}O$]	-	0,80±0,16	a

ΑΛΛΕΥΔΕΣ

εξανάλη [$C_6H_{12}O$]	-	0,05±0,01	a
2-εξανάλη [$C_6H_{12}O$]	-	0,39±0,30	a
επτανάλη [$C_7H_{14}O$]	-	tr	a
νονάλη [$C_9H_{18}O$]	-	0,25 ±0,08	a

ΚΕΤΟΝΕΣ

3-επτανόνη [$C_7H_{14}O$]	-	0,16±0,05	a
3-μεθυλοκυκλοεξανόνη [$C_7H_{12}O$]	-	tr	a
3-οκτανόνη [$C_8H_{16}O$]	0,37±0,04	1,61±0,07	a

ΟΞΕΑ

διαιθυλο φθαλικό οξύ [$C_{12}H_{14}O_4$]	0,13±0,04	-	a
ισοπρόπυλο δωδεκανοϊκό οξύ [$C_{15}H_{30}O_2$]	tr	-	a

ΕΣΤΕΡΕΣ

2-μεθυλεστέρας του βουτυρικού οξέος [$C_6H_{12}O_2$]	-	0,02±0,01	a
2-υδρόξυ-μεθυλεστέρας του βενζοϊκού οξέος [$C_8H_8O_3$]	-	0,78±0,04	a
εστέρας 1 [$C_{16}H_{22}O_4$]	0,35±0,16	-	a

εστέρας 2 [$C_{20}H_{30}O_4$]	0,06 ±0,01	-	a
ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΚΟΙ			
ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ	29,0	17,9	
ΟΞΥΓΟΝΩΜΕΝΑ			
ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΑ	8,8	8,2	
ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ	3,4	5,2	
ΟΞΥΓΟΝΩΜΕΝΑ			
ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ	0,5	0,0	
ΦΑΙΝΟΛΕΣ	48,5	50,4	
ΑΛΕΙΦΑΤΙΚΟΙ			
ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ	0,1	0,5	
ΑΛΚΟΟΛΕΣ	0,1	3,3	
ΑΛΛΕΪΔΕΣ	0,0	0,7	
ΚΕΤΟΝΕΣ	0,4	1,8	
ΟΞΕΑ	0,1	0,0	
ΕΣΤΕΡΕΣ	0,4	0,8	
Σύνολο ενώσεων	91,3	88,9	

tr:ίχνη ουσιών <0,05%

^a a: φάσμα μάζας σε συμφωνία με φάσματα της βιβλιογραφίας και [Adams, 2001](#) καθώς και με τα φάσματα των βιβλιοθηκών NIST και WILEY. b: ταυτοποίηση με σύγκριση των χρόνων κατακράτησης και δεδομένων φασματοσκοπίας με τα αντίστοιχα πρότυπης ουσίας,

Στο φυτό *Origanum vulgare* με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης και ανάλυση με GC-MS προσδιορίστηκαν 38 ενώσεις που αποτελούν το 91,3% του αιθερίου ελαίου. Με τη μέθοδο SPME και ανάλυση με GC-MS προσδιορίστηκαν 40 ενώσεις που αποτελούν το 88,9% του αιθερίου ελαίου.

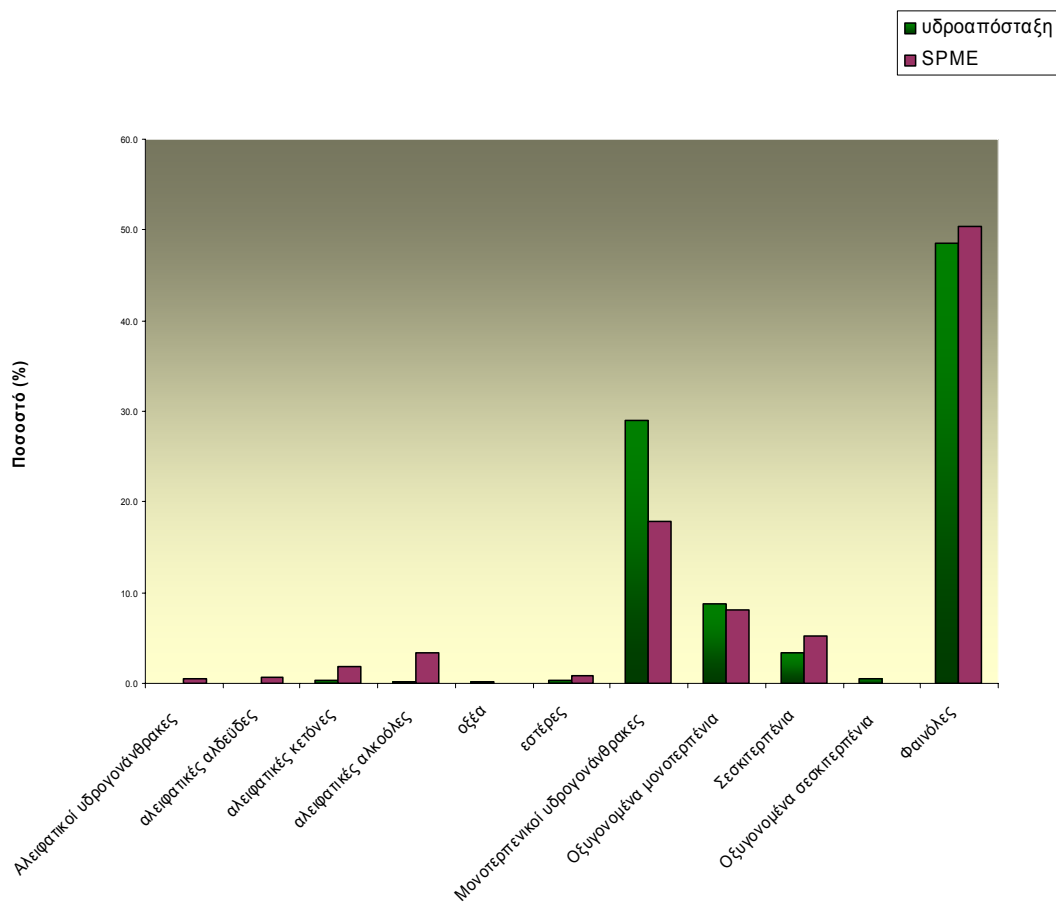
Από τον **Πίνακα 6** προκύπτει ότι το αιθέριο έλαιο της ρίγανης αποτελείται κυρίως από φαινολικές ενώσεις (48,5-50,4%), μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες (17,9-29,0%) και σε μικρότερο ποσοστό από οξυγονωμένα μονοτερπένια (8,2-8,8%) και σεσκιτερπένια. (3,4-5,2). Το κύριο συστατικό είναι η θυμόλη (48,5-50,4%) ακολουθούμενη από το γ-τερπινένιο (2,18-6,44), το α-φελανδρόνιο (4,58-2,34%), και τη βορνεόλη (3,29-4,41%)

Τα ποσοστά των φαινολικών ενώσεων όσο και των οξυγονωμένων μονοτερπενίων που προσδιορίστηκαν και με τις δύο μεθόδους είναι τα ίδια. Ωστόσο η ποιοτική σύσταση διαφέρει,

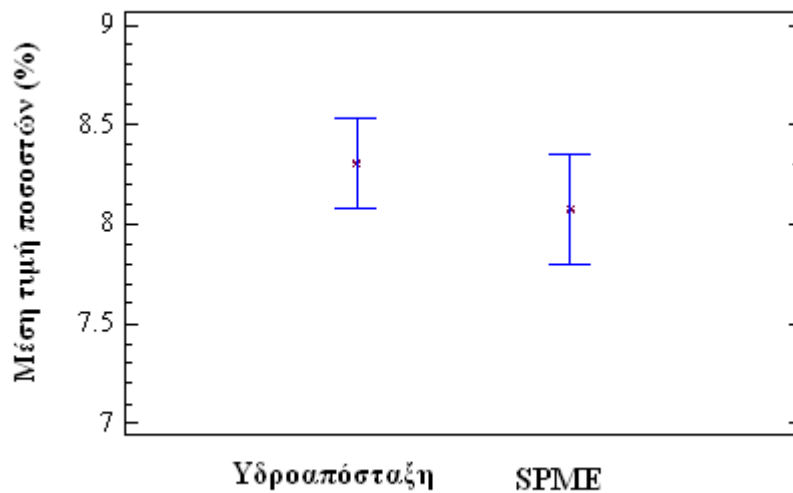
αφού με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης παραλήφθηκαν 9 ενώσεις της ομάδας των οξυγονωμένων μονοτερπενίων έναντι 5 που παραλήφθηκαν με την SPME (Πίνακας 6).

Αντίθετα, η σύσταση της ομάδας των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων και με τις δύο μεθόδους παραλαβής, βρέθηκε σχεδόν ίδια, με μικρές διαφορές, ενώ τα ποσοστά τους διαφέρουν, αφού με τη μέθοδο της SPME οι μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες αποτελούν το 17,9% του αρώματος του φυτού έναντι 29,0% με την υδροαπόσταξη. Επίσης φαίνεται ότι οι χαμηλού μοριακού βάρους ενώσεις (αλκοόλες, αλδεΐδες, εστέρες, αλειφατικοί υδρογονάνθρακες κ.λπ.) (Πίνακας 6 και Σχήμα 17) δεν παραλαμβάνονται με την μέθοδο της υδροαπόσταξης. Αξιοσημείωτο είναι το υψηλό ποσοστό (5,2%) των σεσκιτερπενίων (συστατικά χαμηλής πτητικότητας) που απομονώθηκαν με τη SPME το οποίο είναι μεγαλύτερο σε σχέση με αυτό που παραλήφθηκε με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης (3,3%) καθώς και το γεγονός ότι το χημικό προφίλ της ομάδας αυτής φαίνεται να εξαρτάται από τη μέθοδο παραλαβής. Έτσι με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης προσδιορίστηκαν τα ισοκαρνοφυλλένιο, α -χουμουλένιο, πατσουλένιο, β -μπισαμπολένιο και β -σεσκιφελλανδρένιο, ενώ με τη SPME προσδιορίστηκαν τα *trans*-καρνοφυλλένιο, β -φαρνεσένιο, β -σελινένιο, δ -καδινένιο και β -σεσκιφελλανδρένιο. Αντίστοιχα υψηλά ποσοστά του σεσκιτερπενικού κλάσματος, παρατήρησαν και οι *Stashenko et al., (2004)*, στο αιθέριο έλαιο του φυτού *Lippia alba* (Mill.) που απομονώθηκε με SPME και ίνα PDMS-100μ, σε σχέση με το αντίστοιχο που απομονώθηκε με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης.

Το είδος *Origanum vulgare* γνωστό και ως ελληνική ρίγανη είναι ευρέως διαδεμένο στη λεκάνη της Μεσογείου (*Kokkini. et al., 1989*). Η ανάλυση της ποιοτικής και ποσοτικής σύστασης του αιθέριου ελαίου του, όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία, έδειξε ότι τα κύρια συστατικά είναι η καρβακρόλη και/ή η θυμόλη συνοδευόμενα από τα p -κυμένιο και γ -τερπινένιο. Η ποσοτική του σύσταση ποικίλλει σημαντικά, με τα κύρια συστατικά καρβακρόλη και θυμόλη να συμμετέχουν το καθένα από ίχνη ως πάνω από 90% προσδίδοντας ανάλογες διαφορές στο άρωμα των φυτών. Οι ποσότητες καρβακρόλης και θυμόλης παρουσιάζουν αρνητική συσχέτιση. Το ίδιο ισχύει ανάμεσα στο άθροισμά τους και το άθροισμα των δύο μονοτερπενικών υδρογονανθράκων (*Vokou, 1993 ; Kokkini, 2003; Γαβαλάς, 2004*)

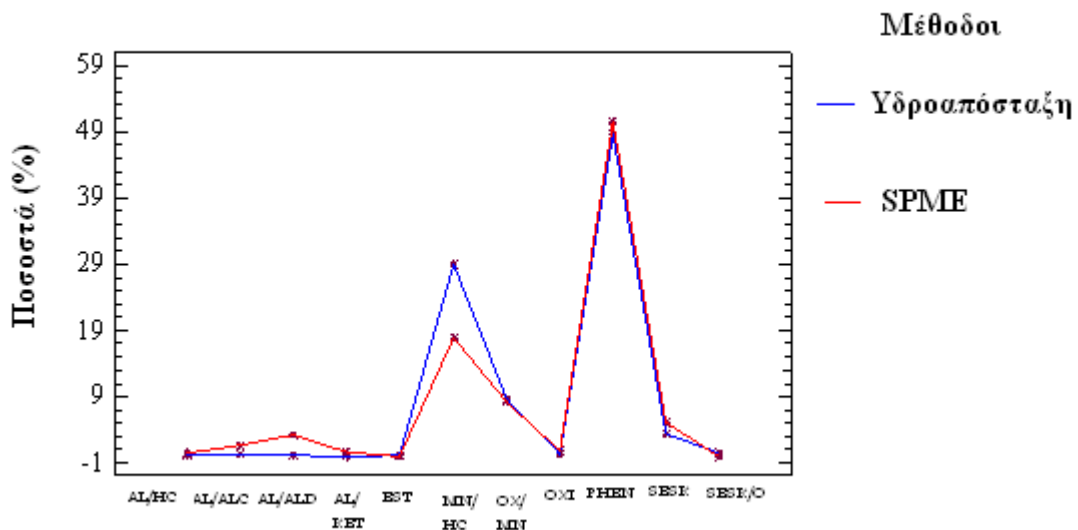


Σχήμα 17: Σύγκριση των ποσοστών των χημικών ομάδων που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο της ρίγανης και παραλήφθηκαν-απομονώθηκαν με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME αντίστοιχα και αναλύθηκαν σε GC-MS.



Σχήμα 18: Διάγραμμα των συνολικών μέσων ποσοστών των συστατικών του αιθερίου ελαίου της ρίγανης, όπως εκτιμήθηκαν από τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME. Οι δύο μέθοδοι δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($p>0,05$).

Με την πραγματοποίηση ανάλυσης διακύμανσης (Σχήμα 18) των μετρήσεων σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ δε διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο συγκρινόμενες μεθόδους ($p=0,3590$).

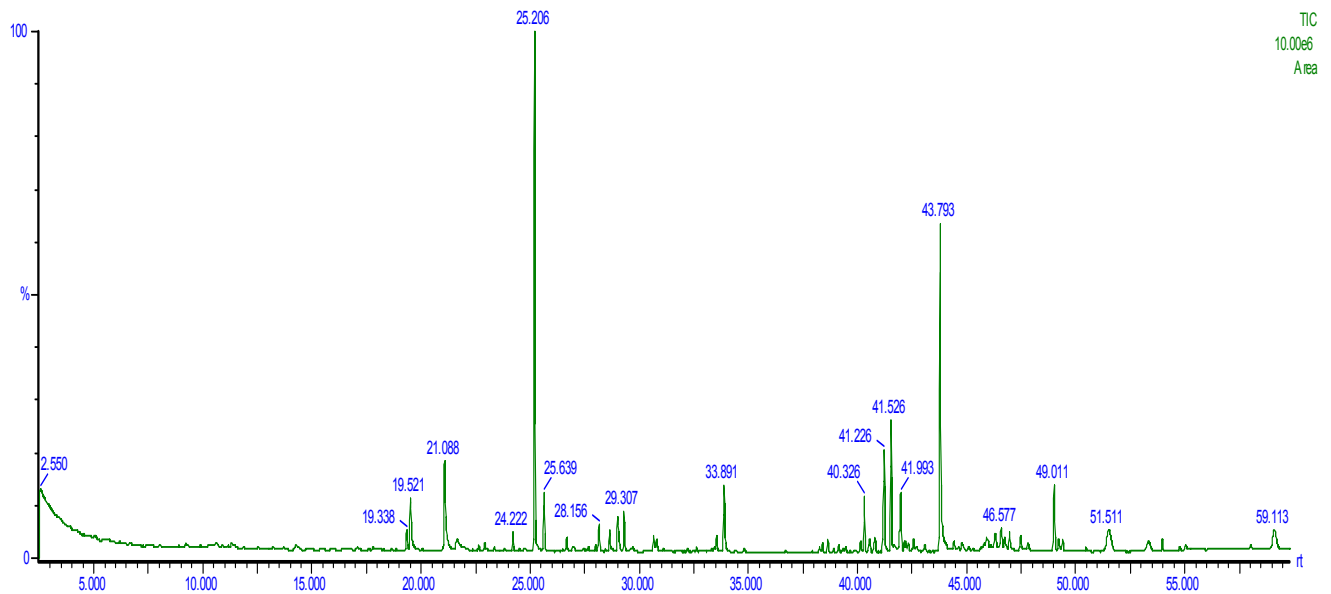


Σχήμα 19: Διάγραμμα των μέσων όρων των τιμών των χημικών ομάδων που συνιστούν το άρωμα της ρίγανης και με τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME.

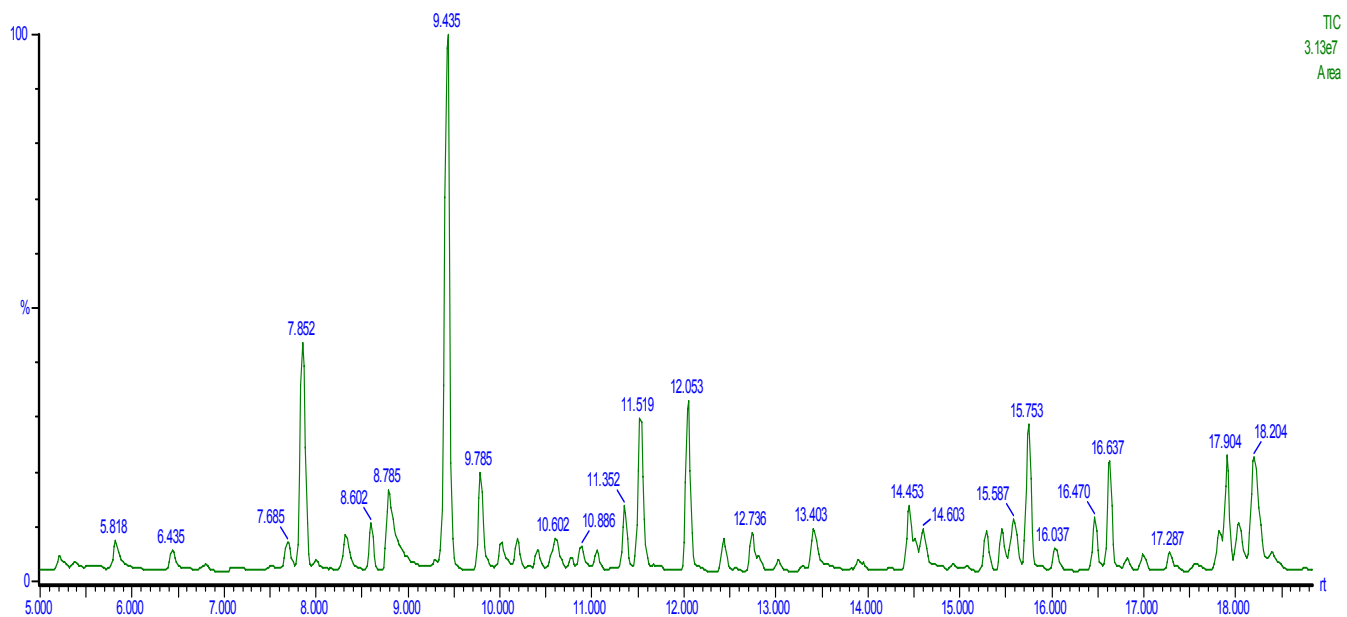
Από το **Σχήμα 19** φαίνεται ότι η μέθοδος της υδροαπόσταξης είναι πιο ευαίσθητη από την SPME στην παραλαβή των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων ενώ επιβεβαιώνεται ότι η SPME είναι περισσότερο ευαίσθητη στην παραλαβή των χαμηλού M.B. ενώσεων (αλκοολών, αλδευδών και κετονών).

Οι περισσότερες ερευνητικές εργασίες καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η παραλαβή των πτητικών συστατικών με την SPME είναι μία γρήγορη, απλή και φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος, εφόσον δεν γίνεται χρήση διαλύτη και η οποία δίνει αξιόπιστα ποιοτικά παρά ποσοτικά αποτελέσματα. Η τριπλή ίνα CAR/PDMS/DVB η οποία χρησιμοποιήθηκε και στην παρούσα εργασία, προτίνεται και στη βιβλιογραφία ως η πλέον κατάλληλη για την απομόνωση πτητικών συστατικών αιθερίων ελαίων (*Palá-Paúl et al. 2004; Paolini et al., 2008; Pellati et al., 2005*). Παρόλα αυτά το είδος της ίνας που θα χρησιμοποιηθεί θα πρέπει να καθορίζεται από την πολικότητα των ενώσεων-στόχου της έρευνας. Ο χρόνος έκθεσης της ίνας στον υπερκείμενο χώρο του δείγματος, καθώς και η θερμοκρασία εκχύλισης είναι επίσης πολύ σημαντικοί παράγοντες στην απομόνωση των πτητικών συστατικών (*Stashenko et al., 2004; Stashenko, et al., 2004*).

I.2 Τσάι του βουνού (*Sideritis* spp.)



Σχήμα 20: Χρωματογράφημα συστατικών του αιθερίου ελαίου του τσαγιού που παραλήφθηκε με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης και προσδιορίστηκαν με GC/MS.



Σχήμα 21: Χρωματογράφημα συστατικών του αιθερίου ελαίου του τσαγιού που απομονώθηκε με τη μέθοδο SPME και προσδιορίστηκαν με GC/MS.

Η ποιοτική και ποσοτική ανάλυση του αιθερίου ελαίου του τσαγιού που παραλήφθηκε-απομονώθηκε με τις δύο μεθόδους φαίνεται στον Πίνακα 11.

Πίνακας 11: Σύσταση (%) του αιθερίου ελαίου του τσαγιού του βουνού (*Sideritis* spp.) που παραλήφθηκε-απομονώθηκε με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME, αντίστοιχα, και προσδιορίστηκε με GC/MS

Ένωση	Μέθοδος υδροαπόσταξης	Μέθοδος SPME	Αξιοπιστία Ταυτοποίησης ^a
ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ			
[$C_{10}H_{16}$] και [$C_{10}H_{14}$] α-θουγένιο [$C_{10}H_{16}$]	0,15±0,02	-	b
α-πινένιο [$C_{10}H_{16}$]	30,3±0,70	22,66±0,29	ab
β-πινένιο [$C_{10}H_{16}$]	20,87±1,66	20,82±0,13	ab
σαβινένιο [$C_{10}H_{16}$]	-	0,70±0,03	a
β-μυρκένιο [$C_{10}H_{16}$]	0,42±0,07	1,97±0,02	ab
α-φελλανδρένιο [$C_{10}H_{16}$]	0,19±0,06	-	ab
δ-3-καρένιο [$C_{10}H_{16}$]	0,19±0,06	-	b
α-τερπινένιο [$C_{10}H_{16}$]	3,82±0,98	2,09±0,24	ab
μ-κυμένιο [$C_{10}H_{14}$]	-	0,17±0,01	b
βορνυλένιο [$C_{10}H_{16}$]	-	0,42±0,02	b
π-κυμένιο [$C_{10}H_{14}$]	0,70±0,06	0,36±0,05	ab
ο-κυμένιο [$C_{10}H_{14}$]	-	0,28±0,02	b
λιμονένιο [$C_{10}H_{16}$]	-	1,69±0,01	ab
(E)-β-οκιμένιο [$C_{10}H_{14}$]	0,18±0,05	0,41±0,01	b
γ-τερπινένιο [$C_{10}H_{14}$]	0,15±0,01	5,74±0,14	ab
ΟΞΥΓΟΝΩΜΕΝΑ ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΑ			
λιναλοόλη [$C_{10}H_{18}O$]	0,76±0,05	1,20±0,10	ab
α-καμφολένο- αλδεϋδη [$C_{10}H_{16}O$]	2,51±0,36	0,07±0,02	b
trans- πινοκαρβεόλη [$C_{10}H_{16}O$]	-	0,16±0,06	ab
4-τερπινεόλη [$C_{10}H_{18}O$]	-	1,23±0,07	b
L-α-τερπινεόλη [$C_{10}H_{18}O$]	0,54±0,21	0,08±0,01	b
μυρτενόλη [$C_{10}H_{16}O$]	0,27±0,07	0,07±0,01	ab
πουλεγόνη [$C_{10}H_{16}O$]	1,36±0,17	-	b
καρβόνη [$C_{10}H_{14}O$]	2,59±0,50	tr	b
L -(-) μενθόλη [$C_{10}H_{20}O$]	-	4,85±0,51	b

ισογερανιόλη [$C_{10}H_{18}O$]	-	tr	b
κιτράλη[$C_{10}H_{16}O$]	-	tr	b
ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ			
δ-ελεμένιο[$C_{15}H_{24}$]	0,29±0,01	-	b
κοπαένιο[$C_{15}H_{24}$]	0,21±0,06	-	b
α-κουμπεμπένιο[$C_{15}H_{24}$]	0,62±0,03	-	b
β-μπουρμπονένιο[$C_{15}H_{24}$]	0,73±0,03	0,40±0,05	b
ισοκαρνοφυλλένιο [$C_{15}H_{24}$]	1,37±0,48	2,70±0,22	b
<i>trans</i> - καρνοφυλλένιο[$C_{15}H_{24}$]	-	2,17±0,31	ab
α-χουμουλένιο[$C_{15}H_{24}$]	0,23±0,05	0,57±0,19	b
β-φαρνεσένιο[$C_{15}H_{24}$]	tr	0,09 ±0,02	b
πατσουλένιο[$C_{15}H_{24}$]	0,35±0,06	-	b
β-σελινένιο[$C_{15}H_{24}$]	-	0,2±0,08	b
ζιγκιμπερένιο[$C_{15}H_{24}$]	0,25±0,05	-	b
β-μπισαμπολένιο[$C_{15}H_{24}$]	0,05±0,00	4,22±0,42	b
δ-καδινένιο[$C_{15}H_{24}$]	1,55±0,18	1,07±0,23	b
καδίνα 1,3,5,-τριένιο [$C_{15}H_{24}$]	0,60±0,14	-	b
β-γερμακρένιο[$C_{15}H_{24}$]	-	5,8±0,02	b

ΟΞΥΓΟΝΩΜΕΝΑ**ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ**

ισομερές της νερολιδόλης [$C_{15}H_{26}O$]	1,20±0,42	-	b
ισομερές της νερολιδόλης [$C_{15}H_{26}O$]	0,37±0,18	-	b
(-)- σπαθουλενόλη[$C_{15}H_{24}O$]	0,38±0,08	-	b
οξείδιο του καρνοφυλλενίου [$C_{15}H_{24}O$]	-	0,07±0,03	ab
βιριντιφλορόλη [$C_{15}H_{26}O$]	tr	-	b
α-κεδρόλη [$C_{15}H_{26}O$]	-	0,50±0,15	b
1-α-καδιν-4-εν-όλη [$C_{15}H_{26}O$]	0,05±0,01	-	b
α-μπισαμπολόλη [$C_{15}H_{26}O$]	tr	0,52±0,05	b

ΦΑΙΝΟΛΕΣ

ανηθόλη [$C_{10}H_{12}O$]	7,12±0,17	-	b
καρβακρόλη [$C_{10}H_{14}O$]	10,85±0,32	tr	ab

ΑΛΕΙΦΑΤΙΚΟΙ**ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ**

αιθυλο βενζόλιο [C_8H_{10}]	-	0,71±0,07	b
προπενυλο βενζόλιο [C_9H_{10}]	-	0,54±0,12	b
1,3,6 επτατριένιο 2,5,6 τριμεθύλιο [$C_{10}H_{16}$]	-	0,20±0,08	b
1,11 δωδεκαδιένιο [$C_{12}H_{22}$]	-	0,43±0,02	b
1-οκταδεκύνιο [$C_{18}H_{34}$]	0,16±0,02	-	b
οκταδεκάνιο [$C_{18}H_{38}$]	0,23±0,04	-	b
νοναδεκάνιο [$C_{19}H_{40}$]	0,23±0,04	-	b
οκτακοσάνιο [$C_{28}H_{58}$]	0,18±0,06	-	b
ΑΛΚΟΟΛΕΣ			
2-εξεν-1-όλη [$C_6H_{12}O$]	-	0,16±0,03	b
1-εξανόλη [$C_6H_{12}O$]	-	0,38±0,04	b
7-οκτεν-4-όλη [$C_8H_{16}O$]	0,75±0,04	-	b
3-οκτανόλη [$C_8H_{18}O$]	0,05±0,03	0,19±0,02	b
ΑΛΔΕΥΔΕΣ			
εξανάλη [$C_6H_{12}O$]	-	0,41±0,01	b
νονάλη [$C_9H_{18}O$]	1,35±0,44	0,38 ±0,09	b
αλδεύδη άγνωστη [$C_{10}H_{14}O$]	-	0,71 ±0,2	b
δεκανάλη [$C_{10}H_{20}O$]	0,66 ±0,20	-	b
ΚΕΤΟΝΕΣ			
3-οκτανόνη [$C_8H_{16}O$]	-	0,56±0,10	b
ΕΣΤΕΡΕΣ			
μεθυλεστέρας του οκτανοϊκού οξέος	-	0,09±0,01	b
αιθυλεστέρας του δεκανοϊκού οξέος	-	0,16±0,05	b
ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ			
	53,5	55,2	
ΟΞΥΓΟΝΩΜΕΝΑ ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΑ			
	8,0	7,7	
ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ ΟΞΥΓΟΝΩΜΕΝΑ			
	6,3	17,2	
ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ			
	2,0	1,1	
ΦΑΙΝΟΛΕΣ			
	18,0	0,0	
ΑΛΕΙΦΑΤΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ			
	0,8	1,9	

ΑΛΚΟΟΛΕΣ	0,8	0,7
ΑΛΔΕΥΔΕΣ	2,0	1,5
ΚΕΤΟΝΕΣ	0,0	0,6
ΕΣΤΕΡΕΣ	0,0	0,3
Σύνολο ενώσεων	91,4	86,1

tr:ίχνη ουσιών <0,05%

^a a: φάσμα μάζας σε συμφωνία με φάσματα της βιβλιογραφίας και [Adams, 2001](#) καθώς και με τα φάσματα των βιβλιοθηκών NIST και WILEY. b: ταυτοποίηση με σύγκριση των χρόνων κατακράτησης και δεδομένων φασματοσκοπίας με τα αντίστοιχα πρότυπης ουσίας.

Στο φυτό *Sideritis* spp., με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης και ανάλυση σε GC-MS, προσδιορίστηκαν 44 ενώσεις που αποτελούν το 91,4% του αιθερίου ελαίου. Με τη μέθοδο SPME και ανάλυση σε GC-MS, προσδιορίστηκαν 48 ενώσεις που αποτελούν το 86,1% του αρώματος του φυτού.

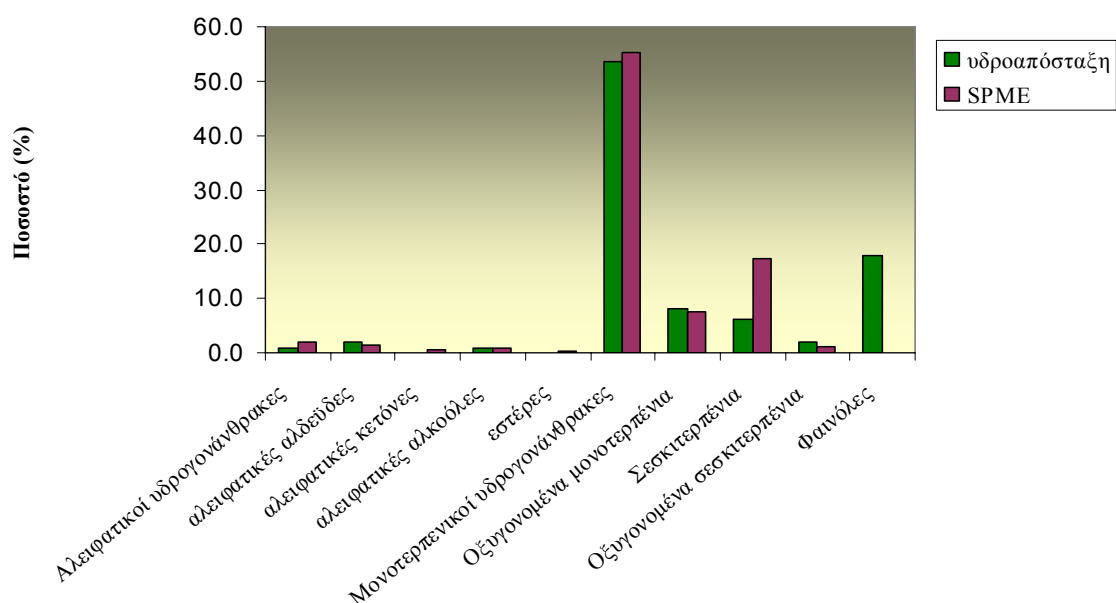
Το αιθέριο έλαιο του φυτού αποτελείται κυρίως από μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες (53,5-55,2%), φαινολικές ενώσεις (0,0-18,0%), και σε μικρότερο ποσοστό από οξυγονωμένα μονοτερπένια (7,7-8,0%) και σεσκιτερπένια. (6,3-17,2) (**Πίνακας 11 και Σχήμα 22**). Και με τις δύο μεθόδους τα κύρια συστατικά είναι το α -πινένιο (22,66-30,3%) και το β -πινένιο (20,82-20,87%). Με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης βρέθηκαν υψηλά ποσοστά καρβακρόλης (10,85%) και ανηθόλης (7,12%) ακολουθούμενα από το α -τερπινένιο (3,82%), την α -καμφολενο-αλδεϋδη (2,51%) και την καρβόνη (2,59%). Αντίθετα με τη SPME προσδιορίστηκαν σε υψηλά ποσοστά τα συστατικά: β -γερμακρένιο (5,80%), γ -τερπινένιο (5,74%), *L*-(-)-Μενθόλη (4,85%), β -μπισαμπολένιο (4,22%), ισοκαρυοφυλλένιο (2,70%), *trans* καρυοφυλλένιο (2,17%), ενώ σε σημαντικά ποσοστά ανιχνεύθηκαν το λιμονένιο (1,69%) και το β -μυρκένιο (1,97%).

Και με τις δύο μεθόδους τα κύρια συστατικά παραλήφθηκαν-απομονώθηκαν σε υψηλό ποσοστό. Σημαντικές διαφορές παρατηρούνται στην συγκέντρωση των: ανηθόλη και καρβακρόλη, που με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης παραλήφθηκαν σε αρκετά υψηλό ποσοστό (18,0%) ενώ με τη SPME βρέθηκαν σε ίχνη ή δεν ανιχνεύθηκαν καθόλου.

Όπως διαπιστώθηκε και στην ανάλυση του αρωματικού δυναμικού της ρίγανης με την SPME απομονώθηκε υψηλότερο ποσοστό σεσκιτερπενίων (17,2%) από αυτό που προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης (6,3%). Η ανάλυση διακύμανσης που εφαρμόστηκε στα συστατικά του αιθερίου ελαίου του τσαγιού έδειξε ότι οι δύο μέθοδοι διαφέρουν σημαντικά στον προσδιορισμό της ομάδας αυτής, ενώ κάτι τέτοιο δεν παρατηρήθηκε στην παραλαβή-απομόνωση της ίδια ομάδας από το αιθέριο έλαιο του φυτού της ρίγανης (βλέπε **Σχήμα 19**). Επιπλέον από

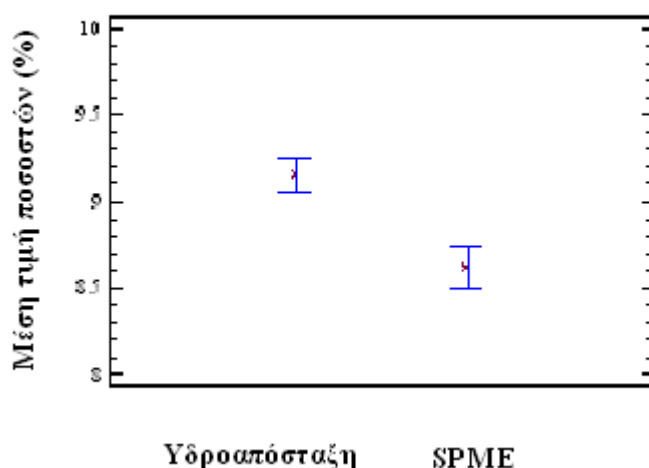
τα 15 συνολικά συστατικά της ομάδας των σεσκιτερπενίων, μόλις 6 συστατικά προσδιορίστηκαν και με τις δύο μεθόδους. Το ίδιο συμβαίνει και με τα συστατικά της ομάδας των οξυγονωμένων σεσκιτερπενίων όπως και με την ομάδα των φαινόλων.

Στο **Σχήμα 22** απεικονίζονται γραφικά τα ποσοστά των χημικών ομάδων που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο του τσαγιού και που παραλήφθηκαν-απομονώθηκαν με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME αντίστοιχα



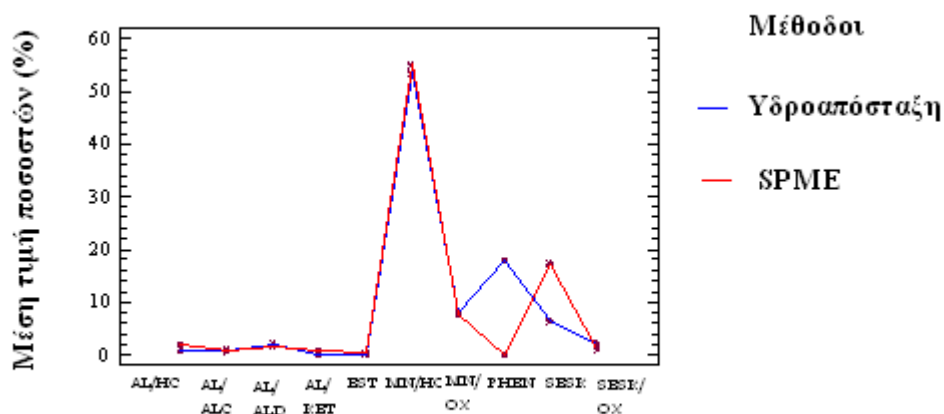
Σχήμα 22: Σύγκριση των ποσοστών των χημικών ομάδων που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο του τσαγιού που παραλήφθηκαν-απομονώθηκαν με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME αντίστοιχα και αναλύθηκαν σε GC-MS.

Τα σεσκιτερπένια φαίνεται ότι διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση του αρώματος του τσαγιού, αφού αποτελούν τη δεύτερη σε ποσοστό χημική ομάδα που απομονώθηκε με τη SPME. Αξιοσημείωτη είναι η απουσία των φαινόλων από τον προσδιορισμό με SPME. Όπως κατέληξαν οι *Bicchi et al. (2000)*, η σύσταση του υπερκείμενου χώρου εξαρτάται από τη σύσταση και τη φυσική κατάσταση του φυτικού υλικού, αλλά και από την πολικότητα και την πτητικότητα των συστατικών του αιθερίου ελαίου που αναλύεται κάθε φορά.



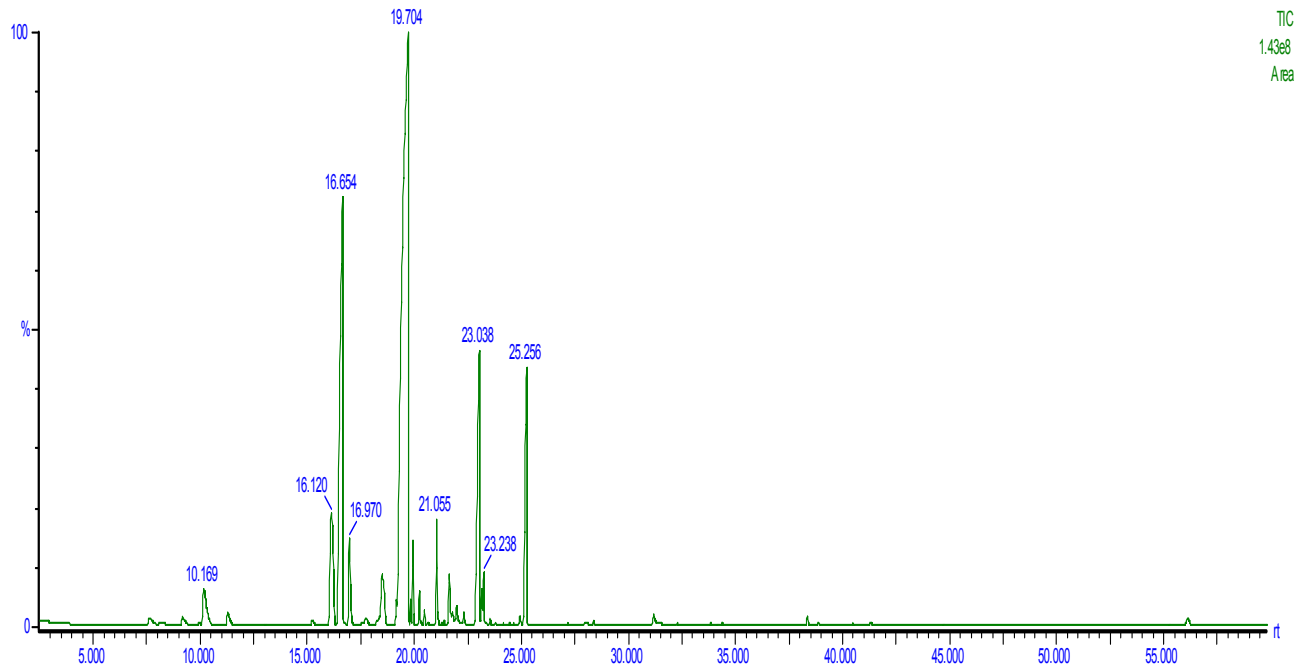
Σχήμα 23: Διάγραμμα των συνολικών μέσων ποσοστών των συστατικών του αιθερίου ελαίου του τσαγιού, όπως εκτιμήθηκαν από τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME. Η μέθοδος της υδροαπόσταξης είναι στατιστικά σημαντικά πιο ευαίσθητη από την SPME ($p < 0.05$).

Με την πραγματοποίηση ανάλυσης διακύμανσης των μετρήσεων σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο συγκρινόμενες μεθόδους ($p=0,0001$).

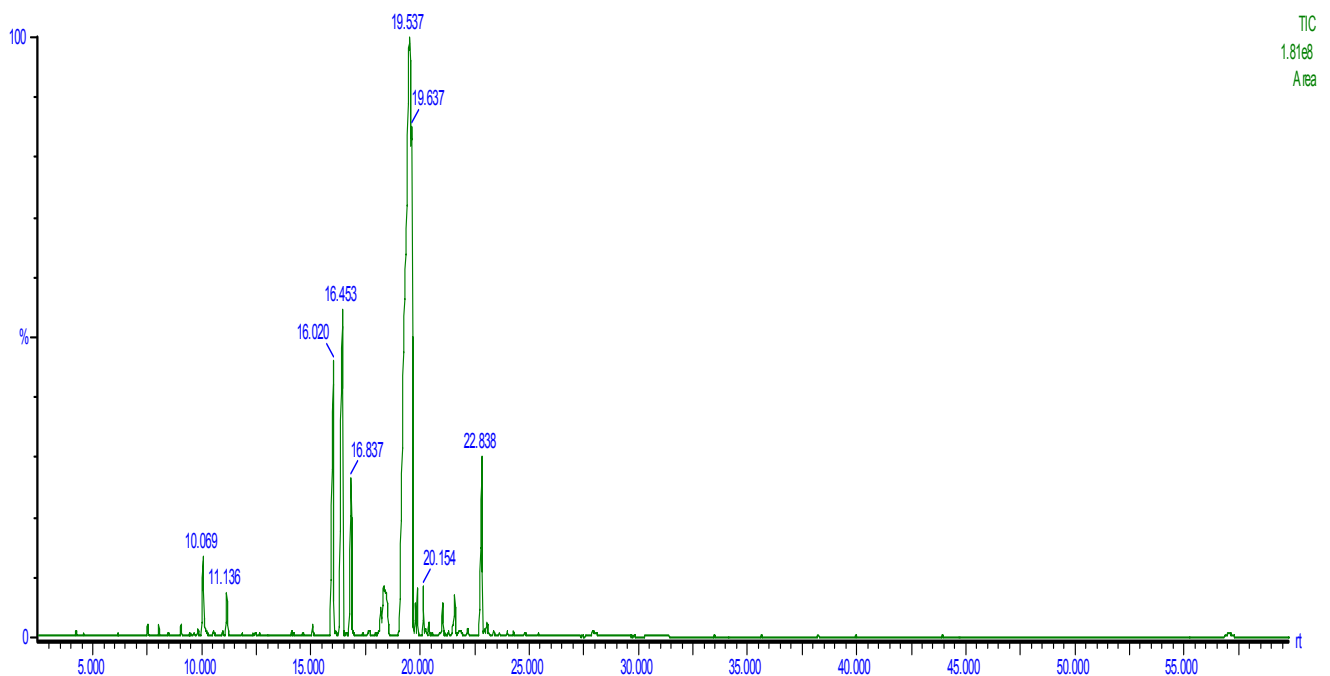


Σχήμα 24: Διάγραμμα των μέσων όρων των τιμών των χημικών ομάδων που συνιστούν το άρωμα του τσαγιού και με τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME.

Από το **Σχήμα 24** φαίνεται ότι η μέθοδος της υδροαπόσταξης είναι πιο ευαίσθητη από τη SPME στην παραλαβή των φαινολών ενώ η SPME είναι περισσότερο ευαίσθητη στην απομόνωση των σεσκιτερπενικών υδρογονανθράκων.

I.3 Μέντα (*Mentha* spp.)

Σχήμα 25: Χρωματογράφημα συστατικών του αιθερίου ελαίου της μέντας που παραλήφθηκε με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης και προσδιορίστηκαν με GC/MS.



Σχήμα 26: Χρωματογράφημα συστατικών του αιθερίου ελαίου της μέντας που απομονώθηκε με τη μέθοδο SPME και προσδιορίστηκαν με GC/MS.

Η ποιοτική ανάλυση του αιθερίου ελαίου της μέντας που παραλήφθηκε-απομονώθηκε με τις δύο μεθόδους φαίνεται στον **Πίνακα 12**:

Πίνακας 12: Σύσταση (%) του αιθερίου ελαίου της μέντας (*Mentha* spp.) που παραλήφθηκε-απομονώθηκε με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME, αντίστοιχα, και προσδιορίστηκε με GC/MS

Ένωση	Μέθοδος υδροαπόσταξης	Μέθοδος SPME	Αξιοπιστία Ταυτοποίησης ^a
ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ			
[$C_{10}H_{16}$] και [$C_{10}H_{14}$] α-θουγένιο [$C_{10}H_{16}$]	-	2,69±0,02	b
α-πινένιο [$C_{10}H_{16}$]	3,70±0,10	4,86±0,17	ab
καμφένιο [$C_{10}H_{16}$]	0,21±0,02	-	b
β-πινένιο [$C_{10}H_{16}$]	2,59±0,05	6,46±0,75	ab
β-μυρκένιο [$C_{10}H_{16}$]	tr	2,90±0,35	ab
α-τερπινένιο [$C_{10}H_{16}$]	tr	-	ab
ο-κυμένιο [$C_{10}H_{14}$]	-	0,30 ±0,06	b
λιμονένιο [$C_{10}H_{16}$]	0,32±0,06	1,44±0,01	ab
γ-τερπινένιο [$C_{10}H_{14}$]	0,26±0,09	1,13±0,07	ab
α-τερπινολένιο	tr	-	b
ΟΞΥΓΟΝΩΜΕΝΑ ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΑ			
π-μενθόνη [$C_{10}H_{18}O$]	21,05±1,43	3,74±0,39	b
ισοπουλεγόνη	0,17±0,05	1,23±0,07	b
L-α-τερπινεδόλη [$C_{10}H_{18}O$]	-	5,48±0,04	b
κυκλοεξανόνη-2-ισοπρόπυλο- 2,5-διμεθύλιο	1,01±0,16	0,31±0,15	b
πουλεγόνη [$C_{10}H_{16}O$]	48,70±1,3	49,12±1,50	b
πιπεριτόνη	2,51±0,23	0,24±0,14	b
ισοπιπεριτόνη	0,26±0,15	0,49±0,20	b
α-ακετυλοκυκλοεξανόνη	0,05±0,01	0,46±0,06	b
δ-βερμπενόνη	tr	0,54±0,03	b
ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ			
κοπαένιο [$C_{15}H_{24}$]	-	0,14±0,05	b
β-μπουρμπονένιο [$C_{15}H_{24}$]	tr	0,14±0,07	b
β-φαρνεσένιο [$C_{15}H_{24}$]	-	0,14±0,05	b

β -κουμπεμπένιο [$C_{15}H_{24}$]	2,42±0,43	-	b
ΦΑΙΝΟΛΕΣ			
<i>trans</i> - ανηθόλη [$C_{10}H_{12}O$]	0,56±0,27	-	b
καρβακρόλη [$C_{10}H_{14}O$]	0,77±0,08	-	ab
θυμόλη [$C_{10}H_{14}O$]	tr	-	b
ΑΛΕΙΦΑΤΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ			
αίθυλο βενζόλιο	tr	0,67±0,17	b
1-νονένιο-4,6,8-τριμεθύλιο [$C_{12}H_{24}$]	-	0,17±0,02	b
τριδεκάνιο	-	0,16±0,01	b
ΟΞΕΙΔΙΑ			
2,5-Διαίθυλο- τετραϋδροφουράνιο	-	0,28±0,06	b
ΑΛΚΟΟΛΕΣ			
3-οκτανόλη [$C_8H_{18}O$]	4,48±0,22	0,58±0,08	b
ΑΛΔΕΥΔΕΣ			
2-επτανάλη	-	0,76±0,19	b
2-ισοπρόπυλο-2- μεθυλεξενάλη	-	0,04±0,01	b
ΚΕΤΟΝΕΣ			
2-πεντανόνη, 4-υδόξυ, 4-μεθύλιο [$C_6H_{12}O_2$]	-	0,67±0,17	b
2-μεθυλοκυκλοεξανόνη [$C_7H_{12}O$]			b
3-οκτανόνη [$C_8H_{16}O$]	tr	0,26±0,22	b
3 πρόπυλο, 3-επτεν-2-όνη [$C_{10}H_{18}O$]	0,07±0,03	-	b
νοναδεκανόνη [$C_{19}H_{38}O$]	0,14±0,07	-	b
ΕΣΤΕΡΕΣ			
2-μεθυλεστέρας του βουτυρικού οξέος [$C_7H_{14}O_2$]	-	0,48±0,01	B
1-αιθυλεξυλεστέρας του οξικού οξέος [$C_{10}H_{20}O_2$]	0,39±0,03	0,93±0,02	B
βουταδιενυλο εστέρας	-	0,45±0,07	C

δισοβουτυλο εστέρας του φθαλικού οξέος	0,18±0,08	-	C
ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΚΟΙ			
ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ	7,08	19,78	
ΟΞΥΓΟΝΩΜΕΝΑ			
ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΑ	73,75	61,61	
ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ	2,42	0,42	
ΦΑΙΝΟΛΕΣ	1,33	0,0	
ΑΛΕΙΦΑΤΙΚΟΙ			
ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ	0,0	1,32	
ΟΞΕΙΔΙΑ	0,0	0,28	
ΑΛΚΟΟΛΕΣ	4,48	0,58	
ΑΛΔΕΪΔΕΣ	0,0	0,8	
ΚΕΤΟΝΕΣ	0,21	1,44	
ΕΣΤΕΡΕΣ	0,57	1,86	
Σύνολο ενώσεων	89,84	88,09	

tr:ίχνη ουσιών <0,05%

^a α: φάσμα μάζας σε συμφωνία με φάσματα της βιβλιογραφίας και [Adams, 2001](#) καθώς και με τα φάσματα των βιβλιοθηκών NIST και WILEY. β: ταυτοποίηση με σύγκριση των χρόνων κατακράτησης και δεδομένων φασματοσκοπίας με τα αντίστοιχα πρότυπης ουσίας,

Από το φυτό της μέντας, με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης και ανάλυση με GC-MS προσδιορίστηκαν 28 ενώσεις που αποτελούν το 89,84% του αιθερίου ελαίου. Με τη μέθοδο SPME και ανάλυση με GC-MS προσδιορίστηκαν 31 ενώσεις που αποτελούν το 88,09% του αρώματος του φυτού.

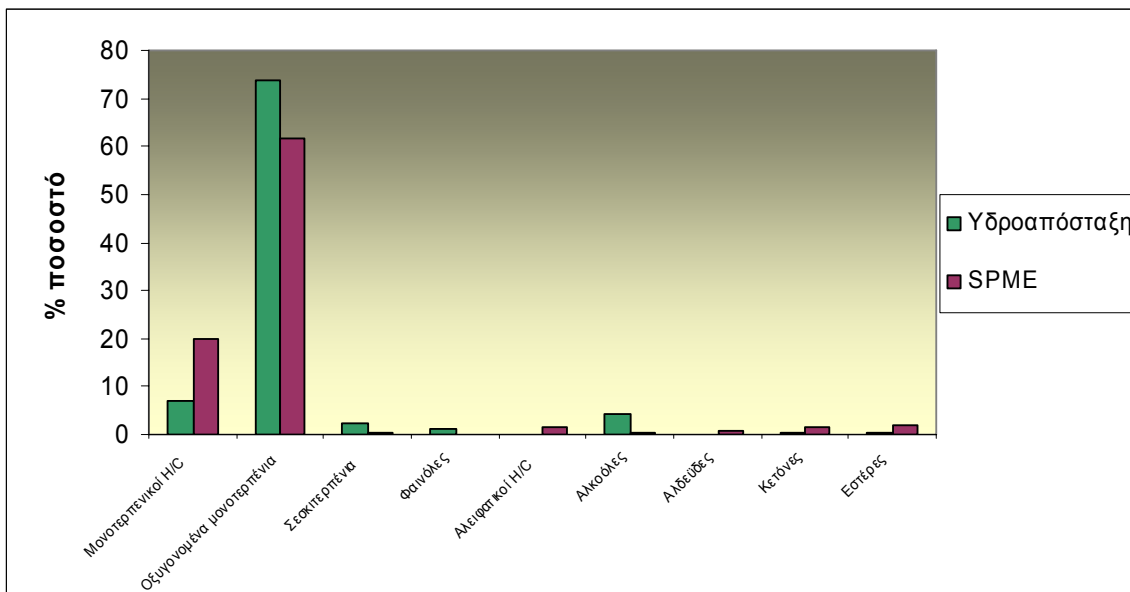
Το αιθέριο έλαιο του φυτού αποτελείται κυρίως από οξυγονωμένα μονοτερπένια (61,61-73,75%) και μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες (7,08-19,78%) (Πίνακας 12, Σχήμα 27). Και με τις δύο μεθόδους τα κύρια συστατικά είναι η πουλεγόνη (48,7-49,12%), η π-μενθόνη (3,74-21,05%), το α-πινένιο (3,70-4,86%) και το β-πινένιο (2,59-6,46%).

Οι πιο πτητικοί μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες απομονώθηκαν σε ποσοστό 19,78% με τη μέθοδο της SPME, ενώ με την υδροαπόσταξη σε ποσοστό μόλις 7,08%. Η ομάδα των απλών αλκοολών, η οποία αποτελείται αποκλειστικά από την 3-οκτανόλη, προσδιορίστηκε σε υψηλότερο ποσοστό με την υδροαπόσταξη (4,48%) έναντι της SPME. Το γεγονός, ότι το συστατικό αυτό δεν παραλήφθηκε με τη SPME μπορεί να αποδοθεί μόνο στις συνθήκες του πειράματος. Και οι δύο μέθοδοι παρέλαβαν υψηλό ποσοστό οξυγονωμένων μονοτερπενίων.

Παρόλα αυτά τα ποσοστά μεμονομένων συστατικών της ομάδας αυτής διαφέρουν σημαντικά. Έτσι για την *π*-μενθόνη και την πιπεριτόνη καλύτερη μέθοδος παραλαβής αποδεικνύεται η υδροαπόσταξη ενώ για την *L*-*α*-τερπινεόλη η SPME. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξε και ο [Rohloff, \(1999\)](#), σε μελέτη του ίδιου φυτού. Το μικρό ποσοστό μενθόνης που απομονώθηκε με τη μέθοδο της SPME, σε σχέση με αυτό της υδροαπόσταξης, οφείλεται προφανώς στη μικρή πτητικότητα της.

Με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης προσδιορίστηκε μόλις ένα συστατικό, της ομάδας των σεσκιτερπενίων, σε ποσοστό 2,42%, ενώ με τη SPME προσδιορίστηκαν τρία συστατικά σε ποσοστό 0,42%.

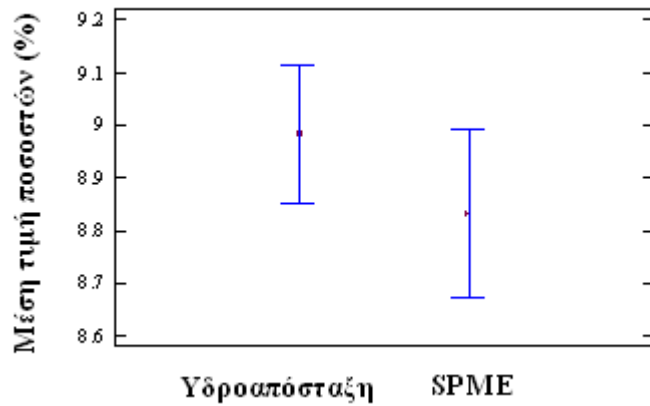
Στο **Σχήμα 27** απεικονίζονται γραφικά τα ποσοστά των χημικών ομάδων που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο της μέντας και που παραλήφθηκαν-απομονώθηκαν με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME αντίστοιχα.



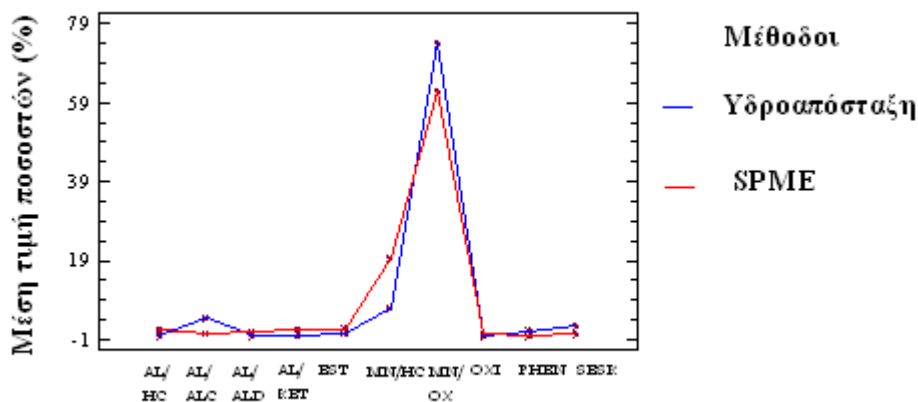
Σχήμα 27: Σύγκριση των ποσοστών των χημικών ομάδων που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο της μέντας, που παραλήφθηκαν-απομονώθηκαν με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME αντίστοιχα και αναλύθηκαν σε GC-MS.

Αν και στα φυτά των διαφορετικών ειδών και υβριδίων του γένους *Mentha* αναφέρεται η ύπαρξη χημειοτύπων ([Καρούσου, 1995](#)), η σύσταση του αιθερίου ελαίου του είδους *Mentha pulegium* χαρακτηρίζεται ως επί το πλείστον από την ομάδα των οξυγονωμένων μονοτερπενίων με κύριους εκπροσώπους την πουλεγόνη, τη μενθόνη, την πιπεριτόνη και την πιπεριτενόνη ([Agnihotri et al. 2005](#); [Díaz-Maroto et al., 2007](#); [Handa et al., 1964](#)).

Με την πραγματοποίηση ανάλυσης διακύμανσης (**Σχήμα 28**) των μετρήσεων σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ δε διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο συγκρινόμενες μεθόδους ($p=0,2976$).

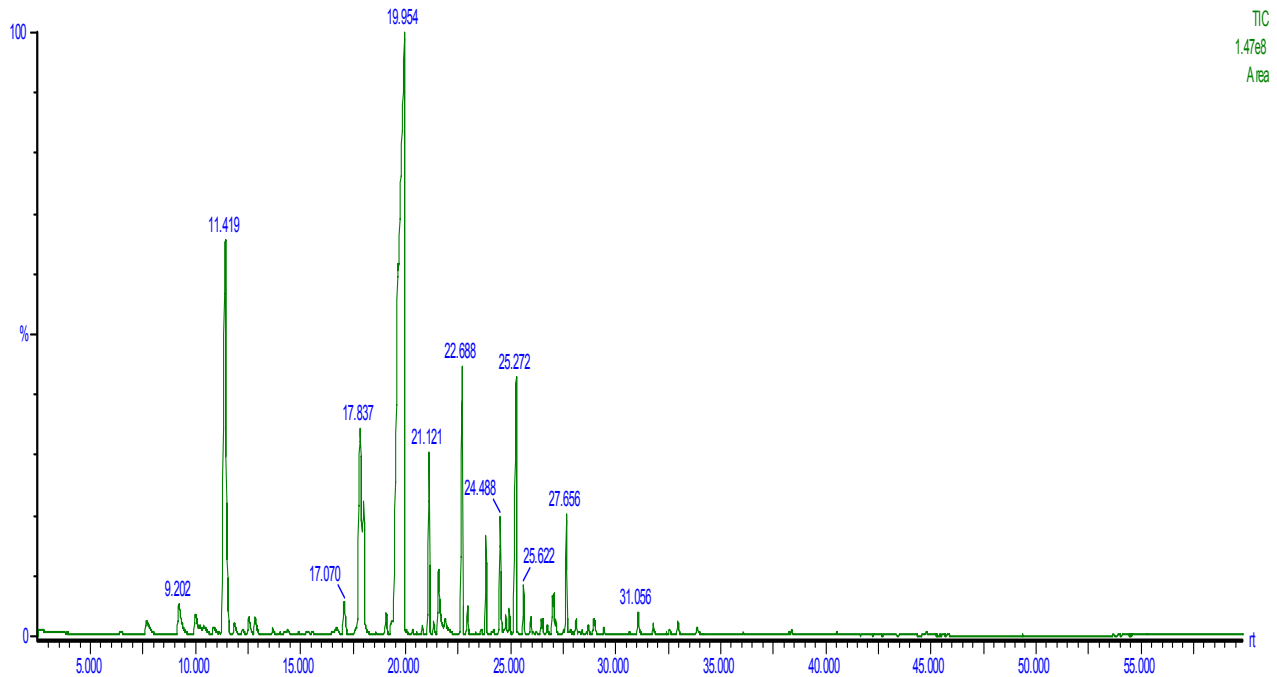


Σχήμα 28: Διάγραμμα των συνολικών μέσων ποσοστών των συστατικών του αιθερίου ελαίου της μέντας, όπως εκτιμήθηκαν από τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME. Οι δύο μέθοδοι δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($p>0.05$).

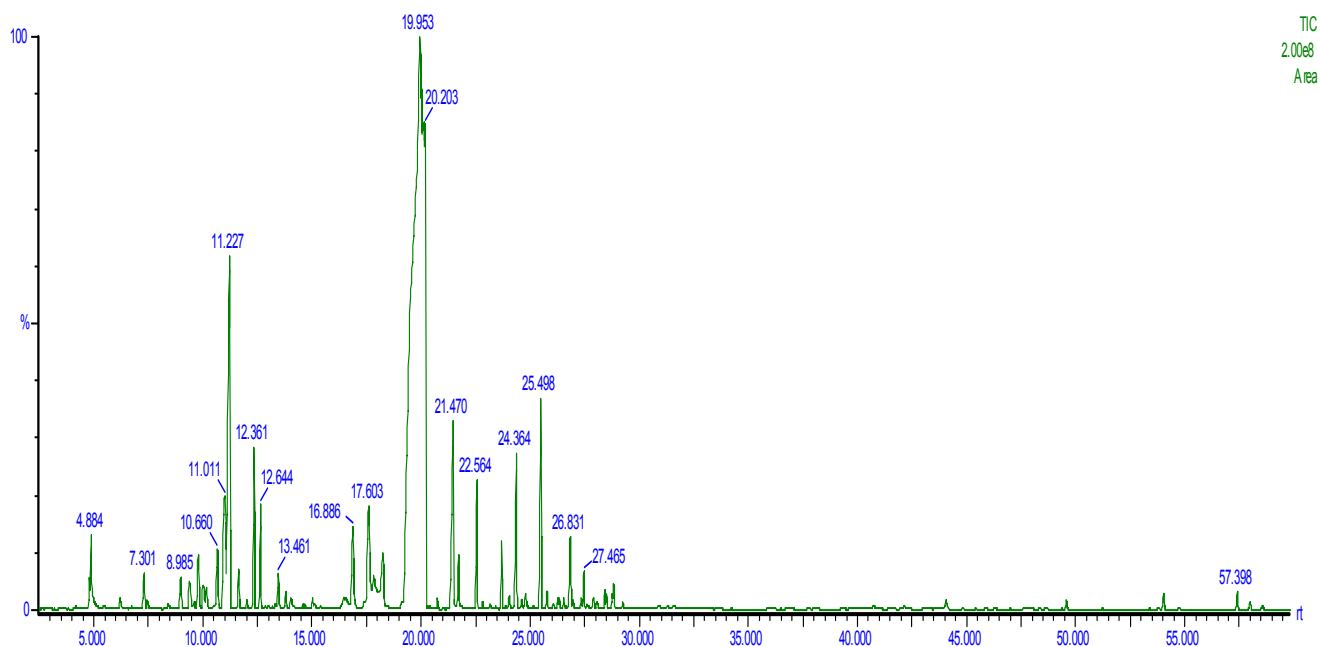


Σχήμα 29: Διάγραμμα των μέσων όρων των τιμών των χημικών ομάδων που συνιστούν το άρωμα της μέντας και με τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME.

Από το **Σχήμα 29** φαίνεται ότι η μέθοδος της υδροαπόσταξης είναι πιο ευαίσθητη από τη SPME στην ανάλυση των οξυγονωμένων μονοτερπενίων και των αλειφατικών αλκοολών, ενώ η SPME είναι πιο ευαίσθητη στην ανάλυση των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων.

I.4 Δυόσμος (*Mentha* spp.)

Σχήμα 30: Χρωματογράφημα συστατικών του αιθερίου ελαίου του δυόσμου που παραλήφθηκαν με την μέθοδο της υδροαπόσταξης και προσδιορίστηκαν με GC/MS.



Σχήμα 31: Χρωματογράφημα συστατικών του αιθερίου ελαίου του δυόσμου που απομονώθηκαν με τη μέθοδο SPME και προσδιορίστηκαν με GC/MS.

Η ποιοτική ανάλυση του αιθέριου ελαίου του δυόσμου που παραλήφθηκε-απομονώθηκε με τις δύο μεθόδους φαίνεται στον **Πίνακα 13**.

Πίνακας 13: Σύσταση (%) του αιθέριου ελαίου του δυόσμου (*Mentha* spp.) που παραλήφθηκε-απομονώθηκε με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME, αντίστοιχα, και προσδιορίστηκε με GC/MS

Ένωση	Μέθοδος υδροαπόσταξης	Μέθοδος SPME	Αξιοπιστία Ταυτοποίησης ^a
ΜΟΝΟΤΕΡΠΗΝΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ			
[$C_{10}H_{16}$] και [$C_{10}H_{14}$] α-θουγένιο [$C_{10}H_{16}$]	-	0,41±0,07	b
α-πινένιο [$C_{10}H_{16}$]	3,47±0,23	0,10±0,01	ab
καμφένιο [$C_{10}H_{16}$]	-	0,17±0,09	b
β-πινένιο [$C_{10}H_{16}$]	1,66±0,19	0,16±0,05	ab
β-μυρκένιο [$C_{10}H_{16}$]	0,27±0,13	0,46±0,02	ab
α-φελλανδρένιο [$C_{10}H_{16}$]	-	0,43±0,09	ab
α-τερπινένιο [$C_{10}H_{16}$]	-	0,30±0,14	ab
μ-κυμένιο [$C_{10}H_{14}$]	-	0,81±0,2	b
(Z)-β-οκιμένιο [$C_{10}H_{14}$]	0,64±0,1	1,86±0,15	b
(E)-β-οκιμένιο [$C_{10}H_{14}$]	2,43±0,06	0,30±0,01	b
γ-τερπινένιο [$C_{10}H_{14}$]	0,13±0,05	0,72±0,10	ab
α-τερπινολένιο	0,18±0,06	-	b
ΟΞΥΓΟΝΩΜΕΝΑ ΜΟΝΟΤΕΡΠΗΝΙΑ			
π-μενθ-(4,8)εν-9-όλη [$C_{10}H_{18}O$]	0,36±0,03	-	b
υδροξύ εστέρας του σαβινενίου	2,71±0,10	1,26±0,17	b
λιναλοόλη	tr	0,61±0,05	ab
τερπινεν-4-όλη [$C_{10}H_{18}O$]	-	1,27±0,22	b
διυδρο καρβόνη [$C_{10}H_{16}O$]	3,15±0,66	1,03±0,18	b
trans καρβεόλη [$C_{10}H_{16}O$]	7,04±0,22	-	b
πιπεριτόλη	-	2,43±0,55	b
καρβόνη	47,64±1,30	60,40±0,21	ab
οξική ισοπουλεγόνη	-	2,49±0,31	b
διυδρο -α- τερπινεόλη	2,08±0,11	-	b
δ-βερμπενόνη	0,25±0,09	-	b

<i>cis</i> καρβυλοξικός εστέρας [C ₁₂ H ₁₈ O ₂]	0,74±0,21	-	b
ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ			
άγνωστο σεσκιτερπένιο 1	-	0,77±0,07	b
<i>β</i> -μπουρμπονένιο [C ₁₅ H ₂₄]	2,05±0,21	0,10±0,1	b
<i>β</i> -ελεμένιο [C ₁₅ H ₂₄]	0,66±0,11	0,06±0,00	b
ισοκαρνοφυλλένιο [C ₁₅ H ₂₄]	0,47±0,19	1,10±0,03	b
άγνωστο σεσκιτερπένιο 2	2,33±0,31	0,09±0,01	b
<i>β</i> -φαρνεσένιο [C ₁₅ H ₂₄]	3,45±0,12	4,79±0,20	b
<i>β</i> -κουμπεμπένιο [C ₁₅ H ₂₄]	0,53±0,03	-	b
<i>β</i> -μπισαμπολένιο [C ₁₅ H ₂₄]	0,31±0,12	0,12±0,01	b
άγνωστο σεσκιτερπένιο 3	0,12±0,06	0,12±0,01	b
<i>γ</i> -καδινένιο [C ₁₅ H ₂₄]	0,17±0,03	0,17±0,02	b
καδίνα 1,3,5,-τριένιο [C ₁₅ H ₂₄]	0,09±0,05	0,15±0,01	b
ΦΑΙΝΟΛΕΣ			
<i>trans</i> ανηθόλη [C ₁₀ H ₁₂ O]	0,32±0,01	-	b
καρβακρόλη [C ₁₀ H ₁₄ O]	2,64±0,39	-	ab
θυμόλη [C ₁₀ H ₁₄ O]	0,30±0,04	-	ab
ΟΞΕΙΔΙΑ			
2,5-Διαιθυλο- τετραϋδροφουράνιο [C ₁₀ H ₁₄ O]	0,25±0,01	0,12±0,00	b
ΑΛΚΟΟΛΕΣ			
7-οκτεν-4-όλη [C ₈ H ₁₆ O]	0,07±0,04	0,46±0,03	b
3-οκτανόλη [C ₈ H ₁₈ O]	3,47±0,67	0,64±0,15	b
ΑΛΛΕΪΔΕΣ			
2-εξενάλη [C ₆ H ₁₀ O]	-	0,88±0,1	b
νονανάλη	0,07±0,01	0,12±0,01	b
ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ			
ΟΞΥΓΟΝΩΜΕΝΑ	8,78	5,72	
ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΑ	63,97	69,49	
ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ	10,26	7,47	
ΦΑΙΝΟΛΕΣ	3,26	0,0	
ΟΞΕΙΔΙΑ	0,25	0,12	
ΑΛΚΟΟΛΕΣ	3,54	1,1	

ΆΛΛΕΨΔΕΣ	0,07	1,0
Σύνολο ενώσεων	90,13	84,9

tr:ίχνη ουσιών <0,05%

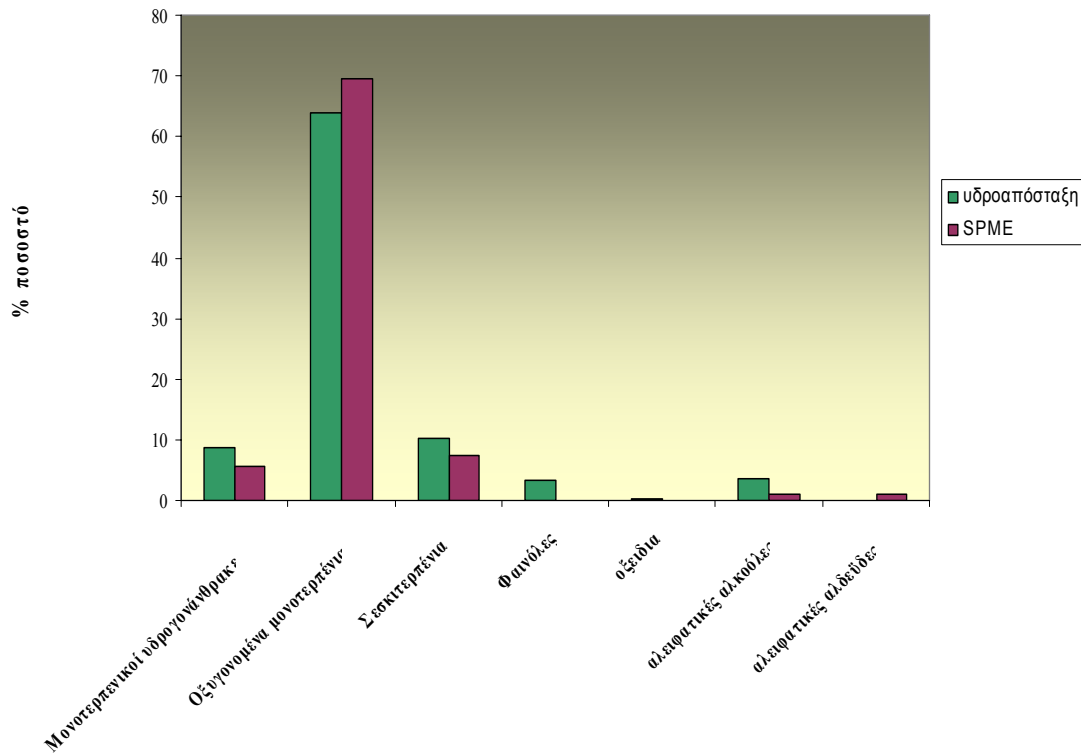
^a a: φάσμα μάζας σε συμφωνία με φάσματα της βιβλιογραφίας και [Adams, 2001](#) καθώς και με τα φάσματα των βιβλιοθηκών NIST και WILEY. b: αυτοποίηση με σύγκριση των χρόνων κατακράτησης και δεδομένων φασματοσκοπίας με τα αντίστοιχα πρότυπης ουσίας,

Στο φυτό του δυόσμου, με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης και ανάλυση με GC-MS, προσδιορίστηκαν 33 ενώσεις που αποτελούν το 90,13% του αιθέριου ελαίου. Με τη μέθοδο SPME και ανάλυση με GC-MS, προσδιορίστηκαν επίσης 33 ενώσεις που αποτελούν το 84,9% του αρώματος του φυτού.

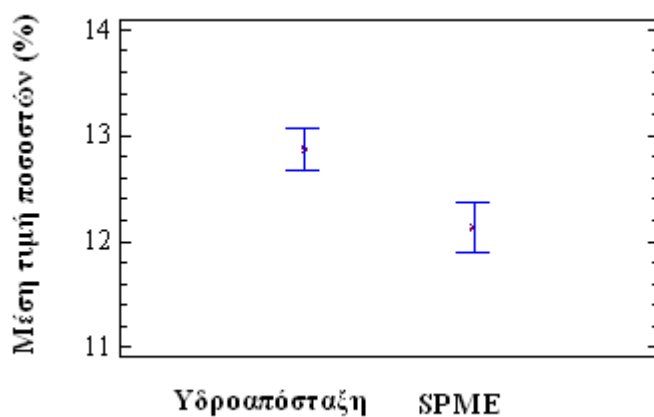
Το αιθέριο έλαιο του φυτού αποτελείται από οξυγονωμένα μονοτερπένια (63,97-69,49%), ακολουθούμενα από σεσκιτερπενικούς υδρογονάνθρακες (7,47-10,26%) και μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες (5,72-8,78%) (**Πίνακας 13 Σχήμα 32**). Και με τις δύο μεθόδους το κύριο συστατικό είναι η καρβόνη (47,64-60,40%), ακολουθούμενη από την *trans*-καρβεόλη (0-7,04%), τη διυδρο καρβόνη (1,03-3,15%), το β-φαρνεσένιο (3,45-4,79%), το α-πινένιο (0,10-3,47%) και το (*E*)-β-οκιμένιο (0,30-2,43%).

Για την παραλαβή συστατικών όπως της *trans*-καρβεόλης και της διυδρο καρβόνης, του α-πινενίου και του (*E*)-β-οκιμενίου, η μέθοδος της υδροαπόσταξης αποδεικνύεται περισσότερο αποτελεσματική. Αντίθετα η κύρια ουσία, η καρβόνη, παραλήφθηκε σε υψηλότερο ποσοστό με τη SPME. Αξιοσημείωτο και στο σημείο αυτό είναι ότι η παραλαβή της 3-οκτανόλης έγινε καλύτερα με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης.

Στο **Σχήμα 32** απεικονίζονται γραφικά τα ποσοστά των χημικών ομάδων που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο του δυόσμου και που παραλήφθηκαν-απομονώθηκαν με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME αντίστοιχα.



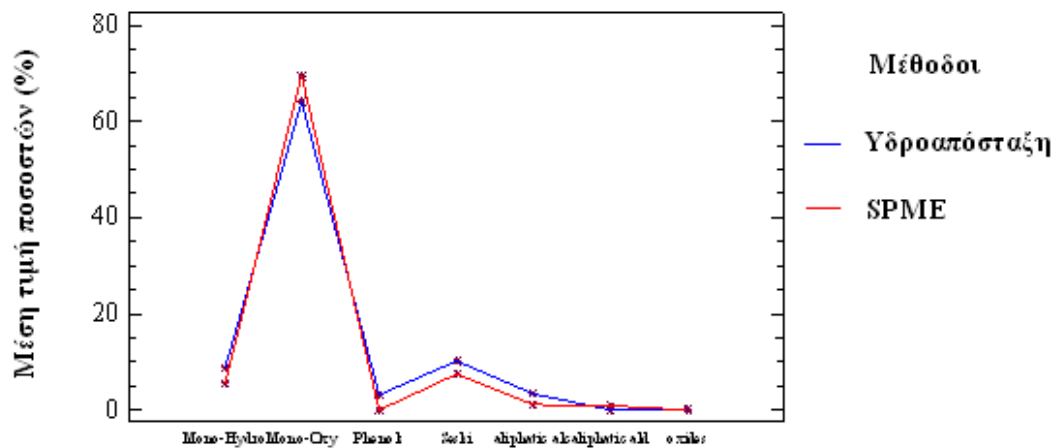
Σχήμα 32: Σύγκριση των ποσοστών των χημικών ομάδων που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο του δυόσμου που παραλήφθηκαν-απομονώθηκαν με τις μεθόδους της υδροαπόσταξης και της SPME αντίστοιχα και αναλύθηκαν σε GC-MS.



Σχήμα 33: Διάγραμμα των συνολικών μέσων ποσοστών των συστατικών του αιθέριου ελαίου του δυόσμου, όπως εκτιμήθηκαν από τις δύο μεθόδους : υδροαπόσταξης και SPME.

Με την πραγματοποίηση ανάλυσης διακύμανσης (**Σχήμα 33**) των μετρήσεων σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο

συγκρινόμενες μεθόδους ($p=0.0016$). Η μέθοδος της υδροαπόσταξης είναι στατιστικά σημαντικά πιο ευαίσθητη από την SPME ($p<0.05$).



Σχήμα 34: Διάγραμμα των μέσων όρων των τιμών των χημικών ομάδων που συνιστούν το άρωμα του δυόσμου και με τις δύο μεθόδους: υδροαπόσταξης και SPME

Από το **Σχήμα 34** προκύπτει ότι η SPME είναι ελαφρώς περισσότερο ευαίσθητη στην απομόνωση των οξυγονωμένων μονοτερπενίων ενώ η μέθοδος της υδροαπόσταξης είναι περισσότερο ευαίσθητη στην παραλαβή των μονοτερπενικών και σεσκιτερπενικών υδρογονανθράκων και φαινολών .

II. Δεύτερο μέρος. Αρωματικά φυτά –Μελέτη της εποχικής διακύμανσης

II.1.1 Χημική σύσταση και εποχική διακύμανση του αιθερίου ελαίου της *Μυρτιάς*

Η χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου της μυρτιάς, η εποχική διακύμανση αυτής καθώς και η απόδοση σε αιθέριο έλαιο παρουσιάζονται στον **Πίνακα 14**.

Οι αποδόσεις που προέκυψαν δεν διαφέρουν σημαντικά ($p>0,05$) μεταξύ των περιόδων που εξετάστηκαν και κυμαίνονται από 1,20-1,45% (ο/ξ.β σε g), βρέθηκαν δε μεγαλύτερες από εκείνες που αναφέρονται στη βιβλιογραφία (*Jamoussi et al., 2005*).

Από την ανάλυση του αιθερίου ελαίου που έγινε με GC-MS και σε δύο στήλες διαφορετικής πολικότητας, ταυτοποιήθηκαν 32 συστατικά τα οποία αποτελούν το 82,2-93,0% του συνόλου του αιθερίου ελαίου που απομονώθηκε. Η κύρια χημική ομάδα είναι τα οξυγονωμένα μονοτερπένια των οποίων η μέση συγκέντρωση κυμαίνεται στο 72% (εκτός από το Φεβρουάριο του 2006) και οι μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες με μία μέση συγκέντρωση 13% (εκτός από το Φεβρουάριο του 2006 που φθάνει το 27,2%). Από τις παραπάνω μέσες τιμές, όπως αναφέρονται, σημαντική διαφοροποίηση παρατηρείται την περίοδο του Φεβρουαρίου του 2006 (περίοδος της καρποφορίας), κατά την οποία συμβαίνει μία σημαντική μείωση στη συγκέντρωση των οξυγονωμένων μονοτερπενίων που συνοδεύεται από μια σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων. Η ομάδα των σесκιτερπενίων αποτελεί μόλις το 1,0-4,5% του αιθερίου ελαίου με μέγιστη τιμή συγκέντρωσης την περίοδο της καρποφορίας του 2006.

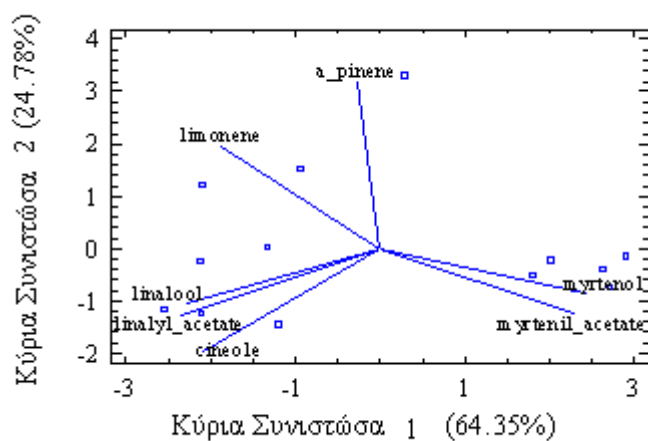
Το κύριο συστατικό του αιθερίου ελαίου της μυρτιάς είναι ο οξικός εστέρας της μυρτενόλης, η συγκέντρωση του οποίου κυμαίνεται από 21,1-39,0%. Η μικρότερη συγκέντρωση παρατηρείται την ίδια περίοδο που εμφανίζεται μειωμένο το άθροισμα της ομάδας των οξυγονωμένων μονοτερπενίων (Φεβρουάριος 2006). Και για τα δύο υπό μελέτη έτη η συγκέντρωση της ουσίας εμφανίζεται αυξημένη στην πριν την άνθηση περίοδο (Μάιος), ενώ την περίοδο της πλήρους άνθησης (Αύγουστος) είναι σταθερή και κυμαίνεται από 22,0-23,7% αντίστοιχα.

Άλλα συστατικά που περιέχονται σε υψηλή αναλογία στο αιθέριο έλαιο της μυρτιάς είναι η 1,8κινεδόλη (10,7-18,7%), το α -πινένιο (8,6-11,6%), η λιναλοόλη (4,5-18,3%) και ο οξικός εστέρας της λιναλοόλης (2,3-7,1%). Η υψηλότερη συγκέντρωση της 1,8κινεδόλης σημειώθηκε στην πριν την άνθηση περίοδο του 2006, ενώ γενικά παρουσιάζεται αυξημένη την περίοδο της πλήρους άνθησης του φυτού (Αύγουστος) και για τα δύο έτη. Ο μέσος όρος της συγκέντρωσης του α -πινενίου κυμαίνεται στο 10,8-10,9% και δεν παρουσιάζει

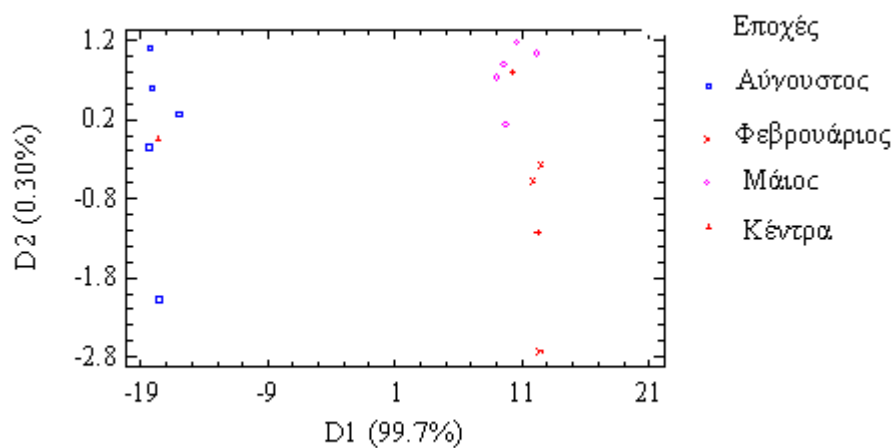
σημαντικές διαφορές μεταξύ των βιολογικών σταδίων που εξετάστηκαν και για τα δύο έτη. Οι συγκεντρώσεις της λιναλοόλης και του οξικού εστέρα της λιναλοόλης εμφανίζονται ιδιαίτερα αυξημένες κατά την περίοδο της πλήρους άνθησης και τα δύο έτη. Αντίθετα την ίδια περίοδο η συγκέντρωση της μυρτενόλης εμφανίζεται πολύ χαμηλή σε σχέση με τις άλλες υπό εξέταση περιόδους.

Η παρουσία του οξικού εστέρα της μυρτενόλης και του α -πινενίου κατατάσσει το υπό εξέταση φυτό στον πρώτο χημειότυπο, βάσει της κατάταξης που προτάθηκε από τους [Bradesi et al. \(1997\)](#) (§ 1.7, εισαγωγή). Στη Βόρεια Ελλάδα έχουν βρεθεί και φυτά του χημειότυπου που χαρακτηρίζεται από την απουσία του οξικού εστέρα της μυρτενόλης ([Koukos et al. 2001](#)), με κύρια συστατικά τον οξικό εστέρα της λιναλοόλης (31,4%) και το λιμονένιο (21,8%). Όπως επισημαίνεται από τη βιβλιογραφία περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η γεωγραφική θέση, η θερμοκρασία, η διάρκεια της ημέρας και το έδαφος διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη σύσταση του αιθέριου ελαίου των φύλλων της μυρτιάς ([Scora, 1973](#)). Επηρεάζουν τα βιοσυνθετικά μονοπάτια του φυτού και συνεπώς τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των συστατικών του αιθέριου ελαίου, με αποτέλεσμα την ύπαρξη διαφορετικών χημειότυπων που διαφοροποιούν το αιθέριο έλαιο της μυρτιάς ανάλογα με την περιοχή προέλευσης. ([Bradesi et al., 1997](#); [Chalchat et al., 1998](#); [Flamini et al., 2004](#)).

Η μέθοδος της Ανάλυσης Κυρίων Συνιστωσών (ΑΚΣ) (**Σχήμα 35**) εφαρμόστηκε σε επτά συστατικά του αιθέριου ελαίου της μυρτιάς, με σκοπό να διερευνηθεί ποια συστατικά παίζουν κύριο ρόλο και ποιές είναι οι συσχετίσεις ανάμεσα σε αυτά. Επελέγησαν δύο κύριες συνιστώσες, που εξηγούν το 89,3% της συνολικής μεταβλητότητας. Η πρώτη κύρια συνιστώσα αποτελείται από τον οξικό εστέρα της μυρτενόλης, τη μυρτενόλη, τον οξικό εστέρα της λιναλοόλης και τη λιναλοόλη, εξηγώντας το 64,35% της συνολικής μεταβλητότητας. Τα ανύσματα των μεταβλητών του οξικού εστέρα της μυρτενόλης και της μυρτενόλης, είναι τοποθετημένα το ένα πολύ κοντά στο άλλο, οπότε συμπεραίνουμε ότι αυτές οι μεταβλητές συσχετίζονται θετικά μεταξύ τους, ενώ είναι αρνητικά συσχετισμένες με τη λιναλοόλη και τον οξικό εστέρα της λιναλοόλης, που βρίσκονται στην αντίθετη πλευρά του άξονα της πρώτης κύριας συνιστώσας. Στο σχηματισμό της δεύτερης κύριας συνιστώσας συνεισφέρουν το α -πινένιο, το λιμονένιο και η 1,8 κινεόλη, που εξηγούν το 24,78% της συνολικής μεταβλητότητας. Το α -πινένιο και το λιμονένιο είναι τοποθετημένα στη θετική πλευρά του άξονα της δεύτερης κύριας συνιστώσας, ενώ η 1,8 κινεόλη στην αρνητική πλευρά, δείχνοντας την αρνητική συσχέτισή της με το α -πινένιο και το λιμονένιο.



Σχήμα 35: Διάγραμμα (biplot) των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών των συστατικών του αιθερίου της μυρτιάς



Σχήμα 36: Διακριτικές συναρτήσεις (D1 και D2) των χημικών ομάδων που διακρίνουν τις εποχές συλλογής της μυρτιάς. D1: α -πινένιο, λιναλοόλη, οξικός εστέρας της λιναλοόλης, οξικός εστέρας της μυρτενόλης, μυρτενόλη, λιμονένιο. D2: 1,8 κινεόλη. Μόνο η συνάρτηση D1 είναι στατιστικά σημαντική ($p < 0,05$).

Η μέθοδος της διακριτικής ανάλυσης (**Σχήμα 36**) εφαρμόστηκε σε επτά συστατικά του αιθερίου ελαίου της μυρτιάς, με σκοπό να διερευνηθεί ποια συστατικά διαφοροποιούνται από εποχή σε εποχή και αν η σύσταση του αιθερίου ελαίου είναι διαφορετική το Φεβρουάριο, από αυτήν του Μαΐου ή του Αυγούστου. Μια διακριτική συνάρτηση ήταν στατιστικά σημαντική ($p < 0,05$). Η λιναλοόλη, ο οξικός εστέρας της λιναλοόλης, το α -πινένιο, ο οξικός εστέρας της μυρτενόλης και η μυρτενόλη, συμμετέχουν κυρίως στη διακριτική συνάρτηση D1 (99,7%) και διαφοροποιούν τη χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του φυτού της μυρτιάς μεταξύ των εποχών που εξετάστηκαν (Φεβρουάριος, Μάιος ή Αύγουστος). Η διάκριση των εποχών είναι καταφανής στο διάγραμμα.

Πίνακας 14: Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του μυρτιάς (*Myrtus communis* L.). Ανάλυση με GC-MS.

Συστατικά	RRI ^a		Χημική Σύσταση (%) ^c 2005			Χημική Σύσταση (%) ^c 2006			Αξιοπιστία ταυτοποίησης ^b
	CP-Sil 8	DB-Wax	Φεβρουάριος	Μάιος	Αύγουστος	Φεβρουάριος	Μάιος	Αύγουστος	
ισοβουτυλικός ισοβουτυλεστέρας	898	1081	2,1	3,0	1,0	0,9	0,5	0,8	ab
α-θουγένιο	936	1021	nd	nd	nd	0,2	tr	tr	a
α-πινένιο	940	1017	10,9 ^{bA}	10,1 ^{aB}	11,6 ^{aC}	14,4 ^{cD}	8,6 ^{cE}	9,9 ^{dF}	ab
καμφένιο	951	1053	0,1	nd	nd	0,1	nd	nd	a
θουγια-2,4(10)-διένιο	956	nd	nd	nd	nd	1,7	nd	nd	a
β-πινένιο	975	1093	0,1	0,1	0,1	3,1	0,1	0,1	ab
β-μυρκενίιο	991	1157	0,2	0,3	0,2	0,5	0,2	0,1	ab
p-κυμένιο	1020	1266	0,3	nd	0,2	0,4	0,3	0,2	ab

λιμονένιο	1023	1197	1,8 ^{aA}	2,0 ^{bB}	6,3 ^{ab}	2,1 ^{cA}	3,2 ^{dB}	3,0 ^{eA}	ab
1,8-κινεόλη	1025	1210	11,7 ^{aA}	10,7 ^{bB}	13,3 ^{abC}	11,9 ^{cdD}	18,7 ^{cB}	15,4 ^{dE}	ab
(Z)-b-οκιμένιο	1035	1218	nd	nd	nd	0,1	tr	tr	a
(E)-b-οκιμένιο	1046	1234	nd	nd	nd	0,2	0,1	0,1	a
γ-τερπινένιο	1053	1243	0,1	0,1	0,2	2,6	0,1	0,1	ab
cis-οξείδιο της λιναλοόλης	1067	1448	0,1	0,1	tr	nd	0,1	tr	a
α-τερπινολένιο	1083	1279	0,1	0,2	0,2	0,9	0,2	0,2	a
λιναλοόλη	1096	1554	7,7 ^{aA}	7,0 ^{bB}	15,8 ^{abC}	4,5 ^{eA}	12,7 ^{cB}	18,3 ^{cC}	a
trans- πινοκαρβεόλη	1131	1661	0,1	0,2	nd	tr	nd	nd	ab
βορνεόλη	1158	1708	0,1	nd	nd	tr	nd	nd	ab
τερπινεν-4-όλη	1171	1605	0,2	0,2	0,2	3,8	0,2	0,2	a
α-τερπινεόλη	1185	1704	1,6	1,8	2,9	2,4	2,6	3,0	a

μυρτενόλη	1190	1798	2,7 ^{aA}	3,5 ^{aB}	0,8 ^{aC}	0,7 ^{bA}	0,7 ^{cB}	0,5 ^{dD}	ab
οξικός εστέρας της λιναλοόλης	1258	1559	3,6 ^a	2,5 ^{aA}	6,0 ^{aB}	2,3 ^{cd}	6,1 ^{dA}	7,1 ^{cB}	ab
οξικός εστέρας της <i>trans</i> -πινοκαρβεόλης	1297	1626	0,6	0,7	0,3	0,6	0,3	0,2	a
οξικός εστέρας της μυρτενόλης	1323	1693	39,0 ^{aA}	38,7 ^{bB}	23,7 ^{abC}	21,1 ^{cA}	28,3 ^{cB}	22,0 ^{dD}	a
οξικός εστέρας της <i>p</i> - μενθ-1-εν-8-όλης	1347	nd	0,4	0,4	0,5	0,4	0,3	0,4	a
οξικός εστέρας της νερόλης	1366	1730	0,4	1,9	3,1	0,2	0,6	0,6	a
οξικός εστέρας της γερανιόλης	1384	1761	1,8	0,4	0,3	1,2	2,9	2,8	a
<i>trans</i> -καρυοφυλλένιο	1414	nd	0,3	0,2	0,5	2,3	0,5	0,4	ab
α-χουμουλένιο	1449	1668	0,5	0,3	0,8	1,2	1,5	1,2	a

άγνωστο (123,166,236,237)	1517	2048	3,2	3,6	3,7	1,1	2,7	4,0	a
οξείδιο του καρβοφυλλενίου	1576	1984	0,5	0,5	0,3	0,3	0,2	0,2	ab
εποξείδιο του χουμουλενίου II	1588	nd	1,3	1,3	0,7	0,6	0,6	0,5	a

Μονοτερπένια:

Υδρογονάνθρακες			11,8 ^{aA}	10,8 ^{bB}	12,5 ^{cC}	27,2 ^{deA}	13,4 ^{dD}	14,6 ^{eE}
Οξυγονωμένα			71,8 ^{aA}	70,1 ^{bB}	73,2 ^{cC}	49,4 ^{edA}	73,5 ^{dB}	70,6 ^{eC}

Σεσκιτερπένια:

Υδρογονάνθρακες			0,8 ^{aA}	0,5 ^{bB}	1,3 ^{cC}	3,5 ^{deA}	1,9 ^{dB}	1,7 ^{eD}
Οξυγονωμένα			0,5 ^{aA}	0,5 ^{bB}	0,3 ^{cC}	1,0 ^{dA}	0,8 ^{eD}	0,6 ^{dE}

Άγνωστο			3,2 ^{aA}	3,6 ^{bB}	3,7 ^{cC}	1,1 ^{deA}	2,7 ^{dD}	4,0 ^{eE}
---------	--	--	-------------------	-------------------	-------------------	--------------------	-------------------	-------------------

(123,166,236,237)

Σύνολο συστατικών	92,0	90,0	93,0	82,2	92,3	91,5
Απόδοση αιθερίου ελαίου ^d	1,45±0,1 ^{aA}	1,20±0,1 ^{bB}	1,45±0,1 ^{cC}	1,23±0,1 ^{dD}	1,20±0,06 ^{eE}	1,20±0,1 ^{fF}

^a Σχετικοί χρόνοι κατακράτησης ως προς τους υδρογονάνθρακες C₈-C₂₄ σε στήλη DB-WAX και CP-SIL 8.

^b a: φάσμα μάζας σε συμφωνία με φάσματα της βιβλιογραφίας και [Adams, 2001](#) καθώς και με τα φάσματα των βιβλιοθηκών NIST και WILEY. b: ταυτοποίηση με σύγκριση των χρόνων κατακράτησης και δεδομένων φασματοσκοπίας με τα αντίστοιχα πρότυπη ουσίας,

^c Το ποσοστό της χημικής σύστασης υπολογίστηκε στην στήλη CP-Sil 8, κανονική κατανομή περιοχής χρωματογραφήματος (%) tr: <0,1%, nd: not detected

^d v/w % : όγκος (mL) αιθερίου ελαίου σε βάρος ξηρού φυτικού υλικού (σε g). Τα αποτελέσματα είναι ο μέσος όρος τριών επαναλήψεων. Οι τιμές με το ίδιο μικρό γράμμα είναι στατιστικά ($p<0.05$ and $p<0.01$) διαφορετικές μεταξύ των μηνών στο ίδιο έτος. Οι τιμές με το ίδιο κεφαλαίο γράμμα είναι στατιστικά ($p<0,05$ and $p<0,01$) διαφορετικές μεταξύ των ετών για τον ίδιο μήνα.

Π.1.2 Χημική σύσταση και εποχική διακύμανση του αιθερίου ελαίου του Σχίνου

Η χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του σχίνου, η εποχική διακύμανση αυτής καθώς και η απόδοση σε αιθέριο έλαιο παρουσιάζονται στον **Πίνακα 15**.

Οι αποδόσεις που προέκυψαν δεν διαφέρουν σημαντικά ($p>0,05$) μεταξύ των περιόδων που εξετάστηκαν και κυμαίνονται από 0,15-0,30% (ο/β ξ.ο σε g). Στη βιβλιογραφία αναφέρονται αποδόσεις της τάξης του 0,25-0,50% σε αιθέριο έλαιο (*Congiu et al., 2002; Pooter et al., 1991*) χωρίς εποχιακές διακυμάνσεις στην τιμή τους (*Zrira et al., 2003*).

Από την ανάλυση του αιθερίου ελαίου που έγινε με GC-MS και σε δύο στήλες διαφορετικής πολικότητας, ταυτοποιήθηκαν 57 συστατικά τα οποία αποτελούν το 78,4-92,8% του συνόλου του αιθερίου ελαίου που απομονώθηκε. Η κύρια χημική ομάδα είναι οι μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες (18,5-68,3%) ακολουθούμενη από τους σεσκιτερπενικούς υδρογονάνθρακες (9,2-33,2%) και τα οξυγονωμένα μονοτερπένια (10,5-18,9%). Η σύσταση του αιθερίου ελαίου μεταξύ των δύο υπό μελέτη ετών είναι διαφορετική. Το 2005 στο αιθέριο έλαιο του σχίνου επικρατούν οι μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες και η αναλογία τους ως προς τους σεσκιτερπενικούς υδρογονάνθρακες είναι περίπου 5: 1. Ενώ η αναλογία αυτή, για το επόμενο έτος αλλάζει σε 1: 1 περίπου. Το ίδιο έτος (2006) η συγκέντρωση των οξυγονωμένων σεσκιτερπενίων επίσης αυξάνει. Η αύξηση της παραγωγής συστατικών της ομάδας των σεσκιτερπενίων το 2006 μπορεί να αποδοθεί σε εξωγενείς παράγοντες στρες που οδήγησαν το φυτό στην παραγωγή συστατικών μικρότερης πτητικότητας, όπως είναι τα σεσκιτερπένια (*Hay & Waterman, 1993*). Παρόλα αυτά, η τάση στη συγκέντρωση των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων φαίνεται να είναι αυξημένη στην πριν την άνθηση περίοδο (Φεβρουάριος) και να μειώνεται σταδιακά κατά τη διάρκεια των δύο άλλων περιόδων, ενώ η συγκέντρωση των σεσκιτερπενικών υδρογονανθράκων παρουσιάζει αντίστροφη συμπεριφορά, φτάνοντας στη μεγαλύτερη τιμή της την περίοδο της καρποφορίας (Αύγουστος). Οι *Congiu et al., 2002*, σε δείγμα φύλλων σχίνου από τη Σαρδηνία, διαπίστωσαν ότι με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης παραλαμβάνονται τα μικρού Μ.Β. τερπένια ενώ με τη μέθοδο εκχύλισης με υπερκρίσιμα υγρά (SFE) παραλαμβάνεται υψηλότερο ποσοστό σεσκιτερπενίων. Οι ίδιοι κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αναλογία μονο-και σεσκιτερπενίων εξαρτάται από την γεωγραφική περιοχή προέλευσης του φυτού και είναι σταθερή σε κάθε περιοχή.

Τα κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου του σχίνου είναι τα : α -πινένιο (2,6-24,9%), λιμονένιο (4,1-17,8%), τερπινεν-4-όλη (6,5-10,6%), γερμακρένιο D (2,7-13,5%), β -πινένιο (2,0-6,9%), σαβινένιο (0,5-6,7%), p -κυμένιο (0,5-7,5%) και δ -καδινένιο (1,4-8,2%). Δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση του α -πινενίου στην πριν την άνθηση περίοδο (Φεβρουάριος) για τα δύο υπό εξέταση έτη, ενώ διαφέρουν οι υπόλοιπες

περίοδοι. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση παρατηρείται στην πλήρη άνθηση για το 2005 και στην πριν την άνθηση περίοδο για το 2006. Η συγκέντρωση τόσο του σαβινενίου όσο και του β -πινενίου φθάνει στο μέγιστο στην περίοδο της πλήρους άνθησης (Μάιος) και για τα δύο έτη, ενώ οι διαφορές μεταξύ των περιόδων που εξετάστηκαν είναι σημαντικές.

Η συγκέντρωση του λιμονενίου βρέθηκε μεγαλύτερη για όλες τις περιόδους που εξετάστηκαν το 2005 σε σχέση με τις αντίστοιχες του 2006. Κατά την περίοδο της πλήρους άνθησης του 2005 διαπιστώθηκε η μεγαλύτερη συγκέντρωση του συστατικού αυτού, τιμή η οποία διαφέρει σημαντικά από την αντίστοιχη για το 2006. Στις υπόλοιπες περιόδους που εξετάστηκαν οι συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν δεν διαφέρουν σημαντικά.

Οι μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες γ -τερπινένιο και τερπινολένιο εμφανίζουν σχεδόν σταθερή συγκέντρωση στη διάρκεια και των τριών περιόδων που εξετάστηκαν και για τα δύο έτη.

Η συγκέντρωση του p -κυμενίου βρέθηκε να διαφέρει σημαντικά τις περιόδους πριν την άνθηση (Φεβρουάριος) και κατά την άνθηση (Μάιος) των δύο ετών αντίστοιχα. Παρόλα αυτά η περίοδος πριν την άνθηση φαίνεται να είναι το στάδιο της μεγαλύτερης συγκέντρωσης του συστατικού αυτού.

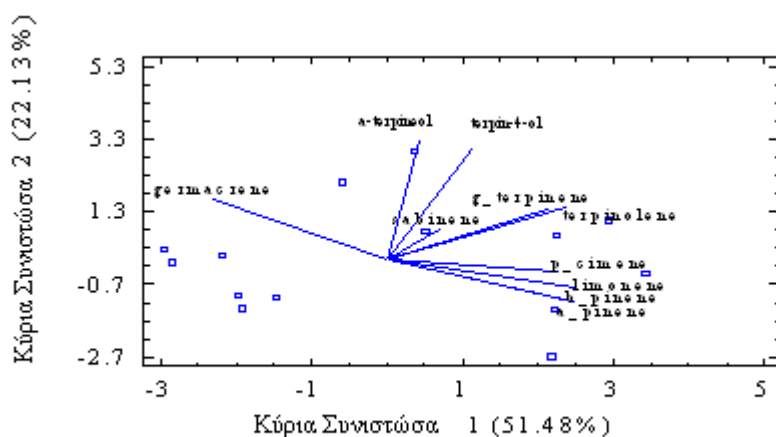
Το στάδιο της καρποφορίας χαρακτηρίζεται από τη σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση των σεσκιτερπενίων όπως των: γερμακρένιο D, δ -καδινένιο, γ -καδινένιο, 1-έπικουμπενόλη, ϵ - α -καδινόλη και α -καδινόλη. Κατά τους *Figueiredo et al., 2008*, η βιοσύνθεση των συστατικών αυτών φαίνεται να συνδέεται με το στάδιο αυτό ανάπτυξης του φυτού.

Οι *Congiu et al., 2002*, ανέλυσαν το αιθέριο έλαιο από φύλλα του φυτού από τη Σαρδηνία και προσδιόρισαν υψηλά ποσοστά β -πινενίου (18,7%), *trans*-καρνοφυλλενίου (13,22%) και β -φελλανδρενίου (12,63%). Ενώ στο αιθέριο έλαιο του φυτού από την περιοχή Σεβίλλη της Ισπανίας (*Boelens, M. H., & Jimenez, R., 1991*) βρέθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις β -μυρκενίου (11,25%), α -πινενίου (11,20%), τερπιν-4-όλης (8,41%) καθώς και υψηλές συγκεντρώσεις *trans*-καρνοφυλλενίου (8,6%) και γερμακρενίου D (6,35%). Οι ίδιοι διατυπώνουν την άποψη ότι μία ουσία, η 2-ουντεκανόνη παίζει σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση του αρώματος του αιθερίου ελαίου.

Η χημική σύσταση του υπό μελέτη φυτού φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά από εξωγενείς παράγοντες. Η επίδραση αυτή αντανακλάται στις συγκεντρώσεις των μονοτερπενικών και σεσκιτερπενικών υδρογονανθράκων. Επιπλέον η σύσταση του αιθερίου ελαίου επηρεάζεται και από το στάδιο ανάπτυξης του φυτού, γεγονός που αντανακλάται στις συγκεντρώσεις διαφόρων συστατικών όπως αυτές του α -πινενίου, β -πινενίου, σαβινενίου, p -κυμενίου, γερμακρενίου D και δ -καδινενίου.

Η μέθοδος της Ανάλυσης Κυρίων Συνιστωσών (ΑΚΣ) (**Σχήμα 37**) εφαρμόστηκε σε δέκα συστατικά του αιθερίου ελαίου του σχίνου, με σκοπό να διερευνηθεί ποια από αυτά

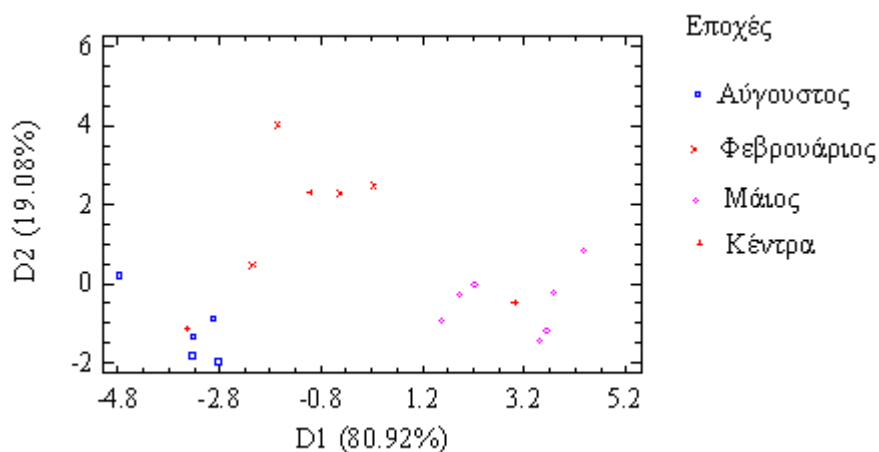
παίζουν κύριο ρόλο και ποιές είναι οι συσχετίσεις ανάμεσα τους. Από τα δέκα συστατικά που δόθηκαν (α -πινένιο, β -πινένιο, σαβινένιο, p -κυμένιο, γ -τερπινένιο, λιμονένιο, α -τερπινολένιο, τερπινεν-4-όλη, α -τερπινεόλη και γερμακρένιο D) επιλέγησαν με την ΑΚΣ τρεις κύριες συνιστώσες, ασυσχέτιστες μεταξύ τους, που εξηγούν το 88,4% της συνολικής μεταβλητότητας. Στο διάγραμμα τα συστατικά παρουσιάζονται σε σχέση με τις πρώτες δύο κύριες συνιστώσες. Η πρώτη κύρια συνιστώσα αποτελείται από τα α -πινένιο, β -πινένιο, γερμακρένιο, γ -τερπινένιο, τερπινολένιο και λιμονένιο και εξηγεί το 51,48% της συνολικής μεταβλητότητας. Στο διάγραμμα, τα συστατικά α -πινένιο, β -πινένιο και λιμονένιο βρίσκονται πολύ κοντά το ένα στο άλλο, οπότε συμπεραίνουμε ότι συσχετίζονται θετικά μεταξύ τους, ενώ το γερμακρένιο, που είναι τοποθετημένο αντιδιαμετρικά με τα προηγούμενα, συσχετίζεται αρνητικά με αυτά. Στο σχηματισμό της δεύτερης κύριας συνιστώσας συνεισφέρουν τα τερπιν-4-όλη (p -menth-4-en) και α -τερπινεόλη (p -menth-8-en) εξηγώντας το 22,13% της συνολικής μεταβλητότητας. Στο διάγραμμα τα συστατικά αυτά είναι τοποθετημένα κοντά το ένα στο άλλο, εξαιτίας της μεγάλης θετικής συσχέτισής τους. Η τρίτη κύρια συνιστώσα αποτελείται από το p -κυμένιο και το σαβινένιο εξηγώντας άλλο ένα 14,79% της συνολικής μεταβλητότητας.



Σχήμα 37: Διάγραμμα (biplot) των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών των συστατικών του αιθέριου ελαίου του σκίνου.

Από την διακριτική ανάλυση των κύριων χημικών ομάδων (**Σχήμα 38**) που συνθέτουν το αιθέριο έλαιο του σκίνου προκύπτει ότι και οι τέσσερις ομάδες που εξετάστηκαν (**Πίνακας 15**) συμμετέχουν στη διάκριση των εποχών συλλογής του σκίνου. Και οι δύο διακριτικές συναρτήσεις ήταν στατιστικά σημαντικές ($p < 0,05$). Οι μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες, τα οξυγονωμένα σεσκιτερπένια και οι σεσκιτερπενικοί υδρογονάνθρακες

συμμετέχουν στη διακριτική συνάρτηση D1 (80,92%) και τα οξυγονωμένα μονοτερπένια στη D2 (24%). Οι δύο πρώτες χημικές ομάδες διαφοροποιούνται περισσότερο από εποχή σε εποχή. Όπως βλέπουμε και στο διάγραμμα τα συστατικά κατηγοριοποιούνται σωστά, ανάλογα με την εποχή συλλογής τους (Φεβρουάριος, Μάιος και Αύγουστος). Πρέπει να σημειωθεί ότι δεν ήταν δυνατή η διάκριση των εποχών βάση των κύριων συστατικών του φυτού.



Σχήμα 38: Διακριτικές συναρτήσεις (D1 και D2) των χημικών ομάδων που διακρίνουν τις εποχές συλλογής του σχίνου. D1: μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες, οξυγονωμένα σεσκιτερπένια και σεσκιτερπενικοί υδρογονάνθρακες. D2: οξυγονωμένα μονοτερπένια. Και οι δύο συναρτήσεις D1, D2 είναι στατιστικά σημαντικές ($p < 0,05$).

Πίνακας 15 :Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του Σχίνου (*Pistacia lentiscus* L.). Ανάλυση με GC-MS.

Συστατικά	RRF ^a		Χημική Σύσταση (%) ^c 2005			Χημική Σύσταση (%) ^c 2006			Αξιοπιστία ταυτοποίησης ^b
	CP-Sil 8	DB- Wax	Φεβρουάριος	Μάιος	Αύγουστος	Φεβρουάριος	Μάιος	Αύγουστος	
	τρικυκλένιο	930	1006	0,2	0,2	0,2	tr	0,1	
α-θουγένιο	936	1021	2,0	1,3	0,2	0,4	0,3	0,1	a
α-πινένιο	940	1017	17,1 ^{aA}	24,9 ^{abB}	9,4 ^{bC}	10,0 ^{cdD}	5,5 ^{cB}	2,6 ^{dC}	ab
καμφένιο	951	1053	1,1	1,1	0,8	0,2	0,7	0,3	a
θουγια-2,4(10)-διένιο	956	nd	0,1	0,1	tr	tr	0,1	tr	a
σαβινένιο	973	1108	1,0 ^{aA}	4,6 ^{aB}	6,7 ^{aC}	2,0 ^{dD}	3,0 ^{cE}	0,5 ^{cC}	a
β-πινένιο	975	1093	2,0 ^{aA}	6,9 ^{abB}	2,9 ^{bC}	3,9 ^{cdA}	2,0 ^{cB}	0,8 ^{dC}	ab
β-μυρκένιο	991	1157	0,4	0,3	1,7	0,4	0,1	0,2	ab
α-φελλανδρένιο	1001	1206	1,2	1,2	0,9	1,4	0,3	0,3	a

<i>α</i> -τερπινένιο	1012	1174	2,8	2,2	1,6	2,5	1,0	0,5	ab
<i>p</i> -κυμένιο	1020	1266	7,5 ^{aA}	3,5 ^{aB}	0,5 ^{aC}	2,4 ^{cdA}	1,2 ^{cbB}	1,0 ^{ddD}	ab
λιμονένιο	1023	1197	13,9 ^{aA}	17,8 ^{bbB}	9,0 ^{bcC}	8,0 ^{cdD}	4,1 ^{cdB}	8,1 ^{deE}	ab
(<i>Z</i>)- <i>b</i> -οκιμένιο	1035	nd	tr	nd	nd	tr	tr	tr	a
(<i>E</i>)- <i>b</i> -οκιμένιο	1046	nd	tr	nd	nd	tr	tr	nd	a
<i>γ</i> -τερπινένιο	1053	1243	3,6 ^{aA}	3,3 ^{bbB}	3,1 ^{ccC}	3,5 ^{ddD}	2,0 ^{deE}	3,5 ^{efF}	ab
<i>α</i> -τερπινολένιο	1083	1279	1,3 ^{aA}	0,9 ^{bbB}	0,8 ^{ccC}	1,3 ^{deD}	0,6 ^{deE}	0,5 ^{efF}	a
2-μεθυλ-βούτυλο 2-βουτανοϊκός μεθυλεστέρας	1098	nd	0,1	tr	0,1	0,1	nd	tr	a
3-μεθυλ-βούτυλο 3-βουτανοϊκός μεθυλεστέρας	1104	1294	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	a
2-μεθυλ-βούτυλο 3-βουτανοϊκός μεθυλεστέρας	1106	nd	0,1	0,1	0,1	0,1	nd	tr	a
<i>cis</i> -μενθ-2-εν-1-όλη	1115	nd	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	a

<i>α</i> -καμφολενάλη	1119	nd	0,2	0,2	0,1	0,2	0,4	0,1	a
<i>trans</i> -πινοκαρβεόλη	1131	nd	0,2	0,2	0,1	0,2	0,8	0,2	ab
<i>cis</i> -β-τερπινεόλη	1139	nd	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	a
βορνεόλη	1158	nd	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	ab
<i>p</i> -μενθα-1,5-διεν-8-όλη	1162	nd	0,4	0,1	0,1	0,3	0,8	0,3	a
τερπινεν-4-όλη	1171	1605	10,6 ^{aA}	6,8 ^{abB}	10,0 ^{bC}	9,0 ^{cdD}	8,2 ^{ceE}	6,5 ^{dc}	a
<i>α</i> -τερπινεόλη	1185	1704	3,1 ^{aA}	2,5 ^{bb}	4,0 ^{cc}	3,0 ^{dd}	1,8 ^{deE}	2,6 ^{eh}	a
<i>γ</i> -τερπινεόλη	1192	nd	0,4	nd	nd	0,4	nd	0,4	a
βερμπενόνη	1202	nd	0,2	0,1	tr	0,1	0,1	nd	a
<i>trans</i> -καρβεόλη	1216	nd	0,1	nd	nd	nd	0,3	0,2	a
οξικός εστέρας της λιναλοόλης	1258	1559	tr	tr	tr	0,3	nd	nd	ab
οξικός εστέρας της βορνεόλης	1283	nd	0,2	0,1	0,2	0,1	3,7	0,6	a

2-συντεκανόνη	1294	nd	0,8	tr	tr	1,5	1,9	0,4	a
α -κουμπεμπένιο	1347	1457	tr	0,1	0,2	0,3	0,2	tr	a
οξικός εστέρας της α - τερπινεόλης	1346	nd	0,6	nd	nd	0,7	0,4	0,4	a
κοπαένιο	1372	1490	0,4	0,2	0,7	0,9	0,9	1,2	a
β -κουμπεμπένιο	1386	1537	tr	0,1	0,3	0,2	nd	0,3	a
(-)- β ελεμένιο	1388	1588	0,3	0,2	0,4	0,5	0,5	0,7	a
<i>trans</i> -καρυοφυλλένιο	1414	1594	2,1	2,0	4,1	4,0	4,6	3,1	ab
α -χουμουλένιο	1449	1668	0,8	0,5	1,6	1,5	1,9	2,5	a
<i>trans</i> -καδίνα-1(6),4-διένιο	1471	nd	0,3	0,1	0,2	0,5	0,8	1,0	a
γ -μουουρολένιο	1474	1688	0,9	0,4	1,1	0,6	2,4	0,1	a
γερμακρένιο D	1477	1708	2,7 ^{aA}	3,3 ^{bB}	13,5 ^{abC}	7,8 ^{cA}	10,1 ^{cB}	12,7 ^{cd}	a
β -σελινένιο	1482	nd	0,3	nd	nd	0,3	nd	nd	a

<i>α</i> -μουουρολένιο	1498	nd	0,6	0,3	0,9	0,9	1,5	1,7	a
<i>β</i> -μπισαμπολένιο	1498	nd	0,2	nd	nd	nd	0,4	nd	a
<i>γ</i> -καδινένιο	1512	nd	0,4	0,5	1,5	0,8	1,1	1,2	a
<i>δ</i> -καδινένιο	1521	1757	2,5	1,4	3,4	4,2	6,5	8,2	a
<i>trans</i> -καδίνα-1(2)-4-διένιο	1529	nd	0,1	0,1	0,2	0,2	0,4	0,5	a
(-)-σπαθουλενόλη	1571	2130	0,3	0,3	0,3	0,4	0,7	0,8	a
οξείδιο του καρυοφυλλενίου	1576	1984	1,6	1,2	0,5	1,7	4,7	1,7	ab
εποξείδιο του χουμουλενίου II	1588	nd	0,4	0,2	0,2	0,7	1,4	0,9	a
άγνωστο σεσκιτερπένιο I	1590	nd	0,6	nd	nd	tr	0,9	nd	a
1-έπι-κουμπενόλη	1623	nd	0,4	0,3	1,0	1,0	1,9	2,1	a
έπι- <i>α</i> -καδινόλη	1637	nd	0,9	0,8	2,6	1,7	3,0	3,5	a
ισομερές της καδινόλης	1642	nd	0,5	0,2	0,7	1,0	1,1	1,3	a

α -καδινόλης	1650	nd	1,1	1,6	3,8	2,9	3,8	4,3	a
---------------------	------	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	---

Μονοτερπένια:

Υδρογονάνθρακες			54,2 ^{aA}	68,3 ^{aB}	36,2 ^{aC}	36,0 ^{bcA}	21,0 ^{bb}	18,5 ^{cC}
Οξυγονωμένα			17,4 ^{aA}	10,5 ^{abC}	15,0 ^{bdD}	16,2 ^{cb}	18,9 ^{dc}	12,1 ^{cdE}

Σεσκιτερπένια:

Υδρογονάνθρακες			11,6 ^{aA}	9,2 ^{aB}	28,1 ^{aC}	22,7 ^{bcA}	31,3 ^{bb}	33,2 ^{cd}
Οξυγονωμένα			5,8 ^{aA}	4,6 ^{bb}	9,1 ^{abC}	9,4 ^{ba}	17,5 ^{bb}	14,6 ^{bc}

Σύνολο συστατικών

			89,6	92,8	90,3	84,3	88,8	78,4
--	--	--	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------

Απόδοση αιθερίου ελαίου^d

			0,30 ± 0,07 ^{aA}	0,30 ± 0,05 ^{bb}	0,28 ± 0,07 ^{cC}	0,25 ± 0,08 ^{dd}	0,25 ± 0,02 ^{eE}	0,15 ± 0,07 ^{ff}
--	--	--	---------------------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------

^a Σχετικοί χρόνοι κατακράτησης ως προς τους υδρογονάνθρακες C₈-C₂₄ σε στήλη DB-WAX και CP-SIL 8.

^b a: φάσμα μάζας σε συμφωνία με φάσματα της βιβλιογραφίας και *Adams, 2001* καθώς και με τα φάσματα των βιβλιοθηκών NIST και WILEY, b: ταυτοποίηση με σύγκριση των χρόνων κατακράτησης και δεδομένων φασματοσκοπίας με τα αντίστοιχα πρότυπης ουσίας,

^c Το ποσοστό της χημικής σύστασης υπολογίστηκε στην στήλη CP-Sil 8, κανονική κατανομή περιοχής χρωματογραφήματος (%) tr: <0,1%, nd: not detected

^d v/w % : όγκος (mL) αιθερίου ελαίου σε βάρος ξηρού φυτικού υλικού (σε g). Τα αποτελέσματα είναι ο μέσος όρος τριών επαναλήψεων. Οι τιμές με το ίδιο μικρό γράμμα είναι στατιστικά ($p < 0.05$ and $p < 0.01$) διαφορετικές μεταξύ των μηνών στο ίδιο έτος. Οι τιμές με το ίδιο κεφαλαίο γράμμα είναι στατιστικά ($p < 0,05$ and $p < 0,01$) διαφορετικές μεταξύ των ετών για τον ίδιο μήνα.

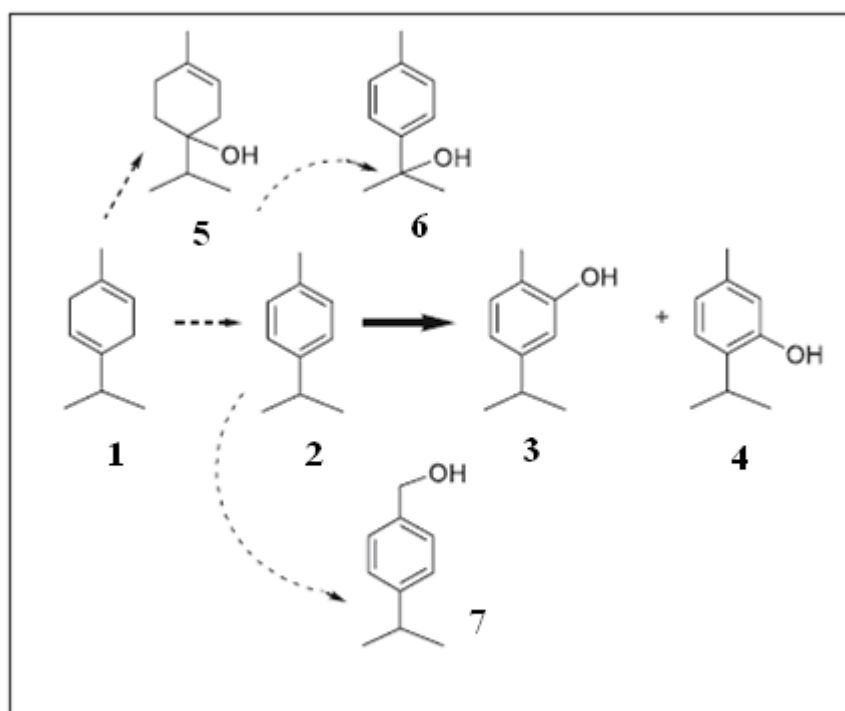
Π.1.3 Χημική σύσταση και εποχική διακύμανση του αιθερίου ελαίου του Θυμαριού

Η χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του θυμαριού, η εποχική διακύμανση αυτής καθώς και η απόδοση σε αιθέριο έλαιο παρουσιάζονται στον **Πίνακα 16**.

Οι αποδόσεις που προέκυψαν διαφέρουν σημαντικά ($p < 0,05$) μεταξύ των περιόδων που εξετάστηκαν και κυμαίνονται από 1,5-1,7% (ο/ξ.β σε g) την περίοδο πριν την άνθηση (Φεβρουάριος) ενώ αυξάνεται στο 3,5-3,8% (ο/ξ.β σε γρ.) στο στάδιο της καρποφορίας και για τα δύο έτη. Η περιοδικότητα των τιμών της απόδοσης σε αιθέριο έλαιο χαρακτηρίζει και άλλα φυτά της οικογένειας Labiatae που ενδημούν στην περιοχή της Μεσογείου (*Vokou, D. & Margaris, S. N., 1986*). Οι *Vokou et al. (1984)*, διατύπωσαν την άποψη ότι το υψηλό ποσοστό της συγκέντρωσης σε αιθέριο έλαιο που παρατηρείται κατά την περίοδο Ιουλίου – Αυγούστου μειώνεται στο διάστημα των επομένων πέντε μηνών ως αποτέλεσμα φυσικών και βιολογικών διαδικασιών που συμβαίνουν κατά τον διάρκεια του βιολογικού κύκλου του φυτού.

Από την ανάλυση του αιθερίου ελαίου που έγινε με GC-MS και σε δύο στήλες διαφορετικής πολικότητας, ταυτοποιήθηκαν 42 συστατικά τα οποία αποτελούν το 95,5-98,7% του συνόλου του αιθερίου ελαίου που απομονώθηκε. Η κύρια χημική ομάδα είναι οι φαινολικές ενώσεις (73,4-76,2%), με κύριο εκπρόσωπο την καρβακρόλη. Η μέση τιμή της ομάδας κυμαίνεται στο 74,7%, ενώ οι συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν σ' όλο το χρονικό διάστημα μελέτης δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Η επόμενη βασική ομάδα είναι οι μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες (12,2-16,9%). Η συγκέντρωσή τους είναι χαμηλή στην πριν την άνθηση περίοδο και αυξάνεται σταδιακά τις επόμενες περιόδους και για τα δύο έτη. Η υψηλότερη συγκέντρωση της ομάδας αυτής παρουσιάζεται την περίοδο της καρποφορίας (Αύγουστος), γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τη βιβλιογραφία (*Hudaib et al., 2002*). Υψηλές συγκεντρώσεις καρβακρόλης χαρακτηρίζουν φυτά του είδους *Coridothymus capitatus* και σε άλλες χώρες όπως Ισπανία και Πορτογαλία. Σ' αυτά τα είδη η θυμόλη βρίσκεται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις. Παρόλα αυτά στο Ισραήλ έχει αναφερθεί ένας χημειότυπος του αιθερίου ελαίου του φυτού με υψηλή συγκέντρωση σε θυμόλη (*Kokkini, S. et al., 1989*).

Τα κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου του θυμαριού είναι τα: καρβακρόλη (73,3-75,8%), *p*-κυμένιο (6,3-8,1%), βορνεόλη (1,6-3,6%) και γ -τερπινένιο (0,8-4,8%). Είναι γνωστό ότι το γ -τερπινένιο είναι η πρόδρομη ένωση του *p*-κυμενίου και αυτό με τη σειρά του της θυμόλης και της ισομερούς ένωσης αυτής καρβακρόλης (*Vernet et al., 1986; Piccaglia, R., Marotti, M., 1993*) σύμφωνα με το σχήμα:



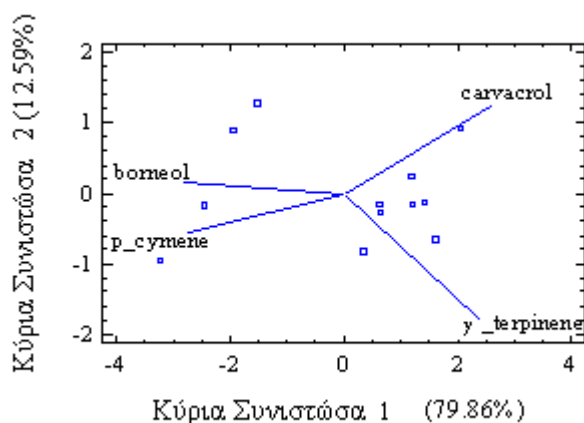
Σχήμα 39 : Βιοσύνθεση θυμόλης – καρβακρόλης (1: γ-τερπινένιο, 2: p -κυμένιο, 3: θυμόλη, 4: καρβακρόλη, 5:τερπινεν-4-όλη. 6: p -κυμένιο-8-όλη, 7: κουμινλική αλκοόλη

Οι *Jordán et al., (2006)* μελέτησαν το είδος *Thymus hyemalis* και παρατήρησαν αυξομειώσεις στην τιμή της συγκέντρωσης των δύο αυτών ουσιών, με το στάδιο της πλήρους άνθησης, το στάδιο της πλήρους μετατροπής της μιάς ουσίας στην άλλη. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα (**Πίνακας 16**) οι συγκεντρώσεις του γ-τερπινενίου και του p -κυμενίου παρουσιάζουν επίσης μια ανάλογη συμπεριφορά. Το στάδιο της πλήρους μετατροπής του γ-τερπινενίου σε p -κυμένιο προκύπτει να είναι η πριν την άνθηση περίοδος κατά την οποία η συγκέντρωση του γ-τερπινενίου είναι η μικρότερη (0,8-1,6%) και του p -κυμενίου η μέγιστη (8,0-8,1%). Στο επόμενο στάδιο της πλήρους άνθησης, το οποίο φαίνεται να είναι και το τέλος του βιοσυνθετικού κύκλου, που παρουσιάζεται και στο **Σχήμα 39**, η συγκέντρωση της καρβακρόλης φθάνει στο μέγιστο της συγκέντρωσής (75,7-75,8%) για να αρχίσει να μειώνεται σταδιακά στο επόμενο στάδιο της καρποφορίας, όπου και παρατηρείται μία αύξηση στη συγκέντρωση του p -κυμενίου.

Οι *Kokkini. et al., (1997)*, σε μελέτη του είδους *O. vulgare* subsp. *hitrum* στον ελλαδικό χώρο, παρατήρησαν επίσης ότι τα φυτά του είδους αυτού κατά την φθινοπωρινή περίοδο χαρακτηρίζονται από μικρές αποδόσεις σε αιθέριο έλαιο, μικρά ποσά γ-τερπινενίου και υψηλή συγκέντρωση p -κυμενίου. Οι ίδιοι διατύπωσαν την άποψη ότι, ανεξάρτητα από τη γεωγραφική θέση και την εποχή, το άθροισμα των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων : p -

κυμένιο + γ -τερπινένιο μαζί με τις φαινόλες θυμόλη+καρβακρόλη παραμένει σταθερό και κυμαίνεται από 85,0-96,8%. Στην παρούσα εργασία και για το είδος *Coridothymus capitatus* η συγκέντρωση των τεσσάρων αυτών συστατικών κυμαίνεται από 82,4-86,8% για όλες τις περιόδους που εξετάστηκαν. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τη σταθερή συγκέντρωση της καρβακρόλης σε όλες τις περιόδους οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του υπό μελέτη είδους είναι σταθερή, γενετικά καθορισμένη και δεν επηρεάζεται από εξωγενείς παράγοντες.

Τέλος, η συγκέντρωση της βορνεόλης του κύριου εκπροσώπου των οξυγονωμένων μονοτερπενίων είναι αυξημένη στη πριν την άνθηση περίοδο και μειώνεται σταδιακά τις επόμενες περιόδους μελέτης. Η ίδια συμπεριφορά παρατηρήθηκε σε νεαρά φυτά του είδους *Thymus vulgaris* από τους [Hudaib et al., \(2002\)](#).



Σχήμα 40: Διάγραμμα (biplot) των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών των συστατικών του αιθερίου ελαίου του θυμαριού

Η μέθοδος της Ανάλυσης Κυρίων Συνιστωσών (ΑΚΣ) (**Σχήμα 40**) εφαρμόστηκε σε τέσσερα συστατικά (καρβακρόλη, βορνεόλη, *p*-κυμένιο και γ -τερπινένιο) του αιθερίου ελαίου του θυμαριού, με σκοπό να διερευνηθεί ποια συστατικά παίζουν κύριο ρόλο και ποιές είναι οι συσχετίσεις ανάμεσα σε αυτά. Επελέγει μία κύρια συνιστώσα, που εξηγεί το 79,86% της συνολικής μεταβλητότητας. Η συνιστώσα αυτή αποτελείται και από τα τέσσερα συστατικά. Τα ανύσματα των μεταβλητών του *p*-κυμένιου και της βορνεόλης, είναι τοποθετημένα το ένα πολύ κοντά στο άλλο, οπότε συμπεραίνουμε ότι αυτές οι μεταβλητές συσχετίζονται θετικά μεταξύ τους, ενώ είναι αρνητικά συσχετισμένες με την καρβακρόλη και το γ -τερπινένιο τα οποία βρίσκονται στην θετική πλευρά του άξονα της κύριας συνιστώσας.

Πίνακας 16 :Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του θυμαριού (*Coridothymus capitatus* L.). Ανάλυση με GC-MS.

Συστατικά	RRF ^a		Χημική Σύσταση (%) ^c			Χημική Σύσταση (%) ^c			Αξιοπιστία ταυτοποίησης ^b
	CP-Sil 8	DB-Wax	Φεβρουάριος	2005		2006			
				Μάιος	Αύγουστος	Φεβρουάριος	Μάιος	Αύγουστος	
τρικυκλένιο	930	nd	tr	tr	tr	tr	tr	tr	a
α-θουγένιο	936	1021	0,1	0,2	0,5	0,1	0,3	0,5	a
α-πινένιο	940	1017	0,6	0,4	0,5	0,6	0,6	0,7	ab
καμφένιο	951	1053	0,6	0,3	0,4	0,7	0,4	0,5	a
β-πινένιο	975	1093	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	ab
β-μυρκένιο	991	1157	0,4	0,6	0,8	0,4	0,7	0,8	ab
α-φελλανδρένιο	1001	1206	tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	a
δ-2-καρένιο	1006	nd	tr	tr	0,1	tr	0,1	0,1	a
α-τερπινένιο	1012	1174	0,2	0,8	1,0	0,4	1,0	1,1	ab
p-κυμένιο	1020	1266	8,1 ^{Aab}	6,0 ^{Ba}	6,7 ^{Cb}	8,0 ^{Dc}	6,3 ^{Ec}	7,6 ^{Fc}	ab

λιμονένιο+1,8 κινεόλη	1023	1197	1,1	0,9	0,8	0,9	0,7	1,1	ab
γ-τερπινένιο	1053	1243	0,8 ^{Aab}	4,2 ^{Ba}	3,4 ^{Cb}	1,6 ^{Dcd}	4,8 ^{Ec}	4,0 ^{Fd}	ab
<i>cis</i> -ένυδρο σαβινένιο	1061	nd	0,1	0,4	0,2	0,1	0,2	0,4	ab
<i>trans</i> -οξείδιο της λιναλοόλης	1067	nd	tr	tr	tr	tr	tr	nd	a
α-τερπινολένιο	1083	1279	tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	a
<i>trans</i> -ένυδρο σαβινένιο	1091	1471	tr	0,1	0,1	0,1	tr	0,1	a
λιναλοόλη	1096	1554	0,8	0,4	0,9	0,8	0,8	0,6	ab
ένυδρο καμφένιο	1139	nd	tr	tr	tr	tr	tr	tr	a
βορνεόλη	1158	1709	3,2 ^{Aab}	2,2 ^{Ba}	1,8 ^{Cb}	3,6 ^{Dcd}	1,6 ^{Ec}	1,8 ^{Fd}	ab
τερπινέν-4-όλη	1171	1605	0,8	0,6	0,8	0,6	0,5	0,7	a
κυμεν-8-όλη	1182	1854	tr	nd	tr	tr	tr	nd	a
α-τερπινεόλη	1185	1704	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	a
<i>cis</i> -διυδροκαρβόνη	1192	nd	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	a

<i>trans</i> -διυδροκαρβόνη	1199	1626	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	a
καρβόνη	1241	nd	tr	tr	0,1	0,1	tr	0,1	a
οξικός εστέρας της βορνεόλης	1283	nd	tr	tr	nd	0,1	tr	nd	a
ισομερές της θυμόλης 1	1288	nd	0,1	tr	0,1	0,1	tr	tr	a
θυμόλη	1293	nd	0,1	0,2	0,5	0,1	0,4	0,1	ab
ισομερές της θυμόλης 2	1296	nd	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	tr	a
καρβακρόλη	1303	2220	73,5 ^{Aa}	75,8 ^{Bb}	74,1 ^{Cc}	73,9 ^{Dd}	75,7 ^{Ee}	73,3 ^{Ff}	ab
οξικός εστέρας της καρβακρόλης + α-κοπαένιο	1372	nd	tr	tr	tr	0,2	tr	tr	a
<i>trans</i> -καρνοφυλλένιο	1414	1594	1,5	2,5	2,5	2,1	2,5	1,8	ab
αρομαδενδρένιο	1434	nd	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	a
α-χουμουλένιο	1449	1668	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	a
allo-αρομαδενδρένιο	1456	nd	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	tr	a

γ-μουουρολένιο	1474	1688	tr	nd	tr	tr	tr	tr	a
βιριντιφλορένιο	1492	nd	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	tr	a
α-μουουρολένιο	1498	nd	tr	nd	tr	tr	nd	tr	a
β-μπισαμπολένιο + γ-καδινένιο	1509	1727	0,3	0,1	0,3	0,2	0,1	0,1	a
<i>trans</i> -καλαμένιο+ δ-καδινένιο	1521	1757	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	a
(-)-σπαθουλενόλη	1571	2130	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	tr	a
Οξείδιο του καρνοφυλλενίου	1576	1984	1,4	0,6	1,1	1,1	0,6	0,7	ab

Μονοτερπένια:

Υδρογονάνθρακες	12,2 ^{Aa}	13,6 ^{Ba}	14,6 ^{Ca}	13,0 ^{Db}	15,2 ^{Bb}	16,9 ^{Cb}
Οξυγονωμένα	5,1 ^{Aab}	3,8 ^{Ba}	4,0 ^{Cb}	5,5 ^{Dcd}	3,3 ^{Ec}	3,8 ^{Fd}

Σεσκιτερπένια:

Υδρογονάνθρακες	2,5 ^{Aab}	3,1 ^{Ba}	3,1 ^{Cb}	3,2 ^{Ac}	3,0 ^{Dd}	2,2 ^{Ccd}
-----------------	--------------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------	--------------------

Οξυγονωμένα	1,5 ^{Aa}	0,8 ^{Bab}	1,1 ^{Cb}	1,2 ^{Dcd}	0,7 ^{Ec}	0,7 ^{Cd}
Φαινόλες	73,9 ^{Aa}	76,1 ^{Bb}	74,8 ^{Cc}	74,2 ^{Dd}	76,2 ^{Ee}	73,4 ^{Ff}
Κετόνες	0,2 ^{Aa}	0,4 ^{Bb}	0,2 ^{Cc}	0,2 ^{Dd}	0,2 ^{Ee}	0,2 ^{Ff}
Εστέρες	tr	tr	nd	0,1	tr	nd
Σύνολο συστατικών	95,5	97,9	97,9	97,4	98,7	97,2
Απόδοση αιθερίου ελαίου^d	1,5±0,2^{Aa}	2,5±0,3^{Ba}	3,5±0,3^{Ca}	1,7±0,3^{Db}	2,6±0,2^{Eb}	3,8±0,4^{Fb}

^a Σχετικοί χρόνοι κατακράτησης ως προς τους υδρογονάνθρακες C₈-C₂₄ σε στήλη DB-WAX και CP-SIL 8.

^b a: φάσμα μάζας σε συμφωνία με φάσματα της βιβλιογραφίας και [Adams, 2001](#) καθώς και με τα φάσματα των βιβλιοθηκών NIST και WILEY. b: ταυτοποίηση με σύγκριση των χρόνων κατακράτησης και δεδομένων φασματοσκοπίας με τα αντίστοιχα πρότυπης ουσίας,

^c Το ποσοστό της χημικής σύστασης υπολογίστηκε στην στήλη CP-Sil 8, κανονική κατανομή περιοχής χρωματογραφήματος (%) tr: <0,1%, nd: not detected

^d v/w % : όγκος (mL) αιθερίου ελαίου σε βάρος ξηρού φυτικού υλικού (σε g). Τα αποτελέσματα είναι ο μέσος όρος τριών επαναλήψεων. Οι τιμές με το ίδιο μικρό γράμμα είναι στατιστικά ($p < 0.05$ and $p < 0.01$) διαφορετικές μεταξύ των μηνών στο ίδιο έτος. Οι τιμές με το ίδιο κεφαλαίο γράμμα είναι στατιστικά ($p < 0.05$ and $p < 0.01$) διαφορετικές μεταξύ των ετών για τον ίδιο μήνα

11.1.4 Χημική σύσταση και εποχική διακύμανση του αιθερίου ελαίου στη Θρούμπη

Η χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του φυτού *Satureja thymbra* L., η εποχική διακύμανση αυτής καθώς και η απόδοση σε αιθέριο έλαιο παρουσιάζονται στον Πίνακα 17.

Οι αποδόσεις που προέκυψαν κυμαίνονται από 1,7-4,8% (ο/ξ.β σε g). Η μικρότερη απόδοση παρατηρείται στην περίοδο πριν την άνθηση (Φεβρουάριος) και η μεγαλύτερη στις περιόδους της πλήρους άνθησης (Μάιος) και της καρποφορίας (Αύγουστος). Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε ότι οι διαφορές στην απόδοση ($p < 0.05$) μεταξύ της πριν την άνθηση περίοδο (Φεβρουάριος) και της περιόδου κατά την άνθηση και την καρποφορία είναι σημαντικές. Αυτή η περιοδικότητα της απόδοσης σε αιθέριο έλαιο χαρακτηρίζει και άλλα φυτά της οικογένειας Labiatae όπως το *Coridothymus capitatus* (όπως είδαμε και προηγούμενα) και τα *Thymus capitatus* και *Thymus herbabarona*, Σαρδηνία (Falchi Delitala et al., 1983), *Thymus capitatus*, *Teucrium polium*, Ελλάδα (Vokou and Margaris, 1986), *Satureja thymbra*, Τουρκία (Müller-Riebau et al., 1997), *Thymus serpylloides*, Ισπανία (Arrebola et al., 1994) κλπ. Επιπλέον οι Vokou et al., (1993) βρήκαν ότι στα χαμηλά υψόμετρα που χαρακτηρίζουν και το Μεσογειακό οικοσύστημα, οι αποδόσεις σε αιθέριο έλαιο των φυτών της οικογένειας Labiatae είναι μεγαλύτερες.

Από την ανάλυση του αιθερίου ελαίου που έγινε με GC-MS και σε δύο στήλες διαφορετικής πολικότητας, ταυτοποιήθηκαν 32 συστατικά τα οποία αποτελούν το 94,8-96,5% του συνόλου του αιθερίου ελαίου που απομονώθηκε. Η κύρια χημική ομάδα είναι οι μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες (47,6-52,7%) με κύριους εκπροσώπους το *p*-κυμένιο (18,4-32,2%) και το γ -τερπινένιο (5,6-19,6%), ακολουθούμενη από τις μονοτερπενικές φαινόλες (31,0-37,3%). Στα δείγματα όλων των περιόδων που εξετάστηκαν η θυμόλη (25,9-30,6%) είναι η κυρίαρχη φαινόλη, ακολουθούμενη από χαμηλές συγκεντρώσεις καρβακρόλης (2,2-6,5%). Οι Kokkini, S., Vokou, D.(1989), που μελέτησαν αρκετά είδη της οικογένειας Labiatae από όλη την Ελλάδα, διαπίστωσαν ότι το είδος *Satureja thymbra* χαρακτηρίζεται από χαμηλές συγκεντρώσεις καρβακρόλης σε σχέση με άλλα είδη όπως τα *O. onites*, *C.capitatus*, *O. vulgare* subsp. *hirtum*, *O. vulgare* subsp. *viridulum*. Στα ίδια συμπεράσματα κατέληξε και πρόσφατη μελέτη του φυτού που συλλέχθηκε από τον Υμηττό την περίοδο του Ιουνίου του 2004 (Michaelakis et al., 2007).

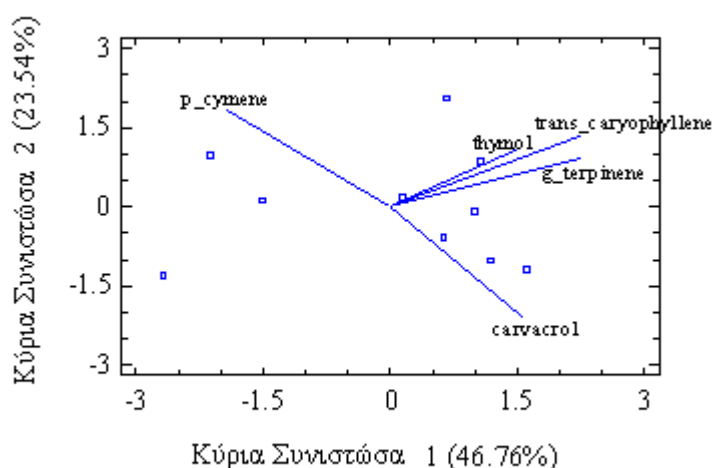
Η συγκέντρωση των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων *p*-κυμένιο και γ -τερπινένιο είναι μεγαλύτερη, σε κάθε περίοδο ανάπτυξης που εξετάστηκε, από αυτή των φαινολικών συστατικών (Kokkini, S., Vokou, D., 1989). Η μεγαλύτερη συγκέντρωση του *p*-κυμένιου (32,2%) παρατηρείται στην πριν την άνθηση περίοδο του 2006 (Φεβρουάριος). Την ίδια περίοδο η συγκέντρωση του γ -τερπινενίου (5,6%) βρέθηκε στη χαμηλότερη τιμή της, γεγονός

που φαίνεται να συνδέεται με την έναρξη του βιοσυνθετικού κύκλου των φαινολών. Αντίθετα την αντίστοιχη περίοδο το 2005 οι δύο μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες βρέθηκαν σχεδόν σε ίσες αναλογίες. Φαίνεται ότι ο χρόνος έναρξης του κύκλου της βιοσύνθεσης των φαινολών δεν είναι σταθερός και πιθανώς να ρυθμίζεται από εξωγενείς παράγοντες. Μάλιστα οι *Vokou et al., (1993)* βρήκαν ότι το υψόμετρο σε συνδυασμό με τη θερμοκρασία παίζει καθοριστικό ρόλο στη συγκέντρωση των τεσσάρων συστατικών (θυμόλη, καρβακρόλη, *p*-κυμένιο και *γ*-τερπινένιο) που συμμετέχουν στο βιοσυνθετικό μονοπάτι των φαινολών. Και μάλιστα όσο θερμότερο είναι το κλίμα, τόσο αυξάνει η συγκέντρωσή τους.

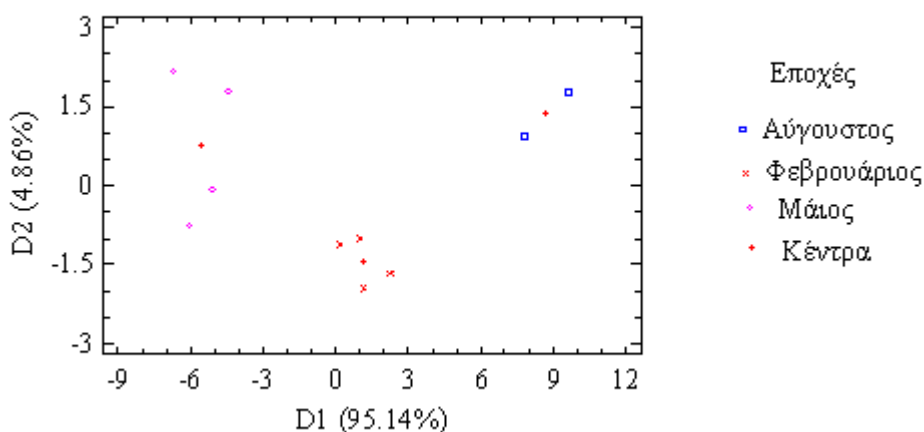
Σε μικρότερες συγκεντρώσεις στο αιθέριο έλαιο που αναλύθηκε βρέθηκαν τα μονοτερπένια: *α*-πινένιο (1,6-3,9%), *β*-μυρκένιο (1,0-1,3%) και *α*-τερπινένιο (0,9-2,3%). Ο κύριος εκπρόσωπος των σεσκιτερπενικών υδρογονανθράκων είναι το *trans*-καρνοφυλλένιο (3,1-5,3%) του οποίου η συγκέντρωση δεν διαφέρει σημαντικά μεταξύ των περιόδων που εξετάστηκαν. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται υψηλές συγκεντρώσεις *trans*-καρνοφυλλενίου ιδιαίτερα την περίοδο της πλήρους άνθησης (Ιούνιος) (*Capone et al., 1988; Michaelakis et al., 2007*).

Το υπό εξέταση φυτό *Satureja thymbra* χαρακτηρίζεται από σχετικά υψηλό ποσοστό θυμόλης 25,9-30,6%, γεγονός που θα το κατέτασσε στα φυτά χημειότυπου θυμόλης. Παρόλα αυτά οι *Vokou et al., (1993)*, σημειώνουν ότι για τα φυτά της Οικογένειας Labiatae η κατάταξη σε χημειότυπους βάσει της περιεκτικότητας σε καρβακρόλη ή/και θυμόλη πιθανά να μην είναι τόσο αντικειμενική όσο η κατάταξη των φυτών του είδους αυτού με βάση την ύπαρξη ή όχι του βιοσυνθετικού κύκλου που οδηγεί στη βιοσύνθεση των φαινολικών συστατικών.

Η μέθοδος της Ανάλυσης Κυρίων Συνιστωσών (ΑΚΣ) (**Σχήμα 42**) εφαρμόστηκε σε πέντε συστατικά του αιθερίου ελαίου της θρούμπης (καρβακρόλη, θυμόλη, *p*-κυμένιο, *γ*-τερπινένιο, και *trans*-καρνοφυλλένιο) με σκοπό να διερευνηθεί ποια συστατικά παίζουν κύριο ρόλο και ποιές είναι οι συσχετίσεις ανάμεσα σε αυτά. Επελέγησαν δύο κύριες συνιστώσες, που εξηγούν το 70,3% της συνολικής μεταβλητότητας. Η πρώτη κύρια συνιστώσα αποτελείται από το *γ*-τερπινένιο, τη θυμόλη και το *trans*-καρνοφυλλένιο εξηγώντας το 46,76% της συνολικής μεταβλητότητας. Τα ανύσματα των τριών αυτών μεταβλητών, είναι τοποθετημένα το ένα πολύ κοντά στο άλλο, οπότε συμπεραίνουμε ότι αυτές οι μεταβλητές συσχετίζονται θετικά μεταξύ τους. Στο σχηματισμό της δεύτερης κύριας συνιστώσας συνεισφέρουν η καρβακρόλη και το *p*-κυμένιο που εξηγούν το 23,54% της συνολικής μεταβλητότητας. Το *p*-κυμένιο είναι τοποθετημένο στη θετική πλευρά του άξονα της δεύτερης κύριας συνιστώσας, ενώ η καρβακρόλη στην αρνητική πλευρά, δείχνοντας την μεταξύ τους αρνητική συσχέτιση.



Σχήμα 42: Διάγραμμα (biplot) των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών των συστατικών του αιθερίου της θρούμπης



Σχήμα 43: Διακριτικές συναρτήσεις (D1 και D2) των πέντε συστατικών του αιθερίου ελαίου της θρούμπης, που διακρίνουν τις εποχές συλλογής του φυτού. D1:θυμόλη, *p*-κυμένιο, γ -τερπινένιο, *trans*-καρυοφυλλένιο. D2: καρβακρόλη. Μόνο η συνάρτηση D1 είναι στατιστικά σημαντική ($p < 0,05$).

Η μέθοδος της διακριτικής ανάλυσης (**Σχήμα 43**) εφαρμόστηκε σε πέντε συστατικά του αιθερίου ελαίου της θρούμπης, με σκοπό να διερευνηθεί ποια συστατικά διαφοροποιούνται από εποχή σε εποχή και αν τα ποσοστά των συστατικών αυτών

διαφοροποιούν τους μήνες συλλογής μεταξύ τους. Μια διακριτική συνάρτηση ήταν στατιστικά σημαντική ($p < 0,05$). Η θυμόλη, το p -κυμένιο, το γ -τερπινένιο και το *trans*-καρνοφυλλένιο, συμμετέχουν κυρίως στη διακριτική συνάρτηση D1 (95,14%) και διαφοροποιούν τη χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του φυτού της θρούμπης μεταξύ των εποχών που εξετάστηκαν (Φεβρουάριος, Μάιος ή Αύγουστος). Η διάκριση των εποχών είναι καταφανής στο διάγραμμα.

Πίνακας 17: Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του φυτού θρούμπι (*Satureja thymbra* L.). Ανάλυση με GC-MS.

Συστατικά	RRI ^a		Χημική Σύσταση (%) ^c			Χημική Σύσταση (%) ^c			Αξιοπιστία ταυτοποίησης ^b
	CP-Sil 8	DB-Wax	2005			2006			
			Φεβρουάριος	Μάιος	Αύγουστος	Φεβρουάριος	Μάιος	Αύγουστος	
τρικυκλένιο	930	nd	tr	tr		tr	tr	tr	a
α-θουγένιο	936	1021	0,8	1,2		1,0	1,1	1,0	a
α-πινένιο	940	1017	1,6	2,5		2,9	2,0	3,9	ab
καμφένιο	951	1053	1,1	1,4		1,5	0,9	2,1	a
β-πινένιο	975	1093	1,3	1,5		1,5	0,9	2,2	ab
7-οκτεν-4-όλη	983	1458	0,1	tr		0,1	tr	nd	a
β-μυρκένιο	991	1157	1,2	1,1		1,0	1,1	1,3	ab
3-οκτανόλη	993	---	0,1	tr		tr	nd	tr	a
α-φελλανδρένιο	1001	1206	0,1	0,4		0,1	0,1	0,2	a
δ-2-καρένιο	1006	nd	0,1	0,1		0,1	0,1	0,1	a

<i>α</i> -τερπινένιο	1012	1174	1,9	2,3	0,9	2,2	2,2	ab
<i>p</i> -κυμένιο	1020	1266	20,0 ^{aA}	20,5 ^{bB}	32,2 ^{cC}	25,3 ^{dD}	18,4 ^c	ab
λιμονένιο	1023	1197	1,4	1,9	1,9	1,3	2,3	ab
(<i>Z</i>)-b-οκιμένιο	1035	nd	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	a
(<i>E</i>)-b-οκιμένιο	1046	nd	0,4	0,1	0,1	0,1	tr	a
<i>γ</i> -τερπινένιο	1053	1243	19,6 ^{Aa}	19,4 ^{Bb}	5,6 ^{AcD}	17,0 ^{cC}	13,6 ^d	ab
<i>α</i> -τερπινολένιο	1083	1279	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	a
<i>trans</i> -ένυδρο σαβινένιο	1091	1471	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	a
λιναλοόλη	1096	1554	0,8	0,4	0,5	0,7	0,6	ab
βορνεόλη	1158	1709	2,8	1,9	2,0	1,4	3,1	ab
τερπινέν-4-όλη	1171	1605	0,6	0,4	0,4	0,3	0,6	a
<i>α</i> -τερπινεόλη	1185	1704	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	a
άγνωστο 1	1240	nd	1,2	1,4	1,4	1,4	1,3	a

ισομερές της θυμόλης	1288	nd	0,5	0,3	0,7	0,5	0,3	a
θυμόλη	1293	nd	30,6 ^{aA}	25,9 ^{bB}	30,3 ^{cC}	29,8 ^{dD}	30,5 ^e	ab
καρβακρόλη	1303	2220	2,9 ^{aA}	4,8 ^{aB}	3,5 ^{cC}	2,2 ^{bB}	6,5 ^{cb}	ab
<i>trans</i> -καρυοφυλλένιο	1414	1594	4,2 ^{aA}	4,5 ^{bB}	3,1 ^{cC}	5,3 ^{dD}	3,9 ^e	ab
αρομαδενδρένιο	1434	nd	0,1	0,1	0,1	0,1	tr	a

α-χουμουλένιο	1449	1668	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	a
βιριντιφλορένιο	1492	nd	0,3	0,1	0,1	0,1	tr	a
(-)-σπαθουλενόλη	1571	2130	0,4	0,2	0,2	0,1	tr	a
οξειδίο του καρνοφυλλενίου	1576	1984	1,8	1,7	2,9	1,7	1,1	ab

Μονοτερπένια:

Υδρογονάνθρακες	50,0 ^{aA}	52,7 ^{bB}	49,1 ^{cC}	52,4 ^{dD}	47,6 ^d
Οξυγονωμένα	4,6 ^{aA}	3,1 ^{aB}	3,1 ^{cC}	2,5 ^{dD}	4,6 ^d

Σεσκιτερπένια:

Υδρογονάνθρακες	4,8 ^{aA}	4,9 ^{aB}	3,4 ^{cC}	5,7 ^{dD}	4,1 ^d
Οξυγονωμένα	2,2 ^{aA}	1,9 ^{bB}	3,1 ^{cC}	1,8 ^{dD}	1,1 ^e

Φαινόλες

	33,9 ^{aA}	31,0 ^{bB}	34,5 ^{cC}	32,5 ^{dD}	37,3 ^e
--	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	-------------------

Αλκοόλες

	0,2	tr	0,1	tr	tr
--	-----	----	-----	----	----

Άγνωστα	1,2 ^{aA}	1,4 ^{bB}	1,4 ^{cC}	1,4 ^{dD}	1,3 ^e
Σύνολο συστατικών	96,5	95,0	94,8	96,4	95,9
Απόδοση αιθερίου ελαίου ^d	1,7±0,2 ^{Aa}	4,7±0,4 ^{Ba}	1,8±0,2 ^{Cbc}	4,8±0,4 ^{Db}	4,5±0,5 ^c

^a Σχετικοί χρόνοι κατακράτησης ως προς τους υδρογονάνθρακες C₈-C₂₄ σε στήλη DB-WAX και CP-SIL 8.

^b A: ταυτοποίηση με σύγκριση των χρόνων κατακράτησης και δεδομένων φασματοσκοπίας με τα αντίστοιχα πρότυπης ουσίας, B: φάσμα μάζας σε συμφωνία με φάσματα της βιβλιογραφίας και Adams, 2001, C: φάσμα μάζας σε συμφωνία με φάσματα των βιβλιοθηκών NIST και WILEY.

^c Το ποσοστό της χημικής σύστασης υπολογίστηκε στην στήλη CP-Sil 8, κανονική κατανομή περιοχής χρωματογραφήματος (%) tr: <0,1%, nd: not detected

^d v/w % : όγκος (mL) αιθερίου ελαίου σε βάρος ξηρού φυτικού υλικού (σε g). Τα αποτελέσματα είναι ο μέσος όρος τριών επαναλήψεων. Οι τιμές με το ίδιο μικρό γράμμα είναι στατιστικά ($p<0.05$ and $p<0.01$) διαφορετικές μεταξύ των μηνών στο ίδιο έτος. Οι τιμές με το ίδιο κεφαλαίο γράμμα είναι στατιστικά ($p<0.05$ and $p<0.01$) διαφορετικές μεταξύ των ετών για τον ίδιο μήνα.

11.1.5 Χημική σύσταση και εποχική διακύμανση του αιθερίου ελαίου του Φασκόμηλου

Η χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου, η εποχική διακύμανση αυτής καθώς και η απόδοση σε αιθέριο έλαιο παρουσιάζονται στον **Πίνακα 18**.

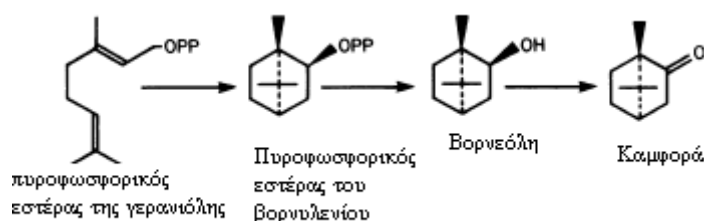
Η απόδοση σε αιθέριο έλαιο του φυτού κυμαίνεται από 1,6-3,2% (ο/ξ.β σε γρ.). Η μεγαλύτερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο και στα δύο υπό μελέτη έτη παρατηρείται στην μετά την καρποφορία περίοδο (Αύγουστος) και κυμαίνεται από 2,9% έως 3,2%. Μικρότερες αποδόσεις (1,8%) σημειώνονται στην πριν την άνθηση περίοδο (Φεβρουάριος). Την περίοδο της πλήρους άνθησης (Μάιος) το 2006 η απόδοση δεν διαφέρει σημαντικά ($p>0.05$) με αυτήν του Αυγούστου, γεγονός που αναμενόταν αφού κατά την ανθοφορία παρατηρείται αυξημένη παραγωγή αιθερίου ελαίου. Την αντίστοιχη περίοδο το 2005 η απόδοση που μετρήθηκε είναι η μικρότερη για το έτος. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί μόνο στην επίδραση εξωγενών παραγόντων (περιβάλλον, χημικές ή μηχανικές βλάβες) (*Skoula et al. 2000; Circella et al., 1995*).

Από την ανάλυση του αιθερίου ελαίου που έγινε με GC-MS και σε δύο στήλες διαφορετικής πολικότητας, ταυτοποιήθηκαν 74 συστατικά τα οποία αποτελούν το 89,3-97,2% του αιθερίου ελαίου που απομονώθηκε. Τα μισά από αυτά τα συστατικά βρέθηκαν σε συγκέντρωση μικρότερη του 0,1% και γι' αυτό ομαδοποιήθηκαν και αναφέρονται ως «άλλα» στον **Πίνακα 18**. Το αιθέριο έλαιο του φασκόμηλου χαρακτηρίζεται από την παρουσία των οξυγονωμένων μονοτερπενίων (60,2-75,5%), ακολουθούμενα από τους μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες (11,7-13,5%) και τα οξυγονωμένα σεσκιτερπένια (2,4-8,8%). Η συγκέντρωση της κύριας ομάδας δεν διαφέρει σημαντικά ($p>0.05$) μεταξύ των περιόδων που εξετάστηκαν και για τα δύο έτη, η δε μέση συγκέντρωσή τους κυμαίνεται στο 68%. Το ίδιο συμβαίνει και με την ομάδα των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων των οποίων η μέση συγκέντρωση κυμαίνεται στο 12,4% και για τα δύο έτη που εξετάστηκαν. Οι ομάδες των σεσκιτερπενίων και διτερπενίων που ταυτοποιήθηκαν στο αιθέριο έλαιο του φασκόμηλου δεν εμφανίζουν σταθερή συγκέντρωση στις υπό εξέταση περιόδους. Σημαντικές διαφορές παρατηρούνται στη συγκέντρωση των σεσκιτερπενικών υδρογονανθράκων στην πριν την άνθηση περίοδο των δύο ετών καθώς και στη συγκέντρωση των οξυγονωμένων σεσκιτερπενίων και διτερπενίων στην περίοδο της πλήρους άνθησης.

Το κύριο συστατικό του αιθερίου ελαίου είναι η 1,8 κινεόλη (46-58,9%), ακολουθούμενη από τη βιριντιφλορόλη (2,1-7%), την καμφορά (0,7-5,8%), το *trans*-καρνοφυλλένιο (1-5,1%), την α -τερπινεόλη (2,8-4,3%), το β -πινένιο (2-5%), το β -μυρκένιο (3,2-4,6%) και το α -πινένιο (3,2-4,0%). Η συγκέντρωση της 1,8 κινεόλης δεν διαφέρει

σημαντικά ($p>0,05$) στις περιόδους που εξετάστηκαν και φαίνεται να είναι περισσότερο ένα γενετικά καθορισμένο χαρακτηριστικό που δεν επηρεάζεται από το στάδιο ανάπτυξης του φυτού, την εποχή και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Σε αρκετές εργασίες (*Pitarokili et al., 2003; Perry et al., 1996*) η 1,8 κινεόλη αναφέρεται ως το κύριο συστατικό του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου ακολουθούμενη από την καμφορά, την α - και β -θουγιόνη και το *trans*-καρνοφυλλένιο. Εκτός από το υψηλό περιεχόμενο σε οξυγονωμένα μονοτερπένια το φασκόμηλο είναι γνωστό ότι περιέχει βιολογικά δραστικές ομάδες (biologically active) σεσκιτερπενίων και διτερπενίων (*Perry, N. B., 1996; Pitarokili, D., 2003*).

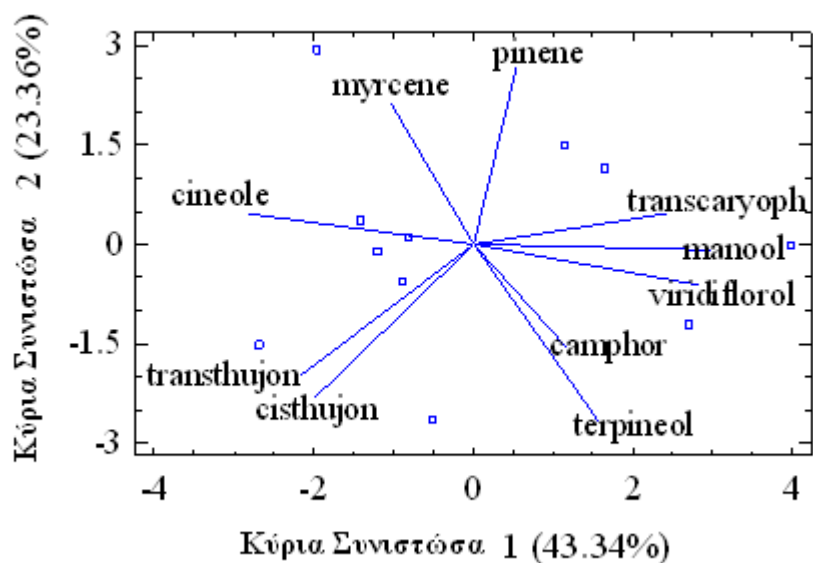
Σημαντικές διαφορές στην συγκέντρωση μεταξύ των εποχών συλλογής παρατηρήθηκαν στην καμφορά, στη βιριντιφλορόλη και στη μανουλοόλη. Η συγκέντρωση της καμφοράς εμφανίζεται αυξημένη στην πριν την άνθηση περίοδο (Φεβρουάριος). Οι *Croteau et al. (1981)* βρήκαν ότι η συγκέντρωση των ενζύμων, των υπεύθυνων για τη βιοσύνθεση της καμφοράς (**Σχήμα 44**) είναι μεγαλύτερη στα νεαρά φύλλα παρά στα ώριμα, γεγονός που δικαιολογεί την υψηλή συγκέντρωση της ουσίας στα νεαρά φύλλα του φυτού στα πρώτα στάδια του βιολογικού κύκλου.



Σχήμα 44 : Βιοσύνθεση καμφοράς

Η συγκέντρωση της βιριντιφλορόλης που είναι ο κύριος εκπρόσωπος της ομάδας των οξυγονωμένων σεσκιτερπενίων και της μανουλοόλης του κυρίου εκπροσώπου της ομάδας των οξυγονωμένων διτερπενίων διαφέρει στις περιόδους της πλήρους άνθησης που εξετάστηκαν (Μάιος 2005 και 2006), ενώ δεν διαφέρει σημαντικά στις υπόλοιπες περιόδους. Πιο συγκεκριμένα οι συγκεντρώσεις και των δύο αυτών ουσιών ενώ εμφανίζονται αυξημένες στην περίοδο της πλήρους άνθησης για το 2005 μειώνονται σημαντικά την αντίστοιχη περίοδο του επόμενου έτους. Οι *Perry et al. (1996)* σύγκριναν τη σύσταση του αιθερίου ελαίου του φυτού Dalmatian Sage την περίοδο της ανθοφορίας και μετά από αυτήν και διαπίστωσαν επίσης την υψηλή περιεκτικότητα σε βιριντιφλορόλη και μανουλοόλη στο πρώτο στάδιο. Φαίνεται ότι πιθανά εξωγενείς παράγοντες επιδρούν στη συγκέντρωση των ουσιών αυτών. Τέλος οι συγκεντρώσεις της *cis* – και *trans*- θουγιόνης, οι οποίες σε φυτά

φασκόμηλου άλλης γεωγραφικής προέλευσης (Piccaglia *et al.*, 1993; Delamare *et al.*, 2007), αποτελούν τα κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου τους, ταυτοποιήθηκαν σε συγκεντρώσεις χαμηλές 1,2-3,2% και 1,1-3,1%, αντίστοιχα. Μικρές συγκεντρώσεις *cis* – και *trans*-θουγιόνης βρήκαν και οι Skoula *et al.* (2000) σε δείγματα φασκόμηλου από τρεις διαφορετικές περιοχές της Κρήτης.



Σχήμα 45: Διάγραμμα (biplot) των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών των συστατικών του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου.

Η μέθοδος της Ανάλυσης Κυρίων Συνιστωσών (ΑΚΣ) (**Σχήμα 45**) εφαρμόστηκε σε δέκα συστατικά του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου, με σκοπό να διερευνηθεί ποια από αυτά παίζουν κύριο ρόλο και ποιές είναι οι συσχετίσεις ανάμεσά τους. Από τα δέκα συστατικά που δόθηκαν, επελέγησαν με την ΑΚΣ τρεις κύριες συνιστώσες, ασυσχέτιστες μεταξύ τους, που εξηγούν το 84,671% της συνολικής μεταβλητότητας. Στο διάγραμμα τα συστατικά παρουσιάζονται σε σχέση με τους πρώτες δύο κύριες συνιστώσες. Η πρώτη κύρια συνιστώσα αποτελείται από τα: 1,8 κινεόλη, μανουλοόλη και βιριντιφλορόλη και εξηγεί το 43,34% της συνολικής μεταβλητότητας. Στο διάγραμμα, τα συστατικά μανουλοόλη και βιριντιφλορόλη βρίσκονται πολύ κοντά το ένα στο άλλο, οπότε συμπεραίνουμε ότι συσχετίζονται θετικά μεταξύ τους, ενώ η 1,8 κινεόλη, που είναι τοποθετημένη αντιδιαμετρικά με τα προηγούμενα, συσχετίζεται αρνητικά με τις ουσίες αυτές. Στο σχηματισμό της δεύτερης κύριας συνιστώσας συνεισφέρουν τα: *cis*- και *trans*-θουγιόνη, καμφορά, α-

στη διακριτική συνάρτηση D1 (76,84%) και διαφοροποιούν τη χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του φυτού του φασκόμηλου μεταξύ των εποχών που εξετάστηκαν (Φεβρουάριος, Μάιος ή Αύγουστος). Η διάκριση των εποχών είναι καταφανής στο διάγραμμα.

Πίνακας 18: Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου (*Salvia fruticosa* L). Ανάλυση με GC-MS.

Συστατικά	% Composition ^b									Αξιοπιστία ταυτοποίησης ^b
	RRR ^a		Χημική Σύσταση (%) ^c 2005			Χημική Σύσταση (%) ^c 2006				
	CP-Sil 8	DB-Wax	Φεβρουάριος	Μάιος	Αύγουστος	Φεβρουάριος	Μάιος	Αύγουστος		
<i>α</i> -πινένιο	940	1017	3,3	4,0	3,2	3,2	3,8	3,4	a,b	
καμφένιο	951	1053	1,6	0,8	0,3	1,1	0,8	0,7	a	
<i>β</i> -πινένιο	975	1093	2,7	2,0	5,0	3,5	2,5	3,2	a,b	
<i>β</i> -μυρκένιο	991	1157	3,2	3,5	3,7	3,5	4,6	3,4	a,b	
<i>α</i> -φελλανδρένιο	1001	1206	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	a	
<i>α</i> -τερπινένιο	1012	1174	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	a,b	
<i>p</i> -κυμένιο	1020	1266	0,6	1,0	0,4	0,8	0,4	0,4	a,b	
1,8-κινεόλη	1026	1210	46,0	47,9	52,9	52,5	58,9	56,9	a,b	
<i>γ</i> -τερπινένιο	1053	1243	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	a,b	

<i>cis</i> -ένυδρο σαβινένιο	1061	nd	tr	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	a
α -τερπινολένιο	1083	1279	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	a
<i>trans</i> ένυδρο σαβινένιο	1091	1473	tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	a
λιναλοόλη	1096	1554	0,2	0,3	1,5	tr	tr	1,4	a,b
<i>cis</i> -θουγιόνη	1098	1421	1,3	1,2	2,2	3,2	1,4	3,0	a,b
<i>trans</i> -θουγιόνη	1109	1440	1,7	1,1	3,0	3,1	1,8	2,6	a,b
καμφορά	1135	1514	5,8 ^{abA}	2,0 ^{acC}	0,7b ^{eb}	3,0 ^{da}	1,8 ^{ed}	2,6 ^{fb}	a,b
<i>trans</i> -πινοκαμόνη	1152	nd	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2	a
βορνεόλη	1158	1708	0,8	0,3	0,1	0,9	0,1	0,9	a,b
δ -τερπινεόλη	1161	nd	1,5	1,3	1,3	0,5	0,7	0,4	a
<i>cis</i> -πινοκαμόνη	1166	nd	0,1	0,1	0,2	0,4	0,1	0,4	a
τερπιν-4-όλη	1171	1605	0,5	0,5	0,5	0,3	0,3	0,2	a

α-τερπινεόλη	1185	1704	4,3	4,0	3,4	3,9	2,8	3,9	a
οξικός εστέρας της λιναλοόλης	1258	1559	0,1	0,2	2,3	0,2	0,1	2,7	a,b
οξικός εστέρας της α-τερπινεόλης	1346	nd	0,4	0,6	2,6	0,8	0,1	1,5	a
<i>trans</i> - καρνοφυλλένιο	1414	1594	5,1	3,4	2,0	2,4	3,3	1,0	a,b
αρομαδενδρένιο	1434	nd	0,5	0,6	0,4	0,1	0,1	0,1	a
α-χουμουλένιο	1449	1668	2,0	1,3	1,2	0,8	1,1	0,7	a
γ-μουουρολένιο	1474	1688	0,1	0,2	0,1	0,1	tr	0,1	a
βιριντιφλορένιο	1492	nd	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	a
<i>trans</i> -καλαμένιο	1520	nd	0,2	0,2	tr	tr	tr	0,1	a
δ-καδινένιο	1521	1757	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	a
οξειδίο του	1576	1984	0,9	0,6	0,7	0,9	0,1	0,6	a,b

καρνοφυλλενίου

βιριντιφλορόλη	1586	2091	6,3 ^{aB}	7,0 ^{bA}	4,0 ^{cC}	5,0 ^{dD}	2,1 ^{eA}	3,1 ^{fF}	a
<i>cis</i> - alcohol Artenuic	1590	nd	0,4	0,2	0,2	nd	nd	nd	a
εποξειδίο του χουμουλενίου	1602	nd	0,7	0,5	0,5	0,5	0,1	0,6	a
καρνοφυλ- 4(14),8(15)-διεν-5- όλη	1631	nd	0,4	0,3	0,1	0,3	0,1	0,2	a
μανουλοόλη	2050	nd	2,5 ^{bB}	3,6 ^{aA}	1,2 ^{aC}	1,5 ^{cD}	0,5 ^{eA}	1,1 ^{fE}	a
άλλα			2,6	3,0	1,4	2,4	0,4	tr	a

Μονοτερπένια:

Υδρογονάνθρακες			12,1 ^{aA}	11,8 ^{bB}	13,5 ^{cC}	12,7 ^{dD}	12,8 ^{eE}	11,7 ^{fF}	
Οξυγονωμένα			63,1 ^{aA}	60,2 ^{bB}	71,5 ^{cC}	70,3 ^{dD}	68,5 ^{eE}	75,5 ^{fF}	

Σεσκιτερπένια:

Υδρογονάνθρακες	8,9 ^{aA}	6,8 ^{bB}	4,3 ^{cC}	3,7 ^{dD}	4,9 ^{eE}	2,4 ^{fF}
Οξυγονωμένα	8,8 ^{aA}	8,7 ^{bB}	5,6 ^{cC}	6,7 ^{dD}	2,4 ^{eB}	4,5 ^{fE}

Διτερπένια :

Οξυγονωμένα	2,5 ^{aA}	3,6 ^{bB}	1,2 ^{bC}	1,5 ^{cD}	0,5 ^{dB}	1,1 ^{eE}
Αλκοόλες-εστέρες	0,1	0,1	0,1	0,1	tr	0,2
Άγνωστα	1,7	1,9	0,6	1,3	0,2	0,9

	97,2	93,1	96,8	96,3	89,3	96,3
--	------	------	------	------	------	------

Σύνολο συστατικών

	1,8±0,1^{aA}	1,6±0,1^{bB}	3,2±0,3^{abC}	1,8±0,1^{cdD}	2,7±0,2^{cbB}	2,9±0,2^{dE}
--	-----------------------------	-----------------------------	------------------------------	------------------------------	------------------------------	-----------------------------

Απόδοση αιθερίου
ελαίου^d

Σχετικοί χρόνοι κατακράτησης ως προς τους υδρογονάνθρακες C₈-C₂₄ σε στήλη DB-WAX και CP-SIL 8.

^b a: φάσμα μάζας σε συμφωνία με φάσματα της βιβλιογραφίας και [Adams, 2001](#) καθώς και με τα φάσματα των βιβλιοθηκών NIST και WILEY. b: ταυτοποίηση με σύγκριση των χρόνων κατακράτησης και δεδομένων φασματοσκοπίας με τα αντίστοιχα πρότυπης ουσίας,

^c Το ποσοστό της χημικής σύστασης υπολογίστηκε στην στήλη CP-Sil 8, κανονική κατανομή περιοχής χρωματογραφήματος (%) tr: <0,1%, nd: not detected

^d v/w % : όγκος (mL) αιθερίου ελαίου σε βάρος ξηρού φυτικού υλικού (σε g). Τα αποτελέσματα είναι ο μέσος όρος τριών επαναλήψεων. Οι τιμές με το ίδιο μικρό γράμμα είναι στατιστικά ($p<0.05$ and $p<0.01$) διαφορετικές μεταξύ των μηνών στο ίδιο έτος. Οι τιμές με το ίδιο κεφαλαίο γράμμα είναι στατιστικά ($p<0.05$ and $p<0.01$) διαφορετικές μεταξύ των ετών για τον ίδιο μήνα.

Π.1.6 Χημική σύσταση και εποχική διακύμανση του αιθερίου ελαίου του Δενδρολίβανου

Η χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου, η εποχική διακύμανση αυτής καθώς και η απόδοση σε αιθέριο έλαιο παρουσιάζονται στον **Πίνακα 19**.

Η απόδοση σε αιθέριο έλαιο του φυτού κυμαίνεται από 1,8 έως 3,3% (ο/ξ.β σε γρ.). Η μεγαλύτερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο και για τα δύο υπό μελέτη έτη παρατηρείται την περίοδο της πλήρους άνθησης (Μάιος) και η μικρότερη στην πριν την άνθηση περίοδο (Φεβρουάριος). Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η απόδοση σε αιθέριο έλαιο του δενδρολίβανου είναι σταθερή στη διάρκεια του χρόνου με μικρές αυξομειώσεις που δεν ξεπερνούν την μονάδα, γύρω από ένα μέσο όρο (*Vokou, D.; Margaris, N. S.1986*).

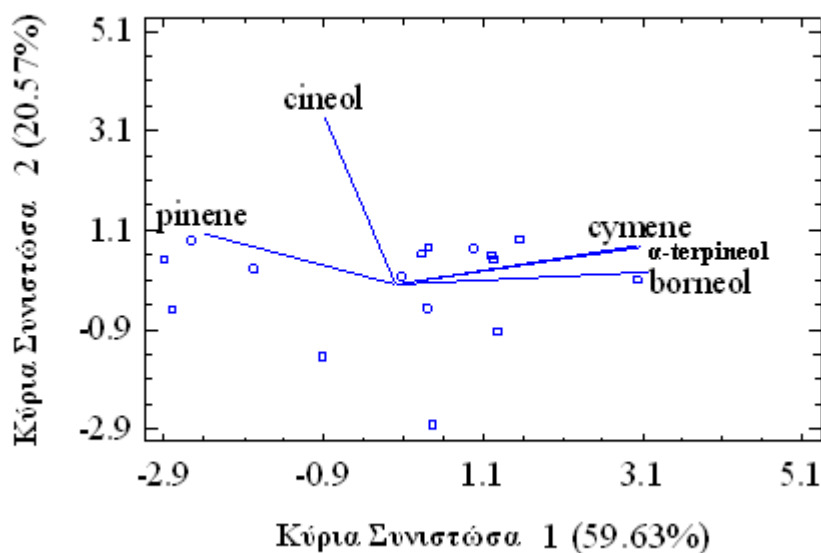
Από την ανάλυση του αιθερίου ελαίου που έγινε με GC-MS και σε δύο στήλες διαφορετικής πολικότητας, ταυτοποιήθηκαν 35 συστατικά τα οποία αποτελούν το 91,7-98,5% του αιθερίου ελαίου που απομονώθηκε (**Πίνακας 19**). Τα οξυγονωμένα μονοτερπένια αποτελούν την κύρια χημική ομάδα (68,9-78,6%) με βασικούς εκπροσώπους την 1,8 κινεόλη (48,3-58,7%), την βορνεόλη (8,8-10,4%) και την α -τερπινεόλη (4,3-5,9%). Οι μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες κυμαίνονται από 16,8% έως 22,7%. Κύρια συστατικά αυτής της ομάδας είναι το α -πινένιο (8,4-9,9%), το p -κυμένιο (1,7-3,1%) και το καμφένιο (2,2-3,5%). Η στατιστική ανάλυση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου έδειξε ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις των κύριων ομάδων του στα έτη που εξετάστηκαν εκτός από το ποσοστό των σεσκιτερπενικών υδρογονανθράκων το οποίο προσδιορίστηκε σε ποσοστό 4,6% για το Μάιο του 2005 και μόλις 1,8% για την αντίστοιχη περίοδο το 2006. Η διαφορά αυτή προέρχεται από τη διαφορά στη συγκέντρωση του *trans*-καρνοφυλλενίου που αποτελεί σχεδόν αποκλειστικά την ομάδα των σεσκιτερπενικών υδρογονανθράκων. Η συγκέντρωση των οξυγονωμένων μονοτερπενίων τις περιόδους συλλογής που εξετάστηκαν δεν διαφέρει σημαντικά. Ο μέσος όρος της συγκέντρωσης της ομάδας για το 2005 ήταν 72,7% και για το 2006 74,6%.

Η στατιστική ανάλυση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου έδειξε ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις των κύριων συστατικών του στα έτη που εξετάστηκαν. Εξαιρέση αποτελεί η α -τερπινεόλη το ποσοστό της οποίας διαφέρει σημαντικά στη πριν την άνθηση περίοδο (Φεβρουάριος) και του *trans*-καρνοφυλλενίου του οποίου το ποσοστό διαφέρει σημαντικά στη περίοδο της άνθησης και για τα δύο έτη.

Οι διαφορές στη χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου που καταγράφηκαν κατά τη διάρκεια των δύο ετών συλλογής και ανάλυσης δεν είναι σημαντικές

και μάλλον κάποιες μικρές διαφοροποιήσεις σχετίζονται με την επίδραση εξωγενών παραγόντων στα διάφορα στάδια του βιολογικού κύκλου του φυτού.

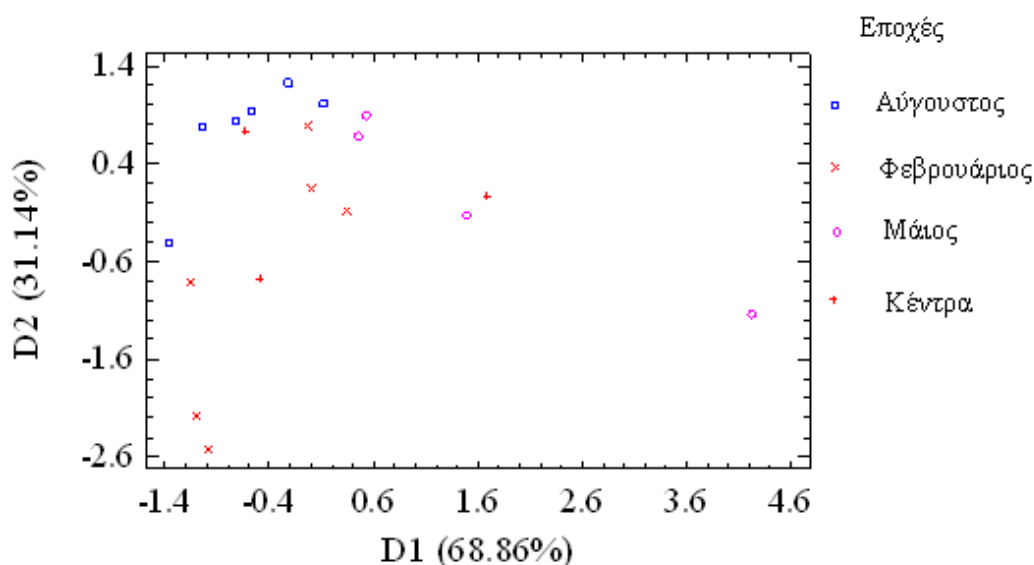
Στη βιβλιογραφία (*Pintore et al., 2002; Sacchetti et al., 2005; Celiktas et al. 2007; Gachkar et al., 2007*) αναφέρονται δύο κυρίως τύποι αιθερίου ελαίου δενδρολίβανου. Αυτός που περιέχει περισσότερο από 40% της 1,8 κινεόλης (προέλευση Μαρόκκο, Τυνησία, Τουρκία, Ελλάδα, Γιουγκοσλαβία, Ιταλία και Γαλλία) και αυτός που περιέχει ίσες αναλογίες 1,8 κινεόλης, α -πινενίου και καμφοράς (προέλευση Γαλλία, Ισπανία, Ιταλία, Ελλάδα, Βουλγαρία). Επίσης στη Σαρδηνία έχει βρεθεί ένας οικότυπος πλούσιος σε βερμπενόνη και βορνεόλη, ενώ στη Ισπανία, Πορτογαλία και Αργεντινή συναντώνται ποικιλίες πλούσιες σε μυρκένιο (*Dellacassa et al., 1999*).



Σχήμα 47: Διάγραμμα (biplot) των δύο πρώτων κύριων συνιστωσών των συστατικών του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου.

Η μέθοδος της Ανάλυσης Κυρίων Συνιστωσών (ΑΚΣ) (**Σχήμα 47**) εφαρμόστηκε σε πέντε συστατικά του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου (α -πινένιο, 1,8 κινεόλη, p -κυμένιο, α -τερπινεόλη και βορνεόλη), με σκοπό να διερευνηθεί ποια συστατικά παίζουν κύριο ρόλο και ποιές είναι οι συσχετίσεις ανάμεσα σε αυτά. Από τα πέντε συστατικά που δόθηκαν, επελέγησαν με την ΑΚΣ δύο κύριες συνιστώσες, ασυσχέτιστες μεταξύ τους, που εξηγούν το 80,2% της συνολικής μεταβλητότητας. Η πρώτη κύρια συνιστώσα αποτελείται από τα: α -

πινένιο, *p*-κυμένιο, *α*-τερπινεόλη και βορνεόλη και εξηγεί το 59,63% της συνολικής μεταβλητότητας. Στο διάγραμμα, τα συστατικά *p*-κυμένιο, *α*-τερπινεόλη και βορνεόλη βρίσκονται πολύ κοντά το ένα στο άλλο, οπότε συμπεραίνουμε ότι συσχετίζονται θετικά μεταξύ τους, ενώ το *α*-πινένιο, που είναι τοποθετημένο αντιδιαμετρικά με τα προηγούμενα, συσχετίζεται αρνητικά με αυτά. Στο σχηματισμό της δεύτερης κύριας συνιστώσας συνεισφέρει αποκλειστικά 1,8 κινεόλη εξηγώντας το 20,57% της συνολικής μεταβλητότητας.



σημειωθεί ότι δεν ήταν δυνατή η διάκριση των εποχών βάσει των κύριων συστατικών του φυτού.

Πίνακας 19: Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου (*Rosmarinus officinalis* L.). Ανάλυση με GC-MS.

Συστατικά	RRI ^a		Χημική Σύσταση (%) ^c 2005			Χημική Σύσταση (%) ^c 2006			Αξιοπιστία ταυτοποίησης ^b
	CP-Sil 8	DB- Wax	Φεβρουάριος	Μάιος	Αύγουστος	Φεβρουάριος	Μάιος	Αύγουστος	
	τρικυκλένιο	930	1006	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
α-θουγένιο	936	1021	tr	0,1	tr	0,1	tr	tr	b
α-πινένιο	940	1017	8,4 ^{aA}	9,7 ^{bB}	8,4 ^{cC}	9,1 ^{dD}	9,9 ^{eE}	7,9 ^{fF}	ab
καμφένιο	951	1053	2,4	3,5	2,7	2,8	2,8	2,2	b
β-πινένιο	975	1093	0,8	3,1	1,5	1,5	1,2	1,2	ab
7-οκτεν-4-όλη	983	1458	0,2	nd	0,3	0,3	nd	0,4	b
3-οκτανόνη	976	1253	0,2	nd	0,3	0,2	nd	0,2	b
β-μυρκένιο	991	1157	0,9	1,0	1,1	0,9	1,0	1,0	ab
α-φελλανδρένιο	1001	1206	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	ab

δ-2-καρένιο	1006	nd	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	b
α-τερπινένιο	1012	1174	0,3	0,8	0,4	0,5	0,6	0,5	ab
p-κυμένιο	1020	1266	3,1 ^{aA}	1,7 ^{bB}	2,9 ^{cC}	2,5 ^{dD}	2,2 ^{eE}	2,7 ^{fF}	ab
1,8-κινεόλη	1026	1210	54,2 ^{aA}	48,3 ^{bB}	55,5 ^{cC}	50,6 ^{deD}	58,4 ^{dE}	58,7 ^{efF}	ab
(Z)-b-οκιμένιο	1035	nd	0,1	0,4	0,2	0,3	0,4	0,3	b
(E)-b-οκιμένιο	1046	nd	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	b
γ-τερπινένιο	1053	1243	0,3	1,5	0,4	0,6	0,7	0,4	ab
cis- ένυδρο σαβινένιο	1061	nd	tr	0,1	tr	0,2	tr	tr	b
α-τερπινολένιο	1083	1279	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	b
trans- ένυδρο σαβινένιο	1091	1473	tr	0,1	0,1	0,1	tr	tr	b
λιναλοόλη	1096	1554	0,6	0,6	0,8	0,6	0,6	0,9	ab
φενχυλική αλκοόλη	1106	1588	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	ab

<i>trans</i> -πινοκαρβεόλη	1131	nd	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	ab
καμφορά	1135	1514	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	b
ένυδρο καμφένιο	1140	nd	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	b
βορνεόλη	1158	1708	10,4 ^{aA}	9,4 ^{bB}	9,5 ^{cC}	8,9 ^{dD}	8,8 ^{eE}	10,2 ^{fF}		ab
δ-τερπινεόλη	1161	nd	nd	nd	0,7	0,8	0,9	0,9	0,9	b
τερπινεν-4-όλη	1171	1605	1,4	1,1	1,4	1,1	1,0	1,4	1,4	b
α-τερπινεόλη	1185	1704	5,9 ^{aA}	5,0 ^{bB}	5,7 ^{cC}	4,3 ^{dA}	4,5 ^{eD}	5,2 ^{fE}		b
οξικός εστέρας της βορνεόλης	1283	nd	0,7	4,3	0,8	1,8	1,7	0,8	0,8	b
οξικός εστέρας της εξω-2-υδροξυκινεόλης	1340	nd	tr	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	0,1	b
<i>trans</i> -καρυοφυλλένιο	1414	1594	1,1 ^{aA}	4,4 ^{abB}	0,7 ^{bC}	1,6 ^{cD}	1,7 ^{dB}	0,9 ^{dE}		ab
α-χουμουλένιο	1449	1668	tr	0,2	tr	0,1	0,1	tr	tr	b
οξείδιο του	1576	1984	0,3	0,4	0,4	0,5	0,2	0,3	0,3	ab

καρυοφυλλενίου

άγνωστο 1	1630	nd	0,3	0,3	0,3	0,2	0,1	0,2	b
άγνωστο 2	1653	nd	1,2	0,8	1,0	0,8	0,5	0,8	b

Μονοτερπένια:

Υδρογονάνθρακες	17,0 ^{aA}	22,7 ^{bB}	18,2 ^{cC}	18,8 ^{dD}	19,6 ^{eE}	16,8 ^{fF}
Οξυγονωμένα	73,8 ^{aA}	69,3 ^{bB}	75,1 ^{cC}	68,9 ^{deD}	76,4 ^{dE}	78,6 ^{eF}

Σεσκιτερπένια:

Υδρογονάνθρακες	1,1 ^{aA}	4,6 ^{abB}	0,7 ^{bC}	1,7 ^{cD}	1,8 ^{dB}	0,9 ^{dE}
Οξυγονωμένα	0,3	0,4	0,4	0,5	0,2	0,3

Αλκοόλες-κετόνες

	0,4	tr	0,6	0,5	tr	0,6
--	-----	----	-----	-----	----	-----

Άγνωστα

	1,5	1,1	1,3	1,1	0,6	1,0
--	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Σύνολο συστατικών	93,8	98,0	96,2	91,7	98,5	98,3
Απόδοση αιθερίου ελαίου ^d	1,8±0,2 ^{abA}	2,8±0,2 ^{aB}	2,7±0,3 ^{bC}	2,2±0,2 ^{cD}	3,3±0,2 ^{cdB}	2,6±0,3 ^{dE}

^a Σχετικοί χρόνοι κατακράτησης ως προς τους υδρογονάνθρακες C₈-C₂₄ σε στήλη DB-WAX και CP-SIL 8.

^b a: φάσμα μάζας σε συμφωνία με φάσματα της βιβλιογραφίας και [Adams, 2001](#) καθώς και με τα φάσματα των βιβλιοθηκών NIST και WILEY. b: ταυτοποίηση με σύγκριση των χρόνων κατακράτησης και δεδομένων φασματοσκοπίας με τα αντίστοιχα πρότυπης ουσίας,

^c Το ποσοστό της χημικής σύστασης υπολογίστηκε στην στήλη CP-Sil 8, κανονική κατανομή περιοχής χρωματογραφήματος (%) tr: <0,1%, nd: not detected

^d v/w % : όγκος (mL) αιθερίου ελαίου σε βάρος ξηρού φυτικού υλικού (σε g). Τα αποτελέσματα είναι ο μέσος όρος τριών επαναλήψεων. Οι τιμές με το ίδιο μικρό γράμμα είναι στατιστικά ($p < 0.05$ and $p < 0.01$) διαφορετικές μεταξύ των μηνών στο ίδιο έτος. Οι τιμές με το ίδιο κεφαλαίο γράμμα είναι στατιστικά ($p < 0.05$ and $p < 0.01$) διαφορετικές μεταξύ των ετών για τον ίδιο μήνα.

Π.2 Αντιοξειδωτική Δράση

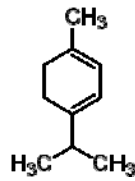
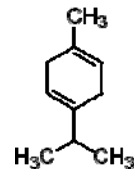
Π.2.1 Αντιοξειδωτική δράση πρότυπων ουσιών

Η αντιοξειδωτική δράση πρότυπων ουσιών, που αποτελούν κύρια συστατικά των υπό εξέταση φυτών, προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της DPPH και τα αποτελέσματα φαίνονται στον **Πίνακα 20**.

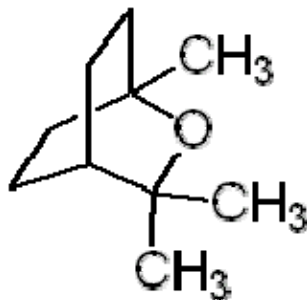
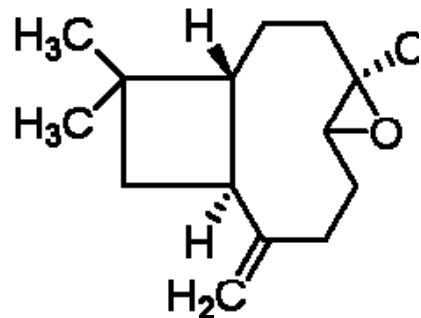
Πίνακας 20: Τιμές IC₅₀ προτύπων ουσιών

Πρότυπες ουσίες	EC _{50%} (g/L)
Ασκορβικό οξύ	0,06 ± 0,03
BHT	0,08 ± 0,02
θυμόλη	0,4 ± 0,1
καρβακρόλη	0,4 ± 0,1
α-πινένιο	>19,25
γ-τερπινένιο	22,7 ± 0,3
1,8 κινεόλη	>25,0
Οξείδιο του καρνοφυλλενίου	18,6±0,3

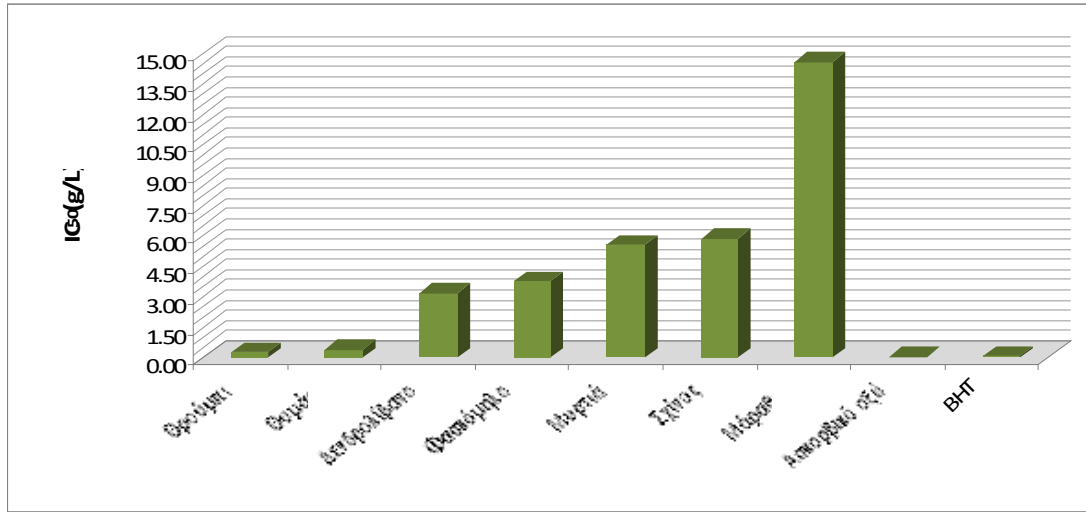
Όλες οι πρότυπες ουσίες που εξετάστηκαν παρουσίασαν μικρότερη αντιοξειδωτική δράση από αυτή του ασκορβικού οξέος και του BHT. Η θυμόλη και η καρβακρόλη είναι οι περισσότερο δραστικές από τις πρότυπες ουσίες που εξετάστηκαν. Οι δύο μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες, α-πινένιο και γ-τερπινένιο φαίνεται να είναι ενεργοί μόνο σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις. Οι [Guiseppe & Baratta \(2000\)](#) κατέληξαν επίσης στο ίδιο συμπέρασμα, ότι τόσο το γ-τερπινένιο όσο και το α-τερπινένιο είναι δραστικά σε υψηλές συγκεντρώσεις και το απέδωσαν στην ενεργή μεθυλενική ομάδα που βρίσκεται συνδεδεμένη στο δακτύλιο τους.

 α -τερπινένιο ($C_{10}H_{16}$) γ -τερπινένιο($C_{10}H_{16}$)

Τόσο η 1,8 κινεόλη όσο και το οξύδιο του καρνοφυλλενίου δεν είναι επίσης δραστικές αντιοξειδωτικές ουσίες. Όπως προκύπτει η αιθερική ομάδα που χαρακτηρίζει το μόριο των δύο ενώσεων δεν είναι δυνατόν να δράσει ως δότης ενός ηλεκτρονίου και να σταματήσει τη δημιουργία ελεύθερων ριζών σ' ένα σύστημα.

1,8 κινεόλη ($C_{10}H_{18}O$)Οξύδιο του καρνοφυλλενίου
($C_{15}H_{24}O$)

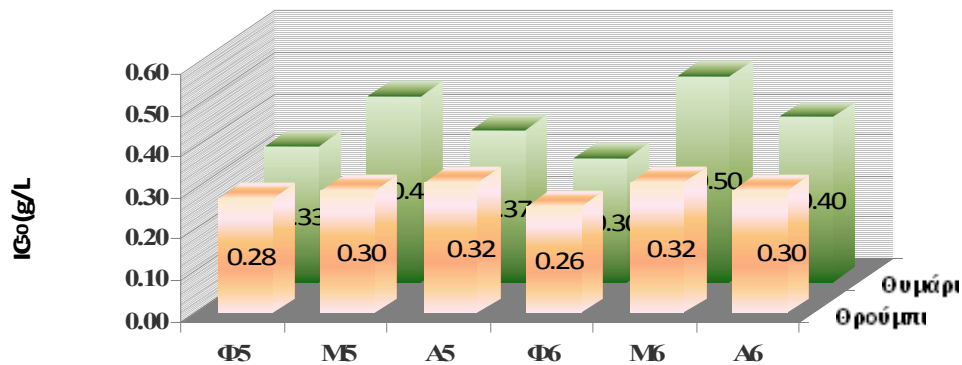
Π.2.2 Αντιοξειδωτική δράση αιθερίων ελαίων



Σχήμα 49: Μέσοι όροι τιμών IC₅₀ των αιθερίων των υπό εξέταση φυτών

Οι μέσοι όροι των τιμών IC_{50%}, στις διαφορετικές περιόδους συλλογής, για τα αιθέρια των υπό εξέταση αρωματικών φυτών φαίνονται στο **Σχήμα 49**. Από το Σχήμα προκύπτει ότι το αιθέριο έλαιο των φυτών θρούμπι και θυμάρι και λιγότερο του δενδρολίβανου και του φασκόμηλου μπορούν να θεωρηθούν καλές πηγές φυσικών αντιοξειδωτικών, όταν προστεθούν στα τρόφιμα στις κατάλληλες συγκεντρώσεις. Συγκρινόμενα με τα γνωστά αντιοξειδωτικά ασκορβικό οξύ και BHT θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν σε ποσότητες 4-7 φορές μεγαλύτερες από αυτά. Το αιθέριο έλαιο της μυρτιάς, του σχίνου και πολύ περισσότερο του μάραθου δεν φαίνεται να έχουν αντιοξειδωτική δράση που να τα καθιστά χρήσιμα για τέτοιες χρήσεις στα τρόφιμα.

Έτσι για τα τέσσερα φυτά, για τα οποία διαπιστώθηκε σημαντική αντιοξειδωτική δράση μετρήθηκε η εποχική διακύμανση της αντιοξειδωτικής δράσης και διαπιστώθηκαν τα παρακάτω.

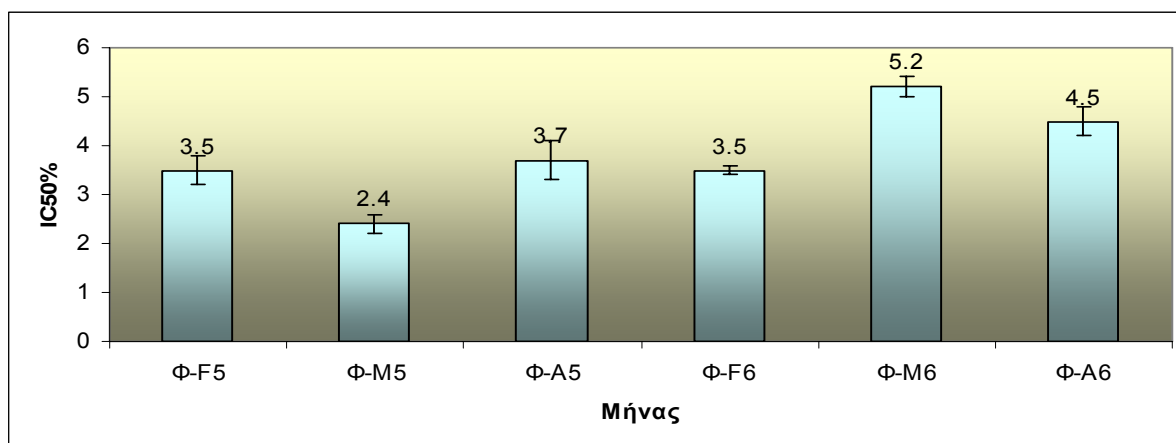


Αναπτυξιακά στάδια φυτών

Σχήμα 50: Τιμές IC_{50} του αιθερίου ελαίου των φυτών *Coridothymus capitatus* L. *Satureja thymbra* L. στα διάφορα στάδια ανάπτυξης (Φ: Φεβρουάριος, Μ: Μάιος, Α: Αύγουστος, 5,6 : 2005 και 2006 αντίστοιχα).

Η αντιοξειδωτική ικανότητα του αιθερίου ελαίου των φυτών θυμάρι και θρούμπι, σχεδόν ίση με αυτή των κύριων συστατικών τους, εμφανίζεται να είναι υψηλή καθόλη τη διάρκεια του έτους (**Σχήμα 50**). Η σταθερή συγκέντρωση της καρβακρόλης και της θυμόλης αντίστοιχα, που παρουσιάζεται σε όλα τα στάδια ανάπτυξης των δύο φυτών φαίνεται να εξηγεί την παραπάνω παρατήρηση.

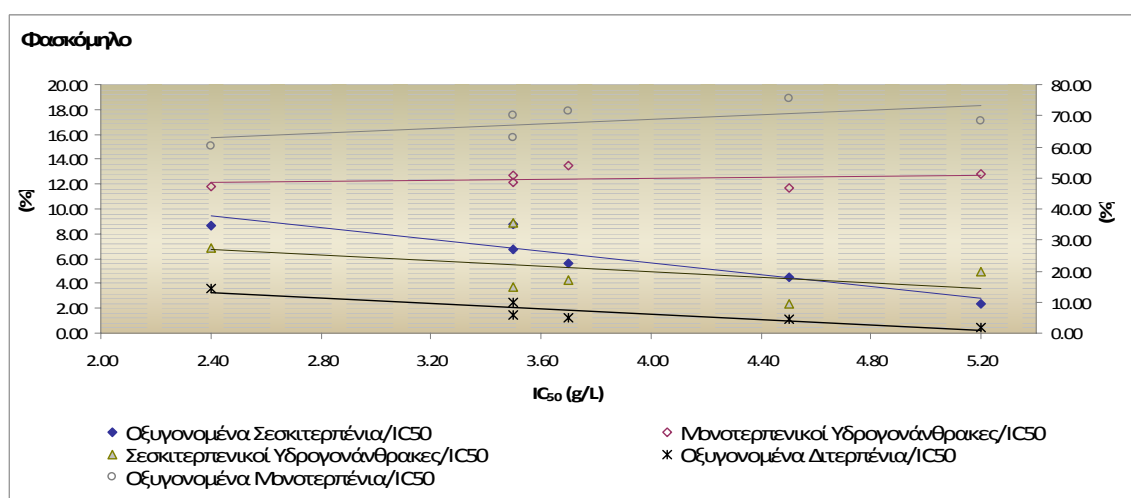
Αντίθετα, η αντιοξειδωτική ικανότητα του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου παρουσίασε διαφορές μεταξύ των διαφόρων σταδίων ανάπτυξης του φυτού. Οι διαφορές αυτές ήταν σημαντικές για τους μήνες της πλήρους άνθησης (Μάιος 2005 και 2006) και για τους μήνες της καρποφορίας (Αύγουστος 2005 και 2006) (**Σχήμα 51**).



Σχήμα 51: Αντιοξειδωτική ικανότητα του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου (*S. fruticosa*) στα διάφορα στάδια ανάπτυξης του (Φ: Φασκόμηλο, F: Φεβρουάριος, M: Μάιος, A: Αύγουστος, 5,6 : 2005 και 2006 αντίστοιχα).

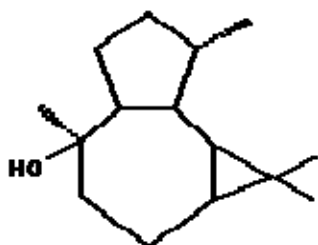
Αξιοσημείωτο είναι ότι η αντιοξειδωτική δράση του αιθερίου ελαίου (μέσος όρος 3,6 g/L) ήταν πολύ μεγαλύτερη αυτής της κύριας ουσίας, της 1,8 κινεόλης (μέσος όρος >25g/L), η οποία όπως σημειώθηκε και προηγουμένως δεν είναι δραστική ουσία. Το γεγονός ότι το φασκόμηλο έχει υψηλή αντιοξειδωτική δράση που δεν δικαιολογείται από τη δράση των κύριων συστατικών του έχει διατυπωθεί από πολλούς ερευνητές στη βιβλιογραφία (*Wang et al., 2008*).

Για το λόγο αυτό συσχετίστηκε η εποχική διακύμανση των τιμών των κύριων ομάδων του αιθερίου ελαίου του φυτού με τις αντίστοιχες τιμές IC₅₀ κάθε περιόδου που εξετάστηκε (**Σχήμα 52**). Βρέθηκε ότι οι τιμές IC₅₀ συσχετίζονται γραμμικά με τις ομάδες των οξυγονωμένων σεσκιτερπενίων ($r = -0.9125, p < 0.05$) και των οξυγονωμένων διτερπενίων ($r = -0.9060, p < 0.05$).

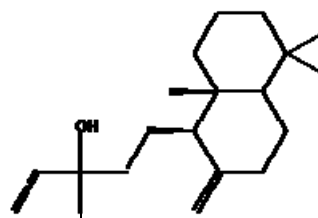


Σχήμα 52: Συσχέτιση των τιμών IC₅₀ με τα ποσοστά των κύριων ομάδων στο φασκόμηλο

Καθώς οι κύριοι εκπρόσωποι των ομάδων αυτών είναι οι ουσίες βιριντιφλορόλη και μανουλοόλη αντίστοιχα, θα μπορούσε η αντιοξειδωτική δράση του αιθερίου ελαίου του φυτού να συσχετιστεί έμμεσα με τις ουσίες αυτές. Εξάλλου στη βιβλιογραφία υποστηρίζεται ότι από τα οξυγονωμένα τερπένια τα περισσότερο ενεργά είναι αυτά που περιέχουν στη δομή τους μία αλλυλική αλκοόλη (όπως η βιριντιφλορόλη και μανουλοόλη) (Guiseppe & Baratta, 2000).

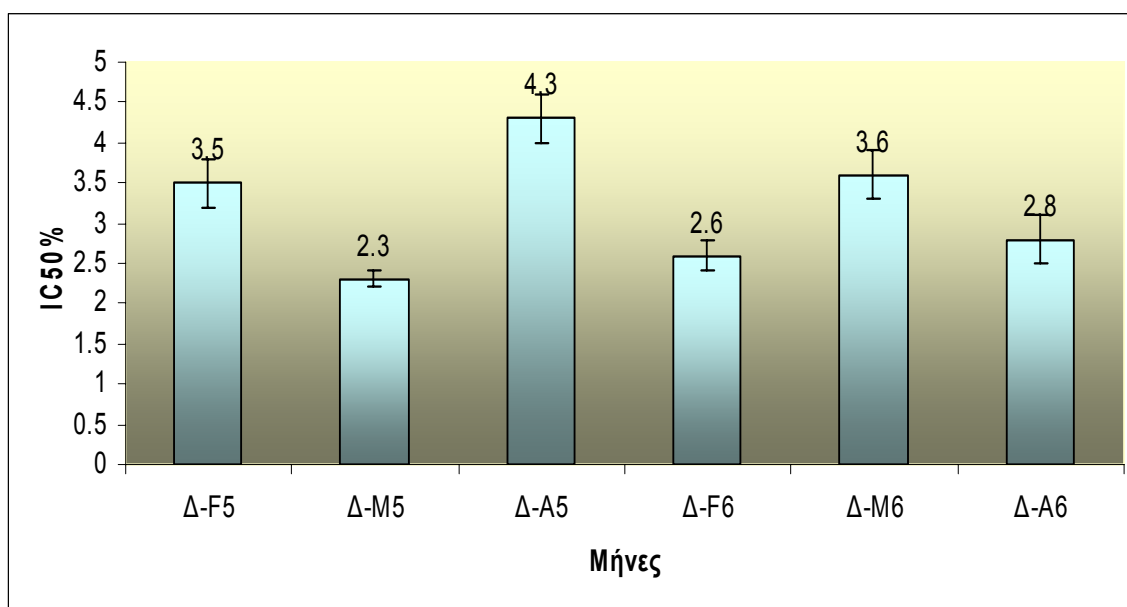


Βιριντιφλορόλη



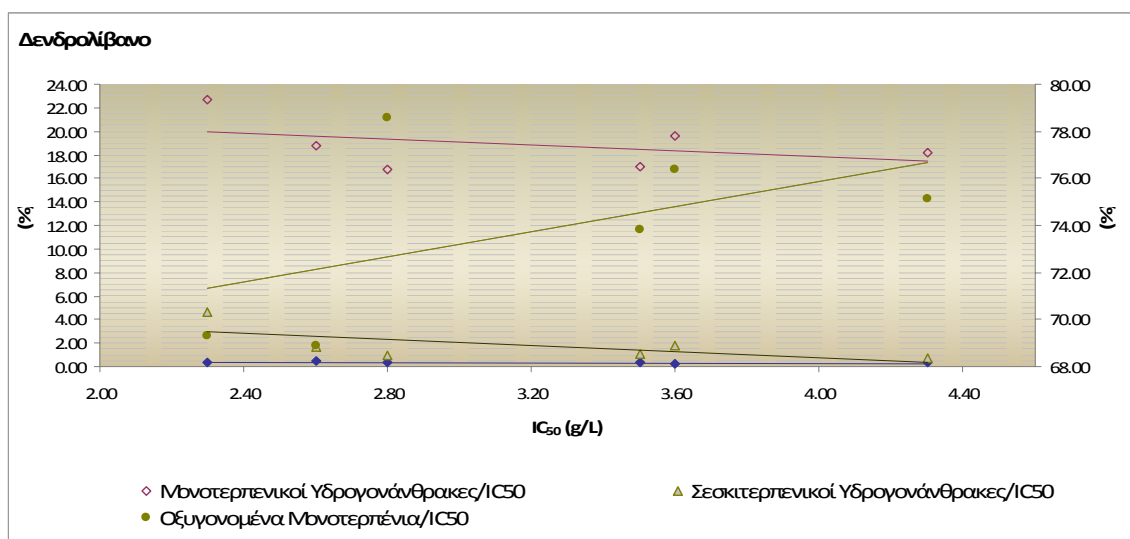
Μανουλοόλη

Η αντιοξειδωτική ικανότητα του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου για τις περιόδους που εξετάστηκε κυμαίνεται από 2,3 έως 4,3 g/L. Υψηλή αντιοξειδωτική δράση το 2005 μετρήθηκε στο αιθέριο έλαιο της περιόδου της πλήρους άνθησης (Μάιος 2005), ενώ για το 2006 στο αιθέριο έλαιο της περιόδου πριν από την άνθηση (Φεβρουάριος) και σ' αυτό μετά την καρποφορία (Αύγουστος). Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε ότι είναι σημαντική η διαφορά των τιμών IC_{50} μεταξύ των περιόδων της πλήρους άνθησης και της καρποφορίας για το 2005.



Σχήμα 53: Αντιοξειδωτική ικανότητα του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου (*R. officinalis*) στα διάφορα στάδια ανάπτυξης του (Δ: Δενδρολίβανο, F: Φεβρουάριος, M: Μάιος, A: Αύγουστος, 5,6 : 2005 και 2006 αντίστοιχα).

Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι η αντιοξειδωτική δράση δεν μεταβάλλεται με ένα σταθερό ρυθμό στη διάρκεια του έτους και οπωσδήποτε δεν συνδέεται με τη συγκέντρωση του κύριου συστατικού, της 1,8 κινεόλης (Σχήμα 53). Η συσχέτιση της συγκέντρωσης των χημικών ομάδων που συνιστούν το αιθέριο έλαιο του δενδρολίβανου με την τιμή IC_{50} είναι μικρή, τόσο με την ομάδα των σεσκιτερπενικών υδρογονανθράκων ($r = -0,65492$, $p < 0.05$), όσο και με τις υπόλοιπες ομάδες (Σχήμα 54). Κύριος εκπρόσωπος της ομάδας των σεσκιτερπενικών υδρογονανθράκων είναι το *trans*-καρνοφυλλένιο το οποίο έχει βρεθεί να έχει χαμηλή αντιοξειδωτική δράση (Guisepe & Baratta, 2000). Έτσι προκύπτει το συμπέρασμα ότι η αντιοξειδωτική δράση του αιθέριου ελαίου του δενδρολίβανου θα πρέπει να αποδοθεί περισσότερο σε φαινόμενα ανταγωνισμού, συνέργειας ή/και αθροιστικών ιδιοτήτων των συστατικών του.



Σχήμα 54: Συσχέτιση των τιμών IC_{50} με τα ποσοστά των κύριων ομάδων στο δενδρολίβανο

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα του δενδρολίβανου είναι καλύτερη από αυτή του λεμονιού (*Citrus limonum*), του μελισσοβότανου (*Melissa officinalis*), του τσαγιού (*Melaleuca alternifolia*) (Ponce et al., 2004) και του κύμινου (Gachkar et al., 2007), αλλά χαμηλότερη από εκείνη του γαρύφαλλου (*Syzygium aromaticum*) (Ponce et al., 2004).

Αρωματικά φυτά –Μελέτη της επίδρασης του χρόνου ξήρανσης και της μείωσης των απολειών πτητικών συστατικών κατά την ξήρανση με λυοφιλίωση. Σύγκριση με τη συμβατική ξήρανση στον αέρα

III. 1. Χημική σύσταση και εποχική διακύμανση του αιθερίου ελαίου του *Μάραθου*

Η εποχική διακύμανση της απόδοσης του αιθερίου ελαίου του μάραθου φαίνεται στον **Πίνακα 21**. Η απόδοση σε αιθέριο έλαιο είναι χαμηλή κατά τους μήνες Φεβρουαρίου και Μαΐου, ενώ αυξάνεται την περίοδο της ανθοφορίας το μήνα Αύγουστο, φθάνοντας σε ποσοστό 2,4%. Παρότι καμία από τις τρεις περιόδους δεν συμπίπτει με την περίοδο της καρποφορίας κατά την οποία η απόδοση σε αιθέριο αυξάνεται σημαντικά (*Jordal 2004*), φαίνεται ότι η περίοδος της ανθοφορίας, αποτελεί την αφετηρία στην αύξηση της παραγωγής αιθερίου ελαίου. Οι *Marotti et al, (1993)* ανέλυσαν φυτά από την Αγκόνα της Ιταλίας, και από τις τρεις ποικιλίες του υποείδους *capillaceum* δηλ. την *vulgare*, τη *dulce* και την *azoricum*, και διαπίστωσαν επίσης ότι η απόδοση σε αιθέριο έλαιο αυξάνεται κυρίως την περίοδο της καρποφορίας.

Πίνακας 21 : Η απόδοση σε αιθέριο έλαιο ανά εποχή συλλογής του μάραθου (συλλογή 2005)

Περίοδοι συλλογής		Απόδοση σε αιθέριο έλαιο % (v/w)	Μέσος όρος απόδοσης αιθερίου ελαίου (%ό/ξ.β)
Φεβρουάριος (μετά την καρποφορία)	1	0,8	0,7±0,1
	2	0,6	
	3	0,6	
Μάιος (πριν την ανθοφορία)	1	0,5	0,5±0,0
	2	0,5	
	3	0,5	
Αύγουστος (ανθοφορία)	1	2,8	2,4±0,4
	2	2,3	
	3	2,0	

Η ανάλυση του αιθερίου ελαίου του υπέργειου τμήματος του φυτού του μάραθου μετά από φυσική ξήρανση έδειξε ότι η σύσταση του φυτού εξαρτάται από την εποχή συλλογής (**Πίνακας 22**). Στο αιθέριο έλαιο ταυτοποιήθηκαν 31 ουσίες που αποτελούν το 97,6, το 94,5 και το 97,9 % του

συνόλου, από τη συλλογή κατά τους μήνες Φεβρουάριο, Μάιο και Αύγουστο του 2005 αντίστοιχα. Το αιθέριο έλαιο χαρακτηρίζεται από την παρουσία υψηλού ποσοστού φαινολικών αιθέρων (44,3-60,9%), μονοτερπενικών υδρογονανθράκων (25,5-39,7%) και μονοτερπενικών εστέρων (2,6-14,7%). Το κύριο συστατικό του είναι η *trans*-ανηθόλη (36,2-55,4%) ακολουθούμενη από το α -πινένιο (6,9-16,0%), το α -φελλανδρένιο (5,3-6,6%), το λιμονένιο (6,2-9,1%) και την ισο-ανηθόλη ή εστραγόλη (3,1-15,9%). Η φενχόνη (0,2-1,7%), που είναι υπεύθυνη για την πικρή γεύση κάποιων ποικιλιών του μάραθου, περιέχεται σε μικρό ποσοστό (Miraldi 1999). Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης και σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Piccaglia & Marotti, 1993; Díaz -Maroto et al., 2005), προκύπτει ότι το υπό εξέταση φυτό είναι το *Foeniculum vulgare* Mill. var. *dulce* (υποείδος *capillaceum*, ποικιλία *dulce* χημειότυπος *trans*-ανηθόλης). Το φυτό χαρακτηρίζεται από υψηλό ποσοστό σε *trans*-ανηθόλη και χαμηλό σε φενχόνη.

Τα ποσοστά των περιεχομένων φαινυλοπροπανοειδών φθάνουν στο μέγιστό τους σε διαφορετικές περιόδους. Η ισοανηθόλη αυξάνεται σημαντικά την περίοδο της ανθοφορίας (Αύγουστος), ενώ η συγκέντρωση της *trans*-ανηθόλης παρουσιάζει αύξηση την περίοδο μετά την καρποφορία (Φεβρουάριος), διαφέροντας σημαντικά από τις άλλες δύο υπό εξέταση περιόδους.

Το ποσοστό των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων αυξάνεται σημαντικά την περίοδο της ανθοφορίας, φθάνοντας σε ποσοστό 39,7%. Το ίδιο συμβαίνει και με τη συγκέντρωση του α -πινενίου, η οποία ανέρχεται στο 16,0% το μήνα Αύγουστο. Το α -φελλανδρένιο δεν διαφέρει σημαντικά ($p>0,05$) μεταξύ των τριών περιόδων συλλογής. Οι Guillén & Manzanos (1996) διαπίστωσαν ότι η συγκέντρωση του α -φελλανδρένιου είναι μεγαλύτερη στα φύλλα, σε σύγκριση με τους μίσχους και τους καρπούς. Προκύπτει ότι η περιεκτικότητα σε α -φελλανδρένιο είναι ένα σταθερό χαρακτηριστικό του φυτού υπό τις συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες. Το ίδιο παρατηρήθηκε και για τα οκιμένα. Το ποσοστό του λιμονενίου, το οποίο επηρεάζει σημαντικά το αρωματικό προφίλ του φυτού (Díaz -Maroto et al., 2005) δεν μεταβάλλεται σημαντικά με την περίοδο συλλογής.

Το ποσοστό της φενχόνης, του κυρίου εκπροσώπου της ομάδας των μονοτερπενικών κετονών, μειώνεται σημαντικά κατά την περίοδο πριν την ανθοφορία (Μάιος). Έχει βρεθεί (Guillén & Manzanos, 1996) ότι η συγκέντρωση της φενχόνης τόσο στον πικρό όσο και στο γλυκό μάραθο είναι η ίδια στα φύλλα και στο μίσχο, ενώ είναι μεγαλύτερη στο σπόρο.

Τα σεσκιτερπένια, με τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο, βρέθηκε να περιέχονται σε μικρό ποσοστό στο αιθέριο έλαιο του μάραθου, φθάνοντας στη μεγαλύτερη συγκέντρωση την περίοδο πριν την ανθοφορία. Μέθοδοι όπως η ταυτόχρονη απόσταξη-εκχύλιση (SDE), καθώς και η μέθοδος εκχύλισης με υπερκρίσιμα ρευστά (SFE) δεν φάνηκαν αποτελεσματικές στη παραλαβή της ομάδας αυτής των συστατικών (Díaz -Maroto et al., 2005).

Πίνακας 22: Εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του μάραθου (*Foeniculum vulgare* L.). Ανάλυση με GC-MS.

Συστατικό	RRI ^a		Χημική Σύσταση (%) ^c			Αξιοπιστία ταυτοποίησης ^b
	CP-Sil 8	DB-Wax	2005			
			Φεβρουάριος	Μάιος	Αύγουστος	
<i>α</i> -θουγένιο	936	1021	0,1	tr	0.1	B
<i>α</i> -πινένιο	940	1017	6,9 ^a	7,9 ^b	16,0 ^{ab}	A
καμφένιο	951	1053	0,1	0,3	0,2	B
<i>β</i> -πινένιο	975	1093	0,4	0,9	3,7	A
<i>β</i> -μυρκένιο	991	1157	0,7	0,8	2,6	A
<i>α</i> -φελλανδρένιο	1001	1206	6,6	5,3	5,6	B
<i>π</i> -κυμένιο	1020	1266	2,7	3,1	1,2	A
λιμονένιο	1023	1197	9,1	6,2	8,8	A
(<i>Z</i>)- <i>b</i> -οκιμένιο	1035	1234	0,5	0,5	0,5	B
(<i>E</i>)- <i>b</i> -οκιμένιο	1046	1250	nd	nd	nd	B
<i>γ</i> -τερπινένιο	1053	1243	0,5	0,2	1,0	A

φενχόνη	1080	1395	1,7 ^a	0,2 ^{ab}	1,7 ^b	B
α -τερπινολένιο	1083	1279	0,5	0,3	0,1	B
καμφορά	1135	1514	0,1	0,1	0,1	C
βερμπενόλη	1142	nd	0,1	0,2	0,1	
βορνεόλη	1158	1709	nd	0,6	tr	A
τερπινεν-4-όλη	1171	1605	0,1	0,1	0,1	B
ισοανηθόλη (εστραγόλη)	1193	1670	5,5 ^a	3,1 ^b	15,9 ^{ab}	B
οξικός εστέρας της φενχόλης (endo)	1216	nd	0,6	1,0	0,7	C
οξικός εστέρας της φενχόλης (exo)	1230	1494	3,6 ^a	13,7 ^{ab}	1,9 ^b	B
<i>trans</i> -ανηθόλη	1283	1827	55,4 ^{ab}	41,2 ^a	36,2 ^b	A
α -κοπαένιο	1372	1490	0,3	0,5	0,1	B
β -κουμπεμπένιο	1386	1537	0,3	0,3	0,1	B
<i>trans</i> -καρυοφυλλένιο	1414	1594	0,3	1,1	0,4	A

57,80,81,85,93,121,136	1448	1679	0,5	1,5	0,1	C
57,80,81,85,93,121,136	1466	nd	0,4	3,0	tr	C
57,80,81,85,93,121,136	1471	nd	0,4	1,0	tr	C
γερμακρένιο D	1477	1708	0,3	1,3	0,8	B
δ-καδινένιο	1521	1757	tr	0,1	0,1	B
οξείδιο του καρυοφυλλενίου	1576	1984	tr	0,4	0,1	A

Μονοτερπένια:

Υδρογονάνθρακες	28,0 ^a	25,5 ^b	39,7 ^{ab}
Κετόνες	1,7	0,3	1,7
Αλκοόλες	0,2	0,9	0,2
Εστέρες	4,3	14,7	2,6
Φαινόλες και φαινολικοί αιθέρες	60,9 ^{ab}	44,3 ^a	52,1 ^b

Σεσκιτερπένια:

Υδρογονάνθρακες	1,3	3,3	1,4
Άγνωστα συστατικά:	1,4	5,5	0,2
Σύνολο συστατικών	97,6	94,5	97,9
Απόδοση αιθερίου ελαίου ^d	0,7±0,1^a	0,5±0,0^b	2,4±0,4^{ab}

^a Σχετικοί χρόνοι κατακράτησης σε σχέση με υδρογονάνθρακες με άρτιο αριθμό ατόμων άνθρακα C₈-C₂₄ σε στήλη DB-WAX και CP-SIL 8.

^b A: ταυτοποίηση με σύγκριση των χρόνων κατακράτησης και δεδομένων φασματοσκοπίας με τα αντίστοιχα πρότυπης ουσίας, B: φάσμα μάζας σε συμφωνία με φάσματα της βιβλιογραφίας και [Adams, 2001](#), C: φάσμα μάζας σε συμφωνία με φάσματα των βιβλιοθηκών NIST και WILEY.

^c Το ποσοστό της χημικής σύστασης υπολογίστηκε στη στήλη CP-Sil 8, κανονική κατανομή περιοχής χρωματογραφήματος (%) tr: <0.1%, nd: not detected

^d v/w % : όγκος (mL) αιθερίου ελαίου σε βάρος ξηρού φυτικού υλικού (σε g). Τα αποτελέσματα είναι ο μέσος όρος τριών επαναλήψεων. Οι τιμές με το ίδιο γράμμα είναι στατιστικά ($p < 0.05$ and $p < 0.01$) διαφορετικές μεταξύ των μηνών.

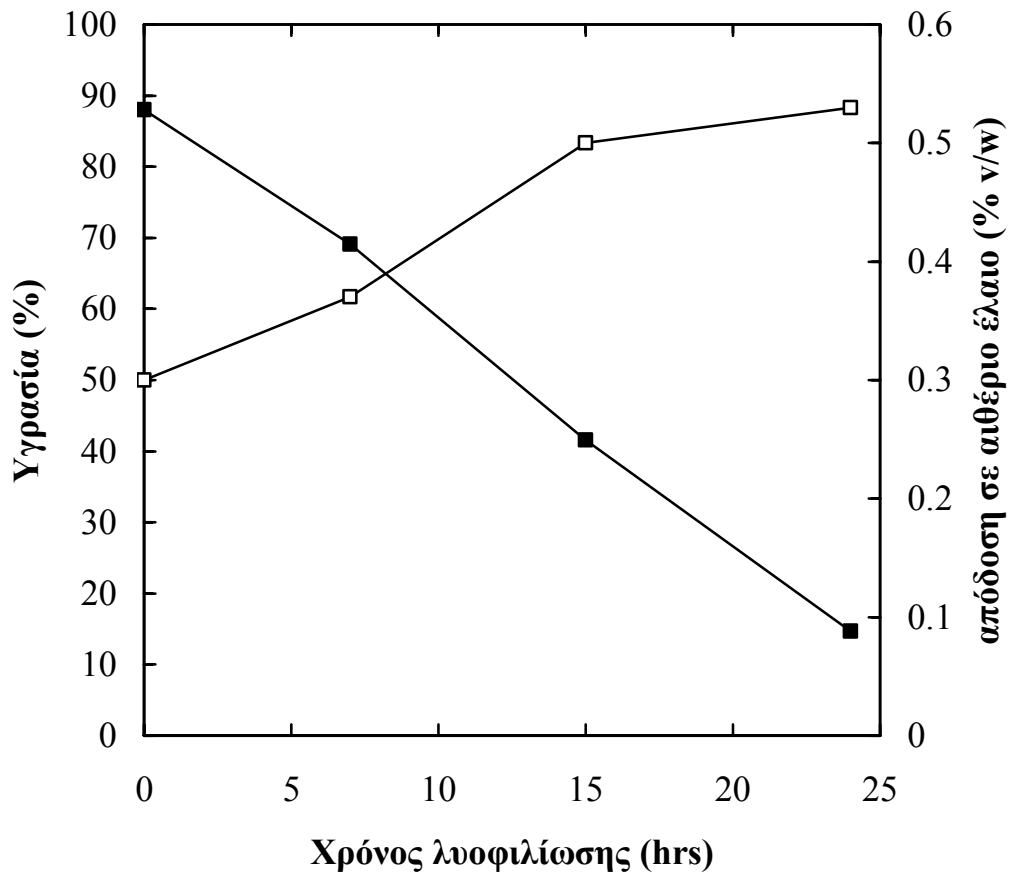
III. 2 Μελέτη της επίδρασης της ξήρανσης με κατάψυξη-εξάχνωση (λυοφιλίωση) στη σύσταση του αιθερίου ελαίου του μάραθου

Η ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση έχει σημαντική επίδραση στη σύσταση του αρωματικού προφίλ των φυτών, δεδομένου ότι μεταβάλλεται κυρίως η συγκέντρωση του συστατικού που χαρακτηρίζει το άρωμά τους (Coumans *et al.*, 1994; Abascal *et al.*, 2005). Στο κεφάλαιο αυτό μελετάται η επίδραση του χρόνου ξήρανσης με κατάψυξη-εξάχνωση, στην απώλεια υγρασίας και στη σύσταση του αιθερίου ελαίου. Επιπλέον εξετάζεται η επίδραση δύο μεθόδων ξήρανσης: α) με ρεύμα θερμού αέρα στους 60°C για 48 h (μέθοδος I) (Venskutonis 1997) και β) με κατάψυξη-εξάχνωση (λυοφιλίωση) (μέθοδος II) στη σύσταση του αιθερίου ελαίου του μάραθου.

Η βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση της ξήρανσης με κατάψυξη στα πτητικά συστατικά είναι περιορισμένη, καθώς η μέθοδος συνήθως συγκρίνεται μόνο με την ξήρανση με ρεύμα θερμού και ξηρού αέρα (Abascal *et al.*, 2005). Η ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση οδηγεί σε απώλεια της περιεχομένης υγρασίας του φυτού, και μάλιστα όσο αυξάνει ο χρόνος ξήρανσης αυξάνεται και η απώλεια σε υγρασία. Στο **Σχήμα 55** απεικονίζεται η μεταβολή της περιεχόμενης υγρασίας του μάραθου σε συνάρτηση με το χρόνο (καμπύλη ξήρανσης) και η αντίστοιχη απόδοση σε αιθέριο έλαιο. Σύμφωνα με το **Σχήμα 55** καθώς μειώνεται η περιεχόμενη υγρασία με την αύξηση του χρόνου ξήρανσης, αυξάνεται η απόδοση σε αιθέριο έλαιο. Στον **Πίνακα 23** φαίνεται η αρχική υγρασία των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στο κεφάλαιο αυτό.

Πίνακας 23 : Αρχική υγρασία των δειγμάτων του μάραθου

Δείγμα	Αρχική υγρασία (% ξ.β)
Μάραθος - Προέλευση Ζάκυνθος, Μάρτιος 2008	88±0,8
Μάραθος –Προέλευση Λαϊκή Αγορά Αθηνών	90±1,1



Σχήμα 55: Καμπύλη ξήρανσης του μάραθου(■) και η αντίστοιχη απόδοση σε αιθέριο έλαιο v/w(%)(□)

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των κύριων συστατικών του φυτού, και με τις δύο μεθόδους ξήρανσης φαίνεται στον **Πίνακα 24**. Τα αποτελέσματα συγκρίνονται με τη σύσταση του φρέσκου φυτού (χωρίς ξήρανση).

Πίνακας 24: Ποσοτικός προσδιορισμός των κύριων συστατικών του αιθερίου ελαίου του μάραθου (με τη χρήση εσωτερικού προτύπου και ανάλυση σε GC-FID) (φυτικό υλικό: φρέσκο, αφυδατωμένο με ξήρανση με ρεύμα θερμού αέρα και αφυδατωμένο με ξήρανση με λυοφιλίωση)

Συστατικό	Συγκέντρωση (ppm)				
	Φρέσκο	Ξήρανση σε		Ξήρανση με λυοφιλίωση	
		θερμοκρασία 60°C για 48h – Μέθοδος I	7	15	24
α-πινένιο	272	561	123	189	286
β-μυρκενίο	72	97	27	33	37
α-φελλανδρένιο	695	1036	1	616	630
λιμονένιο	135	363	105	145	137
φενχόνη	345	29	192	224	251
ισοανηθόλη	1116	845	4088	3249	2393
<i>trans</i> -ανηθόλη	3352	1909	1038	1412	2355
Μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες:	1174	2057	256	983	1090
Οξυγονωμένα μονοτερπένια:	345	29	192	224	251
Φαινυλοπροπανοειδή:	4.468	2.754	5.127	4.661	4.748
Απόδοση (% ο/β)	0,30	0,30	0,37	0,50	0,53
Αναλογία ισοανηθόλης/ <i>trans</i>- ανηθόλη	0,33	0,44	3,94	2,30	1,02

Το αιθέριο έλαιο του μάραθου που προέκυψε από την ξήρανση με ρεύμα θερμού αέρα περιέχει υψηλότερο ποσοστό μονοτερπενικών υδρογονανθράκων (2.057ppm), σε σχέση με την ξήρανση με λυοφιλίωση στις 24 h κατά την οποία η συγκέντρωση της ομάδας αυτής των συστατικών διατηρείται πολύ κοντά σε αυτή του φρέσκου. Οι *Diaz-Maroto et al., 2002* βρήκαν ότι κατά την ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση των φύλλων δάφνης μειώνεται η ποσότητα κάποιων μονοτερπενίων (1,8 κινεόλη, λιναλοόλη και γερανιόλη). Οι ίδιοι κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι καλύτερη συγκράτηση των πτητικών συστατικών των φύλλων της δάφνης επιτυγχάνεται με τη φυσική ξήρανση ή την ξήρανση με ρεύμα θερμού αέρα στους 45 °C. Με την ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση του δυόσμου

παρατηρήθηκαν απώλειες σε συστατικά της ομάδας των οξυγονωμένων μονοτερπενίων και σεσκιτερπενίων. Στο ίδιο φυτό η φυσική ξήρανση ή η ξήρανση με ρεύμα θερμού αέρα στους 45 °C έχουν καλύτερα αποτελέσματα στη συγκράτηση των πτητικών συστατικών και του χαρακτηριστικού αρώματος του δυόσμου (*Diaz-Maroto & Cabezudo, 2003*). Στο μαϊντανό, η ξήρανση με ρεύμα θερμού αέρα συντελεί στην καλύτερη συγκράτηση των πτητικών συστατικών έναντι της φυσικής ξήρανης και της ξήρανης με κατάψυξη-εξάχνωση (*Diaz-Maroto et al., 2003*).

Η φενχόνη, μονοτερπενική κετόνη, η οποία προσδιορίστηκε στα 345ppm στο φρέσκο φυτό, παρουσιάζει σημαντικές απώλειες με τη μέθοδο I, ενώ η μέθοδος II φαίνεται περισσότερο αποτελεσματική και κυρίως η ξήρανση με λυοφιλίωση για 24h. Το ίδιο συμβαίνει και με την ποσότητα του κύριου συστατικού του φυτού, της *trans*-ανηθόλης. Παρουσιάζει απώλειες και με τις δύο μεθόδους ξήρανης, ενώ και πάλι η ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση στις 24 h φαίνεται περισσότερο αποτελεσματική στη συγκράτηση της *trans*-ανηθόλης. Σε κάθε περίπτωση χρόνου ξήρανης με κατάψυξη-εξάχνωση δεν συγκρατήθηκε περισσότερο από το 70% της ουσίας. Στη βιβλιογραφία βρέθηκε ότι η ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση συγκρατεί καλύτερα τα πτητικά συστατικά του άνηθου (*Anethum graveoles*), έναντι της ξήρανης με ρεύμα θερμού αέρα, αλλά και με τις δύο μεθόδους ξήρανης δεν συγκρατείται περισσότερο από το 80% του κύριου συστατικού. Παρατηρήθηκε μάλιστα ότι το 50% της τελικής σύστασης των πτητικών συστατικών αποτελείται από δευτερεύοντα προϊόντα που σχηματίζονται κατά τη διαδικασία της ξήρανης. Επιπλέον με την ξήρανση με λυοφιλίωση διατηρείται μόλις το 25% των αρωματικών συστατικών που συνθέτουν το άρωμα του φρέσκου άνηθου (*Huopalahti et al., 1985*).

Η περιεκτικότητα της ισοανηθόλης, η οποία προσδιορίστηκε στα 1.116 ppm στο φρέσκο φυτό, αυξάνεται στην ξήρανση με λυοφιλίωση κατά μέσο όρο που φθάνει το 35%, ανάλογα με το χρόνο ξήρανης. Από τον Πίνακα 24 επίσης διαπιστώνεται ότι η αναλογία *ισοανηθόλης/trans*-ανηθόλης μεταβάλλεται σημαντικά κατά την ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση ανεξαρτήτως της διάρκειας, ενώ η ξήρανση με ρεύμα θερμού αέρα διατηρεί την αναλογία αυτή πολύ κοντά σε αυτή του φρέσκου φυτού. Από αυτήν την άποψη η ξήρανση με τη μέθοδο I φαίνεται να καταλήγει σε ένα αφυδατωμένο προϊόν με αρωματικό προφίλ περισσότερο σχετικό με αυτό του φρέσκου.

Ο *Venskutonis (1997)* βρήκε ότι η ξήρανση του φασκόμηλου (*Salvia officinalis* L.) και του θυμαριού (*Thymus vulgaris* L.) με ρεύμα θερμού αέρα στους 30 °C δεν επηρεάζει τη σύσταση των πτητικών συστατικών, σε αντίθεση με την ξήρανση στους 60 °C. Επιπλέον η ξήρανση με κατάψυξη – εξάχνωση συγκρατεί το άρωμα στο φασκόμηλο. Η ίδια όμως μέθοδος προκαλεί αύξηση στη συγκέντρωση της θυμόλης (στο θυμάρι) κατά 33%, μεταβάλλοντας έτσι το χαρακτηριστικό άρωμα του φυτού.

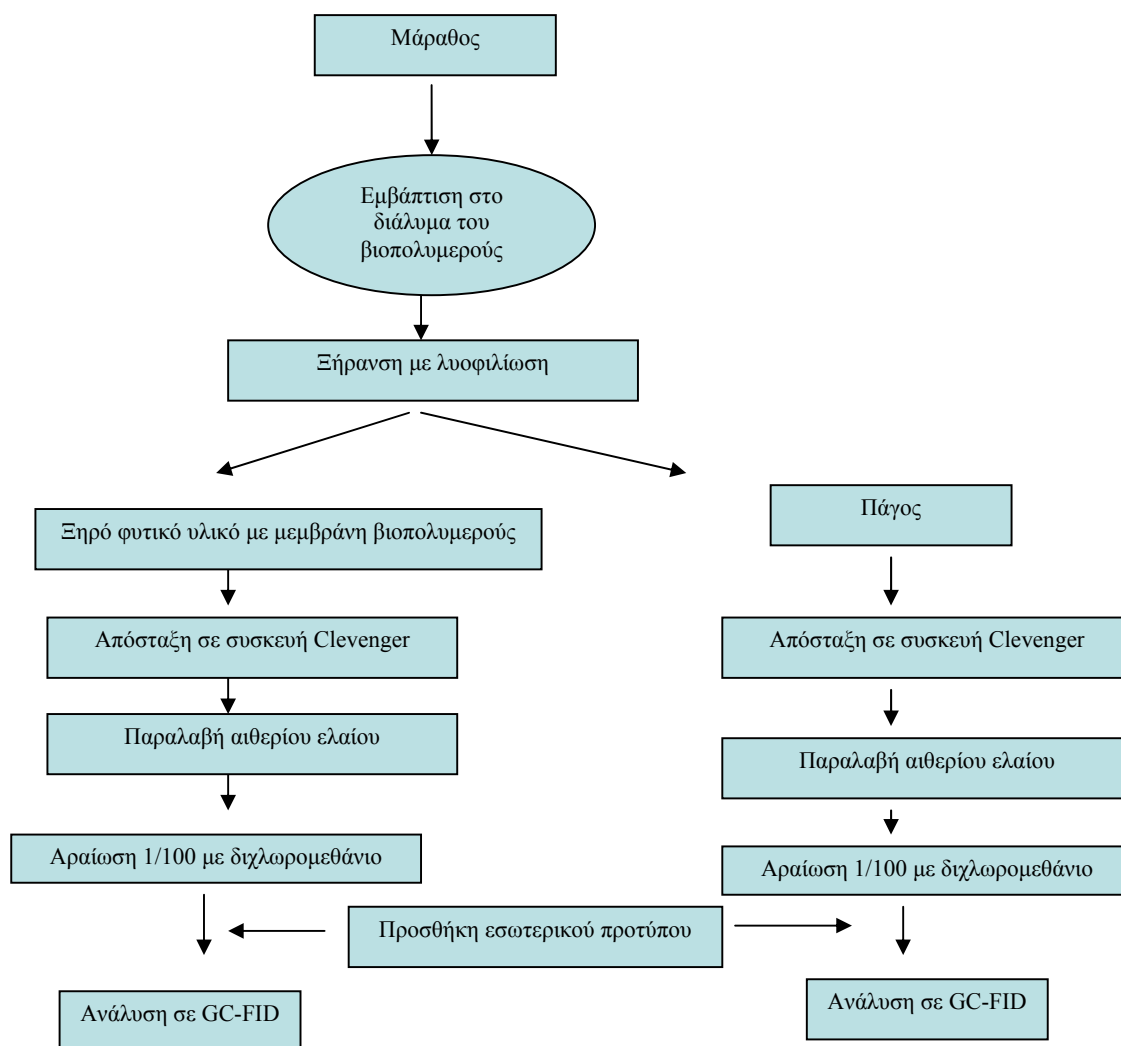
Μία ενδιαφέρουσα παρατήρηση είναι ότι το άθροισμα των ποσοτήτων της ισοανηθόλης και της *trans*-ανηθόλης, στο φρέσκο και στο αφυδατωμένο με τη μέθοδο II, παραμένει σχεδόν σταθερό. Για το λόγο αυτό θα ήταν ενδιαφέρον να γίνει μελέτη της συμπεριφοράς του διαλύματος των δύο αυτών συστατικών κατά την ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση.

Συμπερασματικά, η μέθοδος της ξήρανσης με κατάψυξη-εξάχνωση μεταβάλλει το αρωματικό προφίλ των φυτών, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις παρατηρείται σημαντική μεταβολή στη συγκέντρωση κάποιων συστατικών όπως της *trans*-ανηθόλης και της ισοανηθόλης. Η διάρκεια της ξήρανσης με κατάψυξη-εξάχνωση φαίνεται να έχει σημαντική επίδραση στη διατήρηση του αρωματικού προφίλ του φυτού. Όπως προκύπτει η ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση διάρκειας 24h διατηρεί περισσότερο τα ποσοστά των συστατικών του αιθερίου ελαίου του μάραθου πιο κοντά σε αυτά του φρέσκου.

III.3 Μελέτη της επίδρασης βιοπολυμερών στις απώλειες πτητικών συστατικών κατά την ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση.

Σε μία προσπάθεια μελέτης πιθανών τρόπων μείωσης των απωλειών των πτητικών συστατικών κατά την ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση, εξετάστηκε η συμπεριφορά βιοπολυμερών ως υλικών φραγμού των κύριων συστατικών του αιθερίου ελαίου του μάραθου (ισοανηθόλης, *trans*-ανηθόλης). Τα βιοπολυμερή έχουν άμεση σχέση με τα τρόφιμα, αφού εκτός από το γεγονός ότι αποτελούν βασικά συστατικά υπαρχόντων τροφίμων, χρησιμοποιούνται ευρέως και σε επεξεργασμένα τρόφιμα, κυρίως στη διαμόρφωση της δομής τους, εξαιτίας των σημαντικών ιδιοτήτων που έχουν όπως η ενυδάτωση, το ιξώδες και η δημιουργία πηκτών (*Ευαγγελίου 2006*). Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκαν δύο βιοπολυμερή, μία πρωτεΐνη, η ζελατίνη σε συγκεντρώσεις 2,5, 5 και 10% κ.β, και ένας υδατάνθρακας, ένα τροποποιημένο άμυλο σε συγκεντρώσεις 20 και 40% κ.β. Η ζελατίνη σε όλες τις υπό εξέταση συγκεντρώσεις δίνει πηκτές, ενώ το άμυλο όχι. Το φυτικό υλικό αναμίχθηκε στα παραπάνω βιοπολυμερή υλικά και τοποθετήθηκε στο θάλαμο ξήρανσης με εξάχνωση για 24 h.

Μετά την ξήρανση το φυτικό υλικό αποστάχθηκε σε συσκευή Clevenger. Απόσταξη υπέστη επίσης και το νερό που απομακρύνθηκε κατά την λυοφίλιωση το οποίο συλλέχθηκε υπό μορφή πάγου και τοποθετήθηκε σε δοχεία Duran στο ψυγείο πριν την απόσταξη. Τα στάδια του πειράματος φαίνονται στο **σχήμα 56** που ακολουθεί :



Σχήμα 56 : Πειραματική πορεία μελέτης της επίδρασης βιοπολυμερών στην συγκράτηση αιθερίων ελαίων με ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση.

Η συγκέντρωση της *trans*-ανηθόλης και της ισοανηθόλης στο αιθέριο έλαιο του φυτικού υλικού που εμβαπτίστηκε στη μεμβράνη των βιοπολυμερών φαίνεται στον **Πίνακα 25** που ακολουθεί.

Πίνακας 25 : Συγκέντρωση σε ppm της ισοαηθόλης και της *trans*-αηθόλης στο αιθέριο έλαιο του μάραθου με τη χρήση υλικών φραγμού

Υλικό φραγμού	ισοαηθόλη (ppm)	<i>trans</i> -αηθόλη (ppm)
0	252±10	7678±90,0
2,5% ζελατίνη	226±23,2	6294±90,0
5% ζελατίνη	245±20,0	2566±110,0
10% ζελατίνη	214±4,5	6544±150,0
20% άμυλο	243±9,8	5575±214,0
40% άμυλο	168±12,2	2282±305,0

Όπως προκύπτει από τον παραπάνω Πίνακα, σε καμία περίπτωση η συγκέντρωση των υπό εξέταση πτητικών συστατικών δεν ήταν μεγαλύτερη, στις περιπτώσεις που χρησιμοποιήθηκαν βιοπολυμερή κατά τη διάρκεια της ξήρανσης. Επειδή θα περίμενε κανείς ακριβώς το αντίθετο, με τα βιοπολυμερή να φράσσουν τις διόδους και άρα να παρεμποδίζουν τη διαφυγή των πτητικών ουσιών, παραλήφθηκε και μελετήθηκε και το αιθέριο έλαιο που συμπαρασύρθηκε μαζί με την υγρασία κατά τη διάρκεια της ξήρανσης (όπως φαίνεται και στην πειραματική πορεία), προκειμένου να μελετηθούν οι απώλειες των δύο υπό εξέταση συστατικών. Το απόσταγμα αναλύθηκε και τα δύο συστατικά ποσοτικοποιήθηκαν με την ίδια μέθοδο όπως και προηγουμένως. Όπως προκύπτει και από τον **Πίνακα 26** οι συγκεντρώσεις-απώλειες της ισοαηθόλης και της *trans*-αηθόλης μειώνονται σε όλες τις περιπτώσεις που χρησιμοποιείται κάποιο βιοπολυμερές ως υλικό φραγμού.

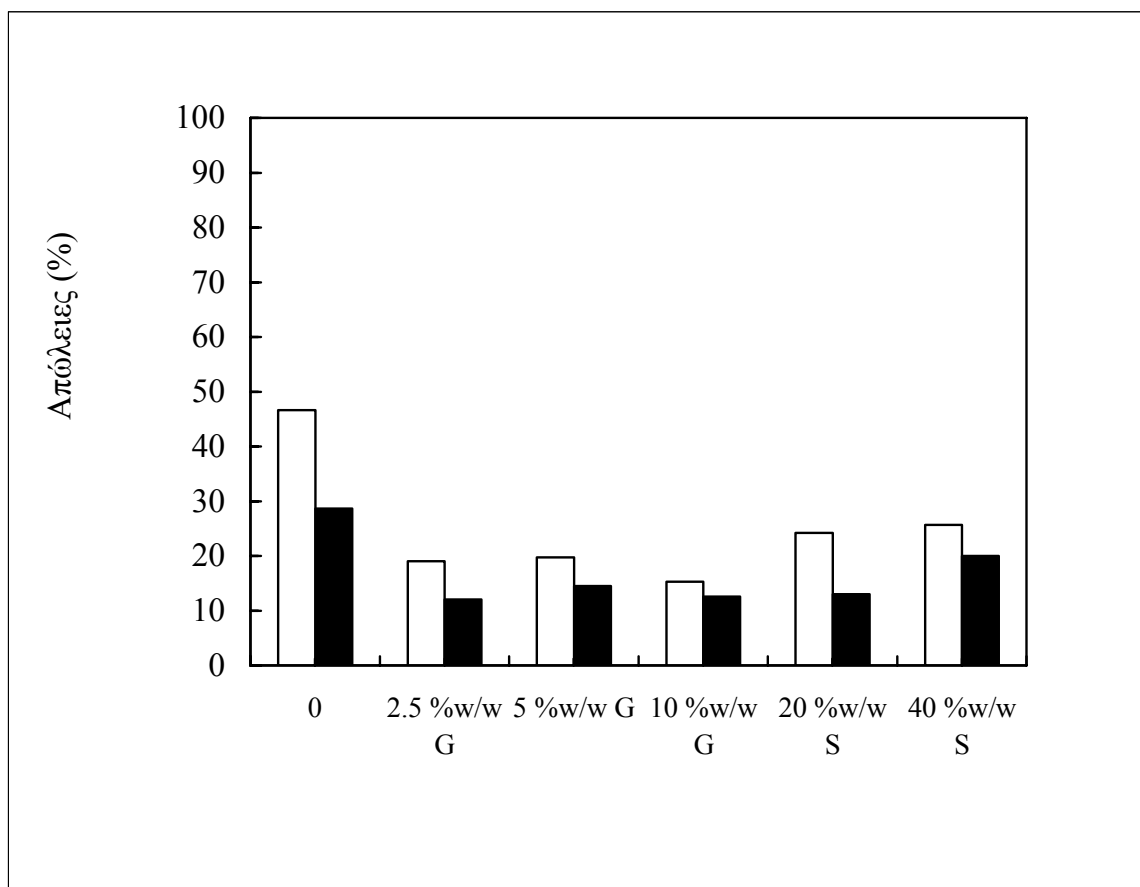
Πίνακας 26 : Συγκέντρωση σε ppm της ισοανηθόλης και της *trans*-ανηθόλης στο αιθέριο έλαιο του μάραθου που διέφυγε κατά την ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση και τη χρήση υλικών φραγμού

Υλικό φραγμού	ισοανηθόλη (ppm)	<i>trans</i> -ανηθόλη (ppm)
0	220±9,8	3083±143,0
2,5% ζελατίνη	90±10,0	1294±150,0
5% ζελατίνη	93±7,4	1558±107,0
10% ζελατίνη	72±5,6	1358±75,0
20% άμυλο	114±15,0	1402±57,0
40% άμυλο	121±14,0	2152±82,0

Από τον **Πίνακα 26** προκύπτει ότι η χρήση τόσο της ζελατίνης όσο και του του αμύλου έχει ως αποτέλεσμα την μείωση των απωλειών των δύο υπό μελέτη πτητικών συστατικών. Οι απώλειες των δύο υπό εξέταση πτητικών συστατικών από το αιθέριο έλαιο του φυτού δίνονται και ως ποσοστό συγκέντρωσης της ουσίας που χάθηκε, με τη χρήση του παρακάτω τύπου:

$$\text{Απώλειες \%} = \frac{\text{Απώλειες}}{\text{Συνολική συγκέντρωση ουσίας απουσία βιοπολυμερών}} \times 100$$

Σε αυτόν, ο παρανομαστής ισούται με τη συνολική συγκέντρωση της ουσίας απουσία βιοπολυμερών δηλαδή με το άθροισμα της ποσότητας της ουσίας που παραλήφθηκε από το φυτό και αυτής που παρελήφθη από το υπόλειμμα κατά την ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση χωρίς τη χρήση βιοπολυμερών και ο αριθμητής ισούται με τη συγκέντρωση της κάθε ουσίας στο υπόλειμμα. Τα αποτελέσματα και για τα δύο πτητικά συστατικά απουσία και παρουσία βιοπολυμερών, με τη χρήση του τύπου, δίνονται στο σχήμα που ακολουθεί.



Σχήμα 57: Απώλειες της *trans*-ανηθόλης (■) και της ισοανηθόλης (□) με τη χρήση βιοπολυμερών διαλυμάτων (S, starch) ή πηκτών (G, gelatine) ως υλικά φραγμού.

Από το **Σχήμα 57** γίνεται φανερό ότι η χρήση τόσο της ζελατίνης όσο και του αμύλου ως υλικά φραγμού έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση των απωλειών. Η ισοανηθόλη φαίνεται να επηρεάζεται περισσότερο από τη χρήση των υλικών φραγμού από την *trans*-ανηθόλη. Αν εστιάσει κανείς την προσοχή σε κάθε βιοπολυμερές χωριστά παρατηρείται αφενός μεν ότι τα διαλύματα του αμύλου οδηγούν σε σχετικά μεγαλύτερες απώλειες από ότι οι πηκτές της ζελατίνης, αφετέρου για το ίδιο βιοπολυμερές η συγκράτηση της ουσίας δεν φαίνεται να επηρεάζεται από τη συγκέντρωσή του. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η συγκέντρωση του βιοπολυμερούς επηρεάζει τις μηχανικές ιδιότητες, τόσο σε κατάσταση διαλύματος όσο και σε πηκτής, θα περίμενε κανείς μια διαφοροποίηση στις απώλειες για αυξανόμενη συγκέντρωση ζελατίνης και αμύλου.

Ταυτόχρονα, η μείωση των απωλειών παρουσία των βιοπολυμερών, σε συνδυασμό με την ελαττωμένη παραλαβή των ουσιών (**Πίνακας 25**) από το φυτό, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι μία ποσότητα των πτητικών ουσιών δεν έχει προσδιοριστεί. Μία πιθανή εξήγηση αυτού θα ήταν ότι τα βιοπολυμερή όχι μόνο παρεμποδίζουν, αλλά και συγκρατούν τα πτητικά συστατικά του αιθερίου ελαίου, μέσω κάποιου είδους αλληλεπίδρασης (μηχανικής ή χημικής), κάνοντας έτσι αδύνατη την απομόνωσή τους με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης.

Συμπερασματικά η χρήση βιοπολυμερών υλικών μειώνει τις απώλειες των δύο συστατικών που εξετάστηκαν κατά την ξήρανση με λυοφιλίωση. Μένει όμως να διευκρινιστεί ο τρόπος με τον οποίο αυτό επιτυγχάνεται

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Πρώτο Μέρος- Αρωματικά φυτά. Μελέτη της επίδρασης της μεθόδου παραλαβής- απομόνωσης

- Η μέθοδος της υδροαπόσταξης με συσκευή Clevenger όσο και η μέθοδος απομόνωσης SPME είναι εξίσου αποτελεσματικές στην παραλαβή-απομόνωση της κύριας χημικής ομάδας τερπενικών ουσιών που χαρακτηρίζει τα φυτά της ρίγανης, του τσαγιού του βουνού, της μέντας και του δυόσμου.
- Η μέθοδος της υδροαπόσταξης ήταν στατιστικά σημαντικά πιο ευαίσθητη από την SPME στις περιπτώσεις (τσάι του βουνού και δυόσμος) που τα αποτελέσματα των δύο μεθόδων διέφεραν.
- Η SPME αποδεικνύεται ευαίσθητη στην απομόνωση της ομάδας των σесκιτερπενικών υδρογονανθράκων

Δεύτερο μέρος. Αρωματικά φυτά –Μελέτη της εποχικής διακύμανσης

- Το αιθέριο έλαιο του φυτού του σχίνου χαρακτηρίζεται από πολύ μικρές αποδόσεις (0,15-0,30%v/w) και μικρή αντιοξειδωτική δράση ($IC_{50} = 5,8g/L$). Οι μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες και τα οξυγονωμένα σесκιτερπένια διαφοροποιούν τη χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του φυτού μεταξύ των εποχών που εξετάστηκαν.
- Το αιθέριο έλαιο του φυτού της μυρτιάς χαρακτηρίζεται από μικρές αποδόσεις σε όλα τα στάδια του βιολογικού του κύκλου που εξετάστηκαν (1,20-1,45% v/w) και μικρή αντιοξειδωτική δράση ($IC_{50} = 5,6g/L$). Η διάκριση των εποχών οφείλεται στις μεταβολές στη συγκέντρωση των: οξικού εστέρα της μυρτενόλης, μυρτενόλη, οξικού εστέρα της λιναλοόλης, λιναλοόλη και α -πινενίου.
- Το θυμάρι χαρακτηρίζεται από υψηλή απόδοση σε αιθέριο έλαιο κυρίως στο στάδιο της καρποφορίας. Σε όλα τα στάδια του βιολογικού κύκλου του φυτού που εξετάστηκαν το αιθέριο έλαιο παρουσιάζει υψηλή αντιοξειδωτική δράση ($IC_{50} = 0,4g/L$) οφειλόμενη στην περιεχόμενη καρβακρόλη, η οποία έχει την ίδια τιμή IC_{50} . Οι συγκεντρώσεις των p -κυμενίου και γ -τερπινενίου διαφοροποιούν τη χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του θυμαριού μεταξύ των περιόδων που εξετάστηκαν.
- Το φυτό της θρούμπης χαρακτηρίζεται από υψηλές αποδόσεις σε αιθέριο έλαιο κυρίως στις περιόδους άνθησης και καρποφορίας. Η υψηλή αντιοξειδωτική δράση ($IC_{50} = 0,3g/L$) που προσδιορίστηκε σε όλα τα στάδια του βιολογικού κύκλου του φυτού που μελετήθηκαν, συνδέεται με την περιεκτικότητα του αιθερίου ελαίου σε θυμόλη. Η εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου της

θρούμπης οφείλεται στις μεταβολές στη συγκέντρωση των: θυμόλη, *p*-κυμένιο, *γ*-τερπινένιο και *trans*-καρνοφυλλένιο

- Το φασκόμηλο παρουσιάζει υψηλή απόδοση σε αιθέριο έλαιο κατά την μετά την καρποφορία περίοδο. Η αντιοξειδωτική δράση του αιθερίου ελαίου του φυτού δεν σχετίζεται με την κύρια ουσία, αλλά συσχετίζεται ισχυρά θετικά με τις ομάδες των οξυγονωμένων σεσκιτερπενίων και των οξυγονωμένων διτερπενίων. Η εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου οφείλεται στις μεταβολές στη συγκέντρωση των ομάδων των οξυγονωμένων σεσκιτερπενίων και διτερπενίων.
- Το δενδρολίβανο χαρακτηρίζεται από υψηλή απόδοση σε αιθέριο έλαιο κατά την πλήρη άνθηση και την μετά την καρποφορία περίοδο. Η αντιοξειδωτική δράση του αιθερίου ελαίου του φυτού δεν οφείλεται στην κύρια ουσία αλλά και δεν συσχετίστηκε με κάποια ομάδα συστατικών. Δεν παρατηρήθηκε εποχική διακύμανση στη χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του φυτού.

Τρίτο Μέρος. Αρωματικά φυτά –Μελέτη της επίδρασης του χρόνου ξήρανσης και της μείωσης των απωλειών πτητικών συστατικών κατά την ξήρανση με λυοφιλίωση. Σύγκριση με τη συμβατική ξήρανση στον αέρα.

- Η ξήρανση με ρεύμα θερμού αέρα στους (60° C για 48h) διατηρεί την αναλογία των κύριων συστατικών του αφυδατωμένου προϊόντος πιο κοντά σε αυτό του φρέσκου μάραθου.
- Η ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση μεταβάλλει το αρωματικό προφίλ του αιθερίου ελαίου του μάραθου (μείωση της συγκέντρωσης της *trans*-ανηθόλης, αύξηση της ισοανηθόλης).
- Η ξήρανση με κατάψυξη-εξάχνωση διάρκειας 24h διατηρεί τα ποσοστά των συστατικών του αιθερίου ελαίου του μάραθου πιο κοντά σε αυτά του φρέσκου.

Μελέτη της επίδρασης βιοπολυμερών στη συγκέντρωση πτητικών συστατικών κατά την ξήρανση με λυοφιλίωση

- Η χρήση βιοπολυμερών υλικών μειώνει τις απώλειες των δύο συστατικών που εξετάστηκαν κατά την ξήρανση με λυοφιλίωση.
- Πιθανά κάποια ποσότητα πτητικών συστατικών να παγιδεύεται από τα βιοπολυμερή υλικά.

- Και τα δύο βιοπολυμερή λειτούργησαν προς την κατεύθυνση της μείωσης των απωλειών των δύο κύριων πτητικών συστατικών του μάραθου.

Προτάσεις

- Για τα φυτά του σχίνου και της μυρτιάς θα ήταν ενδιαφέρουσα η μελέτη της εποχικής διακύμανσης της σύστασης του αιθερίου ελαίου σε μηνιαία βάση.
- Η μέτρηση της αντιοξειδωτικής δράσης των καθαρών ουσιών της βιριντιφλορόλης και μανουλοόλης θα διευκρίνιζε τις τιμές της αντιοξειδωτικής δράσης του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου.
- Αναζήτηση της αντιοξειδωτικής δράσης του δενδρολίβανου σε συνεργιστική δράση των συστατικών του αιθερίου ελαίου του.
- Μελέτη της συγκράτησης της trans-ανηθόλης και της ισοανηθόλης από τα δύο βιοπολυμερή υλικά (ζελατίνη, άμυλο).
- Μελέτη του τρόπου δράσης των βιοπολυμερών στη συγκράτηση των πτητικών συστατικών.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Περίληψη

Στην εργασία αυτή συγκρίθηκε η μέθοδος παραλαβής αιθερίων ελαίων με τη συσκευή Clevenger με μια μέθοδο απομόνωσης, την μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME). Η μελέτη έγινε στα φυτά της ρίγανης (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*), του τσαγιού του βουνού (*Sideritis* spp.), της μέντας (*Mentha* spp.) και του δυόσμου (*Mentha* spp.). Στόχος ήταν η μελέτη της επίδρασης της μεθόδου διαχωρισμού στη σύσταση των αιθερίων ελαίων. Από την ανάλυση των αιθερίων ελαίων που έγινε με GC-MS βρέθηκε ότι η κύρια χημική ομάδα τερπενικών ουσιών που χαρακτηρίζει το κάθε φυτό προσδιορίζεται εξίσου καλά και με τις δύο μεθόδους. Η μέθοδος της υδροαπόσταξης ήταν στατιστικά σημαντικά πιο ευαίσθητη από την SPME στις περιπτώσεις (τσάι του βουνού και δυόσμος) που τα αποτελέσματα των δύο μεθόδων διέφεραν.

Αντικείμενο μελέτης της παρούσας διατριβής αποτέλεσε η εποχική διακύμανση της χημικής σύστασης των αιθερίων ελαίων έξι αρωματικών φυτών: μυρτιά (*Myrtus communis* L.), σχίνος (*Pistacia lentiscus* L.), θυμάρι (*Coridothymus capitatus* Reinchenb. fil.), θρούμπη (*Satureja thymbra* L.), φασκόμηλο (*Salvia fruticosa* Miller), δενδρολίβανο (*Rosmarinus officinalis* L.). Η περιοχή που μελετήθηκε ήταν η Ζάκυνθος, είναι δε η πρώτη φορά που μελετάται η εν λόγω περιοχή. Η συλλογή έγινε κατά τη διάρκεια δύο ετών (2005 και 2006) σε τρία διαφορετικά στάδια ανάπτυξης των φυτών. Η απόδοση σε αιθέριο έλαιο των υπό μελέτη φυτών έδειξε ότι ο σχίνος (0,15-0,30% v/w) και η μυρτιά (1,20-1,45% v/w) χαρακτηρίζονται από μικρές αποδόσεις σε όλες τις περιόδους συλλογής. Η απόδοση σε αιθέριο έλαιο των τεσσάρων φυτών της οικογένειας Labiatae που μελετήθηκαν (θυμάρι, θρούμπη, φασκόμηλο, δενδρολίβανο) ήταν υψηλότερη από τα προαναφερόμενα φυτά. Ιδιαίτερα υψηλή απόδοση μετρήθηκε τόσο στις περιόδους της καρποφορίας (Αύγουστος) όσο και στις περιόδους της άνθησης (Μάιος). Με τον ποιοτικό προσδιορισμό των συστατικών, που έγινε με GC-MS, χαρακτηρίστηκε το μεγαλύτερο ποσοστό (78,4-98,7%) των συστατικών των αιθερίων ελαίων που παραλήφθηκαν με τη συσκευή Clevenger. Η μέθοδος της διακριτικής ανάλυσης που εφαρμόστηκε έδειξε ότι υπάρχει επίδραση της εποχικότητας στη σύσταση των αιθερίων ελαίων των φυτών που εξετάστηκαν εκτός από την περίπτωση του δενδρολίβανου. Το αιθέριο έλαιο του δενδρολίβανου σε κάθε εποχή συλλογής του φαίνεται να έχει σταθερή χημική σύσταση.

Η μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των ίδιων φυτών σε συνάρτηση με την εποχή συλλογής έγινε με τη μέθοδο δέσμευσης της ελεύθερης ρίζας DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Τα αιθέρια έλαια των φυτών της μυρτιάς και του σχίνου, έχουν μικρή αντιοξειδωτική δράση ($IC_{50} = 5,6$ και $5,8$ g/L αντίστοιχα). Τα αιθέρια έλαια του θυμαριού ($IC_{50} = 0,4 \pm 0,1$ g/L) και της θρούμπης ($IC_{50} = 0,3 \pm 0,02$ g/L) έχουν σταθερά υψηλή αντιοξειδωτική δράση, σε όλες τις περιόδους που μελετήθηκαν, που αποδίδεται στην υψηλή

περιεκτικότητα καρβακρόλης και θυμόλης αντίστοιχα. Η αντιοξειδωτική δράση του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου ($IC_{50} = 2,4-5,2g/L$), δεν συσχετίζεται με την κύρια ουσία, την 1,8 κινεόλη συσχετίζεται όμως ισχυρά θετικά με τις ομάδες των οξυγονωμένων σεσκιτερπενίων και των οξυγονωμένων διτερπενίων. Η αντιοξειδωτική δράση του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου ($IC_{50} = 2,3-4,3g/L$) δεν συσχετίζεται με την κύρια ουσία που είναι πάλι η 1,8 κινεόλη ενώ μικρή συσχέτιση βρέθηκε να έχει με την ομάδα των σεσκιτερπενικών υδρογονανθράκων.

Η μέθοδος της ξήρανσης με κατάψυξη-εξάχνωση (λυοφιλίωση) έχει χρησιμοποιηθεί από ερευνητές με αντιφατικά αποτελέσματα σχετικά με τη σύσταση του αιθερίου ελαίου αρωματικών φυτών. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της λυοφιλίωσης στη σύσταση του αιθερίου ελαίου του μάραθου. Παρατηρήθηκε ότι η αναλογία της *trans*-ανηθόλης και της ισοανηθόλης στο αιθέριο έλαιο του φυτού όταν αυτό αφυδατώθηκε με τη μέθοδο της λυοφιλίωσης διέφερε από αυτήν που μετρήθηκε στο φρέσκο φυτό. Αντίθετα η ξήρανση με ρεύμα θερμού αέρα στους ($60^{\circ} C$ για 48h) διατηρεί την αναλογία των δύο πτητικών συστατικών του αφυδατωμένου προϊόντος πιο κοντά σε αυτή του φρέσκου μάραθου.

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η επίδραση βιοπολυμερών υλικών στη συγκράτηση των κύριων πτητικών συστατικών κατά την ξήρανση με λυοφιλίωση του μάραθου. Βρέθηκε ότι η χρήση βιοπολυμερών υλικών μειώνει τις απώλειες της *trans*-ανηθόλης και της ισοανηθόλης ενώ πιθανά κάποια ποσότητα να παγιδεύεται από τα βιοπολυμερή υλικά που χρησιμοποιήθηκαν.

ABSTRACT

Abstract

Hydrodistillation (HD) and solid phase microextraction (SPME) were employed to isolate essential oil from dry leaves and stems of oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*), mountain tea (*Sideritis* spp.), spearmint (*Mentha* spp.) and peppermint (*Mentha* spp.). The main compounds present in the essential oil of the plants were isolated by both techniques. The two techniques were compared by gas chromatography–mass spectrometry. The two techniques proved statistically identical except for the essential oil composition of mountain tea and peppermint. In those cases hydrodistillation was found to be statistically more sensitive than SPME.

The seasonal variation of the essential oil composition of six aromatic wild plants, *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) and *Myrtus communis* L. (Myrtaceae), *Coridothymus capitatus* Reinchenb. fil. (Lamiaceae), *Satureja thymbra* (Lamiaceae), *Salvia fruticosa* Miller (Lamiaceae), *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae), grown in Zakynthos, a Greek island, was investigated. The aerial parts of the plants were collected at the end of February, May, and August of 2005 and 2006. The essential oil was obtained by hydrodistillation and subsequently analysed by GC–MS. The yields of the essential oil obtained from the leaves of *P. lentiscus* L. (0.15-0.30%v/w) and *M. communis* L. (1.20-1.45% v/w) were low and did not vary with seasons. The yields obtained from the aerial part of *C. capitatus* (1.5-3.8% v/w), *S. thymbra* (1.7-4.8% v/w), *S. fruticosa* (1.6-3.2% v/w) and *R. officinalis* (1.8-3.3% v/w), were found higher during the fruiting (August) and flowering period. The discriminant analysis showed that the chemical composition of the essential oils were different across the seasons studied except for the rosmarinus essential oil the composition of which remained almost unchanged with season.

Free radical-scavenging activity of the samples was evaluated with the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil radical) assay. The essential oil of *P. lentiscus* and *M. communis* exhibited low antioxidant activity ($IC_{50} = 5,8$ και $5,6$ g/L respectively). The high antioxidant activities of *C. capitatus* ($IC_{50} = 0,4 \pm 0,1$ g/L) and *S. thymbra* ($IC_{50} = 0,3 \pm 0,02$ g/L) essential oils were directly correlated to the high carvacrol and thymol content respectively. No significant difference was observed in the IC_{50} values among the seasons for both plants. The antioxidant activity of sage oil ($IC_{50} = 2,4-5,2$ g/L) was much higher than that of the main essential oil compound 1.8 cineole (not active). A significant linear correlation was found between oxygenated sesquiterpene ($r=0,9125$, $p < 0,05$) and oxygenated diterpenene concentration ($r = 0,9060$, $p < 0,05$) with the free radical scavenging activity. The IC_{50} values of rosemary oil ($IC_{50} = 2,3-4,3$ g/L) although similar to those of sage cannot be related to any compound or chemical group. The synergistic action of minor compounds may explain the results obtained from the DPPH assay.

This work was also aimed to study the influence of freeze drying time to essential oil composition of fennel plant. Freeze drying process changed the proportion of the main essential oil compounds (*trans*-anethole and isoanethole) whereas oven drying (60° C for 48h) preserved the primary aroma compounds found in fresh fennel.

The effect of biopolymers (gels or solutions) on the retention of isoanethole and *trans*-anethole during the freeze drying process of fennel was also investigated. It was found that biopolymers were effective in the retention of volatile compounds acting thus as surface barriers. It is also possible a part of aromatic compounds to be retained by the biopolymers' layer through mechanical or chemical interactions.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Ορισμοί

Χημειότυπος

Μικρές διαφορές στο γονότυπο ατόμων του ίδιου είδους επηρεάζουν σημαντικά την χημική σύσταση των δευτερογενών μεταβολιτών (δημιουργία χημειοτύπων) χωρίς ωστόσο να μεταβάλλουν την μορφολογία τους. (<http://www.wikipedia> Definition from *Encyclopedia Dictionaries & Glossaries*)

Δεσμευμένο νερό (bound water): είναι το μέρος εκείνο του νερού, που περιέχει το προϊόν, το οποίο παρουσιάζει τάση ατμών μικρότερη από την τάση ατμών του καθαρού νερού στην ίδια θερμοκρασία.

Αδέσμευτο νερό (unbound water) : είναι το μέρος εκείνο του νερού, που περιέχει το προϊόν, το οποίο παρουσιάζει τάση ατμών ίση με την τάση ατμών του καθαρού νερού στην ίδια θερμοκρασία.

Κίνηση με διάχυση-Νόμος του Fick

Ο ρυθμός μεταφοράς μιας ουσίας με μοριακή διάχυση ανά μονάδα επιφάνειας σε ένα ομογενές υλικό είναι ανάλογος της βαθμού συγκέντρωσης κατά διεύθυνση κάθετη προς την επιφάνεια. Η σταθερά αναλογίας είναι ίση με το συντελεστή διάχυσης D .

$$J_A = -D \frac{dc_A}{dz}$$

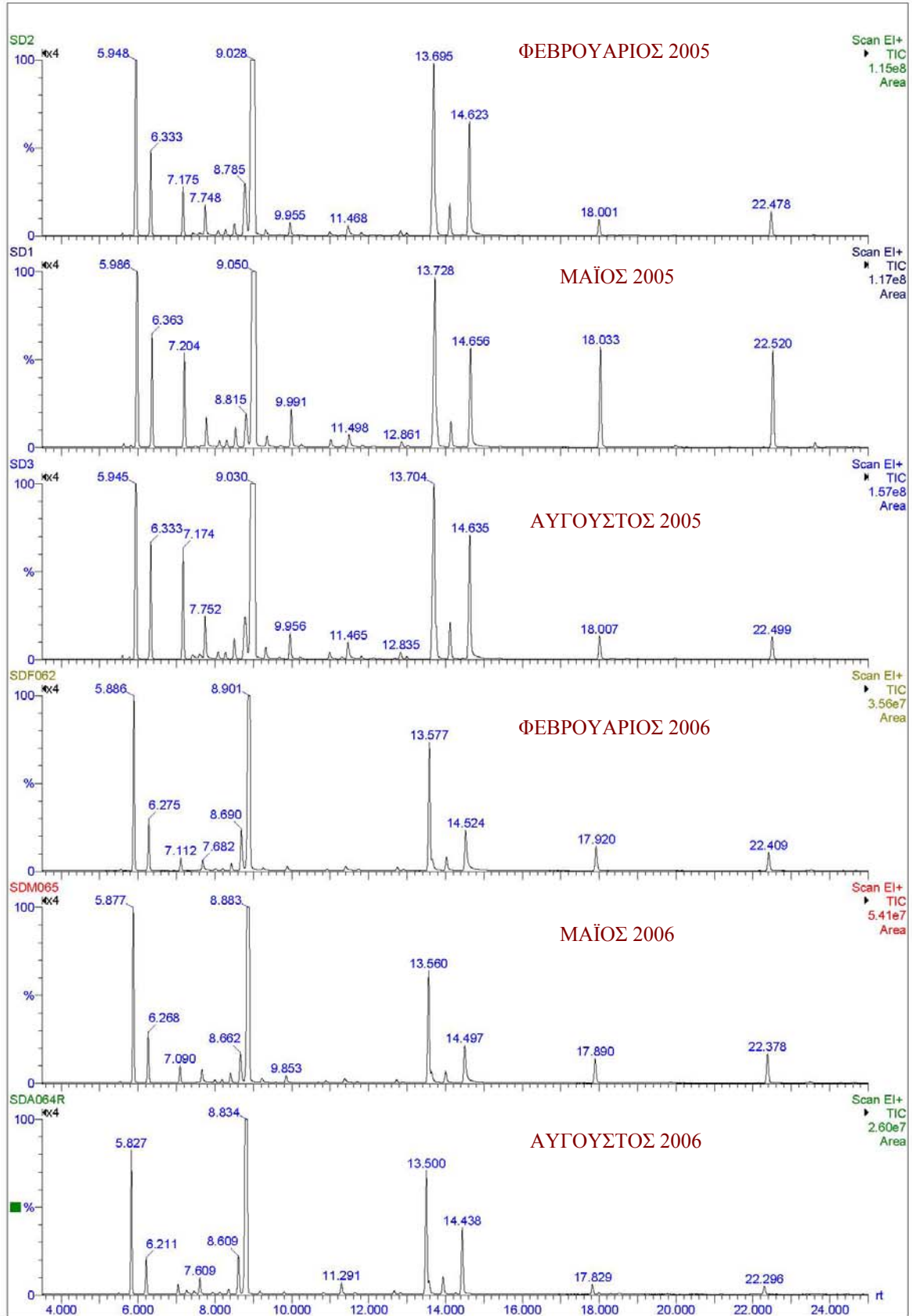
όπου:

J_A ρυθμός μεταφοράς μάζας, ήτοι μάζα της ουσίας A που μεταφέρεται ανά μονάδα επιφάνειας στη μονάδα του χρόνου, $\text{kmol/m}^2 \text{ s}$

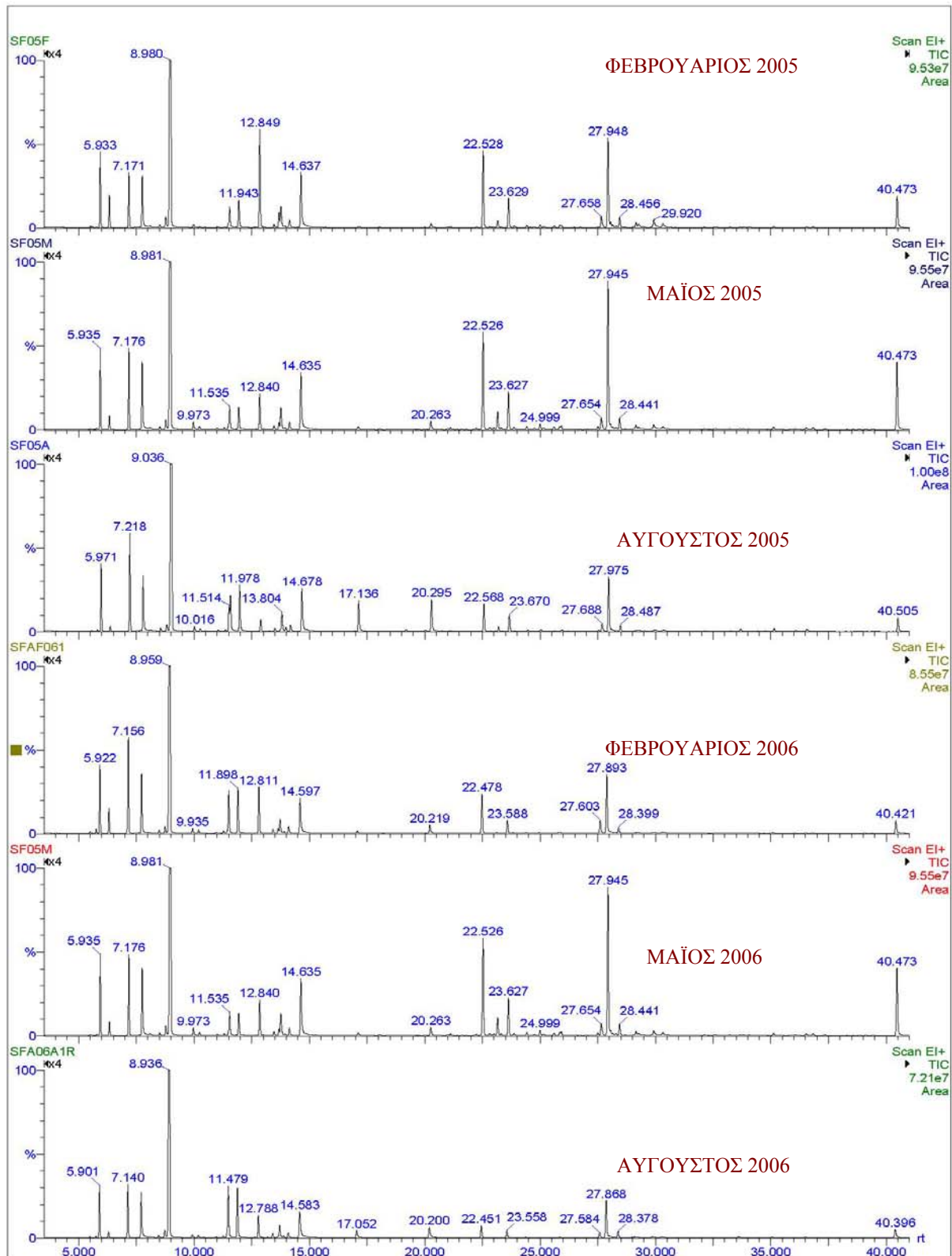
c_A συγκέντρωση της ουσίας A , kmol/m^3

z απόσταση κατά τη διεύθυνση διάχυσης, m

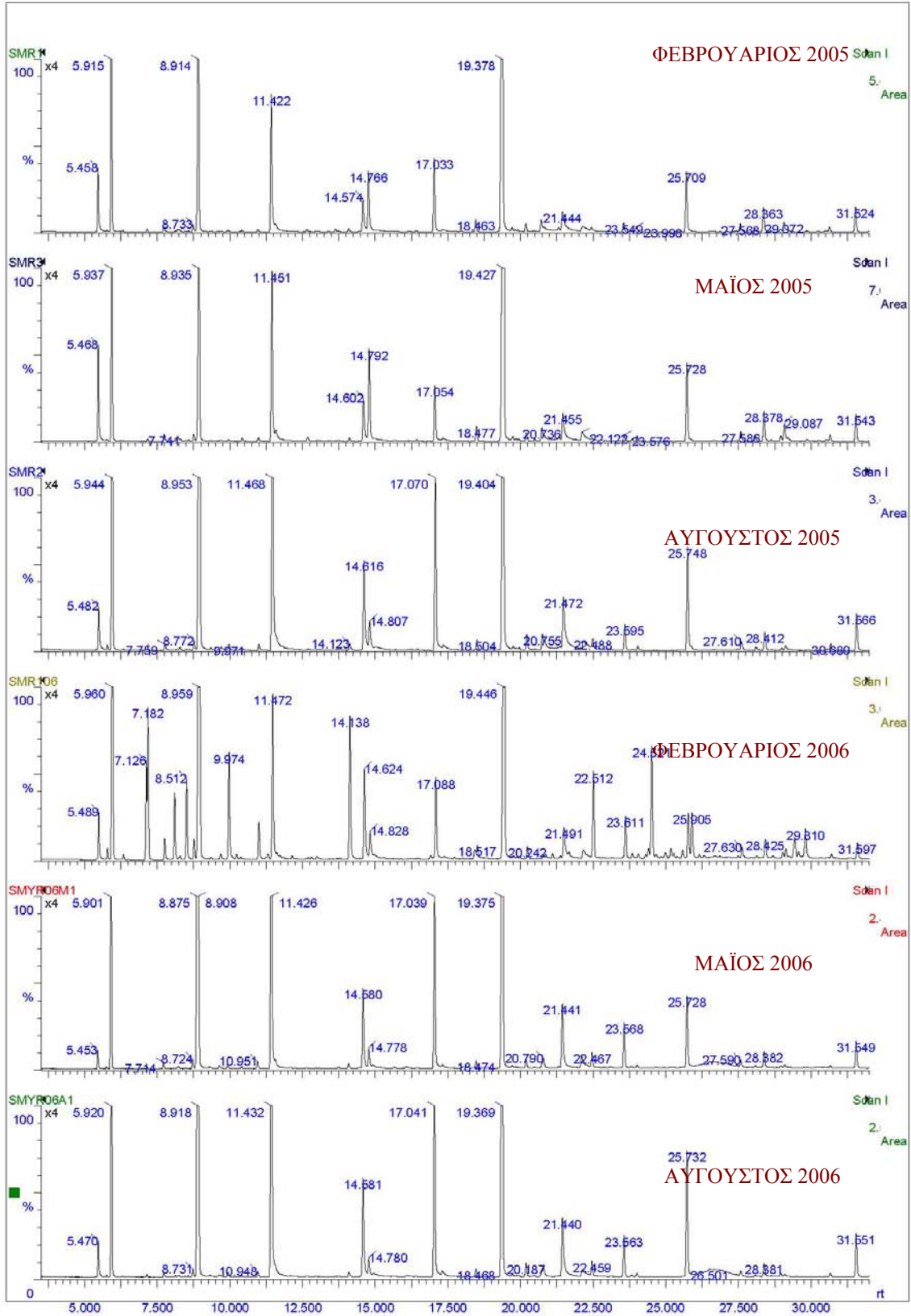
D συντελεστής διάχυσης της ουσίας A , m^2/s



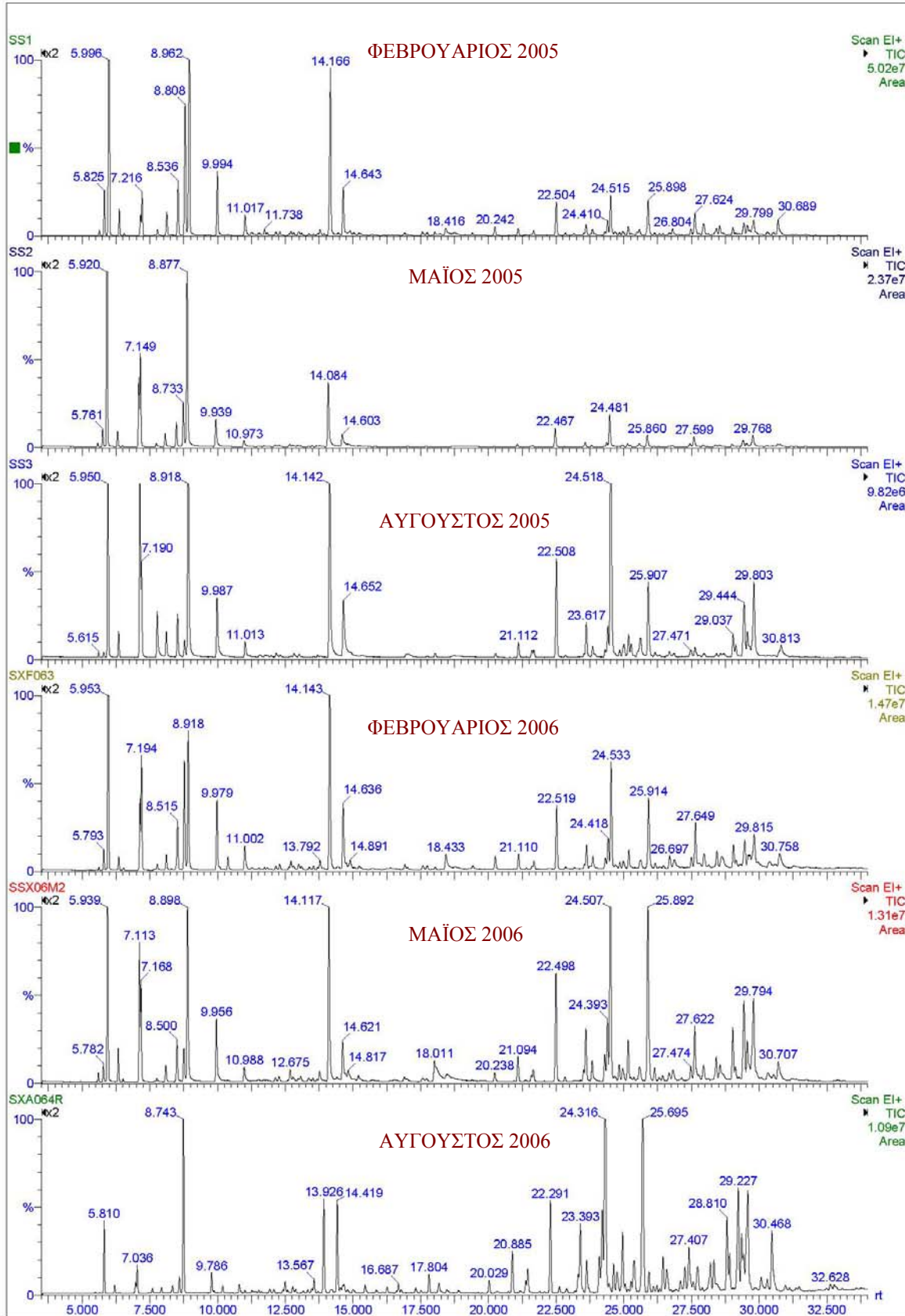
Σχήμα 58: Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου δενδρολίβανου από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού



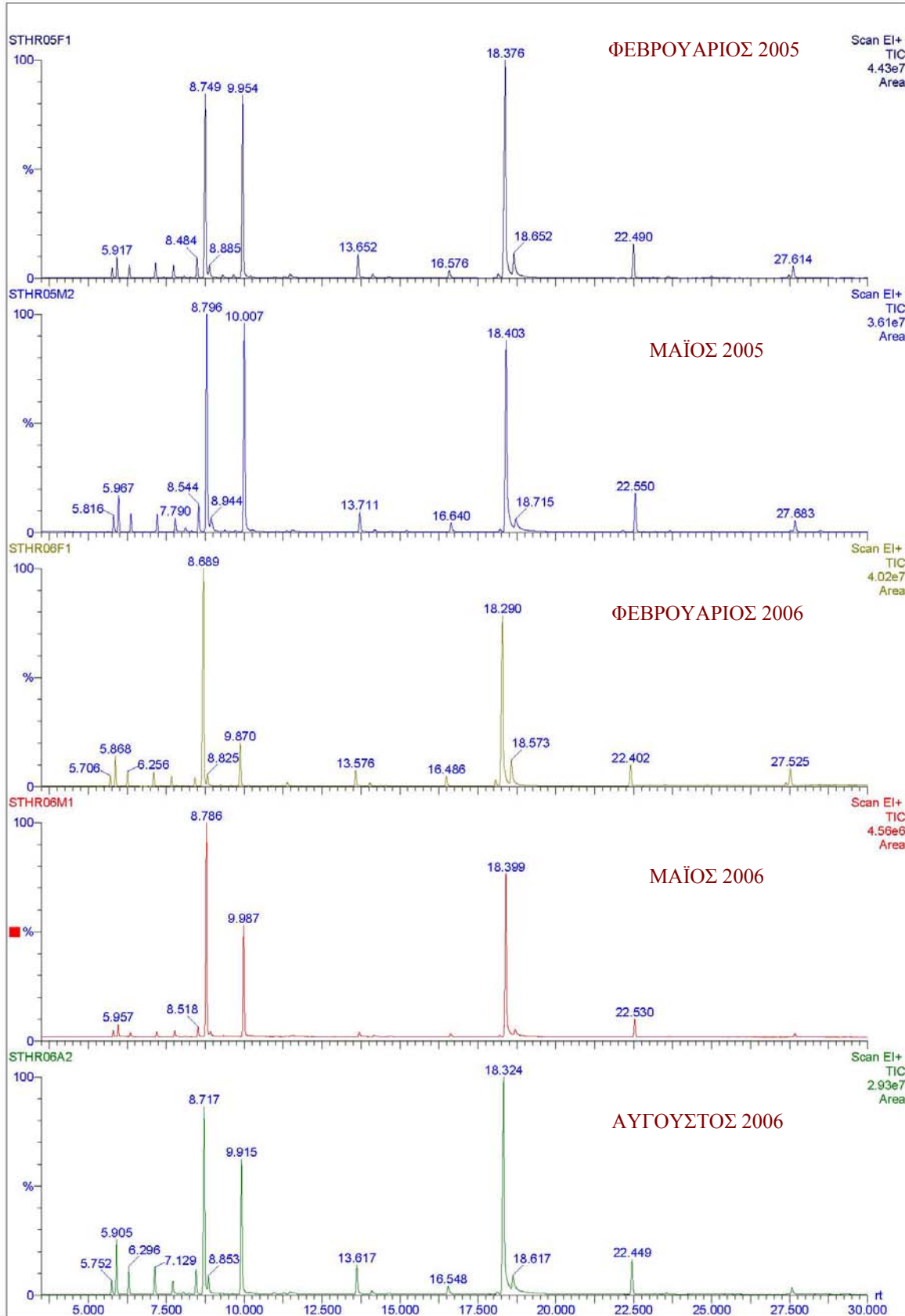
Σχήμα 59: Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου φασκόμηλου από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού



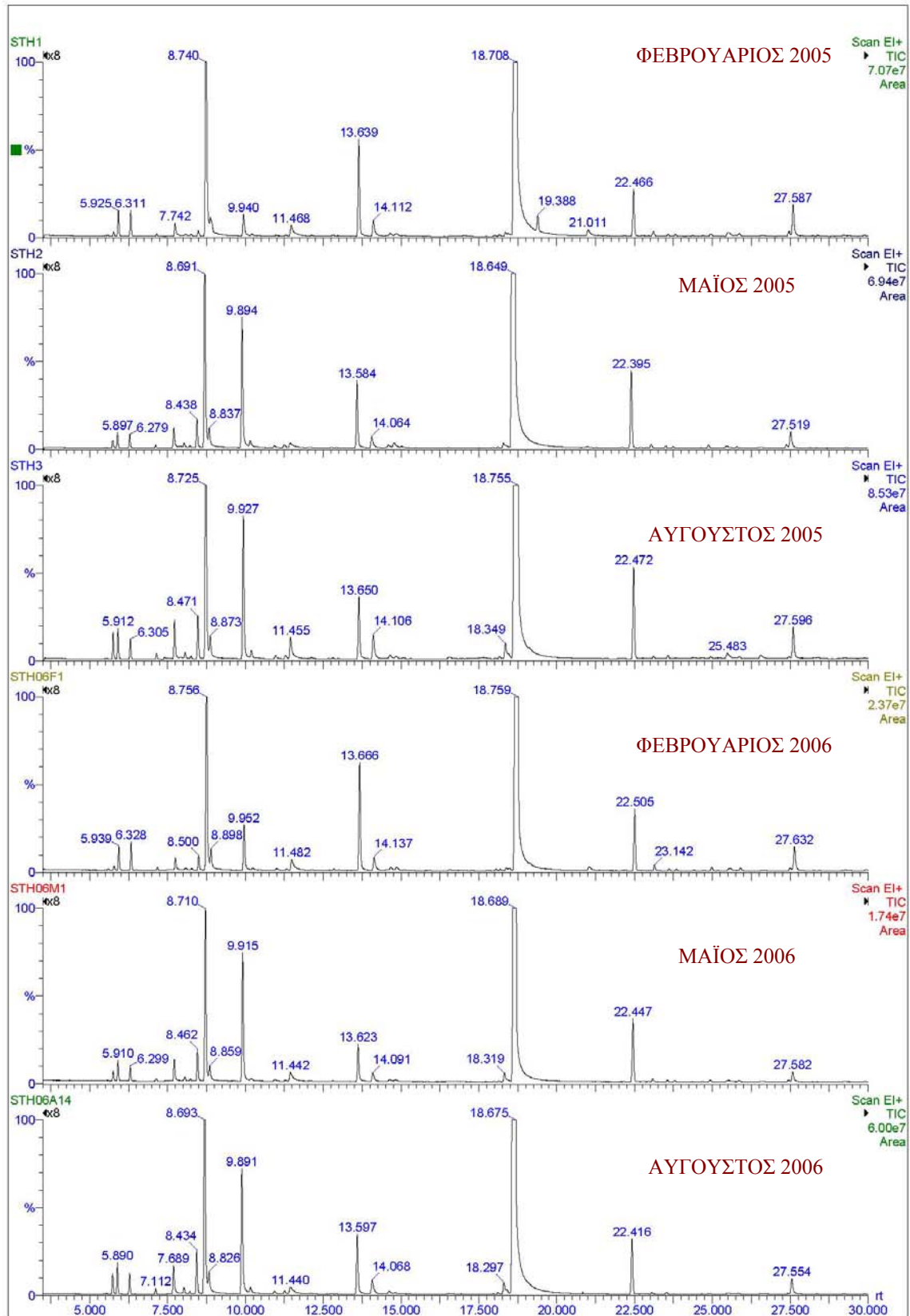
Σχήμα 60: Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου μυρτιάς από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού



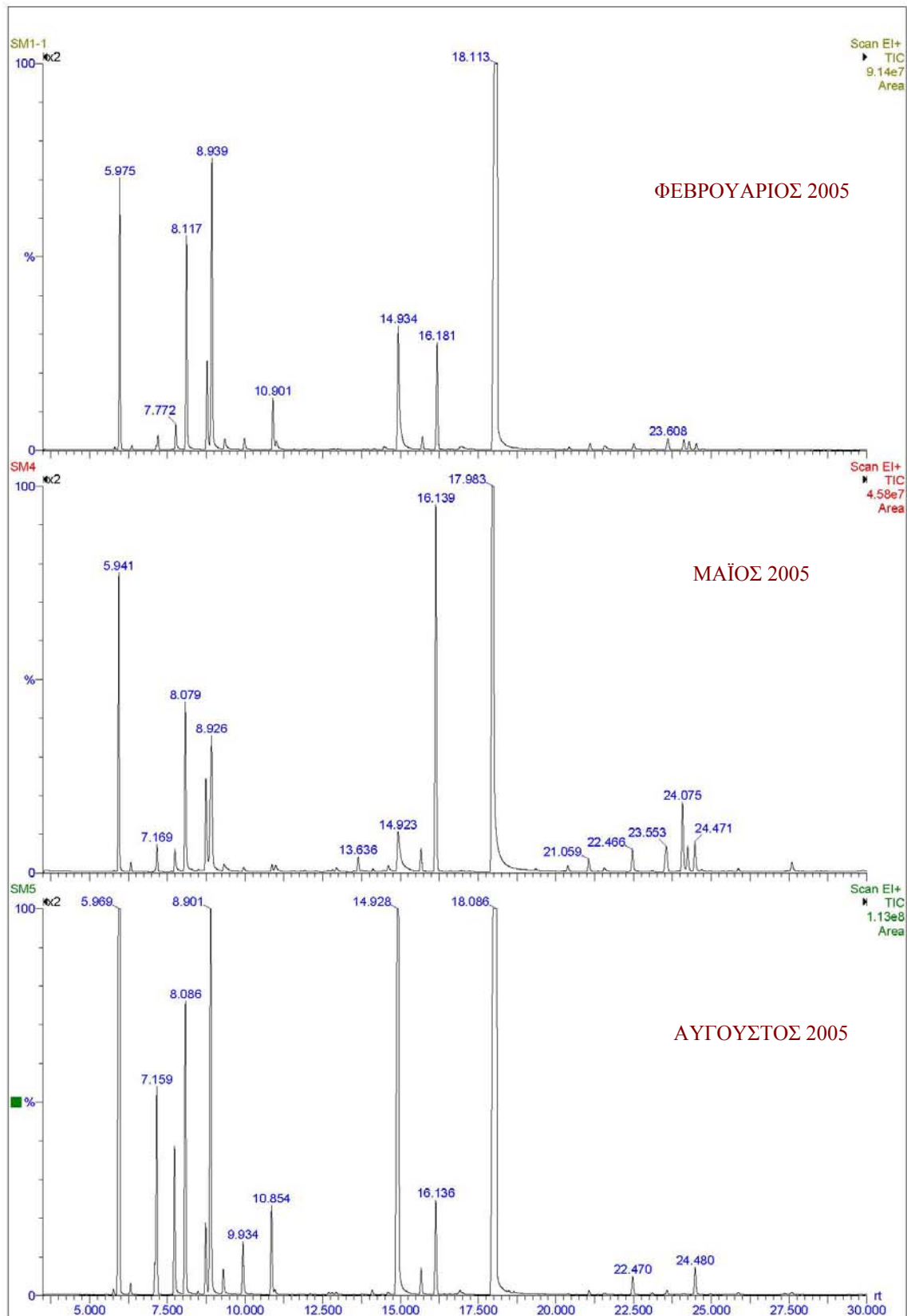
Σχήμα 61: Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου σχίνου από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού



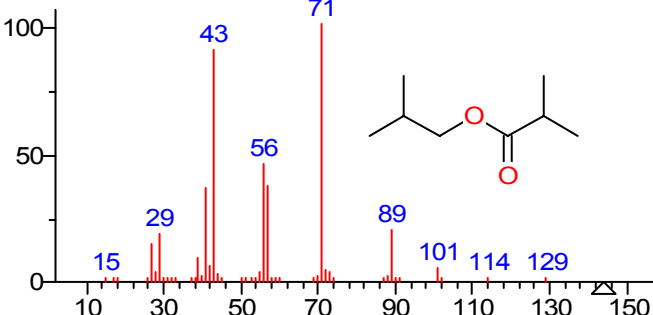
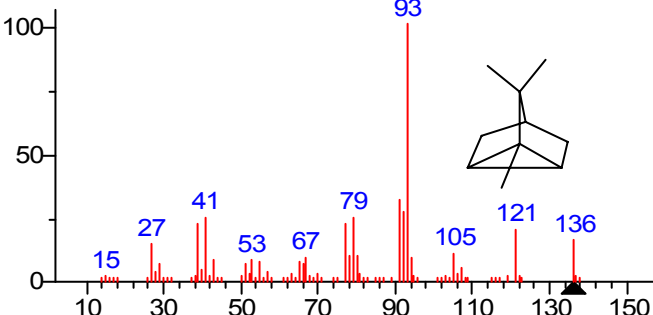
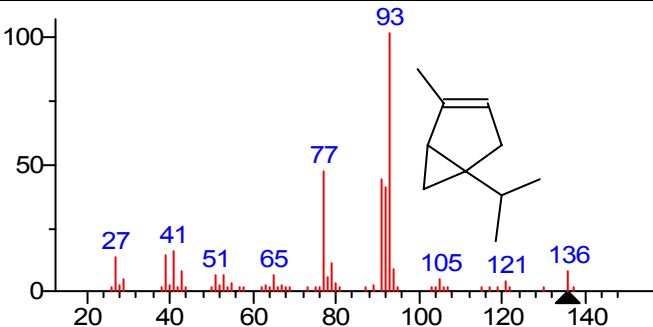
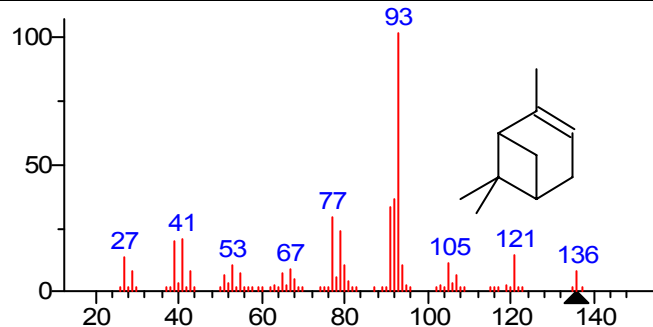
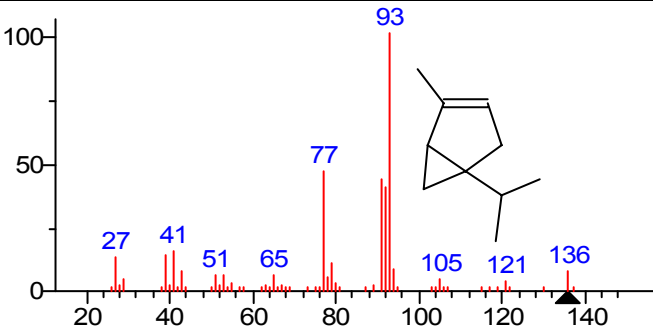
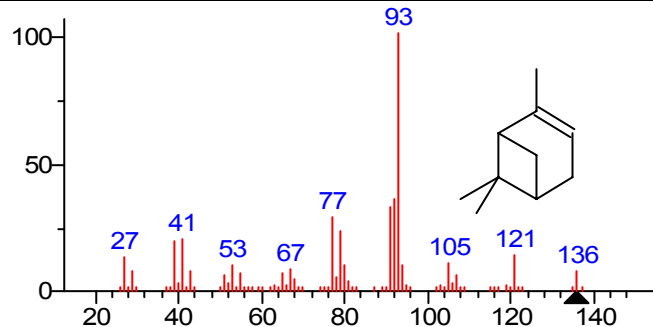
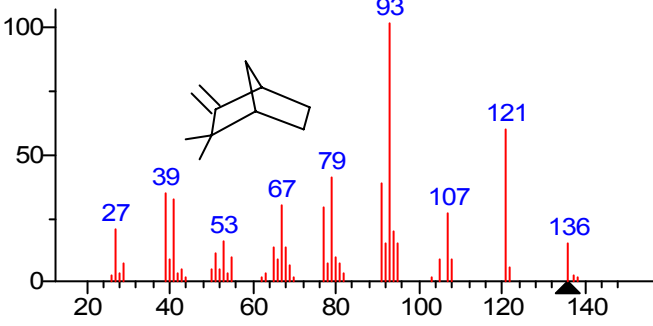
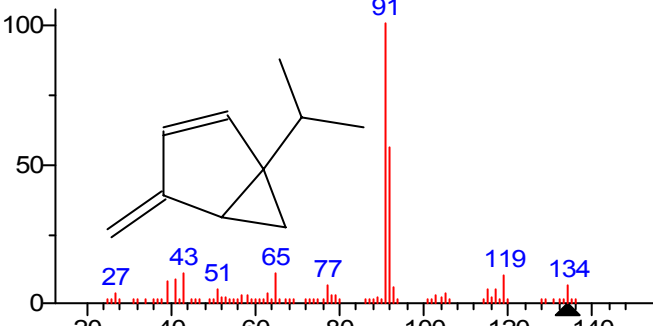
Σχήμα 62: Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου του φυτού θρούμπι από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού

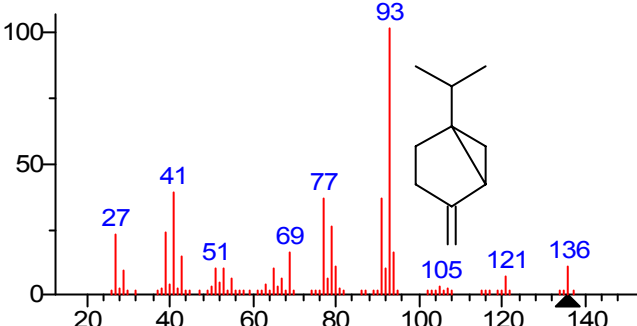
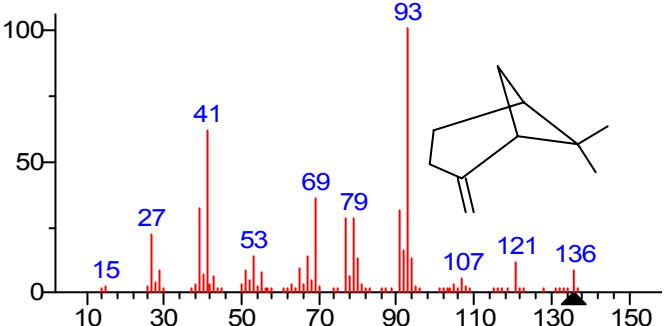
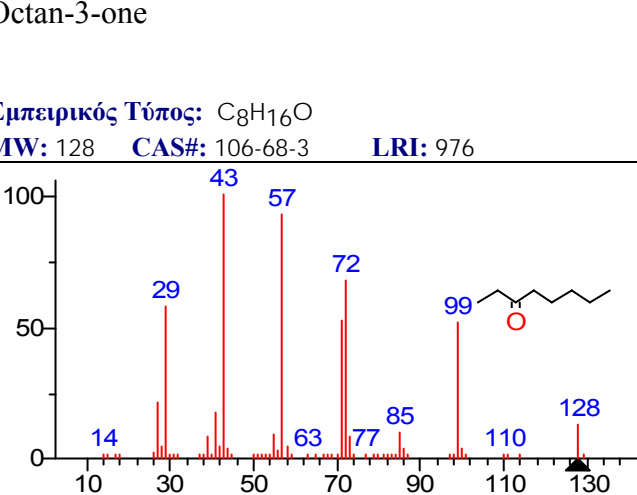
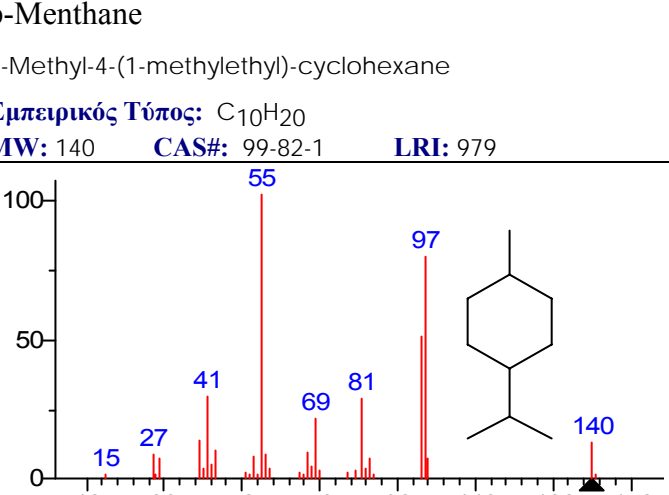
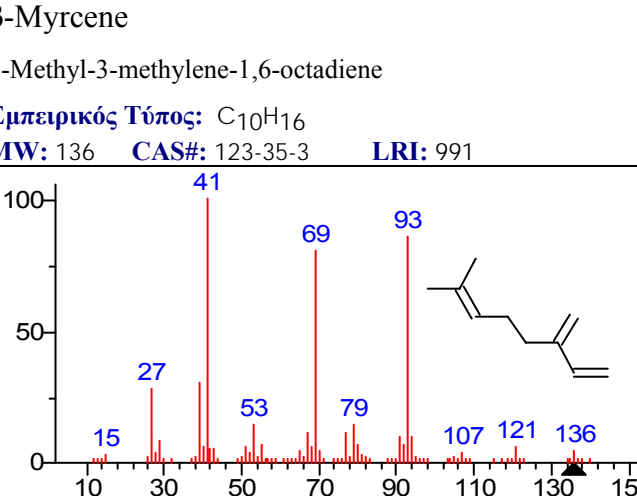
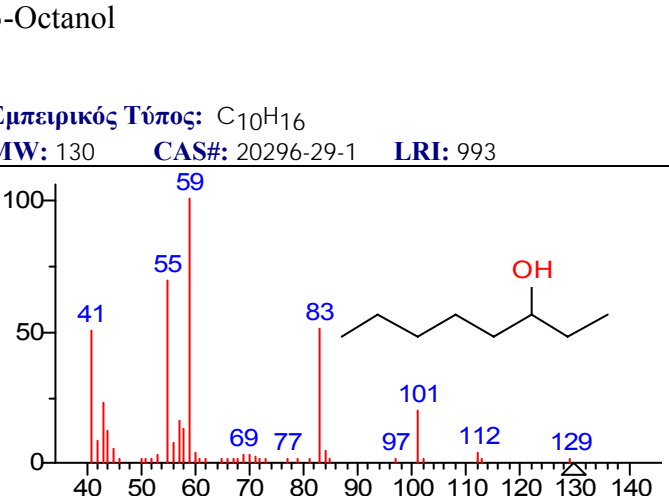


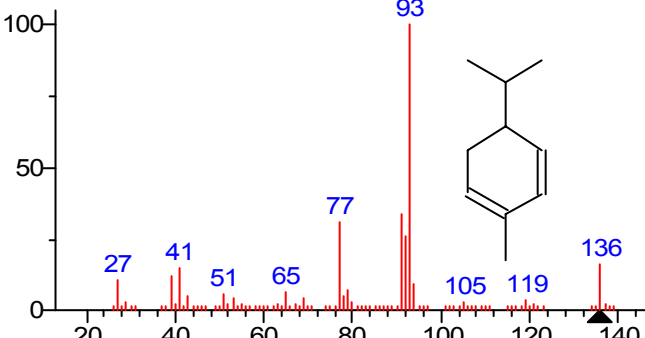
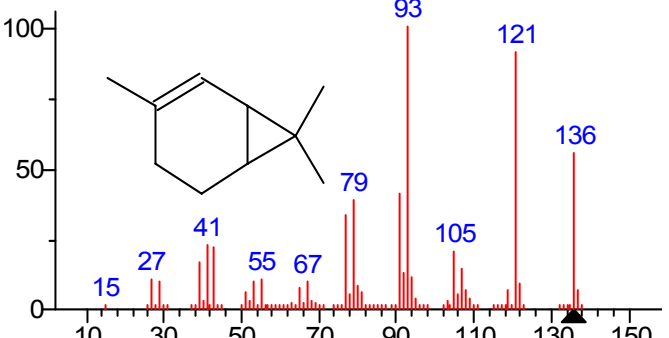
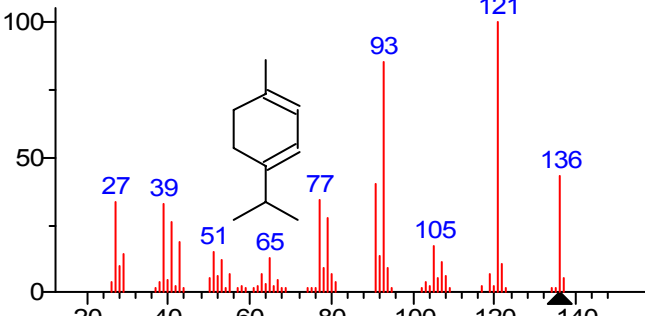
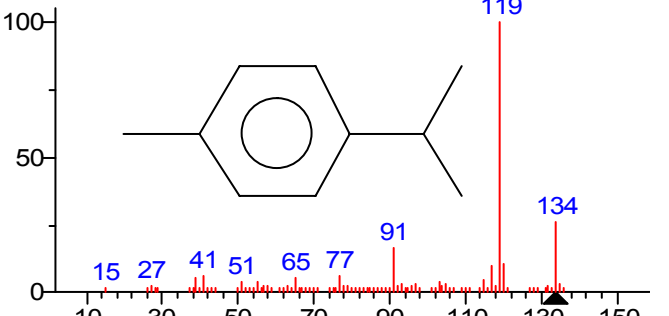
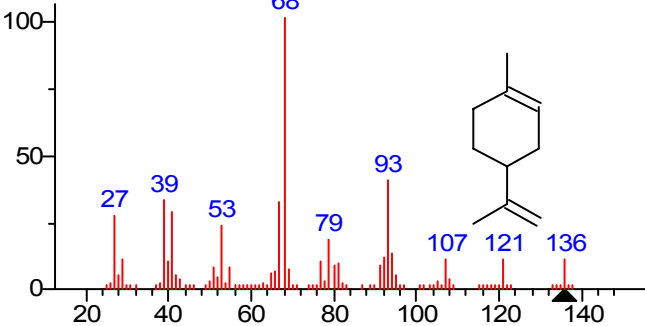
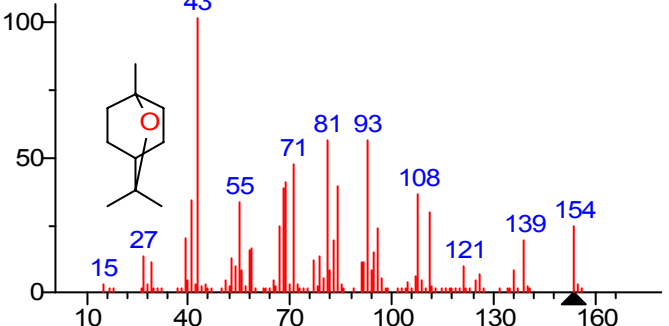
Σχήμα 63: Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου θυμαριού από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού

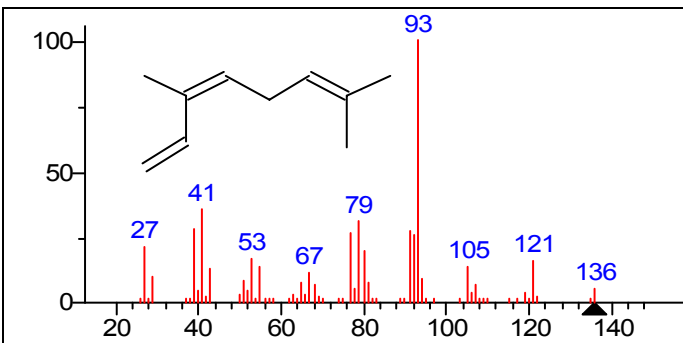


Σχήμα 64: Τυπικό χρωματογράφημα (TIC) αιθερίου ελαίου μάραθου από διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του φυτού

<p>Isobutyl isobutyrate Propanoic acid, 2-methyl-, 2-methylpropyl ester Εμπειρικός Τύπος: C₈H₁₆O₂ MW: 144 CAS#: 97-85-8 LRI: 898</p>  <p><chem>CC(C)CCOC(=O)C(C)C</chem></p>	<p>Tricyclene Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,7,7-trimethyl- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 508-32-7 LRI: 930</p>  <p><chem>CC1(C)C2C(C1)C3C2C(C3)C</chem></p>
<p>α-Thujene Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 2867-05-2 LRI: 936</p>  <p><chem>CC1C=CC2C1C(C)C2</chem></p>	<p>α-Pinene Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 80-56-8 LRI: 940</p>  <p><chem>CC1C=CC2C1C(C)C2(C)C</chem></p>
<p>Camphene Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 79-92-5 LRI: 951</p>  <p><chem>CC1C=CC2C1C(C)C2</chem></p>	<p>Thuja-2,4(10)-diene Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₄ MW: 134 CAS#: 36262-09-6 LRI: 956</p>  <p><chem>CC1C=CC2C1C=C2</chem></p>
<p>Sabinene Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 3387-41-5 LRI: 973</p>  <p><chem>CC1C=CC2C1C(C)C2</chem></p>	<p>β-Pinene Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 127-91-3 LRI: 975</p>  <p><chem>CC1C=CC2C1C(C)C2</chem></p>

 <p>Octan-3-one</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₈H₁₆O MW: 128 CAS#: 106-68-3 LRI: 976</p>	 <p>p-Menthane 1-Methyl-4-(1-methylethyl)-cyclohexane</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₂₀ MW: 140 CAS#: 99-82-1 LRI: 979</p>
 <p>β-Myrcene 7-Methyl-3-methylene-1,6-octadiene</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 123-35-3 LRI: 991</p>	 <p>3-Octanol</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 130 CAS#: 20296-29-1 LRI: 993</p>
 <p>α-Phellandrene 1,3-Cyclohexadiene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 99-83-2 LRI: 1001</p>	 <p>δ-2-Carene 3,7,7-Trimethylbicyclo[4.1.0]hept-2-ene</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 554-61-0 LRI: 1006</p>

 <p>α-Terpinene 1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 99-86-5 LRI: 1012</p>	 <p>p-Cymene Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 99-87-6 LRI: 1020</p>
 <p>Limonene Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 138-86-3 LRI: 1023</p>	 <p>1,8-Cineole 1,3,3-Trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octane Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O MW: 154 CAS#: 470-82-6 LRI: 1025</p>
 <p>(Z)-b-Ocimene (3Z)-3,7-Dimethyl-1,3,6-octatriene Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 3338-55-4 LRI: 1035</p>	 <p>(E)-b-Ocimene (3E)-3,7-Dimethyl-1,3,6-octatriene Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 3779-61-1 LRI: 1046</p>

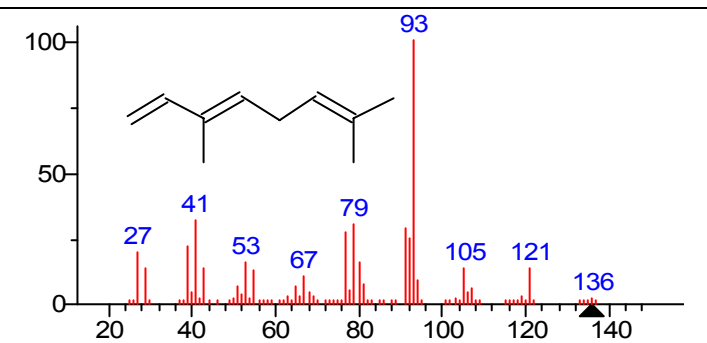


γ-Terpinene

1-methyl-4-(1-methylethyl)-1,4-cyclohexadiene

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆

MW: 136 **CAS#:** 99-85-4 **LRI:** 1053

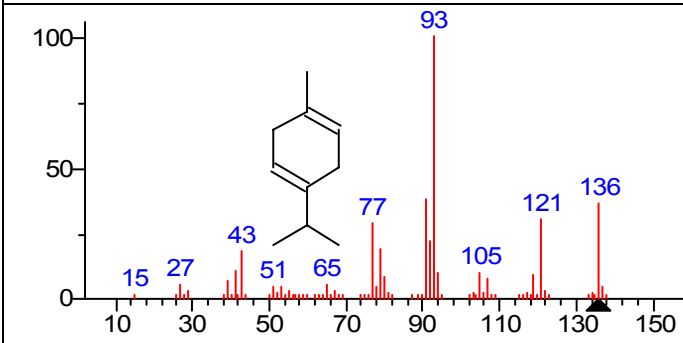


cis-Sabinene hydrate

Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1α,2α,5α)-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O

MW: 154 **CAS#:** 17699-16-0 **LRI:** 1061

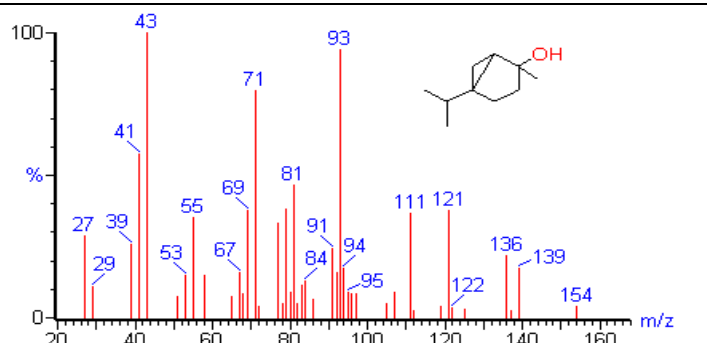


cis-Linalool oxide

cis-5-Ethenyltetrahydro-δ,δ,5-Trimethyl-2-furanmethanol

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O₂

MW: 170 **CAS#:** 5989-33-3 **LRI:** 1067

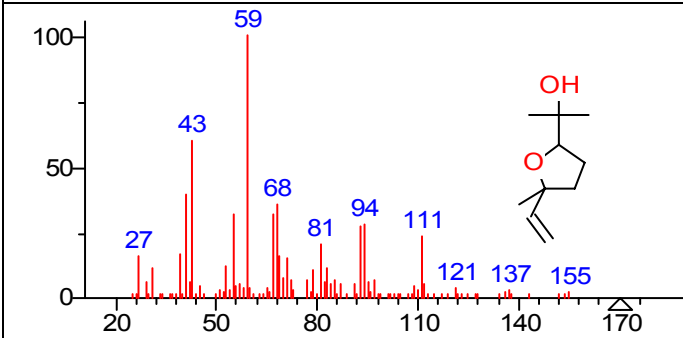


trans-Linalool oxide

2-(5-Methyl-5-vinyltetrahydro-2-furanyl)-2-propanol

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O₂

MW: 170 **CAS#:** 23007-29-6 **LRI:** 1067

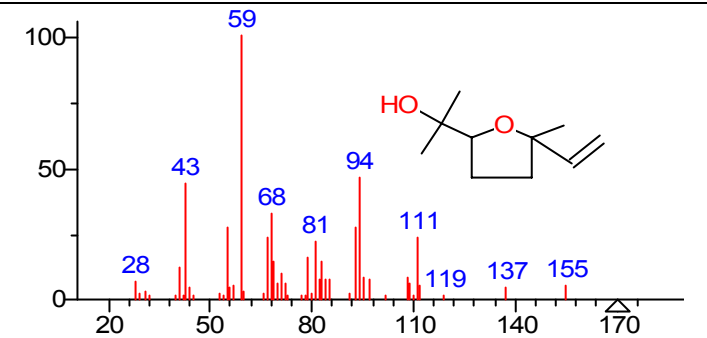


Fenchone

1,3,3-Trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-one

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O

MW: 152 **CAS#:** 1195-79-5 **LRI:** 1080

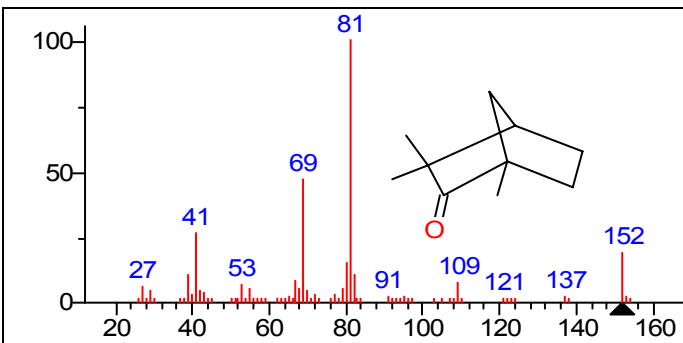


α-Terpinolene

1-Methyl-4-(1-methylethylidene)-1-cyclohexene

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆

MW: 136 **CAS#:** 586-62-9 **LRI:** 1056

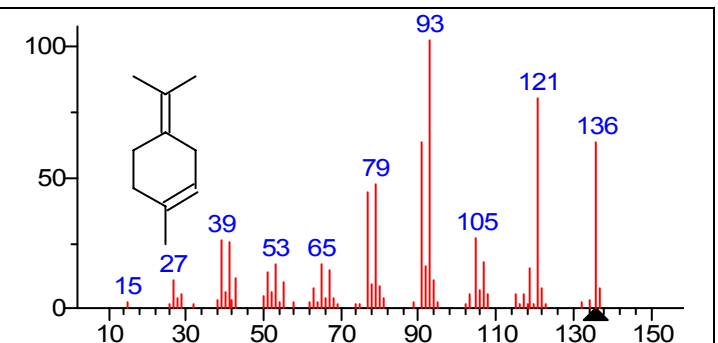


trans-Sabinene hydrate

Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1 α ,2 β ,5 α)-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O

MW: 154 **CAS#:** 15826-82-1 **LRI:** 1091

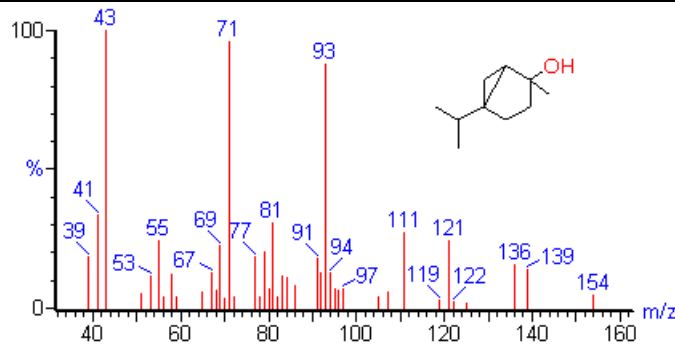


Linalool

3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-ol

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O

MW: 154 **CAS#:** 78-70-6 **LRI:** 1096

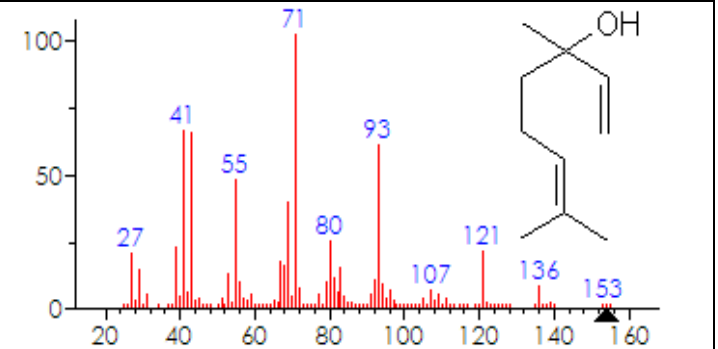


cis-Thujone

4-Methyl-1-(1-methylethyl)bicyclo[3.1.0]hexan-3-one

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O

MW: 152 **CAS#:** 546-80-5 **LRI:** 1098

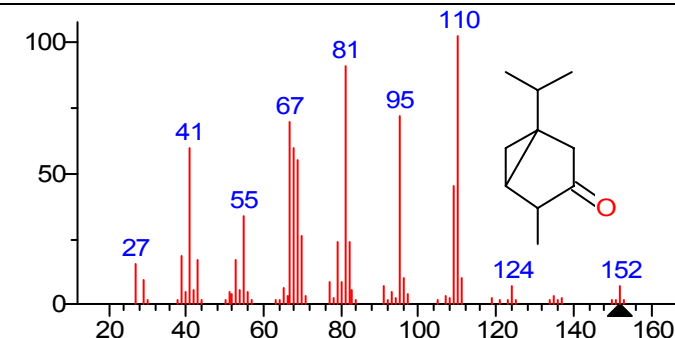


2-Methylbutyl 2-methylbutanoate

Butanoic acid, 2-methyl-, 2-methylbutyl ester

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₂₀O₂

MW: 172 **CAS#:** 2445-78-5 **LRI:** 1098

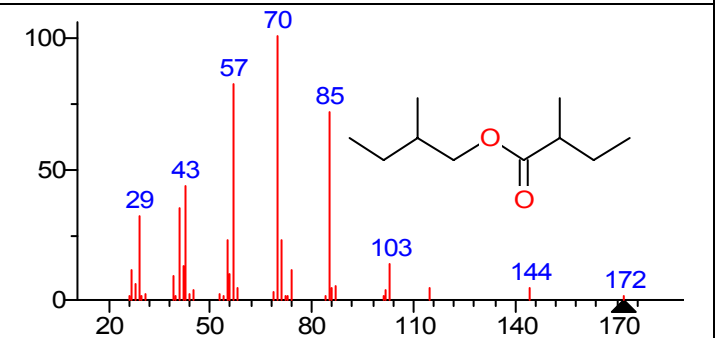


3-Methylbutyl 3-methylbutanoate

Butanoic acid, 3-methyl-, 3-methylbutyl ester

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₂₀O₂

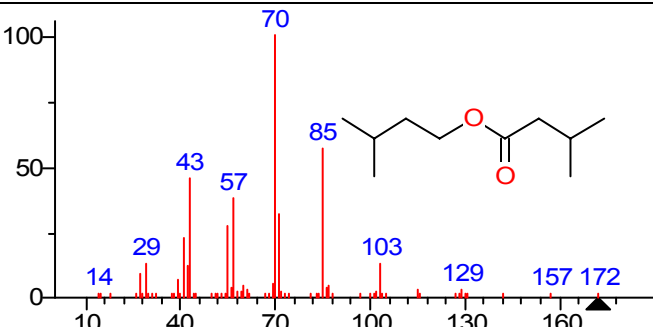
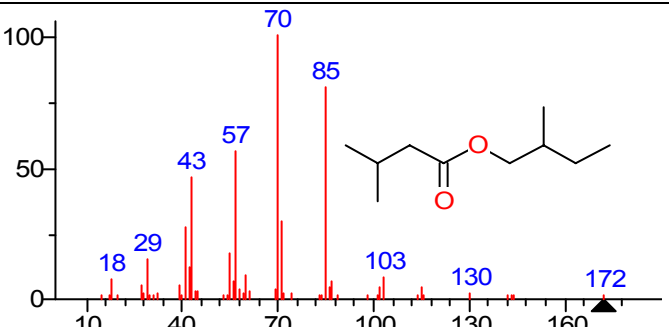
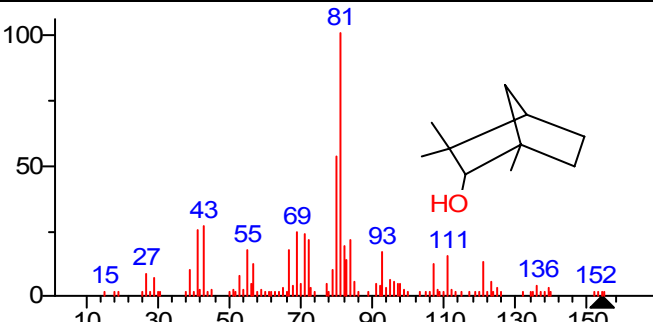
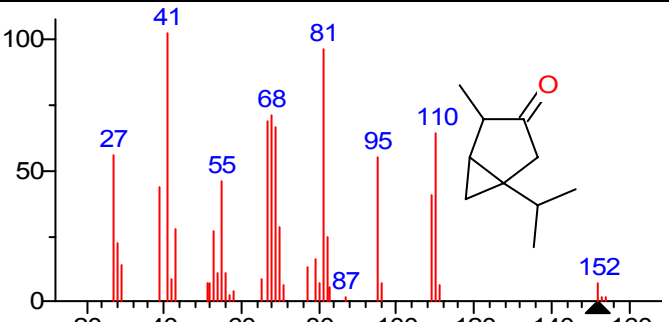
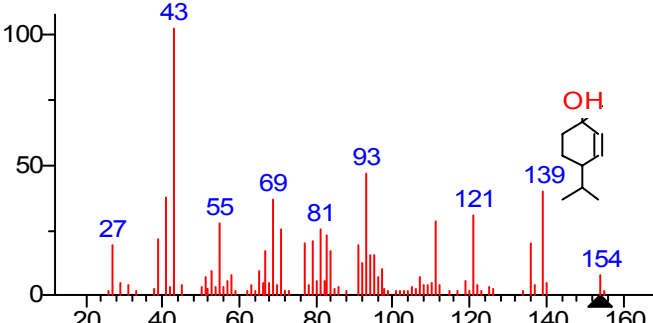
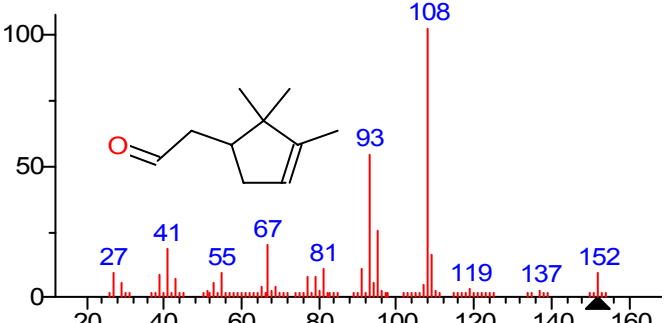
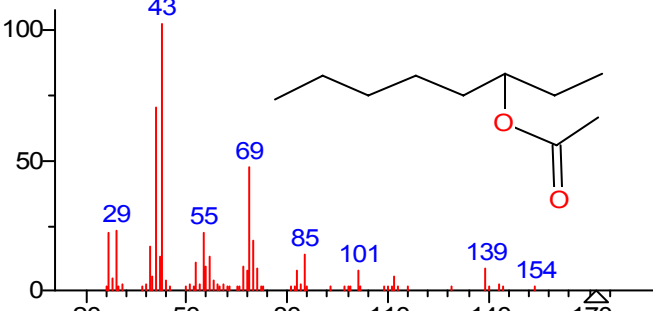
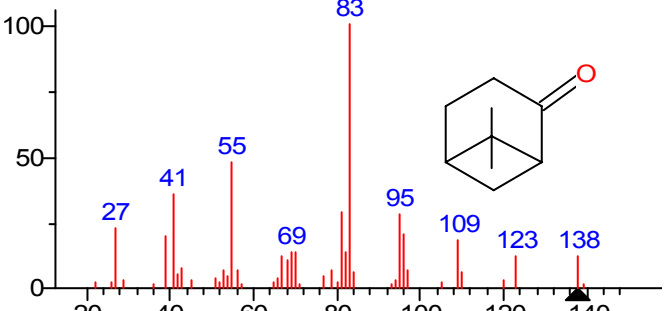
MW: 172 **CAS#:** 659-70-1 **LRI:** 1104

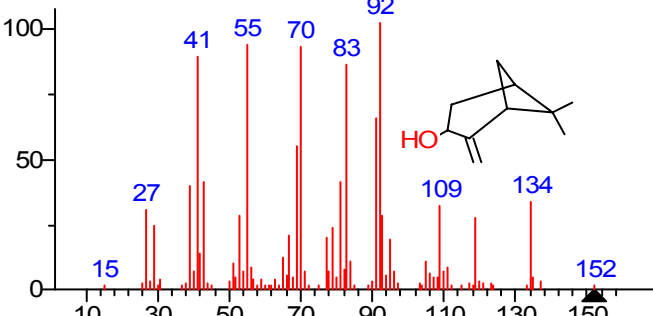
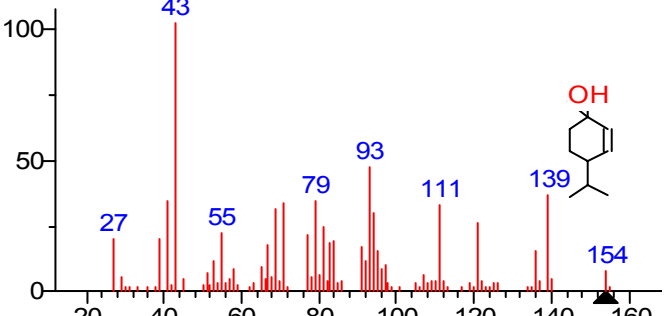
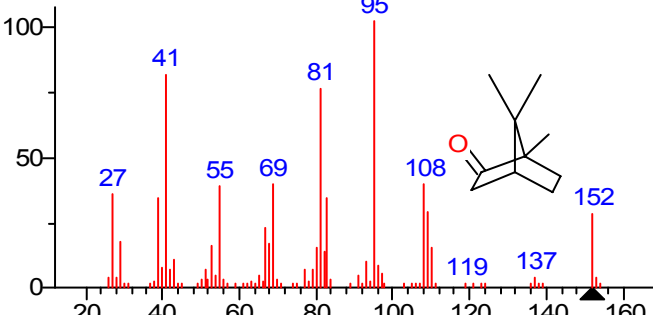
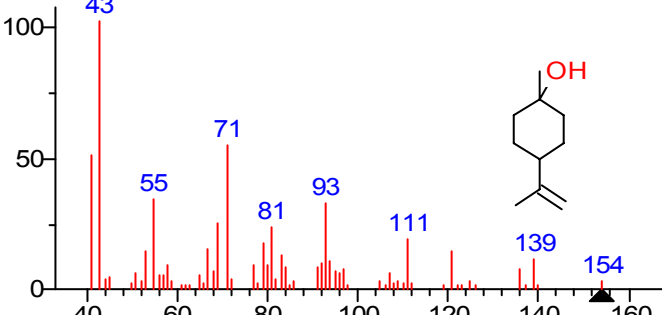
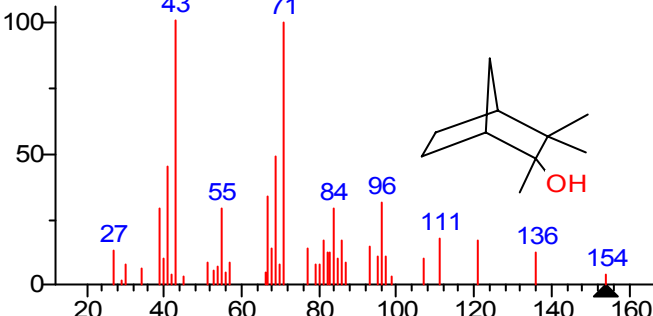
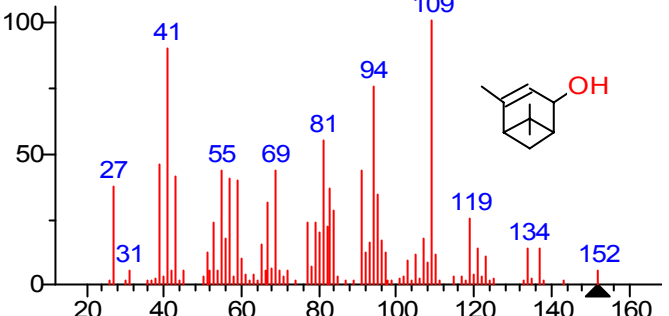


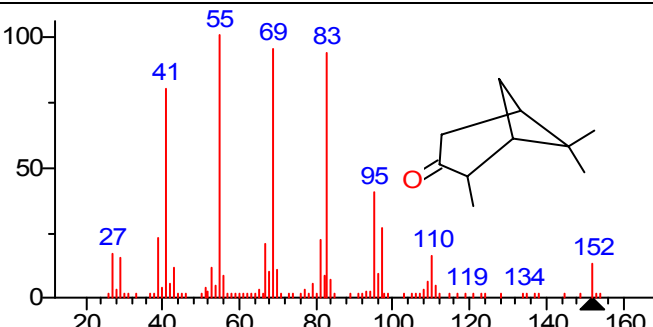
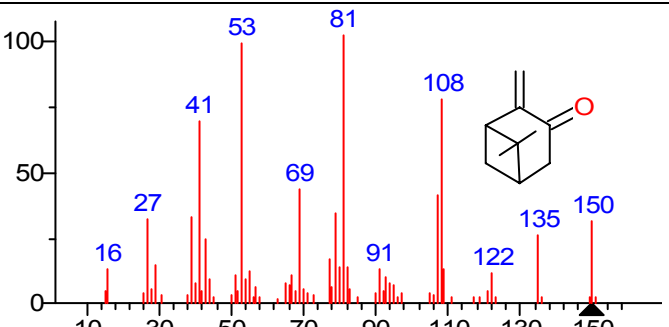
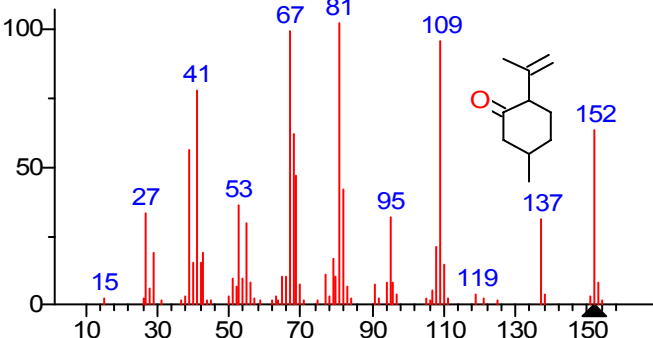
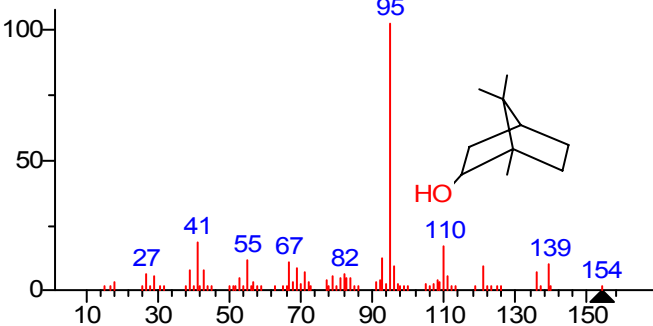
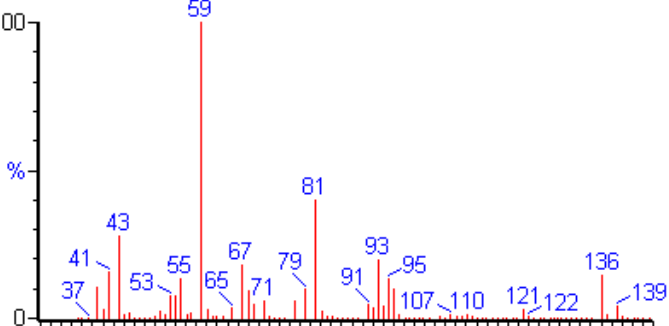
2-Methylbutyl 3-methylbutanoate

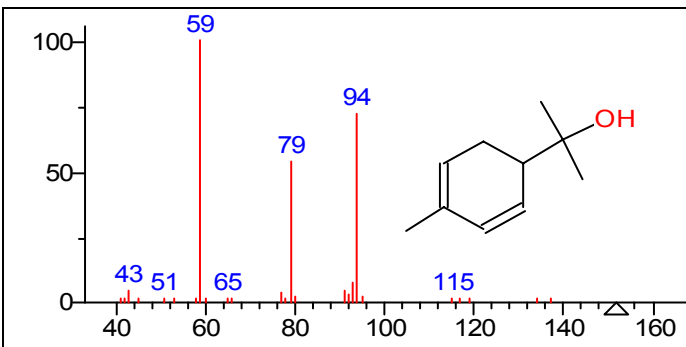
Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₂₀O₂

MW: 172 **CAS#:** 2445-77-4 **LRI:** 1106

 <p>Mass spectrum of Fenchyl alcohol. Major peaks are labeled at m/z 14, 29, 43, 57, 70, 85, 103, 129, 157, and 172. The base peak is at m/z 70.</p>	 <p>Mass spectrum of <i>trans</i>-Thujone. Major peaks are labeled at m/z 18, 29, 43, 57, 70, 85, 103, 130, and 172. The base peak is at m/z 70.</p>
<p>Fenchyl alcohol Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,3,3-trimethyl- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O MW: 154 CAS#: 1632-73-1 LRI: 1106</p>	<p><i>trans</i>-Thujone Bicyclo[3.1.0]hexan-3-one, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1<i>à</i>,4<i>á</i>,5<i>à</i>)]- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O MW: 152 CAS#: 471-15-8 LRI: 1109</p>
 <p>Mass spectrum of <i>cis-p</i>-Menth-2-en-1-ol. Major peaks are labeled at m/z 15, 27, 43, 55, 69, 81, 93, 111, 136, and 152. The base peak is at m/z 81.</p>	 <p>Mass spectrum of α-Campholenal. Major peaks are labeled at m/z 27, 41, 55, 68, 81, 87, 95, 110, and 152. The base peak is at m/z 81.</p>
<p><i>cis-p</i>-Menth-2-en-1-ol 2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, <i>cis</i>- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O MW: 154 CAS#: 29803-82-5 LRI: 1115</p>	<p>α-Campholenal 3-Cyclopentene-1-acetaldehyde, 2,2,3-trimethyl- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O MW: 152 CAS#: 4501-58-0 LRI: 1119</p>
 <p>Mass spectrum of 3-octanol acetate. Major peaks are labeled at m/z 27, 43, 55, 69, 81, 93, 121, 139, and 154. The base peak is at m/z 43.</p>	 <p>Mass spectrum of Nopinone. Major peaks are labeled at m/z 27, 41, 55, 67, 81, 93, 108, 119, 137, and 152. The base peak is at m/z 108.</p>
<p>3-octanol acetate 3-Octyl acetate Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₂₀O₂ MW: 172 CAS#: 4864-61-3 LRI: 1123</p>	<p>Nopinone Bicyclo[3.1.1]heptan-2-one, 6,6-dimethyl- Εμπειρικός Τύπος: C₉H₁₄O MW: 138 CAS#: 24903-95-5 LRI: 1127</p>
 <p>Mass spectrum of Nopinone. Major peaks are labeled at m/z 29, 43, 55, 69, 85, 101, 139, and 154. The base peak is at m/z 43.</p>	 <p>Mass spectrum of 3-octanol acetate. Major peaks are labeled at m/z 27, 41, 55, 69, 83, 95, 109, 123, and 138. The base peak is at m/z 83.</p>

<p><i>trans</i>-Pinocarveol</p> <p>Bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 6,6-dimethyl-2-methylene-,</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O</p> <p>MW: 152 CAS#: 547-61-5 LRI: 1131</p>	<p><i>trans</i>-p-Menth-2-en-1-ol</p> <p>2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, <i>trans</i>-</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O</p> <p>MW: 154 CAS#: 29803-81-4 LRI: 1135</p>
	
<p>Camphor</p> <p>Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O</p> <p>MW: 152 CAS#: 76-22-2 LRI: 1135</p>	<p><i>cis</i>-β-Terpineol</p> <p>Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, <i>cis</i>-</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O</p> <p>MW: 154 CAS#: 7299-41-4 LRI: 1139</p>
	
<p>Camphene hydrate</p> <p>Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 2,3,3-trimethyl-</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O</p> <p>MW: 154 CAS#: 465-31-6 LRI: 1140</p>	<p>Verbenol</p> <p>Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-ol, 4,6,6-trimethyl-</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O</p> <p>MW: 152 CAS#: 473-67-6 LRI: 1142</p>
	
<p><i>trans</i>-Pinocamphone</p> <p>Bicyclo[3.1.1]heptan-3-one, 2,6,6-trimethyl-, (1α,2α,5α)-</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O</p> <p>MW: 152 CAS#: 547-60-4 LRI: 1152</p>	<p>Pinocarvone</p> <p>6,6-Dimethyl-2-methylenebicyclo[3.1.1]heptan-3-one</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₄O</p> <p>MW: 150 CAS#: 30460-92-5 LRI: 1155</p>

 <p>Mass spectrum of Isopulegone. Major peaks are labeled at m/z 27, 41, 55, 69, 83, 95, 110, 119, 134, and 152. The base peak is at m/z 55.</p>	 <p>Mass spectrum of δ-Terpineol. Major peaks are labeled at m/z 16, 27, 41, 53, 69, 81, 91, 108, 122, 135, and 150. The base peak is at m/z 81.</p>
<p>Isopulegone Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, trans- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O MW: 152 CAS#: 29606-79-9 LRI: 1155</p>	<p>δ-Terpineol Cyclohexanemethanol, α,α,-dimethyl-4-methylene Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 99-85-4 LRI: 1161</p>
 <p>Mass spectrum of Borneol. Major peaks are labeled at m/z 15, 27, 41, 53, 67, 81, 95, 109, 119, 137, and 152. The base peak is at m/z 81.</p>	
<p>Borneol Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, endo- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O MW: 154 CAS#: 507-70-0 LRI: 1158</p>	<p>δ-Terpineol Cyclohexanemethanol, α,α,-dimethyl-4-methylene Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O MW: 154 CAS#: 7299-42-5 LRI: 1161</p>
 <p>Mass spectrum of p-Mentha-1,5-dien-8-ol. Major peaks are labeled at m/z 27, 41, 55, 67, 82, 95, 110, 139, and 154. The base peak is at m/z 95.</p>	 <p>Mass spectrum of cis-Pinocamphone. Major peaks are labeled at m/z 37, 41, 43, 53, 55, 59, 65, 67, 71, 79, 81, 91, 93, 95, 107, 110, 121, 122, 136, and 139. The base peak is at m/z 59.</p>
<p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: LRI: 1158</p>	<p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆ MW: 136 CAS#: 99-85-4 LRI: 1056</p>
<p>p-Mentha-1,5-dien-8-ol 2,4-Cyclohexadiene-1-methanol, α,α,4-trimethyl- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O MW: 152 CAS#: 1686-20-0 LRI: 1162</p>	<p>cis-Pinocamphone Bicyclo[3.1.1]heptan-3-one, 2,6,6-trimethyl-, (1α,2α,5α)- Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O MW: 152 CAS#: 15358-88-0 LRI: 1166</p>

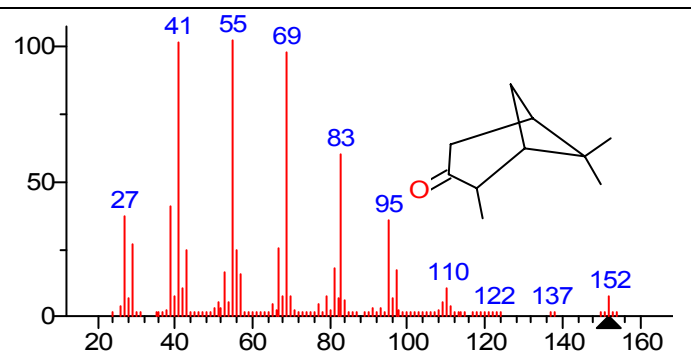


Terpinen-4-ol

3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O

MW: 154 **CAS#:** 562-74-3 **LRI:** 1171

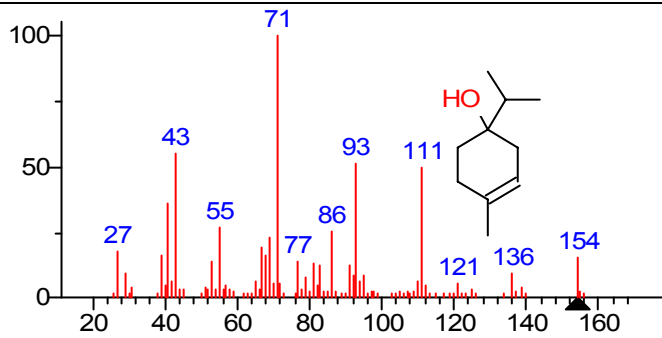


p-Cymen-8-ol

Benzenemethanol, à,à,4-trimethyl-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₄O

MW: 150 **CAS#:** 1197-01-9 **LRI:** 1182

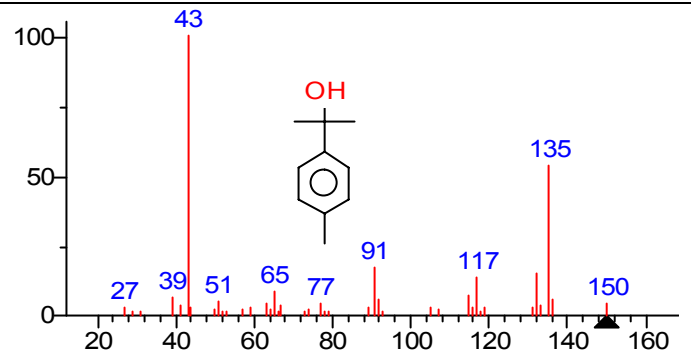


α-Terpineol

3-Cyclohexene-1-methanol, à,à4-trimethyl-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O

MW: 154 **CAS#:** 98-55-5 **LRI:** 1185

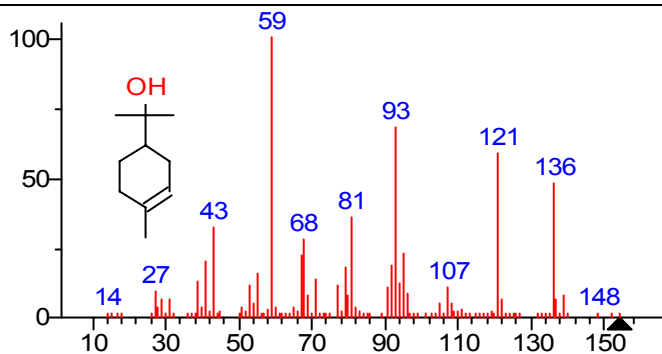


Myrtenol

Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-methanol, 6,6-dimethyl-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O

MW: 152 **CAS#:** 515-00-4 **LRI:** 1190

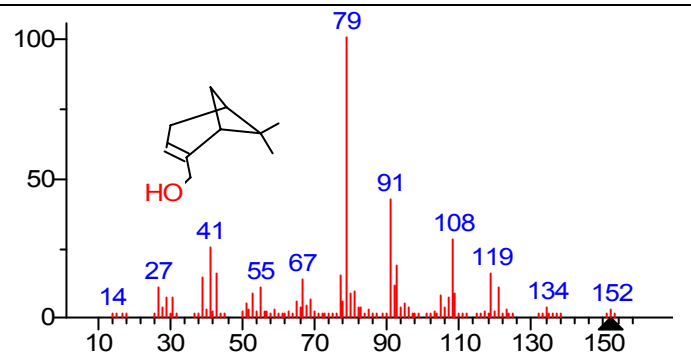


γ-terpineol

Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₈O

MW: 154 **CAS#:** 586-81-2 **LRI:** 1192

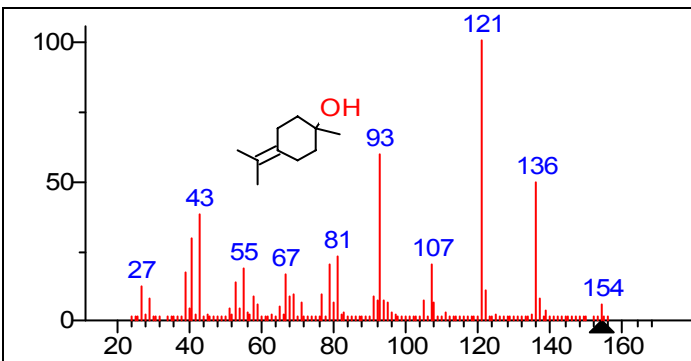


cis-Dihydro Carvone

Cyclohexanone, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O

MW: 152 **CAS#:** 7764-50-3 **LRI:** 1192

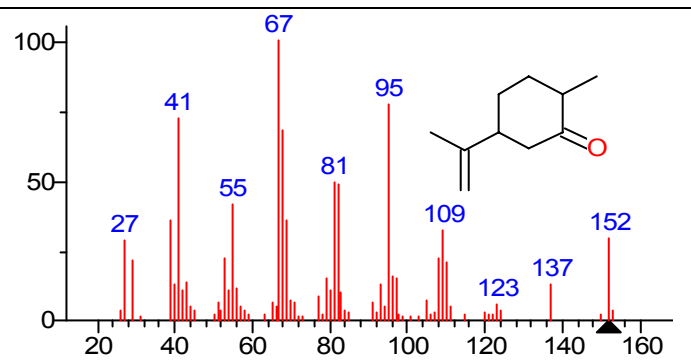


Isoanethole, estragole

1-Methoxy-4-(2-propenyl)benzene

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₂O

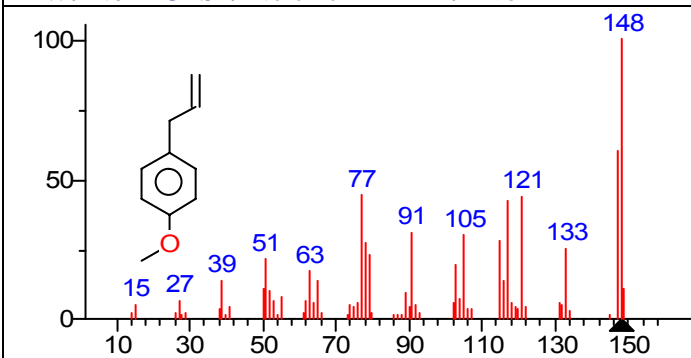
MW: 148 **CAS#:** 140-67-0 **LRI:** 1193



trans-Dihydro Carvone

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O

MW: 152 **CAS#:** 5948-04-9 **LRI:** 1199

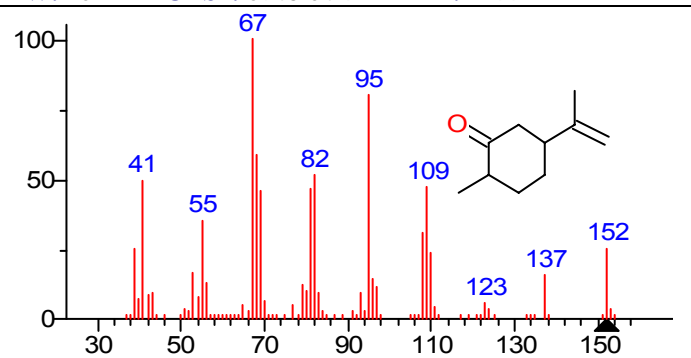


Verbenone

4,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₄O

MW: 150 **CAS#:** 80-57-9 **LRI:** 1202

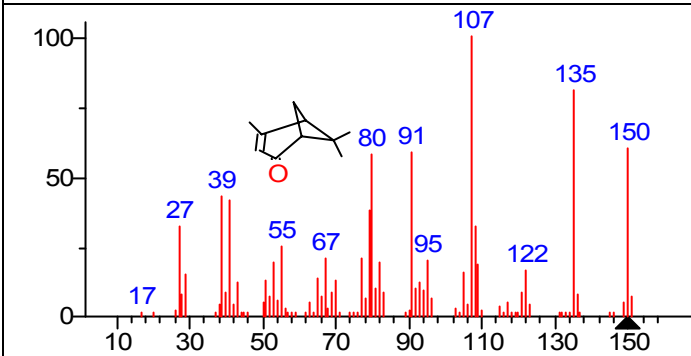


Fenchyl acetate (endo)

Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,3,3-trimethyl-, acetate, endo-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₂H₂₀O₂

MW: 196 **CAS#:** 4057-31-2 **LRI:** 1216

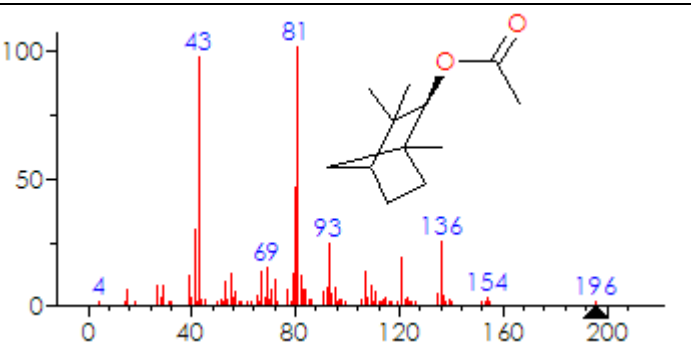


trans-Carveol

2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, *trans*-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₆O

MW: 152 **CAS#:** 1197-07-5 **LRI:** 1216

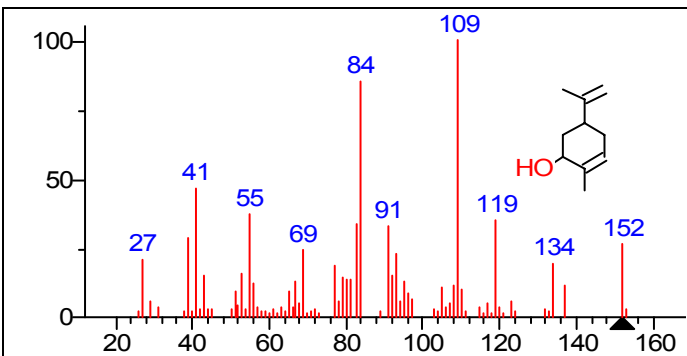


Fenchyl acetate (exo)

Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,3,3-trimethyl-, acetate, exo-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₂H₂₀O₂

MW: 196 **CAS#:** 56282-46-3 **LRI:** 1230

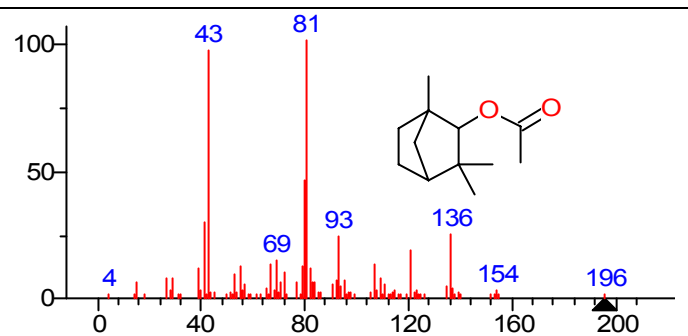


Pulegone

Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethylidene)-, (R)-

Εμπειρικός Τύπος: $C_{10}H_{16}O$

MW: 152 CAS#: 89-82-7 LRI: 1237

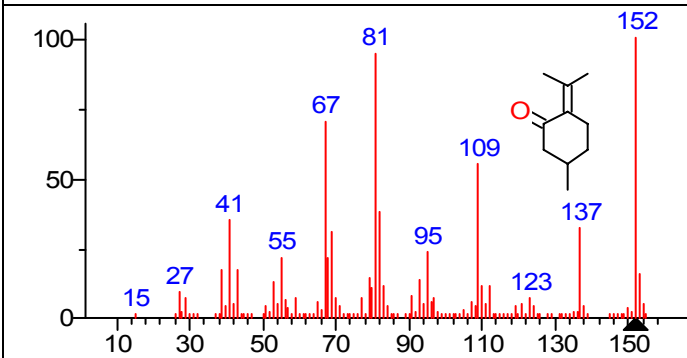


Carvone

2-Methyl-5-(1-methylethenyl)-2-cyclohexene-1-one

Εμπειρικός Τύπος: $C_{10}H_{14}O$

MW: 150 CAS#: 99-49-0 LRI: 1241

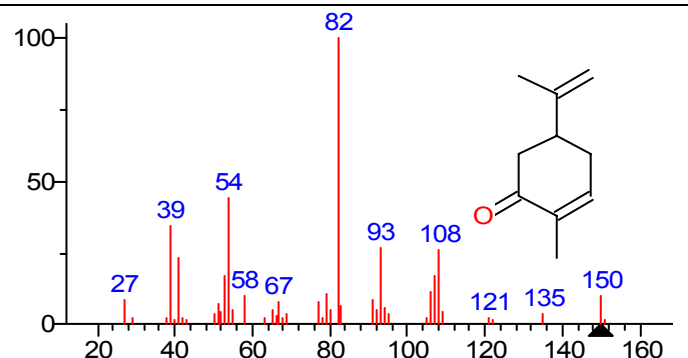


Piperitone

2-Cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethyl)-

Εμπειρικός Τύπος: $C_{10}H_{16}O$

MW: 152 CAS#: 89-81-6 LRI: 1253

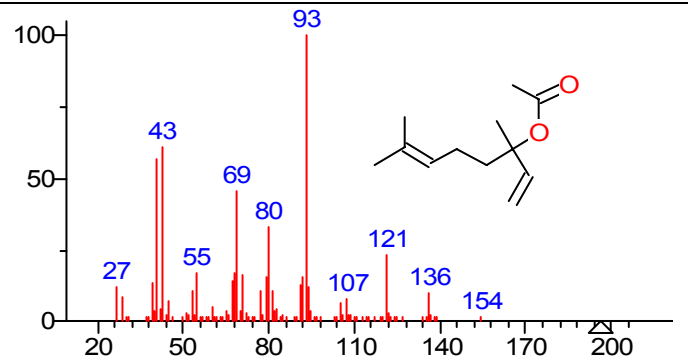
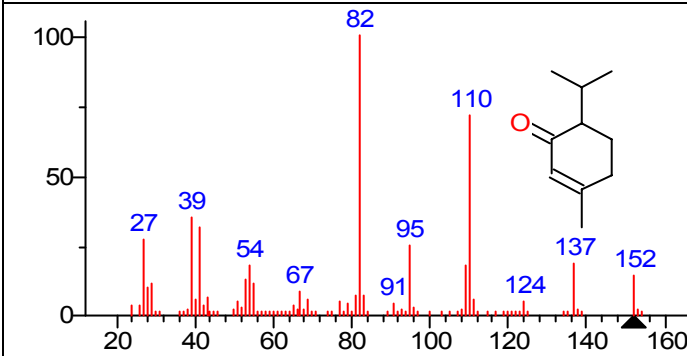


Linalyl acetate

1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, acetate

Εμπειρικός Τύπος: $C_{12}H_{20}O_2$

MW: 196 CAS#: 115-95-7 LRI: 1258

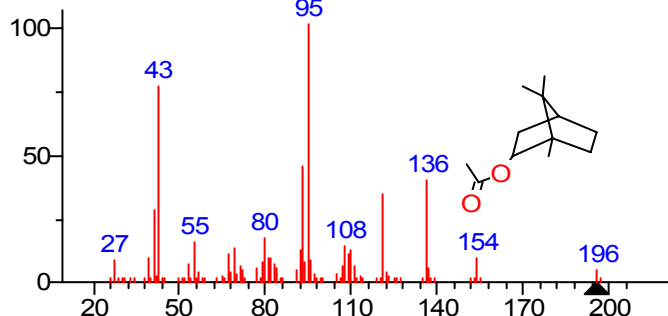
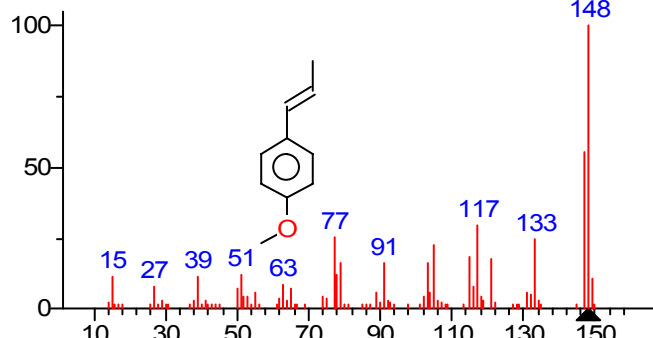
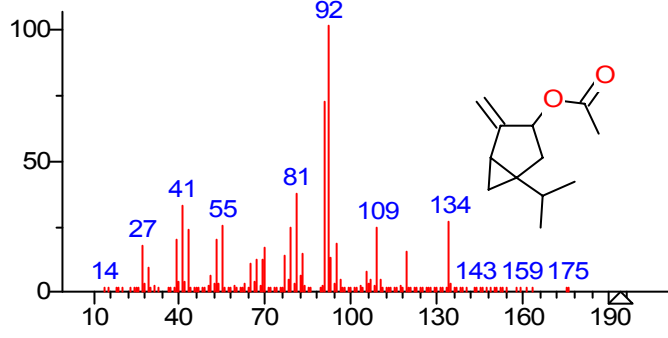
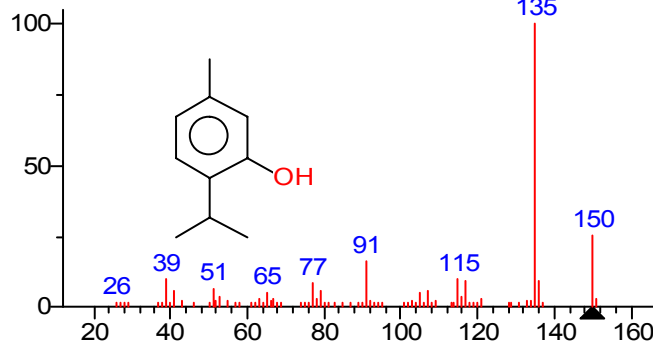
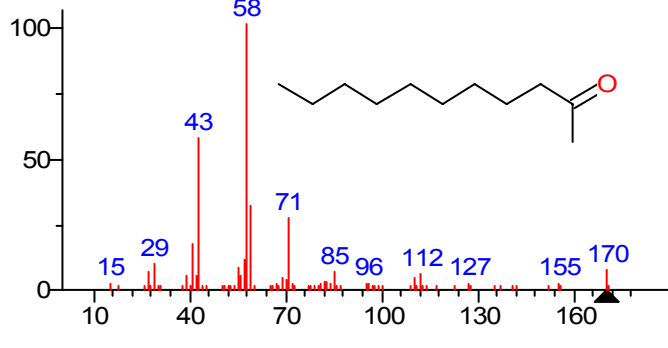


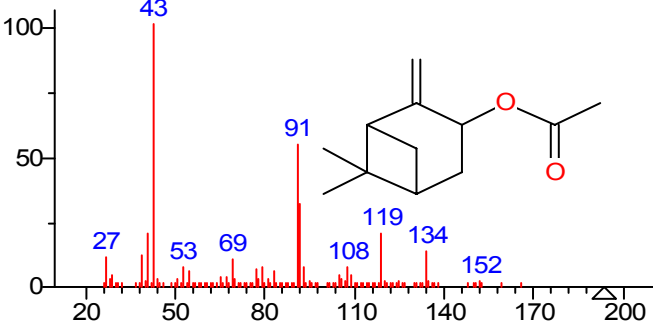
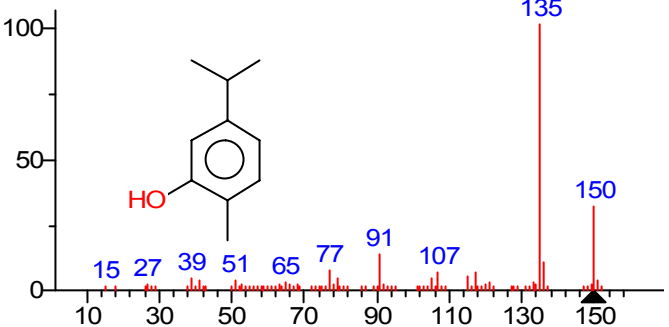
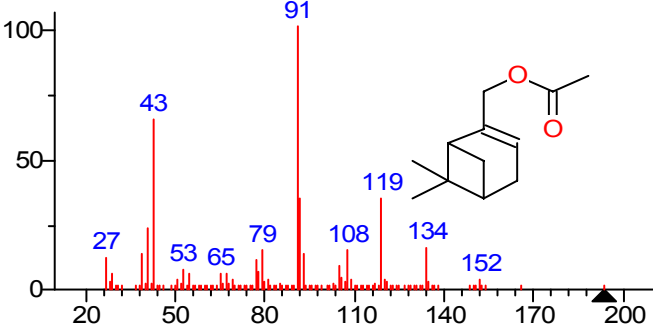
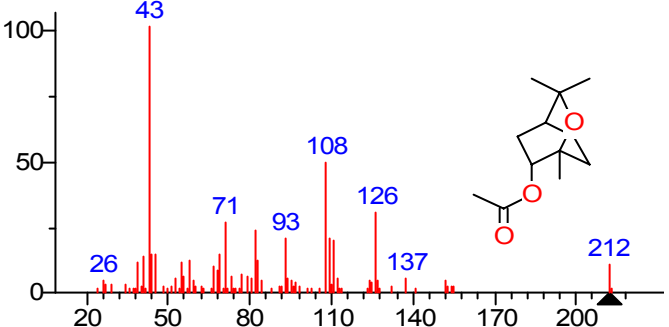
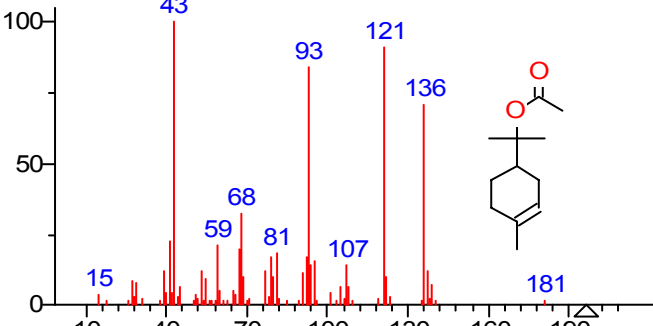
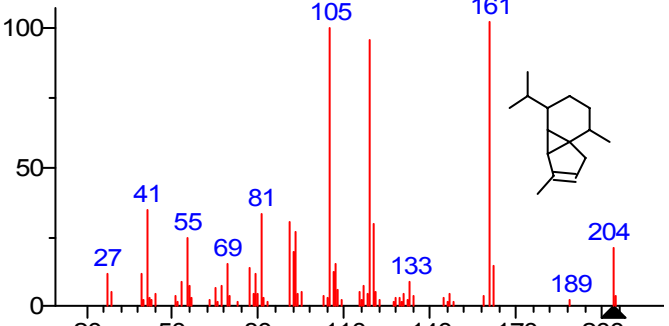
Bornyl acetate

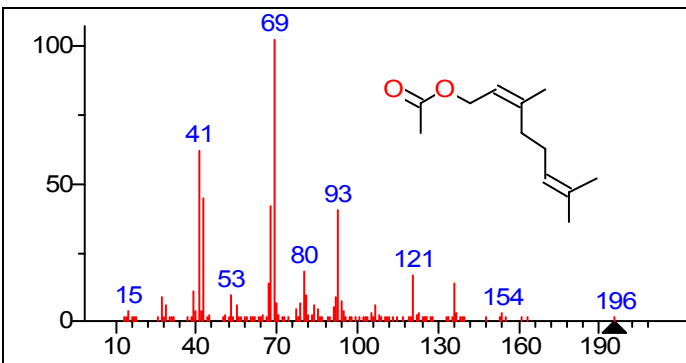
1,7,7-Trimethylbicyclo(2.2.1)heptan-2-ol acetate

Εμπειρικός Τύπος: $C_{12}H_{20}O_2$

MW: 196 CAS#: 76-49-3 LRI: 1283

	
<p><i>trans</i>- Anethole</p> <p>Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-, (E)</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₂O</p> <p>MW: 148 CAS#: 4180-23-8 LRI: 1283</p>	<p><i>trans</i>-Sabinyl acetate</p> <p>Bicyclo[3.1.0]hexan-3-ol, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-, acetate, (1S-(1α,3β,5α))-</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₂H₁₈O₂</p> <p>MW: 194 CAS#: 53833-85-5 LRI: 1292</p>
	
<p>Thymol</p> <p>5-Methyl-2-(1-methylethyl)phenol</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₄O</p> <p>MW: 150 CAS#: 89-83-8 LRI: 1292</p>	<p>2-Undecanone</p> <p>Undecan-2-one</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₁H₂₂O</p> <p>MW: 170 CAS#: 112-12-9 LRI: 1294</p>
	
<p><i>trans</i>-Pinocarveyl acetate</p> <p>Bicyclo(3.1.1)heptan-3-ol, 6,6-dimethyl-2-methylene, acetate, (1α, 3α , 5α)</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₂H₁₈O₂</p> <p>MW: 194 CAS#: 1686-15-3 LRI: 1297</p>	<p>Carvacrol</p> <p>2-Methyl-5-(1-methylethyl)phenol</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₀H₁₄O</p> <p>MW: 150 CAS#: 499-75-2 LRI: 1303</p>

	
<p>Myrtenyl acetate Bicyclo(3.1.1)hept-2-ene-2-methanol, 6,6-dimethyl-, acetate, (1S) Εμπειρικός Τύπος: C₁₂H₁₈O₂ MW: 194 CAS#: 1079-01-2 LRI: 1323</p>	<p>Exo-2-Hydroxycineole acetate 1,3,3-Trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]oct-6-yl acetate Εμπειρικός Τύπος: C₁₂H₂₀O₃ MW: 212 CAS#: 57709-95-2 LRI: 1340</p>
	
<p>α-Terpenyl acetate 3-Cyclohexene-1-methanol, α,α,4-trimethyl-, acetate Εμπειρικός Τύπος: C₁₂H₂₀O₂ MW: 196 CAS#: 80-26-2 LRI: 1346</p>	<p>α-Cubebene 1H-Cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzene, 3a,3b,4,5,6,7-hexahydro-3,7-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [3aS-(3aα,3bα,4α,7α,7aS*)-(-)] Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄ MW: 204 CAS#: 17699-14-8 LRI: 1347</p>
	
<p>Neryl acetate 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (Z)- Εμπειρικός Τύπος: C₁₂H₂₀O₂ MW: 196 CAS#: 141-12-8 LRI: 1366</p>	<p>Longicyclene 1,2,4-Methenoazulene, decahydro-1,5,5,8a-tetramethyl-, [1S-(1α,2α,3aα,4α,8aα,9R*)]- Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄ MW: 204 CAS#: 1137-12-8 LRI: 1368</p>

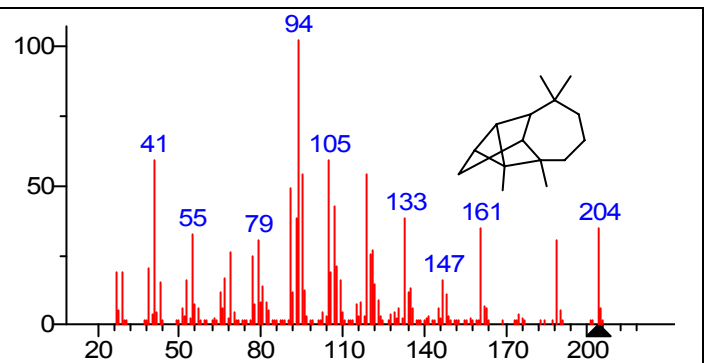


α-Ylangene

Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-, stereoisomer

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 14912-44-8 **LRI:** 1370

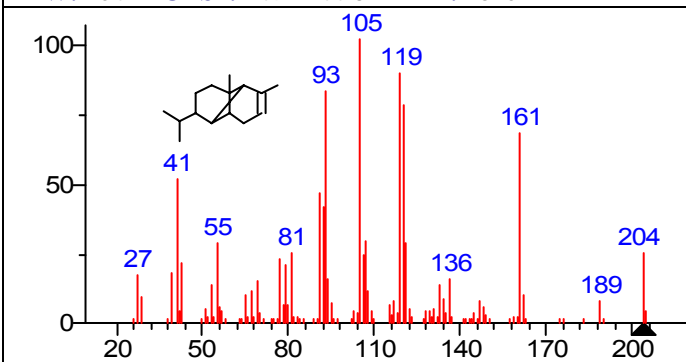


Carvacrol acetate

Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, acetate

Εμπειρικός Τύπος: C₁₂H₁₆O₂

MW: 192 **CAS#:** 6380-28-5 **LRI:** 1372

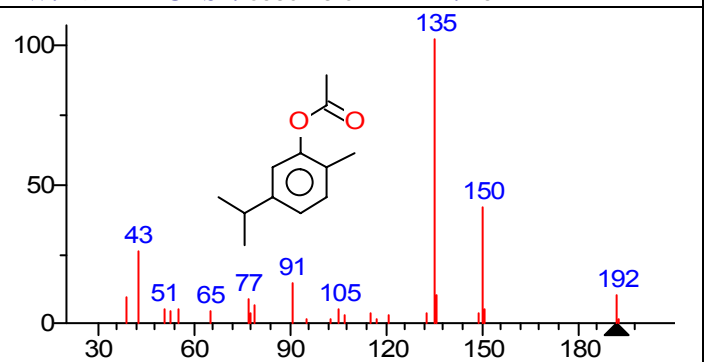


Coraene

Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-, stereoisomer

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 3856-25-5 **LRI:** 1372

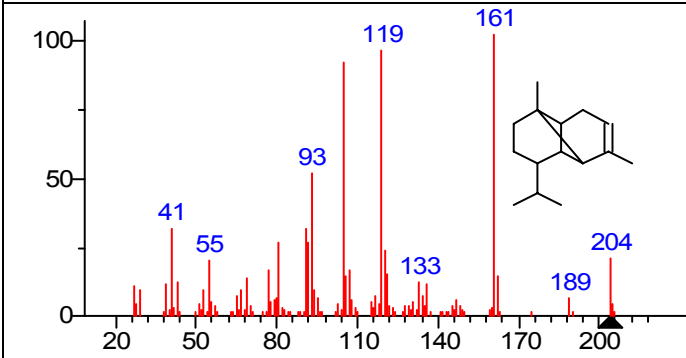


β-Bourbonene

Cyclobuta[1,2:3,4]dicyclopentene, decahydro-3a-methyl-6-methylene-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1à,3aà,3bá,6aá,6bà)]-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 5208-59-3 **LRI:** 1380

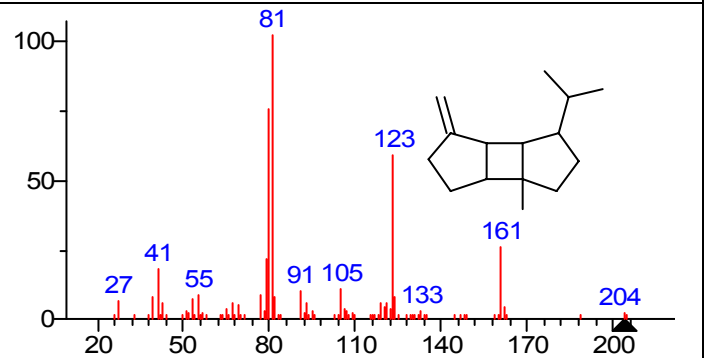


Geranyl acetate

2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (E)-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₂H₂₀O₂

MW: 196 **CAS#:** 105-87-3 **LRI:** 1384

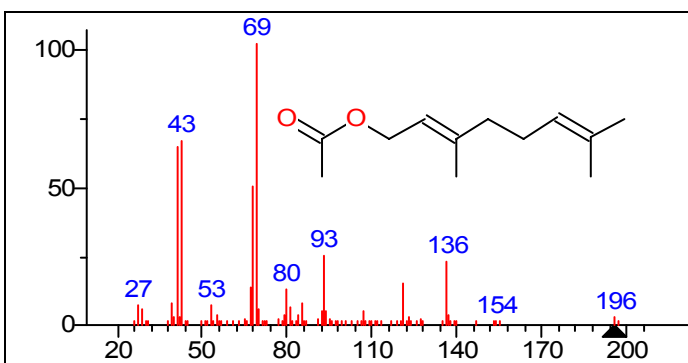


β-Cubebene

1H-Cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzene, octahydro-7-methyl-3-methylene-4-(1-methylethyl)-, [3aS-(3aà,3bá,4á,7à,7aS*)]-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 13744-15-5 **LRI:** 1386

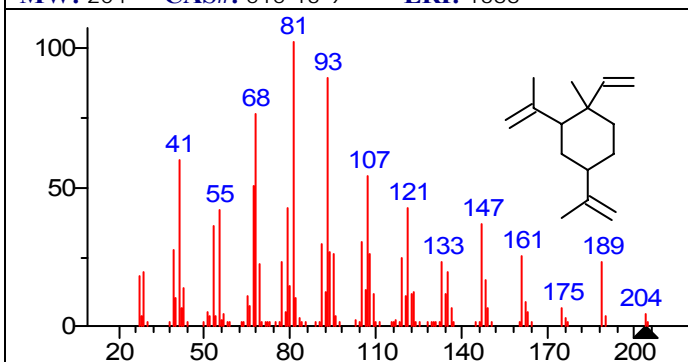
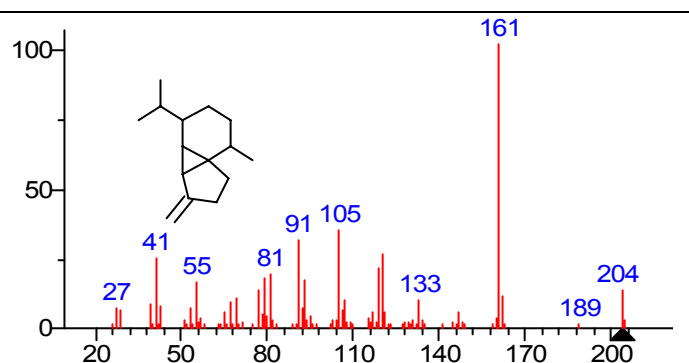


(-)-β Elemene

Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1à,2á,4á)]-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 515-13-9 **LRI:** 1388

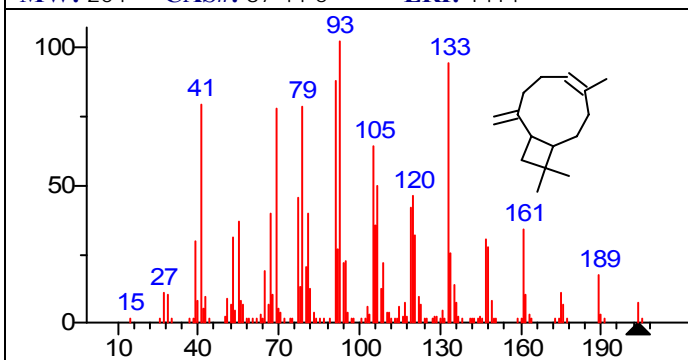


***trans*-Caryophyllene**

Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4E,9S*)]-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 87-44-5 **LRI:** 1414



γ-Elemene

Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

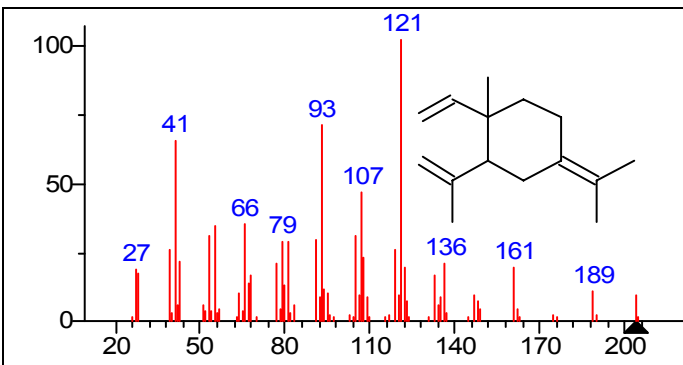
MW: 204 **CAS#:** 29873-99-2 **LRI:** 1429

Aromadendrene

1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(1aà,4aà,7à,7aà,7bà)]-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 489-39-4 **LRI:** 1434

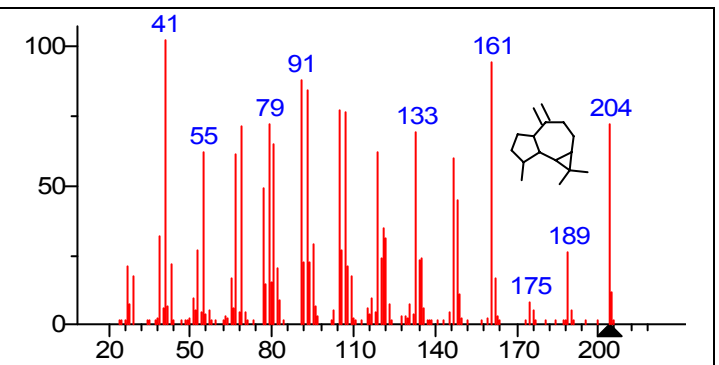


α-Humulene

1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 6753-98-6 **LRI:** 1449

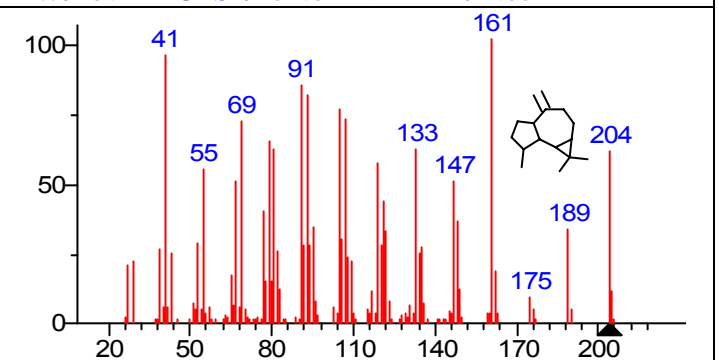
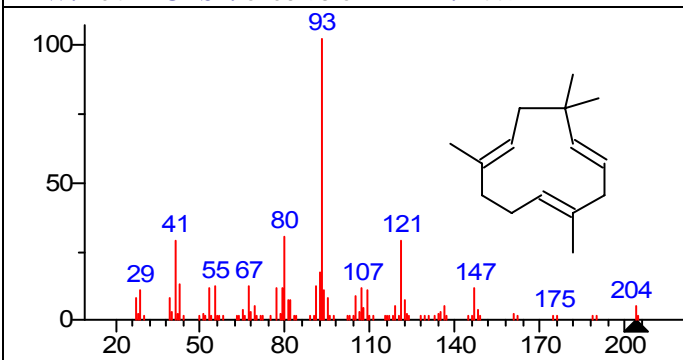


allo-Aromadendrene

1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(1aà,4aá,7à,7aá,7bà)]-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 25246-27-9 **LRI:** 1456



γ-Muurolene

Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1à,4aà,8aà)-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 30021-74-0 **LRI:** 1474

Germacrene D

1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

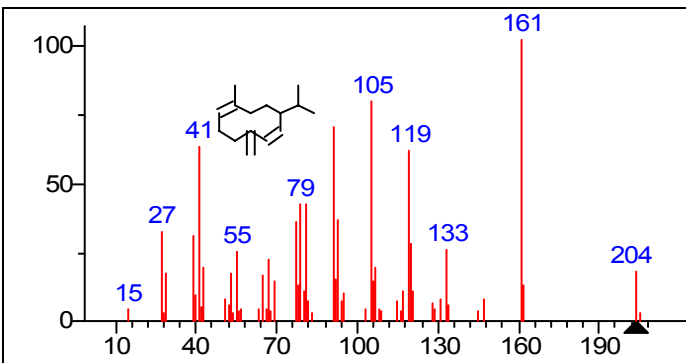
MW: 204 **CAS#:** 23986-74-5 **LRI:** 1477

β-Selinene

Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4aà,7à,8aá)]-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 17066-67-0 **LRI:** 1482

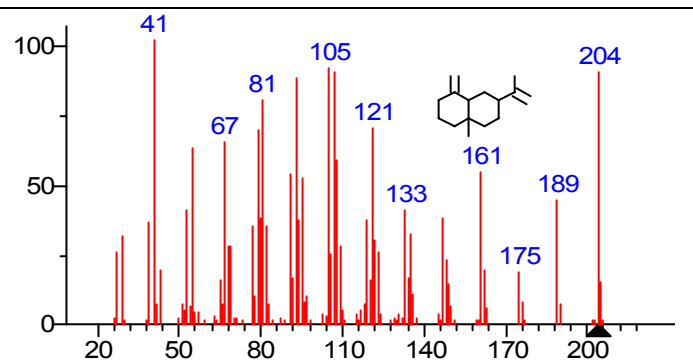


Viridiflorene

1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1aà,7à,7aá,7bà)]-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 21747-46-6 **LRI:** 1492

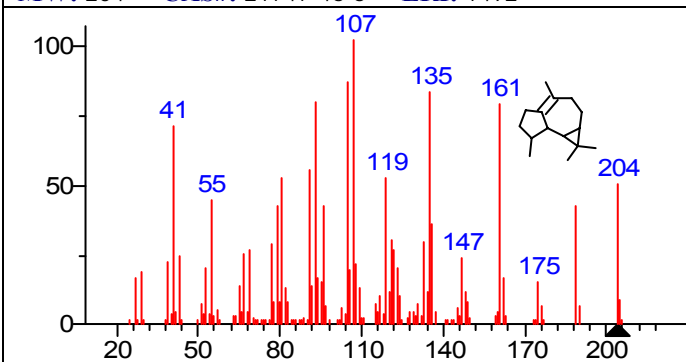


β-Bisabolene

Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-, (S)-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 495-61-4 **LRI:** 1498

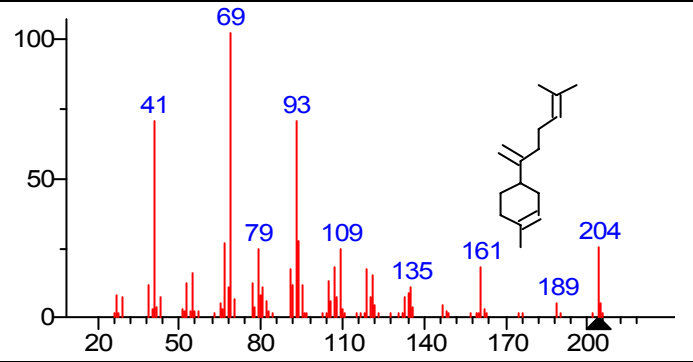


α-Muurolene

Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1à,4aà,8aà)-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 31983-22-9 **LRI:** 1498

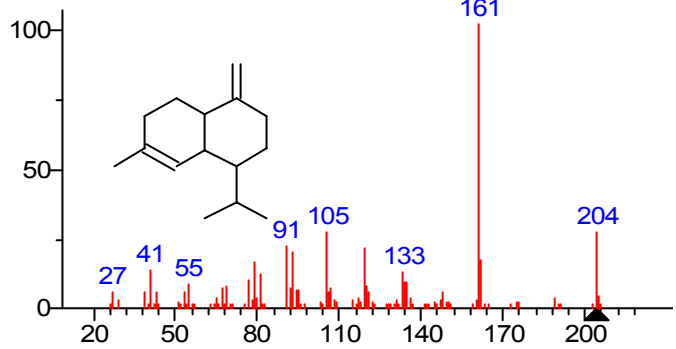
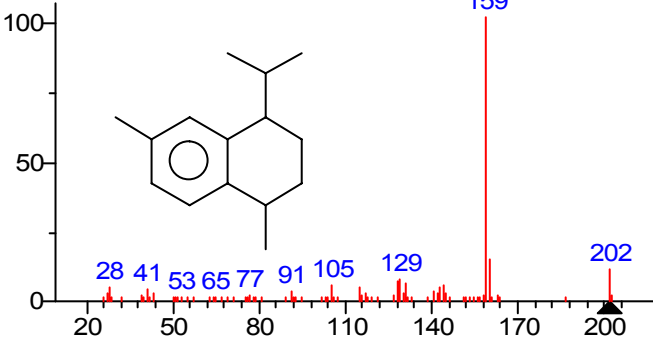
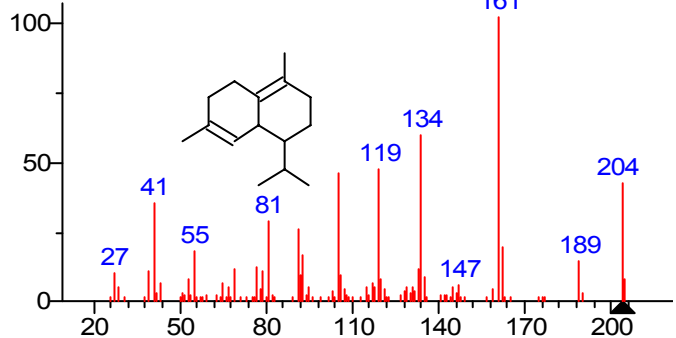
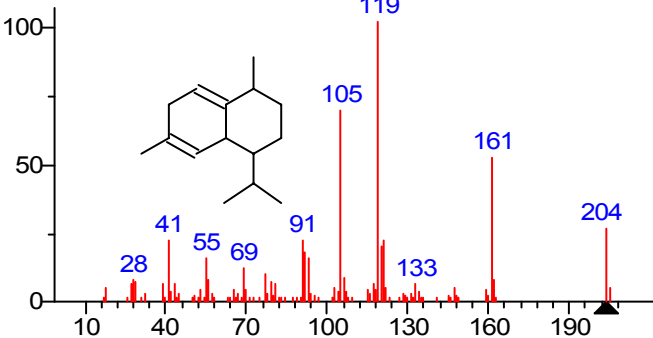
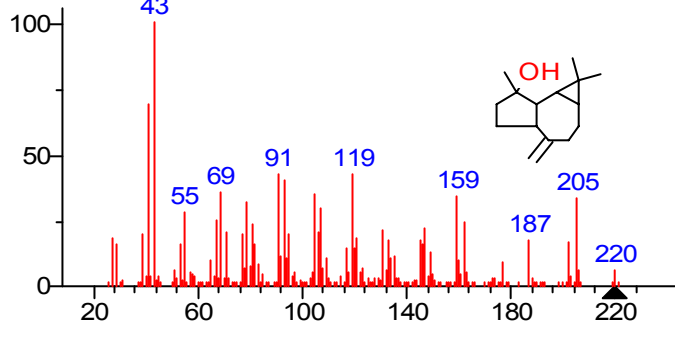


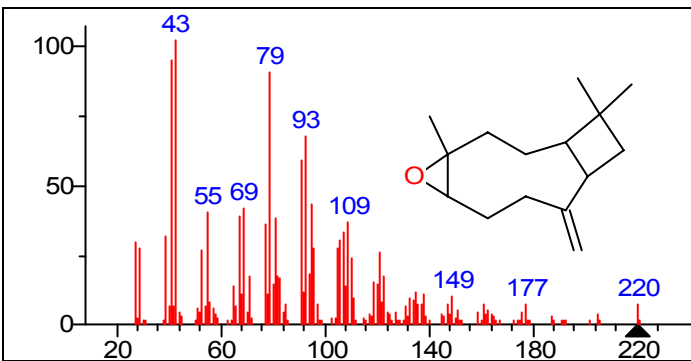
γ-Cadinene

Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1à,4aá,8aà)-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄

MW: 204 **CAS#:** 39029-41-9 **LRI:** 1512

	
<p><i>trans</i>-Calamenene</p> <p>Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, <i>trans</i>-</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₂</p> <p>MW: 202 CAS#: 73209-42-4 LRI: 1520</p>	<p>δ-Cadinene</p> <p>Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1<i>S</i>-<i>cis</i>)-</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄</p> <p>MW: 204 CAS#: 483-76-1 LRI: 1521</p>
	
<p><i>trans</i>-Cadina-1(2),4-diene</p> <p>Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, (1<i>à</i>, 4<i>β</i>, 4<i>αβ</i>)</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄</p> <p>MW: 204 CAS#: 38758-02-0 LRI: 1529</p>	<p>(-)-Spathulenol</p> <p>1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1<i>aS</i>-(1<i>aà</i>,4<i>aà</i>,7<i>à</i>)]</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄O</p> <p>MW: 220 CAS#: 77171-55-2 LRI: 1571</p>
	
<p>Caryophyllene oxide</p> <p>5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)-]dodecane, 4,12,12-trimethyl-9-methylene-, [1<i>R</i>-(1<i>R</i>*,4<i>R</i>*,6<i>R</i>*,10<i>S</i>*)]-</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄O</p> <p>MW: 220 CAS#: 1139-30-6 LRI: 1576</p>	<p>Viridiflorol</p> <p>1H-Cycloprop[e]azulen-4-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1<i>a</i><i>r</i>-(1<i>aà</i>,4<i>á</i>,4<i>á</i>,7<i>à</i>,7<i>aá</i>,7<i>bà</i>)]-</p> <p>Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₆O</p> <p>MW: 222 CAS#: 552-02-3 LRI: 1586</p>

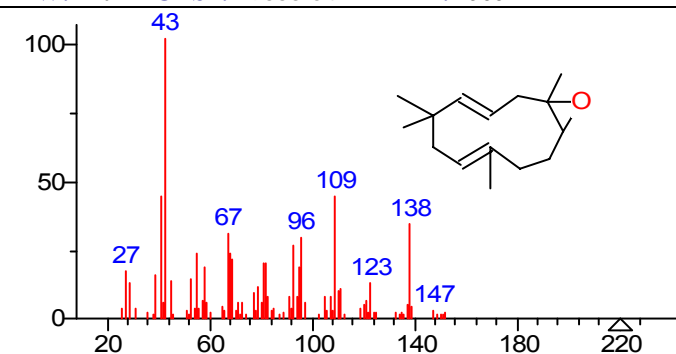
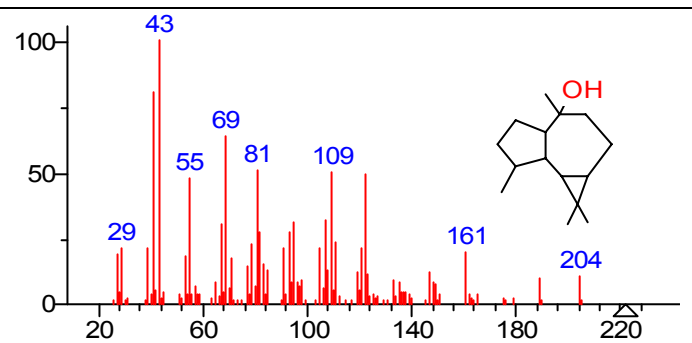


Humulene epoxide II

12-Oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene, 1,5,5,8-tetramethyl-, [1R-(1R*,3E,7E,11R*)]-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₄O

MW: 220 **CAS#:** 19888-34-7 **LRI:** 1588

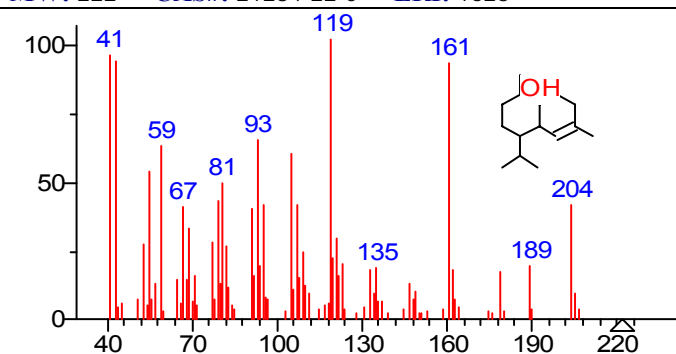


1,10-diepi-Cubenol

1-Isopropyl-4,7-dimethyl-1,3,4,5,6,8a-hexahydro-4a(2H)-naphthalenol

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₆O

MW: 222 **CAS#:** 21284-22-0 **LRI:** 1623



επι-α-Cadinol

4-Isopropyl-1,6-dimethyl-1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1-naphthalenol

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₆O

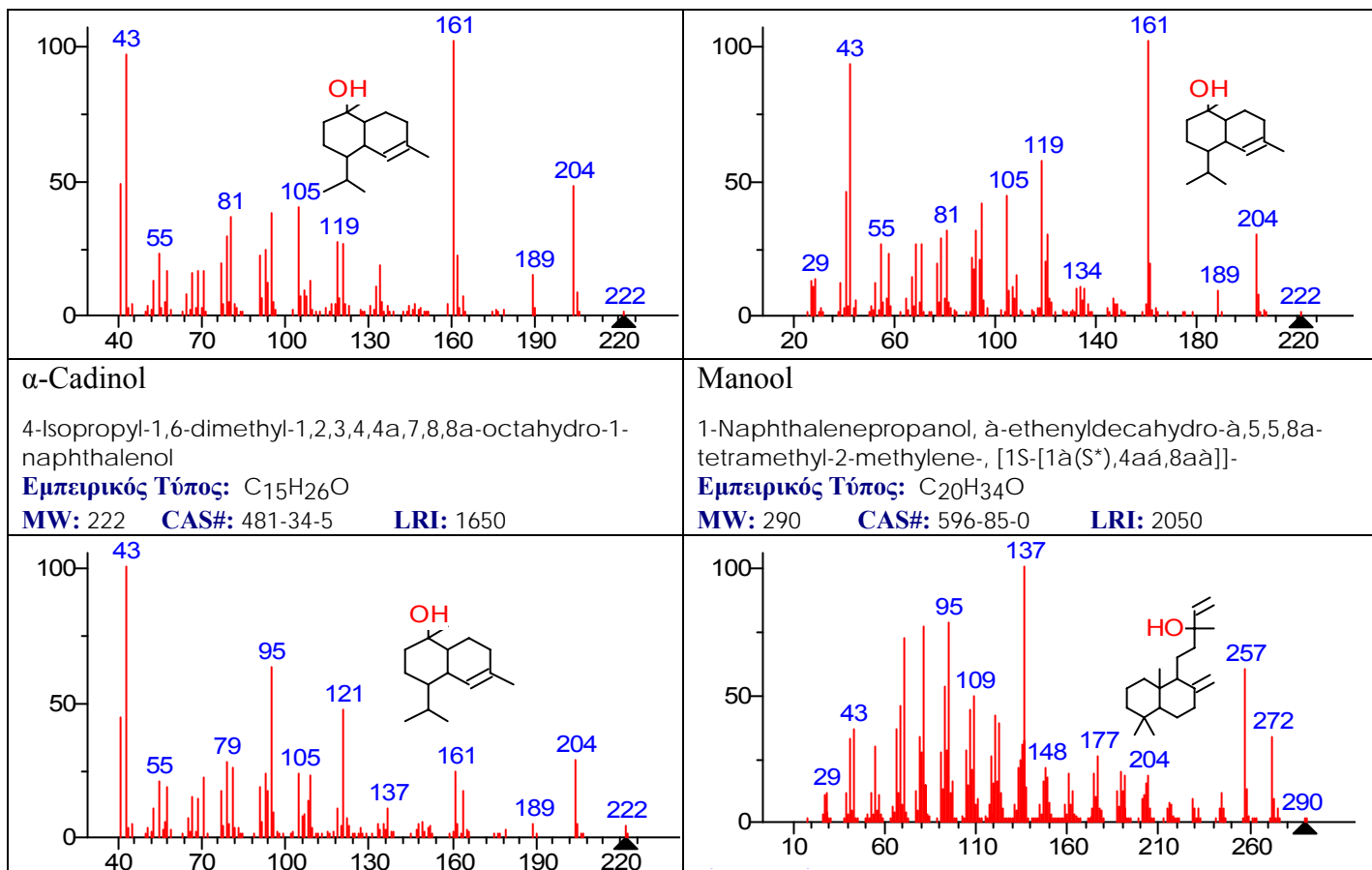
MW: 222 **CAS#:** 5937-11-1 **LRI:** 1637

α-Muurolol

1-Naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [1R-(1à,4á,4aá,8aá)]-

Εμπειρικός Τύπος: C₁₅H₂₆O

MW: 222 **CAS#:** 19435-97-3 **LRI:** 1638



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

BIBΛIOΓPAΦIA

- Abascal, K., Ganora, L. & Yarnell, E. (2005) The Effect of Freeze-drying and its Implications for Botanical Medicine: A Review. *Phytotherapy Research*, 19, 655-660.
- Adams, R. P. (2001). *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectrometry*. USA: Allured Pub. Corp.
- Agnihotri, K.V., Agarwal, G.S., Dhar, L. P., Thappa, K. R., Baleshwar, Kapahi, K.B., Saxena, K. R. & Qazi N.G. (2005). Essential oil composition of *Mentha pulegium* L.growing wild in the north-western Himalayas India, *Flavour Fragr. J.* 20, 607–610.
- Alexander Fleisher, Zhenia Fleisher & Salman Abu-Rukunb. (1984). Chemovarieties of *Coridothymus capitatus* L. Rchb. growing in Israel. *J. Sci. Food Agric.*, 35, 495-499.
- Analytical Methods Committee, (1980). Application of Gas-Liquid Chromatography to the Analysis of Essential Oils, *Analyst*, 105, 262-273.
- Anaya, A.L. (1999). Allelopathy as a tool in the management of biotic resources in agroecosystems. *Critical Reviews in Plant Science*, 18, 697–739.
- Arrebola, M. L., Navarro, M. C., Jimenez, J. & Ocana, F. A. (1994).Yield and Composition of the Essential Oil of *Thymus serpylloides* subsp. *serpylloides*. *Phytochemistry*, 36, 67-72.
- Arthur, C.L., Pawliszyn, J. (1990) Solid-phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.* 62:2145-2148.
- Azaz, D. A., Kürkcüoglu, M., Satil, F., Hüsnu Can Baser, K. & Tümen, G. (2005). In vitro antimicrobial activity and chemical composition of some *Satureja* essential oils, *Flavour and Fragrance Journal*. 20, 587–591.
- Barazani, O., Cohen, Y., Fait, A., Diminshtein, S., Dudai, N., Ravid, U., Putievsky, E. & Friedman, J. (2002). Chemotypic differentiation in indigenous populations of *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* in Israel. *Biochemical Systematics and Ecology* ,30, 721–731.
- Bartelt, J.R. (1997). Calibration of a commercial solid-phase microextraction device for measuring concentrations of organic volatiles. *Anal. Chem.*, 69, 364-372.
- Baser, K.H.C & Demirci, F. (2007). In: *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*, R.G. Berger (Ed.), Springer, Berlin, 43-86.
- Bentley, R. Y., & Trimen, H. (1980). Medicinal plants. London: J. and A
- Bicchi, C. (2000). Encyclopedia of Separation Science. III/Essential Oils/ Distillation, 2744-2755, Academic Press.
- Bicchi, C., Drigo, St., Rubiolo, P. (2000). Influence of fibre coating in headspace solid-phase microextraction–gas chromatographic analysis of aromatic and medicinal plants. *Journal of Chromatography A*, 892, 469–485.

- Boelens, M. H. & Jimenez, R. (1992). The chemical composition of Spanish Myrtle oils. Part II. *Journal of Essential Oil Research*, 4, 349-353.
- Boelens, M. H., & Jimenez, R. (1991). The chemical composition of Spanish Myrtle oils. Part I. *Journal of Essential Oil Research*, 3, 173-177.
- Bondet, V., Brand-Williams, W., Berset, C. (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensm. Wiss. Techn.*, 27, 609-615.
- Boyd-Boland, A., Chai, M., Luo, Z.Y., Zhang, Z., Pawliszyn J., Gorecki, T. (1994). New solvent-free sample preparation techniques based on fiber and polymer technology. *Environ. Sci. Technol.*, 28(13), 569-574A.
- Bradesi, P., Tomi, F., Casanova, J., Costa, J., & Bernardini, A. F. (1997). Chemical composition of Myrtle Leaf Essential Oil from Corsica (France). *Journal of Essential Oil Research*, 9, 283-288.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensm. Wiss. Techn.*, 28, 25-30.
- Buchanan, B.B., Gruissem, W & Jones, R.L. (2000). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Rockville: American Society of Plant Physiologists
- Cakir, A., Mavi, A., Yildirim, A., Emin Duru, M., Harmandar, M., Kazaz, C., (2003). Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionation, *J. Ethnopharmacol.*, 87.
- Capone, W., Mascia, C., Melis, M. & Spandda, L. (1988). Determination of terpenic compounds in the essential oil from *Satureja thymbra* L. growing in Sardinia. *Journal of Chromatography*, 457, 427-430.
- Celiktas, O. Y., Bedir, E. & Sukan, F. V. (2007). In vitro antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. *Food Chem.* 101, 1457–1464.
- Chalchat, J. C., Garry, R. P., & Michet, A. (1998). Essential oil of Myrtle (*Myrtus Communis* L.) of the Mediterranean Littoral. *Journal of Essential Oil Research*, 10, 613-617.
- Chen, W., Gast, L.B K., Smithey, S. (2000). The effects of different freeze-drying processes on the moisture content, color, and physical strength of roses and carnations. *Scientia Horticulturae*, 84, 321-332.
- Choi, Eun-Mi Hwang, Jae-Kwan. (2004). Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*, *Fitoterapia*, 75, 557– 565.
- Chorianopoulos, N., Evergetis, E., Mallouchos, A., Kalpoutzakis, E., Nychas, G.-J. & Haroutounian, A.S. (2006). Characterization of the Essential Oil Volatiles of *Satureja thymbra* and *Satureja parnassica*: Influence of Harvesting Time and Antimicrobial Activity. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 3139-3145.
- Circella, G., Franz, C., Novak, J. & Resch, H. (1995). Influence of day length and leaf insertion on the composition of Marjoram Essential Oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 10, 371-374.

- Coleman, W. M. III & Lawrence B. M. (1997). A Comparison of Selected Analytical Approaches to the Analysis of an Essential Oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 12, 1-8.
- Congiu, R., Falconieri, D., Marongiu, B., Piras, A. & Porcedda, S. (2002). Extraction and isolation of *Pistacia lentiscus* L. essential oil by supercritical CO₂. *Flavour Fragrance Journal*, 17, 239–244.
- Coumans, W. J., Piet, J., Kerkhof, A.M. & Bruin, S. (1994). *Drying Technology*, 12(1), 99-149.
- Croteau, R., Felton, M., Karp, F. & Kjonaas, R. (1981). Relationship of Camphor Biosynthesis to Leaf Development in Sage (*Salvia officinalis*). *Plant Physiol.* 67, 820-824.
- Damjanović, B., Lepojević, Ž., Živković, V. & Tolić, A. (2005). Extraction of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds with supercritical CO₂: Comparison with hydrodistillation, *Food Chemistry*, 92 143–149.
- Delamare, A. P. L., Moschen-Pistorello, I. T., Artico, L., Atti-Serafini, L. & Echeverrigaray, S. (2007). Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chem.*, 100, 603-608.
- Dellacassa, E., Lorenzo, D., Moyna, P., Frizzo, C. D., Serafini, L. A. & Dugo, P. (1999). *Rosmarinus officinalis* L. (Labiatae) essential oils from the South of Brazil and Uruguay. *J. Essent. Oil Res.* 27–30.
- Díaz -Maroto M., Cabezudo, M.D. (2003). Influence of drying on the flavor quality of spearmint (*Mentha spicata* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 51, 1265-1269.
- Díaz -Maroto M.C., Díaz-Maroto Hidalgo, J., I., Sánchez-Palomo, E, & Pérez-Coello, M. S. (2005). Volatile Components and Key Odorants of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Oil Extracts Obtained by Simultaneous Distillation- Extraction and Supercritical Fluid Extraction. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 5385-5389.
- Díaz -Maroto M.C., Gonzales-Vinas, M.A., Cabezudo, M.D. (2003). Evaluation of the effect of drying on aroma of parsley by free choice profiling. *Eur. Food Res. Technol.*, 216, 227-232.
- Díaz -Maroto M.C., Perez Coello, M.S., Cabezudo, M.D. (2002). Effect of drying methods on the volatile components of parsley (*Petroselinum crispum* L.). *Eur. Food Res. Technol.*, 215, 227-230.
- Díaz -Maroto M.C., Perez Coello, M.S., Cabezudo, M.D. (2002). Effect of drying method on the volatiles in bay leaf (*Laurus nobilis* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4520-4524.
- Díaz-Maroto, M. C., Castillo, N., Castro-Vázquez, L., Miguel, Á. G.-V. & Pérez-Coello, M. S. (2007). Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) plants, *Flavour Fragr. J.* 22, 114–118.
- Dicke, M., van Beek, T.A, Posthumus, M.A, Ben Dom, N., Van Bokhoven, H. & De Groot, A. (1990). Isolation and identification of a volatile kairomone that affects acarine predator – prey interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 16, : r 381–396.

- Douissa, F. B., Hayder, N., Ghedira, L. C., Hammami, M., Ghedira, K., Mariotte, A. M., & Franca, M. G. D. (2005). New study of the essential oil from leaves of *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) from Tunisia. *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 410–414.
- Duranni, M. (1992). The physical Gelation of Biopolymers and their mixtures, Ph. D. Thesis, University of Cambridge.
- E. Hernandez, (2000). Encyclopedia of Separation Science, III/Essential Oils/ Distillation, 2739-2743, Academic Press.
- Elfellah, MS., Akhter, M.H. & Khan, M.T. (1984). ANTI-HYPERGLYCAEMIC EFFECT OF AN EXTRACT OF MYRTUS COMMUNIS IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES IN MICE. *Journal of Ethnopharmacology*, 11, 275-281.
- Falchi Delitala, L., Solinas, V. & Gessa, C. (1983).Variazioni Stagionali Quantitative e Qualitative di Olio Essenziale e dei suoi Fenoli in *Thymus capitatus* Hofm. et Lk. ed in *Thymus herba-barona* Loisel. *Fitoterapia*, 59, 87-96.
- Faudale, M., Viladomat, F., Bastida, J., Poli, F. & Codina, C. (2008). Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Wild, Edible, and Medicinal Fennel from Different Mediterranean Countries. *J. Agric. Food Chem.* 56, 1912–1920.
- Fellows, P.J. (1990) in“Food Processing Technology, principles and practice”, Ed. Ellis Horwood Limited.
- Figueiredo, A. C., Barroso, G. J., Pedro, G. L. & Scheffer, J. C.J. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils, *Flavour Fragr. J.*, 23, 213–226.
- Flamini, G., Cioni, P. L., Morelli, I., Maccioni, S. & Baldini, R. (2004). Phytochemical typologies in some populations of *Myrtus communis* L. on Caprione Promontory (East Liguria, Italy). *Food Chemistry*, 85, 599–604.
- Fleisher, Z. & Fleisher, A. (2005). Extract Analyses of *Satureja thymbra* L. and *Thymbra spicata* L. Aromatic Plants of the Holy Land and the Sinai. Part XVII *Journal of Essential Oil Research* , Jan/Feb.
- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A. & Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.* 102, 898–904.
- Gardeli, Chr., Papageorgiou, V., Mallouchos, A., Kibouris, Th. & Komaitis, M. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtuscommunis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107, 1120–1130.
- Godefoot, M., Sandra, P. & Verzele, M. (1981). New Method For Quantitative Essential Oil Analysis. *Journal of Chromatography*, 203, 325-335.
- Gross, M., Friedman, J., Dudai, N., Larkov, O., Cohen, Y., Bar, E., Ravid, U., Putievsky, E. & Lewinsohn, E. (2002). Biosynthesis of estragole and *t*-anethole in bitter fennel (*Foeniculum*

- vulgare* Mill. var. *vulgare*) chemotypes. Changes in SAM:phenylpropene O-methyltransferase activities during Development. *Plant Science*, 163, 1047-1053.
- Guillén, M. D. & Manzanos, M. J. (1996). A study of several parts of the plant *Foeniculum vulgare* as a source of compounds with industrial interest. *Food Research International*, 29(1), 85-88.
- Guissepe, R. & Baratta, M. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid systems. *Food Chemistry*, 69, 167-174.
- Handa, L. K., Smith, M. D., Nigam C. I., & Levi Leo, (1964). Essential Oils and their Constituents XXIII. Chemotaxonomy of the Genus *Mentha*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 53(11).
- Hanlidou, E., Karousou, R., Kokkini, S. (1998). The sage plants in Greece. Morphological variation and its taxonomic implications , in Proceedings in the 1st Balkan Botanical Congress, Progress in *Botanical Research*, ed. Ioannes Tsekos and Michael Moustakas, Kluwer Academic Publishers.
- Haslam, E. (1986). Secondary metabolism – Fact or fiction. *Natural Product Reports*, 3, 323–344.
- Hay, M. K. R., & Waterman, G. P. (1993). *Volatile oil crops: Their biology, biochemistry and production*. New York: Wiley.
- Hudaib, M., Speroni, E., Pietra, A. M. & Cavrini, V. (2002). GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 29, 691–700.
- Huie, W. C. (2002). A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Anal Bioanal Chem*, 373, 23–30.
- Huopalahti R, Kesalahti E, Linko R. (1985). Effect of hot air and freeze drying on the volatile components of dill *Anethum graveolens* herb. *J Agric Sci Finland*, 57: 133–138.
- Hósnó Can Başer, K., Demirci, F., Chemistry of Essential Oils, Anadolu University, Turkey
- Inderjit & Keating K.I. (1999). Allelopathy: Principles, procedures, processes, and promises for biological control. *Advances in Agronomy*, 67, 141–231.
- Jacobson, M. (1982). Plants, insects, and man – Their relationships. *Economic Botany*, 36, 346–354.
- Jamoussi, B., Romdhane, M., Abderraba, A., Hassine, B.B. & Gardi, A. (2005). Effect of harvest time on the yield and composition of Tunisian myrtle oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 274-277.
- Jordal, M.M. (2004). *Illicium, Pimpinella and Foeniculum*, *Medicinal and Aromatic Plants*, CRC Press.
- Jordán, J. M., Martínez, M. R. , Goodner, L. K., Baldwin, A. E. & Sotomayor, A. J. (2006). Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial Crops and Products*, 24, 253–263.

- Karousou, R., Grammatikopoulos, G., Lanaras, T., Manetas, Y. & Kokkini, St. (1998). Effects of Enhanced UV-B Radiation on *Mentha Spicata* Essential Oils. *Phytochemistry*, 49(8), 2273-2277.
- Karousou, R., Koureas, N. D.& Kokkini, S.(2005). Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Phytochemistry*, 66, 2668–2673.
- Karpouhtsis, I., Pardali, E., Feggou, E., Kokkini, St. Zacharias, Scouras, G. & Mavragani-Tsipidou, P. (1998). Insecticidal and Genotoxic Activities of Oregano Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.* 46, 1111-1115.
- Kataoka, H., Lord, K., Pawliszyn J. (2000). Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *J. Chromatogr. A*, 880, 35-62.
- Kirimer, N., Basher, K. H. C., Demirci, B. & Duman, H. (2004). Essential oils of *Sideritis* species of Turkey belonging to the section *Empedoclia*” *Chemistry of Natural Compounds*, 40 (1), 19-23.
- Kokkini, S., Karousou, R. & Hanlidou, E. (2003). Herbs of the Labiatae, Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Elsevier Science Ltd.
- Kokkini, S., Karousou, R., & Vokou, D.(1994). Pattern of geographic variation of *Origanum vulgare* trichomes and essential oil content in Greece. *Bioch.System.Ecol.*, 22 (5), 517-528.
- Kokkini, S., Vokou, D., (1989). Carvacrol-rich Plants in Greece. *Flavour and Fragrance Journal*, 4, 1-7.
- Kokkini, S., Karousou, R., Dardiotti, A., Krigas & N., Lanaras, T. (1997). Autumn essential oils of Greek oregano. *Phytochemistry*, 44 (5), 883-886.
- Kokkini, St., Karousou, R. & Lanaras, Th. (1995). Essential Oils of Spearmint (Carvone-rich) Plants from the Island of Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 23(4),425-430.
- Koukos, P. K., Papadopoulou, K. I., Papagiannopoulos, A. D., & Patiaka, D. Th. (2001). Chemicals from greek forestry biomass: Constituents of the leaf oil of *Myrtus communis* L. grown in Greece. *Journal of Essential Oil Research*, 13, 245-246.
- Križmana, M., Baričević, D., Prošek, M. (2006). Fast quantitative determination of volatile constituents in fennel by headspace-gas chromatography, *Analytica Chimica Acta* ,557, 267–271.
- Kulisic, T., Radonic, A. , Katalinic, V., Milos, M., (2004).Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85, 633-640.
- Lagouri, V., Blekas, G., Tsimidou, M., Kokkini, S. & Boskou, D. (1993).Composition and antioxidant activity of essential oils from Oregano plants grown wild in Greece. *Z. Lebensm Unters Forsch*, 197, 20-23.

- Lassaad Hedhili, Mehrez Romdhane, Abdelmenef Abderrabba, Henri Planche & Imed Cherif. (2002). Variability in essential oil composition of Tunisian *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link. *Flavour Fragr. J.* 17, 26–28.
- Lord, H., Pawliszyn, J. (2000). Evolution of solid-phase microextraction technology. *J. Chromatogr. A*, 885, 153-193.
- Luque de Castro, M.D., Jiménez-Carmona, M.M.& Fernández-Pérez,V. (1999). Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants. *Trends in analytical chemistry*, 18(11).
- Marotti M., Dellacecca V., Piccaglia R. & Giovanelli E. (1993). AGRONOMIC AND CHEMICAL EVALUATION OF THREE "VARIETIES" OF *FOENICULUM VULGARE* MILL., in First World Congress on Medicinal and Aromatic Plants for Human Welfare (WOCMAP), Maastricht, Netherlands, 19-25 July 1992, Eds., Acta Horticult. 331, 63-69.
- Michaelakis, A., Theotokatos, A.S., Koliopoulos, G. & Chorianopoulos, G. N. (2007). Essential Oils of *Satureja* Species: Insecticidal Effect on *Culex pipiens* Larvae (Diptera: Culicidae), *Molecules*, 12, 2567-2578.
- Miraldi, E. (1999). Comparison of the essential oils from ten *Foeniculum vulgare* Miller samples of fruits of different origin. *Flavour Fragr. J.*, 14, 379-382 .
- Mizutani, J. (1999). Selected allelochemicals. *Critical Reviews in Plant Science*, 18(6), 53–671.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26, 211-219.
- Muckensturm, B., Foechterlen, D., Reduron, J.-P., Danton, P. & Hildenbrand, M. (1997). Phytochemical and Chemotaxonomic Studies of *Foeniculum vulgare*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 25(4), 353-358.
- Müller-Riebau, J. F., Berger M., Yegen, O. & Cakir, C. (1997). Seasonal Variations in the Chemical Compositions of Essential Oils of Selected Aromatic Plants Growing Wild in Turkey. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 4821-4825.
- Máñez, S., Jiménez, A., Villar, A. (1991). *J. Essent. Oil Res.*, 3, 395–397.
- Nickerson, B. G., Likens, T. S. (1966). Gas chromatographic evidence for the occurrence of Hop oil components in beer. *Journal of Chromatography*, 21, 1-5.
- Ouahada, A.(2004). In Proceedings of the IFEAT International Conference 2004—The Essential Oils of the Mediterranean Region, Green C (ed.). International Federation of Essential Oils and Aroma Trades (FEAT), London, UK, 53–57
- Özean ,M., Chalchat, J. C. Akgül A. (2001). Essential oil composition of Turkish mountain tea (*Sideritis* spp). *Food Chemistry*, 75 (4), 459-463.
- Ozek, T., Demirci, B., & Baser, K. H. C. (2000). Chemical composition of Turkish Myrtle Oil. *Journal of Essential Oil Research*, 12, 541-544.

- Palá-Paúl, J., Brophy, J.J., Goldsack, R.J. & Fontaniella, B. (2004). Analysis of the volatile components of *Lavandula canariensis* (L.) Mill., a Canary Islands endemic species, growing in Australia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32, 55–62.
- Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P.L. & Morelli, I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 39, 167- 170.
- Paolini, J., Leandri, Chr., Desjobert, J-M., Barboni, T. & Costa, J. (2008). Comparison of liquid–liquid extraction with headspace methods for the characterization of volatile fractions of commercial hydrolats from typically Mediterranean species. *Journal of Chromatography A*, 1193, 37–49.
- Papageorgiou, V., Gardeli, Chr., Mallouchos, A., Papaioannou, & Komaitis, M. (2008). Variation of the Chemical Profile and Antioxidant Behavior of *Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia fruticosa* Miller Grown in Greece. *J. Agric. Food Chem.*, 56 (16), 7254-7264.
- Pappa, G. (2001). *Possibilities of productive plantations of aromatic plants in abandoned agricultural fields- the case of Salvia triloba, Origanum onites, Origanum spp. Hirtum in North Aegean islands*. Mytilene (Greece): Ph.D. Thesis, University of the Aegean.
- Pellati, F., Benvenuti, St., Yoshizaki, F., Bertelli, D. & Rossi, C. M. (2005). Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry analysis of the volatile compounds of *Evodia* species fruits. *Journal of Chromatography A*, 1087 (1-2), 265-273.
- Perry, N. B., Baxter, A. J., Brennan, N. J. & Klink, J. W. (1996). Dalmatian Sage. Part 1. Differing oil yields and compositions from flowering and non-flowering accessions. *Flavour and Fragrance Journal*, 11, 231-238.
- Pharmacopée Européenne, (1997). 3rd ed., Conseil de l'Europe, Strasbourg, 869-872.
- Piccaglia, R., Marotti, M. (1993). Characterization of several aromatic plants grown in Northern Italy. *Flavour and Fragrance Journal*, 8, 115-122.
- Pichersky, E. and Gershenzon, J. (2002). The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 237–243.
- Pintore, G., Usai, M., Bradesi, P., Juliano, G., Boatto, G., Tomi, F., Chessa, M., Cerri, R. & Casanova, J. (2002). Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. from Sardinia and Corcica. *Flavour Fragrance J.* 17, 15–19.
- Pitarokili, D., Tzakou, O., Loukis, A. & Harvala, C. (2003). Volatile metabolites from *salvia fruticosa* as antifungal agents in soilborne pathogens. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 3294-3301.
- Politeo, O., Jukić, M. & Miloš, M. (2006). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils of Twelve Spice Plants. *Croatica Chemica Acta CCACAA* 79 (4) 545-552 .
- Ponce G. A., Valle del E.C., Roura I. S. (2004). Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 37 199–204.

- Poole, C. F. & Schuette, S.A. (1983). Isolation and Concentration Techniques for Capillary Column Gas Chromatographic Analysis, CRC Critical Review: Isolation and Concentration of Samples for Capillary GC. *Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications*, 6.
- Pooter, H. L., Schamp, N. M., Aboutabl, E. A., Tohamy, S. F., & Doss, S. L. (1991). Essential oils from the leaves of three *Pistacia* species grown in Egypt. *Flavour and Fragrance Journal*, 6, 229–232.
- Prakash, A. (2001). PhD, Antioxidant Activity, *Analytical Progress*, 19(2).
- Prosen, H., Zupancic-Kralj, L. (1999). Solid-phase microextraction. *Trends Anal. Chem.*, 18(4), 272-282.
- Reineccius, G. A. (2007). Flavour-Isolation Techniques. In : *Flavours and Fragrances Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*, Springer Berlin Heidelberg, 409-426.
- Roberts, D.D., Pollien, P., Milo, C. (2000). Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2430-2437.
- Rohloff, J., (1999). Monoterpene Composition of Essential Oil from Peppermint (*Mentha _ piperita* L.) with Regard to Leaf Position Using Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography/Mass Spectrometry Analysis, *J. Agric. Food Chem.* 47, 3782-3786.
- Ruberto, G., Baratta, T.M. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69, 167-74.
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M.& Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem.* 91, 621–632.
- Scora, R.W. (1973). Essential leaf oil variability in green, variegated and albino foliage of *Myrtus communis*. *Phytochemistry*, 12, 153-155.
- Seigler, D.S. (1998). Plant secondary metabolism, Kluwer Academic Publishers: Norwell.
- Shahidi, F. (Ed). (1997). In: Natural antioxidants, Chemistry, Health effects and Applications, American Oil Chemists Society.
- Shitanda, D. & Wanjala, N. V. (2006). Effect of Different Drying Methods on the Quality of Jute (*Corchorus olitorius* L.). *Drying Technology*, 24:1, 95-98.
- Skoula, M., Abbes, J. E. & Johnson, C. B. (2000). Genetic variation of volatiles and rosmarinic acid in populations of *Salvia fruticosa* mill growing in Crete. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 551-561.
- Soković, M., Tzakou, O., Pitarokili, D. & Couladis, M. (2002). Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece. *Nahrung/Food* 46 (5), 317 – 320.
- Stashenko, E. E., Jaramillo, E.B., Martínez, R. J. (2004). Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian *Xylopiia aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1025, 105–113.

- Stashenko, E.E., Jaramillo, E. B.& Martínez, R. J., (2004). Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. *Journal of Chromatography A*, 1025, 93–103.
- Taiz, L. and Zeiger, E. (1998). Plant Physiology. Sunderland: Sinauer Associates.
- Turtola, S., Manninen, A-M, Rikala, R. & Kainulainen, P. (2003), Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in scots pine and norway spruce seedlings, *Journal of Chemical Ecology*, 29(9), 1981-1995.
- Van den Dool, H., (1974). Standardisation of G.C. Analysis of Essential oils, Rotterdam.
- Venskutonis R. P. (1997). Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.). *Food Chemistry*, 59, 219-227.
- Venskutonis R., Poll L., & Larsen M. (1996). Influence of Drying and Irradiation on the Composition of Volatile Compounds of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Flavour and Fragrance Journal*, 11, 123-128.
- Vernet, Ph., Gouyon, H.P. & Valdeyron G. (1986), Genetic control of the oil content in *Thymus vulgaris* L.: a case of polymorphism in a biosynthetic chain. *Genetica*, 69, 227 – 231.
- Vokou, D. & Margaris, S. N. (1986). Variation of Volatile Oil Concentration of Mediterranean Aromatic Shrubs *Thymus capitatus* Hoffmag et Link, *Satureja thymbra* L., *Teucrium polium* L. and *Rosmarinus officinalis*. *International Journal Biometeorology*, 30(2), 147-155.
- Vokou, D., Kokkini, S., Bessiere, J.-M. (1993). Geographic variation of Greek (Oregano *Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils. *Biochem. Syst. Ecol.* 21, 287–295.
- Vokou, D., Margaris, S. N. & Lynch M. J. (1984). Effects of volatile oils from Aromatic shrubs on soil microorganisms. *Soil Biol. Biochem.*, 16(5), 509-513.
- Wang, W.; Wu, N.; Zu, Y. G.; Fu, Y. J. (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry*, 108, 1019-1022.
- Yadegarinia , D., Gachkar, L., Rezaei, B.M., Taghizadeh, M., Astaneh, Sh. A., Rasooli, I. (2006). Biochemical activities of Irania *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 67, 1249–1255.
- Zhang, Z., Pawliszyn, J. (1993). Headspace solid-phase microextraction. *Anal. Chem.*, 65, 1843-1852.
- Zrira, S., Elamrani, A., & Benjilali, B. (2003). Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Morocco - a seasonal variation. *Flavour and Fragrance Journal*, 18, 475–480.
- King, C.J. (1974). Novel Dehydration Techniques in Advances in Preconcentration and Dehydration of Foods, by Spicer, A. (Ed), John Wiley & Sons, Applied Science Publishers Ltd.

Nemeth, E. (2005). Essential Oil Composition of Species in the Genus *Achillea* *J. Essent. Oil Res.* 17, 501–512.

Ελληνική βιβλιογραφία

- Βώκου, Δ. (1983). Διδακτορική Διατριβή. Τα αιθέρια έλαια και ο ρόλος τους στα φρυγανικά οικοσυστήματα. Σχολή Θετικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.
- Γαβαλάς Π. Ν., (2004). Πληθυσμοί Ρίγανης (*Origanum vulgare* L.) στη Βόρεια και Κεντρική Ελλάδα: Επίδραση Αβιοτικών Παραγόντων στα Φαινοτυπικά Γνωρίσματά τους, Διδακτορική διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Γεωπονίας, Τομέας Φυτών Μεγάλης Καλλιέργειας και Οικολογίας, Θεσσαλονίκη .
- Γιαννιώτης, Σ. «Μηχανική Τροφίμων –Φαινόμενα Μεταφοράς στη Μηχανική Τροφίμων», Σημειώσεις για τους φοιτητές του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Γ.Π.Α.
- Γιαννιώτης, Σ., «Μηχανική Τροφίμων –Φυσικές Διεργασίες Μηχανικής Τροφίμων», Σημειώσεις για τους φοιτητές του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Γ.Π.Α.
- Γκόλιαρης, Α., Καλλιέργεια, Αυτοφυή είδη και βελτίωση στο Ελληνικό Τσαϊ του Βουνού (*Sideritis* L.), Ε.Θ.Ι.Α.Γ.Ε. Τμήμα Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών http://www.iama.gr/ethno/sideritis/tsai_tou_vounou_files/Tsai_tou_vounou_Gkoliaris_Apostolos.pdf
- Δαφερέρα, Δ., Ταραντίλης, Π. Α. & Πολυσιού, Μ. ΘΥΜΑΡΙ (*THYME*) (2006): Φαρμακολογική-Βιολογική Δράση. Πρακτικά επιστημονικού συνεδρίου «Το θυμάρι», υπό την αιγίδα του φαρμακευτικού συλλόγου, Άνδρος 3-4 Ιουνίου.
- Ευαγγελίου Βασιλική, (2006). Εργαστηριακές Ασκήσεις Φυσικοχημείας Τροφίμων, Γ.Π.Α.
- Ευσταθίου, Κ. (2003). Σημειώσεις στην Στατιστική επεξεργασία αναλυτικών αποτελεσμάτων, Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Ζαννέτου-Παντελή Κ., (1998). Τα Φαρμακευτικά Φυτά της Κύπρου, Λάρνακα.
- Καλλαϊτζάκης, Αγγ. Ι., (1995). Υδατάνθρακες και δευτερογενή φυτικά προϊόντα. Αθήνα.
- Καρούσου, Ρ.Β. (1995). ‘Ταξινομική Προσέγγιση της οικογένειας Labiatae στην Κρήτη, εξάπλωση, μορφολογία και αιθέρια έλαια’, Διδακτορική Διατριβή, Θεσσαλονίκη.
- Λάζος, Ε. (1992). «Επεξεργασία Τροφίμων Ι» Σχολή Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής, Αθήνα .
- Λιακόπουλος, Γ. (2003). Διδακτορική Διατριβή. Ανατομικές και φυσιολογικές μεταβολές στα φύλλα της ελιάς (*Olea Europaea* L.) υπό συνθήκες τροφωπενίας βορίου
- Πρόγραμμα « Επενδυτικές Δυνατότητες στον τομέα αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών στην Ελλάδα», Αθήνα Μάιος 2002, Υπουργείο Οικονομίας και Οικονομικών και Υπουργείο Γεωργίας.

- Σεραϊδης Π., (2000). Φυτά της Λέσβου, Μυτιλήνη.
- Σκουμπής Βύρων, (1985). «Αρωματικά φυτά και αιθέρια έλαια», Θεσσαλονίκη.
- Σουλελής, Χ. Ν. (2000). Φαρμακογνωσία. Εκδόσεις Πήγασος, Θεσσαλονίκη.
- Στεφανάκη-Νικηφοράκη Μαρία (1999). «Συστηματική Βοτανική» Εκδ. Σταμούλης, Αθήνα.
- Φοίτου, Δ.Γ. (1984). «Συστηματική Βοτανική», Λύχνος, Πάτρα.
- Χατζιωάννου, Θ., Ευσταθίου, Κ., (1992). Ενόργανες τεχνικές αναλύσεως. Τόμος Α. Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Ηλεκτρονικές πηγές

- <http://eu.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-04-70047852.html>
- <http://www.nist.gov/srd/nist1a.htm>
- www.supelco.com
- <http://el.wikipedia.org/>
- <http://encyclopedia.thefreedictionary.com/chemotype,Definition> from Encyclopedia Dictionaries & Glossaries, Wikipedia