



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

Π.Μ.Σ. "Θετικές Επιστήμες στη Γεωπονία –  
Μελέτη και Αξιοποίηση Φυσικών Προϊόντων"

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**«Προσδιορισμός της θουγιόνης σε βότανα της ελληνικής χλωρίδας και  
στα αφεψήματα τους».**



**Νεφέλη Σοφία Δ. Σωτηροπούλου**

**Επιβλέπων Καθηγητής**

Πέτρος Α. Ταραντίλης, Αναπληρωτής Καθηγητής Γ.Π.Α

Αθήνα, 2014



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ  
Π.Μ.Σ. "Θετικές Επιστήμες στη Γεωπονία –  
Μελέτη και Αξιοποίηση Φυσικών Προϊόντων"

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**«Προσδιορισμός της θουγιόνης σε βότανα της ελληνικής χλωρίδας και  
στα αφεψήματα τους».**

**Νεφέλη Σοφία Δ. Σωτηροπούλου**

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή**

Πέτρος Ταραντίλης, Αναπληρωτής Καθηγητής Γ.Π.Α-Επιβλέπων

Μόσχος Πολυσίου, Καθηγητής Γ.Π.Α

Αθανάσιος Κυμπάρης, Επίκουρος Καθηγητής Δ.Π.Θ

Αθήνα, 2014

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Προγράμματος « Μελέτη και Αξιοποίηση Φυσικών Προϊόντων », του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, 2013-2014. Το αντικείμενο της αφορά τον ποσοτικό προσδιορισμό της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης σε βότανα της ελληνικής χλωρίδας και στα αφηνήματα τους.

Μετά την ολοκλήρωση της θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους με βοήθησαν και συνέβαλαν σε αυτήν την προσπάθεια.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της διπλωματικής μου εργασίας και Αναπληρωτή Καθηγητή Πέτρο Ταραντίλη, για αυτήν την εμπειρία η οποία με έκανε να ασχοληθώ με τόσο ενδιαφέροντα θέματα, συμβάλλοντας έτσι στις μελλοντικές μου επιστημονικές επιλογές. Τον ευχαριστώ ιδιαίτερα για την καθοριστική του συμβολή σε όλη τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος, αλλά και για την επιστημονική και συνολική υποστήριξη του.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Μόσχο Πολυσιού και τον επίκουρο Καθηγητή Αθανάσιο Κυμπάρη, για το ενδιαφέρον τους, την συμμετοχή τους στην τριμελή επιτροπή, τη μελέτη και τη διόρθωση της παρούσας εργασίας.

Τις ευχαριστίες μου θα ήθελα να εκφράσω στην κ. Δήμητρα Δαφερέρα, μέλος του Εργαστηριακού Διδακτικού Προσωπικού για την πολύτιμη βοήθεια της στο σύνολο της προσπάθειας μου. Την ευχαριστώ για το ενδιαφέρον που επέδειξε, τις πολύτιμες συμβουλές της και το χρόνο που αφιέρωσε σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Επιπλέον, θέλω να ευχαριστήσω όλη την ομάδα του εργαστηρίου και τους φοιτητές για την συνεργασία και το ευχάριστο κλίμα μέσα στο οποίο υλοποιήθηκαν τα εργαστηριακά πειράματα μου και η εργασία.

Καταλήγοντας, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου η οποία με στήριξε για μια ακόμη φορά στην επιλογή και την προσπάθεια μου.

Νεφέλη Σοφία Δ. Σωτηροπούλου

Αθήνα, 2014



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ .....	i
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	vi
ABSTRACT .....	viii
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	1
1.1 Γενικά.....	1
1.2 Παρουσίαση βοτάνων .....	3
1.2.1 Αψιθιά, <i>Artemisia absinthium</i> .....	3
1.2.2 Μέντα, <i>Mentha piperita</i> .....	4
1.2.3 Ρίγανη, <i>Origanum vulgare</i> .....	5
1.2.4 Φασκόμηλο, <i>Salvia officinalis</i> .....	7
1.3 Αιθέρια έλαια .....	9
1.3.1 Τερπένια .....	10
1.4 Παραλαβή αιθερίων ελαίων .....	11
1.4.1 Απόσταξη με συσκευή Clevenger .....	12
1.5 Αφεψήματα .....	14
1.6 Θουγιόνη .....	15
1.6.1 Χημεία της $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης.....	15
1.6.2 Φυσική προέλευση και βιοσύνθεση της $\alpha$ -και $\beta$ -θουγιόνης.....	16
1.6.3 Η $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνη σε διάφορα προϊόντα και κανονισμοί .....	17
1.6.4 Βιολογική δράση της $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης.....	20
1.6.4.1 Ανταγωνιστής των GABA υποδοχέων .....	20
1.6.4.2 Ανταγωνιστής του 5-HT <sub>3</sub> υποδοχέα.....	20
1.6.4.3 Ηπατική δράση .....	20
1.6.5 Μεταβολισμός $\alpha$ -θουγιόνης .....	21
1.6.6 Τοξικότητα $\alpha$ - και $\beta$ - θουγιόνης.....	23
1.6.7 Παρενέργειες.....	24
1.7 Μελέτη των συστατικών των αιθερίων ελαίων και των πτητικών συστατικών αφεψημάτων με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS).....	25
1.7.1 Μέθοδος εσωτερικού προτύπου .....	27
1.8 Σκοπός της μελέτης.....	28
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	30

2.1 Φυτικό υλικό .....	30
2.2 Χημικά .....	31
2.3 Υδρο-απόσταξη.....	31
2.4 Παρασκευή αφεψημάτων.....	32
2.5 Εκχύλιση με οργανικό διαλύτη .....	32
2.6 Προετοιμασία δειγμάτων για ανάλυση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS) .....	34
2.6.1 Παρασκευή πρότυπου διαλύματος κυκλοεξανόνης .....	34
2.6.2 Προετοιμασία αιθερίων ελαίων.....	34
2.6.3 Προετοιμασία αφεψημάτων .....	34
2.7 Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των αιθερίων ελαίων και των αφεψημάτων με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS) .....	34
2.8 Βαθμονόμηση πρότυπων διαλυμάτων $\alpha$ -θουγιόνης για ανάλυση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS) .....	36
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	38
3.1 Ταυτοποίηση των συστατικών των αιθερίων ελαίων και των πτητικών συστατικών των αφεψημάτων των βοτάνων με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS).....	38
3.1.1 Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων αψιθιάς, <i>Artemisia absinthium</i> .....	38
3.1.2 Χημική σύσταση των αφεψημάτων αψιθιάς, <i>Artemisia absinthium</i> .....	42
3.1.3 Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων μέντας, <i>Mentha piperita</i> .....	45
3.1.4 Χημική σύσταση των αφεψημάτων μέντας, <i>Mentha piperita</i> .....	48
3.1.5 Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων ρίγανης, <i>Origanum vulgare</i> .....	50
3.1.6 Χημική σύσταση των αφεψημάτων ρίγανης, <i>Origanum vulgare</i> .....	54
3.1.7 Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων φασκόμηλου, <i>Salvia officinalis</i> .....	57
3.1.8. Χημική σύσταση των αφεψημάτων φασκόμηλου, <i>Salvia officinalis</i> .....	63
3.2 Ποσοτικός προσδιορισμός $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης .....	67
3.2.1 Ποσοτικός προσδιορισμός $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης σε αιθέρια έλαια και αφεψήματα αψιθιάς .....	69
3.2.2 Ποσοτικός προσδιορισμός $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης σε αιθέρια έλαια και αφεψήματα φασκόμηλου .....	74
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	79
BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	81
ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	81
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	83
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	84

I.ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ ΚΑΙ ΣΧΗΜΑΤΩΝ .....	84
II.ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ .....	86
III. ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ .....	88
IV. ΠΙΝΑΚΑΣ ΔΟΜΩΝ ΚΥΡΙΟΤΕΡΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ .....	89
V. ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ .....	93



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

### «Προσδιορισμός της θουγιόνης σε βότανα της ελληνικής χλωρίδας και στα αφεψήματα τους»

Νεφέλη Σοφία Δ. Σωτηροπούλου

Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής μελέτης αποτέλεσε η παραλαβή και η ανάλυση των αιθερίων ελαίων βοτάνων ελληνικής προέλευσης και των αφεψημάτων τους, με σκοπό τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης σε αυτά. Τα βότανα που επιλέχθηκαν για την εκπόνηση της μελέτης ήταν η αψιθιά (*Artemisia absinthium*), η μέντα (*Mentha piperita*), η ρίγανη (*Origanum vulgare*) και το φασκόμηλο (*Salvia officinalis*) από διαφορετικές περιοχές της Νότιας, Κεντρικής και Βόρειας Ελλάδας. Η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη αποτελούν συστατικά διαφόρων βοτάνων, που χρησιμοποιούνται ως αφεψήματα και ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός τους παρουσιάζει ενδιαφέρον, λόγω της νευροτοξικής δράσης τους στον ανθρώπινο οργανισμό, όταν ξεπεράσουν κάποια όρια.

Η παραλαβή των αιθερίων ελαίων πραγματοποιήθηκε με την τεχνική της υδρο-απόσταξης σε συσκευή Clevenger. Για την παρασκευή των αφεψημάτων, χρησιμοποιήθηκαν 2g φυτικού υλικού τα οποία εκχυλίστηκαν με 200 mL ζεστού νερού. Μετά ακολούθησε εκχύλιση με διαιθυλαιθέρα για την παραλαβή των πτητικών συστατικών.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ποιοτικός και % ποσοτικός προσδιορισμός των συστατικών των αιθερίων ελαίων και των πτητικών συστατικών των αφεψημάτων με την τεχνική της αέρια χρωματογραφίας συνδυασμένης με φασματόμετρο μάζας (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS). Η ταυτοποίηση των συστατικών των αιθερίων ελαίων και των αφεψημάτων τους, έδειξε ότι ο αριθμός των συστατικών των αιθερίων ελαίων είναι μεγαλύτερος από αυτών των αφεψημάτων, σε κάθε περίπτωση βοτάνου. Η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη ανιχνεύθηκαν στα αιθέρια έλαια και στα αφεψήματα της αψιθιάς και του φασκόμηλου, ενώ δεν ανιχνεύθηκαν στην μέντα και στη ρίγανη.

Ακολούθησε ο ποσοτικός προσδιορισμός της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια και στα αφεψήματα αψιθιάς και φασκόμηλου, με την κατασκευή πρότυπων καμπυλών και την μέθοδο εσωτερικού προτύπου.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, στην περίπτωση της αψιθιάς οι συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης ήταν μεγαλύτερες σε αιθέρια έλαια φυτών προερχόμενα από τη Νότια Ελλάδα, σε σχέση με αυτά από την Κεντρική και Βόρεια Ελλάδα. Επίσης βρέθηκε ότι στην αψιθιά



κυριαρχεί η  $\beta$ - θουγιόνη. Το φασκόμηλο, στο οποίο βρέθηκε να κυριαρχεί η  $\alpha$ -θουγιόνη δεν έδειξε συστηματική διαφοροποίηση σε σχέση με τη γεωγραφική προέλευση. Στα αφεψημάτα που προέκυψαν από τα παραπάνω φυτά, προσδιορίστηκαν μικρότερες συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης σε σχέση με αντίστοιχα τα αιθέρια έλαια.

Τέλος, έγινε αναγωγή των συγκεντρώσεων των αφεψημάτων σε  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη στην κούπα (200 mL) και υπολογίστηκε ο αριθμός αφεψημάτων για ημερήσια ασφαλή κατανάλωση, η οποία δεν θα υπερβαίνει τα επιτρεπτά όρια, σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA). Κατανάλωση 3- 6 αφεψημάτων αιθιθιάς και 7- 12 αφεψημάτων φασκόμηλου την ημέρα δεν υπερβαίνει τα ασφαλή όρια.

Εργαστήριο Χημείας Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, 2014

Λέξεις κλειδιά:	Βότανα, Αιθιθιά, Μέντα, Ρίγανη, Φασκόμηλο, $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνη, Αιθέρια έλαια, Αφεψημάτα, Υδρο-απόσταξη, Εκχύλιση με οργανικό διαλύτη, Αέρια χρωματογραφία-Φασματομετρία μαζών, Μέθοδος εσωτερικού προτύπου, Καμπύλη αναφοράς
-----------------	--

## ABSTRACT

### *“Determination of thujone in herbs of Greek flora and their infusions”*

Nefeli Sofia D. Sotiropoulou

The receipt and analysis of essential oils of herbs and herbal infusions Greek origin was the subject of this Thesis for the purpose of qualitative and quantitative determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone in them. The herbs selected for the study was wormwood (*Artemisia absinthium*), mint (*Mentha piperita*), oregano (*Origanum vulgare*) and sage (*Salvia officinalis*) from different origins of Southern, Central and North Greece. The  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone are components of various herbs used as herbal infusions and the qualitative and quantitative determination are interest due to the neurotoxic effects in human body when overcomes some limits.

The receipt of essentials oils was carried out with the technique of hydro-distillation with Clevenger apparatus. For the preparation of herbal infusions 2g of plant were extracted with 200mL hot water. This was followed by extraction with diethylether for the receipt of volatile compounds.

Then the qualitative and % quantitative determination of the constituents of the essential oils and the volatile constituents of the herbal infusions were carried out with gas chromatography combined with mass spectrometry (GC-MS). The identification of the components of essential oils and their herbal infusions showed that the number of components in essential oils is greater than these of herbal infusions in each herb. The  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone detected in essential oils and herbal infusions of wormwood and sage but not detected in mint and oregano.

Followed the determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone in essential oils and herbal infusions of wormwood and sage with the construction of standard curves and the internal standard method.

The results showed that in the case of wormwood the concentrations of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone were higher in essential oils of plants in South Greece compared with those of Central and North Greece. Also in wormwood predominated  $\beta$ -thujone. Sage which was found to be dominated by  $\alpha$ -thujone showed no systematic variation in relation to the geographical origin. In herbal infusions obtained from the above plants were determined lower concentrations of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone compared with the corresponding essential oils.

Finally there was reduction of concentrations of herbal infusions of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone in cup (200mL) and calculated the number of herbal infusions per day for safe consumption which will not exceed the permitted limits according to European Medicines Agency (EMA). Consumption of 3-6 herbal infusions of wormwood and 7-12 herbal infusions of sage does not exceed the safe limits.

Chemistry Lab of Agricultural University of Athens, 2014

Key words:	Herbs, Wormwood, Mint ,Oregano ,Sage, $\alpha$ -and $\beta$ - thujone, Essential oils, Infusions, Hydro-distillation, Extraction with organic solvent, Gas Chromatography-Mass Spectrometry, Method of internal standard, Standard curves
------------	---



## 1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Γενικά

Ένα μεγάλο μέρος της παγκόσμιας χλωρίδας αποτελούν τα βότανα, τα οποία διανύουν βίο παράλληλο με τον άνθρωπο σε όλο το πέρασμα των εποχών και αιώνων.

Ο όρος *βότανο*, είναι γνωστός από την αρχαιότητα, η ανάγκη του ανθρώπου για την πρόληψη και την θεραπεία διάφορων παθήσεων υπήρξε η ώθηση για την περαιτέρω μελέτη και χρήση των βοτάνων. Ανά το πέρασμα των αιώνων, τα βότανα συνδέθηκαν με θεούς και ήρωες, με μύθους και ιστορία.

Οι αρχαιότερες μαρτυρίες για την χρήση των βοτάνων και για τις αρωματικές και φαρμακευτικές ιδιότητες τους προέρχονται από έργα τέχνης και γραπτά των πολιτισμών των Σουμέριων (6000 π.χ.).

Ο Ιπποκράτης (460-377 π.χ.), ο οποίος έχτισε τα θεμέλια της επιστήμης και της φαρμακολογίας, ήταν υποστηρικτής των θεραπευτικών ιδιοτήτων των βοτάνων όπως υποδεικνύουν τα συγγράμματα του. Το έργο του Ιπποκράτη, συνέχισε ο Θεόφραστος (372-287 π.χ.) με το έργο του *«Περί Φυτών Ιστορίας»*, όπου δίνει δεκάδες πληροφορίες για τις φαρμακευτικές και αρωματικές ιδιότητες των φυτών.

Η ιστορία της χρήσης των βοτάνων είναι μεγάλη και αφορά πολλούς διαφορετικούς λαούς και πολιτισμούς, όπως τους Κινέζους, τους Άραβες, τους Αιγύπτιους, τους Ρωμαίους, τους Έλληνες, τους Ινδιάνους Μάγια της Κεντρικής Αμερικής και τους Ίνκας στη Νότια Αμερική, κ.α.

Σύμφωνα με τον αγγλικό ορισμό της Οξφόρδης, *«βότανα είναι όλα τα φυτά, των οποίων οι ρίζες, οι μίσχοι, τα άνθη και τα φύλλα χρησιμοποιούνται ως τροφή ή θεραπεία, χάρη στο άρωμά τους ή με κάποιο άλλο τρόπο...»*. Τα βότανα διατηρούν και σήμερα σε ένα βαθμό το ξεχωριστό κύρος και ενδιαφέρον που είχαν στο παρελθόν.

Τα βότανα στις μέρες μας, άρχισαν να αποκτούν ένα ιδιαίτερο ενδιαφέρον κυρίως λόγω της αλλαγής που επήλθε στον τρόπο ζωής και στις διατροφικές συνήθειες των ανθρώπων, λόγω του ενδιαφέροντος για το περιβάλλον, της χρήσης τους για τη διατήρηση των τροφίμων, της εκτεταμένης χρήσης των αρωμάτων τους και τέλος λόγω των πολυάριθμων φαρμακευτικών χρήσεων τους.

## Εισαγωγή

Πέρα από τις θεραπευτικές και διάφορες άλλες χρήσεις, τα βότανα έχουν μεγάλη οικονομική σημασία σε παγκόσμιο αλλά και σε τοπικό επίπεδο. Το παγκόσμιο εμπόριο αρωματικών φυτών ως πρώτη ύλη ανέρχεται στους 440.000 τόνους με συνολική αξία 20 δις δολάρια (ΗΠΑ).

Στην Ελλάδα η καλλιεργούμενη έκταση των βοτάνων, το 2010 ανερχόταν στα 18000 στρέμματα με παραγωγή 2900 τόνων, δηλαδή το 2% της έκτασης που καλλιεργείται στην Ευρώπη.

Όλες οι παραμεσόγειες χώρες είναι εξαιρετικά πλούσιες σε αυτοφυή βότανα. Η χλωρίδα της Ελλάδας αποτελείται από περισσότερα από 6308 είδη ανώτερων φυτών, από τα οποία τα 500 με 600 χαρακτηρίζονται ως αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά. Αν και η πλούσια χλωρίδα της Ελλάδας σε βότανα την καθιστά ιδανικό μέρος για την καλλιέργεια πολλών από τα παραπάνω, η εξάπλωση της καλλιέργειας τους στην Ελλάδα είναι περιορισμένη και έχει περισσότερο τοπική σημασία. Τα σημαντικότερα βότανα που καλλιεργούνται σήμερα είναι έξι: ρίγανη, κρόκος, τσάι του βουνού, δίκταμο, μάραθος και γλυκάνισος. Περιστασιακά επίσης, καλλιεργούνται το χαμομήλι, η δάφνη, ο βασιλικός, η μέντα, το δεντρολίβανο, το μελισσόχορτο, το φασκόμηλο, το τριαντάφυλλο κ.α.

Τα βότανα καλλιεργούνται είτε για τα αιθέρια έλαια, είτε για τις ξηρές δρόγες τους (αποξηραμένα τμήματα των φυτών, όπως φύλλα, βλαστοί, άνθη, ρίζες, καρποί και σπόροι). Τα αιθέρια έλαια χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην αρωματοποιία, τη φαρμακευτική, τη σαπωνοποιία, τη ζαχαροπλαστική, τη βιομηχανία τροφίμων και ζωοτροφών. Αντίθετα, οι ξηρές δρόγες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή αφεψημάτων και για τη λήψη ορισμένων ουσιών (Δόρδας, 2012).

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή μελετήθηκαν τρία από τα κυριότερα βότανα της οικογένειας *Lamiaceae* που υπάρχουν στην Ελλάδα η μέντα, η ρίγανη και το φασκόμηλο. Καθώς επίσης και το βότανο αψιθιά της οικογένειας *Asteraceae*, η περιγραφή των οποίων ακολουθεί.

## 1.2 Παρουσίαση βοτάνων

### 1.2.1 Αψιθιά, *Artemisia absinthium*

Η **αψιθιά** (Αρτεμισία το αψίνθιο, *Artemisia absinthium*) είναι ένα καλλωπιστικό, αρωματικό και φαρμακευτικό φυτό. Ανήκει στο γένος Αρτεμισία (*Artemisia*) και στην οικογένεια Αστεροειδών (*Asteraceae*). Η αγγλική κοινή ονομασία είναι *wormwood*. Η χρήση της αψιθιάς ως θεραπευτικό μέσο γυρνά πίσω στην αρχαιότητα. Ο Ιπποκράτης χρησιμοποιούσε εκχύλισμα αψιθιάς ως θεραπεία για τους ρευματισμούς, ενώ η θεά Άρτεμις έδωσε στο φυτό το όνομα της, ως αναγνώριση των ιδιοτήτων αυτών. Στο Μεσαίωνα χρησιμοποιήθηκε ως ανθελμινθικό και στη συνέχεια εξελίχθηκε σε θεραπευτικό για όλες τις παθήσεις (Lachenmeier 2010).

Είναι ιθαγενές σε εύκρατες περιοχές της Ευρασίας και της Βόρειας Αφρικής (Γκόλιου, 2012). Κυρίως απαντάται ως αυτοφυές σε ξηρά και άγονα εδάφη, πλαγιές και άκρες μονοπατιών και δρόμων.

Στην Ελλάδα υπάρχουν 7 αυτοφυή είδη αψιθιάς, συνήθως σε ορεινά τμήματα της Θεσσαλίας, της Ηπείρου και της Μακεδονίας, αλλά το πιο γνωστό είδος είναι το *A. absinthium* λόγω των φαρμακευτικών ιδιοτήτων του (Γκόλιου, 2012).



Εικόνα1: Σχηματική απεικόνιση της μορφολογία της αψιθιάς, *Artemisia absinthium*

Είναι πολύχρονη πόα, με ύψος περίπου 50 cm και αργυρόχρωμο φύλλωμα. Το στέλεχος και τα φύλλα καλύπτονται από άσπρο - αργυρόχρωμο χνούδι. Τα φύλλα είναι διπλά ή τριπλά, φτεροειδή, ενώ τα άνθη σχηματίζουν μικρά κίτρινα κεφάλια (Γκόλιου, 2012).

Καλλιεργείται εύκολα σε ξηρό χώμα και προτιμά εδάφη πλούσια σε άζωτο. Η αψιθιά φυτρώνει από σπόρους, αλλά μπορεί να γίνει και η μεταφύτευση των ριζών της. Η περίοδος άνθισης είναι από την αρχή του καλοκαιριού μέχρι την αρχή του φθινοπώρου. Η συλλογή των φύλλων γίνεται πριν την ανθοφορία, ενώ των ανθισμένων κορυφών και των ριζών μετά το καλοκαίρι (Γκόλιου, 2012).

Η χρήση του φυτού αψιθιά γίνεται είτε με την μορφή αιθερίου ελαίου είτε με την μορφή αποξηραμένου φυτού

(ξηρή δρόγη). Εντοπίζεται ως πρόσθετο αιθέριο έλαιο σε διάφορα φαρμακευτικά σκευάσματα, καλλυντικά, τρόφιμα και οινοπνευματώδη ποτά ( πχ. αφέντι, βερμούτ). Διαδεδομένη είναι επίσης η χρήση της αψιθιάς ως αφέψημα λόγω των ευεργετικών ιδιοτήτων της (Γκόλιου, 2012).

Η αψιθιά είναι ένα φυτό με πικρή και στυφή γεύση, η σύνθεση του τού δίνει πολλές ευεργετικές ιδιότητες. Σύμφωνα με μελέτες χαρακτηριστική είναι η ισχυρή αντιμικροβιακή δράση (πχ. κατά Gram θετικών βακτηρίων) των εκχυλισμάτων της αψιθιάς (Moslemi et al. 2012). Σημαντικές επίσης είναι οι αντιοξειδωτικές, τονωτικές, αποχρεμπτικές, και σπασμολυτικές ιδιότητές της (Gonzalez-Coloma et al. 2012). Έχει ελαφρώς αντιτυρετική, αντισηπτική, διουρητική, εμμηναγωγή και ανθελμινθική δράση. Θεωρείται επίσης, ένα από τα καλύτερα τονωτικά του στομαχιού, δρα κατά της δυσπεψίας, της γαστραλγίας και των ανεπαρκειών του ήπατος (Judþentienë 2004).

Τα εκχυλίσματα και τα αιθέρια έλαια της αψιθιάς έχουν επίσης ισχυρή ακαρεοκτόνα και εντομοαπωθητική δράση (Judþentienë 2004).

### 1.2.2 Μέντα, *Mentha piperita*

Η **μέντα** (Μίνθη η πιπερώδης, *Mentha piperita*), είναι από την αρχαιότητα ακόμη ένα από τα πιο γνωστά στον κόσμο αρωματικά και φαρμακευτικά βότανα. Ανήκει στο γένος Μίνθη (*Mentha*), στην τάξη των Λαμιωδών (*Lamiales*) και στην οικογένεια των Χειλανθών (*Lamiaceae*). Το είδος *Mentha piperita* αποτελεί στείρο διειδικό υβρίδιο μεταξύ των ειδών *Mentha spicata* (κοινώς δυόσμος) και *Mentha aquatica*. Η κοινή αγγλική ονομασία της μέντα είναι *peppermint* (Δόρδας, 2012). Στην ελληνική μυθολογία αναφέρεται ότι πήρε το όνομα της από τη νύμφη του Άδη, Μίνθη, ο οποίος την μεταμόρφωσε σε φυτό για να αποφύγει την ζήλοτυπία της Περσεφόνης. Η ονομασία του είδους *piperita* οφείλεται στην χαρακτηριστική πιπεράτη γεύση του.



Εικόνα 2: Σχηματική απεικόνιση της μορφολογίας της μέντας, *Mentha piperita*

Η μέντα καλλιεργούνταν στη Μινωική εποχή και χρησιμοποιούνταν επίσης από τους αρχαίους Αιγύπτιους, Εβραίους (Γκόλιου, 2012). Οι ευεργετικές ιδιότητες της μέντας ήταν γνωστές στους γιατρούς της αρχαιότητας ( Ιπποκράτης, Γαληνός) (Δόρδας, 2012).



Ως πατρίδα της μέντας θεωρούνται οι παραμεσόγειες χώρες και η Κίνα. Είναι αυτοφυές σε υγρά μέρη και στις όχθες ποταμών και ρυακιών, ενώ καλλιεργείται παράλληλα παντού (Γκόλιου, 2012). Οι κυριότερες χώρες που καλλιεργείται η μέντα είναι η Γερμανία, η Ρωσία, η Αγγλία, η Κίνα, η Αυστραλία, η Ινδία και οι ΗΠΑ. Δεν αυτοφύεται στην Ελλάδα αλλά μπορεί να καλλιεργηθεί σε θερμές αλλά και ψυχρές περιοχές της (Δόρδας, 2012).

Πρόκειται για πολύχρονη πόα με ύψος 60 με 90 cm, με βλαστούς τετράγωνους με άσπρο χνούδι και χρώματος σκούρο ιώδες. Τα φύλλα της μέντας είναι ωοειδή - λογχοειδή, βαθυπράσινου χρώματος, ενώ τα άνθη είναι μικρά, ρόδινα ή ιώδη σε ακραίους κυλινδρικούς βότρες.

Η άνθηση αρχίζει τον Ιούλιο και διαρκεί μέχρι τον Σεπτέμβριο. Η συγκομιδή γίνεται Ιούλιο και τον Σεπτέμβριο για την παραλαβή αιθέριου ελαίου και ξηρής δρόγης αντίστοιχα (Δόρδας, 2012).

Το αιθέριο έλαιο της μέντας έχει μεγάλη ζήτηση και ποικίλες χρήσεις. Χρησιμοποιείται στη καραμελοποιία, την ποτοποιία, τη ζαχαροπλαστική, την αρωματοποιία, την βιομηχανία καλλυντικών και φαρμάκων. Έχει αντιμυκητιασικές (Taher 2012), σπασμολυτικές, αναισθητικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Επίσης είναι ικανό να καταπραΰνει δερματικούς ερεθισμούς, ηλιακά εγκαύματα, ερεθισμό στο λαιμό, ρινική συμφόρηση, πυρετό, μυϊκούς πόνους και να τονώνει την παραγωγή χολής και την λειτουργία του ήπατος (Γκόλιου, 2012).

Οι ξηρές δρόγες του φυτού βρίσκουν ευρύτατη χρήση στη μαγειρική και τα αφεψήματα της δρόγης της μέντας έχουν ευχάριστο άρωμα, αντιμικροβιακή και αναλγητική δράση και δρουν κατά του κοινού κρυολογήματος, της αϋπνίας, των μυϊκών σπασμών, των ίλιγγων και των ημικρανιών (Meenatchisundaram et al. 2009). Αρκετές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την αντιβακτηριδιακή, ισχυρή αντιοξειδωτική, αντικαρκινική και αλλεργιογόνο δράση της μέντας (Taher 2012).

### 1.2.3 Ρίγανη, *Origanum vulgare*

Η **ρίγανη** (Ορίγανον το κοινό, *Origanum vulgare*), είναι ένα από τα σπουδαιότερα ελληνικά αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά. Ανήκει στο γένος Ορίγανον (*Origanum*), στην τάξη των Λαμιωδών (*Lamiales*) και στην οικογένεια των Χειλανθών (*Lamiaceae*). Η ρίγανη υπήρξε γνωστή από την αρχαιότητα, την θεωρούσαν τόσο σπουδαία ώστε το όνομα ορίγανον προέρχεται από τις λέξεις *όρος* (βουνό) και *γάνος* (λαμπρότητα), δηλαδή φυτό που λαμπρύνει το βουνό.

## Εισαγωγή

Από όλα τα υποείδη της ρίγανης, το πιο ποιοτικό, ιδιαίτερο και αρωματικό, είναι το υποείδος *Origanum vulgare spp. hirtum*. Το υποείδος αυτό είναι παγκοσμίως γνωστό με την εμπορική ονομασία ελληνική ρίγανη (*Greek oregano*) και θεωρείται το καλύτερο στον κόσμο.

Ο Ιπποκράτης χρησιμοποιούσε τη ρίγανη για παθήσεις όπως γαστραλγία, παθήσεις του αναπνευστικού κ.α. Η παράδοση της ρίγανης συνεχίστηκε και αργότερα και έφτασε μέχρι τη σημερινή εποχή (Δόρδας, 2012).



Εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση της μορφολογίας της ρίγανης, *Origanum vulgare*

Εντοπίζεται σε ζεστές και ξηρές περιοχές, στην Ευρασία και στη Μεσόγειο, σε βραχώδη, ασβεστολιθικά εδάφη με χαμηλή συνήθως περιεκτικότητα σε υγρασία (De Martino et al. 2009).

Η ρίγανη αυτοφύεται σε μεγάλη ποικιλία εδαφών και κλιμάτων τόσο στην ηπειρωτική όσο και στην νησιωτική Ελλάδα, σε πλούσια αλλά και άγονα, πετρώδη εδάφη. (Δόρδας, 2012). Απαντάται σε υψόμετρο έως και 1500 m.

Κυρίως καλλιεργείται σε ηλιόλουστες, ημιορεινές περιοχές, με δροσερό καλοκαίρι. Για την καλλιέργεια συνήθως χρησιμοποιείται σπόρος. Η ρίγανη στην Ελλάδα καλλιεργείται σε τέσσερις κυρίως περιφέρειες. Στην περιφέρεια Κεντρικής Μακεδονίας, Θεσσαλίας, Ηπείρου και Βορείου Αιγαίου, καθώς και στην Θράκη. Σε άλλες περιοχές της χώρας η παραγωγή δεν στηρίζεται μόνο στην καλλιεργούμενη αλλά και στη αυτοφυή ρίγανη.

Η ρίγανη ανθίζει από Ιούνιο μέχρι Αύγουστο. Η συγκομιδή γίνεται κατά την ανθοφορία το καλοκαίρι, ανάλογα την περιοχή, για αιθέριο έλαιο κατά την πλήρη άνθηση ενώ για ξηρή δρόγη, στην αρχή της άνθησης (Δόρδας, 2012).

Η ρίγανη είναι φυτό πολυετές και ποώδες ύψους 30 έως 80 cm. Ο βλαστός είναι όρθιος, τετραγωνικός, πολύκλαδος, τριχωτός, ο οποίος γρήγορα χάνει τον ποώδη χαρακτήρα του και ξυλοποιείται. Τα φύλλα είναι σχετικά μικρά, αντίθετα, ωοειδή και τριχωτά στην κάτω επιφάνεια, το χρώμα τους είναι πρασινογκρί και αναδίδουν τη χαρακτηριστική μυρωδιά της ρίγανης. Τα άνθη είναι μικρά, σε λευκή ή ροζ μωβ απόχρωση και σε ταξιανθία στάχυος (Γκόλιου, 2012, Δόρδας, 2012).

Στην σύγχρονη εποχή, η ρίγανη έλκει το ενδιαφέρον των καταναλωτών, λόγω των αντιμικροβιακών, μυκητοκτόνων και αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων της. Τα αποξηραμένα υπέργεια τμήματα της ρίγανης (άνθη, φύλλα) και το αιθέριο έλαιο της χρησιμοποιούνται ευρύτατα παγκοσμίως ως αρτύματα και φυσικά συντηρητικά στην βιομηχανία τροφίμων. Επιπλέον, το αιθέριο έλαιο χρησιμοποιείται στην αρωματοποιία, και στην φαρμακοποιία, ενώ η ξηρή δρόγη αποτελεί γνωστό αφέψημα. (Δόρδας, 2012).

Η ρίγανη θεωρείται ότι έχει διουρητική, τονωτική, αντιφλεγμονώδη, αναλγητική και αντικαρκινική δράση (Reza et al. 2013). Κυρίως το αιθέριο έλαιο της ρίγανης έχει ισχυρή αντιβακτηριδιακή και αντιμυκητιασική δράση (De Martino et al. 2009).



Εικόνα 4: Σχηματική απεικόνιση της μορφολογίας του φασκόμηλου, *Salvia officinalis*

#### 1.2.4 Φασκόμηλο, *Salvia officinalis*

Το **φασκόμηλο** (Σάλβια η φαρμακευτική, *Salvia officinalis*) ανήκει στο γένος Ελελίφασκος (*Salvia*) και στην οικογένεια των Χειλανθών (*Lamiaceae*).

Το όνομα του γένους *Salvia*, προέρχεται από το λατινικό ρήμα *salvo* που σημαίνει σώζω (θεραπεύω). Στα αγγλικά η κοινή του ονομασία είναι *sage*, ή *garden sage*, ή *common sage*, ενώ τα ονόματα «ελελίφασκον» ή «σφάσκον» προέρχονται από τους Ιπποκράτη, Διοσκουρίδη και Θεόφραστο. Η ονομασία του είδους *officinalis* προέρχεται από την λέξη *officina* που ήταν η αποθήκη των μοναστηριών όπου αποθηκεύονταν τα βότανα και τα φάρμακα.

Στο γένος *Salvia* ανήκουν περίπου 900 είδη φυτών. Το είδος *S.officinalis* θεωρείται το πιο διαδεδομένο, λόγω μεγαλύτερης κατανάλωσης, κατανέμεται ως αυτοφυές στο δυτικό τμήμα της Βαλκανικής Χερσονήσου, στην Αλβανία, πρώην Γιουγκοσλαβία, Ελλάδα, καθώς και στην Βόρεια Ιταλία. Επιπλέον, καλλιεργείται ως μαγειρικό βότανο ή ως καλλωπιστικό φυτό, και μπορεί να βρεθεί σε όλη την Ευρώπη.

Στην Ελλάδα, το είδος *S. officinalis* αναπτύσσεται μόνο σε βορειοδυτικά ηπειρωτικά μέρη σε υψόμετρο μεταξύ 600 και 950 m., ειδικά εντοπίζεται σε θαμνότοπους και σε μικτές ζώνες

## Εισαγωγή

φυλλοβόλων στα όρη Βόρας, Πίνοβο, Βέρμιο, Βούρινος, Σμόλικας, Μιτσικέλι και Τύμφη, με νοτιότερο όριο εξάπλωσης περιοχές βόρεια της Άρτας (Kintzios, 2000).

Είναι ένα φυτό, πολυετές, αειθαλές, πολύκλαδο μέχρι 70 cm ύψος, ξυλώδες στη βάση του, τρυφερό στις κορυφές του και ανήκει στην κατηγορία των θαμνωδών. Τα φύλλα του είναι συνήθως στενόμακρα, μυτερά, πρασινωπά στο επάνω μέρος και με λευκό χνούδι στο κάτω. Τα άνθη του έχουν χρώμα ιώδες που άλλες φορές υπερισχύει το ερυθρό χρώμα και άλλες το μπλε, με λεπτό μακρύ κάλυκα (Αραμπατζής, 2001).

Προτιμά μεγάλη ηλιοφάνεια, αποστραγγιστικά, πετρώδη, άγονα εδάφη και αντέχει στην ξηρασία. Η περίοδος ανθήσεως του φυτού είναι τον Ιούνιο και τον Ιούλιο. Στις συγκομιδές συλλέγεται το υπέργειο μέρος του φυτού, στο στάδιο της πλήρους άνθησης όταν προορίζεται για παραγωγή αιθέριου ελαίου και λίγο πριν την άνθηση, όταν προορίζεται για παραγωγή ξηρής δρόγης (Δόρδας, 2012).

Το φυτό *S. officinalis* έχει έντονη ευχάριστη οσμή και καλλιεργείται για τις φαρμακευτικές και αντιοξειδωτικές του ιδιότητες. Διατίθεται στο εμπόριο ως ξηρή δρόγη ή υπό την μορφή αιθέριου ελαίου.

Το αιθέριο έλαιο του φασκόμηλου έχει μια σειρά από φαρμακολογικές επιδράσεις: αντιμικροβιακές (Badiie et al. 2012), κατά της χοληστερίνης, μείωση του άγχους, αντιμεταλλαξιογόνες, αντιφλεγμονώδεις (Rodrigues et al. 2012), μέχρι και αντικαρκινικές (Fu et al. 2013).

Ως αφέψημα έχει ιδιαίτερη φήμη και κατανάλωση, καθώς λειτουργεί ως εμμηναγωγό, ανθιδρωτικό, αντισηπτικό, αποχρεμπτικό, θεραπευτικό της στοματικής κοιλότητας, υπογλυκαιμικό, σπασμολυτικό, καρδιοτονωτικό, στυπτικό και ως βελτιωτικό πέψης.

Εκτός από την από την χρήση του ως φαρμακευτικό βότανο βρίσκει εφαρμογές ως αρωματικό στην μαγειρική, στην αρτοποιομηχανία και στα καλλυντικά. Επίσης χρησιμοποιείται στις βιομηχανίες τροφίμων και ποτών ως συντηρητικό.

### 1.3 Αιθέρια έλαια

Κοινό χαρακτηριστικό όλων των βοτάνων, είναι ότι τα διάφορα μέρη τους (φύλλα, άνθη κτλ.) περιέχουν αιθέρια έλαια τα οποία τους προσδίδουν χαρακτηριστική οσμή. Τα αιθέρια έλαια αντιπροσωπεύουν ένα μικρό μέρος της σύνθεσης του φυτού, παρόλα αυτά προσδίδουν τα χαρακτηριστικά (αρωματικές και φαρμακευτικές ιδιότητες) που είναι υπαίτια για την χρήση τους στα τρόφιμα, καλλυντικά και φάρμακα (Miguel 2010).



Τα αιθέρια έλαια αποτελούν υγρά, μίγματα οργανικών, πτητικών ουσιών με ελαιώδη μορφή. Η ποσοτική και ποιοτική σύσταση εξαρτάται από το γενότυπο του φυτού, το στάδιο ανάπτυξης, τις καλλιεργητικές φροντίδες (λίπανση, άρδευση) και τις εδαφολογικές συνθήκες. Εντοπίζονται στα φύλλα, στους βλαστούς και στα αναπαραγωγικά όργανα (ανθοφόροι, οφθαλμοί, άνθη, καρποί και σπόροι). Αποθηκεύονται στα εξωτερικά μέρη των φυτών (τρίχωμα, πόροι, κοιλότητες) και κυρίως στην επιδερμίδα, υπό την μορφή σταγονιδίων (Δόρδας, 2012). Πρόκειται για διαυγείς και συνήθως άχρωμες, φυσικές και πολύπλοκες ενώσεις, είναι διαλυτές στα λίπη και στους οργανικούς διαλύτες, σχεδόν αδιάλυτες στο νερό και έχουν χαμηλό σημείο ζέσεως. Συνίστανται από πολλές χημικές ουσίες που μπορούν να φτάσουν τις 150, ενώ τα υπερισχύοντα συστατικά καθορίζουν το χαρακτήρα τους (Miguel 2010).

Από χημικής πλευράς, τα συστατικά των αιθερίων ελαίων χωρίζονται σε δύο κατηγορίες σε οξυγονούχα και μη οξυγονούχα. Στα οξυγονούχα συστατικά ανήκουν οι αλκοόλες, οι αλδεΐδες, οι κετόνες, οι φαινόλες, τα οξέα και οι εστέρες που συμβάλουν στο άρωμα των αιθερίων ελαίων, ενώ στα μη οξυγονούχα ανήκουν υδρογονάνθρακες (μονοκυκλικά και δίκυκλα τερπένια). Κάποια αιθέρια έλαια περιέχουν επίσης θειικές, νιτρικές ενώσεις ή κουμαρίνες. Η χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων μπορεί να διαφέρει στα επιμέρους όργανα του ίδιου φυτού (Pierozan et al. 2009). Διακρίνονται για το δυνατό τους άρωμα και σχηματίζονται από τα φυτά ως δευτερογενείς μεταβολίτες.

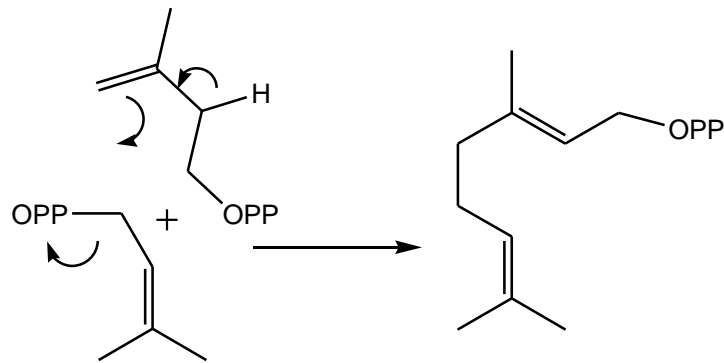
Οι δευτερογενείς μεταβολίτες προέρχονται από βιοσυνθετικές πορείες οι οποίες αποτελούν προέκταση του πρωτογενούς μεταβολισμού και εμπλέκονται σε μια σειρά από οικοφυσιολογικούς ρόλους που περιλαμβάνουν, την άμυνα των φυτών έναντι των παθογόνων και φυτοφάγων, την αντιμετώπιση αβιοτικών παραγόντων καταπόνησης, την αναπαραγωγή

μέσω προσέλκυσης επικονιαστών, αλλά και την διασπορά των σπερμάτων και την αλληλοπάθεια. Επιπλέον, οι δευτερογενείς μεταβολίτες κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες τα τερπένια, τις φαινολικές και αζωτούχες ενώσεις, ανάλογα με την βιοσυνθετική προέλευση του βασικού ανθρακικού σκελετού. Τα τερπένια είναι η πιο σημαντική ομάδα ουσιών που βρίσκεται στα αιθέρια έλαια., ακολουθεί συνοπτική περιγραφή της ομάδας τους.

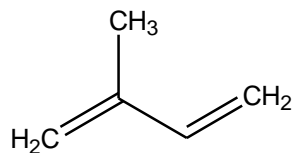
### 1.3.1 Τερπένια

Τα φυτικά αιθέρια έλαια αποτελούνται κυρίως από μίγματα λιπιδίων, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα τερπένια ή τερπενοειδή. Τα τερπένια είναι μια από τις μεγαλύτερες χημικές κατηγορίες φυσικών προϊόντων. Είναι μικρά πτητικά οργανικά μόρια που εμφανίζουν τεράστια ποικιλομορφία ως προς τη δομή τους.

Η δομή των τερπενίων προκύπτει από την συνένωση κεφαλής - ουράς μονάδων ισοπρενίου (2-μεθυλο-1,3-βουταδιένιο) και η αρχικά σχηματιζόμενη δομή μπορεί στη συνέχεια, με διάφορες ενζυματικές πορείες, να αναδιαταχθεί με αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας ποικιλίας σκελετών με τον ίδιο αριθμό ατόμων άνθρακα (κανόνας ισοπρενίου, *L.Ruzicka* 1953) (*Mc Murry*, 2002) (Σχήμα 5 και 6).



Σχήμα 5: Βιοσύνθεση τερπενίων



Σχήμα 6: Δομή ισοπρενίου

Η ταξινόμηση των τερπενίων γίνεται με βάση τον αριθμό των ισοπρενικών μονάδων που περιέχουν. Έτσι, τα μονοτερπένια είναι ενώσεις με 10 άτομα άνθρακα και βιοσυντίθενται από δυο μονάδες ισοπρενίου (Πίνακας 1) (Ιγνατιάδου-Ραγκούση, 2009).

Πίνακας 1: Ταξινόμηση τερπενίων

<i>Αριθμός ατόμων άνθρακα</i>	<i>Μονάδες ισοπρενίου</i>	<i>Ταξινόμηση</i>
10	2	Μονοτερπένιο
15	3	Σεσκιτερπένιο
20	4	Διτερπένιο
25	5	Σεστερτερπένιο
30	6	Τριτερπένιο
40	7	Τετρατερπένιο

Τα μονο- και τα σεσκιτερπένια απαντούν κυρίως στη φυτά, ενώ τα υψηλότερης τάξης τερπένια απαντούν τόσο στα φυτά όσο και στα ζώα και πολλά παρουσιάζουν αξιόλογη βιολογική δραστηριότητα (Mc Murry, 2002).

#### 1.4 Παραλαβή αιθερίων ελαίων

Οι κλασικές μέθοδοι παραλαβής αιθερίων ελαίων σε βιομηχανική κλίμακα είναι η απόσταξη, η εκχύλιση και η μηχανική έκθλιψη. Διεθνώς το αιθέριο έλαιο ορίζεται ως το προϊόν παραλαβής με απόσταξη με ατμό (steam distillation, SD) ή με υδρο-απόσταξη (hydrodistillation, HD) ή έκθλιψη (expression) του φυτού μέρος αυτού.

Οι τεχνικές παραλαβής του αιθερίου ελαίου πρέπει να είναι απλές, γρήγορες αυτοματοποιημένες, αποδοτικές ως προς την ανάκτηση των συστατικών και συμβατές με τη φύση των συστατικών που διαχωρίζονται στη συνέχεια. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται εργαστηριακά, συνήθως είναι η απόσταξη (*distillation*), η οποία βασίζεται στην διαφορά των σημείων ζέσεως και της τάσης ατμών των συστατικών ενός διαλύματος και η εκχύλιση (*extraction*), η οποία βασίζεται στην κατανομή μιας ουσίας μεταξύ δυο φάσεων, που πρακτικά δεν αναμιγνύονται. Οι δυο αυτές μέθοδοι χωρίζονται στις παρακάτω τεχνικές.

Τεχνικές απόσταξης:

- Απόσταξη με υδρατμούς ( Steam ή Hydro distillation, SD ή HD)
- Μικρό-απόσταξη με υδρατμούς εκχύλιση με οργανικό διαλύτη ( Micro-Steam Distillation Extraction, MSDE)
- Απομόνωση από το χώρο πάνω από το φυτό (Head Space, HD)
- Απόσταξη με κενό ( Vacuum Head Space Distillation, VHSD)
- Εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά ( Super Critical Liquids, SCL)
- Μικρό-εκχύλιση στερεάς φάσης ( Solid Phase Micro-Extraction, SPME)

Τεχνικές εκχύλισης:

- Απλή εκχύλιση σε « θερμοκρασία δωματίου », « εν θερμώ», με ή χωρίς ανάδευση
- Εκχύλιση σε συσκευή Soxhlet (θέρμανση)
- Εκχύλιση με διαχωριστική χοάνη ( Separation funnel)
- Εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction, SPE)
- Μικρό-εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Micro Extraction, SPME)
- Εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους ( Ultra Sound Assisted Extraction, USE)
- Εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα ( Microwave Assisted Extraction, MAE)

Όλες οι παραπάνω τεχνικές έχουν πολλές εφαρμογές και παρουσιάζουν κατά την αξιολόγηση τους πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Η επιλογή της τεχνικής είναι συμβατή με το είδος του φυτικού υλικού αλλά και με το είδος των συστατικών προς απομόνωση.

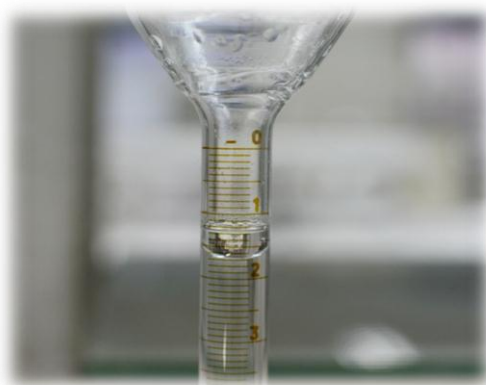
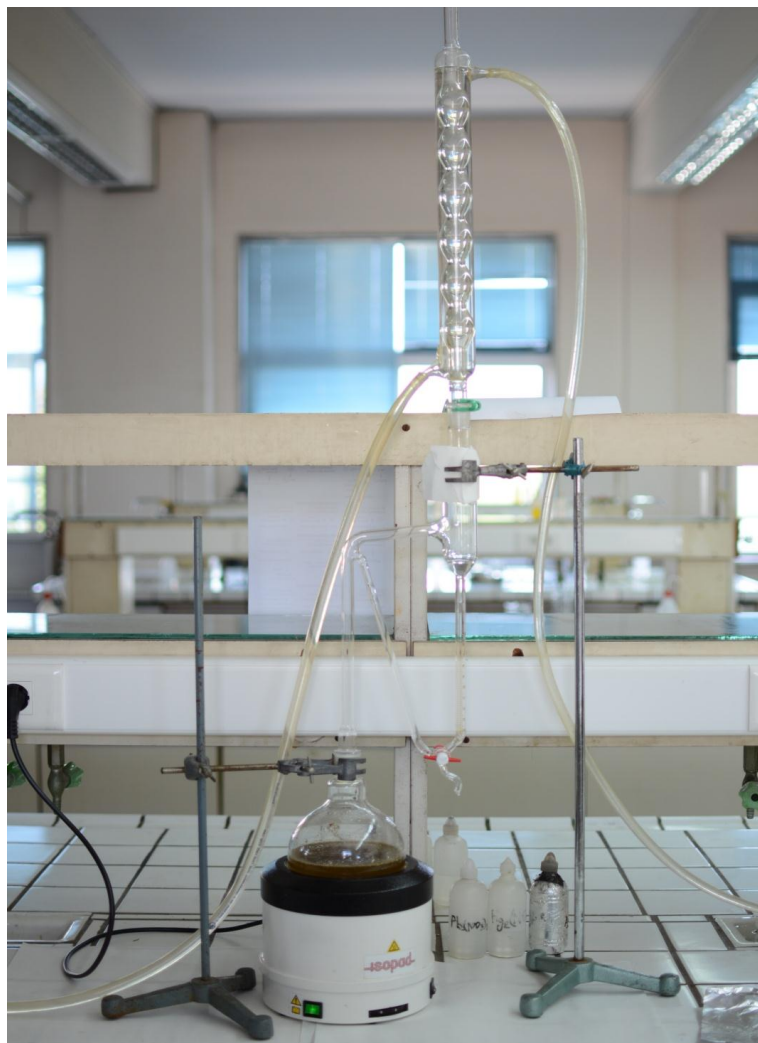
#### **1.4.1 Απόσταξη με συσκευή Clevenger**

Γενικά, η απόσταξη θεωρείται η πιο απλή και ευρύτατα χρησιμοποιούμενη μέθοδος παραλαβής αιθερίων ελαίων από όλα σχεδόν τα φυτικά υλικά. Η απόσταξη είναι γνωστή από αρχαιολόγων χρόνων. Πραγματοποιείται απομόνωση ενός υγρού συγκεκριμένου σημείου βρασμού από ένα μίγμα με τη βοήθεια της θέρμανσης.

Πιο συγκεκριμένα, η συσκευή της υδρο-απόσταξης η οποία χρησιμοποιείται μέχρι και σήμερα είναι η Clevenger (Εικόνα 7). Η διαδικασία της απόσταξης με τη συσκευή Clevenger, περιλαμβάνει την τοποθέτηση του φυτικού υλικού σε σφαιρική φιάλη με νερό, η οποία με τη σειρά της τοποθετείται σε θερμομανδύα. Όταν αρχίσει ο βρασμός οι σχηματιζόμενοι ατμοί, οι οποίοι αποτελούν ένα ομοιογενές μίγμα αιθερίου ελαίου και ατμού, συμπυκνώνονται στον ψυκτήρα. Το αιθέριο έλαιο και το νερό συλλέγονται σε διαβαθμισμένο σωλήνα.

Χαρακτηριστικό της μεθόδου αυτής είναι ότι το νερό και το φυτικό υλικό βρίσκονται σε άμεση επαφή. Η υδρο-απόσταξη διαρκεί περίπου τρεις ώρες (3h) από την στιγμή που θα αρχίσει ο βρασμός. Πρέπει να αποφεύγεται η υπερθέρμανση του φυτικού υλικού ώστε να μην συμβαίνει θερμική διάσπαση των διάφορων συστατικών του αιθερίου ελαίου.





Εικόνα 7: Συσκευή υδρο-απόσταξης *Clevenger*

### 1.5 Αφεψηήματα

Το αφεψηήμα (ετυμολογικά από + έψω= βράζω) κοινώς, είναι το προϊόν του βρασμού μέσα σε νερό διάφορων βοτάνων με αρωματικές και φαρμακευτικές ιδιότητες. Τα αφεψηήματα χρησιμοποιούνται σχεδόν όσο εκτείνεται η γραπτή ιστορία. Έγγραφα που έχουν ανακαλυφθεί χρονολογούνται από τη αρχαία Αίγυπτο και Κίνα, όπου αναφέρονται στην απόλαυση αλλά και στις ευεργετικές ιδιότητες των αφεψηημάτων κυρίως από βότανα.

Πιο συγκεκριμένα, το αφεψηήμα αποτελεί υδατικό εκχύλισμα του φυτικού υλικού, το οποίο μπορεί να περιλαμβάνει μίσχους, ρίζες, φύλλα, άνθη, φλοιούς και ριζώματα. Αρχικά το φυτικό υλικό λειοτριβείται και στη συνέχεια εισάγεται σε βραστό νερό. Το φυτικό υλικό παραμένει μέσα στο νερό για 8-10 min και μετά διηθείται. Η ποσότητα του φυτικού υλικού συνήθως καθορίζεται από τις οδηγίες των συσκευασιών που είναι συμβατές με τους κανονισμούς που έχουν θεσπιστεί από οργανισμούς για την ασφαλή κατανάλωση τροφίμων και ποτών. Τα αφεψηήματα καταναλώνονται ευρύτατα για τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά (άρωμα, γεύση) αλλά και για τις θεραπευτικές τους ιδιότητες. Στην αγορά κυκλοφορούν ως καθαρά βότανα ή μίγματα βοτάνων, φρέσκα ή αποξηραμένα. Επιπλέον κυκλοφορούν ως φακελάκια τσαγιού.

Ορισμένα αφεψηήματα μπορεί να περιέχουν βότανα τα οποία αντίστοιχα περιέχουν ουσίες οι οποίες θεωρούνται τοξικές πάνω από κάποιες ποσότητες, συνεπώς θα πρέπει τα συστατικά τους να είναι ελεγμένα για την εξασφάλιση της ασφαλούς κατανάλωσής τους. Επίσης, θα πρέπει να ελέγχεται και η συχνότητα κατανάλωσης των αφεψηημάτων.

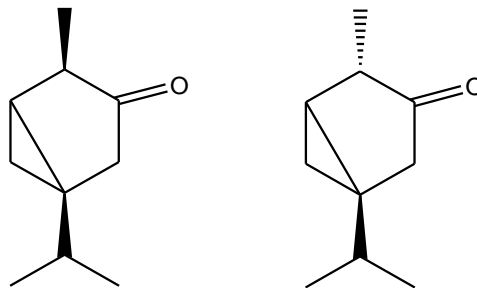
## 1.6 Θουγιόνη

Η ένωση θουγιόνη είναι γνωστή από τα μέσα του 19<sup>ου</sup> αιώνα, όπου υποστηριζόταν ότι η κατανάλωση του ποτού αγέντι προκαλεί κρίσεις και υπαίτια ουσία θεωρήθηκε η θουγιόνη. Με το πέρασμα των χρόνων γύρω στο 1970, η θουγιόνη κατηγορήθηκε ότι έχει δράση παρόμοια των κανναβινοειδών. Σήμερα, θεωρείται μια ψυχοτροπική νευροτοξίνη.

Παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον η μελέτη της φυσικής ένωσης θουγιόνης, καθώς είναι παρούσα σε μεταβλητές ποσότητες σε ένα μεγάλο αριθμό φυτών, συνεπώς αποτελεί συστατικό σε πολλά προϊόντα φυτικής προέλευσης, διάφορα τρόφιμα, ποτά, καλλυντικά, αρτύματα, αρώματα και φαρμακευτικά προϊόντα (Pelkonen et al. 2013). Η παρουσία της θουγιόνης σε όλα αυτά τα προϊόντα αυξάνει την πιθανότητα εκδήλωσης προβλημάτων στον ανθρώπινο οργανισμό.

### 1.6.1 Χημεία της $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης

Η **θουγιόνη** (*thujone*) είναι μια φυσική ένωση που ανήκει στους δευτερογενείς μεταβολίτες. Κατατάσσεται στην κατηγορία των μονοτερπενίων, πιο συγκεκριμένα είναι μια δίκυκλη κετόνη, λόγω της χαρακτηριστικής καρβονυλομάδας. (bicyclo(3,1,0)hexan-3-one,4-methyl-1-(1-methylethyl)-(1S-(1-,4,5- $\alpha$ )).



Σχήμα 8: Δομές  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης

Εμφανίζεται στη φύση με δυο διαστερεομερείς μορφές : την (-)- $\alpha$ -θουγιόνη και την (+)- $\beta$ -θουγιόνη (Σχήμα 8). Η θουγιόνη έχει και άλλες δυο εναντιομερείς μορφές οι οποίες δεν απαντώνται στη φύση.

Έχουν οσμή παρόμοια με αυτής της μενθόλης, που είναι υπεύθυνη για το χαρακτηριστικό άρωμα της μέντας, και ως χημικώς καθαρές ενώσεις είναι άχρωμες. Είναι διαλυτές σε αιθανόλη, διαιθυλαιθέρα και χλωροφόρμιο ενώ εμφανίζουν πολύ μικρή διαλυτότητα στο νερό.

Πίνακας 2: Χημικές ιδιότητες  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης

Μοριακός τύπος	Μοριακό βάρος (g/mol)	Πυκνότητα (g/cm <sup>3</sup> )	Σημείο βρασμού (°C)
C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	158,24	0,92	201

Το περιεχόμενο σε  $\beta$ -θουγιόνη συχνά υπερβαίνει αυτό της  $\alpha$ -θουγιόνη ανάλογα με την προέλευση (φυτό, είδος) (Lachenmeier & Uebelacker 2010). Ωστόσο, μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε πειραματόζωα έδειξαν ότι η  $\alpha$ -θουγιόνη είναι 2,3 φορές πιο τοξική από την  $\beta$ -θουγιόνη αλλά και από το ρακεμικό τους μίγμα (Waidyanatha et al. 2013). Για αποφυγή παρερμηνειών το ρακεμικό μίγμα θουγιόνης, θα αναφέρεται ως  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη, ενώ σε περίπτωση διάκρισης της  $\alpha$ - από την  $\beta$ -θουγιόνη και αντίστροφα, θα γίνεται επίσης αναφορά στο κείμενο.

### 1.6.2 Φυσική προέλευση και βιοσύνθεση της $\alpha$ -και $\beta$ -θουγιόνης

Μονοτερπένια, όπως η  $\alpha$ -και  $\beta$ -θουγιόνη προέρχονται κυρίως από βότανα. Είναι χημικοί αγγελιοφόροι, συμβάλλοντας σε διάφορες λειτουργίες μαζί με άλλες οργανικές ενώσεις των αιθέριων ελαίων. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Κομισιόν, τα φυτά που περιέχουν σημαντικές ποσότητες  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια και σε άλλα μέρη τους είναι : η αρτεμισία (*Artemisia spp*), το φασκόμηλο (*Salvia spp*), ο λευκός κέδρος (*Thuja occidentalis*), η θηρανθεμίσ( *Tanacetum vulgare*), ο άρκευθος (*Juniperus spp.*), ο κέδρος (*Cedrus spp.*), η ρίγανη (*Oregano spp.*) και η μέντα (*Mentha spp*) (Committee 2003) (Πίνακας 3).

Η πρόδρομη ένωση όλων των μονοτερπενίων και της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης, είναι ο πυροφωσφορικός εστέρας της γερανιόλης (GPP) και ο πυροφωσφορικός εστέρας της νερόλης (Ιγνατιάδου, 2009). Η συνθάση του σαμπινενίου καταλύει την παραγωγή του σαμπινενίου, το οποίο με τη σειρά υφίσταται περαιτέρω αναδιατάξεις και οδηγεί στα δυο κύρια μονοτερπένια  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη (Σχήμα 9). Η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη παράγονται και συσσωρεύονται κυρίως στους επιδερμικούς αδένες. Μετά τον σχηματισμό τους μέσα στα εκκριτικά κύτταρα, μεταφέρονται μέσω του κυτταροπλάσματος και του κυτταρικού τοιχώματος και αποθηκεύονται στις υποερμικές κοιλότητες αποθήκευσης ελαίου (Grausgruber-Groger, 2012).

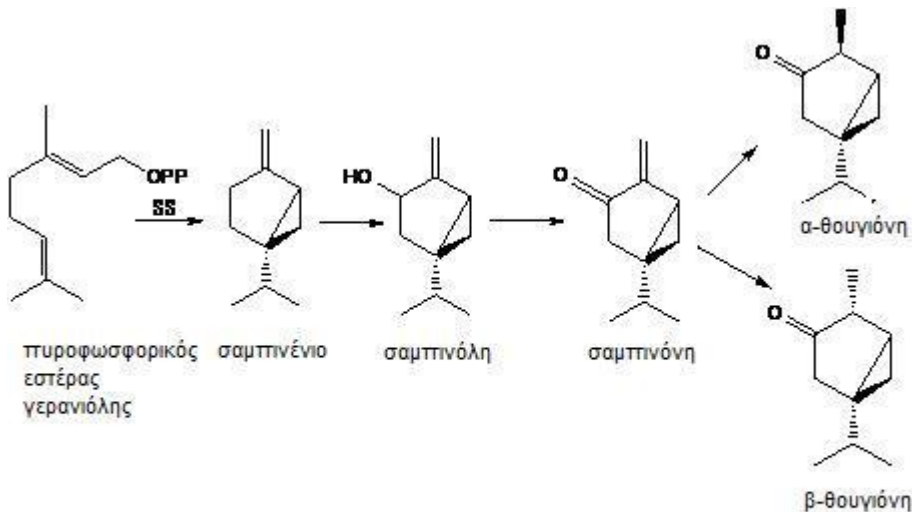
Περιβαλλοντικές συνθήκες όπως η θερμοκρασία, η διάρκεια της ημέρας και το φως επηρεάζουν τις ποσότητες της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης. Η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη δείχνουν έντονη δυναμική κατά τη διάρκεια του βλαστικού κύκλου των φυτών, παρατηρείται σταθερή αύξηση των ποσοτήτων τους κατά τη διάρκεια της βλαστικής περιόδου.

Πίνακας 3: Ποσότητες  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης σε ορισμένα βότανα

Αιθέριο έλαιο	$\alpha$ -θουγιόνη,%	$\beta$ -θουγιόνη,%	Σύνολο ( $\alpha+\beta$ ),%
Φύλλα κέδρου	55,0	9,5	64,5
Φασκόμηλο	28,3	14,5	42,5
Θηρανθεμής	19,4	58,0	77,4
Αρτεμισία	0,5-1,2	17,5-42,3	ΜΚ*
Θυμάρι	ΜΚ*	ΜΚ*	0,2
Δεντρολίβανο	ΜΚ*	ΜΚ*	4,2

\*ΜΚ: μη καθορισμένο

(Grausgruber-Grøger, 2012).



Σχήμα 9: Βιοσυνθετική πορεία  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης

(Grausgruber-Grøger, 2012)

### 1.6.3 Η $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνη σε διάφορα προϊόντα και κανονισμοί

Στις μέρες μας υπάρχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον θέσπισης ορίων γύρω από τις ποσότητες της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης, λόγω της τοξικότητας, που παρουσιάζουν πάνω από κάποια συγκέντρωση στον ανθρώπινο οργανισμό, αλλά και λόγω των πολλών πηγών πρόσληψής της. Τα όρια που έχουν θεσπιστεί αφορούν το σύνολο της θουγιόνης, δηλαδή και την  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη.

Αρχικά, στο παράρτημα II του κανονισμού της Ευρωπαϊκής Κομισιόν (EC, 88/388/1998), για τα αρτύματα ορίζει το ακόλουθο ανώτατο όριο της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης, στα τρόφιμα και στα ποτά στα οποία έχουν προστεθεί ως αρωματικές ύλες, 0,5 mg/kg, με εξαιρέσεις: 5 mg/kg σε αλκοολούχα ποτά με αλκοόλ κάτω από 25%, 10 mg/kg σε αλκοολούχα ποτά με αλκοόλ πάνω από 25%, 25mg/kg σε τρόφιμα όπου έχουν παρασκευάσματα με βάση το φασκόμηλο και 35 mg/kg στα ποτά bitter (Committee 2003).

Μετά από δέκα χρόνια, το παράρτημα III του κανονισμού (EC, αριθμός 1334/2008), για τα αρτύματα θεσπίζει όρια για την  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνη ως φυσικά απαντώμενες ουσίες σε ορισμένα ποτά, αρτύματα ή άλλα συστατικά τροφίμων αποκλειστικά ως αρωματικά και όχι ως πρόσθετα συστατικά. Το Συμβούλιο της Ευρώπης, το 2008, όρισε ως θεωρητική μέγιστη ημερήσια πρόσληψη (TMDI, Theoretical Maximum Daily Intake) την τιμή 0,01 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης σε τρόφιμα και σε ποτά. Τα τοξικολογικά δεδομένα θεωρήθηκαν ανεπαρκή για να ορισθεί ο λόγος TMDI/ADI ( Acceptable Daily Intake, αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη). Παρόλα αυτά, σύμφωνα με το Εθνικό Πρόγραμμα Τοξικολογίας (NTP, National Toxicology Program) με βάση μελέτες που έγιναν σε πειραματόζωα η ημερήσια αποδεκτή πρόσληψη (ADI) είναι 0,11mg/kg/ημέρα, η οποία δεν αφορά πηγές υψηλής κατανάλωσης π.χ. αμέντι. Η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη δεν έχουν εγκριθεί για χρήση ως αρωματικές ουσίες στις ΗΠΑ (Committee 2003).

Σκευάσματα κρεατικών που περιέχουν φασκόμηλο πιστεύετε ότι είναι η κύρια πηγή  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης, ενώ στο Ηνωμένο Βασίλειο γλυκά και καρυκεύματα φασκόμηλου πιστεύετε ότι είναι οι κύριες πηγές. Επίσης, αρτοσκευάσματα, κρέμα γάλακτος, λίπη και έλαια καθώς και αλκοολούχα ποτά θεωρούνται σημαντικές πηγές  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης.

Στη Γαλλία η μέση και η 97,5<sup>η</sup> εκατοστιαία ημερήσια πρόσληψη της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης υπολογίζεται ότι είναι 15,6 και 44,3 μg/kg/ημέρα αντίστοιχα (SCF, 2002). Η Επιστημονική Επιτροπή για τα τρόφιμα (SCF, Scientific Committee of Food), όρισε ως συνολική πρόσληψη από όλες της πηγές περίπου 0,25 mg/άτομο/ημέρα για την μέση κατανάλωση και 1 mg/άτομο/ημέρα για υψηλού επιπέδου κατανάλωση (Πίνακας 4). Οι απόψεις για το αν η συνολική πρόσληψη της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης από όλες τις πηγές συμβαδίζει με την τιμή TMDI δίστανται (Pelkonen et al. 2013).

Ενώ οι κανονισμοί για τα τρόφιμα και ποτά μειώνονται, για τα φαρμακευτικά βότανα αυξάνονται. Μέχρι και σήμερα, αρκετές χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης θεσπίζουν εθνικά όρια για το περιεχόμενο σε  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη των εν λόγω προϊόντων, όμως η χρήση μπορεί να κλιμακωθεί ανάλογα με την  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνη. Σήμερα, τα εθνικά όρια έχουν αντικατασταθεί

από όρια που καθορίζονται στις επιμέρους μονογραφίες (*monographs*) για ειδικά σκευάσματα ή από έγγραφα σχετικά με την  $\alpha$ -και  $\beta$ -θουγιόνη στα φυτικά φαρμακευτικά προϊόντα (Pelkonen et al. 2013).

Πίνακας 4: Εκτίμησης της έκθεσης σε θουγιόνη μέσω του αρωματισμού διάφορων τροφίμων και ποτών.

Τρόφιμα/Ποτά	Πρόσληψη ( $\mu\text{g}/\text{\acute{a}\tau\omicron\mu\omicron}$ \ημέρα)			Πρόσληψη ( $\mu\text{g}/\text{~}\acute{\alpha}\tau\omicron\mu\omicron$ \ημέρα)		
	Μέση	% Πρόσληψη	97 <sup>η</sup> Εκατοστιαία	Μέση	% Πρόσληψη	97 <sup>η</sup> Εκατοστιαία
Λουκάνικα με φασκόμηλο	175	15	537	2,5	15	7,7
Γεμίσεις	74	6	204	1,1	6	2,9
Ξύδι με βότανα	13	1	87	0,2	1	1,1
Άλλα πιάτα με κρέας	389	33	1148	5,7	33	15,3
Σπέσιαλ τυριά με φασκόμηλο	129	11	129	1,4	8	1,4
Σάλτσες για σαλάτες	55	5	152	0,9	5	2,5
Βερμούτ	44	4	178	0,7	4	2,3
Λικέρ	100	9	474	1,6	9	5,9
Γλυκά	196	17	900	3,0	18	13,4
<b>Σύνολο</b>	<b>1175</b>		<b>3809</b>	<b>17,1</b>		<b>52,5</b>

(Pelkonen et al. 2013).

Πιο συγκεκριμένα, ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων (EMA, European Medicines Agency), ορίζει ως ημερήσια αποδεκτή πρόσληψη (ADI)  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης για την αμιθιά *A. absinthium* 3,0 mg/άτομο για διάρκεια χρήσης 2 εβδομάδων ενώ για το φασκόμηλο *S. officinalis* ορίζει 5,0 mg/άτομο.

Επίσης, ενώ υπάρχουν λίγα στοιχεία που αφορούν την έκθεση σε  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη από φαρμακευτικά φυτά, η εκτίμηση είναι ότι 2 έως 20 φλιτζάνια αφενήματος αμιθιάς *A. absinthium* ή φασκόμηλου *S. officinalis*, απαιτούνται για να φτάσουν την αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη (ADI) (Lachenmeier & Uebelacker 2010).

Πολλές συνθετικές εργασίες, σε εργαστηριακή κλίμακα, έχουν πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας τα μονοτερπένια  $\alpha$ -και  $\beta$ -θουγιόνη εδώ και αρκετές δεκαετίες. Η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη όντας χειρικά μόρια μπορεί να αποτελέσουν την αρχική ουσία για την σύνθεση ορμονών, εντομοκτόνων της κατηγορίας των πυρεθροειδών, αρυλο-τερπενίων, σεσκιτερπενίων και εντομοαπωθητικών. Το  $\alpha$ -διαστερομέρες διατίθεται ως καθαρή ουσία στην αγορά (Gunning 1991).

#### **1.6.4 Βιολογική δράση της $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης**

##### ***1.6.4.1 Ανταγωνιστής των GABA υποδοχέων***

Η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη αποτελούν ανταγωνιστές των υποδοχέων GABA. Το  $\gamma$ -αμινοβουτυρικό οξύ (gamma Aminobutyric acid, GABA), είναι ένας νευροδιαβιβαστής που δρα αναστέλλοντας τη συναπτική διαβίβαση με στόχο την ρύθμιση συγκεκριμένων λειτουργιών του εγκεφάλου σε όλα τα θηλαστικά. Πολλά φάρμακα, όπως η διαζεπάμη (*Valium*), και η αιθανόλη είναι αγωνιστές GABA υποδοχέων, προκαλούν χαλάρωση των νευρώνων αυξάνοντας την GABA νευροδιαβίβαση και έτσι αυξάνεται η ευκολία με την οποία οι υποδοχείς GABA επιβραδύνουν την πυροδότηση του νευρώνα. Η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη έχουν ακριβώς αντίθετη δράση, αναστέλλουν την ενεργοποίηση των υποδοχέων αυτών και έτσι οι νευρώνες μπορούν να πυροδοτηθούν εύκολα. Αποτέλεσμα αυτής της αναστολής είναι η πιθανή πρόκληση μυϊκών σπασμών (Rivera, Cid, Zunino, Baiardi, & Salvatierra, 2014, Martin, 2002).

##### ***1.6.4.2 Ανταγωνιστής του 5-HT3 υποδοχέα.***

Η  $\alpha$ -θουγιόνη μειώνει την ευαισθησία του 5-HT3 υποδοχέα, σε αγωνιστικές δράσεις ουσιών, όπως η σεροτονίνη. Η 5-υδροξυτρυπταμίνη (5-hydroxytryptamine, 5-HT) ή αλλιώς σεροτονίνη, είναι ένας νευροδιαβιβαστής ο οποίος εντοπίζεται κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα σε διάφορους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου. Πιστεύεται ότι αποτελεί παράγοντα ευεξίας και καλής διάθεσης. Ο 5-HT3 αποτελεί υποδοχέα της σεροτονίνης. Η αναστολή του υποδοχέα 5-HT3 από την  $\alpha$ -θουγιόνη έχει ψυχοτρόπες δράσεις (αγχολυτική και αντιψυχωτική) (Deiml et al. 2004). Μένει να αποδειχτεί αν η παρεμπόδιση της σεροτονινεργιστικής δράσης συμβάλλει στην συμπεριφορολογική επίδραση της  $\alpha$ -θουγιόνης.

##### ***1.6.4.3 Ηπατική δράση***

Σύμφωνα με μελέτες η  $\alpha$ -θουγιόνη μεταβολίζεται γρήγορα στο ήπαρ. Τα ένζυμα P450 (Cytochrome P450, CYP), συγκεκριμένα CYP4A6, B6, A4 είναι μια ομάδα ενζύμων που αφορά ενζυμικές ηπατικές διαδικασίες που εξαρτώνται από τα ενζυμικά συστήματα. Τα ενζυμικά συστήματα μεταβολίζουν φαρμακευτικές ουσίες, στις ίδιες μεταβολικές οδούς που ακολουθεί και η  $\alpha$ -θουγιόνη, με αποτέλεσμα την καθυστέρηση μεταβολισμού των φαρμακευτικών ουσιών. Η μείωση της κάθαρσης των φαρμακευτικών ουσιών και η διατήρησή τους σε υψηλά επίπεδα στο αίμα αποτελεί κίνδυνο πρόκλησης σοβαρών παρενεργειών (Sirisoma et al. 2000).

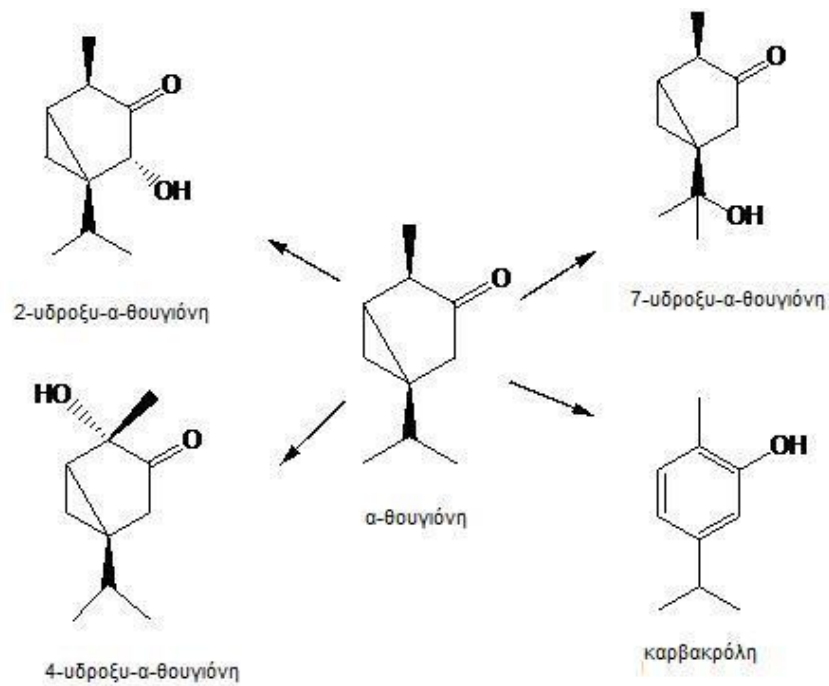
Επίσης, μελέτες σε πρωτογενείς καλλιέργειες κυττάρων του ήπατος εμβρύου όρνιθας, δείχνουν ότι η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη είναι πορφυρογόνες. Με αποτέλεσμα να οδηγούν σε συσσώρευση κοπρο και πρωτο πορφυρίνης, παράγωγα της φυσιολογικής αποικοδόμησης της αιμοσφαιρίνης, στο ήπαρ (Pelkonen et al. 2013).



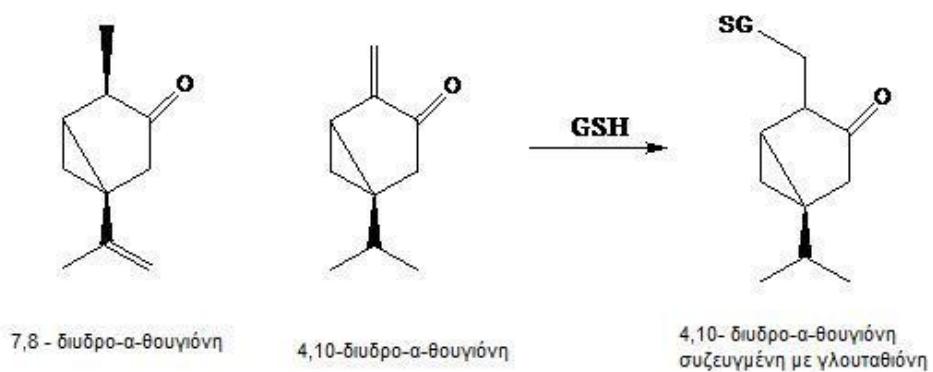
### 1.6.5 Μεταβολισμός $\alpha$ -θουγιόνης

Ο μεταβολισμός της  $\alpha$ -θουγιόνης έχει μελετηθεί εκτενώς σε ηπατικά παρασκευάσματα ποντικών, αρουραίων και ανθρώπων *in vitro*, καθώς επίσης και σε ποντίκια, αρουραίους και κουνέλια *in vivo*. Συνεχείς υδροξυλιώσεις σε διάφορες θέσεις, ακολουθούμενες από επιμήκυνση του σκελετού με γλυκουρονίδωση και μείωση του σκελετού με ήπιες αντιδράσεις (*minor reactions*), είναι οι κύριες μεταβολικές οδοί, αν και το *in vitro* και το *in vivo* μεταβολικό προφίλ δεν συμφωνούν απόλυτα. Ένα γενικό σχήμα του μεταβολισμού της  $\alpha$ -θουγιόνης *in vitro* σε ανθρώπινα ηπατικά μικροσώματα και ανασυνδυασμένα ένζυμα P450, φαίνεται στο Σχήμα 10. Η σημερινή γνώση του μεταβολισμού της  $\alpha$ -θουγιόνης και το καθεστώς των αναλυτικών τεχνικών αποτελούν το κατάλληλο υπόβαθρο για την ενδεδειγμένη έρευνα της φαρμακοκινητικής της  $\alpha$ -θουγιόνης στους ανθρώπους κάτω από ρεαλιστικές συνθήκες έκθεσης (Abass et al. 2011).

Η πιο πρόσφατη μελέτη με ένα ολοκληρωμένο σύνολο των ανασυνδυασμένων ενζύμων δείχνει ότι το κύριο ένζυμο CYP που μεταβολίζει την  $\alpha$ -θουγιόνη είναι το CYP2A6, σε ποσοστό 70-80%, και είναι υπεύθυνο για τις 4- και 7- υδροξυλιώσεις της  $\alpha$ -θουγιόνης (80 και 68% αντίστοιχα) (Abass et al. 2011). Ακολουθεί το CYP3A4 που καταλύει την 2-υδροξυλίωση της  $\alpha$ -θουγιόνης (90%) και σε μικρό βαθμό το CYP2B6. Ενώ οι κύριοι μεταβολίτες που παράγονται είναι η 7- και 4-υδροξυλιωμένη  $\alpha$ -θουγιόνη (Pelkonen et al. 2013).



Σχήμα 10: Γενικό σύστημα μεταβολισμού της  $\alpha$ -θουγιόνης  
(Abass et al. 2011)



Σχήμα 11: Δομές των πιθανών μεταβολιτών της  $\alpha$ -θουγιόνης  
(Abass et al. 2011)

### 1.6.6 Τοξικότητα $\alpha$ - και $\beta$ - θουγιόνης

Είναι γνωστό ότι όλα μπορούν να θεωρηθούν τοξικά, μόνο η δόση ξεχωρίζει το τοξικό από το μη τοξικό. Η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη πιστεύεται ότι είναι οι τοξικοί παράγοντες στον αφιντισμό, ένα σύνδρομο που προκαλείται από την χρόνια χρήση του ποτού αφέντι, που περιέχει αιθέριο έλαιο αψιθιάς, *A. absinthium*. Το σύνδρομο χαρακτηρίζεται από τον εθισμό, την υπερδιέγερση και τις παραισθήσεις. Ο Vincent Van Gogh και ο Henri de Toulouse-Lautrec έπασχαν από το σύνδρομο του αφιντισμού. Η τοξικότητα της  $\alpha$ -και  $\beta$ -θουγιόνης θεωρήθηκε ένας από τους λόγους που απαγορεύτηκε το ποτό αφέντι στις αρχές του 1900 αιώνα (Dolan et al. 2010).

#### ➤ Τοξικότητα μίας δόσης

Τα πιο εμφανή συμπτώματα που σχετίζονται με την οξεία δηλητηρίαση είναι επιληπτικοί σπασμοί. Οι τιμές LD<sub>50</sub>, θανατηφόρος δόση, για στοματική χορήγηση  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης είναι 192 mg/kg και 230 mg/kg σε αρουραίους και ποντικούς αντίστοιχα. Οι τιμές LD<sub>50</sub> για υποδόρια και ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση  $\alpha$ -θουγιόνης σε ποντικούς είναι 134 mg/kg και 45 mg/kg αντίστοιχα. Ενώ η τιμή LD<sub>50</sub> σε ενδοφλέβια χορήγηση σε αρουραίους είναι 0,031 mg/kg σωματικού βάρους (Dolan et al. 2010).



Εικόνα 12: Νεκρή φύση με το αφέντι, Van Gogh, Παρίσι 1887

➤ *Τοξικότητα επαναλαμβανόμενων δόσεων*

Η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη χορηγήθηκαν με καθετηριασμό σε δόσεις 0, 5, 10 ή 20 mg/kg/ημέρα, 6 φορές τη εβδομάδα για 14 εβδομάδες. Παρατηρήθηκαν στους αρουραίους 3 θάνατοι θηλυκών και 1 θάνατος αρσενικού που σχετίζονται με σπασμούς με δόση στο ανώτατο επίπεδο (Dolan et al. 2010).

➤ *Χρόνια τοξικότητα*

Οι μακροπρόθεσμες επιπτώσεις της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στο νευρικό σύστημα και άλλους ιστούς, συμπεριλαμβανομένου και του ήπατος έχουν διευκρινιστεί από το NTP. Πιο συγκεκριμένα για χρόνια τοξικότητα, η τιμή του NOEL (No-Observed-Effect Level), επίπεδο που δεν παρατηρούνται επιπτώσεις, κοινώς ασφαλή τιμή, ήταν 12 mg /kg/ημέρα σε αρουραίους για θνησιμότητα και τονικές κρίσεις. Επίσης, κατά τη χρόνια χορήγηση (2 χρόνια, μέγιστη δόση 50 mg/kg/ημέρα)  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης παρατήθηκαν μη νεοπλαστικές αλλοιώσεις στον εγκέφαλο και την σπλήνα αρουραίων. Αλλοιώσεις παρατηρήθηκαν στην υπόφυση και στα νεφρά θηλυκών και αρσενικών αρουραίων αντίστοιχα (Dolan et al. 2010).

➤ *Οξεία (και χρόνια) τοξικότητα στον άνθρωπο*

Διάφορες περιπτώσεις με σοβαρές δηλητηριάσεις στον άνθρωπο έχουν αναφερθεί μετά την κατανάλωση αιθερίου ελαίου πλούσιο σε  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη. Αν και είναι δύσκολο να προσδιοριστούν οι κατά προσέγγιση δόσεις, η επιτροπή SCF κατέληξε στο συμπέρασμα ότι οι άνθρωποι είναι τουλάχιστον εξίσου ευαίσθητοι στην νευροτοξικότητα της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης όσο τα πειραματόζωα. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε εθελοντές εκτέθηκαν σε αφέντι με υψηλή δόσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης 100 mg/L, περιεχόταν ποσότητα 15 mg  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης. Η ταυτόχρονη χορήγηση αλκοόλ και υψηλών ποσοτήτων  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης είχε ως αποτέλεσμα την απόσπαση προσοχής και αρνητική επίδραση στην διάθεση τους ύστερα από 30 min (Pelkonen et al., 2013, Wharf & Kingdom, 2011).

### **1.6.7 Παρενέργειες**

Σύμφωνα με τα παραπάνω επιβάλλεται προσοχή στη χρήση των δρογών των βοτάνων που περιέχουν  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη καθώς μπορεί να υπάρξουν σοβαρές παρενέργειες όταν χρησιμοποιούνται συχνά και επί μακρό χρονικό διάστημα. Μερικές από τις παρενέργειες είναι : ενίσχυση του καρδιακού παλμού, αύξηση της πίεσης διανοητική σύγχυση, σπασμοί κλονικοί και τονικοί, παραλήρημα, παραισθησία και αϋπνία. Η χρήση βοτάνων κυρίως ως αφέψημα, θα πρέπει να αποφεύγεται από ευπαθείς ομάδες, όπως έγκυες, επιληπτικά και υπερτασικά άτομα, άτομα με νεφρική ανεπάρκειας και ηπατική δυσλειτουργία. Καταλήγοντας, στο ότι το φυσικό δεν είναι σημαίνει ότι είναι και υποχρεωτικά « ασφαλές ».

### **1.7 Μελέτη των συστατικών των αιθερίων ελαίων και των πτητικών συστατικών αφεψημάτων με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS)**

Μετά από την παραλαβή του αιθερίου ελαίου και του οργανικού εκχυλίσματος του αφεψημάτος, μπορεί να γίνει η μελέτη των πτητικών συστατικών τους με διάφορες τεχνικές ενόργανης ανάλυσης.

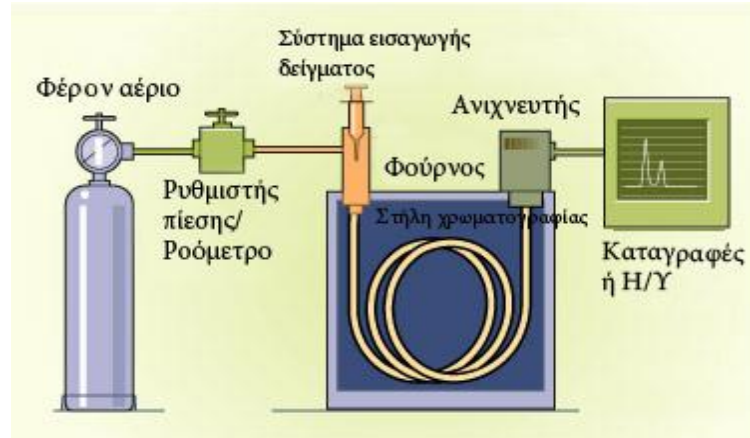
Πιο συγκεκριμένα, η μελέτη των συστατικών ενός δείγματος μπορεί να επιτευχθεί αρχικά με τον διαχωρισμό και την απομόνωση των συστατικών με χρωματογραφικές τεχνικές ανάλυσης, ακολουθούμενες από φασματοσκοπικές τεχνικές ανάλυσης.

Εξαιτίας της φύσης των πτητικών συστατικών, αλλά και λόγω της μεγαλύτερης ευαισθησίας, ταχύτητας και απλότητας προτιμάται η αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC), έναντι άλλων τεχνικών διαχωρισμού. Επίσης, η αέρια χρωματογραφία δίνει την δυνατότητα πραγματοποίησης δύσκολων διαχωρισμών που συνήθως είναι αδύνατον να γίνουν με άλλες τεχνικές.

Η αέρια χρωματογραφία, είναι μια δυναμική μέθοδος διαχωρισμού και αποτελεί μια καλά εδραιωμένη τεχνική για την αναγνώριση και την ποσοτικοποίηση των πτητικών συστατικών χωρίς να αποσυντεθούν.

Ο διαχωρισμός στην αέρια χρωματογραφία βασίζεται στην κατανομή των συστατικών μεταξύ μιας κινητής φάσης, φέρον αέριο και μιας στατικής φάσης, η οποία αποτελεί τη στήλη χρωματογραφίας. Στο εσωτερικό της στήλης υπάρχει ένα μη πτητικό υγρό, καθηλωμένο πάνω σε αδρανές στερεό υλικό.

Το δείγμα εισάγεται στον αέριο χρωματογράφο, όπου το μείγμα εξαερώνεται. Τα συστατικά κινούνται στη στήλη ανάλογα με τις τάσεις ατμών και τις αλληλεπιδράσεις τους με τη στατική φάση (Maerse, Belz, 1981).



Εικόνα 13: Οργανολογία αέριου χρωματογράφου

Όταν η αέρια χρωματογραφία που είναι μέθοδος διαχωρισμού συνδυαστεί με την φασματομετρία μαζών (Mass Spectrometry, MS), γίνεται ένα ισχυρότατο μέσο ταυτοποίησης πολύπλοκων δειγμάτων. Το υπό εξέταση δείγμα αφού διαχωριστεί στα συστατικά του εξέρχεται από τον αέριο χρωματογράφο και εισέρχεται σε αέρια κατάσταση στο φασματόμετρο μάζας όπου βομβαρδίζεται από ηλεκτρόνια μεγάλης κινητικής ενέργειας. Με αυτόν τον τρόπο προκαλείται ιονισμός των μορίων που οδηγεί σε διάσπαση ώστε να δημιουργηθούν ιόντα μικρότερης μάζας. Μόλις αυτά δημιουργηθούν, επιταχύνονται υπό την επίδραση μαγνητικού πεδίου και ακολούθως αποκλίνουν της αρχικής τους πορείας, ανάλογα με το λόγο  $m/e$  (μάζα/φορτίο). Το ρεύμα το οποίο παράγεται μετράται με τη βοήθεια κατάλληλου ανιχνευτή. Το διάγραμμα το οποίο θα προκύψει από την ένταση του μετρούμενου ρεύματος συναρτήσει του λόγου  $m/e$ , αποτελεί το φάσμα μαζών.

Τελικά, με τον συνδυασμό της αέρια χρωματογραφίας και της φασματομετρίας μαζών (GC-MS) μπορεί επιτευχθεί:

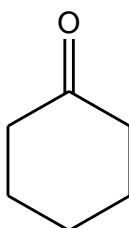
- Ποιοτικός προσδιορισμός, δηλαδή ο προσδιορισμός της συνολικής σύστασης των δειγμάτων.
- Ποσοτικός προσδιορισμός % , δηλαδή η επί τις % αναλογία των συστατικών των δειγμάτων.
- Ποσοτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης των συστατικών του δείγματος με την μέθοδο του εσωτερικού ή εξωτερικού προτύπου.

### 1.7.1 Μέθοδος εσωτερικού προτύπου

Το εσωτερικό πρότυπο είναι μια χημική ουσία που προστίθεται σε σταθερή ποσότητα στα δείγματα και στα πρότυπα διαλύματα βαθμονόμησης (calibration standards). Η ουσία αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην συνέχεια για την βαθμονόμηση, όπου στον άξονα y θα είναι ο λόγος του σήματος του αναλύτη προς το σήμα του εσωτερικού προτύπου ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του αναλύτη στα πρότυπα. Αυτή η αναλογία χρησιμοποιείται στη συνέχεια για να ληφθούν συγκεντρώσεις του αναλύτη από μια καμπύλη βαθμονόμησης.

Το εσωτερικό πρότυπο πρέπει να είναι ουσία παρόμοια όχι ταυτόσημη, χημικά με την ουσία ή τις ουσίες που ενδιαφέρουν να προσδιοριστούν. Επίσης η κορυφή η οποία θα εμφανίζει το εσωτερικό πρότυπο να μην εμφανίζεται στον χρόνο που εμφανίζεται κάποια άλλη ουσία ώστε να είναι διακριτή η κορυφή της.

Στην παρούσα μελέτη επιλέχθηκε ως εσωτερικό πρότυπο η ουσία κυκλοεξανόνη (Σχήμα 14) η οποία πληροί τα παραπάνω κριτήρια ως εσωτερικό πρότυπο, ως προς την δομή με την  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνη και επίσης δεν συνεκλύεται με κάποιο άλλο συστατικό των δειγμάτων.



Σχήμα 14: Δομή κυκλοεξανόνης

### 1.8 Σκοπός της μελέτης

Τις τελευταίες δεκαετίες παρατηρείται συνεχώς αυξανόμενη ενασχόληση με τις ιδιότητες και την χρησιμότητα των βοτάνων. Η πραγματικότητα αυτή αποτελεί συνισταμένη κοινωνικών και επιστημονικών δεδομένων. Η τεκμηριωμένη επιστημονικά δραστηριότητα των δευτερογενών μεταβολιτών διευρύνει το ενδιαφέρον για την αξιοποίησή τους. Παράλληλα, αναδεικνύεται η ανάγκη διασφάλισης της χρήσης τους σε σχέση με ενδεχόμενη τοξικότητα που οφείλεται σε ορισμένες συγκεντρώσεις των δευτερογενών μεταβολιτών.

Όπως προαναφέρθηκε η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη, σύμφωνα με μελέτες, αποτελούν δευτερογενείς μεταβολίτες και πάνω από κάποια όρια θεωρούνται τοξικές για τον άνθρωπο. Περιέχονται σε αρκετά φυτικά προϊόντα, με αποτέλεσμα η γνώση των ποσοτήτων τους να είναι πολύ σημαντική.

Στην παρούσα εργασία, η μελέτη αφορά τον προσδιορισμό των επιπέδων της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης σε βότανα της ελληνική χλωρίδας (αμυθιά, μέντα, ρίγανη και φασκόμηλο) που καταναλώνονται και ως αφεψήματα.

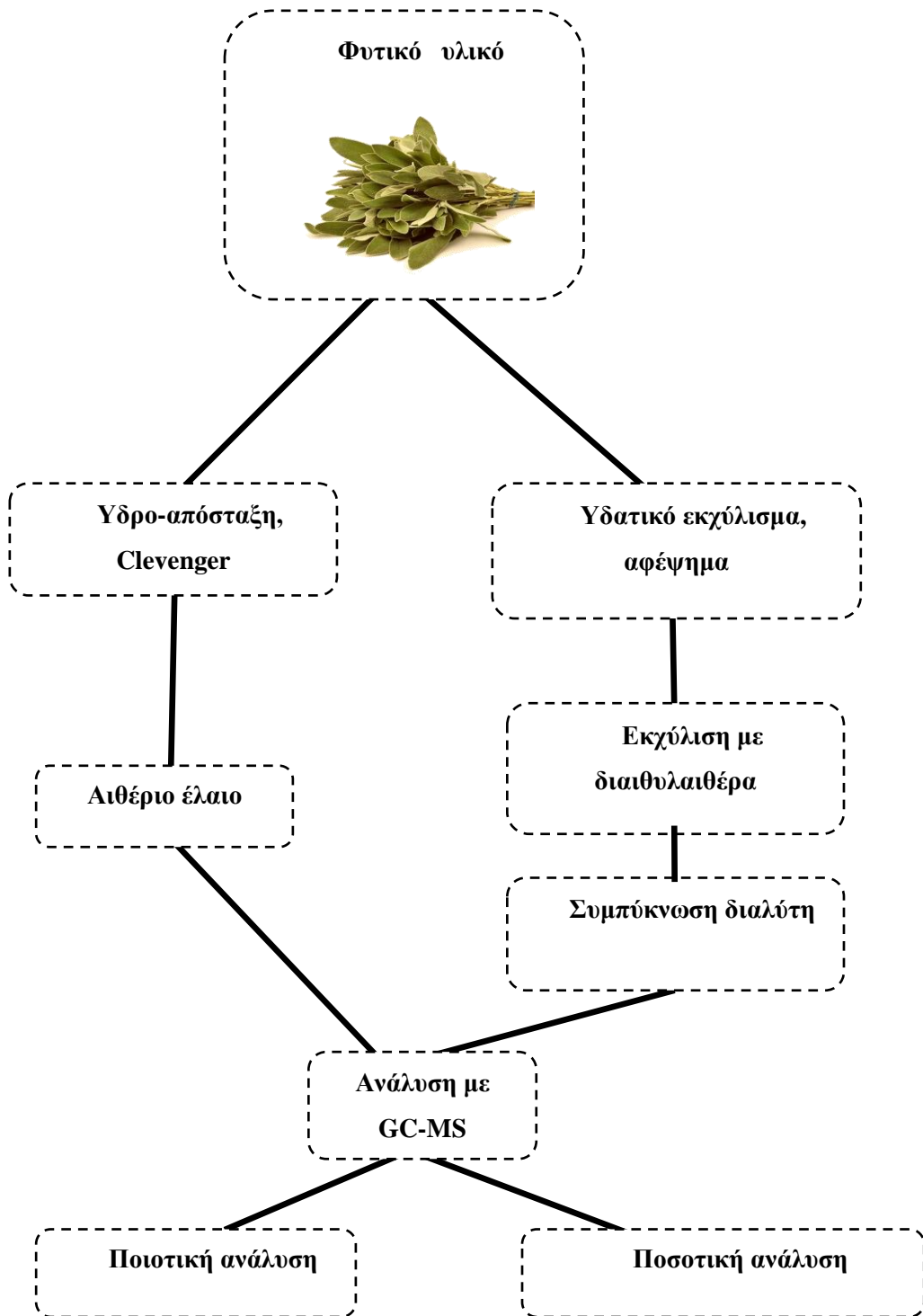
Αρχικά, πραγματοποιείται ποιοτική και % ποσοτική ανάλυση των συστατικών των αιθερίων ελαίων και των πτητικών συστατικών αφεψημάτων των βοτάνων. Η ποσοτική ανάλυση αφορά τον προσδιορισμό της εκατοστιαίας αναλογίας των συστατικών στα δείγματα.

Στη συνέχεια, πραγματοποιείται ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια και στα αφεψήματα των βοτάνων, όπου είναι παρούσες, με τη μέθοδο του εσωτερικού προτύπου, κυκλοεξανόνη και με την κατασκευή πρότυπης καμπύλης συγκεντρώσεων θουγιόνης. Έτσι μπορεί να γίνει διερεύνηση των ποσοτήτων της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης που περνάνε από το φυτικό υλικό στην «κούπα».

Σημαντική είναι επίσης, η σύγκριση των ποσοτήτων της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης που βρεθήκαν στην μελέτη με τα επιτρεπτά όρια που έχουν θεσπιστεί για την ασφαλή κατανάλωση της σε βότανα και αφεψήματα.

Στο παρακάτω σχήμα 15, παρουσιάζεται διαγραμματικά η πειραματική πορεία που ακολουθήθηκε για την παρούσα μελέτη.





Σχήμα 15: Διάγραμμα ροής πειραματικής πορείας

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Φυτικό υλικό

Τα βότανα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη για την παραλαβή αιθερίων ελαίων και την παρασκευή αφεψημάτων είναι, όπως προαναφέρθηκε, η αψιθιά (*Artemisia absinthium*) της οικογένειας *Asteraceae*, η μέντα (*Mentha piperita*), η ρίγανη (*Origanum vulgare*) και το φασκόμηλο (*Salvia officinalis*) της οικογένειας *Lamiaceae*.

Η προμήθεια των βοτάνων όπως φαίνεται παρακάτω (Πίνακας 5,6,7 και 8) έγινε από διάφορα μέρη της Νότιας, Κεντρικής και Βόρειας Ελλάδας. Το σύνολο των δειγμάτων ήταν 20 για τα αιθέρια έλαια και 21 για τα αφεψήματα. Τα τμήματα των φυτών που χρησιμοποιήθηκαν ήταν φύλλα ή τρίμμα, με εξαίρεση δείγματα αψιθιάς που περιλάμβαναν και άνθη. Όλα τα φυτικά τμήματα ήταν αποξηραμένα.

Για τα αιθέρια έλαια, το φυτικό υλικό λειοτριβήθηκε με τη βοήθεια mixer, ενώ το φυτικό υλικό για τα αφεψήματα κονιορτοποιήθηκε με το χέρι σε πορσελάνινο ιγδίο. Αφαιρέθηκαν επίσης οι ξυλοποιημένοι βλαστοί που τυχόν υπήρχαν.

Πίνακας 5: Δείγματα αψιθιάς

<i>Προέλευση</i>	<i>Προμηθευτής</i>	<i>Χρονολογία κοπής</i>	<i>Κωδικοποίηση</i>
Αιτωλοακαρνανία	ΑΣΚΑΦΕΦΑ	2011	ΑΑ
Ηλεία	Aroma farms	2013	ΑΗ
Κοζάνη	Βιολογικός Αγρός	2013	ΑΚ
Πιερία	Divinum	2013	ΑΠ
Χαλκιδική	Βιο-Αγρόκτημα	2013	ΑΧ

Πίνακας 6: Δείγματα μέντας

<i>Προέλευση</i>	<i>Προμηθευτής</i>	<i>Χρονολογία κοπής</i>	<i>Κωδικοποίηση</i>
Ηλεία	Aroma farms	2013	ΜΗ
Κοζάνη	Βιολογικός Αγρός	2013	ΜΚ
Πιερία	Divinum	2013	ΜΠ
Χαλκιδική	Βιο-Αγρόκτημα	2013	ΜΧ

Πίνακας 7: Δείγματα ρίγανης

<i>Προέλευση</i>	<i>Προμηθευτής</i>	<i>Χρονολογία κοπής</i>	<i>Κωδικοποίηση</i>
Αιτωλοακαρνανία	ΑΣΚΑΦΕΦΑ	2010	ΡΑ
Ηλεία	Aroma farms	2013	ΡΗ
Κοζάνη	Βιολογικός Αγρός	2013	ΡΚ
Πιερία	Divinum	2013	ΡΠ
Χαλκιδική	Βιο-Αγρόκτημα	2013	ΡΧ

Πίνακας 8: Δείγματα φασκόμηλου

<i>Προέλευση</i>	<i>Προμηθευτής</i>	<i>Χρονολογία κοπής</i>	<i>Κωδικοποίηση</i>
Αγρίνιο (Σκουτέρα)	ΑΣΚΑΦΕΦΑ	2007	ΦΑΓ <sub>1</sub>
Αγρίνιο (Γιαννούζι)	ΑΣΚΑΦΕΦΑ	2008	ΦΑΓ <sub>2</sub>
Αγρίνιο ( Αγ. Παρασκευή)	ΑΣΚΑΦΕΦΑ	2008	ΦΑΓ <sub>3</sub>
Αγρίνιο	ΑΣΚΑΦΕΦΑ	2009	ΦΑΓ <sub>4</sub>
Αμφιλοχία	ΑΣΚΑΦΕΦΑ	2007	ΦΑΜ
Ηλεία *	Aroma farms	2013	ΦΗ
Κοζάνη	Βιολογικός Αγρός	2013	ΦΚ
Πιερία	Divinum	2013	ΦΠ
Χαλκιδική	Βιο-Αγρόκτημα	2013	ΦΧ

\* *Salvia triloba*

## 2.2 Χημικά

Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε ήταν διαιθυλαιθέρας της εταιρείας VMR, καθαρότητας 99,9% και περιείχε BHT (5ppm). Το άνυδρο θειικό μαγνήσιο MgSO<sub>4</sub> ήταν της εταιρείας Lab Guard, Mallinckrodt. Χρησιμοποιήθηκε επίσης α-θουγιόνη ≥ 96,0% της εταιρείας ALDRICH και κυκλοεξανόνη ≥ 99,0% της εταιρείας Merck.

## 2.3 Υδρο-απόσταξη

Το φυτικό υλικό αποστάχθηκε με τη μέθοδο της υδρο-απόσταξης με χρήση της συσκευής Clevenger (Εικόνα 7), η οποία περιγράφηκε στην Παράγραφο 1.4.1.

Σε σφαιρική φιάλη των 1000 mL εισήχθησαν 40 g λειοτριβιμένου φυτικού υλικού, σύμφωνα με το ISO για το κάθε βότανο, και 500 mL απιονισμένο νερό. Το φυτικό υλικό και το νερό στην σφαιρική φιάλη θερμαίνονταν με θερμομανδύα. Η διαδικασία της απόσταξης διαρκούσε 3 ώρες. Ο συμπυκνωτής στο πάνω μέρος της συσκευής ψυχόταν με νερό βρύσης σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας της απόσταξης παραλαμβάνονταν το αιθέριο έλαιο από τον διαβαθμισμένο σωλήνα και γινόταν προσθήκη αφυδατικού μέσου, άνυδρο θειικό μαγνήσιο.

Στη συνέχεια το έλαιο φιλτραριζόταν, σφραγιζόταν σε φιαλίδιο και φυλασσόταν στην κατάψυξη, μέχρι να γίνει η αεριοχρωματογραφική ανάλυση.

#### **2.4 Παρασκευή αφεψημάτων**

Για κάθε βότανο ετοιμάστηκαν αφεψημάτα με το ακόλουθο τρόπο. Σε κάθε περίπτωση ζυγίζονταν 2 g κονιορτοποιημένου φυτικού υλικού τα οποία εκχυλίζονταν σε 200 mL (1 κούπα) βρασμένου εμφιαλωμένου νερού (νερό Ζαγόρι). Η εκχύλιση κάθε φορά διαρκούσε 10 min, ενώ στην αρχή, στα 5 min και στο τέλος της εκχύλισης γινόταν ανάδευση. Μετά το πέρας των 10 min, πραγματοποιούταν διήθηση των αφεψημάτων με χωνί και ηθμό (διηθητικό χαρτί) και ακολούθως φυλάσσονταν σε ογκομετρική φιάλη των 200 mL.

#### **2.5 Εκχύλιση με οργανικό διαλύτη**

Μετά την παρασκευή των αφεψημάτων και την επαναφορά τους σε θερμοκρασία δωματίου ακολουθούσε εκχύλιση με οργανικό διαλύτη. Ο οργανικός διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση ήταν διαιθυλαιθέρας. Κατά την τεχνική αυτή το υδατικό εκχύλισμα (αφέψημα) ερχόταν σε επαφή με τον όγκο του διαιθυλαιθέρα στο εσωτερικό εκχυλιστικής χοάνης (Εικόνα 16), η οποία ανακινιόταν καλά μέχρι να αναμειχθούν οι δύο φάσεις που αρχικά σχηματίστηκαν. Μετά την ανάμειξη επερχόταν έπειτα από μικρό χρονικό διάστημα η ισορροπία και διαχωρίζονταν οι φάσεις. Κατόπιν, παραλαμβάνονταν χωριστά οι δύο φάσεις, η υδατική απορριπτόταν και φυλασσόταν η οργανική φάση. Για την καλύτερη εκχύλιση των πτητικών συστατικών η τεχνική πραγματοποιήθηκε τρεις φορές για κάθε αφέψημα, χρησιμοποιώντας κάθε φορά 50 mL διαιθυλαιθέρα. Στη συνέχεια, η οργανική φάση που παραλαμβάνονταν, συμπυκνωνόταν σε περιστρεφόμενο συμπυκνωτή κενού (Εικόνα 17) (Laborota 400 efficient, Link Lab, Heidalph) και αέριο άζωτο μέχρι τα 5 mL. Τέλος, στο δείγμα εισαγόταν άνυδρο θειικό μαγνήσιο, φιλτραριζόταν, σφραγιζόταν σε φιαλίδιο και φυλασσόταν στην κατάψυξη.



Εικόνα 16: Διαχωριστική χοάνη

Εκτός από τα αφεψήματα εκχύλιση με οργανικό διαλύτη πραγματοποιήθηκε και σε ορισμένα αιθέρια έλαια, τα οποία μετά την ολοκλήρωση της απόσταξης είχαν πολύ μικρή απόδοση και δεν γινόταν η παραλαβή τους από την στρόφιγγα. Στην περίπτωση αυτή παραλαμβάνονταν 20 mL της υδατικής φάσης και το αιθέριο έλαιο από τον διαβαθμισμένο σωλήνα. Το μίγμα εισαγόταν σε διαχωριστική χοάνη και πραγματοποιούνταν εκχύλιση τρεις φορές χρησιμοποιώντας 20 mL διαιθυλαιθέρα, τη φορά στο κάθε δείγμα. Ακολουθούσε συμπύκνωση σε αέριο άζωτο, εισαγωγή άνυδρου θειικού μαγνησίου, φιλτράρισμα, πωμάτισμα και φύλαξη στην κατάψυξη.



Εικόνα 17: Περιστροφικός συμπυκνωτής, Rotary evaporator

## **2.6 Προετοιμασία δειγμάτων για ανάλυση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS)**

Πριν από την ανάλυση των δειγμάτων με αέριο χρωματογράφο-φασματόμετρο μαζών (GC-MS) απαιτείται προεργασία. Τα δείγματα αραιώθηκαν με τις κατάλληλες ποσότητες διαλύτη ώστε να δίνουν ικανοποιητικά αποτελέσματα και να είναι συμβατά με το μηχάνημα.

### **2.6.1 Παρασκευή πρότυπου διαλύματος κυκλοεξανόνης**

Η κυκλοεξανόνη χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο για την ποσοτική ανάλυση των συστατικών των αιθέριων ελαίων και των πτητικών συστατικών των αφεψημάτων. Παρασκευάστηκε πρότυπο διάλυμα κυκλοεξανόνης 10μL/ mL (10000 ppm), το οποίο περιείχε 50 μL κυκλοεξανόνης και 5mL διαιθυλαιθέρα.

### **2.6.2 Προετοιμασία αιθερίων ελαίων**

Για να επιτευχθεί αραιώση των πυκνών αιθερίων ελαίων 1/100 v/v, εισάγονταν σε φιαλίδιο 10 μL αιθερίου ελαίου, 50 μL από το πρότυπο διάλυμα κυκλοεξανόνης και 940 μL διαιθυλαιθέρα πριν από κάθε ανάλυση.

Στην περίπτωση των αιθερικών εκχυλισμάτων των αιθερίων ελαίων εισαγόταν σε φιαλίδιο 500 μL δείγματος, 50 μL πρότυπο διάλυμα κυκλοεξανόνης και 450 μL διαιθυλαιθέρα.

### **2.6.3 Προετοιμασία αφεψημάτων**

Αρχικά, τα δείγματα υποβάλλονταν σε συμπύκνωση μέχρι τον όγκο του 1 mL σε αέριο άζωτο και στη συνέχεια γινόταν προσθήκη 50 μL πρότυπου διαλύματος κυκλοεξανόνης.

## **2.7 Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των αιθερίων ελαίων και των αφεψημάτων με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS)**

Για τον διαχωρισμό των συστατικών των παραληφθέντων αιθερίων ελαίων και των πτητικών συστατικών των παραληφθέντων αφεψημάτων εφαρμόστηκε η τεχνική της αέριας χρωματογραφίας ενώ για την ταυτοποίηση τους εφαρμόστηκε η φασματοσκοπία μαζών.

Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε ήταν αέριος χρωματογράφος (Trace GC ULTRA) εφοδιασμένος με ανιχνευτή φασματόμετρο μάζας (DSQ II), της εταιρείας Thermo Scientific (Εικόνα 18). Η στήλη του χρωματογράφου που χρησιμοποιήθηκε ήταν Thermo-5MS (30m x 0,25 mm, ID, πάχος φιλμ 0,25 μm). Τα φέρον αέριο ήταν ήλιο (He), με ροή 1mL/min. Η θερμοκρασία στο σύστημα εισαγωγής του δείγματος ήταν 220 °C και στη γραμμή διαβίβασης του ανιχνευτή (MS transfer line) 250 °C. Το πρόγραμμα ανάλυσης, το οποίο είχε διάρκεια 63,33 min, περιλάμβανε άνοδο της θερμοκρασίας της στήλης, η οποία αρχικά ήταν στους 60 °C και τελικά αυξανόταν βαθμιαία μέχρι τους 250 °C με ρυθμό 3 °C/λεπτό. Ο όγκος του προς ανάλυση

δείγματος ήταν 1μL και εισαγόταν χειροκίνητα στο σύστημα έγχυσης με ένεση, με την τεχνική εισαγωγής δείγματος, splitless.

Η ταυτοποίηση των συστατικών των αιθερίων ελαίων και των πτητικών συστατικών των αφεψημάτων έγινε με σύγκριση των χρόνων συγκράτησης και των φασμάτων μαζών με αυτών των ηλεκτρονικών βιβλιοθηκών Adams07,HP και Xcalibur που υπάρχουν στο λογισμικό Xcalibur του οργάνου και με δεδομένα της βιβλιογραφίας (Adams, 4<sup>th</sup> Edition).

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των συστατικών του δείγματος χρησιμοποιείται συνήθως το εμβαδόν της κάθε κορυφής του χρωματογραφήματος. Επίσης, χρησιμοποιείται και το ύψος της κάθε κορυφής, το οποίο όμως δίνει λιγότερο αξιόπιστα αποτελέσματα. Στην συγκεκριμένη μελέτη ο ποσοτικός προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών ενώ ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης με τη βοήθεια του εσωτερικού προτύπου, της κυκλοεξανόνης και την κατασκευή πρότυπων καμπύλων.



Εικόνα 18: Το σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών (GC-MS) που χρησιμοποιήθηκε

## 2.8 Βαθμονόμηση πρότυπων διαλυμάτων $\alpha$ -θουγιόνης για ανάλυση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS)

Για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια και στα αφεψημάτα πραγματοποιήθηκε κατασκευή δυο πρότυπων καμπυλών συγκεντρώσεων  $\alpha$ -θουγιόνης. Επιλέχθηκε να κατασκευαστούν δυο πρότυπες καμπύλες λόγω του μεγάλου εύρους συγκεντρώσεων της  $\alpha$ -και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια και στα αφεψημάτα, μια για χαμηλές συγκεντρώσεις και μια για υψηλότερες συγκεντρώσεις.

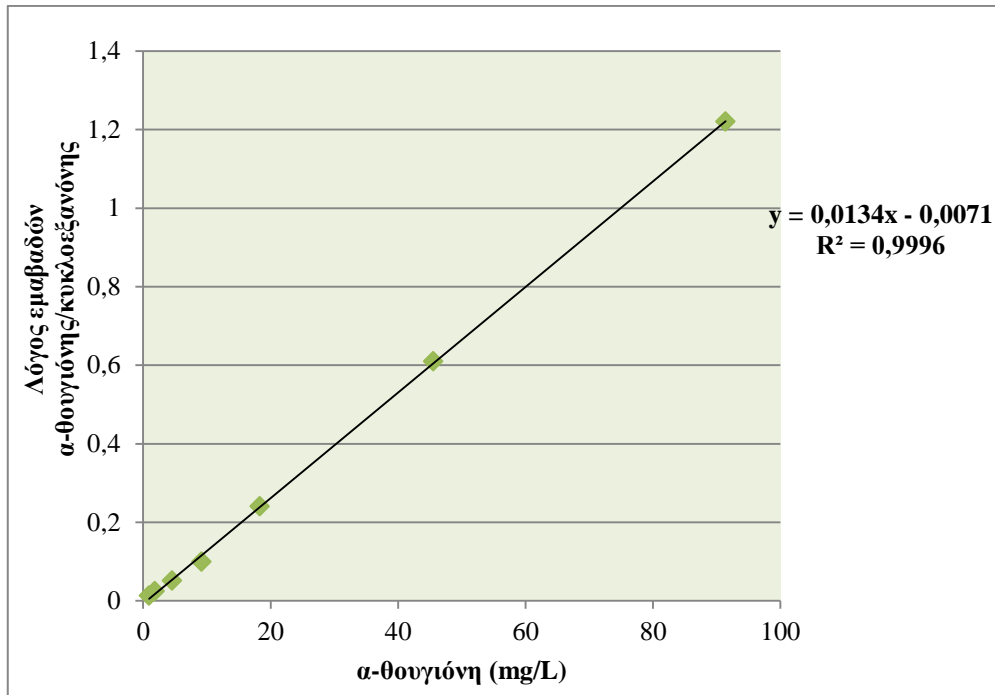
Για την μελέτη των ποσοτήτων της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης χρησιμοποιήθηκε καθαρή  $\alpha$ -θουγιόνη, καθώς η  $\beta$ -θουγιόνη δεν είναι εμπορικά διαθέσιμη. Οι ποσότητες της  $\alpha$ -και  $\beta$ -θουγιόνης υπολογίστηκαν σύμφωνα με τον παράγοντα απόκρισης της κυκλοεξανόνης ως εσωτερικό πρότυπο που εισήχθη σε κάθε πρότυπο διάλυμα (50  $\mu$ L). Για την δημιουργία των πρότυπων καμπυλών παρασκευάστηκαν αρχικά πρότυπα διαλύματα  $\alpha$ -θουγιόνης (stock solutions).

Για την πρώτη πρότυπη καμπύλη (Σχήμα 19) παρασκευάστηκε αρχικό πρότυπο διάλυμα  $\alpha$ -θουγιόνης 1 $\mu$ L/mL (1000 ppm), το οποίο περιείχε 5  $\mu$ L  $\alpha$ -θουγιόνης αραιωμένα σε 5 mL διαιθυλαιθέρα. Στη συνέχεια, παρασκευάστηκαν 7 πρότυπα διαλύματα εργασίας  $\alpha$ -θουγιόνης από το αρχικό πρότυπο διάλυμα. Οι συγκεντρώσεις των πρότυπων διαλυμάτων εργασίας που παρασκευάστηκαν ήταν 0,91, 1,83, 4,55, 9,14, 18,28, 45,5, 91,4 mg  $\alpha$ -θουγιόνης/L (1,2,5,10,20,50,100 ppm, αντίστοιχα) με τις κατάλληλες αραιώσεις.

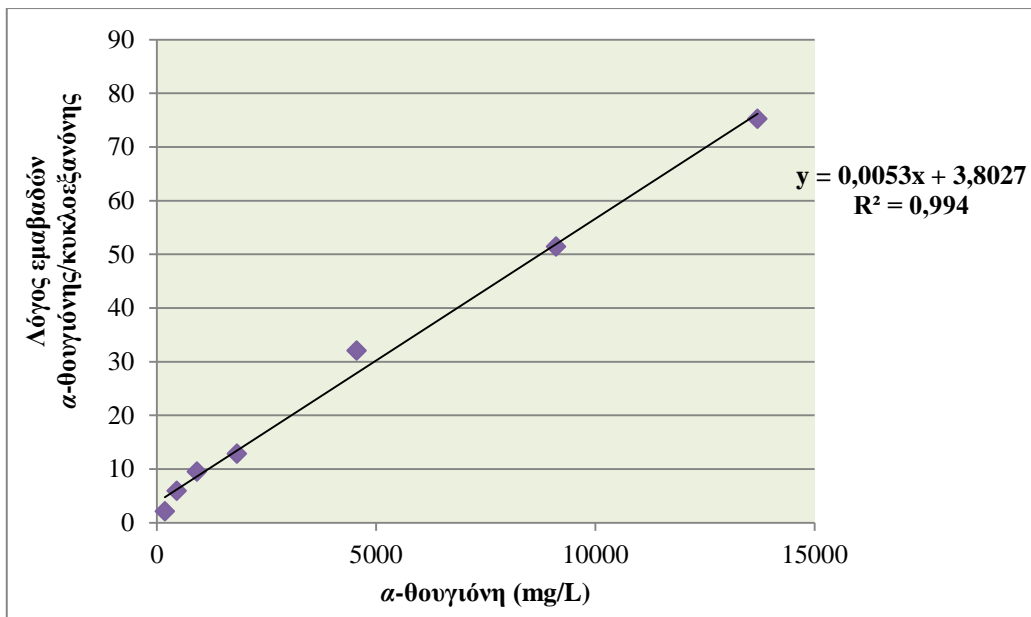
Για την δεύτερη πρότυπη καμπύλη (Σχήμα 20) παρασκευάστηκε αρχικό πρότυπο διάλυμα  $\alpha$ -θουγιόνης 10 $\mu$ L/mL (10000 ppm), το οποίο περιείχε 50 $\mu$ L  $\alpha$ -θουγιόνης αραιωμένα σε 5mL διαιθυλαιθέρα. Στη συνέχεια, παρασκευάστηκαν επίσης 7 πρότυπα διαλύματα εργασίας  $\alpha$ -θουγιόνης από το αρχικό πρότυπο διάλυμα. Οι συγκεντρώσεις των πρότυπων διαλυμάτων εργασίας που παρασκευάστηκαν ήταν 183, 455, 914, 1828, 4555, 9104, 13701mg  $\alpha$ -θουγιόνης/L (200, 500, 1000, 2000, 5000, 10000, 15000 ppm, αντίστοιχα) με τις κατάλληλες αραιώσεις.

Τέλος τα παραπάνω 14 πρότυπα διαλύματα εργασίας  $\alpha$ -θουγιόνης αναλύθηκαν με αέριο χρωματογράφο-φασματομέτρο μαζών (GC-MS), ώστε να γίνει ποσοτικός προσδιορισμός της  $\alpha$ -και  $\beta$ -θουγιόνης με την μέθοδο του εσωτερικού προτύπου. Στη συνέχεια, υπολογίστηκαν οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης που βρίσκονται στα αιθέρια έλαια και αφεψημάτα των βοτάνων με βάση τις πρότυπες καμπύλες των διαλυμάτων  $\alpha$ -θουγιόνης.





Σχήμα 19: 1<sup>η</sup> Πρότυπη καμπύλη α-θουγιόνης



Σχήμα 20: 2<sup>η</sup> Πρότυπη καμπύλη α-θουγιόνης

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

#### 3.1 Ταυτοποίηση των συστατικών των αιθερίων ελαίων και των πτητικών συστατικών των αφεψημάτων των βοτάνων με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS)

Η ταυτοποίηση των συστατικών που περιέχονται στα αιθέρια έλαια και των πτητικών συστατικών των αφεψημάτων των βοτάνων αψιθιά, μέντα, ρίγανη και φασκόμηλο έγινε με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS). Τα συστατικά αυτά ταυτοποιήθηκαν, όπως έχει προαναφερθεί, με σύγκριση του χρόνου συγκράτησης (Retention time, RT) και του φάσματος μάζας τους, με τις αντίστοιχες βιβλιοθήκες του λογισμικού του μηχανήματος και την βιβλιογραφία. Οι δείκτες συγκράτησης (Kovats index, KI) των παρακάτω πινάκων προέρχονται από την βιβλιογραφία (Adams, 4<sup>th</sup> Edition). Τα αιθέρια έλαια προέκυψαν από την υδρο-απόσταξη των δειγμάτων, ενώ τα αφεψήματα προέκυψαν από την εκχύλιση με διαλύτη διαιθυλαιθέρα των υδατικών εκχυλισμάτων των δειγμάτων. Ακολουθεί παρουσίαση της χημική σύστασης, των δομών ορισμένων συστατικών και κάποιων αντιπροσωπευτικών χρωματογραφημάτων αιθερίων ελαίων και αφεψημάτων των βοτάνων από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας.

##### 3.1.1 Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων αψιθιάς, *Artemisia absinthium*

Στον Πίνακα 9 παρουσιάζονται τα αναγνωρισμένα συστατικά, που ανιχνεύθηκαν στα αιθέρια έλαια των φύλλων, στην περίπτωση της Πιερίας και ανθέων, αψιθιάς που προέκυψαν από την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS). Στο Σχήμα 21 παρουσιάζονται δομές κύριων συστατικών των αιθερίων ελαίων αψιθιάς και στο Σχήμα 22 παρουσιάζεται αέριο χρωματογράφημα των συστατικών αιθερίου ελαίου αψιθιάς (Ηλείας).

Στο αιθέριο έλαιο της αψιθιάς Αιτωλοακαρνανίας (AA) ανιχνεύθηκαν 16 πτητικά συστατικά. Όπως φαίνεται από τον πίνακα το κύριο συστατικό του αιθερίου ελαίου είναι το *E*-καρνοφυλλένιο με ποσοστό 21,49%. Ακολουθούν η *β*-θουγιόνη με ποσοστό 8,33% και η λιναλοόλη, ο ισοβαλερικός εστέρας της νερόλης, το σαμπινένιο και το *ο*-κυμένιο με ποσοστά 5,86%, 4,10%, 3,73% και 3,23% αντίστοιχα. Σημαντικά και παραπλήσια ποσοστά εμφανίζουν οι ουσίες *trans*-σαμπινόλη (2,77%), καρβακρόλη (2,65%), *Z*-αιθανικός εστέρας λανσεόλης (2,61%) και τερπινεν-4-όλη (2,28%). Επιπλέον, δυο ακόμα συστατικά η ιντερμεδεόλη και το χαμαζουλένιο εμφανίζονται με αξιόλογα ποσοστά 1,46% και 1,24% αντίστοιχα.

Πίνακας 9: Συστατικά αιθερίων ελαίων αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

A/A	Kovats index (K.I)	Retention time (min)	Συστατικό	Περιοχή προέλευσης δείγματος		
				ΑΑΑ*α (%)	ΑΗΑ* (%)	ΑΚΑ* (%)
1	932	5.59	<i>α</i> -πινένιο	-	<b>1,43</b>	-
2	969	6.72	σαμπινένιο	<b>3,73</b>	<b>5,51</b>	-
3	1022	8.49	<i>ο</i> -κυμένιο	<b>3,23</b>	-	-
4	1032	8.72	<i>Z</i> - <i>β</i> -οκιμένιο	-	<b>12,99</b>	0,44
5	1026	9.02	<i>1,8</i> -κινεόλη	0,94	-	-
6	1095	11.38	λιναλόλη	<b>5,86</b>	<b>1,82</b>	-
7	1101	11.68	<i>α</i> -θουγιόνη	0,53	<b>3,49</b>	<b>1,15</b>
8	1112	12.24	<i>β</i> -θουγιόνη	<b>8,33</b>	<b>43,3</b>	0,74
9	1128	12.76	<i>Z</i> -εποξυοκιμένιο	-	<b>13,84</b>	<b>43,38</b>
10	1137	13.06	<i>trans</i> -σαμπινόλη	<b>2,77</b>	-	-
11	1140	12.98	<i>E</i> - <i>β</i> -εποξείδιο κυμενίου	-	-	<b>2,86</b>
12	1141	13.55	καμφορά	-	0,42	-
13	1174	14.75	τερπινεν-4-όλη	<b>2,28</b>	0,97	-
14	1186	15.40	<i>α</i> -τερπινεόλη	-	0,42	-
15	1288	18.95	αιθανικός εστέρας λαβαντουλυλίου	-	-	0,88
16	1289	19.41	<i>trans</i> -αιθανικός εστέρας σαμπινυλίου	-	-	<b>24,94</b>
17	1289	19.55	θυμόλη	-	<b>3,17</b>	0,71
18	1298	19.80	καρβακρόλη	<b>2,65</b>	<b>2,34</b>	<b>5,22</b>
19	1374	22.70	<i>α</i> -κοπαένιο	-	-	0,88
20	1403	24.13	μεθυλοευγενόλη	-	0,26	-
21	1511	24.39	ισοβουτανικός εστέρας λαβαντουλόλης	0,15	-	-
22	1417	24.63	<i>E</i> -καρυοφυλλένιο	<b>21,49</b>	0,91	<b>4,38</b>
23	1484	27.17	<i>D</i> -γερμακρένιο	-	<b>2,68</b>	<b>7,31</b>
24	1582	30.80	ισοβαλερικός εστέρας νερόλης	<b>4,10</b>	0,40	-
25	1665	34.52	ιντερμεδεόλη	<b>1,46</b>	-	-
26	1685	35.08	<i>α</i> -μπισαμπολόλη	-	-	<b>1,28</b>
27	1730	36.96	χαμαζουλένιο	<b>1,24</b>	<b>3,91</b>	0,98
28	1754	44.00	νουσιφερόλη	0,46	-	-
29	1677	45.73	<i>β</i> -ελιφολενόλη	-	0,69	<b>4,11</b>
30	1754	45.84	<i>Z</i> - <i>β</i> -κουρκουμεν-12-όλη	-	<b>1,45</b>	0,74
31	1854	45.91	<i>Z</i> -αιθανικός εστέρας λανσεόλης	<b>2,61</b>	-	-

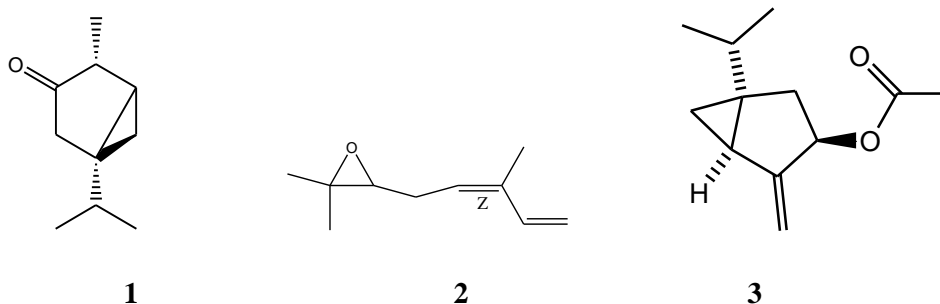
\*Α: αιθέριο έλαιο, α: αιθερικό εκχύλισμα αιθερίου ελαίου, ΑΑ: Αψιθιά Αιτωλοακαρνανίας, ΑΗ: Αψιθιά Ηλείας, ΑΚ: Αψιθιά Κοζάνης

Στο αιθέριο έλαιο της αψιθιάς Ηλείας (ΑΗ) ανιχνευθήκαν 19 συστατικά. Το κύριο συστατικό του αιθερίου ελαίου, αποτελεί σχεδόν το ήμισυ του συνολικού ποσοστού των συστατικών, είναι η *β*-θουγιόνη με το ποσοστό 43,30%. Αξιοσημείωτο είναι και το υψηλό ποσοστό του *Z*-*β*-εποξυοκιμενίου (13,84%) και του *Z*-*β*-οκιμενίου (12,99%). Ακολουθούν το σαμπινένιο, το χαμαζουλένιο, η *α*-θουγιόνη, η καρβακρόλη, το *D*-γερμακρένιο και η θυμόλη με

## Αποτελέσματα και συζήτηση

σημαντικά ποσοστά 5,51%, 3,91%, 3,49%, 3,17%, 2,68% και 2,34% αντίστοιχα. Ένα μικρό ποσοστό του συνόλου, περίπου 5%, αποτελείται από τις ουσίες λιναλοόλη (1,82%), *Z*- $\beta$ -κουρκουμεν-12-όλη (1,45%) και  $\alpha$ -πινένιο (1,43%).

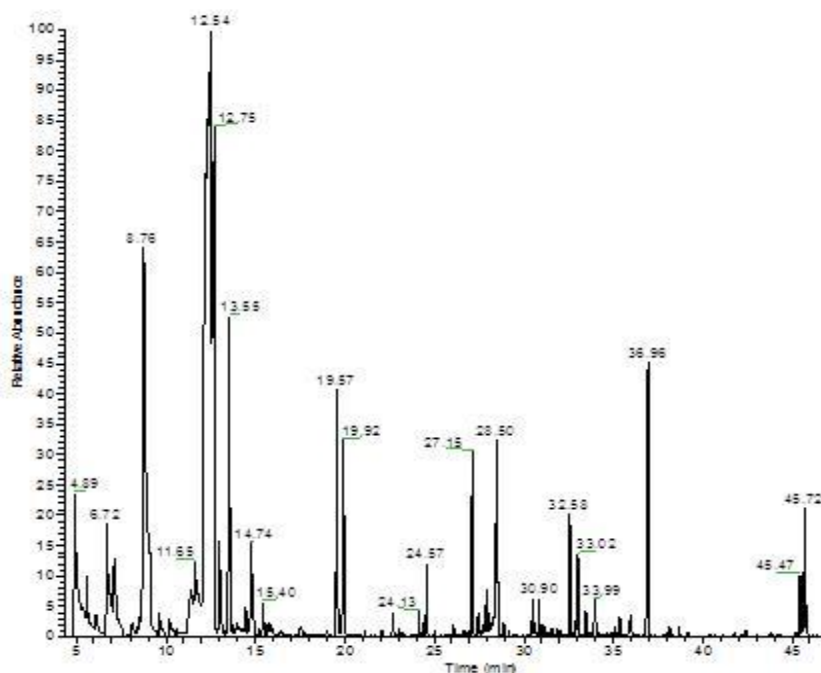
Τέλος, στο αιθέριο έλαιο της αψιθιάς Κοζάνης (ΑΚ) ανιχνευθήκαν 16 συστατικά. Τα κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου είναι δυο το *Z*-εποξυοκυμένιο με ποσοστό 43,38% και ο *trans*-αιθανικός εστέρας του σαμπινυλίου με ποσοστό 24,94%. Αξιόλογα ποσοστά εμφανίζουν το *D*-γερμακρένιο (7,31%), η καρβακρόλη (5,22%), το *E*-καρυοφυλλένιο (4,38%) και η  $\beta$ -ελιφολενόλη (4,11%). Τέλος, έπονται οι ουσίες *E*- $\beta$ -εποξειδίου του κυμενίου, η  $\alpha$ -μπισαμπολόλη και η  $\alpha$ -θουγιόνη με ποσοστά 2,86%, 1,28% και 1,15% αντίστοιχα.



Σχήμα 21: Δομές των συστατικών (1)  $\beta$ -θουγιόνη, (2) *Z*-εποξυοκυμενίου και (3) *trans*-αιθανικού εστέρα σαμπινυλίου

Και στις τρεις περιπτώσεις εμφανίζονται κοινά χαρακτηριστικά στη σύσταση αλλά και αξιοσημείωτες διαφορές. Το αιθέριο έλαιο της ΑΗ εμφανίζει την υψηλότερη περιεκτικότητα σε συστατικά, ενώ τα αιθέρια έλαια της ΑΑ και ΑΚ ενώ έχουν τον ίδιο αριθμό συστατικών, διαφέρουν κατά πολύ ως προς τα ποσοστά.

Τα κοινά συστατικά των τριών αιθερίων ελαίων των τριών περιοχών είναι πέντε: η  $\alpha$ - και η  $\beta$ -θουγιόνη, η καρβακρόλη, το *E*-καρυοφυλλένιο και το χαμαζουλένιο. Από τα συστατικά αυτά η  $\beta$ -θουγιόνη αποτελεί το κύριο συστατικό της ΑΗ και το δεύτερο κατά σειρά συστατικό σε ποσοστό στην ΑΑ ενώ το *E*-καρυοφυλλένιο αποτελεί το κύριο συστατικό της ΑΑ με μεγάλη διαφορά ποσοστού από τις άλλες περιοχές.



Σχήμα 22: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου αψιθιάς (Ηλεία).

Πρέπει να παρατηρηθεί ότι στο αιθέριο έλαιο της ΑΑ εμφανίζονται κατά αποκλειστικότητα σε σημαντικές ποσότητες οι ουσίες *o*-κυμένιο, *trans*-σαμπινόλη, ιντερμεδεόλη και *Z*-αιθανικός εστέρας λανσεόλης ενώ το  $\alpha$ -πινένιο εμφανίζεται μόνο στο αιθέριο έλαιο της ΑΗ. Στο αιθέριο έλαιο της ΑΚ ένα από τα δυο κύρια συστατικά του ο *trans*-αιθανικός εστέρας του σαμπινυλίου δεν εμφανίζεται στα άλλα δυο δείγματα, όπως επίσης το *E*- $\beta$ -εποξειδίο του κυμενίου και η  $\alpha$ -μπισαμπολόλη.

Σε έρευνες οι οποίες έχουν γίνει στο αιθέριο έλαιο αψιθιάς από την Ελλάδα, και σε άλλες χώρες (Ιταλία, Ισπανία, Γαλλία, Ουκρανία) η  $\alpha$ - και η  $\beta$ -θουγιόνη θεωρούνται ως κύρια συστατικά (Orav et al. 2006), με μεγαλύτερο ποσοστό εμφανίζεται η  $\beta$ -θουγιόνη (Ιράν, Καναδάς) (Abad et al. 2012). Επιπλέον, σε ανάλυση αψιθιάς αιθερίου ελαίου από την Λιθουανία και την Ρωσία ως κύριο συστατικό βρέθηκε ο αιθανικός εστέρας σαμπινυλίου και το *Z*-εποξυοκυμένιο αντίστοιχα (Judžentienė, 2004, (Orav et al. 2006). Τέλος, σε έρευνα του Ben Jema (2014), ως κύριο συστατικό ανιχνεύθηκε η  $\beta$ -θουγιόνη, ακολουθούσε η καμφορά και σε πολύ μικρά ποσοστά ο αιθανικός εστέρας σαμπινυλίου.

### 3.1.2 Χημική σύσταση των αφεψημάτων αψιθιάς, *Artemisia absinthium*

Στον Πίνακα 10, παρουσιάζονται τα αναγνωρισμένα πτητικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν σε αφεψήματα αψιθιάς από διάφορες περιοχές της Ελλάδας, που προέκυψαν από την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS). Στο Σχήμα 23 παρουσιάζονται δομές κύριων πτητικών συστατικών των αφεψημάτων αψιθιάς, ενώ στο Σχήμα 24 παρουσιάζεται αέριο χρωματογράφημα των πτητικών συστατικών αφεψήματος αψιθιάς (Κοζάνη).

Στο αφέψημα της αψιθιάς Αιτωλοακαρνανίας (ΑΑ), ανιχνεύθηκαν 9 πτητικά συστατικά. Το κύριο συστατικό με μεγάλη διαφορά ποσοστού από τα υπόλοιπα είναι ο *trans*-αιθανικός εστέρας του σαμπινυλίου με ποσοστό 40,62%. Οι ουσίες που ακολουθούν σε υψηλά ποσοστά είναι η καρβακρόλη (15,69%), η  $\beta$ -θουγιόνη (13,41%) και η 1,8-κινεόλη (10,48%). Ικανοποιητικά ποσοστά 6,36%, 6,21% και 5,16% εμφανίζουν αντίστοιχα οι ουσίες λιναλοόλη, νουτκατίνη και *trans*-σαμπινόλη. Ίδιο ποσοστό 1,04% δίνουν το  $\rho$ -κυμένιο και η  $\alpha$ -θουγιόνη.

Στη συνέχεια, στο αφέψημα αψιθιάς της Κοζάνης (ΑΚ) ανιχνεύθηκαν 6 πτητικά συστατικά. Σε αυτήν την περίπτωση το κύριο συστατικό είναι η καρβακρόλη με ποσοστό 49,07%, ενώ πολύ υψηλό ποσοστό εμφανίζουν ο *trans*-αιθανικός εστέρας σαμπινυλίου (29,55%) και η νουτκατίνη (16,91%). Ακολουθούν τα δυο εναντιομερή  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη με αρκετά μικρότερα ποσοστά 2,51% και 1,02% αντίστοιχα.

Στο αφέψημα αψιθιάς της Πιερίας (ΑΠ), ανιχνεύθηκαν μόνο 4 πτητικά συστατικά. Το κύριο συστατικό είναι η καρβακρόλη με αξιοσημείωτο ποσοστό 79,10%, ενώ ικανοποιητικό ποσοστό 14,48% εμφανίζει και η 1,8-κινεόλη. Τέλος, η  $\beta$ - και  $\alpha$ -θουγιόνη εμφανίζονται με ποσοστά 4,98% και 1,13% αντίστοιχα.

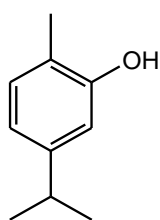
Το τελευταίο αφέψημα αψιθιάς της Χαλκιδικής (ΑΧ), περιέχει 7 πτητικά συστατικά. Ως κύριο συστατικό, στο υψηλότερο ποσοστό 40,77%, βρίσκεται η *cis*-χρυσανθενόλη. Σημαντικά ποσοστά εμφανίζουν η λιναλοόλη (25,89%) και η καρβακρόλη (21,43%). Ακολουθούν οι ουσίες *cis*-ένυδρο σαμπινένιο, περιλλάλη και  $\alpha$ -θουγιόνη με ποσοστά 5,65%, 3,27% και 2,08 % αντίστοιχα.

Πίνακας 10: Πτητικά συστατικά αφεψημάτων αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

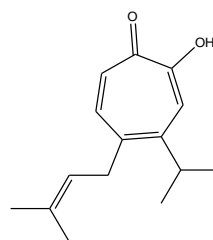
A/A	Kovats index (K.I)	Retention time (min)	Συστατικό	Περιοχή προέλευσης δείγματος				
				ΑΑΦ* (%)	ΑΗΦ* (%)	ΑΚΦ* (%)	ΑΠΦ* (%)	ΑΧΦ* (%)
1	1020	8.43	<i>ρ</i> -κυμένιο	<b>1,04</b>	-	-	-	-
2	1026	8.74	<i>1,8</i> -κινεόλη	<b>10,48</b>	-	0,93	<b>14,48</b>	-
3	1065	10.14	<i>cis</i> -ένυδρο σαμπινένιο	-	-	-	-	<b>5,65</b>
4	1098	10.16	<i>trans</i> -ένυδρο σαμπινένιο	-	<b>3,49</b>	-	-	-
5	1095	11.21	λιναλοόλη	<b>6,36</b>	-	-	-	<b>25,89</b>
6	1101	11.64	<i>α</i> -θουγιόνη	<b>1,04</b>	<b>2,87</b>	<b>2,51</b>	<b>1,13</b>	<b>2,08</b>
7	1112	12.39	<i>β</i> -θουγιόνη	<b>13,41</b>	<b>53,30</b>	<b>1,02</b>	<b>4,98</b>	0,89
8	1128	12.74	<i>Z</i> -εποξυοκυμένιο	-	<b>25,65</b>	-	-	-
9	1137	12.95	<i>trans</i> -σαμπινόλη	<b>5,16</b>	-	-	-	-
10	1141	13.57	καμφορά	-	<b>7,76</b>	-	-	-
11	1160	13.91	<i>cis</i> -χρυσανθενόλη	-	-	-	-	<b>40,77</b>
12	1269	18.94	περιλλάλη	-	-	-	-	<b>3,27</b>
13	1289	19.24	<i>trans</i> -αιθανικός εστέρας σαμπινυλίου	<b>40,62</b>	-	<b>29,55</b>	-	-
14	1298	19.92	καρβακρόλη	<b>15,69</b>	<b>5,46</b>	<b>49,07</b>	<b>79,41</b>	<b>21,43</b>
15	1730	36.89	χαμαζουλένιο	-	<b>1,48</b>	-	-	-
16	1959	46.15	νουκκατίνη	<b>6,21</b>	-	<b>16,91</b>	-	-

\*Φ: αφέψημα, ΑΑ: Αψιθιά Αιτωλοακαρνανίας, ΑΗ: Αψιθιά Ηλείας, ΑΚ: Αψιθιά Κοζάνης,

ΑΠ: Αψιθιά Πιερίας, ΑΧ: Αψιθιά Χαλκιδικής



1



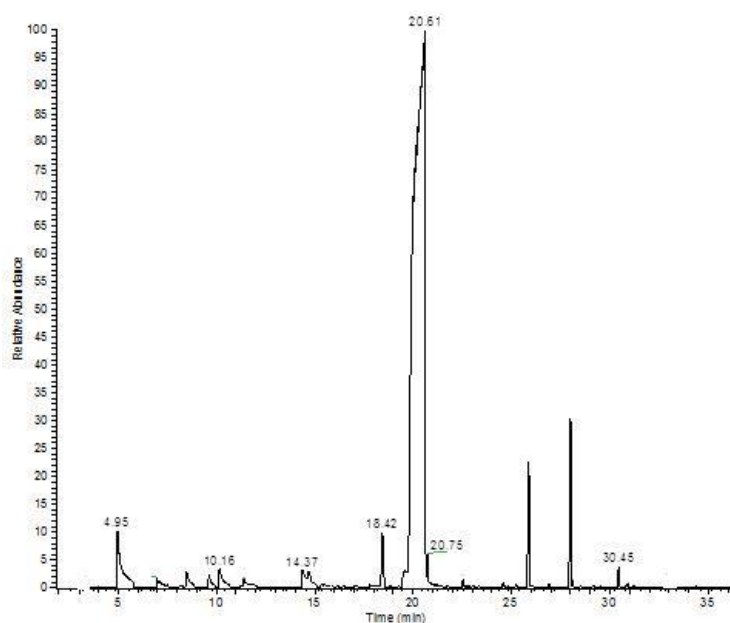
2

Σχήμα 23: Δομές των συστατικών (1) καρβακρόλη και (2) νουκκατίνη

## Αποτελέσματα και συζήτηση

Από τα 16 πτητικά συστατικά που φαίνονται στον Πίνακα 10, τα 7 εμφανίζονται σε παραπάνω από ένα δείγμα ενώ τα υπόλοιπα 9 εμφανίζονται κάθε φορά σε ένα και μόνο δείγμα. Οι ουσίες καρβακρόλη,  $\alpha$ -και  $\beta$ -θουγιόνη υπάρχουν στα δείγματα και των πέντε διαφορετικών περιοχών και τα ποσοστά τους έχουν μεγάλο εύρος τιμών. Η καρβακρόλη αποτελεί κύριο συστατικό στα αφεψήματα της ΑΚ και ΑΠ ενώ η  $\beta$ -θουγιόνη στο αφέψημα της ΑΗ. Η *cis*-χρυσανθενόλη εμφανίζεται αποκλειστικά και ως κύριο συστατικό στο δείγμα ΑΑ. Σε σημαντικά ποσοστά εμφανίζεται και ο *trans*-αιθανικός εστέρας του σαμπινυλίου, κύριο συστατικό στο αφέψημα της ΑΑ και δεύτερο κατά σειρά της εκατοστιαίας αναλογίας στο αφέψημα της ΑΚ.

Σύμφωνα με έρευνα σε εκχυλίσματα αψιθιάς η  $\alpha$ -και  $\beta$ -θουγιόνη είναι τα δυο συστατικά τα οποία είναι παρόντα σε όλα τα δείγματα σε διαφορετικά αλλά ικανοποιητικά ποσοστά (Lachenmeier et al. 2006).



Σχήμα 24: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος αψιθιάς (Κοζάνη)



### 3.1.3 Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων μέντας, *Mentha piperita*

Στον Πίνακα 11 παρουσιάζονται τα αναγνωρισμένα συστατικά, που ανιχνεύθηκαν στα αιθέρια έλαια των φύλλων μέντας, που προέκυψαν από την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS). Στο Σχήμα 25 παρουσιάζονται δομές των κύριων συστατικών των αιθερίων ελαίων μέντας και στο Σχήμα 26 παρουσιάζεται αέριο χρωματογράφημα των συστατικών αιθερίου ελαίου μέντας (Ηλεία).

Πίνακας 11: Συστατικά αιθερίων ελαίων μέντας από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

A/A	Kovats index (K.I)	Retention time (min)	Συστατικό	Περιοχή προέλευσης δείγματος		
				MHA* (%)	MKA* (%)	MXA* (%)
1	932	5.61	<i>α</i> -πινένιο	<b>1,41</b>	-	-
2	974	6.88	<i>β</i> -πινένιο	<b>2,91</b>	<b>3,94</b>	<b>2,32</b>
3	1024	8.57	λεμονένιο	<b>1,40</b>	<b>3,00</b>	<b>1,69</b>
4	1026	8.73	<i>1,8</i> -κινεόλη	<b>10,53</b>	<b>17,82</b>	<b>10,09</b>
5	1054	9.60	<i>γ</i> -τερπινένιο	<b>1,13</b>	<b>1,20</b>	0,79
6	1095	11.21	λιναλοόλη	-	0,49	0,35
7	1098	11.50	<i>trans</i> -ένυδρο σαμπινένιο	0,10	-	0,30
8	1148	14.01	μενθόνη	<b>21,34</b>	<b>33,92</b>	<b>22,31</b>
9	1159	14.10	μενθοφουράνιο	<b>5,32</b>	<b>1,60</b>	<b>1,56</b>
10	1161	14.61	νεομενθόλη	<b>4,66</b>	<b>6,77</b>	<b>3,47</b>
11	1167	15.08	μενθόλη	<b>34,48</b>	<b>11,14</b>	<b>19,90</b>
12	1233	17.34	πουλεγόνη	<b>1,24</b>	0,69	<b>7,90</b>
13	1249	18.04	πιπεριτόνη	<b>1,93</b>	<b>1,94</b>	-
14	1294	19.27	αιθανικός εστέρας μενθυλίου	-	<b>3,34</b>	<b>8,27</b>
15	1289	19.55	θυμόλη	<b>1,93</b>	-	0,28
16	1298	20.01	καρβακρόλη	0,84	<b>3,23</b>	<b>1,13</b>
17	1387	23.06	<i>β</i> -μπουρμπονένιο	0,60	0,63	<b>1,09</b>
18	1389	23.31	<i>β</i> -ελεμένιο	0,33	-	<b>2,19</b>
19	1417	24.62	<i>E</i> -καρυοφυλλένιο	<b>3,46</b>	<b>4,34</b>	<b>4,99</b>
20	1454	25.84	<i>E</i> - <i>β</i> -φαρνεσένιο	0,78	0,63	0,98
21	1452	26.08	<i>α</i> -χουμουλένιο	0,16	-	0,26
22	1484	27.19	<i>D</i> -γερμακένιο	<b>3,76</b>	<b>4,05</b>	<b>6,73</b>
23	1494	27.66	δικυκλογερμακρένιο	0,48	0,46	<b>1,32</b>
24	1522	28.57	<i>δ</i> -καδινένιο	0,18	-	0,28
25	1577	31.05	σπαθουλενόλη	0,10	-	0,35
26	1592	31.73	βιριδιφλορόλη	<b>1,17</b>	0,80	<b>1,45</b>
27	1652	34.04	<i>α</i> -καδινόλη	0,61	-	-

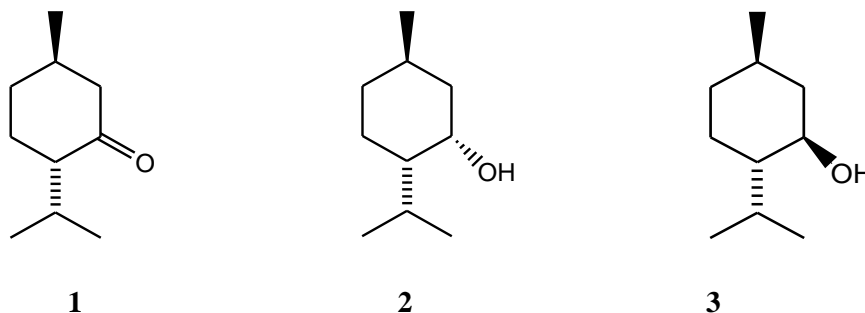
\*A: αιθέριο έλαιο, MH: Μέντα Ηλείας, MK: Μέντα Κοζάνης, MX: Μέντα Χαλκιδικής

## Αποτελέσματα και συζήτηση

Σύμφωνα με τον παρακάτω Πίνακα 11, το αιθέριο έλαιο της μέντας Ηλείας (MH) περιέχει 25 συστατικά στο σύνολο. Το κύριο συστατικό του συγκεκριμένου αιθερίου ελαίου είναι η μενθόλη με ποσοστό 34,48%. Ακολουθούν με υψηλά επίσης ποσοστά η μενθόνη με ποσοστό 21,34 % και η 1,8-κινεόλη με ποσοστό 10,53%. Στη συνέχεια, εμφανίζονται οι ουσίες μενθοφουράνιο, νεομενθόλη, *D*-γερμακρένιο, *E*-καρνοφυλλένιο και  $\beta$ -πινένιο με μικρότερα αλλά σημαντικά ποσοστά 5,32%, 4,66%, 3,76%, 3,46% και 2,91% αντίστοιχα. Τέλος, ακολουθούν ουσίες με ίδια ή παραπλήσια ποσοστά. Οι ουσίες πιπεριτόνη και θυμόλη εμφανίζονται με το ίδιο ποσοστό 1,93%, το  $\alpha$ -πινένιο και το λεμονένιο με παραπλήσιο ποσοστό 1,41% και 1,40% αντίστοιχα και η βιριδιφλορόλη και το  $\gamma$ -τερπινένιο επίσης με παραπλήσιο ποσοστό 1,17% και 1,13% αντίστοιχα, με εξαίρεση την πουλεγόνη με 1,24%.

Στο αιθέριο έλαιο της μέντας Κοζάνης (MK) εμφανίζονται 19 συστατικά στο σύνολο. Το κύριο συστατικό εδώ είναι η μενθόνη με ποσοστό 33,92% ενώ σε αρκετά υψηλά ποσοστά 17,82% και 11,14% βρίσκονται η 1,8-κινεόλη και η μενθόλη. Αξιόλογο ποσοστό εμφανίζουν η νεομενθόνη (6,77%), το *E*-καρνοφυλλένιο (4,34%) και το *D*-γερμακρένιο (4,05%). Το παρών δίνουν επίσης οι ουσίες  $\beta$ -πινένιο, αιθανικός εστέρας μενθυλίου, καρβακρόλη, και λεμονένιο με ποσοστά 3,94%, 3,34%, 3,23% και 3,00% αντίστοιχα. Μικρά ποσοστά 1,94%, 1,60%, και 1,20% αλλά εξίσου σημαντικά δίνουν οι ουσίες πιπεριτόνη, μενθοφουράνιο και  $\gamma$ -τερπινένιο αντίστοιχα.

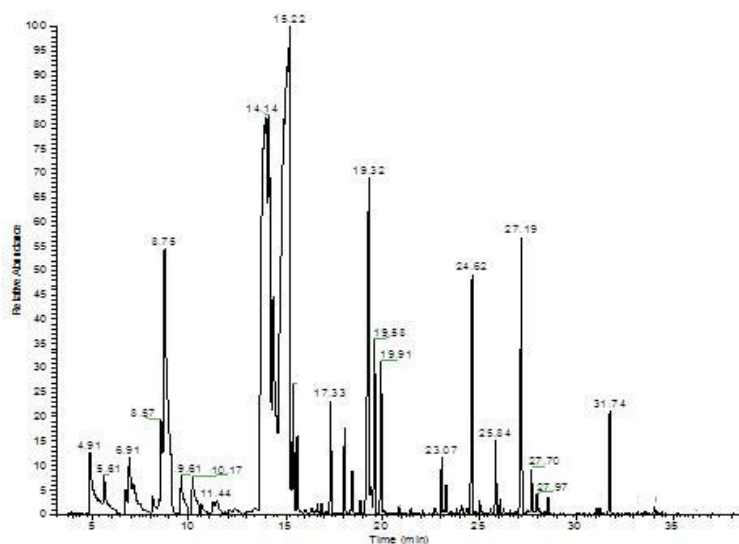
Το τελευταίο αιθέριο έλαιο της μέντας Χαλκιδικής (MX), έχει 24 συστατικά συνολικά. Σε αυτήν την περίπτωση υπάρχουν δυο κύρια συστατικά, η μενθόνη με ποσοστό 22,31% και η μενθόλη με ποσοστό 19,90%, ενώ στο αρκετά υψηλό ποσοστό του 10,09% βρίσκεται η 1,8-κινεόλη. Ακολουθούν με σημαντικά ποσοστά οι ουσίες ο αιθανικός εστέρας του μενθυλίου (8,27%), η πουλεγόνη (7,90%), το *D*-γερμακρένιο (6,73%), το *E*-καρνοφυλλένιο (4,99%) και η νεομενθόλη (3,47%). Έπειτα, εμφανίζονται τα συστατικά  $\beta$ -πινένιο,  $\beta$ -ελεμένιο, λεμονένιο, μενθοφουράνιο και βιριδιφλορόλη με αντίστοιχα ποσοστά 2,32%, 2,19%, 1,69%, 1,56% και 1,45%. Τελικά ακολουθούν τα μικρότερα ποσοστά των ουσιών δικυκλογερμακρένιο (1,32%), καρβακρόλη (1,13%) και  $\beta$ -μπουρμπονένιο (1,09%).



Σχήμα 25: Δομές των συστατικών (1) μενθόνη, (2) νεομενθόλη και (3) μενθόλη

Τα παραπάνω τρία αιθέρια έλαια μέντας παρότι είναι από διαφορετικές περιοχές εμφανίζουν περισσότερες ομοιότητες από ότι διαφορές.

Τα κοινά συστατικά των τριών αιθερίων ελαίων είναι η μενθόλη, η μενθόνη και η 1,8-κινεόλη. Ο χημειότυπος των αιθερίων ελαίων της ΜΗ, ΜΚ και ΜΧ είναι μενθόλη > μενθόνη > 1,8-κινεόλη, μενθόνη > 1,8-κινεόλη > μενθόλη και μενθόνη > μενθόλη > 1,8-κινεόλη αντίστοιχα. Επίσης, η νεομενθόλη, το *E*-καρυοφυλλένιο και το *D*-γερμακρένιο είναι κοινές ουσίες των αιθερίων ελαίων της ΜΗ, ΜΚ και ΜΧ σε αξιοσημείωτες ποσότητες καθώς και το  $\beta$ -πινένιο και λεμονένιο σε λίγο μικρότερα ποσοστά. Ο αιθανικός εστέρας του μενθυλίου βρίσκεται σε σημαντικά ποσοστά στα δείγματα της ΜΚ και ΜΧ.



Σχήμα 26: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου μέντας (Ηλεία)

Καταλήγοντας, τα αιθέρια έλαια εμφανίζουν μια σχετική ομοιότητα και ως προς το είδος των συστατικών αλλά και ως προς τα ποσοστά τους. Οι διαφορές που παρατηρούνται είναι πολύ λίγες και αφορούν κυρίως συστατικά μικρών ποσοστών.

Σε έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί στο αιθέριο έλαιο της μέντας, τα συστατικά που κυριαρχούν είναι η μενθόλη, η μενθόνη (Jovanoni & Sokoni 2014). Επιπλέον έρευνες επιβεβαιώνουν ως κύρια τα δυο προηγούμενα συστατικά αλλά και τον αιθανικό εστέρα του μενθυλίου (Rita & Animesh 2011) και την 1,8-κινεόλη (Alankar 2009).

### 3.1.4 Χημική σύσταση των αφεψημάτων μέντας, *Mentha piperita*

Στον Πίνακα 12, παρουσιάζονται τα αναγνωρισμένα πτητικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στα αφεψήματα μέντας από διάφορες περιοχές της Ελλάδας, που προέκυψαν από την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS). Στο Σχήμα 27 παρουσιάζονται δομές κύριων συστατικών των αφεψημάτων μέντας, ενώ στο Σχήμα 28 παρουσιάζεται αέριο χρωματογράφημα των πτητικών συστατικών αφεψήματος μέντας (Πιερία).

Αρχικά, το αφέψημα της μέντας Ηλείας (ΜΗ), περιέχει 8 πτητικά συστατικά. Το κύριο συστατικό του με το μεγαλύτερο ποσοστό 48,52% αντιστοιχεί στην μενθόλη. Έπονται με υψηλά εξίσου ποσοστά η ισομενθόνη (24,40%), η 1,8-κινεόλη (13,71%) και το *trans*-ένυδρο σαμπινένιο (7,29%). Ακολουθούν μικρότερα ποσοστά 1,53% για την πουλεγόνη και την θυμόλη, 1,42% για την πιπεριτόνη και 1,35% για την καρβακρόλη.

Στο αφέψημα της μέντας Κοζάνης (ΜΚ), εμφανίζονται 7 πτητικά συστατικά. Η μενθόλη με ποσοστό 52,76% αποτελεί το ήμισυ της συνολικής σύστασης του αφεψήματος και προφανώς το κύριο συστατικό. Ακολουθεί το πολύ υψηλό ποσοστό 28,66% το οποίο αντιστοιχεί στην ισομενθόνη. Επίσης ικανοποιητικά ποσοστά εμφανίζουν οι ουσίες 1,8-κινεόλη (9,81%), *trans*-ένυδρο σαμπινένιο (5,24%), πιπεριτόνη (2,09%) και  $\alpha$ -τερπινεόλη (1,11%).

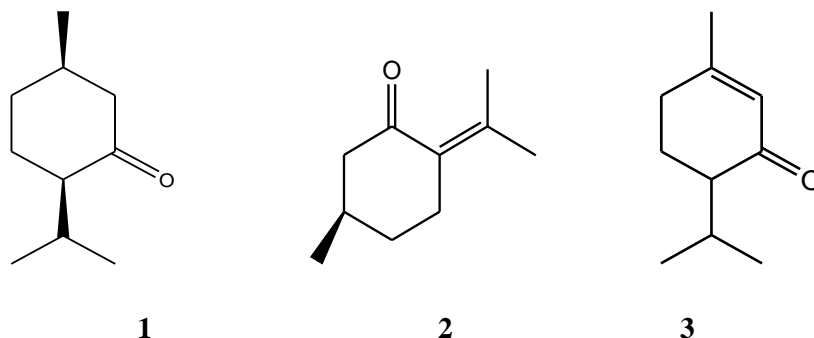
Πίνακας 12 : Πτητικά συστατικά αφεψημάτων μέντας από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

A/A	Kovats index (K.I)	Retention time (min)	Συστατικό	Περιοχή προέλευσης δείγματος			
				ΜΗΦ* (%)	ΜΚΦ* (%)	ΜΠΦ* (%)	ΜΧΦ* (%)
1	988	7.53	3-οκτανόλη	-	0,33	-	0,38
2	1026	8.74	1,8-κινεόλη	<b>13,71</b>	<b>9,81</b>	<b>3,13</b>	<b>7,11</b>
3	1098	10.18	<i>trans</i> -ένυδρο σαμπινένιο	<b>7,29</b>	<b>5,24</b>	<b>2,37</b>	<b>4,66</b>
4	1148	13.71	μενθόνη	-	-	<b>14,90</b>	-
5	1158	13.79	ισομενθόνη	<b>24,40</b>	<b>28,66</b>	-	<b>23,60</b>
6	1167	14.87	μενθόλη	<b>48,52</b>	<b>52,76</b>	<b>66,68</b>	<b>40,37</b>
7	1186	15.39	$\alpha$ -τερπινεόλη	-	1,11	-	-
8	1133	17.26	πουλεγόνη	<b>1,53</b>	-	<b>3,83</b>	<b>9,32</b>
9	1239	17.61	καρβόνη	-	-	-	<b>9,52</b>
10	1249	17.98	πιπεριτόνη	<b>1,42</b>	<b>2,09</b>	<b>3,7</b>	<b>1,31</b>
11	1289	19.48	θυμόλη	<b>1,53</b>	-	0,83	0,69
12	1298	19.84	καρβακρόλη	<b>1,35</b>	-	<b>4,57</b>	<b>2,62</b>
13	1392	23.81	Z-γιασεμόνη	-	-	-	0,41

\*Φ: αφέψημα, ΜΗ: Μέντα Ηλείας, ΜΚ: Μέντα Κοζάνης, ΜΠ: Μέντα Πιερίας ΜΧ:

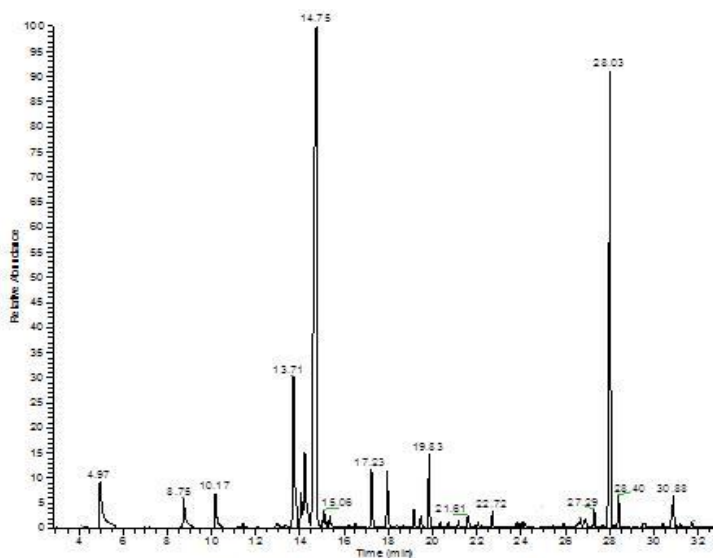
Μέντα Χαλκιδικής

Στο επόμενο αφένημα της μέντας Πιερίας (ΜΠ), η σύσταση του αποτελείται από 8 πτητικά συστατικά. Το κύριο συστατικό είναι επίσης η μενθόλη με ποσοστό 66,68% αυτή τη φορά. Ακολουθεί η ισομενθόνη με σημαντικό ποσοστό 14,90%. Τέλος, εμφανίζονται τα συστατικά καρβακρόλη, πουλεγόνη, πιπεριτόνη, 1,8-κινεόλη και *trans*-ένυδρο σαμπινένιο με τα αντίστοιχα ποσοστά 4,57%, 3,83%, 3,70%, 3,13% και 2,17%.



Σχήμα 27: Δομές των συστατικών (1) ισομενθόνη, (2) πουλεγόνη και (3) πιπεριτόνη.

Το τελευταίο αφένημα της μέντας Χαλκιδικής (ΜΧ), περιέχει 11 πτητικά συστατικά. Το κύριο συστατικό του με ποσοστό 40,37% είναι η μενθόλη για μια ακόμη φορά, ενώ το επόμενο συστατικό σε υψηλό ποσοστό είναι η ισομενθόνη με ποσοστό 23,60%. Αξιόλογα ποσοστά εμφανίζουν η καρβόνη (9,52%), η πουλεγόνη (9,32%), η 1,8-κινεόλη (7,11%) και το *trans*-ένυδρο σαμπινένιο (4,66%). Μικρότερα κατά πολύ ποσοστά εμφανίζουν η καρβακρόλη και η πιπεριτόνη, 2,65% και 1,31% αντίστοιχα.



Σχήμα 28: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος μέντας (Πιερία)

Το πιο πλούσιο αφέψημα είναι της ΜΧ περιέχοντας αποκλειστικά την ουσία καρβόνη. Τα υπόλοιπα τρία αφεψήματα της ΜΗ,ΜΚ και ΜΠ περιέχουν σχεδόν τα ίδια συστατικά με παραπλήσια ποσοστά.

Το κυριότερο συστατικό και στα τέσσερα αφεψήματα μέντας ΜΗ, ΜΚ, ΜΠ και ΜΧ είναι η μενθόλη. Σημαντικό ρόλο στη σύσταση παίζουν επίσης η 1,8-κινεόλη το *trans*-ένυδρο σαμπινένιο και η πιπεριτόνη και στα τέσσερα αφεψήματα μέντας. Ενώ η ισομενθόνη περιέχεται στα αφεψήματα της ΜΗ, ΜΚ και ΜΧ, το αφέψημα μέντας ΜΠ περιέχει την μενθόνη σε αντίστοιχο υψηλό ποσοστό. Τέλος, παρατηρείται ότι στο αφέψημα της ΜΚ δεν περιέχεται καθόλου καρβακρόλη, θυμόλη και πουλεγόνη ενώ στα άλλα δείγματα εμφανίζονται.

### 3.1.5 Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων ρίγανης, *Origanum vulgare*

Στον Πίνακα 13 παρουσιάζονται τα αναγνωρισμένα συστατικά, που ανιχνεύθηκαν στα αιθέρια έλαια ρίγανης, που προέκυψαν από την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS). Στο Σχήμα 29 παρουσιάζονται δομές των κύριων συστατικών των αιθερίων ελαίων ρίγανης και στο Σχήμα 30 παρουσιάζεται αέριο χρωματογράφημα των συστατικών αιθερίου ελαίου ρίγανης (Πιερία).

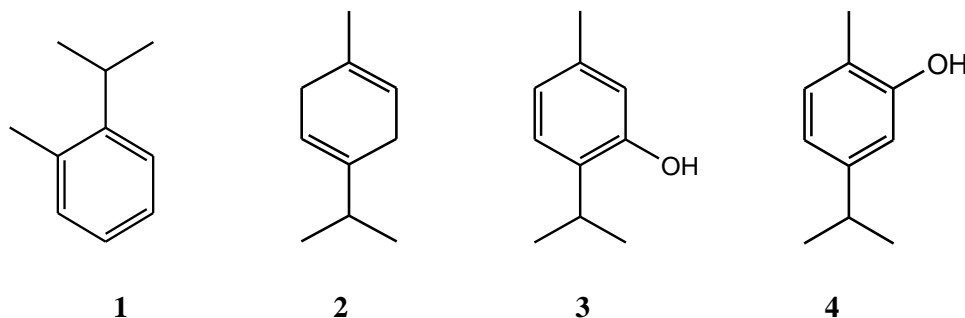
Αρχικά, στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης Αιτωλοακαρνανίας (ΡΑ) περιέχονται 9 συστατικά στο σύνολο. Το κύριο συστατικό με το αισθητά μεγαλύτερο ποσοστό 60,76%, είναι η καρβακρόλη. Σημαντικά είναι τα ποσοστά 18,92% και 8,11% που αντιστοιχούν στις ουσίες *o*-κυμένιο και θυμόλη. Ακολουθούν οι ουσίες, με ικανοποιητικά ποσοστά,  $\gamma$ -τερπινένιο (4,88%), *E*-καρνοφυλλένιο (3,41%) και εποξειδίο του καρνοφυλλενίου (1,77%).

Στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης Ηλείας (ΡΗ), ανιχνεύθηκαν 13 συστατικά. Σε αυτήν την περίπτωση κυριαρχούν δύο συστατικά, η θυμόλη με ποσοστό 27,73% και το  $\gamma$ -τερπινένιο με ποσοστό 25,35%, ενώ στο αρκετό υψηλό ποσοστό του 17,04% βρίσκεται η καρβακρόλη. Ακολουθούν τα παραπλήσια ποσοστά 7,12%, 6,91% και 6,51% που αντιστοιχούν στα συστατικά  $\beta$ -μυρκένιο,  $\alpha$ -πινένιο και  $\alpha$ -τερπινένιο. Σε μικρότερα ποσοστά εμφανίζονται οι ουσίες  $\rho$ -κυμένιο (3,15%), τερπινεν-4-όλη (1,57%), *E*-καρνοφυλλένιο (1,50%) και  $\beta$ -μπισαμπολένιο (1,27%).

Στη συνέχεια, το αιθέριο έλαιο της ρίγανης Κοζάνης (ΡΚ), περιέχει 12 συστατικά στο σύνολο του. Το υψηλότερο ποσοστό 54,58% αντιστοιχεί στην καρβακρόλη που είναι το κύριο συστατικό του ελαίου. Έπονται αυτού υψηλά ποσοστά των ουσιών  $\gamma$ -τερπινένιο (18,53%) και *o*-κυμένιο (12,82%). Τέλος, ικανοποιητικά ποσοστά εμφανίζουν και οι ουσίες  $\beta$ -μυρκένιο (4,56%), *E*-καρνοφυλλένιο (4,07%), τερπινεν-4-όλη (1,69%) και  $\beta$ -μπισαμπολένιο (1,43%).

Στην περίπτωση του αιθέριου ελαίου της ρίγανης Πιερίας (ΡΠ), ανιχνεύθηκαν 11 συστατικά. Το κύριο συστατικό είναι επίσης η καρβακρόλη με το αξιοσημείωτο ποσοστό 71,93%. Στη συνέχεια εμφανίζονται οι ουσίες *o*-κυμένιο, θυμόλη και  $\gamma$ -τερπινένιο με τα ποσοστά 7,82%, 6,49% και 5,14% αντίστοιχα. Οι ουσίες *E*-καρνοφυλλένιο και  $\beta$ -μπισαμπολένιο με ποσοστά 2,55% και 1,87% εμφανίζονται στο τέλος.

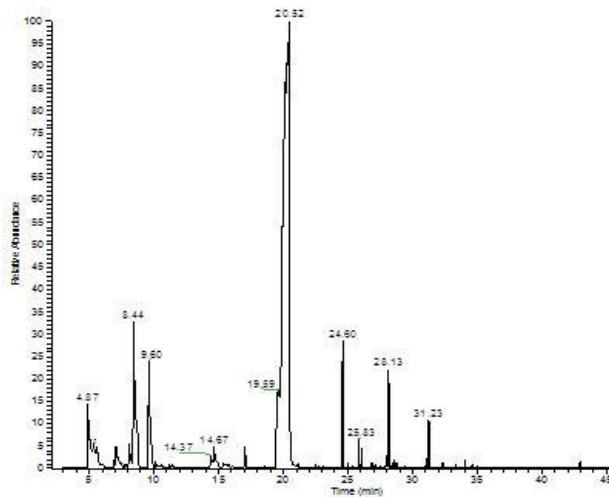
Στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης Χαλκιδικής (ΡΧ), ανιχνεύθηκαν 13 συστατικά. Η καρβακρόλη εξακολουθεί να είναι το κύριο συστατικό με ποσοστό 63,75% και σε αυτήν την περίπτωση. Με υψηλά ποσοστά 14,85% και 7,96% εμφανίζονται οι ουσίες *o*-κυμένιο και  $\gamma$ -τερπινένιο αντίστοιχα. Ακολουθούν οι ουσίες *E*-καρνοφυλλένιο,  $\beta$ -πινένιο,  $\beta$ -μπισαμπολένιο, τερπινεν-4-όλη και  $\alpha$ -πινένιο με ποσοστά 3,38%, 2,40%, 1,82%, 1,64% και 1,21% αντίστοιχα.



Σχήμα 29: Δομές των συστατικών (1) *o*-κυμένιο (2)  $\gamma$ -τερπινένιο, (3) θυμόλη και (4) καρβακρόλη

Μια γενική ματιά στα πέντε παραπάνω αιθέρια έλαια της ρίγανης ΡΑ, ΡΗ, ΡΚ, ΡΠ και ΡΧ εξάγει το συμπέρασμα ότι πιο πλούσια σε συστατικά είναι τα αιθέρια έλαια της ΡΗ και ΡΧ(13), ακολουθεί το αιθέριο έλαιο της ΡΚ (12), το αιθέριο έλαιο της ΡΠ (11) και τελικά βρίσκεται η ΡΚ (9).

## Αποτελέσματα και συζήτηση



Σχήμα 30: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου ρίγανης (Πιερία)

Οι ομοιότητες που παρουσιάζουν τα αιθέρια έλαια της ρίγανης από τις διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας ως προς την σύσταση τους είναι αρχικά η ύπαρξη της καρβακρόλης σε όλα τα δείγματα με υψηλά ποσοστά. Επιπλέον, η ύπαρξη υψηλών ποσοστών της ουσίας γ-τερπινένιο. Το *E*-καρνοφυλλένιο παρατηρείται επίσης σε όλα τα αιθέρια έλαια σε μικρότερα ποσοστά, σε σύγκριση με τις δυο προηγούμενες ουσίες.

Από την άλλη, η θυμόλη παρόλο που εμφανίζεται σε σημαντικά ποσοστά στα αιθέρια έλαια της ρίγανης ΡΑ, ΡΗ και ΡΠ δεν ανιχνεύθηκε στα αιθέρια έλαια της ΡΚ και της ΡΧ. Το *o*-κυμένιο και το *β*-μπισαμπολένιο ενώ βρίσκονται σε υψηλά ποσοστά στα υπόλοιπα αιθέρια έλαια ρίγανης, δεν εμφανίζονται καθόλου στα αιθέρια έλαια της ΡΜ και ΡΑ αντίστοιχα.

Σε έρευνα, στην περιοχή της Ιταλίας, βρέθηκε ότι ο χημειότυπος που κυριαρχεί για το αιθέριο έλαιο της ρίγανης είναι καρβακρόλη/ θυμόλη. Επίσης σημαντικά ποσοστά εμφανίζει και το *E*-καρνοφυλλένιο (Camele et al. 2014).



Πίνακας 13: Συστατικά αιθερίων ελαίων ρίγανης από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

A/A	Kovats index (K.I)	Retention time (min)	Συστατικό	Περιοχή προέλευσης δείγματος				
				ΡΑΑ* (%)	ΡΗΑ* (%)	ΡΚΑ* (%)	ΡΠΑ* (%)	ΡΧΑ* (%)
1	932	5.55	α-πινένιο	-	<b>6,91</b>	-	-	<b>1,21</b>
2	974	7.12	β-πινένιο	-	-	-	-	<b>2,40</b>
3	988	7.13	β-μυρκενίο	-	<b>7,12</b>	<b>4,56</b>	0,86	-
4	1014	8.14	α-τερπινένιο	0,95	<b>6,51</b>	-	-	-
5	1020	8.47	ρ-κυμένιο	-	<b>3,15</b>	-	-	-
6	1022	8.54	ο-κυμένιο	<b>18,92</b>	-	<b>12,82</b>	<b>7,82</b>	<b>14,85</b>
7	1054	9.67	γ-τερπινένιο	<b>4,88</b>	<b>25,35</b>	<b>18,53</b>	<b>5,14</b>	<b>7,96</b>
8	1098	10.16	trans-ένυδρο σαμπινένιο	-	0,98	-	-	0,45
9	1165	14.37	βορνεόλη	0,36	0,71	0,54	0,62	0,55
10	1174	14.68	τερπινεν-4-όλη	0,84	<b>1,57</b>	<b>1,69</b>	0,92	<b>1,64</b>
11	1241	17.06	μεθυλαιθέρας καρβακρόλης	-	-	0,76	-	0,88
12	1289	19.68	θυμόλη	<b>8,11</b>	<b>27,73</b>	-	<b>6,49</b>	-
13	1298	20.44	καρβακρόλη	<b>60,76</b>	<b>17,04</b>	<b>54,58</b>	<b>71,93</b>	<b>63,75</b>
14	1370	22.56	αιθανικός εστέρας καρβακρόλης	-	-	0,21	-	-
15	1417	24.61	E-καρνοφυλλένιο	<b>3,41</b>	<b>1,5</b>	<b>4,07</b>	<b>2,55</b>	<b>3,38</b>
16	1440	25.83	β-φαρνεσένιο	-	-	-	0,48	-
17	1452	26.07	α-χουμουλένιο	-	0,17	0,56	-	0,52
18	1505	28.13	β-μπισαμπολένιο	-	<b>1,27</b>	<b>1,42</b>	<b>1,87</b>	<b>1,82</b>
19	1511	28.57	δ-αμορφένιο	-	-	0,25	-	-
20	1582	31.23	εποξειδίο καρνοφυλλενίου	<b>1,77</b>	-	-	0,95	0,60

\*Α: αιθέριο έλαιο, ΡΑ: Ρίγανη Αιτωλοακαρνανίας, ΡΗ: Ρίγανη Ηλείας, ΡΚ: Ρίγανη Κοζάνης, ΡΠ: Ρίγανη Πιερίας, ΡΧ: Ρίγανη Χαλκιδικής

### 3.1.6 Χημική σύσταση των αφεψημάτων ρίγανης, *Origanum vulgare*

Στον Πίνακα 14, παρουσιάζονται τα αναγνωρισμένα πτητικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στα αφεψήματα ρίγανης από διάφορες περιοχές της Ελλάδας, που προέκυψαν από την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS). Στο Σχήμα 31 παρουσιάζονται δομές κύριων συστατικών των αφεψημάτων ρίγανης ενώ στο Σχήμα 32 παρουσιάζεται αέριο χρωματογράφημα των πτητικών συστατικών αφεψήματος ρίγανης (Χαλκιδική).

Πίνακας 14: Πτητικά συστατικά αφεψημάτων ρίγανης από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

A/A	Kovats index (K.I)	Retention time (min)	Συστατικό	Περιοχή προέλευσης δείγματος				
				ΡΑΦ* (%)	ΡΗΦ* (%)	ΡΚΦ* (%)	ΡΠΦ* (%)	ΡΧΦ* (%)
1	974	6.96	<i>l</i> -οκτεν-3-όλη	<b>1,89</b>	<b>1,69</b>	-	-	<b>1,76</b>
2	1020	8.43	<i>ρ</i> -κυμένιο	-	-	-	0,83	-
3	1022	8.46	<i>ο</i> -κυμένιο	<b>3,57</b>	<b>2,69</b>	-	-	<b>3,06</b>
4	1065	10.13	<i>cis</i> -ένυδρο σαμπινένιο	-	<b>1,82</b>	-	<b>1,17</b>	-
5	1098	10.15	<i>trans</i> -ένυδρο σαμπινένιο	0,93	-	<b>1,24</b>	-	<b>1,96</b>
6	1165	14.38	βορνεόλη	0,28	0,20	0,57	0,38	0,47
7	1174	14.67	τερπινεν-4-όλη	0,69	0,21	0,25	0,18	-
8	1186	16.75	<i>α</i> -τερπινεόλη	-	0,24	-	-	-
9	1248	18.81	θυμοκινόνη	<b>2,83</b>	-	<b>1,53</b>	<b>2,13</b>	<b>3,59</b>
10	1289	19.70	θυμόλη	<b>9,40</b>	<b>21,94</b>	0,53	<b>15,62</b>	<b>2,01</b>
11	1298	20.90	καρβακρόλη	<b>79,19</b>	<b>69,99</b>	<b>95,49</b>	<b>79,68</b>	<b>86,73</b>
12	1553	30.52	θυμοκινόλη	<b>1,22</b>	<b>1,24</b>	0,39	-	0,42

\*Φ: αφέψημα, ΡΑ: Ρίγανη Αιτωλοακαρνανίας, ΡΗ: Ρίγανη Ηλείας, ΡΚ: Ρίγανη Κοζάνης, ΡΠ: Ρίγανη Πιερίας, ΡΧ: Ρίγανη Χαλκιδικής

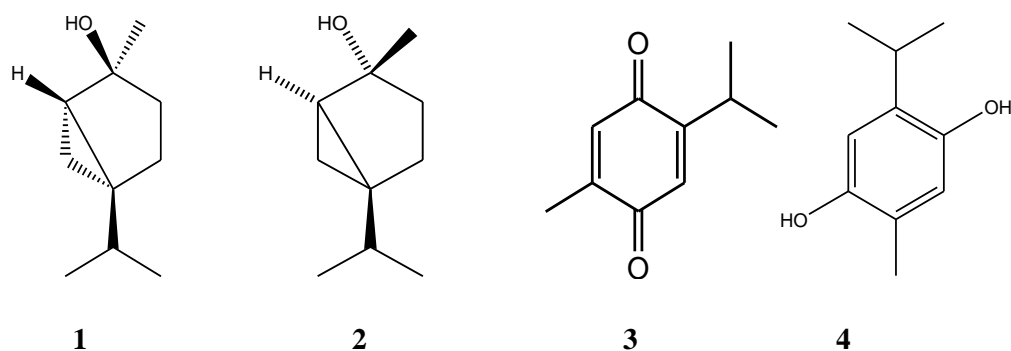
Το αφέψημα της ρίγανης Αιτωλοακαρνανίας (ΡΑ), αποτελείται από 9 πτητικά συστατικά. Το κύριο συστατικό είναι η καρβακρόλη με το υψηλότερο ποσοστό 79,19%. Σημαντικό είναι και το ποσοστό 9,40% που αντιστοιχεί στην θυμόλη. Ακολουθούν με ικανοποιητικά ποσοστά οι ουσίες *ο*-κυμένιο (3,57%), θυμοκινόνη (2,83%), *l*-οκτεν-3-όλη (1,89%) και θυμοκινόλη (1,22%).

Στο αφέψημα της ρίγανης Ηλείας (ΡΗ), ανιχνεύθηκαν 9 επίσης πτητικά συστατικά. Η καρβακρόλη είναι το κύριο συστατικό με ποσοστό 69,99%, ενώ η θυμόλη εμφανίζεται με το εξίσου υψηλό ποσοστό του 21,94%. Ακολουθούν τα συστατικά *ο*-κυμένιο, *cis*-ένυδρο σαμπινένιο, *l*-οκτεν-3-όλη και θυμοκινόλη με ποσοστά 2,69%, 1,82%, 1,69% και 1,24% αντίστοιχα.

Στο αφέψημα της ρίγανης Κοζάνης (PK), ανιχνεύθηκαν 8 πτητικά συστατικά. Το κύριο συστατικό καρβακρόλη αποτελεί το 95,49% του συνόλου. Έπονται αυτού με πολύ μικρότερα ποσοστά η θυμοκινόνη (1,53%) και το *trans*-ένυδρο σαμπινένιο (1,24%).

Στο αφέψημα της ρίγανης Πιερίας (PI), βρέθηκαν 7 πτητικά συστατικά στο σύνολο. Και σε αυτήν την περίπτωση η καρβακρόλη είναι η κύρια ουσία με ποσοστό 79,68%. Στη συνέχεια εμφανίζεται η θυμόλη με σημαντικό ποσοστό 15,62% και ακολουθούν η θυμοκινόνη (2,13%) και το *cis*-ένυδρο σαμπινένιο (1,17%).

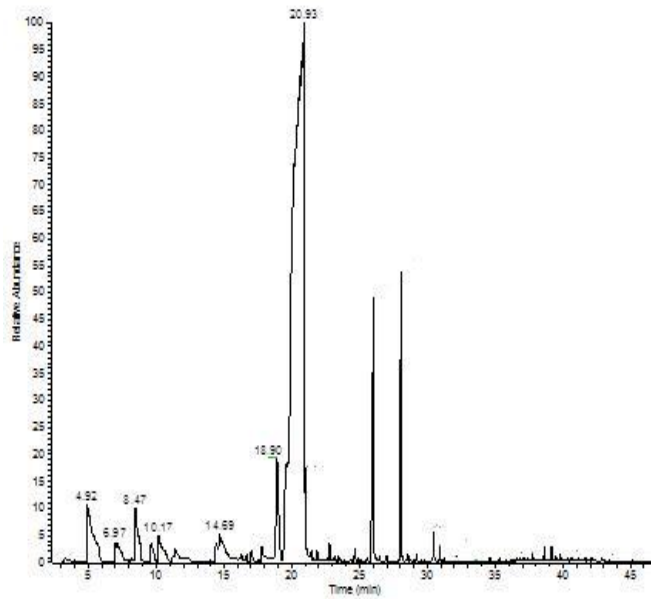
Τέλος, στο αφέψημα της ρίγανης Χαλκιδικής (PX), ανιχνεύθηκαν 8 πτητικά συστατικά. Η καρβακρόλη ανιχνεύθηκε επίσης ως κύριο συστατικό με ποσοστό 86,73%. Ακολουθεί η θυμοκινόνη, το *o*-κυμένιο, η θυμόλη, το *trans*-ένυδρο σαμπινένιο και η *l*-οκτεν-3-όλη με ποσοστά 3,59%, 3,06%, 2,01%, 1,96% και 1,76% αντίστοιχα.



Σχήμα 31: Δομές των συστατικών (1) *cis*-ένυδρο σαμπινένιο (2) *trans*-ένυδρο σαμπινένιο, (3) θυμοκινόνη και (4) θυμοκινόλη

Σύμφωνα με τα ποσοστά του πίνακα 14 τα αφεψήματα της ρίγανης από τις διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας που αναλύθηκαν έχουν χημειότυπο καρβακρόλης. Τα αφεψήματα της ρίγανης με βάση το ποσοστό της καρβακρόλης ακολουθούν την σειρά PK > PX > PI > PA > PH, δηλαδή στην Βόρεια Ελλάδα εμφανίζονται μεγαλύτερα ποσοστά καρβακρόλης.

## Αποτελέσματα και συζήτηση



Σχήμα 32: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος ρίγανης (Χαλκιδική)

Η θυμόλη από την άλλη ενώ εμφανίζεται σε όλα τα αφεψήματα της ρίγανης, τα ποσοστά στα αφεψήματα της ΡΚ και ΡΧ είναι αρκετά μικρότερα των υπολοίπων. Διαφοροποίηση των αφεψημάτων παρατηρείται έντονα με την παρουσία αποκλειστικά του *cis*-ένυδρου σαμπινενίου στα αφεψήματα της ΡΗ και ΡΠ και την παρουσία αποκλειστικά του *trans*-ένυδρου σαμπινενίου στα αφεψήματα της ΡΑ, ΡΚ και ΡΧ. Η 1-οκτεν-3-όλη και το ο-κυμένιο απουσιάζουν από τα αφεψήματα της ΡΚ και ΡΠ, ενώ εμφανίζονται στα υπόλοιπα με ικανοποιητικά ποσοστά. Τέλος, βασική διαφορά του αφεψήματος της ΡΗ είναι η απουσία της θυμοκινόνης.

Σε έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σε υδατικά εκχυλίσματα ρίγανης το κύριο συστατικό που επικρατεί είναι επίσης η καρβακρόλη (Reza et al. 2013).

### 3.1.7 Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων φασκόμηλου, *Salvia officinalis*

Στον Πίνακα 15 παρουσιάζονται τα αναγνωρισμένα συστατικά, που ανιχνεύθηκαν στα αιθέρια έλαια φύλλων φασκόμηλου, που προέκυψαν από την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS). Στο Σχήμα 33 παρουσιάζονται δομές κύριων συστατικών των αιθερίων ελαίων φασκόμηλου και στο Σχήμα 34 παρουσιάζεται αέριο χρωματογράφημα των συστατικών αιθερίου ελαίου φασκόμηλου (Αμφιλοχία).

Το αιθέριο έλαιο του φασκόμηλου Αγρινίου (ΦΑΓ<sub>1</sub>, περιοχή Σκουτέρα), περιέχει 12 συστατικά στο σύνολο του. Κυριαρχούν δύο συστατικά η καμφορά με ποσοστό 30,88% και η  $\alpha$ -θουγιόνη με ποσοστό 23,57%. Εξίσου υψηλά ποσοστά εμφανίζουν οι ουσίες 1,8-κινεόλη (19,24%) και  $\beta$ -θουγιόνη (11,23%). Ακολουθούν με σημαντικά ποσοστά οι ενώσεις η βορνεόλη, η βιριδιφλορόλη, η καρβακρόλη και ο αιθανικός εστέρας βορνυλίου με ποσοστά 4,85%, 4,38%, 2,51% και 1,36% αντίστοιχα.

Το επόμενο αιθέριο έλαιο του φασκόμηλου Αγρινίου (ΦΑΓ<sub>2</sub>, περιοχή Γιαννούζι), περιέχει 15 συστατικά. Το κύριο συστατικό είναι η  $\alpha$ -θουγιόνη με ποσοστό 27,62%. Η 1,8-κινεόλη και  $\beta$ -θουγιόνη ακολουθούν με αξιόλογα ποσοστά 14,69% και 11,55% αντίστοιχα. Επίσης σημαντικά είναι τα ποσοστά των ουσιών καμφένιο (9,29%), βιριδιφλορόλη (8,55%),  $\alpha$ -πινένιο (6,92%), μανούλη (5,59%), καρβακρόλη (5,16%) και βορνεόλη (3,89%). Τέλος, εμφανίζονται η γερμακτρα-4(15),5,10(14)-τριε-1- $\alpha$ -όλη, η καμφορά και η θυμόλη με ποσοστά 2,05%, 1,74% και 1,42% αντίστοιχα.

Στο αιθέριο έλαιο του φασκόμηλου Αγρινίου (ΦΑΓ<sub>3</sub>, περιοχή Αγ. Παρασκευής), ανιχνεύθηκαν 18 συστατικά. Το κύριο συστατικό είναι η  $\alpha$ -θουγιόνη με ποσοστό 23,30%, ενώ ακολουθούν με υψηλά παραπλήσια ποσοστά η καμφορά με ποσοστό 15,01% και η 1,8-κινεόλη με ποσοστό 13,74%. Στη συνέχεια, εμφανίζονται οι ενώσεις καμφένιο,  $\beta$ -θουγιόνη,  $\alpha$ -πινένιο και βιριδιφλορόλη με σημαντικά ποσοστά 9,20%, 8,30%, 6,54% και 6,44% αντίστοιχα. Τέλος με μικρότερα ποσοστά εμφανίζονται οι ουσίες καρβακρόλη (4,69%), βορνεόλη (3,97%), μανούλη (3,27%) και αιθανικός εστέρας βορνυλίου (1,44%).

Στο τέταρτο αιθέριο έλαιο φασκόμηλου Αγρινίου (ΦΑΓ<sub>4</sub>), ανιχνεύθηκαν στο σύνολο 16 συστατικά. Σε αυτήν την περίπτωση κυριαρχούν δυο συστατικά η  $\alpha$ -θουγιόνη με ποσοστό 24,38% και η καμφορά με ποσοστό 22,17%. Σε αρκετά υψηλά ποσοστά εμφανίζονται οι ουσίες 1,8-κινεόλη (14,85%), καμφένιο (13,13%) και  $\beta$ -θουγιόνη (12,70%). Ακολουθούν το  $\alpha$ -πινένιο με σημαντικό ποσοστό 6,20% και με μικρότερα ποσοστά 1,89% και 1,25% οι ουσίες αιθανικός εστέρας βορνυλίου και βιριδιφλορόλη αντίστοιχα.

Στο αιθέριο έλαιο του φασκόμηλου Αμφιλοχίας (ΦΑΜ), τα συνολικά συστατικά είναι 17. Επίσης κυριαρχούν δυο συστατικά η  $\alpha$ -θουγιόνη με ποσοστό 21,06% και η καμφορά με

## Αποτελέσματα και συζήτηση

ποσοστό 18,34%. Με περίπου ίδια υψηλά ποσοστά ακολουθούν η  $\beta$ -θουγιόνη (10,89%) και η 1,8-κινεόλη (10,39%). Σημαντικά είναι επίσης τα ποσοστά 8,49%, 7,77%, 6,36% και 4,17% που αντιστοιχούν στις ουσίες καμφένιο,  $\alpha$ -πινένιο, βιριδιφλορόλη και καρβακρόλη. Τέλος, με μικρότερα ποσοστά εμφανίζονται οι ενώσεις μανοόλη (2,51%), βορνεόλη (2,23%), γερμακτρα-4(15),5,10(14)-τριε-1- $\alpha$ -όλη (2,20%), αιθανικός εστέρας βορνυλίου (1,65%) και  $\alpha$ -χουμουλένιο (1,48%).

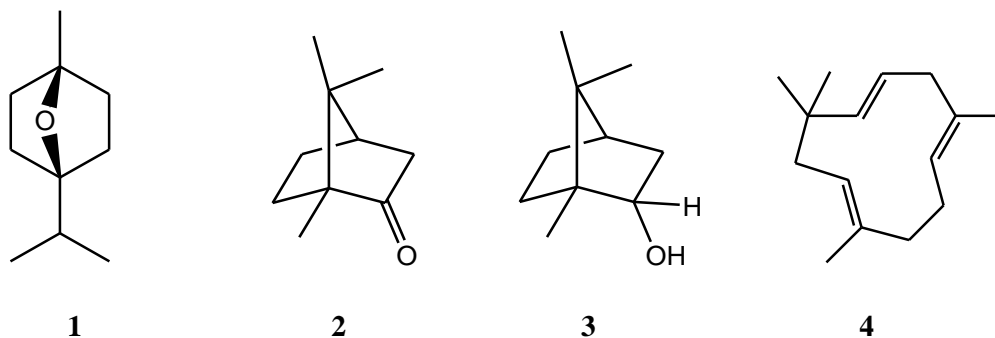
Το αιθέριο έλαιο του φασκόμηλου Ηλείας (ΦΗ), το οποίο είναι διαφορετικό είδος *S.triloba* από τα υπόλοιπα περιέχει 18 συστατικά στο σύνολο του. Το κύριο συστατικό σε αυτήν την περίπτωση είναι η 1,8-κινεόλη με ποσοστό 26,25%, ενώ στα αρκετά υψηλά ποσοστά των 17,78%, 15,38% και 11,29% βρίσκονται το  $\beta$ -μυρκένιο, η καμφορά και το καμφένιο αντίστοιχα. Ακολουθούν με σημαντικά ποσοστά τα συστατικά  $\alpha$ -πινένιο (6,79%), *E*-καρνοφυλλένιο (4,73%),  $\alpha$ -τερπινεόλη (3,84%) και βορνεόλη (3,23%). Τέλος, με μικρότερα ποσοστά εμφανίζονται οι ουσίες  $\beta$ -θουγιόνη (2,35%),  $\alpha$ -θουγιόνη (2,20%),  $\alpha$ -χουμουλένιο (1,71%) και ο αιθανικός εστέρας βορνυλίου (1,25%).

Στο αιθέριο έλαιο του φασκόμηλου Κοζάνης (ΦΚ), εντοπίστηκαν 18 συστατικά. Τα κύρια συστατικά είναι δυο, η  $\alpha$ -θουγιόνη και η 1,8-κινεόλη με ποσοστά 21,52% και 18,17% αντίστοιχα. Αξιόλογα ποσοστά εμφανίζουν η καμφορά (15,27%), η  $\beta$ -θουγιόνη (9,40%) και το καμφένιο (7,91%). Ακολουθούν με σημαντικά ποσοστά οι ουσίες βορνεόλη (4,59%)  $\alpha$ -χουμουλένιο (4,73%), βιριδιφλορόλη (4,13%),  $\alpha$ -πινένιο και *E*-καρνοφυλλένιο (3,80%). Έπειτα εμφανίζονται τα συστατικά αιθανικός εστέρας βορνυλίου, *Z*-σαλβένιο και μανοόλη με ποσοστά 2,69%, 1,21% και 1,06% αντίστοιχα.

Το αιθέριο έλαιο του φασκόμηλου Πιερίας (ΦΠ), αποτελείται επίσης από 18 συστατικά. Το κύριο συστατικό είναι η 1,8-κινεόλη με ποσοστό 28,18%, ενώ σε υψηλά ποσοστά 15,80%, 14,39% και 11,14%, εμφανίζονται η καμφορά, η  $\beta$ -θουγιόνη και το  $\beta$ -πινένιο. Στη συνέχεια, ανιχνεύθηκαν οι ουσίες καμφένιο, αιθανικός εστέρας  $\alpha$ -τερπινυλίου,  $\alpha$ -τερπινεόλη,  $\alpha$ -πινένιο, *E*-καρνοφυλλένιο και  $\gamma$ -τερπινένιο με ικανοποιητικά ποσοστά 6,15%, 6,01%, 3,60%, 3,49%, 2,40% και 2,33% αντίστοιχα. Τέλος, ακολουθούν τα μικρότερα ποσοστά των ουσιών ισοβορνεόλη (1,88%),  $\alpha$ -τερπινεν-4-όλη (1,67%) και αιθανικός εστέρας βορνυλίου (1,35%).

Στο αιθέριο έλαιο του φασκόμηλου Χαλκιδικής (ΦΧ), ταυτοποιήθηκαν 17 συστατικά. Στην συγκεκριμένη περίπτωση τα κύρια συστατικά είναι τέσσερα, η 1,8-κινεόλη με ποσοστό 15,67%, το  $\alpha$ -χουμουλένιο με ποσοστό 15,18%, η  $\alpha$ -θουγιόνη με ποσοστό 15,15% και το *E*-καρνοφυλλένιο με ποσοστό 13,65%. Ακολουθούν σημαντικά ποσοστά των ουσιών βιριδιφλορόλη (9,55%), βιριδιφλορένιο (6,14%) και  $\beta$ -θουγιόνη (5,26%). Τέλος, εμφανίζονται οι ουσίες βορνεόλη,  $\alpha$ -πινένιο, καμφορά, καρβακρόλη, μανοόλη, και πουλεγόνη με ποσοστά 3,81%, 3,40%, 3,14%, 2,63%, 1,50% και 1,09% αντίστοιχα.

Συνολικά τα εννέα αιθέρια έλαια του φασκόμηλου από τις διάφορες περιοχές δεν έχουν έντονες διαφορές, με εξαίρεση το αιθέριο έλαιο του ΦΗ, *Salvia triloba*, που είναι διαφορετικό είδος από τα υπόλοιπα οπότε το προφίλ της σύστασης του διαφέρει σημαντικά.



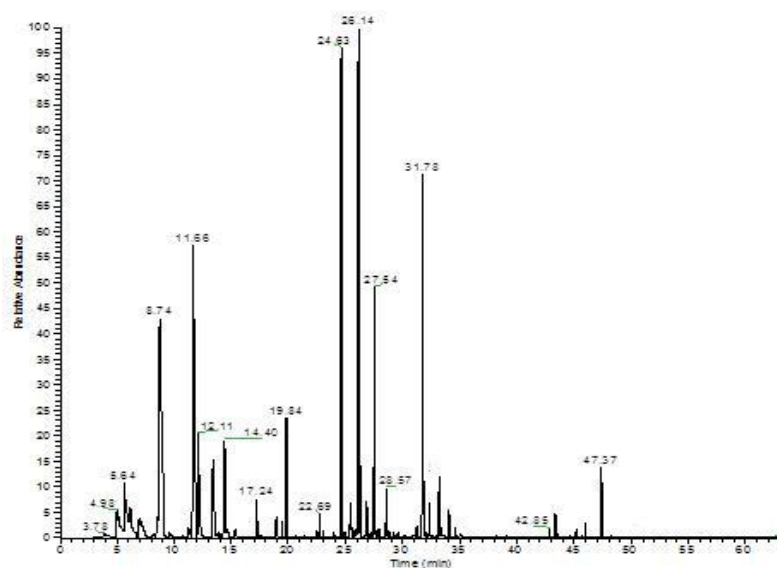
Σχήμα 33: Δομές των συστατικών (1) 1,8-κινεόλη, (2) καμφορά, (3) βορνεόλης και (4)  $\alpha$ -χουμουλένιο

Τα κοινά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στα αιθέρια έλαια και των εννέα δειγμάτων φασκόμηλου, είναι: η 1,8-κινεόλη, η  $\alpha$ - και η  $\beta$ -θουγιόνη, η καμφορά, η βορνεόλη, η καρβακρόλη και το  $\alpha$ -χουμουλένιο. Η 1,8-κινεόλη στα αιθέρια έλαια του ΦΗ και ΦΠ αποτελεί το κύριο συστατικό, στα αιθέρια έλαια του ΦΚ και ΦΧ ανήκει στα κύρια συστατικά ενώ στα αιθέρια έλαια του ΦΑΓ<sub>1</sub>, ΦΑΓ<sub>2</sub>, ΦΑΓ<sub>3</sub>, ΦΑΓ<sub>4</sub> και ΦΑΜ εμφανίζεται σε σημαντικά ποσοστά. Η  $\alpha$ -θουγιόνη αποτελεί κύριο συστατικό, στα αιθέρια έλαια του ΦΑΓ<sub>2</sub> και ΦΑΓ<sub>3</sub>, στα αιθέρια έλαια του ΦΑΓ<sub>1</sub>, ΦΑΓ<sub>4</sub> και ΦΑΜ μαζί με την καμφορά, στο αιθέριο έλαιο του ΦΚ μαζί με την κινεόλη και στο ΦΧ μαζί με άλλα τρία συστατικά, ενώ στα αιθέρια έλαια του ΦΠ και ΦΗ υπάρχει σε αρκετά μικρά ποσοστά. Η  $\beta$ -θουγιόνη εμφανίζεται σε σχετικά σταθερά ποσοστά στα δείγματα. Επιπλέον, η καμφορά εκτός από τα δείγματα που είναι κύριο συστατικό, βρίσκεται σε σημαντικά ποσοστά στα αιθέρια έλαια του ΦΓ<sub>3</sub>, ΦΗ, ΦΚ, ΦΠ, ενώ στα δείγματα του ΦΓ<sub>2</sub> και ΦΧ ανιχνεύεται σε πολύ μικρές ποσότητες. Η βορνεόλη, η καρβακρόλη και το  $\alpha$ -χουμουλένιο εμφανίζονται με ικανοποιητικά ποσοστά στο σύνολό τους.

## Αποτελέσματα και συζήτηση

Σημαντική είναι επίσης η απουσία του  $\alpha$ -πινενίου, του καμφενίου και του  $E$ -καρνοφυλλενίου από το αιθέριο έλαιο του ΦΑΓ<sub>1</sub>. Στο αιθέριο έλαιο του ΦΧ δεν εμφανίζονται το καμφένιο, ενώ στο αιθέριο έλαιο του ΦΠ δεν εμφανίζεται η βιριδιφλορόλη, η μαννόλη και η βορνεόλη, στην θέση της οποίας εμφανίζεται η ισοβορνεόλη.

Σύμφωνα με τον Pierozan (2009) στο αιθέριο έλαιο του φασκόμηλο, η κύρια ουσία είναι η  $\alpha$ -θουγιόνη, ακολουθεί η καμφορά, η 1,8-κινεόλη και η  $\beta$ -θουγιόνη. Τα προηγούμενα επιβεβαιώνει έρευνα του Badiee (2012) ο οποίος προσθέτει ως κύρια συστατικά, τη βορνεόλη, το  $\alpha$ -χουμουλένιο και το  $E$ -καρνοφυλλένιο.



Σχήμα 34: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου φασκόμηλου (Χαλκιδική)



Πίνακας 15: Συστατικά αιθερίων ελαίων ρίγανης από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

A/A	Kovats index (K.I)	Retention time (min)	Συστατικό	Περιοχή προέλευσης δείγματος									
				ΦΑΓ <sub>1</sub> A*α (%)	ΦΑΓ <sub>2</sub> A*α (%)	ΦΑΓ <sub>3</sub> A*α (%)	ΦΑΓ <sub>4</sub> A* (%)	ΦΑΜΑ* (%)	ΦΗΑ* tr (%)	ΦΚΑ* (%)	ΦΠΑ* (%)	ΦΧΑ* (%)	
1	847	3.69	Z-σαλβένιο	-	-	-	0,44	0,46	-	<b>1,21</b>	-	0,56	
2	932	5.60	α-πινένιο	-	<b>6,92</b>	<b>6,54</b>	<b>6,20</b>	<b>7,77</b>	<b>6,79</b>	<b>3,80</b>	<b>3,49</b>	<b>3,40</b>	
3	946	6.09	καμφένιο	-	<b>9,29</b>	<b>9,20</b>	<b>13,13</b>	<b>8,49</b>	<b>11,29</b>	<b>7,91</b>	<b>6,15</b>	-	
4	974	7.12	β-πινένιο	-	-	-	-	-	-	-	<b>11,14</b>	-	
5	988	7.14	β-μυρκένιο	-	-	-	-	-	<b>17,78</b>	-	-	-	
6	1026	8.77	1,8-κινεόλη	<b>19,24</b>	<b>14,69</b>	<b>13,74</b>	<b>14,85</b>	<b>10,39</b>	<b>26,25</b>	<b>18,17</b>	<b>28,18</b>	<b>15,67</b>	
7	1054	9.61	γ-τερπινένιο	-	-	-	-	-	-	0,28	<b>2,33</b>	-	
8	1101	11.88	α-θουγιόνη	<b>23,57</b>	<b>27,62</b>	<b>23,30</b>	<b>24,38</b>	<b>21,06</b>	<b>2,20</b>	<b>21,52</b>	0,52	<b>15,15</b>	
9	1112	12.26	β-θουγιόνη	<b>11,23</b>	<b>11,55</b>	<b>8,30</b>	<b>12,70</b>	<b>10,89</b>	<b>2,35</b>	<b>9,40</b>	<b>14,39</b>	<b>5,26</b>	
10	1141	13.66	καμπορά	<b>30,88</b>	<b>1,74</b>	<b>15,01</b>	<b>22,17</b>	<b>18,34</b>	<b>15,38</b>	<b>15,27</b>	<b>15,80</b>	<b>3,14</b>	
11	1155	14.43	ισοβορνεόλη	-	-	-	-	-	-	-	<b>1,88</b>	-	
12	1165	14.51	βορνεόλη	<b>4,85</b>	<b>3,89</b>	<b>3,97</b>	0,54	<b>2,23</b>	<b>3,23</b>	<b>4,59</b>	-	<b>3,81</b>	
13	1174	14.79	τερπινεν-4-όλη	-	-	0,84	0,50	-	-	0,52	<b>1,67</b>	-	
14	1186	15.47	α-τερπινεόλη	-	-	0,79	-	0,43	<b>3,84</b>	-	<b>3,60</b>	-	
15	1215	16.49	καρβεόλη	-	-	0,20	-	-	-	-	-	-	
16	1233	17.24	πουλεγόνη	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>1,09</b>	
17	1287	19.01	αιθανικός εστέρας βορνυλίου	<b>1,36</b>	-	<b>1,44</b>	<b>1,89</b>	<b>1,65</b>	<b>1,25</b>	<b>2,69</b>	<b>1,35</b>	-	
18	1289	19.16	αιθανικός εστέρας σαμπινυλίου	-	-	-	-	-	-	-	0,42	-	
19	1289	19.55	θυμόλη	0,61	<b>1,42</b>	<b>1,25</b>	-	-	0,73	0,19	-	-	

Αποτελέσματα και συζήτηση

20	1298	19.93	καρβακρόλη	<b>2,51</b>	<b>5,16</b>	<b>4,69</b>	0,14	<b>4,17</b>	0,47	0,33	0,14	<b>2,63</b>
21	1309	20.47	βινυλογουαϊακόλη	0,28	-	-	-	-	-	-	-	-
22	1346	21.66	αιθανικός εστέρας α- τερπινυλίου	-	-	-	-	-	0,61	-	<b>6,01</b>	-
23	1374	22.71	α-κοπαένιο	-	-	-	-	-	-	-	-	0,54
24	1417	24.59	E-καρνοφυλλένιο	-	0,32	0,18	0,29	0,72	<b>4,73</b>	<b>3,80</b>	<b>2,40</b>	<b>13,65</b>
25	1452	26.10	α-χουμουλένιο	0,41	0,67	0,70	0,28	<b>1,48</b>	<b>1,71</b>	<b>4,73</b>	0,35	<b>15,18</b>
26	1496	27.51	βιριδιφλορένιο	-	-	-	-	0,86	0,32	0,42	0,16	<b>6,41</b>
27	1522	28.56	δ-καδινένιο	-	-	-	-	-	-	-	-	0,95
28	1582	31.23	εποξειδίο καρνοφυλλενίου	-	0,27	0,14	0,23	-	-	-	-	-
29	1592	31.78	βιριδιφλορόλη	<b>4,38</b>	<b>8,55</b>	<b>6,44</b>	<b>1,25</b>	<b>6,36</b>	0,91	<b>4,13</b>	-	<b>9,55</b>
30	1685	33.28	γερμακρα- 4(15),5,10(14)-τριε- 1-α -όλη	-	<b>2,05</b>	-	-	<b>2,20</b>	-	-	-	-
32	1974	42.85	σκλαρένιο	-	-	-	-	-	-	-	-	0,19
33	2056	47.37	μανοόλη	0,95	<b>5,59</b>	<b>3,27</b>	0,68	<b>2,51</b>	0,18	<b>1,06</b>	-	<b>1,50</b>

\*Α: αιθέριο έλαιο, α: αιθερικό εκχύλισμα αιθερίου ελαίου, *tr*: *triloba*, ΦΑΓ: Φασκόμηλο Αγρινίου, ΦΑΜ: Φασκόμηλο Αμφιλοχίας, ΦΗ: Φασκόμηλο Ηλείας, ΦΚ: Φασκόμηλο Κοζάνης, ΦΠ: Φασκόμηλο Πιερίας, ΦΧ: Φασκόμηλο Χαλκιδικής

### 3.1.8. Χημική σύσταση των αφεψημάτων φασκόμηλου, *Salvia officinalis*

Στον Πίνακα 16, παρουσιάζονται τα αναγνωρισμένα πτητικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν στα αφεψήματα φασκόμηλου από διάφορες περιοχές της Ελλάδας, που προέκυψαν από την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS). Στο Σχήμα 35 παρουσιάζονται δομές κύριων συστατικών των αφεψημάτων φασκόμηλου ενώ στο Σχήμα 36 παρουσιάζεται αέριο χρωματογράφημα των πτητικών συστατικών αφεψήματος φασκόμηλου (Αγρίνιο, περιοχή Γιαννούζι).

Πίνακας 16: Πτητικά συστατικά αφεψημάτων φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

A/A	Κovats index (K.I)	Retention time (min)	Συστατικό	Περιοχή προέλευσης δείγματος						
				ΦΑΓ <sub>2</sub> Φ*	ΦΑΓ <sub>3</sub> Φ*	ΦΑΓΦ*	ΦΗΦ*tr	ΦΚΦ*	ΦΠΦ*	ΦΧΦ*
				(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
1	946	6.10	καμφένιο	-	0,47	0,79	-	-	-	-
2	1026	8.75	1,8-κινεόλη	<b>13,25</b>	<b>18,86</b>	<b>10,85</b>	<b>44,89</b>	<b>21,94</b>	<b>39,47</b>	<b>23,89</b>
3	1065	10.15	cis-ένυδρο σαμπινένιο	-	-	-	-	-	<b>1,66</b>	-
4	1101	11.72	α-θουγιόνη	<b>35,32</b>	<b>31,42</b>	<b>24,34</b>	<b>1,83</b>	<b>29,58</b>	0,86	<b>22,78</b>
5	1112	12.60	β-θουγιόνη	<b>9,27</b>	<b>8,59</b>	<b>14,56</b>	<b>1,58</b>	<b>13,68</b>	<b>16,45</b>	<b>6,49</b>
6	1141	13.50	καμφορά	<b>31,90</b>	<b>29,17</b>	<b>44,60</b>	<b>29,60</b>	<b>26,59</b>	<b>29,91</b>	<b>7,59</b>
7	1165	14.41	βορνεόλη	<b>2,65</b>	<b>3,94</b>	<b>4,13</b>	<b>3,16</b>	<b>4,95</b>	<b>1,66</b>	<b>13,92</b>
8	1186	15.41	α-τερπινεόλη	-	-	-	<b>9,24</b>	-	<b>6,37</b>	-
9	1287	18.96	αιθανικός εστέρας βορνυλίου	-	-	-	-	-	-	0,74
10	1289	19.49	θυμόλη	<b>1,10</b>	<b>1,21</b>	-	<b>1,54</b>	-	-	-
11	1298	19.84	καρβακρόλη	<b>4,97</b>	<b>5,83</b>	0,56	<b>1,24</b>	0,35	0,46	<b>7,44</b>
12	1391	20.35	4a-α, 7-β, 7a-α-νεπεταλακτόνη	-	-	-	0,98	-	-	-
13	1346	21.61	αιθανικός εστέρας τερπινυλίου	-	-	-	-	-	<b>2,06</b>	-
14	1592	31.69	βιριδοφλορόλη	-	-	-	-	0,61	-	<b>3,64</b>
15	2056	47.33	μανοόλη	<b>1,55</b>	0,51	-	0,79	-	-	<b>2,22</b>
16	2629	57.42	σουγιόλη	-	-	-	<b>5,13</b>	<b>1,56</b>	<b>1,13</b>	<b>12,03</b>

\*Φ: αφέψημα, tr: *triloba*, ΦΑΓ: Φασκόμηλο Αγρινίου, ΦΗ: Φασκόμηλο Ηλείας, ΦΚ:

Φασκόμηλο Κοζάνης, ΦΠ: Φασκόμηλο Πιερίας, ΦΧ: Φασκόμηλο Χαλκιδικής

Το αφέψημα του φασκόμηλου Αγρινίου, ( ΦΑΓ<sub>2</sub>, περιοχή Γιαννούζι), περιέχει 8 πτητικά συστατικά στο σύνολο. Δυο είναι τα κύρια συστατικά του, η α-θουγιόνη με ποσοστό 35,32% και η καμφορά 31,90%. Υψηλά ποσοστά εμφανίζουν και οι ουσίες 1,8-κινεόλη (13,25%), β-θουγιόνη (9,27%) και καρβακρόλη (4,97%). Τέλος, χαμηλότερα ποσοστά εμφανίζουν οι ουσίες, βορνεόλη (2,65%), μανοόλη (1,55%) και θυμόλη (1,10%).

## Αποτελέσματα και συζήτηση

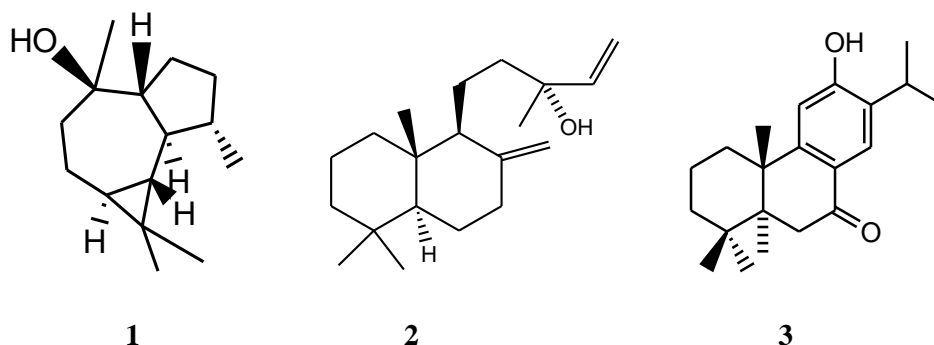
Στο αφέψημα του φασκόμηλου Αγρινίου, (ΦΑΓ<sub>3</sub>, περιοχή Αγ. Παρασκευής), ανιχνεύθηκαν 9 πτητικά συστατικά. Στην περίπτωση αυτή τα κύρια συστατικά είναι επίσης δυο, η  $\alpha$ -θουγιόνη και η καμφορά με 31,42% και 29,17% αντίστοιχα, ενώ υψηλό ποσοστό 18,86% εμφανίζει και η 1,8-κινεόλη. Ακολουθούν οι ουσίες  $\beta$ -θουγιόνη (8,59%), καρβακρόλη (5,83%), βορνεόλη (3,94%) και η θυμόλη (1,21%).

Στο επόμενο αφέψημα του φασκόμηλου Αγρινίου, (ΦΑΓ<sub>4</sub>), βρέθηκαν 7 πτητικά συστατικά. Το κύριο συστατικό είναι η καμφορά με το υψηλό ποσοστό 44,60%. Ακολουθούν τα συστατικά  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη με 24,34% και 14,56% αντίστοιχα. Στη συνέχεια με σημαντικά ποσοστά εμφανίζονται η 1,8-κινεόλη (10,85%) και η βορνεόλη (4,13%).

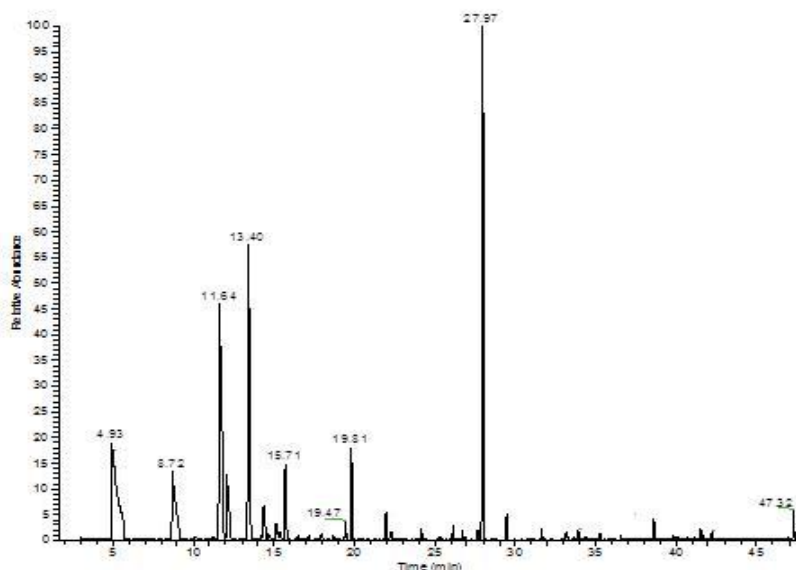
Το αφέψημα του φασκόμηλου Ηλείας, (ΦΗ), *Salvia triloba*, διαφορετικού είδους από τα υπόλοιπα, αποτελείται από 11 πτητικά συστατικά στο σύνολο. Το κύριο συστατικό είναι η 1,8-κινεόλη με ποσοστό 44,89%. Ακολουθεί η καμφορά, η  $\alpha$ -τερπινεόλη, η σουγιόλη και η βορνεόλη με σημαντικά ποσοστό 29,60%, 9,24%, 5,13% και 3,16% αντίστοιχα. Με χαμηλότερα ποσοστά εμφανίζονται η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη (1,83% και 1,58% αντίστοιχα), η θυμόλη (1,54%) και η καρβακρόλη (1,24%).

Στο αφέψημα του φασκόμηλου Κοζάνης (ΦΚ), ανιχνεύθηκαν 8 πτητικά συστατικά. Σε αυτήν την περίπτωση τα κύρια συστατικά είναι τρία, η  $\alpha$ -θουγιόνη με ποσοστό 29,58%, η καμφορά με ποσοστό 26,59% και 1,8-κινεόλη με ποσοστό 21,94%. Ακολουθούν η  $\beta$ -θουγιόνη, η βορνεόλη και η σουγιόλη με ποσοστά 13,68%, 4,95% και 1,56% αντίστοιχα.

Το αφέψημα του φασκόμηλου Πιερίας (ΦΠ), αποτελείται από 10 πτητικά συστατικά. Το κύριο συστατικό του είναι η 1,8-κινεόλη με ποσοστό 39,47%, ενώ έπονται αυτού η καμφορά με ποσοστό 29,91% και η  $\beta$ -θουγιόνη με ποσοστό 16,45%. Σημαντικά ποσοστά εμφανίζουν οι ουσίες  $\alpha$ -τερπινεόλη (6,37%) και αιθανικός εστέρας τερπινυλίου (2,07%). Τέλος με ποσοστό 1,66% εμφανίζονται οι ενώσεις *cis*-ένυδρο σαμπινένιο και βορνεόλη και με ποσοστό 1,13% η σουγιόλη.



Σχήμα 35: Δομές των συστατικών (1) βικιδιφλορόλη, (2) μανούλη και (3) σουγιόλη



Σχήμα 36: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος φασκόμηλου (Αργίνο)

Στο αφέψημα του φασκόμηλου Χαλκιδικής (ΦΧ), ταυτοποιήθηκαν 10 πτητικά συστατικά. Τα δυο κύρια συστατικά είναι η 1,8-κινεόλη και η  $\alpha$ -θουγιόνη με ποσοστά 23,89% και 22,78% αντίστοιχα, ενώ στα υψηλά ποσοστά 13,92% και 12,03% βρίσκονται η βορνεόλη και η σουγιόλη αντίστοιχα. Ακολουθούν με ικανοποιητικά ποσοστά οι ουσίες καμφορά (7,59%), καρβακρόλη (7,44%),  $\beta$ -θουγιόνη (6,49%), βιριδιφλορόλη (3,64%) και μανούλη (2,22%).

Η κατάταξη των παραπάνω αφεψημάτων φασκόμηλου με βάση τον χημειότυπο τους είναι:

ΦΑΓ<sub>2</sub>:  $\alpha$ -θουγιόνη > καμφορά > 1,8-κινεόλη

ΦΑΓ<sub>3</sub>:  $\alpha$ -θουγιόνη > καμφορά > 1,8-κινεόλη

ΦΑΓ<sub>4</sub>: καμφορά >  $\alpha$ -θουγιόνη >  $\beta$ -θουγιόνη

ΦΚ:  $\alpha$ -θουγιόνη > καμφορά > 1,8-κινεόλη

ΦΠ: 1,8-κινεόλη > καμφορά >  $\beta$ -θουγιόνη

ΦΧ: 1,8-κινεόλη >  $\alpha$ -θουγιόνη > καμφορά

## Αποτελέσματα και συζήτηση

Παραπάνω φαίνονται οι κύριες διαφορές στην σύσταση των αφεψημάτων του φασκόμηλου. Παρόλο που όλα τα παραπάνω συστατικά βρίσκονται σε όλα τα δείγματα, εξαιρείται το αφέψημα του ΦΗ λόγω του διαφορετικού είδους του. Εκτός από τα παραπάνω συστατικά και η καρβακρόλη αποτελεί κοινό συστατικό σε μικρά ποσοστά.

Πρέπει να παρατηρηθεί ότι η θυμόλη δεν ανιχνεύθηκε στα αφεψήματα του ΦΑΓ<sub>4</sub>, ΦΚ, ΦΠ και ΦΧ ενώ εντοπίστηκε σε ικανοποιητικά ποσοστά στα υπόλοιπα αφεψήματα. Επίσης ούτε η μανόλη ανιχνεύθηκε στα αφεψήματα του ΦΑΓ<sub>4</sub>, ΦΚ και ΦΠ. Τέλος, η σουγιόλη παρόλο των σημαντικών ποσοστών που παρουσιάζει σε κάποια αφεψήματα απουσιάζει από τα τρία αφεψήματα του Αγρινίου.

Σύμφωνα με έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε εκχύλισμα φασκόμηλου τα κυρίαρχα συστατικά είναι η 1,8-κινεόλη, η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη και η καμφορά. Επιπλέον σημαντικά ποσοστά εμφάνιζαν οι ουσίες θυμόλη και αιθανικός εστέρας βορνυλίου (Arceusz et al. 2013).

### 3.2 Ποσοτικός προσδιορισμός $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης

Η  $\alpha$ - και η  $\beta$ -θουγιόνη, όπως έχει προαναφερθεί και παραπάνω, είναι μονοτερπένια που βρίσκονται σε διάφορα βότανα (φασκόμηλο, αψιθιά, κ.α.) σε σκευάσματα τους, σε τρόφιμα και σε ποτά σε διάφορες συγκεντρώσεις. Σύμφωνα με διάφορους οργανισμούς, όπως οι EMA, SCF, NTP, και έρευνες έχουν θεσπιστεί όρια για την ασφαλή κατανάλωση των προϊόντων που περιέχουν  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη, κυρίως για τα βότανα φασκόμηλο και αψιθιά. Η ύπαρξη ορίων για την κατανάλωση της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης εξηγείται λόγω της νευροτοξικής δράσης που έχει, ξεπερνώντας τα θεσπισμένα όρια, στον άνθρωπο. Επομένως, είναι σημαντικός ο έλεγχος των συγκεντρώσεων της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα βότανα της ελληνικής χλωρίδας.

Τα βότανα που επιλέχθηκαν από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης ήταν αρχικά η αψιθιά (*Artemisia absinthium*), λόγω του υψηλού περιεχομένου σε  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη και του εθνοφαρμακολογικού ενδιαφέροντος (Lachenmeier 2010) και όχι τόσο για την ευρεία χρήση του βοτάνου στην Ελλάδα. Επίσης, εξετάστηκαν η μέντα (*Mentha piperita*) και η ρίγανη (*Origanum vulgare*) λόγω της διαδεδομένης χρήσης τους τόσο ως βότανα, όσο και ως αφεψήματα. Τέλος, επιλέχθηκε για μελέτη το φασκόμηλο (*Salvia officinalis*) για την διαδεδομένη χρήση του (αιθέριο έλαιο, αφέψημα) και λόγω βιβλιογραφιών που αναφέρονται σε υψηλές συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης σε αυτό (Pelkonen et al. 2013).

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 17, μετά από την ταυτοποίηση των συστατικών των δειγμάτων με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS), δεν ανιχνεύθηκε  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη στα αιθέρια έλαια και στα αφεψήματα των βοτάνων μέντα και ρίγανη. Αντιθέτως, στα αιθέρια έλαια και στα αφεψήματα των βοτάνων αψιθιά και φασκόμηλο ανιχνεύθηκαν υψηλά ποσοστά  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης. Υψηλότερα ποσοστά  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης βρέθηκαν στο φασκόμηλο σε σχέση με την αψιθιά. Τα ποσοστά της  $\alpha$ - και της  $\beta$ -θουγιόνης ήταν μεγαλύτερα στο φασκόμηλο και στην αψιθιά αντίστοιχα. Σε ορισμένες περιπτώσεις η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη αποτελούν κύρια συστατικά των δειγμάτων, με αποτέλεσμα την αυξημένη αναγκαιότητα προσδιορισμού των συγκεντρώσεων τους για ασφαλή κατανάλωση τους.

## Αποτελέσματα και συζήτηση

Πίνακας 17: Ποσοστά  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια ελαία και στα αφεψήματα των βοτάνων

Φυτικό υλικό	Αιθέρια έλαια		Αφεψήματα	
	$\alpha$ -θουγιόνη %	$\beta$ -θουγιόνη %	$\alpha$ -θουγιόνη %	$\beta$ -θουγιόνη %
αψιθιά	0,53-3,49	0,74-8,33	1,04-2,87	0,89-53,30
μέντα	ΔΑ*	ΔΑ*	ΔΑ*	ΔΑ*
ρίγανη	ΔΑ*	ΔΑ*	ΔΑ*	ΔΑ*
φασκόμηλο	0,52-27,62	2,35-14,39	0,86-35,32	6,49-16,45

\*ΔΑ: δεν ανιχνεύθηκε

Σύμφωνα με τον Pelkonen (2013), σε έρευνα που πραγματοποίησε σε βότανα αψιθιάς και φασκόμηλου από διαφορετικές χώρες (Πίνακα 18), τα ποσοστά της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στο φασκόμηλο βρέθηκαν μεγαλύτερα από ότι στην αψιθιά. Η  $\alpha$ -θουγιόνη βρέθηκε να επικρατεί στα περισσότερα αιθέρια έλαια του φασκόμηλου, ενώ στα αιθέρια έλαια της αψιθιάς βρέθηκε να επικρατεί κατά το πλείστον το ποσοστό της  $\beta$ -θουγιόνης.

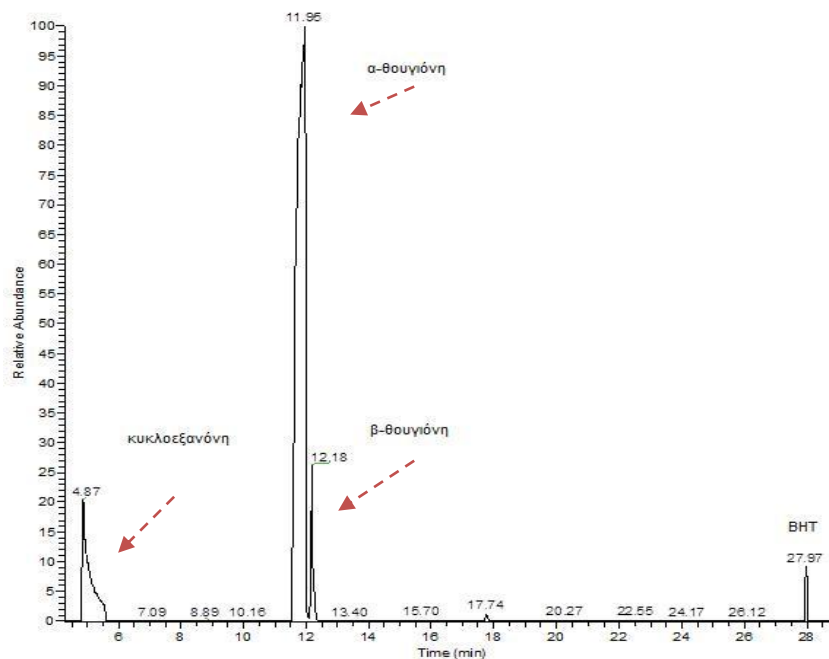
Πίνακας 18: Περιεχόμενο των βοτάνων αψιθιά και φασκόμηλο σε  $\alpha$ -,  $\beta$ -θουγιόνη

Φυτό	Προέλευση	Μέρος φυτού	Απόδοση αιθερίου ελαίου, % v/w	$\alpha$ -θουγιόνη, %	$\beta$ -θουγιόνη, %
<i>Artemisia absinthium</i>	Ρωσία	τρίμμα εναέριων τμημάτων	1 ml ατμών	20,8	13,7
	Λιθουανία	φυτό	δεν ανιχνεύθηκε	3,2-23,5	ίχνη-30,7
	Τουρκία	εναέρια τμήματα	0,67(w/w)	0,2	0,5
	Σερβία	εναέρια τμήματα και ρίζες	0,008-0,29 (w/w)	0,6-1,8	19,8-63,4
	Καναδάς	εναέρια τμήματα	0,5 (w/w)	0,5	10,1
<i>Salvia officinalis</i>	Τατζικιστάν	εναέρια τμήματα	0,5-0,8	0,5-2,9	0,4-7,3
	Βραζιλία	αιθέριο έλαιο	–	28,3	14,5
	Βραζιλία	άνθη	1,99	42,9 ± 1,3	5,9 ± 0,7
	Βραζιλία	άνθη	1,99	40,4 ± 1,0	8,1 ± 1,1
	Βραζιλία	άνθη	1,99	13,3 ± 1,4	5,3 ± 0,6

(Pelkonen et al. 2013)

Κατά την πειραματική διαδικασία έγινε ποσοτικός προσδιορισμός της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια και στα αφεψήματα της αψιθιάς και του φασκόμηλου, με τη μέθοδο του εσωτερικού προτύπου και την κατασκευή πρότυπων καμπυλών. Η βαθμονόμηση έγινε με δυο καμπύλες αναφοράς  $\alpha$ -θουγιόνης, η πρώτη καμπύλη (Σχήμα 19), για χαμηλές συγκεντρώσεις με εύρος 0,91- 91,4 mg /L (  $y= 0,1344x-0,0071$ ) και η δεύτερη (Σχήμα 20), για υψηλές συγκεντρώσεις με εύρος 183- 13701 mg /L (  $y=0,0528x+ 3,8027$ ) οι οποίες είχαν γραμμικότητα  $R^2= 0,9996$  και  $R^2= 0,994$  αντίστοιχα.





Σχήμα 37: Αέριο χρωματογράφημα πρότυπου διαλύματος  $\alpha$ -θουγιόνης, 1828 mg / L

### 3.2.1 Ποσοτικός προσδιορισμός $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης σε αιθέρια έλαια και αφεψήματα αψιθιάς

Τα αποτελέσματα του ποσοτικού προσδιορισμού της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης των αιθερίων ελαίων και των αφεψημάτων αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 19). Οι υπολογισμοί για τις συγκεντρώσεις της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στο αιθέριο έλαιο αψιθιάς πραγματοποιήθηκαν με αναγωγή στο φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε για την υδρο-απόσταξη και στον τελικό όγκο του αιθερίου ελαίου που παραλήφθηκε. Για τους υπολογισμούς των ποσοτήτων της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στο οργανικό εκχύλισμα που παραλήφθηκε, έγινε αναγωγή στην αρχική ποσότητα του αρχικού υδατικού εκχυλίσματος, αφεψήματος, θεωρώντας ότι υπήρξε πλήρης ανάκτηση (100%) των συστατικών.

Υπολογίστηκαν οι ποσότητες  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στο φυτικό υλικό από κάθε περιοχή. Οι συγκεντρώσεις της  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης εκφράζονται σε mg/L αιθερίου ελαίου και αφεψήματος αψιθιάς. Τέλος, φαίνονται τα mg  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης που βρίσκονται σε 100g αποξηραμένων φύλλων και ανθέων αψιθιάς.

## Αποτελέσματα και συζήτηση

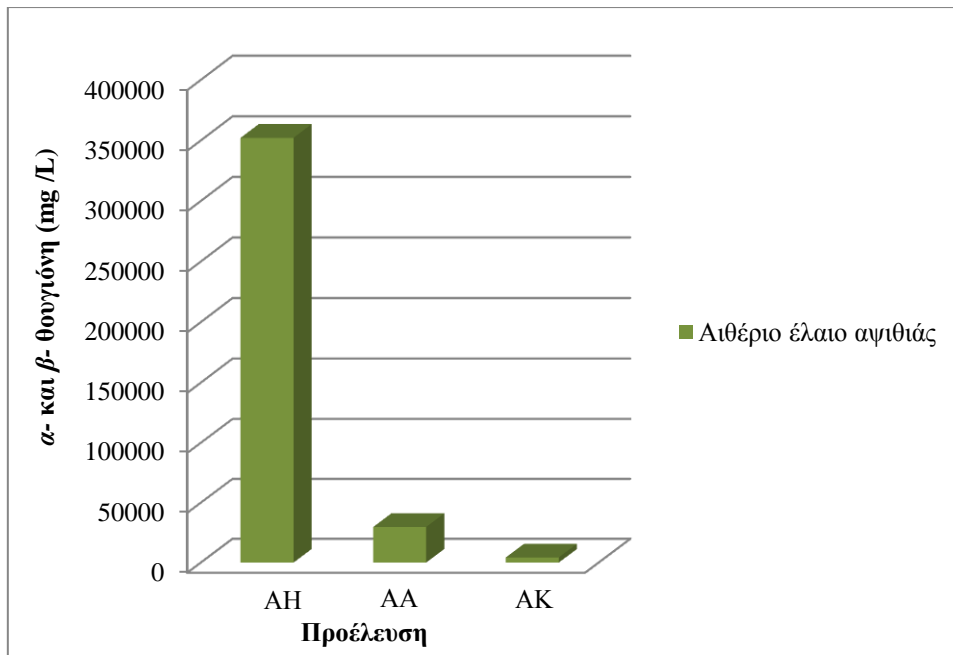
Πίνακας 19: Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού της  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ -και  $\beta$ -θουγιόνης σε αιθέρια έλαια, ξηρές δρόγες και αφεψήματα αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

Προέλευση	Απόδοση αιθερίου ελαίου	Αιθέριο έλαιο			Ξηρή δρόγη			Αφεψήμα		
		$\alpha$ -θουγιόνη mg/L	$\beta$ -θουγιόνη mg/L	$\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνη mg/L	$\alpha$ -θουγιόνη mg /100 g	$\beta$ -θουγιόνη mg /100 g	$\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνη mg /100 g	$\alpha$ -θουγιόνη mg/L	$\beta$ -θουγιόνη mg/L	$\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνη mg/L
AA <sub><math>\alpha</math></sub>	1,24	1080	28630	29710	1,34	35,78	37,12	0,10	1,10	1,20
AH	2,85	15530	336620	352150	37,08	957	994	0,60	24,60	25,20
AK	1,21	2580	1680	4260	3,15	2,06	5,21	0,10	- *	0,10

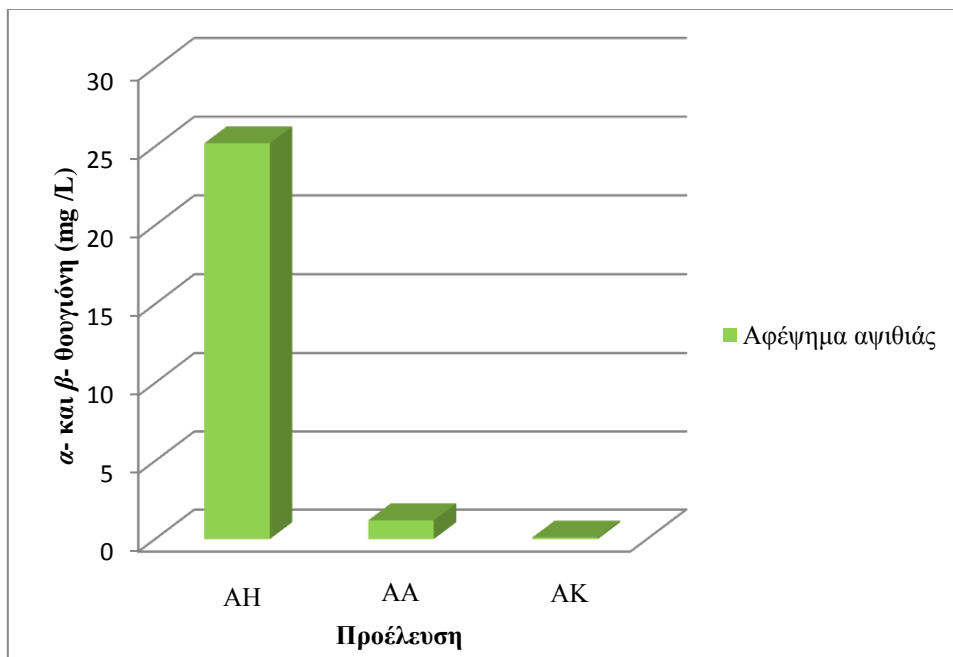
\*πολύ μικρή τιμή,  $\alpha$ : αιθερικό εκχύλισμα αιθερίου ελαίου AA: αψιθιά Αιτωλοακαρνανίας, AH: Αψιθιά Ηλείας, AK: Αψιθιά Κοζάνης

Σύμφωνα και με τα ραβδόγραμμα (Σχήμα 38 και 39), παρατηρούνται μεγαλύτερες συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια και αφεψήματα της αψιθιάς από την περιοχή της Ηλείας (AH), ακολουθεί η αψιθιά Αιτωλοακαρνανίας (AA) και τελικά με μικρότερες συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης βρίσκεται η αψιθιά Κοζάνης (AK). Οι συγκεντρώσεις της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια της αψιθιάς συγκριτικά με αυτές των αφεψημάτων διατηρούν μια ιεραρχική αναλογία.

Επιπλέον σημαντικό είναι ότι στα αιθέρια έλαια και στα αφεψήματα αψιθιάς βρέθηκε μεγαλύτερη ποσότητα  $\beta$ -θουγιόνης στην περιοχή της Ηλείας, (AH), και Αιτωλοακαρνανίας, (AA), ενώ στην περιοχή της Κοζάνης, (AK), υπερισχύει η ποσότητα της  $\alpha$ -θουγιόνης αλλά σε αρκετά μικρότερες συγκεντρώσεις σε σχέση με την  $\beta$ -θουγιόνη των άλλων δυο περιοχών (Σχήμα 40).

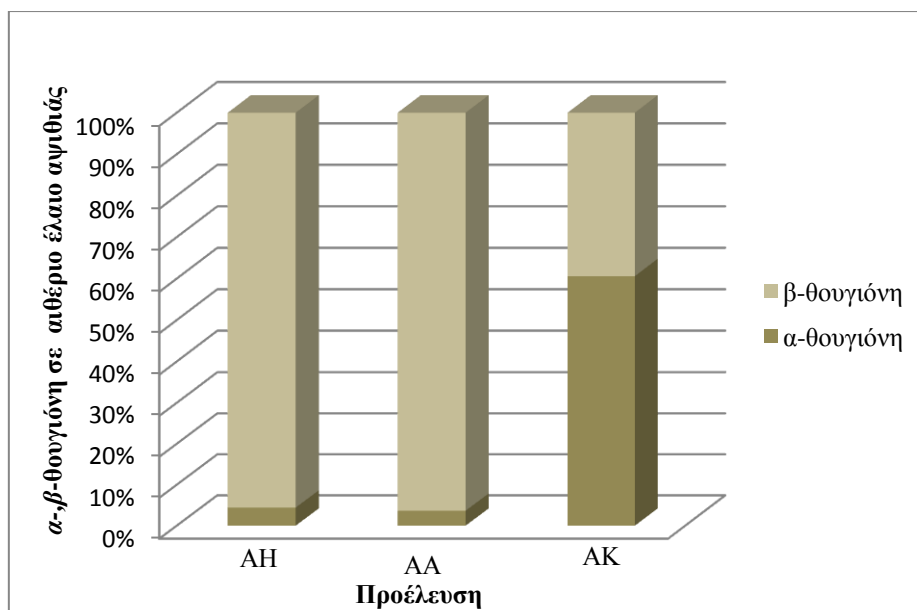


Σχήμα 38: Συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης (mg /L) σε αιθέρια έλαια αγιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας



Σχήμα 39: Συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης (mg /L) σε αφεψήματα αγιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

## Αποτελέσματα και συζήτηση



Σχήμα 40: Ποσοστά  $\alpha$ -,  $\beta$ -θουγιόνης σε αιθέρια έλαια αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

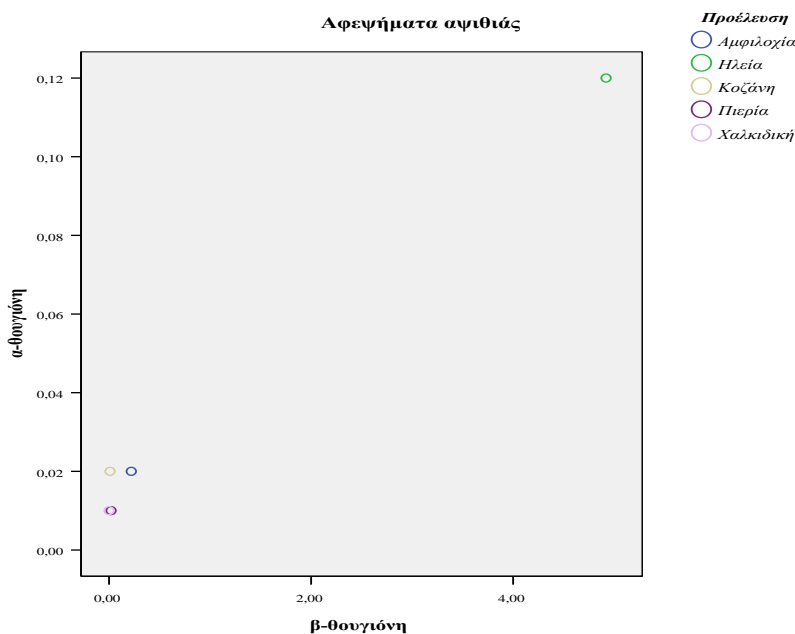
Επίσης, εκφράζονται η  $\alpha$ -, η  $\beta$ - και η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη σε mg /200 mL (Πίνακας 20), όπου αναφέρονται στην ποσότητα του αφεψήματος που αντιστοιχεί σε μια κούπα, δηλαδή στις ποσότητες της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης που παραλαμβάνει ο ανθρώπινος οργανισμός, ύστερα από την κατανάλωση μιας κούπας αφεψήματος. Αρχικά, η μεγαλύτερη τιμή των 5,04 mg/200mL αντιστοιχεί στο αφέψημα αψιθιάς (AH), και ακολουθεί το αφέψημα αψιθιάς της Αιτωλοακαρνανίας (AA) με τιμή 0,24 mg/200mL. Στην συνέχεια, έπονται το αφέψημα Κοζάνης (AK) και Πιερίας (ΑΠ) με την ίδια τιμή 0,03 mg  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης/200mL και το αφέψημα της Χαλκιδικής με τιμή 0,01 mg/200mL.

Πίνακας 20: Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης σε αφεψήματα αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

Δείγμα	Αφέψημα		
	$\alpha$ -θουγιόνη mg /200 mL	$\beta$ -θουγιόνη mg /200mL	$\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνη mg /200mL
AA	0,02	0,22	0,24
AH	0,12	4,92	5,04
AK	0,02	0,01	0,03
ΑΠ	0,01	0,02	0,03
AX	0,01	- *	0,01

\*πολύ μικρή τιμή, AA: αψιθιά Αιτωλοακαρνανίας, AH: Αψιθιά Ηλείας, AK: Αψιθιά Κοζάνης, ΑΠ: Αψιθιά Πιερίας, AX: Αψιθιά Χαλκιδικής

Στο παρακάτω διάγραμμα διασποράς (Σχήμα 41), επιλέγεται η διασπορά των ποσοτήτων της  $\alpha$ -θουγιόνης λόγω της αυξημένης της δραστηριότητας ως προς την  $\beta$ -μορφή. Παρατηρώντας τις τιμές στον Πίνακα 20 και το διάγραμμα διασποράς φαίνεται έντονα η διαφοροποίηση του αφεψήματος αψιθιάς της Ηλείας (ΑΗ) ως προς την ποσότητα της  $\alpha$ -θουγιόνης. Τα υπόλοιπα αφεψήματα (Αμφιλοχία, Κοζάνη, Χαλκιδική, Πιερία), δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερη διαφοροποίηση μεταξύ τους ως προς τις ποσότητες της  $\alpha$ -θουγιόνης που περνάνε στα αφεψήματα τους. Πιο συγκεκριμένα τα αφεψήματα της Πιερίας (ΑΠ) και της Χαλκιδικής (ΑΧ) ταυτίζονται. Η ποσότητα της  $\alpha$ -θουγιόνης στο αφέψημα της ΑΗ είναι σχεδόν 10 φορές μεγαλύτερες από αυτές των άλλων αφεψημάτων. Τα αφεψήματα της Αιτωλοακαρνανίας (ΑΑ) και Κοζάνης (ΑΚ) με τη σειρά τους έχουν διπλάσια ποσότητα  $\alpha$ -θουγιόνης από αυτήν των αφεψημάτων Πιερίας (ΑΠ) και Χαλκιδικής (ΑΧ).



Σχήμα 41: Διάγραμμα διασποράς  $\alpha$ -θουγιόνης (mg / 200mL) σε αφεψήματα αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω, οι μεγαλύτερες με διαφορά συγκεντρώσεις,  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης σε αιθέριο έλαιο και αφέψημα αλλά και σε ξηρή δρόγη εντοπίζονται στην αψιθιά Ηλείας (ΑΗ). Ικανοποιητικές συγκεντρώσεις  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης εμφανίζονται και στην αψιθιά Αμφιλοχίας (ΑΑ). Ενώ οι περιοχές της Βόρειας Ελλάδας (Κοζάνη, Πιερία, Χαλκιδική) εμφανίζουν τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης με ελάχιστες διαφορές μεταξύ τους.

### 3.2.2 Ποσοτικός προσδιορισμός $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης σε αιθέρια έλαια και αφεψήματα φασκόμηλου

Τα αποτελέσματα του ποσοτικού προσδιορισμού της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης των αιθερίων ελαίων και των αφεψημάτων φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 21). Οι υπολογισμοί για τις ποσότητες  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στο αιθέριο έλαιο φασκόμηλου πραγματοποιήθηκαν με αναγωγή στο φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε για την υδρο-απόσταξη και στον τελικό όγκο του αιθερίου ελαίου που παραλήφθηκε. Για τους υπολογισμούς των ποσοτήτων της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στο οργανικό εκχύλισμα που παραλήφθηκε, έγινε αναγωγή στην αρχική ποσότητα αρχικού υδατικού εκχυλίσματος, αφεψήματος, του φασκόμηλου θεωρώντας ότι υπήρξε πλήρης ανάκτηση (100%) των συστατικών.

Υπολογίστηκαν οι ποσότητες  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης στο φυτικό υλικό από κάθε περιοχή. Οι συγκεντρώσεις της  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης εκφράζονται σε mg/L αιθερίου ελαίου και αφεψήματος φασκόμηλου. Τέλος φαίνονται τα mg  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης που βρίσκονται σε 100g αποξηραμένων φύλλων φασκόμηλου.

Πίνακας 21: Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού της  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης σε αιθέρια έλαια, ξηρές δρόγες και αφεψήματα φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

Δείγμα	Απόδοση αιθερίου ελαίου	Αιθέριο έλαιο			Ξηρή δρόγη			Αφέψημα		
		$\alpha$ -θουγιόνη mg /L	$\beta$ -θουγιόνη mg /L	$\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνη mg /L	$\alpha$ -θουγιόνη mg /100 g	$\beta$ -θουγιόνη mg /100 g	$\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνη mg /100 g	$\alpha$ -θουγιόνη mg /L	$\beta$ -θουγιόνη mg /L	$\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνη mg /L
ΦΑΓ <sub>2α</sub>	0,98	164200	58180	222380	164	58,0	222	1,3	0,3	1,6
ΦΑΓ <sub>3α</sub>	0,97	228500	71580	300080	228	69,9	298	5,5	1,0	6,5
ΦΑΓ <sub>4</sub>	1,21	295890	119550	415440	361	146	507	1,5	1,2	2,7
ΦΗ <i>tr</i>	1,66	14360	16450	30810	24	27,4	52,2	0,4	0,3	0,7
ΦΚ	2,14	164060	31070	195130	352	66,6	419	3,0	1,2	4,2
ΦΠ	3,13	4940	273370	278340	15,4	854	869	0,1	1,0	1,0
ΦΧ	1,50	3820	44920	299650	382	80,7	463	0,6	0,2	0,8

*tr*: *triloba*,  $\alpha$ :αιθερικό εκχύλισμα αιθερίου ελαίου, ΦΑΓ: Φασκόμηλο Αγρινίου, ΦΗ: Φασκόμηλο Ηλείας, ΦΚ: Φασκόμηλο Κοζάνης, ΦΠ: Φασκόμηλο Πιερίας, ΦΧ: Φασκόμηλο Χαλκιδικής

Στον Πίνακα 22 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για δυο δείγματα του ΦΑΓ<sub>1</sub> και ΦΑΜ για τα οποία πραγματοποιήθηκε μόνο η διαδικασία της υδρο-απόσταξης για την παραλαβή αιθερίου ελαίου λόγω έλλειψης φυτικού υλικού.

Πίνακας 22: Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού της  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης σε αιθέρια έλαια φασκόμηλου από δυο περιοχές της Ελλάδας

Δείγμα	Απόδοση αιθερίου ελαίου	Αιθέριο έλαιο			Ξηρή δρόγη		
		$\alpha$ -θουγιόνη mg /L	$\beta$ -θουγιόνη mg /L	$\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνη mg/L	$\alpha$ -θουγιόνη mg /100 g	$\beta$ -θουγιόνη mg /100 g	$\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνη mg /100 g
ΦΑΓ <sub>1</sub>	1,42	6010	24400	30410	85,9	34,9	120,8
ΦΑΜ	1,91	496170	176490	672660	796	33,9	830

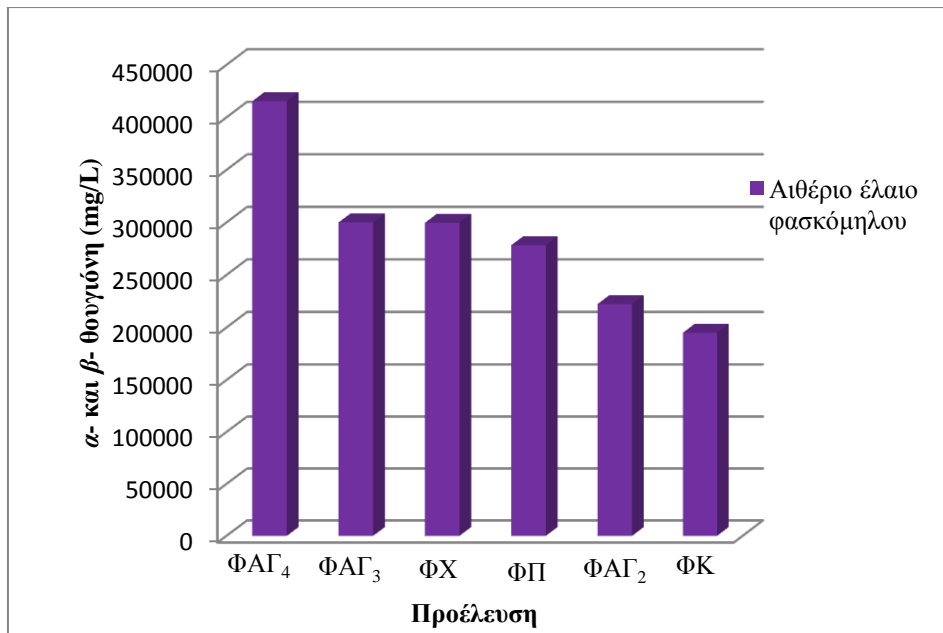
ΦΑΓ: Φασκόμηλο Αγρινίου, ΦΑΜ: Φασκόμηλο Αμφιλοχίας

Παρατηρείται μεγάλο εύρος των συγκεντρώσεων  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια φασκόμηλου 30410-672660 mg/L. Οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης βρίσκονται στο αιθέριο έλαιο φασκόμηλου Αμφιλοχίας (ΦΑΜ) και Αγρινίου (ΦΑΓ<sub>4</sub>) ενώ οι συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στο αιθέριο έλαιο φασκόμηλου Κοζάνης (ΦΚ) είναι το 1/2 από τις μέγιστες. Παρόλο που τα δείγματα φασκόμηλου ΦΑΓ<sub>2</sub>, ΦΑΓ<sub>3</sub> και ΦΑΓ<sub>4</sub>, είναι από την ίδια περιοχή της Ελλάδας δεν βρέθηκαν ίδιες συγκέντρωσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια τους (Σχήμα 42). Το αιθέριο έλαιο φασκόμηλου Ηλείας (ΦΗ), έχει πολύ μικρές συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης αλλά δεν μπορεί να συγκριθεί με τα υπόλοιπα καθώς είναι διαφορετικού είδους (*S.triloba*).

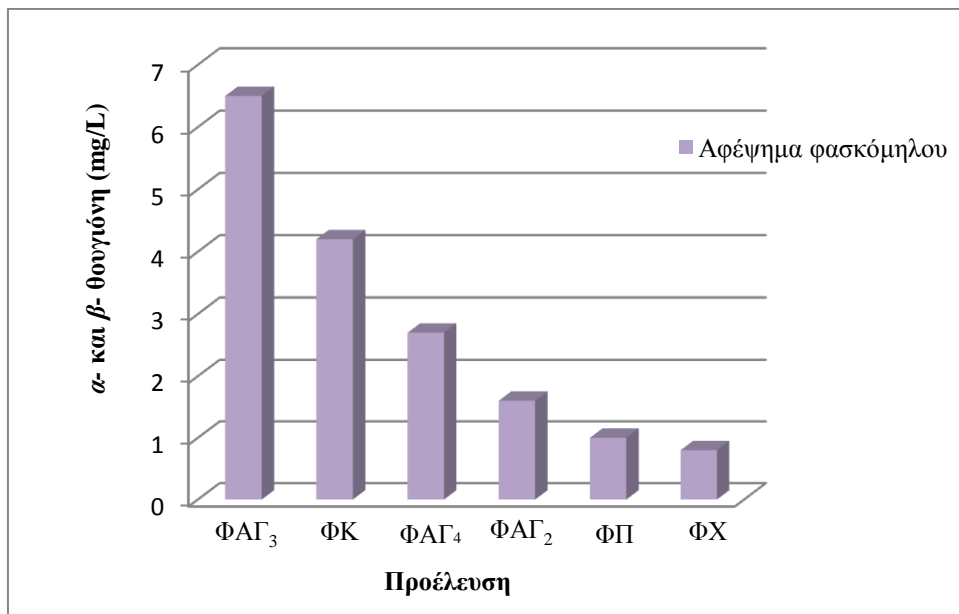
Τα αφηνήματα φασκόμηλου εμφανίζουν επίσης μεγάλο εύρος στις συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης, 0,8-6,5 mg /L. Την μεγαλύτερη τιμή  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης έχει το αφένημα Αγρινίου (ΦΑΓ<sub>3</sub>) και την μικρότερη το αφένημα της Χαλκιδικής (ΦΧ). Τα αφηνήματα από την περιοχή του Αγρινίου δεν παρουσιάζουν καμία ομοιότητα μεταξύ τους ως προς τις συγκεντρώσεις τους σε  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη (Σχήμα 43).

Χαρακτηριστικό όλων των δειγμάτων είναι ότι οι συγκεντρώσεις της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια του φασκόμηλου παρουσιάζουν δυσαναλογία με αυτές των αντίστοιχων αφηνημάτων τους. Έντονη διαφορά εμφανίζει το δείγμα του Αγρινίου (ΦΑΓ<sub>3</sub>), που ενώ στο αιθέριο έλαιο βρίσκεται στην δεύτερη θέση ως προς τις συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στην κατάταξη των αφηνημάτων κατέχει την πρώτη θέση με πολύ μεγάλη διαφορά. Περίπου το ίδιο συμβαίνει και στο δείγμα φασκόμηλου της Χαλκιδικής (ΦΧ), μόνο που σε αυτή την περίπτωση οι συγκεντρώσεις είναι γενικά χαμηλότερες. Το αντίθετο παρατηρείται στα δείγματα φασκόμηλου Αγρινίου (ΦΑΓ<sub>4</sub>), που από την πρώτη θέση που κατέχει στις συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια, στα αφηνήματα βρίσκεται στην τρίτη θέση. Επίσης, τα δείγματα του ΦΠ, ΦΑΓ<sub>2</sub> και ΦΚ παρουσιάζουν αντίθετη φορά κατάταξης στις συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αφηνήματα σε σχέση με αυτήν των αιθερίων ελαίων.

## Αποτελέσματα και συζήτηση



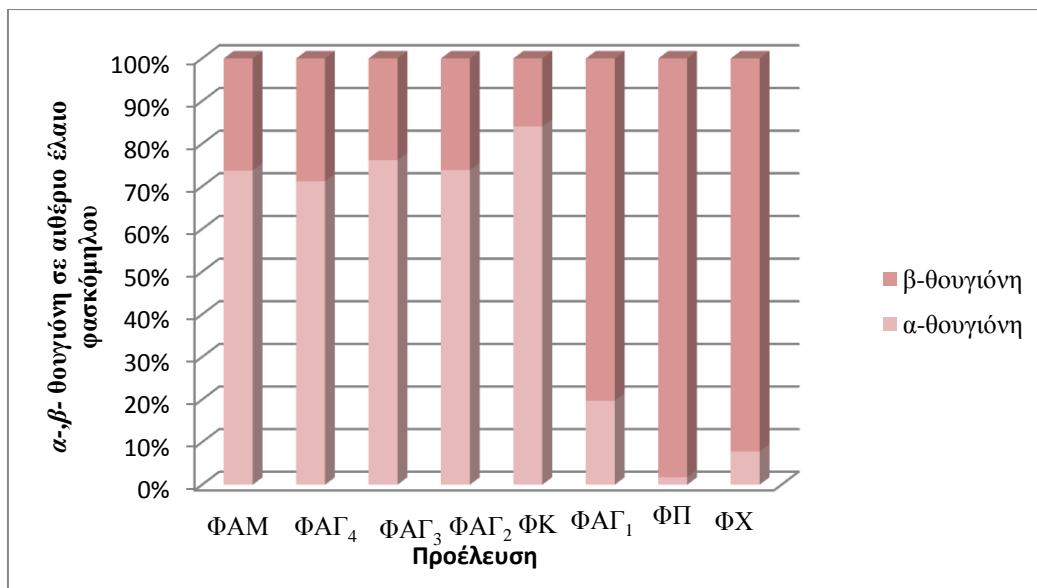
Σχήμα 42: Συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης (mg /L) σε αιθέρια έλαια φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας



Σχήμα 43: Συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης (mg /L) σε αφενήματα φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

Στη συνέχεια στο Σχήμα 44, γίνεται σύγκριση της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης ως προς την περιεκτικότητά τους στα αιθέρια έλαια φασκόμηλου. Η  $\alpha$ -θουγιόνη φαίνεται να κυριαρχεί στα αφενήματα του ΦΑΜ, ΦΑΓ<sub>4</sub>, ΦΑΓ<sub>3</sub>, ΦΑΓ<sub>2</sub> και ΦΚ, αντιθέτως στα αφενήματα του ΦΑΓ<sub>1</sub>, ΦΠ και ΦΧ κυριαρχεί η μορφή της  $\beta$ -θουγιόνης.





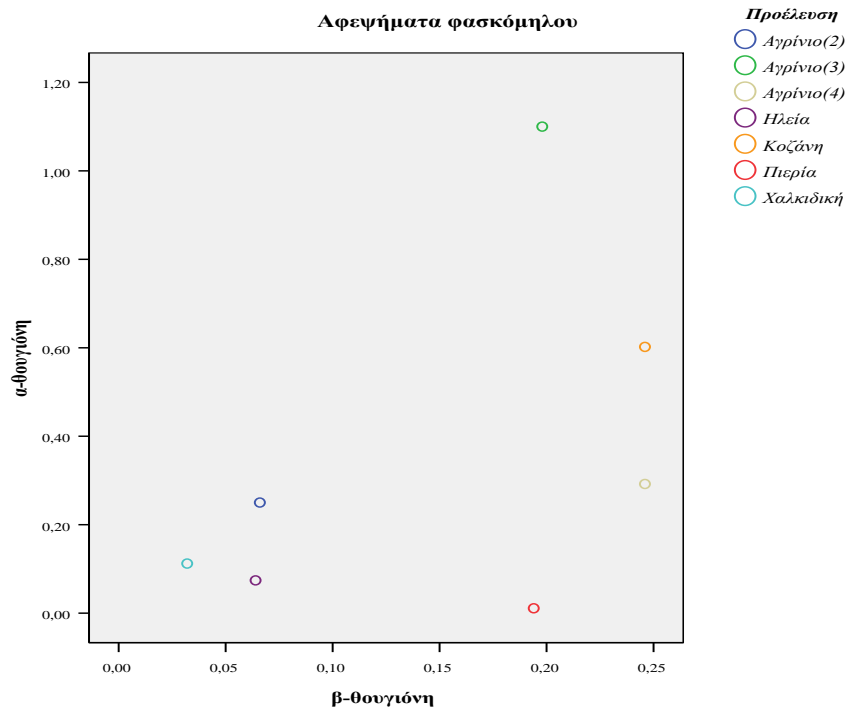
Σχήμα 44: Ποσοστά συγκεντρώσεων της  $\alpha$ -,  $\beta$ -θουγιόνης σε αιθέρια έλαια φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

Οι ποσότητες της  $\alpha$ - $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης εκφράζονται σε mg/200 mL αφεψήματος, δηλαδή στις ποσότητες της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης που παραλαμβάνει ο ανθρώπινος οργανισμός, ύστερα από την κατανάλωση μιας κούπας αφεψήματος (Πίνακας 23). Το αφέψημα του φασκόμηλου Αγρινίου (ΦΑΓ<sub>3</sub>) εμφανίζει εξίσου τις μεγαλύτερες ποσότητες  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης σε μια κούπα 1,30 mg/200mL. Υψηλή τιμή 0,85 mg  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης/200mL παρατηρείται στο αφέψημα Κοζάνης (ΦΚ). Ακολουθούν με ποσότητες  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης 0,54mg/200mL και 0,32 mg/200mL τα αφεψήματα Αγρινίου, ΦΑΓ<sub>4</sub> και ΦΑΓ<sub>2</sub> αντίστοιχα. Το αφέψημα Πιερίας (ΦΠ) έχει 0,20 mg  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης /200mL. Τελικά, βρίσκεται το αφέψημα της Χαλκιδικής (ΦΧ) με τιμή 0,14 mg/200mL.

Πίνακας 23: Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης σε αφεψήματα φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

Δείγμα	Αφέψημα		
	$\alpha$ -θουγιόνη mg /200 mL	$\beta$ -θουγιόνη mg /200mL	$\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνη mg /200mL
ΦΑΓ <sub>2</sub>	0,25	0,07	0,32
ΦΑΓ <sub>3</sub>	1,10	0,20	1,30
ΦΑΓ <sub>4</sub>	0,29	0,25	0,54
ΦΗ <i>tr</i>	0,07	0,06	0,14
ΦΚ	0,60	0,25	0,85
ΦΠ	0,01	0,19	0,20
ΦΧ	0,11	0,03	0,14

*tr: triloba*



Σχήμα 45: Διάγραμμα διασποράς  $\alpha$ -θουγιόνης (mg/200mL) σε αφεψήματα φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το διάγραμμα διασποράς (Σχήμα 45) όπου φαίνεται έντονα η διαφοροποίηση των δειγμάτων ανά περιοχή ως προς την ποσότητα της  $\alpha$ -θουγιόνης στο αφέψημα. Δεν μπορεί να γίνει κάποια ομαδοποίηση ανά περιοχή της Ελλάδας, αλλά να παρατηρηθεί ότι οι ποσότητες της  $\alpha$ -θουγιόνης στα αφεψήματα φασκόμηλου στις περιοχές του Αγρινίου ενώ διαφέρουν αρκετά, βρίσκονται σε υψηλά επίπεδα.

Σύμφωνα με όλα τα παραπάνω, το δείγμα φασκόμηλου που είχε τις μεγαλύτερες ποσότητες  $\alpha$ - $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης ήταν το δείγμα του Αγρινίου ( $\Phi\text{Α}\Gamma_3$ ) και αυτό που είχε τις μικρότερες ποσότητες ήταν το δείγμα φασκόμηλου της Χαλκιδικής ( $\Phi\text{Χ}$ ) και της Πιερίας ( $\Phi\text{Π}$ ). Σημαντική είναι η δυσαναλογία που παρουσιάζουν τα δείγματα ως προς τις ποσότητες που υπάρχουν στα αιθέρια έλαια με τις αντίστοιχες των αφεψημάτων. Επίσης, στα ποσοστά της  $\alpha$ - $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια φάνηκε ότι υπερισχύει η  $\alpha$ -θουγιόνη. Τέλος παρατηρείται έντονη διαφοροποίηση στα αφεψήματα των δειγμάτων ως προς τις ποσότητες της  $\alpha$ -θουγιόνης.

#### 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης σε βότανα της ελληνική χλωρίδας, τα οποία καταναλώνονται και ως αφεψημάτα χρήζει έρευνας λόγω της νευροτοξικής δράσης που εμφανίζουν στον ανθρώπινο οργανισμό. Τα βότανα αψιθιά, μέντα, ρίγανη και φασκόμηλο που μελετήθηκαν προήλθαν από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση των ποσοτήτων της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια αλλά και στα αφεψημάτα των βοτάνων, ώστε τελικά να βρεθεί η ποσότητα πρόσληψης της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης με την κατανάλωση αφεψημάτων, δηλαδή αναγωγή των ποσοτήτων στην κούπα.

Κατά την μελέτη των βοτάνων αρχικά έγινε παραλαβή των αιθερίων ελαίων και των αφεψημάτων των βοτάνων και ύστερα πραγματοποιήθηκε η ταυτοποίηση των συστατικών τους με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS). Ένα γενικό συμπέρασμα από τα παραπάνω είναι ότι ο αριθμός των συστατικών των αφεψημάτων για κάθε βότανο, βρέθηκε μικρότερος από αυτών των αντίστοιχων αιθερίων ελαίων.

Στα βότανα μέντα και ρίγανη, παρόλο τις αναφορές που έχουν γίνει, δεν ανιχνεύθηκαν η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη, αντιθέτως στα βότανα αψιθιά και φασκόμηλο ανιχνεύθηκαν  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη. Στα βότανα αψιθιά και φασκόμηλο έγινε ο ποσοτικός προσδιορισμός της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης με την μέθοδο του εσωτερικού προτύπου και την κατασκευή καμπύλων αναφοράς.

Οι συγκεντρώσεις της  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης που προσδιορίστηκαν στα αιθέρια έλαια και στα αφεψημάτα της αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας διέφεραν αλλά ήταν συγκρίσιμες μεταξύ τους. Βρέθηκε ότι στα αιθέρια έλαια αλλά και στα αφεψημάτα αψιθιάς της Νότιας Ελλάδας υπάρχει μεγαλύτερη συγκέντρωση  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης από ότι στη Κεντρική και στη Βόρεια Ελλάδα. Ακολουθεί η Κεντρική Ελλάδα, ενώ σε αρκετά μικρότερες συγκεντρώσεις εντοπίστηκαν η  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη σε περιοχές της Βόρειας Ελλάδας.

Οι τιμές των συγκεντρώσεων  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης που προσδιορίστηκαν στα αιθέρια έλαια και τα αφεψημάτα του φασκόμηλου βρέθηκαν να έχουν πολύ μεγάλο εύρος. Λόγω των ποικίλων συγκεντρώσεων  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης που παρουσιάζουν τα δείγματα δυστυχώς δεν ήταν δυνατή η ομαδοποίηση των αιθερίων ελαίων και των αφεψημάτων με βάση την προέλευση τους. Σημαντικό είναι επίσης ότι οι ποσότητες  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης που πέρασαν στα αφεψημάτα δεν συμβαδίζουν απόλυτα με αυτές των αντίστοιχων αιθερίων ελαίων. Δηλαδή ενώ το αιθέριο έλαιο έχει τις μέγιστες συγκεντρώσεις  $\alpha$ -και  $\beta$ -θουγιόνης

## Συμπεράσματα

συγκριτικά με τα υπόλοιπα αιθέρια έλαια το αντίστοιχο αφέψημα φασκόμηλου δεν περιείχε τις μέγιστες συγκεντρώσεις  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης συγκριτικά με τα υπόλοιπα αφεψήματα, το ίδιο παρατηρήθηκε και αντίστροφα.

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα φαίνεται ότι στην αψιθιά κυριαρχεί η μορφή της  $\beta$ -θουγιόνης ενώ στο φασκόμηλο η μορφή της  $\alpha$ -θουγιόνης.

Η σχέση οφέλους - κινδύνου των βοτάνων και των φυτικών σκευασμάτων τους που περιέχουν  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνη δεν έχει εδραιωθεί και η εκτίμηση της χρειάζεται περαιτέρω έρευνες. Παρ' όλα αυτά, το όριο ημερήσιας αποδεκτής δόσης για την  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης είναι 3,5 και 6,6 mg/ημέρα, σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA). Σύμφωνα με τα παραπάνω όρια, υπολογίζοντας τον μέσο όρο των mg που περιέχονται σε 200mL αφεψήματος από το κάθε βότανο και ανάγοντας τον σε ημερήσια πρόσληψη, μπορεί να γίνει μια εκτίμηση για τον αριθμό των αφεψημάτων που μπορούν να καταναλωθούν με ασφάλεια την ημέρα.

Καταλήγοντας, για την αψιθιά ο μέσος όρος  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης που περιέχεται στη κούπα είναι 1,07 mg, οπότε σύμφωνα με τα παραπάνω για ασφαλή κατανάλωση επιτρέπονται 3-6 αφεψήματα την ημέρα. Για το φασκόμηλο ο μέσος όρος  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης που βρέθηκε στη κούπα, είναι 0,55 mg, συνεπώς μπορούν να καταναλώνονται με ασφάλεια 7-12 αφεψήματα την ημέρα. Οι παραπάνω ποσότητες που υπολογίστηκαν αφορούν, αφεψήματα που παρασκευάστηκαν με 2g φυτικού υλικού σε 200mL νερό.

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ****ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Abad, M.J. et al., 2012. The Artemisia L. Genus: A Review of Bioactive Essential Oils. , pp.2542–2566.
- Abass, K. et al., 2011. Metabolism of  $\alpha$ -thujone in human hepatic preparations in vitro. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems*, 41(2), pp.101–11.
- Adams, I. P. Identification of Essential Oil Components /by Gas Chromatography / Mass Spectrometry, 4<sup>th</sup> Edition.
- Alankar, S., 2009. A review on peppermint oil. , 2(2), pp.27–33.
- Arceusz, A. et al., 2013. Comparison of different extraction methods for the determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone in sage ( *Salvia officinalis* L .) herbal tea. , pp.3130–3134.
- Badiee, P., Nasirzadeh, A.R. & Motaffaf, M., 2012. Comparison of *Salvia officinalis* L. essential oil and antifungal agents against candida species. *journal of Pharmaceutical Technology and Drug Research*, 1(1), p.7.
- Camele, I. et al., 2014. Chemical Composition and Biological Activity of the Essential Oil of *Origanum vulgare* ssp . *hirtum* from Different Areas in the Southern Apennines ( Italy ). , 11, pp.639–651.
- Committee, S., 2003. Opinion of the Scientific Committee on Food on Thujone. , (December 2002).
- Deiml, T. et al., 2004.  $\alpha$ -Thujone reduces 5-HT<sub>3</sub> receptor activity by an effect on the agonist-induced desensitization. *Neuropharmacology*, 46(2), pp.192–201.
- Dolan, L.C., Matulka, R. a & Burdock, G. a, 2010. Naturally occurring food toxins. *Toxins*, 2(9), pp.2289–332.
- Fu, Z. et al., 2013. The Pharmacological Properties of *Salvia* Essential Oils. , 3(07), pp.122–127.
- Gonzalez-Coloma, A. et al., 2012. Major components of Spanish cultivated *Artemisia absinthium* populations: Antifeedant, antiparasitic, and antioxidant effects. *Industrial Crops and Products*, 37(1), pp.401–407.
- Gunning, P.J., 1991. The chemistry of thujone : the synthesis of rose oil components and germacrane analogues by B . A . ( Hons ), St . John ’ s College , Oxford University.
- Ben Jemaa, J.M., 2014. Essential Oil as a Source of Bioactive Constituents for the Control of Insect Pests of Economic Importance in Tunisia. *Medicinal & Aromatic Plants*, 03(02).

- Jovanovi, K.K. & Sokovi, M., 2014. Chemical composition , antimicrobial , and cytotoxic properties of five Lamiaceae essential oils Nevenka Gligorijevi c sa Radulovi c . , 61, pp.225–232.
- Judp̄ntienē, A., 2004. Chemical composition of essential oils of *Artemisia absinthium* L . ( wormwood ) growing wild in Vilnius . , (4), pp.64–68.
- Kintzios, S., 2000. *SAGE - The Genus Salvia*. Harwood Academic Publishers. Amsterdam.
- Lachenmeier, D.W. et al., 2006. Thujone — Cause of absinthism ? , 158, pp.1–8.
- Lachenmeier, D.W., 2010. Wormwood (*Artemisia absinthium* L.)--a curious plant with both neurotoxic and neuroprotective properties? *Journal of ethnopharmacology*, 131(1), pp.224–7.
- Lachenmeier, D.W. & Uebelacker, M., 2010. Risk assessment of thujone in foods and medicines containing sage and wormwood--evidence for a need of regulatory changes? *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, 58(3), pp.437–43.
- Martin, J., 2002. Monoterpene effect on feeding choice by deer. , 28(12), pp.2411–2427.
- De Martino, L. et al., 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from three chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart growing wild in Campania (Southern Italy). *Molecules (Basel, Switzerland)*, 14(8), pp.2735–46.
- Maerse, H., Belz, R., 1981. Isolation, Separation and identification of volatile compounds in aroma research. Akademie- Verlag. Berlin
- Meenatchisundaram, S. et al., 2009. Pharmacological Activities of *Mentha piperita*- Mini Review. , pp.213–215.
- Miguel, M.G., 2010. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 15(12), pp.9252–87.
- Moslemi, H.R. et al., 2012. Antimicrobial Activity of *Artemisia absinthium* Against Surgical Wounds Infected by *Staphylococcus aureus* in a Rat Model. *Indian journal of microbiology*, 52(4), pp.601–4.
- Orav, A. et al., 2006. Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* L . of different geographical origin. , pp.155–165.
- Pelkonen, O., Abass, K. & Wiesner, J., 2013. Thujone and thujone-containing herbal medicinal and botanical products: toxicological assessment. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, 65(1), pp.100–7.
- Pierozan, M.K. et al., 2009. Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils of *salvia* L . species. , 29(4), pp.764–770.
- Reza, M. et al., 2013. Antinociceptive Effect of Aqueous Extract of *Origanum vulgare* L . in Male Rats : Possible Involvement of the GABAergic System. , 12(January), pp.407–413.

- Rita, P. & Animesh, D.K., 2011. ISSN 2230 – 8407 an updated overview on peppermint ( *mentha piperita* L.). , 2(August), pp.1–10.
- Rivera, E.M. et al., 2014. Central  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone: similar anxiogenic-like effects and differential modulation on GABAA receptors in neonatal chicks. *Brain research*, 1555, pp.28–35.
- Rodrigues, M.R.A. et al., 2012. Antinociceptive and anti-inflammatory potential of extract and isolated compounds from the leaves of *Salvia officinalis* in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 139(2), pp.519–26.
- Sirisoma, N.S. et al., 2000.  $\alpha$ -Thujone ( the active component of absinthe ):  $\gamma$ -Aminobutyric acid type A receptor modulation and metabolic detoxification.
- Taher, Y. a, 2012. Antinociceptive activity of *Mentha piperita* leaf aqueous extract in mice. *The Libyan journal of medicine*, 7, pp.7–11.
- Waidyanatha, S. et al., 2013. Toxicokinetics of  $\alpha$ -thujone following intravenous and gavage administration of  $\alpha$ -thujone or  $\alpha$ - and  $\beta$ -thujone mixture in male and female F344/N rats and B6C3F1 mice. *Toxicology and applied pharmacology*, 271(2), pp.216–28.
- Wharf, C. & Kingdom, U., 2011. Public statement on the use of herbal medicinal products containing thujone Table of contents. , 44(January).

#### ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αραμπατζής, Θ. Ι., 2001.Θάμνοι και Δέντρα στην Ελλάδα, Τόμος ΙΙ. Τ.Ε.Ι. Οικολογική Κίνηση Δράμας.
- Γκόλιου, Ρ., 2012. Μικρή Εγκυκλοπαίδεια Βοτάνων, Τόμος Ι-ΙΙΙ. Εκδόσεις Μαλλιάρης Παιδεία.
- Δόρδας, Χ., 2012. Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά, Τόμος ΙΙ. Γεωπονική Σχολή Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη.
- Ιγνατιάδου-Ραγκούση, Β., 2009. Χημεία Φυσικών Προϊόντων. Εκδόσεις Συμμετρία.
- Mc Murry, J., 2002. Οργανική Χημεία, Τόμος ΙΙ. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### Ι.ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ ΚΑΙ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Εικόνα 1: Σχηματική απεικόνιση της μορφολογία της αψιθιάς, <i>Artemisia absinthium</i> .....	3
Εικόνα 2: Σχηματική απεικόνιση της μορφολογίας της μέντας, <i>Mentha piperita</i> .....	4
Εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση της μορφολογίας της ρίγανης, <i>Origanum vulgare</i> .....	6
Εικόνα 4: Σχηματική απεικόνιση της μορφολογίας του φασκόμηλου, <i>Salvia officinalis</i> ..	7
Σχήμα 5: Βιοσύνθεση τερπενίων.....	10
Σχήμα 6: Δομή ισοπρενίου.....	10
Εικόνα 7: Συσκευή υδρο-απόσταξης <i>Clevenger</i> .....	13
Σχήμα 8: Δομές $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης .....	15
Σχήμα 9: Βιοσυνθετική πορεία $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης .....	17
Σχήμα 10: Γενικό σύστημα μεταβολισμού της $\alpha$ -θουγιόνης.....	22
Σχήμα 11: Δομές των πιθανών μεταβολιτών της $\alpha$ -θουγιόνης.....	22
Εικόνα 12: Νεκρή φύση με το αφέντι, <i>Van Gogh</i> , Παρίσι 1887.....	23
Εικόνα 13: Οργανολογία αέριου χρωματογράφου.....	26
Σχήμα 14: Δομή κυκλοεξανόνης.....	27
Σχήμα 15: Διάγραμμα ροής πειραματικής πορείας.....	29
Εικόνα 16: Διαχωριστική χοάνη .....	33
Εικόνα 17: Περιστροφικός συμπυκνωτής, Rotary evaporator .....	33
Εικόνα 18: Το σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών (GC-MS) που χρησιμοποιήθηκε.....	35
Σχήμα 19: 1 <sup>η</sup> Πρότυπη καμπύλη $\alpha$ -θουγιόνης.....	37
Σχήμα 20: 2 <sup>η</sup> Πρότυπη καμπύλη $\alpha$ -θουγιόνης.....	37
Σχήμα 21: Δομές των συστατικών (1) $\beta$ -θουγιόνη,(2) Z-εποξιοκιμενίου και (3) <i>trans</i> -αιθανικού εστέρα σαμπινυλίου.....	40
Σχήμα 22: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου αψιθιάς (Ηλεία).....	41
Σχήμα 23: Δομές των συστατικών (1) καρβακρόλη και (2) νουτκατίνη.....	43
Σχήμα 24: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος αψιθιάς (Κοζάνη) .....	44
Σχήμα 25: Δομές των συστατικών (1) μενθόνη, (2) νεομενθόλη και (3) μενθόλη .....	46
Σχήμα 26: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου μέντας (Ηλεία) .....	47
Σχήμα 27: Δομές των συστατικών (1) ισομενθόνη, (2) πουλεγόνη και (3) πιπεριτόνη ....	49
Σχήμα 28: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος μέντας (Πιερία)	49



Σχήμα 29: Δομές των συστατικών (1) <i>ο</i> -κυμένιο (2) <i>γ</i> -τερπινένιο, (3) θυμόλη και (4) καρβακρόλη.....	51
Σχήμα 30: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου ρίγανης (Πιερία).....	52
Σχήμα 31: Δομές των συστατικών (1) <i>cis</i> -ένυδρο σαμπινένιο (2) <i>trans</i> -ένυδρο σαμπινένιο, (3) θυμοκινόνη και (4) θυμοκινόλη.....	55
Σχήμα 32: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος ρίγανης (Χαλκιδική) .....	56
Σχήμα 33: Δομές των συστατικών (1) <i>I,8</i> -κινεόλη, (2) καμφορά, (3) βορνεόλης και (4) <i>α</i> -χουμουλένιο.....	59
Σχήμα 34: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου φασκόμηλου (Χαλκιδική) .....	60
Σχήμα 35: Δομές των συστατικών (1) βιριδιφλορόλη, (2) μανούλη και (3) σουγιόλη.....	64
Σχήμα 36: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος φασκόμηλου (Αγρίνιο).....	65
Σχήμα 37: Αέριο χρωματογράφημα πρότυπου διαλύματος <i>α</i> -θουγιόνης, 1828 mg / L.....	69
Σχήμα 38: Συγκεντρώσεις <i>α</i> - και <i>β</i> -θουγιόνης (mg /L) σε αιθέρια έλαια αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας .....	71
Σχήμα 39: Συγκεντρώσεις <i>α</i> - και <i>β</i> -θουγιόνης (mg /L) σε αφεψήματα αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας .....	71
Σχήμα 40: Ποσοστά <i>α</i> -, <i>β</i> -θουγιόνης σε αιθέρια έλαια αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας.....	72
Σχήμα 41: Διάγραμμα διασποράς <i>α</i> -θουγιόνης (mg / 200mL) σε αφεψήματα αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας .....	73
Σχήμα 42: Συγκεντρώσεις <i>α</i> - και <i>β</i> - θουγιόνης (mg /L) σε αιθέρια έλαια φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας .....	76
Σχήμα 43: Συγκεντρώσεις <i>α</i> - και <i>β</i> -θουγιόνης (mg /L) σε αφεψήματα φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας .....	76
Σχήμα 44: Ποσοστά συγκεντρώσεων της <i>α</i> -, <i>β</i> -θουγιόνης σε αιθέρια έλαια φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας.....	77
Σχήμα 45: Διάγραμμα διασποράς <i>α</i> -θουγιόνης (mg/200mL) σε αφεψήματα φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας.....	78

## Π.ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Ταξινόμηση τερπενίων .....	11
Πίνακας 2: Χημικές ιδιότητες $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης.....	16
Πίνακας 3: Ποσότητες $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης σε ορισμένα βότανα .....	17
Πίνακας 4: Εκτίμησης της έκθεσης σε θουγιόνη μέσω του αρωματισμού διάφορων τροφίμων και ποτών.....	19
Πίνακας 5: Δείγματα αψιθιάς.....	30
Πίνακας 6: Δείγματα μέντας .....	30
Πίνακας 7: Δείγματα ρίγανης.....	31
Πίνακας 8: Δείγματα φασκόμηλου.....	31
Πίνακας 9: Συστατικά αιθερίων ελαίων αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας.....	39
Πίνακας 10: Πτητικά συστατικά αφεψημάτων αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας.....	43
Πίνακας 11: Συστατικά αιθερίων ελαίων μέντας από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας .....	45
Πίνακας 12 : Πτητικά συστατικά αφεψημάτων μέντας από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας.....	48
Πίνακας 13: Συστατικά αιθερίων ελαίων ρίγανης από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας .....	53
Πίνακας 14: Πτητικά συστατικά αφεψημάτων ρίγανης από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας.....	54
Πίνακας 15: Συστατικά αιθερίων ελαίων ρίγανης από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας .....	61
Πίνακας 16: Πτητικά συστατικά αφεψημάτων φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας.....	63
Πίνακας 17: Ποσοστά $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης στα αιθέρια έλαια και στα αφεψήματα των βοτάνων.....	68
Πίνακας 18: Περιεχόμενο των βοτάνων αψιθιά και φασκόμηλο σε $\alpha$ -, $\beta$ -θουγιόνη.....	68
Πίνακας 19: Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού της $\alpha$ -, $\beta$ - και $\alpha$ -και $\beta$ -θουγιόνης σε αιθέρια έλαια, ξηρές δρόγες και αφεψήματα αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας.....	70
Πίνακας 20: Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού $\alpha$ -, $\beta$ - και $\alpha$ - και $\beta$ -θουγιόνης σε αφεψήματα αψιθιάς από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας .....	72

Πίνακας 21: Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού της  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης σε αιθέρια έλαια, ξηρές δρόγες και αφεψήματα φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας..... 74

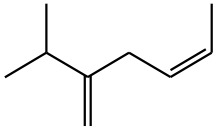
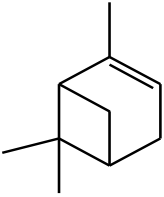
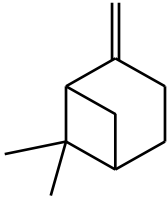
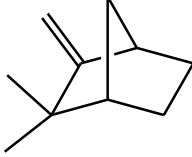
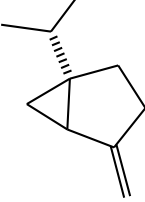
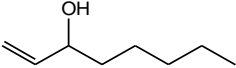
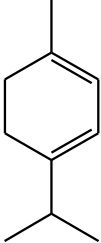
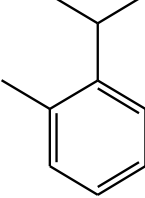
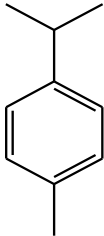
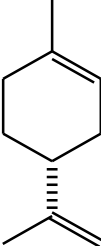
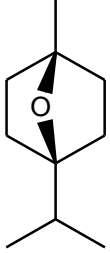
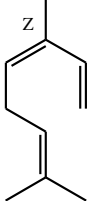
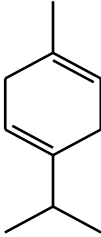
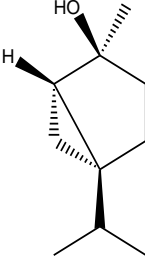
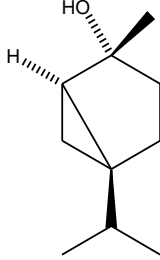
Πίνακας 22: Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού της  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ -θουγιόνης σε αιθέρια έλαια φασκόμηλου από δυο περιοχές της Ελλάδας..... 75

Πίνακας 23: Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού  $\alpha$ -,  $\beta$ - και  $\alpha$ - και  $\beta$ - θουγιόνης σε αφεψήματα φασκόμηλου από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας..... 77

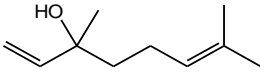
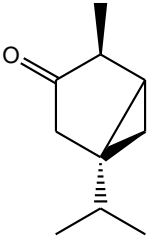
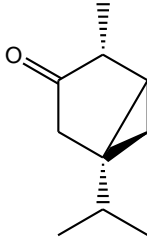
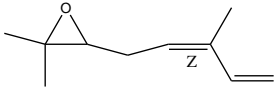
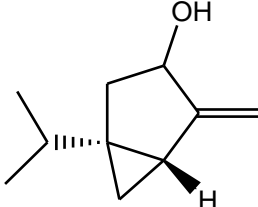
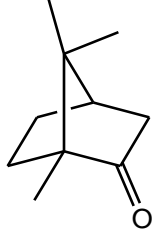
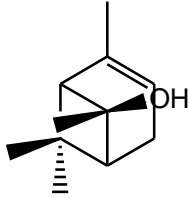
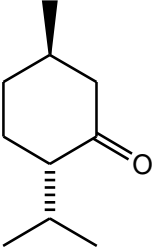
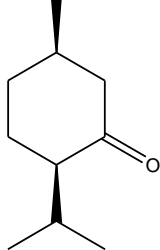
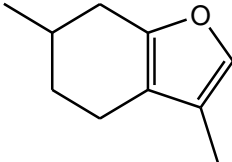
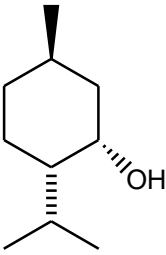
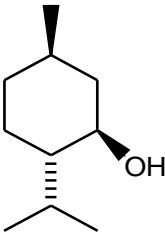
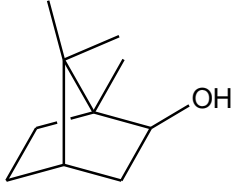
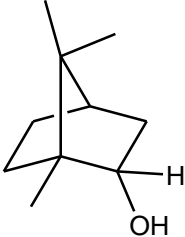
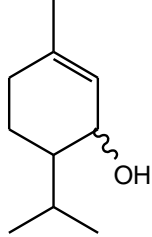
III. ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ

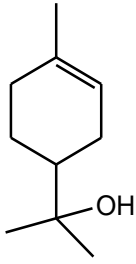
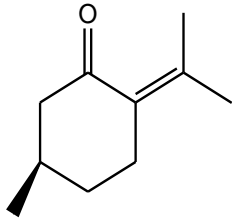
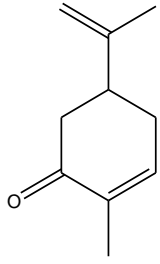
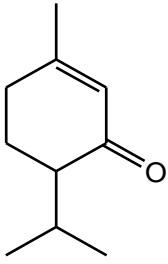
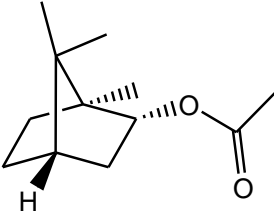
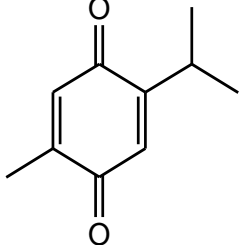
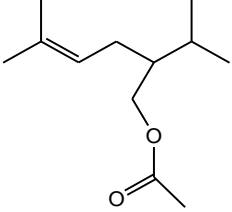
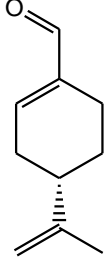
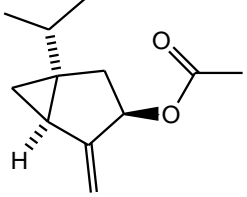
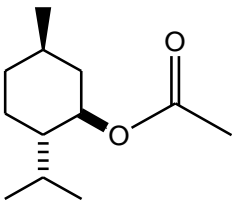
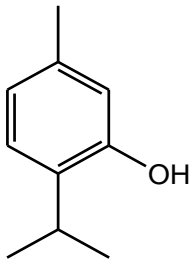
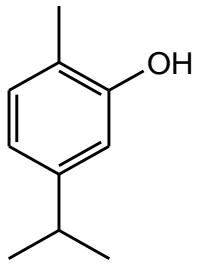
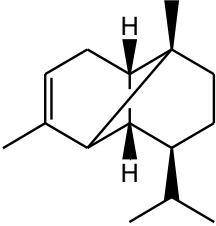
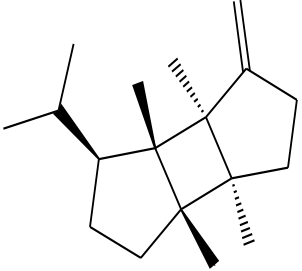
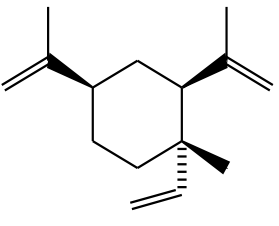
<i>Σύντμηση</i>	<i>Αγγλική ονομασία</i>	<i>Ελληνική ονομασία</i>
ΑΣΚΑΦΕΦΑ		Αγροτικός Συναιτερισμός Καλλιεργητών Αρωματικών, Φαρμακευτικών και Ενεργειακών Φυτών Αιτωλοακαρνανίας
5-HT	5-HydroxyTryptamine	5-υδροξυτρυπταμίνη
ADI	Acceptable Daily Intake	αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη
BHT	Butylated Hydroxytoluene	βουτυλιωμένο υδροξυτουλουόλιο
CY	Cytochrome	κυτόχρωμα
EMA	European Medicines Agency	ευρωπαϊκός οργανισμός φαρμάκων
GABA	Gamma Amino Butyric Acid	γ-αμινοβουτυρικό οξύ
GC	Gas Chromatography	αέρια χρωματογραφία
GPP	Geranyl PyroPhosphate	πυροφοσφορικός εστέρας γερανιάλης
HD	Head Space	απομόνωση από το χώρο πάνω από το φυτό
HD	Hydro Distillation	υδρο-απόσταξη
ISO	International Organism of Standardization	διεθνής οργανισμός τυποποίησης
KI	Kovats Index	δείκτης συγκράτησης
LD	Lethal Dose	θανατηφόρος δόση
MS	Mass Spectrometry	φασματομετρία μαζών
m/e	mass-to-charge ratio	μάζα/φορτίο
MSDE	Micro-Steam Distillation Extraction	μικρο-απόσταξη με υδρατμούς εκχύλιση με οργανικό διαλύτη
NTP	National Toxicology Program	εθνικό πρόγραμμα τοξικολογίας
NOEL	No-Observed-Effect-Level	επίπεδο μη παρατηρούμενης επίδρασης
RT	Retention Time	χρόνος συγκράτησης
SCF	Scientific Committee of Food	επιστημονική επιτροπή για τα τρόφιμα
SPE	Solid Phase Extraction	εκχύλιση στερεάς φάσης
SPME	Solid Phase Micro-Extraction	μικρο-εκχύλιση στερεάς φάσης
SD	Steam Distillation	απόσταξη με ατμό
SCL	Super Criticals Liquids	εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά
TMDI	Theoretical Maximum Daily Intake	θεωρητική μέγιστη ημερήσια πρόσληψη
USE	Ultra Sound Assisted Extraction	εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους
VHSD	Vacuum Head Space Distillation	απόσταξη με κενό
MAE	Microwave Assisted Extraction	εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα

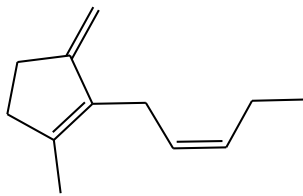
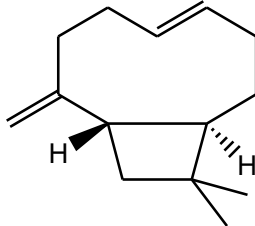
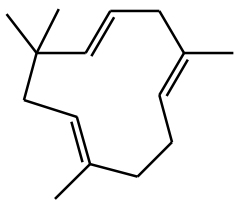
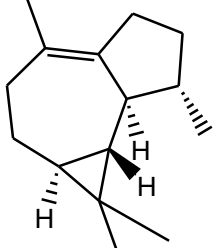
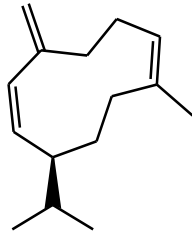
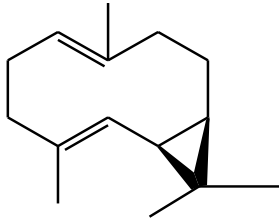
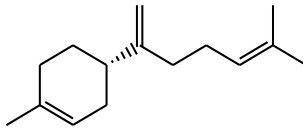
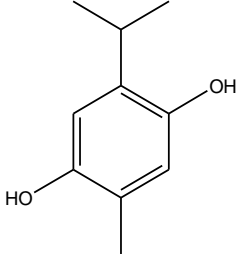
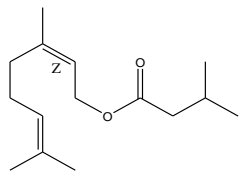
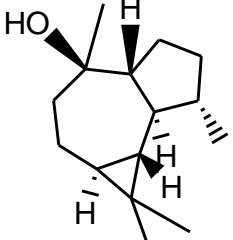
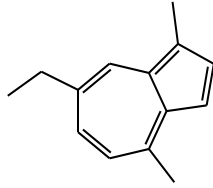
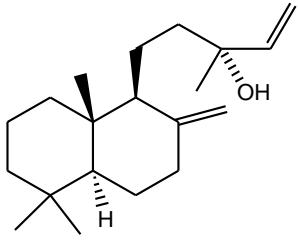
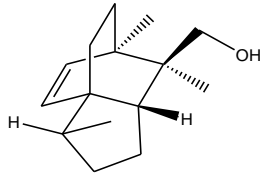
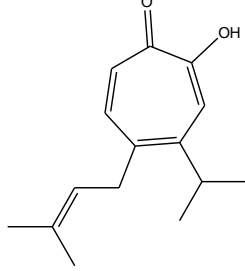
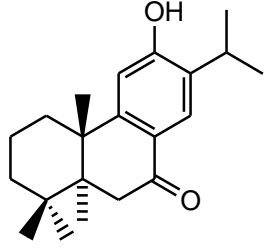
IV. ΠΙΝΑΚΑΣ ΔΟΜΩΝ ΚΥΡΙΟΤΕΡΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ

 <p><b>Z-σαλβένιο</b></p>	 <p><b>α-πινένιο</b></p>	 <p><b>β-πινένιο</b></p>
 <p><b>καμφένιο</b></p>	 <p><b>σαμπινένιο</b></p>	 <p><b>1-οκτεν-3-όλη</b></p>
 <p><b>α-τερπινένιο</b></p>	 <p><b>ο-κυμένιο</b></p>	 <p><b>ρ-κυμένιο</b></p>
 <p><b>λεμονένιο</b></p>	 <p><b>1,8 κινεόλη</b></p>	 <p><b>Z-β-οκιμένιο</b></p>
 <p><b>γ-τερπινένιο</b></p>	 <p><b>cis-ένυδρο σαμπινένιο</b></p>	 <p><b>trans-ένυδρο σαμπινένιο</b></p>

Παράρτημα

 <p>λιναλοόλη</p>	 <p><math>\alpha</math>-θουγιόνη</p>	 <p><math>\beta</math>-θουγιόνη</p>
 <p>Z-εποξυκιμένιο</p>	 <p>trans-σαμπινόλη</p>	 <p>καμφορά</p>
 <p>cis-χρυσανθενόλη</p>	 <p>μενθόνη</p>	 <p>ισομενθόνη</p>
 <p>μενθοφουράνιο</p>	 <p>νεομενθόλη</p>	 <p>μενθόλη</p>
 <p>ισοβορνεόλη</p>	 <p>βορνεόλη</p>	 <p>τερπινεν-4-όλη</p>

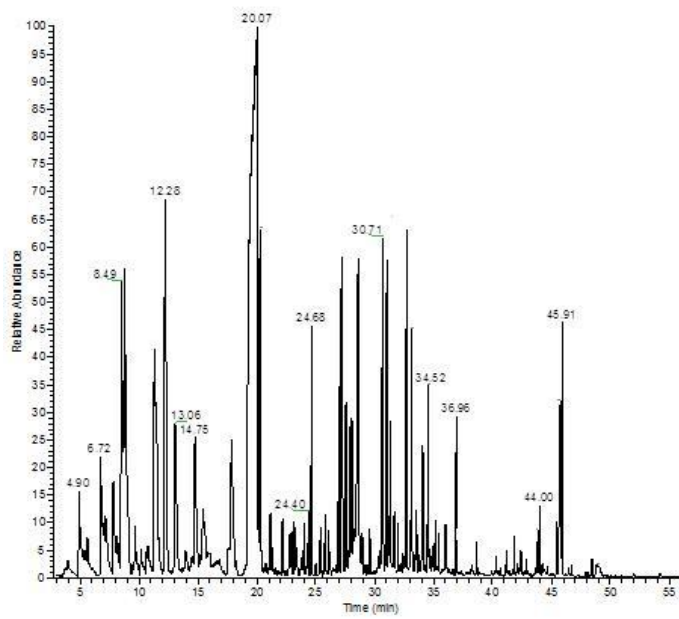
 <p><b>α-τερπινεόλη</b></p>	 <p><b>πουλεγόνη</b></p>	 <p><b>καρβόνη</b></p>
 <p><b>πιπεριτόνη</b></p>	 <p><b>αιθανικός εστέρας βορνυλίου</b></p>	 <p><b>θυμοκινόνη</b></p>
 <p><b>αιθανικός εστέρας λαβαντουλλίου</b></p>	 <p><b>περιλλάλη</b></p>	 <p><b>trans-αιθανικός εστέρας σαμπινυλίου</b></p>
 <p><b>αιθανικός εστέρας μενθυλίου</b></p>	 <p><b>θυμόλη</b></p>	 <p><b>καρβακρόλη</b></p>
 <p><b>α-κοπαένιο</b></p>	 <p><b>β-μπουρμονένιο</b></p>	 <p><b>β-ελεμένιο</b></p>

 <p><b>Z- γιασεμόνη</b></p>	 <p><b>E-καρνοφυλλένιο</b></p>	 <p><b>α-χουμουλένιο</b></p>
 <p><b>βιριδοφλορένιο</b></p>	 <p><b>D-γερμακρένιο</b></p>	 <p><b>δικυκλογερμακρένιο</b></p>
 <p><b>β-μπισαμπολένιο</b></p>	 <p><b>θυμοκινόλη</b></p>	 <p><b>ισοβαλερικός εστέρας νερόλης</b></p>
 <p><b>βιριδιφλορόλη</b></p>	 <p><b>χαμαζουλένιο</b></p>	 <p><b>μανοόλη</b></p>
 <p><b>β-ελιφολενόλη</b></p>	 <p><b>νουτκατίνη</b></p>	 <p><b>σουγιόλη</b></p>

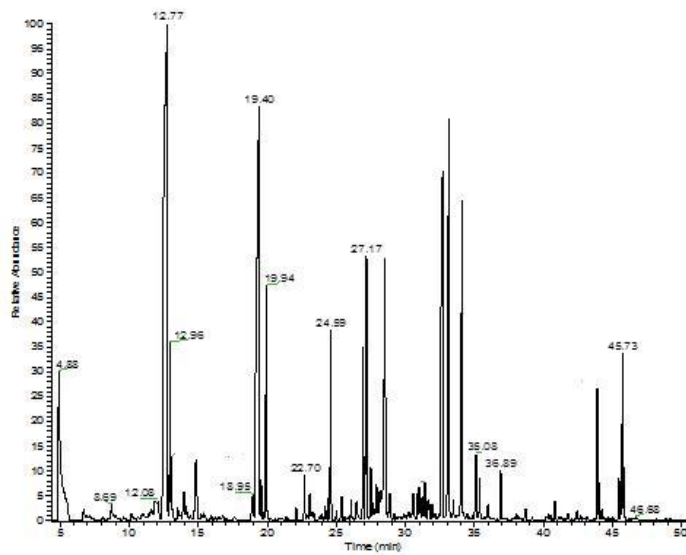


**V. ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ**

**A. ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ ΑΨΙΘΙΑΣ**

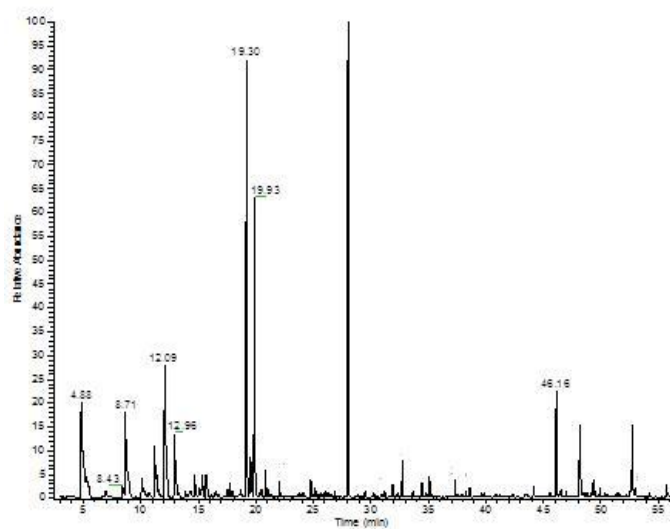


Σχήμα 1: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου αψιθιάς (Αιτωλοακαρνανία)

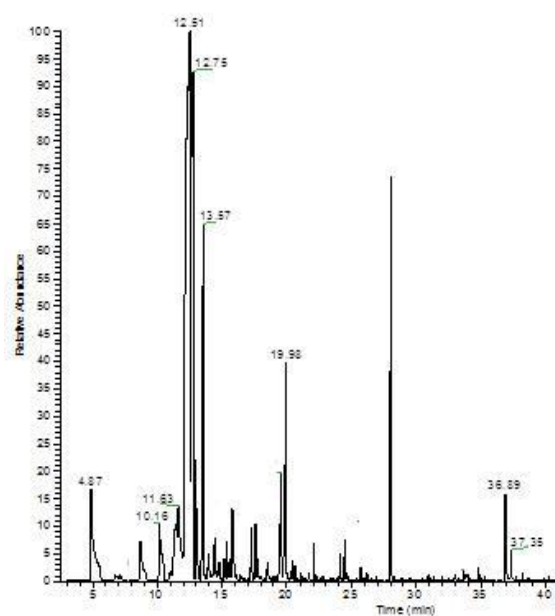


Σχήμα 2: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου αψιθιάς (Κοζάνη)

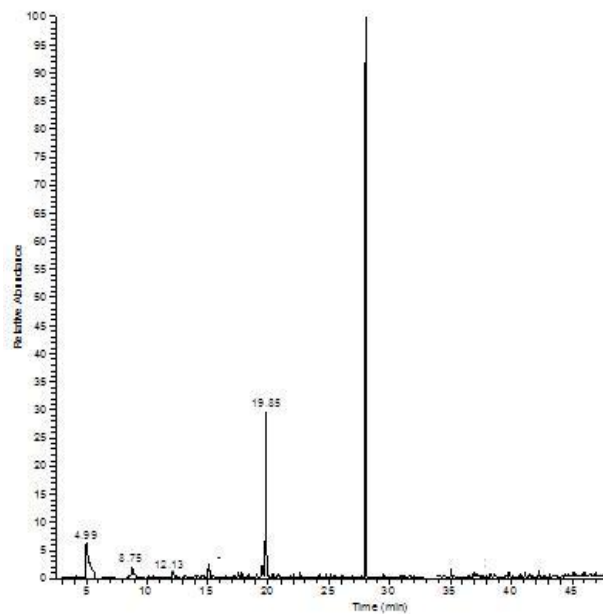
## Παράρτημα



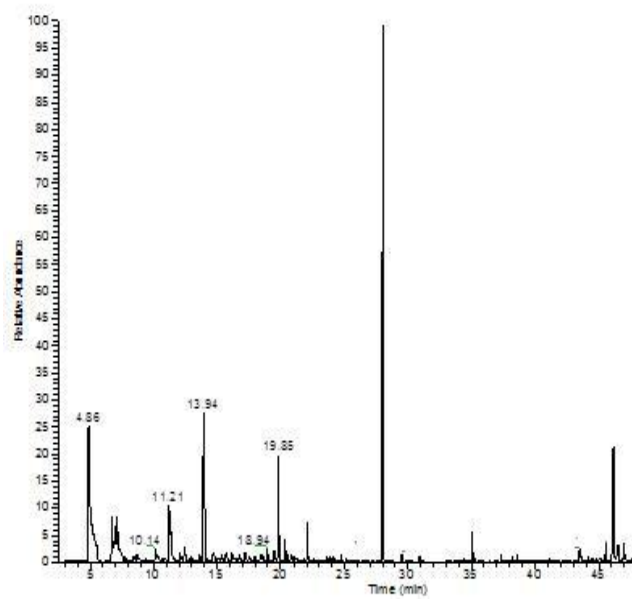
Σχήμα 3: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος αγιθιάς (Αμφιλοχία)



Σχήμα 4: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος αγιθιάς (Ηλεία)



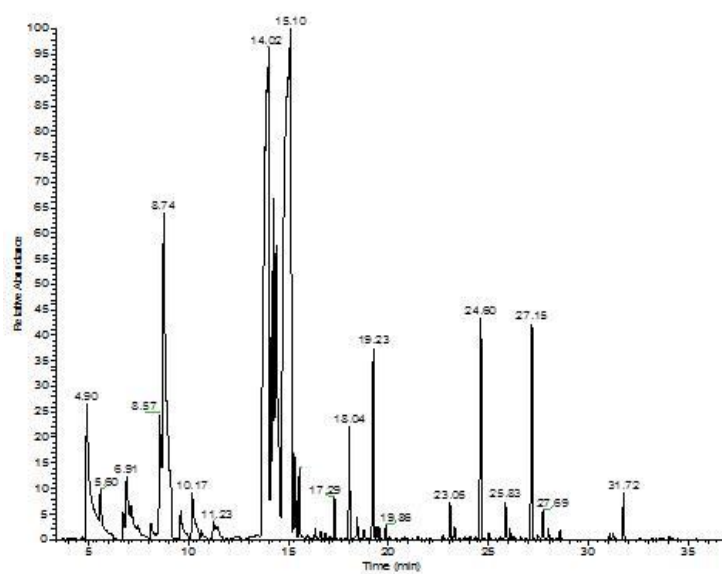
Σχήμα 5: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος αψιθιάς (Πιερία)



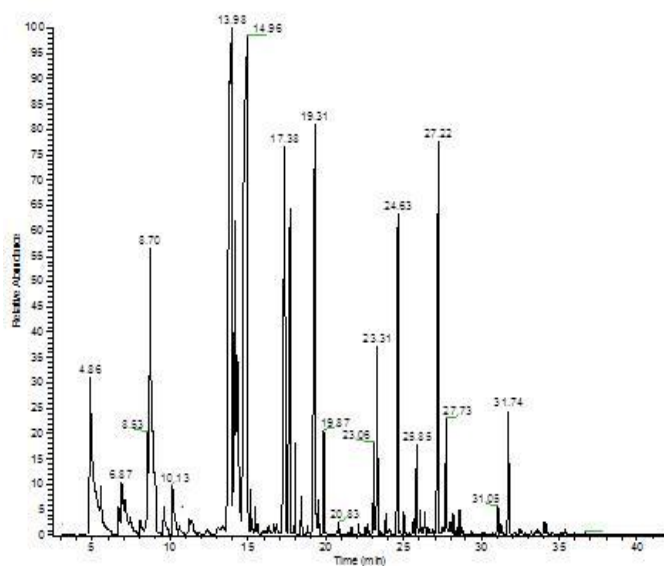
Σχήμα 6: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος αψιθιάς (Χαλκιδική)

## Παράρτημα

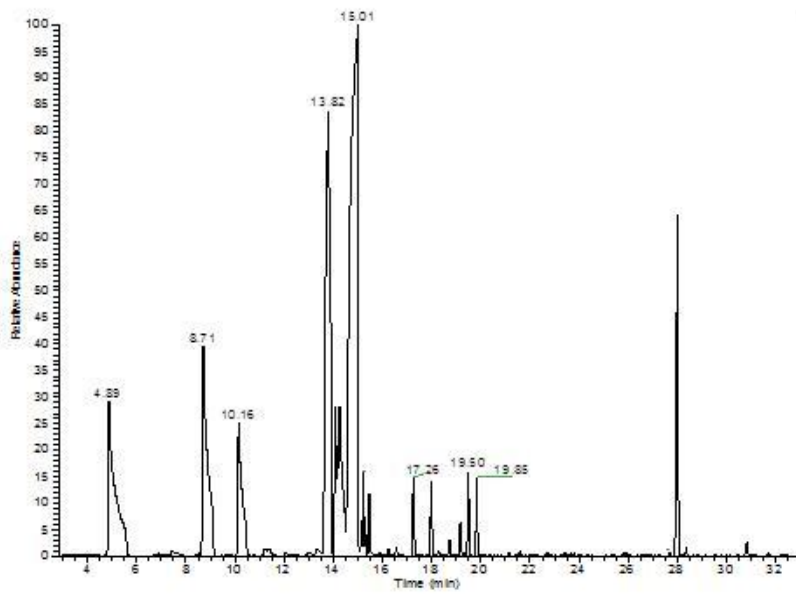
### Β. ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ ΜΕΝΤΑΣ



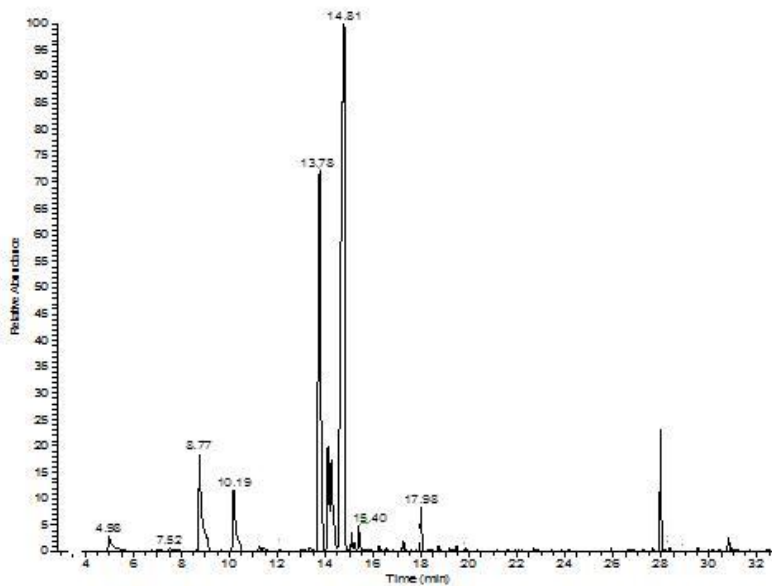
Σχήμα 7: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου μέντας (Κοζάνη)



Σχήμα 8: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου μέντας (Χαλκιδική)

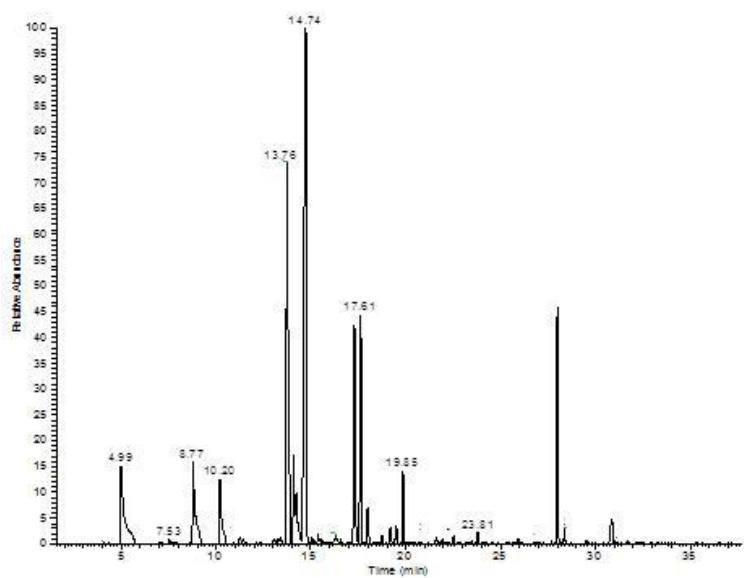


Σχήμα 9: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος μέντας (Ηλεία)



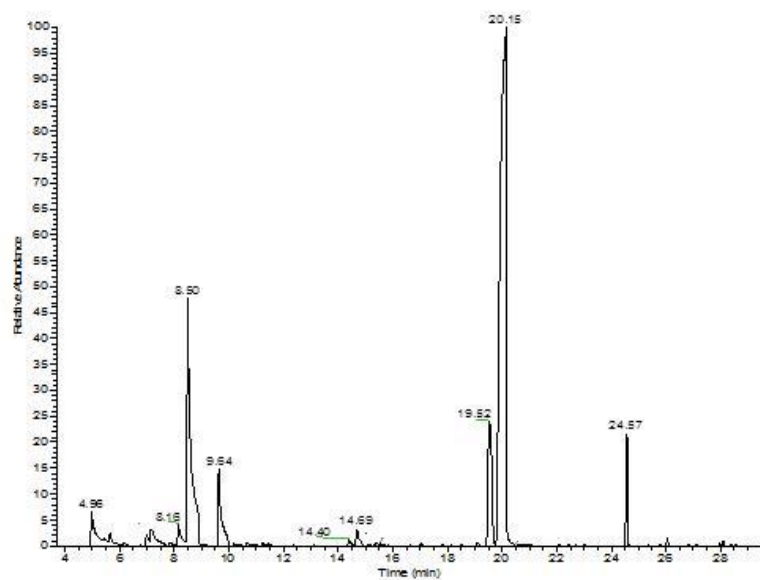
Σχήμα 10: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος μέντας (Κοζάνη)

## Παράρτημα

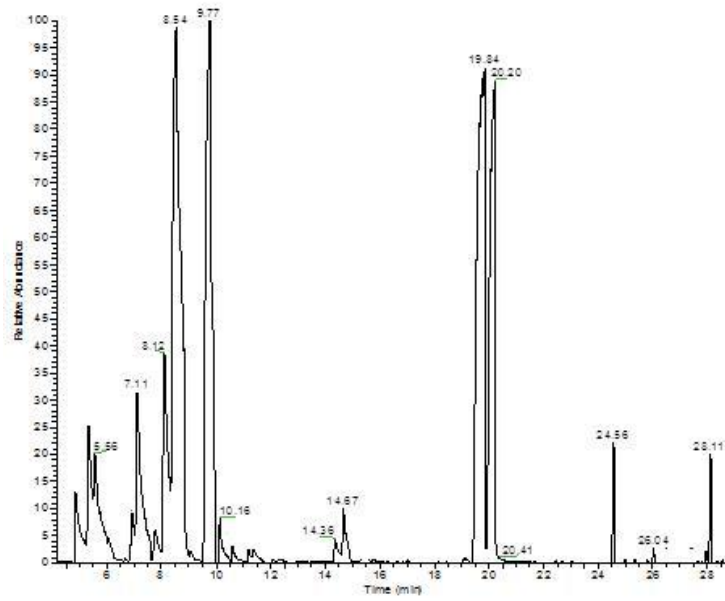


Σχήμα 11: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος μέντας (Χαλκιδική)

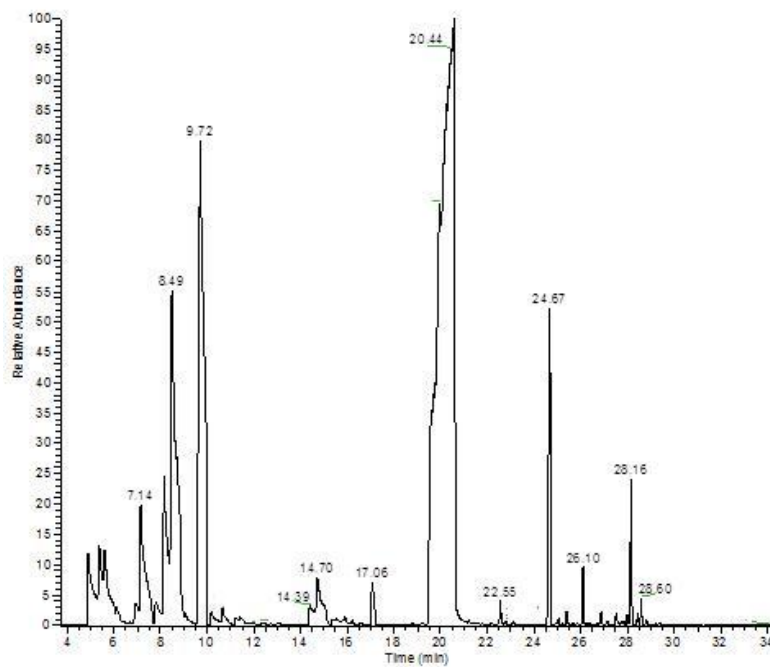
## Γ. ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ ΡΙΓΑΝΗΣ



Σχήμα 12: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου ρίγανης (Αμφιλοχία)

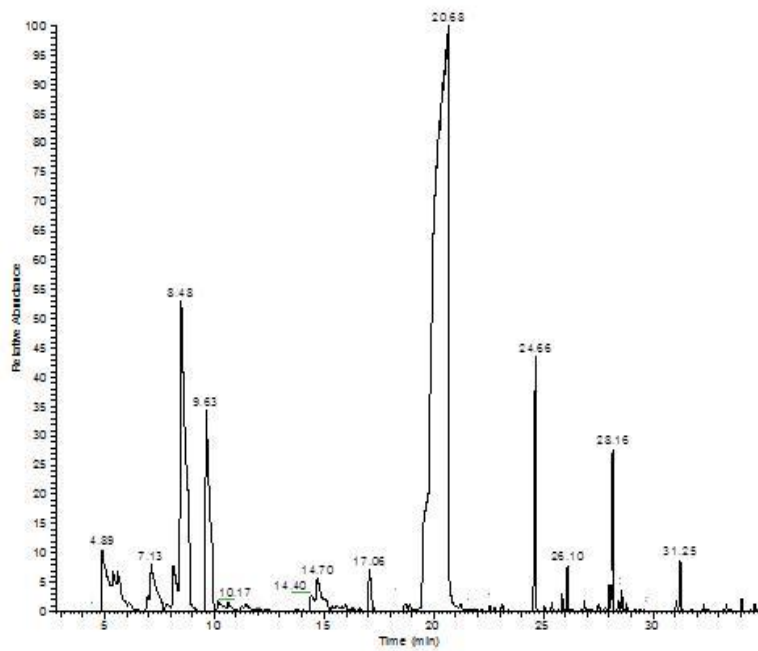


Σχήμα 13: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου ρίγανης (Ηλεία)

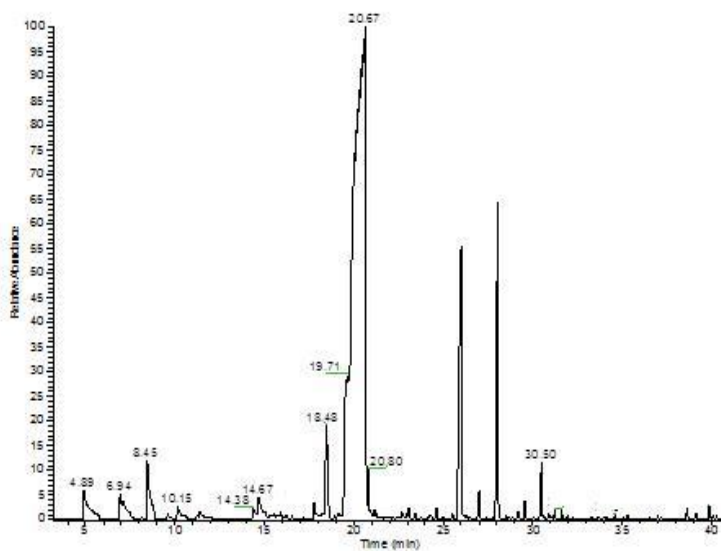


Σχήμα 14: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου ρίγανης (Κοζάνη)

## Παράρτημα

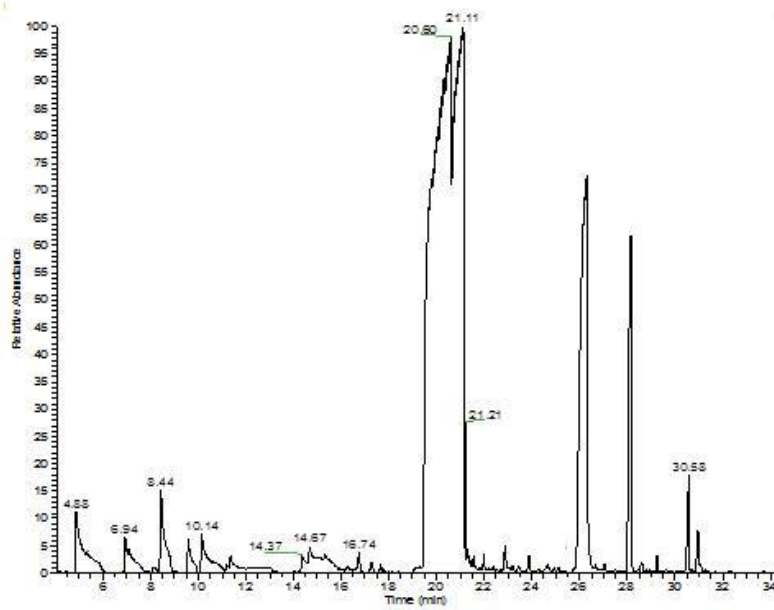


Σχήμα 15: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου ρίγανης (Χαλκιδική)

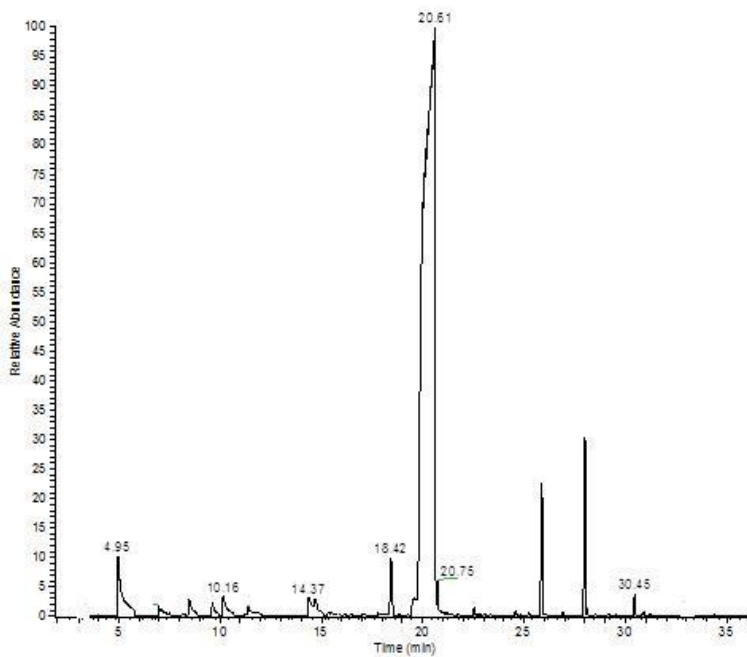


Σχήμα 16: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος ρίγανης (Αμφιλοχία)



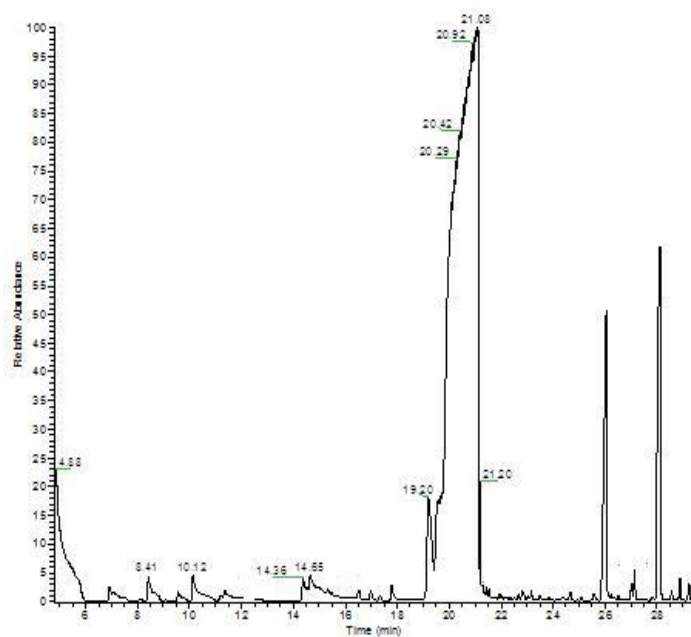


Σχήμα 17: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος ρίγανης (Ηλεία)



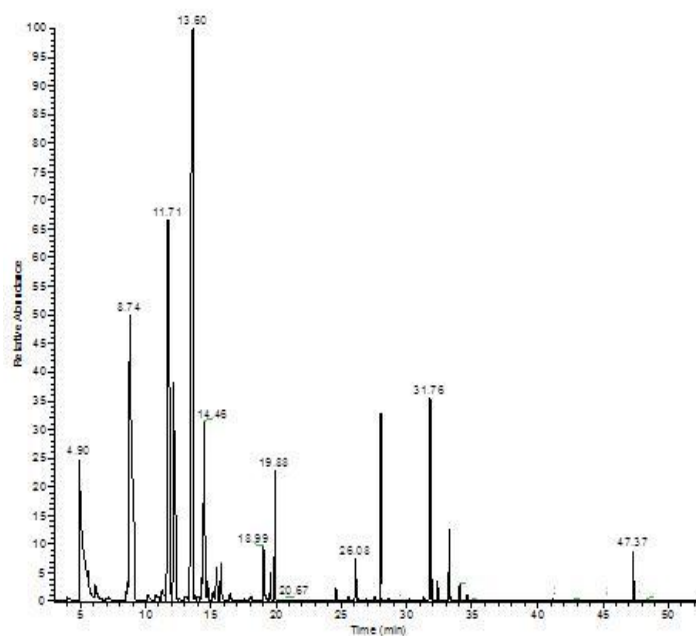
Σχήμα 18: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος ρίγανης (Κοζάνη)

## Παράρτημα

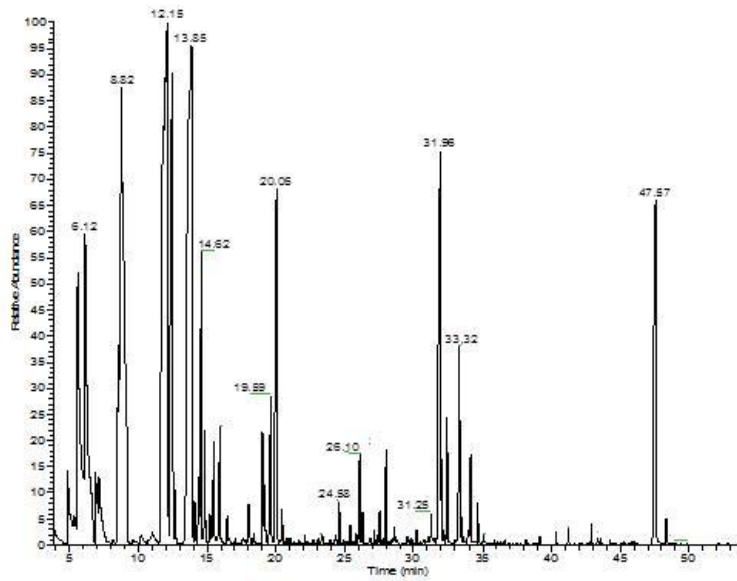


Σχήμα 19: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος ρίγανης (Πιερία)

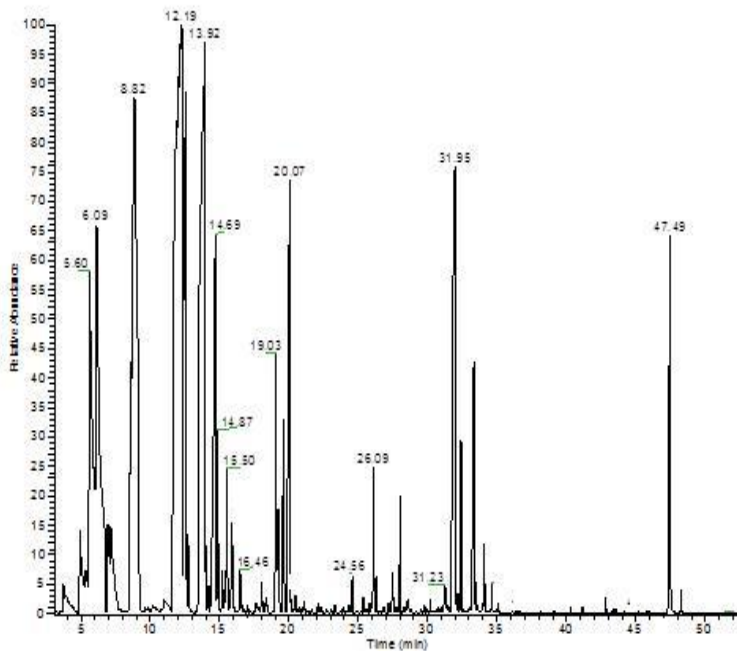
## Δ. ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ ΦΑΣΚΟΜΗΛΟΥ



Σχήμα 20: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου φασκόμηλου (Αγρίνιο, περιοχή Σκουτέρια)

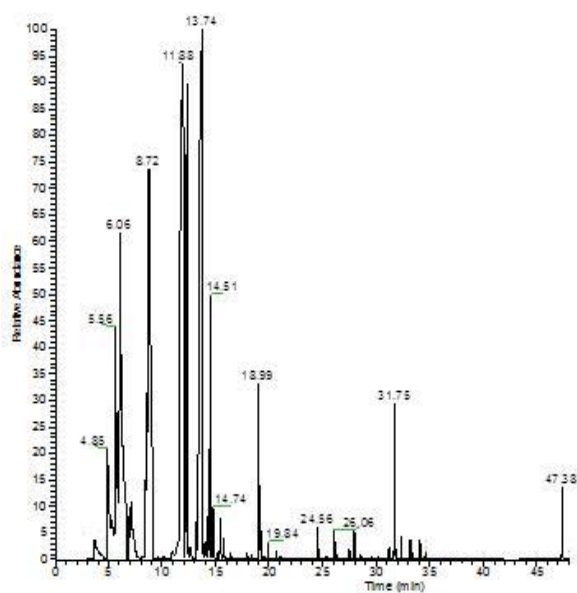


Σχήμα 21: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου φασκόμηλου (Αγρίνιο, περιοχή Αγ.Παρασκευή)

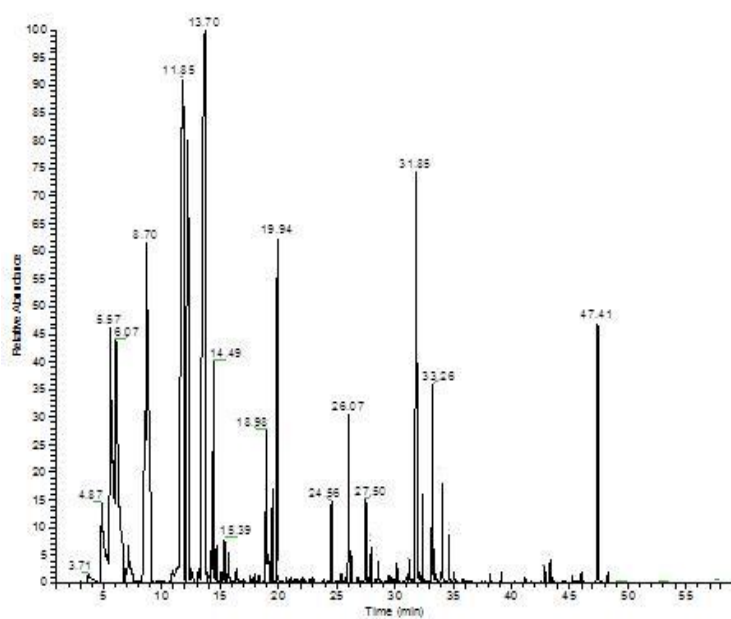


Σχήμα 22: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου φασκόμηλου (Αγρίνιο, περιοχή Γιαννούζι)

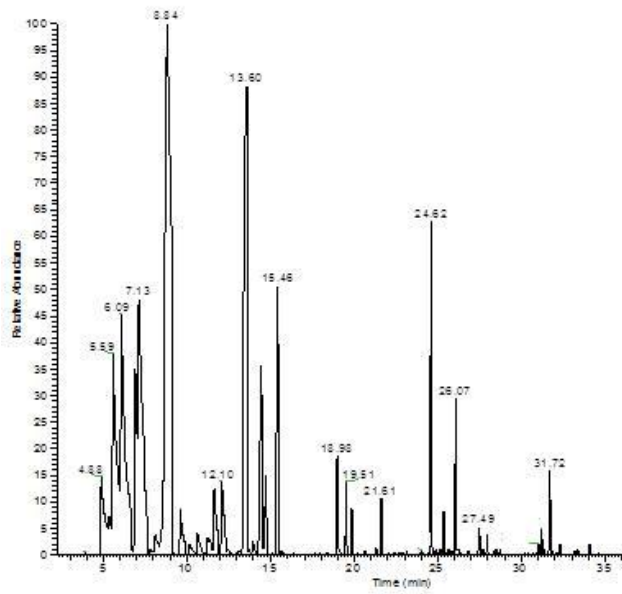
## Παράρτημα



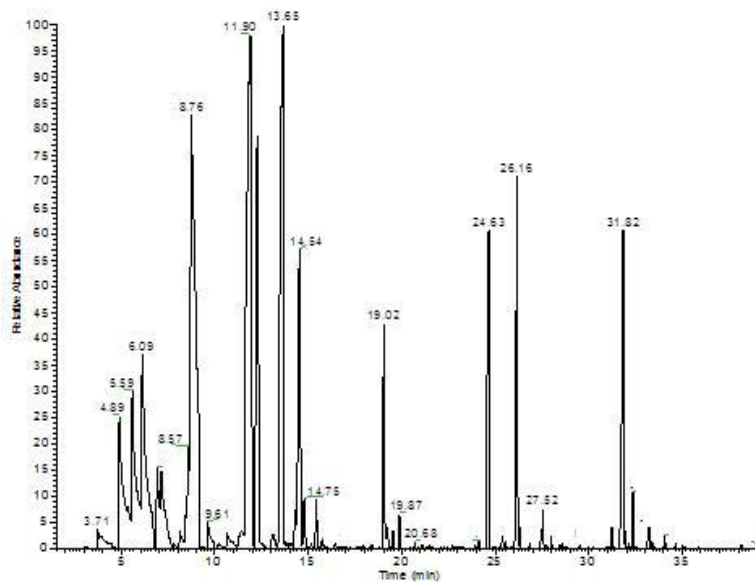
Σχήμα 23: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου φασκόμηλου (Αργίνο)



Σχήμα 24: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου φασκόμηλου (Αμφιλοχία)

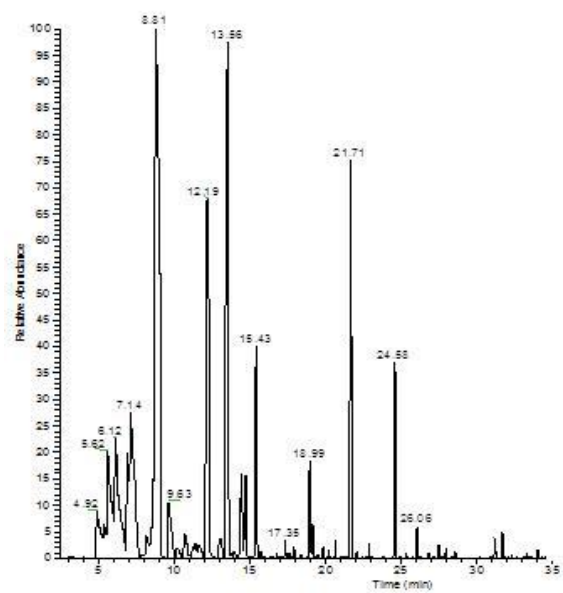


Σχήμα 25: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου φασκόμηλου (Ηλεία)

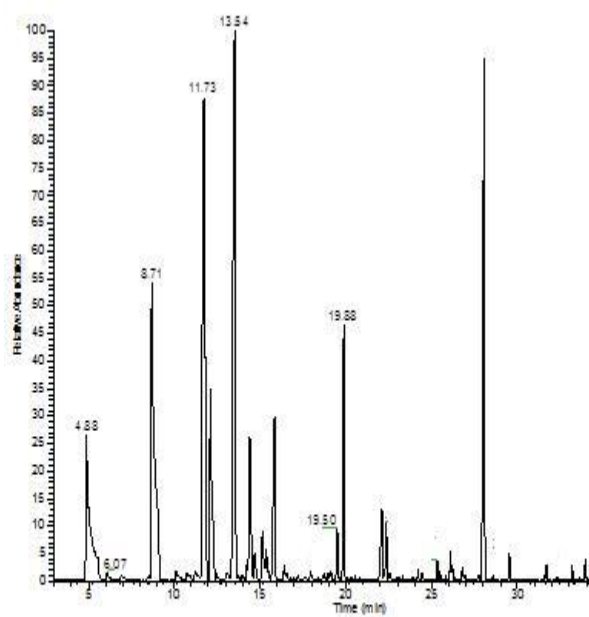


Σχήμα 26: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου φασκόμηλου (Κοζάνη)

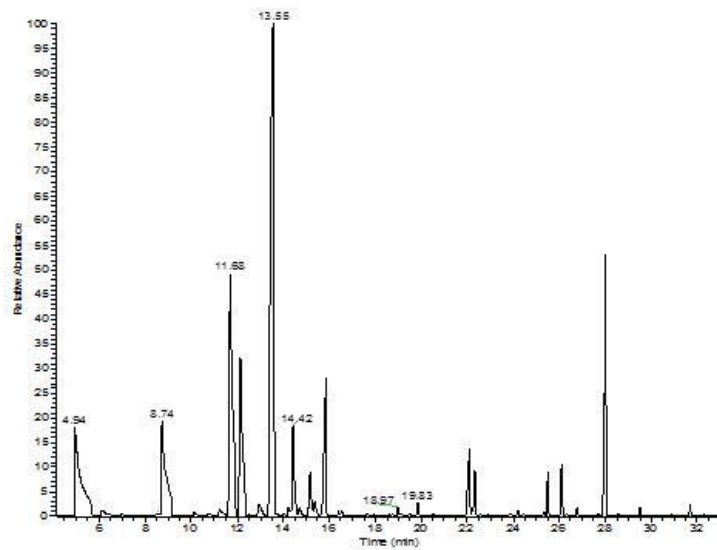
## Παράρτημα



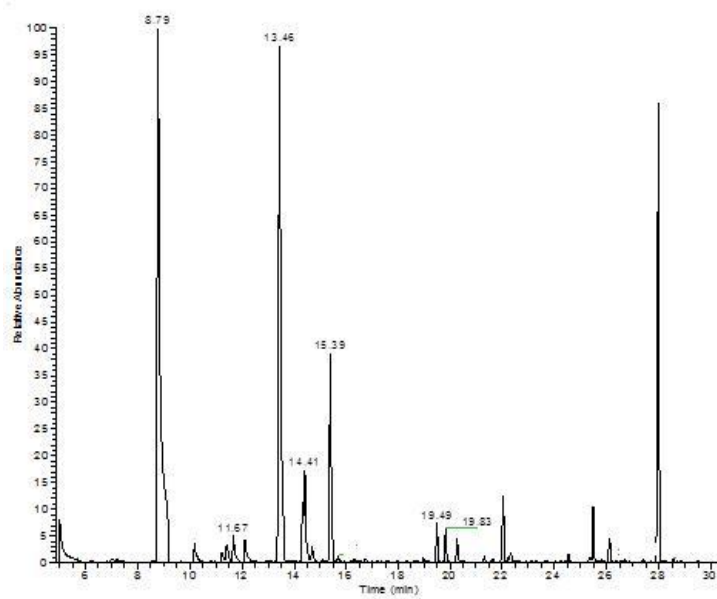
Σχήμα 27: Αέριο χρωματογράφημα συστατικών αιθερίου ελαίου φασκόμηλου (Πιερία)



Σχήμα 28: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφηγήματος φασκόμηλου (Αγρίνιο, περιοχή Γιαννούζι)

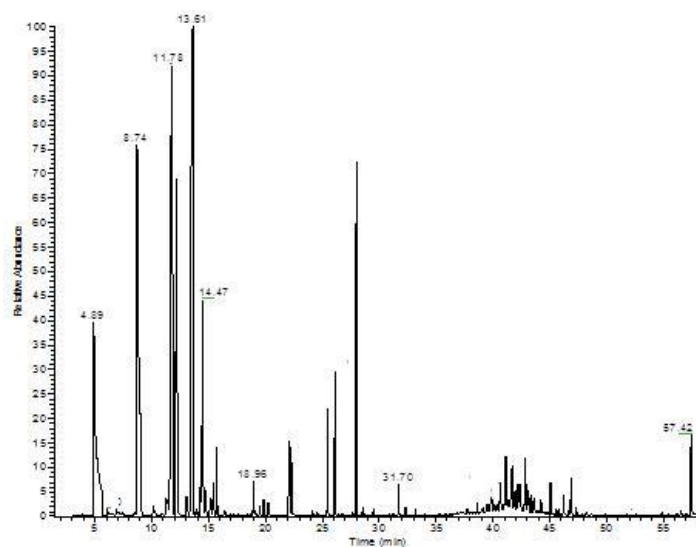


Σχήμα 29: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος φασκόμηλου (Αγρίνιο)

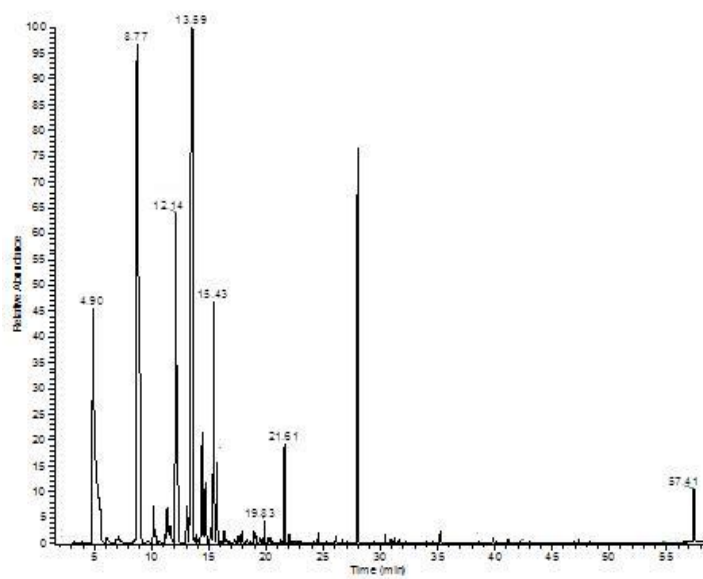


Σχήμα 30: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος φασκόμηλου (Ηλεία)

## Παράρτημα

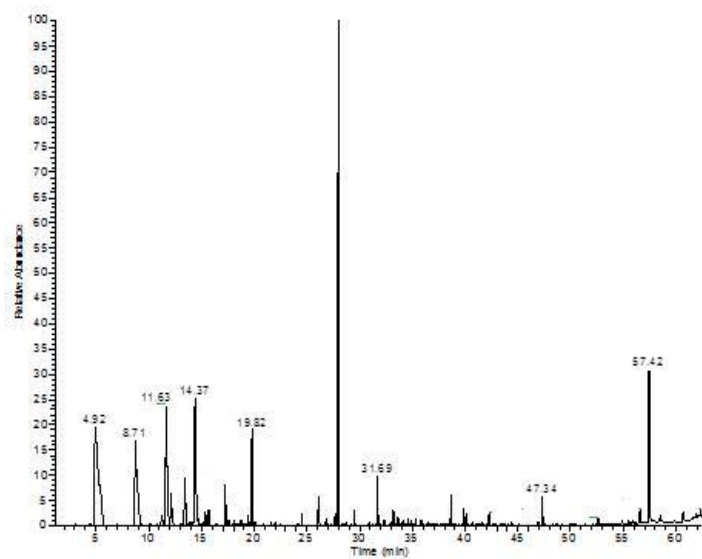


Σχήμα 31: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος φασκόμηλου (Κοζάνη)



Σχήμα 32: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος φασκόμηλου (Πιερία)





Σχήμα 33: Αέριο χρωματογράφημα πτητικών συστατικών αφεψήματος φασκόμηλου (Χαλκιδική)