



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΩΝ
Sideritis raeseri (ΤΣΑΪ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ) ΚΑΙ *Origanum
vulgare* (ΡΙΓΑΝΗ) ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ
ΖΑΓΟΡΙΟΥ**



ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ ΣΤΗΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΤΣΟΥΜΑΝΗ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ
ΧΗΜΙΚΟΣ

Ιωάννινα 2013

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
που εκπονήθηκε στο Τμήμα Χημείας
του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

της
ΤΣΟΥΜΑΝΗ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑΣ
ΧΗΜΙΚΟΥ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Καθηγητής Δεμερτζής Παναγιώτης- Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων-
Επιβλέπων Καθηγητής
Αναπλ. Καθηγήτρια Ακρίδα- Δεμερτζή Κωνσταντούλα-Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων- Μέλος της εξεταστικής επιτροπής
Λέκτορας Μπαδέκα Αναστασία- Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων-
Μέλος της εξεταστικής επιτροπής

Η έγκριση της Διατριβής Μεταπτυχιακής Ειδίκευσης από το τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνωμών της συγγραφέα.

(Ν. 5343/1932, άρθρο 202)

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η ερευνητική αυτή εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με σκοπό την απόκτηση Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης, στο διάστημα 2007-2013. Εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας Τροφίμων υπό την επίβλεψη του Καθηγητή κ. Δεμερτζή Παναγιώτη.

Για την πραγματοποίηση και ολοκλήρωση αυτής της ερευνητικής εργασίας συνέβαλαν αρκετοί άνθρωποι τους οποίους και θα ήθελα να ευχαριστήσω έστω και μέσα από αυτές τις λίγες γραμμές.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω κυρίως τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Δεμερτζή Παναγιώτη, Καθηγητή Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, πρωταρχικά για την ευκαιρία που μου έδωσε, αλλά και για την καθοδήγησή του και την τελική επιμέλεια της διατριβής μου.

Ευχαριστώ επίσης την κ. Ακρίδα-Δεμερτζή Κωσταντούλα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για την επιστημονική συνεργασία και την αμέριστη βοήθειά της.

Ευχαριστώ επίσης το προσωπικό του Εργαστηρίου Χημείας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και ειδικότερα την κα. Μπαδέκα Αναστασία, Λέκτορα Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, που μόνιμα με φιλική διάθεση και πνεύμα συνεργασίας διευκόλυναν τη διεξαγωγή των πειραμάτων. Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τις συναδέλφους μου, Σιούτα Γεωργία, Παρηγορίδη Ιωάννα και κυρίως την Γουρνά Παρασκευή για την πολύτιμη βοήθειά τους και την αμέριστη συμπαράστασή τους στην προσπάθειά μου.

Ιδιαίτερα, ευχαριστώ τους πολυαγαπημένους μου γονείς και την αδερφή μου, Μαρία, που με στήριξαν και με στηρίζουν όλα τα χρόνια της φοιτητικής μου ζωής πάντα με κατανόηση και αγάπη. Τέλος, δεν θα μπορούσα να παραλείψω τους πολύτιμους φίλους μου, που γέμισαν τα φοιτητικά μου χρόνια με όμορφες αναμνήσεις αλλά και με ανεκτίμητες συμβουλές που χωρίς αυτές δεν θα μπορούσε να ολοκληρωθεί με επιτυχία αυτή η προσπάθεια.

*Αφιερωμένο
στον πολυαγαπημένο μου
παππού,
Καπρινιώτη Ηλία,
που πάντα κουβαλούσε
μαζί του όλα τα αρώματα
των βοτάνων
του Ζαγορίου...*

Περιεχόμενα

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	1
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	2
2. ΤΣΑΪ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ (Γένος <i>Sideritis</i>).....	4
2.1 Γενικά.....	4
2.2 Ιστορικά στοιχεία του γένους <i>Sideritis</i>	5
2.3 Βοτανικοί χαρακτήρες του γένους <i>Sideritis</i>	6
2.4 Καλλιέργεια του γένους <i>Sideritis</i>	9
2.5 Χημική σύσταση των φυτών του γένους <i>Sideritis</i>	11
2.5.1. Αιθέρια Έλαια.....	12
2.5.2. Διτερπένια.....	19
2.5.3. Πολυφαινόλες.....	21
3. ΡΙΓΑΝΗ (Γένος <i>Origanum</i>).....	27
3.1 Γενικά.....	27
3.2 Ιστορικά στοιχεία του γένους <i>Origanum</i>	29
3.3 Βοτανικοί χαρακτήρες του γένους <i>Origanum vulgare</i> L.....	30
3.4 Καλλιέργεια του γένους <i>Origanum vulgare</i> L.....	33
3.5 Χημική σύσταση των φυτών του γένους <i>Origanum vulgare</i> L.....	35
3.5.1. Βιολογική δράση του ριγανέλαιου.....	37
4. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ ΑΡΩΜΑΤΟΣ.....	38
4.1 Τεχνική μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME).....	39
4.1.1. Συσκευή SPME.....	39
4.1.2. Ίνες που χρησιμοποιούνται στη μέθοδο SPME.....	40
4.1.3. Μέθοδοι εκχύλισης.....	41
4.1.4. Συνθήκες που επιδρούν στην εφαρμογή της SPME.....	42
4.1.5. Παράγοντες που επιδρούν στην εκρόφηση από την ίνα SPME.....	43
4.2 Αέρια Χρωματογραφία - Φασματοσκοπία Μάζας (GC- MS).....	44
4.2.1. Αέρια Χρωματογραφία (GC).....	44
4.2.2. Φασματοσκοπία Μάζας (MS).....	46
4.3 Ταυτοποίηση των πτητικών συστατικών με τη βοήθεια των δεικτών κατακράτησης Kovats.....	47
5. ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ.....	49
B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	50
1. ΥΛΙΚΑ.....	51
1.1 Δείγματα.....	51
1.2 Αντιδραστήρια.....	52
2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	52
2.1 Ταυτοποίηση των πτητικών συστατικών με τη μέθοδο της SPME σε συνδυασμό με GC/MS.....	52
2.2 Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης.....	53
2.2.1. Χρησιμοποιούμενες ίνες.....	53
2.2.2. Προετοιμασία δειγμάτων.....	53
2.3 Ανάλυση GC/MS.....	54
2.4 Υπολογισμός των δεικτών κατακράτησης Kovats.....	56
2.5 Ημιποσοτικός προσδιορισμός των κυριότερων πτητικών συστατικών με την μέθοδο GC/MS.....	56

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	57
1. Ταυτοποίηση πτητικών συστατικών της ρίγανης και του τσαγιού του βουνού.....	58
Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	100
Ε. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	102
ΣΤ. ABSTRACT.....	103
Ζ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	104

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

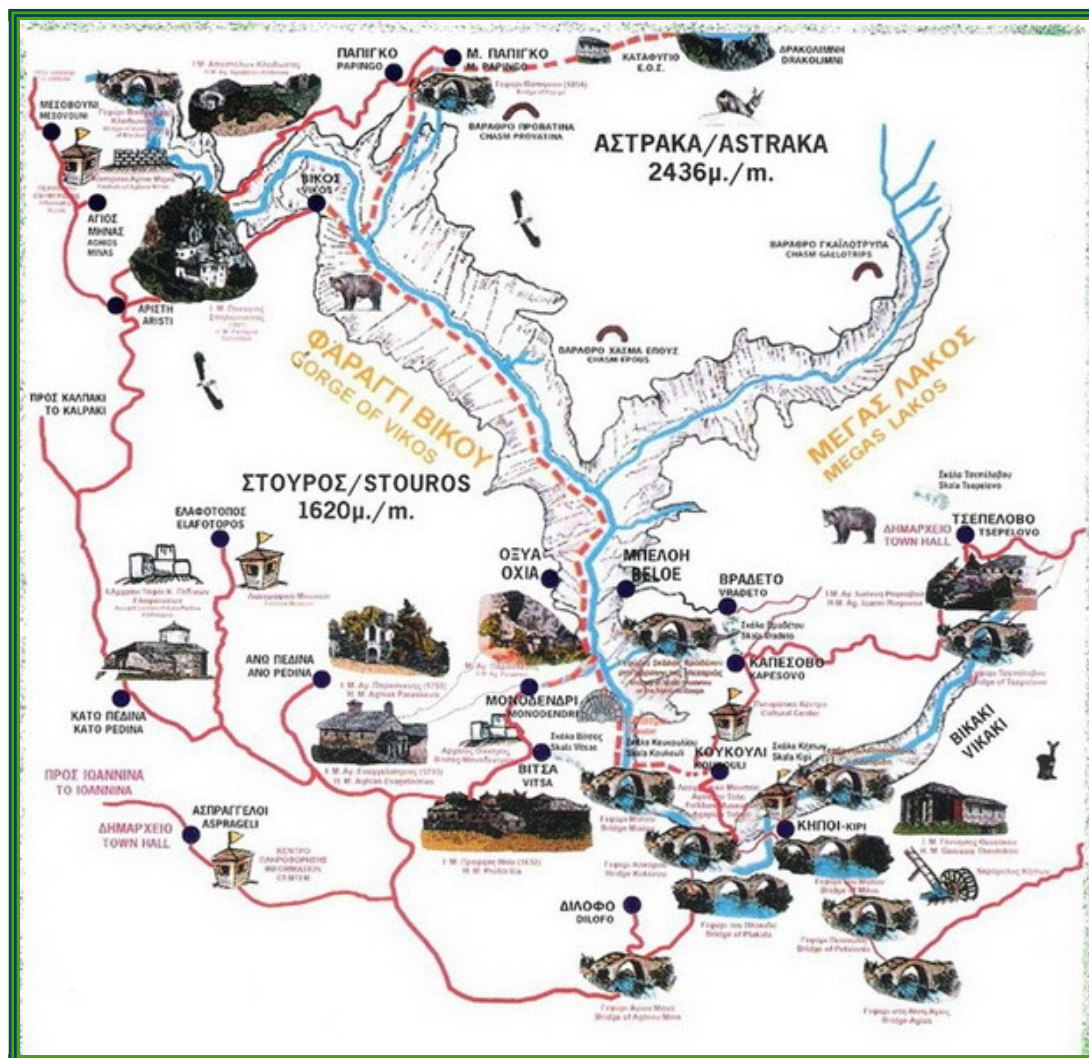
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά κατέχουν ιδιαίτερη θέση ανάμεσα στους ανθρώπους όλων των λαών κι όλων των εποχών. Η χρήση των φυτών ως φάρμακα έχει μακρά και σημαντική ιστορία. Σε όλα τα μέρη του κόσμου οι άνθρωποι ανακάλυψαν και ανέπτυξαν τις θεραπευτικές χρήσεις των ενδημικών φυτών.

Η Ελλάδα είναι χώρα πολύ προνομιούχα από άποψη φυτικού πλούτου. Περίπου 6000 είδη αγγειόφυτων έχουν καταγραφεί στον ελλαδικό χώρο, τα περισσότερα από τα οποία διαθέτουν θεραπευτικές ιδιότητες (*Vokou, Katradi & Kokkini 1993*). Ο Ιπποκράτης (460-377 π.Χ.) ήταν ο πρώτος που θέλησε να ανακαλύψει τα πραγματικά αίτια των ασθενειών, προσπαθώντας να τις θεραπεύσει με μεθόδους που ήταν το αποτέλεσμα συστηματικών ερευνών. Σε αυτή του την προσπάθεια σημαντικό ρόλο έπαιξαν και τα φυτά, καθώς στα σωζόμενα έργα του αναφέρεται -χωρίς ωστόσο να τα περιγράψει- σε 237 διαφορετικά είδη και τις φαρμακευτικές τους ιδιότητες. Με τα αρωματικά φυτά ασχολήθηκαν επίσης ο Θεόφραστος (372-287 π.Χ.) και αργότερα και ο Διοσκουρίδης (1ος μ.Χ. αιώνας), ο οποίος στο περίφημο σύγγραμμά του “*Περί Ὑλης της Ιατρικής*” (γνωστό με τη λατινική ονομασία «*De Materia Medica*»), περιέγραψε τις θεραπευτικές ιδιότητες 600 περίπου φυτών. Ο Ιπποκράτης, ο Θεόφραστος και ο Διοσκουρίδης ήταν επομένως αυτοί που έθεσαν τις βάσεις της μοντέρνας φαρμακευτικής, μελετώντας και καταγράφοντας τις θεραπευτικές ιδιότητες διάφορων φυτών (*Μιχαηλίδης 1997*). Με τον τρόπο αυτό άρχισαν να δημιουργούνται ορισμένα “θεραπευτικά” κέντρα σε διάφορα μέρη του τότε ελλαδικού χώρου. Στα πιο πρόσφατα χρόνια η περιοχή του Ζαγορίου κατέλαβε εξέχουσα θέση ανάμεσα στα κέντρα της εποχής.

Το Ζαγόρι (Εικόνα 1), ή αλλιώς Ζαγοροχώρια, αποτελείται από ένα σύνολο χωριών που βρίσκονται γύρω και μέσα στο χώρο του Εθνικού Δρυμού Βίκου-Αώου. Είναι ορεινή περιοχή που τοποθετείται γεωγραφικά στην βορειοδυτική Ελλάδα (στην Ἡπειρο) και αποτελεί την βορειοδυτική άκρη της οροσειράς της Πίνδου. Σε όλα τα σημεία του Εθνικού Δρυμού εναλλάσσεται το πράσινο της πυκνής βλάστησης με το γκρίζο των απότομων γκρεμών. Η περιοχή αποτελεί καταφύγιο για μεγάλο πλήθος φυτών και βοτάνων. Έχουν καταγραφεί πάνω από 1.700 είδη και υποείδη φυτικών ειδών. Κατά τον 17^ο,

18^ο και 19^ο αιώνα το Ζαγόρι αποτέλεσε ένα από τα πιο διάσημα κέντρα της παραδοσιακής φαρμακευτικής στην Βαλκανική χερσόνησο (Vokou, Katradi & Kokkini 1993).



ΕΙΚΟΝΑ 1: Μερική άποψη του Ζαγορίου.

Η παρούσα εργασία επικεντρώθηκε στον προσδιορισμό των πτητικών συστατικών δύο αρωματικών φυτών -του τσαγιού του βουνού και της ρίγανης- τα οποία είναι άρρηκτα συνυφασμένα με την ελληνική παράδοση και είναι ευρέως διαδεδομένα σε όλο τον ελλαδικό χώρο. Τα φυτά αυτά συλλέχθηκαν από την περιοχή του Ζαγορίου, όπου συναντώνται τα είδη *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. *Raeseri* (Τσάι του βουνού) και *Origanum vulgare* L. (Martin-Donos) Nyman (Ρίγανη) (Hanlidou & Kokkini 1997).

2. ΤΣΑΪ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ (Γένος *Sideritis*)

2.1 Γενικά

Το ελληνικό τσάι του βουνού ανήκει στο γένος *Sideritis* και στην οικογένεια των χειλανθών (*Lamiaceae*) (Εικόνα 2). Η οικογένεια των χειλανθών (*Lamiaceae*) περιλαμβάνει περισσότερα από 240 γένη και 6500 είδη παγκοσμίως (<http://greekads.com>). Αποτελείται από πολλά γνωστά φυτά, βότανα, θάμνους και δέντρα, τα οποία ποικίλλουν από ψηλά δέντρα, όπως το είδος *Tectona grandis*, έως τα αρωματικά και φαρμακευτικά είδη όπως το φασκόμηλο (*Salvia*), το θυμάρι (*Thymus*), η μέντα (*Mentha*), η ρίγανη (*Origanum*), το δεντρολίβανο (*Rosmarinus*), η λεβάντα (*Lavandula*), ο βασιλικός (*Ocimum*) και το τσάι του βουνού (*Sideritis*).

Το επιστημονικό του όνομα, *Sideritis*, προέρχεται από την ελληνική λέξη σίδηρος που κατά μια εκδοχή δόθηκε στο φυτό αυτό, λόγω της ικανότητάς του να θεραπεύει πληγές που προκαλούνται από σιδερένια αντικείμενα ή, κατά μια άλλη εκδοχή, επειδή το σχήμα των δοντιών του κάλυκα μοιάζει με αιχμή λόγχης (Χατζοπούλου 1962). Μια νέα αληθοφανής ετυμολογική ερμηνεία δίνεται από τους *Floca et al.* (1981), κατά την οποία το όνομα *Sideritis* δόθηκε γιατί η ξηρή δρόγη του φυτού περιέχει σίδηρο σε μεγάλο ποσοστό και κατά συνέπεια μεταφέρεται και στο αφέψημά του.

Το γένος *Sideritis* περιλαμβάνει περίπου 140 γνωστά είδη (*Tutin et al.* 1972, *Contandriopoulos* 1978, *Papanikolaou & Kokkini* 1982, *Baden* 1991), από τα οποία μόνο τα δέκα είναι ετήσια. Τα ετήσια είδη είναι ενδημικά της περιοχής που εκτείνεται από την ανατολική Μεσόγειο έως την Αρμενία και τη Μέση Ανατολή, ενώ τα πολυετή είναι ενδημικά των ορεινών περιοχών της Ελλάδος, της Τουρκίας, της Συρίας, της Βόρειας Αφρικής, των Καναρίων Νήσων και της Μαδέρας (*Barber et al.* 2002). Τα κυριότερα είδη στην Ελλάδα, είναι: (1) *Sideritis athoa* (Αθως), (2) *Sideritis scardica* (Όλυμπος), (3) *Sideritis raeseri* (Παρνασσός), (4) *Sideritis clandestina* (Ταΰγετος), (5) *Sideritis euboica* (Εύβοια) και (6) *Sideritis syriaca* (Κρήτη) (*Papanikolaou & Kokkini* 1982).



(1) *Tectona grandis*

(2) *Salvia*

(3) *Mentha*



(4) *Thymus*

(5) *Rosmarinus*

(6) *Origanum*

ΕΙΚΟΝΑ 2: Φυτά της οικογένειας Lamiaceae.

2.2 Ιστορικά στοιχεία του γένους *Sideritis*

Το φυτό σιδερίτης ήταν γνωστό στον ελλαδικό χώρο από την αρχαιότητα. Η πρώτη γραπτή αναφορά σε αυτό έγινε από τον Θεόφραστο τον Ερέσιο (372-287 π.Χ.), τον πρώτο αρχαίο Έλληνα που ασχολήθηκε ιδιαίτερα με τα φαρμακευτικά φυτά (*“Περί φυτών ιστορίαι”*, *“Περί φυτών αιτίαι”*). Ο Θεόφραστος υπήρξε μαθητής του Πλάτωνα και του Αριστοτέλη και θεωρείται πατέρας της Βοτανικής.

Τον 1ο αιώνα μ.Χ., ο Πεδάνιος Διοσκουρίδης (40-90 μ.Χ.), σημαντικός βοτανολόγος και φαρμακολόγος της εποχής, αναφέρει στο έργο του *«De Materia Medica»* τρία είδη σιδερίτη (Έκδοση Wellmann 1958). Η περιγραφή ωστόσο, των φυτών αυτών αποδεικνύει ότι δεν πρέπει να σχετίζονται με τα είδη του γένους *Sideritis* που είναι γνωστά σήμερα. Η πρώτη επιστημονική περιγραφή των φυτών του γένους *Sideritis*, επομένως, φαίνεται να αποδίδεται, σύμφωνα με τους μελετητές, στον Σουηδό βοτανολόγο Κάρολο Λινναίο (1707-1778 μ.Χ.). Αργότερα, οι Webb και Berthelot (1836) κατέταξαν τα φυτά του

είδους αυτού σε ξεχωριστό γένος, το οποίο και ονόμασαν *Leucophaea*. Ωστόσο, μια δεκαετία περίπου αργότερα, το 1848, ο *Bentham* τα κατέταξε εκ νέου, σε ένα υπογένος του γένους *Sideritis*, το οποίο ονόμασε *Marrubiastrum* (*Mendoza-Heuer* 1977). Τέλος, οι *Mendoza-Heuer* πρότειναν την συστηματική διάκριση των εν λόγω φυτών σε δύο υπογένη, το υπογένος *Sideritis* και το υπογένος *Marrubiastrum*, όπου μπορούν να καταταχθούν τα διάφορα είδη που απαντώνται στις παραμεσόγειες περιοχές και στα Κανάρια Νησιά.

2.3 Βοτανικοί χαρακτήρες του γένους *Sideritis*

Τα φυτά τα οποία ανήκουν στο γένος *Sideritis* είναι δικοτυλήδονα και όπως έχει ήδη αναφερθεί, ανήκουν στην οικογένεια των χειλανθών (*Lamiaceae*). Τα κυριότερα είδη που απαντούν στην Ελλάδα (Εικόνα 3), είναι:

1. *Sideritis athoa Papanikolaou & Kokkini* (Τσάι Βλάχικο). Είναι πολυετής πόα με ύψος που μπορεί να φτάσει και τα 40 cm και καλύπτεται ολόκληρη από μικρές αδενώδεις τρίχες. Ο βλαστός της είναι ξυλώδης στη βάση του, αρκετά ευθύς, ενώ συναντάται απλός ή και με διακλαδώσεις. Τα φύλλα του έχουν χρώμα ανοιχτό πράσινο ή κιτρινοπράσινο και έχουν σχήμα λόγχης. Έχει κωδωνοειδή κάλυκα που καλύπτεται με αδένες και τα πέταλα του άνθους της έχουν κίτρινο χρώμα. Αυτοφύεται στον Άθω, στην Πίνδο και στα ορεινά μέρη της Σαμοθράκης.

2. *Sideritis clandestina Chaub. & Bory* (Τσάι του Μαλεβού ή τσάι Ταύγετου). Είναι επίσης πολυετής πόα με ύψος που μπορεί να φτάσει τα 40 cm, με βλαστό ξυλώδη στη βάση του, απλό ή διακλαδισμένο. Τα φύλλα του είναι χνουδωτά, σταχτόχροα, επιμήκη-λογχοειδή, ακέραια ή πριονωτά, τα κατώτερα με μίσχο και τα ανώτερα επιφυή ή με μίσχο. Έχει κωδωνοειδή κάλυκα που καλύπτεται από πυκνές τρίχες και τα πέταλα του άνθους έχουν κίτρινο χρώμα. Αυτοφύεται στις υπαλπικές και αλπικές περιοχές του Μαλεβού, του Ταύγετου και της Κυλλήνης.

3. *Sideritis scardica Griseb.* (Τσάι του Ολύμπου). Διαθέτει παρόμοια χαρακτηριστικά με τα παραπάνω είδη. Τα φύλλα του έχουν πράσινο χρώμα και είναι λογχοειδή, ακέραια ή ελαφρώς πριονωτά, με λευκό χνούδι, τα κατώτερα έμμισχα, ενώ τα ανώτερα άμισχα. Ο κάλυκας είναι ελαφρώς κωδωνοειδής, καταλήγει οδοντωτός και καλύπτεται από πυκνές τρίχες. Τα

πέταλα του άνθους έχουν ζωηρό κίτρινο χρώμα. Αυτοφύεται σε βραχώδη εδάφη της υπαλπικής ζώνης του Ολύμπου, του Κισάβου, του Πηλίου και του Σκάρδου.

4. *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. (Τσάι του Παρνασσού ή τσάι του Βελουχιού). Επίσης πολυετής πόα με ύψος που μπορεί να φτάσει τα 40 cm, με λεπτό, χνουδωτό βλαστό, συνήθως απλό και σπάνια διακλαδισμένο. Έχει στενά, λογχοειδή φύλλα, τα κατώτερα με μίσχο και τα ανώτερα άμισχα. Έχουν πράσινο ως ασπροπράσινο χρώμα και είναι ή ακέραια ή ελαφρώς πριονωτά. Ο κάλυκας έχει ασπροπράσινο χρώμα και καταλήγει οδοντωτός, ενώ τα πέταλα του άνθους έχουν κίτρινο χρώμα. Αυτοφύεται στον Παρνασσό, τον Τυμφρηστό (Βελούχι) και σε άλλα βουνά της Αιτωλίας, Δωρίδας και Φθιώτιδας.

5. *Sideritis syriaca* L., *S. cretica* Boiss, *S. boissieri* Magn. (Τσάι της Κρήτης) γνωστό ως μαλοτήρα ή καλοκοιμηθιά. Πολυετής πόα που μπορεί να φτάσει τα 50 cm. Έχει ισχυρό βλαστό, τετράγωνο, ευθύ και απλό, που καλύπτεται από πυκνό, λευκό χνούδι. Τα φύλλα του έχουν ασπροπράσινο χρώμα, σκεπάζονται με πυκνό χνούδι, επιμήκη-λογχοειδή, ακέραια ή πριονωτά, τα κατώτερα με μίσχο και τα ανώτερα άμισχα. Έχει σωληνοειδή κάλυκα που καταλήγει σε δόντια, ενώ σκεπάζεται από μακρύ, πυκνό τρίχωμα. Τα πέταλα του άνθους έχουν κίτρινο χρώμα. Αυτοφύεται στα βουνά της Κρήτης (κυρίως στα Λευκά Όρη και τον Ψηλορείτη), σε υψόμετρο 1300-2000 m.

6. *Sideritis euboea* Heldr. (Τσάι της Εύβοιας ή τσάι απ' το Δέλφι). Πολυετής πόα, με ύψος 30-50 cm, που καλύπτεται ολόκληρη με πυκνό, λευκό χνούδι. Διαθέτει ισχυρό βλαστό, αποξυλωμένο προς τη βάση, απλό ή μερικές φορές διακλαδισμένο. Τα φύλλα του έχουν και αυτά πυκνό χνούδι, είναι επιμήκη και τα κατώτερα είναι με μίσχο. Έχει σωληνοειδή, χνουδωτό κάλυκα ο οποίος καταλήγει σε δόντια. Τα πέταλα του άνθους έχουν κίτρινο χρώμα. Αυτοφύεται σε αφθονία στο βουνό Δίρφου, σε υψόμετρο 1000-1500 m και στο Ξεροβούνι της Εύβοιας, σε υψόμετρο 1400 m.

(*Paranikolaou & Kokkini 1982*)



1. *Sideritis athoa*
Papanikolaou & Kokkini



2. *Sideritis clandestina*
Chaub. & Bory



3. *Sideritis scardica*
Griseb.



4. *Sideritis raeseri*
Boiss. & Heldr.



5. *Sideritis syriaca* L.



6. *Sideritis euboea* Heldr.

ΕΙΚΟΝΑ 3: Τα κυριότερα είδη του γένους *Sideritis* που απαντούν στον ελλαδικό χώρο.

Το τσάι του βουνού χρησιμοποιήθηκε και χρησιμοποιείται ευρύτατα από τους λαούς της Μεσογείου ως αφέψημα, ενώ είναι πολύ διαδεδομένο και δημοφιλές και στην Ελλάδα. Είναι χαρακτηριστικό παραδοσιακό ρόφημα με πολλές ευεργετικές ιδιότητες. Πέρα από την ευχάριστη γεύση του, έχει ιδιαίτερο άρωμα και χαρακτηριστικό κίτρινο ή καφέ-κίτρινο χρώμα.

Το εκχύλισμα των φυτών του γένους *Sideritis*, βρίσκει τις εξής εφαρμογές στην παραδοσιακή θεραπευτική (Aligiannis et al. 2001):

- ✓ ως τονωτικό, αντιβακτηριακό, αντιμυκητιακό, αντιμικροβιακό, αναλγητικό, αντιφλεγμονώδες, αντιοξειδωτικό.

- ✓ σε περιπτώσεις κρυολογήματος, οιδήματος, καθώς και για την καλή λειτουργία του αναπνευστικού συστήματος.

Η εκτεταμένη κατανάλωση του γένους *Sideritis* ως παραδοσιακό ρόφημα έχει δημιουργήσει την ανάγκη για καλλιέργεια του φυτού, καθώς η αυτοφυής παραγωγή του δεν είναι αρκετή για να καλύψει τις αυξημένες ανάγκες. Για το λόγο αυτό, τα φυτά του γένους *Sideritis* καλλιεργούνται τα τελευταία χρόνια σε χαμηλής γονιμότητας λοφώδεις και ορεινές περιοχές και σε υψόμετρο άνω των 1000 m (Goliaris 1984).

2.4 Καλλιέργεια του γένους *Sideritis*

Όπως αναφέρθηκε, το τσάι του βουνού αυτοφύεται σε υψόμετρο πάνω από 1000 m, σε υπαλπικές και αλπικές περιοχές.

◆ Έδαφος.

Προτιμά κυρίως τα βραχώδη και ασβεστολιθικά εδάφη. Ορισμένα είδη αναπτύσσονται σε ρωγμές ή σε κοιλάματα ασβεστολιθικών βράχων, όπου είναι δυνατό να σταματά το χώμα, ενώ άλλα είδη, σε εδάφη γεμάτα με ασβεστολιθικά συντρίμματα (χαλίκια) και τέλος, άλλα αναπτύσσονται σε πετρώδεις περιοχές, είτε μεμονωμένα, είτε σε φυτοκοινωνίες. Ως καλλιεργούμενο φυτό χαρακτηρίζεται ιδιαίτερα ανθεκτικό στις κλιματικές συνθήκες, καθώς αντέχει αρκετά σε χαμηλές θερμοκρασίες και δεν έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις όσον αφορά τις εδαφικές συνθήκες. Για να αποφευχθεί η υποβάθμιση της ποιότητάς του και κατά συνέπεια της τιμής του, πρέπει κατά την καλλιέργειά του να εξασφαλίζονται συνθήκες ανάπτυξης όμοιες με τις φυσικές, ειδικά όσον αφορά το υψόμετρο και το έδαφος.

◆ **Πολλαπλασιασμός.**

Όλα τα είδη που αναφέρθηκαν παραπάνω πολλαπλασιάζονται με δύο τρόπους: α) Εγγενώς (με σπόρο) και β) Αγενώς (με παραφυάδες).

α) Εγγενώς: Ο σπόρος μαζεύεται είτε από το αυτοφυόμενο, είτε από το καλλιεργούμενο τσάι του βουνού. Είναι σημαντικό τα φυτά από τα οποία θα ληφθούν οι σπόροι να είναι υγιή και εύρωστα. Επίσης, θα πρέπει να γίνει αποτελεσματικά η γονιμοποίηση των ανθέων και η ωρίμανση του σπόρου. Οι ταξιανθίες μαζεύονται, ξηραίνονται και έπειτα γίνεται η συγκομιδή του σπόρου με χτύπημα των σποροποιημένων ταξιανθιών (κυρίως μεσημεριανές ώρες για ελαχιστοποίηση της υγρασίας). Ένα γραμμάριο περιέχει περίπου 600 σπόρους. Θεωρητικά, 7g σπόρου είναι αρκετά για να καλύψουν καλλιέργεια φυτών ενός στρέμματος. Πρακτικά όμως, κυρίως για λόγους μειωμένης βλαστικής ικανότητας και απώλειας κατά το φύτεμα των σπόρων, γίνεται χρήση περίπου 15g σπόρου για κάθε στρέμμα. Η ποσότητα αυτή σπέρνεται σε έκταση 5 m² (συνήθως Αύγουστο μέχρι αρχές Οκτώβρη). Η σπορά και οι καλλιεργητικές φροντίδες του σπορείου είναι όμοιες με του καπνού ή της ντομάτας. Ο σπόρος πρέπει να σπέρνεται αραιά, για να επιτευχθεί η αραιή ανάπτυξη των φυτών και ο καλός αερισμός τους. Τα σπορόφυτα μεταφυτεύονται όταν αποκτήσουν 4-6 φύλλα.

β) Αγενώς με παραφυάδες: Ένα αυτοφυές φυτό του γένους *Sideritis*, μετά το δεύτερο έτος ζωής του, δίνει αρκετές παραφυάδες, δηλαδή βλαστούς που διαθέτουν λίγες ρίζες στη βάση. Ένα καλλιεργούμενο φυτό του γένους αυτού, ωστόσο, είναι ικανό να δώσει πολύ περισσότερες παραφυάδες από ένα αυτοφυές φυτό. Όταν οι παραφυάδες αφαιρεθούν από τα μητρικά φυτά, φυτεύονται στο χωράφι όπως και τα φυτά των σπορειών.

(*Goliaris 1995*)

◆ Συγκομιδή.

Η συγκομιδή γίνεται συνήθως τον Ιούλιο, κατά το στάδιο της πλήρους άνθισης των φυτών. Στη συγκομιδή, η ταξιανθία κόβεται ολόκληρη με τη χρήση μαχαιριού ή δρεπανιού, καθώς και μικρό μέρος του βλαστού (μήκους 5-6 cm). Στη συνέχεια, μεταφέρεται για ξήρανση σε κατάλληλα υπόστεγα, ώστε να αποκτήσει το πρασινοκίτρινο χρώμα που θεωρείται και το ιδανικότερο. Αν η ξήρανση δεν γίνει κάτω από τις πρέπουσες συνθήκες, τα φυτά είναι δυνατόν να αποχρωματιστούν (ξασπρίσουν), με αποτέλεσμα την σημαντική υποβάθμιση της ποιότητά τους. Συνήθως, κατά την ξήρανση, τα φυτά χωρίζονται σε μικρά δεματάκια (ματσάκια), τα οποία κρεμιούνται στα υπόστεγα. Μετά την ξήρανση ένα δεματάκι ζυγίζει περίπου 80g. Τέλος, συσκευάζονται σε μεγαλύτερα δεμάτια και φυλάσσονται στη μορφή αυτή μέχρι και την διάθεσή τους στο εμπόριο σε καλά αεριζόμενες αποθήκες (Goliaris 1984).

Τα τελευταία χρόνια λόγω της σημαντικής μείωσης του πληθυσμού των φυτών του γένους, γίνονται προσπάθειες ελεγχόμενης συγκομιδής του φυτού, κυρίως με στόχο την αποτροπή της εκρίζωσης του φυτού.

2.5 Χημική σύσταση των φυτών του γένους *Sideritis*

Κατά καιρούς έχουν γίνει μελέτες τόσο σε φυτικά εκχυλίσματα του γένους *Sideritis*, όσο και σε χημικές ενώσεις που απομονώθηκαν από αυτά, για να εκτιμηθούν οι διάφορες θεραπευτικές του ιδιότητες.

Το εκχύλισμα των φυτών του γένους *Sideritis* περιέχει τρεις βασικές κατηγορίες ενεργών συστατικών:

- Αιθέρια έλαια
- Διτερπένια
- Πολυφαινόλες

(Aligiannis et al. 2001)

2.5.1. Αιθέρια Έλαια

I. Γενικά χαρακτηριστικά

Είναι γνωστό εδώ και αιώνες ότι κατά τη συναπόσταξη ορισμένων φυτικών ιστών με ατμό -τεχνική που ονομάζεται *απόσταξη με υδρατμούς*- παράγονται υγρά μίγματα με ευχάριστη οσμή, γνωστά ως αιθέρια έλαια (McMurry 2002). Η περιεκτικότητά τους στα φυτά έχει βρεθεί ότι κυμαίνεται από 0,01-5%. Κάθε φυτό ή βότανο ή δέντρο φαίνεται να έχει το δικό του αιθέριο έλαιο. Είναι δε αυτό που δίνει το χαρακτηριστικό άρωμα στο εκάστοτε φυτό (Πολυσίου 2002). Το μέρος του φυτού που χρησιμοποιείται για την εξαγωγή του αιθέριου ελαίου ποικίλλει και μπορεί να είναι άνθη, φύλλα, κλώνοι, καρποί, ρίζα, ρετσίνι, φλοιός, ή ακόμα και ο συνδυασμός κάποιων από αυτά.

Τα αιθέρια έλαια είναι γνωστά εδώ και χιλιάδες χρόνια. Οι αρχαίοι πολιτισμοί της Μεσοποταμίας, περισσότερο από 5000 χρόνια πριν, διέθεταν μηχανήματα για να λαμβάνουν τα αιθέρια έλαια από τα φυτά. Αυτές οι ενώσεις αποτελούσαν την πρωταρχική πηγή των αρωμάτων για τους αρχαίους πολιτισμούς της Αιγύπτου, της Ινδίας, της Ελλάδος και της Ρώμης (Λιναρδάκη 2007). Την εποχή του Ιπποκράτη, τα αιθέρια έλαια είχαν ευρύτατη εφαρμογή στην καθημερινή ζωή, καθώς χρησιμοποιούνταν τόσο για θεραπευτικούς, όσο και για καλλωπιστικούς σκοπούς. Οι Αιγύπτιοι χρησιμοποιούσαν αιθέρια έλαια στην ιατρική, στην τελετουργία, αλλά και στην ταρίχευση των νεκρών, ενώ οι ιερείς γνώριζαν για τις ευεργετικές τους ιδιότητες ενάντια στην κατάθλιψη και τη μανία (<http://aitheria-elea.blogspot.gr>).

Τα αιθέρια έλαια παράγονται πλέον με εφαρμογή ποικίλων τεχνικών. Οι κυριότερες μέθοδοι απομόνωσής τους είναι η απόσταξη, η εκχύλιση και η μηχανική έκθλιψη του φυτικού υλικού. Η απόσταξη χρησιμοποιεί νερό και ατμό για την απομόνωση των ελαίων από τα αποξηραμένα ή φρέσκα φυτά, ενώ οι μέθοδοι έκθλιψης χρησιμοποιούν μηχανήματα για την παραλαβή του ελαίου από το φυτό (Σουλελές 2000, Bicchi 2000). Άλλες τεχνικές χρησιμοποιούν αλκοόλες ή άλλους οργανικούς διαλύτες για την απομόνωση των ελαίων από το φυτό.

Τα αιθέρια έλαια των φυτών έχουν τρεις βασικές εμπορικές χρήσεις:

α) ως αρωματικά σε αρώματα, σαπούνια, απορρυπαντικά, καλλυντικά και άλλα προϊόντα,

β) ως καρκεύματα σε διάφορα τρόφιμα και

γ) ως φαρμακευτικά σε οδοντικά προϊόντα και σε πολλά φάρμακα (αρωματοθεραπεία).

Η αρωματοθεραπεία αποτελεί έναν τύπο εναλλακτικής θεραπευτικής, στον οποίο οι θεραπευτικές επιδράσεις αποδίδονται στα αιθέρια έλαια. Πολλά κοινά αιθέρια έλαια έχουν φαρμακευτικές ιδιότητες, που είναι γνωστές από την αρχαιότητα. Για παράδειγμα, πολλά έλαια έχουν αντισηπτικές ιδιότητες. Επιπλέον η επιστημονική έρευνα έχει απομονώσει εκατοντάδες χημικές ενώσεις από τα αιθέρια έλαια, οι οποίες επιδεικνύουν αντιβακτηριακή, αντιμυκητιακή και αντιπαρασιτική δράση. Τα αιθέρια έλαια μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την γρήγορη και αποτελεσματική βελτίωση της διάθεσης, μειώνοντας το στρες και ευνοώντας τη χαλάρωση (Λιναρδάκη 2007).

Υπάρχουν αρκετές υποθέσεις σχετικά με το ρόλο των αιθέριων ελαίων στα φυτά (Rangahau 2001). Ορισμένες από τις ευεργετικές επιδράσεις που έχουν περιγραφεί είναι:

- Επιτυγχάνεται καλύτερη γονιμοποίηση και διασταύρωση των μη αυτογονιμοποιούμενων φυτών, καθώς το άρωμα των ανθέων που διαχέεται στο περιβάλλον προσελκύει τα έντομα (Σκρουμπής 1985).

- Προστασία των φυτών από τα έντομα και τα παράσιτα, αφού λόγω του αρώματός τους εμποδίζουν την εγκατάστασή τους στα φυτικά όργανα (Levin 1976, Bryant et al. 1991).

- Προστασία των φυτών από τις υψηλές θερμοκρασίες, καθώς λόγω της εξάτμισής τους, η θερμοκρασία ελαττώνεται (Σκρουμπής 1985).

- Η σήψη των φυτικών ιστών αποφεύγεται από το ρητινώδες περιεχόμενο πολλών αειθαλών φυτών που επιτυγχάνουν να καλύπτουν τις πληγές του φλοιού (Σκρουμπής 1985).

Διάφοροι παράγοντες επιδρούν στην ποιότητα ενός αιθέριου ελαίου. Οι βασικότεροι είναι η ποικιλία του φυτού, ο βαθμός ωρίμανσής του, οι φυσικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες (έδαφος, μικροκλιματικά δεδομένα), η καλλιεργητική πρακτική, καθώς και η μέθοδος εξαγωγής του αιθέριου ελαίου

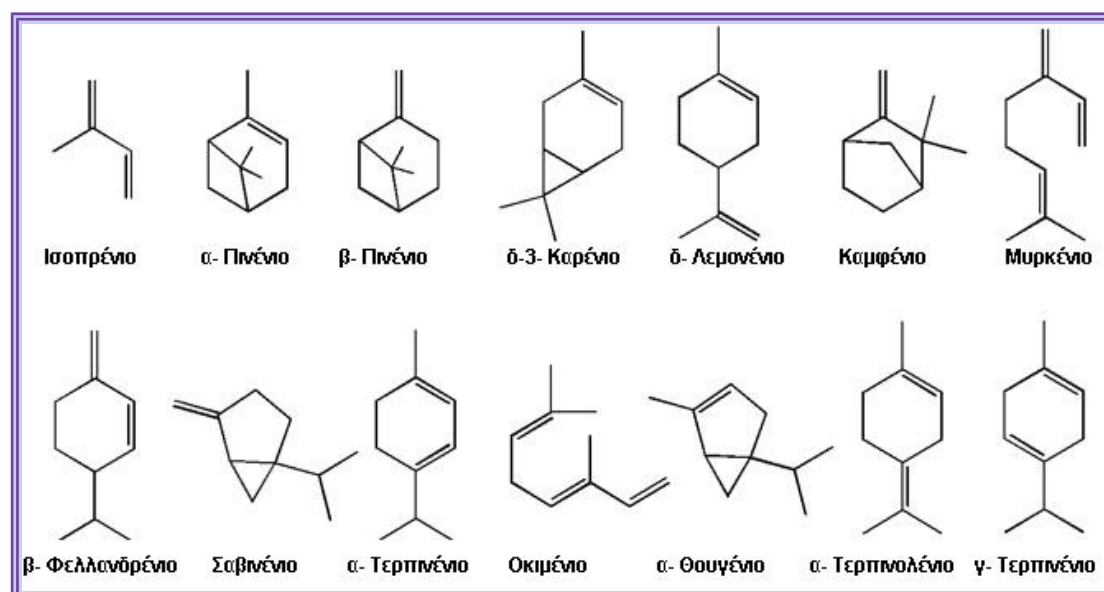
(Σκρουμπής 1985).

Η χημική δομή των διαφόρων αιθέριων ελαίων εμφανίζει ενδιαφέρουσα πολυμορφία. Αρκετά έλαια είναι κυρίως τερπένια, δηλαδή ενώσεις άνθρακα και υδρογόνου, άλλα πάλι περιέχουν αλδεύδες, κετόνες ή φαινόλες. Επίσης, στις ενώσεις ορισμένων ελαίων εμπεριέχονται στοιχεία όπως θείο και άζωτο. Γενικά τα αιθέρια έλαια αποτελούν τόσο πολύπλοκα μίγματα, ώστε θεωρείται αδύνατη η ακριβής παρασκευή τους στο εργαστήριο (Λιναρδάκη 2007).

Οι κύριες χημικές ενώσεις που απαντούν στα αιθέρια έλαια κατατάσσονται στις παρακάτω κατηγορίες:

1. Τερπένια:

Τα τερπένια είναι μικρά οργανικά μόρια που εμφανίζουν τεράστια ποικιλομορφία ως προς τη δομή τους. Σήμερα είναι γνωστή η δομή χιλιάδων τερπενίων, ορισμένα από τα οποία φαίνονται στο Σχήμα 1. Μερικά είναι υδρογονάνθρακες, άλλα περιέχουν άτομα οξυγόνου, άλλα είναι μόρια ανοικτής αλυσίδας και άλλα περιλαμβάνουν δακτυλίους (McMurry 2002). Εντούτοις, ένα από τα πιο κοινά τερπένια είναι το λεμονένιο (αντιικός παράγοντας που συναντάται στο 90% των ελαίων των εσπεριδοειδών) και το πινένιο (αντισηπτικός παράγοντας που συναντάται σε υψηλές συγκεντρώσεις στα έλαια του πεύκου).



Σχήμα 1: Χημική δομή ορισμένων τερπενίων.

Τα τερπένια ταξινομούνται ανάλογα με τον αριθμό των ισοπρενικών μονάδων που περιέχουν (Πίνακας 1). Έτσι, τα μονοτερπένια είναι ενώσεις με 10 άτομα άνθρακα και βιοσυντίθενται από δύο μονάδες ισοπρενίου, τα σεσκιτερπένια με 15 άτομα άνθρακα και προέρχονται από τρία μόρια ισοπρενίου κλπ.

Ταξινόμηση τερπενίων		
Αριθμός ατόμων άνθρακα	Μονάδες ισοπρενίου	Ταξινόμηση
10	2	Μονοτερπένιο
15	3	Σεσκιτερπένιο
20	4	Διτερπένιο
25	5	Σεστερτεπένιο
30	6	Τριτερπένιο
40	8	Τετρατερπένιο

Πίνακας 1: Ταξινόμηση τερπενίων.

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

α. Τερπενικοί εστέρες: η πιο διαδεδομένη ομάδα ενώσεων στα φυτά που περιλαμβάνει τους οξικούς λιναλυλεστέρες (φασκομηλιά, λεβάντα) και τους οξικούς γερανυλεστέρες (μαντζουράνα). Οι εστέρες παρουσιάζουν μυκητοκτόνο και καταπραϋντική δράση.

β. Τερπενικές αλδεΐδες: οι ενώσεις αυτές απαντούν κυρίως στις αρωματικές ουσίες του λεμονιού, όπως η κιτρονέλλα. Οι αλδεΐδες παρουσιάζουν γενικά καταπραϋντική δράση.

γ. Τερπενικές κετόνες: ορισμένες κετόνες είναι γνωστές για την τοξική τους δράση, επομένως αυτή η χημική ομάδα αντιμετωπίζεται με ιδιαίτερη προσοχή. Η αγριαψιθιά και η κοινή φασκομηλιά περιέχουν την επικίνδυνη κετόνη θουγιόνη (*thujone*). Οι κετόνες μετριάζουν την πνευμονική συμφόρηση και βοηθούν τη ροή της βλέννας, γεγονός που εξηγεί γιατί τα φυτά με υψηλές συγκεντρώσεις τέτοιων ενώσεων είναι χρήσιμα στις παθήσεις της ανώτερης αναπνευστικής οδού.

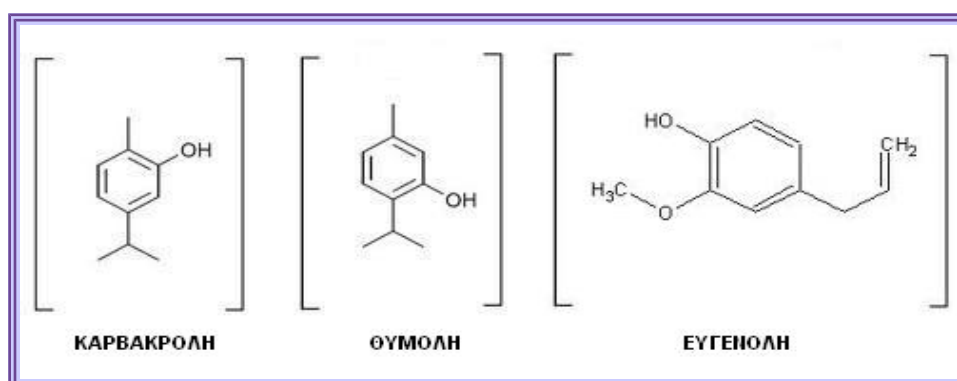
δ. Τερπενικές αλκοόλες: οι πιο κοινές τερπενικές αλκοόλες περιλαμβάνουν τη λιναλοόλη (σε αφθονία στη λεβάντα), τη κιτρονελόλη (τριαντάφυλλο, λεμόνι, ευκάλυπτος, γεράνι) και τη γερανιόλη (γεράνι). Αυτές οι

ενώσεις έχουν αρκετά καλή αντισηπτική και αντιική δράση.

ε. Τερπενικά οξείδια: απαντούν σε πολλά αιθέρια έλαια, όπως στα έλαια του δεντρολίβανου και του ευκαλύπτου. Τα οξείδια έχουν καλή αποχρεμπτική δράση, όπως για παράδειγμα το γνωστό τερπενικό οξείδιο ευκαλυπτόλη (ευκάλυπτος) (Λιναρδάκη 2007).

2. Φαινυλοπροπάνια:

Τα φαινυλοπροπάνια έχουν βακτηριοκτόνο δράση και ισχυρή διεγερτική επίδραση στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Ωστόσο, τα αιθέρια έλαια που περιέχουν σχετικά μεγάλες ποσότητες συγκεκριμένων φαινόλων είναι ερεθιστικά για το δέρμα και τις βλεννογόνες μεμβράνες (Λιναρδάκη 2007). Ορισμένες κοινές καυστικές φαινόλες είναι η καρβακρόλη (ρίγανη), η θυμόλη (θυμάρι) και η ευγενόλη (γαρίφαλο) (Σχήμα 2).



Σχήμα 2: Χημική δομή καρβακρόλης, θυμόλης και ευγενόλης.

II. Χημική σύσταση των αιθέριων ελαίων του γένους *Sideritis*

Ο προσδιορισμός της σύστασης πέντε ταξινομικών μονάδων του γένους *Sideritis* σε αιθέρια έλαια, οδήγησε στην ταυτοποίηση 99 συνολικά ενώσεων, ενώ παράλληλα παρατηρήθηκαν και σημαντικές διαφορές, τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά, μεταξύ των δειγμάτων (Aligiannis et al. 2001).

Συγκεκριμένα, η ανάλυση έγινε στα υποείδη: *Sideritis clandestina* ssp. *clandestina* (βουνό Πάρνωνας), *Sideritis raeseri* ssp. *raeseri* (περιοχή δυτικής Ελλάδος), *Sideritis raeseri* ssp. *attica* (περιοχή κεντρικής Ελλάδος), *Sideritis*

sipylea (Λέσβος), καθώς και *Sideritis syriaca ssp. syriaca* (Κρήτη). Η ανάλυση της χημικής σύστασης των αιθέριων ελαίων των δειγμάτων έγινε με τη χρήση αέριου χρωματογράφου συζευγμένου με φασματογράφο μάζας. Η απόδοση (w/v) σε αιθέρια έλαια των πέντε ειδών που μελετήθηκαν βρέθηκε να είναι: 0,19% για το *Sideritis syriaca ssp. syriaca*, 0,12% για το *Sideritis raeseri ssp. raeseri*, 0,26% για το *Sideritis clandestina ssp. clandestina*, 0,37% για το *Sideritis raeseri ssp. attica* και 0,40% για το *Sideritis sipylea* αντίστοιχα.

Οι μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες βρέθηκε ότι αποτελούν την βασική ομάδα των αιθέριων ελαίων στα τέσσερα από τα παραπάνω δείγματα. Στα αιθέρια έλαια των *Sideritis sipylea*, *Sideritis raeseri ssp. attica* και *Sideritis clandestina ssp. clandestina* τα κύρια συστατικά που βρέθηκαν ήταν οι ενώσεις α-πινένιο και β-πινένιο, αγγίζοντας τα ποσοστά 43,96%, 42,84% και 27,42% αντίστοιχα. Στο δείγμα του *Sideritis raeseri ssp. raeseri* το ποσοστό των δύο παραπάνω πινενίων βρέθηκε 12,69%, ωστόσο, το συνολικό ποσοστό των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων του δείγματος ήταν 30,18%. Το ποσοστό των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων στο *Sideritis syriaca ssp. syriaca* ήταν μικρότερο από αυτό που παρατηρήθηκε στα άλλα δείγματα (18,35%) (Aligiannis et al. 2001). Στη μελέτη αυτή, το *Sideritis sipylea* χαρακτηρίστηκε επίσης από την παρουσία των αιθέριων ελαίων α-πινένιο, 1,8-κινεόλη, β-μυρκενίου και καρβακρόλη. Αντίθετα, οι ενώσεις β-ελεμένιο, γερμακρένιο, λεμονένιο και φελλανδρένιο, που αποτελούσαν βασικά συστατικά του δείγματος σύμφωνα με την εργασία των Gergis et al. (1989), στη μελέτη των Aligiannis et al. (2001) δεν ανιχνεύθηκαν.

Τα αιθέρια έλαια του *Sideritis raeseri ssp. raeseri* προσδιορίστηκαν για πρώτη φορά από τους Papageorgiou et al. (1982). Συνολικά ταυτοποιήθηκαν 47 ενώσεις και το ναφθαλένιο ήταν το κύριο συστατικό του αιθέριου ελαίου, με ποσοστό 22%. Σε πιο πρόσφατη μελέτη των αιθέριων ελαίων του ίδιου φυτού από τους Galati et al. (1996), ταυτοποιήθηκαν 36 ενώσεις, με κύρια συστατικά την καμφορά και την 1,8-κινεόλη. Στην εργασία των Aligiannis et al. (2001), το ποσοστό της ένωσης 1,8-κινεόλη ήταν μόνο 0,56%, ενώ η καμφορά δεν ανιχνεύθηκε. Αντίθετα, στην ίδια εργασία τα χαρακτηριστικά αιθέρια έλαια του φυτού ήταν τα α-κουρκουμένιο, β-φελλανδρένιο/λεμονένιο, δ-καδινένιο, β-καρυοφυλένιο και α-κοπένιο.

Τα αιθέρια έλαια του *Sideritis syriaca ssp. syriaca* προσδιορίστηκαν για πρώτη φορά από τους *Komaitis et al. (1985)*, οι οποίοι ταυτοποίησαν 20 περίπου τερπένια και 10 επιπλέον ενώσεις (αλδεΰδες, λιπαρά οξέα, αλκοόλες κ.ά.). Το κύριο συστατικό στο δείγμα που αναλύθηκε βρέθηκε να είναι η καρβακρόλη, συνοδευόμενη από την παρουσία ενώσεων όπως το β-φελλανδρόνιο, λεμονένιο, β-καρσοφυλλένιο και δίκυκλο-γερμακρένιο.

III. Βιολογικές ιδιότητες των αιθέριων ελαίων του γένους *Sideritis*

Τα αιθέρια έλαια που απαντούν στα φυτά του γένους αυτού θεωρείται ότι έχουν σημαντικές αντιμικροβιακές ιδιότητες. Κατά την εργασία των *Aligiannis et al. (2001)*, εκτός από τον προσδιορισμό των αιθέριων ελαίων που αναφέρθηκε παραπάνω, μελετήθηκε επιπλέον και η αντιμικροβιακή τους ενεργότητα έναντι έξι βακτηρίων και τριών μυκήτων.

Ειδικότερα, μελετήθηκε η βακτηριοστατική δράση των αιθέριων ελαίων ορισμένων φυτών του γένους *Sideritis* ενάντι των *Staphylococcus aureus* και *Staphylococcus epidermidis* (gram-θετικά βακτήρια), όπως επίσης και έναντι των *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* και *Pseudomonas aeruginosa* (gram-αρνητικά βακτήρια). Παράλληλα, έγινε και προσδιορισμός της αντιμυκητιακής τους δράσης έναντι των παθογόνων μυκήτων *Candida albicans*, *Candida tropicalis* και *Torulopsis glabrata*.

Δύο από τα υποείδη που μελετήθηκαν, το *Sideritis clandestina ssp. clandestina* και *Sideritis raeseri ssp. attica*, εμφάνισαν μέτρια δράση ενάντια στην πλειοψηφία των μικροοργανισμών που εξετάστηκαν. Αντίθετα, τα αιθέρια έλαια του *Sideritis sipylea*, με κύριο συστατικό τους το α-πινένιο, έδειξαν ισχυρή αντιμικροβιακή δράση. Επίσης αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι τα αιθέρια έλαια του φυτού *Sideritis syriaca ssp. syriaca*, έλαια με υψηλό ποσοστό καρβακρόλης, έδειξαν την ισχυρότερη δραστικότητα ενάντια στα βακτήρια και στους παθογόνους μύκητες που μελετήθηκαν.

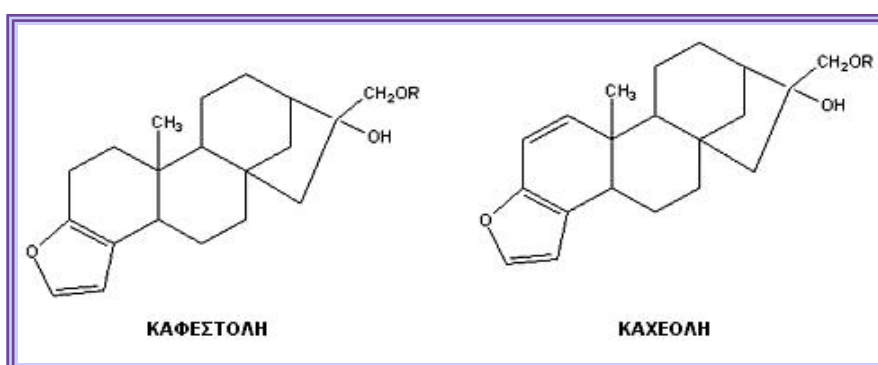
Τέλος, εξετάστηκαν και τα καθαρά μονοτερπένια α-πινένιο, β-πινένιο και καρβακρόλη στις ίδιες καλλιέργειες και κάτω από τις ίδιες συνθήκες, ώστε να συγκριθούν οι αντιμικροβιακές τους ιδιότητες με αυτές των υπό εξέταση αιθέριων ελαίων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η δραστικότητα των αιθέριων

ελαίων μπορεί να αποδοθεί σε μεγάλο βαθμό στη παρουσία του μονοτερπενίου α-πινένιου και σε ακόμη μεγαλύτερο βαθμό στη παρουσία της ένωσης καρβακρόλη. Οι ενώσεις αυτές εμφάνισαν την ισχυρότερη δράση ενάντια σε όλους τους υπό εξέταση μικροοργανισμούς.

2.5.2. Διτερπένια

1. Γενικά χαρακτηριστικά

Τα διτερπένια είναι ενώσεις που περιέχουν στο μόριό τους 20 άτομα άνθρακα και προέρχονται από 4 ισοπρενικές μονάδες. Αποτελούν τη βάση για τον σχηματισμό σημαντικών βιολογικών συμπλόκων, όπως η ρετινόλη, η ρετινάλη και η φυτόλη (McMurry 2004). Αποτελούν τα κύρια συστατικά των φυτικών ρητινών και συμπεριλαμβάνουν σύμπλοκα που δρουν ως αρτυματικά και μυρωδικά (Σχήμα 3). Απαντούν στα περισσότερα βότανα και θεραπευτικά φυτά, συμπεριλαμβανομένων της ρίγανης, του δενδρολίβανου και της στέβιας. Σε πολλά φυτικά είδη έχουν βρεθεί διτερπένια που εμφανίζουν τοξική δράση σε φυτοφάγα ζώα, με αποτέλεσμα την αποφυγή κατανάλωσης των φυτών αυτών. Επίσης, έχουν σημαντική αντιμικροβιακή και αντιική δράση.

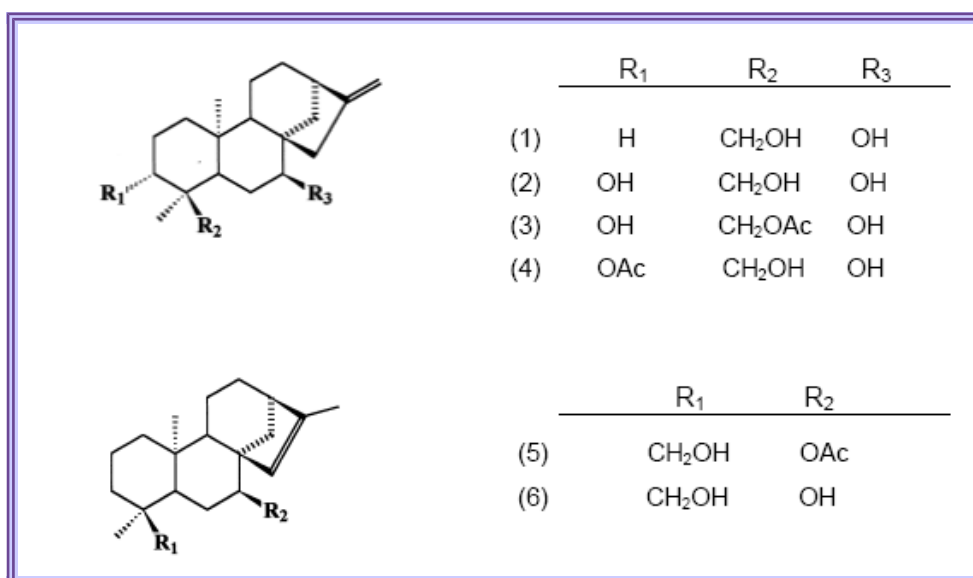


Σχήμα 3: Χαρακτηριστικά διτερπένια του καφέ.

II. Χημική σύσταση και βιολογικές ιδιότητες των διτερπενίων του γένους *Sideritis*

Τα είδη του γένους *Sideritis* εκτός από τη σύστασή τους σε αιθέρια έλαια, είναι πολύτιμα και λόγω του υψηλού περιεχομένου τους σε διτερπένια (Σχήμα 4). Στην ανατολική και κεντρική Μεσόγειο (Τουρκία, Ελλάδα και Ιταλία), τα είδη του γένους αυτού περιέχουν σχεδόν αποκλειστικά παράγωγα του καουρενίου (*Logoglu et al. 2006*).

Οι *Gomez-Serranillos et al. (1998)*, μελέτησαν με την εφαρμογή HPLC χρωματογραφίας, τα τερπενικά συστατικά εξανικών και μεθανολικών εκχυλισμάτων 12 ειδών του γένους *Sideritis*, που είχαν συλλεχθεί από διάφορες περιοχές της Ισπανίας. Ορισμένα διτερπένια που ταυτοποιήθηκαν κατά τη μελέτη αυτή ήταν η σεραδιόλη, η λινεαρόλη, η κονχιτριόλη, η φολιόλη, η ισοφολιόλη, η ανδαλουσόλη, η λαγασκατριόλη, η τοβαρόλη, η σιδόλη και η σιδερόλη. Η μελέτη αυτή έδειξε άμεση συσχέτιση μεταξύ του περιεχομένου των ειδών σε διτερπένια και της χρήσης τους στην ιατρική. Συγκεκριμένα, το διτερπένιο ανδαλουσόλη, που παρουσιάζει σημαντική αντιφλεγμονώδη δράση, βρέθηκε να είναι η κύρια ένωση στα είδη που είναι γνωστά για τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές τους, όπως τα *S. biflora*, *S. bourgeana*, *S. cillensis*, *S. leucantha*, *S. luteola* και *S. pusilla*.



Σχήμα 4: Χημική δομή κοινών διτερπενίων των φυτών του γένους *Sideritis*:

(1) επικανδικανδιόλη, (2) φολιόλη, (3) λινεαρόλη, (4) σιδόλη, (5) σιδερόλη και (6) σιδεριδιόλη

Οι βιολογικές δράσεις των διτερπενίων του γένους *Sideritis* είναι πολλές. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι παρουσιάζουν αντιβακτηριακή, αντιμυκητιακή, αντιφλεγμονώδη, κυτταροτοξική και αντικαρκινική δράση. Τα καουρένια και τα ημισυνθετικά παράγωγά τους, όπως η λινεαρόλη, έχουν μελετηθεί για τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες και τις αντι-HIV επιδράσεις τους (Logoglu et al. 2006). Επιπλέον, οι Logoglu et al. (2006), απομόνωσαν τα διτερπένια σιδερόλη, λινεαρόλη και επικανδικανδιόλη από το είδος *Sideritis sipyraea*, το οποίο συλλέχθηκε από περιοχή της Τουρκίας. Εξετάστηκαν περαιτέρω και οι αντιμικροβιακές ιδιότητες των ενώσεων αυτών έναντι διαφόρων ειδών βακτηρίων και μυκήτων. Αντίθετα από την επικανδικανδιόλη, που επέδειξε αντιμικροβιακή δράση, τα άλλα δύο διτερπένια δεν εμφάνισαν καμία δραστηριότητα.

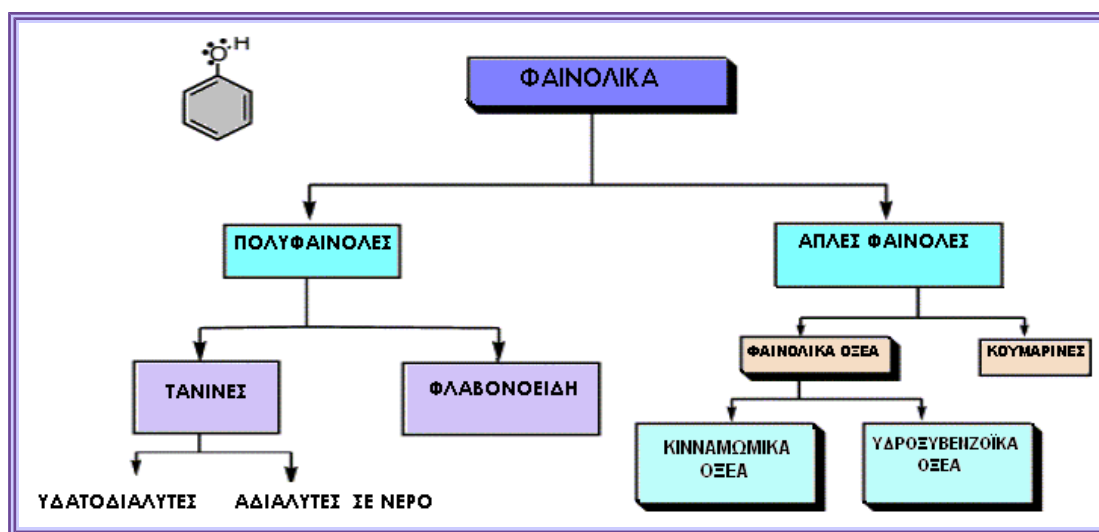
2.5.3. Πολυφαινόλες

I. Γενικά χαρακτηριστικά

Οι πολυφαινόλες ανήκουν στην γενικότερη κατηγορία των φαινολικών ενώσεων. Φαινολικές ενώσεις ή φαινολικά συστατικά είναι κατηγορία χημικών ενώσεων, οι οποίες αποτελούνται από ένα βενζολικό δακτύλιο που φέρει μια ή περισσότερες υδροξυλομάδες. Είναι προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών και βρίσκονται σε αυτά είτε σε ελεύθερη μορφή, είτε ενωμένα με μόρια γλυκόζης ή άλλα σάκχαρα (γλυκοζίτες ή γλυκοσίδες), ενώ πολλές φορές περιλαμβάνουν αμίνες, οργανικά οξέα, λιπίδια και άλλα συστατικά (Harborne & Baxter 1999, Robbins 2003).

Ένας τρόπος κατηγοριοποίησης των φαινολικών ενώσεων είναι ανάλογα με τον αριθμό των φαινολικών τους δακτυλίων (Σχήμα 5). Έτσι, οι φαινολικές ενώσεις με έναν φαινολικό δακτύλιο ονομάζονται απλές φαινόλες και οι ενώσεις που περιέχουν δύο ή περισσότερους φαινολικούς δακτυλίους, ονομάζονται πολυφαινόλες. Στις απλές φαινόλες ανήκουν τα φαινολικά οξέα και οι κουμαρίνες, ενώ στις πολυφαινόλες ανήκουν τα φλαβονοειδή και οι τανίνες (Goodwin & Mercer 1983, Croizer et al. 2009).

Ο μεγαλύτερος όγκος της βιβλιογραφίας που αφορά τις φυτικές πολυφαινόλες και ιδιαίτερα οι μελέτες που αναφέρονται στις φυσιολογικές τους επιδράσεις, επικεντρώνονται σε μια κυρίως κατηγορία πολυφαινολών, αυτή των φλαβονοειδών. Το πρόσφατο ενδιαφέρον για αυτές τις ενώσεις οφείλεται στις πιθανές ευεργετικές επιδράσεις τους στην ανθρώπινη υγεία, λόγω των ισχυρών αντιοξειδωτικών τους ιδιοτήτων (Heim et al. 2002). Τα πρώτα φλαβονοειδή αναγνωρίστηκαν το 1936 από τον *Albert-Szent-Gyorgyi*, ο οποίος βραβεύτηκε με το βραβείο *Nobel* για την ανακάλυψη της βιταμίνης C.



Σχήμα 5: Κατηγορίες φαινολικών ενώσεων (Robbins 2003).

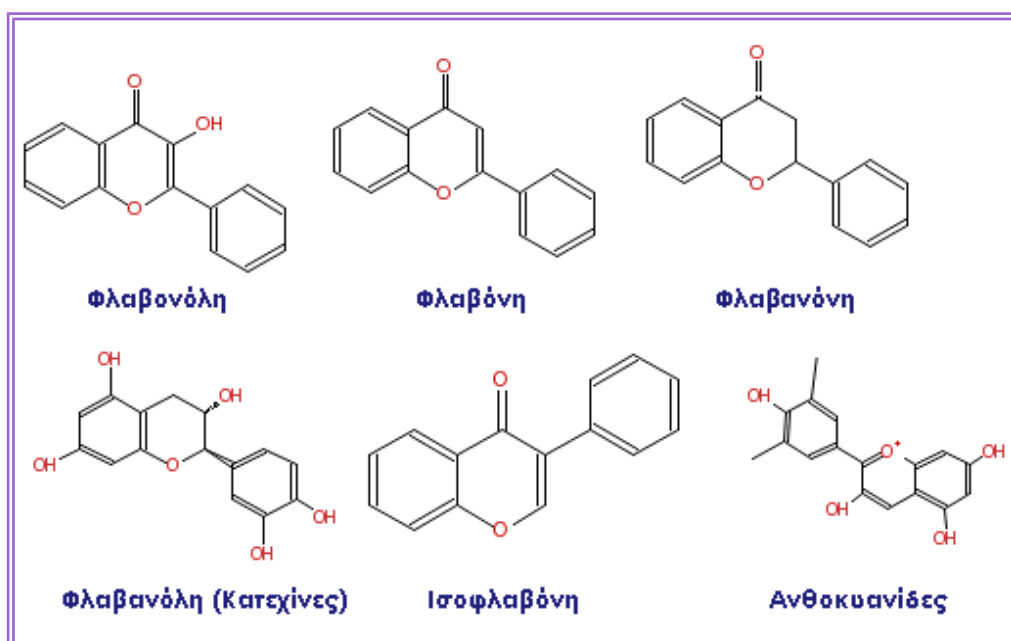
1. Τανίνες:

Οι τανίνες είναι πολυμερείς ενώσεις, οι οποίες ανάλογα με τη δομή τους διαχωρίζονται σε συμπυκνωμένες και σε υδρολυομένες τανίνες. Οι συμπυκνωμένες τανίνες είναι πολυμερή των φλαβονοειδών, ενώ οι υδρολυομένες τανίνες αποτελούνται από ένα γλυκοσίδιο πάνω στο οποίο προσκολλώνται διάφορες φαινολικές ενώσεις, όπως το γαλλικό και το ελλαγικό οξύ. Το μοριακό τους βάρος κυμαίνεται μεταξύ 500 και 3000. Οι τανίνες χαρακτηρίζονται για την αντιοξειδωτική τους δράση και διακρίνονται επίσης για τις ενώσεις που σχηματίζουν με τον σίδηρο (Fe), λόγω των δύο υδροξυλίων που βρίσκονται σε όρθο-θέση (κατεχολική θέση).

Οι τανίνες επίσης ενώνονται με πρωτεΐνες και άλλα πολυμερή, όπως π.χ. με πολυσακχαρίτες. Από αυτή τους την ιδιότητα απορρέει και η χαρακτηριστική στυφή τους γεύση. Καθώς οι τανίνες ενώνονται με τις πρωτεΐνες του εκκρίματος των σιελογόνων αδένων, για παράδειγμα, αυτό χάνει την ικανότητά του να υγραίνει το στόμα. Επίσης, αναστέλλουν τη δράση των ενζύμων αυτού του εκκρίματος, λόγω δέσμευσης της πρωτεϊνικής ομάδας τους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να φράσσουν οι βλεννογόνοι και να παρεμποδίζεται η εκροή του σάλιου (Κουράκου-Δραγωνά 2002).

2. Φλαβονοειδή:

Τα φλαβονοειδή (Σχήμα 6) αποτελούν την πιο συνήθη και ευρέως διαδεδομένη ομάδα φυτικών πολυφαινολών. Όσον αφορά τη χημική δομή τους, τα φλαβονοειδή μοιράζονται έναν κοινό πυρήνα, ο οποίος αποτελείται από δύο αρωματικούς δακτυλίους (Α και Β), που συνδέονται μεταξύ τους μέσω τριών ατόμων C, τα οποία σχηματίζουν έναν οξυγονωμένο ετεροκυκλικό δακτύλιο (δακτύλιος C). Περισσότερα από 4000 φλαβονοειδή έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι σήμερα στα φυτά και η λίστα αυξάνεται σταθερά (Cheynier 2005).



Σχήμα 6: Δομή Φλαβονοειδών (www.akspublication.com).

Τα φλαβονοειδή, ανάλογα με τον βαθμό οξειδωσης του ετεροκυκλικού δακτυλίου τους, διακρίνονται σε αρκετές ομάδες. Οι κυριότερες από αυτές είναι οι (Lakhanpal et al. 2007):

- Φλαβόνες
- Φλαβανόνες
- Φλαβονόλες
- Φλαβανόλες
- Ανθοκυανίδες
- Ισοφλαβόνες

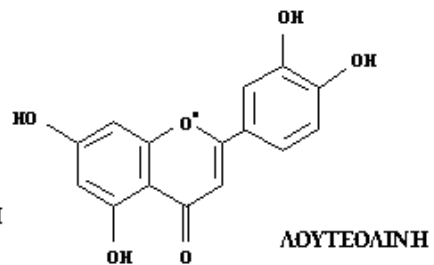
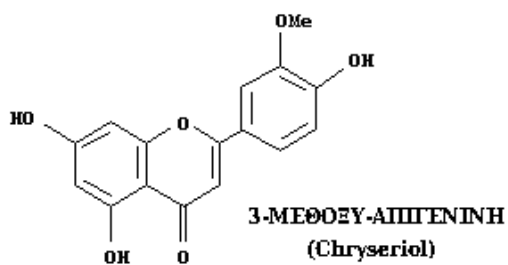
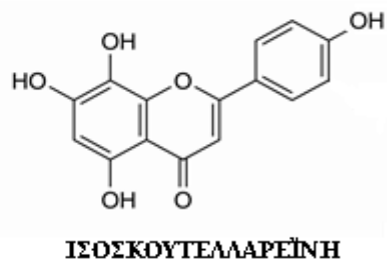
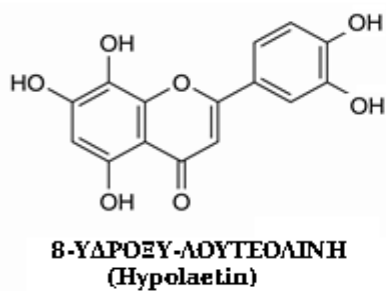
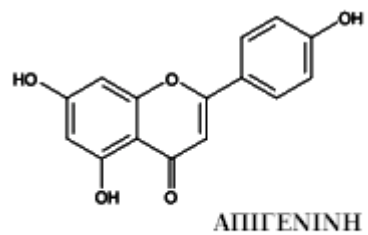
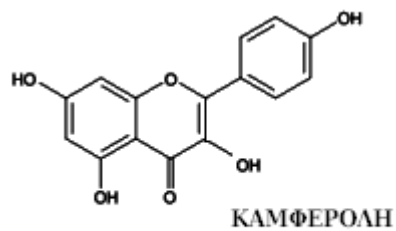
Μέχρι σήμερα, είναι γνωστές τρεις φλαβονοειδείς φαινόλες του τύπου C₆-C₃-C₆, οι οποίες έχουν παρασκευασθεί και *in vitro*. Αυτές είναι οι φλαβανόνη, η φλαβόνη και η φλαβανόλη. Υδροξυλιωμένα παράγωγα των τριών αυτών ουσιών, απαντούν στη φύση είτε σε ελεύθερη μορφή, είτε με τη μορφή γλυκοζιτών. Οι φλαβανόλες και οι φλαβανόνες έχουν μεταξύ τους μόνο μια ουσιαστική διαφορά: στη θέση τρία του μορίου της φλαβανόλης υπάρχει ένα δραστικό –OH, ενώ στη φλαβανόνη δεν υπάρχει (Ζερβόπουλος 2010). Όλες οι οικογένειες των φλαβονοειδών προέρχονται από ένα κοινό βιοσυνθετικό δρόμο, οι επιπλέον μετατροπές γίνονται σε διάφορα στάδια με αποτέλεσμα μεταβολές στην έκταση της υδροξυλίωσης, της μεθυλίωσης, του διμερισμού και της γλυκοσυλίωσης (Σουλελής 2000).

II. Πολυφαινολική σύσταση του γένους *Sideritis*

Αρκετοί ερευνητές έχουν ασχοληθεί με την ταυτοποίηση των πολυφαινολικών ενώσεων σε διάφορα είδη του γένους *Sideritis* (Σχήμα 7). Οι Janeska et al. (2007), μελέτησαν και ταυτοποίησαν φλαβονοειδείς ενώσεις δύο ειδών *Sideritis* (*Sideritis raeseri* L. και *Sideritis scardica* L.) από την περιοχή των Σκοπίων. Τα φλαβονοειδή που ταυτοποιήθηκαν ήταν κυρίως η απιγενίνη (*apigenin*), η 3,5,7,4'-τετραϋδροξυ-3'-μεθοξυ φλαβόνη (*chryseriol*), παράγωγα της λουτεολίνης (*luteolin*), καθώς και παράγωγα της ισοσκουτελλαρεΐνης (*isoscuteellarein*). Συγκρίνοντας τη χημική σύνθεση των

δύο ειδών, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη ποικιλία 8-υδροξυ-φλαβονών στο είδος *S. raeseri* σε σχέση με το *S. scardica* (Βασιλοπούλου 2010).

Οι *Gabrieli et al.* (2005), απομόνωσαν εννέα διαφορετικές δομές φλαβονών (του τύπου 5,8-dihydroxy-flavone-7-o-allosyglucosides) από το μεθανολικό εκχύλισμα του υποείδους *Sideritis raeseri ssp. raeseri*. Όμοιες με αυτές τις μορφές φλαβονών απαντούν και σε άλλα είδη του γένους *Sideritis* (*S. hyssopifolia*, *S. scardica* και *S. syriaca*). Με εφαρμογή μεθόδων φασματοσκοπίας, οι *Tsaknis* και *Lalas* (2005) μελέτησαν την πολυφαινολική σύσταση του *S. euboica* (Εύβοιας). Κατά την ανάλυση αυτή, ταυτοποιήθηκε η 3,5,7,4'-τετραϋδροξυ-φλαβόνη, γνωστή και ως καμφερόλη (*kaempferol*), καθώς και διάφορα γλυκοζίδια αυτής.



Σχήμα 7: Χημικές δομές φλαβονοειδών του γένους *Sideritis*.

3. ΡΙΓΑΝΗ (Γένος *Origanum*)

3.1 Γενικά

Η ρίγανη είναι πολυετές φυτό της οικογένειας *Lamiaceae* (*Labiatae*), του γένους *Origanum*. Το γένος *Origanum* περιλαμβάνει περισσότερα από 44 είδη, 6 υποείδη, 3 βοτανικές ποικιλίες και 18 φυσικά απαντώμενα υβρίδια (Kintzios 2002). Περιλαμβάνει επίσης διάφορους τύπους ρίγανης, συμπεριλαμβανομένης της ματζουράνας (*O. majorana*) και του κρητικού δίκταμου (*O. dictamnus*). Ωστόσο, δεν φαίνεται να ανήκουν όλα τα φυτά, τα οποία χρησιμοποιούνται και είναι γνωστά με την ονομασία “ρίγανη”, στο γένος *Origanum*. Η καρβακρόλη, μια αρωματική φαινόλη, είναι η χαρακτηριστική χημική ένωση υπεύθυνη για την οξεία οσμή και γεύση των αρτυματικών ειδών ρίγανης και απαντά και σε φυτά διαφορετικού γένους. Επομένως, έχουν βαπτιστεί ως “ρίγανη” και φυτά του γένους *Lippia graveolens* και *Poliomintha bustamanta* (ρίγανες Μεξικού), *Lippia micromera* (ρίγανη Τζαμάικας) και *Plectranthus amboinicus* (ρίγανη Κούβας). Παράλληλα, υπάρχουν και διάφορα είδη και υποείδη του γένους *Origanum*, τα οποία περιέχουν ελάχιστα ως μηδαμινά ποσοστά καρβακρόλης και συνεπώς δεν χρησιμοποιούνται ως αρτυματικά (www.herbsociety.org).

Στον ελλαδικό χώρο το είδος *Origanum vulgare* L. (Εικόνα 4) είναι το ευρέως διαδεδομένο είδος του γένους *Origanum*. Σε ταξινομική μελέτη των ελληνικών πληθυσμών, οι Kokkini et al. (1991), κατέγραψαν την παρουσία τριών, γεωγραφικά διαχωριζόμενων, υποειδών:

- ✓ *O. vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Letswaart
- ✓ *O. vulgare* ssp. *vulgare* (Martrin-Donos) Nyman
- ✓ *O. vulgare* ssp. *viridulum* (Martrin-Donos) Nyman

Τα υποείδη *hirtum* απαντούν κυρίως στο νησιωτικό χώρο, καθώς και στις νότιες περιοχές της Ελλάδος, ενώ στις βόρειες περιορίζεται σε παράκτιες, χαμηλού υψόμετρου περιοχές. Το εύρος τους στον ελλαδικό χώρο είναι περιορισμένο λόγω του διαδεδομένου ηπειρωτικού κλίματος που επικρατεί στις κεντρικές και βόρειες περιοχές (Kotini-Zambaka 1983). Το υποείδος *vulgare* αυτοφύεται κυρίως στις βορειοανατολικές και βορειοκεντρικές ορεινές

περιοχές της Ελλάδος, ενώ το υποείδος *viridulum* στις νοτιοδυτικές περιοχές της ενδοχώρας (Kokkini et al. 1991).

Η ονομασία του φυτού θεωρείται πως έχει τις ρίζες της στις λέξεις “όρος” (βουνό) και “γάνος” εκ του “γάνυμαι” που σημαίνει γίνομαι φωτεινός, χαίρομαι. Η ονομασία αυτή έχει πιθανώς δοθεί διότι στο μεσογειακό κλίμα τα φυτά του γένους *Origanum* φύονται σε μεγάλο υψόμετρο και φαίνεται να στολίζουν το βουνό. Κατά μια άλλη ερμηνεία, η ονομασία προέρχεται από τις λέξεις “οράν” και “γάνος”, καθώς στην αρχαιότητα χρησιμοποιούσαν την ρίγανη ως ιαματικό για τους οφθαλμούς (Γάνου-Φιλοθέου και συν. 1997).



ΕΙΚΟΝΑ 4: Αριστερά: *Origanum vulgare* L., Δεξιά (από πάνω προς τα κάτω): *ssp. hirtum*, *ssp. viridulum*, *ssp. vulgare*.

3.2 Ιστορικά στοιχεία του γένους *Origanum*

Το φυτό της ρίγανης είναι γνωστό από τα αρχαία χρόνια. Πολλές μελέτες δείχνουν ότι οι αρχαίοι Έλληνες, καθώς και οι Αιγύπτιοι, το χρησιμοποιούσαν ευρέως για αρωματικούς, αρτυματικούς και θεραπευτικούς σκοπούς (Πολυσίου 2002).

Οι πρώτοι που περιέγραψαν τις ιδιότητες της ρίγανης ήταν ο Διοσκουρίδης (“Περί ύλης της Ιατρικής”, 1ος μ.Χ.), ο Γαληνός (129-199 μ.Χ.), και ο Αέτιος (6ος αι. μ.Χ.).

Ο πατέρας της Ιατρικής Ιπποκράτης (460-377 π.Χ.), χρησιμοποιούσε την ρίγανη για τη θεραπεία της γαστραλγίας, διαφόρων παθήσεων του αναπνευστικού συστήματος καθώς και για τη θεραπεία γυναικολογικών παθήσεων. Μεταγενέστεροι λατίνοι συγγραφείς, όπως ο Κικέρωνας (106-43 π.Χ.) και ο Βιργίλιος (70-19 π.Χ.), απέδωσαν παρόμοιες ιδιότητες στο φυτό. Διάφορες ιστορικές μελέτες αναφέρουν επίσης, τη χρήση της ρίγανης και ως αντίδοτο σε δηλητηριάσεις από δάγκωμα φιδιού, από κώνειο, καθώς και από όπιο παπαρούνας. Αναφορά στο είδος *Origanum* γίνεται και στο βιβλίο “Περί φυτών ιστορία” του Θεόφραστου (372-287 π.Χ.) (Πιερρακέας 1971).

Κατά την ομηρική εποχή, είχε επικρατήσει να αποκαλείται *οριγανίων* εκείνος που κατανάλωνε ρίγανη. Η ρίγανη κέρδισε ωστόσο και μια θέση στην λαϊκή θυμοσοφία. Κατά τη μυθολογία, ένας υπηρέτης του βασιλιά της Κύπρου έσπασε ένα δοχείο με άρωμα και λιποθύμησε από τον φόβο του. Οι θεοί τότε τον μεταμόρφωσαν σε ρίγανη. Έκτοτε, οι αρχαίοι συνήθιζαν να τοποθετούν φυτά ρίγανης στους χώρους ανάπαυσης των νεκρών καθώς πίστευαν ότι έφερναν γαλήνη. Επίσης στις γαμήλιες τελετές συνήθιζαν να στεφανώνουν τα νεαρά ζευγάρια με φυτά ματζουράνας, αφού πίστευαν ότι το φυτό αυτό είχε πάρει το άρωμά του από το άγγιγμα της θεάς Αφροδίτης (Σκρουμπής 1985).

Η παράδοση της χρήσης της ρίγανης για θεραπευτικούς σκοπούς συνεχίστηκε αδιάλειπτα στο πέρασμα των χρόνων. Ο πατέρας της “ερμητικής” Ιατρικής, Παράκελσος (1493-1541), χρησιμοποίησε ευρύτατα την ρίγανη για τη θεραπεία διάφορων παθήσεων (Σκρουμπής 1985), ενώ ακόμη και σήμερα το φυτό χρησιμοποιείται ως φυσικό τονωτικό, διεγερτικό, καθαρτικό, διουρητικό, αντισηπτικό, αντιμικροβιακό, ευστόμαχο κ.ά.

3.3 Βοτανικοί χαρακτήρες του γένους *Origanum vulgare L.*

Το είδος *Origanum vulgare L.* έχει τη μεγαλύτερη εξάπλωση παγκοσμίως από όλα τα γνωστά συγγενικά του είδη, ενώ και στον ελλαδικό χώρο αποτελεί το πιο κοινό και διαδεδομένο από όλα τα άλλα. Παρουσιάζει εξαιρετική μορφολογική ποικιλότητα, γεγονός που προκάλεσε σύγχυση στους διάφορους συγγραφείς στο παρελθόν και οδήγησε σε μεγάλο αριθμό διαφορετικών ονομάτων σε διάφορα είδη και υποείδη, λόγω του επικαλυπτόμενου χαρακτήρα των διακριτών γνωρισμάτων (*Spada & Perrino 1997*).

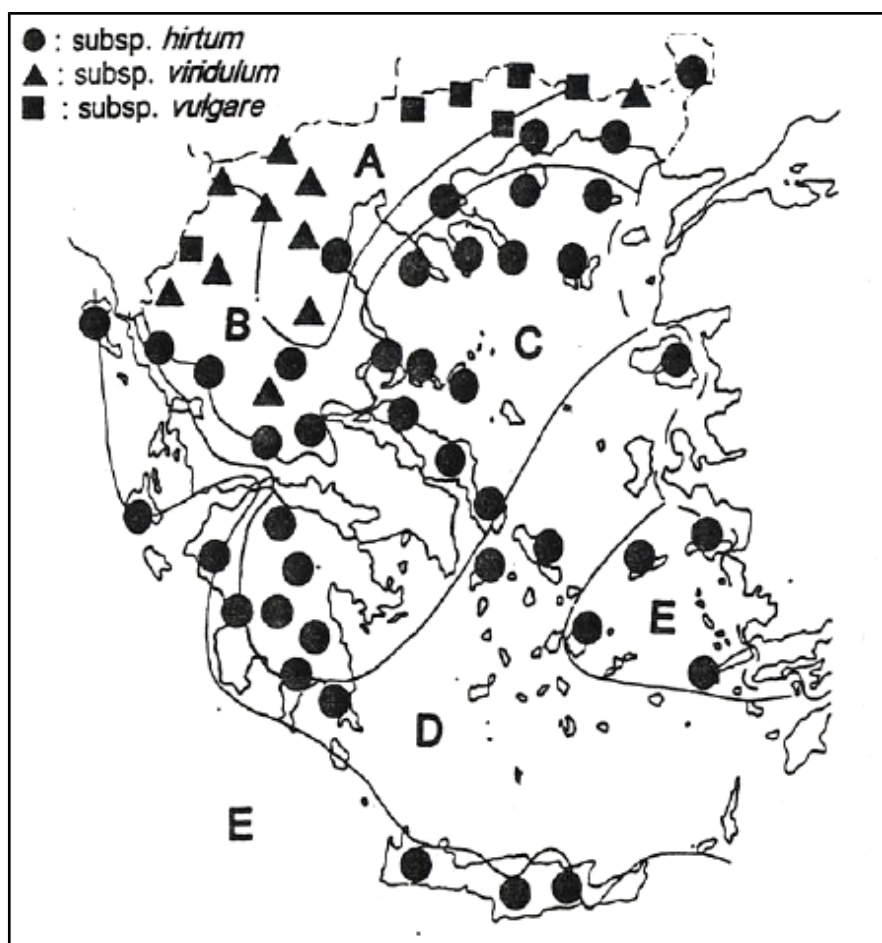
Τα φυτά αυτού του είδους είναι πολυετή, ξυλώδη, με βλαστούς που φτάνουν μέχρι και το ένα μέτρο, με αδένες από δύσκολα έως εύκολα διακριτούς, πυκνούς βότρες, καθαρά διακρινόμενους από τους βλαστούς και τα κλαδιά, κάλυκες πέντε οδόντων και δίχειλη στεφάνη (*Kokkini et al. 1991*). Ακόμα και μέσα στο ίδιο το είδος, ωστόσο, παρουσιάζονται σημαντικές μορφολογικές και χημικές διαφορές, οι οποίες έχουν αναγκάσει τους συστηματικούς να χωρίσουν το είδος σε τρία τουλάχιστον υποείδη, τα: *Origanum vulgare ssp. hirtum* ή *heracleoticum*, *Origanum vulgare ssp. viridulum* και *Origanum vulgare ssp. vulgare*.

Τα μορφολογικά γνωρίσματα με τα οποία γίνεται ο διαχωρισμός των υποειδών, είναι:

- ✓ η πυκνότητα του τριχώματος,
- ✓ η παρουσία διακριτών ή μη άμμισχων αδένων σε φύλλα, βράκτια και κάλυκες,
- ✓ η αναλογία μήκους βράκτιων προς κάλυκα και
- ✓ το χρώμα των βρακτίων και της στεφάνης.

Η γεωγραφική διαφοροποίηση του γένους *O. vulgare L.* στον ελλαδικό χώρο αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα της αξιοσημείωτης βιοποικιλότητας. Η εξάπλωση των τριών υποειδών σχετίζεται άμεσα με τις κλιματικές συνθήκες που επικρατούν σε κάθε περιοχή. Οι περιοχές όπου απαντούν τα διάφορα υποείδη δεν είναι βέβαια διακριτές, καθώς και τα τρία υποείδη είναι δυνατόν να εμφανιστούν σε μια περιοχή (*Kokkini et al. 1994*). Λαμβάνοντας ωστόσο υπόψιν το επικρατέστερο υποείδος της κάθε περιοχής

είναι δυνατή η αποδοχή μιας γενίκευσης, όπως το παρακάτω σχήμα (Σχήμα 8).



Σχήμα 8: Κατανομή των τριών υποειδών του *O.vulgare* L. στις 5 κλιματικές ζώνες: **A:** Ηπειρωτική-Μεσογειακή, **B:** Μεταβατική, **C:** Κύρια Μεταβατική, **D:** Πραγματική Μεσογειακή και **E:** Πραγματική Μεσογειακή υψηλότερης σταθερότητας (Kokkini et al. 1994).

Το πρότυπο της ποικιλότητας του συνολικού φυτικού τριχώματος, καθώς και το πρότυπο της απόδοσης των αιθέριων ελαίων, ακολουθεί μια κατεύθυνση από τα νησιά του Αιγαίου, μέσω της Κρήτης και της Πελοποννήσου, προς τη Βόρεια Ελλάδα, όπου το *O. hirtum* φαίνεται να αντικαθίσταται σταδιακά από τα *O. viridulum* και *O. vulgare*. Κατά μήκος της πορείας αυτής παρατηρείται και η σταδιακή αλλαγή του κλίματος από αμιγώς μεσογειακό σε ηπειρωτικό-μεσογειακό (Kotini-Zambaka 1983). Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται οι βασικές διαφορές μεταξύ των τριών υποειδών του *O. vulgare* L. στον ελλαδικό χώρο.

Πίνακας 2: Οι κύριες διαφορές των υποειδών του γένους *O. vulgare* σε σχέση με την κατανομή, την οικολογία, τα μορφολογικά χαρακτηριστικά και την σύστασή τους σε αιθέρια έλαια (Γαβαλάς 2004).

Γνωρίσματα	ssp. hirtum	ssp. vulgare	ssp. viridulum
Κατανομή Παγκοσμίως	Τοπικό της Ανατολικής Μεσογείου. Βαλκάνια, Τουρκία, Μάλτα.	Σε όλη την Ευρώπη εκτός της Ιβηρικής χερσονήσου. Στην Ασία από τη Μεσόγειο ως την Ταϊβάν. Στη Μεσόγειο κυρίως στην ηπειρωτική χώρα.	N. Ευρώπη και Ασία. Από την Κορσική ως την Κίνα.
Κατανομή στην Ελλάδα	Σε όλη την χώρα με εξαίρεση τις ΒΑ οροσειρές.	Στο βόρειο τμήμα της χώρας εκτός από τα ΒΔ όπου απαντά σποραδικά.	Στο ΒΔ τμήμα εκτεινόμενο ως το όρος Παπίκιο και νότια ως το όρος Οίτη.
Υψόμετρο	1-1500 m	600-2000 m	300-1400 m
Οικοσυστήματα	Σε εδάφη πάνω σε ασβεστόλιθο και σπάνια σε σχιστόλιθο ή σερπεντίνη. Σε ξηρά ηλιόλουστα μέρη καντά σε ακτές (χαρακτηριστικό μεσογειακών οικοσυστημάτων) αλλά και σε ορεινά δάση.	Σε εδάφη πάνω σε ασβεστόλιθο και σχιστόλιθο. Σε ανοίγματα φυλλοβόλων δασών.	Σε εδάφη πάνω σε ασβεστόλιθο και σπάνια σε σερπεντίνη. Σε ανοίγματα δασωδών εκτάσεων.
Άνθηση	Μάιο - Σεπτέμβριο	Ιούλιο - Οκτώβριο	Ιούνιο - Οκτώβριο
Αδένες στα φύλλα	Πολύ διακριτοί, μεγάλοι, πολυάριθμοι (500-2500 / cm ²).	Δυσδιάκριτοι, μικροί και λίγοι (10-1100 / cm ²).	Δυσδιάκριτοι, μικροί και λίγοι (30-1100 / cm ²).
Μήκος βρακτίων έναντι κάλυκα	Από ισομήκη έως διπλάσιο.	Σχεδόν διπλάσιο.	Σχεδόν διπλάσιο.
Χρώμα βρακτίων-στεφάνης	Πράσινα – Άσπρη.	Ιώδη – Ροζέ ή ιώδη.	Πράσινα – Άσπρη.
Αιθέρια έλαια			
Απόδοση ml/100 g ξ.β.	1.1 – 8.2	0.1 – 0.3	0.3 – 0.8
Καρβακρόλη	Ίχνη ως 95%	Ίχνη ως 0.1%	40 – 45.1%

3.4 Καλλιέργεια του γένους *Origanum vulgare* L.

Τα αυτοφυή είδη ρίγανης έχουν πολλές δυνατότητες ανάπτυξης. Αναπτύσσονται σε διάφορα υψόμετρα, τόσο σε παράκτιες, όσο και σε ορεινές περιοχές, καθώς και σε εδάφη από χαμηλής, μέχρι και μέτριας γονιμότητας. Είναι ιδιαίτερα ανθεκτικό φυτό, καθώς αντέχει σε χαμηλές θερμοκρασίες και δεν είναι ιδιαίτερα απαιτητικό όσον αφορά τις κλιματικές συνθήκες (Γκόλιαρης 1992, Karousou et al. 1999).

Η ρίγανη είναι δυνατόν να καλλιεργηθεί σε πεδινές, ημιορεινές και ορεινές περιοχές και σε διάφορα εδάφη, εκτός από τα αργιλώδη και τα πολύ αμμώδη. Η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι μεταξύ 18° και 22°C, με όριο ανάπτυξης 4-33°C. Πολύ σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του φυτού παίζει το φως, το οποίο είναι απαραίτητο για την απόδοση καλής ποιότητας δρόγης.

• Πολλαπλασιασμός.

Η ρίγανη, όπως και το τσάι του βουνού, πολλαπλασιάζεται με δύο τρόπους: α) Εγγενώς (με σπόρους) και β) Αγενώς (με μοσχεύματα ή παραφυάδες).

α) Εγγενώς: Κατά τον εγγενή πολλαπλασιασμό, οι σπόροι προέρχονται είτε από την αυτοφυούμενη, είτε από την καλλιεργούμενη ρίγανη. Ένα στρέμμα απαιτεί επαρκή ποσότητα σπόρου, τόση ώστε να καλύψει την επιφάνειά του. Ένα γραμμάριο περιέχει περίπου 10.000 σπόρους, ποσό το οποίο θεωρείται αρκετό, ωστόσο στην πράξη χρησιμοποιούνται 30 γραμμάρια σπόρου για κάθε 7-8 τετραγωνικά μέτρα (Γκόλιαρης 1992). Η σπορά λαμβάνει χώρα πάντα τέλη Ιουλίου σε σπορείο. Έπειτα, ακολουθεί ελαφρύ σκέπασμα του σπόρου, πάτημα και πότισμα δύο φορές ημερησίως, μέχρι την βλάστηση. Απαραίτητη φροντίδα αποτελεί η προστασία του βλαστού από τον καλοκαιρινό ήλιο, γεγονός που επιτυγχάνεται με την κάλυψη του φυτρώματος με καλάμια, φρύγανα ή ψάθες. Οι λοιπές καλλιεργητικές φροντίδες της ρίγανης είναι παρόμοιες με αυτές του καπνού ή της τομάτας (Γκόλιαρης 1992, Σαρχής 1994, Bosabalidis et al. 1998).

β) Αγενής πολλαπλασιασμός:

✓ Με μοσχεύματα: Τα μοσχεύματα αποτελούνται από τμήματα βλαστών μήκους 8-10 cm και λαμβάνονται είτε από αυτοφυή, είτε από καλλιεργούμενα φυτά κατά τον Απρίλη/Μάη. Έπειτα, τοποθετούνται σε μίγμα χώματος-άμμου αναλογίας 1:1, για να αναπτύξουν ριζικό σύστημα, περίπου για 20-40 ημέρες. Τα μοσχεύματα που εμφανίζουν ρίζες φυτεύονται τελικά στον αγρό (Σκρουμπής 1988, Γκόλιαρης 1992).

✓ Με παραφυάδες: Μετά τον δεύτερο χρόνο ανάπτυξής της, η ρίγανη εμφανίζει παραφυάδες, ενώ αναπτύσσει πλέον και πλούσιο ριζικό σύστημα. Η καλλιεργούμενη ρίγανη, ωστόσο, δίνει εμφανώς περισσότερες παραφυάδες από την αυτοφυή (Γκόλιαρης 1992).

• Συγκομιδή.

Η συγκομιδή της ρίγανης λαμβάνει χώρα όταν το φυτό είναι ανθισμένο κατά το 80% περίπου και κόβεται σε ύψος 10 εκατοστών από το έδαφος. Στην περίπτωση της αυτοφυούς ρίγανης, ως μέσα συγκομιδής χρησιμοποιούνται μαχαίρι ή δρεπάνι, ενώ στην περίπτωση της καλλιεργούμενης, χορτοκοπτικό μηχάνημα. Μετά την συγκομιδή, οι ποσότητες της ρίγανης μεταφέρονται σε σκιερό μέρος και αφήνονται εκεί για να ξεραθούν, ώστε να διατηρηθεί το πράσινο χρώμα. Αποξηραίνονται συνήθως σε δεματάκια (ματσάκια) πάχους περίπου 20 cm και τις πρώτες μέρες είναι απαραίτητη η ανατάραξη του προϊόντος για να μην “ανάψει”, περίπτωση κατά την οποία το φύλλο της ρίγανης μαυρίζει και καθίσταται ακατάλληλη για εμπορία (Σκρουμπής 1979, Γκόλιαρης 1992, Σαρλής 1994).



ΕΙΚΟΝΑ 5: Παράδειγμα ρίγανης πριν και μετά την επεξεργασία της κοσκίνισης.

Μετά την αποξήρανση ακολουθεί το τρίψιμο της ρίγανης και τέλος το κοσκίνισμα, κατά το οποίο απομακρύνονται τα μεγάλα τεμάχια βλαστών (Εικόνα 5). Η τελική ρίγανη, μετά τις παραπάνω επεξεργασίες, φτάνει σε όγκο περίπου το μισό της αρχικής. Φυλάσσεται σε σάκους και τοποθετείται σε καλά αεριζόμενες αποθήκες μέχρι την διάθεσή της στο εμπόριο (Γκόλιαρης 1992, Skoula et al. 1997).

3.5 Χημική σύσταση των φυτών του γένους *Origanum vulgare L.*

Όπως και στο τσάι του βουνού, οι κύριες χημικές ενώσεις της ρίγανης είναι οι φαινολικές ενώσεις, τα τερπένια και τα αιθέρια έλαια. Οι φαινολικές ενώσεις και τα τερπένια που απαντούν στο εκχύλισμα της ρίγανης δεν παρουσιάζουν μεγάλη διαφορά από αυτά του τσαγιού του βουνού, αντίθετα το αιθέριο έλαιο της ρίγανης, γνωστό ως ριγανέλαιο, παρουσιάζει ενδιαφέρουσες και χαρακτηριστικές διαφορές.

Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης αντιστοιχεί σε πολύπλοκα μίγματα ουσιών που περιέχονται στο φυτό και λαμβάνονται από αυτό με την διαδικασία της απόσταξης. Η ποσότητα του αιθέριου ελαίου της ρίγανης ποικίλλει ανάλογα με τα τμήματα του φυτού που υποβάλλονται σε απόσταξη. Έχει βρεθεί ότι τα άνθη και τα φύλλα του φυτού δίνουν αιθέριο έλαιο σε ποσοστό 4-6%, ενώ τα υπέργεια τμήματα του φυτού δίνουν περίπου 2-4% στο σύνολό τους (Exarchou et al. 2002). Το έλαιο αυτό περιέχει περισσότερες από 30 χημικές ουσίες, με κύρια συστατικά την καρβακρόλη και την θυμόλη (αποτελούν το 78-82% συνήθως του αιθέριου ελαίου), οι οποίες ανήκουν στις φαινολικές ουσίες (Vekiari et al. 1993, Adam et al. 1998). Άλλα συστατικά είναι το γ-τερπινένιο και το π-κυμένιο που αποτελούν περίπου το 5% και το 7% του αιθέριου ελαίου αντίστοιχα και ανήκουν στους υδρογονάνθρακες. Σε μικρότερο ποσοστό ακολουθούν διάφορες ενώσεις της ίδιας οικογένειας, όπως το α-πινένιο, το β-πινένιο, το θουαγένιο, το α-τερπινένιο, το β-καρυοφυλλένιο, το β-βισαβολένιο, το φελλανδρένιο και το σαβινένιο. Επιπλέον, απαντούν διάφορες αλκοόλες, όπως η κινεόλη, η λιναλοόλη, η βορνεόλη και η τερπινεόλη (Daferera et al. 2000).

Η απόδοση της ρίγανης ωστόσο σε αιθέριο έλαιο επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Το κλίμα, η εποχή της συλλογής και το έδαφος, είναι

δυνατόν να επηρεάσουν τη σύσταση της ρίγανης σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι η ποικιλία της (Kokkini 1994). Επίσης η μέθοδος παραλαβής των αιθέριων ελαίων φαίνεται να επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την σύνθεσή τους. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι ανάλογα με τον διαλύτη που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση των αιθέριων ελαίων του δικτάμου (*O. dictamnus*), το τελικό ποσοστό των ενώσεων είναι διαφορετικό. Χρησιμοποιώντας ως διαλύτη τη μεθανόλη βρέθηκε ποσοστό φαινολικών ενώσεων 13,8%, ενώ χρησιμοποιώντας ακετόνη 6,7% και με αιθανόλη βρέθηκε 7,7% (Moller et al. 1999). Τέλος, εκχύλισμα ρίγανης με εξάνιο βρέθηκε να περιέχει α- και γ-τοκοφερόλη σε ποσοστό μέχρι και 2% (Lagouri & Boskou 1996, Demo et al. 1998), ενώ εκχύλισμά της με αιθανόλη βρέθηκε να περιέχει και ροσμαρινικό οξύ (Exarchou et al. 2002). Ένα ενδιαφέρον σημείο είναι ότι παρ' όλες τις διαφορές που παρατηρούνται λόγω εποχικότητας και γεωγραφικής θέσης στη σύσταση, το άθροισμα των τεσσάρων κύριων συστατικών (γ-τερπινένιο + π-κυμένιο + θυμόλη + καρβακρόλη) φαίνεται να παραμένει πάντα σταθερό (Kokkini et al. 1997).

✓ γ-Τερπινένιο

Το γ-τερπινένιο, ή 4-μεθυλ-1- (1-μεθυλαιθυλ-) -1,4- κυκλοεξαδιένιο, είναι ελαιώδης ουσία που αποτελεί ισομερές του τερπινενίου και ανήκει στους υδρογονάνθρακες. Έχει MB 136.23 και ειδικό βάρος 0,853. Έχει χαρακτηριστική ευχάριστη οσμή και γεύση λεμονιού. Είναι πρακτικά αδιάλυτη στο νερό και ευδιάλυτη σε αλκοόλη και αιθέρα (*The Merck Index 1989*).

✓ π-Κυμένιο

Το π-κυμένιο, ή 1-μεθυλ-4-(1-μεθυλαιθυλ)- βενζόλιο, είναι ισομερές του πινενίου και ανήκει στους υδρογονάνθρακες. Έχει MB 134.21 και ειδικό βάρος 0.857. Έχει χαρακτηριστική οσμή και γεύση κίτρου. Είναι πρακτικά αδιάλυτη ένωση στο νερό και ευδιάλυτη σε αλκοόλη, αιθέρα, χλωροφόρμιο και οξικό οξύ (*The Merck Index 1989*).

✓ Θυμόλη

Η θυμόλη, ή ισοπροπυλ-μ-κρεσόλη [$C_6H_3CH_3(OH)(C_3H_7)$], είναι κρυσταλλική, φαινολική ουσία που αποτελεί το ισομερές της καρβακρόλης. Είναι και αυτή ένωση με χαρακτηριστική οσμή και καυστική γεύση και είναι αδιάλυτη πρακτικά στο νερό αλλά πολύ ευδιάλυτη σε αλκοόλη, χλωροφόρμιο

και αιθέρα (*The Merck Index 1989*).

✓ Καρβακρόλη

Η καρβακρόλη, ή ισοπροπυλ-ο-κρεσόλη [$C_6H_3CH_3(OH)(C_3H_7)$], είναι άχρωμη, ελαιώδης ουσία με MB 150.21. Ανήκει στα φαινολικά μονοτερπένια, έχει χαρακτηριστική οσμή, έντονη γεύση και είναι πρακτικά αδιάλυτη στο νερό, ενώ διαλύεται εύκολα σε αλκοόλη και διαιθυλαιθέρα. Έχει ειδικό βάρος 0.977 και στερεοποιείται με ψύξη σε χαμηλή θερμοκρασία (*The Merck Index 1989*).

3.5.1. Βιολογική δράση του ριγανέλαιου

Τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου της ρίγανης, η καρβακρόλη και η θυμόλη, παρουσιάζουν μεγάλη αντιβακτηριακή δράση *in vitro* (*Sivropoulou et al. 1996*). Η καρβακρόλη παρουσιάζει αντιβακτηριακή δράση έναντι των θετικών και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων, καθώς και έναντι του παθογόνου *Bacillus cereus*, ενώ η θυμόλη παρουσιάζει έντονη ανασταλτική δράση έναντι των μικροοργανισμών *Selenomonas ruminantium* και *Streptococcus bovis* (*Evans & Martin 2000*).

Η αντιβακτηριακή δράση των υπόλοιπων συστατικών της ρίγανης, όπως είναι το γ-τερπινένιο και το π-κυμένιο είναι δεδομένη, ωστόσο δεν έχει μελετηθεί ακόμη το αποτέλεσμα της συνεργιστικής δράσης των συστατικών της (*Sivropoulou et al. 1996*). Η δεδομένη αντιβακτηριακή δράση θεωρείται ότι οφείλεται στην ιδιότητα των φαινολικών ουσιών να διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη μέσω της διάχυσης και διεισδύουν στο εσωτερικό του βακτηριακού κυττάρου, όπου επιδρούν αρνητικά στους βιοχημικούς μηχανισμούς του μεταβολισμού του (*Judis 1963, Juven et al. 1972, Ultee et al. 1999*).

4. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ ΑΡΩΜΑΤΟΣ

Οι αρωματικές ενώσεις αποτελούνται από αρκετά διαφοροποιημένες τάξεις ουσιών, κάποιες από τις οποίες είναι χημικά ενεργές και βρίσκονται στα τρόφιμα σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις. Οι δυσκολίες που συνήθως συναντώνται κατά την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των αρωματικών ενώσεων βασίζονται σ' αυτές τις ιδιότητες. Άλλες δυσκολίες συνδέονται με την ταυτοποίηση των αρωματικών ενώσεων, την αποσαφήνιση της χημικής τους δομής και το χαρακτηρισμό των αισθητηριακών ιδιοτήτων τους.

Η χημική ανάλυση των αρωματικών ενώσεων δειγμάτων τροφίμων προϋποθέτει να επιτευχθεί μια τέτοια συγκέντρωση της ένωσης, η οποία να είναι ταυτοποιήσιμη. Για να επιλυθούν ζητήματα που αφορούν στο ευρύ φάσμα της θερμικής σταθερότητας, πολικότητας, πτητικότητας και διαλυτότητας, καθώς επίσης και της χημικής ενεργότητας που χαρακτηρίζει και τις μη πτητικές ενώσεις του μίγματος είναι απαραίτητες ολοένα και περισσότερο πολύπλοκες διαδικασίες.

Το δείγμα θα πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικό, όχι μόνο σε ότι αφορά στα θέματα νοθείας αλλά και σε σταθερότητα της αναλογίας των ποσοτήτων των πτητικών συστατικών που υπάρχουν στους ατμούς και στην κυρίως μάζα. Η σύνθεση των πτητικών συστατικών στον υπερκείμενο χώρο εξαρτάται από την τάση ατμών των ενώσεων στην καθαρή τους μορφή. Τα μη συσκευασμένα δείγματα επομένως θα πρέπει να τοποθετούνται έγκαιρα σε κατάλληλους περιέκτες, να απομακρύνεται ο αέρας και να αντικαθίσταται με αδρανές αέριο (άζωτο ή ήλιο).

Οι αρωματικές ενώσεις που βρίσκονται στους ατμούς, στο χώρο πάνω από το τρόφιμο θα πρέπει να ανιχνεύονται με πολύ μεγάλη προσοχή με την ανάλυση υπερκείμενου χώρου (*headspace analysis*). Οι ποσότητες των ενώσεων που απομονώνονται με τη διαδικασία αυτή είναι τόσο μικρές που ακόμα και σημαντικές αρωματικές ενώσεις, που βρίσκονται στα τρόφιμα σε μικρές συγκεντρώσεις, δεν έχουν σήμα ανίχνευσης μετά το διαχωρισμό του δείγματος με αέρια χρωματογραφία. Συνήθως για τις μικροποσότητες αυτές χρειάζεται και συμπύκνωση από μια μεγάλη ποσότητα πτητικών.

Οι διάφορες μέθοδοι απομόνωσης των πτητικών είναι οι ακόλουθες:

- ◆ Απόσταξη /Εκχύλιση (Distillation/ extraction)
- ◆ Εκχύλιση με αέριο (Gas extraction)
- ◆ Ανάλυση υπερκείμενου χώρου (Headspace analysis)

(Παληογιάννη, Α.Π. 2007)

Τα τελευταία χρόνια εφαρμόζεται η μέθοδος μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (*solid phase micro-extraction -SPME*) σε συνδυασμό με την αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (*GC-MS*).

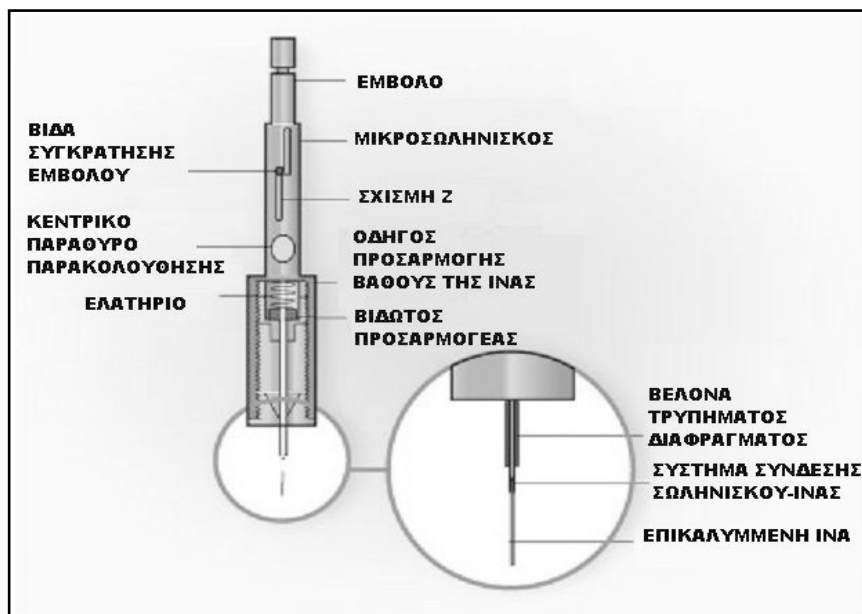
4.1 Τεχνική μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME)

Η *SPME*, είναι μια νέα τεχνική προετοιμασίας δείγματος, η οποία γνωστοποιήθηκε από τους *Arthur* και *Pawliszyn* το 1990 και σήμερα είναι ευρέως αποδεκτή, με συνεχώς αυξανόμενες βιβλιογραφικές αναφορές. Η *SPME* αναπτύχθηκε για την επίτευξη της γρήγορης προετοιμασίας των δειγμάτων, που αποτελεί πρώτιστη ανάγκη, τόσο σε εργαστηριακή κλίμακα, όσο και *in situ*. Αποτελεί απλή μέθοδο, η οποία μπορεί να αυτοματοποιηθεί, ενώ δεν περιλαμβάνει την χρήση οργανικών διαλυτών για την εκχύλιση και παραλαβή των αρωματικών συστατικών ενός τροφίμου (<http://chimicoergastirio.blogspot.gr>). Στηρίζεται ωστόσο, στην κατανομή των πτητικών συστατικών μεταξύ του δείγματος και της στερεάς φάσης (πολυμερές υλικό), με το οποίο είναι επικαλυμμένη η ίνα πηκτής διοξειδίου του πυριτίου (*fused silica gel*) της συσκευής. Η τεχνική αυτή επιτρέπει την επίτευξη ορίων ανίχνευσης της τάξης των 5-50 ng/L (ppt) για πτητικά, ημι-πτητικά και μη πτητικά συστατικά με καλή γραμμικότητα και ευαισθησία.

4.1.1. Συσκευή SPME

Η συσκευή που χρησιμοποιείται στην τεχνική *SPME* (Εικόνα 6), αποτελείται από τριχοειδή ίνα πηκτής τετηγμένου διοξειδίου πυριτίου μήκους 1-2 cm, η οποία επικαλύπτεται εξωτερικά από τη στατική φάση. Η ίνα είναι συνδεδεμένη με ατσάλινο έμβολο και συσκευή συγκράτησης που μοιάζει με μικροσύριγγα. Το δείγμα τοποθετείται σε φιαλίδιο, με διάτρητο πώμα, που

σφραγίζεται με διάφραγμα (*septum*) (<http://chimicoergastirio.blogspot.gr>). Πριν την ανάλυση η ίνα είναι απαραίτητο να καθαριστεί για να μη παρουσιαστεί θόρυβος στο χρωματογράφημα.



ΕΙΚΟΝΑ 6: Αναλυτική απεικόνιση συσκευής SPME.

4.1.2. Ίνες που χρησιμοποιούνται στη μέθοδο SPME

Στο εμπόριο κυκλοφορούν πολλοί τύποι ινών (Εικόνα 7), οι οποίοι διαφέρουν μεταξύ τους στο πάχος και στο υλικό της στατικής φάσης. Η επιλογή της στατικής φάσης εξαρτάται από το είδος των προς προσδιορισμό ουσιών. Γενικά, για πολικές ουσίες χρησιμοποιούνται πολικές στατικές φάσεις, ενώ για μη πολικές ουσίες, μη πολικές στατικές φάσεις (<http://chimicoergastirio.blogspot.gr>).



ΕΙΚΟΝΑ 7: Ίνα που χρησιμοποιείται στη μέθοδο SPME.

Οι κύριοι τύποι ινών που κυκλοφορούν στο εμπόριο, είναι:

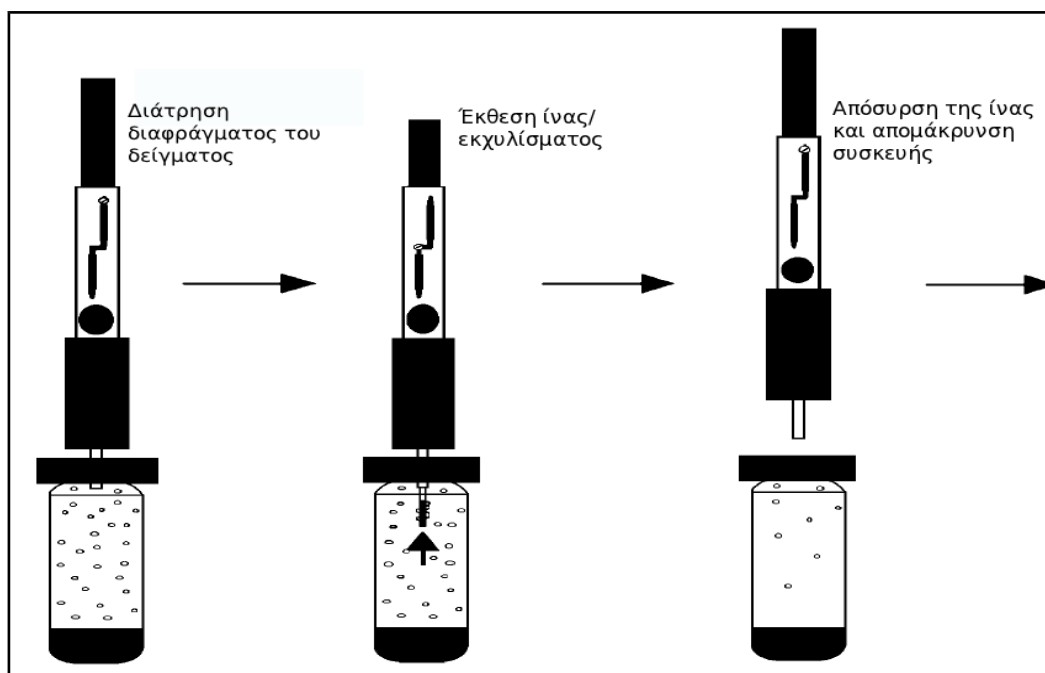
- Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (**PDMS**, 100, 30 και 7 μm).
 - Πολυακρυλικός εστέρας (**PA**, 85 μm).
 - Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο/ διβινυλοβενζόλιο (**PDMS/DVB**, 65 μm).
 - Carboxen/ Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (**CAR/PDMS**, 75 μm).
 - Carbowax/ διβινυλοβενζόλιο (**CW/DVB**, 65 μm).
 - Carbowax/ επιστρωμένη ρητίνη (**CW/TPR**, 50 μm).
 - Διβινυλοβενζόλιο/Carboxen/Πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (**DVB/CAR/PDMS**, 50/30 μm).
- (www.sigma-aldrich/supelco.com)

4.1.3. Μέθοδοι εκχύλισης

Ανάλογα με την τοποθέτηση της ίνας στην τεχνική της μικροεκχύλισης στερεάς φάσης διακρίνονται τρεις βασικές μέθοδοι εκχύλισης:

✓ Η άμεση εκχύλιση. Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται με απευθείας εμπύθιση της ίνας στο δείγμα, οπότε οι προς ανάλυση ενώσεις μεταφέρονται άμεσα από το δείγμα στην πολυμερική μεμβράνη. Για να επιτευχθεί η ισορροπία πιο γρήγορα γίνεται συχνά ανάδευση του δείγματος. Σε υγρά δείγματα χρησιμοποιούνται μέθοδοι όπως η μαγνητική ανάδευση, η δόνηση της ίνας ή του φιαλιδίου και η ανάδευση με υπερήχους. Σε αέρια δείγματα η μετάδοση της θερμότητας μέσω αγωγής στην αέρια φάση είναι αρκετή για την επίτευξη της ισορροπίας στο σύστημα (Motlagh & Pawliszyn 1993, Chai & Pawliszyn 1995).

✓ Η εκχύλιση με έκθεση της ίνας στην υπερκείμενη αέρια φάση του δείγματος. Στη μέθοδο αυτή (Εικόνα 8), η μεταφορά των ενώσεων γίνεται μέσω της αέριας φάσης. Με τον τρόπο αυτό προστατεύεται η ίνα από την άμεση επαφή με ενώσεις υψηλού μοριακού βάρους ή άλλες πτητικές ενώσεις και επιπλέον γίνεται πιο εύκολη η ρύθμιση παραμέτρων για την αποφυγή της καταστροφής της ίνας και την αύξηση της διάρκειας ζωής της (Pawliszyn 1997 & 1999, Roberts et al. 2000, Vas & Vekey 2004).



ΕΙΚΟΝΑ 8: Εκχύλιση με έκθεση της ίνας στον υπερκείμενο χώρο του δείγματος.

✓ Η εκχύλιση με προστασία της ίνας μέσα σε μεμβράνη. Η χρήση της μεμβράνης στη μέθοδο αυτή παίζει προστατευτικό ρόλο για την ίνα. Αν και η μέθοδος αυτή βρίσκει καλή εφαρμογή σε μη πτητικές ενώσεις, η μείωση της ευαισθησίας της διεργασίας εκχύλισης και ο μεγάλος χρόνος εκχύλισης που απαιτείται περιορίζουν την εφαρμογή της (Pawliszyn 1999).

4.1.4. Συνθήκες που επιδρούν στην εφαρμογή της SPME

◆ **Επιλογή στατικής φάσης.**

Για μη πολικές ενώσεις χρησιμοποιείται επίστρωση πολυδιμεθυλοσιλοξανίου, ενώ για πολικές ενώσεις επίστρωση πολυακρυλικού εστέρα. Η επίστρωση Carbowax/διβινυλοβενζολίου χρησιμοποιείται για αλκοόλες, ενώ η πολυδιμεθυλοσιλοξανίου/διβινυλοβενζολίου για πτητικές αμίνες (Pawliszyn, 1999). Καλύτερη απομόνωση πτητικών συστατικών γίνεται με μεγαλύτερα πάχη επίστρωσης, ενώ τα λεπτότερα προορίζονται αντίστοιχα για την απομόνωση ημιπτητικών συστατικών. Όταν χρησιμοποιούνται ίνες με μεγάλο πάχος στατικής φάσης αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης, καθώς αυξάνεται και ο χρόνος αποκατάστασης της ισορροπίας (<http://chimicoergastirio.blogspot.gr>).

◆ **Συνθήκες εκχύλισης:**

✓ Ο χρόνος εκχύλισης εξαρτάται από τον συντελεστή κατανομής της ένωσης μεταξύ του τροφίμου και της ίνας, καθώς και από την ανάδευση του δείγματος.

✓ Η θερμοκρασία του δείγματος έχει διπλή επίδραση, σε υψηλές θερμοκρασίες 1. οι συντελεστές διάχυσης στο διάλυμα είναι υψηλοί και 2. ο χρόνος εκχύλισης είναι πιο μικρός. Η θέρμανση του δείγματος δεν συνίσταται παρά μόνο στην μικροεκχύλιση στερεάς φάσης υπερκείμενου χώρου (*Head-Space Solid Phase Microextraction, HS-SPME*).

✓ Το pH του δείγματος είναι σημαντικό για ελαφρά όξινες ή βασικές ενώσεις.

✓ Η προσθήκη διαλυτού άλατος στο δείγμα αυξάνει την ιοντική ισχύ του διαλύματος.

✓ Η υγρασία του αέρα από τον υπερκείμενο χώρο έχει βρεθεί ότι επιδρά στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης (*Pawliszyn, 1999*).

4.1.5. Παράγοντες που επιδρούν στην εκρόφηση από την ίνα SPME

Η θερμοκρασία, ο χρόνος εκρόφησης καθώς και η θέση της βελόνας στον εισαγωγέα του αέριου χρωματογράφου είναι οι κυριότεροι παράγοντες που επιδρούν στην εκρόφηση των ενώσεων από την ίνα.

Η θερμοκρασία εκρόφησης είναι περίπου ίση με το σημείο ζέσεως της λιγότερο πτητικής ένωσης και κυμαίνεται συνήθως μεταξύ 150°-250°C. Από την θερμοκρασία εκρόφησης εξαρτάται άμεσα και ο χρόνος εκρόφησης, ο οποίος καθορίζεται όμως στα 5-10 λεπτά περίπου ώστε να επιτευχθεί και ο καθαρισμός της ίνας.

Ο όγκος του εισαγωγέα (*liner*) επιδρά στο σχήμα των λαμβανομένων χρωματογραφικών κορυφών, αφού μεγάλοι όγκοι προκαλούν την επιμήκυνση της κορυφής.

Τέλος, η θέση της ίνας στον εισαγωγέα παίζει σημαντικό ρόλο, καθώς μπορεί να προκαλέσει την ανομοιόμορφη θέρμανσή του (*Pawliszyn, 1999*).

4.2 Αέρια Χρωματογραφία - Φασματοσκοπία Μάζας (GC- MS)

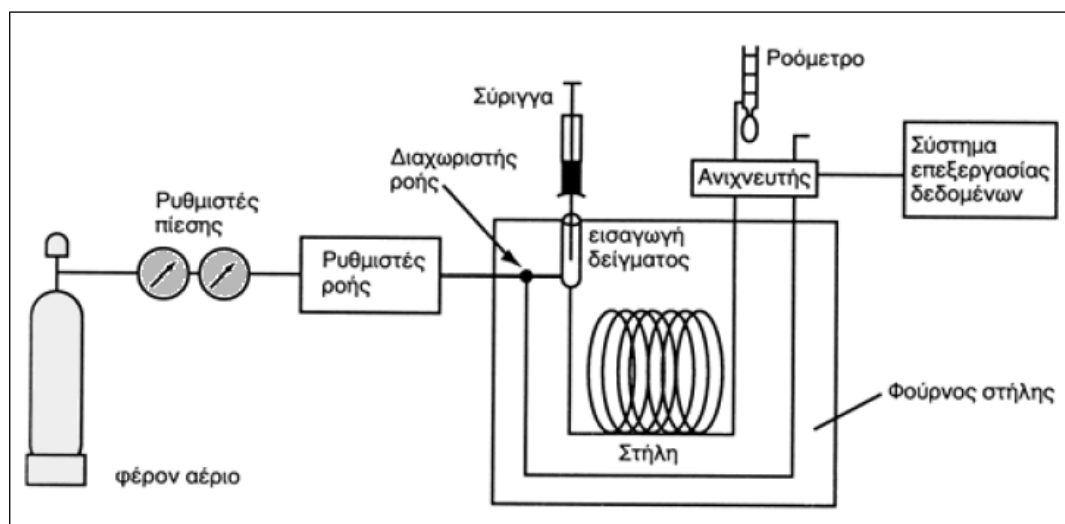
4.2.1. Αέρια Χρωματογραφία (GC)

◆ Ορισμός

Η αέρια χρωματογραφία είναι τεχνική χρωματογραφικού διαχωρισμού των αέριων ή πτητικών συστατικών ενός δείγματος. Ο διαχωρισμός των συστατικών στη μέθοδο αυτή, βασίζεται στην κατανομή τους μεταξύ της στατικής φάσης (μη πτητικό υγρό), καθηλωμένης σε στατικό φορέα ή στα τοιχώματα ανοιχτών τριχοειδών στήλων και του φέροντος αερίου (κινητή φάση). Ο διαχωρισμός κάθε επιμέρους πτητικού συστατικού επιτυγχάνεται λόγω των διαφόρων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των συστατικών του μίγματος, του υλικού πλήρωσης της στήλης ή του υλικού κάλυψης του εσωτερικού της στήλης και της ροής του φέροντος αερίου (Χατζηιωάννου 2003).

◆ Οργανολογία αέριας χρωματογραφίας

Στην Εικόνα 9 δίνεται το σχηματικό διάγραμμα ενός αέριου χρωματογράφου όπου επισημαίνονται οι βασικές του μονάδες.



ΕΙΚΟΝΑ 9: Σχηματικό διάγραμμα αέριου χρωματογράφου.

✓ Φέρον αέριο. Το φέρον αέριο πρέπει απαραίτητα να είναι χημικά αδρανές έναντι του υλικού κατασκευής του αέριου χρωματογράφου, του υλικού πλήρωσης της στήλης και των προς διαχωρισμό ουσιών, καθώς και να είναι απαλλαγμένο από προσμίξεις. Τα συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα αέρια

είναι το He, το N₂ και το Ar, ενώ σπανιότερα χρησιμοποιείται το H₂ και το CO₂. Η επιλογή του εκάστοτε φέροντος αερίου γίνεται με κριτήριο τον τύπο του χρησιμοποιούμενου ανιχνευτή, καθώς το φέρον αέριο πρέπει να διαφέρει σημαντικά από τις διαχωριζόμενες ουσίες ως προς μια συγκεκριμένη ιδιότητα, π.χ. θερμική αγωγιμότητα, πυκνότητα κ.ά., στην οποία στηρίζεται η λειτουργία του ανιχνευτή.

✓ Ρυθμιστής πίεσης – Ροόμετρο. Το φέρον αέριο διαβιβάζεται από την οβίδα, όπου βρίσκεται σε υψηλή πίεση, στον ρυθμιστή πίεσης, όπου δέχεται δραστική μείωση της πίεσής του. Στη συνέχεια διαβιβάζεται μέσα από το ροόμετρο, όπου γίνεται η ακριβής μέτρηση της ταχύτητάς του. (Η ακριβής μέτρηση της ταχύτητας του φέροντος αερίου είναι απαραίτητη, ιδίως στην ταυτοποίηση ενώσεων, καθώς συνδέεται άμεσα με τους χρόνους κατακράτησης).

✓ Σύστημα εισαγωγής δείγματος. Το δείγμα εισάγεται με μικροσύριγγα στον εισαγωγέα (ένα κατάλληλο στόμιο εισαγωγής δείγματος), ο οποίος φράσσεται με παχύ διάφραγμα από θερμοανθεκτικό υλικό (*septum*). Το διάφραγμα αυτό δρα ως βαλβίδα, καθώς ενώ επιτρέπει την είσοδο του δείγματος, ταυτόχρονα εμποδίζει την έξοδο αυτού και του φέροντος αερίου.

✓ Θερμοστατούμενος κλίβανος. Ο χώρος εισαγωγής του δείγματος και η στήλη, καθώς και ο ανιχνευτής σε ορισμένους χρωματογράφους, θερμοστατούνται (συνήθως περιοχή T: 50-300°C). Λόγω της μειωμένης αποδοτικότητας και λειτουργικότητας μίας ισόθερμης λειτουργίας της στήλης (αδυναμία πλήρους διαχωρισμού και ανίχνευσης των συστατικών), συνηθίζεται να χρησιμοποιείται η θερμοπρογραμματιζόμενη αέρια χρωματογραφία. Σύμφωνα με αυτή, η θερμοκρασία της στήλης μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της ανάλυσης, βάσει προκαθορισμένου προγράμματος για την επίτευξη του ζητούμενου διαχωρισμού.

✓ Στήλη. Η στήλη αποτελεί το σημαντικότερο τμήμα ενός αερίου χρωματογράφου και σε αυτή γίνεται ο διαχωρισμός των συστατικών ενός μίγματος. Υπάρχουν δύο είδη στηλών: α) οι πληρωμένες στήλες (*packed columns*) και β) οι τριχοειδείς στήλες (*capillary columns*). Η στήλη αποτελείται από επιμήκη σωλήνα, συνήθως με τη μορφή σπειράματος ή U, ώστε να καταλαμβάνει κατά το δυνατόν μικρότερο χώρο, από ανοξείδωτο χάλυβα, χαλκό, αργίλιο, ύαλο ή πλαστικό, μήκους από 1-2 m για τις πληρωμένες

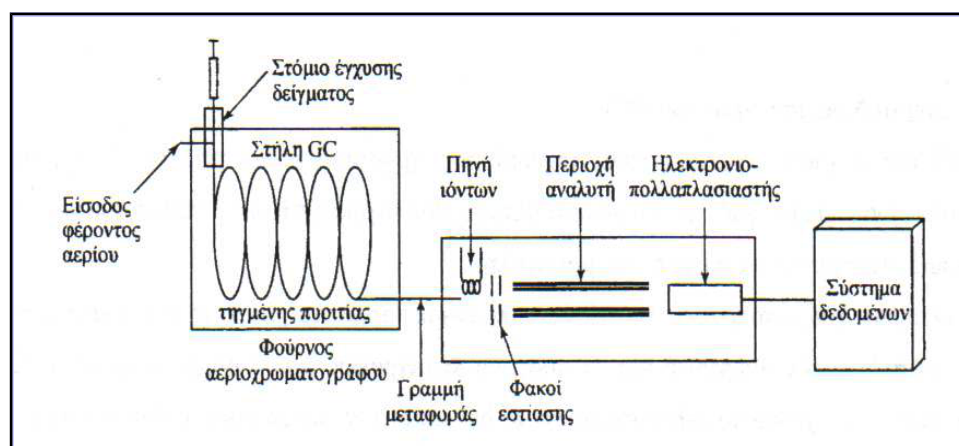
στήλες, μέχρις αρκετών εκατοντάδων μέτρων για τις τριχοειδείς στήλες, εσωτερικής διαμέτρου της τάξης του mm στις αναλυτικές (χρωματογραφικές) στήλες, πολλών δεκάδων cm στις παρασκευαστικές στήλες (Χατζηγιωάννου 2003).

◆ Εφαρμογές αέριας χρωματογραφίας

Εφόσον η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης διατηρείται σταθερή κατά τη διάρκεια των χρωματογραφημάτων, ο χρόνος κατακράτησης (*retention time -RT*), αποτελεί κριτήριο ταυτοποίησης των ουσιών και το αντίστοιχο εμβαδόν της κορυφής, το μέτρο του ποσοτικού προσδιορισμού της ουσίας. Για την ταυτοποίηση οργανικών πτητικών ενώσεων, βαθμονομείται ο αέριος χρωματογράφος με μίγμα κανονικών αλκανίων, κατασκευάζοντας το διάγραμμα του δείκτη κατακράτησης κατά Kovats (*retention index -RI*) (www.chem.uoa.gr).

4.2.2. Φασματοσκοπία Μάζας (MS)

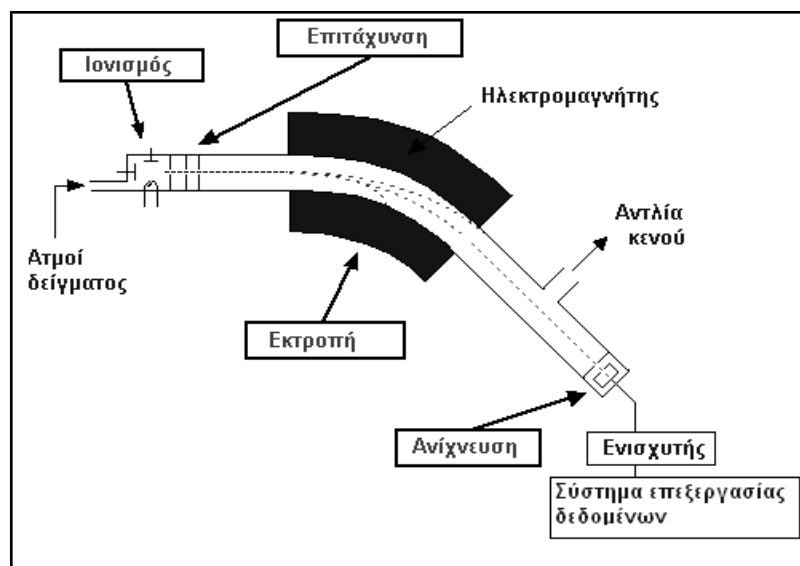
Η αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με την φασματοσκοπία μάζας (Εικόνα 10) είναι τεχνική χημικής ανάλυσης, η οποία δίνει πληροφορίες για την ταυτότητα, τη δομή, το μοριακό βάρος και την ποσότητα αγνώστων ουσιών. Οι άγνωστες ουσίες του δείγματος, αφού διαχωρίζονται στη στήλη χρωματογραφίας, εισάγονται στο φασματογράφο μάζας για την ταυτοποίησή τους (Γιασαφάκη 2008).



ΕΙΚΟΝΑ 10: Απεικόνιση διάταξης συζευγμένου συστήματος αέριου χρωματογράφου / φασματογράφου μάζας (GC/MS).

Η ανάλυση με φασματογράφο μάζας (Εικόνα 11) στηρίζεται στον ιονισμό των εξερχόμενων από τον αέριο χρωματογράφο μορίων, γεγονός που επιτυγχάνεται συνήθως με τον βομβαρδισμό τους με ηλεκτρόνια υψηλής ενέργειας. Στη συνέχεια, τα παραγόμενα θραύσματα διαχωρίζονται με την βοήθεια ηλεκτρικού ή μαγνητικού πεδίου (ή συνδυασμό και των δύο).

Η ταυτοποίηση των ιόντων βασίζεται στον διαφορετικό λόγο μάζας προς το φορτίο κάθε ιοντικού θραύσματος (m/z) και γίνεται η απαρίθμηση των ιόντων κάθε κατηγορίας ή η μέτρηση του ρεύματος που παράγεται, όταν τα σχηματιζόμενα από το δείγμα ιόντα προσπίπτουν σε κατάλληλο μεταλλάκτη. Ο μεταλλάκτης μετατρέπει την ιοντική δέσμη σε ηλεκτρικό σήμα, το οποίο υφίσταται περαιτέρω επεξεργασία και καταγραφή. Η ανάλυση του παραγόμενου φάσματος και η ταυτοποίηση των μορίων γίνεται συνήθως με τη βοήθεια πιστοποιημένων βιβλιοθηκών φασμάτων. Περαιτέρω θραυσματοποίηση των αρχικών ιόντων είναι δυνατόν να επιτευχθεί σε συστήματα MS/MS για πιο ακριβή ανάλυση (περιπτώσεις διαφορετικών ιόντων με ίδιο λόγο m/z) (Χατζηγιωάννου 2003).



ΕΙΚΟΝΑ 11: Περιγραφή φασματογράφου μάζας (MS) (www.chemguide.co.uk).

4.3 Ταυτοποίηση των πτητικών συστατικών με τη βοήθεια των δεικτών κατακράτησης Kovats

Η τεχνική αυτή βασίζεται στον υπολογισμό των δεικτών κατακράτησης Kovats από τα χρωματογραφικά δεδομένα του αεριοχρωματογραφικού διαχωρισμού, σε δύο τουλάχιστον τριχοειδείς στήλες που φέρουν διαφορετικής πολικότητας στατική φάση.

Ο δείκτης κατακράτησης (*Retention Index -RI*) Kovats υποδηλώνει τη σχετική θέση της κορυφής μιας ουσίας σε ένα αεριοχρωματογράφημα ως προς τις κορυφές δύο διαδοχικών κανονικών αλκανίων ομόλογης σειράς. Στην περίπτωση μη ισόθερμου διαχωρισμού ο δείκτης αυτός υπολογίζεται από την σχέση:

$$RI = 100z + 100[(t'_r(x) - t'_r(z)) / (t'_r(z+1) - t'_r(z))]$$

όπου:

z : ο αριθμός των ατόμων άνθρακα ενός κανονικού αλκανίου του οποίου η κορυφή εκλούεται πριν την πτητική ένωση x ,

$t'_r(x)$: ο σχετικός χρόνος συγκράτησης της πτητικής ένωσης x ,

$t'_r(z)$: ο σχετικός χρόνος συγκράτησης ενός κ-αλκανίου με z άτομα άνθρακα

$t'_r(z+1)$: ο σχετικός χρόνος συγκράτησης ενός κ-αλκανίου με $(z+1)$ άτομα άνθρακα.

Ο δείκτης κατακράτησης Kovats των πτητικών ενώσεων είναι ανεξάρτητος της θερμοκρασίας στην οποία γίνεται ο διαχωρισμός. Αντίθετα, οι δείκτες κατακράτησης των πτητικών ενώσεων επηρεάζονται σημαντικά από τη θερμοκρασία (Χατζηγιωάννου 2003).

5. ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Αντικείμενο της παρούσας διατριβής είναι ο προσδιορισμός των πτητικών ενώσεων σε δύο απ' τα πιο διαδεδομένα αυτοφυή βότανα στον ελλαδικό χώρο, του *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. *raeseri* (τσάι του βουνού) και του *Origanum vulgare* L. (Martin-Donos) Nyman (ρίγανη), με τη χρήση της μεθόδου μικροεκχύλισης δια της στερεάς φάσης υπερκείμενου χώρου (*head space solid phase micro-extraction, HS-SPME*) και της αέριας χρωματογραφίας -φασματοσκοπίας μάζας (GC-MS). Τα είδη αυτά ανήκουν στην οικογένεια των χειλανθών (*Lamiceae*) και παρουσιάζουν εξαιρετικό βοτανικό και φυτοχημικό ενδιαφέρον.

Τα φυτά αυτά είναι διαδεδομένα στην περιοχή των Βαλκανίων. Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκαν τα πτητικά συστατικά βοτάνων από την περιοχή του Ζαγορίου. Ο προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε με την χρήση της αεριοχρωματογραφικής στήλης HP-5MS και τις ίνες SPME: PDMS 100 μm και DVB/CAR/PDMS 50/30 μm.

Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΥΛΙΚΑ

1.1 Δείγματα

Τσάι του βουνού (*Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. *raeseri*)

Η συγκομιδή των δειγμάτων έγινε μέσα Ιουλίου, κατά το στάδιο της πλήρους άνθισης των φυτών. Τα δείγματα συλλέχθηκαν από την περιοχή του κεντρικού Ζαγορίου και συγκεκριμένα από τα υπαλπικά οροπέδια της Τύμφης (1.700m έως 2.400m). Στη συνέχεια η ποσότητα που συλλέχθηκε χωρίστηκε σε μικρά δεμάτια (ματσάκια), τα οποία κρεμάστηκαν για ξήρανση σε κατάλληλο υπόστεγο για περίπου μια εβδομάδα. Μετά την ξήρανση, κατάλληλη ποσότητα δείγματος τοποθετήθηκε σε γυάλινο βάζο με αεροστεγές πώμα και διατηρήθηκε στο ψυγείο μέχρι την διεξαγωγή του πειράματος.

Ρίγανη (*Origanum vulgare* L.)

Η συγκομιδή της ρίγανης πραγματοποιήθηκε μέσα Ιουλίου, όταν τα φυτά είχαν ανθίσει κατά το 80% περίπου. Τα δείγματα ρίγανης συλλέχθηκαν από την περιοχή του κεντρικού Ζαγορίου, στο ύψος του χωριού Ασπράγγελοι (περίπου 1000m). Μετά την συγκομιδή, η ποσότητα της ρίγανης χωρίστηκε σε μικρά δεμάτια (ματσάκια), τα οποία κρεμάστηκαν για ξήρανση σε κατάλληλο υπόστεγο, για περίπου μια εβδομάδα. Στη συνέχεια ακολούθησε το τρίψιμο της ρίγανης και τέλος το κοσκίνισμα, κατά το οποίο απομακρύνθηκαν και τα τελευταία μεγάλα τεμάχια βλαστών. Μέρος της τελικής ποσότητας ρίγανης τοποθετήθηκε σε γυάλινο βάζο με αεροστεγές πώμα και διατηρήθηκε στο ψυγείο μέχρι την διεξαγωγή του πειράματος.

1.2 Αντιδραστήρια

Για την ταυτοποίηση των πτητικών συστατικών (τεχνικές SPME και GC/MS) και τον ημιποσοτικό προσδιορισμό τους, χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

- Χλωριούχο νάτριο (NaCl) της Merck.
- Μεθανόλη 95% της Fluka.
- Διάλυμα αλκανίων C₈-C₂₀ της Fluka.
- Εξάνιο της Merck.
- 4-μεθυλ-2-πεντανόλη της Merck, ως εσωτερικό πρότυπο για την αεριοχρωματογραφική ανάλυση των εκχυλισμάτων.

Το νερό που χρησιμοποιήθηκε σε όλες τις αναλύσεις ήταν δις απεσταγμένο.

2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1 Ταυτοποίηση των πτητικών συστατικών με τη μέθοδο της SPME σε συνδυασμό με GC/MS

Τα πτητικά συστατικά του τσαγιού του βουνού και της ρίγανης προσροφήθηκαν αρχικά με την τεχνική της μικροεκχύλισης στερεάς φάσης υπερκείμενου χώρου (*head space solid-phase microextraction, HS-SPME*) και στη συνέχεια ταυτοποιήθηκαν με τη χρήση συνδυασμού αέριας χρωματογραφίας και φασματοσκοπίας μάζας (*gas chromatography/ mass spectrometry, GC/MS*).

2.2 Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης

2.2.1. Χρησιμοποιούμενες ίνες

Για την ταυτοποίηση των πτητικών συστατικών των δειγμάτων του

τσαγιού του βουνού και της ρίγανης χρησιμοποιήθηκαν ίνες της εταιρείας *Supelco* και συγκεκριμένα, οι ίνες:

- i. πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (*PDMS*) με πάχος 100μm και
- ii. διβινυλοβενζόλιο/*Carboxen*/πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (*DVB/CAR/PDMS*) με πάχος 50/30 μm.

Πριν τη χρήση τους οι ίνες κοντισιοναρίστηκαν σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (τοποθετήθηκαν για μία ώρα στον εγχυτή του αέριου χρωματογράφου στους 250°C). Οι ίνες καθαρίζονταν κάθε φορά πριν την τοποθέτησή τους στον υπερκείμενο χώρο των προς ανάλυση δειγμάτων (*blank analysis*). Η διαδικασία του καθαρισμού των ινών επαναλήφθηκε έως ότου τα χρωματογραφήματα δεν εμφάνιζαν πλέον κορυφές τυχόν προσροφούμενων ουσιών.

2.2.2. Προετοιμασία δειγμάτων

➤ Τσάι του βουνού (*Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. *Raeseri*)

Χρησιμοποιήθηκαν 0,15 g δείγματος τσαγιού (φύλλα, άνθη, κορμός) τα οποία τοποθετήθηκαν σε γυάλινα φιαλίδια όγκου 20 mL και προστέθηκαν σε αυτά 0,5 mL κεκορεσμένου διαλύματος NaCl. Τα γυάλινα φιαλίδια σφραγίστηκαν με πώματα εφοδιασμένα με κατάλληλα septa. Ακολούθησε θέρμανση κάθε φιαλιδίου σε κατάλληλη θερμομαντική συσκευή, υπό μαγνητική ανάδευση, στους 60°C για 15 min, μέχρι να επέλθει ισορροπία μεταξύ του δείγματος και της υπερκείμενης φάσης. Στη συνέχεια η ίνα, με την συσκευή μικροεκχύλισης στερεάς φάσης, τοποθετήθηκε στην υπερκείμενη φάση τρυπώντας το septum του φιαλιδίου (βλ. *Εικόνα 8*, σελ. 42). Η ίνα παρέμεινε στον υπερκείμενο χώρο του προς ανάλυση δείγματος για 45 min. Τέλος, η ίνα μεταφέρθηκε στον εισαγωγέα του αέριου χρωματογράφου, ώστε να επιτευχθεί η θερμική εκρόφηση των πτητικών ενώσεων και ο διαχωρισμός τους με κατάλληλο θερμοκρασιακό πρόγραμμα. Η ίνα παρέμεινε στην είσοδο έγχυσης για 10 min. Η κάθε ανάλυση επαναλήφθηκε εις τριπλούν.

➤ **Ρίγανη (*Origanum vulgare L.*)**

Χρησιμοποιήθηκαν 0,5 g δείγματος ρίγανης τα οποία τοποθετήθηκαν σε γυάλινα φιαλίδια όγκου 20 mL και στη συνέχεια προστέθηκαν σε αυτά 0,5 mL κεκορεσμένου διαλύματος NaCl. Τα γυάλινα φιαλίδια σφραγίστηκαν με πώματα εφοδιασμένα με κατάλληλα septa. Ακολούθησε θέρμανση κάθε φιαλιδίου σε κατάλληλη θερμαντική συσκευή, υπό μαγνητική ανάδευση, στους 60°C για 30 min, μέχρι να επέλθει ισορροπία μεταξύ του δείγματος και της υπερκείμενης φάσης. Στη συνέχεια η ίνα, με την συσκευή μικροεκχύλισης στερεάς φάσης, τοποθετήθηκε στην υπερκείμενη φάση τρυπώντας το septum του φιαλιδίου. Η ίνα παρέμεινε στον υπερκείμενο χώρο του προς ανάλυση δείγματος για 15 min. Τέλος, η ίνα μεταφέρθηκε στον εισαγωγέα του αέριου χρωματογράφου, ώστε να επιτευχθεί η θερμική εκρόφηση των πτητικών ενώσεων και ο διαχωρισμός τους με κατάλληλο θερμοκρασιακό πρόγραμμα. Η ίνα παρέμεινε στην είσοδο έγχυσης για 10 min. Η κάθε ανάλυση επαναλήφθηκε εις τριπλούν.

2.3 Ανάλυση GC/MS

Τα πτητικά συστατικά των δειγμάτων ταυτοποιήθηκαν με τη χρήση συνδυασμού αέριας χρωματογραφίας και φασματοσκοπίας μάζας (GC/MS). Η συσκευή που χρησιμοποιήθηκε αποτελείται από αέριο χρωματογράφο HP-6890 (*Hewlett-Packard, Wilington, DE, USA*) εφοδιασμένο με φασματογράφο μάζας HP-5973.

Για τις αναλύσεις των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η τριχοειδής στήλη HP-5MS, 5% phenylmethylsiloxane, μήκους 30m, εσωτερικής διαμέτρου 0.25mm και με πάχος μεμβράνης 0.25 μm (*Agilent Technologies, USA*).

Για την ανάλυση GC/MS χρησιμοποιήθηκαν οι εξής παράμετροι:

Αεριοχρωματογραφικές συνθήκες ανάλυσης για το τσάι του βουνού

- Θερμοκρασία εισαγωγέα (injector): 260°C
- Θερμοκρασιακό πρόγραμμα φούρνου:

- Αρχική θερμοκρασία 65°C, σταθερή για 1 min
 - Αύξηση της θερμοκρασίας μέχρι τους 85°C με σταθερό ρυθμό 1°C/min, παραμονή στους 85°C για 3 min
 - Αύξηση της θερμοκρασίας μέχρι τους 110°C με σταθερό ρυθμό 4°C/min, παραμονή στους 110°C για 3 min
 - Αύξηση της θερμοκρασίας μέχρι τους 195°C με σταθερό ρυθμό 3°C/min
- Φέρον αέριο: υψηλής καθαρότητας ήλιο (He) ροής 1 mL/min.
 - Τρόπος έγχυσης: split με split ratio 50:1
 - Εύρος μαζών σάρωσης: 30-350

Αεριοχρωματογραφικές συνθήκες ανάλυσης για την ρίγανη

- Θερμοκρασία εισαγωγέα (injector): 260°C
- Θερμοκρασιακό πρόγραμμα φούρνου:
 - Αρχική θερμοκρασία 60°C
 - Αύξηση της θερμοκρασίας μέχρι τους 110°C με σταθερό ρυθμό 2°C/min, παραμονή στους 110°C για 2 min
 - Αύξηση της θερμοκρασίας μέχρι τους 180°C με σταθερό ρυθμό 10°C/min
- Φέρον αέριο: υψηλής καθαρότητας ήλιο (He) ροής 1 mL/min.
- Τρόπος έγχυσης: split με split ratio 100:1
- Εύρος μαζών σάρωσης: 30-350

Λόγω της υψηλής συγκέντρωσης καρβακρόλης στο δείγμα της ρίγανης και για την αποφυγή επιβάρυνσης του οργάνου GC-MS, επιλέχθηκε split ratio 100:1, σε αντίθεση με το δείγμα τσαγιού του βουνού που επιλέχθηκε split ratio 50:1.

Μετά την ολοκλήρωση των θερμοκρασιακών προγραμμάτων λαμβάνονται τα χρωματογραφήματα. Σε κάθε κορυφή αντιστοιχεί μια ένωση η οποία ταυτοποιήθηκε με τη βοήθεια της βιβλιοθήκης φασμάτων μάζας *Wiley 275 L* και με τους δείκτες κατακράτησης *Kovats*.

2.4 Υπολογισμός των δεικτών κατακράτησης Kovats

Για τον υπολογισμό των δεικτών κατακράτησης των πτητικών ενώσεων των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε μίγμα αλκανίων C₈-C₂₀ 10% σε εξάνιο. Ποσότητα ίση με 1μL μίγματος αλκανίων εισήχθη στον αεριοχρωματογράφο με την βοήθεια μικροσύριγγας και αναλύθηκε κάτω από τις ίδιες συνθήκες που αναλύθηκαν τα δείγματα τσαγιού και ρίγανης, πλην του τρόπου έγχυσης (20:1 split ratio) και για τα δύο προς ανάλυση δείγματα. Η κάθε ανάλυση πραγματοποιήθηκε δύο φορές.

Μετά την καταγραφή των χρωματογραφημάτων υπολογίστηκαν οι δείκτες Kovats για το κάθε συστατικό των δειγμάτων σύμφωνα με τη σχέση της σελίδας 48. Οι δείκτες που υπολογίστηκαν είναι ανεξάρτητοι από τη θερμοκρασία της στήλης και το ρυθμό ροής του φέροντος αερίου.

2.5 Ημιποσοτικός προσδιορισμός των κυριότερων πτητικών συστατικών με την μέθοδο GC/MS

Ο ημιποσοτικός προσδιορισμός των κυριότερων πτητικών συστατικών των δειγμάτων τσαγιού του βουνού και ρίγανης έγινε με τη βοήθεια εσωτερικού προτύπου (*internal standard*). Ως εσωτερικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε η 4-μεθυλ-2-πεντανόλη (διάλυμα 6.42 ppm 4-μεθυλ-2-πεντανόλης σε μεθανόλη). Στην περίπτωση του τσαγιού του βουνού προστέθηκαν 10μL πρότυπου διαλύματος 4-μεθυλ-2-πεντανόλης σε μίγμα 0.15g δείγματος τσαγιού του βουνού και 0.5ml κεκορεσμένου διαλύματος NaCl, ενώ στην περίπτωση της ρίγανης προστέθηκαν 50μL εσωτερικού προτύπου σε μίγμα 0.5g δείγματος ρίγανης και 0.5ml κεκορεσμένου διαλύματος NaCl. Τα πτητικά συστατικά των δειγμάτων προσδιορίστηκαν με τη χρήση συνδυασμού αέριας χρωματογραφίας και φασματοσκοπίας μάζας (GC/MS), ενώ χρησιμοποιήθηκαν ο ίδιος χρωματογράφος, οι ίδιες ίνες και οι ίδιες συνθήκες ανάλυσης που αναγράφονται και παραπάνω για το τσάι του βουνού την ρίγανη αντίστοιχα.

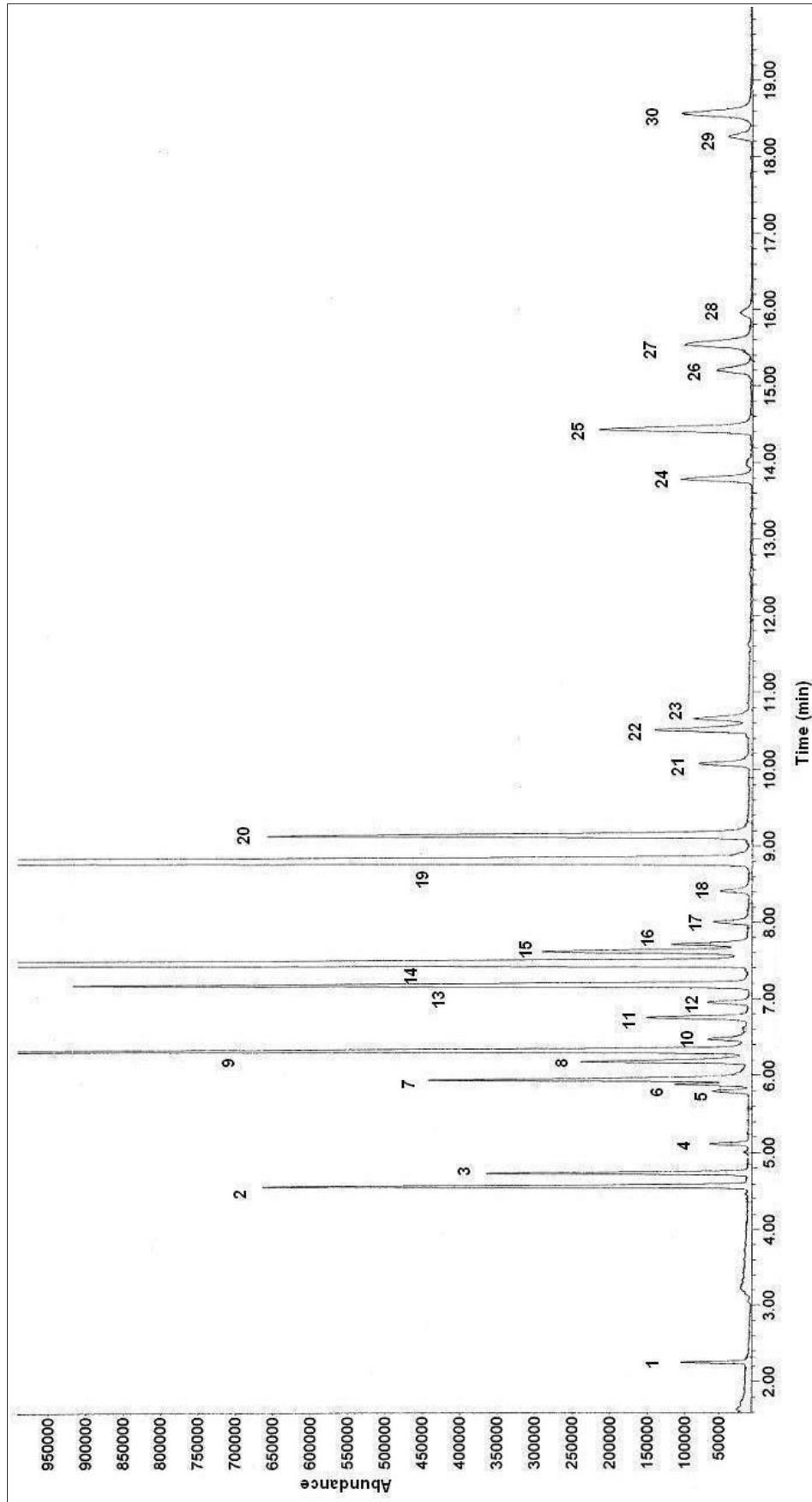
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. Ταυτοποίηση πτητικών συστατικών της ρίγανης και του τσαγιού του βουνού

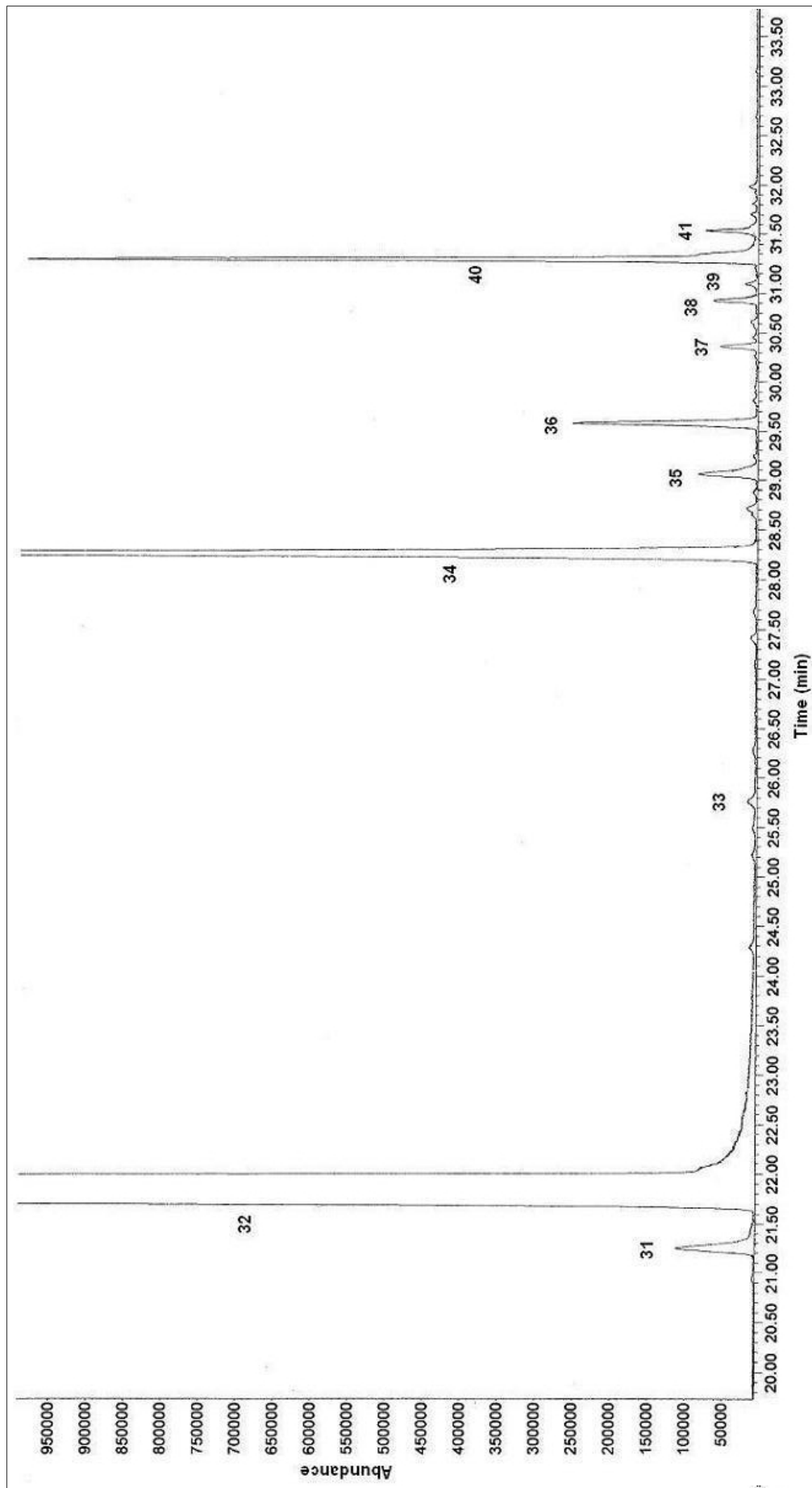
Η ταυτοποίηση των πτητικών συστατικών του τσαγιού του βουνού (*Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. *raeseri*) και της ρίγανης (*Origanum vulgare* L.) πραγματοποιήθηκε με την τεχνική της μικροεκχύλισης δια της στερεάς φάσης υπερκείμενου χώρου σε συνδυασμό με αέρια χρωματογραφία - φασματοσκοπία μάζας (GC-MS), όπως έχει ήδη περιγραφεί στο πειραματικό μέρος.

Στα αντιπροσωπευτικά χρωματογραφήματα που ακολουθούν (Σχήματα 1α-4β) φαίνονται τα πτητικά αρωματικά συστατικά που ταυτοποιήθηκαν στα δείγματα της ρίγανης και του τσαγιού του βουνού.

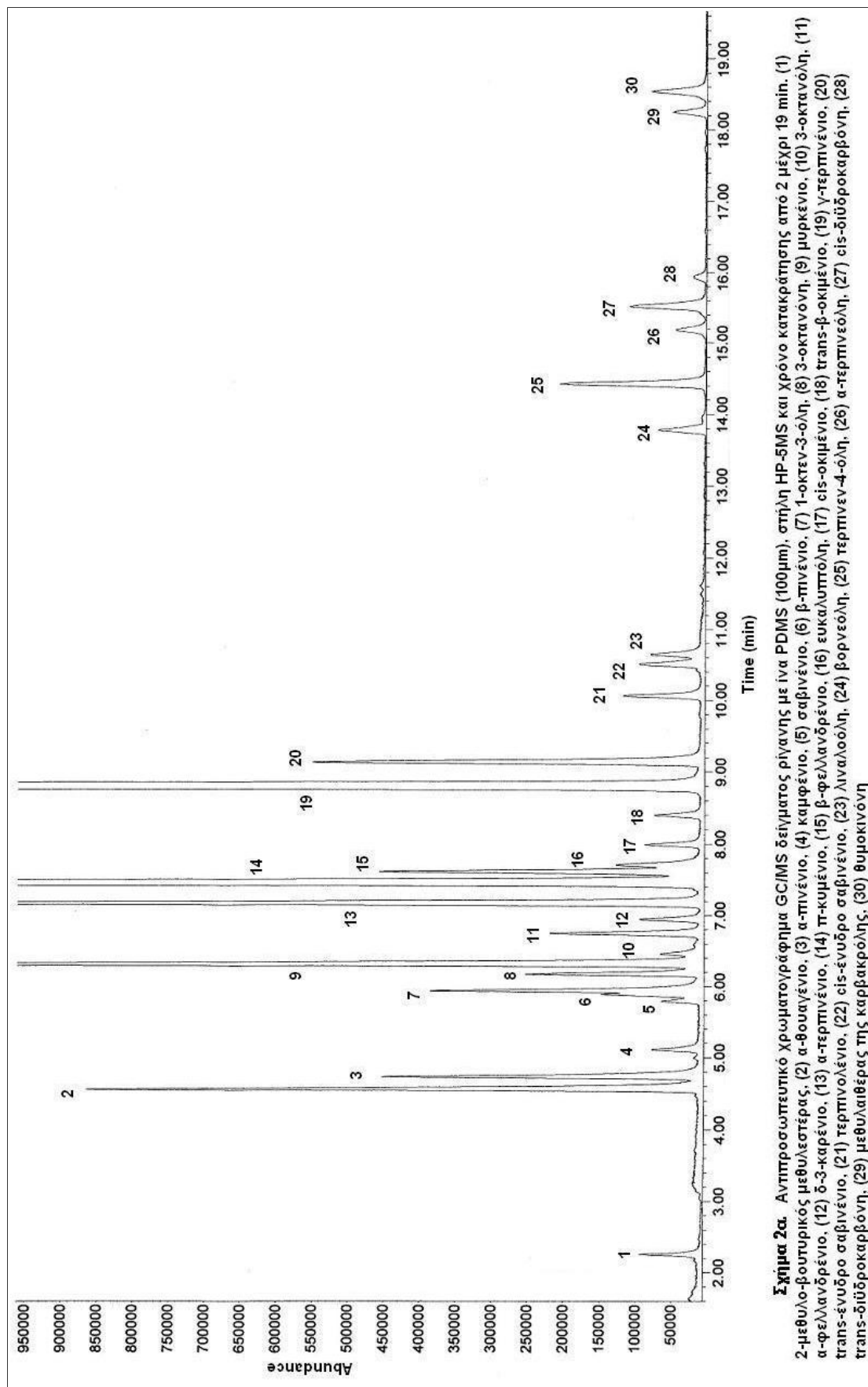
Οι ενώσεις που καταγράφονται και στα δύο δείγματα ανήκουν κυρίως στην κατηγορία των τερπενίων, τα οποία ευθύνονται και για το χαρακτηριστικό άρωμα των υπό εξέταση αρωματικών φυτών.



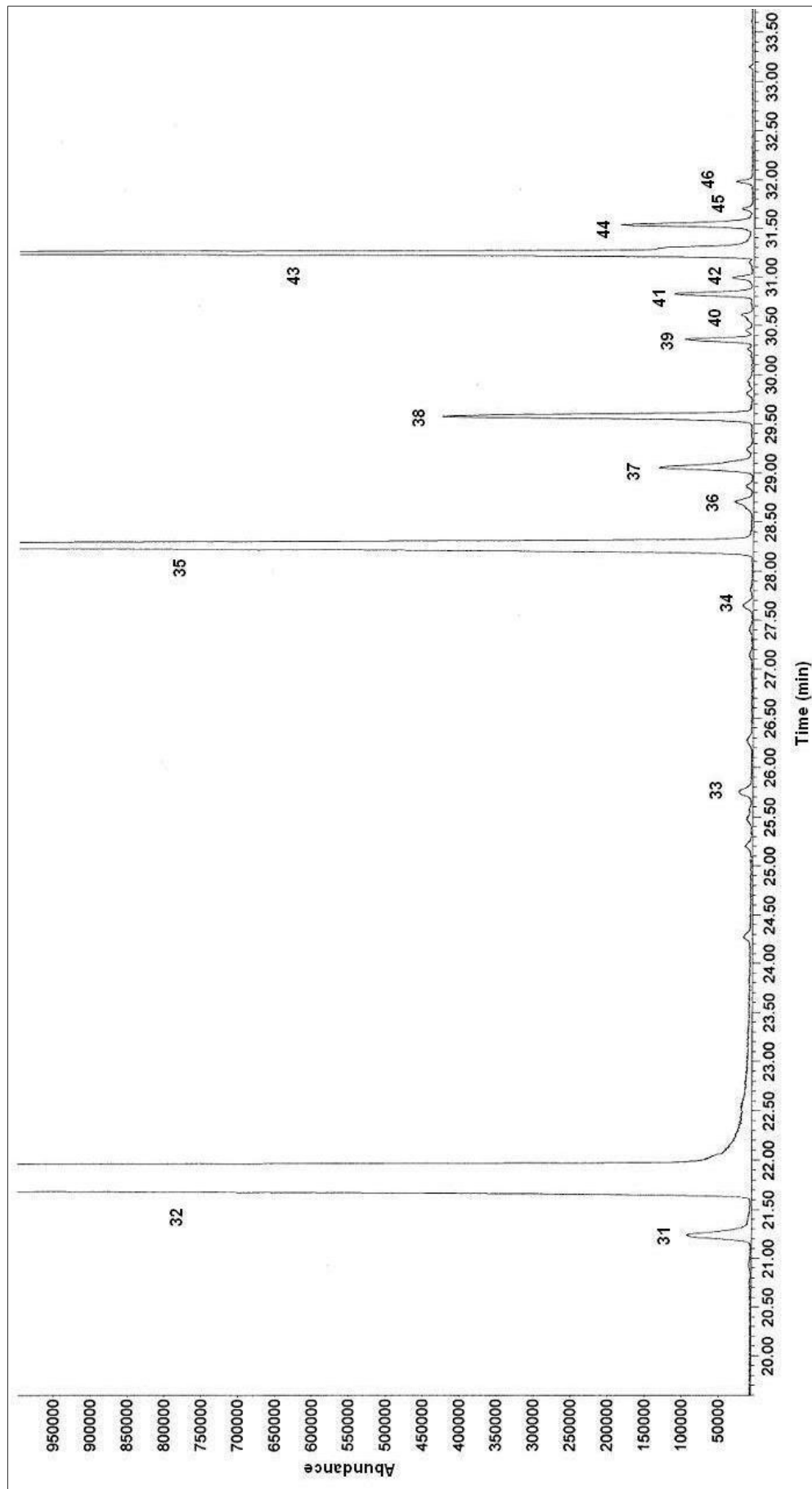
Σχήμα 1α. Αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα GC/MS δείγματος ριγανής με ινα DVB/CAR/PDMS (50/30μm), στήλη HP-5MS και χρόνο κατακράτησης από 2 μέχρι 19 min. (1) 2-μεθυλο-βουτυρικός μεθυλεστέρας, (2) α-θουαγγένιο, (3) α-πινένιο, (4) καμφένιο, (5) σαβινένιο, (6) β-πινένιο, (7) 1-οκτεν-3-όλη, (8) 3-οκτανόλη, (9) μυρκένιο, (10) 3-οκτανόλη, (11) α-φελλανδρένιο, (12) δ-3-καρένιο, (13) α-τερπινένιο, (14) π-κυμένιο, (15) β-φελλανδρένιο, (16) ευκαλυπτόλη, (17) cis-οκίμνιο, (18) trans-β-οκίμνιο, (19) γ-τερπινένιο, (20) trans-ένυδρο σαβινένιο, (21) τερπινολένιο, (22) cis-ένυδρο σαβινένιο, (23) λιναλοόλη, (24) βορνεόλη, (25) τερπινεν-4-όλη, (26) α-τερπινεόλη, (27) cis-διυδροκαρβονη, (28) trans-διυδροκαρβονη, (29) μεθυλαιθέρας της καρβακρόλης, (30) θυμοκινόνη.



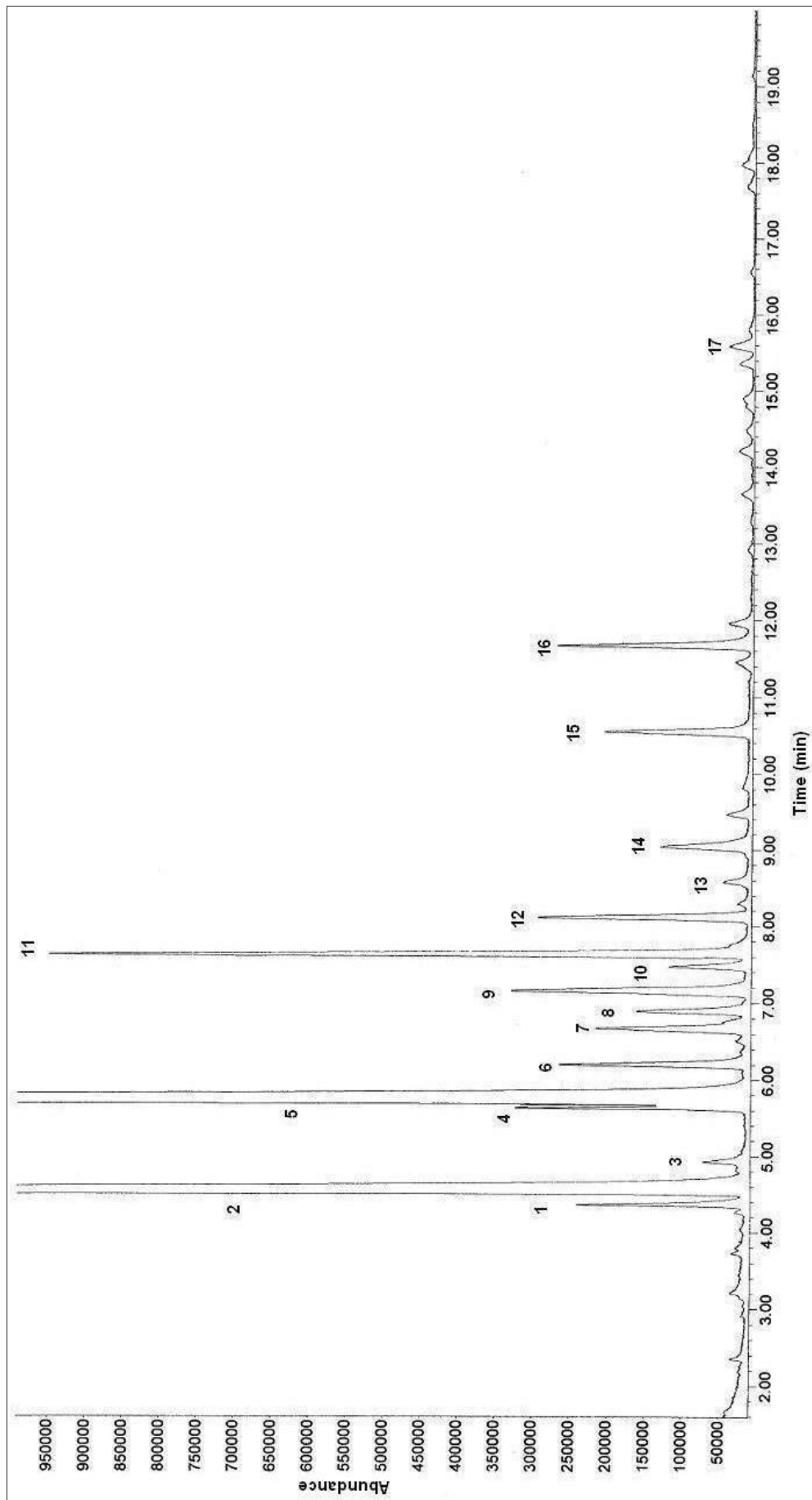
Σχήμα 1β. Αντιπροσωπευτικό Χρωματογράφημα GC/MS δείγματος ρίγανης με ινα DVBI/CAR/PDMS (50/30μm), στήλη HP-5MS και χρόνο κατακράτησης από 20 μέχρι 33.5 min. (31) θυμόλη, (32) καρβακρόλη, (33) α-κοππαένιο, (34) β-καρυσφυλλένιο, (35) αρωμαδενδρόνιο, (36) α-χομουλένιο, (37) α-αμορφένιο, (38) λιπένιο (ledene), (39) α-μουρολένιο, (40) β-βισαβόλενιο, (41) δ-καδινένιο.



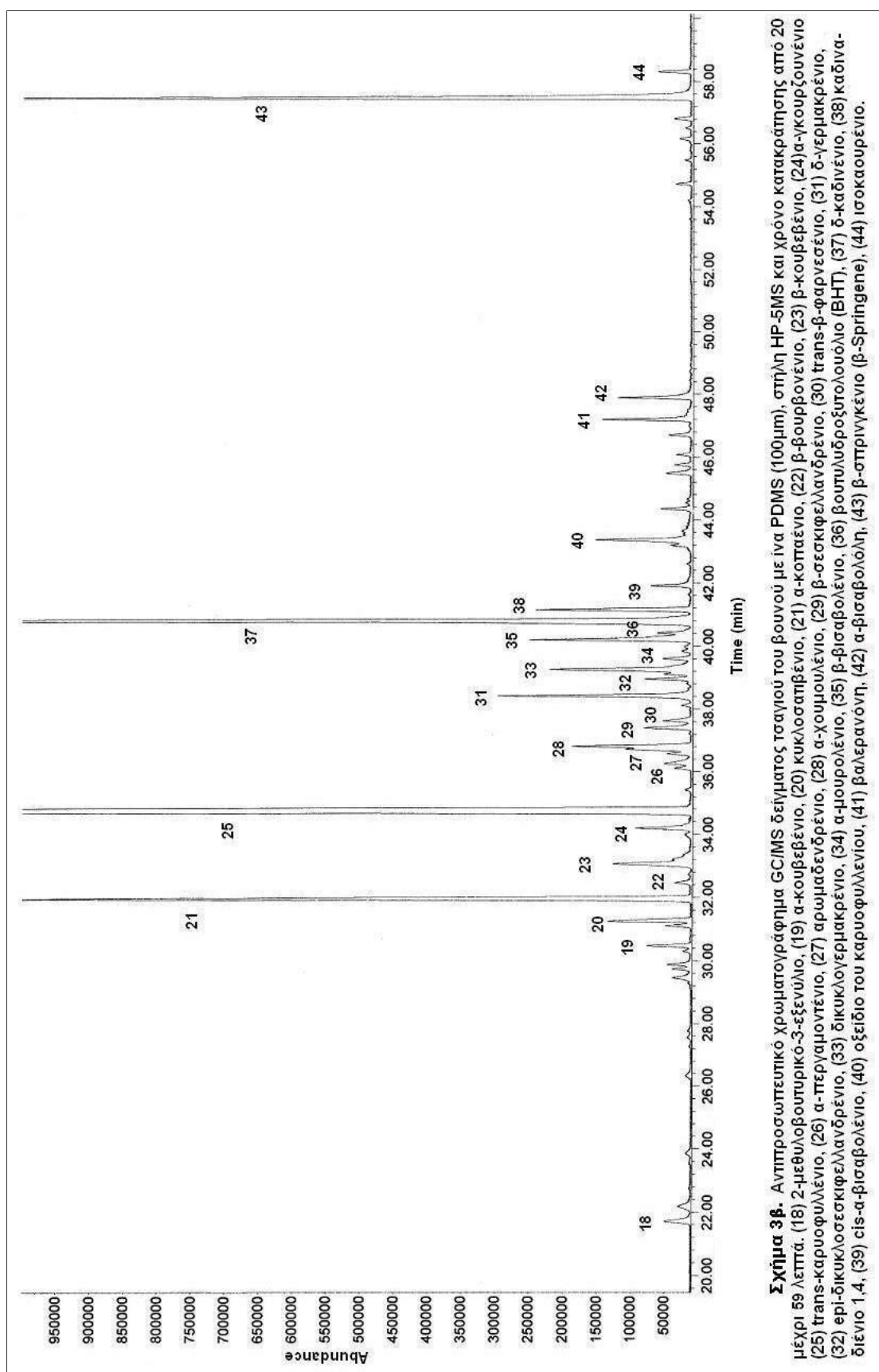
Σχήμα 2α. Αντιπροσωπευτικό Χρωματογράφημα GC/MS δείγματος ρίγανης με ίνα PDMS (100μm), στηλη HP-5MS και χρόνο κατακράτησης από 2 μέχρι 19 min. (1) 2-μεθυλο-βουτυρικός μεθυλεστέρας, (2) α-θουαγέλιο, (3) α-πινένιο, (4) καμφένιο, (5) σαβινένιο, (6) β-πινένιο, (7) 1-οκτεν-3-όλη, (8) 3-οκτανόλη, (9) μυρκενίο, (10) 3-οκτανόλη, (11) α-φελανδρένιο, (12) δ-3-καρενίο, (13) α-τερπινένιο, (14) π-κυμένιο, (15) β-φελανδρόνιο, (16) ευκαλυπτόλη, (17) cis-οκμινένιο, (18) trans-β-οκμινένιο, (19) γ-τερπινένιο, (20) trans-ένυδρο σαβινένιο, (21) τερπινολένιο, (22) cis-ένυδρο σαβινένιο, (23) λιναλοόλη, (24) βορνεόλη, (25) τερπινεν-4-όλη, (26) α-τερπινεόλη, (27) cis-διυδροκαρβόνη, (28) trans-διυδροκαρβόνη, (29) μεθυλαιθέρας της καρβακρόλης, (30) θυμοκινόνη



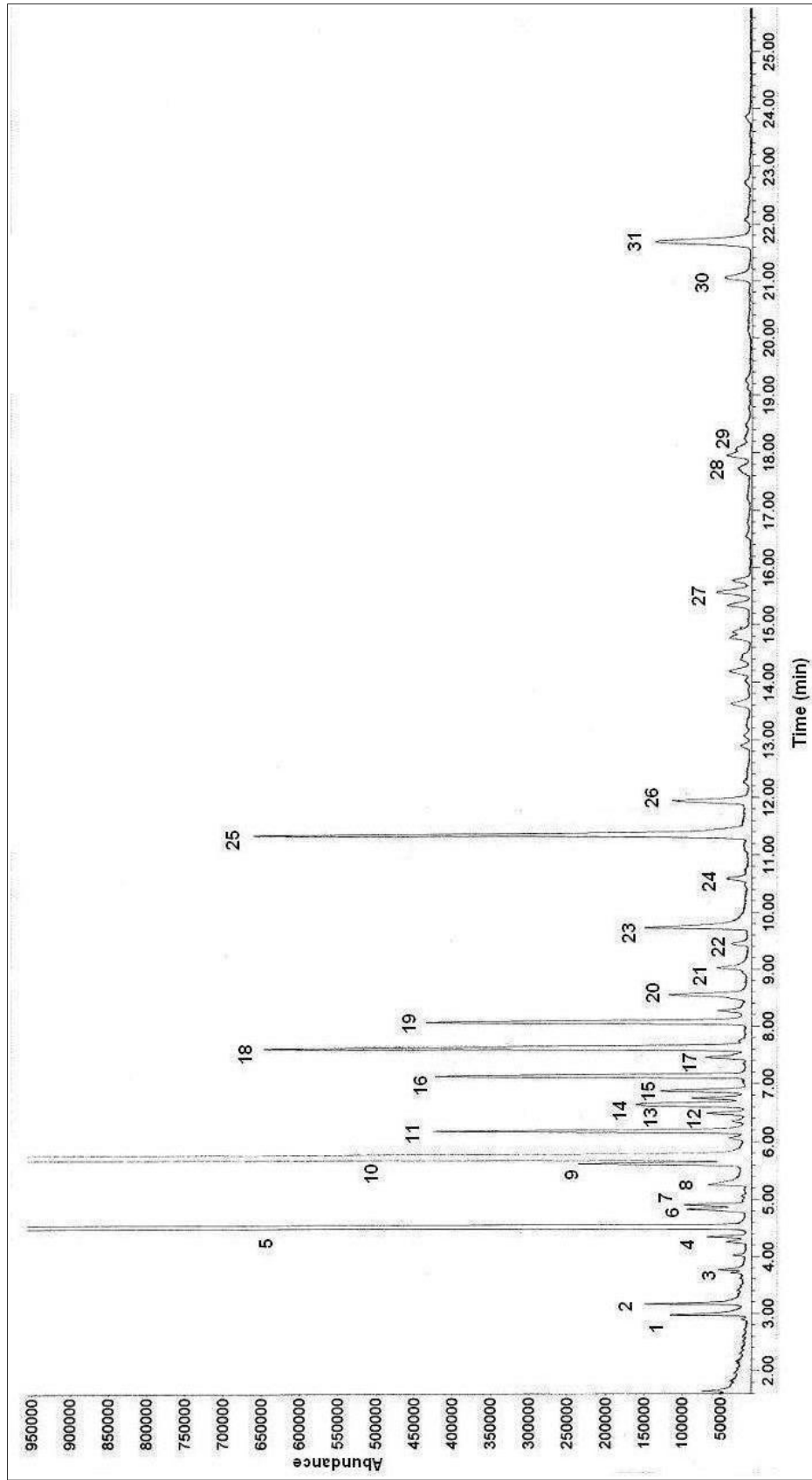
Σχήμα 2β. Αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα GC/MS δείγματος ρίγανης με ίνα PDMS (100μm), στήλη HP-5MS και χρόνο κατακράτησης από 20 μέχρι 33.5 min. (31) θυμόλη, (32) καρβακρόλη, (33) α-κοππαένιο, (34) γ-καρυοφυλλένιο, (35) β-καρυοφυλλένιο, (36) β-γκουρζουένιο, (37) αρωμαδενδρόνιο, (38) α-χομουλένιο, (39) α-μορφοφένιο, (40) β-σελινένιο, (41) λιπένιο (ledene), (42) α-μουρολένιο, (43) β-βισαβολένιο, (44) δ-καδινένιο, (45) καδιναδιένιο-1,4, (46) cis-α-βισαβολένιο.



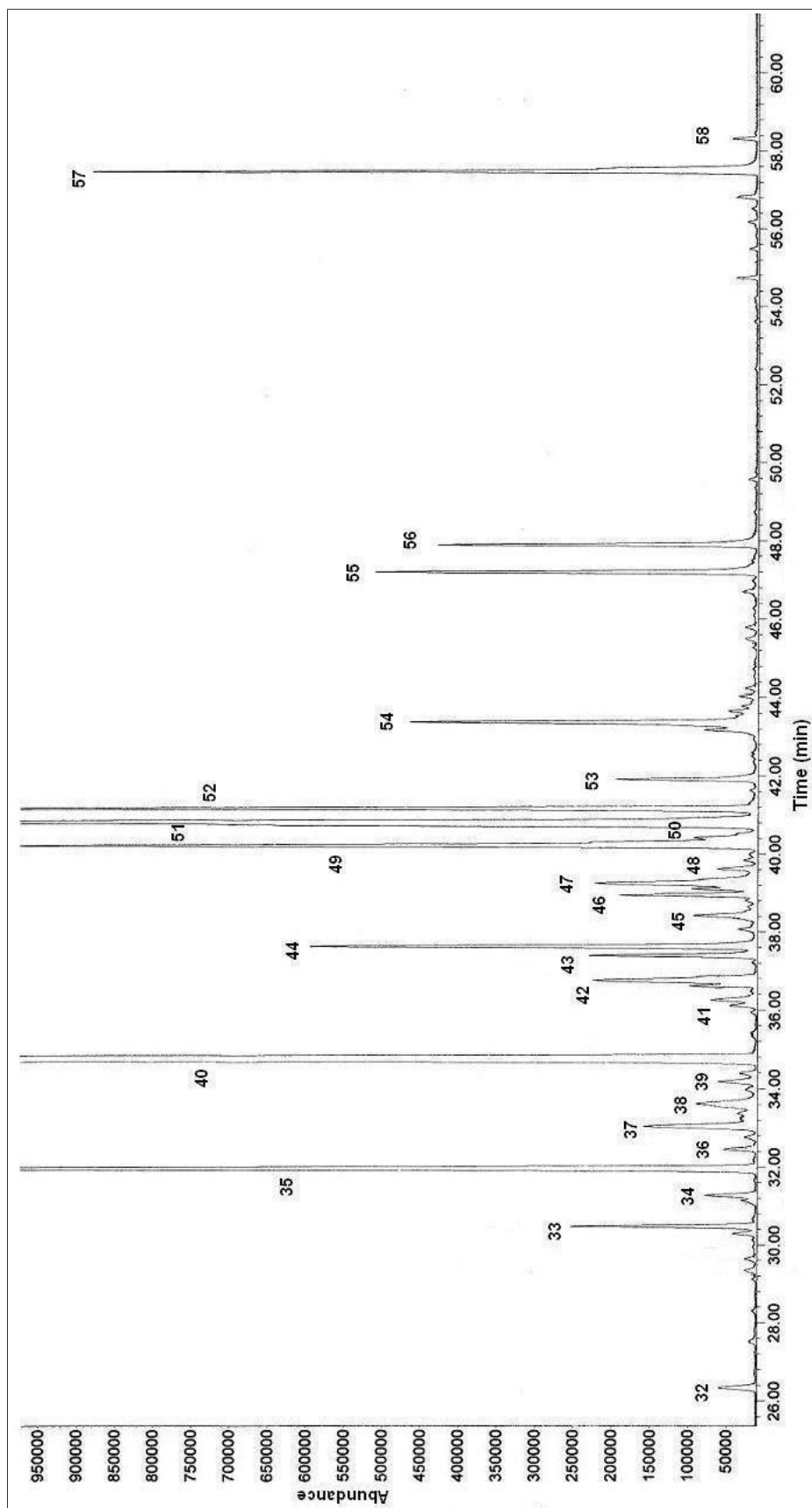
Σχήμα 3α. Αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα GC/MS δειγματος τσαγιού του βουνού με ινα PDMS (100 μm), στήλη HP-5MS και χρόνο κατακράτησης από 2 μέχρι 19 λεπτά. (1) α-θουαγένιο, (2) α-πινένιο, (3) καμφένιο, (4) σαβινένιο, (5) β-πινένιο, (6) μύρκενιο, (7) α-φελλανδρένιο, (8) δ-3-καρένιο, (9) α-τερπινένιο, (10) π-κυμένιο, (11) λεμονένιο, (12) cis-οκίμνιο, (13) α-οκίμνιο, (14) γ-τερπινένιο, (15) τερπινολένιο, (16) λιναλοόλη, (17) βορνεόλη



Σχήμα 3β. Αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα GC/MS δειγματος τσαγιού του βουνού με ίνα PDMS (100μm), στήλη HP-5MS και χρόνο κατακράτησης από 20 μέχρι 59 λεπτά. (18) 2-μεθυλοβουτυρικό-3-εξενόλιο, (19) α-κοπασένιο, (20) κυκλοσαπβένιο, (21) α-κοπασένιο, (22) β-βουρβονένιο, (23) β-κουβεβένιο, (24) α-γκουρζουνένιο (25) trans-καρσοφυλλένιο, (26) α-περγαμοντένιο, (27) αρωμαδενδρένιο, (28) α-χουμουλένιο, (29) β-σεσκιφελλανδρένιο, (30) trans-β-φαρνεσένιο, (31) δ-γερμακρένιο, (32) epi-δικυκλοσεσκιφελλανδρένιο, (33) δικυκλογερμακρένιο, (34) α-μουρολένιο, (35) β-βισαβολένιο, (36) βουτυλοδροξυτολουόλιο (BHT), (37) δ-καδινένιο, (38) καδιναιδιένιο 1,4, (39) cis-α-βισαβολένιο, (40) οξείδιο του καρσοφυλλενίου, (41) βαλερανόνη, (42) α-βισαβολόλη, (43) β-σπρινγκένιο (β-Springene), (44) ισοκαουρένιο.



Σχήμα 4α. Αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα GC/MS δείγματος τσαγιού του βουνού με ινα DVB/CAR/PDMS (50/30μm) και χρόνο κατακράτησης από 2 μέχρι 25 λεπτά. (1) 2-εξανόλη, (2) εξανόλη, (3) επτανόλη, (4) α-θουαγέλιο, (5) α-πινένιο, (6) αλλυλοβενζόλιο, (7) καμφένιο, (8) βενζαλδεΐδη, (9) σαβινένιο, (10) β-πινένιο, (11) μυρκενίο, (12) οκταμεθυλο-κυκλοτετρασιλοξάνιο, (13) α-φελλανδρένιο, (14) βουτυρικός ισοβουτυλεστέρας, (15) δ-3-καρένιο, (16) α-τερπινένιο, (17) π-κυμένιο, (18) λεμονένιο, (19) cis-οκιμένιο, (20) α-οκιμένιο, (21) γ-τερπινένιο, (22) trans-ένυδρο σαβινένιο, (23) οκτανόλη, (24) τερπινολένιο, (25) λιναλοόλη, (26) ισοβαλερικό πεντύλιο, (27) βορνεόλη, (28) μυρτενόλη, (29) μυρτενόλη, (30) εννεανοϊκό μεθύλιο, (31) 2-μεθυλοβουτυρικό-3-εξενύλιο



Σχήμα 4β. Αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα GC/MS δείγματος τσαγιού του βουνού με ινα DVB/CAR/PMDS (50/30μm) και χρόνο κατακράτησης από 26 μέχρι 60 λεπτά. (32) οξικό βορνύλιο, (33) α-κουβεβένιο, (34) κυκλοσαμπένιο, (35) α-κοπαένιο, (36) β-βουρβονένιο, (37) βαλεριανικό βενζύλιο, (38) α-γκουρζουένιο, (39) α-κεδρένιο, (40) trans-καρφοφυλλένιο, (41) α-περγαμοντένιο, (42) α-χουμουλένιο, (43) β-σεσκιφελλανδρένιο, (44) trans-β-φραγεσένιο, (45) δ-γερμακρένιο, (46) epi-δικυκλοσεσκιφελλανδρένιο, (47) δικυκλογερμακρένιο, (48) α-μουρολένιο, (49) β-βισαβόλενιο, (50) βουτυλοδροξυτολουόλιο (BHT), (51) δ-καδιένιο, (52) καδιαν-διένιο 1,4, (53) cis-α-βισαβόλενιο, (54) οξείδιο του καρσοφυλλένιου, (55) βαλερανόνη, (56) α-βισαβόλη, (57) β-σπριγγκένιο (β-Springene), (58) ισοκαουρένιο.

Στους πίνακες 1 και 2 που ακολουθούν φαίνονται οι αρωματικές ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν στα δείγματα ρίγανης και τσαγιού του βουνού, καθώς και οι δείκτες κατακράτησης *Kovats* (*Retention Index -RI*). Οι δείκτες RI της παρούσας μελέτης είναι συγκρίσιμοι με τους αντίστοιχους της βιβλιογραφίας (*webbook.nist.gov*).

Πίνακας 1: Αρωματικές ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν στα δείγματα ρίγανης, οι χρόνοι κατακράτησής τους με την αεριοχρωματογραφική στήλη HP-5MS και τις ίνες SPME: DVB/CAR/PDMS (50/30μm) και PDMS (100 μm), καθώς και οι δείκτες κατακράτησης *Kovats* (*Retention Index -RI*) και οι αντίστοιχοι δείκτες κατακράτησης της βιβλιογραφίας.

Ενώσεις	RT		RI	RI _{βιβλ.}
	DVB/CAR/PDMS	PDMS		
2-μεθυλοβουτυρικός μεθυλεστέρας	2.25	2.25	774	777
α-θουαγένιο	4.57	4.56	927	932
α-πινένιο	4.74	4.74	934	936
καμφένιο	5.11	5.11	949	950
σαβινένιο	5.80	5.79	976	973
β-πινένιο	5.89	5.89	980	978
1-οκτεν-3-όλη	5.94	5.93	982	985
3-οκτανόνη	6.18	6.17	992	989
μυρκένιο	6.32	6.31	997	995
3-οκτανόλη	6.47	6.45	1002	1000
α-φελλανδρένιο	6.76	6.75	1008	1006
δ-3-καρένιο	6.95	6.95	1013	1014
α-τερπινένιο	7.18	7.17	1018	1017
π-κυμένιο	7.47	7.46	1025	1025
β-φελλανδρένιο	7.62	7.61	1028	1028
ευκαλυπτόλη	7.71	7.71	1030	1031
cis-οκιμένιο	8.00	7.99	1037	1040
trans-β-οκιμένιο	8.41	8.40	1046	1050
γ-τερπινένιο	8.82	8.82	1057	1058

trans-ένυδρο σαβινένιο	9.14	9.13	1063	1068
τερπινολένιο	10.08	10.06	1085	1087
cis-ένυδρο σαβινένιο	10.51	10.51	1094	1092
λιναλοόλη	10.66	10.65	1098	1101
βορνεόλη	13.79	13.78	1163	1167
τερπινεν-4-όλη	14.43	14.42	1176	1174
α-τερπινεόλη	15.20	15.19	1192	1189
cis-διϋδροκαρβόνη	15.53	15.51	1199	1198
trans-διϋδροκαρβόνη	15.96	15.93	1206	1214
μεθυλαιθέρας της καρβακρόλης	18.26	18.25	1244	1246
θυμοκινόνη	18.56	18.54	1249	1252
θυμόλη	21.25	21.23	1293	1299
καρβακρόλη	21.97	21.94	1348	1317
α-κοπαένιο	25.76	25.75	1368	1370
γ-καρνοφυλλένιο	-	27.66	1400	1405
β-καρνοφυλλένιο	28.26	28.26	1418	1419
β-γκουρζουνένιο	-	28.71	1431	1432
αρωμαδενδρένιο	29.06	29.05	1441	1444
α-χουμουλένιο	29.58	29.57	1457	1456
α-αμορφένιο	30.36	30.36	1480	1482
β-σελινένιο	-	30.55	1486	1485
λιντένιο (ledene)	30.83	30.82	1494	1490
α-μουρολένιο	30.99	30.99	1499	1502
β-βισαβολένιο	31.24	31.24	1511	1508
δ-καδινένιο	31.54	31.53	1526	1525
καδιναδιένιο 1,4	-	31.70	1534	1531
cis-α-βισαβολένιο	-	31.98	1549	1545

Πίνακας 2: Αρωματικές ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν στο τσάι του βουνού, οι χρόνοι κατακράτησής τους με την αεριοχρωματογραφική στήλη HP-5MS και τις ίνες SPME: DVB/CAR/PDMS (50/30μm) και PDMS (100 μm), καθώς και οι δείκτες κατακράτησης *Kovats* (*Retention Index -RI*) και οι αντίστοιχοι δείκτες κατακράτησης της βιβλιογραφίας.

Ενώσεις	RT		RI	RI _{βιβλ.}
	DVB/CAR/ PDMS	PDMS		
2-εξανάλη	2.97	-	807	800
εξανόλη	3.17	-	872	865
επτανάλη	3.77	-	907	903
α-θουαγένιο	4.35	4.36	930	932
α-πινένιο	4.53	4.54	937	936
αλλυλοβενζόλιο	4.83	-	948	947
καμφένιο	4.91	4.93	951	951
βενζαλδεΐδη	5.26	-	964	966
σαβινένιο	5.62	5.63	977	975
β-πινένιο	5.74	5.74	982	978
μυρκένιο	6.18	6.20	998	995
οκταμεθυλο-κυκλοτετρασιλοξάνιο	6.49	-	1006	1004
α-φελλανδρένιο	6.65	6.67	1009	1006
βουτυρικός ισοβουτυλεστέρας	6.75	-	1011	1010
δ-3-καρένιο	6.88	6.89	1014	1014
α-τερπινένιο	7.14	7.15	1019	1017
π-κυμένιο	7.45	7.48	1026	1025
λεμονένιο	7.62	7.64	1029	1030
cis-οκιμένιο	8.07	8.10	1039	1040
α-οκιμένιο	8.55	8.58	1049	1052
γ-τερπινένιο	9.03	9.04	1059	1058
trans-ένυδρο σαβινένιο	9.45	-	1068	1068
οκτανόλη	9.73	-	1074	1073
τερπινολένιο	10.58	10.60	1092	1087

λιναλόλη	11.34	11.37	1105	1101
ισοβαλικό πεντύλιο	11.94	-	1113	1107
βορνεόλη	15.56	15.60	1163	1167
μυρτενάλη	17.96	-	1196	1193
μυρτενόλη	18.07	-	1198	1198
εννεανοϊκό μεθύλιο	21.05	-	1231	1227
2-μεθυλοβουτυρικό-3-εξενύλιο	21.68	21.72	1238	1236
οξικό βορνύλιο	26.34	-	1288	1287
α-κουβεβένιο	30.47	30.49	1348	1351
κυκλοσαπιβένιο	31.27	31.28	1360	1364
α-κοπαένιο	31.96	31.97	1371	1370
β-βουρβονένιο	32.46	32.47	1379	1378
β-κουβεβένιο	-	33.03	1388	1388
βαλεριανικό βενζύλιο	33.62	-	1397	1395
α-γκουρζουνένιο	34.18	34.17	1407	1409
α-κεδρένιο	34.39	-	1410	1411
trans-καρνοφυλλένιο	34.79	34.76	1417	1417
α-περγαμοντένιο	36.11	36.11	1440	1438
ισολιντένιο (isoledene)	-	36.72	1450	1453
α-χουμουλένιο	36.80	36.81	1451	1456
β-σεσκιφελανδρένιο	37.40	37.40	1462	1463
trans-β-φαρνεσένιο	37.62	37.62	1465	1466
δ-γερμακρένιο	38.43	38.43	1479	1480
ερί-δικυκλοσεσκιφελανδρένιο	38.96	38.95	1488	1488
δικυκλογερμακρένιο	39.26	39.26	1493	1495
α-μουρολένιο	39.62	39.62	1500	1502
β-βισαβολένιο	40.22	40.21	1512	1508
βουτυλυδροξυτολουόλιο (BHT)	40.43	40.42	1517	1518

δ-καδινένιο	40.82	40.82	1525	1525
καδιναδιένιο 1,4	41.16	41.15	1532	1531
cis-α-βισαβολένιο	41.91	41.92	1549	1545
οξείδιο του καρυοφυλλενίου	43.36	43.36	1579	1578
βαλερανόνη	47.19	47.19	1670	1668
α-βισαβολόλη	47.88	47.90	1687	1685
β-σπρινγκένιο (β-Springene)	57.47	57.47	1959	1961
ισοκαουρένιο	58.31	58.31	1985	1988

Στους πίνακες 3 και 4 παρουσιάζονται τα % ποσοστά των αρωματικών ενώσεων σε σχέση με το σύνολο των αρωματικών ενώσεων στα δείγματα ρίγανης και τσαγιού του βουνού αντίστοιχα.

Πίνακας 3: Ποσοστά % επί του συνόλου των κορυφών όλων των πτητικών συστατικών που ανιχνεύτηκαν στη ρίγανη με την αεριοχρωματογραφική στήλη HP-5MS και τις ίνες SPME: PDMS 100 μm και DVB/CAR/PDMS 50/30 μm.

Ενώσεις	Area %	
	DVB/CAR/PDMS	PDMS
2-μεθυλοβουτυρικός μεθυλεστέρας	0.08±0.01	0.11±0.00
α-θουαγένιο	0.68±0.12	1.28±0.15
α-πινένιο	0.38±0.02	0.74±0.02
καμφένιο	0.06±0.01	0.13±0.01
σαβινένιο	0.06±0.02	0.10±0.03
β-πινένιο	0.12±0.01	0.17±0.02
1-οκτεν-3-όλη	0.61±0.11	0.65±0.10
3-οκτανόνη	0.32±0.04	0.39±0.06
μυρκένιο	1.56±0.17	2.57±0.18
3-οκτανόλη	0.10±0.02	0.12±0.02
α-φελλανδρόνιο	0.20±0.07	0.37±0.07
δ-3-καρένιο	0.08±0.02	0.16±0.01

α-τερπινένιο	1.30±0.12	2.23±0.18
π-κυμένιο	5.92±0.13	9.25±0.09
β-φελλανδρόνιο	0.45±0.09	0.74±0.09
ευκαλυπτόλη	0.17±0.02	0.26±0.04
cis-οκιμένιο	0.08±0.01	0.15±0.02
trans-β-οκιμένιο	0.07±0.02	0.13±0.04
γ-τερπινένιο	7.50±0.90	12.21±1.02
trans-ένυδρο σαβινένιο	1.10±0.02	1.05±0.05
τερπινολένιο	0.13±0.00	0.23±0.03
cis-ένυδρο σαβινένιο	0.26±0.03	0.21±0.04
λιναλοόλη	0.16±0.03	0.18±0.03
βορνεόλη	0.20±0.04	0.17±0.03
τερπινεν-4-όλη	0.47±0.09	0.45±0.09
α-τερπινεόλη	0.14±0.01	0.11±0.02
cis-διϋδροκαρβόνη	0.27±0.05	0.28±0.07
trans-διϋδροκαρβόνη	0.03±0.01	0.02±0.01
μεθυλαιθέρας της καρβακρόλης	0.05±0.01	0.10±0.00
θυμοκινόνη	0.29±0.04	0.19±0.03
θυμόλη	0.28±0.01	0.21±0.02
καρβακρόλη	70.19±1.43	55.39±1.12
α-κοπαένιο	0.01±0.00	0.02±0.01
γ-καρσοφυλλένιο	-	0.01±0.00
β-καρσοφυλλένιο	2.83±0.03	4.44±0.10
β-γκουρζουνένιο	-	0.05±0.00
αρωμαδενδρόνιο	0.16±0.01	0.26±0.03
α-χουμουλένιο	0.38±0.02	0.61±0.05
α-αμορφένιο	0.07±0.01	0.12±0.02
β-σελινένιο	-	0.01±0.00

λιντένιο (ledene)	0.09±0.01	0.14±0.02
α-μουρολένιο	0.03±0.01	0.04±0.01
β-βισαβολένιο	1.25±0.02	2.10±0.17
δ-καδινένιο	0.15±0.02	0.24±0.05
καδιναδιένιο 1,4	-	0.02±0.01
cis-α-βισαβολένιο	-	0.03±0.01

Πίνακας 4: Ποσοστά % επί του συνόλου των κορυφών όλων των πτητικών συστατικών που ανιχνεύτηκαν στο τσάι του βουνού με την αεριοχρωματογραφική στήλη HP-5MS και τις ίνες SPME: PDMS 100 μm και DVB/CAR/PDMS 50/30 μm.

Ενώσεις	Area %	
	DVB/CAR/PDMS	PDMS
2-εξανάλη	0.17±0.03	-
εξανόλη	0.21±0.01	-
επτανάλη	0.06±0.01	-
α-θουαγένιο	0.06±0.03	0.31±0.03
α-πινένιο	11.04±0.03	15.68±0.18
αλλυλοβενζόλιο	0.14±0.01	-
καμφένιο	0.12±0.01	0.17±0.01
βενζαλδεΐδη	0.16±0.01	-
σαβινένιο	0.32±0.03	1.06±0.08
β-πινένιο	22.89±0.16	29.32±0.13
μυρκένιο	0.61±0.02	0.56±0.01
οκταμεθυλο-κυκλοτετρασιλοξάνιο	0.10±0.01	-
α-φελλανδρένιο	0.37±0.07	0.23±0.03
βουτυρικός ισοβουτυλεστέρας	0.13±0.02	-
δ-3-καρένιο	0.21±0.01	0.09±0.02
α-τερπινένιο	0.64±0.07	0.32±0.09
π-κυμένιο	0.13±0.01	0.09±0.03
λεμονένιο	1.49±0.03	3.07±0.02
cis-οκιμένιο	0.75±0.02	0.39±0.05
α-οκιμένιο	0.22±0.03	0.05±0.01
γ-τερπινένιο	0.12±0.05	0.18±0.07
trans-ένυδρο σαβινένιο	0.06±0.01	-
οκτανόλη	0.38±0.04	-
τερπινολένιο	0.08±0.01	0.23±0.02
λιναλοόλη	1.94±0.02	0.65±0.05

ισοβαλερικό πεντύλιο	0.25±0.02	-
βορνεόλη	0.08±0.01	0.07±0.01
μυρτενάλη	0.05±0.00	-
μυρτενόλη	0.05±0.01	-
εννεανοϊκό μεθύλιο	0.07±0.03	-
2-μεθυλοβουτυρικό-3-εξενύλιο	0.45±0.04	0.10±0.02
οξικό βορνύλιο	0.10±0.02	-
α-κουβεβένιο	0.58±0.01	0.14±0.02
κυκλοσατιβένιο	0.20±0.02	0.36±0.06
α-κοπαένιο	3.76±0.13	4.15±0.15
β-βουρβονένιο	0.06±0.01	0.06±0.01
β-κουβεβένιο	-	0.17±0.01
βαλεριανικό βενζύλιο	0.42±0.02	-
α-γκουρζουνένιο	0.17±0.02	0.13±0.01
α-κεδρένιο	0.07±0.01	-
trans-καρνοφυλλένιο	18.41±0.31	16.41±1.30
α-περγαμοντένιο	0.11±0.02	0.04±0.01
ισολιντένιο (isolekene)	-	0.15±0.03
α-χουμουλένιο	0.53±0.01	0.51±0.03
β-σεσκιφελλανδρένιο	0.58±0.03	0.14±0.03
trans-β-φαρνεσένιο	1.58±0.08	0.05±0.01
δ-γερμακρένιο	0.32±0.05	1.01±0.02
επι-δικυκλοσεσκιφελλανδρένιο	0.53±0.01	0.15±0.03
δικυκλογερμακρένιο	0.96±0.10	0.92±0.02
α-μουρολένιο	0.15±0.00	0.12±0.00
β-βισαβολένιο	3.01±0.07	0.63±0.05
βουτυλδροξυτολουόλιο (BHT)	0.29±0.05	0.17±0.01
δ-καδινένιο	6.13±0.13	7.65±0.25

καδιναδιένιο 1,4	2.75±0.02	0.58±0.05
cis-α-βισαβολένιο	0.48±0.05	0.05±0.01
οξείδιο του καρυφυλλενίου	1.38±0.08	0.77±0.01
βαλερανόνη	1.23±0.07	0.75±0.04
α-βισαβολόλη	1.01±0.07	0.35±0.02
β-σπρινγκένιο (β-Springene)	2.24±0.03	5.04±1.82
ισοκαουρένιο	0.07±0.01	0.10±0.01

Στους πίνακες 5 και 6 παρουσιάζονται τα % ποσοστά κάθε συστατικού σε σχέση με το συστατικό που βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στα δείγματα. Στα δείγματα της ρίγανης το συστατικό με την μεγαλύτερη συγκέντρωση είναι η καρβακρόλη, ενώ στα δείγματα τσαγιού του βουνού το β-πινένιο.

Πίνακας 5: Ποσοστά % επί της μεγαλύτερης κορυφής όλων των πτητικών συστατικών που ανιχνεύτηκαν στη ρίγανη με την αεριοχρωματογραφική στήλη HP-5MS και τις ίνες SPME: PDMS 100 μm και DVB/CAR/PDMS 50/30 μm.

Ενώσεις	Area %	
	DVB/CAR/PDMS	PDMS
2-μεθυλοβουτυρικός μεθυλεστέρας	0.12±0.01	0.19±0.01
α-θουαγένιο	0.96±0.07	2.31±0.01
α-πινένιο	0.54±0.06	1.34±0.04
καμφένιο	0.09±0.02	0.23±0.01
σαβινένιο	0.09±0.03	0.17±0.02
β-πινένιο	0.17±0.03	0.32±0.05
1-οκτεν-3-όλη	0.86±0.04	1.17±0.05
3-οκτανόνη	0.46±0.04	0.70±0.05
μυρκένιο	2.22±0.21	4.64±0.37
3-οκτανόλη	0.15±0.03	0.22±0.03
α-φελλανδρένιο	0.29±0.03	0.68±0.05

δ-3-καρένιο	0.12±0.03	0.28±0.02
α-τερπινένιο	1.85±0.07	4.02±0.07
π-κυμένιο	8.44±0.45	16.69±0.53
β-φελλανδρένιο	0.65±0.15	1.34±0.02
ευκαλυπτόλη	0.24±0.03	0.47±0.04
cis-οκιμένιο	0.12±0.02	0.28±0.01
trans-β-οκιμένιο	0.10±0.03	0.24±0.06
γ-τερπινένιο	10.69±0.57	22.04±0.64
trans-ένυδρο σαβινένιο	1.56±0.15	1.90±0.14
τερπινολένιο	0.18±0.04	0.42±0.08
cis-ένυδρο σαβινένιο	0.37±0.05	0.37±0.06
λιναλοόλη	0.22±0.04	0.32±0.01
βορνεόλη	0.28±0.05	0.30±0.01
τερπινεν-4-όλη	0.67±0.07	0.81±0.03
α-τερπινεόλη	0.19±0.03	0.20±0.02
cis-διϋδροκαρβόνη	0.39±0.05	0.50±0.04
trans-διϋδροκαρβόνη	0.05±0.01	0.05±0.00
μεθυλαιθέρας της καρβακρόλης	0.04±0.01	0.18±0.01
θυμοκινόνη	0.41±0.04	0.35±0.03
θυμόλη	0.40±0.01	0.39±0.01
καρβακρόλη	100.00±0.00	100.00±0.00
α-κοπαένιο	0.02±0.01	0.04±0.01
γ-καρυοφυλλένιο	-	0.01±0.00
β-καρυοφυλλένιο	4.03±0.23	8.02±0.03
β-γκουρζουνένιο	-	0.10±0.00
αρωμαδενδρένιο	0.23±0.02	0.46±0.03
α-χουμουλένιο	0.54±0.08	1.11±0.04
α-αμορφένιο	0.10±0.01	0.21±0.03

β-σελινένιο	-	0.01±0.00
λιντένιο (ledene)	0.13±0.01	0.26±0.02
α-μουρολένιο	0.04±0.00	0.07±0.01
β-βισαβολένιο	1.79±0.08	3.79±0.15
δ-καδινένιο	0.22±0.01	0.44±0.02
καδιναδιένιο 1,4	-	0.04±0.01
cis-α-βισαβολένιο	-	0.05±0.01

Πίνακας 6: Ποσοστά % επί της μεγαλύτερης κορυφής όλων των πτητικών συστατικών που ανιχνεύτηκαν στο τσάι του βουνού με την αεριοχρωματογραφική στήλη HP-5MS και τις ίνες SPME: PDMS 100 μm και DVB/CAR/PDMS 50/30 μm.

Ενώσεις	Area %	
	DVB/CAR/PDMS	PDMS
2-εξανόλη	0.74±0.13	-
εξανόλη	0.91±0.03	-
επτανάλη	0.27±0.01	-
α-θουαγένιο	0.28±0.02	1.04±0.01
α-πινένιο	48.20±0.46	53.48±0.17
αλλυλοβενζόλιο	0.61±0.04	-
καμφένιο	0.53±0.02	0.57±0.01
βενζαλδεΐδη	0.69±0.04	-
σαβινένιο	1.38±0.08	3.60±0.29
β-πινένιο	100.00±0.00	100.00±0.00
μυρκένιο	2.67±0.07	1.91±0.02
οκταμεθυλο-κυκλοτετρασιλοξάνιο	0.42±0.03	-
α-φελλανδρένιο	1.60±0.05	0.80±0.17
βουτυρικός ισοβουτυλεστέρας	0.55±0.03	-
δ-3-καρένιο	0.91±0.04	0.32±0.05
α-τερπινένιο	0.75±0.01	1.09±0.08
π-κυμένιο	0.55±0.03	0.30±0.02
λεμονένιο	6.53±0.10	10.47±0.24
cis-οκιμένιο	3.29±0.12	1.35±0.08
α-οκιμένιο	0.97±0.07	0.18±0.03
γ-τερπινένιο	0.50±0.05	0.60±0.04
trans-ένυδρο σαβινένιο	0.24±0.02	-
οκτανόλη	1.66±0.08	-
τερπινολένιο	0.34±0.02	0.78±0.04
λιναλοόλη	4.72±0.11	2.23±0.21

ισοβαλερικό πεντύλιο	1.10±0.08	-
βορνεόλη	0.37±0.02	0.24±0.02
μυρτενάλη	0.23±0.01	-
μυρτενόλη	0.20±0.03	-
εννεανοϊκό μεθύλιο	0.29±0.05	-
2-μεθυλοβουτυρικό-3-εξενύλιο	1.98±0.14	0.36±0.00
οξικό βορνύλιο	0.44±0.06	-
α-κουβεβένιο	2.52±0.00	0.49±0.05
κυκλοσατιβένιο	0.88±0.07	1.21±0.02
α-κοπαένιο	16.44±0.20	14.16±0.14
β-βουρβονένιο	0.24±0.03	0.27±0.01
β-κουβεβένιο	-	0.59±0.04
βαλεριανικό βενζύλιο	1.85±0.05	-
α-γκουρζουνένιο	0.74±0.05	0.46±0.02
α-κεδρένιο	0.33±0.02	-
trans-καρνοφυλλένιο	80.42±0.79	55.98±0.65
α-περγαμοντένιο	0.47±0.06	0.14±0.01
ισολιντένιο (isoledene)	-	0.51±0.03
α-χουμουλένιο	2.30±0.09	1.74±0.09
β-σεσκιφελλανδρένιο	2.54±0.12	0.48±0.01
trans-β-φαρνεσένιο	6.89±0.18	0.17±0.02
δ-γερμακρένιο	1.42±0.05	3.44±0.11
ερί-δικυκλοσεσκιφελλανδρένιο	2.31±0.00	0.50±0.07
δικυκλογερμακρένιο	4.18±0.18	3.13±0.08
α-μουρολένιο	0.66±0.01	0.42±0.01
β-βισαβολένιο	13.15±0.09	2.16±0.08
βουτυλυδροξυτολουόλιο (BHT)	1.25±0.15	0.57±0.01
δ-καδινένιο	26.76±0.22	26.08±0.71

καδιναδιένιο 1,4	12.01±0.16	1.96±0.33
cis-α-βισαβολένιο	2.11±0.04	0.17±0.03
οξειδίο του καρυοφυλλενίου	6.01±0.05	2.64±0.07
βαλερανόνη	5.37±0.12	2.56±0.17
α-βισαβολόλη	4.39±0.13	1.19±0.07
β-σπρινγκένιο (β-Springene)	9.80±0.20	17.18±0.85
ισοκαουρένιο	0.32±0.02	0.35±0.02

Στους πίνακες 7 και 8 δίνονται τα αποτελέσματα του ημιποσοτικού προσδιορισμού των πτητικών συστατικών της ρίγανης και του τσαγιού του βουνού.

Πίνακας 7: Ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών συστατικών που ανιχνεύτηκαν στη ρίγανη με την αεριοχρωματογραφική στήλη HP-5MS και τις ίνες SPME: PDMS 100 μm και DVB/CAR/PDMS 50/30 μm (μg/g x10⁻² δείγματος).

Ενώσεις	(μg/g)x10 ⁻²	
	DVB/CAR/PDMS	PDMS
2-μεθυλοβουτυρικός μεθυλεστέρας	74.49±1.33	115.79±2.05
α-θουαγένιο	620.99±5.24	1371.70±12.81
α-πινένιο	349.40±4.21	798.16±11.06
καμφένιο	56.20±1.88	138.41±2.09
σαβινένιο	56.19±0.76	102.06±3.11
β-πινένιο	108.09±1.90	187.53±5.13
1-οκτεν-3-όλη	556.64±10.87	694.79±12.56
3-οκτανόνη	297.65±1.25	415.41±3.67
μυρκένιο	1432.13±28.19	2758.51±51.04
3-οκτανόλη	95.74±3.36	133.62±1.54
α-φελλανδρένιο	187.14±5.72	402.05±9.38
δ-3-καρένιο	77.42±0.88	169.50±1.26

α-τερπινένιο	1191.06±37.48	2392.41±22.12
η-κυμένιο	5437.91±58.81	9927.45±82.01
β-φελλανδρένιο	416.38±7.05	794.56±9.57
ευκαλυπτόλη	157.34±1.46	281.11±2.22
cis-οκιμένιο	77.69±0.65	163.87±1.17
trans-β-οκιμένιο	65.78±0.71	141.53±1.00
γ-τερπινένιο	6889.83±73.26	13.11*10 ³ ±258.89
trans-ένυδρο σαβινένιο	1008.24±30.58	1128.11±28.65
τερπινολένιο	117.75±2.94	252.18±11.66
cis-ένυδρο σαβινένιο	237.27±1.78	222.75±0.94
λιναλοόλη	143.14±1.06	188.48±2.13
βορνεόλη	182.66±1.68	178.47±1.44
τερπινεν-4-όλη	430.35±3.02	478.99±2.84
α-τερπινεόλη	124.71±0.97	118.05±0.96
cis-διϋδροκαρβόνη	251.39±2.07	299.41±3.77
trans-διϋδροκαρβόνη	31.85±0.04	29.56±0.02
μεθυλαιθέρας της καρβακρόλης	27.48±0.05	105.83±1,17
θυμοκινόνη	266.62±0.65	206.64±1.21
θυμόλη	258.37±1.86	229.11±2.43
καρβακρόλη	64.45 *10 ³ ±1387.62	59.48 *10 ³ ±2722.43
α-κοπαένιο	10.92±0.03	24.49±0.01
γ-καρνοφυλλένιο	-	8.43±0.02
β-καρνοφυλλένιο	2599.06±18.37	4771.37±31.96
β-γκουρζουνένιο	-	58.29±0.12
αρωμαδενδρένιο	150.27±1.47	275.24±3.08
α-χουμουλένιο	350.40±4.16	659.45±1.99
α-αμορφένιο	64.77±0.21	125.33±0.07
β-σελινένιο	-	8.41±0.01

λιντένιο (ledene)	81.53±0.04	155.61±2.63
α-μουρολένιο	23.22±0.01	40.59±0.03
β-βισαβολένιο	1151.66±4.58	2251.96±4.56
δ-καδινένιο	138.73±1.10	262.92±0.94
καδιναδιένιο 1,4	-	22.18±0.02
cis-α-βισαβολένιο	-	28.12±0.03

Πίνακας 8: Ημιποσοτικός προσδιορισμός των πτητικών συστατικών που ανιχνεύτηκαν στο τσάι του βουνού με την αεριοχρωματογραφική στήλη HP-5MS και τις ίνες SPME: PDMS 100 μm και DVB/CAR/PDMS 50/30 μm ($\mu\text{g/g} \times 10^{-2}$ δείγματος).

Ενώσεις	$(\mu\text{g/g}) \times 10^{-2}$	
	DVB/CAR/PDMS	PDMS
2-εξανάλη	55.92 \pm 1.41	-
εξανόλη	68.47 \pm 0.76	-
επτανάλη	20.27 \pm 0.22	-
α -θουαγένιο	20.74 \pm 0.56	119.96 \pm 4.58
α -πινένιο	3628.45 \pm 7.82	6167.21 \pm 11.37
αλλυλοβενζόλιο	45.79 \pm 0.42	-
καμφένιο	39.88 \pm 0.31	65.72 \pm 4.55
βενζαλδεΐδη	52.19 \pm 1.24	-
σαβινένιο	103.51 \pm 3.68	415.60 \pm 4.58
β -πινένιο	7527.50 \pm 105.94	11.66 *10 ³ \pm 219.33
μυρκένιο	201.17 \pm 5.23	219.76 \pm 0.15
οκταμεθυλο-κυκλοτετρασιλοξάνιο	31.72 \pm 0.38	-
α -φελλανδρένιο	120.41 \pm 0.98	92.19 \pm 0.09
βουτυρικός ισοβουτυλεστέρας	41.61 \pm 1.20	-
δ -3-καρένιο	68.14 \pm 3.65	36.64 \pm 1.42
α -τερπινένιο	132.79 \pm 7.46	62.61 \pm 1.13
π -κυμένιο	41.35 \pm 2.33	35.07 \pm 0.86
λεμονένιο	491.30 \pm 8.67	1207.62 \pm 27.49
cis-οκιμένιο	248.00 \pm 2.89	155.24 \pm 11.58
α -οκιμένιο	72.78 \pm 3.44	20.97 \pm 0.57
γ -τερπινένιο	37.72 \pm 0.65	69.67 \pm 3.64
trans-ένυδρο σαβινένιο	18.09 \pm 0.13	-
οκτανόλη	125.08 \pm 2.69	-
τερπινολένιο	25.90 \pm 0.33	89.39 \pm 3.88
λιναλοόλη	355.14 \pm 6.51	257.19 \pm 11.00

ισοβαλερικό πεντύλιο	82.72±0.77	-
βορνεόλη	27.70±0.32	27.17±2.24
μυρτενάλη	17.26±0.09	-
μυρτενόλη	14.74±0.09	-
εννεανοϊκό μεθύλιο	21.80±0.88	-
2-μεθυλοβουτυρικό-3-εξενύλιο	149.18±5.52	41.10±3.05
οξικό βορνύλιο	33.12±1.05	-
α-κουβεβένιο	189.70±9.23	56.84±5.01
κυκλοσατιβένιο	66.53±0.87	140.00±5.59
α-κοπαένιο	1237.78±24.63	1632.39±31.44
β-βουρβονένιο	18.00±0.24	314.51±3.03
β-κουβεβένιο	-	67.80±2.64
βαλεριανικό βενζύλιο	139.26±3.78	-
α-γκουρζουνένιο	55.42±5.36	52.82±2.78
α-κεδρένιο	24.65±2.03	-
trans-καρνοφυλλένιο	6123.80±64.11	6125.33±72.94
α-περγαμοντένιο	35.67±0.28	16.71±0.23
ισολιντένιο (isoledene)	-	59.20±4.33
α-χουμουλένιο	196.26±11.09	180.25±2.86
β-σεσκιφελλανδρένιο	191.24±2.55	56.45±3.97
trans-β-φαρνεσένιο	518.44±16.28	19.84±0.35
δ-γερμακρένιο	106.59±7.31	396.45±13.80
epi-δικυκλοσεσκιφελλανδρένιο	176.14±0.78	57.88±3.18
δικυκλογερμακρένιο	371.41±6.02	321.10±9.26
α-μουρολένιο	49.78±1.65	48.90±1.59
β-βισαβολένιο	989.51±27.34	248.73±15.44
βουτυλυδροξυτολουόλιο (BHT)	96.27±10.98	65.18±7.11
δ-καδινένιο	2041.58±23.54	3036.77±88.23

καδιναδιένιο 1,4	906.96±17.47	226.40±25.72
cis-α-βισαβολένιο	159.13±12.30	19.56±1.99
οξειδιο του καρυοφυλλενίου	458.49±20.99	306.93±20.56
βαλερανόνη	409.13±17.24	295.50±7.02
α-βισαβολόλη	330.59±10.10	137.01±2.84
β-σπρινγκένιο (β-Springene)	747.45±22.38	1981.48±35.43
ισοκαουρένιο	24.37±0.23	40.15±5.09

Στους πίνακες 9 και 10 δίνονται οι κατηγορίες των ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στα δείγματα ρίγανης και τσαγιού του βουνού και με τις δύο ίνες (PDMS 100 μm, DVB/CAR/PDMS 50/30 μm), καθώς και το άρωμα που προσδίδουν (www.flavornet.org) οι ενώσεις αυτές στα υπό εξέταση δείγματα.

Πίνακας 9: Κατηγορίες των ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στα δείγματα ρίγανης με την αεριοχρωματογραφική στήλη HP-5MS και τις ίνες SPME (PDMS 100 μm, DVB/CAR/PDMS 50/30 μm) και το άρωμα που αναδύουν.

A/A	Ένωση	Κατηγορία ένωσης	Άρωμα	DVB/CAR/PDMS	PDMS
1	2-μεθυλο-βουτυρικός μεθυλεστέρας	Μονοτερπένιο	Φρουτώδες, μήλου, μπανάνας	✓	✓
2	α-θουαγένιο	Μονοτερπένιο	Ξύλου, βοτάνου, πρασινάδας	✓	✓
3	α-πινένιο	Μονοτερπένιο	Πεύκου, τερεβινθέλαιου	✓	✓
4	καμφένιο	Μονοτερπένιο	Καμφοράς	✓	✓
5	σαβινένιο	Μονοτερπένιο	Πιπεριάς, τερεβινθέλαιου, ξύλου	✓	✓
6	β-πινένιο	Μονοτερπένιο	Πεύκου, ρητίνης, τερεβινθέλαιου	✓	✓
7	μυρκένιο	Μονοτερπένιο	Βάλσαμου, μούχλας, μπαχαρικών	✓	✓
8	α-φελλανδρένιο	Μονοτερπένιο	Τερεβινθέλαιου, μέντας, μπαχαρικών	✓	✓

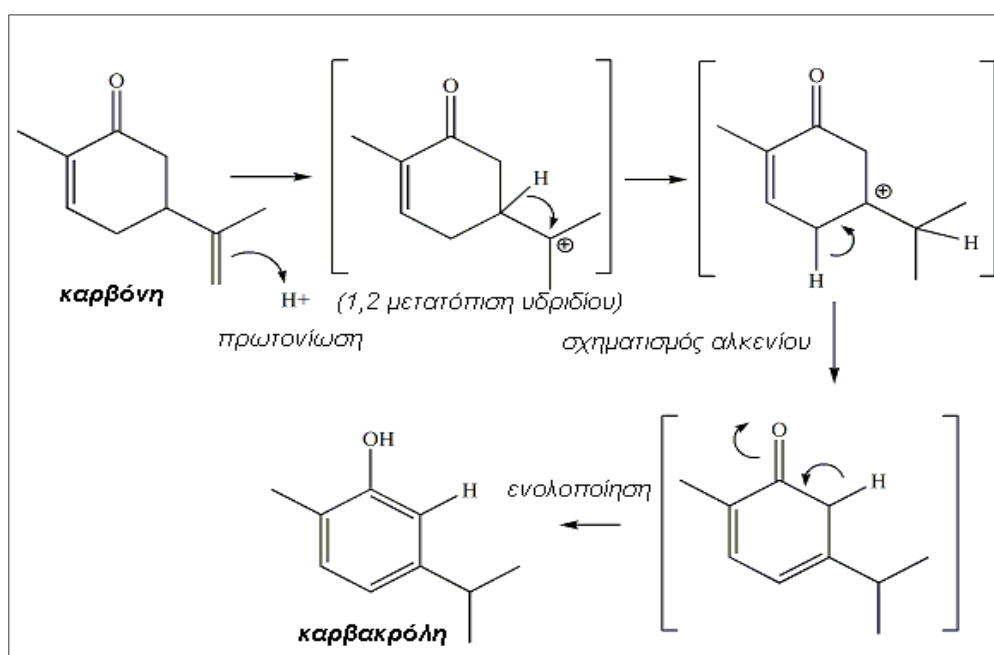
9	δ-3-καρένιο	Μονοτερπένιο	Λεμονιού, ρητίνης	✓	✓
10	α-τερπινένιο	Μονοτερπένιο	Λεμονιού	✓	✓
11	π-κυμένιο	Μονοτερπένιο	Διαλύτη, βενζίνης, κίτρου	✓	✓
12	β-φελλανδρένιο	Μονοτερπένιο	Μέντας, τερεβινθέλαιου	✓	✓
13	ευκαλυπτόλη	Μονοτερπένιο	Μέντας, γλυκό	✓	✓
14	cis-οκιμένιο	Μονοτερπένιο	Κίτρου, βοτάνου, λουλουδιών	✓	✓
15	trans-β-οκιμένιο	Μονοτερπένιο	Βοτάνου, γλυκό	✓	✓
16	γ-τερπινένιο	Μονοτερπένιο	Βενζίνης, τερεβινθέλαιου	✓	✓
17	trans-ένυδρο-σαβινένιο	Μονοτερπένιο	Ξύλου, βάλαμου	✓	✓
18	τερπινολένιο	Μονοτερπένιο	Πεύκου, πλαστικού	✓	✓
19	cis-ένυδρο-σαβινένιο	Μονοτερπένιο	Βάλαμου	✓	✓
20	λιναλοόλη	Μονοτερπένιο	Λουλουδιών, λεβάντας	✓	✓
21	βορνεόλη	Μονοτερπένιο	Καμφοράς	✓	✓
22	τερπινεν-4-όλη	Μονοτερπένιο	Τερεβινθέλαιου, μοσχοκάρυδου, μούχλας	✓	✓
23	α-τερπινεόλη	Μονοτερπένιο	Γλυκάνισου, μέντας	✓	✓
24	cis-διϋδροκαρβόνη	Μονοτερπένιο	Βοτάνου	✓	✓
25	trans-διϋδροκαρβόνη	Μονοτερπένιο	Βοτάνου	✓	✓
26	μεθυλαιθέρας της καρβακρόλης	Μονοτερπένιο	Ρίγανης	✓	✓
27	θυμοκινόνη	Μονοτερπένιο	Θυμαριού	✓	✓

28	θυμόλη	Μονοτερπένιο	Θυμαριού	✓	✓
29	καρβακρόλη	Μονοτερπένιο	Ρίγανης	✓	✓
30	α-κοπαένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου, μπαχαρικών	✓	✓
31	γ-καρνοφυλλένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου, μπαχαρικών	-	✓
32	β-καρνοφυλλένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου, μπαχαρικών	✓	✓
33	β-γκουρζουνένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου, βάλαμου	-	✓
34	αρωμαδενδρένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου	✓	✓
35	α-χουμουλένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου	✓	✓
36	α-αμορφένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου	✓	✓
37	β-σελινένιο	Σεσκιτερπένιο	Βοτάνου	-	✓
38	λιντένιο (ledene)	Σεσκιτερπένιο	Πρασινάδας, γλυκό	✓	✓
39	α-μουρολένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου	✓	✓
40	β-βισαβολένιο	Σεσκιτερπένιο	Βάλαμου	✓	✓
41	δ-καδινένιο	Σεσκιτερπένιο	Θυμαριού, ξύλου	✓	✓
42	καδιναδιένιο 1,4	Σεσκιτερπένιο	Μπαχαρικών, φρουτώδες	-	✓
43	cis-α-βισαβολένιο	Σεσκιτερπένιο	Μπαχαρικών, λουλουδιών	-	✓
44	1-οκτεν-3-όλη	Αλκοόλη	Μανιταριών	✓	✓
45	3-οκτανόλη	Αλκοόλη	Γήινο, μανιταριών, ξύλου	✓	✓
46	3-οκτανόνη	Κετόνη	Βοτάνου, ρητίνης	✓	✓

Στα δείγματα ρίγανης που μελετήθηκαν ταυτοποιήθηκαν συνολικά 46 ενώσεις. Το ποσοστό των τερπενίων (σεσκιτερπένια και μονοτερπενικές ενώσεις όπως υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, κετόνες, αλδεΐδες και εστέρες) συγκεντρωτικά φτάνει το 93%, ενώ οι λοιπές ενώσεις (αλκοόλες, κετόνη) αγγίζουν μόνο το 7%. Από το ποσοστό αυτό των τερπενίων, το 65% αποτελείται από μονοτερπένια, ενώ το 35% από σεσκιτερπένια.

Με την ίνα DVB/CAR/PDMS 50/30 μm ταυτοποιήθηκαν 41 ενώσεις, από τις οποίες το 93% είναι τερπένια και το 7% λοιπές ενώσεις. Τα τερπένια που ταυτοποιήθηκαν αποτελούνται από μονοτερπένια κατά 74%, ενώ από σεσκιτερπένια κατά 26%. Με την ίνα PDMS 100 μm ταυτοποιήθηκαν 46 ενώσεις, από τις οποίες το 93% ανήκουν στην κατηγορία των τερπενίων και το 7% σε λοιπές ενώσεις. Τα τερπένια που ταυτοποιήθηκαν αποτελούνται από μονοτερπένια κατά 65%, ενώ από σεσκιτερπένια κατά 35%. Με την ίνα DVB/CAR/PDMS δεν ανιχνεύθηκαν τα σεσκιτερπένια: γ-καρυοφυλλένιο, β-γκουρζουνένιο, β-σελινένιο, καδιναδιένιο-1,4 και cis-α-βισαβολένιο.

Το πτητικό συστατικό που βρέθηκε με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση στα δείγματα της ρίγανης είναι η καρβακρόλη, με ποσοστό που κυμαίνεται από 55-70%. Η καρβακρόλη λαμβάνεται με θέρμανση της καμφοράς παρουσία ιωδίου, ενώ σχηματίζεται και με ενδομοριακή μετάθεση του ισομερούς της καρβόνης με την επίδραση οξέων, σύμφωνα με τις ακόλουθες αντιδράσεις:



Σχήμα 5: Σχηματισμός καρβακρόλης από καρβόνη (www.organicchem.org).

Τα πτητικά συστατικά με σχετικά υψηλές αλλά μικρότερες της καρβακρόλης συγκεντρώσεις είναι το γ-τερπινένιο (8-12%), το π-κυμένιο (6-9%), το β-καρνοφυλλένιο (3-4%) και το μυρκένιο (2-3%) και ακολουθούν τα α-τερπινένιο και β-βισαβολένιο με ποσοστά της τάξεως του 1-2%.

Οι *Kokkini et al (1997)* αναφέρουν ότι το άθροισμα της καρβακρόλης, του γ-τερπινενίου, της θυμόλης και του π-κυμενίου στα αιθέρια έλαια της ρίγανης εμφανίζει σταθερότητα ανεξάρτητα της γεωγραφικής προέλευσης και των διαφορετικών εποχών συλλογής των φυτών (85.0%-96.8%). Ενισχύεται επομένως ακόμα περισσότερο η άποψη ότι οι τέσσερις αυτές ενώσεις είναι πολύ κοντά βιοσυνθετικά και επαληθεύονται εν μέρει τα ευρήματα για τον σχηματισμό θυμόλης και καρβακρόλης από γ-τερπινένιο μέσω π-κυμενίου (*Poulose & Croteau 1978, Croteau & Johnson 1984*). Το άθροισμα των τεσσάρων ενώσεων στα δείγματα της ρίγανης που μελετήθηκαν ήταν σχετικά υψηλό, ωστόσο χαμηλότερο από αυτό που καταγράφηκε από τους *Kokkini et al. (1997)* - 83.89% με την ίνα DVB/CAR/PDMS και 77.06% με την ίνα PDMS 100 μm.

Οι *Kokkini et al. (1997)*, *Russo et al. (1998)*, *Chorianopoulos et al. (2004)*, *Wolff et al. (2007)*, καθώς και οι *Grevsen et al. (2009)*, μελετώντας το υποείδος *Origanum vulgare L. ssp. hirtum* σε διάφορα στάδια ανάπτυξης του βρήκαν παρόμοια ποσοστά πτητικών ενώσεων με την παρούσα μελέτη. Τα κυριότερα πτητικά τερπένια που ταυτοποιήθηκαν στη ρίγανη *O. vulgare ssp. hirtum*, σύμφωνα με τους *Grevsen et al (2009)*, ήταν η καρβακρόλη (67.4–75.8%), το γ-τερπινένιο (8–13.5%), το π-κυμένιο (4.7–9.5%), το μυρκένιο (2.5–2.6%), το α-πινένιο (1.8–1.9%), το β-καρνοφυλλένιο (1–1.9%) και η θυμόλη (0.4–1.4%). Τα μονοτερπένια ήταν η κυρίαρχη τάξη τερπενίων τόσο αριθμητικά όσο και ποσοτικά, ενώ η καρβακρόλη και οι βιοσυνθετικοί πρόδρομοί της, το γ-τερπινένιο και το π-κυμένιο βρέθηκαν σε υψηλά ποσοστά, αγγίζοντας το 90% των τερπενίων που ταυτοποιήθηκαν. Το ποσοστό της θυμόλης βρέθηκε χαμηλό (0.4–1.5%), γεγονός που υποδεικνύει ότι ο κλώνος *O. vulgare ssp. hirtum* που χρησιμοποιήθηκε ανήκει στον χημειότυπο της καρβακρόλης (*Russo et al. 1998*).

Οι *Berghold et al. (2008)* βρήκαν παρόμοια περιεκτικότητα σε βασικές ενώσεις (καρβακρόλη 74%, γ-τερπινένιο 7.3%, π-κυμένιο 3.4%, μυρκένιο 2.2%, α-πινένιο 0.8%, β-καρνοφυλλένιο 1.6% και θυμόλη <0.5%) κατά την

μελέτη της απόσταξης των αιθέριων ελαίων του γένους *O. vulgare* ssp. και επιβεβαίωσαν ότι η σύσταση των ελαίων επηρεάζεται τόσο από βιοτικούς, όσο και από αβιοτικούς παράγοντες κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης. Παρά το ότι η μελέτη των *Berghold et al. (2008)* έγινε με απόσταξη του αιθέριου ελαίου ξηρού φυτικού υλικού και η αντίστοιχη των *Grevsen et al (2009)* με εκχύλιση των βασικών συστατικών από φρέσκο κατεψυγμένο φυτικό υλικό, τα αποτελέσματά τους είναι συγκρίσιμα με τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής που βασίζονται στην μικροεκχύλιση δια της στερεάς φάσης των βασικών συστατικών από ξηρό φυτικό υλικό (αν και η ξήρανση του φυτικού υλικού μπορεί να οδηγήσει σε μικρές απώλειες βασικών συστατικών του ελαίου και η απόσταξή του σε μικρές απώλειες βασικών συστατικών του ελαίου και σε σχηματισμό παράπλευρων ενώσεων λόγω της θέρμανσης κατά την διαδικασία της απόσταξης).

Οι *Veres et al. (2003)* μελέτησαν την διαφοροποίηση των πτητικών ενώσεων σε διάφορα είδη του γένους *Lamiaceae*, στο οποίο ανήκει και η μελετηθείσα ρίγανη. Συγκρίνοντας τα αιθέρια έλαια των ειδών *O. vulgare* ssp. *hirtum* και *O. vulgare* ssp. *vulgare* οι προηγούμενα αναφερόμενοι ερευνητές βρήκαν ότι διαφέρουν σημαντικά ως προς την σύστασή τους. Ενώ, το π-κυμένιο (περίπου το 13-21% του ολικού περιεχομένου του αιθέριου ελαίου) και τα σεσκιτερπένια (περίπου το 22-24% του ολικού περιεχομένου του αιθέριου ελαίου) κυριαρχούσαν στο δείγμα του *O. vulgare* ssp. *vulgare*, το υποείδος *hirtum* με ποσοστό καρβακρόλης 64-76% αποδείχθηκε ότι ανήκει σε υποείδος καρβακρολικού τύπου. Τα ποσοστά των πτητικών ενώσεων του υποείδους *hirtum* στην συγκεκριμένη έρευνα συμφωνούν σημαντικά με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης (καρβακρόλη 76.4%, π-κυμένιο 4.7%, γ-τερπινένιο 6.6%, θυμόλη 0.23%). Αντίθετα, τα αποτελέσματα της μελέτης του υποείδους *vulgare* διαφέρουν σημαντικά από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης (π-κυμένιο 22.3%, οξειδίο του καρυοφυλλενίου 10.2%, σαβινένιο 7.9%, γ-τερπινένιο 5.1%, θυμόλη 0.34% και καρβακρόλη 0.12%).

Παράλληλα, οι *Viuda-Martos et al. (2007)* μελετώντας δείγματα *Origanum vulgare* L. από περιοχές της Τουρκίας, ταυτοποίησαν 32 συνολικά ενώσεις που αποτελούσαν το 88.5% του ολικού περιεχομένου του αιθέριου ελαίου. Οι κύριες πτητικές ενώσεις που καταγράφηκαν ήταν η καρβακρόλη, με ποσοστό 61.21%, το π-κυμένιο με 15.12%, το γ-τερπινένιο με 4.80%, το

τερπινολένιο με 3.63%, το β-καρυοφυλλένιο με 2.62%, το α-πινένιο με 2.34% και το μυρκένιο με 1.45%, ενώ τα ποσοστά της θυμόλης βρέθηκαν αρκετά χαμηλά, μόλις 0.48%. Αντίστοιχα, οι Sokovic et al. (2002) σε έρευνα σχετικά με την χημική σύσταση διάφορων αρωματικών φυτών της Σερβίας, μελετώντας το ίδιο υποείδος ρίγανης (*O. vulgare L.*) βρήκαν σχετικά παρόμοια περιεκτικότητα σε ορισμένες πτητικές ενώσεις με αυτή των Viuda-Martos et al. (2007), (καρβακρόλη 64.5%, π-κυμένιο 10.9%), με σημαντική ωστόσο διαφορά στα ποσοστά της θυμόλης (3.5%) και του γ-τερπινενίου (10.8%) σε σχέση με τα ποσοστά των Viuda-Martos et al. (2007). Τέτοια διαφοροποίηση μεταξύ παρόμοιων υποειδών μπορεί να οφείλεται σε παράγοντες όπως οι κλιματολογικές συνθήκες, ο χρόνος συγκομιδής, η γεωγραφική θέση, η γεωλογία, το μέρος του φυτού που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση, καθώς και η μέθοδος που χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση των πτητικών ενώσεων. Η σύσταση και η περιεκτικότητα σε πτητικές ενώσεις των δειγμάτων *Origanum vulgare L.* των παραπάνω ερευνών δεν διαφέρουν σημαντικά από την σύσταση και την περιεκτικότητα του δείγματος ρίγανης της παρούσας μελέτης.

Από την σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης με τα αποτελέσματα άλλων ερευνών που αφορούσαν διάφορα υποείδη της ρίγανης, πλην των *Origanum vulgare L.* και *O. vulgare ssp. hirtum*, παρατηρήθηκε σημαντική απόκλιση στην περιεκτικότητα, τόσο ποσοτικά όσο και ποιοτικά. Το υψηλό ποσοστό καρβακρόλης και το χαμηλό ποσοστό θυμόλης που χαρακτηρίζουν τα υπό εξέταση δείγματα ρίγανης παρατηρούνται κυρίως στα προαναφερθέντα υποείδη ρίγανης (*Origanum vulgare L.* και *O. vulgare ssp. hirtum*), καθιστώντας την σύγκριση με τα άλλα υποείδη ανώφελη.

Πίνακας 10: Κατηγορίες των ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν στο τσάι του βουνού με την αεριοχρωματογραφική στήλη HP-5MS και τις ίνες SPME (PDMS 100 μm, DVB/CAR/PDMS 50/30 μm) και το άρωμα που αναδύουν.

A/A	Ένωση	Κατηγορία ένωσης	Άρωμα	DVB/CAR/PDMS	PDMS
1	α-θουαγένιο	Μονοτερπένιο	Ξύλου, βοτάνου, πρασινάδας	✓	✓
2	α-πινένιο	Μονοτερπένιο	Πεύκου, τερεβινθέλαιου	✓	✓
3	καμφένιο	Μονοτερπένιο	Καμφοράς	✓	✓
4	σαβινένιο	Μονοτερπένιο	Πιπεριάς, τερεβινθέλαιου, ξύλου	✓	✓
5	β-πινένιο	Μονοτερπένιο	Πεύκου, ρητίνης, τερεβινθέλαιου	✓	✓
6	μυρκένιο	Μονοτερπένιο	Βάλσαμου, μούχλας, μπαχαρικών	✓	✓
7	α-φελλανδρένιο	Μονοτερπένιο	Τερεβινθέλαιου, μέντας, μπαχαρικών	✓	✓
8	δ-3-καρένιο	Μονοτερπένιο	Λεμονιού, ρητίνης	✓	✓
9	α-τερπινένιο	Μονοτερπένιο	Λεμονιού	✓	✓
10	π-κυμένιο	Μονοτερπένιο	Διαλύτη, βενζίνης, κίτρου	✓	✓
11	λεμονένιο	Μονοτερπένιο	Λεμονιού, πορτοκαλιού	✓	✓
12	cis-οκιμένιο	Μονοτερπένιο	Βοτάνου, γλυκό	✓	✓
13	α-οκιμένιο	Μονοτερπένιο	Φρουτώδες	✓	✓
14	γ-τερπινένιο	Μονοτερπένιο	Βενζίνης, τερεβινθέλαιου	✓	✓
15	trans-ένυδρο-σαβινένιο	Μονοτερπένιο	Ξύλου, βάλσαμου	✓	-
16	τερπινολένιο	Μονοτερπένιο	Πεύκου, πλαστικού	✓	✓

17	λιναλοόλη	Μονοτερπένιο	Λουλουδιών, λεβάντας	✓	✓
18	βορνεόλη	Μονοτερπένιο	Καμφοράς	✓	✓
19	μυρτενάλη	Μονοτερπένιο	Μπαχαρικών	✓	-
20	μυρτενόλη	Μονοτερπένιο	Μέντας, ξύλου	✓	-
21	α-κουβεβένιο	Σεσκιτερπένιο	Βοτάνου, κεριού	✓	✓
22	κυκλοσατιβένιο	Σεσκιτερπένιο	Λουλουδιών, μπαχαρικών	✓	✓
23	α-κοπαένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου, μπαχαρικών	✓	✓
24	β-βουρβονένιο	Σεσκιτερπένιο	Βοτάνου	✓	✓
25	β-κουβεβένιο	Σεσκιτερπένιο	Κίτρου,	-	✓
26	α-γκουρζουνένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου, βάλαμου	✓	✓
27	α-κεδρένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου, φρουτώδες	✓	-
28	trans-καρνοφυλλένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου, μπαχαρικών	✓	✓
29	α-περγαμοντένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου, τσαγιού	✓	✓
30	ισολιντένιο (isoledene)	Σεσκιτερπένιο	Πρασινάδας, γλυκό	-	✓
31	α-χουμουλένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου	✓	✓
32	β-σεσκιφελανδρένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου	✓	✓
33	trans-β-φαρνεσένιο	Σεσκιτερπένιο	Κίτρου, πρασινάδας	✓	✓
34	δ-γερμακρένιο	Σεσκιτερπένιο	Μπαχαρικών, ξύλου	✓	✓
35	Ερί-δικυκλο-σεσκιφελανδρένιο	Σεσκιτερπένιο	Φρουτώδες, γλυκό, βοτάνου	✓	✓

36	δικυκλογερακρένιο	Σεσκιτερπένιο	Πρασινάδας, ξύλου	✓	✓
37	α-μουρολένιο	Σεσκιτερπένιο	Ξύλου	✓	✓
38	β-βισαβολένιο	Σεσκιτερπένιο	Βάλσαμου	✓	✓
39	δ-καδινένιο	Σεσκιτερπένιο	Θυμαριού, ξύλου	✓	✓
40	καδιναδιένιο 1,4	Σεσκιτερπένιο	Μπαχαρικών, φρουτώδες	✓	✓
41	cis-α-βισαβολένιο	Σεσκιτερπένιο	Μπαχαρικών, λουλουδιών	✓	✓
42	οξειδίο του καρυοφυλλενίου	Σεσκιτερπένιο	Μπαχαρικών, βοτάνου	✓	✓
43	βαλερανόνη	Σεσκιτερπένιο	Βαλεριάνας, ρητίνης	✓	✓
44	α-βισαβολόλη	Σεσκιτερπένιο	Μπαχαρικών, λουλουδιών	✓	✓
45	β-σπρινγκένιο (β-Springene)	Διτερπένιο	Λουλουδιών	✓	✓
46	ισοκαουρένιο	Διτερπένιο	Βοτάνου, γλυκό	✓	✓
47	2-εξανάλη	Αλδεΐδη	Πρασινάδας, λίπους	✓	-
48	επτανάλη	Αλδεΐδη	Κίτρου, λίπους	✓	-
49	βενζαλδεΐδη	Αλδεΐδη	Αμυγδάλου	✓	-
50	εξανόλη	Αλκοόλη	Ρητίνης, πρασινάδας, λουλουδιών	✓	-
51	οκτανόλη	Αλκοόλη	Μανιταριών, καρυδιού	✓	-
52	Οκταμεθυλο- κυκλοτετρασιλοξάνιο	Αλκάνιο	Ήπιο βοτάνου	✓	-
53	αλλυλοβενζόλιο	Αλκένιο	Διαλύτη	✓	-
54	βουτυλυδροξυτολουόλιο (BHT)	Φαινόλη	φαινολικό	✓	✓

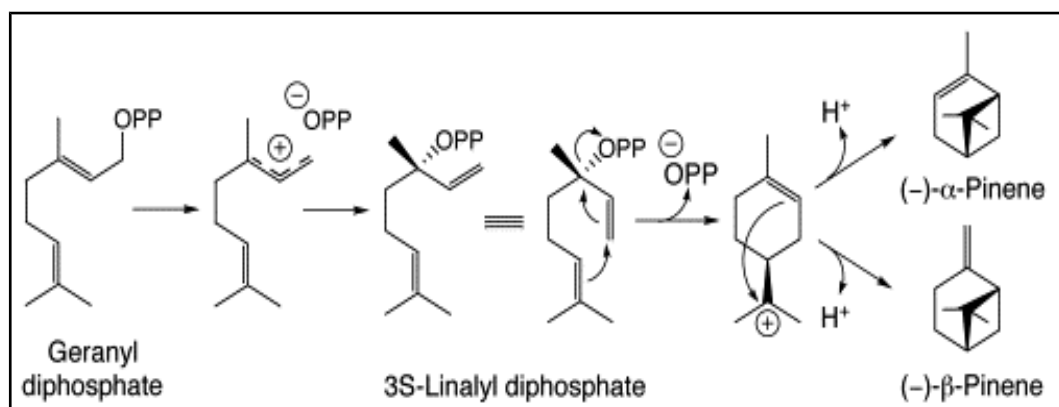
55	βουτυρικός ισοβουτυλεστέρας	Εστέρας	φρουτώδες	✓	-
56	ισοβαλερικό πεντύλιο	Εστέρας	Φρουτώδες, μήλου, φρεσκάδας	✓	-
57	εννεανοϊκό μεθύλιο	Εστέρας	Καρύδας	✓	-
58	2-μεθυλοβουτυρικό-3- εξενύλιο	Εστέρας	Φράουλας	✓	✓
59	οξικό βορνύλιο	Εστέρας	Βάλσαμου	✓	-
60	βαλεριανικό βενζύλιο	Εστέρας	Φρουτώδες, μήλου, βάλσαμου	✓	-

Από τον πίνακα 10 παρατηρείται ότι το συνολικό ποσοστό των τερπενίων στα δείγματα του τσαγιού του βουνού που μελετήθηκαν (με αμφότερες τις ίνες) αγγίζει το 77%, ενώ οι λοιπές ενώσεις (αλκοόλες, αλδεΐδες κ.α.) αγγίζουν το 23%. Από το ποσοστό των τερπενίων το 44% αποτελείται από μονοτερπένια, το 52% από σесκιτερπένια και μόλις το 4% από διτερπένια. Με την ίνα DVB/CAR/PDMS 50/30 μm (Πίνακας 10) ταυτοποιήθηκαν 58 ενώσεις, από τις οποίες το 76% είναι τερπένια και το 24% λοιπές ενώσεις. Τα τερπένια που ταυτοποιήθηκαν με την ίνα αυτή αποτελούνται από μονοτερπένια κατά 45%, από σесκιτερπένια κατά 50% και από διτερπένια κατά 5%. Επίσης, με την ίνα PDMS 100 μm (Πίνακας 10) ταυτοποιήθηκαν 44 ενώσεις, από τις οποίες το 95% ανήκουν στην κατηγορία των τερπενίων και μόλις το 5% σε λοιπές ενώσεις. Τα τερπένια που ταυτοποιήθηκαν με την συγκεκριμένη ίνα αποτελούνται από μονοτερπένια κατά 40%, από σесκιτερπένια κατά 55% και από διτερπένια κατά 5%.

Αναλυτικότερα, με την ίνα DVB/CAR/PDMS δεν ανιχνεύθηκαν τα σесκιτερπένια β-κουβεβένιο και ισολιντένιο (*isoledene*). Με την ίνα PDMS δεν ανιχνεύθηκαν τα μονοτερπένια trans-ένυδρο-σαβινένιο, μυρτενάλη και μυρτενόλη, το σесκιτερπένιο α-κεδρένιο, οι αλδεΐδες 2-εξανάλη, επτανάλη και βενζαλδεΐδη, οι αλκοόλες εξανόλη και οκτανόλη, το αλκάνιο οκταμεθυλοκυκλοτετρασιλοξάνιο, το αλκένιο αλλυλοβενζόλιο και οι εστέρες βουτυρικός ισοβουτυλεστέρας, ισοβαλερικό πεντύλιο, εννεανοϊκό μεθύλιο, οξικό βορνύλιο και βαλεριανικό βενζύλιο.

Το πτητικό συστατικό που βρέθηκε με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση στα δείγματα του τσαγιού του βουνού που μελετήθηκαν είναι το β-πινένιο, με ποσοστό 22.89-29.32%. Ακολουθούν τα: trans-καρυοφυλλένιο (18.41-16.41%), α-πινένιο (11.04-15.68%), δ-καδινένιο (6.13-7.65%), α-κοπαένιο (3.76-4.15%) και σε μικρότερα ποσοστά το β-βισαβολένιο (0.63-3.01), το καδιναδιένιο 1,4 (0.58-2.75%), το β-σπρινγκένιο (2.24-5.04%) και η λιναλοόλη (0.65-1.94%).

Το α-πινένιο και το β-πινένιο είναι ισομερείς ενώσεις και παράγονται από τον γερανυλοπυροφωσφορικό εστέρα (*geranyl pyrophosphate*) μέσω κυκλοποίησης του πυροφωσφορικού λιναλυεστέρα (*linalyl pyrophosphate*) και την απώλεια ενός πρωτονίου από το αντίστοιχο καρβοκατιόν (Σχήμα 6) (<http://en.wikipedia.org>).



Σχήμα 6: Σχηματισμός α- και β-πινενίου.

Διάφορες μελέτες με αντικείμενο την ποσοτική και ποιοτική σύσταση των ειδών του γένους *Sideritis* έχουν γίνει σε μεσογειακές χώρες όπως η Ισπανία και η Τουρκία όπου φύεται το φυτό (*Ezer et al. (1996), Ozcan et al. (2001)*). Οι *Kardali et al. (2000)*, μελετώντας την σύσταση των αιθέριων ελαίων του *Sideritis ibanyezii Pau*, ενός ενδημικού είδους σιδερίτη της Ισπανίας, ταυτοποίησαν συνολικά 58 ενώσεις. Το αιθέριο έλαιο είχε χαρακτηριστικά υψηλό ποσοστό μονοτερπενίων (72.8%) αλλά και υψηλό ποσοστό οξικού α-φενχυλίου (*α-fenchyl acetate*, 16.0%). Οι κύριες πτητικές ενώσεις που καταγράφηκαν από τους παραπάνω ερευνητές είναι το σαβινένιο (12.8%), το α-πινένιο (10.7%), η α-φενχόλη (6.1%), η 1,8-κινεόλη (5.6%), το β-φελλανδρένιο (4.5%), το λεμονένιο (4.1%) και η τερπινεν-4-όλη (4.3%). Σε μια

άλλη περιοχή της Ισπανίας, οι *Pala-Paul et al. (2006)* ταυτοποίησαν συνολικά 73 ενώσεις στα αιθέρια έλαια του *Sideritis hirsuta L.* και στη μελέτη τους αναφέρουν και αυτοί ότι το δείγμα τους περιείχε υψηλό ποσοστό μονοτερπενίων (49%). Οι ενώσεις που καταγράφηκαν είναι το β-φελλανδρένιο (23.8%), το α-φελλανδρένιο (9.2%), το α-πινένιο (8.2%) και το (z)-β-γκουαϊένιο (8.1%). Επομένως η περιεκτικότητα των αιθέρια ελαίων μεταβάλλεται σημαντικά από είδος σε είδος και ενώ υπάρχουν κάποιες κοινές ενώσεις μεταξύ των παραπάνω ειδών και του δείγματος *Sideritis* της παρούσας μελέτης, εντούτοις υπάρχουν σημαντικές διαφορές στα ποσοστά και το είδος των συστατικών.

Οι *Topcu et al. (2005)* μελέτησαν το είδος *Sideritis albiflora* από μια περιοχή της Τουρκίας ως προς την σύστασή του σε πτητικές ενώσεις. Αυτό το είδος σιδερίτη συγκαταλέγεται σε αυτά που είναι πλούσια σε σεσκιτερπένια (*Baser 2002, Kirimer et al. 2004*). Ταυτοποιήθηκαν 36 ενώσεις με κύρια συστατικά το trans-καρβοφυλλένιο (14.8%), το α-πινένιο (16.3%), το β-πινένιο (15.4%), το γ-καδινένιο (12.8%), η πουλεγόνη (9.1%), το μυρκενίο (8.7%) και το κοπαένιο (5.6%). Τα αποτελέσματα της μελέτης τους, αν και παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές, είναι ωστόσο αρκετά συγκρίσιμα με τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής.

Στην μελέτη τους, οι *Kostadinova et al. (2007)* ταυτοποίησαν τα χημικά συστατικά των αιθέρια ελαίων δύο ειδών σιδερίτη, του *S. scardica* και του *S. raeseri* από τις περιοχές των Σκοπίων και της Βουλγαρίας. Συγκεκριμένα, συνέλεξαν δείγματα του είδους *S. scardica* από τρεις διαφορετικές περιοχές και συνέκριναν τα αποτελέσματα της έρευνάς τους. Η σύγκρισή αυτή κατέστησε σαφές ότι τα αιθέρια έλαια του *S. scardica* από διαφορετικές περιοχές διαφέρουν σημαντικά. Τα δείγματα από την Βουλγαρία είχαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις μονοτερπενίων και σεσκιτερπενίων και υψηλότερες συγκεντρώσεις διτερπενίων σε σχέση με τα δείγματα από την περιοχή των Σκοπίων. Οι διαφορές ωστόσο που παρατηρήθηκαν δεν ήταν μόνο ποσοτικές αλλά και ποιοτικές, ειδικότερα σε σεσκιτερπένια. Η διαφοροποίηση του είδους και των ποσοστών των πτητικών ενώσεων επομένως δεν παρατηρείται μόνο σε διαφορετικά είδη σιδερίτη αλλά και μεταξύ του ίδιου είδους που έχει συλλεχθεί από διαφορετικές περιοχές.

Ο *Koedam (1986)* μελέτησε δύο ενδημικά στον ελλαδικό χώρο είδη

σιδερίτη, το είδος *S. clandestina ssp. clandestina* και το είδος *S. raeseri ssp. raeseri*, τα οποία συλλέχθηκαν από διαφορετικές περιοχές της Ελλάδος. Στο αιθέριο έλαιο του υποείδους *clandestina* παρατηρήθηκαν υψηλά ποσοστά β-κοπαενίου, σε αντίθεση με το δείγμα του υποείδους *raeseri* που περιείχε μικρή συγκέντρωση αυτής της ουσίας. Στο δείγμα του *S. clandestina ssp. clandestina* ταυτοποιήθηκαν οι εξής βασικές ενώσεις: β-κοπαένιο (13.49%), α-πινένιο (12.16%), β-πινένιο (11.92%), δ-καδινένιο (11.49%), β-καρυοφυλλένιο (9.07%) και λεμονένιο (7.29%), ενώ στο δείγμα του *S. raeseri ssp. raeseri* ταυτοποιήθηκαν οι ενώσεις: β-πινένιο (20.61%), α-πινένιο (16.50%), α-χουμουλένιο (9.91%), λεμονένιο (6.73%), β-καρυοφυλλένιο (6.52%) και δ-γερμακρένιο (5.52%). Τα δείγματα του είδους *S. raeseri ssp. raeseri* φαίνεται επομένως να συμφωνούν πολύ περισσότερο στην χημική τους σύσταση με το είδος της παρούσας μελέτης, σε σχέση με τα υπόλοιπα προαναφερθέντα είδη.

Η ένωση β-σπρινγκένιο (β-springene) ανιχνεύτηκε για πρώτη φορά ως ένα από τα πτητικά συστατικά του είδους σιδερίτη που μελετήθηκε. Θα μπορούσε επομένως να ειπωθεί ότι το συγκεκριμένο είδος σιδερίτη ενδέχεται να περιγράφει ένα νέο χημειότυπο *Sideritis raeseri*. Ωστόσο, περαιτέρω μελέτη θα πρέπει να διεξαχθεί για να επιβεβαιώσει ότι η παρουσία της ένωσης β-σπρινγκένιο δεν οφείλεται απλά σε περιβαλλοντικές ή εποχικές συνθήκες.

Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ταυτοποιήθηκαν συνολικά 46 ενώσεις στα δείγματα της ρίγανης που μελετήθηκε στην παρούσα διατριβή (*O. vulgare L.*) οι οποίες στην πλειοψηφία τους ανήκουν στην κατηγορία των τερπενίων (σεσκιτερπένια, μονοτερπενικοί υδρογονάνθρακες και εστέρες, μονοτερπενικές αλκοόλες, κετόνες και αλδεΐδες), ενώ βρέθηκαν και μη τερπενικές ενώσεις σε μικρό ποσοστό (1-οκτεν-3-όλη, 3-οκτανόλη και 3-οκτανόνη). Παρατηρήθηκε διαφοροποίηση στον αριθμό των πτητικών ενώσεων που καταγράφηκαν με τις δύο ίνες (DVB/CAR/PDMS 50/30 μm, PDMS 100μm). Με την ίνα DVB/CAR/PDMS 50/30 μm ταυτοποιήθηκαν 41 ενώσεις, ενώ με την ίνα PDMS 100μm ταυτοποιήθηκαν περισσότερες (46 ενώσεις). Οι ενώσεις που δεν ταυτοποιήθηκαν με την ίνα DVB/CAR/PDMS 50/30 μm ανήκουν στην κατηγορία των σεσκιτερπενίων (γ-καρυοφυλλένιο, β-γκουρζουνένιο, β-σελινένιο, καδιναδιένιο-1,4 και cis-α-βισαβολένιο). Η ένωση με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση στα δείγματα βρέθηκε και με τις δύο ίνες να είναι η καρβακρόλη, ενώ ακολουθούν σε μικρότερες συγκεντρώσεις το γ-τερπινένιο, το π-κυμένιο, το β-καρυοφυλλένιο και το μυρκένιο.

Στα δείγματα τσαγιού του βουνού (*Sideritis raeseri Boiss. & Heldr. raeseri*) ταυτοποιήθηκαν συνολικά και με τις δύο ίνες 60 ενώσεις, οι οποίες ανήκουν και αυτές στην πλειοψηφία τους στην κατηγορία των τερπενίων. Σε αντίθεση με τα δείγματα της ρίγανης, τα τερπένια που καταγράφηκαν στο δείγμα του τσαγιού του βουνού ανήκουν κυρίως στα σεσκιτερπένια και όχι στα μονοτερπένια, ενώ παρατηρήθηκε και μεγαλύτερος αριθμός ενώσεων που δεν ανήκουν στην κατηγορία των τερπενίων. Σε σχέση με τις ίνες που χρησιμοποιήθηκαν παρατηρήθηκε διαφοροποίηση στον αριθμό των ουσιών που ταυτοποιήθηκαν. Με την ίνα DVB/CAR/PDMS 50/30 μm ταυτοποιήθηκαν περισσότερες ενώσεις (58) σε σχέση με την ίνα PDMS 100μm (44), γεγονός που βρίσκεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα από τα δείγματα της ρίγανης. Ειδικότερα, από το συνολικό αριθμό των ενώσεων που ταυτοποιήθηκαν, μόνο δύο (β-κουβεβένιο και ισολιντένιο) δεν ανιχνεύτηκαν με την ίνα DVB/CAR/PDMS 50/30 μm. Αντίθετα, με την ίνα PDMS 100μm δεν ανιχνεύτηκαν συνολικά 16 ενώσεις που ωστόσο ανιχνεύτηκαν με την ίνα DVB/CAR/PDMS. Συγκεκριμένα, δεν ανιχνεύτηκαν τα τερπένια trans-ένυδρο-

σαβινένιο, μυρτενάλη, μυρτενόλη και α-κεδρένιο, καθώς και μεγάλο ποσοστό λοιπών ενώσεων (2-εξανάλη, επτανάλη, βενζαλδεΐδη, εξανόλη, οκτανόλη, οκταμεθυλοκυκλοτετρασιλοξάνιο, βουτυρικός ισοβουτυλεστέρας, ισοβαλερικό πεντύλιο, εννεανοϊκό μεθύλιο, οξικό βορνύλιο, βαλεριανικό βενζύλιο, αλλυλοβενζόλιο). Σχετικά με τα ποσοστά των πτητικών συστατικών που προσδιορίστηκαν με τις δύο ίνες, το β-πινένιο βρέθηκε να είναι η ένωση σε μεγαλύτερη αναλογία στα δείγματα του τσαγιού του βουνού. Ακολουθούν σε μικρότερα ποσοστά το trans-καρυοφυλλένιο, το α-πινένιο, το δ-καδινένιο, το α-κοπαένιο και το β-σπρινγκένιο, το οποίο ανιχνεύτηκε για πρώτη φορά σε δείγμα σιδερίτη στην παρούσα διατριβή.

E. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ελληνικό τσάι του βουνού (*Sideritis L.*) και η ρίγανη (*O. vulgare L.*) ανήκουν στην οικογένεια των χειλανθών (*Lamiaceae*). Είναι βότανα αυτοφυή στον ελλαδικό χώρο και άρρηκτα συνδεδεμένα με την λαϊκή παράδοση. Το τσάι του βουνού χρησιμοποιείται ευρύτατα στις μεσογειακές χώρες, όπως και στην Ελλάδα, ως αφέψημα (τσάι), ενώ η ρίγανη χρησιμοποιείται ως καρύκευμα κυρίως στη μαγειρική και σπανιότερα ως αφέψημα.

Τα αρωματικά φυτά, όπως η ρίγανη και το τσάι του βουνού, πέρα από την ωραία γεύση και το άρωμα που προσφέρουν, διαθέτουν και θεραπευτικές ιδιότητες οι οποίες έχουν καταγραφεί από τα αρχαία χρόνια. Χρησιμοποιούνται ως τονωτικά, αντιβακτηριακά, αντιμυκητιακά, αντιμικροβιακά, αναλγητικά, αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτικά, ενώ το αιθέριο έλαιο της ρίγανης χρησιμοποιείται ακόμα και για την θεραπεία από τον πονόδοντο.

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν να προσδιοριστούν τα πτητικά συστατικά του τσαγιού του βουνού (*Sideritis raeseri ssp. raeseri*) και της ρίγανης (*Origanum vulgare L.*) από την περιοχή του Ζαγορίου. Η ταυτοποίηση έγινε με την τεχνική της μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME) σε συνδυασμό με την αέρια χρωματογραφία- φασματοσκοπία μάζας (GC/MS).

Χρησιμοποιήθηκε η αεριοχρωματογραφική στήλη HP-5MS και δύο διαφορετικές ίνες, η DVB/CAR/PDMS 50/30 μm και η PDMS 100 μm . Στην περίπτωση της ρίγανης ταυτοποιήθηκαν περισσότερες ενώσεις με την ίνα PDMS 100 μm , ενώ το αντίθετο συνέβη στην περίπτωση του τσαγιού του βουνού όπου ταυτοποιήθηκαν περισσότερες ενώσεις με την ίνα DVB/CAR/PDMS 50/30 μm .

Στα δείγματα του τσαγιού του βουνού, σε μεγαλύτερη αναλογία βρέθηκε το συστατικό β -πινένιο. Ακολουθούν σε επίσης μεγάλη αναλογία το trans-καρυοφυλλένιο και το α -πινένιο, ενώ σε μικρότερες αναλογίες τα δ -καδινένιο, α -κοπαένιο, β -σπρινγκένιο, β -βισαβολένιο, καδιναδιένιο-1,4 και η λιναλοόλη.

Στην περίπτωση της ρίγανης, το συστατικό με την μεγαλύτερη συγκέντρωση βρέθηκε ότι ήταν η καρβακρόλη, ενώ ακολουθούν με μεγάλη διαφορά το γ -τερπινένιο, το π -κυμένιο, το β -καρυοφυλλένιο, το μυρκένιο, το α -τερπινένιο και το β -βισαβολένιο.

ΣΤ. ABSTRACT

Greek mountain tea (*Sideritis L.*) and oregano (*O. vulgare L.*) belong taxonomically to the Labiatae family (Lamiaceae). These spices are abundant in the Mediterranean regions, including Greece. Mountain tea is widely used as a herb for the preparation of tisanes, while oregano is mainly used for its aromatic properties in local cuisines and less commonly for the preparation of tisanes. (The tisane is prepared by decoction, by boiling the stems, leaves and flowers in a pot of water, then often serving with honey and lemon).

Apart from being used for their flavour and aroma, mountain tea and oregano are also well known for their use as herbal medicine. Greek mountain tea and oregano have been traditionally used to aid digestion, strengthen the immune system and suppress common cold, the flu and other viruses, allergies and shortness of breath, sinus congestion, even pain and mild anxiety, while the essence of oregano is said to be used even in cases of toothache.

The aim of this work was to determine the volatile components of the Greek mountain tea (*Sideritis raeseri ssp. raeseri*) and oregano (*Origanum vulgare L.*) grown in Zagori (mountainous Epirus) region. The identification was carried out by means of headspace solid-phase micro-extraction (HS-SPME) coupled to gas chromatography- mass spectrometry (GC/MS).

The non polar HP-5MS GC column was used, as well as two different SPME fibres, DVB/CAR/PDMS 50/30 μm and PDMS 100 μm . In the case of oregano, more components were identified with the PDMS fibre compared to the DVB/CAR/PDMS fibre, while the opposite results were observed in the case of the mountain tea.

In the mountain tea samples the most abundant component was found to be β -pinene, followed closely by trans-caryophyllene and α -pinene. Moreover, δ -cadinene, α -copaene, β -springene, β -bisabolene, cadinadiene-1,4 and linalool followed in smaller proportions.

In the oregano samples the most abundant component was carvacrol. The components γ -terpinene, p-cymene, β -caryophyllene, myrcene, α -terpinene and β -bisabolene followed in smaller proportions.

Z. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. ΔΙΕΘΝΗΣ:

- Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T. & Arsenakis, M. 1998. **Antifungal activities of *Origanum vulgare* ssp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lanandula angustifolia* and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi.** *J. Agric. Food Chem.*, 46 (5), 1739-1745.
- Aliγιαννης, Ν., Καλπούτζακис, Ε., Χινοῦ, Ι.Β. & Μιτάκου, Σ. 2001. **Composition and antimicrobial activity of the essential oils of five taxa of *Sideritis* from Greece.** *J. Agric. Food Chem.*, 49, 811-815.
- Barber, J.C., Francisco-Ortega, J., Santos-Guerra, A., Turner, K.G. & Jansen, R.K. 2002. **Origin of Macaronesian *Sideritis* L. (Lamioideae: Lamiaceae) inferred from nuclear and chloroplast sequence datasets.** *Mol. Phylogenet. Evol.*, 23 (3), 293-306.
- Baser, K.H.C. 2002. **Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey.** *Pure Appl. Chem.*, 74 (4), 527- 545.
- Bentham, G. 1848. **Labiatae. Prodrromus systematis naturalis regni vegetabilis.** 437.
- Berghold, H., Wagner, S., Mandl, M., Thaller, A., Muller, M., Rakowitz, M., Pasteiner, S. & Boechzelt, H. 2008. **Yield, content and composition of the essential oil of five oregano strains (*Origanum vulgare* L.) depending on the developmental stage.** *Zeitschr. Arznei Gewuerzpflanz.* 13 (1), 36-43.
- Bicchi, C. 2000. *Gas Chromatography III/ Essential Oils, Encyclopedia of Separation Science. Academic Press.*, 2744-2755.
- Bicchi, C., Binello, A., Rubliolo, P. 2000. **Determination of phenolic diterpene antioxidants in rosemary with different methods of extraction and analysis.** *Phytochem. Anal: PCA.* 11, 236-239.
- Bosabolidis, A.M. & Skoula, M. 1998. **A comparative study of the glandular trichomes on the upper and lower leaf surfaces of *Origanum x intercedens* Rech.** *J. Essent Oil Res.* 10, 277-286.
- Bryant, J.P., Provenza, F.D., Pastor, J., Reichardt, P.B., Clausen, T.P. & du Toit, J.T. 1991. **Interactions between woody plants and browsing mammals mediated by secondary metabolites.** *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 22, 431-446.
- Chai, M. & Pawliszyn, J. 1995. **Analysis of environmental air samples by Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography/ Ion Trap Mass Spectrometer.** *Environ. Sci. Technol.*, 29, 693-701.
- Cheyrier, V. 2005. **Polyphenols in foods are more complex than often thought.** *Am. J. Clin. Nutr.*, 81 (1), 2235-2295.
- Chorianopoulos, N., Kalπούτζακис, Ε., Αλιγιαννης, Ν., Μιτάκου, Σ., Νυχας, G.J. & Haroutounian, S.A. 2004. **Essential oils of *Satureja*, *Origanum* and *Thymus* species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens.** *J. Agric. Food Chem.*, 52 (26), 8261-8267.
- Croteau, R. & Johnson, M.A. 1984. **Biosynthesis of terpenoids in glandular trichomes.** *Biology and Chemistry of Plant Trichomes. Plenum Press, New York.* 133-185.
- Crozier, A., Tagliaferro, A.R. & Bobilya, D.J. 2002. **Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships.** *J. Nutr. Biochem.* 13, 572-584.
- Daferera, D.J., Ziogas, B.N. & Polissiou, M.G. 2000. **GC-MS analysis of essential**

- oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*.** *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2576-2581.
- Demo, A., Petrakis, C., Kefalas, P. & Boskou, D. 1998. **Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves.** *Food Res. Int.* 31, 351-354.
- Dioskurides, P. **De Materia Medica.** Book IV/ Wellman Pub. Berlin, 1958. Cap. 33-35, 220-221.
- Evans, J.D. & Martins, S.A. 2000. **Effects of thymol on ruminal microorganisms.** *Curr. Microb.*, 41, 336-340.
- Exarchou, V., Nenadis, N., Tsimidou, M., Gerothanassis, I.P., Troganis, A. & Boskou, D. 2002. **Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage and summer savory.** *J. Agric. Food Chem.*, 50, 5294- 5299.
- Ezer, N., Vila, R., Canigual, S. & Adzet, T. 1996. **Essential oil composition of four Turkish species of *Sideritis*.** *Phytochem.* 41, 203-205.
- Floca, C. & Iconomou, N. 1981. **Etude chimique de *Sideritis scardica* Labiatae.** *Int. Symp. on aromatic plants, Abstr.*, 101.
- Gabrieli, C.N., Kefalas, P.G. & Kokkalou, E.L. 2005. **Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri*.** *J. Ethnopharmacol.*, 96 (3), 423-428.
- Galati, E.M., Germano, M.P., Rossitto, A., Tzakou, O., Skaltsa, H. & Roussis, V. 1996. **Essential oil of *Sideritis raeseri* Boiss. et Heldr. ssp. *Raeseri*.** *J. Essent. Oil. Res.*, 8 (3), 303-304.
- Gergis, V., Argyriadou, N. & Poulos, C. 1989. **Composition of the essential oils of *Sideritis cladestina* ssp. *cyllenea* and *Sideritis sipylea*.** *J. Sc. Food Agric.*, 47 (4), 501-507.
- Goliaris, A. 1984. **Cultivation of the mountain tea.** *Ministry of Agric.*, "Agrotica". 16, 29-31.
- Goliaris, A. 1995. **Genetic studies on the Greek mountain tea (*Sideritis* L.).** *Arist. Univ. Thess.*, Vol. 30(3), 131-133.
- Gomez- Serranillos, P., Carretero, E., Slowing, K., Palomino, O.M., Villarrubia, A.I. & Villar, A. 1998. **HPLC quantitative analysis of diterpenoids in *Sideritis* (Labiatae) species.** *Phytother. Res.*, 12, 101-103.
- Goodwin, T.W. & Mercer, E.I. 1983. **Introduction to Plant Biochemistry.** 2nd Ed., Pergamon Press, 677.
- Grevsen, K., Frette, X.C. & Christensen, L.P. 2009. **Content and composition of volatile terpenes, flavonoids and phenolic acids in Greek oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*) at different development stages during cultivation in cool temperate climate.** *Europ. J. Hort. Sci.*, 74 (5), 193-203.
- Hanlidou, E. & Kokkini, S. 1997. **On the flora of Vikos-Aoos National Park.** *Willdenowia.* 27, 81-100.
- Harborne, H. & Baxter, H. 1999. **The Handbook of natural flavonoids.** Wiley, Chichester, 2, 499.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. & Bobilya, D.J. 2002. **Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships.** *J. Nutr. Biochem.*, 13, 572-584.
- Janeska, B., Stefova, M. & Alipieva, K. 2007. **Assay of flavonoid aglycones from the species of genus *Sideritis* (Lamiaceae).** *Acta. Pharm.*, 57, 371-377.
- Judis, J. 1963. **Studies of the mechanism of action of phenolic disinfectants. II. Patterns of release of radioactivity from *E. coli* labelled by growth on various compounds.** *J. Pharm. Sci.*, 52, 261-264.
- Juven, B., Henis, Y. & Jacoby, B. 1972. **Studies on the mechanism of the antimicrobial action of oleuropein.** *J. Appl. Bacteriol.*, 35 (4), 559-567.

- Kardali, M., Velasco-Negueruela, A. & Perez-Alonso, M.J. 2000. **Essential oil constituents of *Sideritis ibanyezii* Pau.** *Botan. Complutensis*, 24, 101-106.
- Kintzios, S.E. 2002. **Profile of the multifaceted prince of the herbs. Oregano - the genera *Origanum* and *Lippia*.** *Taylor & Francis, London, HSA Library*, 73.
- Kirimer, N., Baser, K.H.C., Demirci, B. & Duman, H. 2004. **Essential oils of *Sideritis* species of Turkey belonging to the section *Empedoclia*.** *Chem. Natur. Comp.*, 40 (1), 19-23.
- Koedam, A. 1986. **Volatile oil composition of Greek mountain tea (*Sideritis* spp.).** *J. Sci. Food Agric.*, 36, 681-684.
- Kokkini, S., Vokou, D. & Karousou, R. 1991. **Morphological and chemical variation of *Origanum vulgare* L. in Greece.** *Bot. Chron.* 10, 337-346.
- Kokkini, S. 1994. **Herbs of the Labiatae.** *Encycl. Food Sci., Food Techn. & Nutr.*, 2342-2348.
- Kokkini, S., Karousou, R. & Vokou, D. 1994. **Pattern of geographic variation of *O. vulgare* trichomes and essential oil content in Greece.** *Biochem. Syst. Ecol.*, 22, 517-528.
- Kokkini, S., Karousou, R., Dardioti, A., Krigas, N. & Lanaras, T. 1997. **Autumn essential oils of Greek oregano.** *Phytochem.*, 44 (5), 883-886.
- Koleva, I., Linssen, J.P.H., Beek, T.A., Evstatieva, L.N., Kortenska, V. & Handjieva, N. 2003. **Antioxidant activity screening of extracts from *Sideritis* species (Labiatae) grown in Bulgaria.** *J. Sci. Food Agric.*, 83, 809-819.
- Komaitis, M.E., Falirea, A. & Voudouris, E.C. 1985. **Constituents of the essential oil of *Sideritis cretica* Boiss.** *J. Sc. Food Agric.*, 36, 970-972.
- Kotini-Zambaka, S. 1983. **Contribution to the monthly study of the climate of Greece.** *Doctoral Thesis, Arist. Univ. Thess.*
- Lagouri, V. & Boskou, D. 1996. **Nutrient antioxidants in oregano.** *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 47, 493-497.
- Lakhanpal, P. & Rai, D.K. 2007. **Quercetin: a versatile flavonoid.** *Intern. J. Med. Upd.* 2(2), 22-37.
- Levin, D.A. 1976. **The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores.** *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 7, 121-159.
- Linnaeus, C. 1737. **Gen. Plantarum.** 1st Ed., 171.
- Logoglu, E., Arslan, S., Oktemer, A. & Sakoyan, I. 2006. **Biological activities of some natural compounds from *Sideritis sipylea* Boiss.** *Phytother. Res.*, 20, 294-297.
- Mateo, C., Sanz, J. & Calderon, J. 1983. **Essential oil of *Sideritis hirsuta*.** *Phytochem.*, 22 (1), 171-173.
- McMurry, J. 2004. **Organic Chemistry.** Vol. II, 3rd Ed., Heraklion. 1356-1358.
- Mendoza-Heuer, I. 1977. **Rubiaceae in the Canary Islands, Spain.** *Ber. Deutsch. Botan. Gesellschaft.* 90, 211-218.
- Moeller, J.K.S., Madsen, H.L., Aaltonen, T. & Skibsted, L.H. 1999. **Dittany (*Origanum dictamnus*) as a source of water-extractable antioxidants.** *Food Chem.*, 64 (2), 215-219.
- Motlagh, S. & Pawliszyn, J. 1993. **On-line monitoring of flowing samples using solid phase microextraction-gas chromatography.** *Anal. Chim. Acta.* 284, 265-273.
- Ozcan, M., Chalchat, J.C. & Akgul, A. 2001. **Essential oil composition of Turkish mountain tea (*Sideritis* spp.).** *Food Chem.*, 75 (4), 459-463.
- Pala-Paul, J., Perez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A., Ballesteros, M.T. & Sanz, J. 2006. **Essential oil composition of *Sideritis hirsuta* L. from Guadalajara**

- Province, Spain.** *Flav. Fragr. J.*, 21, 410-415.
- Papageorgiou, V.P., Kokkini, S. & Argyriadou N. 1982. **Chemotaxonomy of the Greek species of Sideritis.** *Arom. Plants.* 211-220.
- Papanikolaou, K. & Kokkini, S. 1982. **A taxonomic revision of Sideritis L. section Empedoclia (Rafin.) Bentham (Labiatae) in Greece.** In: *Margaris, N., Koedam, A. & Vokou, D., Ed. Aromatic Plants: Basic and Applied Aspects. Proceedings of an International Symposium on Aromatic Plants. Hague, Netherlands.* 101-128.
- Pawliszyn, J. 1997. **Solid phase microextraction: Theory and practice.** *Wiley-VCH, N.Y., Ch. 1-5.*
- Pawliszyn, J. 1999. **Applications of solid phase microextraction.** *Roy. Soc. Chem., Cornwall, UK, Ch. 1-2.*
- Poulose, A.J. & Croteau, R. 1978. **Biosynthesis of aromatic monoterpenes: conversion of gamma-terpinene to p-cymene and thymol in Thymus vulgaris L.** *Arch. Biochem. Biophys.*, 187 (2), 307-314.
- Rangahau, M.K. 2001. **Essential Oils and their production.** *Crop and Food Res., Nat. Prod. Woody Plants, Vol. II, 39.*
- Roberts, D.D., Pollien, P. & Milo, C. 2000. **Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds.** *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2430-2437.
- Robbins, R.J. 2003. **Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology.** *J. Agric. Food Chem.*, 51 (10), 2866-2887.
- Russo, M., Galletti, G.C., Bocchini, P. & Carnacini, A. 1998. **Essential oil chemical composition of Italian oregano spice (Origanum vulgare ssp. hirtum (Link) Ietswaart): A preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by Cluster analysis. I. Inflorescences.** *J. Agric. Food Chem.*, 46, 3741-3746.
- Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T. & Arsenakis, M. 1996. **Antimicrobial and cytotoxic activities of Origanum essential oils.** *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1202-1205.
- Skoula, M. & Kamenopoulos, S. 1997. **Origanum dictamnus L. and Origanum vulgare L. ssp. hirtum (Link) Ietswaart: traditional uses and production in Greece.** *Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, Italy,* 26-32.
- Sokovic, M., Tzakou, O., Pitarokili, D. & Couladis, M. 2002. **Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece.** *Nahrung/Food.* 46 (5), 317-320.
- Spada, P. & Perrino, P. 1997. **Conservation of oregano species in national and international collections: an assessment.** In *Padulosi, S. (Ed.). Proceedings of the IPGRI Intern. Workshop on Oregano, Italy,* 14-23.
- Stokes, J. 1812. **A Botanical Materia Medica.** Vol. III, London.
- The Merck Index. 2008. *11th Edition, Merck & Co., INC. Rahway, N.J., USA.*
- Topcu, G., Barla, A., Goren, A.C., Bilsel, G., Bilsel, M. & Tumen, G. 2005. **Analysis of the essential oil composition of Sideritis albiflora using direct thermal desorption and headspace GC-MC techniques.** *Turk. J. Chem.*, 29, 525-529.
- Topcu, G., Goren A.C., Kilic, T., Kemal Yildiz, Y. & Tumen, G. 2001. **Diterpenes from Sideritis argyrea.** *Fitoterap.* 72, 1-4.
- Triantaphyllou, K., Blekas, G. & Boskou, D. 2001. **Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae.** *Int. J. Food Sci.*

Nutr., 52, 313-317.

- Tsaknis, J. & Lalas, S. 2005. **Extraction and identification of natural antioxidant from *Sideritis euboea* (mountain tea).** *J. Agric. Food Chem.*, 53, 6375-6381.
- Tunalier, Z., Kosar, M., Ozturk, N., Baser, K.H.C., Duman, H. & Kirimer, N. 2004. **Antioxidant properties and phenolic composition of *Sideritis* species.** *Chem. Natur. Comp.*, 40 (3), 206.
- Tutin, T.G. Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M. & Webb, D.A. 1972. **Flora Europaea.** Cambridge University Press, Cambridge. Vol. III, 46-49.
- Ultee, A., Kets, E.P.W. & Smid, E.J. 1999. **Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*.** *Appl. Environ. Microbiol.*, 65 (10), 4606-4610.
- Vas, G. & Vekey, K. 2004. **Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis.** *J. Mass Spect.*, 39, 233-254.
- Vekiari, S.A., Oreopoulou, V., Tzia, C. & Thomopoulos, C.D. 1993. **Oregano flavonoids as lipid antioxidants.** *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70 (5), 483-487.
- Veres, K., Varga, E., Dobos, A., Hajdu, Zs., Mathe, I., Nemeth, E. & Szabo, K. 2003. **Investigation of the content and stability of essential oils of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* L. and *O. vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart.** *Chromatograph.* 57, 95-98.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J. & Perez-Alvarez, J.A. 2007. **Chemical composition of the essential oils obtained from some spices widely used in Mediterranean region.** *Acta Chim. Slov.*, 54, 921-926.
- Vokou, D., Katradi, K. & Kokkini, S. 1993. **Ethnobotanical survey of Zagori (Epirus, Greece), a renowned centre of folk medicine in the past.** *J. Ethnopharmacol.* 39, 187-196.
- Webb, P.B. & Berthelot, S. 1836. **Histoire Naturelle des Iles Canaries.** *Phytograph. Canariensis III*, 42.
- Wolff, A.C., Schellenberg, I. & Bansleben, D. 2007. **Headspace solid phase microextraction (HS-SPME), headspace solid phase dynamic extraction (HS-SPDE) and headspace sorptive extraction (HSSE)- Comparing the methods applied to the analysis of volatile components in herbs.** *Z. Arzn. Gew. Pfl.*, 12, 147-153.

2. ΕΛΛΗΝΙΚΗ:

- Βασιλοπούλου, Αι. 2010. **Μελέτη της νευροπροστατευτικής δράσης του εκχυλίσματος του φυτού *Sideritis clandestina* sbsp. *clandestina*.** Διπλωματική μελέτη Μεταπτυχιακού προγράμματος, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πάτρων.
- Γαβαλάς, Ν. 2004. **Πληθυσμοί ρίγανης (*Origanum vulgare* L.) στην Βόρεια και Κεντρική Ελλάδα: επίδραση αβιοτικών παραγόντων στα φαινοτυπικά γνωρίσματά τους.** Διδακτορική Διατριβή. Α.Π.Θ. Τμήμα Γεωπονίας, Θεσσαλονίκη.
- Γιασαφάκη, Δ. 2008. **Ανάπτυξη βιομημητικά τροποποιημένων πυριτικών υλικών μέσω της μεθόδου sol-gel: αξιολόγηση της καταλυτικής τους δράσης σε σχέση με τη μορφολογία τους.** Διπλωματική μελέτη Μεταπτυχιακού προγράμματος. ΔΙΠΜΣ: “Χημεία και τεχνολογία υλικών”, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.
- Γκανιάτσας, Κ. 1971. **Βοτανικά έρευνα επί της χαράδρας του Βίκου.** *Ηπειρωτική Εστία*. 228, 1-28.
- Γκανιάτσας, Κ. 1980. **Η χαράδρα του Βίκου. Τα βότανα και οι βικογιατροί-κομπογιαννίτες.** *Ηπειρος*. 1, 7-19.
- Γκόλιαρης, Α. 1988. **Η καλλιέργεια της ρίγανης (*Origanum heracleoticum* L.). Μια μορφή αξιοποίησης φτωχών και ημιορεινών εδαφών.** *Επιστημονικό δελτίο*. 4, 79-86.
- Γκόλιαρης, Α. & Σκρουμπής, Β. 1992. **Νέοι κλώνοι ρίγανης.** *Πανελλήνιο Συνέδριο Γεωργικής Έρευνας (Πρακτικά)*. Θεσσαλονίκη, Τόμος Α', 201-203.
- Ζερβόπουλος, Σ.Δ. 2010. **Επίδραση των φαινολικών ουσιών στην αύξηση και την φυσιολογική συμπεριφορά του ζυμομύκητα *Saccharomyces cerevisiae* x5, καλλιεργούμενου σε συνθετικά γλεύκη.** Διπλωματική μελέτη Μεταπτυχιακού προγράμματος. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 17.
- Κουράκου-Δραγωνά, Σ. 2002. **Θέματα Οινολογίας.** Εκδόσεις Τροχαλία.
- Λιναρδάκη, Ζ. 2007. **Μελέτη βιοχημικών παραμέτρων σε εγκαφαλικές περιοχές μυών μετά από την πόση υδατικού αφεψήματος του *Sideritis clandestina* subsp. *cyllenea*.** *Ερευνητική εργασία, Πάτρα*.
- Μιχαηλίδης, Δ. 1997. **Από τον Ιπποκράτη στον Διοσκουρίδη.** *Εφημερίδα “Η Καθημερινή”*, 29/06/97, 5-6.
- Παληγογιάννη, Α.Π. 2007. **Μελέτη πτητικών συστατικών ελληνικών οίνων και αποσταγμάτων – Παραγωγή βιολειτουργικών οίνων με βάση φυτά του γένους *Sideritis*.** Διδακτορική Διατριβή, Αθήνα.
- Πάνου-Φιλοθέου, Ε., Φασούλας, Α., Bellenot, D.G. & Oger, J.M. 1997. **Φαρμακευτικά και Αρωματικά φυτά.** *Πολ. Τεχν. ΕΤΒΑ, Βιολογική Εταιρεία Κύπρου*, 354.
- Πιερρακέας, Α. 1971. **Πολύτιμα βιομηχανικά και αρωματικά φυτά.** *Αγροτικός Εκδοτικός Οίκος Σπύρος Σπύρου, Αθήνα*.
- Πολυσίου, Μ. (επιμέλεια) 2002. **Επενδυτικές δυνατότητες στον τομέα των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών στην Ελλάδα.** *Υ.Ε.Ο., Γ.Π.Α., Αθήνα*. 218.
- Σαρλής, Γ. 1994. **Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά.** *ΓΠΑ, Αθήνα*.
- Σκρουμπής, Β.Γ. 1979. **Επίδραση του σταδίου αναπτύξεως κατά τη συγκομιδή στην παραγωγή χλωρής δρόγης της μαντζουράνας.** *Αθήνα*.
- Σκρουμπής, Β.Γ. 1985. **Αρωματικά φυτά και αιθέρια έλαια.** *Εκδόσεις Offset, Γιαχούδη Ο.Ε., Θεσσαλονίκη*. 10-15, 27-32, 53-56, 64-136.

- Σουλελής, Χ.Ν. 2000. **Φλαβονοειδή και συγγενείς ομάδες φυτικών χρωστικών – χημική τους δομή και θεραπευτικές τους ιδιότητες.** *Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΑΠΘ.*
- Χατζιωάννου, Θ.Π. & Κουμπάρης, Μ.Α. 2003. **Ενόργανη Ανάλυση.** *Αθήνα.* 693-701.
- Χατζοπούλου, Α.Κ. 1962. **Ανατομική μελέτη ειδών του γένους Sideritis.** *Διδακτορική Διατριβή, Αθήνα.*

3. Ηλεκτρονική:

- http://aitheria-elea.blogspot.gr/2007/08/blog-post_4826.html
- <http://chimikoergastirio.blogspot.gr/2009/11/solid-phase-microextraction-spme.html>
- http://chimikoergastirio.blogspot.gr/2009/12/blog-post_03.html
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Pinene>
- <http://greekads.com/home/node/401>
- <http://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser.html>
- http://www.akspublication.com/paper05_jul-dec2007.htm
- <http://www.chemguide.co.uk/analysis/masspec/howitworks.html>
- <http://www.econews.gr/2012/05/10/rigani-kalliergeia/>
- <http://www.flavornet.org/flavornet.html>
- http://www.iama.gr/ethno/sideritis/Tsai_tou_vounou_top.htm
- <http://www.organicchem.org/oc1web/exp/carvone/carvonedes.html>
- <http://www.sigma-aldrich/supelco.com>
- www.chem.uoa.gr/courses/instrumental2/Ask08-GC.pdf
- [www.herbsociety.org/factsheets/Oregano and Majoram.pdf](http://www.herbsociety.org/factsheets/Oregano%20and%20Majoram.pdf)