



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

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

«Γεωγραφική διαφοροποίηση βοτάνων με την εφαρμογή της αέριας χρωματογραφίας, της φασματοσκοπίας υπερύθρου και της χημειομετρίας»



Αικατερίνη Γ. Κουτσογιάννη

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

Ταραντίλης Πέτρος, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α.

Αθήνα

Ιούλιος 2012



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

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

«Γεωγραφική διαφοροποίηση βοτάνων με την εφαρμογή της αέριας χρωματογραφίας, της φασματοσκοπίας υπερόθρου και της χημειομετρίας»

Αικατερίνη Γ. Κουτσογιάννη

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

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

Πολυσίου Μόσχος, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Παππάς Χρήστος, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α.

Αθήνα

Ιούλιος 2012



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

«Γεωγραφική διαφοροποίηση βοτάνων με την εφαρμογή της αέριας χρωματογραφίας, της φασματοσκοπίας υπέρυθρου και της χημειομετρίας»

Αικατερίνη Γ. Κουτσογιάννη

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

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

Πολυσίου Μόσχος, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Παππάς Χρήστος, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α.



«Τα βότανα είναι ο φίλος των θεραπευτών και ο έπαινος των μαγείρων»

Καρλομάγνος (747 – 814 μ.Χ.)

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής μου μελέτης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους με βοήθησαν και συνέβαλλαν σε αυτήν την προσπάθεια.

Πρώτα, ευχαριστώ τον Επίκουρο Καθηγητή Πέτρο Ταραντίλη, για την ανάθεση της εργασίας αυτής, δίνοντας μου την ευκαιρία να γίνω μέλος της ομάδας του εργαστηρίου Χημείας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και να ενασχοληθώ με ενδιαφέροντα και εποικοδομητικά θέματα. Τον ευχαριστώ επίσης για την επίβλεψη, τη στήριξη, τις πολύτιμες συμβουλές και τις διορθώσεις.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή και Διευθυντή του Εργαστηρίου Χημείας Μόσχο Πολυσιού και τον Επίκουρο Καθηγητή Χρήστο Παππά, για τη συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή και για το χρόνο που διέθεσαν στην αξιολόγηση και διόρθωση της εργασίας. Τον κ. Μόσχο Πολυσιού ευχαριστώ επίσης για τη διάθεση του εργαστηριακού εξοπλισμού, αλλά και για τα εποικοδομητικά σχόλια και τις σημαντικές παρατηρήσεις του καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής πορείας της εργασίας μου.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στον Δρ. Χαράλαμπο Κανάκη για τη συνεχή καθοδήγηση και υποστήριξη σε όλα τα στάδια εκπόνησης του πειράματος και συγγραφής της μελέτης μου και πάνω απ' όλα τον ευχαριστώ για την πολύ καλή συνεργασία μας.

Τις ευχαριστίες μου θα ήθελα ακόμα να εκφράσω στην κα Δήμητρα Δαφερέρα, Επιστημονικό Συνεργάτη, για το ενδιαφέρον που επέδειξε, την τεχνική υποστήριξη και τις χρήσιμες συμβουλές, καθώς επίσης και για το χρόνο που μου αφιέρωσε.

Θα ήταν παράλειψη να μην ευχαριστήσω τους υποψήφιους διδάκτορες κα Ειρήνη Αναστασάκη και κ. Ελευθέριο Πετράκη καθώς και όλους τους φοιτητές του εργαστηρίου για τη βοήθεια που μου παρείχαν όποτε τη χρειάστηκα, τη συνεργασία και για το ευχάριστο κλίμα μέσα στο οποίο εκπονήθηκε η εργασία αυτή.

Τέλος, ευχαριστώ πολύ την οικογένειά μου που με στήριξε με κάθε τρόπο στην προσπάθειά μου αυτή αλλά και σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής μελέτης αποτέλεσε η παραλαβή και η ανάλυση των αιθερίων ελαίων δύο σημαντικών βοτάνων της ελληνικής χλωρίδας, με σκοπό τη γεωγραφική διαφοροποίησή τους. Τα βότανα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η μέντα και το χαμομήλι, προερχόμενα από τρεις διαφορετικές περιοχές έκαστο. Μέσω της ανάλυσης, προσδιορίστηκαν ποιοτικά και ποσοτικά τα συστατικά των αιθερίων ελαίων και ακολούθησε η πιστοποίηση της γεωγραφικής προέλευσης των φυτών.

Η παραλαβή των αιθερίων ελαίων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της μικρό-απόσταξης με υδρατμούς και εκχύλισης με οργανικό διαλύτη, ενώ η ανάλυση με σύγχρονες τεχνικές ενόργανης ανάλυσης όπως η αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομέτρο μάζας και ανιχνευτή ιονισμού φλόγας και η φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier. Η γεωγραφική διαφοροποίηση των φυτών πραγματοποιήθηκε μέσω στατιστικής επεξεργασίας των αριθμητικών δεδομένων των χρωματογραφημάτων και των φασμάτων που λήφθηκαν με χρήση της κανονικής διαχωριστικής ανάλυσης.

Τα βότανα παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στα ποιοτικά και στα ποσοτικά τους χαρακτηριστικά ανάλογα με την περιοχή προέλευσής τους και έτσι ο προσδιορισμός της γεωγραφικής τους ένδειξης πραγματοποιήθηκε με ευκολία και ήταν επιτυχής.

Λέξεις κλειδιά:	Βότανα, Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, Μέντα, Χαμομήλι, Αιθέρια έλαια, Μικρό-απόσταξη με υδρατμούς εκχύλιση, Αέρια χρωματογραφία, Φασματοσκοπία υπερύθρου, Γεωγραφική διαφοροποίηση
----------------------------	---

ABSTRACT

This thesis is about extracting and analyzing the essential oils of two major aromatic herbs of the Greek flora, mint (*Mentha piperita* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.), in order to differentiate them geographically. Three different samples from three different regions were used, to ensure accurate results. The validation of the origins of each sample, took place after thorough analysis of their essential oils in both, quality and quantity.

The method used to carry out the extraction was micro-steam distillation and extraction with organic solvent (MSDE), whereas modern techniques of instrumental analysis were performed afterwards, such as gas chromatography (GC) in conjunction with a mass spectrometer (GC-MS) and a flame ionization detector (GC-FID) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). The final geographical differentiation emerged through examining the former results with the canonical discriminant analysis (CDA) statistical method.

The samples have found to have significantly different properties according to their origins, thus facilitating the whole differentiation process which was successfully terminated.

Key words:	Herbs, Aromatic and medicinal plants, <i>Mentha piperita</i> L., <i>Matricaria chamomilla</i> L., Essential oils, Micro-steam distillation extraction, Gas chromatography, Infrared spectroscopy, Geographical differentiation
-------------------	--

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
A 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
A 1.1. Ιστορικά στοιχεία	1
A 1.2. Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά	3
A 1.2.1. Η Μέντα (<i>Mentha piperita</i> L.)	5
A 1.2.2. Το χαμομήλι (<i>Matricaria chamomilla</i> L.)	6
A 2. ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ	9
A 2.1. Προέλευση αιθερίων ελαίων	9
A 2.2. Χημική σύσταση αιθερίων ελαίων	9
A 2.3. Παραλαβή αιθερίων ελαίων	14
A 2.3.1. Μικρό-απόσταξη με υδρατμούς εκχύλιση με οργανικό διαλύτη (MSDE)	15
A 2.4. Ανάλυση αιθερίων ελαίων	17
A 2.4.1. Αέρια χρωματογραφία (GC)	18
A 2.4.1.1. Αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (GC-FID)	20
A 2.4.1.2. Αέρια χρωματογραφία με φασματόμετρο μαζών (GC-MS)	21
A 2.4.2. Φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR)	22
A 2.4.3. Χημειομετρία	25
A 2.5. Ο ρόλος των αιθερίων ελαίων	25
A 2.6. Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή και σύσταση των αιθερίων ελαίων	28
A 3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	31
B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
B 1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	33
B 1.1. Φυτικό υλικό	33
B 1.2. Παραλαβή αιθερίου ελαίου με μικρό-απόσταξη με υδρατμούς και εκχύλιση με οργανικό διαλύτη (MSDE)	34
B 1.3. Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση αιθερίου ελαίου με αέρια χρωματογραφία	35

B 1.3.1. Ποιοτική ανάλυση με GC-MS	35
B 1.3.2. Ποσοτική ανάλυση με GC-FID	36
B 1.4. Φασματοσκοπική μελέτη με FT-IR	37
B 1.5. Χημειομετρία	38
B 2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	41
B 2.1. Ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των αιθερίων ελαίων	41
B 2.1.1. Χαρακτηριστικά αιθερίων ελαίων μέντας	41
B 2.1.2. Χαρακτηριστικά αιθερίων ελαίων χαμομηλιού	47
B 2.2. Γεωγραφική διαφοροποίηση βοτάνων με εφαρμογή αέριας χρωματογραφίας και χημειομετρίας	52
B 2.2.1. Γεωγραφική διαφοροποίηση μέντας με GC-FID και χημειομετρία	52
B 2.2.1.1. Ύψος κορυφών	53
B 2.2.1.2. Εμβαδόν κορυφών	56
B 2.2.2. Γεωγραφική διαφοροποίηση χαμομηλιού με GC-FID και χημειομετρία	59
B 2.2.2.1. Ύψος κορυφών	59
B 2.2.2.2. Εμβαδόν κορυφών	62
B 2.3. Μελέτη των φασμάτων IR των αιθερίων ελαίων	65
B 2.3.1. Φάσματα FT-IR αιθερίου ελαίου μέντας	65
B 2.3.2. Φάσματα FT-IR αιθερίου ελαίου χαμομηλιού	68
B 2.4. Γεωγραφική διαφοροποίηση βοτάνων με εφαρμογή φασματοσκοπίας υπερύθρου (FT-IR) και χημειομετρίας	70
B 2.4.1. Γεωγραφική διαφοροποίηση μέντας με FT-IR και χημειομετρία	71
B 2.4.2. Γεωγραφική διαφοροποίηση χαμομηλιού με FT-IR και χημειομετρία	74
B 3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	79
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	81
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	89
Κατάλογος Εικόνων	91
Κατάλογος Πινάκων	92
Κατάλογος Σχημάτων	95
Κατάλογος Συντμήσεων	99

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

A 1.1. Ιστορικά στοιχεία

Μια μεγάλη κατηγορία του φυτικού βασιλείου που κατέχει ιδιαίζουσα θέση ανάμεσα στους ανθρώπους όλων των λαών και όλων των εποχών είναι τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, ή αλλιώς τα βότανα. Αναμφίβολα, σε όλες τις ηπείρους, κάθε πολιτισμός διέθεσε πολύ χρόνο για την ανακάλυψη των βοτάνων και των ωφελειών τους στον άνθρωπο, στην κοινωνία και στη φύση γενικότερα. Το σύνολο αυτών των γνώσεων, κατά ένα αξιοθαύμαστο τρόπο, διέσχισε τις χιλιετηρίδες εμπλουτιζόμενο και διαφοροποιούμενο, χωρίς ποτέ να καταργείται στο σύνολό του.

Η αξία των βοτάνων διαφαίνεται από τη λατρεία τους σαν ιερά φυτά και από τη χρήση τους σαν φάρμακα από τον προϊστορικό άνθρωπο. Αρχικά η διαδικασία αυτή γινόταν ενστικτωδώς, με παρόμοιο τρόπο που τα ζώα αποφεύγουν τα δηλητηριώδη φυτά και επιλέγουν εκείνα που τα θρέφουν.

Οι Σουμέριοι, που ήταν ένας από τους αρχαιότερους λαούς του κόσμου, μόλις το 6.000 π.Χ. χάραξαν τις γνώσεις που είχαν αποκτήσει από τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά σε πλάκες αργίλου. Τους Σουμέριους ακολούθησαν οι Κινέζοι και οι Έλληνες.

Η παλαιότερη γραπτή αναφορά των βοτάνων βρίσκεται στην Κίνα. Η κινεζική φαρμακευτική χρονολογείται από το 4.000 π.Χ. Τότε γράφτηκε το πρώτο βιβλίο για τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, περιγράφοντας πολλά από αυτά που χρησιμοποιούνται και σήμερα (Κανταρτζής, 2003).

Οι Αιγύπτιοι επίσης έχουν μακρά παράδοση χρήσης βοτάνων καθώς χρησιμοποιούσαν τα αρωματικά φυτά και τα αιθέρια έλαιά τους, είτε για λόγους αισθητικής και θεραπευτικής, είτε για να αρωματίζουν την ατμόσφαιρα, ακόμα και ως συντηρητικά για τη μουμιοποίηση και τη βαλσάμωση των ζώων. Η χρήση αρωμάτων κατά την εποχή εκείνη αποδεικνύεται κι από το γεγονός ότι στις πυραμίδες της Αιγύπτου βρέθηκαν ξηρά (αφυγραθέντα) αρώματα (Σκρουμπής, 1985).

Αυτοί που κληρονόμησαν τις αιγυπτιακές γνώσεις και τις ανήγαγαν στο πιο υψηλό τους επίπεδο ήταν οι αρχαίοι Έλληνες και Ρωμαίοι. Χρησιμοποιούσαν όλα σχεδόν τα

γνωστά αρωματικά φυτά σαν αρτύματα (μπαχαρικά) που ήταν αναπόσπαστο τμήμα της ζωής τόσο των πλουσίων, όσο και των απλών ανθρώπων. Αρωματικά φυτά χρησιμοποιούσαν επίσης για το αρωμάτισμα των κρασιών, ακριβά δε αρτύματα ήταν πολύ επιθυμητά δώρα.

Εξάλλου οι θεραπευτικές ιδιότητες πολλών από τα φυτά αυτά ήταν γνωστές στην αρχαιότητα. Ο πατέρας της Ιατρικής Ιπποκράτης (460-370 π.Χ.) πίστευε ότι ο γλυκάνισος σταματούσε το φτάρνισμα, ο κοριάνδρος προλάβαινε τις στομαχικές διαταραχές και βοηθούσε στον ύπνο, το θυμάρι ήταν αποχρεμπτικό, η μαντζουράνα και το θρούμπι περιόριζαν την έκκριση της χολής και η μέντα σταματούσε τον εμετό (Σκρουμπής, 1985).

Οι Έλληνες επίσης, ήταν αυτοί που πρώτοι περιέγραψαν τα βότανα τα οποία ήταν γνωστά στη δύση. Δύο βιβλία που έχουν επιζήσει μέχρι σήμερα έχουν τίτλους «*Περί φυτών ιστορίας*» και «*Περί φυτών αιτίαι*» και γράφτηκαν από τον Θεόφραστο (372-287 π.Χ.). Τα βιβλία αυτά στηρίζονται στα γραπτά του φιλόσοφου Αριστοτέλη (384-322 π.Χ.) (Κανταρτζής, 2003). Αργότερα, ο Διοσκουρίδης ο Αναζαρβέας (40-90 μ.Χ.) θα περιγράψει στο περίφημο σύγγραμμά του «*Περί ύλης ιατρικής*» τις θεραπευτικές ιδιότητες 600 περίπου φυτών (Σκρουμπής, 1985).

Στο τέλος του 10^{ου} αιώνα οι καλόγεροι του Βενεδικτίνου μοναστηρίου του «Αγίου Γκαλλ» στην Ελβετία, ιδρύουν τον πρώτο γνωστό σε μας κήπο αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών (Κανταρτζής, 2003).

Ο μεσαίωνας δεν ευνόησε γενικά τη επιστημονική πρόοδο ούτε και την ανάπτυξη των γνώσεων των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών, αφού ο σκοταδισμός σε συνδυασμό με τις προλήψεις και την άγνοια που επικρατούσαν απέδωσαν μαγικές ιδιότητες σε αυτά και η βοτανολογία συχνά συνδεόταν με τη μαγεία και τη μαντεία και καταδιωκόταν.

Η αναγέννηση όμως είναι εκείνη που, με την αναγνώριση του πειράματος και της άμεσης παρατήρησης και με την ανάπτυξη των μεγάλων ταξιδιών προς τις Ινδίες και την Αμερική, θα αποβεί η αρχή μίας νέας περιόδου στη γνώση των φυτών και των ιδιοτήτων τους.

Χαρακτηριστικό είναι ότι τα έργα των αρχαίων αποτέλεσαν τη βάση για πολλές μεταγενέστερες μελέτες. Τον 16^ο αιώνα και συγκεκριμένα το 1597 ο Άγγλος βοτανολόγος John Gerard (1545-1611 μ.Χ.) έγραψε το βιβλίο «*Γενική Ιστορία των Φυτών*», ενώ τον 17^ο αιώνα και συγκεκριμένα το 1653 ο Άγγλος βοτανικός αστρολόγος

Nicholas Culpeper (1616-1654 μ.Χ.) επηρεασμένος από το έργο του Διοσκουρίδη κατέγραψε τα στοιχεία του κάθε φυτού στο βιβλίο του «Πλήρης Βοτανολογία».

Έκτοτε, όλο και περισσότεροι μελετητές ασχολούνται με τα βότανα και τις πολλαπλές χρήσεις αυτών μέχρι τις μέρες μας, όπου η πρόοδος της τεχνολογίας και της επιστήμης, μας έχει επιτρέψει να μελετήσουμε όσο το δυνατόν πληρέστερα τις ιδιότητές τους. Έτσι, συνεχώς ανακαλύπτονται νέες χρήσεις αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών στη βιομηχανία καλλυντικών και τροφίμων, αλλά και στην παρασκευή φαρμάκων.

A 1.2. Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά

Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά ταξινομούνται σε 50 περίπου οικογένειες. (Abietaceae, Apiaceae, Asteraceae ή Compositae, Geraniaceae, Iridaceae, Lamiaceae ή Labiatae, Lauraceae, Myrtaceae, Pinaceae, Rosaceae, Rutaceae κ.λπ.). Μεταξύ των δύο κατηγοριών δεν υφίσταται σαφής διάκριση καθώς πολλά από αυτά εμφανίζουν και τις δυο ιδιότητες.

Συνεπώς, με τον όρο «**αρωματικά (aromatic) φυτά**» νοείται μία μεγάλη ομάδα ειδών του φυτικού βασιλείου με κοινό χαρακτηριστικό το ότι περιέχουν στα διάφορα μέρη τους (φύλλα, άνθη κ.λπ.) αιθέρια έλαια, ουσίες δηλαδή που όταν ελευθερωθούν αφήνουν οσμή (ANKO A. E., 2000).

Με τον όρο: «**φαρμακευτικό (medicinal, therapeutical) φυτό**» καλείται κάθε φυτό που περιέχει ένα ή περισσότερα δραστικά συστατικά, τα οποία έχουν την ικανότητα να προλάβουν, να ανακουφίσουν ή να θεραπεύσουν ασθένειες (Σαρλής, 1994).

Επιπρόσθετα, με τον όρο «**βότανα (herbs)**» νοούνται τα φυτά που με την ευρύτερη έννοια έχουν ευεργετική δράση στον άνθρωπο και διακινούνται από τον Μεσαίωνα μέχρι σήμερα σε παραδοσιακά εμπορικά καταστήματα.

Η χρησιμοποίηση του όρου «**αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά**» δηλώνει ότι όπως τα αρωματικά φυτά διαθέτουν φαρμακευτικές ιδιότητες, έτσι και τα φαρμακευτικά φυτά είναι συνήθως αρωματικά, με πολύ λίγες εξαιρέσεις (π.χ. βαλσαμόχορτο, δακτυλίτιδα, μπελαντόνα κ.ά.).

Σκοπός της καλλιέργειας των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών είναι η παραγωγή αιθέριων ελαίων και ξηρής δρόγης. Τα αιθέρια έλαια χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην αρωματοποιία, τη σαπωνοποιία, τη ζαχαροπλαστική, την οδοντοκρεμοποιία, τη βιομηχανία τροφίμων, τη φαρμακευτική κ.λπ. Οι ξηρές δρόγες χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ροφημάτων, σαν αρτύματα ή καρκεύματα

φαγητών και σε ειδικές περιπτώσεις για τη λήψη ορισμένων φαρμακευτικών ουσιών όπως είναι τα αλκαλοειδή, τα φλαβονοειδή, οι γλυκοζίτες κ.λπ. (Σκρουμπής, 1985).

Όλες οι παραμεσόγειες χώρες είναι εξαιρετικά πλούσιες σε αυτοφυή αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά πολλά από τα οποία καλλιεργούνται και συστηματικά. Στην Ελλάδα τα αυτοφυή αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά έχουν χρησιμοποιηθεί, όπως έχει ειπωθεί, από την αρχαιότητα. Η χώρα μας, λόγω της πλούσιας χλωρίδας της και των ευνοϊκών κλιματολογικών και εδαφολογικών συνθηκών, ευνοεί ιδιαίτερα την ανάπτυξη των φυτών αυτών που δίνουν προϊόντα εξαιρετικής ποιότητας και έτσι προσφέρεται για την επιτυχή καλλιέργειά τους.

Έτσι, η Ελλάδα σήμερα διαθέτει ορισμένα από τα πλέον εξαιρετικά αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά. Τα κυριότερα από αυτά είναι: **ο βασιλικός** (*Ocimum basilicum* L.), **το γιασεμί** (*Jasminum grandiflorum* L.), **ο γλυκάνισος** (*Pimpinella anisum* L.), **η δάφνη** (*Laurus nobilis* L.), **το δενδρολίβανο** (*Rosmarinus officinalis* L.), **ο δίκταμος** (*Origanum dictamnus* L.), **τα εσπεριδοειδή** (*Citrus* sp. *Fortunella*), **ο ευκάλυπτος** (*Eucalyptus* spp.), **το θυμάρι** (*Thymus vulgaris* L.), **η κάππαρη** (*Capparis spinosa* L.), **ο κορίανδρος** (*Coriandrum sativum* L.), **ο κρίνος** (*Lilium candidum* L.), **ο κρόκος** (*Crocus sativus* L.), **το κύμινο** (*Cuminum cyminum* L.), **η λεβάντα** (*Lavandula* sp.), **ο μάραθος** (*Foeniculum vulgare* Mill.), **η μαντζουράνα** (*Origanum majorana* L.), **το μελισσόχορτο** (*Melissa officinalis* L.), **η μέντα** (*Mentha piperita* L.), **η ρίγανη** (*Origanum vulgare* L.), **η σάλβια σκλάρεα** (*Salvia sclarea* L.), **το σπάρτο** (*Spartium junceum* L.), **η τριανταφυλλιά** (*Rosa damascena* Mill.), **το τσάι του βουνού** (*Sideritis* sp.), **ο ύσσωπος** (*Hyssopus officinalis* L.), **το φασκόμηλο** (*Salvia officinalis* L.), **η φλαμουριά** (*Tilia cordata* Mill.) και **το χαμομήλι** (*Matricaria chamomilla* L.) (Σκρουμπής, 1988 - Σκουλά & Καμενόπουλος, 2000).

Τα κυριότερα εμπορικά αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά στη χώρα μας είναι: ο βασιλικός, ο γλυκάνισος, η δάφνη, ο κορίανδρος, το κύμινο, η λεβάντα, ο μάραθος, το μελισσόχορτο, η μέντα και ο δυόσμος, η ρίγανη, το τσάι του βουνού, το φασκόμηλο, το χαμομήλι και τέλος τα τυπικά προϊόντα κάποιων περιοχών της Ελλάδας όπως η μαστίχα της Χίου, ο κρόκος της Κοζάνης και ο δίκταμος της Κρήτης (Σκουλά κ.ά., 2000).

Τέλος, τα κυριότερα καλλιεργούμενα είδη της Ελλάδας είναι: ο γλυκάνισος, ο δίκταμος, ο κρόκος, ο μάραθος, η μέντα, η ρίγανη, το τσάι του βουνού (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων (Υπ.Α.Α.Τ), 2007).

Στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη μελετήθηκαν δύο από τα κυριότερα βότανα της χώρας μας, η μέντα και το χαμομήλι, η περιγραφή των οποίων ακολουθεί.

A 1.2.1. Η Μέντα (*Mentha piperita* L.)

Η μέντα είναι από την αρχαιότητα ακόμη, ένα από τα πιο γνωστά στον κόσμο αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά. Από τον Θεόφραστο αναφέρεται ως «Μίνθη η πιπερώδης». Κατά τη μυθολογία το όνομα της το πήρε από τη Μίνθη, που ήταν μια νύμφη του Άδη, την οποία αγάπησε ο Πλούτων και η Περσεφόνη από ζηλοτυπία μεταμόρφωσε σε φυτό. Ως πατρίδα της μέντας θεωρούνται οι παραμεσόγειες χώρες και η Κίνα, αν και συγγενή αυτοφυή είδη έχουν βρεθεί και σε πολλές άλλες χώρες. Καλλιεργείται σε πολλές χώρες της Ευρώπης, στην Αμερική, Κίνα, Αυστραλία, Ινδία κ.ά. (Κουτσός, 2006).

Σαν μέντα αναφέρονται από το λαό αρκετά φυτά, τα περισσότερα από τα οποία δεν έχουν καμία σχέση με την πραγματική μέντα που είναι το φυτό Μέντα η πιπερώδης (*Mentha piperita* L.) (Σκρουμπής, 1985). Ανήκει στην οικογένεια των Χειλανθών (Labiatae ή Lamiales), είναι φυτό πολυετές και έχει τετραγωνικό βλαστό χρώματος σκούρου ιώδους. Τα φύλλα είναι ωοειδή - λογχοειδή, έχουν σκούρο πράσινο χρώμα, εκφύονται αντίθετα ανά δύο και εναλλάσσονται σταυροειδώς. Το ύψος των ανθοφόρων βλαστών, που είναι πολλοί ανά φυτό, φθάνει τα 60-70 εκ. Τα άνθη είναι μικρά, ιώδους χρώματος, εκφύονται κατά μήκος των ανθοφόρων βλαστών και σχηματίζουν ταξιανθίες στάχυος (Εικόνα Α 1.1).

Μπορεί να ευδοκιμήσει σε ποικιλία κλιμάτων και εδαφών, με άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 17 °C. Είναι πολύ απαιτητική σε νερό, αλλά όταν αρδεύεται τακτικά αντέχει και στις υψηλές θερμοκρασίες του καλοκαιριού. Τέλος, είναι φυτό μακροήμερο, χρειάζεται δηλαδή τουλάχιστον 14 ώρες φωτισμού για να ανθήσει.

Η μέντα καλλιεργείται κυρίως για την παραγωγή του αιθερίου ελαίου της, που έχει μεγάλη ζήτηση για ποικίλες χρήσεις. Χρησιμοποιείται στην καραμελοποιία, την ποτοποιία, τη ζαχαροπλαστική, την αρωματοποιία, τη βιομηχανία καλλυντικών και τη βιομηχανία φαρμάκων. Έχει αντιμικροβιακές, αναισθητικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και είναι ικανό να καταπραΰνει δερματικούς ερεθισμούς, ηλιακά εγκαύματα, ερεθισμό στο λαιμό, ρινική συμφόρηση, πυρετό και μυϊκούς πόνους (Kumar, Mishra, Malik & Satya, 2012). Η απόδοση του φυτού σε αιθέριο έλαιο κυμαίνεται από 0,1 έως 1,0 % (<http://www.essentialoils.co.za/essential-oils/peppermint.htm>).

Οι ξηρές δρόγες του φυτού βρίσκουν χρήση στη μαγειρική ως καρυκεύματα και τα αφηνήματα της δρόγης της μέντας έχουν ιδιαίτερα ευχάριστο άρωμα και καταπολεμούν το κοινό κρυολόγημα και τις ελαφρές γαστρεντερικές ανωμαλίες (Σκρουμπής, 1985).



Εικόνα Α 1.1. Μέντα (*Mentha piperita* L.)

A 1.2.2. Το χαμομήλι (*Matricaria chamomilla* L.)

Το χαμομήλι είναι γνωστό και ως χαμαίμηλο, χαμομηλιά, λουλούδι του Αγ. Γεωργίου, παναϊρίτσα κ.λπ. Η ονομασία χαμαίμηλο προέρχεται από τις Ελληνικές λέξεις “χαμαί” “μήλο”, δηλαδή μήλο του εδάφους και ορισμένοι πιστεύουν πως το δεύτερο συνθετικό του ονόματός του, το πήρε από το άρωμά του (Κουτσός, 2006). Οι φαρμακευτικές του ιδιότητες ήταν γνωστές από την αρχαιότητα και τις ανέφεραν οι αρχαίοι Αιγύπτιοι, Έλληνες και Ρωμαίοι. Προέρχεται από τη Ν. Ευρώπη, όπου αυτοφύεται ως ζιζάνιο των καλλιεργειών. Στη χώρα μας είναι ιδιαίτερα διαδεδομένο καθώς αυτοφύεται σε όλα σχεδόν τα μέρη σε καλλιεργούμενους ή χέρσους τόπους. Καλλιεργείται σε πολλές χώρες της εύκρατης ζώνης, ενώ στην Ελλάδα καλλιεργείται σε μικρή έκταση, κυρίως στο Αγρίνιο, την Καρδίτσα και το Κιλκίς.

Είναι μονοετές φυτό που ανήκει στην οικογένεια των Αστεροειδών ή Σύνθετων (Asteraceae ή Compositae). Ο βλαστός του είναι λείος, όρθιος, πολύκλαδος, ύψους 20-60 εκ. και τα φύλλα του είναι λεπτά, πολυσχιδή, πτεροειδή πράσινου χρώματος. Τα άνθη, που λέγονται και κεφαλίδες, έχουν έντονο άρωμα και το σχήμα τους είναι το χαρακτηριστικό της μαργαρίτας. Είναι μικρά με λευκά αργυρώδη πέταλα και κίτρινο ημισφαιρικό κέντρο, η διάμετρός τους είναι 10-17 χιλ. και εκφύονται μεμονωμένα στην κορυφή κάθε βλαστιδίου (Εικόνα Α 1.2).

Το χαμομήλι παρόλο που αυτοφύεται σε όλα τα μέρη της Ελλάδας, ευδοκimei καλύτερα σε πεδινές περιοχές με εύκρατο κλίμα, είναι φυτό ξηρικό αλλά η κανονική εδαφική υγρασία ευνοεί την ανάπτυξή του. Όταν ένα φυτό χαμομηλιού έχει ελεύθερο χώρο γύρω του, η διακλάδωσή του είναι πολύ πλούσια και αρχίζει σχεδόν από τη βάση του βλαστού.

Το μέρος του φυτού που χρησιμοποιείται είναι οι κεφαλίδες του άνθους, οι οποίες πωλούνται ως ξηρή δρόγη ή χρησιμοποιούνται για την παραλαβή του αιθερίου ελαίου. Το αφέψημα του φυτού καθώς και ειδικά σκευάσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για εξωτερικές χρήσεις σε ερεθισμούς του δέρματος και εκζέματα και για εσωτερικές χρήσεις σε ερεθισμούς του στόματος, του φάρυγγα, του πεπτικού και αναπνευστικού συστήματος καθώς και σε ελαφρές περιπτώσεις αϋπνίας, αφού καταπραΰνει τα νεύρα. Ακόμα, είναι κατάλληλο για πονοκεφάλους, πόνους των δοντιών και των αυτιών και τονώνει το πρόσωπο, ειδικά γύρω από την περιοχή των ματιών. Τέλος, έχει αντιπυρετική, διουρητική και αντιαλλεργική δράση (Σκρουμπής, 1985 - Κουτσός, 2006).

Το αιθέριο έλαιο του χαμομηλιού χρησιμοποιείται στην αρωματοθεραπεία, την αρωματοποιία, τη βιομηχανία καλλυντικών καθώς και τη φαρμακευτική βιομηχανία. Η απόδοση του αιθερίου ελαίου του φυτού είναι συνήθως χαμηλή και κυμαίνεται από 0,2 έως 0,4 % (<http://www.essentialoils.co.za/essential-oils/camomile.htm>).



Εικόνα Α 1.2. Χαμομήλι (*Matricaria chamomilla* L.)

A 2. ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ

A 2.1. Προέλευση αιθερίων ελαίων

Τα αιθέρια έλαια είναι οργανικές πτητικές χημικές ενώσεις σε υγρή μορφή, με ελαιώδη εμφάνιση και χημική σύσταση διάφορη κάθε φορά. Δεδομένου ότι είναι πτητικές, τα μόριά τους εξατμίζονται εύκολα και διασκορπίζόμενα στον ατμοσφαιρικό αέρα, έρχονται σ' επαφή με τα όργανα όσφρησης, τα οποία και διεγείρουν. Προκαλούν, έτσι, μία συνήθως ευχάριστη αίσθηση, χαρακτηριστική για κάθε είδος φυτού, που αντιστοιχεί στο χαρακτηριστικό για το κάθε είδος άρωμα (Σαρλής, 1994).

Συνίστανται από πολλές χημικές ουσίες που μπορούν να φτάσουν τις 150, ενώ τα υπερσχύοντα συστατικά τους καθορίζουν το χαρακτήρα τους. Τα υπερσχύοντα αυτά συστατικά είναι δυνατόν να αποτελούν έως και το 85% της συνολικής συγκέντρωσης του αιθερίου ελαίου, ενώ τα υπόλοιπα εμφανίζονται ως ίχνη (Burt, 2004).

Τα αιθέρια έλαια παραλαμβάνονται από φυτά που αναπτύσσονται σε θερμές περιοχές του πλανήτη, όπως είναι η περιοχή της Μεσογείου και οι τροπικές χώρες και σε συνθήκες περιβάλλοντος (20 - 30 °C και 0,1 MPa), είναι υγρά και πτητικά. Πρόκειται για διαυγείς και συνήθως άχρωμες, φυσικές και πολύπλοκες ενώσεις, που είναι διαλυτές σε λίπη και οργανικούς διαλύτες και με πυκνότητα, κατά κύριο λόγο, μικρότερη του νερού. Διακρίνονται για το δυνατό άρωμά τους και σχηματίζονται από τα αρωματικά φυτά ως δευτερογενείς μεταβολίτες. Η σύνθεση τους μπορεί να γίνει σε όλα τα τμήματα του φυτού, όπως τα άνθη, τα φύλλα, τους σπόρους, τα φρούτα, τις ρίζες, το φλοιό, το μίσχο και τα κλαδιά. Αποθηκεύονται σε κοιλότητες, πόρους και κύτταρα της επιδερμίδας και το τρίχωμα, όπου απαντώνται με τη μορφή σταγονιδίων (Bakkali, Averbek, Averbek & Idaomaer, 2008 - Wilson, 2003).

A 2.2. Χημική σύσταση αιθερίων ελαίων

Τα αιθέρια έλαια είναι πολυσύνθετα μίγματα οργανικών ουσιών που η σύνθεσή τους διαφέρει στα διάφορα είδη ή ποικιλίες φυτών. Το χαρακτηριστικό άρωμα του κάθε αιθερίου ελαίου είναι η συνισταμένη όλων των συστατικών του, από τα οποία μερικά παίζουν σημαντικό ρόλο στον τελικό τόνο αυτού. Κατά συνέπεια, η παρουσία ενός συστατικού στα αιθέρια έλαια σε αναλογία 1% ή μικρότερη προσδίδει σ' αυτό, το χαρακτηριστικό άρωμα (Σκρουμπής, 1985).

Από χημική άποψη, τα φυτικά αιθέρια έλαια αποτελούνται κυρίως από μίγματα λιπιδίων που ονομάζονται τερπένια, όμως σε μερικά είδη φυτών στη σύνθεση των αιθερίων ελαίων τους, συμμετέχουν και παράγωγα φαινυλοπροπανίων και θειούχες ή άζωτούχες ενώσεις.

Τα παράγωγα των φαινυλοπροπανίων μπορεί να είναι αλδεΐδες (π.χ. κινναμαλδεΐδη), αλκοόλες (π.χ. αλκοόλη του κινναμικού οξέος), φαινόλες (π.χ. ευγενόλη), μεθοξύ-παράγωγα (π.χ. ελεμικίνη), μεθυλοδιοξύ-παράγωγα (π.χ. μυριστική, σαφρόλη). Η βιοσύνθεση τους συνήθως ακολουθεί διαφορετικά μονοπάτια από την αντίστοιχη των τερπενίων, αλλά ορισμένες φορές μπορεί να ακολουθούν και το ίδιο (Bakkali et al., 2008).

Οι ενώσεις που περιέχουν άζωτο ή θείο είναι χαρακτηριστικοί δευτερογενείς μεταβολίτες για κάποια είδη ή γένη φυτών και αν και απαντώνται σε μικρές συγκεντρώσεις, είναι υπεύθυνες για την χαρακτηριστική γεύση-οσμή του ελαίου (Bakkali et al., 2008).

Τα τερπένια είναι μικρά οργανικά μόρια που εμφανίζουν τεράστια ποικιλομορφία ως προς τη δομή τους. Σήμερα γνωρίζουμε τη δομή χιλιάδων τερπενίων, μερικά είναι υδρογονάνθρακες, άλλα περιέχουν άτομα οξυγόνου, άλλα είναι μόρια ανοικτής αλυσίδας και άλλα περιλαμβάνουν δακτυλίους (McMurry, 2008).

Όλα τα τερπένια σχετίζονται μεταξύ τους, ανεξάρτητα με τις δομικές διαφορές τους. Ο μεγάλος ερευνητής Leopold Ruzicka (1887-1976), ο οποίος τιμήθηκε το 1939 με το βραβείο Nobel για τις εργασίες του στον τομέα των τερπενίων, διατύπωσε το 1953 τον «κανόνα του ισοπρενίου», κατά τον οποίο όλα τα τερπένια είναι μόρια με δομή πολλαπλάσια της μονάδας του ισοπρενίου (2-μεθυλο-1,3-βουταδιένιο). Ο άνθρακας 1, ονομάζεται κεφαλή της ισοπρενικής μονάδας, ενώ ο άνθρακας 4 θεωρείται η ουρά της. Οι μονάδες του ισοπρενίου στα μόρια των τερπενίων συνδέονται «κεφαλή - ουρά» και η αρχικά σχηματιζόμενη δομή μπορεί στη συνέχεια, με διάφορες ενζυματικές πορείες, να αναδιαταχθεί με αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας ποικιλίας σκελετών με τον ίδιο αριθμό ατόμων άνθρακα.

Τα τερπένια ταξινομούνται ανάλογα με τον αριθμό των ισοπρενικών μονάδων που περιέχουν. Έτσι, τα μονοτερπένια είναι ενώσεις με 10 άτομα άνθρακα και βιοσυντίθενται από δύο μονάδες ισοπρενίου, τα σεσκιτερπένια έχουν 15 άτομα άνθρακα που προέρχονται από τρία μόρια ισοπρενίου κ.λπ. (Πίνακας Α 2.1).

Πίνακας Α 2.1. Ταξινόμηση των τερπενίων.

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

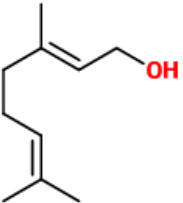
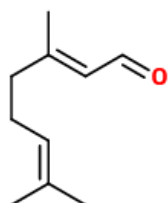
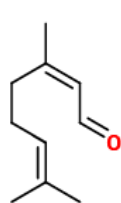
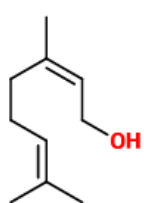
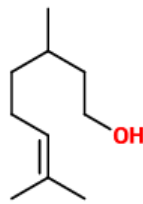
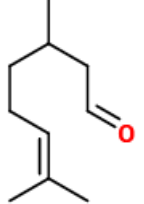
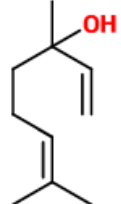
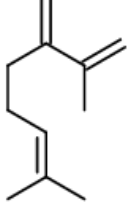
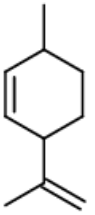
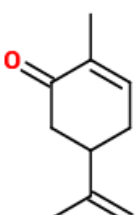
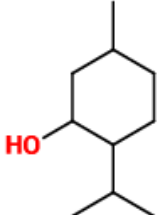
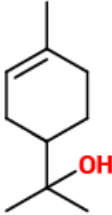
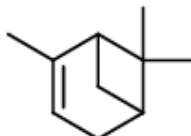
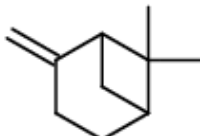

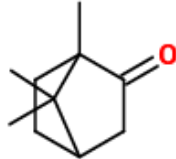
Τα μονό- και τα σεσκιτερπένια απαντούν κυρίως στα φυτά και αποτελούν τα σημαντικότερα συστατικά των αιθερίων ελαίων, ενώ τα υψηλότερης τάξης τερπένια απαντούν τόσο στα φυτά όσο και στα ζώα και πολλά παρουσιάζουν αξιόλογη βιολογική δραστηριότητα.

Πολλά κοινά ονόματα τερπενίων προκύπτουν από το όνομα του φυτού, από το οποίο απομονώνονται π.χ. γερανιόλη από το έλαιο του γερανιού, λιμονένιο από το έλαιο του λεμονιού και των εσπεριδοειδών, μενθόλη από το έλαιο της μέντας, καμφορά από το καμφορόδεντρο κ.λπ.

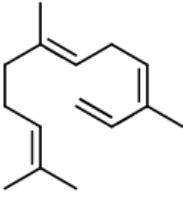
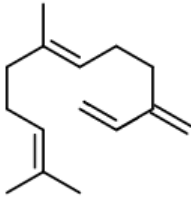
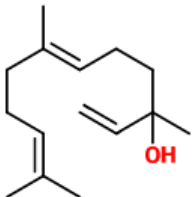
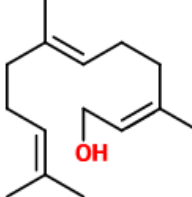
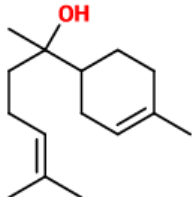
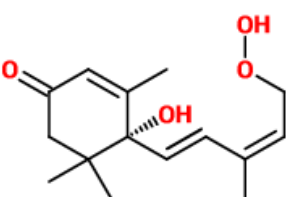
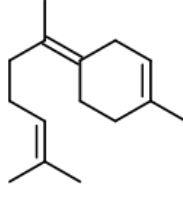
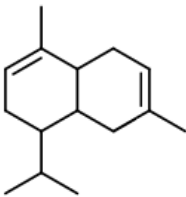
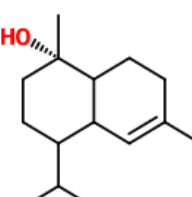
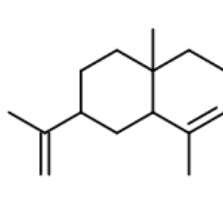
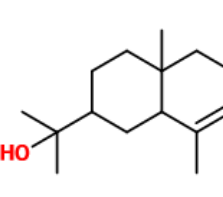
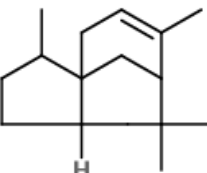
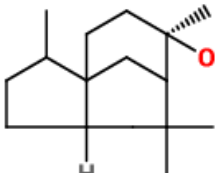
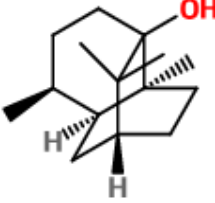
Τα μονοτερπένια διακρίνονται ανάλογα με το χημικό τους τύπο σε άκυκλα, μονοκυκλικά και δικυκλικά. Σύμφωνα με τον κανόνα του ισοπρενίου, όλες οι οικογένειες των μονοτερπενίων προέρχονται από τη γερανιόλη είτε με απευθείας χημικές μετατροπές είτε με κυκλοποιήσεις ενδιάμεσων καρβοκατιόντων. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα ενώσεων, που ανήκουν στις διάφορες τάξεις των μονοτερπενίων, φαίνονται στο Σχήμα Α 2.1.

Τα σεσκιτερπένια ταξινομούνται ανάλογα με τον αριθμό των δακτυλίων που έχει ο συντακτικός τους τύπος σε άκυκλα, μονοκυκλικά, δικυκλικά και τρικυκλικά και έχουν μητρική ένωση τον πυροφωσφορικό εστέρα της φαρνεσόλης. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα των παραπάνω κατηγοριών των σεσκιτερπενίων φαίνονται στο Σχήμα Α 2.2.

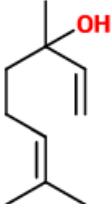
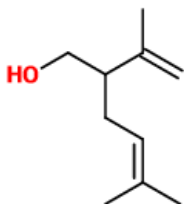
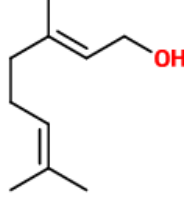
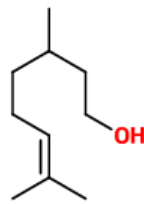
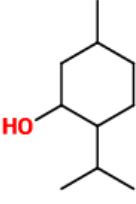
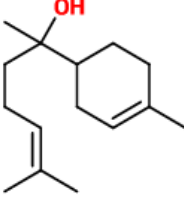
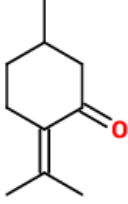
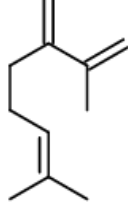
Τέλος, μερικά από τα μονοτερπένια που αποτελούν κοινά συστατικά των αιθερίων ελαίων φαίνονται στο Σχήμα Α 2.3.

ΑΚΥΚΛΑ ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΑ			
			
γερανιόλη	γερανιάλη ή α-κιτράλη	νεράλη ή β-κιτράλη	νερόλη
			
κιτρονελόλη	κιτρονελάλη	λιναλοόλη	μυρκένιο
ΜΟΝΟΚΥΚΛΙΚΑ ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΑ			
			
λεμονένιο	καρβόνη	μενθόλη	τερπινεόλη
ΔΙΚΥΚΛΙΚΑ ΜΟΝΟΤΕΡΠΕΝΙΑ			
			
α-πινένιο	β-πινένιο	3-θουγένιο	καμφορά

Σχήμα Α 2.1. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα ενώσεων των διαφόρων τάξεων μονοτερπενίων.

ΑΚΥΚΛΑ ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ			
 α-φαρνεσένιο	 β-φαρνεσένιο	 νερολιδόλη	 (Z,E)-φαρνεσόλη
ΜΟΝΟΚΥΚΛΙΚΑ ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ			
 α-μπιζαμπολόλη	 αμπσικισικό οξύ	 γ-μπιζαμπολένιο	
ΔΙΚΥΚΛΙΚΑ ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ			
 α-καδινένιο	 α-καδινόλη	 α-σελινένιο	 α-ευδεσμόλη
ΤΡΙΚΥΚΛΙΚΑ ΣΕΣΚΙΤΕΡΠΕΝΙΑ			
 κεδρένιο	 κεδρόλη	 πατσουλόλη	

Σχήμα Α 2.2. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα ενώσεων των διαφόρων τάξεων σесκιτερπενίων.

 λιναλοόλη	 λεβαντουλόλη	 γερανιόλη	 κιτρονελόλη
Έλαιο λεβάντας		Έλαιο τριαντάφυλλων	
 μενθόλη	 α-μπιζαμπολόλη	 πιπεριτόνη	 μυρκένιο
Έλαιο μέντας	Έλαιο χαμομηλιού	Έλαιο ευκαλύπτου	Έλαιο δάφνης

Σχήμα Α 2.3. Κοινά συστατικά των αιθερίων ελαίων.

Α 2.3. Παραλαβή αιθερίων ελαίων

Η παραλαβή των αιθερίων ελαίων (πηητικά συστατικά) από τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά μπορεί να πραγματοποιηθεί με τους εξής τρόπους: απόσταξη, εκχύλιση και με τη μηχανική μέθοδο (σύνθλιψη). Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι η απόσταξη (distillation), η οποία βασίζεται στη διαφορά του σημείου ζέσεως και της τάσης ατμών των συστατικών ενός διαλύματος και η εκχύλιση (extraction), η οποία βασίζεται στην κατανομή μιας ουσίας μεταξύ δύο φάσεων, που πρακτικά δεν αναμειγνύονται. Οι κυριότερες τεχνικές τους είναι οι ακόλουθες:

- Τεχνικές απόσταξης:
 1. Απόσταξη με υδρατμούς (Steam ή Hydro Distillation, SD ή HD), με χρήση συσκευής τύπου Clevenger.
 2. Μικρο-απόσταξη με υδρατμούς εκχύλιση με οργανικό διαλύτη (Micro-Steam Distillation Extraction, MSDE), με χρήση συσκευής τύπου Likens-Nickerson.
 3. Απόσταξη με κενό (Vacuum Head Space Distillation, VHSD).
 4. Απομόνωση από το χώρο πάνω από το φυτό (Head Space, HS).

- Τεχνικές εκχύλισης:
 1. Απλή εκχύλιση σε «θερμοκρασία δωματίου» ή «εν θερμώ», με ή χωρίς ανάδευση.
 2. Εκχύλιση σε συσκευή Soxhlet (θέρμανση).
 3. Εκχύλιση με διαχωριστική χοάνη (Separation funnel).
 4. Εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους (Ultra Sound Assisted Extraction, USE).
 5. Εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα (Microwave Assisted Extraction, MAE).
 6. Μικρό-εκχύλιση στερεής φάσης (Solid Phase Micro-Extraction, SPME).
 7. Εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά (Super Critical Liquids, SCL).

Όλες οι παραπάνω τεχνικές παρουσιάζουν κατά την αξιολόγησή τους πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Ωστόσο, οι κλασικές μέθοδοι απομόνωσης των πτητικών συστατικών στα οποία οφείλεται το άρωμα των φυτών είναι η απόσταξη με υδρατμούς και η εκχύλιση με διαλύτη.

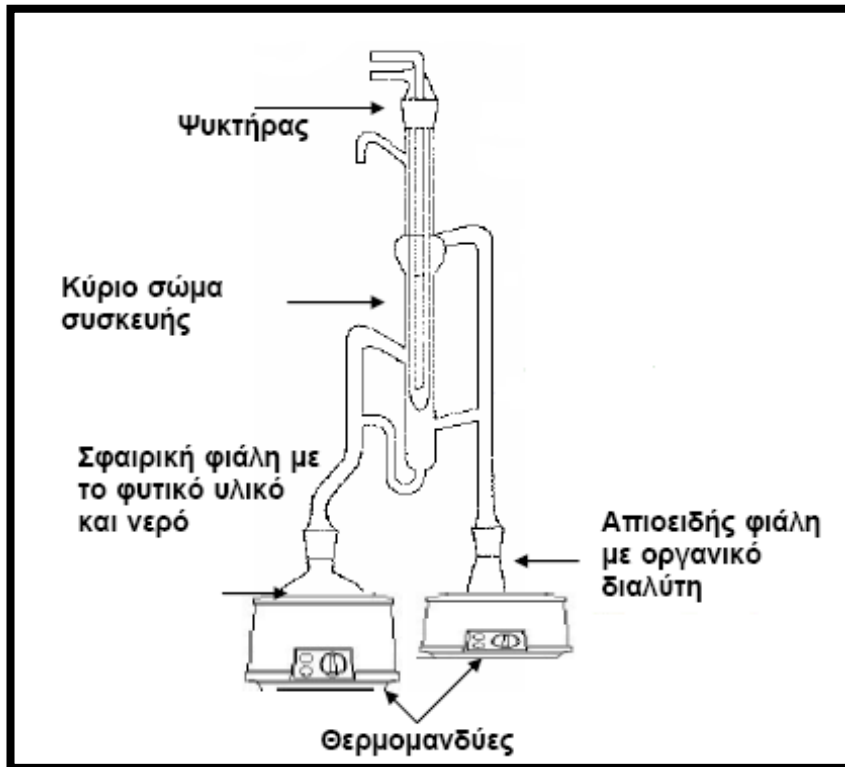
Ένα βασικό μειονέκτημα των μεθόδων αυτών είναι πολλές φορές, η δημιουργία συστατικών τα οποία δεν αντιπροσωπεύουν το πραγματικό άρωμα του φυτού. Ευαίσθητες ενώσεις μπορούν να καταστραφούν κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της απομόνωσης. Το δείγμα εμπλουτίζεται σε συστατικά υψηλού σημείου ζέσεως και έτσι η τις % ποσοτική κατανομή των συστατικών μπορεί να είναι διαφορετική από αυτή του φυτού. Επίσης, όταν το φυτικό υλικό καταστρέφεται αρχίζουν ενζυματικές αντιδράσεις, με αποτέλεσμα τη διάσπαση των κύριων συστατικών ή το σχηματισμό ανεπιθύμητων ενώσεων (Ταραντίλης, 1994).

Έτσι, στη συγκεκριμένη μελέτη η παραλαβή των αιθερίων ελαίων από τα φυτά της μέντας και του χαμομηλιού, πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της μικρό-απόσταξης με υδρατμούς και εκχύλιση με οργανικό διαλύτη (MSDE).

A 2.3.1. Μικρό-απόσταξη με υδρατμούς εκχύλιση με οργανικό διαλύτη (MSDE) (Nickerson & Likens, 1965 - Ταραντίλης, 1994)

Η μέθοδος αυτή είναι εξέλιξη της απόσταξης με υδρατμούς και δίνει καλύτερα αποτελέσματα. Όπως προαναφέρθηκε, πραγματοποιείται με χρήση συσκευής τύπου Likens-Nickerson.

Η συσκευή τύπου Likens-Nickerson αποτελείται από το κύριο σώμα, στο οποίο πραγματοποιείται η εκχύλιση και είναι διαμορφωμένο για διαλύτες ελαφρύτερους του νερού, έναν ψυκτήρα και δύο φιάλες, μία σφαιρική χωρητικότητας 100 mL και μία απιοειδή χωρητικότητας 5 mL (Σχήμα Α 2.4).



Σχήμα Α 2.4. Συσκευή Likens-Nickerson.

Στη σφαιρική φιάλη των 100 mL τοποθετείται το φυτικό υλικό και προστίθεται απιονισμένο νερό. Στην απιοειδή φιάλη των 5 mL τοποθετείται ο οργανικός διαλύτης. Έπειτα, οι δύο φιάλες συνδέονται με το κύριο σώμα της συσκευής στο οποίο τοποθετείται επίσης ποσότητα απιονισμένου νερού και διαιθυλεθέρα, έτσι ώστε να δημιουργηθεί μία υδατική και μία οργανική φάση στις οποίες θα πραγματοποιηθεί η εκχύλιση. Στο κύριο σώμα συνδέεται και ο ψυκτήρας στον οποίο με τη βοήθεια αντλίας, κυκλοφορεί ψυκτικό υγρό. Τέλος, στην κατάλληλη υποδοχή του κυρίου σώματος της συσκευής τοποθετείται αδρανές αέριο άζωτο (N_2), για την αποφυγή απώλειας των πτητικών συστατικών.

Η φιάλη με το διαλύτη θερμαίνεται με τη χρήση θερμομανδύα και μετά από πέντε λεπτά αρχίζει να θερμαίνεται και η φιάλη με το φυτικό υλικό και το νερό. Οι υδρατμοί που σχηματίζονται συμπαρασύρουν τα πτητικά συστατικά του αιθερίου ελαίου και μαζί

με τους ατμούς του οργανικού διαλύτη, φτάνουν στην κρύα επιφάνεια του ψυκτήρα, υγροποιούνται και κυλούν στο κύριο μέρος της συσκευής όπου υπάρχουν σε ισορροπία η υδατική και η οργανική φάση. Εκεί, τα πτητικά συστατικά εκχυλίζονται στον οργανικό διαλύτη και μέσω του σωλήνα επιστροφής συγκεντρώνονται στην αποιεϊδή φιάλη, ενώ το νερό επιστρέφει στη σφαιρική φιάλη μέσω του αντίστοιχου σωλήνα επιστροφής.

Η απόσταξη διαρκεί περίπου μία ώρα, από τη στιγμή που θα σχηματιστούν οι πρώτοι υδρατμοί, ενώ χρειάζονται ακόμη 30 λεπτά χωρίς θέρμανση, έτσι ώστε όλες οι πτητικές οργανικές ουσίες να έχουν διαχωριστεί και να έχουν μεταφερθεί στη φιάλη με τον οργανικό διαλύτη, από όπου θα γίνει και η συλλογή του δείγματος.

A 2.4. Ανάλυση αιθερίων ελαίων

Τα συστατικά των αιθερίων ελαίων διαχωρίζονται και ταυτοποιούνται συνήθως με αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC) με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (Flame Ionization Detector, FID) ή φασματόμετρο μαζών (Mass Spectrometer, MS) ή με συνδυασμό τους (Bicchi, 2000, Wilson, 2003). Η αέρια χρωματογραφία είναι μία μέθοδος διαχωρισμού των συστατικών ενός δείγματος με πλεονεκτήματα έναντι άλλων τεχνικών διαχωρισμού, όπως είναι η μεγάλη ευαισθησία, η ταχύτητα και η απλότητα. Επίσης, δίνει τη δυνατότητα πραγματοποίησης δύσκολων διαχωρισμών που συνήθως είναι αδύνατον να γίνουν με άλλες τεχνικές (Πολυσιού & Ταραντίλης, 2007).

Με τη χρήση του ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID), μπορεί να πραγματοποιηθεί και ποσοτικός προσδιορισμός των συστατικών του δείγματος. Όμως, δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί ταυτοποίηση των συστατικών, η οποία επιτυγχάνεται με τη χρήση του φασματόμετρου μαζών (MS) ως ανιχνευτή.

Η φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FT-IR) είναι επίσης μια αξιόπιστη τεχνική, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως συμπληρωματική του MS για την ταυτοποίηση πολύπλοκων μιγμάτων, λόγω της ικανότητας της να διαχωρίζει τα ισομερή και να εντοπίζει τις χαρακτηριστικές ομάδες των μορίων.

Έτσι, για να επωφεληθούν οι αναλυτές από τα πλεονεκτήματα των σύγχρονων φασματοφωτόμετρων υπερύθρου (FT-IR) έχουν αναπτυχθεί συστήματα που συνδυάζουν το IR με την αέρια χρωματογραφία (GC-FTIR). Παρ' όλα αυτά όμως, το FT-IR δεν χρησιμοποιείται ευρέως ως ανιχνευτής του GC, όπως συμβαίνει με τον MS, κυρίως

επειδή, συγκριτικά με τα GC-FID και GC-MS, έχει χαμηλότερη ευαισθησία σε πολλά συστατικά (Bicchi, 2000).

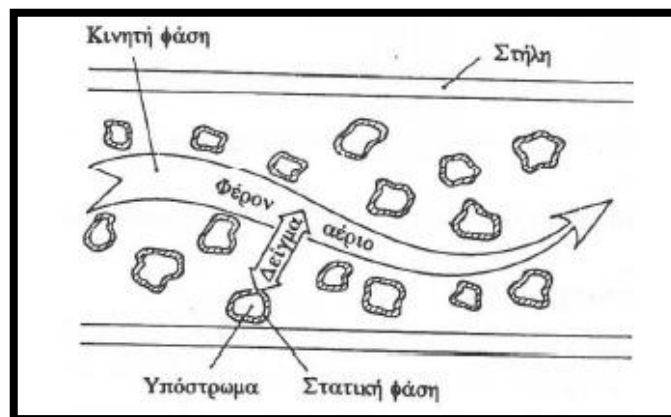
Σημαντικό είναι το γεγονός ότι οι τεχνικές ανάλυσης αιθερίων ελαίων της αέριας χρωματογραφίας και της φασματοσκοπίας υπερύθρου, μπορούν να συνδυαστούν με τη χημειομετρία για να πιστοποιηθεί η γεωγραφική προέλευση φυτών.

A 2.4.1. Αέρια χρωματογραφία (GC) (Skoog, Holler & Nieman, 2005 - Πολυσιού & Ταραντίλης, 2007 - Χατζηιωάννου & Κουπάρης, 1997)

Η αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC) διακρίνεται σε δύο τύπους, τη χρωματογραφία αερίου-στερεού (Gas-Solid Chromatography, GSC), η οποία βασίζεται στη χρήση στερεάς στατικής φάσης και η κατακράτηση των αναλυτών είναι αποτέλεσμα φυσικής προσρόφησης και τη χρωματογραφία αερίου-υγρού (Gas-Liquid Chromatography, GLC), η οποία βασίζεται στην κατανομή του αναλύτη μεταξύ της αέριας κινητής και μιας υγρής φάσης που είναι ακινητοποιημένη στην επιφάνεια ενός αδρανούς στερεού.

Η χρωματογραφία αερίου-υγρού είναι αυτή που έχει επικρατήσει και χρησιμοποιείται ευρύτατα σε όλους τους κλάδους των θετικών επιστημών, έτσι συχνότερα αναφέρεται γενικά ως αέρια χρωματογραφία.

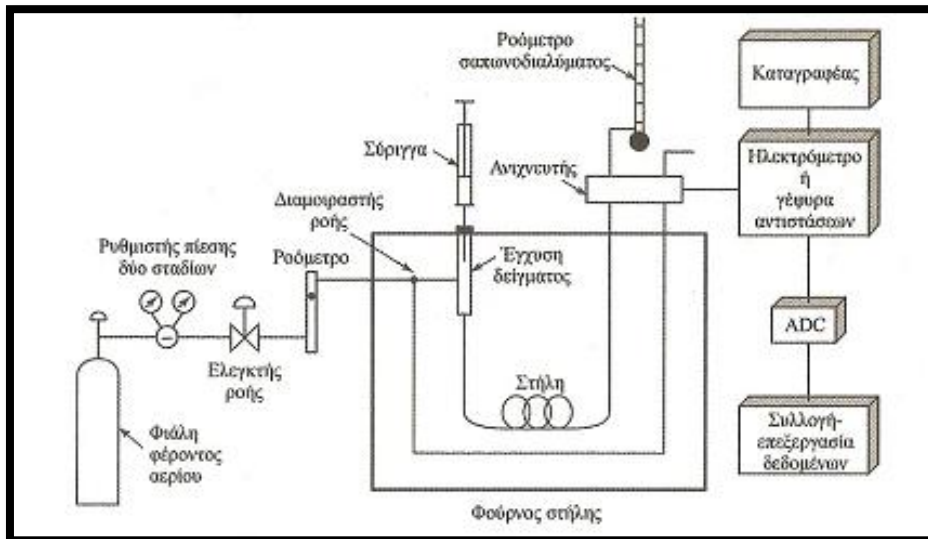
Στην αέρια χρωματογραφία το δείγμα εξατμίζεται και εγχέεται στην κεφαλή μιας χρωματογραφικής στήλης. Η έκλουση πραγματοποιείται με ροή αδρανούς αερίου, το οποίο αποτελεί την κινητή φάση. Σε αντίθεση με τους περισσότερους τύπους χρωματογραφίας η κινητή φάση δεν αλληλεπιδρά με τα μόρια του αναλύτη. Η κινητή και η στατική φάση της αέριας χρωματογραφίας φαίνονται στο Σχήμα A 2.5.



Σχήμα A 2.5. Κινητή και στατική φάση στην αέρια χρωματογραφία.

Ο διαχωρισμός οφείλεται στην κίνηση των συστατικών μέσα στην στήλη με διαφορετικές ταχύτητες, που εξαρτώνται από τις διαφορετικές τάσεις ατμών των συστατικών και τις αλληλεπιδράσεις τους με τη στατική φάση. Κάθε συστατικό που είναι προς διαχωρισμό έχει διαφορετική συγγένεια απορρόφησης ή προσρόφησης προς τη στατική φάση. Έτσι, η κινητή φάση μετακινεί τα συστατικά του αναλύτη με διαφορετική ταχύτητα μέσα στη στήλη ανάλογα με τη συγγένεια του κάθε συστατικού με τη στατική φάση και η κάθε ουσία εξέρχεται σε διαφορετική στιγμή από τις υπόλοιπες.

Τα βασικά μέρη μιας διάταξης αέριας χρωματογραφίας είναι: η φιάλη που περιέχει το φέρον αέριο, ο ρυθμιστής πίεσης του φέροντος αερίου, το σύστημα εισαγωγής του δείγματος, η στήλη χρωματογραφίας, ο φούρνος της στήλης, ο ανιχνευτής, ο ενισχυτής σήματος και ο καταγραφέας ή ηλεκτρονικός υπολογιστής-εκτυπωτής (Σχήμα Α 2.6).



Σχήμα Α 2.6. Διάταξη μιας αέριας χρωματογραφίας.

Η εισαγωγή του δείγματος γίνεται με μικροσύριγγα στην αρχή της στήλης μέσα από κατάλληλο στόμιο εισαγωγής που φράσσεται από θερμοανθεκτικό ελαστικό διάφραγμα σιλικόνης (septum). Αυτό, δρα ως βαλβίδα που επιτρέπει την είσοδο του δείγματος, όχι όμως την έξοδό του και την έξοδο του φέροντος αερίου. Η θερμοκρασία του θαλάμου εισαγωγής του δείγματος είναι συνήθως 50 °C πάνω από το σημείο βρασμού του λιγότερο πτητικού συστατικού του δείγματος.

Στα φέροντα αέρια που πρέπει να είναι χημικώς αδρανή, να μην αντιδρούν με την στατική φάση ή με τις προς διαχωρισμό ενώσεις και να είναι απαλλαγμένα από προσμίξεις, περιλαμβάνονται το ήλιο (He), το άζωτο (N₂), το αργό (Ar) και πιο σπάνια το

υδρογόνο (H₂). Η επιλογή του φέροντος αερίου γίνεται συχνά με βάση τον τύπο του χρησιμοποιούμενου ανιχνευτή. Το σύστημα παροχής του αερίου περιλαμβάνει ρυθμιστές πίεσης και ελεγκτές ροής για τη ρύθμιση των ταχυτήτων ροής και ροόμετρα για τη μέτρηση των ταχυτήτων. Η ακριβής μέτρηση της ταχύτητας ροής του φέροντος αερίου είναι απαραίτητη, επειδή οι χρόνοι συγκράτησης εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την ταχύτητα.

Το σπουδαιότερο τμήμα του αερίου χρωματογράφου είναι η στήλη όπου και γίνεται, όπως προαναφέρθηκε, ο διαχωρισμός των συστατικών του αναλύτη. Χρησιμοποιούνται δύο τύποι στηλών, οι πληρωμένες (packed) και οι στήλες ανοικτού σωλήνα (open tubular) ή τριχοειδείς (capillary). Οι δεύτερες έχουν σχεδόν αντικαταστήσει τις πρώτες αφού είναι κατά πολύ αποτελεσματικότερες. Η θερμοκρασία της στήλης είναι μία σημαντική παράμετρος και πρέπει να ελέγχεται με ακρίβεια, γι' αυτό τοποθετείται σε θερμοστατούμενο φούρνο. Είτε διατηρείται σταθερή σε όλη τη διάρκεια της ανάλυσης (ισόθερμη ανάλυση) είτε μεταβάλλεται με βάση προκαθορισμένο πρόγραμμα (θερμοπρογραμματιζόμενη ανάλυση). Έχει επικρατήσει η δεύτερη περίπτωση που βελτιώνει τη διαχωριστική ικανότητα της στήλης. Η θερμοκρασία της στήλης κυμαίνεται συνήθως από 50 έως 250 °C.

Ο ανιχνευτής είναι το όργανο που μετράει διαφορές στη σύσταση του υλικού το οποίο εκλύεται από τη στήλη. Εάν στην έξοδο της στήλης τοποθετηθεί σύστημα ανίχνευσης και καταμέτρησης της ποσότητας κάθε συστατικού, μπορεί να επιτευχθεί και ποσοτικός προσδιορισμός. Το σήμα του ανιχνευτή αφού ενισχυθεί καταγράφεται από το καταγραφικό σύστημα συναρτήσει του χρόνου. Η θερμοκρασία του πρέπει να είναι υψηλότερη από τη θερμοκρασία της στήλης. Οι περισσότερο χρησιμοποιούμενοι τύποι ανιχνευτών είναι οι: ιονισμού φλόγας (FID), θερμικής αγωγιμότητας (TCD), σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD), ατομικής εκπομπής (AED) και φλογοφωτομετρικοί (FPD). Επίσης, για το χρωματογραφικό σύστημα το φασματόμετρο μαζών (MS) δρα ως ανιχνευτής εξαιρετικής εκλεκτικότητας και χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση των συστατικών.

A 2.4.1.1. Αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (GC-FID)

Ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (Flame Ionization Detector, FID) είναι ο πιο διαδεδομένος και γενικότερης χρήσης αεριοχρωματογραφικός ανιχνευτής. Αποτελείται από τον καυστήρα αερίου, στο άκρο του οποίου καίγεται μίγμα υδρογόνου παρουσία αέρα. Οι περισσότερες οργανικές ενώσεις, όταν πυρολυθούν στη θερμοκρασία της

φλόγας υδρογόνου-αέρα, παράγουν θετικά και αρνητικά ιόντα, τα οποία άγουν τον ηλεκτρισμό μέσω της φλόγας. Έτσι, όταν εξέρχεται από τη στήλη κάποιο συστατικό, καίγεται και παράγονται τα θετικά και αρνητικά ιόντα, τα οποία συλλέγονται από δύο ηλεκτρόδια. Η κίνηση των ιόντων δημιουργεί ασθενές ηλεκτρικό ρεύμα, το οποίο καταγράφεται (Skoog et al., 2005 - Πολυσίου κ.ά., 2007).

Χαρακτηριστικές ομάδες, όπως το καρβονύλιο, το αλκοολικό υδροξύλιο, το αλογόνο και η αμινοομάδα, παράγουν λιγότερα ή και καθόλου ιόντα. Επιπλέον, ο ανιχνευτής δεν αποκρίνεται καθόλου σε μη καύσιμα αέρια, όπως τα H₂O, CO₂, SO₂, NO_x κ.ά. Έτσι, θεωρείται ένας πολύ χρήσιμος ανιχνευτής για την ανάλυση των περισσότερων οργανικών δειγμάτων. Ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας χαρακτηρίζεται από μεγάλη ευαισθησία, μεγάλη γραμμική περιοχή και χαμηλό θόρυβο. Γενικά είναι ανθεκτικός και εύχρηστος, ενώ το μειονέκτημά του είναι ότι καταστρέφει το δείγμα (Skoog et al., 2005).

Έχει παρατηρηθεί ότι ο αριθμός των παραγόμενων ιόντων είναι χονδρικά ανάλογος προς τον αριθμό των ανηγμένων ατόμων άνθρακα στη φλόγα. Επειδή ο ανιχνευτής αποκρίνεται προς τον αριθμό των ατόμων άνθρακα που εισάγονται σε αυτόν ανά μονάδα χρόνου, θεωρείται ως ανιχνευτής ευαίσθητος προς τη μάζα (mass-sensitive) (Skoog et al., 2005). Έτσι, χρησιμοποιείται για ποσοτική ανάλυση των συστατικών του δείγματος κατά την οποία το εμβαδόν της κάθε κορυφής του χρωματογραφήματος σχετίζεται με την ποσότητα του αντίστοιχου συστατικού μέσα στο δείγμα. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των συστατικών του δείγματος γίνεται με:

1. Προσδιορισμό της επί τις % αναλογίας των συστατικών του δείγματος (percentage of total).
2. Προσδιορισμό της συγκέντρωσης των συστατικών του δείγματος με τη:
 - Μέθοδο εσωτερικού προτύπου (internal standard).
 - Μέθοδο εξωτερικού προτύπου (external standard).

A 2.4.1.2. Αέρια χρωματογραφία με φασματόμετρο μαζών (GC-MS)

Όταν η αέρια χρωματογραφία, που είναι μέθοδος διαχωρισμού και όχι ταυτοποίησης των συστατικών ενός δείγματος, συνδυαστεί με τη φασματομετρία μαζών, γίνεται ένα ισχυρότατο μέσο ταυτοποίησης πολύπλοκων δειγμάτων.

Το υπό εξέταση δείγμα αφού διαχωριστεί στα συστατικά του εξέρχεται από τον χρωματογράφο και εισέρχεται σε αέρια κατάσταση στο φασματόμετρο μαζών όπου βομβαρδίζεται από ηλεκτρόνια μεγάλης κινητικής ενέργειας. Με αυτόν τον τρόπο,

προκαλείται ιονισμός των μορίων που οδηγεί σε διάσπαση ώστε να δημιουργηθούν ιόντα μικρότερης μάζας. Μόλις αυτά δημιουργηθούν, επιταχύνονται υπό την επίδραση μαγνητικού πεδίου και ακολούθως αποκλίνουν της αρχικής τους πορείας ανάλογα με το λόγο μάζας/ηλεκτρικό φορτίο (m/z). Το ρεύμα το οποίο παράγεται μετράται με τη βοήθεια κατάλληλου ανιχνευτή. Το διάγραμμα το οποίο θα προκύψει από την ένταση του μετρούμενου ρεύματος συναρτήσει του λόγου m/z , αποτελεί το φάσμα μαζών.

Η ποιοτική ανάλυση των συστατικών του δείγματος, δηλαδή η ταυτοποίησή τους, μπορεί να γίνει:

1. Με τον προσδιορισμό του δείκτη κατακράτησης Kovats (Kovats Retention Index). Δηλαδή με σύγκριση του χρόνου κατακράτησης της άγνωστης ουσίας, με το χρόνο κατακράτησης δύο αλκανίων, των οποίων οι κορυφές πρέπει να περιβάλλουν την κορυφή της ουσίας.
2. Με τη σύγκριση του χρόνου κατακράτησης (Retention Time - RT) των άγνωστων συστατικών, με το χρόνο κατακράτησης πρότυπων ενώσεων.
3. Με τη σύγκριση των φασμάτων μάζας των συστατικών του δείγματος με τα φάσματα μάζας πρότυπων ενώσεων.
4. Με τη σύγκριση των φασμάτων μάζας των συστατικών του δείγματος με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας και των βιβλιοθηκών φασμάτων (Adams, Wiley, NIST κ.ά.) που υπάρχουν στο λογισμικό των φασματομέτρων μάζας.

A 2.4.2. Φασματοσκοπία υπέρυθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR) (Παππάς, 2000 - Πολυσίου κ.ά., 2007)

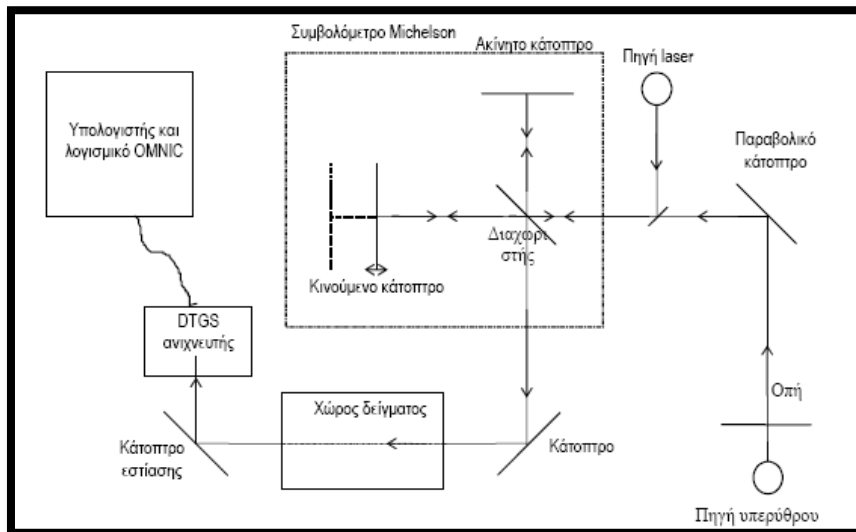
Η φασματοσκοπία υπέρυθρου (Infra Red Spectroscopy, IR), είναι μία από τις πιο σημαντικές φασματοσκοπικές τεχνικές που χρησιμοποιείται πολύ συχνά λόγω της ευκολίας λήψης φασμάτων και της σύγκρισής τους με άλλα γνωστά. Χρησιμοποιείται πολύ συχνά στην οργανική και φαρμακευτική χημεία, στην ανάλυση φυσικών προϊόντων και σε άλλους τομείς, καθώς μέσω των φασμάτων δίνεται η δυνατότητα διερεύνησης της μοριακής σύνταξης και σε συνδυασμό με άλλες τεχνικές η ταυτοποίηση άγνωστων οργανικών ουσιών, αλλά και η πιστοποίηση της καθαρότητάς τους.

Η υπέρυθη περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος βρίσκεται μεταξύ του ορατού τμήματος και της περιοχής των ραδιοκυμάτων. Το πιο χρήσιμο κομμάτι της υπέρυθρης περιοχής για τη φασματοσκοπία είναι μεταξύ $4000-600\text{ cm}^{-1}$. Στην περιοχή όμως αυτή, η ευαισθησία του φασματοφωτόμετρου είναι περιορισμένη και οι εντάσεις των

απορροφήσεων πολύ μικρές, έτσι ο “θόρυβος” σκεπάζει τις ταινίες απορρόφησης. Η αδυναμία αυτή των κοινών φασματοφωτόμετρων υπερνικήθηκε με τη φασματοσκοπία IR με μετασχηματισμό κατά Fourier (FT-IR).

Ένα τυπικό φασματοφωτόμετρο FT-IR (Σχήμα A 2.7), αποτελείται κυρίως από:

- Την πηγή υπέρυθρης ακτινοβολίας, πιο διαδεδομένη είναι η λυχνία νικελίου-χρωμίου (NiChrome), που αναπτύσσει θερμοκρασία 1200-1250 °C και εκπέμπει συνεχή ακτινοβολία στην περιοχή του μέσο-υπέρυθρου.
- Την πηγή λέιζερ, η παραγωγή της ακτίνας λέιζερ γίνεται με τη διέγερση ατόμων ηλίου και νέου (HeNe).
- Το συμβολόμετρο Michelson, αποτελείται από ημιδιαφανή πλάκα (διαχωριστής δέσμης) από βρωμιούχο κάλιο (KBr) που δεν απορροφά στο υπέρυθρο και δύο κάτοπτρα, το ένα σταθερό και το άλλο κινείται με σταθερή ταχύτητα.
- Τον ανιχνευτή, σκοπός του οποίου είναι να ανιχνεύσει την υπέρυθρη ακτινοβολία που έχει περάσει μέσα από το δείγμα. Ο πιο συνηθισμένος είναι ο θερμικός που κατασκευάζεται από δευτεριωμένη θευική τριγλυκίνη (Deuterated TriGlycine Sulfate, DTGS).



Σχήμα A 2.7. Τυπικό φασματοφωτόμετρο FT-IR της εταιρείας Nicolet.

Τα φασματοφωτόμετρα FT-IR με τη χρήση του συμβολόμετρου, μπορούν να εξετάζουν ταυτόχρονα πολλά σημεία του φάσματος. Η διαδικασία αυτή γίνεται σε 10-20 δευτερόλεπτα και επαναλαμβάνεται συνήθως 20-100 φορές. Το τελικό φάσμα προκύπτει από το μέσο όρο των επαναλήψεων (σαρώσεων), που έχουν γίνει. Έτσι, όταν αυξάνεται ο

αριθμός των επαναλήψεων, μειώνεται ο “θόρυβος” και βελτιώνονται σε μεγάλο βαθμό οι εντάσεις των απορροφήσεων.

Η καταγραφή φασμάτων με το μετασχηματισμό Fourier παρουσιάζει, εκτός από την υψηλή ταχύτητα καταγραφής, τα πλεονεκτήματα της υψηλής διαχωριστικής ικανότητας και του χαμηλού “θορύβου”. Ως διαχωριστική ικανότητα, ορίζεται η ικανότητα του οργάνου να ξεχωρίζει κορυφές απορρόφησης που αντιστοιχούν σε πολύ κοντινούς κυματαριθμούς, συνήθως χρησιμοποιείται αυτή των 4 cm^{-1} και επιλέγεται πριν την καταγραφή του φάσματος. Ως “θόρυβος” εννοούνται εκείνα τα σήματα, τα οποία καταγράφονται και δεν αντιστοιχούν σε πραγματικές απορροφήσεις του δείγματος, αλλά σε άλλους λόγους. Για να αξιολογηθούν τα σήματα χρησιμοποιείται ο όρος «λόγος σήματος προς θόρυβο» (Signal-to-Noise Ratio, RSN).

Οι τεχνικές λήψης φάσματος διακρίνονται στις ακόλουθες:

1. Κλασικές τεχνικές - διαπερατότητας:

- Υγρά δείγματα: 1-2 σταγόνες δείγματος μεταξύ διαφανών πλακιδίων (παράθυρα) από υλικά που δεν απορροφούν στην περιοχή από $4000\text{-}600 \text{ cm}^{-1}$, όπως ZnSe, NaCl, KBr κ.ά.
- Στερεά δείγματα: Σε μορφή διαλύματος χρησιμοποιώντας κυψελίδες ή σε μορφή στερεών δισκίων, όπου 1-2 mg ουσίας αναμειγνύονται με 100-150 mg KBr και πιέζονται σε υδραυλική πρέσα για τη δημιουργία των δισκίων.
- Αέρια δείγματα: Τα δείγματα αερίων μετρούνται σε κυψελίδες, με κατάλληλα κάτοπτρα για πολλαπλές ανακλάσεις, με μεγάλη οπτική διαδρομή και υπό πίεση.

2. Σύγχρονες τεχνικές - ανάκλασης:

- Τεχνική της διάχυτης ανάκλασης (Diffuse Reflectance Infra-Red Fourier Transform Spectroscopy, DRIFTS).
- Τεχνική της εξασθενημένης ολικής ανάκλασης (Attenuated Total Reflectance Spectroscopy, ATR).

Επειδή στο χώρο των οργάνων υπάρχει ατμοσφαιρικός αέρας, το φάσμα καταγράφει και εκείνα τα αέρια συστατικά που απορροφούν στο υπέρυθρο (κυρίως υδρατμούς και διοξείδιο του άνθρακα). Γι’ αυτό, πριν από τη λήψη του φάσματος του δείγματος, καταγράφεται ένα φάσμα αναφοράς (background), το οποίο λαμβάνεται με τον υποδοχέα του δείγματος χωρίς δείγμα. Το φάσμα αναφοράς στη συνέχεια, με τη βοήθεια του λογισμικού του φασματοφωτόμετρου, αφαιρείται αυτόματα από το συνολικό φάσμα.

Μετά τη λήψη του φάσματος, οι συνηθέστερες επεξεργασίες που γίνονται σε αυτό είναι η αυτόματη εξομάλυνση του σήματος (automatic smooth), κατά την οποία

μειώνεται σε μεγάλο βαθμό ο θόρυβος με τη βοήθεια μίας μαθηματικής επεξεργασίας, χωρίς να αλλοιώνεται η εικόνα του φάσματος και έτσι βελτιώνεται ο λόγος RSN και η αυτόματη διόρθωση της βασικής γραμμής (automatic baseline correct), κατά την οποία διορθώνεται η βασική γραμμή των φασμάτων FT-IR, αφού συνήθως αποτελείται και από σημεία των οποίων η ένταση δεν είναι μηδέν. Οι επεξεργασίες αυτές, που στοχεύουν στη βελτίωση της εικόνας του φάσματος και βοηθούν στους ποιοτικούς και ποσοτικούς προσδιορισμούς, πραγματοποιούνται χρησιμοποιώντας τις εντολές του λογισμικού του φασματοφωτόμετρου.

Σε ένα τυπικό φάσμα υπέρυθρης ακτινοβολίας διακρίνονται δύο περιοχές, αυτή των χαρακτηριστικών ομάδων ($4000-1400\text{ cm}^{-1}$), όπου οι κύριες ζώνες απορρόφησης οφείλονται στη δόνηση των ομάδων και αυτή των δακτυλικών αποτυπωμάτων ($1400-600\text{ cm}^{-1}$), όπου οι απορροφήσεις σχετίζονται με τις δονήσεις ολόκληρου του μορίου. Για την αναγνώριση και απόδοση των κορυφών ενός φάσματος υπάρχει η δυνατότητα αναφοράς σε πίνακες που περιέχουν τις διάφορες χαρακτηριστικές ομάδες με τους αντίστοιχους κυματαριθμούς.

A 2.4.3. Χημειομετρία

Όπως έχει αναφερθεί, οι τεχνικές της αέριας χρωματογραφίας και της φασματοσκοπίας υπέρυθρου μπορούν να συνδυαστούν με τη χημειομετρία, δηλαδή τα αριθμητικά δεδομένα των χρωματογραφημάτων ή των φασμάτων που προκύπτουν στην κάθε περίπτωση αντίστοιχα μπορούν να επεξεργαστούν στατιστικά, για να πιστοποιηθεί η γεωγραφική προέλευση των φυτών. Η στατιστική επεξεργασία των αριθμητικών δεδομένων των χρωματογραφημάτων και των φασμάτων πραγματοποιείται με χρήση της κανονικής διαχωριστικής ανάλυσης (canonical discriminant analysis) με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS version 13.0. Η βασική ιδέα της διαχωριστικής ανάλυσης είναι να κατατάξει δεδομένα, σε γνωστούς πληθυσμούς με γνωστές κατανομές για κάθε πληθυσμό.

A 2.5. Ο ρόλος των αιθερίων ελαίων

Το αιθέριο έλαιο αποτελεί την ψυχή του φυτού. Από την αρχαιότητα χρησιμοποιούνταν τόσο στα καλλυντικά, όσο και στη θεραπευτική. Σήμερα η χρήση του βασίζεται σε επιστημονικά δεδομένα. Λαμβάνοντας υπόψη τις ιδιότητες και τις θετικές

επιδράσεις που προκύπτουν από τη χρήση τους, τα αιθέρια έλαια ή οι δρόγες που τα περιέχουν δε θα μπορούσαν να μείνουν ανεκμετάλλευτα. Έτσι, χρησιμοποιούνται από τον άνθρωπο κατά ποικίλους τρόπους, όμως τα φυτά δεν παράγουν τα αιθέρια έλαια με γνώμονα τη χρήση τους από τον άνθρωπο, αλλά με γνώμονα την επιβίωσή τους.

Η παραγωγή των αιθερίων ελαίων γίνεται σε ειδικευμένα εκκριτικά όργανα του φυτού. Ο πραγματικός ρόλος τους όμως για τα φυτά, δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. Πολλοί ερευνητές προσδίδουν στα αιθέρια έλαια διάφορους ρόλους και αρκετοί από αυτούς παρατίθενται παρακάτω.

Πολύ σημαντική φαίνεται να είναι η ύπαρξή τους για την προστασία των φυτών από τα βακτήρια, τους ιούς, τους μύκητες, τα παράσιτα και τα φυτοφάγα ζώα, δρώντας απωθητικά και περιορίζοντας την όρεξη τους για τα συγκεκριμένα φυτά (Σκρουμπής, 1985 - Werker, 1993 - Amiot, Salmon, Collin & Thompson, 2005). Όσον αφορά τα έντομα ενδεχομένως να απωθούν ορισμένα, ενώ μπορεί να προσελκύουν κάποια άλλα για την επικονίαση και την διασπορά των σπόρων (Σκρουμπής, 1985 - Bakkali et al., 2008 - Wilson, 2003 - Amiot et al., 2005). Επίσης, είναι πιθανό να επιδρούν στη βλάστηση και εδραίωση άλλων φυτών γύρω τους (Σκρουμπής, 1985 - Amiot et al., 2005).

Τα αιθέρια έλαια έχουν αντιδιαπνευστική δράση, με δημιουργία μικροκλίματος που ελέγχει την απώλεια νερού και έτσι προσδίδουν στα φυτά αντοχή στην ξηρασία. Ακόμα, εξαιτίας της εξατμίσεώς τους, μπορεί να προστατεύουν τα φυτά από υψηλές αλλά και χαμηλές θερμοκρασίες (Σκρουμπής, 1985). Με τις διάφορες φαινολικές ουσίες που περιέχουν, συμβάλλουν ίσως στο να δημιουργηθεί στην επιδερμίδα των φυτικών οργάνων μια ασπίδα που απορροφά την υπεριώδη ακτινοβολία (UV-B) και δεν την αφήνει να εισχωρήσει στους εσωτερικούς ιστούς των φυτών (Kokkini, Karousou & Vokou., 1994 - Amiot et al., 2005).

Μέσω των αιθερίων ελαίων αυξάνεται η ταχύτητα κυκλοφορίας των θρεπτικών ουσιών που ρυθμίζουν το μεταβολισμό των φυτών και πιθανόν να δρουν και ως ορμόνες, που προάγουν διάφορες λειτουργίες τους (Σκρουμπής, 1985). Η σύνθεση και απελευθέρωση πτητικών δευτερογενών μεταβολιτών θα μπορούσε να είναι μια βαλβίδα εκτόνωσης της πλεονάζουσας ενέργειας του φυτού (Margaris, 1981).

Τέλος, υπάρχουν ενδείξεις ότι ορισμένα πτητικά συστατικά, μεταξύ αυτών και τερπένια, διαδραματίζουν ρόλο σημάτων συναγερμού, αφού ελευθερώνονται από τραυματισμένους φυτικούς ιστούς και επάγουν αμυντικούς μηχανισμούς σε γειτονικά, μη τραυματισμένα φυτά (Pichersky & Gershenzon, 2002).

Από όλες αυτές τις θεωρίες όμως, καμιά δε δίνει σαφή απάντηση για το ρόλο που διαδραματίζουν τα αιθέρια έλαια στα φυτά. Πιθανόν ο ρόλος τους να είναι ο συνδυασμός όλων αυτών που αναφέρθηκαν πιο πάνω και να συντελεί στην προστασία των φυτών από τους διάφορους παράγοντες.

Σήμερα, εξ αιτίας των ιδιοτήτων τους συγκεντρώνουν το παγκόσμιο ενδιαφέρον και χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην αρωματοποιία, τη σαπωνοποιία, τη ζαχαροπλαστική, τη βιομηχανία τροφίμων, τη φαρμακευτική κ.λπ. Τα κύρια συστατικά των αιθερίων ελαίων, τα τερπένια περιλαμβάνονται στις χημικές ουσίες που είναι υπεύθυνες για τη θεραπευτική, μαγειρική και αρωματική χρήση των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών.

Σε πολλές χώρες, όπου στις βιομηχανίες τροφίμων υπάρχουν περιορισμοί στη χρήση συνθετικών αντιοξειδωτικών, δίνεται ιδιαίτερη σημασία στα φυτά αυτά, τα οποία αποτελούν φυσικές πηγές ασφαλών αντιοξειδωτικών και αντιβακτηριδιακών ουσιών. Η παρεμποδιστική τους δράση στην ανάπτυξη των βακτηρίων, ενζύμων, μυκήτων και στη σύνθεση μικροβιακών τοξινών, έχει διαπιστωθεί (Kneifel, Czech & Kopp, 2002 - Dorman, Surai & Deans, 2000) και μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη συντήρηση τροφίμων ως κύριο ή επιπρόσθετο αντιμικροβιακό συστατικό (Burt, 2004 - Viljoen, Petcar, Vuuren, Figueiredo, Pedro & Barroso, 2006), αφού βελτιώνουν τη σταθερότητα του προϊόντος κατά την αποθήκευση (Schulz, Quilitzsch & Krüger, 2003). Τα αιθέρια έλαια που περιέχονται στα φυτά, εάν προστεθούν στο τρόφιμο δεν προκαλούν αλλαγές στις οργανοληπτικές του ιδιότητες και καθυστερούν τη μικροβιακή μόλυνση, επιπλέον απαιτούνται μικρές ποσότητες για αυτήν την δράση (Dorman et al., 2000).

Λόγω των πτητικών συστατικών τους τα αιθέρια έλαια, θα μπορούσαν επίσης να χρησιμοποιηθούν ως απολυμαντικό δωματίων. Η πτητικότητα είναι ένα ξεχωριστό χαρακτηριστικό το οποίο θα μπορούσε να συμβάλλει στη μείωση της μικροβιακής μόλυνσης στον αέρα και σε επιφάνειες που δύσκολα φτάνουμε (Dorman et al, 2000).

Ορισμένα αιθέρια έλαια χρησιμοποιούνται ως συμπληρωματικά ή εναλλακτικά των συνθετικών προϊόντων, χωρίς να παρουσιάζουν τις αντίστοιχες παρενέργειες (Bakkali et al., 2008). Έτσι, χρησιμοποιούνται ως συστατικά σε καλλυντικά, αρώματα, προϊόντα περιποίησης σώματος και μαλλιών, αλλά και σε προϊόντα καθαρισμού επιφανειών και αποσμητικά χώρων (Seymour, 2003 - Aburjai & Natsheh, 2003). Εμφανίζουν επίσης ευρεία χρήση ως στοματικά αντισηπτικά διαλύματα και οδοντόκρεμες, εξαιτίας της δράσης τους κατά των βακτηρίων της στοματικής κοιλότητας (Wallace, 2004). Τέλος,

στη χρήση τους, στηρίζεται η αρωματοθεραπεία, που αποτέλεσε θεραπευτική πρακτική από την αρχαιότητα (Seymour, 2003 - Bakkali et al., 2008).

Μεγάλος αριθμός αιθερίων ελαίων έχει ταξινομηθεί από τον ISO και η ποιότητα τους καθορίζεται από τους διάφορους κώδικες τροφίμων (π.χ. Χημικός Κώδικας των Τροφίμων - Food Chemical Codex) και φαρμακευτικούς εθνικούς οργανισμούς (Schulz et al., 2003). Μέσα από εντατικές και συστηματικές μελέτες και έρευνες θα αποδειχθούν χρήσιμα και σε άλλους κλάδους, καθώς και η καλύτερη κατανόηση της βιολογικής δράσης τους θα έχει ως αποτέλεσμα καινούριες εφαρμογές στην υγεία, τον αγροτικό τομέα και το περιβάλλον (Bakkali et al., 2008).

A 2.6. Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή και τη σύσταση των αιθερίων ελαίων στα φυτά

Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία τόσο στην περιεκτικότητά τους σε αιθέρια έλαια, όσο και στην ποιοτική και ποσοτική σύστασή τους (Kokkini et al., 1994).

Τα διαφορετικά όργανα των φυτών παράγουν κατά κανόνα διαφορετικές ποσότητες ελαίου. Συνήθως τα άνθη και τα φύλλα εμφανίζουν το μεγαλύτερο περιεχόμενο σε αιθέρια έλαια και οι βλαστοί το μικρότερο (Werker, Putievsky & Ravid, 1985). Το στάδιο ανάπτυξης των οργάνων του φυτού είναι επίσης καθοριστικό για τη σύσταση του αιθερίου ελαίου. Στις περισσότερες περιπτώσεις η απόδοση σε αιθέριο έλαιο είναι αυξημένη την περίοδο της ανθοφορίας (Figueiredo, Barroso, Pedro & Scheffer, 2008).

Η εποχή της συλλογής των φυτών είναι ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας στην ποσότητα και ποιότητα του αιθερίου ελαίου. Συχνά οι μεταβολές στη σύσταση όσο και στην απόδοση του ελαίου συνδέονται με τις καιρικές συνθήκες που επικρατούν τους διάφορους μήνες του έτους. Σε κάθε περίπτωση η εποχή συλλογής επιλέγεται βάσει του επιθυμητού συνδυασμού σύστασης και απόδοσης σε αιθέριο έλαιο (Figueiredo et al., 2008). Κατά κανόνα όμως, φυτά που συλλέγονται τους καλοκαιρινούς μήνες εμφανίζουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε έλαια (Chalchat, Garry & Michet, 1997 - Müller-Riebau, Berger, Yegen & Cakir, 1997).

Σημαντικά μεγάλος βαθμός ποικιλότητας έχει καταγραφεί και σε πληθυσμούς αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών κατά μήκος της γεωγραφικής διαφοροποίησής τους. Έτσι, φυτά που φύονται στις νοτιότερες περιοχές της χώρας και τα νησιά παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές περιεκτικότητας σε αιθέριο έλαιο από φυτά των

βορειότερων περιοχών (Vokou, Kokkini & Bessiere, 1993 - Kokkini et al., 1994 - Kokkini, Hanlidou & Karousou, 2004).

Τέλος, αξιοσημείωτη είναι και η ενδοειδική ποικιλότητα στα αιθέρια έλαια που οφείλεται σε γενετικούς παράγοντες. Έτσι, συχνή είναι η παρουσία διαφορετικών χημειότυπων σε ένα είδος, που μπορεί να γίνει αντιληπτή από την οσμή των φυτών και οφείλεται σε διαφορετικές ενώσεις που έχουν προέλθει από διαφορετικά βιοσυνθετικά μονοπάτια. Για την ύπαρξη χημειοτύπων μπορεί να ευθύνεται και η γεωγραφική θέση του είδους, αφού πιθανό να είναι αποτέλεσμα διαφορών στις περιβαλλοντικές και εδαφοκλιματικές συνθήκες (γεωγραφικό ύψος, ηλιοφάνεια, τύπος εδάφους κ.ά.), οι οποίες καταλήγουν σε γενετικές διαφοροποιήσεις των ειδών.

A 3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά αποτελούν μια ποικιλόμορφη και πλατιά εφαρμόσιμη ενότητα φυτών, που έχουν εκτιμηθεί ανά τους αιώνες για τις πολλές τους χρήσεις. Στις μέρες μας παρουσιάζεται ένα ολοένα αυξανόμενο ενδιαφέρον για τα βότανα, αφού πλέον οι ωφέλειες των φυτών αυτών έχουν αποδειχθεί από τις σύγχρονες έρευνες και επιστημονικές μελέτες.

Τα φυτά αυτά παρουσιάζουν μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον λόγω των αιθερίων ελαίων που περιέχουν. Τα αιθέρια έλαια έχουν ένα πλήθος εφαρμογών στη βιομηχανία τροφίμων, ποτών, καλλυντικών, φαρμάκων κ.ά., γι' αυτό και αποτελούν σημαντικό αντικείμενο έρευνας. Έτσι, πλήθος ερευνών έχουν γίνει για να καθοριστούν οι παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή και τη σύσταση των αιθερίων ελαίων στα φυτά, ώστε να μπορεί να διασφαλιστεί η μεγαλύτερη ποσότητα και η καλύτερη ποιότητα αυτών.

Σε αυτούς τους παράγοντες συγκαταλέγονται οι περιβαλλοντικές και εδαφοκλιματικές συνθήκες της κάθε περιοχής και έτσι ο προσδιορισμός της γεωγραφικής προέλευσης των βοτάνων είναι πολύ σημαντικός.

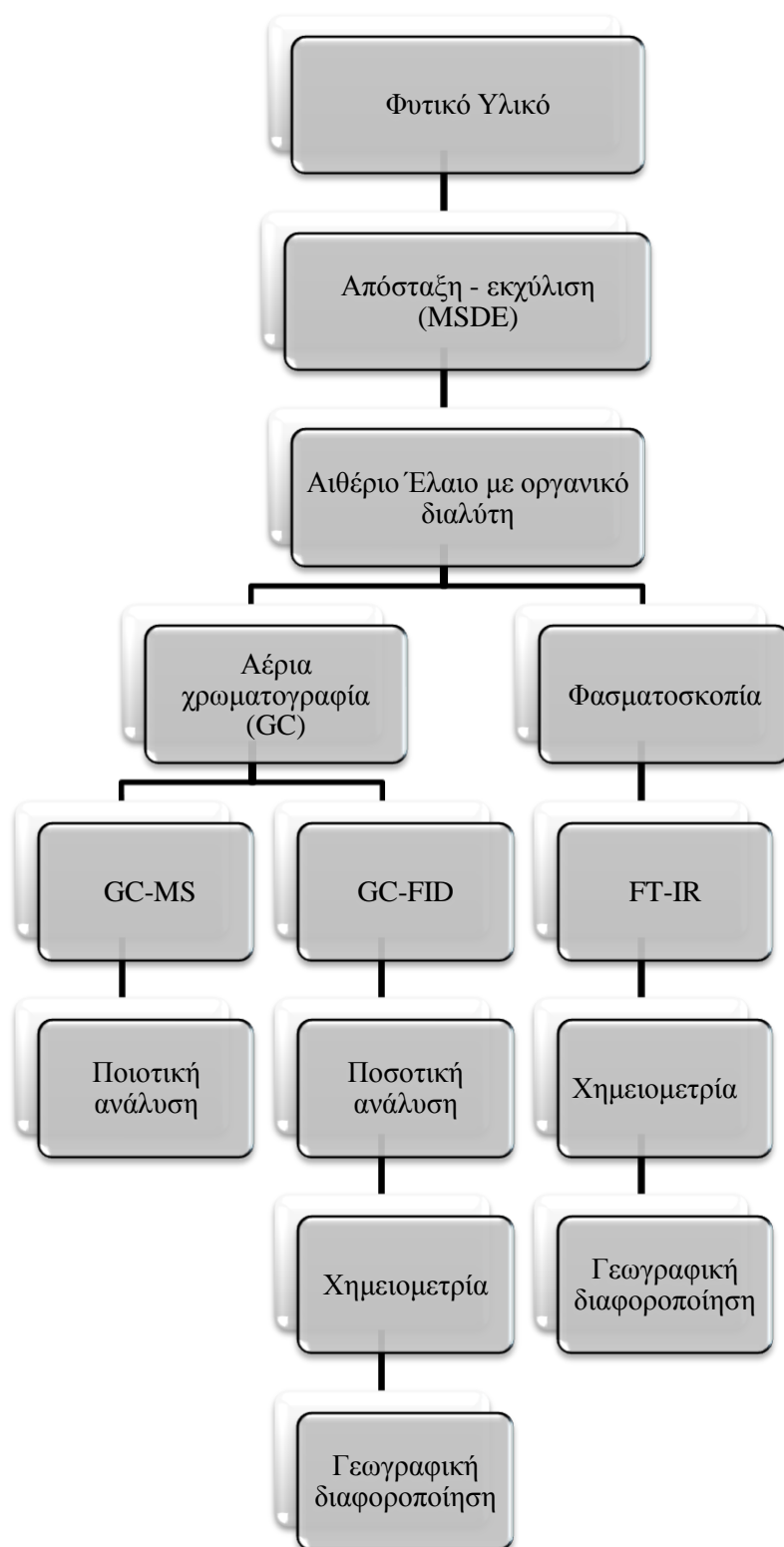
Με βάση τα παραπάνω, ο σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης είναι:

1. Η ποιοτική και ποσοτική ανάλυση του αιθερίου ελαίου δύο πολύ σημαντικών βοτάνων της ελληνικής χλωρίδας, της μέντας (*Mentha piperita* L.) και του χαμομηλιού (*Matricaria chamomilla* L.).
2. Η γεωγραφική διαφοροποίηση των φυτών αυτών με την εφαρμογή της αέριας χρωματογραφίας, της φασματοσκοπίας υπερύθρου και της χημειομετρίας.

Για την ποιοτική ανάλυση των αιθερίων ελαίων χρησιμοποιήθηκε αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματόμετρο μαζών (GC-MS), ενώ για την ποσοτική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (GC-FID).

Για τη γεωγραφική διαφοροποίηση των βοτάνων συνδυάστηκε η χρήση της φασματοσκοπίας υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier και της χημειομετρίας, καθώς επίσης και η χρήση της αέριας χρωματογραφίας με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (ποσοτική ανάλυση αιθερίου ελαίου) και της χημειομετρίας.

Το διάγραμμα ροής της πειραματικής πορείας της παρούσας μελέτης, παρουσιάζεται στο Σχήμα A 3.1.



Σχήμα Α 3.1. Διάγραμμα ροής πειραματικής πορείας.

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B 1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

B 1.1. Φυτικό υλικό

Τα βότανα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη είναι, όπως έχει προαναφερθεί, η μέντα (*Mentha piperita* L.) η οποία ανήκει στην οικογένεια *Labiatae* και το χαμομήλι (*Matricaria chamomilla* L.) το οποίο ανήκει στην οικογένεια *Compositae*.

Η προμήθεια του φυτικού υλικού στην περίπτωση της μέντας έγινε από παραγωγούς της περιοχής της Καρδίτσας και της Αρχαίας Ολυμπίας, καθώς και από την εταιρεία “Μπαγκατζούνης”, από όπου αγοράστηκαν λειοτριβημένα φύλλα μέντας ελληνικής προέλευσης. Χρησιμοποιήθηκαν 10 δείγματα από την κάθε περίπτωση, στο σύνολο 30 (Πίνακας B 1.1). Το τμήμα του φυτικού υλικού που χρησιμοποιήθηκε ήταν τα φύλλα, όπου ήταν αποξηραμένα και λειοτριβήθηκαν με το χέρι σε πορσελάνινο ιγδίο. Αφαιρέθηκαν επίσης οι ξυλοποιημένοι βλαστοί που τυχόν υπήρχαν.

Η προμήθεια του φυτικού υλικού όσον αφορά το χαμομήλι, έγινε από παραγωγούς από την περιοχή της Αρχαίας Ολυμπίας και του Αγρινίου, καθώς και από την εταιρεία “Μπαγκατζούνης”, από όπου αγοράστηκαν ανθοκεφαλές χαμομηλιού βουλγαρικής προέλευσης. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης 10 δείγματα από την κάθε περίπτωση και στο σύνολο 30 (Πίνακας B 1.2). Το τμήμα του φυτικού υλικού που χρησιμοποιήθηκε ήταν οι ανθοκεφαλές, όπου ήταν αποξηραμένες και αφαιρέθηκαν οι ξυλοποιημένοι βλαστοί που τυχόν υπήρχαν.

Πίνακας B 1.1. Δείγματα Μέντας.

Περιοχή προέλευσης	Μέντα	
	Κωδικοποίηση	Αριθμός δειγμάτων
Καρδίτσα	ΜΚ	10
Αρχαία Ολυμπία	ΜΑΟ	10
Ελλάδα	ΜΕΛ	10
Σύνολο		30

Πίνακας Β 1.2. Δείγματα Χαμομηλιού.

Περιοχή προέλευσης	Χαμομήλι	
	Κωδικοποίηση	Αριθμός δειγμάτων
Αρχαία Ολυμπία	ΧΑΟ	10
Αργίνιο	ΧΑΓ	10
Βουλγαρία	ΧΒ	10
Σύνολο		30

Β 1.2. Παραλαβή αιθερίου ελαίου με μικρό-απόσταξη με υδρατμούς και εκχύλιση με οργανικό διαλύτη (MSDE)

Το φυτικό υλικό στην κάθε περίπτωση αποστάχθηκε με τη μέθοδο της μικρό-απόσταξης με υδρατμούς και εκχύλισης με οργανικό διαλύτη με χρήση της συσκευής Likens-Nickerson (Εικόνα Β 1.1), η οποία περιγράφηκε στην παράγραφο Α 2.3.1.

Ο οργανικός διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση ήταν διαιθυλαιθέρας με σταθεροποιητή ΒΗΤ. Σε κάθε απόσταξη-εκχύλιση χρησιμοποιήθηκαν 5 g φυτικό υλικό και 50 mL απιονισμένο νερό τα οποία τοποθετούνταν στη σφαιρική φιάλη της συσκευής και 5 mL διαιθυλεθέρα, από τα οποία 3 mL τοποθετούνταν στην απιοειδή φιάλη και 2 mL στο κύριο σώμα της συσκευής μαζί με απιονισμένο νερό. Η σφαιρική φιάλη με το φυτικό υλικό θερμαινόταν με τη χρήση θερμομανδύα στους 140 °C, ενώ η απιοειδής φιάλη με το διαλύτη θερμαινόταν με τη χρήση μαγνητικού αναδευτήρα με θέρμανση (με χρήση μόνο της θέρμανσης), στους 30-50 °C. Το ψυκτικό υγρό που κυκλοφορούσε στο κύριο σώμα, είχε θερμοκρασία από 0 °C έως -2 °C.

Η απόσταξη-εκχύλιση είχε διάρκεια μία ώρα από το σχηματισμό των πρώτων υδρατμών και 30 λεπτά επιπλέον χωρίς θέρμανση, με σκοπό το διαχωρισμό όλων των πτητικών οργανικών ουσιών και τη μεταφορά τους στη φιάλη με το διαιθυλεθέρα, από όπου γίνεται και η συλλογή του δείγματος, ο τελικός όγκος του οποίου είναι 5 mL. Τέλος, στα δείγματα προστίθεται μικρή ποσότητα άνυδρου θεικού μαγνησίου (MgSO₄) για τυχόν υπολείμματα υγρασίας και φυλάσσονται σε θερμοκρασία -18 °C έως την ανάλυσή τους, όπου φιλτράρονται για την απομάκρυνση του MgSO₄.



Εικόνα Β 1.1. Απόσταξη-εκχύλιση με συσκευή Likens-Nickerson.

Β 1.3. Ποιοτική και ποσοτική ανάλυση αιθερίου ελαίου με αέρια χρωματογραφία (GC-MS και GC-FID)

Η ποιοτική ανάλυση των συστατικών των αιθερίων ελαίων πραγματοποιήθηκε με αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματόμετρο μαζών (GC-MS) ως ανιχνευτή και στη συνέχεια ακολούθησε η ποσοτική ανάλυση με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID). Το σύστημα της αέριας χρωματογραφίας που χρησιμοποιήθηκε φαίνεται στην Εικόνα Β 1.2.

Β 1.3.1. Ποιοτική ανάλυση με GC-MS

Για το διαχωρισμό των συστατικών των παραληφθέντων αιθερίων ελαίων εφαρμόστηκε η τεχνική της αέριας χρωματογραφίας ενώ για την ταυτοποίησή τους χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία μαζών.

Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε ήταν αέριος χρωματογράφος 5890 II της εταιρείας Hewlett-Packard, εφοδιασμένος με ανιχνευτή φασματόμετρο μάζας (Mass Selective

Detector - MSD) τύπου 5972, ο οποίος λειτουργεί σε πεδίο ιονισμού EI 70 eV. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν τριχοειδής τύπου HP-5ms (30 m x 0.25 mm i.d., 0.25 μm πάχος υμενίου). Το φέρον αέριο ήταν ήλιο (He), με ροή 1 mL/λεπτό. Η θερμοκρασία στο σύστημα εισαγωγής του δείγματος ήταν 220 °C και στη γραμμή διαβίβασης του ανιχνευτή (MS transfer line) 290 °C. Το πρόγραμμα ανάλυσης, το οποίο είχε διάρκεια 56 λεπτά, περιελάμβανε άνοδο της θερμοκρασίας της στήλης, η οποία αρχικά παραμένει στους 50 °C για 3 λεπτά, μετά αυξάνεται βαθμιαία στους 180 °C με ρυθμό 3 °C/λεπτό και τέλος με ρυθμό 15 °C/λεπτό φθάνει στους 250 °C όπου παρέμεινε για 5 λεπτά. Ποσότητα 1 μL από κάθε δείγμα, εισήχθη χειροκίνητα στο σύστημα έγχυσης με την τεχνική “splitless”.

Η ταυτοποίηση των συστατικών των αιθερίων ελαίων έγινε με σύγκριση των χρόνων κατακράτησής τους και των φασμάτων μάζας τους με αυτά προτύπων ενώσεων. Επίσης, τα φάσματα μάζας συγκρίθηκαν με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας και των ηλεκτρονικών βιβλιοθηκών φασμάτων Adams 2007, Willey 275 και NIST 98, που υπάρχουν στο λογισμικό του οργάνου.

B 1.3.2. Ποσοτική ανάλυση με GC-FID

Η ποσοτική ανάλυση των συστατικών των αιθερίων ελαίων, πραγματοποιήθηκε μέσω του ίδιου αερίου χρωματογράφου Hewlett-Packard 5890 II, τριχοειδούς στήλης τύπου HP-5ms (30 m x 0.25 mm i.d., 0.25 μm πάχος υμενίου), σε συνδυασμό με ανιχνευτή φλόγας FID. Ο ανιχνευτής αυτός αποτελείται από καυστήρα αερίου, στο άκρο του οποίου καίγεται μίγμα υδρογόνου παρουσία αέρα. Το φέρον αέριο ήταν το ήλιο (He), με ροή 1 mL/λεπτό. Ακολουθήθηκε το ίδιο πρόγραμμα ανάλυσης, που είχε διάρκεια 56 λεπτά και περιελάμβανε άνοδο της θερμοκρασίας της στήλης, η οποία αρχικά παραμένει στους 50 °C για 3 λεπτά, μετά αυξάνεται βαθμιαία στους 180 °C με ρυθμό 3 °C/λεπτό και τέλος με ρυθμό 15 °C/λεπτό φθάνει στους 250 °C όπου παρέμεινε για 5 λεπτά. Η θερμοκρασία στο σύστημα εισαγωγής του δείγματος ήταν 220 °C και στον ανιχνευτή 290 °C. Ποσότητα 1 μL από κάθε δείγμα, εισήχθη χειροκίνητα στο σύστημα έγχυσης με την τεχνική “splitless”.

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των συστατικών του δείγματος χρησιμοποιείται συνήθως το εμβαδόν της κάθε κορυφής του χρωματογραφήματος. Επίσης, χρησιμοποιείται και το ύψος της κάθε κορυφής, το οποίο όμως δίνει λιγότερο αξιόπιστα αποτελέσματα. Στη συγκεκριμένη μελέτη ο ποσοτικός προσδιορισμός των συστατικών

των αιθερίων ελαίων πραγματοποιήθηκε και με τους δύο τρόπους και τα αποτελέσματά του, δηλαδή τα αριθμητικά δεδομένα των χρωματογραφήματων GC-FID θα συνδυαστούν με τη χημειομετρία. Έτσι για την πιστοποίηση της γεωγραφικής προέλευσης των φυτών, οι παράμετροι που θα χρησιμοποιηθούν θα είναι το εμβαδόν αλλά και το ύψος των κορυφών των συστατικών στο κάθε δείγμα.



Εικόνα Β 1.2. Το σύστημα της αέριας χρωματογραφίας που χρησιμοποιήθηκε.

Β 1.4. Φασματοσκοπική μελέτη με FT-IR

Για την παραλαβή των φασμάτων FT-IR των αιθερίων ελαίων των φυτών χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο της εταιρείας Thermo Electron Corporation τύπου Nicolet 6700 με πηγή ακτινοβολίας IR λυχνία νικελίου-χρωμίου (NiChrome), πηγή λέιζερ ατόμων ηλίου και νέου (HeNe) και διαχωριστή δέσμης βρωμιούχο κάλιο (KBr). Ο ανιχνευτής ήταν θερμικός, κατασκευασμένος από δευτεριωμένη θεική τριγλυκίνη (Deuterated TriGlycine Sulfate, DTGS). Το σύστημα της φασματοσκοπίας υπερόθρου που χρησιμοποιήθηκε φαίνεται στην Εικόνα Β 1.3.

Η τεχνική της λήψης των φασμάτων που εφαρμόστηκε, ανήκει στις κλασικές τεχνικές της διαπερατότητας κατά την οποία το δείγμα τοποθετείται σε διάφανα πλακίδια (παράθυρα). Χρησιμοποιήθηκαν πλακίδια σεληνιούχου ψευδάργυρου ZnSe, στα οποία τοποθετήθηκαν $2 \times 40 \mu\text{L}$ από το δείγμα. Για κάθε φάσμα έγιναν 100 σαρώσεις και η ανάλυση ήταν 4 cm^{-1} .

Το χαμομήλι, όπως έχει προαναφερθεί, έχει χαμηλή απόδοση σε αιθέριο έλαιο και έτσι τα δείγματα του χαμομηλιού που αποστάχθηκαν ήταν φτωχά και δεν έδωσαν αξιοποιήσιμα φάσματα FT-IR. Γι' αυτόν το λόγο, συμπυκνώθηκαν με ροή αζώτου και λήφθηκαν τα φάσματά τους ξανά, όπου και ήταν ικανοποιητικά. Η συμπύκνωση πραγματοποιήθηκε στα 4 από τα 5 mL του κάθε δείγματος (1mL χρησιμοποιήθηκε στην ανάλυση με αέρια χρωματογραφία), τα οποία συμπυκνώθηκαν σε 0,5 mL.

Η επεξεργασία των φασμάτων, μετά τη λήψη τους, έγινε χρησιμοποιώντας τις εντολές της ευθυγράμμισης της γραμμής (straight line), της αυτόματης εξομάλυνσης του σήματος (automatic smooth) καθώς και της αυτόματης διόρθωσης της βασικής γραμμής (automatic baseline correct), του λογισμικού του οργάνου OMNIC 7.1.

Τα αριθμητικά δεδομένα των φασμάτων FT-IR των αιθερίων ελαίων θα συνδυαστούν με τη χημειομετρία για την πιστοποίηση της γεωγραφικής διαφοροποίησης των φυτών.



Εικόνα Β 1.3. Το σύστημα της φασματοσκοπίας υπέρυθρου που χρησιμοποιήθηκε.

B 1.5. Χημειομετρία (Heaton, Kelly, Hoogewerff & Woolfe, 2008 - Κανάκης, 2010)

Η στατιστική επεξεργασία των χρωματογραφημάτων GC-FID και των φασμάτων της υπέρυθρης φασματοσκοπία, πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της κανονικής διαχωριστικής ανάλυσης (Canonical Discriminant Analysis - CDA), με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS version 13.0.

Οι μεταβλητές, δηλαδή το ύψος και το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών των χρωματογραφημάτων και οι κυματαριθμοί μιας φασματικής περιοχής των φασμάτων, εισήχθησαν στο μοντέλο μία προς μία και η επιλογή των πιο σημαντικών έγινε μέσω αυτού, με τη χρήση της βηματικής ανάλυσης (stepwise analysis). Με την επιλογή δηλαδή σε κάθε βήμα, της μεταβλητής που δίνει την πιο σημαντική επιπρόσθετη συνεισφορά κατά τη διαχωριστική ανάλυση. Από το μοντέλο εξαιρέθηκαν τιμές οι οποίες ήταν πλεονάζουσες. Έτσι, με τη χρήση πλέον των επιλεγμένων μεταβλητών διαφορετικές ανεξάρτητες διαχωριστικές συναρτήσεις υπολογίστηκαν μέσω της κανονικής διαχωριστικής ανάλυσης. Ο μέγιστος αριθμός των συναρτήσεων είναι ίσος είτε με τον αριθμό των μεταβλητών είτε με τον αριθμό των ομάδων των μεταβλητών, εάν αυτές είναι λιγότερες, μείον ένα. Στην περίπτωση μας, ο μέγιστος αριθμός των συναρτήσεων είναι ίσος με τον αριθμό των ομάδων των μεταβλητών, δηλαδή με τις περιοχές από τις οποίες προέρχονται τα δείγματα, μείον ένα.

Από τις διαχωριστικές συναρτήσεις που υπολογίζονται, ποια έχει την υψηλότερη κανονική συσχέτιση και είναι η περισσότερο διαχωριστική, έχει δηλαδή τη μεγαλύτερη συνεισφορά στο διαχωρισμό, φαίνεται σύμφωνα με τα κανονικά χαρακτηριστικά της κάθε διάκρισης από τις τιμές Eigen. Το πόσο στατιστικώς σημαντική είναι η κάθε διαχωριστική συνάρτηση υπολογίζεται με τη χρήση του λ του Wilks. Οι τιμές αυτής της παραμέτρου κυμαίνονται από 1,0 για την περίπτωση του μη διαχωρισμού έως 0,0 για την περίπτωση του τέλει διαχωρισμού. Η τιμή σημαντικότητας (P) η οποία πρέπει να είναι $<0,001$ και η τιμή X^2 δείχνουν το αν υπάρχει υψηλή σημαντική διαφορά μεταξύ των κέντρων των ομάδων.

Για την επιβεβαίωση της ισχύος του μοντέλου, πραγματοποιήθηκε διασταυρωμένη επικύρωση (cross-validation) με τη μέθοδο leave-one-out. Με τη μέθοδο αυτή γνωστά δείγματα χρησιμοποιούνται ως “άγνωστα” για την επικύρωση του μοντέλου. Κάθε φορά ένα δείγμα αφαιρείται από το σύνολο των δειγμάτων και στη συνέχεια ελέγχεται εάν ταιριάζει στο υπάρχον μοντέλο. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται για το σύνολο των δειγμάτων.

B 2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

B 2.1. Ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των αιθερίων ελαίων

Η ανάλυση με αέρια χρωματογραφία όλων των αιθερίων ελαίων που προέκυψαν από την απόσταξη των δειγμάτων μέντας και χαμομηλιού (συνολικά 60 δείγματα), κατέληξε στην αναγνώριση κάποιων κοινών και κάποιων διαφορετικών συστατικών ανάμεσα στα διαφορετικής γεωγραφικής προέλευσης φυτά. Προέκυψαν 66 αέρια χρωματογραφήματα, από τα οποία τα έξι, ένα από κάθε κατηγορία δείγματος, προήλθαν από την ανάλυση με GC-MS για την ταυτοποίηση των συστατικών των αιθερίων ελαίων, ενώ τα υπόλοιπα 60, ένα για κάθε δείγμα, προήλθαν από την ανάλυση με GC-FID για τον προσδιορισμό των ποσοτικών χαρακτηριστικών των αιθερίων ελαίων και τον μετέπειτα συνδυασμό τους με τη χημειομετρία. Πρέπει να αναφερθεί ότι από τα 60 χρωματογραφήματα GC-FID που λήφθηκαν, κάποια δε χρησιμοποιήθηκαν, αφού λόγω τεχνικού προβλήματος στον ανιχνευτή δεν ήταν ικανοποιητικά.

B 2.1.1. Χαρακτηριστικά αιθερίου ελαίου μέντας

Στον Πίνακα B 2.1 παρουσιάζονται τα αναγνωρισμένα πτητικά συστατικά, που ανιχνεύθηκαν στα αιθέρια έλαια των φύλλων της μέντας από τις διάφορες περιοχές, όπως προέκυψαν από την ανάλυση με αέριο χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS).

Τα συστατικά αυτά ταυτοποιήθηκαν, όπως έχει προαναφερθεί, με σύγκριση του χρόνου κατακράτησής τους (RT) και του φάσματος μάζας τους, με το χρόνο κατακράτησης και το φάσμα μάζας προτύπων ενώσεων καθώς και από τη σύγκριση των φασμάτων μάζας τους, με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας και των βιβλιοθηκών φασμάτων Adams 2007, Willey 275 και NIST 98 που υπάρχουν στο λογισμικό του οργάνου.

Στα Σχήματα B 2.1, B 2.2 και B 2.3 παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα (GC-MS) των αιθερίων ελαίων των δειγμάτων μέντας από την Καρδίτσα, την Αρχαία Ολυμπία και τη μέντα ελληνικής προέλευσης, αντίστοιχα.

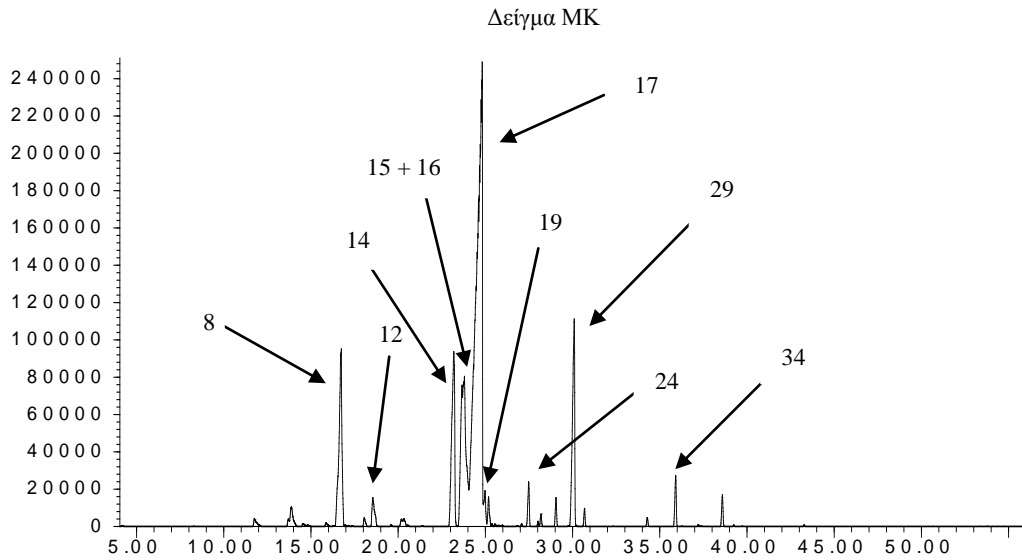
Πίνακας Β 2.1. Πτητικά συστατικά αιθερίων ελαίων μέντας από διαφορετικές περιοχές.

Α/Α	RT(min)	Συστατικό	Περιοχή προέλευσης δείγματος		
			ΜΚ*(%)	ΜΑΟ*(%)	ΜΕΛ*(%)
1	11,7	<i>α</i> -πινένιο	0,41	0,55	- ^α
2	13,6	σαμπινένιο	0,20	0,13	-
3	13,8	<i>β</i> -πινένιο	0,96	0,84	-
4	14,4	μυρκένιο	-	0,12	-
5	15,8	<i>α</i> -τερπινένιο	0,14	0,19	-
6	16,2	<i>ο</i> -κυμένιο	-	0,22	-
7	16,4	λεμονένιο	-	-	0,57
8	16,7	ευκαλυπτόλη	9,23	7,30	5,78
9	16,9	<i>Z</i> - <i>β</i> -οκιμένιο	-	0,27	-
10	17,0	<i>E</i> - <i>β</i> -οκιμένιο	-	0,09	-
11	18,0	<i>γ</i> -τερπινένιο	0,27	0,63	0,29
12	18,5	<i>trans</i> -σαμπινένιο hydrate	1,33	1,41	-
13	22,9	μενθόνη	-	-	14,31
14	23,4	ισομενθόνη	9,07	32,46	5,49
15	23,7	μενθοφουράνιο	5,18	-	-
16	23,9	νεο-μενθόλη	8,61	7,74	-
17	24,0	μενθόλη	48,77	30,30	25,31
18	24,2	τερπινεν-4-όλη	-	-	1,19
19	24,9	ισομενθόλη	1,18	-	-
20	25,2	νεο-ισομενθόλη	0,82	-	-
21	25,8	<i>α</i> -τερπινεόλη	-	-	0,56
22	26,0	<i>dihydro</i> -καρβεόλη	-	-	0,92
23	26,9	<i>cis</i> -καρβεόλη	-	-	0,69
24	27,4	πουλεγόνη	1,13	0,41	2,98

A/A	RT(min)	Συστατικό	Περιοχή προέλευσης δείγματος		
			MK*(%)	MAO*(%)	ΜΕΛ*(%)
25	27,6	καρβόνη	-	-	22,09
26	28,1	πιπεριτόνη	0,28	0,60	0,85
27	29,0	νεο-οξικός μενθυλεστέρας	0,66	0,56	-
28	30,1	θυμόλη	-	6,27	-
29	30,2	οξικός μενθυλεστέρας	8,21	1,08	3,69
30	30,5	καρβακρόλη	-	1,14	5,22
31	30,7	ισο-οξικός μενθυλεστέρας	0,37	-	-
32	34,2	β-μπουρμπονένιο	0,20	0,42	0,48
33	34,4	β-ελεμένιο	-	0,11	0,21
34	35,9	E-καρνοφυλλένιο	1,28	2,08	3,09
35	36,2	β-κοπαένιο	-	0,07	-
36	36,6	β-γουρτζουνένιο	-	-	0,21
37	37,0	E-β-φαρνεσένιο	-	0,29	-
38	38,5	D-γερμακρένιο	0,75	2,04	0,74
39	39,2	δικυκλογερμακρένιο	-	0,26	-
40	40,1	δ-αμορφένιο	-	0,05	-
41	40,2	cis-καλαμένιο	-	-	0,41
42	42,6	σπαθουλενόλη	-	-	0,74
43	42,8	οξείδιο του καρνοφυλλενίου	-	-	0,88
44	43,2	γλομπουλόλη	-	-	0,54
45	43,3	βιριντιφλορόρη	-	0,76	-
46	44,0	κουμπενόλη	-	-	0,25
Σύνολο αναγνωρισμένων συστατικών			99,05	98,39	97,49

^aΔεν ανιχνεύθηκε. MK = Μέντα Καρδίτσας, MAO = Μέντα Αρχ. Ολυμπίας, ΜΕΛ = Μέντα ελληνικής προέλευσης.

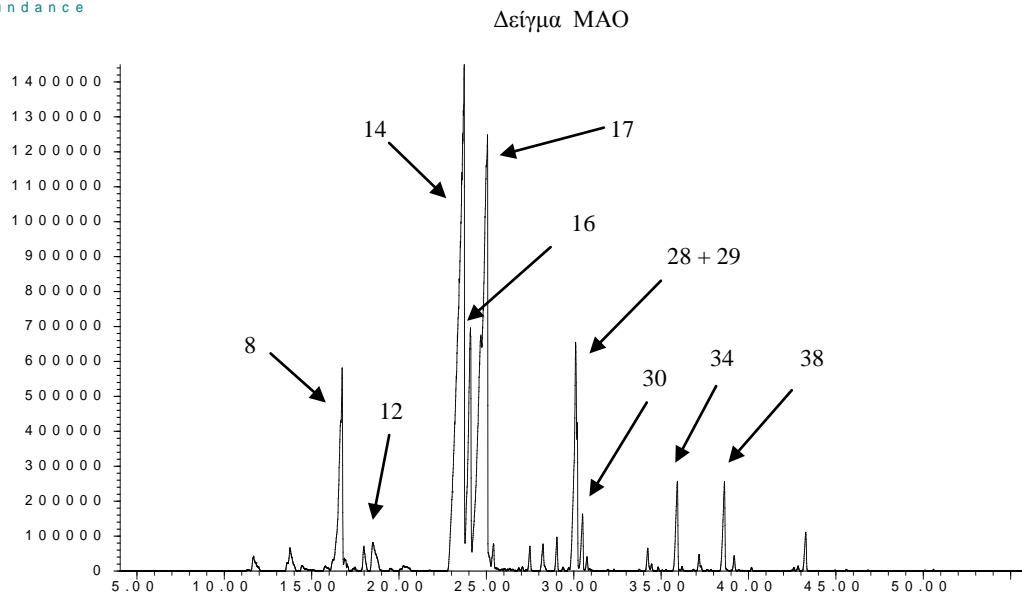
Abundance



Time-->

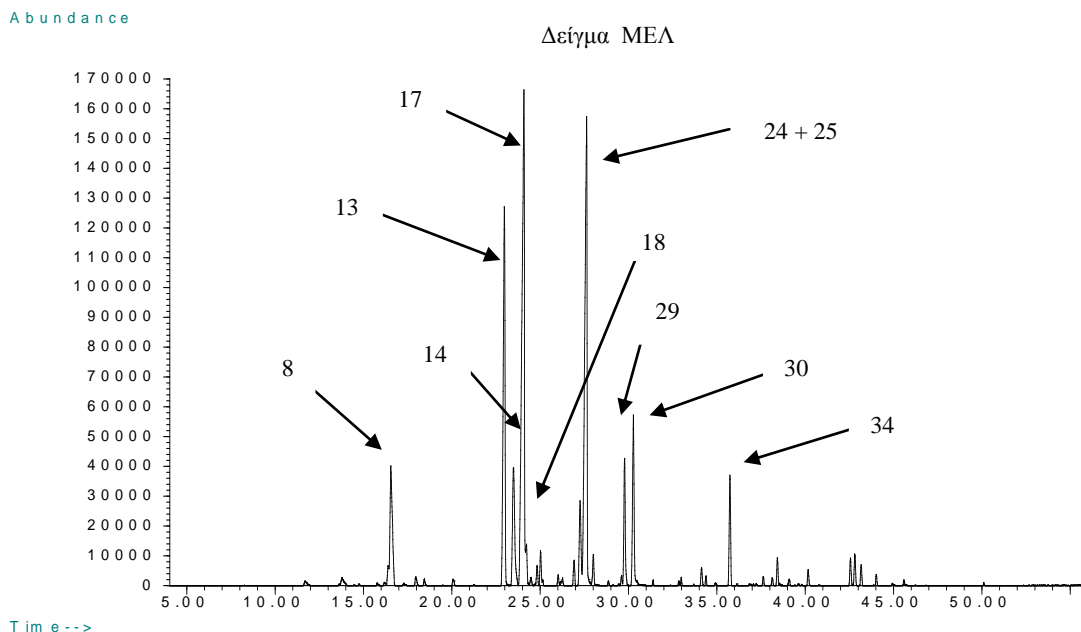
Σχήμα Β 2.1. Αέριο χρωματογράφημα του αιθερίου ελαίου μέντας της περιοχής της Καρδίτσας. Η παραλαβή έγινε σε συσκευή Likens-Nickerson. Οι αριθμοί των κορυφών αντιστοιχούν στα κύρια πτητικά συστατικά του ελαίου (Πίνακας Β 2.1).

Abundance



Time-->

Σχήμα Β 2.2. Αέριο χρωματογράφημα του αιθερίου ελαίου μέντας της περιοχής της Αρχαίας Ολυμπίας. Η παραλαβή έγινε σε συσκευή Likens-Nickerson. Οι αριθμοί των κορυφών αντιστοιχούν στα κύρια πτητικά συστατικά του ελαίου (Πίνακας Β 2.1).



Σχήμα Β 2.3. Αέριο χρωματογράφημα του αιθερίου ελαίου μέντας ελληνικής προέλευσης. Η παραλαβή έγινε σε συσκευή Likens-Nickerson. Οι αριθμοί των κορυφών αντιστοιχούν στα κύρια πτητικά συστατικά του ελαίου (Πίνακας Β 2.1).

Στο αιθέριο έλαιο της μέντας Καρδίτσας (ΜΚ) ανιχνεύθηκαν 31 συστατικά και από αυτά ταυτοποιήθηκαν τα 21, τα οποία όμως αποτελούν το 99,05% του συνόλου των συστατικών. Όπως φαίνεται από τον πίνακα Β 2.1, το κύριο συστατικό του αιθερίου ελαίου είναι η μενθόλη με ποσοστό 48,77%. Ακολουθούν η ευκαλυπτόλη, η ισομενθόνη, η νεο-μενθόλη, ο οξικός μενθυλεστέρας και το μενθοφουράνιο με ποσοστά 9,23%, 9,07%, 8,61%, 8,21% και 5,18%, αντίστοιχα. Αξιόλογα ποσοστά εμφανίζουν επίσης και οι ουσίες *trans*-σαμπινένιο hydrate (1,33%), *E*-καρνοφυλλένιο (1,28%), ισομενθόλη (1,18%) και πουλεγόνη (1,13%).

Στο αιθέριο έλαιο της μέντας Αρχαίας Ολυμπίας (ΜΑΟ) ανιχνεύθηκαν 44 συστατικά, ενώ αναγνωρίστηκαν τα 29 που αποτελούν το 98,39% του συνόλου των συστατικών. Εδώ κυριαρχούν δύο συστατικά, η ισομενθόνη με ποσοστό 32,46% και η μενθόλη με ποσοστό 30,30%. Ακολουθούν η νεο-μενθόλη, η ευκαλυπτόλη και η θυμόλη με ποσοστά 7,74%, 7,30% και 6,27%, αντίστοιχα. Επίσης, σημαντικά ποσοστά εμφανίζουν και το *E*-καρνοφυλλένιο (2,08%), το *D*-γερμακρένιο (2,04%), *trans*-σαμπινένιο hydrate (1,41%), η καρβακρόλη (1,14%) και ο οξικός μενθυλεστέρας (1,08%).

Τέλος, στο αιθέριο έλαιο της μέντας ελληνικής προέλευσης (ΜΕΛ) ανιχνεύθηκαν 37 συστατικά και ταυτοποιήθηκαν τα 25, τα οποία αποτελούν το 97,49% του συνόλου των

συστατικών. Σε αυτήν την περίπτωση κυριαρχούν επίσης δύο συστατικά, η μενθόλη με ποσοστό 25,31% και η καρβόνη με ποσοστό 22,09%, ενώ στο αρκετά υψηλό ποσοστό του 14,31% βρίσκεται και η μενθόνη. Ακολουθούν με σημαντικά ποσοστά οι ουσίες ευκαλυπτόλη (5,78%), ισομενθόνη (5,49%), καρβακρόλη (5,22%), οξικός μενθυλεστέρας (3,69%), *E*-καρνοφυλλένιο (3,09%), πουλεγόνη (2,98%) και τερπιν-4-όλη (1,19%).

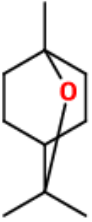
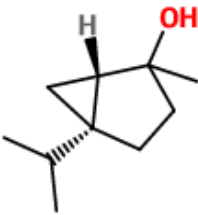
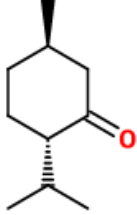
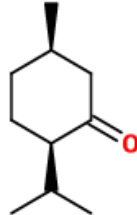
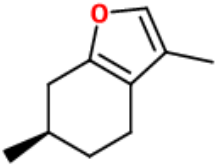
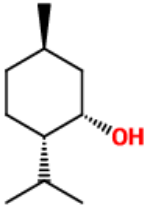
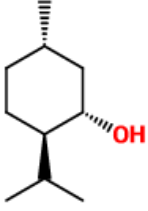
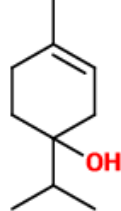
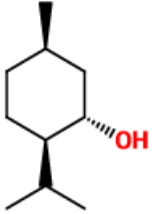
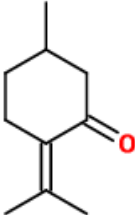
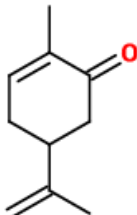
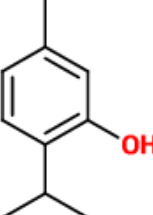
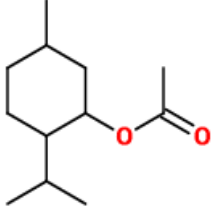
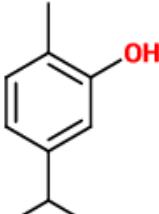
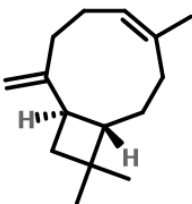
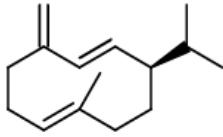
Παρατηρούμε ότι κάποια από τα πτητικά συστατικά υπάρχουν στα δείγματα όλων των περιοχών. Αυτά είναι: η ευκαλυπτόλη (8), το γ -τερπινένιο (11), η ισομενθόνη (14), η μενθόλη (17), η πουλεγόνη (24), η πιπεριτόνη (26), ο οξικός μενθυλεστέρας (29), το β -μπουρμπονένιο (32), το *E*-καρνοφυλλένιο (34) και το *D*-γερμακρένιο (38).

Η ευκαλυπτόλη (8) βρίσκεται σε μεγαλύτερο ποσοστό στη ΜΚ, ακολουθεί η ΜΑΟ και σε λίγο πιο χαμηλό ποσοστό βρίσκεται στη ΜΕΛ. Το ίδιο συμβαίνει και με τη μενθόλη (17), η οποία στη ΜΚ αποτελεί το κυρίαρχο συστατικό, ενώ στη ΜΑΟ και ΜΕΛ αποτελεί το ένα από τα δύο κυρίαρχα συστατικά. Η ισομενθόνη (14) αποτελεί το άλλο κυρίαρχο συστατικό στη ΜΑΟ, ενώ στη ΜΚ και ΜΕΛ βρίσκεται σε αρκετά μικρότερη ποσότητα.

Η πουλεγόνη (24) βρίσκεται σε μεγαλύτερη ποσότητα στη ΜΕΛ, ακολουθεί η ΜΚ ενώ στη ΜΑΟ εμφανίζεται σε αρκετά χαμηλό ποσοστό. Το αντίθετο συμβαίνει με το *D*-γερμακρένιο (38), το οποίο βρίσκεται σε μεγαλύτερη ποσότητα στη ΜΑΟ, ενώ στα δείγματα των άλλων δύο περιοχών βρίσκεται σε χαμηλά ποσοστά. Επίσης σε χαμηλά ποσοστά στα δείγματα και των τριών περιοχών βρίσκονται το γ -τερπινένιο (11), η πιπεριτόνη (26) και το β -μπουρμπονένιο (32). Ο οξικός μενθυλεστέρας (29) εμφανίζεται σε σημαντικό ποσοστό στη ΜΚ και σε πιο χαμηλό στη ΜΕΛ και ΜΑΟ και το *E*-καρνοφυλλένιο (34) εμφανίζεται σε μεγαλύτερη ποσότητα στη ΜΕΛ και ακολουθούν η ΜΑΟ και η ΜΚ.

Πρέπει να παρατηρηθεί, ότι το δεύτερο κυρίαρχο συστατικό στη ΜΕΛ, η καρβόνη (25), δεν εμφανίζεται στα δείγματα των άλλων δύο περιοχών, όπως συμβαίνει και με τη μενθόνη (13), που συναντάται στη ΜΕΛ σε σημαντική ποσότητα και με την τερπινεν-4-όλη (18) που συναντάται σε αρκετά χαμηλότερη αλλά αξιόλογη ποσότητα επίσης. Το μενθοφουράνιο (15) και η ισομενθόλη (19) εμφανίζονται μόνο στη ΜΚ, ενώ η θυμόλη (28) μόνο στη ΜΑΟ. Τέλος, η νεο-μενθόλη (16) και το *trans*-σαμπινένιο hydrate (12) βρίσκονται σε σημαντικές ποσότητες στη ΜΚ και στη ΜΑΟ, ενώ δεν εμφανίζονται στη ΜΕΛ και η καρβακρόλη (30) στη ΜΕΛ και ΜΑΟ, ενώ δεν εμφανίζεται στη ΜΚ.

Στο Σχήμα Β 2.4 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι δομές των κυριότερων πτητικών συστατικών που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα μέντας των τριών διαφορετικών περιοχών.

			
ευκαλυπτόλη	<i>trans</i> -σαμπινένιο hydrate	μενθόνη	ισομενθόνη
			
μενθοφουράνιο	νεο-μενθόλη	μενθόλη	τερπινεν-4-όλη
			
ισομενθόλη	πουλεγόνη	καρβόνη	θυμόλη
			
οξικός μενθυλεστέρας	καρβακρόλη	<i>E</i> -καρνοφυλλένιο	<i>D</i> -γερμακρένιο

Σχήμα Β 2.4. Δομές των κυριότερων πτητικών συστατικών των αιθερίων ελαίων μέντας.

Β 2.1.2. Χαρακτηριστικά αιθερίου ελαίου χαμομηλιού

Στον Πίνακα Β 2.2 παρουσιάζονται τα αναγνωρισμένα πτητικά συστατικά, που ανιχνεύθηκαν στα αιθέρια έλαια των ανθοκεφαλών του χαμομηλιού από τις διάφορες

περιοχές, όπως προέκυψαν από την ανάλυση με αέριο χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS).

Τα συστατικά αυτά ταυτοποιήθηκαν, με σύγκριση του χρόνου κατακράτησής τους (RT) και του φάσματος μάζας τους, με το χρόνο κατακράτησης και το φάσμα μάζας προτύπων ενώσεων καθώς και από τη σύγκριση των φασμάτων μάζας τους, με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας και των βιβλιοθηκών φασμάτων Adams 2007, Willey 275 και NIST 98 που υπάρχουν στο λογισμικό του οργάνου.

Στα Σχήματα Β 2.5, Β 2.6 και Β 2.7 παρουσιάζονται τα χρωματογραφήματα (GC-MS) των αιθερίων ελαίων των δειγμάτων χαμομηλιού από την Αρχαία Ολυμπία, το Αγρίνιο και το χαμομήλι βουλγαρικής προέλευσης αντίστοιχα.

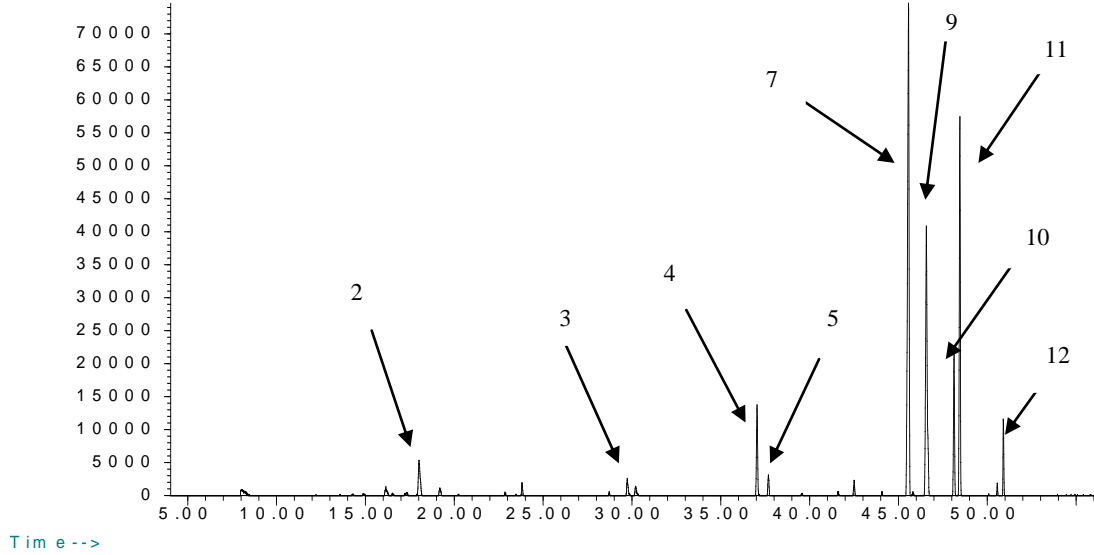
Πίνακας Β 2.2. Πτητικά συστατικά αιθερίων ελαίων χαμομηλιού από διαφορετικές περιοχές.

Α/Α	RT (min)	Συστατικό	Περιοχή προέλευσης δείγματος		
			ΧΑΟ*(%)	ΧΑΓ*(%)	ΧΒ*(%)
1	16,1	π-κυμένιο	0,70	0,44	- ^a
2	18,0	αρτεμισία κετόνη	3,07	1,37	0,26
3	29,7	θυμόλη	1,08	-	-
4	37,0	<i>E-β</i> -φαρνεσένιο	4,97	4,50	9,04
5	37,6	<i>dehydro</i> -σεσκισινενόλη	1,04	-	-
6	42,5	σπαθουλενόλη	0,74	1,33	-
7	45,5	<i>B-α</i> -οξείδιο της μπιζαμπολόλης	35,93	33,76	2,15
8	46,7	<i>A-α</i> -οξείδιο της μπιζαμπολόλης	-	17,44	65,68
9	46,5	<i>α</i> -μπιζαμπολόλη	20,19	-	-
10	48,1	χαμαζουλένιο	6,99	3,67	-
11	48,4	<i>A-α</i> -οξείδιο της μπιζαμπολόλης	18,51	26,80	12,94
12	50,9	<i>Z</i> -σπιροαιθέρας	2,87	8,49	8,38
13	51,0	<i>E</i> -σπιροαιθέρας	-	-	0,19
Σύνολο αναγνωρισμένων συστατικών			96,09	97,80	98,64

^a Δεν ανιχνεύθηκε. ΧΑΟ = Χαμομήλι Αρχ. Ολυμπίας, ΧΑΓ = Χαμομήλι Αγρινίου, ΧΒ = Χαμομήλι βουλγαρικής προέλευσης.

Abundance

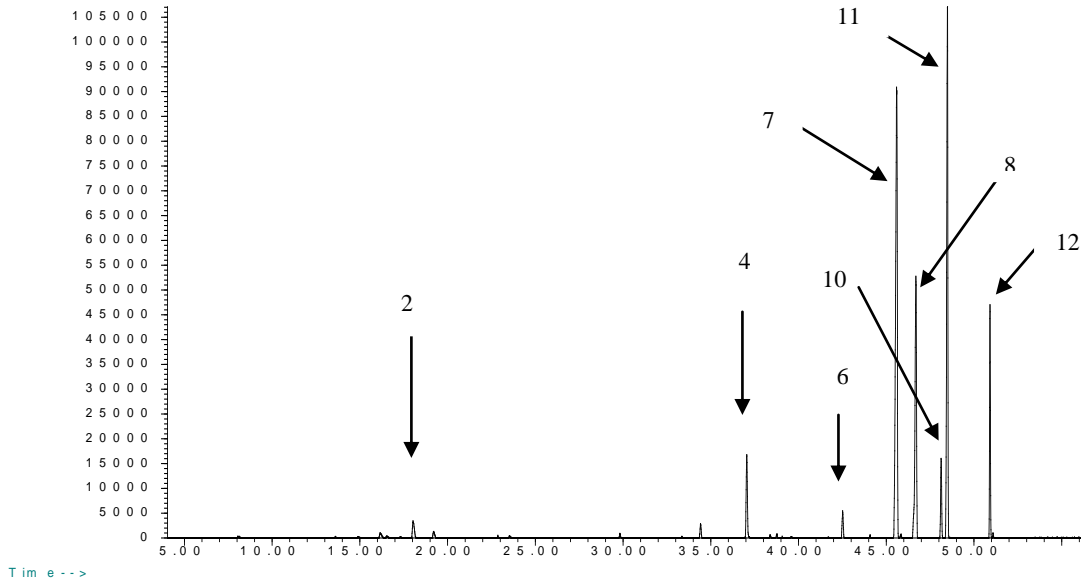
Δείγμα ΧΑΟ



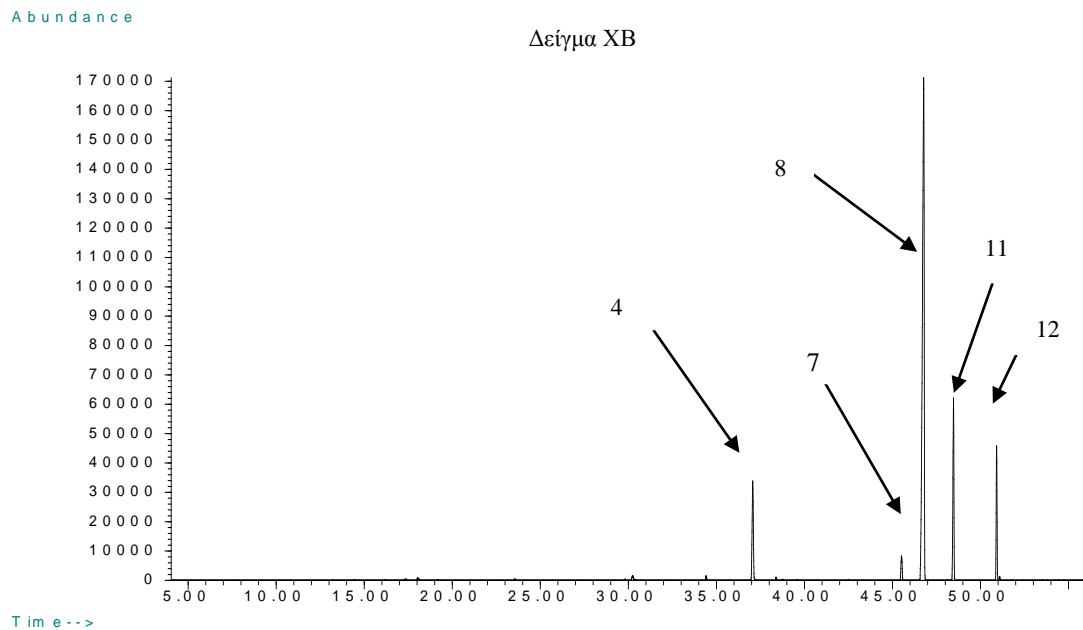
Σχήμα Β 2.5. Αέριο χρωματογράφημα του αιθερίου ελαίου χαμομηλιού της περιοχής της Αρχαίας Ολυμπίας. Η παραλαβή έγινε σε συσκευή Likens-Nickerson. Οι αριθμοί των κορυφών αντιστοιχούν στα κύρια πτητικά συστατικά του ελαίου (Πίνακας Β 2.2).

Abundance

Δείγμα ΧΑΓ



Σχήμα Β 2.6. Αέριο χρωματογράφημα του αιθερίου ελαίου χαμομηλιού της περιοχής του Αγρινίου. Η παραλαβή έγινε σε συσκευή Likens-Nickerson. Οι αριθμοί των κορυφών αντιστοιχούν στα κύρια πτητικά συστατικά του ελαίου (Πίνακας Β 2.2).



Σχήμα Β 2.7. Αέριο χρωματογράφημα του αιθερίου ελαίου χαμομηλιού βουλγαρικής προέλευσης. Η παραλαβή έγινε σε συσκευή Likens-Nickerson. Οι αριθμοί των κορυφών αντιστοιχούν στα κύρια πτητικά συστατικά του ελαίου (Πίνακας Β 2.2).

Στο αιθέριο έλαιο του χαμομηλιού Αρχαίας Ολυμπίας (ΧΑΟ) ανιχνεύθηκαν 23 συστατικά και από αυτά ταυτοποιήθηκαν τα 11, τα οποία όμως αποτελούν το 96,09% του συνόλου των συστατικών. Όπως φαίνεται από τον πίνακα Β 2.2, το κύριο συστατικό του αιθερίου ελαίου είναι το *B-α-οξείδιο* της μπιζαμπολόλης με ποσοστό 35,93%. Ακολουθούν η *α-μπιζαμπολόλη* και το *A-α-οξείδιο* της μπιζαμπολόλης με ποσοστά 20,19% και 18,51%, αντίστοιχα. Αξιόλογα ποσοστά εμφανίζουν επίσης και οι ουσίες χαμαζουλένιο (6,99%), *E-β-φαρνεσένιο* (4,97%), αρτεμισία κετόνη (3,07%), *Z-σπιροαιθέρας* (2,87%), θυμόλη (1,08%) και *dehydro-σεσκισινεόλη* (1,04%). Τέλος, με χαμηλά ποσοστά ανιχνεύονται η σπαθουλενόλη (0,74%) και το *π-κυμένιο* (0,70%).

Στο αιθέριο έλαιο του χαμομηλιού Αγρινίου (ΧΑΓ) ανιχνεύθηκαν 20 συστατικά και αναγνωρίστηκαν τα 9, τα οποία αποτελούν το 97,80% του συνόλου των συστατικών. Εδώ κυριαρχούν δύο συστατικά, το *B-α-οξείδιο* της μπιζαμπολόλης με ποσοστό 33,76% και το *A-α-οξείδιο* της μπιζαμπολόλης με ποσοστό 26,80%. Ακολουθούν το *A-α-οξείδιο* της μπιζαμπολόλης και ο *Z-σπιροαιθέρας* με ποσοστά 17,44% και 8,49%, αντίστοιχα. Επίσης, σημαντικά ποσοστά εμφανίζουν το *E-β-φαρνεσένιο* (4,50%), το χαμαζουλένιο (3,67%), η αρτεμισία κετόνη (1,37%) και η σπαθουλενόλη (1,33%). Με χαμηλότερο ποσοστό ανιχνεύεται το *π-κυμένιο* (0,44%).

Τέλος, στο αιθέριο έλαιο του χαμομηλιού βουλγαρικής προέλευσης (XB) ανιχνεύθηκαν 13 συστατικά, ενώ ταυτοποιήθηκαν τα 7 που αποτελούν το 98,64% του συνόλου των συστατικών. Σε αυτήν την περίπτωση το συστατικό που κυριαρχεί είναι το *A-α-οξείδιο* της μπιζαμπολόνης με ποσοστό 65,68%. Ακολουθούν οι ουσίες *A-α-οξείδιο* της μπιζαμπολόλης (12,95%), *E-β-φαρνεσένιο* (9,04%), *Z-σπιροαιθέρας* (8,38%) και *B-α-οξείδιο* της μπιζαμπολόλης (2,15%). Σε χαμηλότερα ποσοστά εμφανίζονται η αρτεμισία κετόνη (0,26%) και ο *E-σπιροαιθέρας* (0,19%).

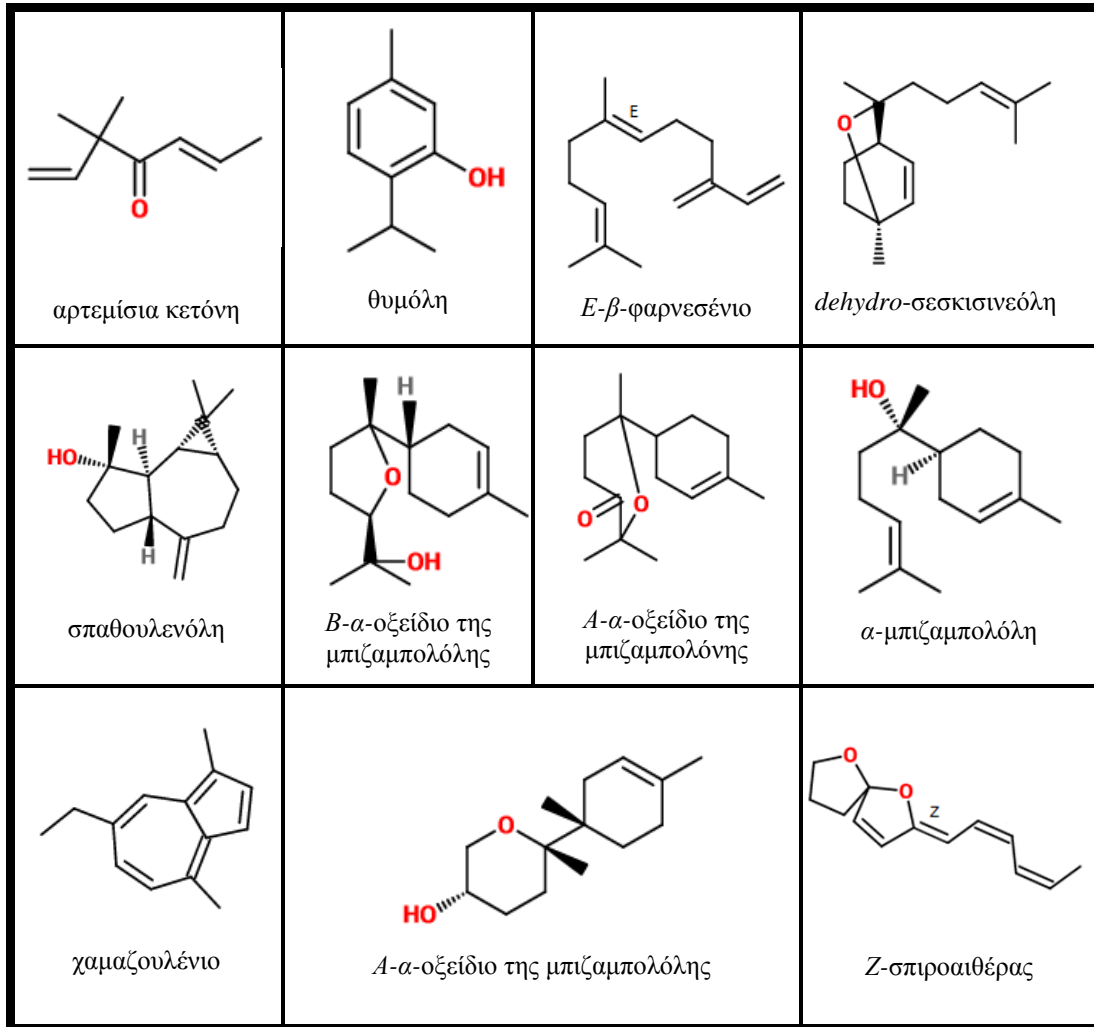
Ορισμένα από τα πτητικά συστατικά που ανιχνεύθηκαν, υπήρχαν στα αιθέρια έλαια και των τριών δειγμάτων χαμομηλιού. Αυτά είναι: η αρτεμισία κετόνη (2), το *E-β-φαρνεσένιο* (4), το *B-α-οξείδιο* της μπιζαμπολόλης (7), το *A-α-οξείδιο* της μπιζαμπολόλης (11) και ο *Z-σπιροαιθέρας* (12).

Πρέπει να παρατηρηθεί, ότι το *B-α-οξείδιο* της μπιζαμπολόλης (7) αποτελεί το κυρίαρχο συστατικό στο XAO και XAG ενώ στο XB βρίσκεται σε σχετικά μικρή ποσότητα. Επίσης το *A-α-οξείδιο* της μπιζαμπολόλης (11) εμφανίζεται σε αρκετά μεγαλύτερη ποσότητα στο XAG και ακολουθούν το XAO και το XB. Αντίθετα, το *E-β-φαρνεσένιο* (4) εμφανίζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό στο XB από ότι στα XAO και XAG όπου εμφανίζεται στην ίδια περίπου χαμηλότερη ποσότητα. Επίσης στην ίδια περίπου ποσότητα, βρίσκεται ο *Z-σπιροαιθέρας* (12) στο XAG και XB, ενώ στο XAO σε χαμηλότερη. Τέλος, η αρτεμισία κετόνη (2) ανιχνεύθηκε σε αξιόλογη ποσότητα στο XAO, σε χαμηλότερη στο XAG και σε αρκετά μικρότερη ποσότητα στο XB.

Σημαντικό είναι ακόμα ότι το *A-α-οξείδιο* της μπιζαμπολόνης (8) που είναι το κυρίαρχο συστατικό στο XB, βρίσκεται σε σημαντική αλλά αρκετά χαμηλότερη ποσότητα στο XAG, ενώ δεν ανιχνεύεται καθόλου στο XAO. Αντίθετα το χαμαζουλένιο (10), το οποίο προσδίδει το μπλε χρώμα στο αιθέριο έλαιο του χαμομηλιού, εμφανίζεται σε αξιόλογη ποσότητα στο XAO, σε λίγο χαμηλότερη στο XAG, ενώ δεν εμφανίζεται στο XB. Επίσης, στα XAO και XAG εμφανίζονται με χαμηλά ποσοστά η σπαθουλενόλη (6) και το π-κυμένιο (1) και δεν εμφανίζονται στο XB.

Τέλος, ο *E-σπιροαιθέρας* (13) ανιχνεύεται σε πολύ μικρό ποσοστό, μόνο στο XB και η θυμόλη (3) και η *dehydro-σεσκινεόλη* (5) ανιχνεύονται σε χαμηλά αλλά αξιόλογα ποσοστά μόνο στο XAO, στο οποίο επίσης μόνο ανιχνεύεται σε αρκετά υψηλό ποσοστό η *α-μπιζαμπολόλη*.

Στο Σχήμα Β 2.8 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι δομές των κυριότερων πτητικών συστατικών που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα χαμομηλιού των τριών διαφορετικών περιοχών.



Σχήμα Β 2.8. Δομές των κυριότερων πτητικών συστατικών των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού.

Β 2.2. Γεωγραφική διαφοροποίηση βοτάνων με εφαρμογή αέριας χρωματογραφίας (GC-FID) και χημειομετρίας

Τα αιθέρια έλαια που παραλήφθηκαν από τη μέντα και το χαμομήλι της κάθε περιοχής αναλύθηκαν με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (GC-FID) για τον προσδιορισμό των ποσοτικών χαρακτηριστικών τους, τα οποία συνδυάστηκαν με τη χημειομετρία για να πιστοποιηθεί η γεωγραφική προέλευση των φυτών.

Β 2.2.1. Γεωγραφική διαφοροποίηση μέντας με GC-FID και χημειομετρία

Για τη γεωγραφική διαφοροποίηση της μέντας με εφαρμογή GC-FID και χημειομετρίας, χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 27 αέρια χρωματογραφήματα, τα

αριθμητικά δεδομένα των οποίων επεξεργάστηκαν στατιστικά. Από αυτά, δέκα προέκυψαν από την ανάλυση του αιθερίου ελαίου της ΜΚ, δέκα από την ανάλυση του αιθερίου ελαίου της ΜΑΟ και τέλος επτά από τη ΜΕΛ. Τα ποσοτικά χαρακτηριστικά που χρησιμοποιήθηκαν στη στατιστική επεξεργασία ως μεταβλητές, είναι το ύψος και το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών του κάθε δείγματος.

B 2.2.1.1. Ύψος κορυφών

Στον Πίνακα Β 2.3 παρουσιάζονται τα κανονικά χαρακτηριστικά της διάκρισης (canonical discriminant characteristics), ενώ στον Πίνακα Β 2.4 φαίνεται η συνεισφορά κάθε μεταβλητής σε κάθε διαχωριστική ανάλυση, μετά από την «κανονικοποίηση», τοποθετώντας δηλαδή την κάθε μεταβλητή στην ίδια πλατφόρμα.

Πίνακας Β 2.3. Κανονικά χαρακτηριστικά διάκρισης σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών των αιθερίων ελαίων της μέντας.

Συνάρτηση	Τιμή Eigen	Ποσοστό Διακύμανσης (%)	Αθροιστικό Ποσοστό (%)	Κανονική Συσχέτιση	Wilks' Λάμδα	X ²	Βαθμοί Ελευθερίας	Σημαντικότητα (P)
1	47,349	95,1	95,1	0,990	0,006	112,414	10	0,000
2	2,426	4,9	100,0	0,841	0,292	27,088	4	0,000

Όπως φαίνεται από τον πίνακα, οι διαχωριστικές συναρτήσεις που υπολογίστηκαν μέσω της κανονικής διαχωριστικής ανάλυσης είναι δύο, όσες δηλαδή οι περιοχές από τις οποίες προέρχονται τα δείγματα, μείον μία.

Οι τιμές Eigen δείχνουν ότι η πρώτη διαχωριστική συνάρτηση έχει την υψηλότερη κανονική συσχέτιση (0,990) και εξηγεί το 95,1 % της ολικής διακύμανσης, έχει δηλαδή τη μεγαλύτερη συνεισφορά στο διαχωρισμό (95,1 %). Το πόσο στατιστικώς σημαντική είναι αυτή η διαχωριστική συνάρτηση υπολογίζεται με τη χρήση του λ του Wilks, όπου είναι 0,006 και δείχνει την πολύ καλή διαχωριστική ικανότητα του μοντέλου. Η τιμή σημαντικότητας (P) η οποία είναι <0,001 και η τιμή X² δείχνουν ότι υπάρχει υψηλή σημαντική διαφορά μεταξύ των κέντρων των ομάδων.

Πίνακας Β 2.4. Κανονικοποιημένοι συντελεστές και δομικός πίνακας μεταβλητών (συστατικών αιθερίων ελαίων) που χρησιμοποιήθηκαν για την κανονική διαχωριστική ανάλυση σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών της μέντας.

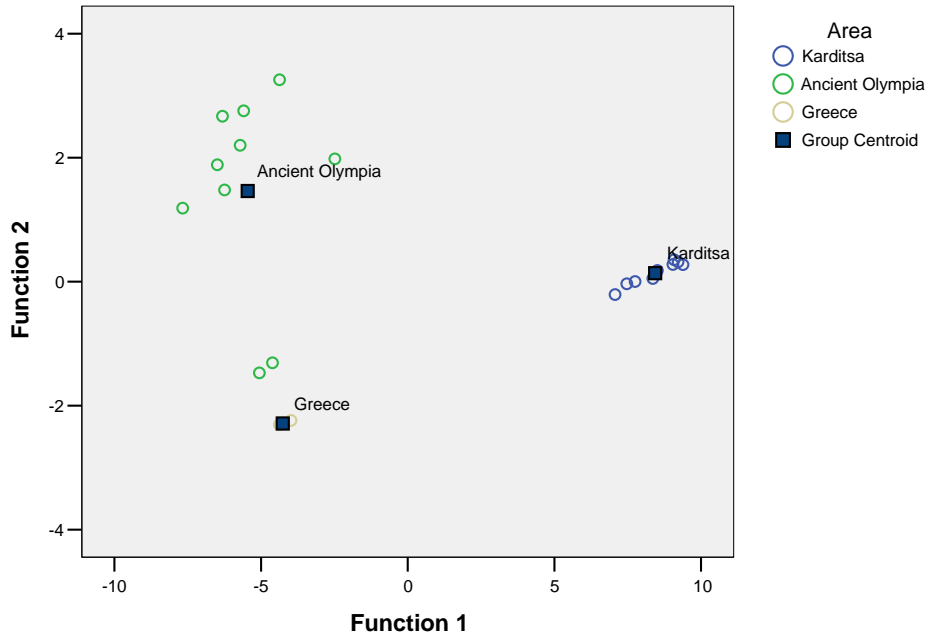
Μεταβλητές (συστατικά)	Κανονικοποιημένοι Συντελεστές		Δομικός Πίνακας	
	Συνάρτηση 1	Συνάρτηση 2	Συνάρτηση 1	Συνάρτηση 2
σαμπινένιο	-5,246	-0,892	0,158	0,400
<i>trans</i> - σαμπινένιο- ισομενθόνη	7,684	1,382	0,144	0,605
θυμόλη	-5,656	1,677	-0,123	0,645
β -κοπαένιο	1,127	-1,992	-0,066	0,344

Σύμφωνα με τους κανονικοποιημένους συντελεστές η πρώτη συνάρτηση σχετίζεται με τα συστατικά *trans*-σαμπινένιο-hydrate, θυμόλη και σαμπινένιο, τα οποία έχουν και τη μεγαλύτερη συνεισφορά. Τα συστατικά αυτά, όπως γίνεται εύκολα αντιληπτό, είτε δεν ανιχνεύονται στα αιθέρια έλαια και των τριών περιοχών, όπως συμβαίνει με τα τρία παραπάνω συστατικά, είτε ανιχνεύονται αλλά με σημαντικές διαφορές στην ποσότητά τους και έτσι δημιουργούν το διαχωρισμό. Όσον αφορά τη δεύτερη διαχωριστική συνάρτηση, τα συστατικά που έχουν τη μεγαλύτερη συνεισφορά είναι το β -κοπαένιο, η θυμόλη και το *trans*-σαμπινένιο-hydrate.

Ο δομικός πίνακας δείχνει το συσχετισμό της κάθε μεταβλητής του μοντέλου με τις δύο διαχωριστικές συναρτήσεις. Η πρώτη διαχωριστική συνάρτηση σχετίζεται κυρίως με τα συστατικά σαμπινένιο, *trans*-σαμπινένιο-hydrate και θυμόλη. Η δεύτερη διαχωριστική συνάρτηση σχετίζεται κυρίως με τα συστατικά θυμόλη και *trans*-σαμπινένιο-hydrate.

Το Σχήμα Β 2.9 δείχνει το διαχωρισμό μεταξύ των ομάδων, δηλαδή μεταξύ των περιοχών από τις οποίες προέρχονται τα δείγματα, ο οποίος βασίστηκε στις διαχωριστικές συναρτήσεις 1 και 2. Στον Πίνακα Β 2.5 φαίνονται τα αποτελέσματα της κατάταξης που πραγματοποιήθηκε κατά την κανονική διαχωριστική ανάλυση καθώς και της διασταυρούμενης επικύρωσης.

Canonical Discriminant Functions



Σχήμα Β 2.9. Γραφική παράσταση των διαχωριστικών συναρτήσεων 1 και 2 των 27 χρωματογραφημάτων GC-FID των αιθερίων ελαίων μέντας σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών.

Πίνακας Β 2.5. Αποτελέσματα κατάταξης της διαχωριστικής ανάλυσης και της διασταυρούμενης επικύρωσης σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών της μέντας.

Classification Results^{b,c}

			Predicted Group Membership			Total
			Karditsa	Ancient Olympia	Greece	
Original	Count	Karditsa	10	0	0	10
		Ancient Olympia	0	8	2	10
		Greece	0	0	7	7
	%	Karditsa	100,0	,0	,0	100,0
		Ancient Olympia	,0	80,0	20,0	100,0
		Greece	,0	,0	100,0	100,0
Cross-validated ^a	Count	Karditsa	10	0	0	10
		Ancient Olympia	0	8	2	10
		Greece	0	0	7	7
	%	Karditsa	100,0	,0	,0	100,0
		Ancient Olympia	,0	80,0	20,0	100,0
		Greece	,0	,0	100,0	100,0

- a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.
- b. 92,6% of original grouped cases correctly classified.
- c. 92,6% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Από τα αποτελέσματα της κατάταξης που πραγματοποιήθηκε κατά την κανονική διαχωριστική ανάλυση (Σχήμα Β 2.9, Πίνακας Β 2.5), διαπιστώνεται ότι τα δείγματα της μέντας κατατάσσονται στις περιοχές απ' όπου προέρχονται σε ποσοστό 92,6 %. Από τα αποτελέσματα της διασταυρούμενης επικύρωσης (Πίνακας Β 2.5), επίσης το 92,6 % των δειγμάτων μπορούν να καταταχθούν σωστά στις γεωγραφικές περιοχές. Αξίζει να παρατηρηθεί, ότι όπως φαίνεται από το Σχήμα Β 2.9 στην περίπτωση της ΜΕΛ όλα τα δείγματα βρίσκονται πολύ κοντά στο κέντρο της ομάδας τους. Αυτό είναι πιθανό να οφείλεται στο γεγονός ότι η ΜΕΛ είναι εμπορικό σκεύασμα και η συλλογή των δειγμάτων ίσως έχει γίνει από εντοπισμένο σημείο, σε αντίθεση με τη ΜΚ και τη ΜΑΟ που προέρχονται από παραγωγούς και η συλλογή των δειγμάτων ίσως έχει γίνει από διαφορετικά σημεία των εκτάσεων των παραγωγών.

Β 2.2.1.2. Εμβαδόν κορυφών

Στον Πίνακα Β 2.6 παρουσιάζονται τα κανονικά χαρακτηριστικά της διάκρισης και στον Πίνακα Β 2.7 φαίνεται η συνεισφορά κάθε μεταβλητής σε κάθε διαχωριστική ανάλυση, μετά από την «κανονικοποίηση», τοποθετώντας δηλαδή την κάθε μεταβλητή στην ίδια πλατφόρμα.

Πίνακας Β 2.6. Κανονικά χαρακτηριστικά διάκρισης σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών των αιθερίων ελαίων της μέντας.

Συνάρτηση	Τιμή Eigen	Ποσοστό Διακύμανσης (%)	Αθροιστικό Ποσοστό (%)	Κανονική Συσχέτιση	Wilks' Λάμδα	X ²	Βαθμοί Ελευθερίας	Σημαντικότητα (P)
1	63,031	78,0	78,0	0,992	0,001	152,518	12	0,000
2	17,812	22,0	100,0	0,973	0,053	63,092	5	0,000

Οι διαχωριστικές συναρτήσεις που υπολογίστηκαν μέσω της κανονικής διαχωριστικής ανάλυσης είναι δύο, όσες δηλαδή οι περιοχές από τις οποίες προέρχονται τα δείγματα, μείον μία. Οι τιμές Eigen δείχνουν ότι η πρώτη διαχωριστική συνάρτηση έχει την υψηλότερη κανονική συσχέτιση (0,992) και είναι η περισσότερο διαχωριστική, αφού έχει τη μεγαλύτερη συνεισφορά στο διαχωρισμό (78,0 %). Η τιμή του λ του Wilks για αυτήν τη συνάρτηση είναι 0,001 και δείχνει την πολύ καλή διαχωριστική ικανότητα του μοντέλου. Η τιμή σημαντικότητας (P) η οποία είναι <0,001 και η τιμή X² δείχνουν ότι υπάρχει υψηλή σημαντική διαφορά μεταξύ των κέντρων των ομάδων.

Πίνακας Β 2.7. Κανονικοποιημένοι συντελεστές και δομικός πίνακας μεταβλητών (συστατικών αιθερίων ελαίων) που χρησιμοποιήθηκαν για την κανονική διαχωριστική ανάλυση σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών της μέντας.

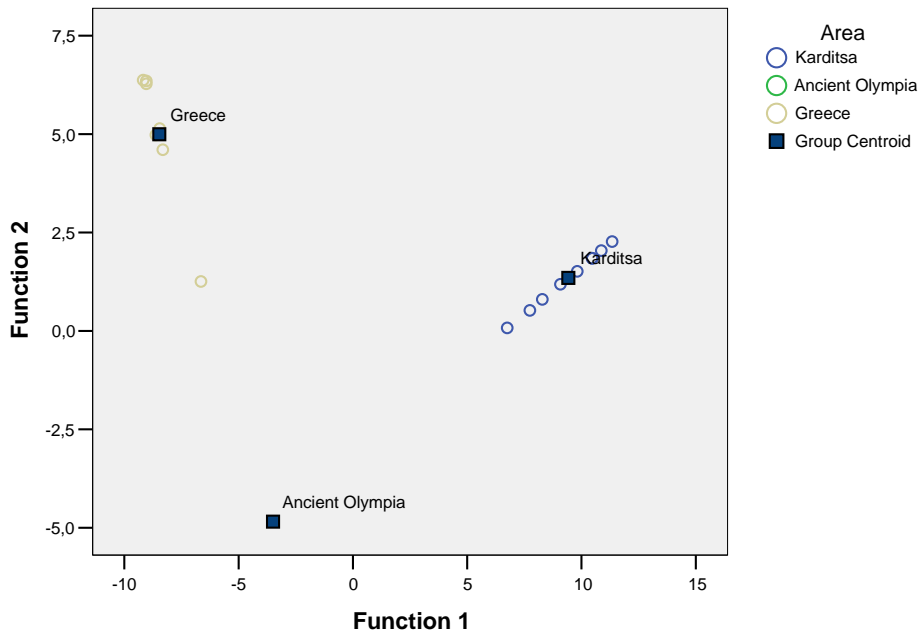
Μεταβλητές (συστατικά)	Κανονικοποιημένοι Συντελεστές		Δομικός Πίνακας	
	Συνάρτηση 1	Συνάρτηση 2	Συνάρτηση 1	Συνάρτηση 2
λεμονένιο	-13,911	26,045	-0,082	0,172
μενθόνη	4,259	-6,312	-0,069	0,145
νεο-ισομενθόλη	16,499	7,877	0,241	0,122
καρβόνη	10,638	-19,155	-0,067	0,141
οξικός μενθυλεστέρας	-19,448	-9,278	0,199	0,109
ίσο-οξικός μενθυλεστέρας	3,194	1,524	0,238	0,120

Σύμφωνα με τους κανονικοποιημένους συντελεστές η πρώτη συνάρτηση σχετίζεται με τα συστατικά οξικό μενθυλεστέρα, νεο-ισομενθόλη και λεμονένιο, τα οποία έχουν και τη μεγαλύτερη συνεισφορά. Τα συστατικά αυτά, είτε δεν ανιχνεύονται στα αιθέρια έλαια και των τριών περιοχών (νεο-ισομενθόλη, λεμονένιο), είτε ανιχνεύονται αλλά με σημαντικές διαφορές στην ποσότητά τους (οξικός μενθυλεστέρας) και έτσι δημιουργούν το διαχωρισμό. Όσον αφορά τη δεύτερη διαχωριστική συνάρτηση, τα συστατικά που έχουν τη μεγαλύτερη συνεισφορά είναι το λεμονένιο και η καρβόνη.

Ο δομικός πίνακας δείχνει το συσχετισμό της κάθε μεταβλητής του μοντέλου με τις δύο διαχωριστικές συναρτήσεις. Η πρώτη διαχωριστική συνάρτηση σχετίζεται κυρίως με τα συστατικά νεο-ισομενθόλη, ίσο-οξικό μενθυλεστέρα και οξικό μενθυλεστέρα. Η δεύτερη διαχωριστική συνάρτηση σχετίζεται κυρίως με το λεμονένιο.

Το Σχήμα Β 2.10 δείχνει το διαχωρισμό μεταξύ των ομάδων, δηλαδή μεταξύ των περιοχών από τις οποίες προέρχονται τα δείγματα, ο οποίος βασίστηκε στις διαχωριστικές συναρτήσεις 1 και 2. Στον Πίνακα Β 2.8 φαίνονται τα αποτελέσματα της κατάταξης που πραγματοποιήθηκε κατά την κανονική διαχωριστική ανάλυση καθώς και της διασταυρούμενης επικύρωσης.

Canonical Discriminant Functions



Σχήμα Β 2.10. Γραφική παράσταση των διαχωριστικών συναρτήσεων 1 και 2 των 27 χρωματογραφημάτων GC-FID των αιθερίων ελαίων μέντας σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών.

Πίνακας Β 2.8. Αποτελέσματα κατάταξης της διαχωριστικής ανάλυσης και της διασταυρούμενης επικύρωσης σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών της μέντας.

Classification Results^{b,c}

			Predicted Group Membership			Total
			Karditsa	Ancient Olympia	Greece	
Original	Count	Karditsa	10	0	0	10
		Ancient Olympia	0	10	0	10
		Greece	0	0	7	7
	%	Karditsa	100,0	,0	,0	100,0
		Ancient Olympia	,0	100,0	,0	100,0
		Greece	,0	,0	100,0	100,0
Cross-validated ^a	Count	Karditsa	10	0	0	10
		Ancient Olympia	0	10	0	10
		Greece	0	1	6	7
	%	Karditsa	100,0	,0	,0	100,0
		Ancient Olympia	,0	100,0	,0	100,0
		Greece	,0	14,3	85,7	100,0

a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 100,0% of original grouped cases correctly classified.

c. 96,3% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Από τα αποτελέσματα της κατάταξης που πραγματοποιήθηκε κατά την κανονική διαχωριστική ανάλυση (Σχήμα Β 2.10, Πίνακας Β 2.8), διαπιστώνεται ότι τα δείγματα της μέντας κατατάσσονται στις περιοχές από όπου προέρχονται σε ποσοστό 100,0 %. Από τα αποτελέσματα της διασταυρούμενης επικύρωσης (Πίνακας Β 2.8), το 96,3 % των δειγμάτων μπορούν να καταταχθούν σωστά στις γεωγραφικές περιοχές. Τέλος, στο Σχήμα Β 2.10 παρατηρούμε ότι στην περίπτωση της ΜΑΟ όλα τα δείγματα βρίσκονται ακριβώς πάνω στο κέντρο της ομάδας τους. Το γεγονός αυτό, ίσως δείχνει ότι στην έκταση απ' όπου έγινε η συλλογή των δειγμάτων αυτών δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις εδαφοκλιματικές συνθήκες.

Β 2.2.2. Γεωγραφική διαφοροποίηση χαμομηλιού με GC-FID και χημειομετρία

Για τη γεωγραφική διαφοροποίηση του χαμομηλιού με εφαρμογή GC-FID και χημειομετρίας, χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 10 αέρια χρωματογραφήματα, δύο προέκυψαν από την ανάλυση του αιθερίου ελαίου του ΧΑΟ, πέντε από την ανάλυση του αιθερίου ελαίου του ΧΑΓ και τρία από το ΧΒ. Τα αριθμητικά δεδομένα των χρωματογραφημάτων αυτών επεξεργάστηκαν στατιστικά σύμφωνα με το ύψος και το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών του κάθε δείγματος.

Β 2.2.2.1. Ύψος κορυφών

Στον Πίνακα Β 2.9 παρουσιάζονται τα κανονικά χαρακτηριστικά της διάκρισης (canonical discriminant characteristics), ενώ στον Πίνακα Β 2.10 φαίνεται η συνεισφορά κάθε μεταβλητής σε κάθε διαχωριστική ανάλυση, μετά από την «κανονικοποίηση», τοποθετώντας δηλαδή την κάθε μεταβλητή στην ίδια πλατφόρμα.

Πίνακας Β 2.9. Κανονικά χαρακτηριστικά διάκρισης σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών των αιθερίων ελαίων του χαμομηλιού.

Συνάρτηση	Τιμή Eigen	Ποσοστό Διακύμανσης (%)	Αθροιστικό Ποσοστό (%)	Κανονική Συσχέτιση	Wilks' Λάμδα	X ²	Βαθμοί Ελευθερίας	Σημαντικότητα (P)
1	221,037	99,7	99,7	0,998	0,003	38,806	4	0,000
2	0,764	0,3	100,0	0,658	0,567	3,688	1	0,055

Οι διαχωριστικές συναρτήσεις που υπολογίστηκαν μέσω της κανονικής διαχωριστικής ανάλυσης είναι δύο, όσες δηλαδή οι περιοχές από τις οποίες προέρχονται τα δείγματα,

μείον μία. Οι τιμές Eigen δείχνουν ότι η πρώτη διαχωριστική συνάρτηση έχει την υψηλότερη κανονική συσχέτιση (0,998) και εξηγεί το 99,7 % της ολικής διακύμανσης, είναι δηλαδή η περισσότερο διαχωριστική. Η τιμή του λ του Wilks για τη συνάρτηση αυτή είναι 0,003 και δείχνει την πολύ καλή διαχωριστική ικανότητα του μοντέλου. Η τιμή σημαντικότητας (P) η οποία είναι <0,001 και η τιμή X^2 δείχνουν ότι υπάρχει υψηλή σημαντική διαφορά μεταξύ των κέντρων των ομάδων.

Πίνακας Β 2.10. Κανονικοποιημένοι συντελεστές και δομικός πίνακας μεταβλητών (συστατικών αιθερίων ελαίων) που χρησιμοποιήθηκαν για την κανονική διαχωριστική ανάλυση σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών του χαμομηλιού.

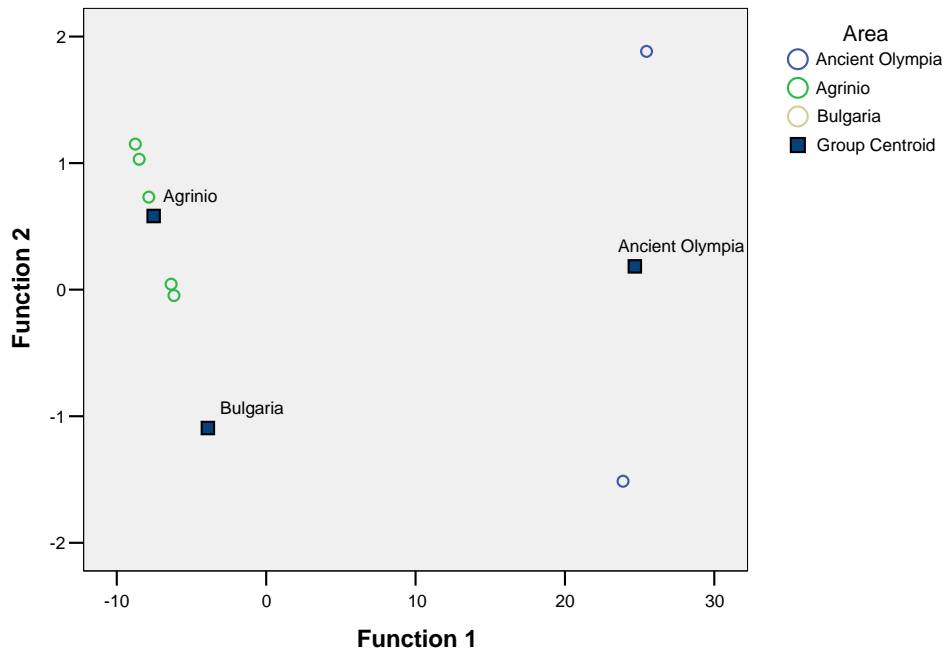
Μεταβλητές (συστατικά)	Κανονικοποιημένοι Συντελεστές		Δομικός Πίνακας	
	Συνάρτηση 1	Συνάρτηση 2	Συνάρτηση 1	Συνάρτηση 2
π-κυμένιο	4,746	-1,090	0,419	0,908
σπαθουλενόλη	-4,421	2,042	0,224	0,975

Σύμφωνα με τους κανονικοποιημένους συντελεστές η πρώτη συνάρτηση σχετίζεται και με τα δύο συστατικά που συνεισφέρουν στο διαχωρισμό, αυτά είναι το π-κυμένιο και η σπαθουλενόλη. Τα συστατικά αυτά, δεν ανιχνεύονται στα αιθέρια έλαια και των τριών περιοχών και έτσι δημιουργούν το διαχωρισμό. Όσον αφορά τη δεύτερη διαχωριστική συνάρτηση, το συστατικό που έχει τη μεγαλύτερη συνεισφορά είναι η σπαθουλενόλη.

Ο δομικός πίνακας δείχνει το συσχετισμό της κάθε μεταβλητής του μοντέλου με τις δύο διαχωριστικές συναρτήσεις. Η πρώτη διαχωριστική συνάρτηση σχετίζεται κυρίως με το συστατικό π-κυμένιο, ενώ η δεύτερη διαχωριστική συνάρτηση σχετίζεται σχεδόν στον ίδιο βαθμό και με τα δύο συστατικά.

Το Σχήμα Β 2.11 δείχνει το διαχωρισμό μεταξύ των ομάδων, δηλαδή μεταξύ των περιοχών από τις οποίες προέρχονται τα δείγματα, ο οποίος βασίστηκε στις διαχωριστικές συναρτήσεις 1 και 2. Στον Πίνακα Β 2.11 φαίνονται τα αποτελέσματα της κατάταξης που πραγματοποιήθηκε κατά την κανονική διαχωριστική ανάλυση καθώς και της διασταυρούμενης επικύρωσης.

Canonical Discriminant Functions



Σχήμα Β 2.11. Γραφική παράσταση των διαχωριστικών συναρτήσεων 1 και 2 των 10 χρωματογραφημάτων GC-FID των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών.

Πίνακας Β 2.11. Αποτελέσματα κατάταξης της διαχωριστικής ανάλυσης και της διασταυρούμενης επικύρωσης σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών του χαμομηλιού.

Classification Results^{a,c}

			Predicted Group Membership			Total
			Ancient Olympia	Agrinio	Bulgaria	
Original	Count	Ancient Olympia	2	0	0	2
		Agrinio	0	5	0	5
		Bulgaria	0	0	3	3
	%	Ancient Olympia	100,0	,0	,0	100,0
		Agrinio	,0	100,0	,0	100,0
		Bulgaria	,0	,0	100,0	100,0
Cross-validated ^b	Count	Ancient Olympia	0	0	2	2
		Agrinio	0	5	0	5
		Bulgaria	0	0	3	3
	%	Ancient Olympia	,0	,0	100,0	100,0
		Agrinio	,0	100,0	,0	100,0
		Bulgaria	,0	,0	100,0	100,0

- a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.
- b. 100,0% of original grouped cases correctly classified.
- c. 80,0% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Από τα αποτελέσματα της κατάταξης που πραγματοποιήθηκε κατά την κανονική διαχωριστική ανάλυση (Σχήμα Β 2.11, Πίνακας Β 2.11), διαπιστώνεται ότι τα δείγματα του χαμομηλιού κατατάσσονται στις περιοχές από όπου προέρχονται σε ποσοστό 100,0 %. Από τα αποτελέσματα της διασταυρούμενης επικύρωσης (Πίνακας Β 2.11), το 80,0 % των δειγμάτων μπορούν να καταταχθούν σωστά στις γεωγραφικές περιοχές. Στο Σχήμα Β 2.11 μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι στην περίπτωση του ΧΒ όλα τα δείγματα βρίσκονται ακριβώς πάνω στο κέντρο της ομάδας τους, κάτι που πιθανόν εξηγείται από το γεγονός ότι το ΧΒ είναι εμπορικό σκεύασμα και η συλλογή των δειγμάτων ίσως έχει γίνει από εντοπισμένο σημείο, σε αντίθεση με το ΧΑΟ και το ΧΑΓ που προέρχονται από παραγωγούς και η συλλογή των δειγμάτων ίσως έχει γίνει από διαφορετικά σημεία των εκτάσεων των παραγωγών.

Β 2.2.2.2. Εμβαδόν κορυφών

Στον Πίνακα Β 2.12 παρουσιάζονται τα κανονικά χαρακτηριστικά της διάκρισης και στον Πίνακα Β 2.13 φαίνεται η συνεισφορά κάθε μεταβλητής σε κάθε διαχωριστική ανάλυση, μετά από την «κανονικοποίηση», τοποθετώντας δηλαδή την κάθε μεταβλητή στην ίδια πλατφόρμα.

Πίνακας Β 2.12. Κανονικά χαρακτηριστικά διάκρισης σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών των αιθερίων ελαίων του χαμομηλιού.

Συνάρτηση	Τιμή Eigen	Ποσοστό Διακύμανσης (%)	Αθροιστικό Ποσοστό (%)	Κανονική Συσχέτιση	Wilks' Λάμδα	X ²	Βαθμοί Ελευθερίας	Σημαντικότητα (P)
1	306,750	99,5	99,5	0,998	0,001	36,649	4	0,000
2	1,545	0,5	100,0	0,779	0,393	5,138	1	0,023

Οι διαχωριστικές συναρτήσεις που υπολογίστηκαν μέσω της κανονικής διαχωριστικής ανάλυσης είναι δύο, όσες δηλαδή οι περιοχές από τις οποίες προέρχονται τα δείγματα, μείον μία. Οι τιμές Eigen δείχνουν ότι η πρώτη διαχωριστική συνάρτηση έχει την υψηλότερη κανονική συσχέτιση (0,998) είναι δηλαδή η περισσότερο διαχωριστική και έχει τη μεγαλύτερη συνεισφορά στο διαχωρισμό (99,5 %). Η τιμή του λ του Wilks για αυτήν τη συνάρτηση είναι 0,001 και δείχνει την πολύ καλή διαχωριστική ικανότητα του μοντέλου. Η τιμή σημαντικότητας (P) η οποία είναι <0,001 και η τιμή X² δείχνουν ότι υπάρχει υψηλή σημαντική διαφορά μεταξύ των κέντρων των ομάδων.

Πίνακας Β 2.13. Κανονικοποιημένοι συντελεστές και δομικός πίνακας μεταβλητών (συστατικών αιθερίων ελαίων) που χρησιμοποιήθηκαν για την κανονική διαχωριστική ανάλυση σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών του χαμομηλιού.

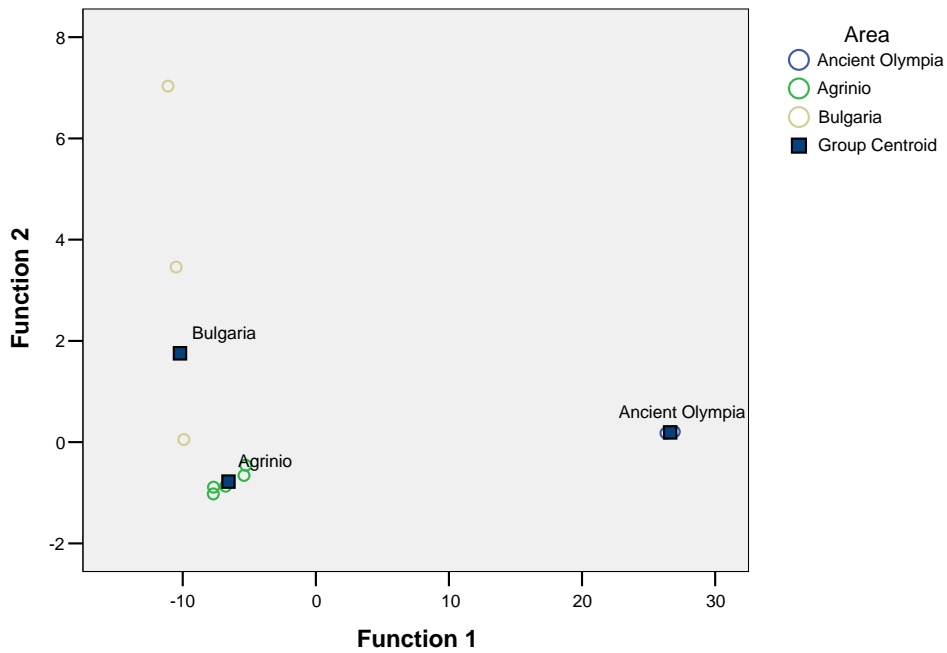
Μεταβλητές (συστατικά)	Κανονικοποιημένοι Συντελεστές		Δομικός Πίνακας	
	Συνάρτηση 1	Συνάρτηση 2	Συνάρτηση 1	Συνάρτηση 2
σπαθουλενόλη	1,007	0,044	0,986	0,168
<i>A-α</i> -οξείδιο της μπιζαμπολόνης	-0,170	0,994	-0,043	0,999

Σύμφωνα με τους κανονικοποιημένους συντελεστές η πρώτη συνάρτηση σχετίζεται και με το συστατικό σπαθουλενόλη και έχει τη μεγαλύτερη συνεισφορά. Η σπαθουλενόλη, όπως και το *A-α*-οξείδιο της μπιζαμπολόνης δεν ανιχνεύονται στα αιθέρια έλαια και των τριών περιοχών και έτσι δημιουργούν το διαχωρισμό. Όσον αφορά τη δεύτερη διαχωριστική συνάρτηση, το συστατικό που έχει τη μεγαλύτερη συνεισφορά είναι το *A-α*-οξείδιο της μπιζαμπολόνης.

Ο δομικός πίνακας δείχνει το συσχετισμό της κάθε μεταβλητής του μοντέλου με τις δύο διαχωριστικές συναρτήσεις. Η πρώτη διαχωριστική συνάρτηση σχετίζεται κυρίως με το συστατικό σπαθουλενόλη, ενώ η δεύτερη διαχωριστική συνάρτηση σχετίζεται με το *A-α*-οξείδιο της μπιζαμπολόνης.

Το Σχήμα Β 2.12 δείχνει το διαχωρισμό μεταξύ των ομάδων, δηλαδή μεταξύ των περιοχών από τις οποίες προέρχονται τα δείγματα, ο οποίος βασίστηκε στις διαχωριστικές συναρτήσεις 1 και 2. Στον Πίνακα Β 2.14 φαίνονται τα αποτελέσματα της κατάταξης που πραγματοποιήθηκε κατά την κανονική διαχωριστική ανάλυση καθώς και της διασταυρούμενης επικύρωσης.

Canonical Discriminant Functions



Σχήμα Β 2.12. Γραφική παράσταση των διαχωριστικών συναρτήσεων 1 και 2 των 10 χρωματογραφημάτων GC-FID των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών.

Πίνακας Β 2.14. Αποτελέσματα κατάταξης της διαχωριστικής ανάλυσης και της διασταυρούμενης επικύρωσης σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών του χαμομηλιού.

Classification Results^{b,c}

			Predicted Group Membership			Total
			Ancient Olympia	Agrinio	Bulgaria	
Original	Count	Ancient Olympia	2	0	0	2
		Agrinio	0	5	0	5
		Bulgaria	0	0	3	3
	%	Ancient Olympia	100,0	,0	,0	100,0
		Agrinio	,0	100,0	,0	100,0
		Bulgaria	,0	,0	100,0	100,0
Cross-validated ^a	Count	Ancient Olympia	2	0	0	2
		Agrinio	0	5	0	5
		Bulgaria	0	1	2	3
	%	Ancient Olympia	100,0	,0	,0	100,0
		Agrinio	,0	100,0	,0	100,0
		Bulgaria	,0	33,3	66,7	100,0

a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 100,0% of original grouped cases correctly classified.

c. 90,0% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Από τα αποτελέσματα της κατάταξης που πραγματοποιήθηκε κατά την κανονική διαχωριστική ανάλυση (Σχήμα Β 2.12, Πίνακας Β 2.14), διαπιστώνεται ότι τα δείγματα του χαμομηλιού κατατάσσονται στις περιοχές από όπου προέρχονται σε ποσοστό 100,0 %. Από τα αποτελέσματα της διασταυρούμενης επικύρωσης (Πίνακας Β 2.14), το 90,0 % των δειγμάτων μπορούν να καταταχθούν σωστά στις γεωγραφικές περιοχές. Στο Σχήμα Β 2.12 μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι στην περίπτωση του ΧΑΟ όλα τα δείγματα βρίσκονται πολύ κοντά στο κέντρο της ομάδας τους, γεγονός που ίσως δείχνει ότι στην έκταση απ' όπου έγινε η συλλογή των δειγμάτων αυτών δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις εδαφοκλιματικές συνθήκες.

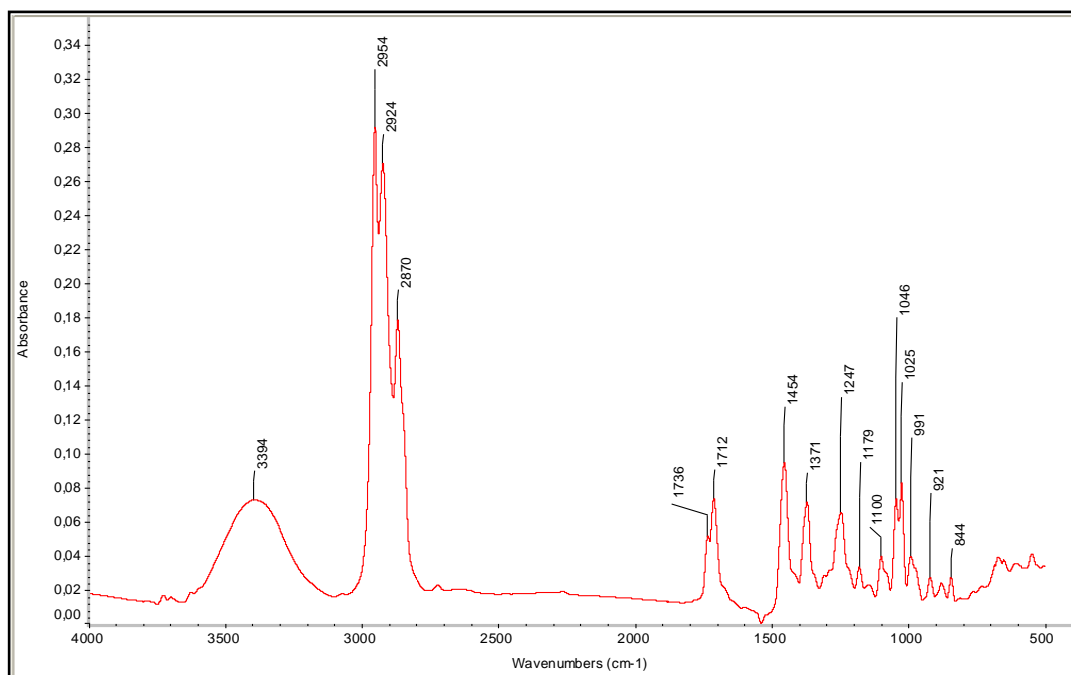
Β 2.3. Μελέτη των φασμάτων FT-IR των αιθερίων ελαίων

Τα αιθέρια έλαια που προέκυψαν από την απόσταξη των φυτών της μέντας και του χαμομηλιού, αναλύθηκαν και με τη χρήση της φασματοσκοπίας υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR). Έτσι, καταγράφηκαν συνολικά 60 φάσματα, ένα για κάθε δείγμα. Αφού μελετήθηκαν, δηλαδή αναγνωρίστηκαν και αποδόθηκαν οι κορυφές τους, έπειτα επεξεργάστηκαν στατιστικά για τη γεωγραφική διαφοροποίηση των φυτών.

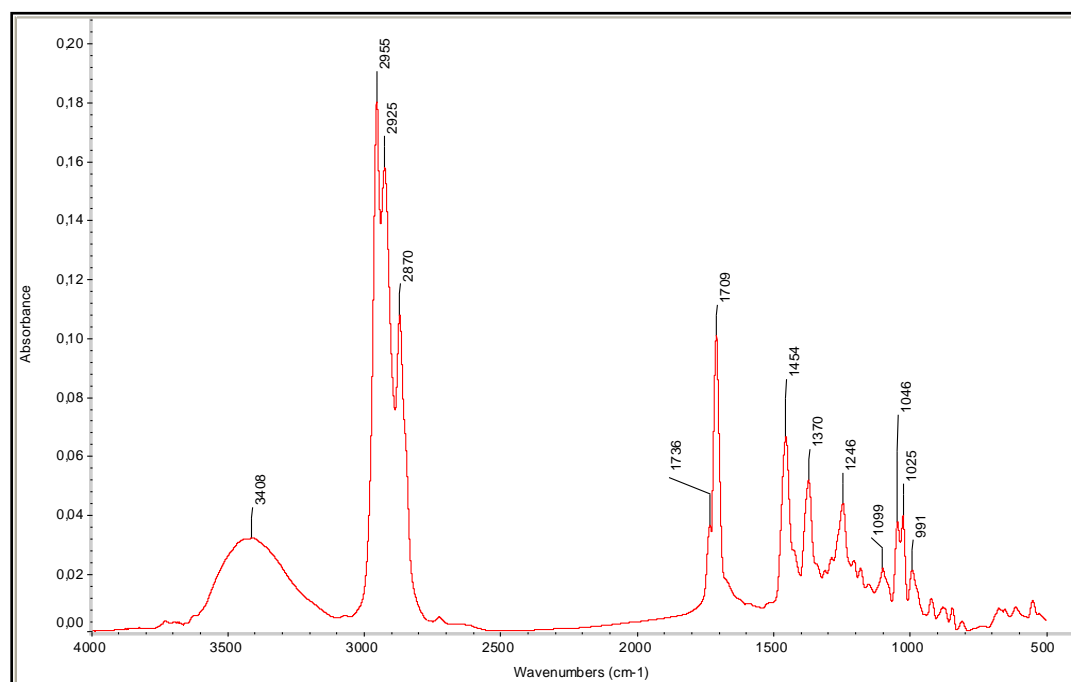
Η αναγνώριση και απόδοση των κορυφών των φασμάτων πραγματοποιήθηκε μέσω πινάκων που περιέχουν τις χαρακτηριστικές απορροφήσεις των διαφόρων λειτουργικών ομάδων με τους αντίστοιχους κυματάρθμους.

Β 2.3.1. Φάσματα FT-IR αιθερίου ελαίου μέντας

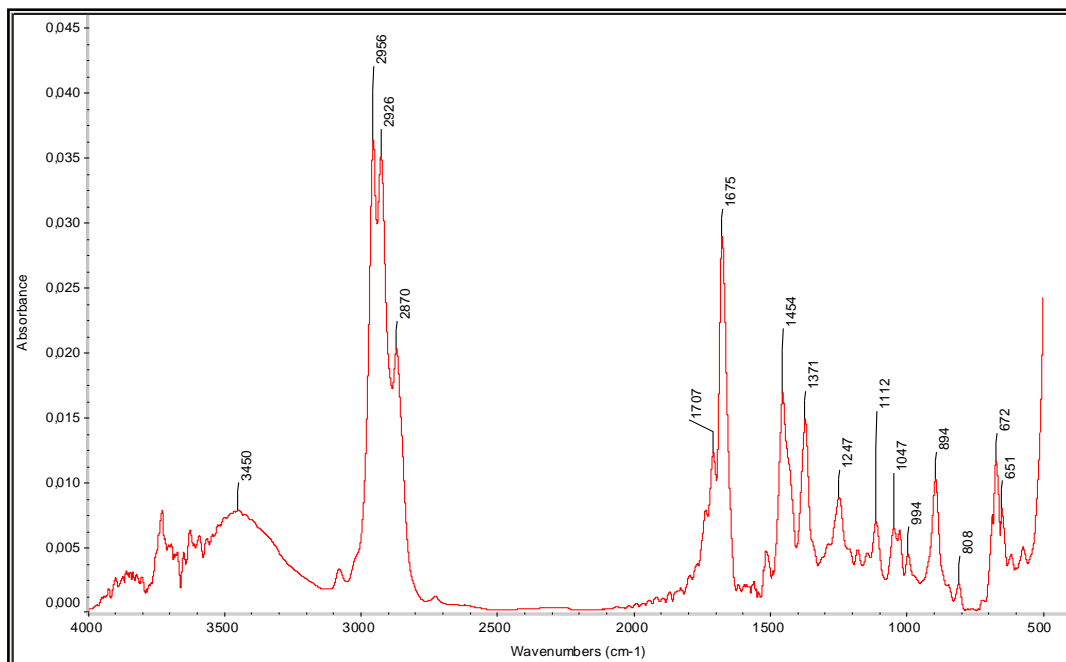
Στα Σχήματα Β 2.13, Β 2.14 και Β 2.15 που ακολουθούν παρουσιάζονται τρία τυπικά φάσματα FT-IR των αιθερίων ελαίων μέντας από τις τρεις διαφορετικές προελεύσεις, την Καρδίτσα, την Αρχαία Ολυμπία και τη μέντα ελληνικής προέλευσης.



Σχήμα Β 2.13. Φάσμα FT-IR των αιθερίων ελαίων μέντας από την περιοχή της Καρδίτσας.



Σχήμα Β 2.14. Φάσμα FT-IR των αιθερίων ελαίων μέντας από την περιοχή της Αρχαίας Ολυμπίας.



Σχήμα B 2.15. Φάσμα FT-IR των αιθερίων ελαίων μέντας ελληνικής προέλευσης.

Στα παραπάνω καταγραφόμενα φάσματα παρατηρούνται δύο κύριες περιοχές κορυφών, η πρώτη μεταξύ $3450\text{-}2870\text{ cm}^{-1}$ και η δεύτερη μεταξύ $1736\text{-}651\text{ cm}^{-1}$. Στην πρώτη περιοχή κοντά στα 3400 cm^{-1} υπάρχει και στα τρία φάσματα μία ευρεία πλατειά κορυφή που οφείλεται σε δονήσεις τάσεις -OH , κυρίως λόγω της περιεχόμενης υγρασίας. Επίσης, στην περιοχή κοντά στα 2900 cm^{-1} (2956 και 2870 cm^{-1}) καταγράφονται οξείες κορυφές που οφείλονται σε συμμετρικές και ασύμμετρες δονήσεις τάσης -CH . Η δεύτερη περιοχή ($1736\text{-}651\text{ cm}^{-1}$) είναι η σημαντικότερη του φάσματος και περιλαμβάνει διάφορες χαρακτηριστικές απορροφήσεις των τερπενίων των αιθερίων ελαίων. Οι αποδόσεις των χαρακτηριστικών κορυφών των φασμάτων FT-IR παρουσιάζονται στον Πίνακα B 2.15.

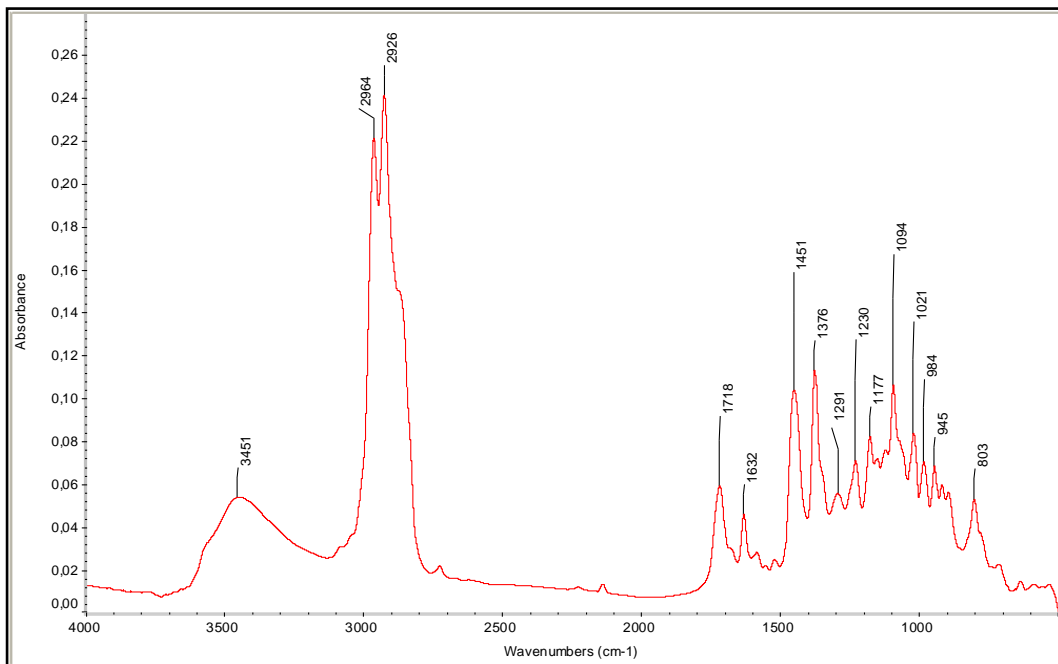
Πίνακας B 2.15. Χαρακτηριστικές κορυφές και αποδόσεις των φασμάτων FT-IR των αιθερίων ελαίων μέντας.

Κορυφή (cm^{-1})	Απόδοση
3450-3394	-OH , δονήσεις τάσης
2956-2870	-CH , ασύμμετρες και συμμετρικές δονήσεις τάσης

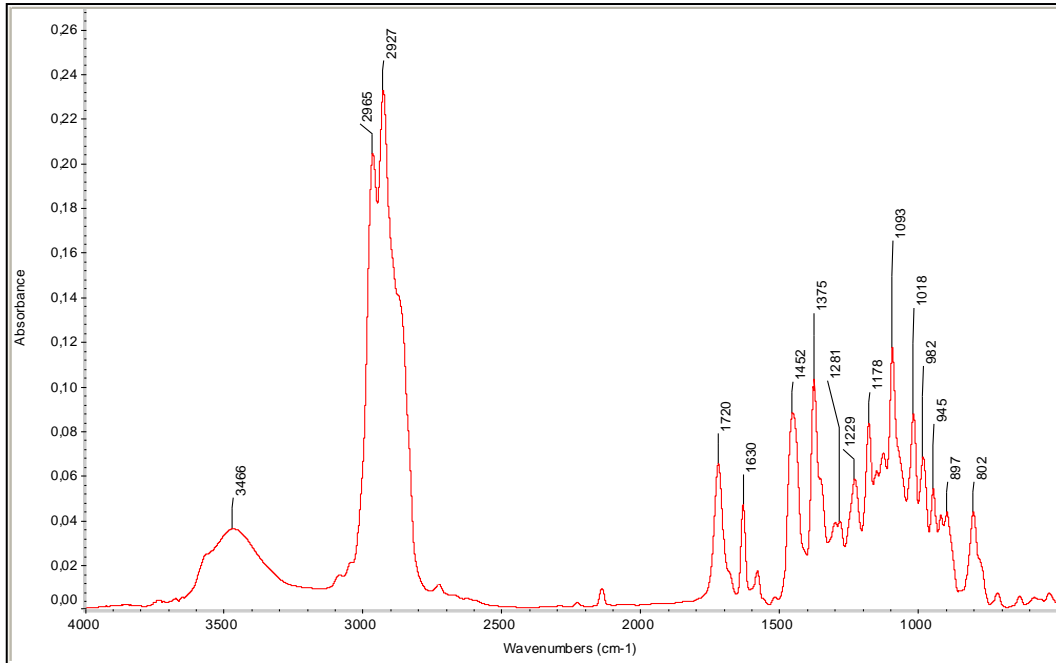
Κορυφή (cm ⁻¹)	Απόδοση
1736-1675	C=O, δονήσεις τάσης
1454-1370	-CH, των -CH ₃ ασύμμετρες και συμμετρικές δονήσεις παραμόρφωσης (δύο κορυφές)
1247-1099	Σκελετικές δονήσεις C-H δακτυλίου
1046-1025	Σκελετικές δονήσεις C-C δακτυλίου
994-808	-CH, -CH ₂ δονήσεις κάμψης εκτός πεδίου

B 2.3.2. Φάσματα FT-IR αιθερίου ελαίου χαμομηλιού

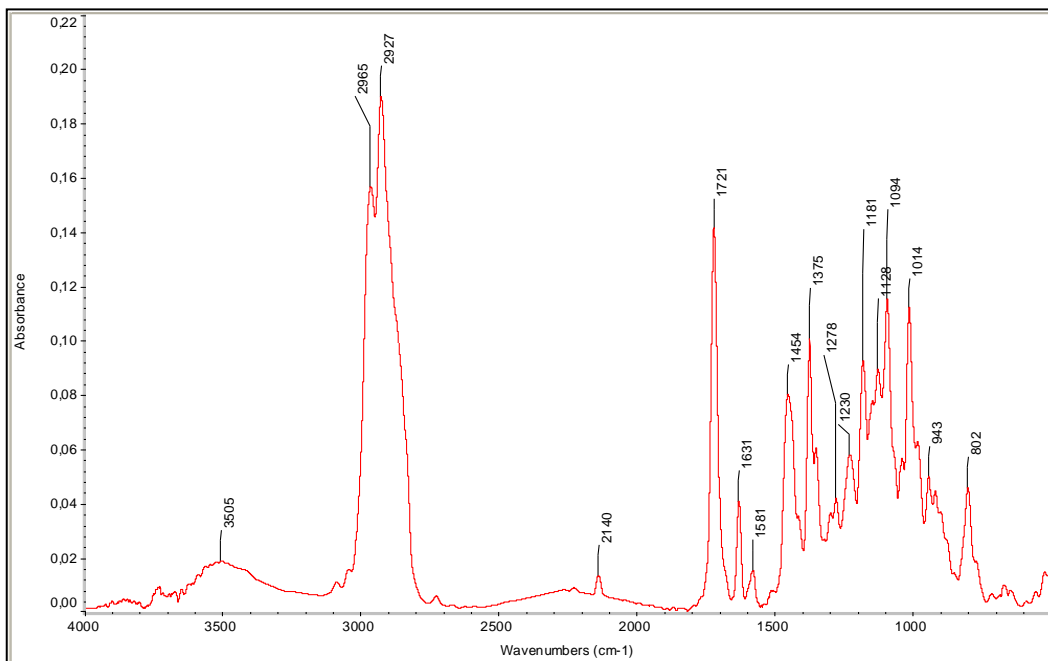
Στα Σχήματα B 2.16, B 2.17 και B 2.18 που ακολουθούν παρουσιάζονται τρία τυπικά φάσματα FT-IR των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού από τις τρεις διαφορετικές προελεύσεις, την Αρχαία Ολυμπία, το Αγρίνιο και το χαμομήλι βουλγαρικής προέλευσης.



Σχήμα B 2.16. Φάσμα FT-IR των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού από την περιοχή της Αρχαίας Ολυμπίας.



Σχήμα Β 2.17. Φάσμα FT-IR των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού από την περιοχή του Αργινίου.



Σχήμα Β 2.18. Φάσμα FT-IR των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού βουλγαρικής προέλευσης.

Στα παραπάνω καταγραφόμενα φάσματα παρατηρούνται δύο κύριες περιοχές κορυφών, η πρώτη μεταξύ $3505-2926\text{ cm}^{-1}$ και η δεύτερη μεταξύ $1721-802\text{ cm}^{-1}$. Στην πρώτη περιοχή κοντά στα 3450 cm^{-1} υπάρχει και στα τρία φάσματα μία ευρεία πλατειά κορυφή που οφείλεται σε δονήσεις τάσεις -OH, κυρίως λόγω της περιεχόμενης υγρασίας. Επίσης, στην περιοχή κοντά στα 2900 cm^{-1} (2965 και 2927 cm^{-1}) καταγράφονται οξείες κορυφές που οφείλονται σε συμμετρικές και ασύμμετρες δονήσεις τάσης -CH. Η δεύτερη περιοχή ($1721-802\text{ cm}^{-1}$) είναι η σημαντικότερη του φάσματος και περιλαμβάνει διάφορες χαρακτηριστικές απορροφήσεις των τερπενίων των αιθερίων ελαίων. Οι αποδόσεις των χαρακτηριστικών κορυφών των φασμάτων FT-IR παρουσιάζονται στον Πίνακα Β 2.16.

Πίνακας Β 2.16. Χαρακτηριστικές κορυφές και αποδόσεις των φασμάτων FT-IR των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού.

Κορυφή (cm^{-1})	Απόδοση
3505-3451	-OH, δονήσεις τάσης
2965-2926	-CH, ασύμμετρες και συμμετρικές δονήσεις τάσης
1721-1718	C=O, δονήσεις τάσης
1632-1630	C=C, δονήσεις τάσης
1454-1375	-CH, των -CH ₃ ασύμμετρες και συμμετρικές δονήσεις παραμόρφωσης (δύο κορυφές)
1291-1229	Σκελετικές δονήσεις C-H δακτυλίου
1021-1014	Σκελετικές δονήσεις C-C δακτυλίου

Β 2.4. Γεωγραφική διαφοροποίηση βοτάνων με εφαρμογή φασματοσκοπίας υπερόθρου (FT-IR) και χημειομετρίας

Τα αριθμητικά δεδομένα των φασμάτων FT-IR που λήφθηκαν επεξεργάστηκαν στατιστικά με χρήση της κανονικής διαχωριστικής ανάλυσης, με σκοπό τη γεωγραφική διαφοροποίηση των φυτών της μέντας και του χαμομηλιού. Ως μεταβλητές χρησιμοποιήθηκαν οι κυματαριθμοί μιας φασματικής περιοχής του κάθε φάσματος.

B 2.4.1. Γεωγραφική διαφοροποίηση μέντας με FT-IR και χημειομετρία

Για τη γεωγραφική διαφοροποίηση της μέντας με εφαρμογή FT-IR και χημειομετρίας, χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 30 φάσματα, 10 από την κάθε περιοχή, τα αριθμητικά δεδομένα των οποίων επεξεργάστηκαν στατιστικά. Η φασματική περιοχή που επιλέχθηκε για να εφαρμοσθεί η κανονική διαχωριστική ανάλυση, ήταν η περιοχή από 1801-1200 cm^{-1} .

Στον Πίνακα B 2.17 παρουσιάζονται τα κανονικά χαρακτηριστικά της διάκρισης, ενώ στον Πίνακα B 2.18 φαίνεται η συνεισφορά κάθε μεταβλητής σε κάθε διαχωριστική ανάλυση, μετά από την «κανονικοποίηση», τοποθετώντας δηλαδή την κάθε μεταβλητή στην ίδια πλατφόρμα.

Πίνακας B 2.17. Κανονικά χαρακτηριστικά διάκρισης για τη φασματική περιοχή από 1801-1200 cm^{-1} των αιθερίων ελαίων της μέντας.

Συνάρτηση	Τιμή Eigen	Ποσοστό Διακύμανσης (%)	Αθροιστικό Ποσοστό (%)	Κανονική Συσχέτιση	Wilks' Λάμδα	χ^2	Βαθμοί Ελευθερίας	Σημαντικότητα (P)
1	19,812	84,9	84,9	0,976	0,011	113,598	10	0,000
2	3,519	15,1	100,0	0,882	0,221	37,710	4	0,000

Όπως φαίνεται από τον πίνακα, οι διαχωριστικές συναρτήσεις που υπολογίστηκαν μέσω της κανονικής διαχωριστικής ανάλυσης είναι δύο, όσες δηλαδή οι περιοχές από τις οποίες προέρχονται τα δείγματα, μείον μία.

Οι τιμές Eigen δείχνουν ότι η πρώτη διαχωριστική συνάρτηση έχει την υψηλότερη κανονική συσχέτιση (0,976) και εξηγεί το 84,9 % της ολικής διακύμανσης, έχει δηλαδή τη μεγαλύτερη συνεισφορά στο διαχωρισμό. Η τιμή του λ του Wilks της πρώτης διαχωριστικής συνάρτησης είναι 0,011 και δείχνει την πολύ καλή διαχωριστική ικανότητα του μοντέλου. Η τιμή σημαντικότητας (P) η οποία είναι <0,001 και η τιμή χ^2 δείχνουν ότι υπάρχει υψηλή σημαντική διαφορά μεταξύ των κέντρων των ομάδων.

Πίνακας Β 2.18. Κανονικοποιημένοι συντελεστές και δομικός πίνακας μεταβλητών (κυματαριθμών cm^{-1}) που χρησιμοποιήθηκαν για την κανονική διαχωριστική ανάλυση των αιθερίων ελαίων της μέντας στη φασματική περιοχή από $1801\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$.

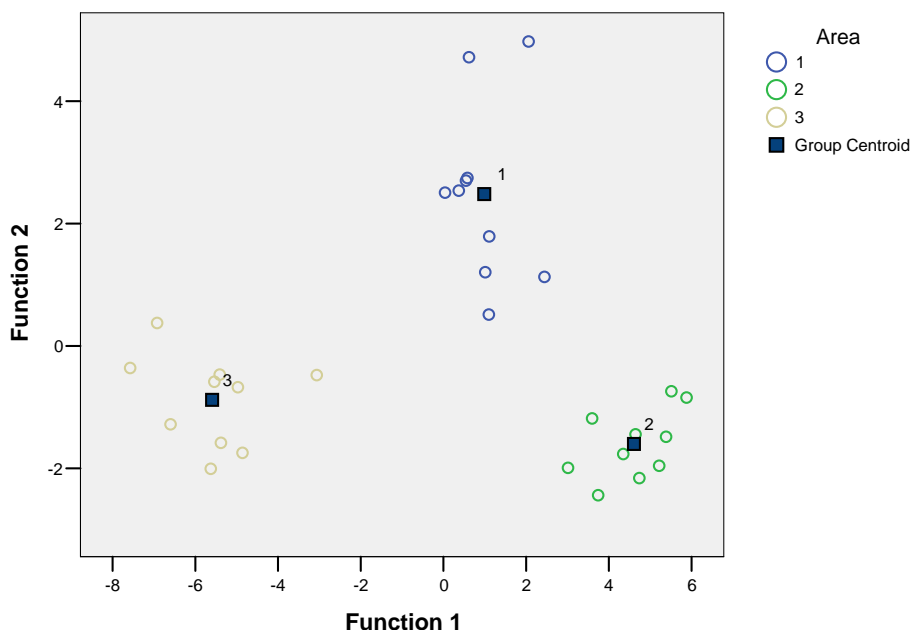
Μεταβλητές (κυματαριθμοί cm^{-1})	Κανονικοποιημένοι Συντελεστές		Δομικός Πίνακας	
	Συνάρτηση 1	Συνάρτηση 2	Συνάρτηση 1	Συνάρτηση 2
1535	10,956	6,739	0,083	0,684
1541	-6,531	-5,373	0,108	0,651
1608	-17,010	-9,703	-0,233	0,874
1610	11,936	8,807	-0,218	0,870
1770	2,348	1,334	-0,245	0,524

Σύμφωνα με τους κανονικοποιημένους συντελεστές η πρώτη συνάρτηση σχετίζεται με τους κυματαριθμούς 1608, 1610 και 1535 cm^{-1} , οι οποίοι έχουν και τη μεγαλύτερη συνεισφορά. Όσον αφορά τη δεύτερη διαχωριστική συνάρτηση, οι κυματαριθμοί που έχουν τη μεγαλύτερη συνεισφορά είναι επίσης οι 1608, 1610 και 1535 cm^{-1} .

Ο δομικός πίνακας δείχνει το συσχετισμό της κάθε μεταβλητής του μοντέλου με τις δύο διαχωριστικές συναρτήσεις. Η πρώτη διαχωριστική συνάρτηση σχετίζεται κυρίως με τους κυματαριθμούς 1770, 1608 και 1610 cm^{-1} . Η δεύτερη διαχωριστική συνάρτηση σχετίζεται κυρίως τους κυματαριθμούς 1608, 1610 και 1535 cm^{-1} .

Το Σχήμα Β 2.19 δείχνει το διαχωρισμό μεταξύ των ομάδων, δηλαδή μεταξύ των περιοχών από τις οποίες προέρχονται τα δείγματα, ο οποίος βασίστηκε στις διαχωριστικές συναρτήσεις 1 και 2. Στον Πίνακα Β 2.19 φαίνονται τα αποτελέσματα της κατάταξης που πραγματοποιήθηκε κατά την κανονική διαχωριστική ανάλυση καθώς και της διασταυρούμενης επικύρωσης.

Canonical Discriminant Functions



Σχήμα Β 2.19. Γραφική παράσταση των διαχωριστικών συναρτήσεων 1 και 2 των 30 φασμάτων FT-IR των αιθερίων ελαίων μέντας.

Πίνακας Β 2.19. Αποτελέσματα κατάταξης της διαχωριστικής ανάλυσης και της διασταυρούμενης επικύρωσης των αιθερίων ελαίων της μέντας στη φασματική περιοχή από 1801-1200 cm^{-1} .

Classification Results^{b,c}

	Area	Predicted Group Membership			Total	
		1	2	3		
Original	Count	1	10	0	0	10
		2	0	10	0	10
		3	0	0	10	10
	%	1	100,0	,0	,0	100,0
		2	,0	100,0	,0	100,0
		3	,0	,0	100,0	100,0
Cross-validated ^a	Count	1	10	0	0	10
		2	0	10	0	10
		3	0	0	10	10
	%	1	100,0	,0	,0	100,0
		2	,0	100,0	,0	100,0
		3	,0	,0	100,0	100,0

a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 100,0% of original grouped cases correctly classified.

c. 100,0% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Από τα αποτελέσματα της κατάταξης που πραγματοποιήθηκε κατά την κανονική διαχωριστική ανάλυση (Σχήμα Β 2.19, Πίνακας Β 2.19), διαπιστώνεται ότι τα δείγματα της μέντας κατατάσσονται στις περιοχές από όπου προέρχονται σε ποσοστό 100,0 %. Από τα αποτελέσματα της διασταυρούμενης επικύρωσης (Πίνακας Β 2.19), το 100,0 % των δειγμάτων επίσης, μπορούν να καταταχθούν σωστά στις γεωγραφικές περιοχές.

Β 2.4.2. Γεωγραφική διαφοροποίηση χαμομηλιού με FT-IR και χημειομετρία

Για τη γεωγραφική διαφοροποίηση του χαμομηλιού με εφαρμογή FT-IR και χημειομετρίας, χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 30 φάσματα, 10 από την κάθε περιοχή, τα αριθμητικά δεδομένα των οποίων επεξεργάστηκαν στατιστικά. Η φασματική περιοχή που επιλέχθηκε για να εφαρμοσθεί η κανονική διαχωριστική ανάλυση, ήταν η περιοχή από 1350-800 cm^{-1} .

Στον Πίνακα Β 2.20 παρουσιάζονται τα κανονικά χαρακτηριστικά της διάκρισης, ενώ στον Πίνακα Β 2.21 φαίνεται η συνεισφορά κάθε μεταβλητής σε κάθε διαχωριστική ανάλυση, μετά από την «κανονικοποίηση», τοποθετώντας δηλαδή την κάθε μεταβλητή στην ίδια πλατφόρμα.

Πίνακας Β 2.20. Κανονικά χαρακτηριστικά διάκρισης για τη φασματική περιοχή από 1350-800 cm^{-1} των αιθερίων ελαίων του χαμομηλιού.

Συνάρτηση	Τιμή Eigen	Ποσοστό Διακύμανσης (%)	Αθροιστικό Ποσοστό (%)	Κανονική Συσχέτιση	Wilks' Λάμδα	X ²	Βαθμοί Ελευθερίας	Σημαντικότητα (P)
1	10,787	66,7	66,7	0,957	0,013	108,054	10	0,000
2	5,393	33,3	100,0	0,918	0,156	46,380	4	0,000

Όπως φαίνεται από τον πίνακα, οι διαχωριστικές συναρτήσεις που υπολογίστηκαν μέσω της κανονικής διαχωριστικής ανάλυσης είναι δύο, όσες δηλαδή οι περιοχές από τις οποίες προέρχονται τα δείγματα, μείον μία.

Οι τιμές Eigen δείχνουν ότι η πρώτη διαχωριστική συνάρτηση έχει την υψηλότερη κανονική συσχέτιση (0,957) και εξηγεί το 66,7 % της ολικής διακύμανσης, είναι δηλαδή η περισσότερο διαχωριστική. Η τιμή του λ του Wilks της πρώτης διαχωριστικής συνάρτησης είναι 0,013 και δείχνει την πολύ καλή διαχωριστική ικανότητα του μοντέλου. Η τιμή σημαντικότητας (P) η οποία είναι <0,001 και η τιμή X² δείχνουν ότι υπάρχει υψηλή σημαντική διαφορά μεταξύ των κέντρων των ομάδων.

Πίνακας Β 2.21. Κανονικοποιημένοι συντελεστές και δομικός πίνακας μεταβλητών (κυματαριθμών cm^{-1}) που χρησιμοποιήθηκαν για την κανονική διαχωριστική ανάλυση των αιθερίων ελαίων του χαμομηλιού στη φασματική περιοχή από $1350\text{-}800\text{ cm}^{-1}$.

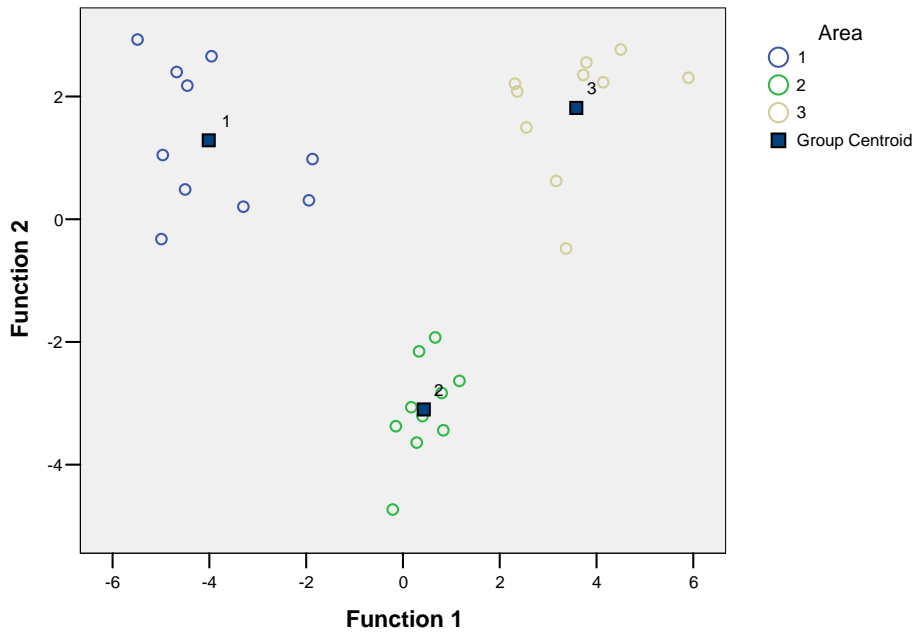
Μεταβλητές (κυματαριθμοί cm^{-1})	Κανονικοποιημένοι Συντελεστές		Δομικός Πίνακας	
	Συνάρτηση 1	Συνάρτηση 2	Συνάρτηση 1	Συνάρτηση 2
937	4,099	0,355	-0,121	0,079
982	-13,427	0,609	-0,245	0,239
1130	11,308	2,728	-0,179	0,254
1290	-3,040	-11,245	-0,210	0,046
1338	1,995	8,175	-0,206	0,080

Σύμφωνα με τους κανονικοποιημένους συντελεστές η πρώτη συνάρτηση σχετίζεται με τους κυματαριθμούς $982\text{ και }1130\text{ cm}^{-1}$, οι οποίοι έχουν και τη μεγαλύτερη συνεισφορά. Όσον αφορά τη δεύτερη διαχωριστική συνάρτηση, οι κυματαριθμοί που έχουν τη μεγαλύτερη συνεισφορά είναι οι $1290\text{ και }1338\text{ cm}^{-1}$.

Ο δομικός πίνακας δείχνει το συσχετισμό της κάθε μεταβλητής του μοντέλου με τις δύο διαχωριστικές συναρτήσεις. Η πρώτη διαχωριστική συνάρτηση σχετίζεται κυρίως με τους κυματαριθμούς $982, 1290\text{ και }1338\text{ cm}^{-1}$. Η δεύτερη διαχωριστική συνάρτηση σχετίζεται κυρίως τους κυματαριθμούς $1130\text{ και }982\text{ cm}^{-1}$.

Το Σχήμα Β 2.20 δείχνει το διαχωρισμό μεταξύ των ομάδων, δηλαδή μεταξύ των περιοχών από τις οποίες προέρχονται τα δείγματα, ο οποίος βασίστηκε στις διαχωριστικές συναρτήσεις 1 και 2. Στον Πίνακα Β 2.22 φαίνονται τα αποτελέσματα της κατάταξης που πραγματοποιήθηκε κατά την κανονική διαχωριστική ανάλυση καθώς και της διασταυρούμενης επικύρωσης.

Canonical Discriminant Functions



Σχήμα Β 2.20. Γραφική παράσταση των διαχωριστικών συναρτήσεων 1 και 2 των 30 φασμάτων FT-IR των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού.

Πίνακας Β 2.22. Αποτελέσματα κατάταξης της διαχωριστικής ανάλυσης και της διασταυρούμενης επικύρωσης των αιθερίων ελαίων του χαμομηλιού στη φασματική περιοχή από 1350-800 cm^{-1} .

Classification Results^{a,c}

	Area	Predicted Group Membership			Total	
		1	2	3		
Original	Count	1	10	0	0	10
		2	0	10	0	10
		3	0	0	10	10
	%	1	100,0	,0	,0	100,0
		2	,0	100,0	,0	100,0
		3	,0	,0	100,0	100,0
Cross-validated ^b	Count	1	10	0	0	10
		2	0	10	0	10
		3	0	0	10	10
	%	1	100,0	,0	,0	100,0
		2	,0	100,0	,0	100,0
		3	,0	,0	100,0	100,0

a. Cross validation is done only for those cases in the analysis. In cross validation, each case is classified by the functions derived from all cases other than that case.

b. 100,0% of original grouped cases correctly classified.

c. 100,0% of cross-validated grouped cases correctly classified.

Από τα αποτελέσματα της κατάταξης που πραγματοποιήθηκε κατά την κανονική διαχωριστική ανάλυση (Σχήμα Β 2.20, Πίνακας Β 2.22), διαπιστώνεται ότι τα δείγματα της μέντας κατατάσσονται στις περιοχές από όπου προέρχονται σε ποσοστό 100,0 %. Από τα αποτελέσματα της διασταυρούμενης επικύρωσης (Πίνακας Β 2.22), το 100,0 % των δειγμάτων επίσης, μπορούν να καταταχθούν σωστά στις γεωγραφικές περιοχές.

B 3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την ανάλυση και ταυτοποίηση των αιθερίων ελαίων των φυτών της μέντας και του χαμομηλιού από διαφορετικές προελεύσεις, παρατηρούμε ότι τα πτητικά συστατικά τους παρουσίασαν διαφορές στη σύστασή τους, τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά. Αυτό φαίνεται ίσως και από την επιτυχία της γεωγραφικής διαφοροποίησης τους με την εφαρμογή της αέριας χρωματογραφίας και της φασματοσκοπίας υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier σε συνδυασμό με τη χημειομετρία.

Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε στατιστική επεξεργασία των αριθμητικών δεδομένων των αέριων χρωματογραφημάτων (GC-FID), ως προς δύο μεταβλητές, με χρήση της κανονικής διαχωριστικής ανάλυσης (CDA) με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS version 13.0. Οι μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το ύψος και το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών των αιθερίων ελαίων των φυτών. Επίσης, πραγματοποιήθηκε στατιστική επεξεργασία των αριθμητικών δεδομένων των φασμάτων (FT-IR) των αιθερίων ελαίων με το ίδιο στατιστικό πρόγραμμα και οι μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν κυματαριθμοί από μία φασματική περιοχή του κάθε φάσματος.

Τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας των χρωματογραφημάτων και των φασμάτων και της κατάταξης που πραγματοποιήθηκε κατά την κανονική διαχωριστική ανάλυση και τη διασταυρούμενη επικύρωση των δειγμάτων συνοψίζονται στον πίνακα B 3.1.

Πίνακας B 3.1. Αποτελέσματα στατιστικής επεξεργασίας βοτάνων με τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν.

Μέθοδος Ανάλυσης	Μέθοδος Κατάταξης	Γεωγραφική Διαφοροποίηση Βοτάνων *(%)	
		Μέντα	Χαμομήλι
GC-FID/Υψος κορυφών	Κανονική κατάταξη	92,6	100,0
	Διασταυρούμενη επικύρωση	92,6	80,0
GC-FID/Εμβαδόν κορυφών	Κανονική κατάταξη	100,0	100,0
	Διασταυρούμενη επικύρωση	96,3	90,0
FT-IR	Κανονική κατάταξη	100,0	100,0
	Διασταυρούμενη επικύρωση	100,0	100,0

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα πιο επιτυχής γεωγραφική διαφοροποίηση πραγματοποιήθηκε με τη στατιστική επεξεργασία των φασμάτων υπέρυθρου FT-IR, αφού και στην περίπτωση της μέντας και στο χαμομήλι τα φυτά διαχωρίστηκαν γεωγραφικά σε ποσοστό 100,0% και με την κανονική κατάταξη που πραγματοποιήθηκε από το στατιστικό πρόγραμμα, αλλά και με τη μέθοδο της διασταυρούμενης επικύρωσης, κατά την οποία γνωστά δείγματα χρησιμοποιούνται ως «άγνωστα» για την επικύρωση του μοντέλου.

Στην περίπτωση επεξεργασίας των αέριων χρωματογραφημάτων των αιθερίων ελαίων, επίσης ο γεωγραφικός διαχωρισμός ήταν επιτυχής με καλύτερα αποτελέσματα να δίνονται στην περίπτωση που η μεταβλητή που χρησιμοποιήθηκε ήταν το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών των αιθερίων ελαίων των φυτών.

Καταλήγοντας, με την παρούσα μελέτη αποδεικνύεται η δυνατότητα της εύκολης και επιτυχούς γεωγραφικής διαφοροποίησης βοτάνων με τη χρήση της αέριας χρωματογραφίας και της υπέρυθρης φασματοσκοπίας, σε συνδυασμό πάντα με τη χημειομετρία. Πρέπει να αναφερθεί, ότι πιθανόν η χρήση της υπέρυθρης φασματοσκοπίας, που είναι μία γρήγορη και ακριβής μέθοδος ανάλυσης, να δίνει καλύτερα αποτελέσματα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

■ ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Aburjai, T. & Natsheh, F. (2003). Plants Used in Cosmetics. *Phytotherapy Research*, 17, 987-1000.
2. Adams, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. 4th Edition. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, USA.
3. Aliferis, A. K., Tarantilis, A. P., Harizanis, C. P. & Alissandrakis, E. (2010). Botanical discrimination and classification of honey samples applying gas chromatography/mass spectrometry fingerprinting of headspace volatile compounds. *Food Chemistry*, 121, 856-862.
4. Alissandrakis, E., Tarantilis, A. P., Harizanis, C. P. & Polissiou, M. (2007). Comparison of the volatile composition in Thyme honeys from several origins in Greece. *J. Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8152-8157.
5. Amit, K. T. & Anushree, M. (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of Mentha piperita oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. *Food Control*, 22, 1707-1714.
6. Amiot, J., Salmon, Y., Collin, C. & Thompson, J. D. (2005). Differential resistance to freezing a spatial distribution in a chemically polymorphic plant Thymus vulgaris. *Ecology Letters*, 8(4), 370-377.
7. Anastasaki, E., Kanakis, C., Pappas, C., Maggi, L., del Campo, C. P., Carmona, M., Alonso, G. L. & Polissiou M. G. (2010). Differentiation of saffron from four countries by mid-infrared spectroscopy and multivariate analysis. *European Food Research and Technology*, 230, 571-577.
8. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-475.
9. Bicchi, C., (2000). Gas Chromatography III / Essential oils. *Encyclopedia of Separation Science 2007, Academic Press*, 2744-2755.
10. Burt, S., (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. *Inter. J. Food Microbiology*, 94, 223-253.

11. Chalchat, J. C., Garry, R. P. & Michet, A. (1997). Variation of the chemical composition of essential oil of *Mentha piperita* L. during the growing time. *J. Essential oil Research*, 9, 463-465.
12. Daferera, J. D., Ziogas, B. & Polissiou, M. (2000). GC-MS Analysis of Essential Oils from Some Greek Aromatic Plants and Their Fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J. Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2576-2581.
13. Dorman, H. J. D., Surai, P. & Deans, S. G. (2000). In vitro antioxidant activity of plant essential oils and phytoconstituents. *J. Essential oil Research*, 12(2), 241-248.
14. Figueiredo, A. C., Barroso, G. J., Pedro, G. L. & Scheffer, J. C. J. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance J.*, 23, 213-226.
15. Freire, M. M., Jham, G. N., Dev Dhingra, O., Jardim, C. M., Barcelos, R. C. & Valente V. M. M. (2011). Composition, antifungal activity and main fungitoxic components of the essential oil of *Mentha piperita* L. *Food safety*, 32, 29-36.
16. Harbourne, N., Jacquier, J. C. & O’Riordan, D. (2009). Optimisation of the extraction and processing conditions of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) for incorporation into a beverage. *Food Chemistry*, 115(1), 15-19.
17. Heaton, K., Kelly, S. D., Hoogewerff, J. & Woolfe, M. (2008). Verifying the geographical origin of beef: The application of multi-element isotope and trace element analysis. *Food Chemistry*, 107, 506-515.
18. Herro, E. & Jacob, S.E. (2010). *Mentha piperita* (Peppermint). *Dermatitis*, 21(6), 327-329.
19. Kanakis, D. C., Petrakis, A. E., Kimbaris, C. A., Pappas, C., Tarantilis, A. P., & Polissiou G. M. (2011). Classification of Greek *Mentha pulegium* L. (Pennyroyal) Samples, According to Geographical Location by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Phytochemical Analysis*, 23(1), 34-43.
20. Karousou, R., Balta, M., Hanlidou, E. & Kokkini, S. (2007). “Mints”, smells and traditional uses in Thessaloniki (Greece) and other Mediterranean countries. *J. Ethnopharmacology*, 109, 248-257.
21. Kneifel, W., Czech, E. & Kopp, B. (2002). Microbial contamination of medicinal plants - a review. *J. Medicinal Plants Research*, 68(1), 5-15.
22. Kokkini, S., Hanlidou, E. & Karousou, R. (2004). Clinal variation of *Mentha pulegium* essential oils along the climatic gradient of Greece. *J. Essential oil Research*, 16, 588-593.

23. Kokkini, S., Karagiannakidou, V., Hanlidou, E. & Vokou, D. (1988). Geographical and altitudinal distribution of the Lamiaceae in Greece. *Phyton*, 28, 215-228.
24. Kokkini, S., Karousou, R. & Vokou, D. (1994). Pattern of geographic variation of *Origanum vulgare* trichomes and essential oil content in Greece. *Biochemical Systematics and Ecology*, 22, 517-528.
25. Kováčik, J., Štork, F., Klejdus, B., Grúz, J. & Hedbavny, J. (2012). Effect of metabolic regulators on aluminium uptake and toxicity in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 54, 140-148.
26. Kowalski, R. & Wawrzykowski, J. (2009). Essential oils analysis in dried materials and granulates obtained from *Thymus vulgaris* L., *Salvia officinalis* L., *Mentha piperita* L. and *Chamomilla recutita* L. *Flavour and Fragrance J.*, 24(1), 31-35.
27. Kumar, P., Mishra, S., Malik, A. & Satya, S. (2012). Efficacy of *Mentha x piperita* and *Mentha citrata* essential oils against housefly, *Musca domestica* L. *Industrial Crops and Products*, 39, 106-112.
28. Luykx, D. M. A. M. & van Ruth, S. M. (2008). An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. *Food Chemistry*, 107, 897-911.
29. Margaris, N.S. (1981). Adaptive strategies in plants dominating Mediterranean-type Ecosystems. *Ecosystems of the world 11: Mediterranean-type Shrublands*, 309-316, F. Di Castri et al. (Eds), Elsevier, The Netherlands.
30. Marino, M., Bersani, C. & Comi, G. (2001). Inpedance to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *Inter. J. Food Microbiology*, 67(3), 187-195.
31. Mitchell, A. R. & Farris, N. A. (1996). Peppermint response to nitrogen fertilizer in an arid climate. *J. Plant nutrition*, 19(6), 955-967.
32. Müller-Riebau, F. J., Berger, B. M., Yegen, O. & Cakir, C. (1997). Seasonal variations in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *J. Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4821-4825.
33. Nickerson, G. B. & Likens, S. T. (1966). Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. *J. Chromatography*, 21, 1-5.
34. Oray, A., Raal, A. & Arak, E. (2010). Content and composition of the essential oil of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert from some European countries. *Natural Product Research*, 24(1), 48-55.

35. Pichersky, E. & Gershenzon, J. (2002). The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 237-243.
36. Presibella, M. M., Villas-Bôas, L. D. B., Belletti, K. M. D. S., Santos, C. A. D. M. & Weffort-Santos, A. M. (2006). Comparison of chemical constituents of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert essential oil and its anti-chemotactic activity. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49(5), 717-724.
37. Raal, A., Orav, A., Püssa, T., Valner, C., Malmiste, B. & Arak, E. (2012). Content of essential oil, terpenoids and polyphenols in commercial chamomile (*Chamomilla recutita* L. Rauschert) teas from different countries. *Food Chemistry*, 131(2), 632-638.
38. Rafieiolhossaini, M., Adams, A., Sodaiezhadeh, H., Van Damme, P. & De Kimpe, N. (2012). Fast quality assessment of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) by headspace solid-phase microextraction: Influence of flower development stage. *Natural Product Communications*, 7(1), 97-100.
39. Schulz, H., Quilitzsch, R. & Krüger H. (2003). Rapid evaluation and quantitative analysis of thyme, oregano and chamomile essential oils by ATR-IR and NIR spectroscopy. *J. Molecular Structure*, 661-662, 299-306.
40. Seidler-Lozykowska, K. (2010). Effect of the selected weather conditions on essential oil, α -bisabolol and chamazulene content in flower heads of chamomile [*Chamomilla recutita* (L.) Rausch.]. *J. Essential Oil Research*, 22(1), 45-48.
41. Seymour, R. (2003). Additional properties and uses of essential oils. *J. Clinical Periodontology*, 30, 19-21.
42. Sharma, V., Sharma, N., Pathania, V., Malik, A. R., Singh, B. & Gupta, C. R. (2010). GC-MS analysis and anti-microbial activity of essential oil of *Mentha Piperita* L. from Kullu-A North Indian region of higher altitude Himalayas. *Inter. J. Drug Development and Research*, 2(4), 40-46.
43. Smith, D. M. & Levi, L. (1961). Treatment of compositional data for the characterization of essential oils. Determination of geographical origins of peppermint oils by gas chromatographic analysis. *J. Agricultural and Food Chemistry*, 9, 230-244.
44. Suhaj, M. & Koreňovská, M. (2008). Study of some European cheeses geographical traceability by pattern recognition analysis of multielemental data. *European Food Research and Technology*, 227, 1419-1427

45. Švehlíková, V. & Repčák, M. (2006). Apigenin chemotypes of *Matricaria chamomilla* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(8), 654-657.
46. Tapp, H. S., Defernez, M. & Kemsley, E. K. (2003). FTIR spectroscopy and multivariate analysis can distinguish the geographic origin of extra virgin olive oils. *J. Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6110-6115.
47. Vidal, F., Vidal, J. C., Gadelha, A. P. R., Lopes, C. S., Coelho, M. G. P. & Monteiro-Leal, L. H. (2007). Giardia lamblia: The effects of extracts and fractions from *Mentha x piperita* Lin. (Lamiaceae) on trophozoites. *Experimental Parasitology*, 115, 25-31.
48. Viljoen, A.M, Petcar, S., van Vuuren, S. F., Figueiredo, A. C., Pedro, L. G. & Barroso, J. G. (2006). The chemo-geographical variation in essential oil. Composition and the antimicrobial properties of “Wild Mint”-*Mentha longifolia* subsp. *polyadena* (Lamiaceae) in Southern Africa. *J. Essential Oil Research*, 18, 60-65.
49. Vokou, D., Kokkini, S. & Bessiere, J. M. (1993). Geographic variation of Greek (*Oregano Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils. *Biochemical Systematics and Ecology*, 21, 287-295.
50. Wallace, R.J. (2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of the Nutrition Society J.*, 63, 621-629.
51. Werker, E. (1993). Function of essential oil secreting glandular hairs in aromatic plants of Lamiaceae - a review. *Flavour and Fragrance J.*, 8, 249-255.
52. Werker, E., Putievsky, E. & Ravid, U. (1985). The essential oils and glandular hairs in different chemotypes of *Origanum vulgare* L. *Annals of Botany*, 55(11), 793-801.
53. Wilson, L. A. (2003). Use of spices in the food industry, Spices and flavouring crops. *Encyclopedia of food sciences and nutrition-second edition-vol.9, Academic press*, 5460-5465.
54. Woo, Y. H., Kim, H. J., Cho, J. H. & Chung, H. (1999). Discrimination of herbal medicines according to geographical origin with near infrared reflectance spectroscopy and pattern recognition techniques. *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 21, 407-413.
55. Zhang, L. & Nie, L. (2010). Discrimination of geographical origin and adulteration of Radix Astragali using Fourier transform infrared spectroscopy and chemometric methods. *Phytochemical Analysis J.*, 21, 609-615.

▪ **ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. ANKO A. E. (2000). *Μελέτη σκοπιμότητας και επιχειρησιακό σχέδιο για τη σύσταση και λειτουργία επιχείρησης αρωματικών φυτών*. Αναπτυξιακή Εταιρία Δυτικής Μακεδονίας, Κοζάνη.
2. Ιγνατιάδου - Ραγκούση, Β. (1996). *Χημεία Φυσικών Προϊόντων*. Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
3. Κανάκης, Χ. (2010). *Ανάπτυξη μεθόδου πιστοποίησης γεωγραφικής ένδειξης καλλιεργούμενων αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών με χρωματογραφικές και φασματοσκοπικές μεθόδους*. Μεταδιδακτορική διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
4. Κανταρτζής, Α. Ν. (2003). *Οδηγός Ανθοκομίας - 2^{ος} τόμος: Αρωματικά & Φαρμακευτικά Φυτά*. Ελεύθερος τύπος, Αθήνα.
5. Κουτσός, Β. Θ. (2006). *Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά*. Εκδόσεις Ζήτη, Αθήνα.
6. Mc Murry, J. (2009). *Οργανική Χημεία - Τόμος I*. Μεταφραστική ομάδα: Βάρβογλης, Α., Ορφανόπουλος, Μ., Σμόνου, Ι. & Στρατάκης, Μ. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο.
7. Mc Murry, J. (2008). *Οργανική Χημεία - Τόμος II*. Μεταφραστική ομάδα: Βάρβογλης, Α., Ορφανόπουλος, Μ., Σμόνου, Ι. & Στρατάκης, Μ. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο.
8. Παππάς, Π. (2000). *Φασματοσκοπική μελέτη συστατικών του φυτού κενάφ (Hibiscus cannabinus L.)*. Διδακτορική διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
9. Πολυσίου, Γ. Μ. & Ταραντίλης, Α. Π. (2007). *Ενόργανη Ανάλυση Φυσικών Προϊόντων*. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
10. Πραμαγγιούλης, Π. (2008). *Οδηγός Ανάλυσης Δεδομένων με τη χρήση SPSS*. Οικονομικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
11. Samuelson, G. (2004). *Φαρμακευτικά Προϊόντα Φυσικής Προέλευσης*. Μεταφραστική ομάδα: Κορδοπάτης, Π, Ζούπα, Μ. Ε. & Πάϊρας, Γ. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο.
12. Σαρλής, Γ. (1994). *Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά*. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.

13. Skoog, A. D., Holler, J. F. & Nieman, A. T. (2005). *Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης*. Μεταφραστική ομάδα: Καραγιάννης, Ι. Μ., Ευσταθίου, Η. Κ. & Χανιωτάκης, Ν. Εκδόσεις Κωσταράκη, Αθήνα.
14. Σκουλά, Μ. & Καμενόπουλος, Σ. (2000). *Οικονομία, Ανάπτυξη και Προώθηση των Αρωματικών και Φαρμακευτικών φυτών στην Ελλάδα & Παραδοσιακές Καλλιέργειες αυτών: Μαστίχα Χίου, Κρόκος Κοζάνης, Δίκταμος Κρήτης*. Γενική Γραμματεία Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, Αθήνα.
15. Σκρουμπής, Β. Γ. (1985). *Αρωματικά φυτά και αιθέρια έλαια*. Θεσσαλονίκη.
16. Σκρουμπής, Β. Γ. (1988). *Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά*. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
17. Ταραντίλης, Α. Π. (1994). *Απομόνωση, καθαρισμός, ταυτοποίηση, φασματοσκοπική και βιολογική μελέτη συστατικών των σιγμάτων του κρόκου *Crocus sativus* L.* Διδακτορική διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.
18. Υπ.Α.Α.Τ, (2007). *Προοπτικές Ανάπτυξης Τομέα Αρωματικών & Φαρμακευτικών Φυτών*. Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων, Αθήνα.
19. Χατζηιωάννου, Θ. Π. & Κουμπάρης, Μ. Α. (1997). *Ενόργανη Ανάλυση*. Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.

▪ **ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ**

1. Σταθακόπουλος, Ι. “Η καλλιέργεια και η προοπτική των αρωματικών φυτών στη χώρα μας.” Πράσινο Δημιουργείν: Επιστημονικά Θέματα Γεωπονικού ενδιαφέροντος, 21 Ιουλίου 2011.
<http://istath.blogspot.gr/2011/07/blog-post_21.html> (18 Μαΐου 2012).
2. Πρίσκα, Μ. “Ο ρόλος των αιθερίων ελαίων για τα φυτά.” Πράσινο Δημιουργείν: Επιστημονικά Θέματα Γεωπονικού ενδιαφέροντος, 8 Μαΐου 2012.
<http://istath.blogspot.gr/2012/05/blog-post_08.html> (18 Μαΐου 2012).
3. Ζούμας, Κ. “Αρωματικά φυτά - Η ελπίδα της Αγροτικής Οικονομίας;” Γεωπονική Πύλη, 27 Αυγούστου 2011.
<<http://www.agrigate.gr/index.php/component/content/article/20-ruraleconomy/95-aromatikaoikonomia>> (30 Μαΐου 2012).
4. <http://en.wikipedia.org/wiki/Mentha_piperita> (30 Μαΐου 2012).
5. <http://en.wikipedia.org/wiki/Matricaria_chamomilla> (30 Μαΐου 2012).
6. “Peppermint essential oil information.” The world of pure essential oils.
<<http://www.essentialoils.co.za/essential-oils/peppermint.htm>> (12 Ιουλίου 2012).
7. “Chamomile essential oil information.” The world of pure essential oils.
<<http://www.essentialoils.co.za/essential-oils/camomile.htm>> (12 Ιουλίου 2012).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα A 1.1. Μέντα (<i>Mentha piperita</i> L.)	Σελίδα 6
Εικόνα A 1.2. Χαμομήλι (<i>Matricaria chamomilla</i> L.)	Σελίδα 7
Εικόνα B 1.1. Απόσταξη-εκχύλιση με συσκευή Likens-Nickerson.	Σελίδα 35
Εικόνα B 1.2. Το σύστημα της αέριας χρωματογραφίας που χρησιμοποιήθηκε.	Σελίδα 37
Εικόνα B 1.3. Το σύστημα της φασματοσκοπίας υπερύθρου που χρησιμοποιήθηκε.	Σελίδα 38

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας A 2.1. Ταξινόμηση των τερπενίων.	Σελίδα 11
Πίνακας B 1.1. Δείγματα Μέντας.	Σελίδα 33
Πίνακας B 1.2. Δείγματα Χαμομηλιού.	Σελίδα 34
Πίνακας B 2.1. Πτητικά συστατικά αιθερίων ελαίων μέντας από διαφορετικές περιοχές.	Σελίδα 42
Πίνακας B 2.2. Πτητικά συστατικά αιθερίων ελαίων χαμομηλιού από διαφορετικές περιοχές.	Σελίδα 48
Πίνακας B 2.3. Κανονικά χαρακτηριστικά διάκρισης σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών των αιθερίων ελαίων της μέντας.	Σελίδα 53
Πίνακας B 2.4. Κανονικοποιημένοι συντελεστές και δομικός πίνακας μεταβλητών (συστατικών αιθερίων ελαίων) που χρησιμοποιήθηκαν για την κανονική διαχωριστική ανάλυση σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών της μέντας.	Σελίδα 54
Πίνακας B 2.5. Αποτελέσματα κατάταξης της διαχωριστικής ανάλυσης και της διασταυρούμενης επικύρωσης σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών της μέντας.	Σελίδα 55
Πίνακας B 2.6. Κανονικά χαρακτηριστικά διάκρισης σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών των αιθερίων ελαίων της μέντας.	Σελίδα 56
Πίνακας B 2.7. Κανονικοποιημένοι συντελεστές και δομικός πίνακας μεταβλητών (συστατικών αιθερίων ελαίων) που χρησιμοποιήθηκαν για την κανονική διαχωριστική ανάλυση σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών της μέντας.	Σελίδα 57
Πίνακας B 2.8. Αποτελέσματα κατάταξης της διαχωριστικής ανάλυσης και της διασταυρούμενης επικύρωσης σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών της μέντας.	Σελίδα 58

Πίνακας Β 2.9. Κανονικά χαρακτηριστικά διάκρισης σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών των αιθερίων ελαίων του χαμομηλιού.	Σελίδα 59
Πίνακας Β 2.10. Κανονικοποιημένοι συντελεστές και δομικός πίνακας μεταβλητών (συστατικών αιθερίων ελαίων) που χρησιμοποιήθηκαν για την κανονική διαχωριστική ανάλυση σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών του χαμομηλιού.	Σελίδα 60
Πίνακας Β 2.11. Αποτελέσματα κατάταξης της διαχωριστικής ανάλυσης και της διασταυρούμενης επικύρωσης σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών του χαμομηλιού.	Σελίδα 61
Πίνακας Β 2.12. Κανονικά χαρακτηριστικά διάκρισης σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών των αιθερίων ελαίων του χαμομηλιού.	Σελίδα 62
Πίνακας Β 2.13. Κανονικοποιημένοι συντελεστές και δομικός πίνακας μεταβλητών (συστατικών αιθερίων ελαίων) που χρησιμοποιήθηκαν για την κανονική διαχωριστική ανάλυση σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών του χαμομηλιού.	Σελίδα 63
Πίνακας Β 2.14. Αποτελέσματα κατάταξης της διαχωριστικής ανάλυσης και της διασταυρούμενης επικύρωσης σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών του χαμομηλιού.	Σελίδα 64
Πίνακας Β 2.15. Χαρακτηριστικές κορυφές και αποδόσεις των φασμάτων FT-IR των αιθερίων ελαίων μέντας.	Σελίδα 67
Πίνακας Β 2.16. Χαρακτηριστικές κορυφές και αποδόσεις των φασμάτων FT-IR των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού.	Σελίδα 70
Πίνακας Β 2.17. Κανονικά χαρακτηριστικά διάκρισης για τη φασματική περιοχή από 1801-1200 cm^{-1} των αιθερίων ελαίων της μέντας.	Σελίδα 71
Πίνακας Β 2.18. Κανονικοποιημένοι συντελεστές και δομικός πίνακας μεταβλητών (κυματαριθμών cm^{-1}) που χρησιμοποιήθηκαν για την κανονική διαχωριστική ανάλυση των αιθερίων ελαίων της μέντας στη φασματική περιοχή από 1801-1200 cm^{-1} .	Σελίδα 72
Πίνακας Β 2.19. Αποτελέσματα κατάταξης της διαχωριστικής ανάλυσης και της διασταυρούμενης επικύρωσης των αιθερίων ελαίων της μέντας στη φασματική περιοχή από 1801-1200 cm^{-1} .	Σελίδα 73
Πίνακας Β 2.20. Κανονικά χαρακτηριστικά διάκρισης για τη φασματική περιοχή από 1350-800 cm^{-1} των αιθερίων ελαίων του χαμομηλιού.	Σελίδα 74

Πίνακας Β 2.21. Κανονικοποιημένοι συντελεστές και δομικός πίνακας μεταβλητών (κυματαριθμών cm^{-1}) που χρησιμοποιήθηκαν για την κανονική διαχωριστική ανάλυση των αιθερίων ελαίων του χαμομηλιού στη φασματική περιοχή από $1350\text{-}800\text{ cm}^{-1}$.	Σελίδα 75
Πίνακας Β 2.22. Αποτελέσματα κατάταξης της διαχωριστικής ανάλυσης και της διασταυρούμενης επικύρωσης των αιθερίων ελαίων του χαμομηλιού στη φασματική περιοχή από $1350\text{-}800\text{ cm}^{-1}$.	Σελίδα 76
Πίνακας Β 3.1. Αποτελέσματα στατιστικής επεξεργασίας βοτάνων με τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν.	Σελίδα 79

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα A 2.1. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα ενώσεων των διαφόρων τάξεων μονοτερπενίων.	Σελίδα 12
Σχήμα A 2.2. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα ενώσεων των διαφόρων τάξεων σεσκιτερπενίων.	Σελίδα 13
Σχήμα A 2.3. Κοινά συστατικά των αιθερίων ελαίων.	Σελίδα 14
Σχήμα A 2.4. Συσκευή Likens-Nickerson.	Σελίδα 16
Σχήμα A 2.5. Κινητή και στατική φάση στην αέρια χρωματογραφία.	Σελίδα 18
Σχήμα A 2.6. Διάταξη μιας αέριας χρωματογραφίας.	Σελίδα 19
Σχήμα A 2.7. Τυπικό φασματοφωτόμετρο FT-IR της εταιρείας Nicolet.	Σελίδα 23
Σχήμα A 3.1. Διάγραμμα ροής πειραματικής πορείας.	Σελίδα 32
Σχήμα B 2.1. Αέριο χρωματογράφημα του αιθερίου ελαίου μέντας της περιοχής της Καρδίτσας.	Σελίδα 44
Σχήμα B 2.2. Αέριο χρωματογράφημα του αιθερίου ελαίου μέντας της περιοχής της Αρχαίας Ολυμπίας.	Σελίδα 44
Σχήμα B 2.3. Αέριο χρωματογράφημα του αιθερίου ελαίου μέντας ελληνικής προέλευσης.	Σελίδα 45

Σχήμα Β 2.4. Δομές των κυριότερων πτητικών συστατικών των αιθερίων ελαίων μέντας.	Σελίδα 47
Σχήμα Β 2.5. Αέριο χρωματογράφημα του αιθερίου ελαίου χαμομηλιού της περιοχής της Αρχαίας Ολυμπίας.	Σελίδα 49
Σχήμα Β 2.6. Αέριο χρωματογράφημα του αιθερίου ελαίου χαμομηλιού της περιοχής του Αγρινίου.	Σελίδα 49
Σχήμα Β 2.7. Αέριο χρωματογράφημα του αιθερίου ελαίου χαμομηλιού βουλγαρικής προέλευσης.	Σελίδα 50
Σχήμα Β 2.8. Δομές των κυριότερων πτητικών συστατικών των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού.	Σελίδα 52
Σχήμα Β 2.9. Γραφική παράσταση των διαχωριστικών συναρτήσεων 1 και 2 των 27 χρωματογραφημάτων GC-FID των αιθερίων ελαίων μέντας σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών.	Σελίδα 55
Σχήμα Β 2.10. Γραφική παράσταση των διαχωριστικών συναρτήσεων 1 και 2 των 27 χρωματογραφημάτων GC-FID των αιθερίων ελαίων μέντας σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών	Σελίδα 58
Σχήμα Β 2.11. Γραφική παράσταση των διαχωριστικών συναρτήσεων 1 και 2 των 10 χρωματογραφημάτων GC-FID των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού σύμφωνα με το ύψος των κορυφών των συστατικών.	Σελίδα 61
Σχήμα Β 2.12. Γραφική παράσταση των διαχωριστικών συναρτήσεων 1 και 2 των 10 χρωματογραφημάτων GC-FID των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού σύμφωνα με το εμβαδόν των κορυφών των συστατικών.	Σελίδα 64
Σχήμα Β 2.13. Φάσμα FT-IR των αιθερίων ελαίων μέντας από την περιοχή της Καρδίτσας.	Σελίδα 66
Σχήμα Β 2.14. Φάσμα FT-IR των αιθερίων ελαίων μέντας από την περιοχή της Αρχαίας Ολυμπίας.	Σελίδα 66
Σχήμα Β 2.15. Φάσμα FT-IR των αιθερίων ελαίων μέντας ελληνικής προέλευσης.	Σελίδα 67

Σχήμα Β 2.16. Φάσμα FT-IR των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού από την περιοχή της Αρχαίας Ολυμπίας.	Σελίδα 68
Σχήμα Β 2.17. Φάσμα FT-IR των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού από την περιοχή του Αγρινίου.	Σελίδα 69
Σχήμα Β 2.18. Φάσμα FT-IR των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού βουλγαρικής προέλευσης.	Σελίδα 69
Σχήμα Β 2.19. Γραφική παράσταση των διαχωριστικών συναρτήσεων 1 και 2 των 30 φασμάτων FT-IR των αιθερίων ελαίων μέντας.	Σελίδα 73
Σχήμα Β 2.20. Γραφική παράσταση των διαχωριστικών συναρτήσεων 1 και 2 των 30 φασμάτων FT-IR των αιθερίων ελαίων χαμομηλιού.	Σελίδα 76

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ

ΣΥΝΤΜΗΣΗ	ΑΓΓΛΙΚΗ ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΟΝΟΜΑΣΙΑ
SD ή HD	Steam ή Hydro Distillation	Απόσταξη με υδρατμούς
MSDE	Micro-Steam Distillation Extraction	Μικρό-απόσταξη με υδρατμούς εκχύλιση με οργανικό διαλύτη
VHSD	Vacuum Head Space Distillation	Απόσταξη με κενό
HS	Head Space	Απομόνωση από το χώρο πάνω από το φυτό
USE	Ultra Sound Assisted Extraction	Εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους
MAE	Microwave Assisted Extraction	Εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα
SPME	Solid Phase Micro-Extraction	Μικρό-εκχύλιση στερεής φάσης
SCL	Super Critical Liquids	Εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά
GC	Gas Chromatography	Αέρια χρωματογραφία
GSC	Gas-Solid Chromatography	Χρωματογραφία αερίου-στερεού
GLC	Gas-Liquid Chromatography	Χρωματογραφία αερίου-υγρού
FID	Flame Ionization Detector	Ανιχνευτής ιονισμού φλόγας
MS	Mass Spectrometer	Φασματόμετρο μαζών
GC-FID	Gas Chromatography with Flame Ionization Detector	Αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας
GC-MS	Gas chromatography with Mass Spectrometer	Αέρια χρωματογραφία με φασματόμετρο μαζών
RT	Retention Time	Χρόνος κατακράτησης

ΣΥΝΤΜΗΣΗ	ΑΓΓΛΙΚΗ ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΟΝΟΜΑΣΙΑ
TCD	Thermal Conductivity Detector	Ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας
ECD	Electron-Capture Detector	Ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων
AED	Atomic Emission Detector	Ανιχνευτής ατομικής εκπομπής
FPD	Flame Photometric Detector	Φλογοφωτομετρικός ανιχνευτής
IR	Infra Red Spectroscopy	Φασματοσκοπία υπερύθρου
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy	Φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier
GC-FTIR	Gas Chromatography with Fourier Transform Infrared Spectroscopy	Αέρια χρωματογραφία με φασματοσκοπία υπερύθρου
DTGS	Deuterated TriGlycine Sulfate	Δευτεριωμένη θειική τριγλυκίνη
RSN	Signal-to-Noise Ratio	Λόγος σήματος προς θόρυβο
DRIFTS	Diffuse Reflectance Infra-Red Fourier Transform Spectroscopy	Τεχνική της διάχυτης ανάκλασης
ATR	Attenuated Total Reflectance spectroscopy	Τεχνική της εξασθενημένης ολικής ανάκλασης
UV-B	Ultraviolet B radiation	Υπεριώδης ακτινοβολία Β
ISO	International Organization for Standardization	Διεθνής Οργανισμός Τυποποίησης
CDA	Canonical Discriminant Analysis	Κανονική διαχωριστική ανάλυση