

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

**«Μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας  
αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών και  
αφεψημάτων από μίγματα επιλεγμένων βοτάνων.»**



**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

**Κατερίνα Ι. Βενετσάνου**

**Επιβλέπων καθηγητής: Μόσχος Πολυσιού**

**Ιανουάριος 2014**  
**ΑΘΗΝΑ**

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

**Μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας αρωματικών και  
φαρμακευτικών φυτών και αφεψημάτων από μίγματα  
επιλεγμένων βοτάνων.**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

**Κατερίνα Ι. Βενετσάνου**

**Επιβλέπων καθηγητής: Μόσχος Πολυσίου**

**Ιανουάριος 2014**  
**ΑΘΗΝΑ**

## ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών και αφεψημάτων από μίγματα επιλεγμένων βοτάνων.

Κατερίνα Ι. Βενετσάνου

Επιβλέπων καθηγητής: Μόσχος Πολυσίου

Τριμελής επιτροπή:

- 1) Μόσχος Πολυσίου, Καθηγητής
- 2) Βιολέτα Κωνσταντίνου, Καθηγήτρια
- 3) Πέτρος Ταραντίλης, Αναπληρωτής Καθηγητής

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πρώτα απ' όλα θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές του μεταπτυχιακού που μου μετέδωσαν όλες αυτές τις ενδιαφέρουσες γνώσεις και με ταξίδεψαν σε έναν νέο κόσμο της επιστήμης όπου η υγεία του ανθρώπου συναντά την γεωπονική επιστήμη. Ένα μεγάλο ευχαριστώ στον κύριο Πολυσίου που με παρακίνησε και ενδιαφέρθηκε να ασχοληθώ με όσο το δυνατόν περισσότερα πράγματα για να αποκτήσω περισσότερη πρακτική εμπειρία. Ένα ακόμα μεγάλο ευχαριστώ στον κύριο Ταραντίλη και κύριο Παππά οι οποίοι ενδιαφέρονταν για την πρόοδό μου και ήταν πάντα διαθέσιμοι να με βοηθήσουν όταν τους το ζητούσα. Θέλω να ευχαριστήσω το προσωπικό του εργαστηρίου το οποίο με έκανε να αισθανθώ άνετα μαζί τους και ήταν πολύ φιλικόί μαζί μου. Ιδιαίτερα θέλω να ευχαριστήσω την Ειρήνη Αναστασάκη, την Δήμητρα Δαφερέρα και την Έφη Σκώττη που ασχολήθηκαν μαζί μου στα πειράματα και την επεξεργασία των αποτελεσμάτων και τον Θανάση Κιμπάρη που μου παρείχε τα φάσματα FT-IR πτητικών συστατικών. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου και τους φίλους μου οι οποίοι με ρωτούσαν πάντα με ενδιαφέρον για την εξέλιξη του πειράματος και με στήριξαν σε κάθε βήμα.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Κατερίνα Βενετσάνου

### ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΚΑΙ ΑΦΕΨΗΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΜΙΓΜΑΤΑ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΒΟΤΑΝΩΝ

Ιανουάριος, 2014

Στην παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη ως αντικείμενο ήταν η μελέτη των αφεψημάτων *KrocusKozanisProducts*. Αρχικά μελετήθηκε η αντιοξειδωτική τους δράση με τις τεχνικές του DPPH και ABTS και η σύστασή τους σε φαινολικά συστατικά με την τεχνική FOLIN. Στην συνέχεια με σκοπό την ανάλυση του αρωματικού τους προφίλ πραγματοποιήθηκε ταυτόχρονη εκχύλιση και απόσταξη με την συσκευή Likens-Nickerson αλλά και υδροαπόσταξη με την συσκευή Clevenger ενώ τα αιθέρια έλαια ταυτοποιήθηκαν με την Αέρια Χρωματογραφία (GC-MS). Τα δείγματα αναλύθηκαν και από την τεχνική FT-IR καθώς ελέγχθηκε και η τοξικότητά τους με την τεχνική του Microtox. Η ίδια πειραματική διαδικασία επαναλήφθηκε δημιουργώντας αφεψήματα από τα κύρια φυτά που χρησιμοποιήθηκαν στην παρασκευή των προαναφερθέντων αφεψημάτων με σκοπό την σύγκριση των σκέτων αφεψημάτων και των μιγμάτων αυτών. Όλα τα αφεψήματα έδειξαν πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση ενώ στο αρωματικό τους προφίλ εντοπίστηκε η σαφρανάλη υποδεικνύοντας την ύπαρξη κρόκου στα μίγματα των αφεψημάτων. Στα χρωματογραφήματα σε μεγάλη αφθονία βρίσκονταν πτητικά συστατικά τα οποία αποτελούν το αρωματικό προφίλ των κύριων φυτών που είχαν χρησιμοποιηθεί για την δημιουργία των μιγμάτων των αφεψημάτων. Τα αποτελέσματα των χρωματογραφημάτων επιβεβαίωσε και η υπέρυθη φασματοσκοπία. Στην μελέτη της τοξικότητας η οποία μειώνεται στα μίγματα βοτάνων, το αφέψημα «Φασκόμηλο-λουίζα» παρουσιάζει την μικρότερη τοξικότητα.

Εργαστήριο Γενική Χημείας Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

**Λέξεις κλειδιά:** Μίγματα αφεψημάτων, αντιοξειδωτική δράση, φαινολικά συστατικά, αρωματικό προφίλ, GC-MS, FT-IR, τοξικότητα.

## **ABSTRACT**

Katerina Venetsanou

### **DETERMINATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF AROMATIC AND MEDICINE PLANTS AND BEVERAGES FROM BLENDS OF SELECTED HERBS.**

January, 2014

In the present thesis the blend of the beverages produced by KrocusKozanis Products was studied. At first, the antioxidant activity and the determination of phenolic compounds were studied with the ABTS-DPPH and Folin techniques respectively. In order to determine the aromatic profile the samples were distilled with the steam distillation and simultaneous steam distillation and extraction techniques. The essential substances were identified with the Gas Chromatography (GC-MS). The samples were also analyzed with FT-IR and in order to check for their toxicity the Microtox technique was conducted, too. The same procedure was followed making beverages from the main plants used in the blends in order to compare their behavior to this of the blends. All beverages showed high antioxidant activity while safranal was found in chromatographs confirming in this way the existence of crocus in the blend of the beverages. Also, the essential compounds of the main plants used in the blend of the beverages were found to have a high abundance compared to those from the secondary plants of the blend. These results were verified by the infrared spectroscopy. As for the toxicological study, where toxicity is reduced in the mixtures of the beverages, the beverage “Sage-lemon verbena” showed the smallest toxicity.

Chemistry Laboratory of the Agricultural University of Athens.

Key words: Blend of beverages, antioxidant activity, phenolic compounds, aromatic profile, GC-MS, FT-IR, toxicity.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Εισαγωγή.....	σελ. 1
1.1. Περιγραφή των φυτών.....	σελ. 1
1.2. Ελεύθερες ρίζες και αντιοξειδωτική δράση.....	σελ. 9
1.2.1 Ελεύθερες ρίζες και πως δημιουργούνται.....	σελ. 9
1.2.2 Επιπτώσεις στον άνθρωπο.....	σελ. 10
1.2.3 Αντιοξειδωτική δράση και αντιοξειδωτικά συστατικά.....	σελ. 12
1.2.4 Δράση φαινολικών.....	σελ. 14
1.2.5 Πηγές αντιοξειδωτικών.....	σελ. 15
1.3 Μελέτη αρωματικού προφίλ.....	σελ. 19
1.4 Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας.....	σελ. 22
1.4.1 DPPH.....	σελ. 22
1.4.2 ABTS.....	σελ. 23
1.5 Προσδιορισμός συνολικών φαινολικών συστατικών.....	σελ. 24
1.6 Υπέρυθρη φασματοσκοπία (InfraRedSpectroscopy – FT-IR).....	σελ. 25
1.7 Μέτρηση τοξικότητας.....	σελ. 26
1.8 Σκοπός πτυχιακής μελέτης.....	σελ. 28
2. Υλικά – Μέθοδοι.....	σελ. 29
2.1 Υλικά.....	σελ. 29
2.2 Μέθοδοι.....	σελ. 30
2.2.1. Προσδιορισμός των συνολικών φαινολικών συστατικών.....	σελ. 30
2.2.2. Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας.....	σελ. 31
2.2.3. Επεξεργασία δειγμάτων.....	σελ. 32
2.2.4. Παραλαβή πτητικών συστατικών.....	σελ. 33
2.2.5. Αέρια χρωματογραφία ( GasCromatography – GC ).....	σελ. 34
2.2.6. FT-IR και ATR.....	σελ. 34
2.2.7 Μέτρηση τοξικότητας (Microtox).....	σελ. 34
3. Αποτελέσματα.....	σελ. 36
3.1 Αποτελέσματα προτύπων για FOLIN, DPPH, ABTS.....	σελ. 36
3.2 Αποτελέσματα δειγμάτων για FOLIN, DPPH, ABTS.....	σελ. 42
3.3 Αποτελέσματα FT-IR υδατοδιαλυτών συστατικών των αφεψημάτων με την τεχνική ATR.....	σελ. 47
3.4 Αποτελέσματα Αέριας Χρωματογραφίας (GC-MS).....	σελ. 54
3.4.1 Αποτελέσματα από ταυτόχρονη εκχύλιση με απόσταξη	

(Likens-Nickerson).....σελ.	54
3.4.2 Αποτελέσματα από υδροαπόσταξη (Clevenger).....σελ.	61
3.5 Αποτελέσματα FT-IR.....σελ.	75
3.5.1. Αποτελέσματα FT-IR από ταυτόχρονη εκχύλιση με απόσταξη (Likens-Nickerson).....σελ.	75
3.5.2 Αποτελέσματα FT-IR από υδροαπόσταξη (Clevenger).....σελ.	78
3.6 Αποτελέσματα τοξικότηταςενάντια στο βακτήριοVibrio fischeri.....σελ.	85
4. Συζήτηση.....σελ.	87
4.1 Προσδιορισμός φαινολικών και αντιοξειδωτική δράση.....σελ.	87
4.2 Μελέτη φασμάτων FT-IR με την τεχνική ATR.....σελ.	93
4.3 Συσχέτιση αντιοξειδωτικής δράσης με τα υπέρυθρα φάσματα FT-IR με την τεχνική ATR.....σελ.	93
4.4 Μελέτη αρωματικού προφίλ.....σελ.	97
4.5 Μελέτη φασμάτων FT-IR .....σελ.	100
4.6 Μελέτη τοξικότηταςενάντια στο βακτήριοVibriofischeri.....σελ.	111
5. Γενικά συμπεράσματα.....σελ.	113
6. Παράρτημα.....σελ.	115
7. Βιβλιογραφία.....σελ.	129



# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 Περιγραφή των φυτών

Αρχικά είναι απαραίτητο πριν αναλύσουμε οτιδήποτε άλλο στην παρούσα μεταπτυχιακή, να αναφερθούμε στα φυτά με τα οποία ασχοληθήκαμε και αποτελούσαν το κύριο υλικό των πειραμάτων μας.

Τα αφεψήματα που μελετήθηκαν είναι προϊόντα του εμπορίου από την Εταιρία Krocus Kozanis Products. Συνολικά είναι 7 μίγματα αφεψημάτων όπου κάθε μίγμα περιέχει 1% κρόκο και έχουν την ακόλουθη σύσταση [εκτός παρένθεσης βρίσκονται τα φυτά που βρίσκονται σε μεγάλο ποσοστό μέσα στο μίγμα του αφεψηματος (κύρια φυτά) και αποτελούν την ταυτότητα του προϊόντος ενώ σε παρένθεση γράφονται τα φυτά που βρίσκονται σε μικρότερο ποσοστό (δευτερεύοντα φυτά)]:

1. Βιολογικό αφέψημα: κρόκος, δεντρολίβανο και θυμάρι (δυόσμος, φύλλα πορτοκαλιάς, γλυκάνισο, μάραθος, ιβίσκος, γλυκόριζα, ρίγανη)
2. Κρόκος, δεντρολίβανο και θυμάρι (\* ίδια με πάνω)
3. Κρόκος, κανέλα και γαρύφαλλο (φλοιός πορτοκαλιού, ιβίσκος, μήλο, φυσικές αρωματικές ύλες)
4. Κρόκος, φασκόμηλο και λουίζα (τσάι rooibos, μέντα, μελισσόχορτο, λεμονόχορτο, μάραθος, γλυκάνισο, θυμάρι, δεντρολίβανο)
5. Κρόκος, πορτοκάλι (φλοιός πορτοκαλιού) και μέλι (μήλο, πέταλα τριαντάφυλλου, φύλλα πορτοκαλιάς, φυσικές αρωματικές ύλες, φλοιός λεμονιού, φύλλα από βατόμουρα)
6. Κρόκος, μαύρο τσάι, λεμόνι, δυόσμος (φυσικές αρωματικές ύλες)
7. Κρόκος, πράσινο τσάι, πιπερόριζα (τζίντζερ) και γλυκόριζα (φυσικό άρωμα πορτοκαλιού, φύλλα δυόσμου)

Παρακάτω γίνεται η περιγραφή των κύριων φυτών δίνοντας έμφαση στην μορφολογία τους, τις χρήσεις τους και τις βιολογικές τους ιδιότητες.

### Δεντρολίβανο (*Rosmarinus officinalis*)

Το δεντρολίβανο είναι ένας θάμνος που ανήκει στην κατηγορία των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. Αποτελείται από ξυλώδη στελέχη που φέρουν πολύ λεπτά και μικρά φύλλα ενώ κατά την ανθοφορία βγάζει μωβ άνθη (Εικόνα 1). Τα φύλλα του δεντρολίβανου είναι ένα διαδομένο σε πολλά μέρη του κόσμου μπαχαρικό ενώ το αιθέριο έλαιό του χρησιμοποιείται ως πρόσθετο γεύσης αλλά και στην αρωματοθεραπεία. Γενικά χρησιμοποιείται για να νοστιμεύσει τα φαγητά αλλά και να τα προστατεύσει από τους μικροοργανισμούς καθώς διαθέτει αντιμικροβιακή δράση. Παίζει μεγάλο ρόλο στην βιομηχανία και χρησιμοποιείται σε καλλυντικά, ως πρόσθετο γεύσης στα φαγητά, σε αφεψήματα, σε αρώματα, οδοντόκρεμες κ.α. Επιπλέον έχει εφαρμογή και στην ιατρική. Χρησιμοποιείται στην παραγωγή φαρμάκων καθώς το δεντρολίβανο έχει αντιοξειδωτική, ηπατοπροστατευτική και αντικαρκινική δράση [1]. Αξιοσημείωτο είναι πως το δεντρολίβανο θεωρείται ως το φυτό με την μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση ανάμεσα στα μπαχαρικά [2].



**Εικόνα 1.** *Rosmarinus officinalis*



**Εικόνα 2.** *Thymus vulgaris*

### Θυμάρι (*Thymus vulgaris*)

Το θυμάρι είναι θάμνος που ανήκει στην οικογένεια Lamiaceae και βρίσκεται στην Ευρώπη, την Ασία και την Βόρεια Αφρική. Φέρει μικρά, πράσινα φύλλα τα οποία τοποθετούνται αντίθετα κατά ζεύγη και κατά την ανθοφορία φέρει μωβ-ροζ άνθη [3]. (Εικόνα 2) Χρησιμοποιείται ευρέως στην κουζίνα είτε φρέσκο είτε αποξηραμένο για να δώσει ωραία γεύση στα φαγητά ως μπαχαρικό αλλά και για να διατηρεί τα τρόφιμα χάρη στην αντιμικροβιακή του δράση [4]. Χρησιμοποιείται και σαν αφέψημα για να αποδώσει τις ευεργετικές του ιδιότητες στον οργανισμό ως αντιοξειδωτικό και αντιφλεγμονώδες καθώς φαίνεται να έχει καταπραϊντική δράση

στον βήχα [5]. Επίσης βρίσκει εφαρμογή ως αντισηπτικό για την υγιεινή του στόματος [6] και πριν τα σύγχρονα αντιβιοτικά το αιθέριο έλαιό του χρησιμοποιούνταν σε επιδέσμους σε πληγές [4]. Κύριο συστατικό του αιθέριου ελαίου είναι η θυμόλη στην οποία προσδίδεται κυρίως η αντιοξειδωτική δράση του φυτού [4].

### Κανέλα (*Cinnamomum verum*)

Η κανέλα προέρχεται από τον φλοιό του δέντρου *Cinnamomum verum* (Εικόνα 3) της οικογένειας Lauraceae και συχνά υπάρχει μια σύγχυση με συγγενή είδη όπως η κασσία η οποία λανθασμένα ονομάζεται κανέλα. Χρησιμοποιείται στην κουζίνα ως μπαχαρικό σε φαγητά και στην ζαχαροπλαστική για την παρασκευή γλυκών ή ροφημάτων όπως η σοκολάτα και διάφορα αφεψήματα κανέλας. Χάρη στην περιεκτικότητα της σε trans κινναμαλδεΰδη η κανέλα έχει αντιπυρετική, αντιβακτηριακή και κυτοτοξική δράση και συμβάλλει στην διάλυση των αερίων του στομάχου [7]. Σημαντική είναι η συμβολή της στον διαβήτη καθώς περιέχει βιολογικά δραστικές ουσίες οι οποίες μιμούνται τις ιδιότητες της ινσουλίνης. Πιο συγκεκριμένα, ενισχύει την λήψη της ινσουλίνης ενεργοποιώντας ένζυμα που σχετίζονται με αυτή [8].



**Εικόνα 3.** *Cinnamomum verum*



**Εικόνα 4.** *Syzygium aromaticum*

### Γαρύφαλλο (*Syzygium aromaticum*)

Το γαρύφαλλο είναι τα ξηραμένα μπουμπούκια του δέντρου *Syzygium aromaticum* που ανήκει στην οικογένεια Myrtaceae (Εικόνα 4). Το γαρύφαλλο χρησιμοποιείται σαν μπαχαρικό στην κουζίνα [9], σαν αποθητικό μυρμηγκιών, στην αρωματοθεραπεία αλλά και σε τσιγάρα που ονομάζονται kretek [10]. Το αιθέριο έλαιο του γαρύφαλλου αλλά και η ευγενόλη ξεχωριστά η οποία είναι το κύριο συστατικό του φαίνεται να έχουν κυτοτοξική δράση [11] και για αυτό τον λόγο εμφανίζει και χημειοπροστατευτική δράση ενάντια στα καρκινικά κύτταρα [9]. Όπως και τα συστατικά της κανέλας έτσι και αυτά του γαρύφαλλου φαίνεται πως μιμούνται την δράση της ινσουλίνης και επάγει την έκφραση των ίδιων γονιδίων κατά την κατανάλωσή τους από διαβητικούς [12]. Άλλες δράσεις του αρωματικού αυτού φυτού είναι η αναλγητική, η αντιφλεγμονώδης, η αντιπυρετική, η αντιβακτηριακή και η αντιισταμινική [13].



**Εικόνα 5.** *Aloysia citrodora*

### Λουίζα (*Aloysia citrodora*)

Η λουίζα είναι ένας θάμνος που προέρχεται από την νότια Αμερική. Φέρει μακρόστενα φύλλα τα οποία αναδύουν μυρωδιά λεμονιού και στην άκρη κάθε στελέχους έχει άνθη χρώματος ανοιχτού μωβ κατά την ανθοφορία. (Εικόνα 5) Χρησιμοποιείται για να δώσει μια πρόσθετη γεύση στα φαγητά αλλά και ως αφέψημα χάρη στις ευεργετικές τις ιδιότητες. Έχει αναφερθεί πως η λουίζα έχει ηρεμιστική δράση και βοηθάει στην κατάθλιψη. Το φυτό έχει καλή επίδραση στο νευρικό σύστημα και καταπραΰνει τις κοιλιακές ενοχλήσεις [14]. Επίσης, εκχύλισμα από λουίζα φαίνεται να προστατεύει από την οξειδωτική καταστροφή και την βλάβη των μυών τους χρόνιους αθλητές δρόμου [15].

### Φασκόμηλο (*Salvia officinalis*)

Το φασκόμηλο είναι ένας θάμνος που ανήκει στην οικογένεια Lamiaceae και φύεται στην Μεσόγειο. Τα φύλλα του είναι πρασινοσταχτί με μια βελούδινη επιφάνεια και τα λουλούδια του είναι μωβ-μπλε. (Εικόνα 6) Το φασκόμηλο χρησιμοποιείται κυρίως για την δημιουργία αφεψημάτων και έχει πολλές βιολογικές δράσεις στον οργανισμό. Χρησιμοποιείται ως αντι-ιδρωτικό για τις νυχτερινές επιδρώσεις του πυρετού αλλά και ως σπασμολυτικό για την νευρική και τις διαταράξεις στην πέψη. Στις περιπτώσεις ασθενειών που σχετίζονται με το αναπνευστικό σύστημα αλλά και με φλεγμονές ή ερεθισμούς του στόματος και του λαιμού, οι εισπνοές αιθέριου ελαίου από το φασκόμηλο είναι ευεργετικές. Αυτό οφείλεται στην υψηλή περιεκτικότητα σε πτητικά συστατικά και τανίνες και στην αντιμικροβιακή δράση που εμφανίζει. Το φασκόμηλο μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί και σε οδοντόκρεμες για τους παραπάνω λόγους [16].



**Εικόνα 6.** *Salvia officinalis*



**Εικόνα 7.** *Camellia sinensis*

### Πράσινο τσάι (*Camellia sinensis*)

Το πράσινο τσάι προέρχεται από τα φύλλα του φυτού *Camellia sinensis* (Εικόνα 7) τα οποία υπόκεινται σε οξείδωση κατά την επεξεργασία τους. Το πράσινο τσάι έχει προέλθει από την Κίνα αλλά έχει διαδοθεί ανά τον κόσμο και χρησιμοποιείται ως αφέψημα αλλά και ως καλλυντικό [17]. Παρόλο που το πράσινο τσάι δεν αυξάνει τον μεταβολικό ρυθμό χρησιμοποιείται ωστόσο για την απώλεια βάρους λόγω της θερμογένεσης και της λιπιδικής οξείδωσης που προκαλεί χωρίς να αυξάνει τον ρυθμό της καρδιάς [18]. Τα οφέλη του πράσινου τσαγιού αποδίδονται κυρίως στην δράση

των φλαβονοειδών τα οποία βρίσκονται σε μεγάλη συγκέντρωση στο φυτό και στις κατεχίνες οι οποίες έχουν μεγάλη αντιοξειδωτική δράση. Μελέτες έχουν δείξει ότι η κατανάλωση του πράσινου τσαγιού μειώνει την εμφάνιση καρκίνου (μαστού, δέρματος, πνεύμονα, κ.α) και καρδιακών ασθενειών [19].

### Μαύρο τσάι (*Camellia sinensis*)

Το μαύρο τσάι προέρχεται από τα φύλλα του αειθαλούς θάμνου *Camellia sinensis* (Εικόνα 7) όπως και το πράσινο τσάι. Η διαφορά των δύο τσαγιών βρίσκεται στην επιπλέον επεξεργασία και οξείδωση που υπόκειται το μαύρο τσάι σε σχέση με το πράσινο. Παρόλ' αυτά οι χρήσεις και βιολογικές ιδιότητες του μαύρου τσαγιού δεν διαφέρουν σε τίποτα με το πράσινο και ισχύει ό,τι αναφέρθηκε και παραπάνω [20].



**Εικόνα 8. *Mentha spicata***

### Δυόσμος (*Mentha spicata*)

Ο δυόσμος είναι υποείδος της μέντας, δηλαδή ενός αρωματικού φυτού της οικογένειας Lamiaceae. Είναι μικρός θάμνος που αποτελείται από μεσαίου μεγέθους, ανάγλυφα φύλλα τα οποία τοποθετούνται σταυρωτά στο κεντρικό βλαστό. (Εικόνα 8) Ο δυόσμος χρησιμοποιείται ευρέως ως μυρωδικό στη μαγειρική φρέσκος ή αποξηραμένος ενώ διαδεδομένη είναι και η χρήση του ως αφέψημα. Το αιθέριο έλαιό του προστίθεται σε οδοντόκρεμες, τσίχλες και καραμέλες γιατί βοηθά στην υγιεινή του στόματος λόγω της αντιμικροβιακής του δράσης [21]. Μελέτες έχουν δείξει πως το εκχύλισμα του δυόσμου έχει πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση και προστατεύει τα ερυθροκύτταρα από την λιπιδική υπεροξείδωση [22]. Επιπλέον η μέντα δρα ηπατοπροστατευτικά και σύμφωνα με την μελέτη των Haksar et al προστατεύει τον οργανισμό από τις επιδράσεις της ακτινοβολίας γ [23].

### Πιπερόριζα (*Zingiber officinale*)

Η πιπερόριζα είναι το ρίζωμα (Εικόνα 9) του φυτού *Zingiber officinale* που ανήκει στην οικογένεια Zingiberaceae. Αποτελεί ένα ευρέως διαδεδομένο μπαχαρικό αλλά και φυτικό φάρμακο το οποίο προέρχεται από την Ασία [24]. Η πιπερόριζα (ή τζίντζερ) έχει επίδραση στο πεπτικό σύστημα καθώς διεγείρει την έκκριση των χολικών, γαστρικών, παγκρεατικών και πεπτικών υγρών διευκολύνοντας την αφομοίωση των λιπών που μπορεί να παρεμποδίσουν την πέψη των τροφών [25]. Εδώ και πολλά χρόνια χρησιμοποιείται ενάντια στην αρθρίτιδα, τους κολικούς στομάχου, την ναυτία, τους πονοκεφάλους αλλά και των συμπτωμάτων της γρίπης. Μελέτες έχουν αποδείξει την δράση της πιπερόριζας ενάντια στην ναυτία και τον έμετο αλλά ακόμα είναι απαραίτητη περαιτέρω έρευνα [24].



**Εικόνα 9.** *Zingiber officinale*



**Εικόνα 10.** *Glycyrrhiza glabra*

### Γλυκύριζα (*Glycyrrhiza glabra*)

Η γλυκύριζα είναι η ρίζα του φυτού *Glycyrrhiza glabra* (Εικόνα 10) της οικογένειας Fabaceae και έχει ονομαστεί έτσι γιατί το εκχύλισμα που εξέρχεται της ρίζας έχει μια γλυκιά γεύση. Το φυτό έχει πτεροσχιδή φύλλα και τα λουλούδια του έχουν μωβ χρώμα. Η γλυκύριζα χρησιμοποιείται κυρίως στην καπνοβιομηχανία, την φαρμακοβιομηχανία και την ζαχαροπλαστική. Το εκχύλισμά της περιέχει την γλυκυριζίνη η οποία φαίνεται να είναι το πιο ενεργό συστατικό βιολογικά [26].

Μελέτη των Tamir et al. (2001) έχει δείξει πως συστατικά της γλυκύριζας (γκλαμπρένιο και ισολικριτιγενίνη) μιμούνται την δράση του οιστρογόνου και προσδένονται στον υποδοχέα του [27]. Επίσης, το γλυκυριζικό οξύ φαίνεται να έχει αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη κάποιων ιών DNA και RNA [28] ενώ η γλυκυριζίνη δρα ενάντια στον HIV τύπου 1 [29]. Άλλες δράσεις της γλυκύριζας είναι η αντιμικροβιακή και η αντιοξειδωτική [30].

### Τσάι του βουνού (*Sideritis scardica*)

Το γένος Σιδερίτη προέρχεται από την οικογένεια Lamiaceae και αποτελείται από περισσότερα από 150 είδη [31]. Το φυτό *Sideritis scardica* είναι ένας μικρός θάμνος που φέρει μικρά φύλλα και άνθη υποκίτρινου χρώματος (Εικόνα 11). Ο σιδερίτης χρησιμοποιείται κυρίως για την παρασκευή αφεψήματος και μελέτες έχουν δείξει την ευεργετική του δράση. Εκτός της αντιοξειδωτικής και αντιμικροβιακής του δράσης ο σιδερίτης έχει αντισπασμωδική, αντιφλεγμονώδη, αναλγητική και αντιελκώδη δράση. Πρόσφατα ανακαλύφθηκε η επίδραση του φυτικού εκχυλίσματος στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) λόγω της παρεμποδιστικής του δράσης στην ακετυλοχολινεστεράση. Έτσι, διαταραχές που έχουν σχέση με το ΚΝΣ όπως η κατάθλιψη, οι διαταραχές λόγω άγχους, και ο εκφυλισμός του εγκεφάλου μπορούν να μελετηθούν και να εξεταστεί η πιθανή καταπολέμησή τους ή πρόληψη μέσω της κατανάλωσης σιδερίτη [32].



**Εικόνα 11.** *Sideritis scardica*



## 1.2 Ελεύθερες ρίζες και αντιοξειδωτική δράση

### 1.2.1 Ελεύθερες ρίζες και πως δημιουργούνται.

Τα τελευταία χρόνια γίνεται πολύς λόγος για τις ελεύθερες ρίζες και τις συνέπειες αυτών στον ανθρώπινο οργανισμό. Έτσι, έχει υπάρξει μεγάλο ενδιαφέρον από την επιστημονική κοινότητα να διερευνήσουν την δράση τους αλλά και τους τρόπους αντιμετώπισης. Αυτό που έχει ιδιαίτερη σημασία είναι πως ενημερώνεται το ευρύ κοινό και προσπαθεί μέσω της διατροφής του να αντιμετωπίσει την αρνητική δράση των ελευθέρων ριζών.

Οι ελεύθερες ρίζες αποτελούνται από δραστικά προϊόντα οξυγόνου και αζώτου. Είναι πολύ δραστικά μόρια που προέρχονται από το οξυγόνο και το άζωτο και δημιουργούνται μέσω μεταβολικών μονοπατιών στον άνθρωπο. Για την δημιουργία αυτών των προϊόντων μπορεί να ευθύνεται και το περιβάλλον (μόλυνση περιβάλλοντος, ακτινοβολία κ.α) ή κάποιες διατροφικές συνήθειες του ανθρώπου (τροφές χαμηλής θρεπτικής αξίας, κάπνισμα, κ.α) [33]. Μπορεί οι ελεύθερες ρίζες να δημιουργούνται και από εξωγενείς παράγοντες, όμως τις δημιουργεί και ο ίδιος ο οργανισμός στα υγιή κύτταρα και σε συγκεντρώσεις που δεν τον βλάπτουν. Έχει βρεθεί ότι ο οργανισμός του ανθρώπου παράγει υπεροξειδίο  $O_2^{\cdot-}$ , υπεροξειδίο του υδρογόνου  $H_2O_2$  και οξειδίο του αζώτου  $NO^{\cdot}$  όποτε χρειαστεί. Οι ελεύθερες ρίζες συμβάλλουν έμμεσα ή άμεσα στην παραγωγή του ATP από το ADP, στην αποτοξίνωση των ξενοβιοτικών, στην απόπτωση των ελαττωματικών κυττάρων, στην καταστροφή των μικροοργανισμών και των καρκινικών κυττάρων και κάποιες φορές λειτουργούν ως δευτερογενείς αγγελιοφόροι για την ρύθμιση μεταβολικών μονοπατιών.

Η δημιουργία των ελευθέρων ριζών, σε φυσιολογικά επίπεδα στον ανθρώπινο οργανισμό, αντιμετωπίζεται από την αντιοξειδωτική άμυνα του κυττάρου (ένζυμα αποτοξίνωσης, αντιοξειδωτικά συστατικά). Ωστόσο, όταν ο οργανισμός εκτεθεί σε δυσμενή περιβάλλοντα τότε η δημιουργία των ελευθέρων ριζών ξεπερνά τα φυσιολογικά επίπεδα με αποτέλεσμα ο οργανισμός να μην μπορεί να ανταπεξέλθει στην εξουδετέρωση αυτών άμεσα και να δημιουργηθεί έτσι το οξειδωτικό στρες [34]. Εκεί οφείλεται και η εμφάνιση πολλών ασθενειών του ανθρώπου όπως είναι ο καρκίνος, η νόσος του Αλτσχάιμερ και οι καρδιακές παθήσεις [33]. Παρακάτω στον Πίνακα 1.1 δίνονται τα δραστικά προϊόντα οξυγόνου και αζώτου.

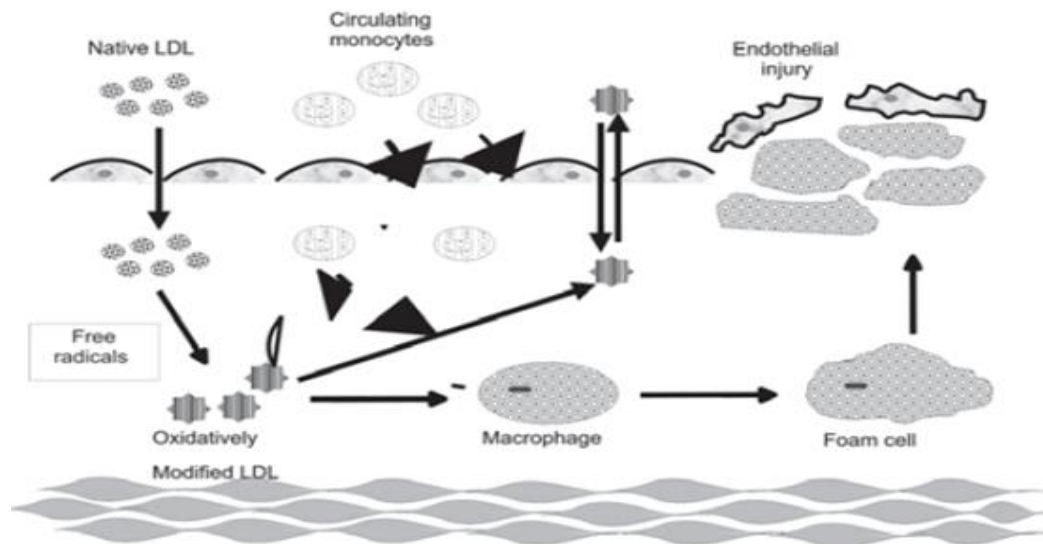
**Πίνακας 1.1.** Δραστικά παράγωγα οξυγόνου και αζώτου.

Δραστικά προϊόντα οξυγόνου		Δραστικά προϊόντα αζώτου	
Υπεροξειδίο	$O_2^{\cdot-}$	Οξειδίο του αζώτου	$NO^{\cdot}$
Υδροξυλική ρίζα	$\cdot OH$	Υπεροξυνιτρώδες	$ONOO^{\cdot}$
Υπεροξειδίο του υδρογόνου	$H_2O_2$	Διοξειδίο του αζώτου	$NO_2$
Υπεροξυλική ρίζα	$ROO^{\cdot}$		
Απλή ηλεκτρονιακή κατάσταση οξυγόνου	$^1O_2$		
Όζον	$O_3$		

### 1.2.2 Επιπτώσεις στον άνθρωπο

Οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν πολλές αρνητικές επιπτώσεις στον ανθρώπινο οργανισμό. Ένας στόχος των ελεύθερων ριζών είναι η λιπιδική μεμβράνη η οποία υφίσταται λιπιδική υπεροξειδωση και καταστρέφεται προκαλώντας βλάβη στην λειτουργία του κυττάρου. Επιπλέον, το DNA υφίσταται θραύση της αλυσίδας ή καταστροφή των βάσεων έχοντας ως αποτέλεσμα διάφορες μεταλλάξεις ή καρκινογένεσεις. Οι πρωτεΐνες με την επίδραση των ελεύθερων ριζών χάνουν την λειτουργικότητά τους ή δημιουργούν προϊόντα επιβλαβή για τον οργανισμό. Τέλος, η ύπαρξη προϊόντων οξυγόνου στα μιτοχόνδρια και η οξειδωτική ζημία του μιτοχονδριακού DNA προκαλεί πιο γρήγορη γήρανση [34].

Ένα παράδειγμα αποτελεί η αθηροσκλήρωση. Πιο συγκεκριμένα, οι Devasagayam et al. (2004) σε μια μελέτη τους έδειξαν ότι οι ελεύθερες ρίζες τροποποιούν και οξειδώνουν την LDL που υπάρχει φυσιολογικά στον οργανισμό μας. Η οξειδωμένη χαμηλής περιεκτικότητας λιποπρωτεΐνη (oxidatively modified LDL) δημιουργεί ενδοθλιακή φλεγμονή, φράζει τις αρτηρίες και προκαλεί την αθηροσκλήρωση [34] (Εικόνα 12).



**Εικόνα 12.** Απεικόνιση της δημιουργίας αθηροσκλήρωσης από ελεύθερες ρίζες [34].

Ωστόσο, αρνητικές συνέπειες μπορούν να προκληθούν και από την κατανάλωση κρέατος το οποίο δεν έχει συντηρηθεί σωστά. Κατά την αποθήκευση του ωμού κρέατος, τις διάφορες επεξεργασίες που μπορεί να υπόκειται και την αποθήκευση του τελικού προϊόντος, προκαλείται οξείδωση των λιπιδίων με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της τροφής που έχει σαν αποτέλεσμα την αλλοίωση της γεύσης και του αρώματος της. Τα προϊόντα της λιπιδικής οξείδωσης συμπλέκονται με τις πρωτεΐνες ή το φολικό οξύ και καταλήγουν στον τελικό καταναλωτή δηλαδή τον άνθρωπο. Έχει βρεθεί πως μπορεί να προκαλέσει παθολογικές αλλαγές στη βλενώδη μεμβράνη της πεπτικής οδού, να παρεμποδίσει την δράση των ενζύμων και να αυξήσει την ποσότητα της χοληστερόλης και των υπεροξειδίων στον ορό του αίματος προκαλώντας εντέλει αθηροσκλήρωση. Για να μειωθεί η εμφάνιση αρνητικών επιπτώσεων στον οργανισμό στην βιομηχανία των τροφίμων συνηθίζεται να γίνεται προσθήκη τεχνητών αντιοξειδωτικών όπως είναι το ΒΗΤ και το ΒΗΑ κατά την διάρκεια της επεξεργασίας των τροφίμων. Ωστόσο, έχει βρεθεί πως αυτά τα συστατικά έχουν αρνητική συμπεριφορά και μπορούν να παρουσιάσουν καρκίνο στον οργανισμό. Για αυτό τον λόγο πλέον προτιμώνται τα φυσικά αντιοξειδωτικά που προέρχονται από τα φυτά και πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιούν κάποια μπαχαρικά (μαύρο πιπέρι, κόκκινο πιπέρι, σκόρδο κ.α) ή βότανα (φασκόμηλο, μαντζουράνα) με σκοπό να προστατεύσουν τα φαγητά από την οξείδωση [35].

### 1.2.3 Αντιοξειδωτική δράση και αντιοξειδωτικά συστατικά.

Τα φαινολικά συστατικά σχηματίζουν μία από τις μεγαλύτερες ομάδες των δευτερογενών μεταβολιτών με μεγάλο εύρος δομών και λειτουργιών. Γενικά είναι ενώσεις που περιλαμβάνουν έναν αρωματικό δακτύλιο και ένα ή περισσότερους υδροξύ- υποκαταστάτες. Επειδή όμως αυτός ο όρος είναι πολύ γενικός περιλαμβάνοντας και ενώσεις που δεν ανήκουν στα φαινολικά (π.χ οιστρόνη) για τον διαχωρισμό τους δίνεται έμφαση στο να προέρχονται από το σικιμικό μονοπάτι και τον μεταβολισμό των φαινυλπροπανοειδών [36]. Οι флаβονοειδείς φαινόλες έχουν τον σκελετό του διφαινυλ-προπανίου  $C_6C_3C_6$ . Στην οικογένεια αυτή ανήκουν οι **φλαβανόλες**, οι **φλαβανόνες**, οι **φλαβόνες**, οι **φλαβονόλες** και οι **ανθοκυανιδίνες**. Οι φλαβόνες και οι φλαβανόνες συνυπάρχουν στα φυτά όπως για παράδειγμα στα εσπεριδοειδή ενώ αντίθετα οι ανθοκυανιδίνες φαίνεται σχεδόν να απουσιάζουν σε όλα τα φυτά που είναι πλούσια σε φλαβανόνες [37]. Η πιο γνωστή ομάδα των φαινολικών είναι τα флаβονοειδή. Η ομάδα των φαινολικών περιλαμβάνει λιγνίνες αλλά και ταννίνες [36]. Οι πολυφαινόλες των φυτών δρουν ως αντιοξειδωτικά λόγω της ικανότητάς τους να δίνουν ένα υδρογόνο στην ελεύθερη ρίζα και να αδρανοποιούν το οξυγόνο που ηλεκτρονιακά βρίσκεται στην απλή κατάσταση [37].

Σε κυτταρικό επίπεδο τα φαινολικά εντοπίζονται στον κενό κυτταρικό χώρο ενώ οι λιγνίνες και τα флаβονοειδή βρίσκονται στο κυτταρικό τοίχωμα. Σε επίπεδο ιστού οι συγκεντρώσεις των φαινολικών διαφέρουν όπως για παράδειγμα η ποσότητα των διαλυτών φαινολικών είναι μεγαλύτερη στα επιδερμικά και υποδερμικά στρώματα παρά στο μεσοκάρπιο. Έτσι, είναι επόμενο η συγκέντρωση των φαινολικών να μεταβάλλεται σε φρούτα τα οποία καταναλώνονται ολόκληρα και στα φρούτα των οποίων η φλούδα πετάγεται [36]. Στον Πίνακα 1.2 που ακολουθεί παρουσιάζονται κάποια από τα φαινολικά συστατικά στα φυτά ενώ στον Πίνακα 1.3 καταγράφονται τα φαινολικά συστατικά των κύριων φυτών από τα οποία αποτελούνται τα αφεψήματα της παρούσας μελέτης.

**Πίνακας 1.2.** Φαινολικά συστατικά

ΦΛΑΒΑΝΟ-ΛΕΣ	ΦΛΑΒΑ-ΝΟΝΕΣ	ΦΛΑΒΟΝΟ-ΛΕΣ	ΦΛΑΒΟΝΕΣ	ΑΝΘΟΚΥΑΝΙΔΙΝΕΣ
Επικατεχίνη	Ναρινγενίνη	Καμφερόλη	Χρυσίνη	Μαλβιδίνη
Κατεχίνη	Ταξιφολίνη	Κερκετίνη	Απιγενίνη	Κυανιδίνη
Επιγαλλοκατεχίνη	Λουτεολίνη	Μυρικετίνη		Απιγενιδίνη
Γαλλικός εστέρας επικατεχίνης	Εσπεριτίνη	Μορίνη		Δελφινιδίνη
Γαλλικός εστέρας επιγαλοκατεχίνης	Εσπεριδίνη	Ρουτίνη		Κερακυανίνη

**Πίνακας 1.3.** Φαινολικά συστατικά των κύριων φυτών των αφεψημάτων.

Φυτό	Φαινολικά συστατικά
<b>Κρόκος</b>	Κατεχόλη, βανιλίνη, σαλικυλικό οξύ, κινναμικό οξύ, π-υδροξυβενζοϊκό οξύ, γεντισικό οξύ, συριγγικό οξύ, π-κουμαρικό οξύ, γαλλικό οξύ, καφεϊκό οξύ, φερουλικό οξύ (Esmaeili et al., 2011)
<b>Δεντρολίβανο</b>	Ροσμαρινικό οξύ, καμφερόλη, λουτεονίνη, καρνοσόλη, καρνοσικό οξύ, 6''-O-(E)-φερουλοϋλνεπιτρίνη, 6''-O-(E)-p-κουμαροϋλνεπιτρίνη, 6-μεθοξυλουτεονίνη 7-γλυκοπυρανοσίδιο, λουτεονίνη 3'-O-β-D-γλυκουρονίδιο, genkwanin, λαντανεΐνη (Bai et al., 2010)
<b>Θυμάρι</b>	Ροσμαρινικό οξύ, κινναμικό οξύ, καφεϊκό οξύ, οξικός μεθυλεστέρας ροσμαρινικού, χλωρογενικό οξύ, κυνικό οξύ, φερουλικό οξύ, απιγενίνη, κερκετίνη, λουτεολίνη (Robya et al., 2013)
<b>Φασκόμηλο</b>	Ροσμαρινικό οξύ, καφεϊκό οξύ, χλωρογενικό οξύ, φερουλικό οξύ, καρνοσόλη, καρνοσικό οξύ, επιροσμανόλη, ροσμανόλη, καρνοσαλδεΐδη (Fischedicka et al., 2013 και Then et al., 2004)
<b>Λουίζα</b>	Βερμπασκοσίδιο και παράγωγά του, παράγωγα διγλυκουρονιδίων της απιγενίνης και λουτεολίνης, ευκοβοσίδιο, γκαρντοσίδιο, βερμπασοσίδιο, κιστανοσίδιο F, καμπνεοσίδιο I, χρυσοερίολη-7-διγκλυκουρονίδιο, φορσιθοσίδιο A (Quirantes-Pinéa et al., 2009)
<b>Κανέλα</b>	Παράγωγα κινναμικού οξέος, κουμαρίνες, τοκοφερόλες (Mathew et al., 2005)

<b>Γαρύφαλλο</b>	Ταννικό οξύ, γαλλικό οξύ, ευγενόλη (Tutor vista, 2013)
<b>Πράσινο/Μαύρο τσάι</b>	Κατεχίνη, επικατεχίνη, καφεΐνη, ρουτίνη, γαλλικό οξύ, οξικός προπυλεστέρας γαλλικού, χλωρογενικό οξύ, π-κουμαρικό οξύ (Ramalho et al., 2013)
<b>Πιπερόριζα</b>	Σογκαόλη, τζιντζερόλη, γαλανολακτόνη, τζιντζεσουλφονικό οξύ, τζιντζερόνη (Kemper, 1999)
<b>Γλυκόριζα</b>	Γλυκυριζικό οξύ, παράγωγα λικιριτιγενίνης και ισολικιριτιγενίνης, γκλαμπριντίνη, λικοροσιδίνη, λικορισοφλαβάνη, λικοχαλκόνη (Nomura et al., 2002)
<b>Δυόσμος</b>	Καφεϊκό οξύ, ροσμαρινικό οξύ, λουτεολίνη (Gokbulut et al., 2010)
<b>Σιδερίτης</b>	Χλωρογενικό οξύ, μυρικετίνη, απιγενίνη, γαλλικός εστέρας επικατεχίνης και επιγαλοκατεχίνης (Samanidou et al., 2012)

#### 1.2.4 Δράση φαινολικών

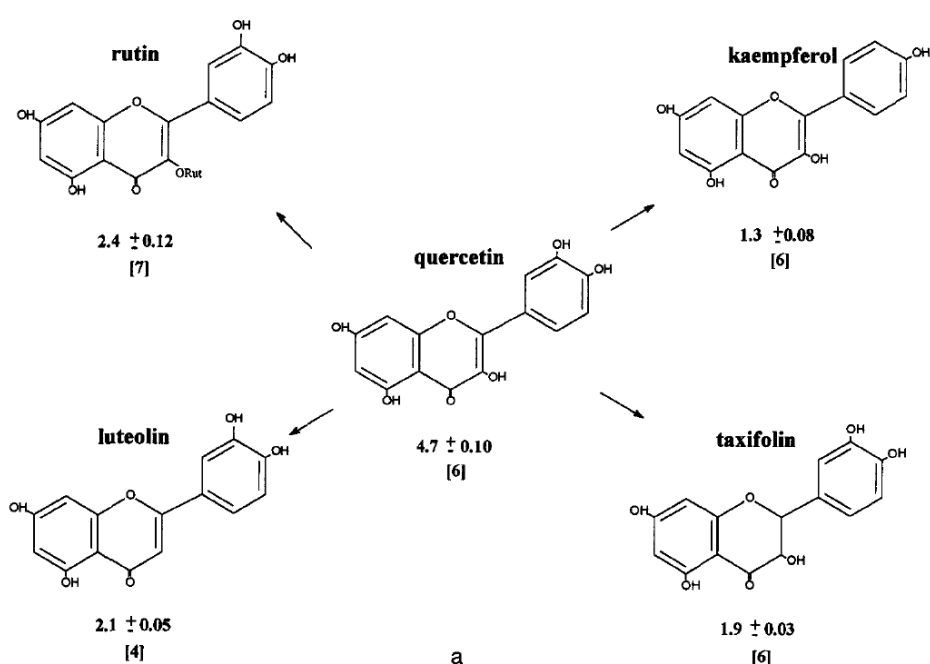
Τα φαινολικά συστατικά έχουν την ικανότητα να εμπλέκονται στις αντιδράσεις δημιουργίας ελεύθερων ριζών και να δίνουν ένα υδρογόνο στις ελεύθερες ρίζες. Έτσι, τις καθιστούν και πάλι ουδέτερα μόρια όπως φαίνεται και στην παρακάτω εικόνα:



**Εικόνα 13.** Εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών με την συμβολή των φαινολικών AH.

Για να θεωρηθεί ένα φαινολικό συστατικό κατάλληλο για αντιοξειδωτικό θα πρέπει ο δεσμός A-H να είναι ασθενής και η ελεύθερη ρίζα A<sup>•</sup> να είναι σταθερή και να μην δημιουργεί νέα αλυσίδα αντιδράσεων δημιουργίας ελεύθερων ριζών. Η δράση αυξάνεται αντικαθιστώντας τη φαινόλη με ογκώδεις υποκαταστάτες ή με ομάδες δότες ηλεκτρονίων που δημιουργούν επαγωγικό φαινόμενο. Στην πρώτη περίπτωση οι ογκώδεις υποκαταστάτες δημιουργούν μια εστερική παρεμπόδιση με αποτέλεσμα να μειώνουν τις αντιδράσεις των αντιοξειδωτικών ριζών. Η δράση των φαινολικών οξέων αυξάνεται με την προσθήκη επιπλέον υδροξυλομάδων [36].

Στην παρακάτω εικόνα φαίνεται πως ανάλογα με την χημική δομή των συστατικών αλλάζει και η αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Η απουσία υδροξυλομάδων ή κάποιου διπλού δεσμού από την ένωση μειώνει την αντιοξειδωτική ικανότητα. Έτσι, σύμφωνα με την εικόνα η καμφερόλη παρουσιάζει σημαντική μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα λόγω της έλλειψης του υδροξυλίου στον δακτύλιο σε σχέση με την κερκετίνη που παρουσιάζει την μέγιστη αντιοξειδωτική δράση [37].



**Εικόνα 14.** Δομή ορισμένων φαινολικών και σχετικές διαφορές στην αντιοξειδωτική δράση [37].

### 1.2.5 Πηγές αντιοξειδωτικών.

Τα αντιοξειδωτικά στα φαγητά παίζουν σημαντικό ρόλο μιας και επιστημονικά έχειδειχθεί πως μειώνουν τον κίνδυνο χρόνιων παθήσεων όπως είναι ο καρκίνος και οι καρδιακές παθήσεις. Οι κύριες πηγές των αντιοξειδωτικών συστατικών είναι τα σιτηρά, τα φρούτα και τα λαχανικά. Από τα αντιοξειδωτικά

εκείνα που έχουν αποδειχθεί να έχουν δυνατότητες να μειώσουν τον κίνδυνο είναι η βιταμίνη C, η βιταμίνη E, τα καροτένια, τα φαινολικά οξέα, τα φυτοοιστρογόνα και άλατα φυτικού οξέος. Πιο συγκεκριμένα το φυτικό οξύ έχει πολύ ισχυρή αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με τις μονοφαινόλες που έχουν ασθενή δράση.

Πολλές κλινικές μελέτες δείχνουν ότι τα αντιοξειδωτικά που βρίσκονται στα φρούτα, τα λαχανικά, το τσάι και το κόκκινο κρασί είναι οι κύριοι παράγοντες που συμβάλλουν στην μείωση των χρόνιων παθήσεων [51]. Επιπλέον το ελαιόλαδο περιέχει πολλά πολικά φαινολικά συστατικά στα οποία οφείλονται και οι βιολογικές ιδιότητές του. Το σουσάμι είναι πλούσιο σε λιγνάνες όπως είναι η σισαμίνη και η σισαμολίνη ενώ το σισαμέλαιο είναι ιδιαίτερα ανθεκτικό στην ταγγάδα λόγω άλλων αντιοξειδωτικών συστατικών όπως η σισαμόλη και το διμερές της σισαμόλης. Σημαντική πηγή φαινολικών συστατικών αποτελούν το τσάι και ιδιαίτερα το μαύρο και το πράσινο και τα διάφορα αφεψήματα βοτάνων κυρίως από τα διάφορα τμήματα των φυτών της οικογένειας *Lamiaceae* (ρίγανη, δυόσμος, μέντα κ.α.). Ωστόσο, σημασία πρέπει να δοθεί στα παραπροϊόντα όπως είναι οι ελαιοπυρήνες, οι φλούδες και οι πυρήνες των πορτοκαλιών, οι πυρήνες των σταφυλιών κ.α, τα οποία είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά συστατικά αλλά παραμένουν ανεκμετάλλευτα και πετάγονται μετά την παρασκευή των διαφόρων προϊόντων [52].

Οι πληροφορίες για την απορρόφηση, τον μεταβολισμό και την έκκριση των φαινολικών στον ανθρώπινο οργανισμό είναι περιορισμένες και είναι ακόμα ασαφές αν παραμένουν στην κατάλληλη τους μορφή για αρκετό χρόνο ώστε να δράσουν προστατευτικά στον οργανισμό. Τα φαινολικά με ένα αρωματικό δακτύλιο απορροφώνται από το στομάχι αμέσως κάτι που οδηγεί στην υπόθεση πως μεγαλύτερα φαινολικά διασπώνται σε χημικές δομές μικρότερου μοριακού βάρους πριν την απορρόφησή τους. Έχει βρεθεί επίσης ότι τα φαινολικά προσδένονται σε άλλα μόρια όπως είναι οι πρωτεΐνες και πιο συγκεκριμένα αυτά που είναι δυσδιάλυτα στο νερό προσδένονται καλύτερα [37].

Τα τελευταία χρόνια γίνονται προσπάθειες για την δημιουργία τροφίμων με υψηλότερη θρεπτική αξία και μεγαλύτερη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών συστατικών μέσω της εισαγωγής γονιδίων σχετικών με την έκφραση του κάθε συστατικού. Τέτοια παραδείγματα είναι η τομάτα που περιέχει μέχρι και τρεις φορές μεγαλύτερη ποσότητα λυκοπενίου, το κρεμμύδι που είναι πιο γλυκό και περιέχει υψηλά ποσοστά κερκετίνης και ανθοκυανίνης, η αύξηση της περιεκτικότητας των καροτενοειδών στο πεπόνι κ.α [34].



**Πίνακας 1.4.** Αντιοξειδωτικά συστατικά στις τροφές.

	Τροφές	Αντιοξειδωτικά	Βιβλιογραφία
Φρούτα	<b>Κεράσι</b>	Υδροξυκιναμικά οξέα, ανθοκυανίνες	Belitz and Grosch (1999), Yanishlieva-Maslarova et al., (2001) και Manach et al.(2004)
	<b>Μούρα</b>	Υδροξυκιναμικά οξέα, ανθοκυανίνες, υδροξυβενζοϊκά οξέα	Hakkinen et al. (1998), Belitz and Grosch (1999), Wang and Lin (2000), Yanishlieva-Maslarova and Heinonen (2001), and Manach et al. (2004)
	<b>Μαύρα σταφύλια</b>	Ανθοκυανίνες, φλαβονόνες	Belitz and Grosch (1999), Yanishlieva-Maslarova et al. (2001), and Manach et al. (2004)
	<b>Κιτροειδή</b>	Φλαβονόνες, φλαβονόλες, φαινολικά οξέα	Yanishlieva-Maslarova et al. (2001), Beecher (2003) και Manach et al. (2004)
	<b>Μήλο, δαμάσκηνο, αχλάδι, kiwi</b>	Υδροξυκιναμικά οξέα, κατεχίνες	Belitz and Grosch (1999), Yanishlieva-Maslarova et al. (2001) και Manach et al. (2004)
	Λαχανικά	<b>Φασόλια</b>	Φλαβονόλες
<b>Μελιτζάνα</b>		Υδροξυκιναμικά οξέα, ανθοκυανίνες	Manach et al. (2004)
<b>Σπανάκι</b>		Φλαβονοειδή, π-κουμαρικό οξύ	Bergman et al. (2001)
<b>Ραδίκι, αγκινάρα</b>		Υδροξυκιναμικό οξέα	Manach et al. (2004)
<b>Μαϊντανός</b>		Φλαβόνες	Manach et al. (2004)
<b>Φύλλα γλυκοπατάτας</b>		Φλαβόνες, φλαβονόλες	Chu et al. (2000)
<b>Κίτρινο κρεμμύδι, κατσαρό λάχανο, πράσο</b>		φλαβονόλες	Manach et al. (2004)
Αλεύρια	<b>Βρώμη, σιτάρι, ρύζι</b>	Καφεϊκό και φερουλικό οξύ	Yanishlieva-Maslarova et al. (2001), and Manach et al. (2004)
Τσάι	<b>Πράσινο και μαύρο τσάι</b>	Φλαβα-3-όλες, φλαβονόλες	Manach et al. (2004) και Beecher (2003)

Αλκοολούχα ποτά	<b>Κόκκινο κρασί</b>	Φλαβα-3-όλες, φλαβονόλες, ανθοκυανίνες	Manach et al. (2004) και Beecher (2003)
	<b>Μηλίτης</b>	Υδροξυκιναμικά οξέα	Manach et al. (2004)
Άλλα ροφήματα	<b>Χυμός πορτοκαλιού</b>	Φλαβανόλες	Manach et al. (2004)
	<b>Καφές</b>	Υδροξυκιναμικά οξέα	Manach et al. (2004) Sanchez-Gonzales et al. (2005)
	<b>Σοκολάτα (ρόφημα)</b>	Φλαβανόλες	Beecher (2003) και Manach et al. (2004)
Βότανα και μπαχαρικά	<b>Δεντρολίβανο</b>	Καρνοσικό οξύ, καρνοσόλη, ροσμαρινικό οξύ, ροσμανόλη	Yanishlieva-Maslarova et al. (2001) και Ibanez et al. (2003)
	<b>Φασκόμηλο</b>	Καρνοσικό οξύ, καρνοσόλη, ροσμαρινικό οξύ	Yanishlieva-Maslarova et al. (2001)
	<b>Ρίγανη</b>	Ροσμαρινικό οξύ, φαινολικά οξέα, φλαβονοειδή	Yanishlieva-Maslarova et al. (2001) Exarchou et al. (2002) και Belhatab et al. (2004)
	<b>Θυμάρι</b>	Θυμόλη, καρβακρόλη, φλαβονοειδή, λουμπεολίνη	Yanishlieva-Manach et al. (2004) Zheng et al. (2001) και Exarchou et al. (2002)
	<b>Τζίντζερ</b>	Gingerd and related companids	Yanishlieva-Maslarova et al. (2001) και Moure et al. (2001)

\*Πηγή: Boskou Dimitrios, «Sources of natural phenolic antioxidants», Elsevier [52].

### 1.3 Μελέτη αρωματικού προφίλ

Μεγάλο ρόλο στην επιλογή ενός αφεψημάτος παίζει για πολλούς ανθρώπους το άρωμα που αναδύεται από το περιεχόμενο του φλιτζανιού. Για αυτό το λόγο στην παρούσα πτυχιακή μελέτη κρίθηκε σκόπιμο να μελετηθεί το αρωματικό προφίλ των αφεψημάτων και τα πτητικά συστατικά των φυτών. Τα πτητικά συστατικά είναι κυρίως τερπενικές ενώσεις μικρού μοριακού βάρους οι οποίες υπάρχουν σε μεγάλες ποσότητες στα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά. Εκτός από το άρωμα που προσδίδουν, άλλοτε ευχάριστο και άλλοτε δυσάρεστο, οι πτητικές ενώσεις έχουν τραβήξει την προσοχή των επιστημόνων λόγω των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων τους.

Οι Daferera et al (2002) και Guynot et al (2003) μελέτησαν την δράση των αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών και βρήκαν πως έχουν πολύ καλή αντιμυκητιακή και αντιβακτηριακή δράση. Μάλιστα μπορούν να αντικαταστήσουν τεχνητά συντηρητικά τροφίμων και να χρησιμοποιηθούν τα αιθέρια έλαια στην θέση τους αποφεύγοντας έτσι και τα προβλήματα που πιθανόν προκαλούν τα πρώτα στην υγεία του ανθρώπου. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η θυμόλη από την ρίγανη και η ευκαλυπτόλη από το φασκόμηλο που παρουσιάζουν πολύ καλή αντιμικροβιακή δράση [53], [54]. Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται τα αιθέρια έλαια σε τρόφιμα, αφεψημάτα και γλυκά όχι μόνο ως πρόσθετα γεύσης αλλά και ως συντηρητικά όπως είναι για παράδειγμα το αιθέριο έλαιο της ρίγανης, της κανέλας, του γαρύφαλλου κ.α [54].

Παρακάτω στον Πίνακα 1.5 δίνονται τα πτητικά συστατικά από τα αιθέρια έλαια των φυτών που συμμετέχουν στην παρασκευή των αφεψημάτων με τα οποία ασχοληθήκαμε, σύμφωνα με την βιβλιογραφία. Σκοπός είναι να βρεθεί αν από τα συγκεκριμένα αφεψημάτα λαμβάνονται τα πτητικά συστατικά από τα φυτά που αναγράφονται στο κουτί της συσκευασίας και να γίνει μια συγκριτική μελέτη μέσω των πτητικών που δίνει η βιβλιογραφία. Για το μήλο (*Malus domestica*), τα φύλλα από βατόμουρα (*Rubus fruticosus*) και το τσάι rooibos (*Aspalathus linearis*) που περιλαμβάνονται στα μίγματα των αφεψημάτων δεν βρέθηκαν πληροφορίες για πτητικά συστατικά στην βιβλιογραφία.

Πίνακας 1.5 Πτητικά συστατικά των αιθέριων ελαίων των φυτών.

Φυτά των αφεψημάτων	Πτητικά συστατικά των αιθέριων ελαίων των φυτών	Βιβλιογραφία
Κρόκος ( <i>Crocus sativus</i> )	σαφρανάλη, ισοφορόνη.	Srivastava et al. (2010) και Tarantilis and Polissiou (1997)
Δεντρολίβανο ( <i>Rosmarinus officinalis</i> )	α-πινένιο, καμφένιο, βερμπενόνη, β-πινένιο, β-μυρκένιο, 3-οκτανόνη, λεμονένιο, 1,8 κινεόλη, α-φελανδρένιο, λιναλοόλη, καμφορά, βερμπενόλη, βορνεόλη, οξικός βορνυλεστέρας, β-καρυοφυλένιο.	Jamshidi et al. (2009)
Θυμάρι ( <i>Thymus vulgaris</i> )	Καρβακρόλη, θυμόλη, γερανιόλη, α-τερπινεόλη, θουγιανόλη, τερπινέν-4-όλη, λιναλοόλη, γ-τερπινένιο, π-κυμένιο, μυρκενόλη, κινεόλη, β-καρυοφυλένιο.	Hudaiba et al. (2002)
Δυόσμος ( <i>Mentha spicata</i> )	καρβόνη, λεμονένιο, γερμακρένιο, 1,8-κινεόλη, β-καρυοφυλένιο, β-βουρβονένιο, μενθόνη, πιπεριτενόνη.	Boukhebt et al. (2011) και Kokkini et al. (1995)
Φύλλα πορτοκαλιάς ( <i>Citrus sinensis</i> )	λιναλοόλη, α-τερπινεόλη, νεράλη, γερανιάλη, οξικός γερανυλεστέρας και οξικός νερυλεστέρας, λεμονένιο, β-πινένιο, σαμπινένιο.	Lota et al. (2001)
Γλυκάνισο ( <i>Pimpinella anisum</i> )	trans-ανηθόλη, γ-ιμαχαλένιο, ρ-ανισαλδεΐδη, μεθυλκαβικόλη, trans-2-μεθυλοβουτυρικός ψευδοισοευγενυλεστέρας.	Orav et al. (2008) και Özcan et al. (2006)
Μάραθος ( <i>Foeniculum vulgare</i> )	trans-ανηθόλη, E-ανηθόλη, α-πινένιο, λιμονένιο, μεθυλ-καβικόλη, φενχόνη, π-κυμένιο, εστραγγόλη, λινολεϊκό οξύ.	Miguel et al. (2010), García-Jiménez et al. (2000) και He and Huang (2011)
Ιβίσκος ( <i>Hibiscus sp.</i> )	E- και Z- φυτόλη, n-νονανάλη, E-2-εξενάλη, 5-μεθυλφουρφουράλη, ακεταλδεΐδη βενζενίου.	Kobaisy et al. (2001)
Ρίγανη ( <i>Origanum vulgare</i> )	καρβακρόλη, θυμόλη, τερπινεν-4-όλη, λιναλοόλη, σαμπινένιο, α- και γ-τερπινένιο.	Aligiannis et al. (2001) και Russo et al. (1998)
Πέταλα τριαντάφυλλου ( <i>Rosa sp.</i> )	σιτρονελόλη, γερανιόλη, νερόλη, λιναλοόλη, φαινυλαιθυλαλκοόλη, φαρνεσόλη, α- και β-πινένιο, λιμονένιο, π-κυμένιο, τερπινένιο, β-καρυοφυλλένιο, νεράλη, οξικός κίτρονυλεστέρας, οξικός γερανυλεστέρας, οξικός νερυλεστέρας, ευγενόλη, βενζαλδεΐδη, βενζυλαλκοόλη.	Verma et al. (2011)

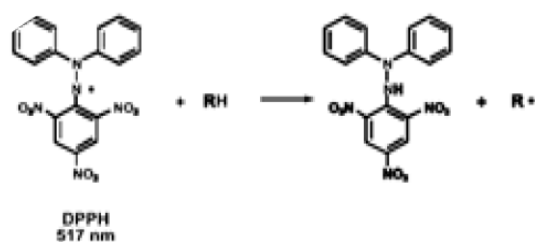
<b>Φλοιός πορτοκαλιού</b>	α- και β-πινένιο, μυρκένιο, λιναλοόλη, λεμονένιο.	Lota et al. (2001)
<b>Φλοιός λεμονιού (Citrus limon)</b>	λεμονένιο, λιναλοόλη, β-πινένιο, γ-τερπινένιο, μυρκένιο, γερανιάλη, νεράλη.	Lota et al. (2002) και Chamblee et al. (1991)
<b>Κανέλα (Cinnamomum verum)</b>	ευγενόλη, καρυοφυλένιο, κινναμαλδεΐδη, α-τερπινεόλη.	Marongiu et al. (2007)
<b>Γαρύφαλλο (Syzygium aromaticum)</b>	ευγενόλη, καρυοφυλένιο, οξικός ευγενυλεστέρας, β-οκιμένιο.	Alma et al. (2007)
<b>Πράσινο τσάι (Camellia sinensis)</b>	λιναλοόλη, διυδροακτινιδιολίδιο, π-βινυλφαινόλη.	Nemecz (2013)
<b>Πιπερόριζα (Zingiber officinale)</b>	κουρκουμένιο, ζιγκκιμπερένιο, ζιγκκιμπερόλη, β-μπισαμπολένιο, καδινα-1,4-διένιο.	Pinoa et al. (2004)
<b>Γλυκίριζα (Glycyrrhiza glabra)</b>	γλυκιριζίνη, ανηθόλη.	Chin et al. (2007)
<b>Φασκόμηλο (Salvia officinalis)</b>	α-και β- θουγιόνη, καμφορά, βιριδιφλορόλη, 1,8 κινεόλη, καμφένιο, χουμουλένιο, καρβακρόλη, λιναλοόλη, μενθόλη, μανσόλη.	Oniga et al. (2010), Sellami et al. (2012) και Raina et al. (2013)
<b>Λουίζα (Lippia citriodora)</b>	κιτράλη, λεμονένιο, νεράλη, α-κουρκουμένιο, α-κεδρόλη, καρβεόλη, λιναλοόλη, α-πινένιο, καρυοφυλένιο, γερανιάλη.	Khani et al. (2012) και Gomes et al. (2006)
<b>Μέντα (Mentha piperita)</b>	μενθόνη, 1,8 κινεόλη, μενθόλη, λεμονένιο, β-πινένιο, νεομενθόλη, οξικός μενθυλεστέρας.	Scavroni et al. (2005)
<b>Μελισσόχορτο (Melissa officinalis)</b>	Νεράλη, κιτρονελάλη, γερανιάλη, γερανιόλη, βορνεόλη, α- και β- πινένιο, λιναλοόλη.	Sari et al. (2002)
<b>Λεμονόχορτο (Cymbopogon citratus)</b>	μυρκένιο, λιναλοόλη, νεράλη, νερόλη, βορνεόλη, γερανιάλη.	Masamba et al. (2003)
<b>Μαύρο τσάι (Camellia sinensis)</b>	α- και β-πινένιο, μουουρόλ-5-εν-4-α-όλη, μουουρόλ-5-εν-4-β-όλη.	Rehman et al. (2008)

## 1.4 Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας.

### 1.4.1 DPPH.

Όπως αναφέρθηκε και προηγούμενα στην παρούσα μελέτη είναι πολύ σημαντικό για μία τροφή να έχει καλή αντιοξειδωτική ικανότητα προστατεύοντας έτσι τον οργανισμό μας από την περίσσεια ελεύθερων ριζών που τον καταστρέφουν. Για να μελετήσουμε την αντιοξειδωτική ικανότητα ενός φυτικού εκχυλίσματος ή μιας τροφής γενικότερα χρησιμοποιούμε την μέθοδο με το DPPH.

Το DPPH ή 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl βρίσκεται σε κατάσταση κρυσταλλικής σκόνης και είναι μια σταθερή ελεύθερη ρίζα [87]. Όταν σε διάλυμα όπου περιέχεται DPPH προστεθεί κάποιο αντιοξειδωτικό τότε το αντιοξειδωτικό συστατικό δίνει ένα υδρογόνο στο μόριο της ρίζας του DPPH για να το μετατρέψει σε ουδέτερο μόριο (Εικόνα 15).



**Εικόνα 15.** Μετατροπή ελεύθερης ρίζας DPPH σε ουδέτερο μόριο από το αντιοξειδωτικό RH.

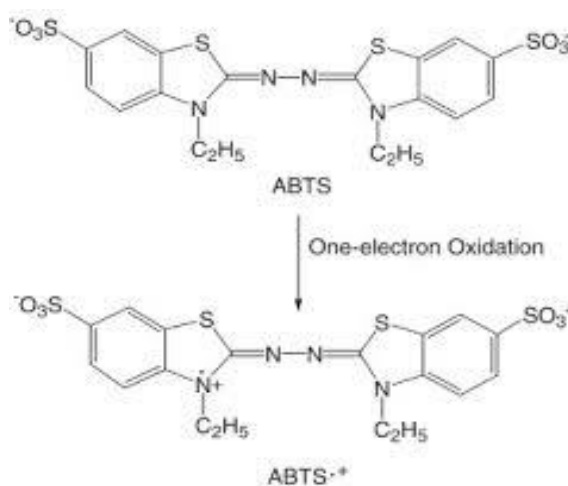
Πιο συγκεκριμένα το ελεύθερο ηλεκτρόνιο του αζώτου στο DPPH όταν συμπεριφέρεται σαν ελεύθερη ρίζα, δίνει μέγιστη απορρόφηση στα 515 nm και είναι μωβ χρώματος. Το χρώμα μετατρέπεται σε κίτρινο όταν το DPPH λαμβάνει ένα υδρογόνο από το αντιοξειδωτικό συστατικό με αποτέλεσμα να μειώνεται η απορροφητική του ικανότητα. Ο αποχρωματισμός είναι στοιχειομετρικός αφού για κάθε ελεύθερη ρίζα DPPH χρησιμοποιείται ένα μόριο αντιοξειδωτικού [88]. Έτσι, όταν προσθέσουμε ένα φυτικό εκχύλισμα σε ένα διάλυμα DPPH για το τεστ της αντιοξειδωτικής δράσης τότε όσο περισσότερο αποχρωματιστεί το διάλυμα από μωβ τόσο μεγαλύτερη είναι η αντιοξειδωτική ικανότητα του φυτικού εκχυλίσματος.

Για την δημιουργία πρότυπων καμπυλών και λήψη μετρήσεων οι οποίες θα χρησιμοποιηθούν για την σύγκριση με το προς εξέταση δείγμα, χρησιμοποιείται πάντα ένα αντιοξειδωτικό γνωστής συγκέντρωσης. Στην παρούσα μελέτη

χρησιμοποιείται το Trolox ως αντιοξειδωτικό και η αντιοξειδωτική δράση εκφράζεται ως % παρεμπόδιση του αντιοξειδωτικού για την δημιουργία ελεύθερης ρίζας.

### 1.4.2 ABTS

Μια άλλη μέθοδος για την μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας ενός τροφίμου στηρίζεται στην χρήση του ABTS [2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]. Αυτό το πείραμα χωρίζεται σε δύο φάσεις. Στην πρώτη φάση στο διάλυμα του ABTS που έχει χρώμα μπλε-πράσινο προστίθεται υπερθειικό κάλιο  $K_2S_2O_8$  για την μετατροπή του ABTS σε ελεύθερη ρίζα (Εικόνα 16). Το χρώμα του υγρού μετά την προσθήκη αυτή γίνεται σκούρο μπλε. Στην δεύτερη φάση – συνήθως μετά το πέρας 12 ωρών – πραγματοποιείται το πείραμα της αντιοξειδωτικής ικανότητας προσθέτοντας στο μίγμα ABTS -  $K_2S_2O_8$  το φυτικό εκχύλισμα. Τα συστατικά που δρουν ως αντιοξειδωτικά στο εκχύλισμα μετατρέπουν το  $ABTS^{\bullet+}$  σε ουδέτερο μόριο [89].



**Εικόνα 16.** Δημιουργία ελεύθερης ρίζας ABTS.

Το ABTS απορροφά στα 734 nm και το ρυθμίζουμε προσθέτοντας αιθανόλη ώστε να έχει απορρόφηση περίπου 0,7. Όταν προστίθεται το φυτικό εκχύλισμα τότε λόγω της δράσης των αντιοξειδωτικών το χρώμα του μίγματος αλλάζει σε πιο ανοιχτόχρωμες αποχρώσεις του μπλε. Όσο πιο ανοιχτόχρωμο είναι τόσο μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα έχουμε. Αναλογικά, το ίδιο ισχύει και όσο μικρότερη είναι η απορρόφηση από το 0,7. Και στο πείραμα με το ABTS χρησιμοποιούμε το Trolox ως αντιοξειδωτικό αναφοράς όπως και στο πείραμα με το DPPH.

## 1.5 Προσδιορισμός συνολικών φαινολικών συστατικών

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένα στην παρούσα μελέτη, τα φαινολικά συστατικά είναι υπεύθυνα για την αντιοξειδωτική δράση διαφόρων τροφίμων. Για την μέτρηση των φαινολικών συστατικών σε ένα δείγμα χρησιμοποιείται το αντιδραστήριο Folin - Ciocalteu το οποίο έχει χρώμα κίτρινο και δημιουργήθηκε από τους Otto Folin και Vintila Ciocalteu.

Η τεχνική βασίζεται στην οξείδωση των φαινολικών συστατικών από το αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu σε αλκαλικό περιβάλλον (προσθήκη  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Το μίγμα που προκύπτει (δείγμα προς εξέταση, αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu και  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) χρωματίζεται μπλε και μάλιστα όσο πλουσιότερο είναι σε φαινολικά τόσο πιο σκούρο γίνεται το χρώμα. Οι απορροφήσεις των δειγμάτων λαμβάνονται στα 725 nm. Όπως και στην περίπτωση της μέτρησης της αντιοξειδωτικής δράσης είναι απαραίτητη η δημιουργία μιας καμπύλης αναφοράς με ένα γνωστό φαινολικό συστατικό. Το πιο κοινά χρησιμοποιούμενο είναι το γαλλικό οξύ μπορούν όμως να χρησιμοποιηθούν και άλλα όπως το ταννικό οξύ, οι κατεχίνες και το καφεϊκό οξύ.

Θα πρέπει να σημειωθεί πως επειδή η τεχνική βασίζεται στην οξείδωση υπάρχει περίπτωση λόγω της ύπαρξης και άλλων συστατικών που μπορούν να οξειδωθούν εκτός των φαινολικών, να υπάρξουν αλλοιωμένα αποτελέσματα απορροφήσεων. Επίσης, επειδή διαφορετικά φαινολικά αντιδρούν σε διαφορετικό βαθμό με το αντιδραστήριο Folin – Ciocalteu είναι απαραίτητο να υπάρχει ένα φαινολικό συστατικό ως αναφορά. Τα αποτελέσματα τα οποία θα παρθούν από τα προς εξέταση δείγματά μας θα εκφραστούν μετέπειτα ως g φαινολικού αναφοράς / L [90].



## 1.6 Υπέρυθρη φασματοσκοπία (InfraRed Spectroscopy – FT-IR)

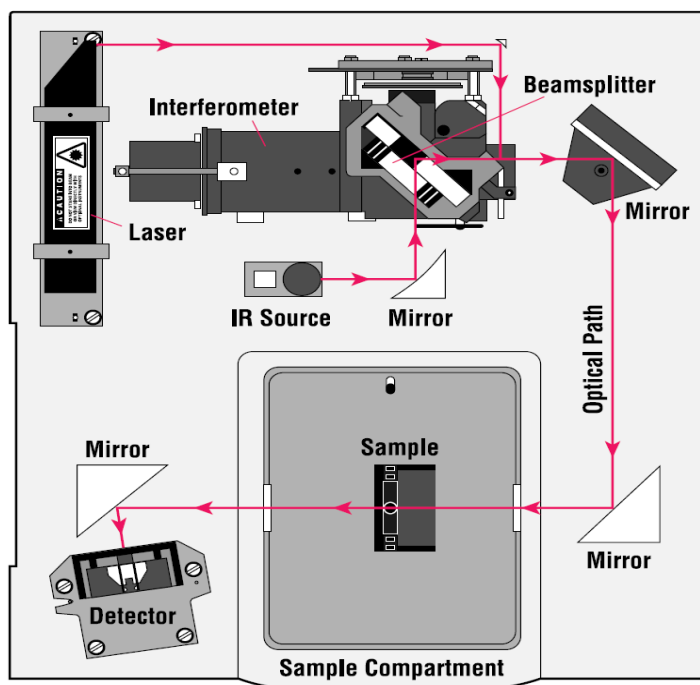
Ένα χρήσιμο εργαλείο για την ταυτοποίηση των συστατικών ενός δείγματος είναι η τεχνική της υπέρυθρης φασματοσκοπίας. Η τεχνική στηρίζεται στην απορρόφηση ενέργειας ορισμένου μήκους κύματος και συχνότητας από τα μόρια του δείγματος στην περιοχή του υπερύθρου.

Κάθε μόριο για να πραγματοποιήσει κίνηση μεταξύ των ατόμων του χρειάζεται να απορροφήσει ενέργεια. Ανάλογα με το είδος των ατόμων και το είδος της κίνησης που θα πραγματοποιήσουν (δονήσεις τάσης ή κάμψης) απορροφάται ενέργεια που αντιστοιχεί σε συγκεκριμένο μήκος κύματος και έτσι είναι εύκολη η ταυτοποίηση χαρακτηριστικών ομάδων που περιέχονται στο μόριο. Η ενέργεια που απορροφάται από τα μόρια προέρχεται από μια ακτίνα λέιζερ η οποία αντανακλάται στην επιφάνεια διαδοχικών καθρεφτών και περνά μέσα από το δείγμα. Το δείγμα απορροφά ακτινοβολία συγκεκριμένης συχνότητας ενώ η ακτινοβολία που δεν απορροφάται διαπερνά το δείγμα ανιχνεύεται από τον ανιχνευτή και καταγράφεται με την μορφή φάσματος (Εικόνα 17) [92]. Έτσι, από ένα φάσμα FT-IR είναι δυνατό να φανεί αν το δείγμα έχει μόρια με αρωματικούς δακτυλίους, καρβοξύλια, αλκοόλες, αμίδια κ.α. Πιο συγκεκριμένα η περιοχή ενός φάσματος από το 4000 μέχρι το 1400  $\text{cm}^{-1}$  είναι η περιοχή που απορροφούν οι χαρακτηριστικές ομάδες. Μια χημική ένωση όμως εκτός από τις χαρακτηριστικές ομάδες έχει και τις δονήσεις που προκαλούνται από όλο το μόριο λόγω των δυνάμεων που ασκούνται από τα γειτονικά άτομα. Οι απορροφήσεις που σχετίζονται με αυτές τις δονήσεις ονομάζονται δακτυλικό αποτύπωμα (finger print) και είναι χαρακτηριστικές για τη κάθε χημική ένωση αφού δεν υπάρχουν διαφορετικές ενώσεις που να δίνουν τις ίδιες κορυφές απορροφήσεων στην περιοχή μεταξύ 1400 και 600  $\text{cm}^{-1}$  [91].

Μέσω της τεχνικής FT-IR είναι δυνατό να ταυτοποιηθούν άγνωστες ενώσεις ή να βρεθούν τι συστατικά περιέχει ένα δείγμα συγκρίνοντας το φάσμα του με φάσματα γνωστών χημικών ενώσεων. Δυνατός είναι επίσης και ο έλεγχος της ποιότητας ενός δείγματος και η ανίχνευση πιθανής νοθείας του προϊόντος συγκρίνοντάς το με φάσμα δείγματος που γνωρίζουμε την αυθεντικότητά του. Επιπλέον, μπορεί να γίνει και ποσοτικός προσδιορισμός ενός συστατικού μέσω του υπολογισμού του εμβαδού κορυφών χαρακτηριστικών ομάδων.

Η τεχνική FT-IR είναι απλή και γρήγορη αφού η τοποθέτηση του δείγματος προς ανάλυση δεν απαιτεί ιδιαίτερη επεξεργασία και τα αποτελέσματα λαμβάνονται

μέσα σε λίγα λεπτά ή και δευτερόλεπτα. Ιδιαίτερη προσοχή, ωστόσο, απαιτεί η ερμηνεία των φασμάτων για την διεξαγωγή σωστών συμπερασμάτων [92].



Εικόνα 17. Απεικόνιση εσωτερικού του οργάνου FT-IR [92].

### 1.7 Μέτρηση τοξικότητας

Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενη παράγραφο η ανάγκη των ανθρώπων να καταναλώνουν τρόφιμα υψηλής θρεπτικής αξίας με σκοπό την διατήρηση της υγείας τους είναι μεγάλη. Πολλά βότανα καταναλώνονται στα φαγητά αλλά και ως αφεψήματα και συχνά υπάρχει η αντίληψη πως ότι είναι φυτικό είναι και ακίνδυνο. Μια τέτοια αντίληψη όμως είναι λανθασμένη αφού η συσσώρευση κάποιων συστατικών στον οργανισμό μπορεί να φέρει αντίθετα αποτελέσματα απ' ότι αν η κατανάλωση ήταν πιο συνετή. Για αυτούς τους λόγους είναι απαραίτητη η μελέτη της τοξικότητας των φυτικών εκχυλισμάτων καθώς και να προσδιοριστούν οι ποσότητες που μπορούν να καταναλωθούν χωρίς να είναι ταυτόχρονα και επιβλαβείς για τον οργανισμό.

Έχουν γίνει πολλές έρευνες για την τοξικότητα βαρέων μετάλλων και ιόντων χρησιμοποιώντας ως αναφορά τα ψάρια, τα ποντίκια αλλά και κάποια φυτά. Όμως τα πειράματα αυτά είναι χρονοβόρα, χρειάζονται εξειδικευμένο εξοπλισμό, εκπαιδευμένο προσωπικό και κάποια από αυτά δεν είναι επαναλήψιμα. Αντίθετα, οι μικροοργανισμοί δίνουν πιο γρήγορα αποτελέσματα, αναπαράγονται εύκολα και τα πειράματα είναι επαναλήψιμα [93].

Οι Conforti *et al.* (2008) χρησιμοποίησαν την τεχνική Microtox για να ερευνήσουν την τοξικότητα εκχυλισμάτων από φυτά της Ιταλίας. Μέσω του πειράματος αυτού συμπέραναν πως η τεχνική είναι αξιόπιστη, επαναλήψιμη και γρήγορη αφού ένα σετ πειράματος διαρκεί μισή ώρα. Το Microtox χρησιμοποιεί το βιοφωτίζον βακτήριο *Vibrio fischeri* που συναντάται στη θάλασσα και μετρά την φωταύγεια που εκπέμπει. Το δείγμα προς μέτρηση αναμιγνύεται με μια ποσότητα βακτηρίων και μετά από ένα χρονικό διάστημα 5 και 15 λεπτών μετράται η φωταύγεια των ζωντανών βακτηρίων και συγκρίνεται με αυτή του μάρτυρα (βακτήρια χωρίς το δείγμα). Οι διαφορές που θα παρουσιαστούν στην απορρόφηση σημαίνουν τον θάνατο κάποιου ποσοστού του πληθυσμού. Όσο μεγαλύτερη η μείωση της απορρόφησης σε σχέση με τον μάρτυρα τόσο λιγότερος είναι ο εναπομείναν πληθυσμός και άρα τόσο πιο τοξικό είναι το δείγμα.

Το βακτήριο αυτό είναι gram αρνητικό και χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά για τον έλεγχο της τοξικότητας του πόσιμου νερού αλλά πλέον χρησιμοποιείται και σε άλλα πειράματα βιολογικού χαρακτήρα. Το φως που εκπέμπει είναι ανάλογο της μεταβολικής δραστηριότητας των βακτηρίων οπότε οποιαδήποτε παρεμπόδιση της ενζυματικής δραστηριότητας προκαλεί μείωση της βιοφωταύγειας. Έτσι εκμεταλλευόμενοι αυτό το χαρακτηριστικό που δίνει εύκολα, άμεσα και γρήγορα αποτελέσματα, το *Vibrio fischeri* θεωρείται ένα χρήσιμο εργαλείο για την μελέτη της τοξικότητας. Ωστόσο, μπορεί οι μηχανισμοί τοξικότητας να είναι διαφορετικοί για τον κάθε οργανισμό το γεγονός όμως πως ένα συστατικό προκαλεί τοξικότητα για έναν οργανισμό σημαίνει πως θα επιδρά με παρόμοιο τρόπο και στους άλλους οργανισμούς [93].

## 1.8 Σκοπός πτυχιακής μελέτης

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής μελέτης είναι η μελέτη των αφεψημάτων της εταιρίας Krocus Kozanis Products. Επειδή τα τελευταία χρόνια έχει γίνει μια στροφή σε προϊόντα υψηλής διατροφικής αξίας και το καταναλωτικό κοινό δίνει προσοχή στα τρόφιμα που έχουν καλή αντιοξειδωτική δράση πρώτο βήμα ήταν η μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των αφεψημάτων και ο προσδιορισμός της ποσότητας των φαινολικών συστατικών. Τα αποτελέσματα που θα ληφθούν από το κάθε μίγμα αφεψημάτων θα συγκριθούν μεταξύ τους αναδεικνύοντας τα μίγματα εκείνα που υπερέχουν στα παραπάνω χαρακτηριστικά που θα μελετηθούν. Επιπλέον οι παραπάνω διαδικασίες θα ακολουθηθούν και για αφεψήματα από τα κύρια φυτά που χρησιμοποιούνται και στα μίγματα. Δηλαδή για το αφέψημα «Δεντρολίβανο-θυμάρι» θα δημιουργηθεί σκέτο αφέψημα από δεντρολίβανο και από θυμάρι με σκοπό την σύγκριση αντιοξειδωτικής δράσης και φαινολικών στα σκέτα φυτά. Τα αφεψήματα θα μελετηθούν και με την τεχνική ATR για να ελεγχθεί η παρουσία των φαινολικών μέσω της υπέρυθρης φασματοσκοπίας.

Ωστόσο, επειδή συνήθως ο καταναλωτής επιλέγει ένα αφέψημα από την μυρωδιά που τον ευχαριστεί με σκοπό να απολαύσει το ρόφημά του χωρίς να σκεφτεί την θρεπτική του αξία, θα μελετηθεί και το αρωματικό προφίλ των προϊόντων. Σκοπός είναι να παραληφθούν τα αιθέρια έλαια των αφεψημάτων και μέσω της αέριας χρωματογραφίας να προσδιοριστούν τα πτητικά συστατικά που βρίσκονται στο αφέψημα και καταλήγουν στην μύτη μας μετά την παρασκευή του. Η ύπαρξη των κύριων συστατικών θα μελετηθεί και με την υπέρυθρη φασματοσκοπία. Όπως και παραπάνω θα μελετηθούν και τα αιθέρια έλαια σκέτων φυτών με σκοπό την σύγκρισή τους με τα μίγματα.

Τέλος ένας επιπλέον στόχος ήταν η μελέτη της τοξικότητας των αφεψημάτων και κατά πόσο τα φυτά που συμμετέχουν στο μίγμα έχουν συνεργιστική ή ανταγωνιστική δράση ως προς την τοξικότητα. Για αυτό το λόγο δημιουργήθηκαν και αφεψήματα σκέτων φυτών με σκοπό την σύγκριση με τα μίγματα.

## 2. ΥΛΙΚΑ - ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Υλικά

Για την δημιουργία των αφεψημάτων των οποίων προσδιορίστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα και τα φαινολικά συστατικά χρησιμοποιήθηκαν τα αφεψήματα του Krocus Kozanis Products (K.K.P.) (Κρόκος-δεντρολίβανο-θυμάρι βιολογικής καλλιέργειας, κρόκος-δεντρολίβανο-θυμάρι, κρόκος-πορτοκάλι (φλοιός πορτοκαλιού)-μέλι, κρόκος-κανέλα-γαρύφαλλο, κρόκος-πράσινο τσάι-πιπερόριζα (τζίντζερ)-γλυκύριζα, κρόκος-φασκόμηλο-λουίζα, κρόκος-μαύρο τσάι-λεμόνι-δύσμος), μαύρο τσάι Τραπεζούντας, σιδερίτης Αγρινίου 2012, ρίγανη Καλαμάτας σοδειάς 2013, δεντρολίβανο Αττικής-Ολυμπιακό χωριό έτους 2013, θυμάρι Αγρινίου σοδειάς 2011, αφέψημα δύσμος Εύριπος, αφέψημα φασκόμηλο και λουίζα ΦΙΝΟ.

Για τις τεχνικές Folin, ABTS και DPPH χρησιμοποιήθηκαν γαλλικό οξύ 1mg/ml Sigma Aldrich, αντιδραστήριο Folin της εταιρίας Merck, διάλυμα  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20%, DPPH 60  $\mu\text{M}$  Sigma Aldrich, Trolox 1,5 mM Sigma Aldrich, αιθανόλη 99,8 % Merck, ABTS 7 mM Sigma Aldrich,  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  140 mM Sigma Aldrich. Η λήψη των απορροφήσεων έγινε με το φορητό φωτόμετρο Portable Dataloging Spectrophotometer, HACH, DR/2010.

Για την ταυτόχρονη απόσταξη με εκχύλιση χρησιμοποιήθηκαν τα επτά είδη αφεψημάτων K.K.P. που περιγράφηκαν παραπάνω και η συσκευή Likens – Nickerson.

Για την υδροαπόσταξη χρησιμοποιήθηκαν τα επτά είδη αφεψημάτων K.K.P, ρίγανη Καλαμάτας, δεντρολίβανο Ολυμπιακού χωριού, σιδερίτης Αγρινίου, φασκόμηλο Γλυφάδας, μαύρο τσάι Τραπεζούντας και η συσκευή Clevenger.

Για την λήψη φασμάτων FT-IR χρησιμοποιήθηκαν τα αιθέρια έλαια που λήφθηκαν από τις τεχνικές της ταυτόχρονης απόσταξης με εκχύλιση και της υδροαπόσταξης και το όργανο Nicolet 6700, Thermo electron corporation.

Για την λήψη φασμάτων ATR χρησιμοποιήθηκαν τα επτά είδη αφεψημάτων K.K.P., αφέψημα φασκόμηλο ΦΙΝΟ, αφέψημα λουίζα ΦΙΝΟ, αφέψημα δύσμου Εύριπος, αφέψημα δεντρολίβανου Γερμανίας, αφέψημα ρίγανης Καλαμάτας, αφέψημα θυμαριού Αγρινίου και το όργανο Nicolet 6700, Thermo electron corporation.

Για την σύγκριση των φασμάτων ATR του κάθε αφεψήματος (μιγμάτων και σκέτων) με την αντιοξειδωτική του δράση χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Turbo Quality (TQ) Analyst 8.0.0.245 της εταιρίας Thermo Fisher Scientific Inc.

Η λήψη χρωματογραφημάτων έγινε με το όργανο χρωματογραφίας GC-MS Hewlett Packard 5890 series II.

Για την μέτρηση της τοξικότητας χρησιμοποιήθηκαν τα επτά είδη αφεψημάτων K.K.P, αφέψημα φασκόμηλου ΦΙΝΟ, αφέψημα λουίζα ΦΙΝΟ, αφέψημα δυόσμου Εύριππος, αφέψημα γλυκάνισου Εύριππος, μαύρο και πράσινο τσάι Twinings και το όργανο Microtox SDI, model 500.

## **2.2 Μέθοδοι**

### **2.2.1. Προσδιορισμός των συνολικών φαινολικών συστατικών**

Για τον προσδιορισμό των συνολικών φαινολικών συστατικών χρησιμοποιούμε ως οδηγό ένα φαινολικό, το γαλλικό οξύ. Δημιουργούμε πρότυπα διαλύματα διαφόρων συγκεντρώσεων γαλλικού οξέος με σκοπό την δημιουργία μιας καμπύλης αναφοράς.

Αρχικά ζυγίζουμε 10 mg γαλλικού οξέος τα οποία διαλύουμε σε 10 ml διαλύτη (1 ml αιθανόλη και 9 ml νερό). Το διάλυμα έχει τελική συγκέντρωση 1 mg/ml. Με διαδοχικές αραιώσεις του αρχικού διαλύματος γαλλικού οξέος δημιουργούμε και άλλα διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων. Τελικά παίρνουμε διαλύματα με συγκεντρώσεις 0,2 - 0,4 - 0,6 - 0,8 και 1 mg/ml. Για την μέτρηση της απορρόφησης του κάθε διαλύματος διαφορετικής συγκέντρωσης φαινολικού προσθέτουμε σε 2,4 ml H<sub>2</sub>O 40 μl γαλλικού οξέος και 200μl αντιδραστηρίου Folin. Με το πέρας των τριών λεπτών προσθέτουμε 600 μl Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> και 760 μl νερό ώστε το διάλυμα να αποκτήσει όγκο 4ml. Μετά από δύο ώρες μετράται η απορρόφηση στα 725 nm.

Για κάθε συγκέντρωση πραγματοποιήθηκαν τρεις μετρήσεις. Η ίδια διαδικασία πραγματοποιείται και για τα δείγματά μας με σκοπό την εύρεση της συγκέντρωσης των φαινολικών συστατικών τους σε σχέση με το γαλλικό οξύ.

## **2.2.2. Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας.**

### **A) Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με DPPH.**

Στο παρόν πείραμα χρησιμοποιήθηκε το DPPH ως ελεύθερη ρίζα για την μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Ως αντιοξειδωτικό χρησιμοποιείται το Trolox, μια ουσία με την οποία θα συγκριθούν τα δείγματά μας ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση.

Για την δημιουργία του διαλύματος DPPH διαλύουμε 2,365 mg DPPH σε 100ml αιθανόλης. Το τελικό διάλυμα έχει συγκέντρωση 60μM.

Για την δημιουργία του διαλύματος Trolox διαλύουμε 2,5 mg Trolox σε 5 ml αιθανόλης φτιάχνοντας διάλυμα συγκέντρωσης 2 mM. Με διαδοχικές αραιώσεις από το αρχικό διάλυμα τελικά φτιάχνουμε διαλύματα συγκεντρώσεων: 0,25 - 0,5 - 1 - 1,5 - 2 - 2,5 mM. Για την μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης προσθέτουμε σε 3 ml DPPH 30 μl Trolox διαφορετικών συγκεντρώσεων κάθε φορά. Επίσης παίρνουμε και μία μέτρηση όπου στο διάλυμα υπάρχει μόνο η ελεύθερη ρίζα. Μετά από μισή ώρα μετράμε την απορρόφηση του κάθε διαλύματος στα 515 nm. Για κάθε συγκέντρωση πάρθηκαν τρεις μετρήσεις.

Μετά την λήψη των απορροφήσεων βρίσκουμε την παρεμπόδιση (%) του αντιοξειδωτικού χρησιμοποιώντας τον παρακάτω τύπο:

$$[(A_0 - A_s) / A_0] * 100 \quad (1)$$

όπου  $A_0$  = η απορρόφηση χωρίς το αντιοξειδωτικό.

$A_s$  = η απορρόφηση του διαλύματος με το αντιοξειδωτικό της κάθε συγκέντρωσης.

### **B) Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας με ABTS.**

Στο παρόν πείραμα χρησιμοποιήθηκε το ABTS ως ελεύθερη ρίζα για την μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Για την δημιουργία του διαλύματος ABTS διαλύουμε 38.4 mg ABTS σε 10 ml δις αποσταγμένο νερό. Το τελικό διάλυμα έχει συγκέντρωση 7 mM και τελικά δημιουργούμε για το πείραμα συγκεντρώσεις 0,25 - 0,5 - 1 - 1,5 - 2 mM. Για να μετατραπεί το ABTS σε ελεύθερη ρίζα θα πρέπει να παρασκευαστεί και ένα

οξειδωτικό. Έτσι, διαλύουμε 378,46 mg  $K_2S_2O_8$  σε 10 ml δις αποσταγμένο νερό. Η συγκέντρωση του διαλύματος είναι 140 mM. Μέσα στο διάλυμα του ABTS προσθέτουμε 176 μl οξειδωτικού  $K_2S_2O_8$  και αφήνουμε το διάλυμα για μία μέρα ώστε να δημιουργηθούν οι ελεύθερες ρίζες. Την επόμενη μέρα δημιουργείται ένα διάλυμα ABTS με αιθανόλη προσθέτοντας τόση αιθανόλη ώστε η απορρόφηση του διαλύματος να γίνει 0,7. Το διάλυμα φυλάσσεται στο φούρνο στους 30°C. Για την εκτέλεση του πειράματος προσθέτουμε 30 μl αντιοξειδωτικού Trolox, όπως έγινε και παραπάνω, σε 3 ml ABTS – αιθανόλη περιμένουμε 6 λεπτά και μετράμε την απορρόφηση στα 734 nm. Αυτό γίνεται για κάθε συγκέντρωση Trolox επί τρεις μετρήσεις για κάθε συγκέντρωση. Ο μηδενισμός του φωτόμετρου γίνεται με προσθήκη αιθανόλης στην κυψελίδα.

Και εδώ, αφού λάβουμε τις απορροφήσεις των διαλυμάτων υπολογίζουμε την παρεμπόδιση της ρίζας ABTS από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις του αντιοξειδωτικού Trolox, χρησιμοποιώντας τον παραπάνω τύπο (1).

### **2.2.3. Επεξεργασία δειγμάτων**

Για τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών και της αντιοξειδωτικής δράσης των δειγμάτων δημιουργήθηκαν αφεψήματα από τα φακελάκια του προϊόντος ακολουθώντας τις οδηγίες που αναγράφονται επάνω στο κουτί. Έτσι, απιονισμένο νερό 200 ml έβρασε μέχρι τους 100 °C και έπειτα βυθίστηκε ένα φακελάκι που περιέχει το δείγμα για 5 λεπτά προς εκχύλιση του περιεχομένου στο νερό. Για την δημιουργία των αφεψημάτων που προήλθαν από αποξηραμένο φυτικό υλικό ζυγίστηκαν 1,8 gr σε αντιστοιχία με τα αφεψήματα που περιείχαν κρόκο Κοζάνης. Το διάλυμα που προκύπτει αναλύεται με τις τεχνική FOLIN για τον προσδιορισμό των φαινολικών και για την αντιοξειδωτική δράση χρησιμοποιήθηκαν τα ABTS και DPPH. Η ίδια διαδικασία ακολουθείται για τα 15 αφεψήματα.



#### **2.2.4. Παραλαβή πτητικών συστατικών**

##### **A) Απόσταξη με υδρατμούς και ταυτόχρονη εκχύλιση με οργανικό διαλύτη.**

Για την παραλαβή αιθέριου ελαίου με ταυτόχρονη απόσταξη και εκχύλιση Likens – Nickerson τοποθετούμε 5 gr στη σφαιρική φιάλη και 50 ml απιονισμένο νερό. Στον συλλέκτη από όπου θα παραλάβουμε το αιθέριο έλαιο προσθέτουμε 4 ml διαιθυλαιθέρα. Η θερμοκρασία στον ψυκτήρα διατηρείται στους 0°C και κάτω, ενώ οι θερμομανδύες που θερμαίνουν την σφαιρική φιάλη και τον συλλέκτη μπαίνουν σε λειτουργία. Στο σύστημα χορηγούμε και αέριο άζωτο για την αποφυγή οξειδωσης του δείγματός μας. Όταν το νερό στην σφαιρική φιάλη αρχίζει να βράζει μετράμε μία ώρα ενώ μετά το πέρας της απόσταξης η συσκευή απομακρύνεται από τους θερμομανδύες και αφήνεται για μισή ώρα ώστε να σταθεροποιηθεί η θερμοκρασία αλλά και τα συστατικά στις δύο φάσεις ( νερό και οργανικός διαλύτης). Η φάση του διαιθυλαιθέρα παραλαμβάνεται και οδηγείται προς ανάλυση του περιεχομένου του στον αέριο χρωματογράφο. Η συγκεκριμένη τεχνική πραγματοποιήθηκε μόνο για τα αφεψήματα που περιείχαν και κρόκο Κοζάνης.

##### **B) Υδροαπόσταξη ( Hydro Distillation )**

Σε σφαιρική φιάλη τοποθετούμε ποσότητα του δείγματος από το κάθε αφέψημα (ζυγίστηκαν 54 g από τα αφεψήματα με κρόκο και το τσάι Τραπεζούντας, 50 gr από την ρίγανη Καλαμάτας , Έβρου και το φασκόμηλο Γλυφάδας, 26 gr από τη ρίγανη Σαμοθράκης και 30 gr από το δεντρολίβανο Αττικής) και προσθέτουμε 500 ml απιονισμένο νερό. Η φιάλη τοποθετείται στον θερμομανδύα ενώ συναρμολογούμε και την υπόλοιπη συσκευή τοποθετώντας το κύριο σώμα της συσκευής Clevenger στην φιάλη - το οποίο πληρώνεται με απιονισμένο νερό - και τον ψυκτήρα στο κύριο σώμα. Η απόσταξη διαρκεί τρεις ώρες και ξεκινά η χρονομέτρηση μόλις οι υδρατμοί υγροποιηθούν και πέσουν στο νερό που βρίσκεται στο κύριο σώμα της συσκευής. Μετά το πέρας των τριών ωρών σβήνουμε τον θερμομανδύα και αφήνουμε για άλλη μισή ώρα ώστε να επέλθει ηρεμία μεταξύ αιθέριου ελαίου και νερού. Το αιθέριο έλαιο σχηματίζει μια έγχρωμη στιβάδα επάνω στο νερό την οποία και απομονώνουμε αφού πρώτα μετρήσουμε την ποσότητά της σε ml. Το νερό ωστόσο περιέχει και εκείνο κάποια ποσότητα αιθέριου ελαίου και το μίγμα αυτό ονομάζεται υδρόλυμα. Το

υδρόλυμα επίσης παραλαμβάνεται, εκχυλίζεται με οργανικό διαλύτη (διαιθυλαιθέρα) και αναλύεται και εκείνο όπως και το καθαρό αιθέριο μέσω του αέριου χρωματογράφου.

### **2.2.5. Αέρια χρωματογραφία ( Gas Chromatography – GC )**

Τα δείγματα που συλλέχθηκαν από την ταυτόχρονη απόσταξη με υδρατμούς και εκχύλιση με οργανικό διαλύτη και την υδρο-απόσταξη αναλύθηκαν μέσω της αέριας χρωματογραφίας. Σκοπός ήταν ο διαχωρισμός και η αναγνώριση των πτητικών συστατικών σε κάθε αφέψημα ανάλογα με την σύσταση των βοτάνων. Η χρωματογραφία διήρκεσε 63 λεπτά για κάθε απόσταξη ή εκχύλισμα ενώ η θερμοκρασία ξεκινούσε από τους 60°C και ανέβαινε ανά 3°C μέχρι τους 250°C.

### **2.2.6. FT-IR και ATR**

Όλα τα αιθέρια έλαια που λήφθηκαν με τις τεχνικές της ταυτόχρονης απόσταξης και εκχύλισης και της υδροαπόσταξης επεξεργάστηκαν με την τεχνική του FT-IR με σκοπό τον εντοπισμό χαρακτηριστικών ομάδων των πτητικών συστατικών. Η ανάλυση έγινε τοποθετώντας 20 μl δείγματος επάνω σε σφαιρικά πλακίδια SeZn. Για την μελέτη της φύσης των συστατικών των υδατικών αφεψημάτων έγινε λήψη φασμάτων με την τεχνική ATR τοποθετώντας 750 μl δείγματος σε πλάκες SeZn.

### **2.2.7 Μέτρηση τοξικότητας (Microtox)**

Στο παρόν πείραμα παρασκευάστηκαν αφεψήματα κατά τον ίδιο τρόπο που παρασκευάστηκαν για τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών και τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας. Μόνη εξαίρεση αποτελεί το αφέψημα «φασκόμηλο-λουίζα» στην παρασκευή του οποίου φτιάχτηκε διπλάσια συγκέντρωση. Επιπλέον παρασκευάστηκε και ένα αφέψημα με σκέτο κρόκο λαμβάνοντας υπόψιν την συγκέντρωσή του στο φακελάκι των μιγμάτων των αφεψημάτων. Έτσι, ζυγίστηκαν 40mg κρόκου Κοζάνης σοδειάς 2012 και εκχυλίστηκαν σε 100ml νερό

(τετραπλάσια συγκέντρωση). Για την μέτρηση της τοξικότητας των αφεψημάτων προηγήθηκε μια αραιώση των δειγμάτων όπως παρακάτω:

Αφέψημα	Αραιώση
Αφεψήματα Κ.Κ.Ρ.	2:10
Μαύρο τσάι	2:10
Φασκόμηλο	4:10
Λουίζα	4:10
Πράσινο τσάι	4:10
Δυόσμος	4:10
Γλυκάνισο	4:10

Οι αρχικές αραιώσεις των αφεψημάτων έγιναν προκειμένου να είναι δυνατή η εκτίμηση της EC<sub>50</sub>. Το πείραμα διεξήχθη σύμφωνα με τις οδηγίες ενός πρωτοκόλλου γνωστό ως Basic Test 81.9% (AZUR, 1997) το οποίο αφορά υδατικά δείγματα. Για να λάβουμε μετρήσεις μεγαλύτερες και μικρότερες από το EC<sub>50</sub> (Effective Concentration-Αποτελεσματική συγκέντρωση για την θανάτωση του 50% του πληθυσμού των βακτηρίων) έγιναν 7 διαδοχικές αραιώσεις του δείγματος προς μέτρηση (test solution). Η μέτρηση της βιοφωταύγειας των βακτηρίων μετρήθηκε σε χρόνο t=0 και μετά την προσθήκη των δειγμάτων μετρήθηκε στα πέντε και δεκαπέντε λεπτά, t=5 και t=15. Το λογισμικό του αναλυτή καταγράφει τις απορροφήσεις και στο τέλος κάθε ανάλυσης δίνει την μια καμπύλη % θανάτωσης των βακτηρίων (effect) σε σχέση με τη συγκέντρωση του δείγματος, όπως προέκυψε από τις τιμές του effect επί των βακτηρίων από τις 7 διαφορετικές αραιώσεις του δείγματος. Το λογισμικό υπολογίζει από την παραπάνω καμπύλη την τιμή EC<sub>50</sub> και δίνει και την εξίσωση (2) που περιγράφει την καμπύλη:

$$\log C = b \log G + \log a \quad (2)$$

Τέλος πριν την παραλαβή των αποτελεσμάτων γίνεται και διόρθωση της απορρόφησης στα δείγματα που έχουν σκούρο κίτρινο, πορτοκαλί ή κόκκινο χρώμα ως ακολούθως: παίρνουμε την απορρόφηση των δειγμάτων προς εξέταση στα 425nm και την καταγράφουμε στο λογισμικό το οποίο διορθώνει αυτόματα την απορρόφηση και μας δίνει τα αποτελέσματα.

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 3.1 Αποτελέσματα προτύπων για FOLIN, DPPH, ABTS.

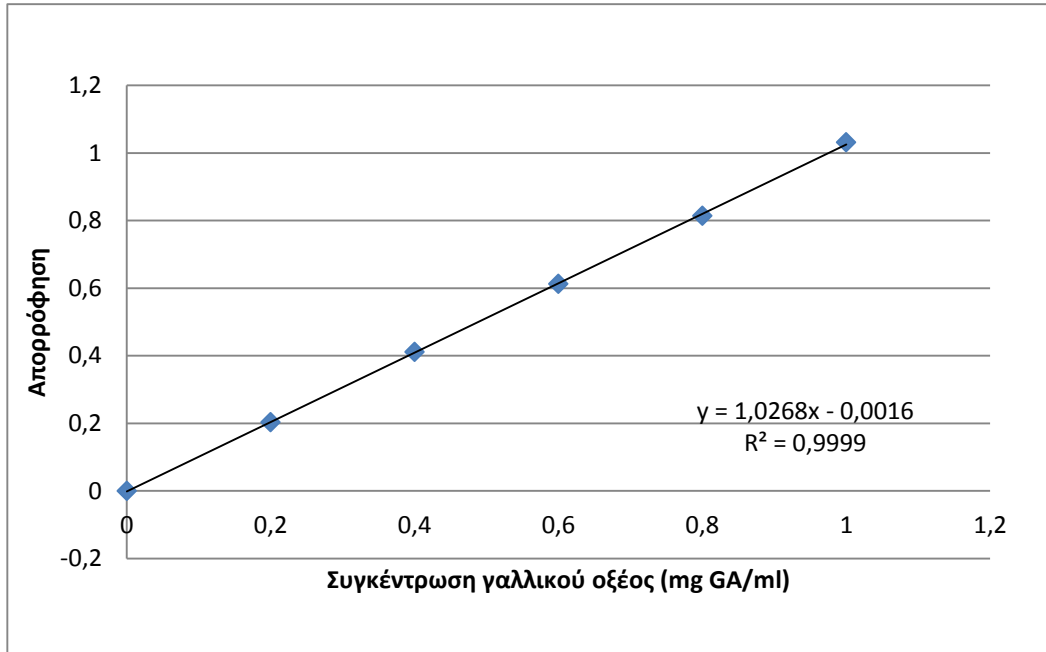
##### 3.1.1 Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών (FOLIN).

Στο προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών για την δημιουργία πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιώντας το γαλλικό οξύ, λήφθηκαν οι παρακάτω απορροφήσεις.

**Πίνακας 3.1.** Απορροφήσεις γαλλικού οξέος σε σχέση με την συγκέντρωσή του.

Συγκέντρωση γαλλικού οξέος (mg/mL)	Μέσος Όρος Απορροφήσεων
0	0
0,2	0,203
0,4	0,411
0,6	0,612
0,8	0,814
1	1,031

**Διάγραμμα 1.** Πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος



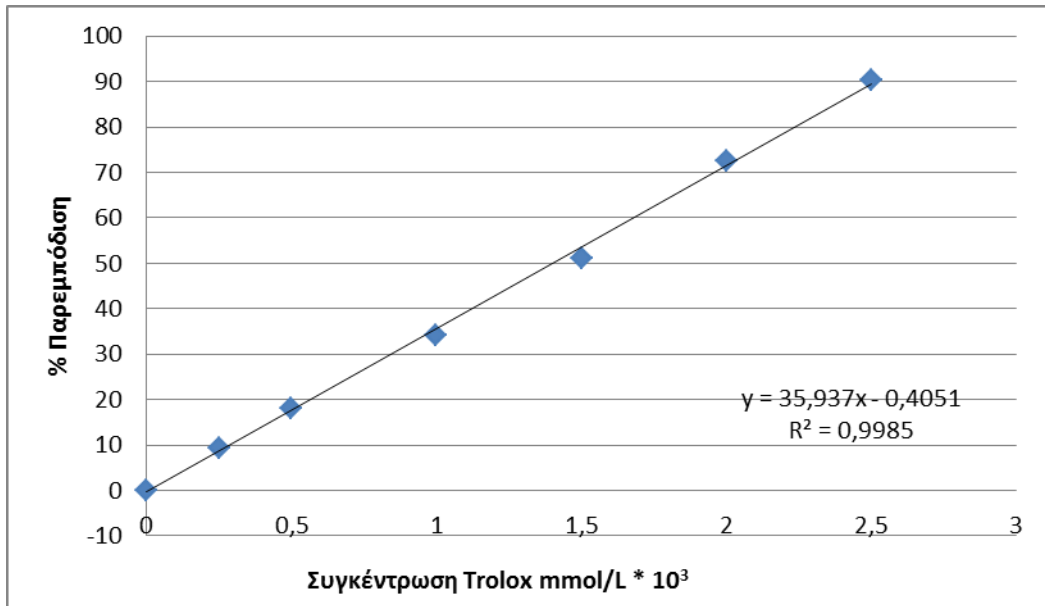
### 3.1.2 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με DPPH.

Στον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης του Trolox χρησιμοποιώντας ως ελεύθερη ρίζα το DPPH λήφθηκαν οι απορροφήσεις που παρουσιάζονται στον Πίνακα 2. Έχει υπολογιστεί και η % παρεμποδιστική δράση του αντιοξειδωτικού στις ελεύθερες ρίζες του DPPH σε σχέση με την συγκέντρωση του Trolox της οποίας η γραφική παράσταση δίνεται στο Διάγραμμα 2.

**Πίνακας 3.2.** Απορροφήσεις αντιοξειδωτικής δράσης Trolox με DPPH και % παρεμπόδιση σε σχέση με την συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού.

<b>Συγκέντρωση Trolox (mmol/L * 10<sup>3</sup>)</b>	<b>Μέσος Όρος Απορροφήσεων</b>	<b>% Παρεμπόδιση</b>
<b>0</b>	0,656	
<b>0,25</b>	0,594	9,45 %
<b>0,5</b>	0,538	18 %
<b>1</b>	0,432	34,15 %
<b>1,5</b>	0,320	51,22 %
<b>2</b>	0,176	72,54 %
<b>2,5</b>	0,062	90,33 %

**Διάγραμμα 2.** Αντιοξειδωτική δράση Trolox – DPPH



### 3.1.3 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με ABTS.

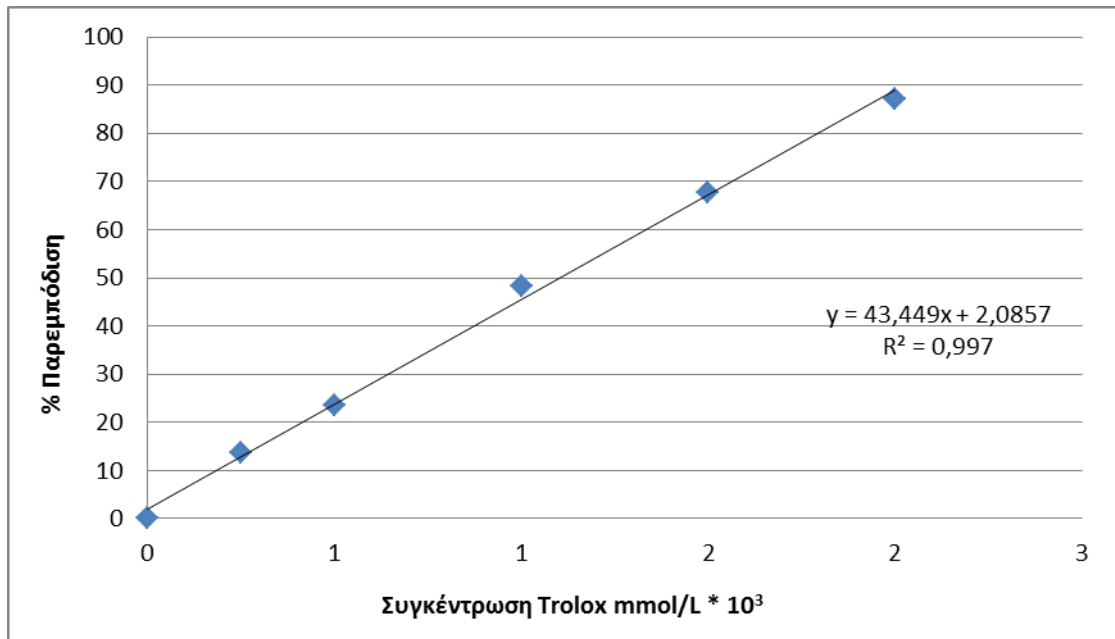
Στον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης του Trolox χρησιμοποιώντας ως ελεύθερη ρίζα το ABTS λήφθηκαν οι παρακάτω απορροφήσεις και καταγράφηκαν στον Πίνακα 3. Έχει υπολογιστεί και η % παρεμποδιστική δράση του αντιοξειδωτικού στις ελεύθερες ρίζες του ABTS σε σχέση με την συγκέντρωση του Trolox της οποίας η γραφική παράσταση δίνεται στο Διάγραμμα 3.

**Πίνακας 3.3.** Απορροφήσεις αντιοξειδωτικής δράσης Trolox με ABTS και % παρεμπόδιση σε σχέση με την συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού.

Συγκέντρωση Trolox (mmol/L *10 <sup>3</sup> )	Μέσος Όρος Απορροφήσεων	% Παρεμπόδιση
0	0,638	
0,25	0,551	13,7 %
0,5	0,487	23,65 %
1	0,330	48,39 %
1,5	0,206	67,74 %
2	0,082	87,16 %



**Διάγραμμα 3.** Αντιοξειδωτική δράση Trolox – ABTS.



### 3.2 Αποτελέσματα δειγμάτων για FOLIN, DPPH, ABTS.

#### 3.2.1 Προσδιορισμός φαινολικών συστατικών (FOLIN).

Τα φαινολικά στα φακελάκια των αφεψημάτων που ανιχνεύονται με την τεχνική FOLIN, εκφράζονται ως mg γαλλικού οξέος (GA) ανά g φυτικού υλικού στο φακελάκι και συγκρίνονται οι τιμές με τις πρότυπες συγκεντρώσεις. Στον Πίνακα 3.4 δίνονται τα αποτελέσματα των διαφόρων αφεψημάτων.

**Πίνακας 3.4.** Φαινολικά συστατικά αφεψημάτων εκφρασμένα σε mg GA/g φυτικού υλικού.

Σύσταση αφεψημάτων	mg GA/g φυτικού υλικού
Δεντρολίβανο - θυμάρι βιολογικής καλλιέργειας	48 ± 4
Δεντρολίβανο - θυμάρι	39 ± 2
Κανέλα - γαρύφαλλο	27 ± 2
Φασκόμηλο - λουίζα	50 ± 3
Μέλι - πορτοκάλι	30 ± 4
Μαύρο τσάι - λεμόνι - δυόσμος	62 ± 9
Πράσινο τσάι - πιπερόριζα - γλυκύριζα	49 ± 7
Μαύρο τσάι	29 ± 1
Σιδερίτης	45 ± 5
Φασκόμηλο	43 ± 8
Λουίζα	31 ± 1
Ρίγανη	85 ± 7
Δυόσμος	22
Δεντρολίβανο	10 ± 1
Θυμάρι	60 ± 13

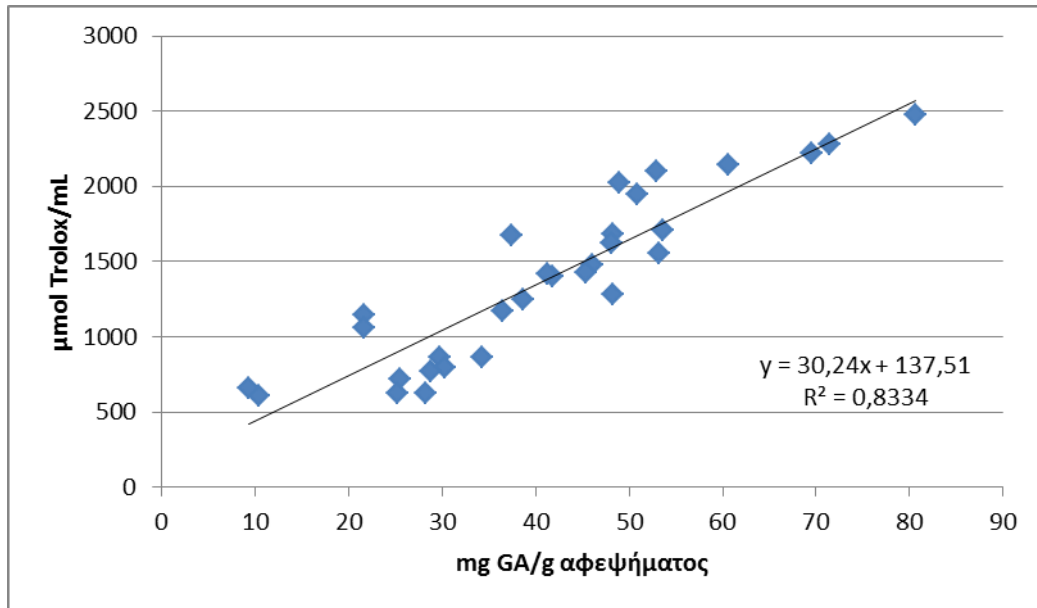
### 3.2.2 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με DPPH.

Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης τα αντιοξειδωτικά συστατικά εκφράστηκαν ως  $\mu\text{mol Trolox}$  στο 1 mL δηλαδή στον όγκο μιας κούπας τσαγιού. Επιπλέον δίνεται και η % παρεμπόδιση του κάθε αφεψημάτος ως προς την δράση του DPPH. (Πίνακας 5)

**Πίνακας 3.5.** Αντιοξειδωτική δράση των αφεψημάτων και των σκέτων φυτών εκφρασμένη σε  $\mu\text{mol Trolox/mL}$ .

Σύσταση αφεψημάτων	$\mu\text{mol Trolox/mL}$
Δεντρολίβανο - θυμάρι βιολογικής καλλιέργειας	1490 $\pm$ 64
Δεντρολίβανο - θυμάρι	1280 $\pm$ 126
Κανέλα - γαρύφαλλο	580 $\pm$ 83
Φασκόμηλο - λουίζα	1670 $\pm$ 414
Μέλι - πορτοκάλι	790 $\pm$ 76
Μαύρο τσάι - λεμόνι - δυόσμος	2040 $\pm$ 299
Πράσινο τσάι - πιπερόριζα - γλυκύριζα	2170 $\pm$ 227
Μαύρο τσάι	820 $\pm$ 71
Σιδερίτης	1710 $\pm$ 442
Φασκόμηλο	1680 $\pm$ 6
Λουίζα	1590 $\pm$ 3
Ρίγανη	2470 $\pm$ 3
Δυόσμος	1100 $\pm$ 58
Δεντρολίβανο	630 $\pm$ 33
Θυμάρι	2180 $\pm$ 61

**Διάγραμμα 4.** Συσχέτιση φαινολικών και αντιοξειδωτικής δράσης με DPPH.



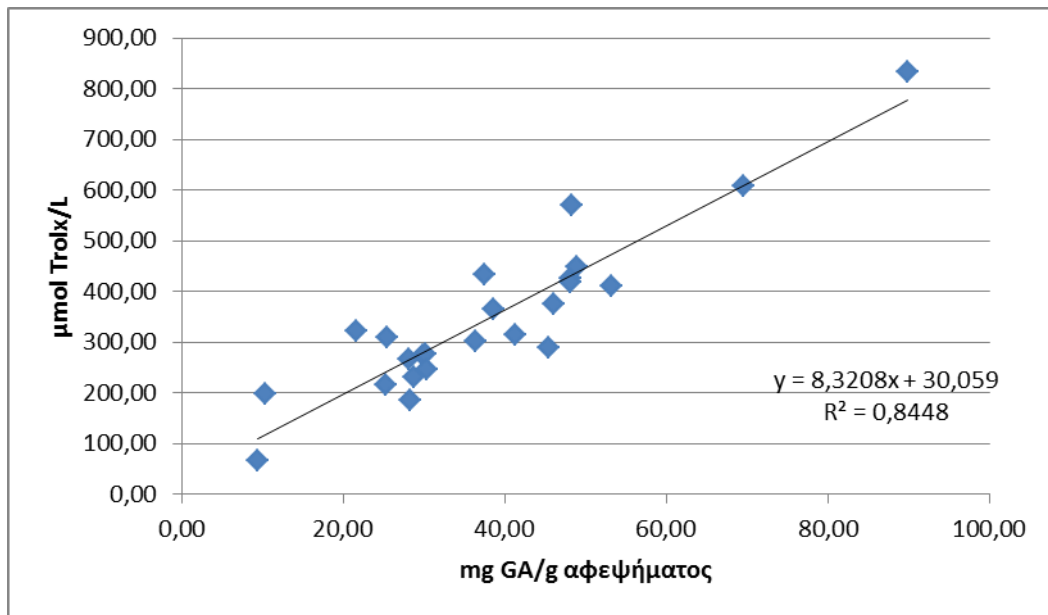
### 3.2.3 Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης με ABTS.

Όπως και στην περίπτωση του προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης με DPPH έτσι και εδώ τα αντιοξειδωτικά συστατικά εκφράστηκαν ως  $\mu\text{mol Trolox}$  στο 1 mL και δίνεται η % παρεμπόδιση του κάθε αφεψημάτος στον Πίνακα 6.

**Πίνακας 3.6.** Αντιοξειδωτική δράση των αφεψημάτων και των σκέτων φυτών εκφρασμένη σε  $\mu\text{mol Trolox/mL}$ .

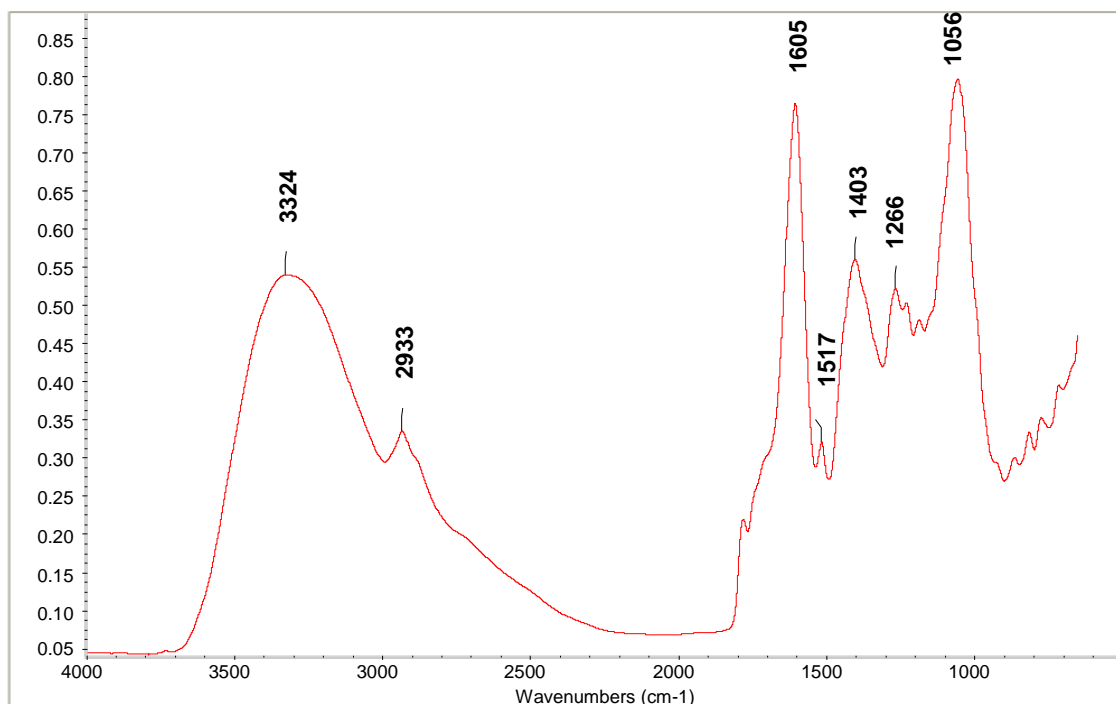
Σύσταση αφεψημάτων	$\mu\text{mol Trolox/mL}$
Δεντρολίβανο - θυμάρι βιολογικής καλλιέργειας	$1790 \pm 313$
Δεντρολίβανο - θυμάρι	$1630 \pm 164$
Κανέλα - γαρύφαλλο	$1110 \pm 206$
Φασκόμηλο - λουίζα	$1880 \pm 401$
Μέλι - πορτοκάλι	$1340 \pm 221$
Μαύρο τσάι - λεμόνι - δυόσμος	$3260 \pm 678$
Πράσινο τσάι - πιπερόριζα - γλυκύριζα	$1730 \pm 301$
Μαύρο τσάι	$1260 \pm 151$
Σιδερίτης	$2460 \pm 320$
Φασκόμηλο	$2510 \pm 484$
Λουίζα	$1800 \pm 812$
Ρίγανη	$4680 \pm 732$
Δυόσμος	$2130 \pm 728$
Δεντρολίβανο	$820 \pm 233$
Θυμάρι	$3600 \pm 797$

**Διάγραμμα 5.** Συσχέτιση φαινολικών και αντιοξειδωτικής δράσης με ABTS.



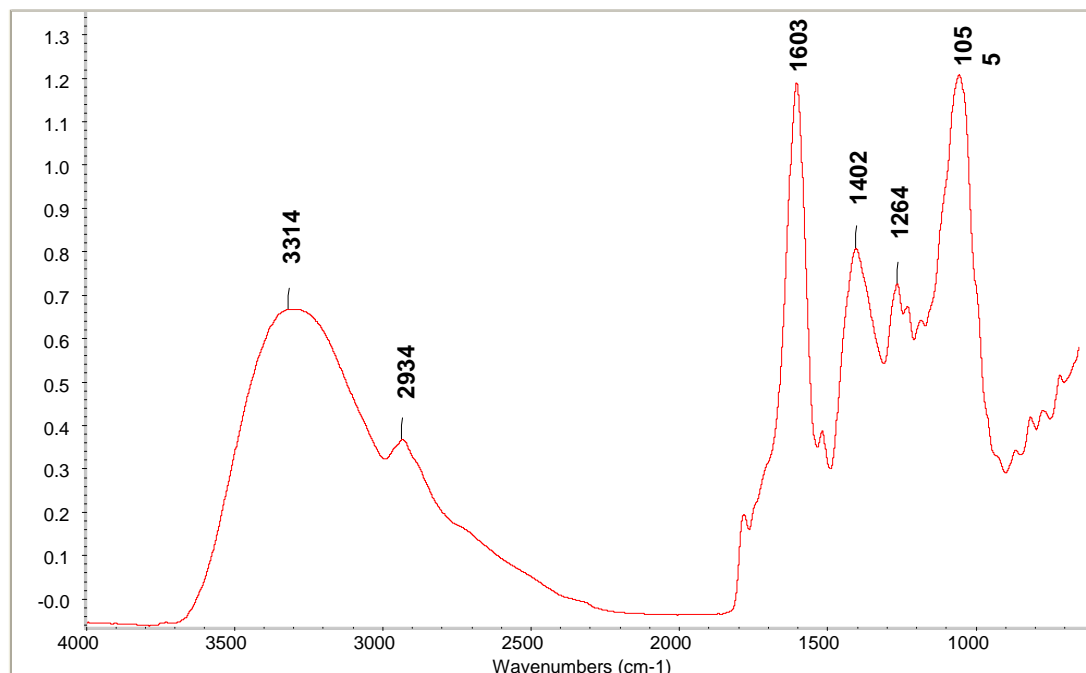
### 3.3 Αποτελέσματα FT-IR υδατοδιαλυτών συστατικών των αφεψημάτων με την τεχνική ATR.

Absorbance



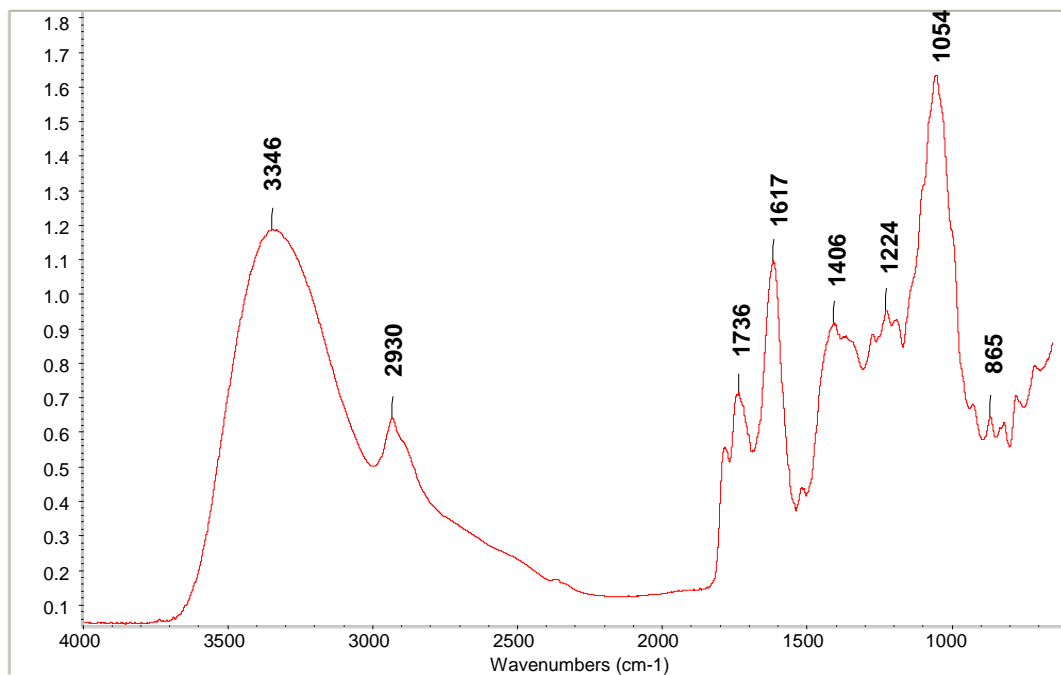
**Εικόνα 18.** Φάσμα FT-IR του αφεψημάτος «Βιολογικό δεντρολίβανο – θυμάρι» με την τεχνική ATR.

Absorbance



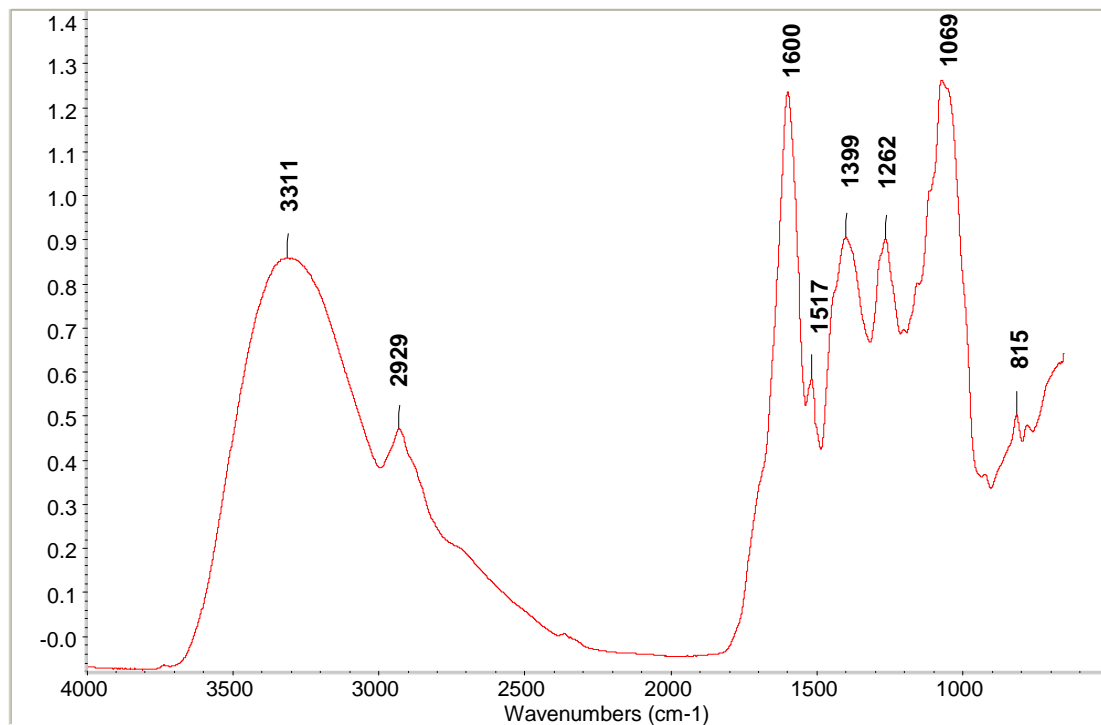
**Εικόνα 19.** Φάσμα FT-IR του αφεψημάτος «Δεντρολίβανο – θυμάρι» με την τεχνική ATR.

Absorbance



**Εικόνα 20.** Φάσμα FT-IR του αφεψημάτος «Κανέλα – γαρύφαλλο» με την τεχνική ATR.

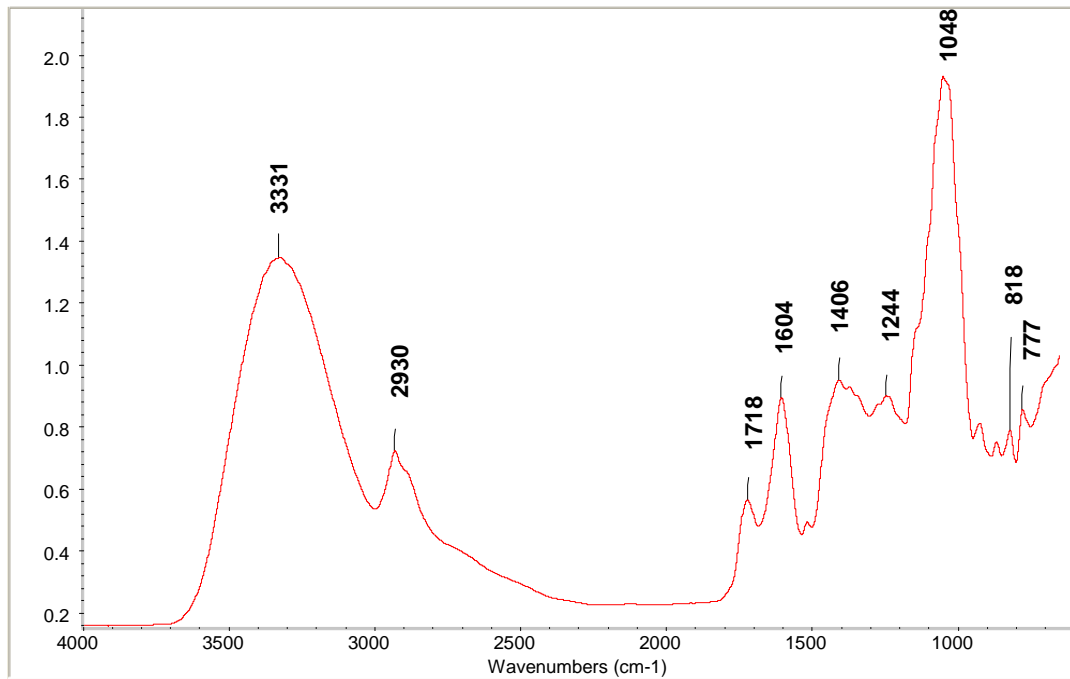
Absorbance



**Εικόνα 21.** Φάσμα FT-IR του αφεψημάτος «Φασκόμηλο – λουίζα» με την τεχνική ATR.

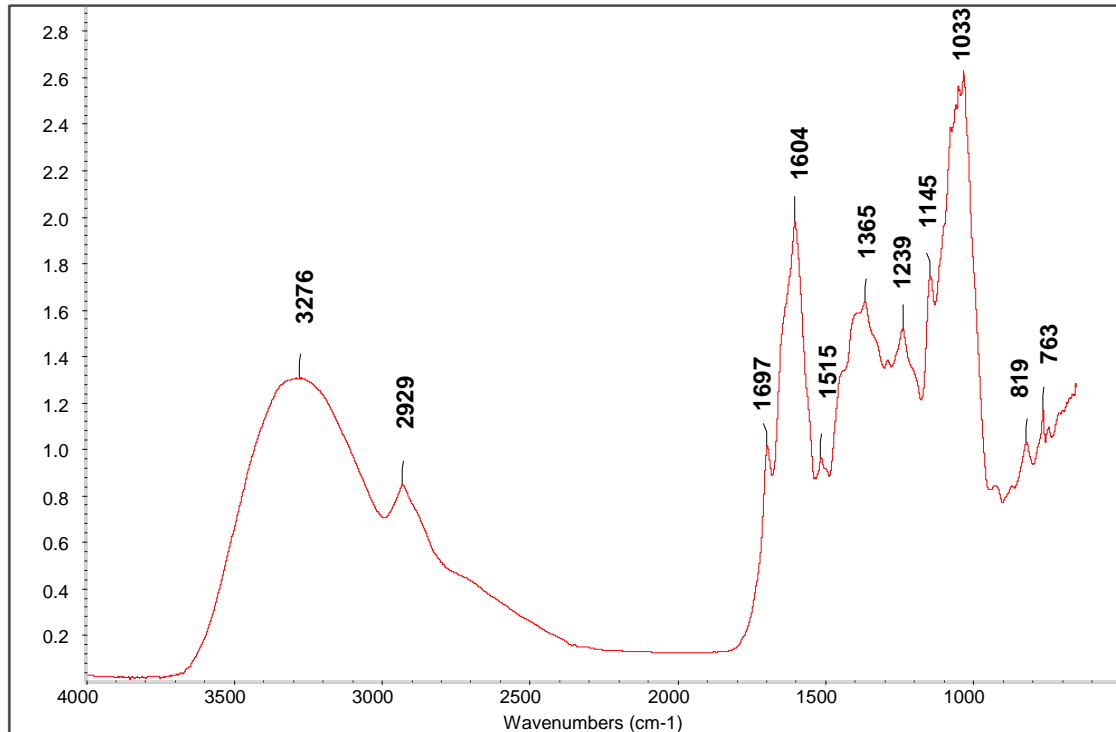


Absorbance



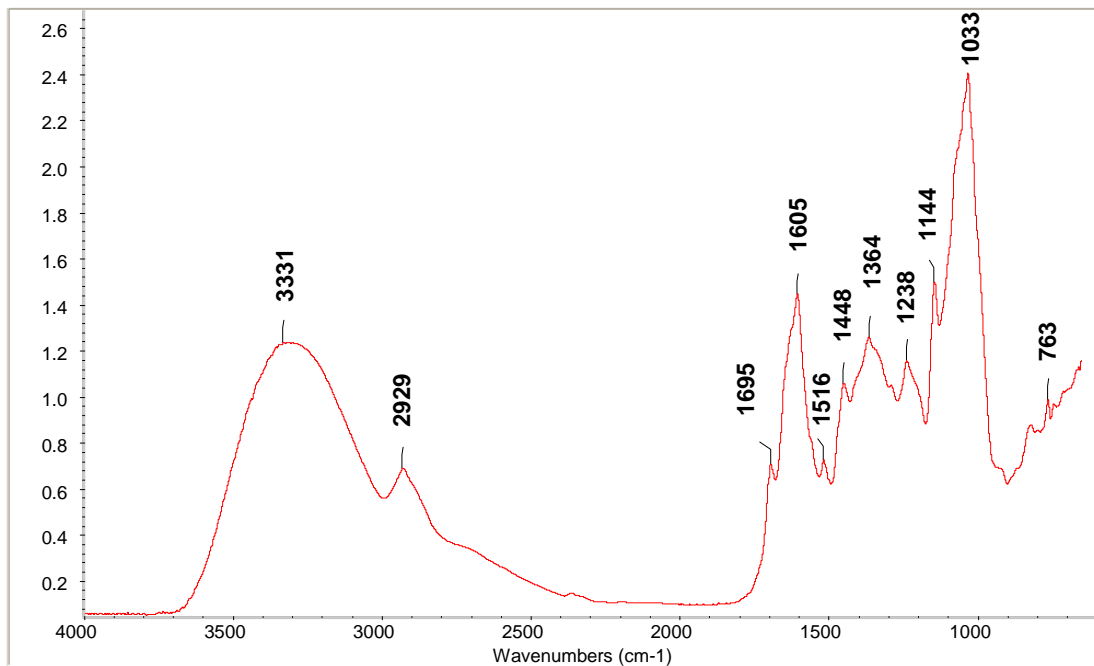
**Εικόνα 22.** Φάσμα FT-IR του αφεψημάτος «Μέλι – πορτοκάλι» με την τεχνική ATR.

Absorbance



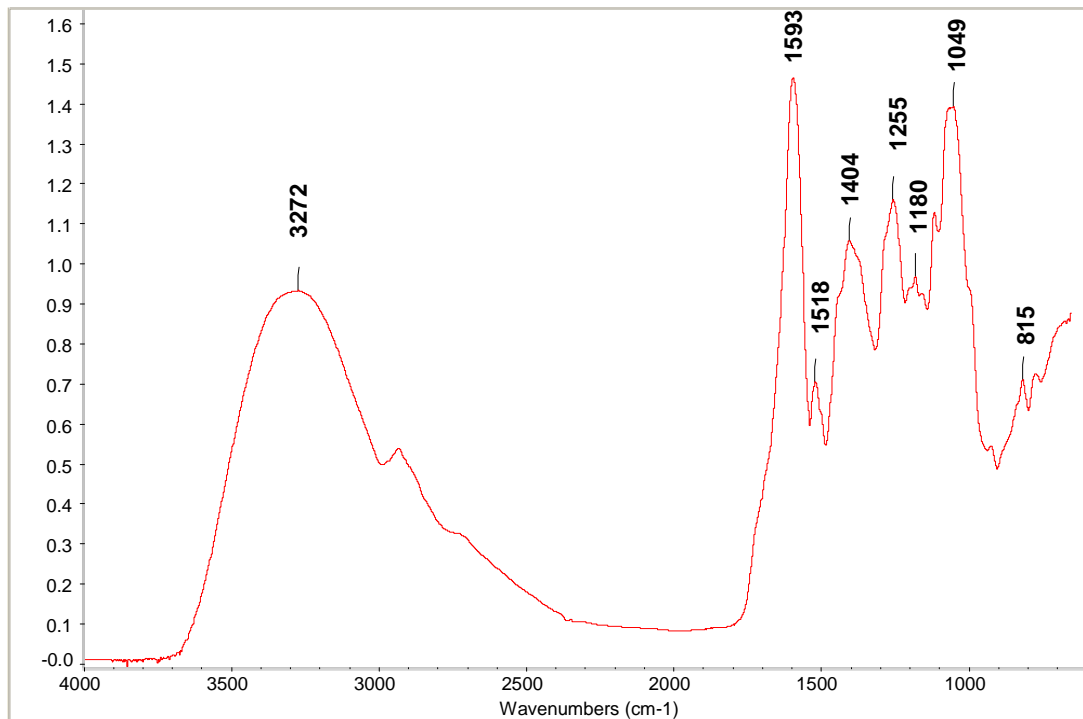
**Εικόνα 23.** Φάσμα FT-IR του αφεψημάτος «Μαύρο τσάι – λεμόνι – δυόσμος» με την τεχνική ATR.

Absorbance

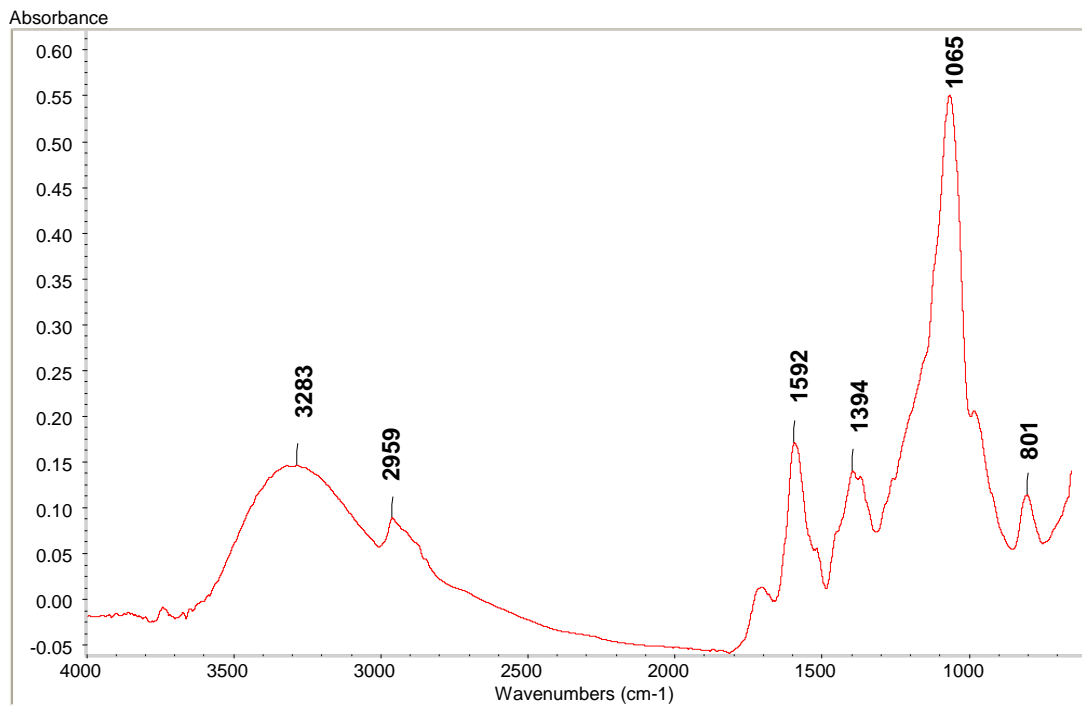


**Εικόνα 24.** Φάσμα FT-IR του αφηγήματος «Πράσινο τσάι – πιπερόριζα – γλυκύριζα» με την τεχνική ATR.

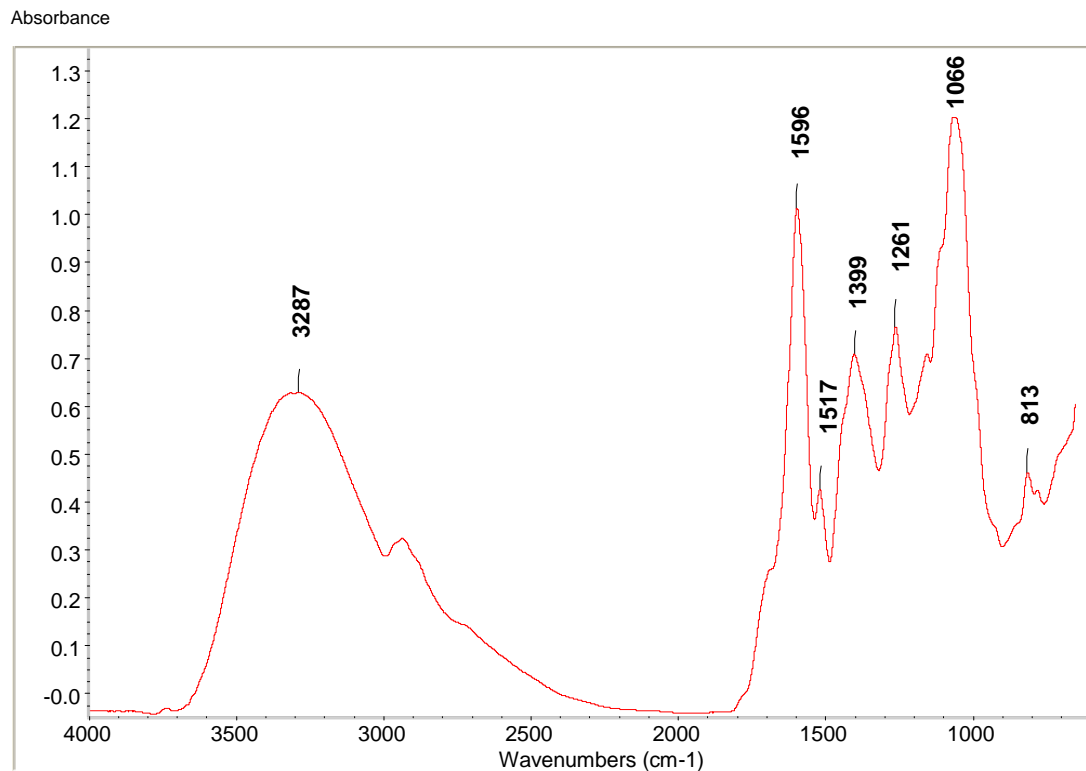
Absorbance



**Εικόνα 25.** Φάσμα FT-IR του αφηγήματος της ρίγανης με την τεχνική ATR.

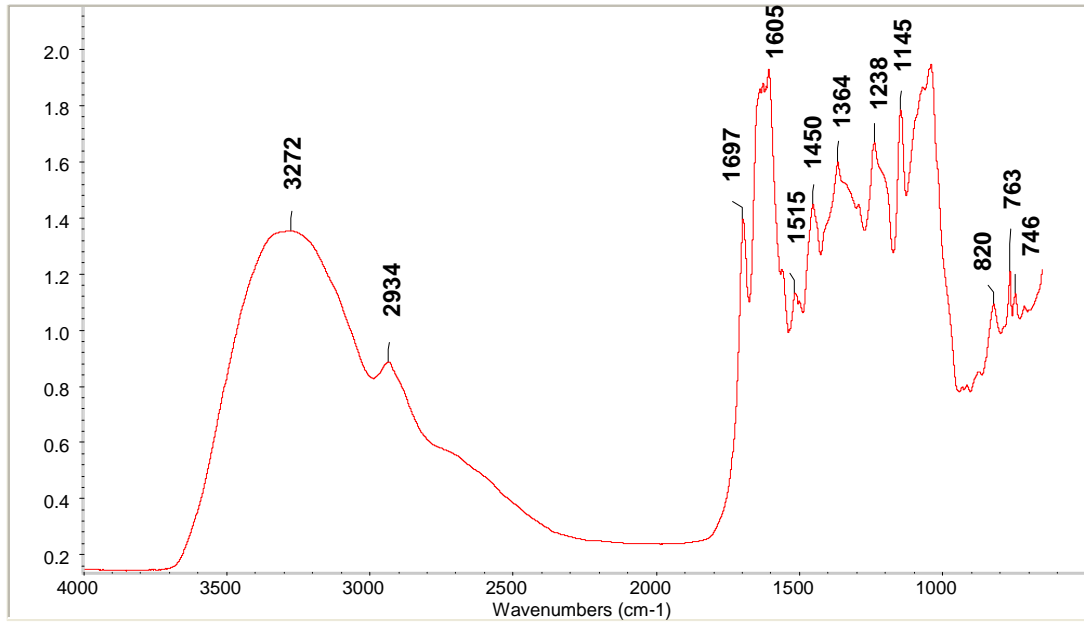


**Εικόνα 26.** Φάσμα FT-IR του αφεγήματος του δεντρολίβανου με την τεχνική ATR.



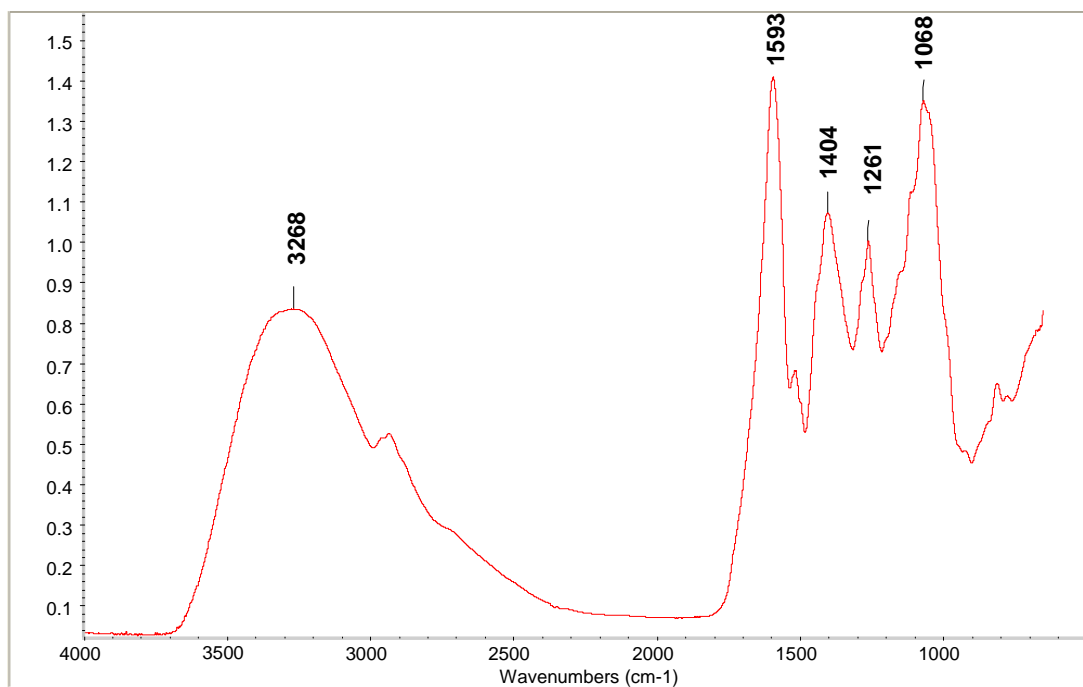
**Εικόνα 27.** Φάσμα FT-IR του αφεγήματος του φασκόμηλου με την τεχνική ATR.

Absorbance



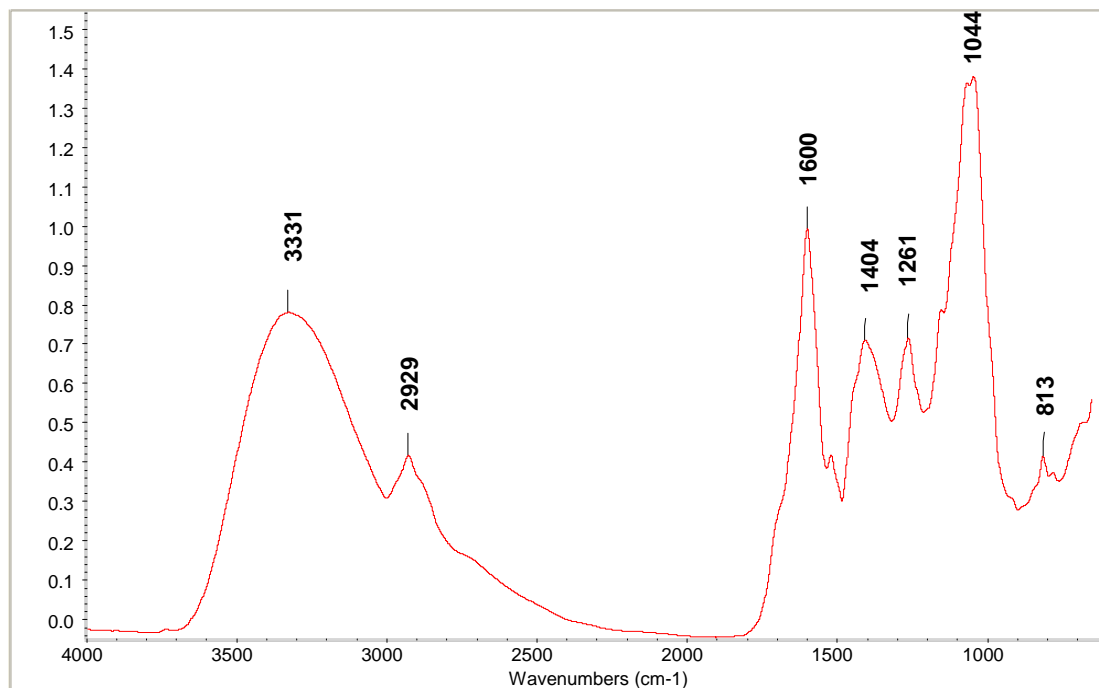
**Εικόνα 28.** Φάσμα FT-IR του αφηγήματος του μαύρου τσαγιού με την τεχνική ATR.

Absorbance



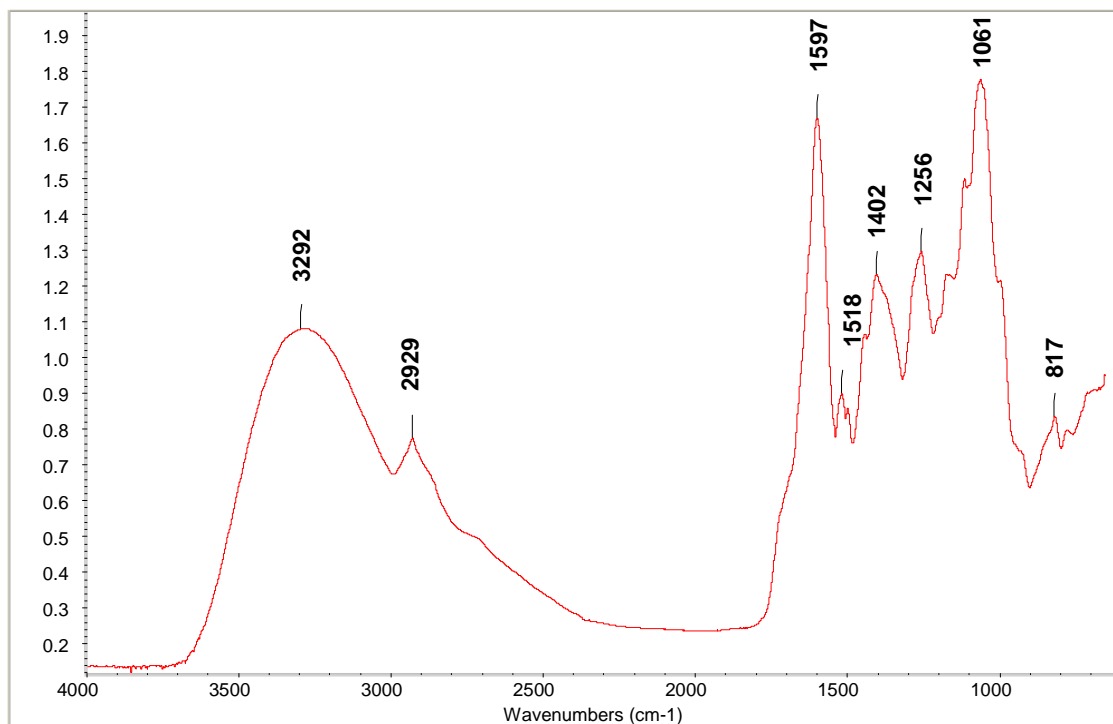
**Εικόνα 29.** Φάσμα FT-IR του αφηγήματος του δυόσμου με την τεχνική ATR.

Absorbance



**Εικόνα 30.** Φάσμα FT-IR του αφεψήματος της λουίζας με την τεχνική ATR.

Absorbance



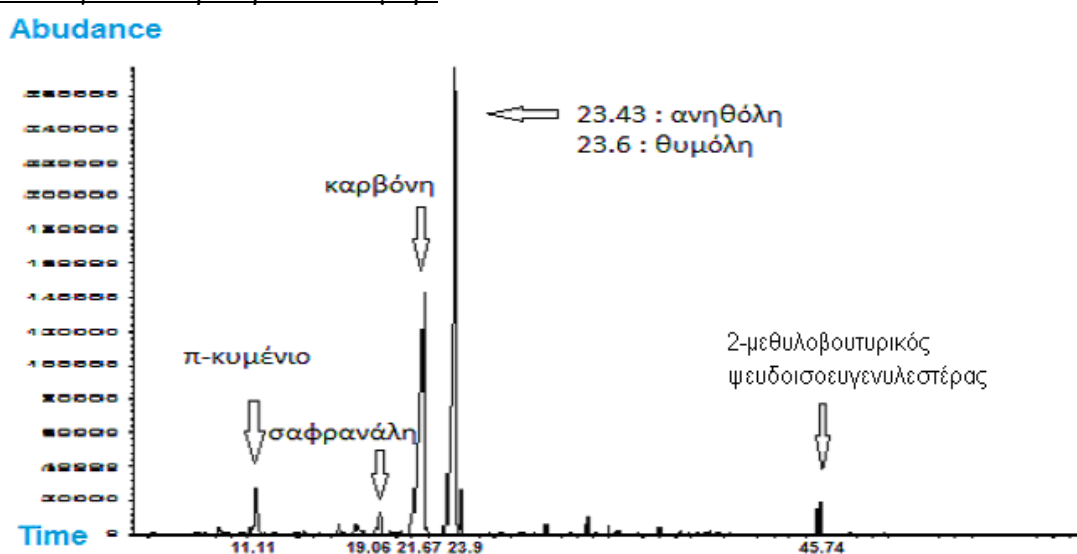
Εικόνα 31. Φάσμα FT-IR του αφεψήματος του θυμαριού με την τεχνική ATR..4

### Αποτελέσματα Αέριας Χρωματογραφίας (GC-MS)

Παρακάτω δίνονται τα χρωματογραφήματα και οι πίνακες όπου παρουσιάζεται η ανάλυση του αιθέριου ελαίου κάθε αφεψήματος αλλά και κάποιων μεμονωμένων φυτών.

#### 3.4.1 Αποτελέσματα Αέριας Χρωματογραφίας συνδυασμένη με φασματομετρία μάζης των αιθερίων ελαίων των αφεψημάτων που παραλήφθηκαν με την τεχνική της ταυτόχρονης εκχύλισης και απόσταξης (Likens-Nickerson).

Βιολογικό δεντρολίβανο – θυμάρι

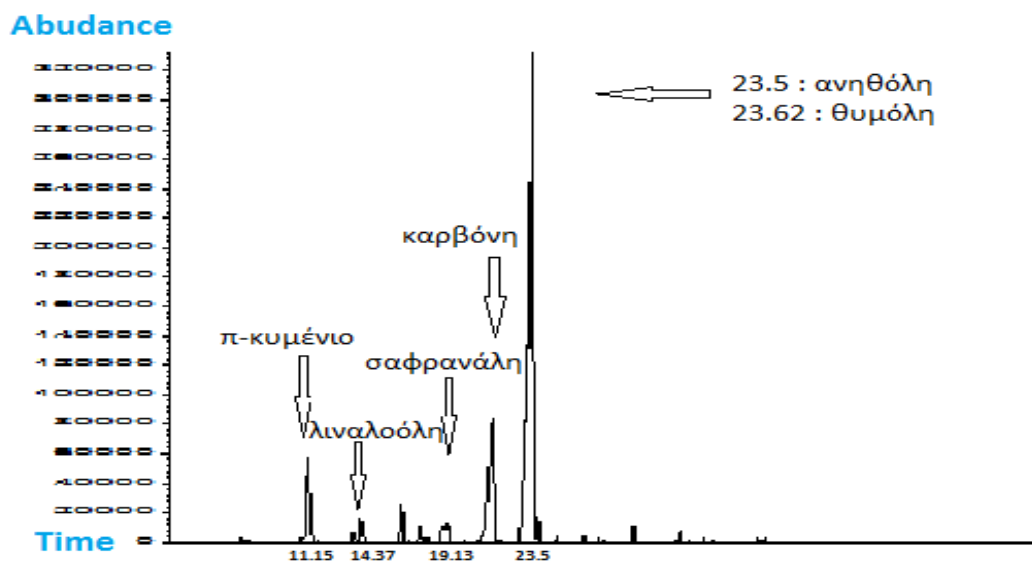


Πίνακας 3.7. Σύσταση του αιθέριου ελαίου του αφεψήματος «Βιολογικό δεντρολίβανο – θυμάρι»

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλυσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα	Πιθανή φυτική προέλευση του συστατικού
1. π-κυμένιο	11.11	0.3%	θυμάρι
2. 1,8 κινεόλη	11.46	5%	δεντρολίβανο
3. καμφορά	16.5	0.6%	δεντρολίβανο
4. βορνεόλη	17.5	1.2%	δεντρολίβανο
5. σαφρανάλη	19.06	3.1%	κρόκος
6. βερμπενόνη	19.59	0.3%	δεντρολίβανο
7. καρβόνη	21.67	34.4%	δυσόσμος
8. ανηθόλη	23.43	47.84%	μάραθος, γλυκάνισο
9. θυμόλη	23.6	βγαίνει μαζί με ανηθόλη	θυμάρι
10. καρβακρόλη	23.9	2,2%	θυμάρι
11. β-καρνοφυλένιο	29.13	0,4%	δεντρολίβανο
12. καλαμενένιο cis	33.5	0,1%	θυμάρι

13. 2-μεθυλοβουτυρικός ψευδοισοευγενυλεστέρας	45.74	1,5%	γλυκάνισο
---	-------	------	-----------

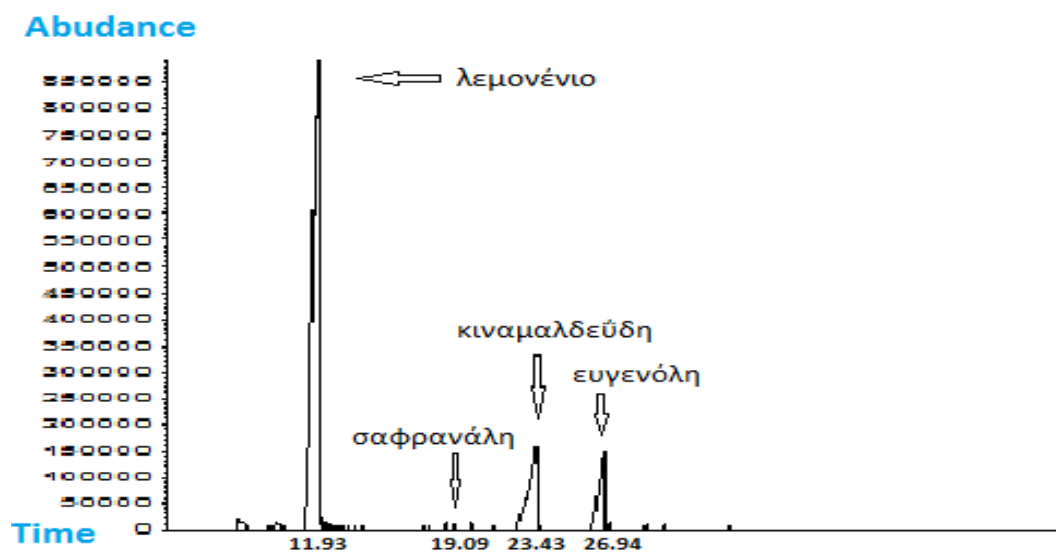
Δεντρολίβανο – θυμάρι



Πίνακας 3.8. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Δεντρολίβανο – θυμάρι»

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλουσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα	Πιθανή φυτική προέλευση του συστατικού
1. π-κυμένιο	11.15	0,2%	θυμάρι
2. 1,8 κινεόλη	11.5	8,2%	δεντρολίβανο
3. φενχόνη	13.93	0,7%	μάραθος
4. λιναλοόλη	14.37	1,8%	δεντρολίβανο/θυμάρι
5. καμφορά	16.58	3%	δεντρολίβανο
6. βορνεόλη	17.58	1,2%	δεντρολίβανο
7. α-τερπινεόλη	18.83	1,7%	φύλλα πορτοκαλιάς
8. μεθυλ-καβικόλη	18.99	1,1%	μάραθος, γλυκάνισο
9. σαφρανάλη	19.13	0,9%	κρόκος
10. πουλεγόνη	20.94	0,5%	δυόσμος
11. καρβόνη	21.5	14,6%	δυόσμος
12 ανηθόλη	23.5	βγαίνει μαζί με θυμόλη	μάραθος, γλυκάνισο,
13. θυμόλη	23.62	58,7%	θυμάρι
14. καρβακρόλη	23.98	0,9%	θυμάρι
15. β-καρνοφυλένιο	29.14	0,6%	δεντρολίβανο
16. καλαμενένιο cis	33.5	0,1%	θυμάρι

Κανέλα – γαρύφαλλο

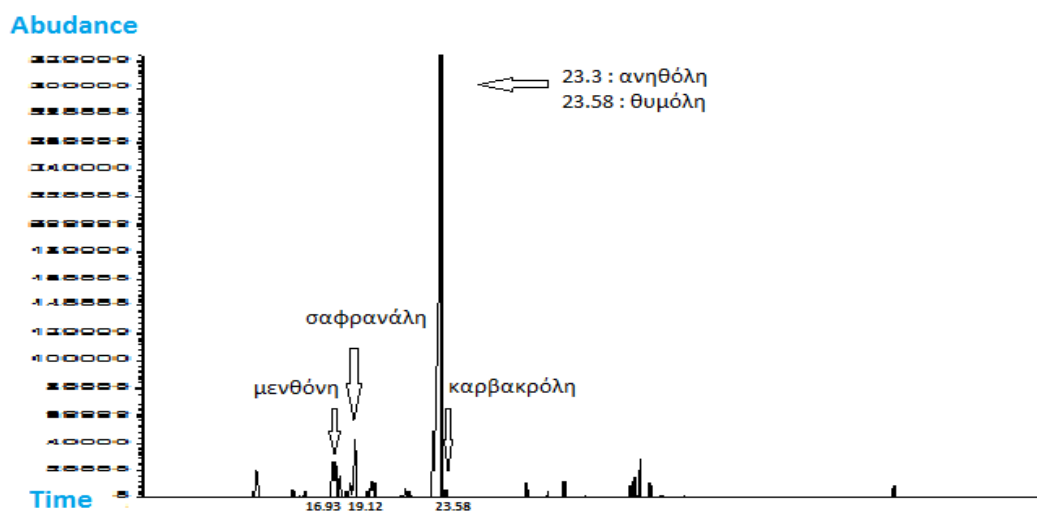


Πίνακας 3.9. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του αφειγήματος «Κανέλα – γαρύφαλλο».

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλουσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα	Πιθανή φυτική προέλευση του συστατικού
1. α-πινένιο	7.84	-	φλοιός πορτοκαλιού
2. μυρκένιο	9.7	-	φλοιός πορτοκαλιού
3. λεμονένιο	11.93	56,5%	φλοιός πορτοκαλιού
4. γ-τερπινένιο	12.13	0,5%	φλοιός λεμονιού, ρίγανη
5. α-τερπινεόλη	18.71	0,3%	<b>κανέλα</b>
6. σαφρανάλη	19.09	0,2%	<b>κρόκος</b>
7. Z-κινναμαλδεΰδη	20.09	0,4%	<b>κανέλα</b>
8. E-κινναμαλδεΰδη	23.43	14,8%	<b>κανέλα</b>
9. ανηθόλη	23.52	0,3%	μάραθος
10. ευγενόλη	26.94	8,4%	<b>κανέλα, γαρύφαλλο</b>
11. α-υλανγκένιο	27.23	0,2%	θυμάρι, δεντρολίβανο
12. β-καρνοφυλένιο	29.18	0,1%	<b>κανέλα, γαρύφαλλο</b>
13. κουμαρίνη	30.14	0,1%	<b>κανέλα</b>



Φασκόμηλο – λουίζα

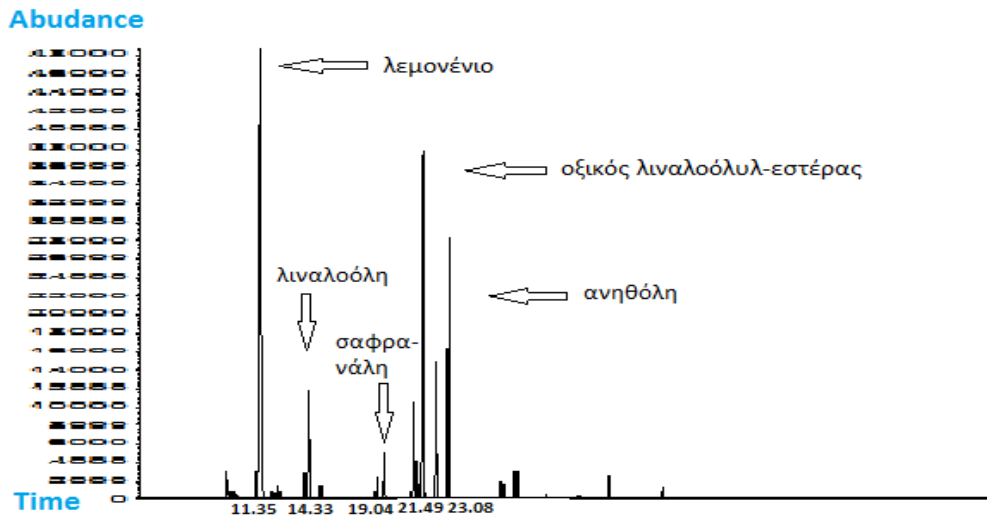


Πίνακας 3.10. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του αφειήματος «Φασκόμηλο – λουίζα».

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλουσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα	Πιθανή φυτική προέλευση του συστατικού
1. π-κυμένιο	11.29	0,4%	θυμάρι
2. ευκαλυπτόλη	11.44	4%	φασκόμηλο, δεντρολίβανο, μέντα
3. φενχόνη	13.92	0,9%	μάραθος
4. καμφορά	16.58	4,5%	φασκόμηλο, δεντρολίβανο
5. μενθόνη	16.93	2,4%	μέντα
6. βορνεόλη	17.56	2,1%	δεντρολίβανο, μελισσόχορτο, λεμονόχορτο
7. μενθόλη	17.99	6,6%	φασκόμηλο, μέντα
8. α-τερπινεόλη	18.69	0,4%	θυμάρι
9. μεθυλ-καβικόλη	18.99	0,7%	μάραθος, γλυκάνισο
10. σαφρανάλη	19.12	1%	κρόκος
11. καρβόνη	21.15	1%	μέντα
12. ανηθόλη	23.3	62,8%	μάραθος, γλυκάνισο
13. θυμόλη	23.58	βγαίνει μαζί με ανηθόλη	θυμάρι
14. καρβακρόλη	23.85	0,4%	θυμάρι
15. β-καρνοφυλένιο	29.12	0,7%	λουίζα
16. α-καρνοφυλένιο	30.59	0,2%	λουίζα
17. σπαθουλενόλη	35.95	0,9%	λουίζα
18. οξειδίο	36.16	1,4%	θυμάρι

καρνοφυλενίου			
19. βιριδιφλορόλη	36.58	2,8%	φασκόμηλο

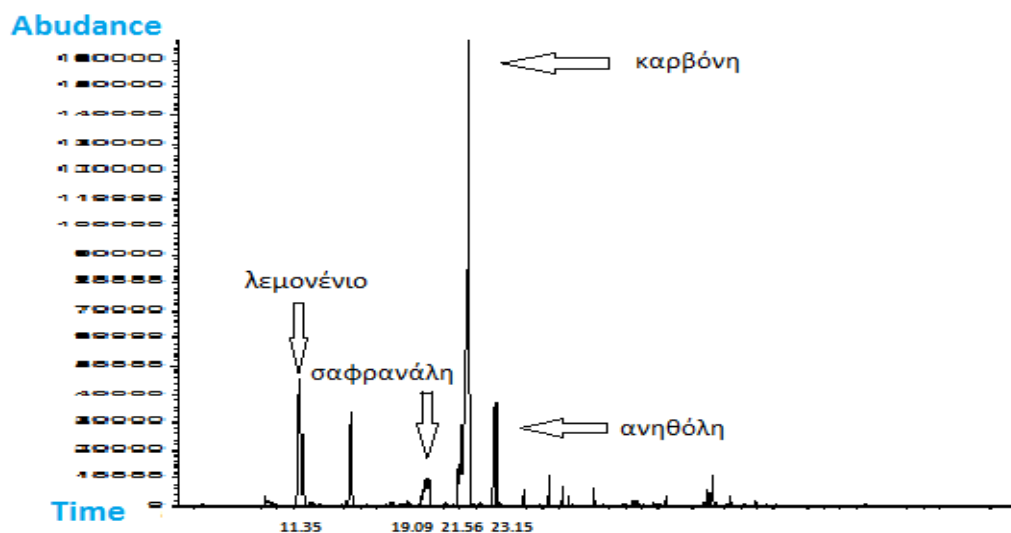
Μέλι – πορτοκάλι



Πίνακας 3.11. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Μέλι – πορτοκάλι».

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλυσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα	Πιθανή φυτική προέλευση του συστατικού
1. λιμονένιο	11.35	41,9%	φλοιός πορτοκαλιού, φλοιός λεμονιού, πέταλα τριαντάφυλλου
2. λιναλοόλη	14.33	7%	φλοιός πορτοκαλιού, φλοιός λεμονιού, πέταλα τριαντάφυλλου
3. α-τερπινεόλη	18.6	0,9%	φύλλα πορτοκαλιάς
4. σαφρανάλη	19.04	2,2%	κρόκος
5. νεράλη	20.9	4,6%	πέταλα τριαντάφυλλου
6. καρβόνη	21.11	0,4%	δυόσμος
7. οξικός εστέρας λιναλοόλης	21.49	18,9%	φλοιός πορτοκαλιού, φλοιός λεμονιού, πέταλα τριαντάφυλλου
8. γερανιάλη	22.29	6,6%	πέταλα τριαντάφυλλου
9. ανηθόλη	23.08	13,8%	μάραθος, γλυκάνισο

Μαύρο τσάι – λεμόνι – δυόσμος

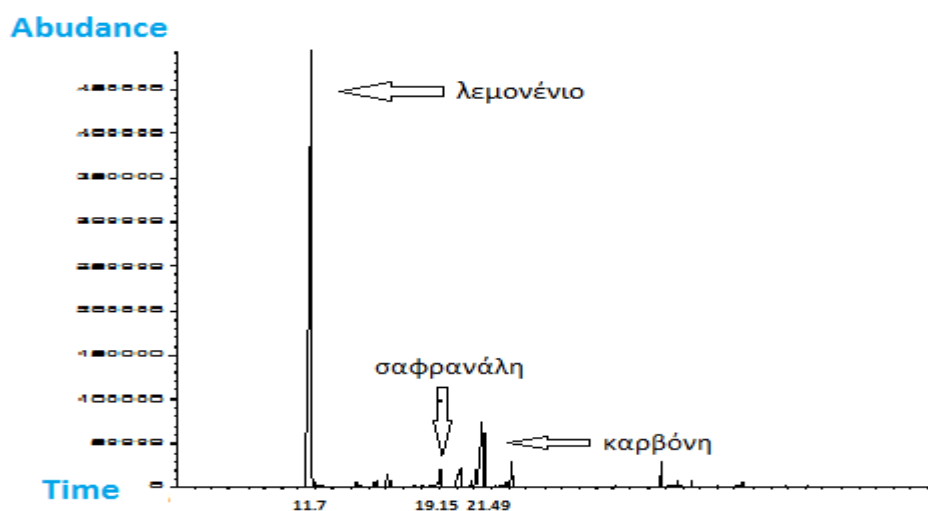


Πίνακας 3.12. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του αφεισήματος «Μαύρο τσάι – λεμόνι – δυόσμος».

Πητικό συστατικό	Χρόνος έκλουσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα	Πιθανή φυτική προέλευση του συστατικού
1. λεμονένιο	11.35	17%	φλοιός λεμονιού, πέταλα τριαντάφυλλου, φλοιός πορτοκαλιού
2. λιναλοόλη	14.42	8,5%	φλοιός λεμονιού, φλοιός πορτοκαλιού, πέταλα τριαντάφυλλου
3. μενθόλη	17.79	0,5%	δυόσμος
4. α-τερπινεόλη	18.94	3,3%	ρίγανη, θυμάρι
5. σαφρανάλη	19.09	2%	κρόκος
6. πουλεγόνη	20.94	3,1%	δυόσμος
7. καρβόνη	21.56	49,5%	δυόσμος
8. ανηθόλη	23.15	6,6%	γλυκάνισο, μάραθος
9. οξικός καρβυλεστέρας	26.40	1,8%	δυόσμος
10. οξικός γερανυλεστέρας	27.24	0,8%	φλοιός λεμονιού, πέταλα τριαντάφυλλου, φλοιός πορτοκαλιού
11. καρυοφυλένιο	29.10	0,8%	δυόσμος

12. σπαθουλενόλη	35.89	0,7%	λουίζα
------------------	-------	------	--------

Πράσινο τσάι – πιπερόριζα – γλυκύριζα

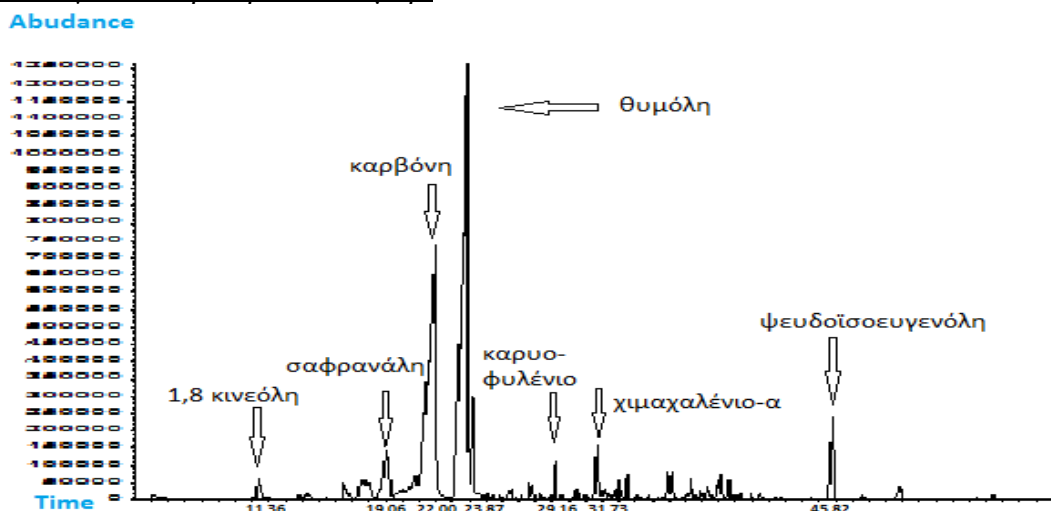


Πίνακας 3.13. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Πράσινο τσάι – πιπερόριζα – γλυκύριζα».

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλυσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα	Πιθανή φυτική προέλευση του συστατικού
1. λεμονένιο	11.7	70,1%	φλοιός πορτοκαλιού, φλοιός λεμονιού, πέταλα τριαντάφυλλου
2. λιναλοόλη	14.34	0,6%	φλοιός πορτοκαλιού, φλοιός λεμονιού, πέταλα τριαντάφυλλου
3. ισοφορόνη	15.39	0,7%	<b>κρόκος</b>
4. βορνεόλη	17.56	0,4%	δεντρολίβανο, μελισσόχορτο
5. σαφρανάλη	19.14	2,3%	<b>κρόκος</b>
6. καρβόνη	21.48	9,9%	δυόσμος
7. ανηθόλη	23.15	2%	γλυκάνισο, μάραθος
8. α-κουρκουμένιο	31.76	2,2%	<b>πιπερόριζα</b>
9. ευδεσμόλη	38.79	0,2%	-

### 3.4.2 Αποτελέσματα Αέριας Χρωματογραφίας συνδυασμένη με φασματομετρία μάζης των αιθερίων ελαίων των αφεψημάτων που παραλήφθηκαν με την τεχνική της υδροαπόσταξης (Clevenger).

Βιολογικό δεντρολίβανο – θυμάρι

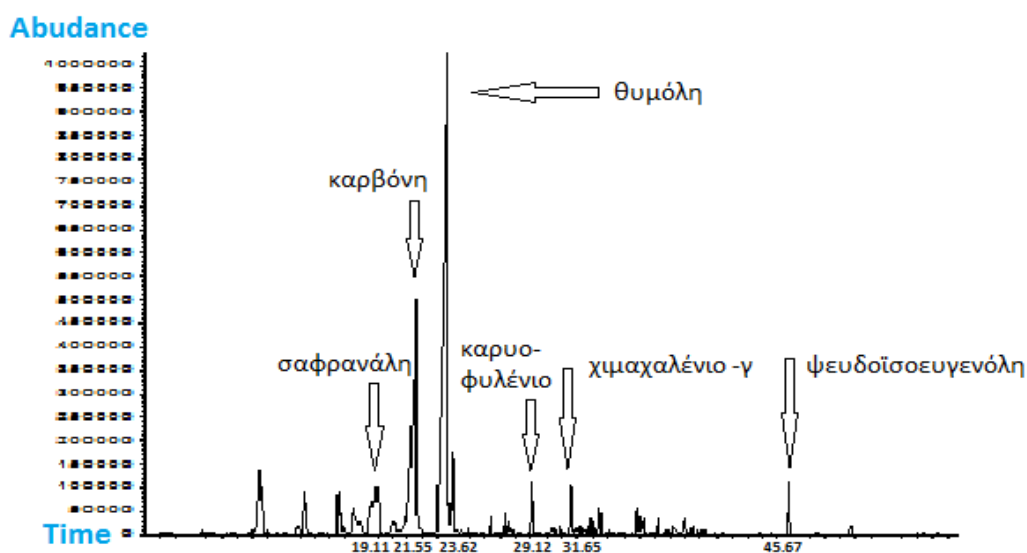


Πίνακας 3.14. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του αφεψηματος «Βιολογικό δεντρολίβανο – θυμάρι».

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλυσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα	Πιθανή φυτική προέλευση του συστατικού
1. 1,8 κινεόλη	11.36	1,0%	δεντρολίβανο
2. ακεταλδεΐδη βενζενίου	11.92	0,1%	ιβίσκος
3. φενχόνη	13.84	0,1%	μάραθος
4. λιναλοόλη	14.25	0,4%	δεντρολίβανο, θυμάρι
5. καμφορά	16.45	0,8%	δεντρολίβανο
6. μενθόνη	16.82	0,2%	δύσμος
7. βορνεόλη	17.52	0,8%	δεντρολίβανο
8. ενδο-βορνεόλη	17.71	0,7%	δεντρολίβανο
9. τερπινέν-4-όλη	17.96	1,0%	ρίγανη
10. σαφρανάλη	19.06	4,0%	κρόκος
11. βερμπενόνη	19.67	0,2%	δεντρολίβανο
12. καρβεόλη	20.76	2,0%	λουίζα
13. καρβόνη	22.00	26,8%	δύσμος
14. ανηθόλη	23.6	βγαίνει μαζί με θυμόλη	γλυκάνισο, μάραθος
15. θυμόλη	23.87	36,3%	θυμάρι

16. καρβακρόλη	24.26	3,4%	θυμάρι
17. πιπεριτόνη	25.85	0,1%	δεντρολίβανο
18. ευγενόλη	26.41	0,1%	δεντρολίβανο
19. ελεμένιο	27.82	0,2%	πιπερόριζα
20. ιονόλη	28.93	0,1%	-
21. καρυοφυλένιο	29.16	0,8%	δεντρολίβανο
22. α-χιμαχαλένιο	31.73	1,8%	γλυκάνισο
23. χουμουλένιο	30.57	0,1%	δεντρολίβανο
24. μουουρόλα	30.96	0,1%	δεντρολίβανο
25. γ-χιμαχαλένιο	31.73	1,8%	γλυκάνισο
26. μπισαμπολένιο	32.72	0,1%	ρίγανη
27. δ-καδινένιο	33.11	0,2%	θυμάρι
28. καλαμενένιο cis	33.48	0,6%	θυμάρι
29. α-καδινένιο	34.05	0,1%	δεντρολίβανο
30. σπαθουλενόλη	35.93	0,6%	θυμάρι
31. κουμπενόλη	37.31	0,4%	-
32. καδινόλη	38.92	0,5%	-
33. ψευδοϊσοευγενόλη	45.82	3,1%	γλυκάνισο
34. δεκαεξανοϊκό οξύ	49.87	0,5%	-

Δεντρολίβανο – θυμάρι

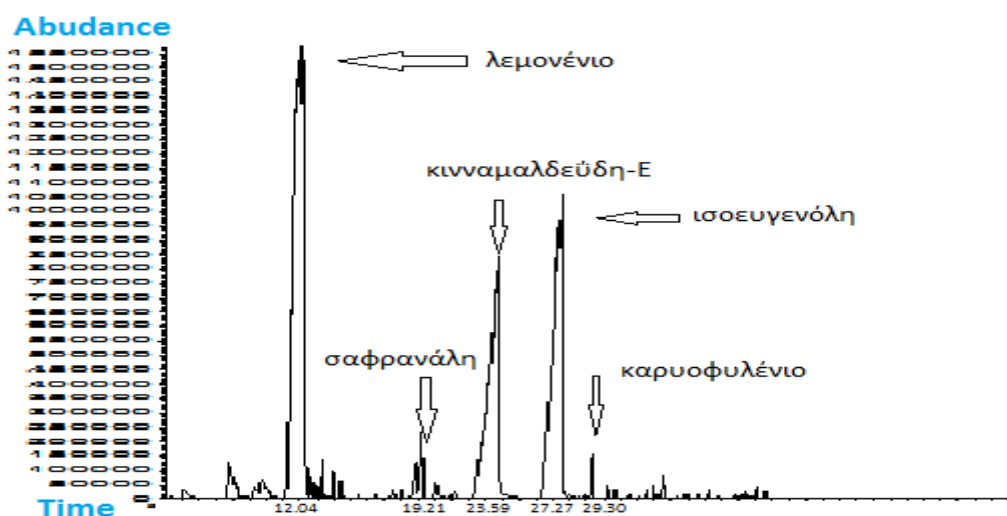


Πίνακας 3.15. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του αφηψήματος «Δεντρολίβανο – θυμάρι».

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλουσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα	Πιθανή φυτική προέλευση του συστατικού
1. π-κυμένιο	11.05	0,1%	δεντρολίβανο
2. 1,8 κινεόλη	11.39	4,2%	δεντρολίβανο

3. ακεταλδεϋδη βενζενίου	11.96	0,2%	ιβίσκος
4. φενχόνη	13.86	0,4%	μάραθος
5. λιναλοόλη	14.32	2,4%	<b>θυμάρι, δεντρολίβανο</b>
6. καμφορά	16.50	2,3%	<b>δεντρολίβανο</b>
7. μενθόνη	16.82	0,4%	δυόσμος
8. βορνεόλη	17.50	1,5%	<b>δεντρολίβανο</b>
9. μεθυλ-καβικόλη	18.98	5,5%	γλυκάνισο, μάραθος
10. σαφρανάλη	19.11	-	<b>κρόκος</b>
11. καρβεόλη	20.03	0,7%	λουίζα
12. πουλεγόνη	20.86	1,1%	δυόσμος
13. καρβόνη	21.55	15,6%	δυόσμος
14. ανηθόλη	23.43	βγαίνει μαζί με θυμόλη	γλυκάνισο, μάραθος
15. θυμόλη	23.62	42,1%	<b>θυμάρι</b>
16. καρβακρόλη	23.98	2,9%	<b>θυμάρι</b>
17. ευγενόλη	26.28	0,3%	<b>δεντρολίβανο</b>
18. οξικός γερανυλεστέρας	27.23	0,4%	φύλλα πορτοκαλιάς
19. β-ελεμένιο	27.76	0,1%	πιπερόριζα
20. καρυοφυλένιο	29.12	1,5%	<b>δεντρολίβανο</b>
21. α-χιμαχαλένιο	30.36	0,2%	γλυκάνισο
22. χουμουλένιο	30.53	0,1%	<b>δεντρολίβανο</b>
23. μουουρόλα	30.92	0,2%	<b>δεντρολίβανο</b>
24. γ-χιμαχαλένιο	31.65	1,6%	γλυκάνισο
25. ζινζιμπερένιο	32.11	0,2%	πιπερόριζα
26. μπισαμπολένιο	32.69	0,2%	ρίγανη
27. δ-καδινένιο	33.07	0,2%	<b>θυμάρι</b>
28. καλαμενένιο cis	33.44	0,8%	<b>θυμάρι</b>
29. σπαθουλενόλη	35.86	0,8%	<b>θυμάρι</b>
30. κουμπενόλη	37.27	0,4%	-
31. καδινόλη	38.85	0,4%	-
32. ψευδοϊσοευγενόλη	45.67	1,6%	γλυκάνισο
33. δεκαεξανοϊκό οξύ	49.75	0,4%	-

## Κανέλα – γαρύφαλλο



Πίνακας 3.16. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Κανέλα – γαρύφαλλο».

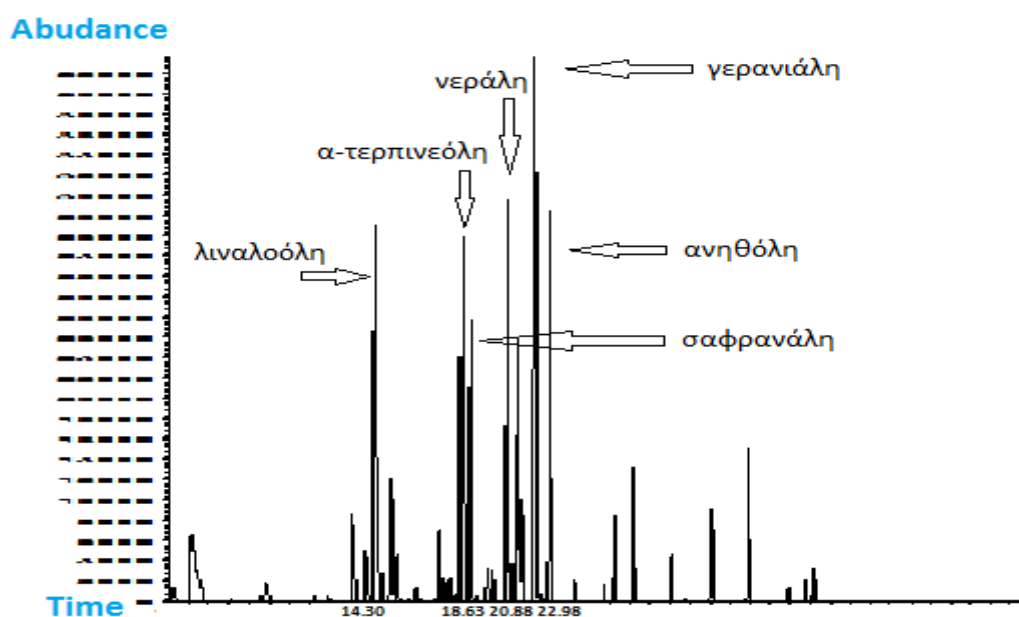
Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλουσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα	Πιθανή φυτική προέλευση του συστατικού
1. λιμονένιο	12.04	40%	φλοιός πορτοκαλιού
2. τερπινεόλη	18.87	1,1%	κανέλα
3. σαφρανάλη	19.21	1,5%	κρόκος
4. Z-κινναμαλδεΰδη	20.05	0,5%	κανέλα
5. καρβόνη	21.12	0,2%	δύσμος
6. E-κινναμαλδεΰδη	23.59	16%	κανέλα
7. ισοευγενόλη	27.27	16,3%	κανέλα, γαρύφαλλο
8. β-καρυοφυλένιο	29.30	0,7%	κανέλα, γαρύφαλλο
9. οξικός κινναμυλεστέρας	30.23	0,2%	κανέλα
10. χουμουλένιο	30.67	0,1%	δεντρολίβανο
11. μουουρολένιο	32.53	0,1%	δεντρολίβανο
12. κουμπενόλη	37.84	0,1%	-





15. ανηθόλη	23.63	44,24%	γλυκάνισο, μάραθος
16. θυμόλη	23.82	1,3%	θυμάρι
17. ευγενόλη	26.24	0,1%	γλυκάνισο
18. καρνοφυλένιο	29.10	1,4%	λουίζα
19. χουμουλένιο	30.59	1,4%	φασκόμηλο
20. αρωμαδενδρένιο	30.86	0,1%	φασκόμηλο
21. αρ-κουρκουμένιο	31.83	0,1%	λουίζα
22. ζινζιμπερένιο	32.12	0,3%	λουίζα
23. βιριδιφλορένιο	32.31	0,2%	φασκόμηλο
24. μπισαμπολένιο	32.68	0,1%	ρίγανη
25. δ-καδινένιο	33.07	0,1%	φασκόμηλο
26. νερολιδόλη	34.99	0,2%	λουίζα
27. σπαθουλενόλη	35.94	1,4%	λουίζα
28. οξειδίο καρνοφυλενίου	36.14	1,9%	λουίζα
29. βιριδιφλορόλη	36.62	4,9%	φασκόμηλο
30. εποξειδίο χουμουλενίου	37.21	1,4%	φασκόμηλο
31. ψευδοϊσοευγενόλη	45.69	1,7%	γλυκάνισο
32. επόξυ- ψευδοϊσοευγενόλη	47.57	0,2%	γλυκάνισο
33. μανοόλη	53.13	2,1%	φασκόμηλο

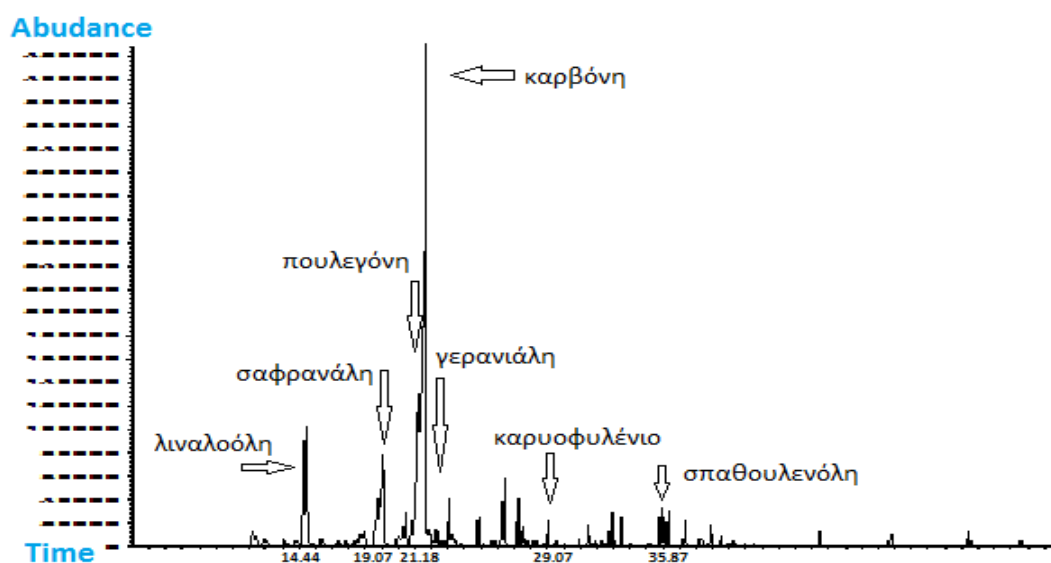
### Μέλι – πορτοκάλι



Πίνακας 3.18. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του αφειγήματος «Μέλι – πορτοκάλι».

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλυσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα	Πιθανή φυτική προέλευση του συστατικού
1. λιναλοόλη	14.30	12,7%	φύλλα πορτοκαλιού, φλοιός λεμονιού
2. φαινυλ-αιθυλαλκοόλη	15.05	3,7%	πέταλα τριαντάφυλλου
3. α-ισοφορόνη	15.37	1,2%	κρόκος
4. α-τερπινεόλη	18.63	11,2%	φύλλα πορτοκαλιού
5. σαφρανάλη	19.02	6,4%	κρόκος
6. β-φενχυλαλκοόλη	19.88	0,8%	-
7. νεράλη	20.88	9,7%	φλοιός πορτοκαλιού, φλοιός λεμονιού, πέταλα τριαντάφυλλου
8. οξικός λιναλοόλυλ εστέρας	21.41	7%	φύλλα πορτοκαλιού, πέταλα τριαντάφυλλου, φλοιός λεμονιού
9. ανισαλδεΐδη	21.61	2,4%	γλυκάνισο
10. γερανιάλη	22.30	15,8%	φλοιός πορτοκαλιού, φλοιός λεμονιού, πέταλα τριαντάφυλλου
11. ανηθόλη-Ε	22.98	7,4%	μάραθος
12. οξικός γερανυλεστέρας	27.16	2,2%	πέταλα τριαντάφυλλου

Μαύρο τσάι – λεμόνι – δυόσμος

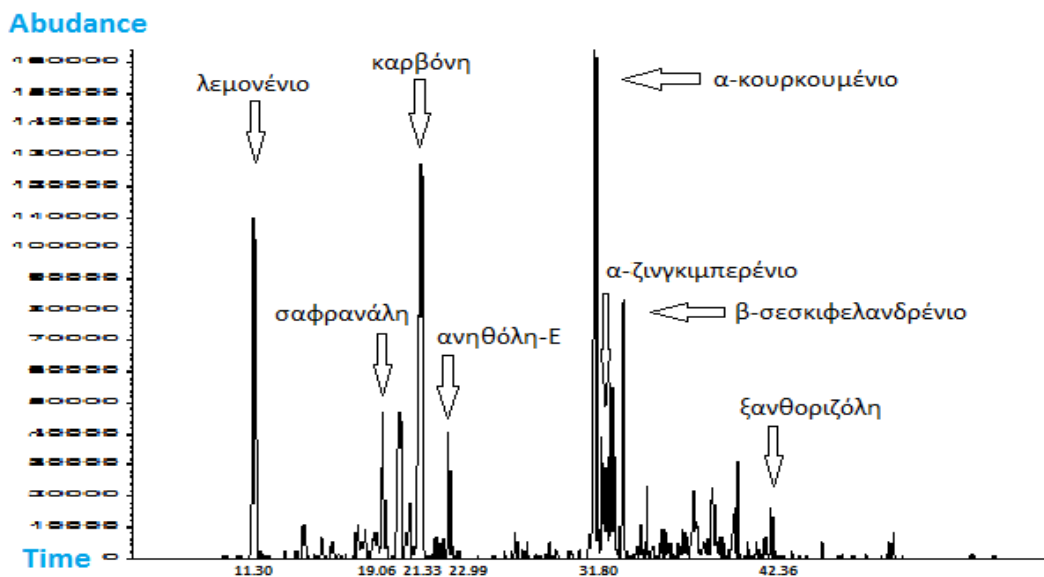


Πίνακας 3.19. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Μαύρο τσάι – λεμόνι – δυόσμος».

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλυσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα	Πιθανή φυτική προέλευση του συστατικού
1. λεμονένιο	11.22	1,2%	φλοιός λεμονιού, δυόσμος
2. ακεταλδεΐδη βενζενίου	11.94	0.6%	ιβίσκος
3. οξείδιο λιναλοόλης α	13.10	0,4%	φλοιός λεμονιού
4. οξείδιο λιναλοόλης β	13.82	0,4%	φλοιός λεμονιού
5. λιναλοόλη	14.44	8,3%	φλοιός λεμονιού
6. ισοφορόνη	15.39	0,5%	κρόκος
7. ισοφορόνη-4-κέτο	16.39	0,3%	κρόκος
8. μενθόνη	16.84	0,2%	δυόσμος
9. βορνεόλη	17.48	0,6%	δεντρολίβανο, μελισσόχορτο
10. μενθόλη	17.73	0,7%	μέντα
11. τερπινέν-4-όλη	17.93	0,9%	ρίγανη, θυμάρι
12. α-τερπινεόλη	18.86	4%	θυμάρι
13. σαφρανάλη	19.07	6,6%	κρόκος
14. trans καρβεόλη	20.46	2,1%	λουίζα
15. πουλεγόνη	21.18	8,6%	δυόσμος
16. καρβόνη	21.70	38,6%	δυόσμος
17. καρβοτακετόνη	21.88	0,7%	-
20. γερανιάλη	22.31	0,5%	λουίζα
21. ανηθόλη-E	23.07	1,4%	γλυκάνισο, μάραθος
22. θυμόλη	23.32	0,4%	θυμάρι
23. οξικός εστέρας ισοδιϋδροκαρβεόλης	24.84	0,8%	-
24. πιπεριτενόνη	25.61	0,1%	δυόσμος
25. οξικός καρβυλεστέρας	26.40	2,8%	-
26. οξικός γερανυλεστέρας	27.25	1,5%	πέταλα τριαντάφυλλου
27. μπουρμπονένιο	27.51	0,6%	δυόσμος
28. β-ελεμένιο	27.75	0,1%	πιπερόριζα
29. καρνοφυλένιο	29.07	0,8%	δυόσμος, κανέλα, γαρύφαλλο
30. β-κοπαένιο	29.46	0,1%	δεντρολίβανο, θυμάρι
31. α-trans-μπεργαμοντένιο	29.58	0,1%	-

32. cis-μουουρόλα-4(14),5-διένιο	30.92	0,2%	-
33. α-κουρκουμένιο	31.60	0,2%	πιπερόριζα
34. μπισαμπολένιο	32.70	0,4%	ρίγανη
35. trans καλαμενένιο	33.46	1,1%	πιπερόριζα
36. α-καδινένιο	34.03	0,1%	δεντρολίβανο
37. σπαθουλενόλη	35.87	1,4%	λουίζα
38. οξείδιο καρνοφυλενίου	36.08	0,9%	<b>δύσμος</b>
39. κουμπενόλη	37.30	0,8%	-
40. α-καδινόλη	38.86	1%	λουίζα
41. δεκαεξανοϊκό οξύ (παλμιτικό οξύ)	49.75	0,6%	-

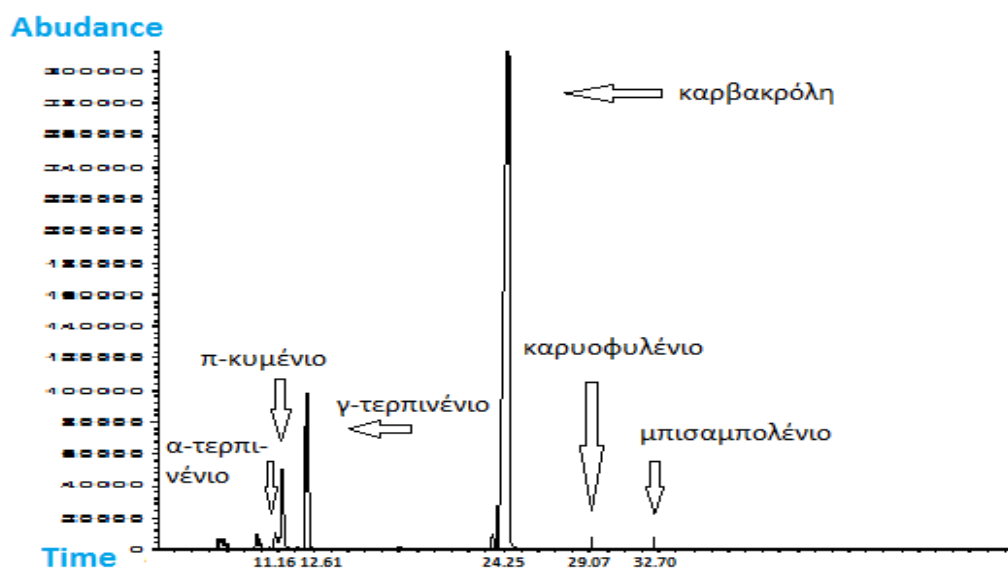
Πράσινο τσάι – πιπερόριζα – γλυκύριζα



Πίνακας 3.20. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Πράσινο τσάι – πιπερόριζα – γλυκόριζα».

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλυσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα	Πιθανή φυτική προέλευση του συστατικού
1. λεμονένιο	11.30	12,6%	φύλλα πορτοκαλιού
2. βορνεόλη	17.49	1%	δεντρολίβανο
3. σαφρανάλη	19.06	4,1%	<b>κρόκος</b>
4. trans καρβεόλη	20.07	5,5%	δυόσμος
5. cis καρβεόλη	20.66	2%	δυόσμος
6. καρβόνη	21.33	13,9%	δυόσμος
7. γερανιάλη	22.19	0,2%	φύλλα πορτοκαλιάς
8. ανηθόλη-E	22.99	2,1%	γλυκόριζα, γλυκάνισο, μάραθος
9. ελεμένιο	27.71	0,2%	<b>πιπερόριζα</b>
10. κοπαένιο	29.42	0,2%	δεντρολίβανο, θυμάρι
11. μουουρολένιο	30.86	0,2%	δεντρολίβανο
12. άλλο-αρωμαδενδρένιο	31.46	0,4%	-
13. α-κουρκουμένιο	31.80	14%	<b>πιπερόριζα</b>
14. α-ζιγγκιμπερένιο	32.20	2%	<b>πιπερόριζα</b>
15. βαλενσένιο	32.32	0,8%	-
16. γ-αμορφένιο	32.52	2,1%	-
17. μπισαμπολένιο	32.77	3,4%	<b>πιπερόριζα</b>
18. β-σεσκιφελανδρένιο	33.47	5,4%	<b>πιπερόριζα</b>
19. ελεμόλη	34.53	0,5%	-
20. νερολιδόλη	34.93	1%	φύλλα πορτοκαλιού
21. σπαθουλενόλη	35.83	0,4%	λουίζα
22. καρνοφυλένιο	36.06	0,5%	δυόσμος
23. ευδεσμόλη	38.78	1,1%	-
24. οξικός εστέρας νερολιδόλης	40.35	1,7%	φύλλα πορτοκαλιού
25. ζερουμπόνη	41.99	0,4%	<b>πιπερόριζα</b>
26. ξανθοριζόλη	42.36	0,8%	<b>πιπερόριζα</b>
27. δεκαεξανοϊκό οξύ (παλμιτικό οξύ)	49.68	0,4%	-

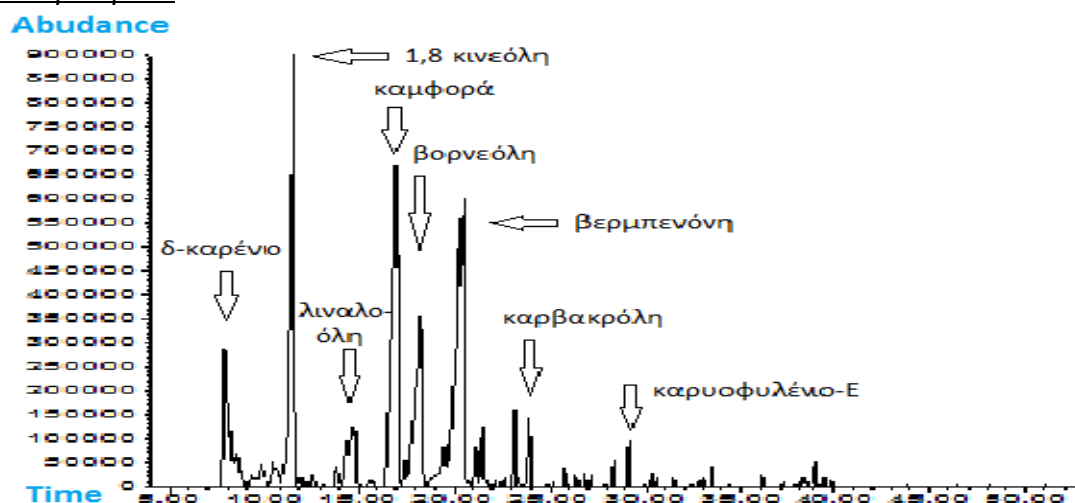
## Ρίγανη



Πίνακας 3.21. Σύσταση του αιθερίου ελαίου της ρίγανης.

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλουσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα
1. α-τερπινένιο	10.80	1,6%
2. π-κυμένιο	11.16	8,2%
3. γ-τερπινένιο	12.61	11,9%
4. θυμόλη	23.32	1,7%
5. καρβακρόλη	24.25	75,1%
6. καρυοφυλένιο	29.07	0,4%
7. μπισαμπολένιο	32.70	0,3%

## Δεντρολίβανο



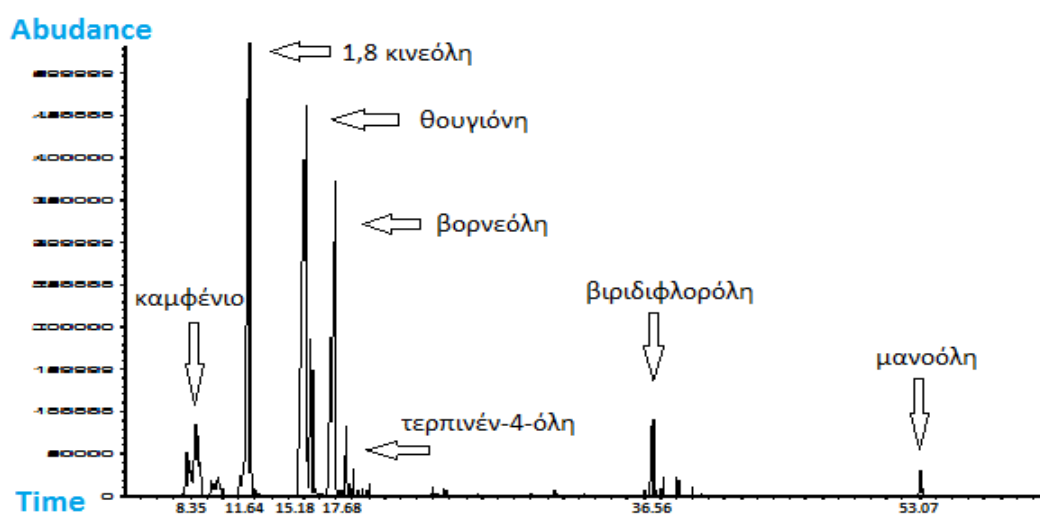
Πίνακας 3.22. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του δεντρολίβανου.

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλυσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα
1. δ-καρένιο	10.54	1,4%
2. 1,8 κινεόλη	11.69	18,9%
3. γ-τερπινένιο	12.56	0,4%
4. τερπινολένιο	13.88	0,8%
5. λιναλοόλη	14.67	5%
6. χρυσαθενόνη	15.58	0,3%
7. καμφορά	16.99	16,5%
8. πινοκαρβόνη	17.49	0,4%
9. βορνεόλη	18.26	12,1%
10. γ-τερπινεόλη	19.28	0,8%
11. βερμπενόνη	20.26	15,9%
12. καρβόνη	22.63	0,1%
13. οξικός βορνυλεστέρας	23.16	1,7%
14. θυμόλη	23.37	0,1%
15. καρβακρόλη	23.97	1,7%
16. πιπεριτόνη	25.78	0,3%
17. ευγενόλη	26.33	0,2%
18. α-κοπαένιο	27.11	0,1%
19. μεθυλ-ευγενόλη	28.33	0,4%
20. καρυοφυλένιο-E	29.17	0,9%
21. neryl acetone	30.31	0,2%
22. χουμουλένιο	30.58	0,1%
23. μουουρολένιο-γ	31,49	0,1%
24. γ-καδινένιο	33.11	0,1%
25. δ-καδινένιο	33.46	0,3%
26. οξείδιο καρυοφυλενίου	36.08	0,2%



27. γιασμονικός μεθυλεστέρας	38.48	0.1%
28. α-μπισαμπολόλη	39.85	0,1%

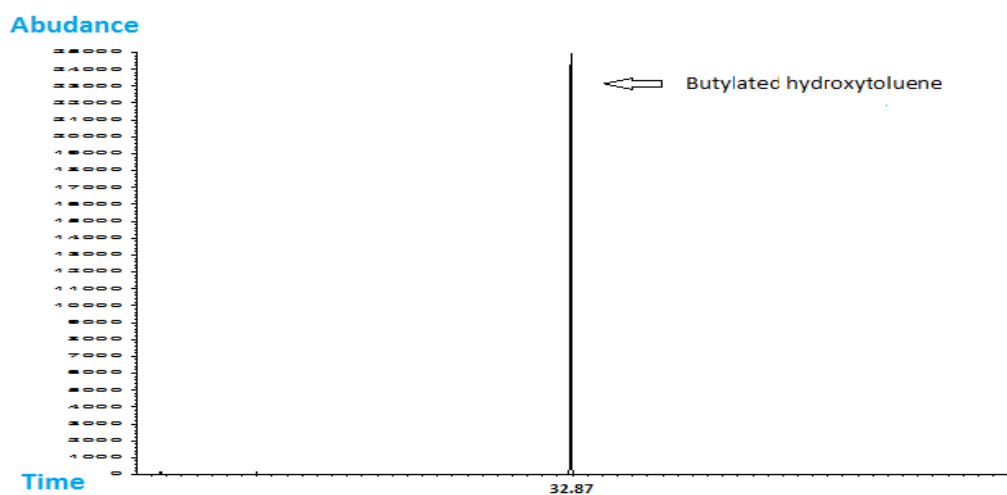
### Φασκόμηλο



Πίνακας 3.23. Σύσταση του αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου.

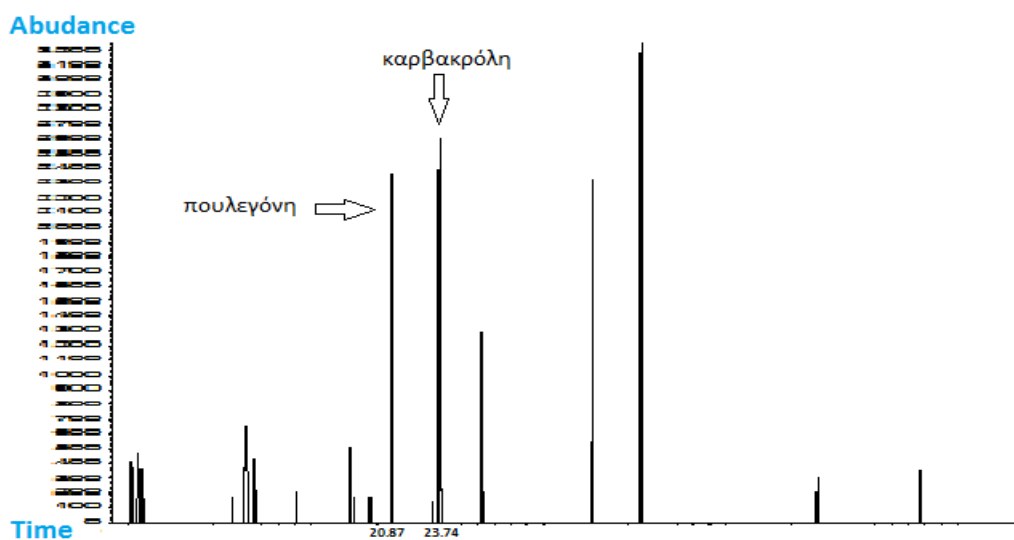
Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλουσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα
1. α-πινένιο	7.77	2,9%
2. καμφένιο	8.35	4,3%
3. β-πινένιο	9.31	0,6%
4. μυρκένιο	9.67	1,2%
5. 1,8 κινεόλη	11.64	24,4%
6. θουγιόνη	15.18	31,1%
7. καμφορά	16.95	19%
8. βορνεόλη	17.68	2,4%
9. τερπινέν-4-όλη	18.08	0,6%
10. καρβακρόλη	23.71	0,1%
11. χουμουλένιο	30.53	0,1%
12. βιριδιφλορόλη	36.56	2,6%
13. μανοόλη	53.07	0,5%

## Μαύρο τσάι



Στην απόσταξη που πραγματοποιήθηκε το μαύρο τσάι δεν έδωσε κανένα πτητικό συστατικό. Το Butylated hydroxytoluene (BHT) είναι αντιοξειδωτικό του διαλύτη.

## Σιδερίτης (Sideritis scardica)

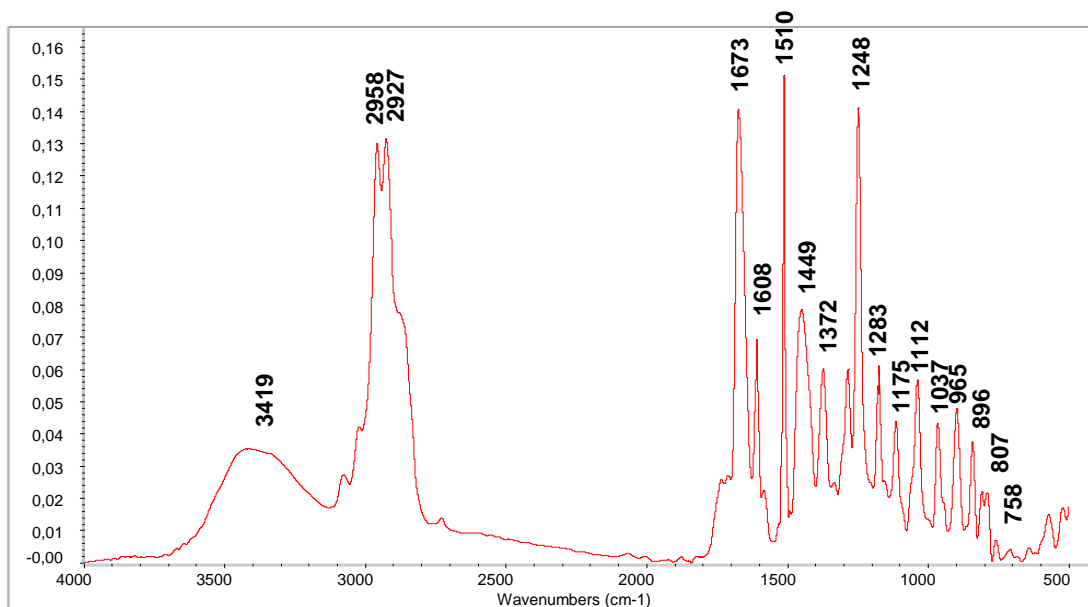


**Πίνακας 3.24.** Σύσταση του αιθερίου ελαίου του σιδερίτη.

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλουσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα
1. πουλεγόνη	20.87	24,9%
2. καρβακρόλη	23.74	28,94%

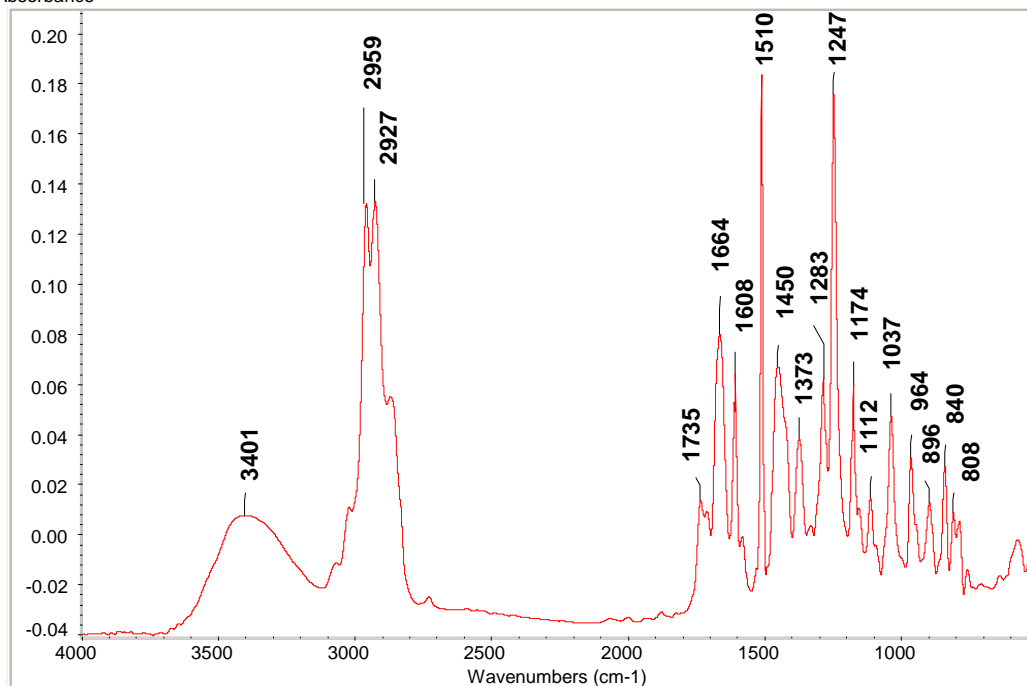
### 3.5 Αποτελέσματα FT-IR αιθερίων ελαίων των αφεψημάτων που παραλήφθησαν με την τεχνική εκχύλιση - απόσταξη (Likens-Nickerson).

Absorbance



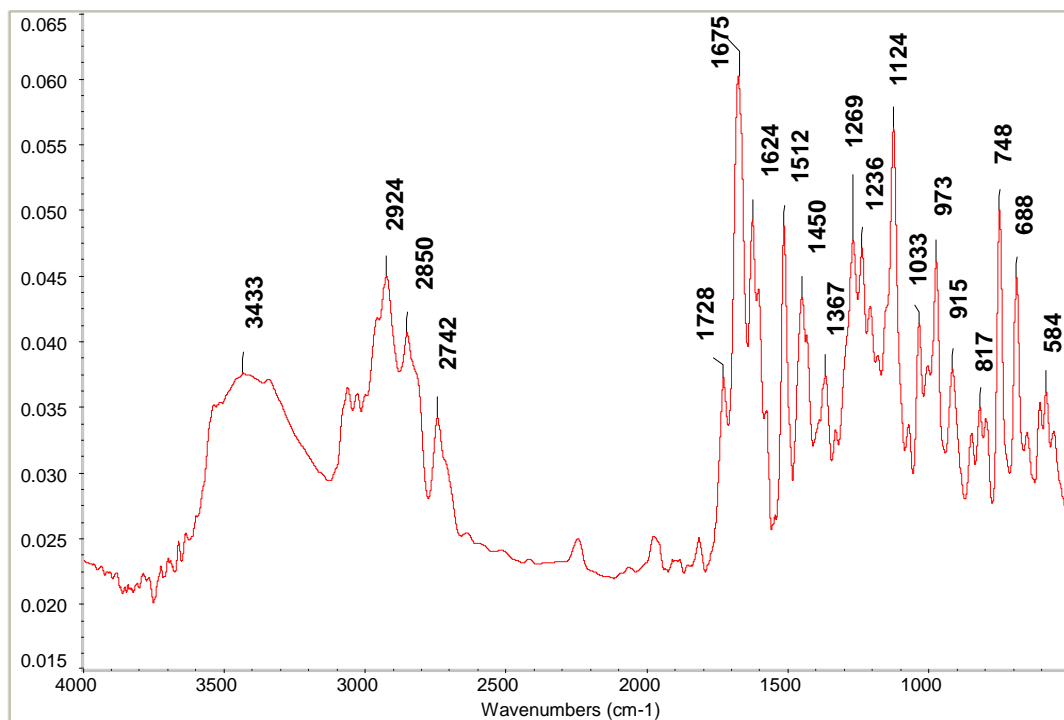
Εικόνα 32. Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψημάτος «Βιολογικό δεντρολίβανο – θυμάρι».

Absorbance



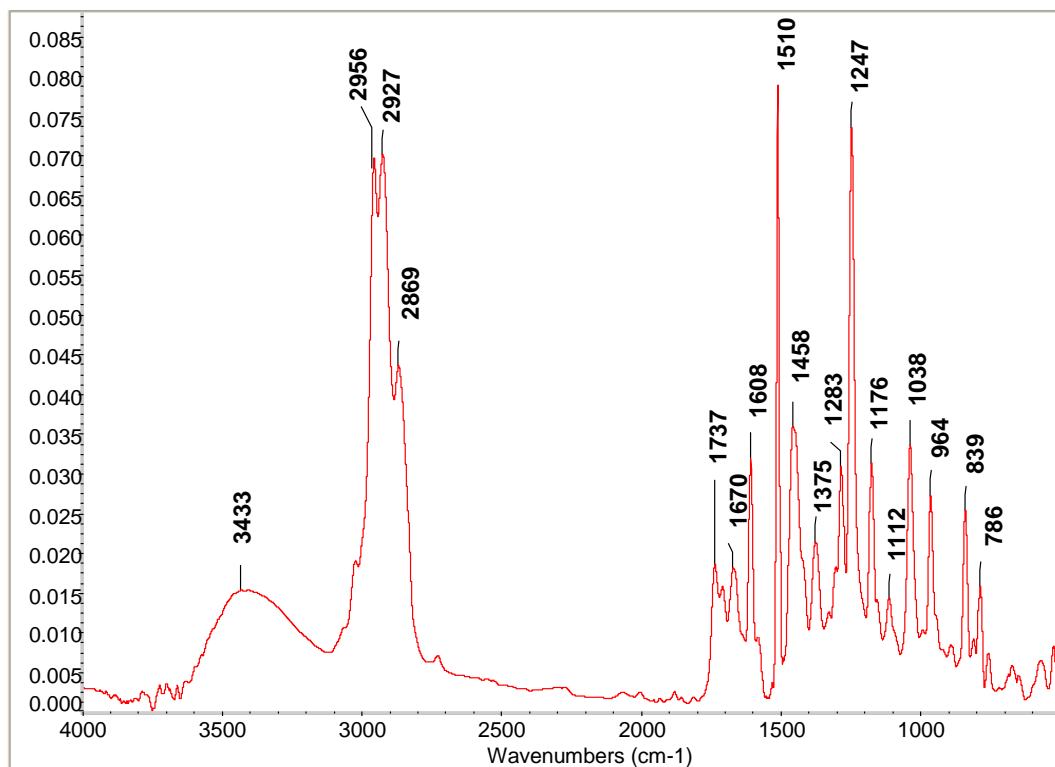
Εικόνα 33. Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψημάτος «Δεντρολίβανο – θυμάρι».

Absorbance

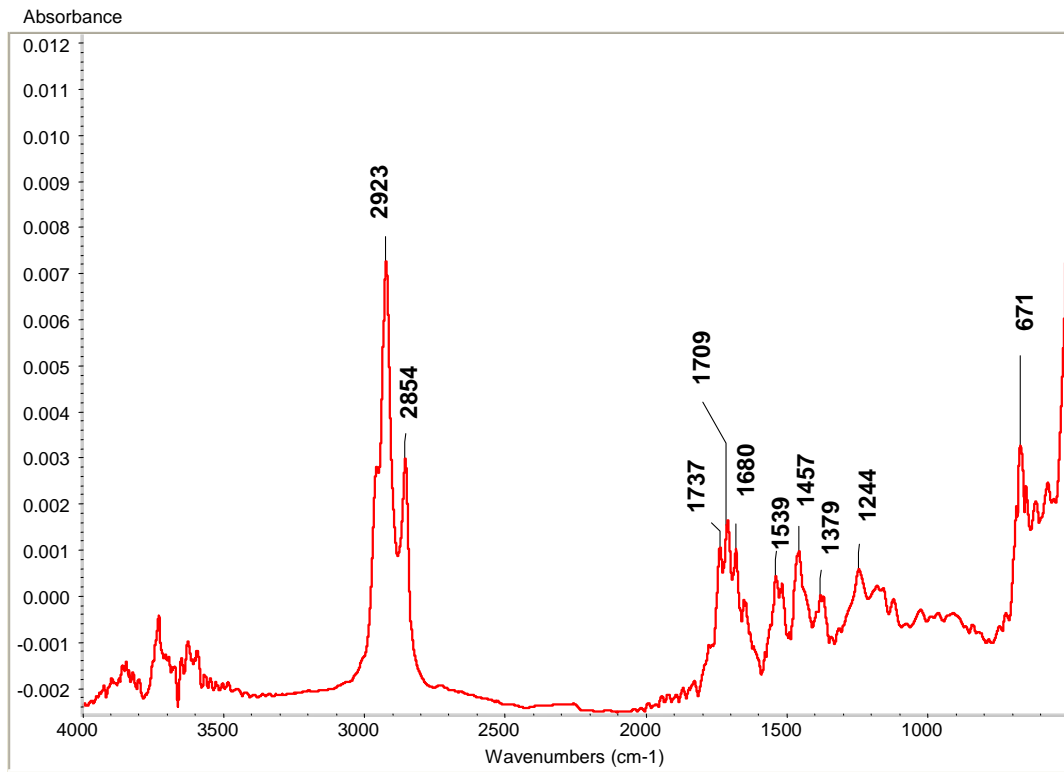


Εικόνα 34. Φάσμα FT-IR αιθέριου ελαίου του αφεψήματος «Κανέλα – γαρύφαλλο».

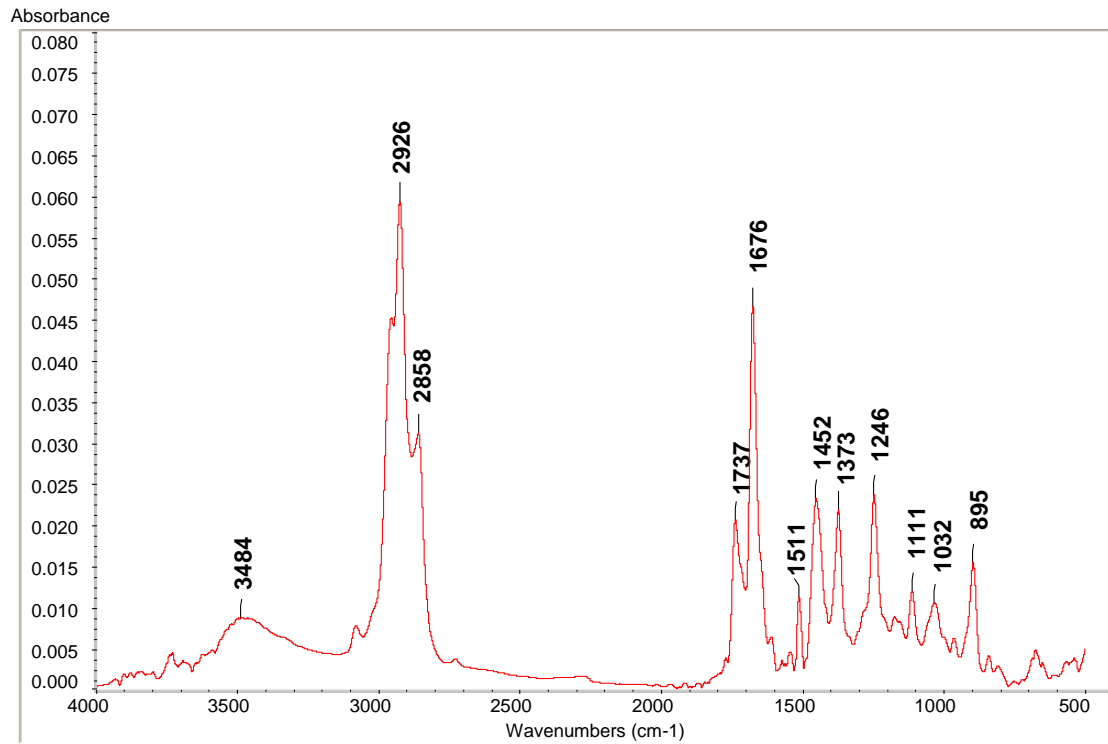
Absorbance



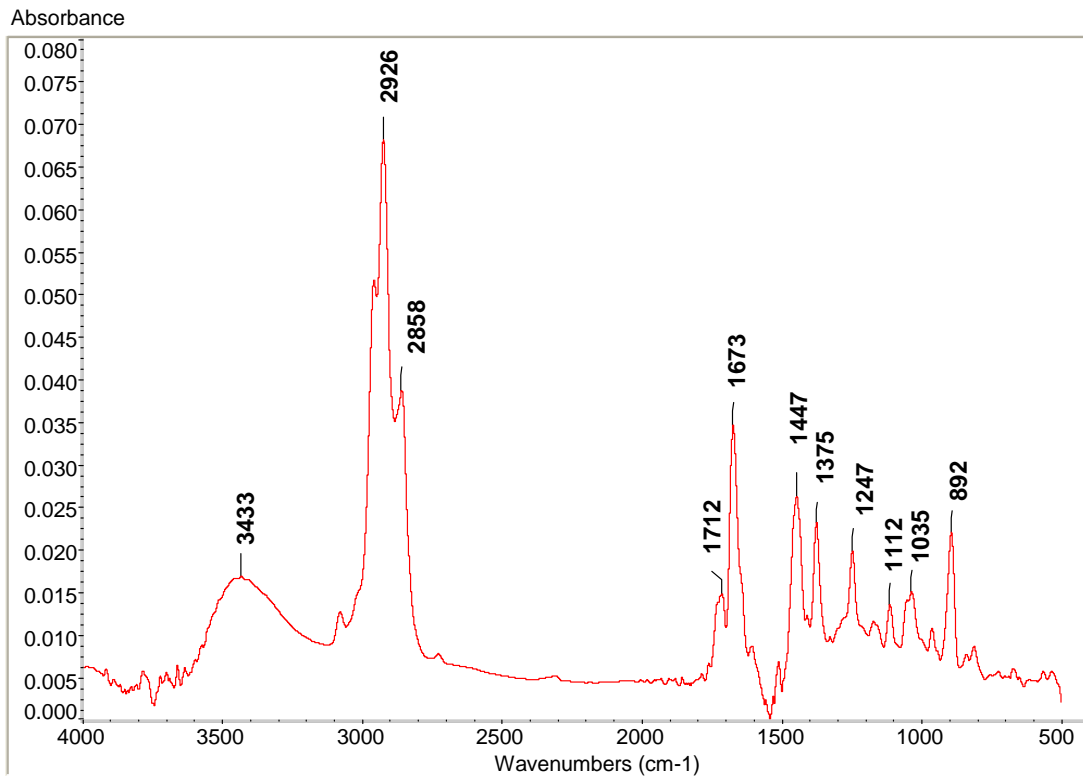
**Εικόνα 35.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Φασκόμηλο-λουίζα».



**Εικόνα 36.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Μέλι – πορτοκάλι».

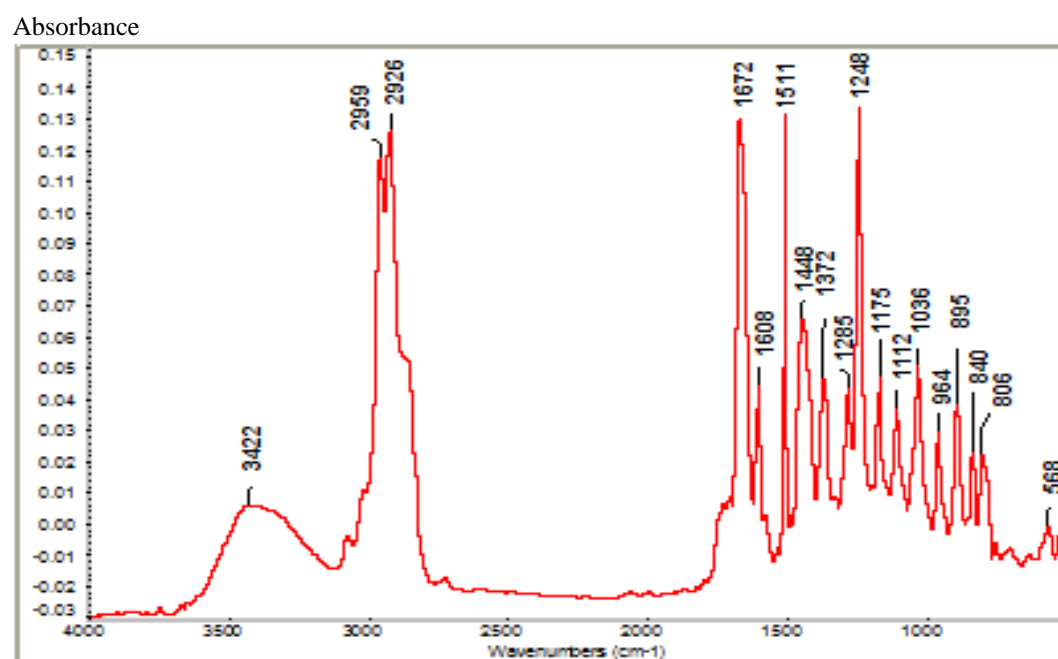


**Εικόνα 37.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Μαύρο τσάι – λεμόνι – δυόσμος».



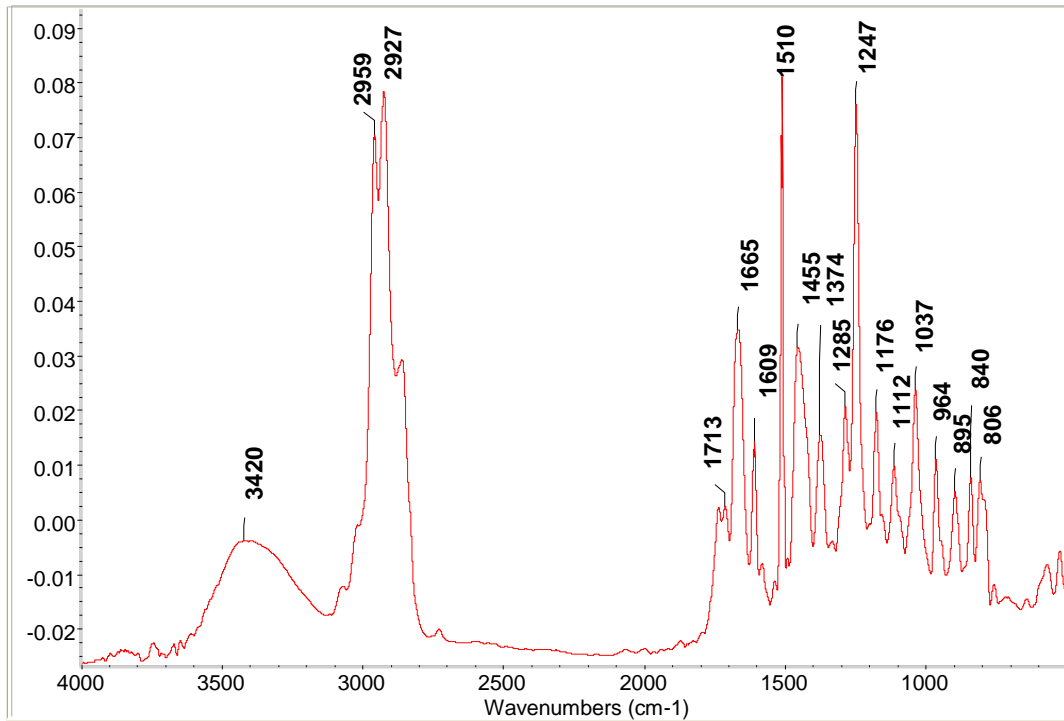
**Εικόνα 38.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Πράσινο τσάι – πιπερόριζα – γλυκύριζα».

### 3.5.2 Αποτελέσματα FT-IR αιθερίων ελαίων των αφεψημάτων που παραλήφθησαν με την τεχνική της υδροαπόσταξης (Clevenger)



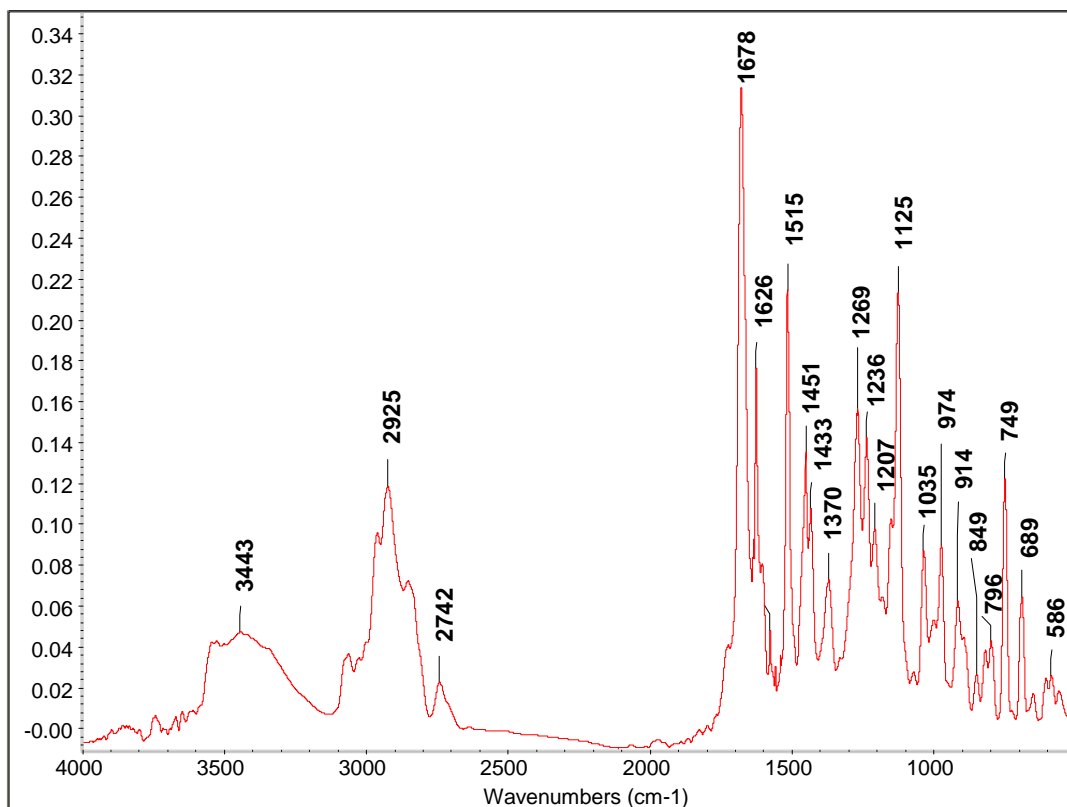
**Εικόνα 39.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Βιολογικό δεντρολίβανο – θυμάρι».

Absorbance



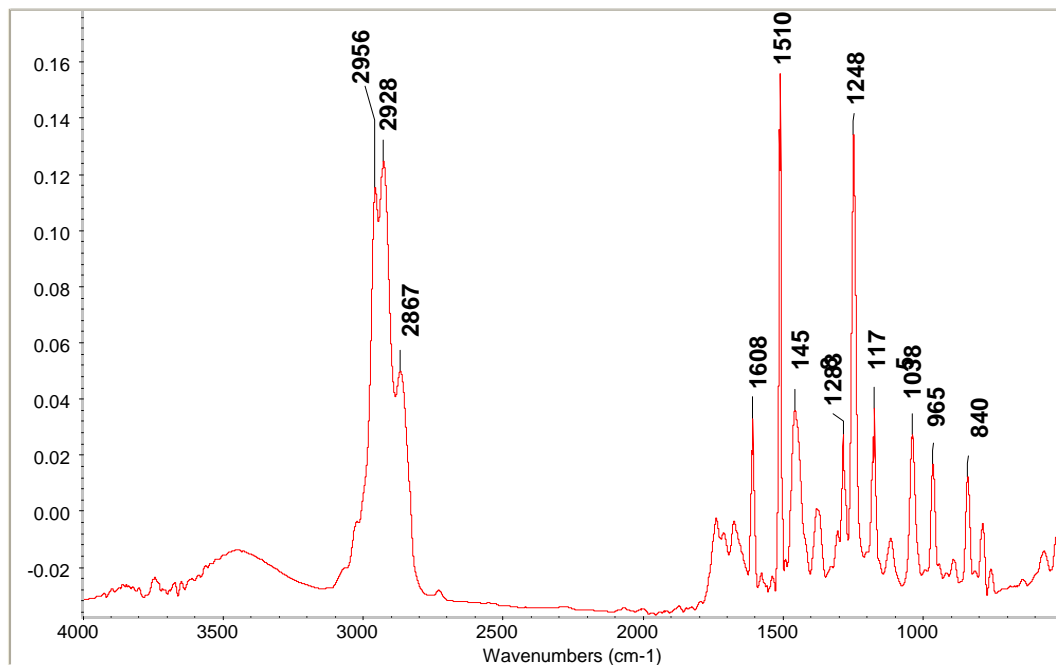
**Εικόνα 40.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Δεντρολίβανο – θυμάρι».

Absorbance



**Εικόνα 41.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Κανέλα – γαρύφαλλο».

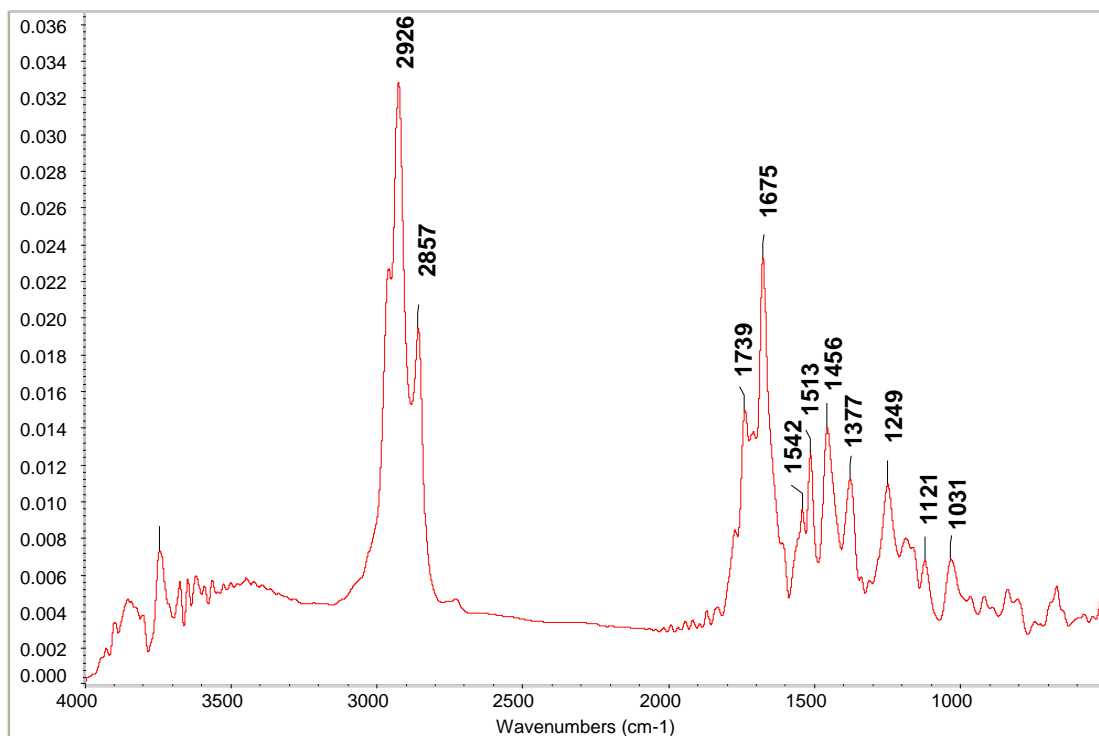
Absorbance



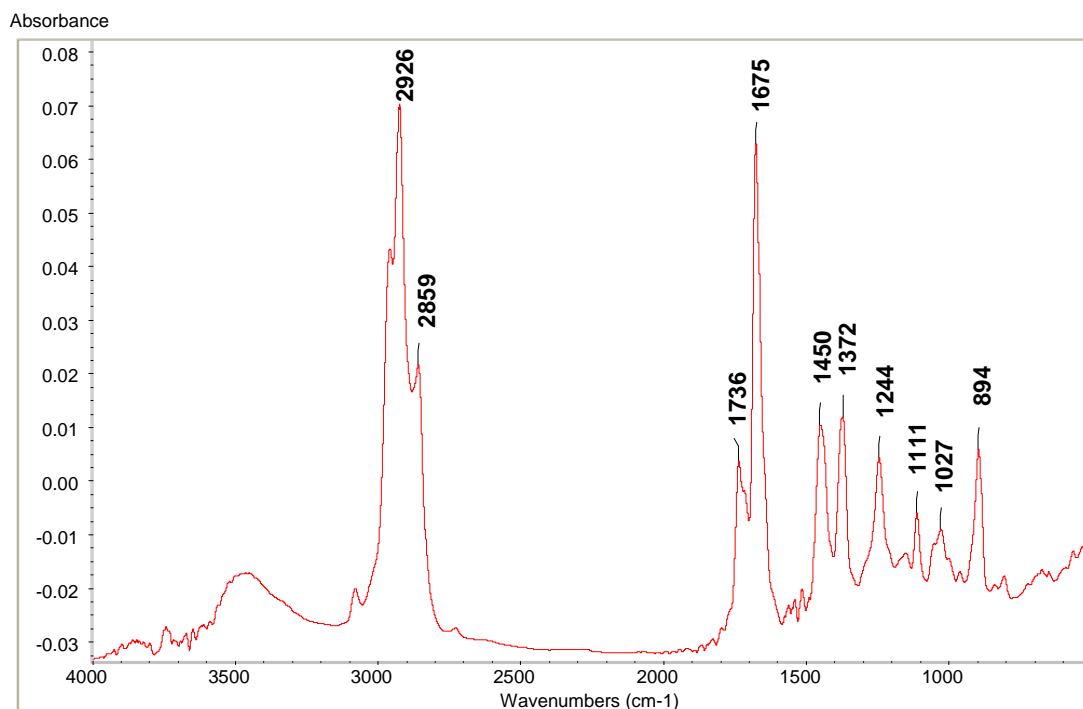
**Εικόνα 42.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Φασκόμηλο-λουίζα».

Absorbance



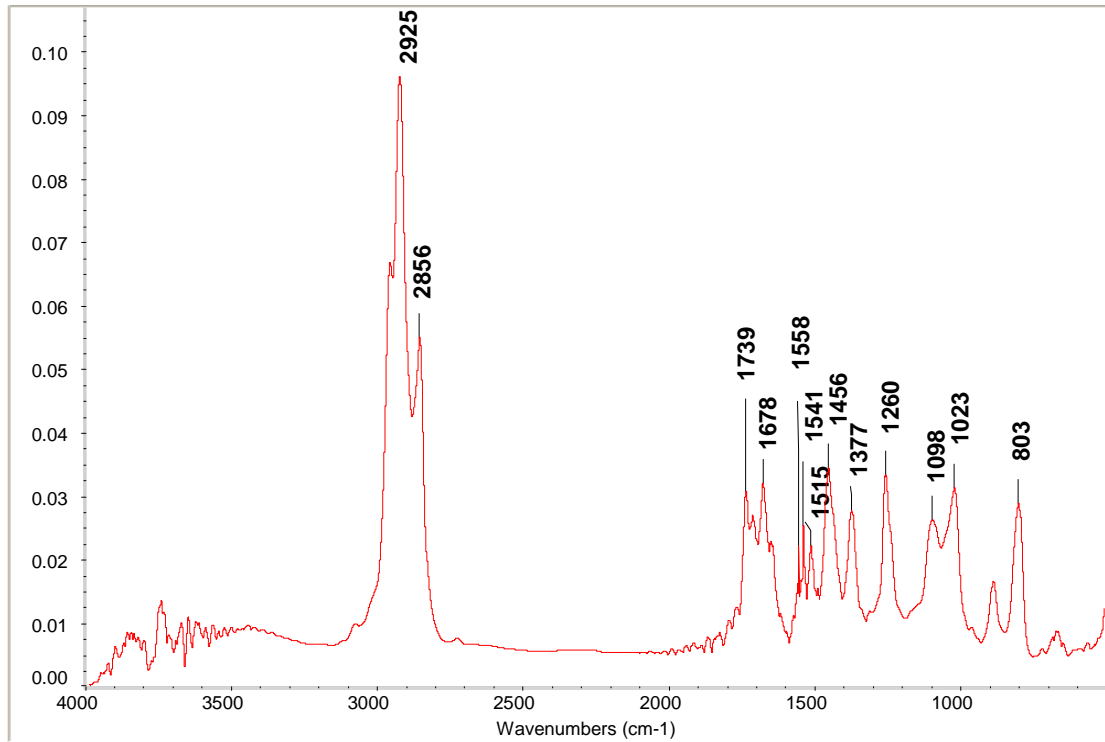


**Εικόνα 43.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Μέλι – πορτοκάλι».

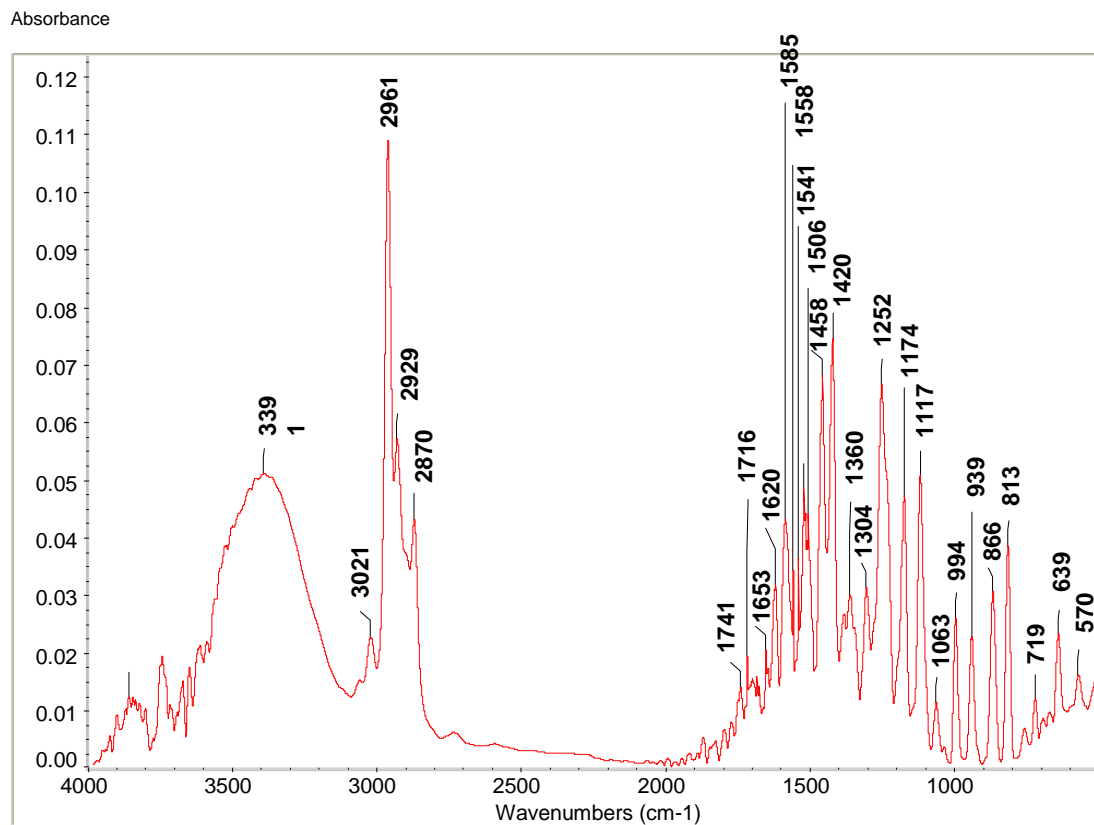


**Εικόνα 44.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Μαύρο τσάι-λεμόνι-δυόσμος».

Absorbance

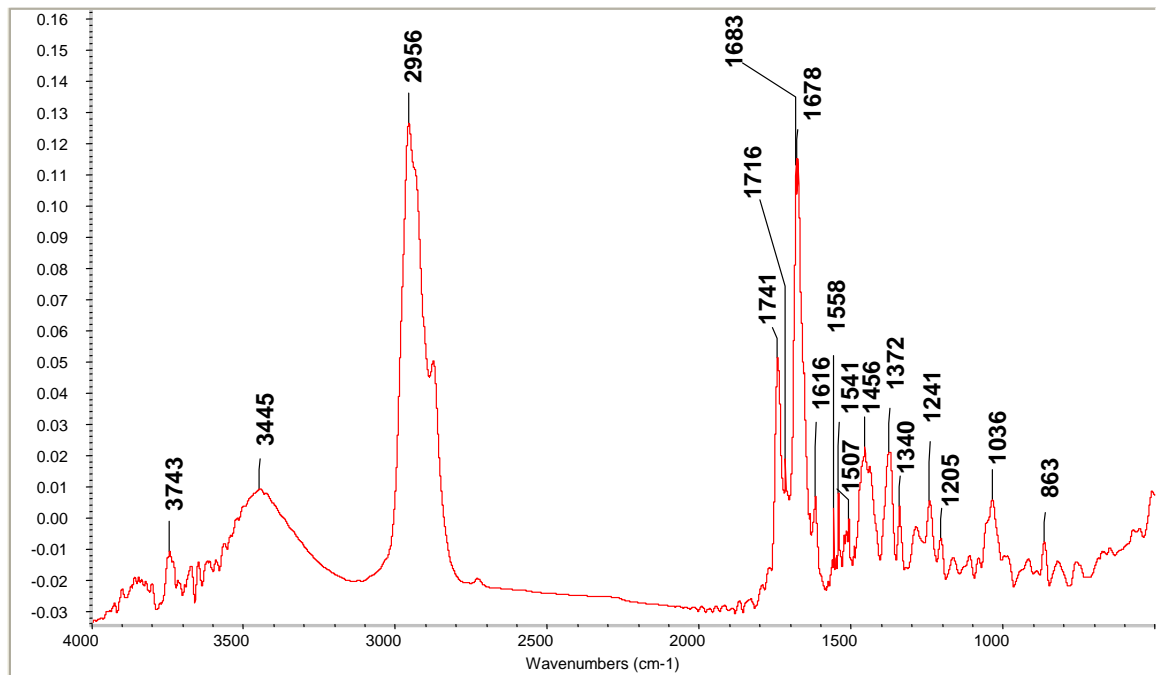


**Εικόνα 45.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Πράσινο τσάι – πιπερόριζα – γλυκύριζα».



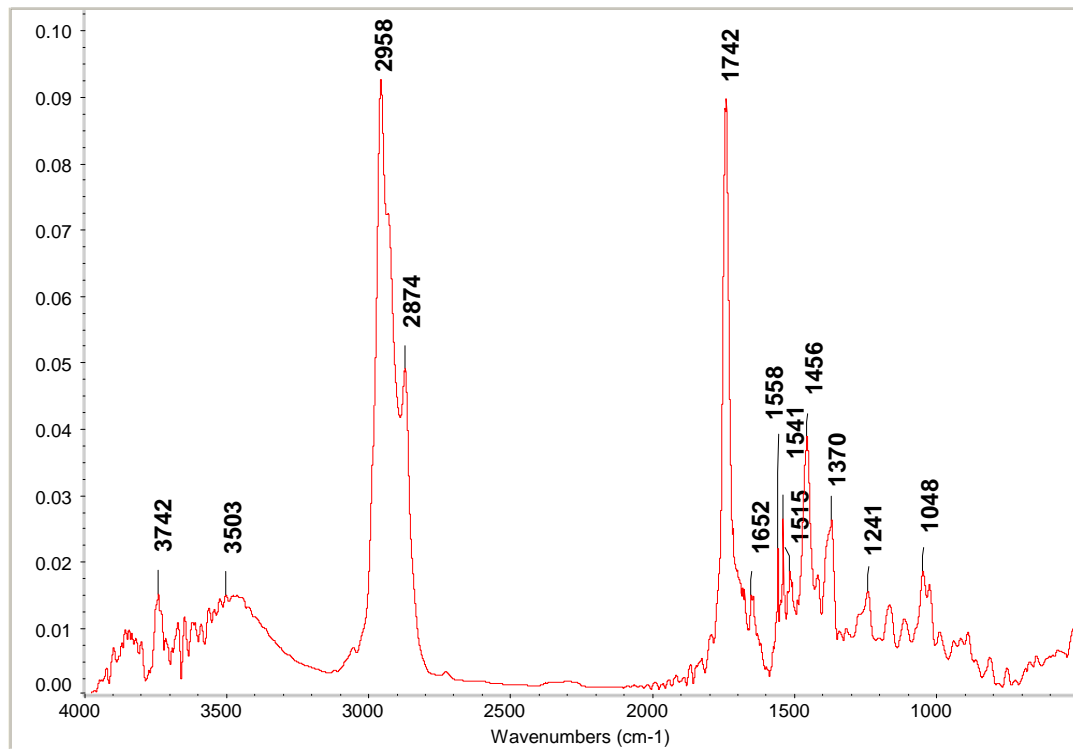
**Εικόνα 46.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου της ρίγανης.

Absorbance

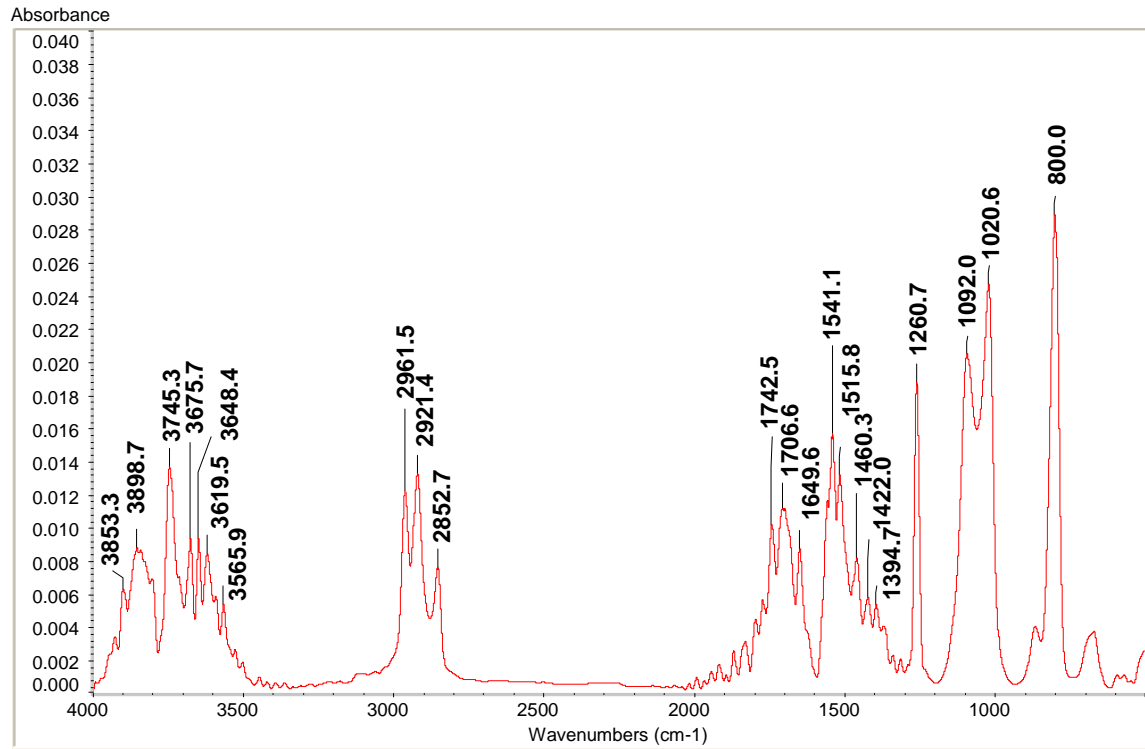


Εικόνα 47. Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του δεντρολίβανου.

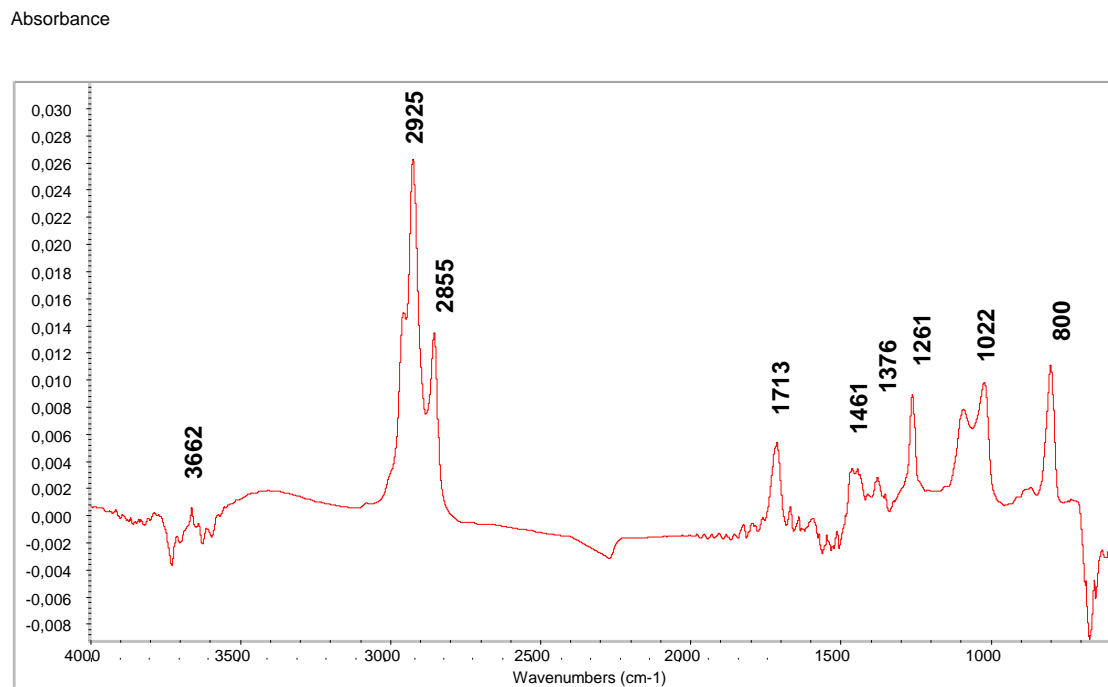
Absorbance



Εικόνα 48. Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του φασκόμηλου.

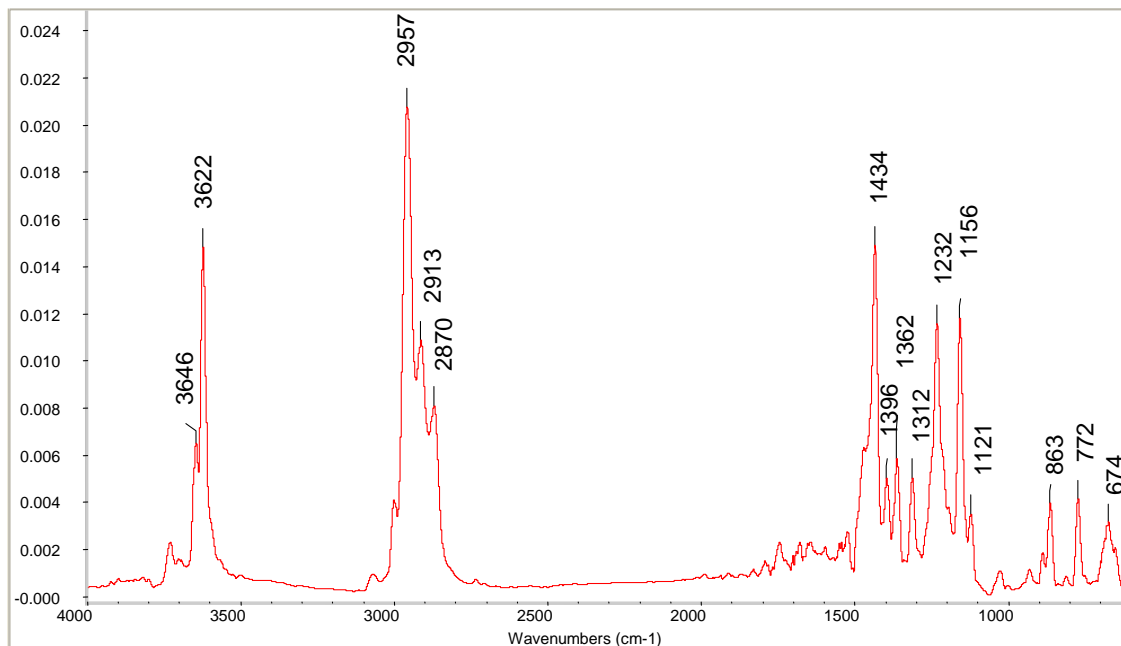


**Εικόνα 49.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του μαύρου τσαγιού



**Εικόνα 50.** Φάσμα FT-IR αιθερίου ελαίου του σιδερίτη.

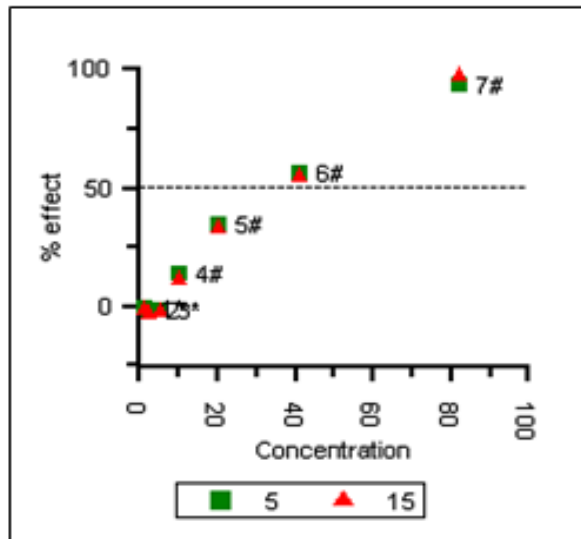
Absorbance



**Εικόνα 51.** Φάσμα FT-IR του οργανικού διαλύτη Butylated hydroxytoluene (BHT).

### 3.6 Αποτελέσματα τοξικότητας ενάντια στο βακτήριο *Vibrio fischeri*.

Μετά από κάθε πείραμα μελέτης της τοξικότητας το λογισμικό του αναλυτή τοξικότητας Microtox έδινε τα αποτελέσματα σε μορφή διαγραμμάτων και πινάκων δίνοντας ταυτόχρονα και τις εξισώσεις που περιγράφουν την κάθε καμπύλη στα 5 και 15 λεπτά μετρήσεων της τοξικότητας. Επίσης υπολογίζει την  $EC_{50}$  ως % ποσοστό του test solution. Δηλαδή, την % συγκέντρωση του test solution που προκαλεί την θανάτωση του μισού πληθυσμού των βακτηρίων. Παρακάτω δίνεται ενδεικτικά ένα διάγραμμα (Διάγραμμα 6) από την εκτίμηση της τοξικότητας στο αφέψημα «βιολογικό δεντρολίβανο – θυμάρι» όπου απεικονίζονται οι απορροφήσεις για κάθε αραιώση του δείγματος (1 – 7) στα 5 λεπτά (τετράγωνα) και τα 15 λεπτά (τρίγωνα).



**Διάγραμμα 6.** Καμπύλη τοξικότητας για το αφέψημα «βιολογικό δεντρολίβανο – θυμάρι».

Επίσης δίνεται ενδεικτικά και η εξίσωση της παραπάνω καμπύλης :

- Στα 5' :  $\text{LOG C} = 0,4509 \times \text{LOG G} + 1,437$
- Στα 15' :  $\text{LOG C} = 0,3681 \times \text{LOG G} + 1,427$

Παρακάτω ακολουθεί ο Πίνακας 3.25 όπου καταγράφονται οι μέσες συγκεντρώσεις του κάθε αφεψήματος για την  $\text{EC}_{50}$  εκφρασμένες σε  $\mu\text{g/mL}$  στα 5 και 15 λεπτά μέτρησης.

**Πίνακας 3.25.** Μέσος όρος συγκεντρώσεων φυτικού υλικού σε αφέψημα που προκαλεί την θανάτωση του μισού πληθυσμού των βακτηρίων ( $\text{EC}_{50}$ ).

<b>Δείγμα</b>	<b>Μ. όρος συγκέντρωσης (μg/mL) στα 5'</b>	<b>Μ. όρος συγκέντρωσης (μg/mL) στα 15'</b>
<b>Δεντρολίβανο – θυμάρι βιολογικής καλλιέργειας</b>	465 ± 39	459 ± 31
<b>Δεντρολίβανο – θυμάρι</b>	420 ± 120	413 ± 169
<b>Κανέλα – γαρύφαλλο</b>	205 ± 26	200 ± 5
<b>Φασκόμηλο – λουίζα</b>	1.780 ± 533	1.520 ± 523
<b>Μέλι – πορτοκάλι</b>	380 ± 63	370 ± 7
<b>Μαύρο τσάι – λεμόνι – δυόσμος</b>	1.038 ± 59	1.080 ± 99
<b>Πράσινο τσάι – πιπερόριζα – γλυκόριζα</b>	1.090 ± 70	860 ± 99
<b>Κρόκος</b>	69	73
<b>Πράσινο τσάι</b>	1.650 ± 686	1.381 ± 1.005
<b>Μαύρο τσάι</b>	1.340 ± 194	1.054 ± 198
<b>Λουίζα</b>	830 ± 522	1.000 ± 669
<b>Γλυκάνισο</b>	580 ± 71	360 ± 75
<b>Δυόσμος</b>	850 ± 74	890 ± 115
<b>Φασκόμηλο</b>	300 ± 2	270 ± 8

#### **4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

#### **4.1 Ποσοτικός προσδιορισμός φαινολικών και αντιοξειδωτική δράση των αφεψημάτων.**

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών στα δείγματα των αφεψημάτων Krocus Kozanis Products έγινε αρχικά μια πρότυπη καμπύλη αναφοράς με γαλλικό οξύ σε διάφορες συγκεντρώσεις. Έχοντας ως πρότυπο την καμπύλη αυτή έγιναν οι κατάλληλοι υπολογισμοί για τον ποσοτικό προσδιορισμό των φαινολικών. Όμως επειδή η πρότυπη καμπύλη είναι φτιαγμένη σύμφωνα με την συμπεριφορά του γαλλικού οξέος όλα τα αποτελέσματα των δειγμάτων είναι εκφρασμένα σε mg γαλλικού οξέος. Γενικά όμως ελάχιστες διαφορές παρατηρούνται στην συμπεριφορά των φαινολικών όσο αφορά την τεχνική FOLIN και άρα μπορούμε να μιλάμε γενικά για το σύνολο των φαινολικών στα δείγματά μας.

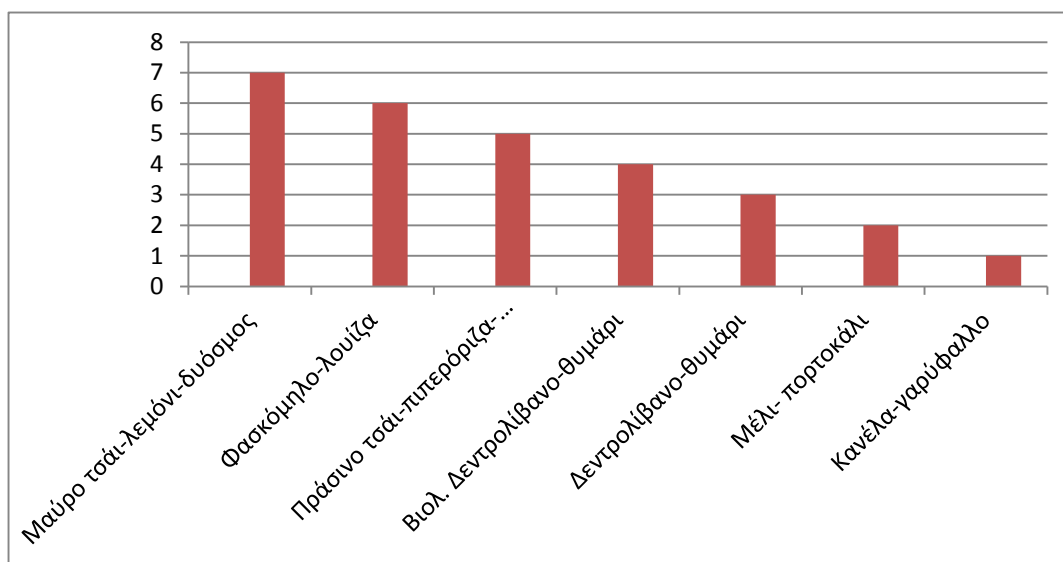
Από τα μίγματα των αφεψημάτων μεγαλύτερη ποσότητα φαινολικών συστατικών έχει το «Μαύρο τσάι-λεμόνι-δυόσμος» με 62 mg GA/g φυτικού υλικού ενώ μικρότερη ποσότητα φαινολικών έχει το «Κανέλα-γαρύφαλλο» με 27 mg GA/g φυτικού υλικού (Πίνακας 3.4). Αξιοσημείωτη είναι η διαφορά του «Βιολογικού δεντρολίβανο-θυμάρι» με το «Δεντρολίβανο-θυμάρι» συμβατικής καλλιέργειας (39 mg GA/g φυτικού υλικού). Αυτό πιθανόν συμβαίνει στο γεγονός ότι στην βιολογική καλλιέργεια στα φυτά δεν χορηγείται λίπασμα και δεν γίνονται ψεκασμοί για ζιζάνια και έντομα ή άλλους εχθρούς οπότε το φυτό αναπτύσσει περισσότερο τον αμυντικό μηχανισμό. Έτσι, αυτά τα φυτά έχουν μεγαλύτερες ποσότητες φαινολικών από τα φυτά που καλλιεργούνται συμβατικά αφού τα φαινολικά συστατικά ως δευτερογενείς μεταβολίτες συμμετέχουν στην άμυνα του φυτού.

Από τα σκέτα φυτά που μελετήθηκαν μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών έχει η ρίγανη με 85 mg GA/g φυτικού υλικού και το θυμάρι με 60 mg GA/g φυτικού υλικού ενώ χαμηλότερη συγκέντρωση έχει το δεντρολίβανο με 10 mg GA/g φυτικού υλικού. Ενώ το δεντρολίβανο έχει πολλά φαινολικά συστατικά με χαρακτηριστικό το ροσμαρινικό οξύ που έχει πολλή καλή αντιοξειδωτική δράση στο πείραμά μας έδωσε χαμηλές τιμές. Αυτό συνέβη λόγω της προετοιμασίας του πειράματος αφού κάθε δείγμα έπρεπε να μείνει στο νερό για πέντε λεπτά ώστε να δημιουργηθεί το αφέψημα όπως δημιουργείται από τον καταναλωτή. Όμως αυτό το χρονικό διάστημα είναι πολύ μικρό για να περάσουν τα φαινολικά συστατικά από το δεντρολίβανο στο νερό με αποτέλεσμα να ληφθούν χαμηλές μετρήσεις. Άρα το δεντρολίβανο ως αφέψημα δεν δίνει ικανοποιητικά τις δραστικές ουσίες που επιθυμεί ο καταναλωτής να παραλάβει

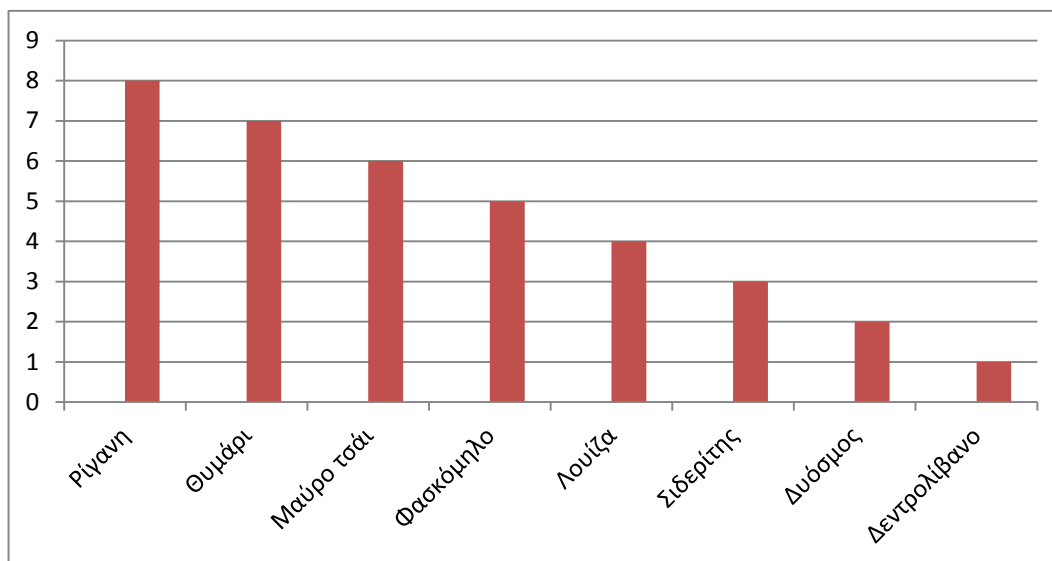


από το αφέψημά του. Άρα λοιπόν το αφέψημα «Δεντρολίβανο-θυμάρι» βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας πιθανόν οφείλει την συγκέντρωση φαινολικών κυρίως στο θυμάρι και την ρίγανη (φυτό βάσης). Στα Διαγράμματα 6 και 7 φαίνεται η κατάταξη των μιγμάτων των αφεψημάτων όσο αφορά την ποσότητα των φαινολικών και των μεμονωμένων φυτών αντίστοιχα.

Συγκρίνοντας το μαύρο τσάι με τον σιδερίτη ή αλλιώς τσάι του βουνού φαίνεται πως ο σιδερίτης έχει μεγαλύτερη ποσότητα φαινολικών συστατικών (Πίνακας 3.4) από το μαύρο τσάι όπως το ίδιο συμβαίνει και με το φασκόμηλο. Παρόλ' αυτά στο μίγμα το μαύρο τσάι σε συνεργασία με τον δυόσμο και το λεμόνι παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη ποσότητα σε φαινολικά από τα μίγματα όπως αναφέρθηκε και παραπάνω.

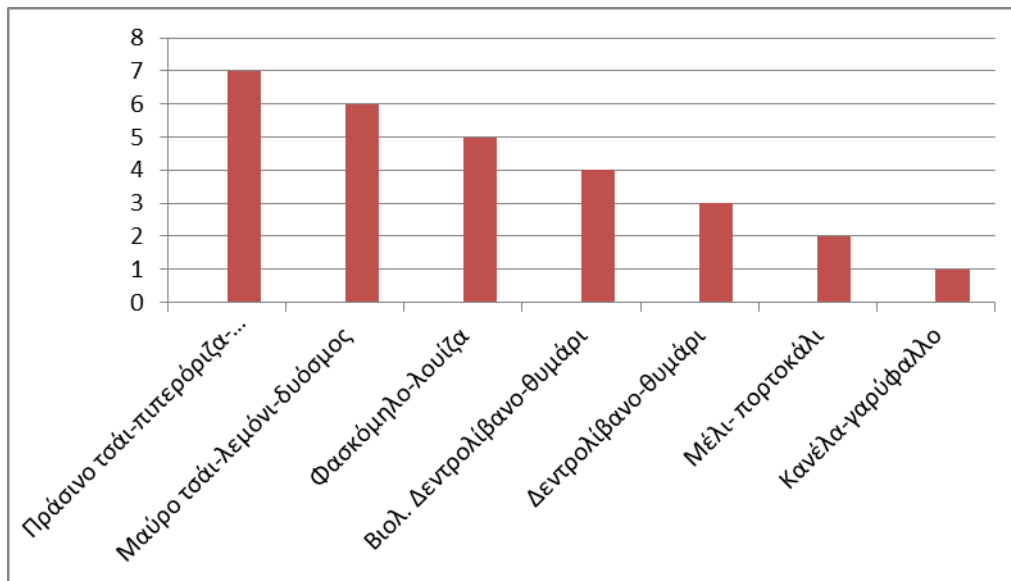


**Διάγραμμα 6.** Κατάταξη των μιγμάτων των αφεψημάτων ανάλογα με την ποσότητα των φαινολικών συστατικών που περιέχουν.

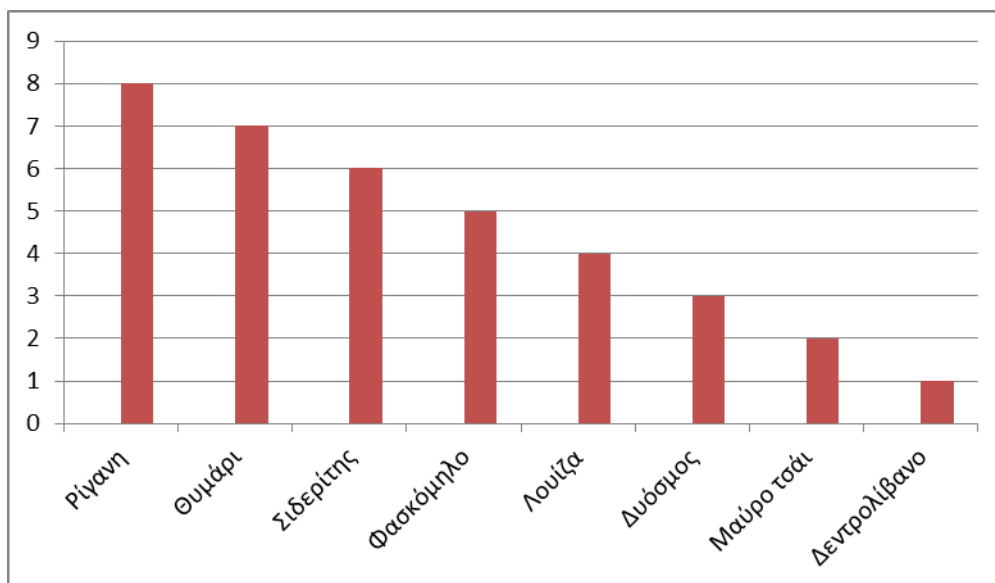


**Διάγραμμα 7.** Κατάταξη των μεμονωμένων φυτών ανάλογα με την ποσότητα των φαινολικών συστατικών που περιέχουν.

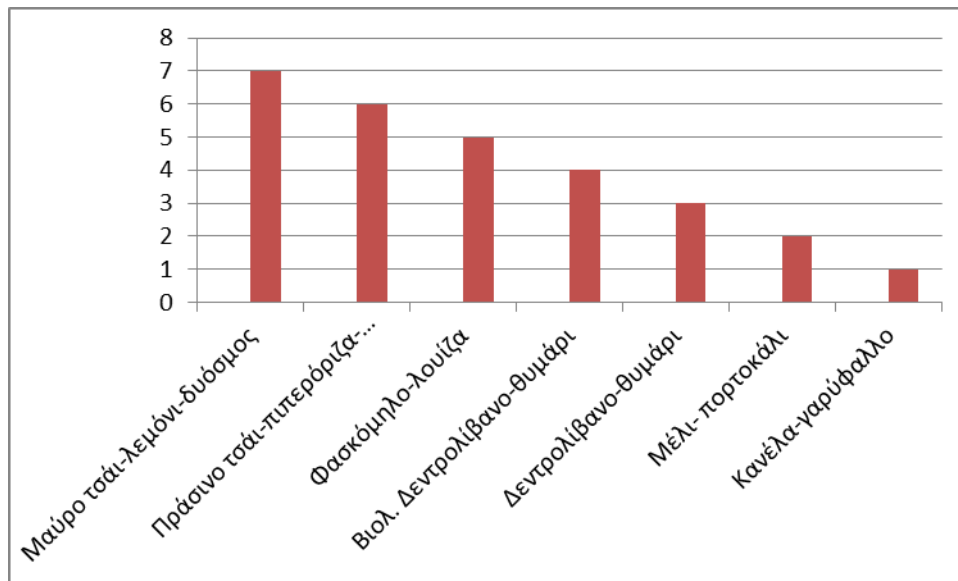
Όπως αναφέρθηκε και στην εισαγωγή της συγκεκριμένης εργασίας τα φαινολικά συστατικά συνδέονται με την αντιοξειδωτική δράση αφού εντοπίζουν τις ελεύθερες ρίζες και τις μετατρέπουν σε ουδέτερα μόρια. Άρα λοιπόν αναμένεται πως όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση των φαινολικών σε ένα δείγμα τόσο μεγαλύτερη θα είναι και η αντιοξειδωτική του ικανότητα. Πράγματι, μελετώντας τους Πίνακες 3.5 και 3.6 όπου παρουσιάζεται η ποσότητα του αντιοξειδωτικού που συμβάλλει στην εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών η παραπάνω υπόθεση επαληθεύεται. Από τα μίγματα των αφεψημάτων μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα έχουν τα «Πράσινο τσάι-πιπερόριζα-γλυκόριζα» και «Μαύρο τσάι-λεμόνι-δυόσμος» ενώ το «Κανέλα-γαρύφαλλο» έχει τη μικρότερη ποσότητα αντιοξειδωτικού που έχει αντιδράσει με την ελεύθερη ρίζα. Το ίδιο συμβαίνει και με τα σκέτα αφεψήματα όπου η ρίγανη και το θυμάρι έχουν μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση ενώ το δεντρολίβανο τη μικρότερη. Τα Διαγράμματα 4 και 5 παρουσιάζουν τη γραμμική συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ φαινολικών συστατικών και αντιοξειδωτικής δράσης. Στα Διαγράμματα 8 και 9 φαίνεται η κατάταξη της αντιοξειδωτικής δράσης των μιγμάτων των αφεψημάτων και των μεμονωμένων φυτών που μελετήθηκε με την μέθοδο DPPH ενώ στα Διαγράμματα 10 και 11 παρουσιάζεται η αντίστοιχη κατάταξη που μελετήθηκε με την μέθοδο ABTS.



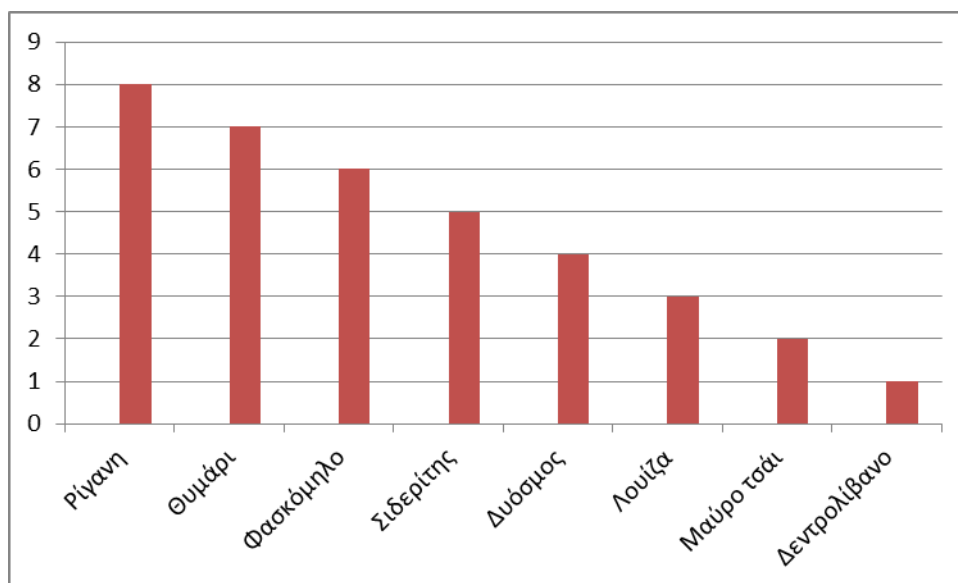
**Διάγραμμα 8.** Κατάταξη των μιγμάτων των αφεψημάτων ανάλογα με την αντιοξειδωτική τους δράση (DPPH).



**Διάγραμμα 9.** Κατάταξη των μεμονωμένων φυτών ανάλογα με την αντιοξειδωτική τους δράση (DPPH).



**Διάγραμμα 10.** Κατάταξη των μιγμάτων των αφεψημάτων ανάλογα με την αντιοξειδωτική τους δράση (ABTS).



**Διάγραμμα 11.** Κατάταξη των μεμονωμένων φυτών ανάλογα με την αντιοξειδωτική τους δράση (ABTS).

Κάτι που πρέπει να σημειωθεί είναι πως ενώ το μαύρο τσάι παρουσιάζει μικρότερη αντιοξειδωτική ικανότητα όταν είναι μεμονωμένο ενώ σαν μίγμα (όταν προστίθενται ο δυόσμος και το λεμόνι) έχει την καλύτερη δράση από όλα τα μίγματα. Αυτό συμβαίνει γιατί σύμφωνα με τους Büyükbacı και El (2008) η προσθήκη του λεμονιού έχει συνεργιστική δράση στην ολική αντιοξειδωτική δράση του αφεψηματος. Οι ίδιοι αναφέρουν επίσης πως το θυμάρι έχει καλύτερη αντιοξειδωτική

ικανότητα από το φασκόμηλο μέσω της μεθόδου DPPH. Γενικά ωστόσο, στην βιβλιογραφία δεν υπάρχουν δεδομένα για την αντιοξειδωτική ικανότητα μιγμάτων αφεψημάτων όπως μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη.

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως ενώ και οι δύο μέθοδοι (ABTS, DPPH) βασίζονται στην μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας, ποιοτικά λαμβάνονται τα ίδια αποτελέσματα, όμως ποσοτικά διαφέρουν. Για παράδειγμα ενώ το «Κανέλα-γαρύφαλλο» παρουσιάζει τη μικρότερη αντιοξειδωτική δράση από όλα τα μίγματα και στις δύο τεχνικές, ωστόσο στην περίπτωση του DPPH 580  $\mu\text{mol Trolox}$  συμμετέχουν στην εξουδετέρωση των ριζών είναι ενώ στην περίπτωση του ABTS 1110  $\mu\text{mol Trolox}$ . Επιπλέον παρατηρούνται μεγάλες τυπικές αποκλίσεις σε αρκετά από τα αποτελέσματα των αφεψημάτων στην τεχνική ABTS. Τα παραπάνω συμβαίνουν λόγω του διαφορετικού μηχανισμού εξουδετέρωσης των ριζών ABTS και DPPH. Στην περίπτωση του ABTS το φαινολικό συστατικό «δίνει» ένα υδρογόνο στο μόριο και το μετατρέπει σε ουδέτερο. Το DPPH από την άλλη πλευρά «παγιδεύει» το φαινολικό και ενώνεται με αυτό. Ένας άλλος λόγος είναι το διαφορετικό μήκος κύματος όπου γίνονται οι μετρήσεις της απορρόφησης αλλά και οι διαφορετικοί χρόνοι αναμονής για την εξουδετέρωση των ριζών (6 λεπτά στο ABTS και 30 λεπτά στο DPPH) [89].

Εξετάζοντας από την σκοπιά του καταναλωτή, τα αφεψήματα «Μαύρο τσάι-λεμόνι-δύοσμος», «Πράσινο τσάι-πιπερόριζα-γλυκόριζα», «Φασκόμηλο-λουίζα» και «Δεντρολίβανο-θυμάρι» βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας παρουσιάζουν πολύ καλή αντιοξειδωτική ικανότητα λόγω της μεγάλης συγκέντρωσης φαινολικών συστατικών. Έτσι, πολύ πιθανό να είναι μέσα στις προτιμήσεις του κοινού που ενδιαφέρεται και φροντίζει την διατροφή και την υγεία του. Ωστόσο, όπως αναφέρθηκε και στην εισαγωγή της παρούσας εργασίας θα πρέπει να ερευνηθεί καλύτερα πως μεταβολίζονται τα αφεψήματα στον οργανισμό και τι είναι αυτό που τελικά αφομοιώνεται και χρησιμοποιείται προς όφελός του.

## 4.2 Μελέτη φασμάτων FT-IR με την τεχνική ATR.

Τα φάσματα ATR αποτελούνται από μεγάλες και πλατιές κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν στα σάκχαρα του υδατικού αφεψήματος. Στην πλειοψηφία τους τα φάσματα παρουσιάζουν ομοιότητες μεταξύ των μιγμάτων αλλά και των σκέτων αφεψημάτων. Οι κορυφές στα  $1.616$  και  $1.517 \text{ cm}^{-1}$  ανήκουν σε συστατικά πολυφαινολών. Ωστόσο, σε κάθε φάσμα η κορυφή στα  $1.517 \text{ cm}^{-1}$  διαφέρει στο εμβαδόν. Το γεγονός αυτό δείχνει πως από το εμβαδόν αυτής της κορυφής μπορούμε να βγάλουμε συμπεράσματα για την ποσότητα φαινολικών συστατικών στο κάθε αφέψημα καθώς και να υπολογίσουμε την ποσότητα αυτή. Στο φάσμα του δεντρολίβανου λόγω της μη καλής ανάκτησης των φαινολικών στο αφέψημα η κορυφή είναι πολύ μικρή κάτι που δεν αντικατοπτρίζει την πραγματικότητα καθώς το δεντρολίβανο περιέχει μεγαλύτερη ποσότητα ροσμαρινικού οξέος.

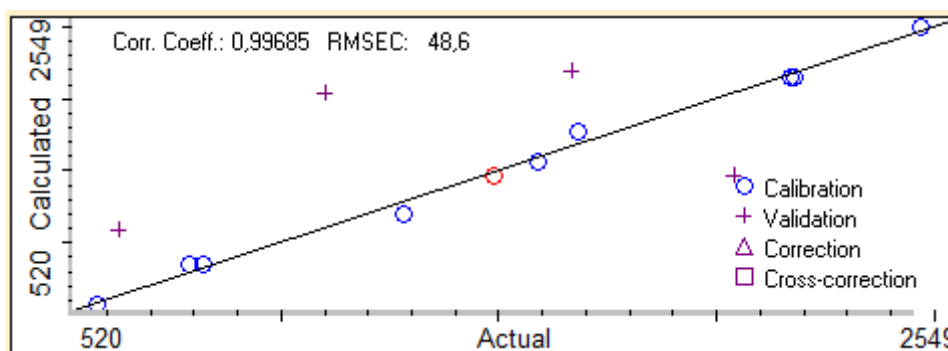
Άλλη χαρακτηριστική κορυφή είναι στα  $1.735 \text{ cm}^{-1}$  στο φάσμα του «Κανέλα-γαρύφαλλο» που πιθανόν προέρχεται από τις πηκτίνες του φλοιού του πορτοκαλιού που περιέχεται στο μίγμα του αφεψήματος όπως αναφέρεται και στην μελέτη των Yu και Sun (2013).

## 4.3 Συσχέτιση αντιοξειδωτικής δράσης με τα υπέρυθρα φάσματα FT-IR με την τεχνική ATR.

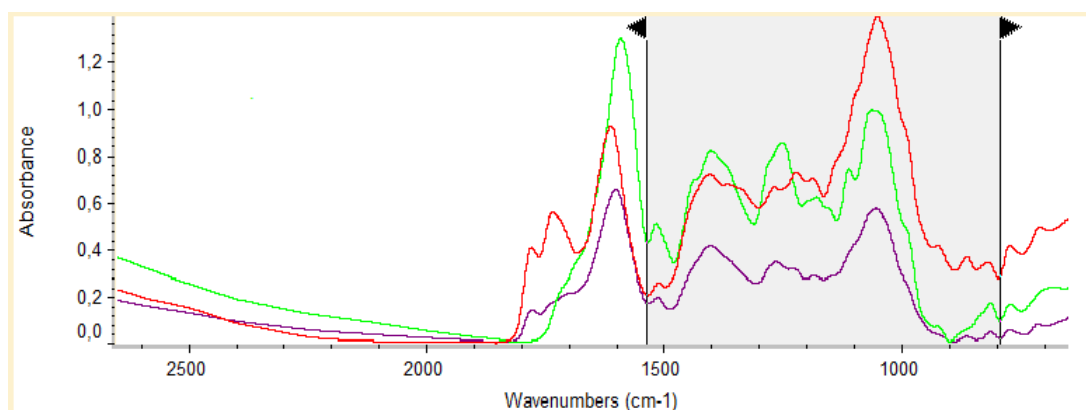
Επειδή, όπως έχει αναφερθεί, υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της ποσότητας των φαινολικών σε ένα δείγμα και της αντιοξειδωτικής δράσης έγινε προσπάθεια συσχέτισης της αντιοξειδωτικής δράσης των αφεψημάτων (μιγμάτων και σκέτων) και των αντίστοιχων φασμάτων ATR που απεικονίζουν την ύπαρξη των φαινολικών. Η ανάλυση έγινε με το πρόγραμμα Turbo Quality (TQ) Analyst 8.0.0.245 και μετά από διάφορους συνδυασμούς και προσπάθειες τα καλύτερα αποτελέσματα πάρθηκαν στην περιοχή  $1540 - 800 \text{ cm}^{-1}$  των φασμάτων ATR (Εικόνα 52) για τα αποτελέσματα που πάρθηκαν μέσω της μεθόδου DPPH και στην περιοχή  $1.300 - 800 \text{ cm}^{-1}$  (Εικόνα 54) για τα αποτελέσματα που πάρθηκαν μέσω της μεθόδου ABTS. Οι περιοχές αυτές αντιστοιχούν στην περιοχή όπου απορροφούν τα φαινολικά συστατικά. Επιπλέον, για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων της αντιοξειδωτικής δράσης το λογισμικό χρησιμοποίησε έξι παράγοντες και για τις δύο μεθόδους (DPPH, ABTS). Παράγοντας

ονομάζεται η κάθε μεταβλητή που λαμβάνει υπόψη το λογισμικό TQ Analyst ώστε να εξάγει τα συμπεράσματα μέσω των μετρήσεων που έχουν καταχωρηθεί.

Στην Εικόνα 51 και 53 φαίνεται η γραμμική συσχέτιση αυτή χρησιμοποιώντας τις μεθόδους DPPH και ABTS αντίστοιχα. Στον οριζόντιο άξονα παρουσιάζονται οι τιμές που έχουμε μετρήσει μέσω των πειραμάτων της αντιοξειδωτικής δράσης, ενώ στον κάθετο άξονα βρίσκονται οι τιμές που έχει υπολογίσει το λογισμικό ώστε να επιτευχθεί η καλύτερη δυνατή γραμμικότητα της καμπύλης. Η καμπύλη εκφράζει την σχέση μεταξύ της αντιοξειδωτικής δράσης και των φασμάτων ATR. Στο διάγραμμα παρουσιάζεται επίσης και μία μεταβλητή, το Root-Mean-Square-Error Calibration (RMSEC). Το RMSEC εκφράζει τις αποκλίσεις (σφάλματα) των μετρήσεων από την καμπύλη. Όσο μικρότερο είναι το RMSEC τόσο καλύτερη συσχέτιση υπάρχει. Το RMSEC για την μέθοδο DPPH είναι 48,6 και το RMSEC για την μέθοδο ABTS είναι 28,3.



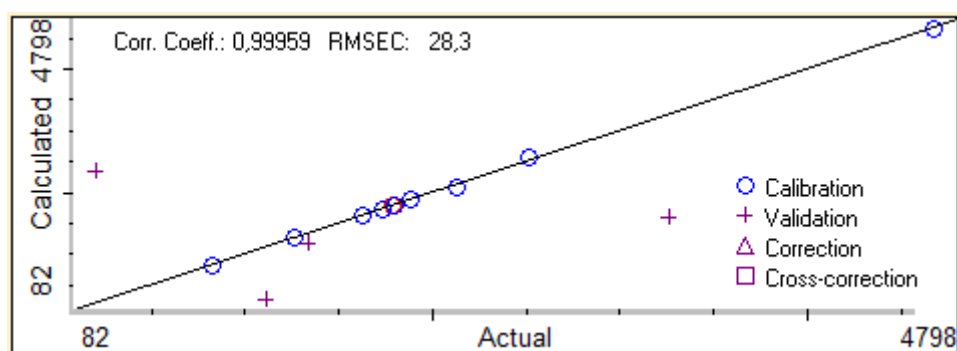
**Εικόνα 51.** Συσχέτιση της αντιοξειδωτικής δράσης (DPPH) των αφεψημάτων (μιγμάτων και σκέτων) και των αντίστοιχων φασμάτων ATR.



**Εικόνα 52.** Περιοχή φάσματος ( $1.540-800\text{ cm}^{-1}$ ) στην οποία πάρθηκε η καλύτερη καμπύλη με την χρήση αποτελεσμάτων της μεθόδου DPPH. Διακρίνονται οι διαφορές μεταξύ των φασμάτων του κάθε αφεψηματος.

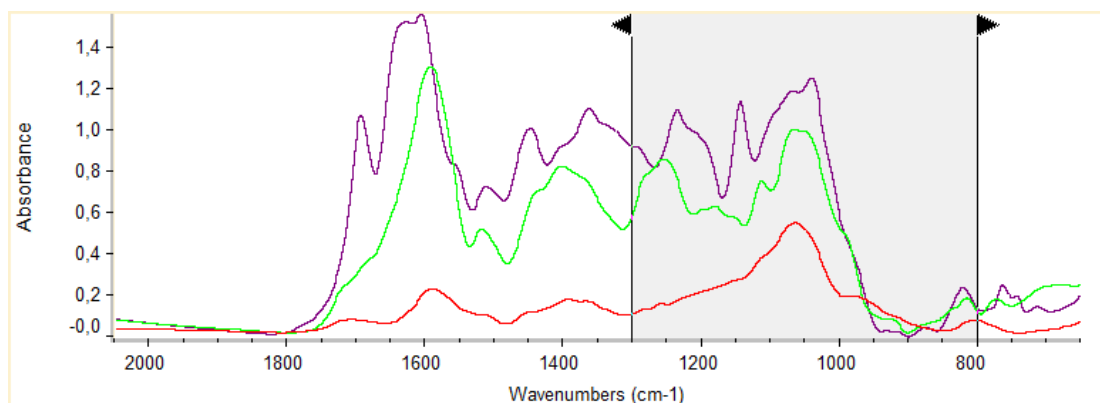
**Πίνακας 4.1.** Καταγραφή των τιμών που πάρθηκαν από τα πειράματα της αντιοξειδωτικής δράσης με την μέθοδο DPPH και των τιμών που είναι υπολογισμένες από το λογισμικό του TQ Analyst.

Δείγμα	Πραγματική-πειραματική τιμή (μmol Trolox/ml)	Υπολογισμένη τιμή από το λογισμικό (μmol Trolox/ml)
Βιολογικό δεντρολίβανο-θυμάρι	1490	1465,7
Δεντρολίβανο-θυμάρι	1280	1194
Κανέλα-γαρύφαλλο	580	571
Φασκόμηλο-λουίζα	1670	2188
Μέλι-πορτοκάλι	790	842,2
Πράσινο τσάι-πιπερόριζα-γλυκόριζα	2170	2144,6
Μαύρο τσάι-λεμόνι-δύσμος	2040	1460,9
Δύσμος	1100	2041,3
Θυμάρι	2180	1194
Φασκόμηλο	1680	1775,8
Δεντρολίβανο	630	1089
Λουίζα	1590	1567
Μαύρο τσάι	820	844,6
Ρίγανη	2180	2146



**Εικόνα 53.** Συσχέτιση της αντιοξειδωτικής δράσης (ABTS) των αφεψημάτων (μιγμάτων και σκέτων) και των αντίστοιχων φασμάτων ATR.





**Εικόνα 54.** Περιοχή φάσματος ( $1.300-800\text{ cm}^{-1}$ ) στην οποία πάρθηκε η καλύτερη καμπύλη με την χρήση αποτελεσμάτων της μεθόδου ABTS. Διακρίνονται οι διαφορές μεταξύ των φασμάτων του κάθε αφειγήματος.

**Πίνακας 4.2.** Καταγραφή των τιμών που πάρθηκαν από τα πειράματα της αντιοξειδωτικής δράσης με την μέθοδο ABTS και των τιμών που είναι υπολογισμένες από το λογισμικό του TQ Analyst.

Δείγμα	Πραγματική-πειραματική τιμή ( $\mu\text{mol Trolox/ml}$ )	Υπολογισμένη τιμή από το λογισμικό ( $\mu\text{mol Trolox/ml}$ )
Βιολογικό δεντρολίβανο-θυμάρι	1790	1790,08
Δεντρολίβανο-θυμάρι	1630	1639,45
Κανέλα-γαρύφαλλο	1110	273,73
Φασκόμηλο-λουίζα	1880	1889,73
Μέλι-πορτοκάλι	1340	1167,89
Πράσινο τσάι-πιπερόριζα-γλυκόριζα	1730	1720,78
Μαύρο τσάι-λεμόνι-δυόσμος	3260	1610
Δυόσμος	2130	2070
Θυμάρι	200	2350,07
Φασκόμηλο	2510	2569,99
Δεντρολίβανο	820	808,50
Λουίζα	1800	1799,55
Μαύρο τσάι	1260	1265,03
Ρίγανη	4680	4666,02

Τα παραπάνω διαγράμματα δείχνουν ότι μέσω της τεχνικής ATR και των αντίστοιχων φασμάτων μπορεί να μετρηθεί όπως και να γίνει σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας μεταξύ δύο ή και περισσότερων δειγμάτων παρατηρώντας το ύψος των κορυφών.

#### 4.4 Μελέτη πτητικών συστατικών του αρωματικού προφίλ των αφεψημάτων.

Για την μελέτη του αρωματικού προφίλ των μιγμάτων των αφεψημάτων της εταιρίας Krocus Kozanis Products πραγματοποιήθηκε ταυτόχρονη υδροαπόσταξη και εκχύλιση με οργανικό διαλύτη με τη συσκευή Likens-Nickerson αλλά και υδροαπόσταξη με την συσκευή Clevenger. Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν με την βοήθεια του Αέριου Χρωματογράφου Μάζας (GC-MS) μελετήθηκαν με σκοπό να διερευνηθεί η σύσταση του αρώματος των φυτών που περιέχονται στο φακελάκι του κάθε αφεψήματος λαμβάνοντας υπόψιν τη σύσταση των φυτών όπως αναγράφεται στο κουτί του προϊόντος.

Με μια πρώτη ματιά στα χρωματογραφήματα και τους πίνακες φαίνεται πως η τεχνική της υδροαπόσταξης είναι πιο αποτελεσματική και δίνει πιο πλούσιο σε συστατικά αιθέριο έλαιο σε σχέση με την απόσταξη που έγινε με την συσκευή Likens-Nickerson. Μελετώντας τους πίνακες και από τις δύο αποστάξεις παρατηρείται πως και στις δύο τεχνικές προκύπτουν τα ίδια συστατικά που εκλύονται στους ίδιους χρόνους (υπάρχουν μόνο διαφορές κλασμάτων δευτερολέπτου). Η μόνη διαφορά είναι στην υδροαπόσταξη όπου, λόγω της μεγαλύτερης ποσότητας αλλά και της ίδιας της τεχνικής, παραλαμβάνονται περισσότερα συστατικά. Παρόλ' αυτά το άρωμα που πιθανόν αντιλαμβάνεται περισσότερο ο καταναλωτής αντικατοπτρίζεται στα χρωματογραφήματα της ταυτόχρονης απόσταξη με εκχύλιση σε οργανικό διαλύτη (Likens-Nickerson) γιατί η ποσότητα που έχει αναλυθεί είναι συγκρίσιμη με την ποσότητα που βρίσκεται στο ένα φακελάκι. Άρα τα πτητικά συστατικά που φθάνουν στην μύτη του καταναλωτή είναι αυτά που παρουσιάζονται στους Πίνακες 3.7 μέχρι 3.13.

Παρόλ' αυτά για την διεξαγωγή των συμπερασμάτων της σύστασης των αφεψημάτων θα γίνει αναφορά στα χρωματογραφήματα της υδροαπόσταξης με σκοπό να αναλυθεί καλύτερα η σύσταση για κάθε φακελάκι. Σε όλα τα αιθέρια έλαια των αφεψημάτων ταυτοποιήθηκε η σαφρανάλη και σε λιγότερα η ισοφορόνη επιβεβαιώνοντας έτσι την παρουσία κρόκου στα φακελάκια. Το % ποσοστό της σαφρανάλης δεν είναι σταθερό σε κάθε αφέψημα επειδή η ποσότητα αιθερίου ελαίου μεταβάλλεται από αφέψημα σε αφέψημα. Στο «Μαύρο τσάι – λεμόνι – δυόσμος» υπάρχει το μεγαλύτερο ποσοστό του 6% και αυτό ίσως συμβαίνει επειδή το μαύρο τσάι παρουσιάζει πολύ φτωχό αρωματικό προφίλ οπότε το % ποσοστό της σαφρανάλης αυξάνεται.

Τα αφεψήματα «Δεντρολίβανο – θυμάρι» βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας παρουσιάζουν παρόμοιο προφίλ με διαφορές στην πουλεγόνη, τον οξικό γερανυλεστέρα και το ζιγκκιμπερένιο που δεν απαντώνται στο βιολογικό αφέψημα. (Πίνακας 3.14 και 3.15 ) Παρόλ' αυτά τα συστατικά που προέρχονται από τα κύρια φυτά του δεντρολίβανου και του θυμαριού είναι περισσότερα αριθμητικά σε σχέση με τα συστατικά των φυτών που αποτελούν την βάση (δευτερεύοντα φυτά) του αφεψήματος. Ιδιαίτερα για τα πτητικά που προέρχονται από το δεντρολίβανο έγινε επιβεβαίωση αποστάζοντας σκέτο δεντρολίβανο (Πίνακας 3.22). Η κύρια κορυφή με ποσοστό 36,3 % στο βιολογικό και 42,1 % στο συμβατικό είναι η θυμόλη από το θυμάρι η οποία εκλούεται μαζί με την ανηθόλη του γλυκάνισου και του μάραθου ενώ σημαντικό ποσοστό καταλαμβάνει και η καρβόνη (26,8 % και 15,6 % αντίστοιχα) από τον δυόσμο που συμμετέχει στη βάση του αφεψήματος. Τα συστατικά του θυμαριού υπερισχύουν σε ποσοστό σε σχέση με αυτά του δεντρολίβανου ( $\leq 1\%$ ) τα οποία ωστόσο φαίνεται να είναι περισσότερα από αυτά του θυμαριού. Επειδή στη συγκεκριμένη βάση του αφεψήματος χρησιμοποιήθηκε και ρίγανη έγινε ταυτοποίηση των συστατικών σκέτης ρίγανης για να επιβεβαιωθεί και να δικαιολογηθεί η παρουσία κάποιων συστατικών που προέρχονται από αυτό το φυτό.

Στο αφέψημα «Κανέλα – γαρύφαλλο» ταυτοποιήθηκαν 12 πτητικά συστατικά (Πίνακας 3.16) με ποσοστό  $>0,1\%$  εκ των οποίων τα μισά ανήκουν στα κύρια φυτά. Οι κορυφές της ισοευγενόλης και της κινναμαλδεϋδης-E ξεχωρίζουν με ποσοστό 16,3% και 16 % αντίστοιχα δηλώνοντας ξεκάθαρα την παρουσία της κανέλας και του γαρύφαλλου δικαιολογώντας έτσι την έντονη μυρωδιά κανέλας στο αφέψημα. Και στο αφέψημα «Μέλι – πορτοκάλι» ταυτοποιήθηκαν 12 συστατικά όπως φαίνονται στον Πίνακα 3.18. Από αυτά τα συστατικά η νεράλη, γερανιάλη και ο οξικός εστέρας της λιναλοόλης συναντώνται όχι μόνο στο πορτοκάλι που είναι το κύριο φυτό αλλά και στο λεμόνι και το τριαντάφυλλο που αποτελούν την βάση του αφεψήματος. Κύρια κορυφή με ποσοστό 15,8 % αποτελεί η γερανιάλη ενώ η λιναλοόλη που προέρχεται από τα φύλλα του πορτοκαλιού αλλά και το φλοιό λεμονιού έπεται με 12,7 %. Εδώ στο συγκεκριμένο αφέψημα και με τις συγκεκριμένες τεχνικές φαίνεται ότι το μέλι δεν συμμετέχει στο αρωματικό προφίλ.

Στο αφέψημα «Φασκόμηλο – λουίζα» τα πτητικά συστατικά που προέρχονται από τα δύο αυτά φυτά είναι περισσότερα από αυτά της βάσης και συμμετέχουν στο αρωματικό προφίλ με ποσοστά  $\leq 5\%$ . (Πίνακας 3.17) Αξιοσημείωτη είναι η παρουσία της ανηθόλης η οποία προέρχεται από το γλυκάνισο (φυτό βάσης) και

αποτελεί το 44,24 % του συνόλου του αιθέριου ελαίου. Δηλαδή το άρωμα του συγκεκριμένου αφεψήματος οφείλεται κατά μεγάλο ποσοστό στο γλυκάνισο. Επίσης, το φασκόμηλο συμμετέχει περισσότερο στο αρωματικό προφίλ του αφεψήματος σε σχέση με την λουίζα ενώ χαρακτηριστική είναι η παρουσία της θουγιόνης που είναι το βασικό συστατικό του φασκόμηλου όπως φαίνεται και από την απόσταξη του σκέτου φασκόμηλου (Πίνακας 3.23)

Στο αφέψημα «Μαύρο τσάι – λεμόνι – δυόσμος» τα συστατικά από τα φυτά της βάσης είναι περισσότερα. (Πίνακας 3.19) Όπως και στην περίπτωση του αφεψήματος «Μέλι – πορτοκάλι» έτσι και εδώ το μαύρο τσάι δεν συμμετέχει στο αρωματικό προφίλ επειδή δεν έχει πτητικές ενώσεις. Αυτό επιβεβαιώθηκε από την απόσταξη που έγινε με σκέτο μαύρο τσάι όπου το μόνο που παραλάβαμε ήταν το αντιοξειδωτικό του οργανικού διαλύτη δηλαδή το BHT. Ωστόσο, η κύρια κορυφή του χρωματογραφήματος είναι αυτή της καρβόνης με ποσοστό 38,6 % η οποία προέρχεται από τον δυόσμο καθώς και η πουλεγόνη με 8,6 % και ακολουθεί η λιναλοόλη με 8,3 % (φλοιός λεμονιού). Έτσι μπορεί η βάση να δίνει περισσότερα πτητικά συστατικά αλλά τα συστατικά που δίνουν τα κύρια φυτά συμμετέχουν σε μεγαλύτερο ποσοστό στο αρωματικό προφίλ.

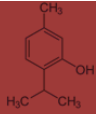
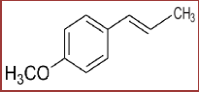
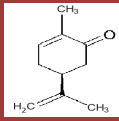
Τέλος, στο αφέψημα «Πράσινο τσάι – πιπερόριζα – γλυκόριζα» η βάση και πάλι δίνει περισσότερα πτητικά συστατικά όπως στην περίπτωση του μαύρου τσαγιού παραπάνω (Πίνακας 3.20). Κύρια κορυφή είναι το κουρκουμένιο από την πιπερόριζα με ποσοστό 14 % και έπεται η καρβόνη του δυόσμου (φυτό βάσης) με 13,9 %. Από τα κύρια φυτά η πιπερόριζα δίνει τα περισσότερα πτητικά συστατικά ενώ η γλυκόριζα συμμετέχει με την ανηθόλη σε ποσοστό 2,1 % η οποία είναι κύριο συστατικό του γλυκάνισου και του μάραθου.

Συμπερασματικά, οι κύριες ενώσεις των αρωματικών προφίλ των αφεψημάτων είναι αυτές που προέρχονται από τα κύρια φυτά, εκτός από τις περιπτώσεις με το μαύρο και πράσινο τσάι. Παρόλ' αυτά κάποια συστατικά δεν ήταν δυνατόν να προσδιοριστούν σε όλα τα αφεψήματα λόγω έλλειψης στοιχείων της βιβλιογραφίας, εκτός από το αφέψημα «Φασκόμηλο-λουίζα» όπου προσδιορίστηκαν όλα τα συστατικά.

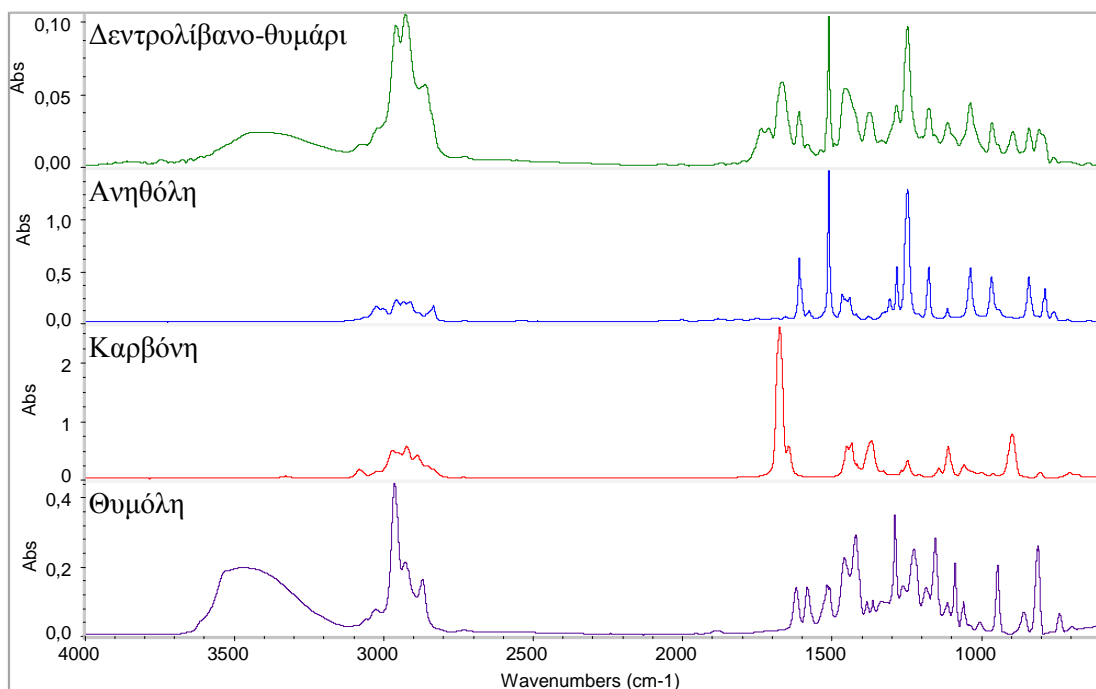
#### 4.5 Μελέτη φασμάτων FT-IR.

Γενικά τα φάσματα FT-IR των μιγμάτων των αφεψημάτων που λήφθηκαν από την ταυτόχρονη εκχύλιση με απόσταξη και από την υδροαπόσταξη παρουσιάζουν ομοιότητες. Πιο συγκεκριμένα το αφέψημα «Δεντρολίβανο-θυμάρι» βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας έχουν το ίδιο φάσμα με μόνη διαφορά την κορυφή που βρίσκεται στα  $1672\text{ cm}^{-1}$  (ψηλότερη στο βιολογικό) και ανήκει στον δεσμό C=O της καρβόνης. Αυτό συμβαίνει διότι στο βιολογικό «Δεντρολίβανο-θυμάρι» το ποσοστό της καρβόνης στο αφέψημα είναι πολύ μεγαλύτερο σε σχέση με το άλλο και για αυτό η κορυφή διακρίνεται περισσότερο. Γενικά όμως τα φάσματα των αφεψημάτων αυτών (18,19,25,26) αποδίδονται κυρίως στην θυμόλη, την ανηθόλη και την καρβόνη που είναι οι κύριες ουσίες στο δείγμα σύμφωνα πάντα και με την ανάλυση των χρωματογραφημάτων (Πίνακας 3.14, 3.15). Στον παρακάτω πίνακα δίνονται οι κορυφές που αντιστοιχούν στο κάθε συστατικό και οι δεσμοί στους οποίους οφείλεται η παρουσία τους.

Πίνακας 4.1 Χαρακτηριστικές απορροφήσεις.

Θυμόλη 		Ανηθόλη 		Καρβόνη 	
$\text{cm}^{-1}$	δεσμοί	$\text{cm}^{-1}$	δεσμοί	$\text{cm}^{-1}$	δεσμοί
3473	$\nu$ O-H	3000-2.800	$\nu$ C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> )	1672	C=O
2925	$\nu$ C-H (CH <sub>3</sub> ) υποκαταστατών	1608	$\delta$ C=C	1448,1372, 1247	$\delta$ C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> )
1510	$\delta$ C-C αρωματικού δακτυλίου	1247, 1175, 1112, 1036	$\nu$ C-O-C	1111	C-CO-C
1112	$\nu$ C-O	964	trans μορφή διπλού δεσμού	895	Τριϋποκατεστημένος διπλός δεσμός

\*  $\nu$  = δονήσεις τάσης  
 $\delta$  = δονήσεις κάμψης



**Εικόνα 52.** Σύγκριση φάσματος FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Δεντρολίβανο-θυμάρι» με τις καθαρές ενώσεις καρβόνη, ανηθόλη, θυμόλη.

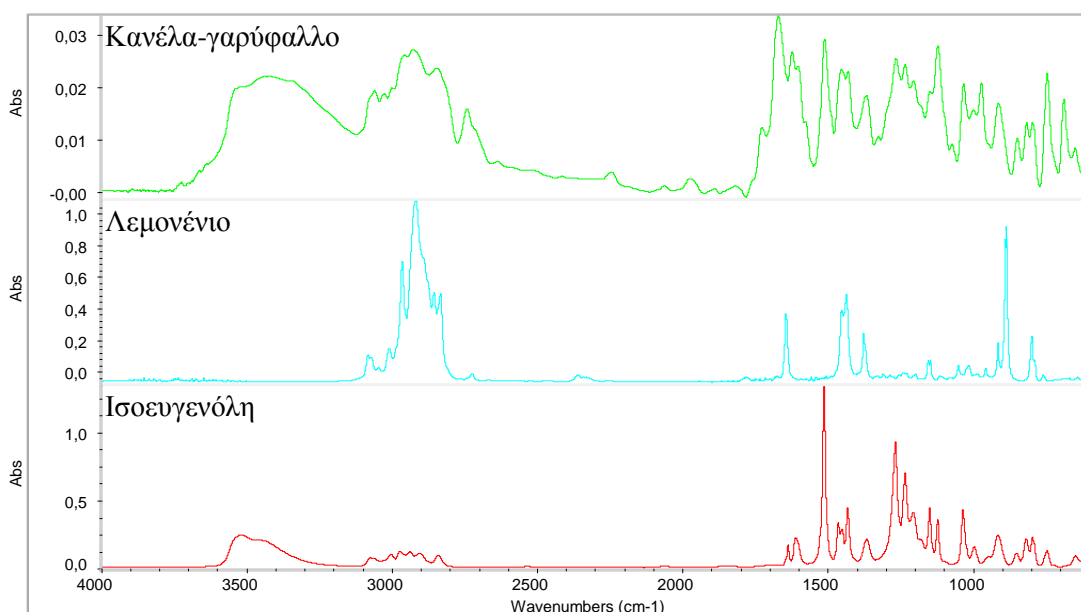
Στην Εικόνα 52 παρουσιάζονται τα φάσματα της καρβόνης, της ανηθόλης και της θυμόλης σε σχέση με το φάσμα του αφεψήματος «Δεντρολίβανο-θυμάρι». Χαρακτηριστικές είναι οι κορυφές  $3.473\text{ cm}^{-1}$  της θυμόλης,  $1.672\text{ cm}^{-1}$  της καρβόνης και  $1.247\text{ cm}^{-1}$  της ανηθόλης που ταιριάζουν με τις αντίστοιχες κορυφές του φάσματος του αφεψήματος.

Στο αφέψημα «Κανέλα-γαρύφαλλο» τα φάσματα και από τις δύο τεχνικές απόσταξης είναι ίδια με την διαφορά ότι στο φάσμα της υδροαπόσταξης λόγω του ότι υπήρχε μεγαλύτερη ποσότητα των πτητικών συστατικών στο αιθέριο, οι κορυφές είναι πιο οξείες και μεγαλύτερες (Εικόνες 20,27). Εδώ κυριαρχούν τα συστατικά της ισοευγενόλης, του λεμονενίου και της Ε-κινναμαλδεΐδης οι κορυφές των οποίων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Στην Εικόνα 53 παρουσιάζονται τα φάσματα του λεμονενίου και της ισοευγενόλης συγκρινόμενα με το φάσμα του αφεψήματος «Κανέλα-γαρύφαλλο». Οι κορυφές που βρίσκονται στην περιοχή  $1.269 - 1.034\text{ cm}^{-1}$  στο φάσμα της ισοευγενόλης και αντιστοιχούν στις αλληλεπιδράσεις των ατόμων C-O και C-O-C παρουσιάζονται ξεκάθαρα και στο φάσμα του αφεψήματος. Χαρακτηριστική είναι και η κορυφή στα  $1667\text{ cm}^{-1}$  που αντιστοιχεί στην Ε-κινναμαλδεΐδη.

Πίνακας 4.2 Χαρακτηριστικές απορροφήσεις.

Ισοευγενόλη		Λεμονένιο	
$\text{cm}^{-1}$	δεσμοί	$\text{cm}^{-1}$	δεσμοί
3432	$\nu$ O-H	3083-3010	$\nu$ C-H ακόρεστα
1514	C=C αρωματικού δακτυλίου	2964-2834	$\nu$ C-H κορεσμένα
1432,1370	$\delta$ C-H ( $\text{CH}_3, \text{CH}_2$ ) εκτός αρωματικού δακτυλίου	1436,1376	$\delta$ $\text{CH}_3, \text{CH}_2$
1269,1235,1207, 1034	$\nu$ C-O-C		
915	trans- μορφή διπλού δεσμού		

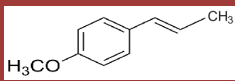



**Εικόνα 53.** Σύγκριση φάσματος FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Κανέλα-γαρύφαλλο» με τις καθαρές ενώσεις λεμονένιο και ισοευγενόλη.

Τα φάσματα FT-IR αιθερίων ελαίων του αφεψήματος «Φασκόμηλο-λουίζα» από τις δύο αποστάξεις είναι και σε αυτή την περίπτωση ίδια (Εικόνες 21,28). Και πάλι η αφθονία των κορυφών είναι μεγαλύτερη στην περίπτωση της υδροαπόσταξης. Επιβεβαιώνοντας την ανάλυση του αντίστοιχου χρωματογραφήματος τα συστατικά

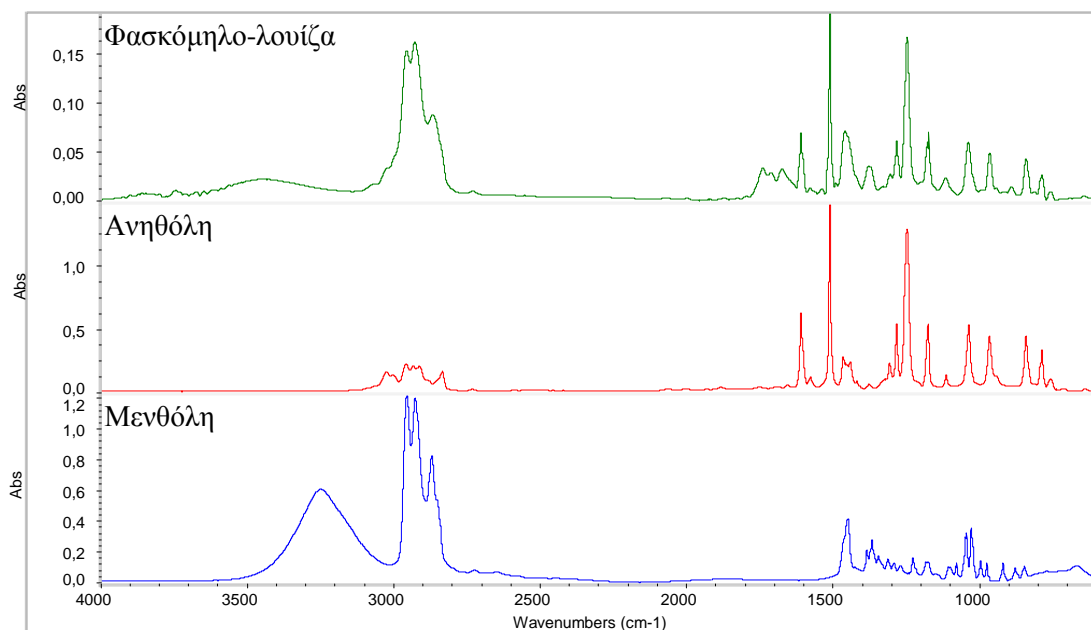
που υπερισχύουν είναι η ανηθόλη και η μενθόλη. Στον Πίνακα 4.3 παρουσιάζονται οι κορυφές που αντιστοιχούν στις δύο αυτές ενώσεις σύμφωνα και με τα πρότυπα φάσματα.

Πίνακας 4.3 Χαρακτηριστικές απορροφήσεις.

Ανηθόλη		Μενθόλη	
			
cm <sup>-1</sup>	δεσμοί	cm <sup>-1</sup>	δεσμοί
3000-2800	ν C-H (CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> )	3433	ν O-H
1514	ν C=C αρωματικού δακτυλίου	2955,2927, 2866	ν C-H (CH <sub>3</sub> - CH <sub>2</sub> )
1247	ν C-O-C	1450	δ C-H (CH <sub>3</sub> - CH <sub>2</sub> )
1235	ν C-O		
964,840	trans μορφή		

Παρακάτω παρουσιάζονται τα φάσματα της ανηθόλης και της μενθόλης σε σχέση με το φάσμα του αφεψήματος «Φασκόμηλο-λουίζα» (Εικόνα 54). Το φάσμα της ανηθόλης έχει ομοιότητες με το φάσμα του αφεψήματος στην περιοχή των αποτυπωμάτων (1400-500 cm<sup>-1</sup>) ενώ το φάσμα της μενθόλης παρουσιάζει ομοιότητες στην περιοχή των δονήσεων τάσεως, O-H, CH<sub>3</sub> CH<sub>2</sub>, (3500-2.800 cm<sup>-1</sup>).

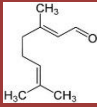
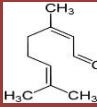
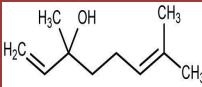
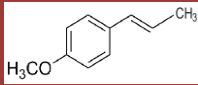


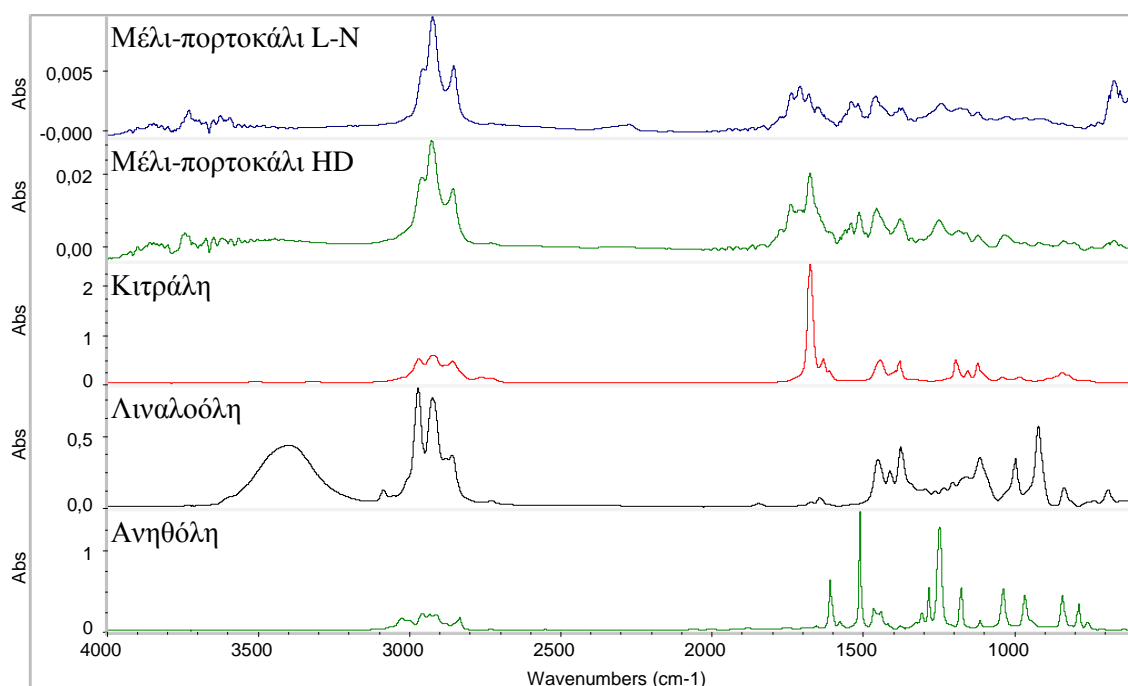


**Εικόνα 54.** Σύγκριση φάσματος FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Φασκόμηλο-λουίζα» με τις καθαρές ενώσεις ανηθόλη και μενθόλη.

Ωστόσο διαφορές παρουσιάζονται στο αφεψήμα «Μέλι-πορτοκάλι» (Εικόνες 22,29) όπου στην υδροαπόσταξη η κορυφή στα  $1675\text{ cm}^{-1}$  που ανήκει στο συζυγιακό σύστημα της νεράλης και της γερανιάλης είναι μεγαλύτερη αφού σύμφωνα με το χρωματογράφημα η συγκέντρωσή τους στο δείγμα είναι μεγαλύτερη. Επίσης, δεν υπάρχουν οι κορυφές στα  $1708\text{ cm}^{-1}$  και  $671\text{ cm}^{-1}$  οι οποίες ίσως οφείλονται στον οξικό αιθυλεστέρα της λιναλοόλης. Σύμφωνα με τα χρωματογραφήματα στην τεχνική με την Likens-Nickerson ο εστέρας κατέχει την δεύτερη θέση στο δείγμα μετά την λιναλοόλη ενώ στην υδροαπόσταξη κατέχει μικρότερο ποσοστό σε σχέση και με τα άλλα συστατικά. Συγκρίνοντας με πρότυπα φάσματα της κιτράλης (γερανιάλη και νεράλη), της λιναλοόλης και της ανηθόλης (Εικόνα 55) φαίνεται πως υπάρχουν στο φάσμα του αφεψήματος κορυφές από τα παραπάνω συστατικά. Στον Πίνακα 4.4 φαίνεται λεπτομερώς η αντιστοίχιση.

Πίνακας 4.4 Χαρακτηριστικές απορροφήσεις.

Γερανιάλη		Νεράλη		Λιναλοόλη		Ανηθόλη	
							
cm <sup>-1</sup>	δεσμοί	cm <sup>-1</sup>	δεσμοί	cm <sup>-1</sup>	δεσμοί		
3000-2800	ν C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> )	3400	ν O-H	3000-2800	ν C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> ) ν C=C		
1675	ν C=O	2926,2857	ν C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> )	1510	αρωματικού δακτυλίου		
1377,1121	δ C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> )	1456,1375	δ C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> )	1248	C-O-C		



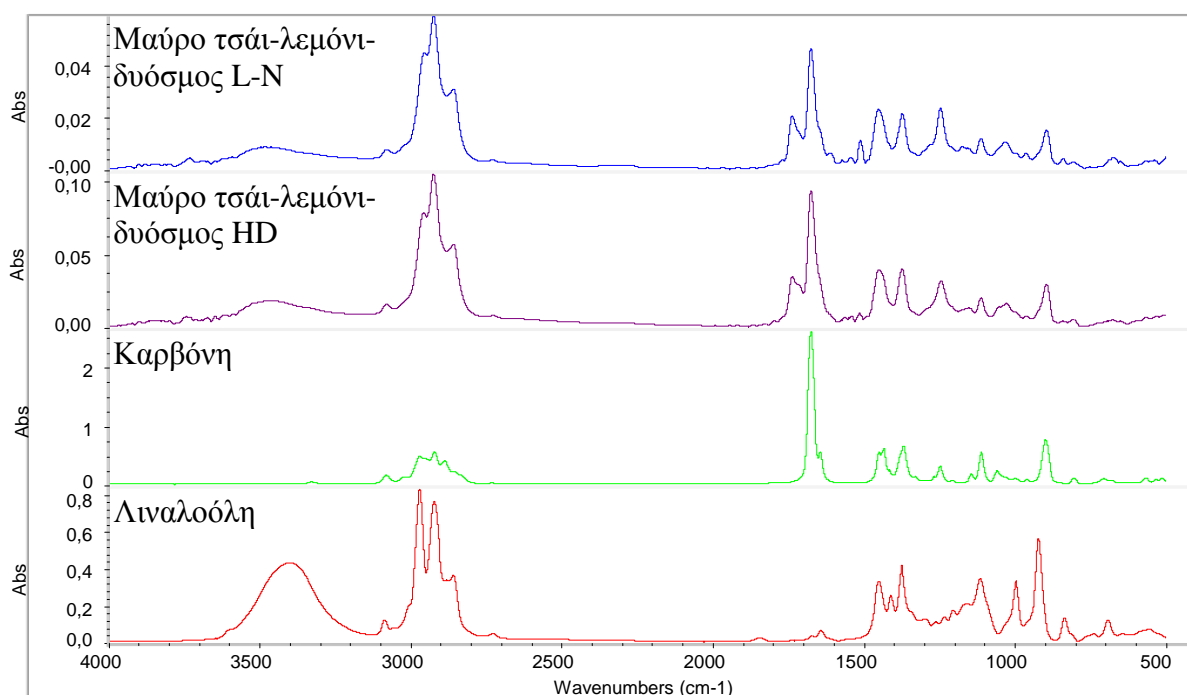
**Εικόνα 55.** Σύγκριση φάσματος FT-IR αιθερίου ελαίου του αφηνήματος «Μέλι-πορτοκάλι» με τις καθарές ενώσεις κιτράλη, ανηθόλη και λιναλοόλη.

Επίσης, στο φάσμα «Μαύρο τσάι-λεμόνι-δυόσμος» από την ταυτόχρονη εκχύλιση με απόσταξη υπάρχει μια κορυφή στα 1511 cm<sup>-1</sup> η οποία απουσιάζει τελείως στο φάσμα της υδροαπόσταξης και αντιστοιχεί στην ανηθόλη. Αυτό εξηγείται λόγω της συμμετοχής της ανηθόλης σε μεγαλύτερο ποσοστό στο αντίστοιχο αιθέριο έλαιο. Στον Πίνακα 4.5 παρουσιάζονται οι κορυφές του φάσματος από το «Μαύρο

τσάι-λεμόνι-δύοσμος» όπου η λιναλοόλη και η καρβόνη κάνουν αισθητή την παρουσία τους. Στην Εικόνα 56 γίνεται σύγκριση των φασμάτων της λιναλοόλης και της καρβόνης με το φάσμα του αφεψήματος.

Πίνακας 4.5 Χαρακτηριστικές απορροφήσεις.

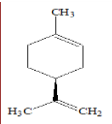
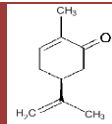
Λιναλοόλη		Καρβόνη	
<chem>CC(C)C(O)C=C</chem>	<chem>CC(=O)C=C</chem>		
<b>cm<sup>-1</sup></b>	<b>δεσμοί</b>	<b>cm<sup>-1</sup></b>	<b>δεσμοί</b>
3066	ν C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> ) ακόρεστα	1675	C=O
2926,2857	ν C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> ) αλειφατικά	1449,1244,1110	δ C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> )
		894	τριϋποκατεστημένος διπλός δεσμός

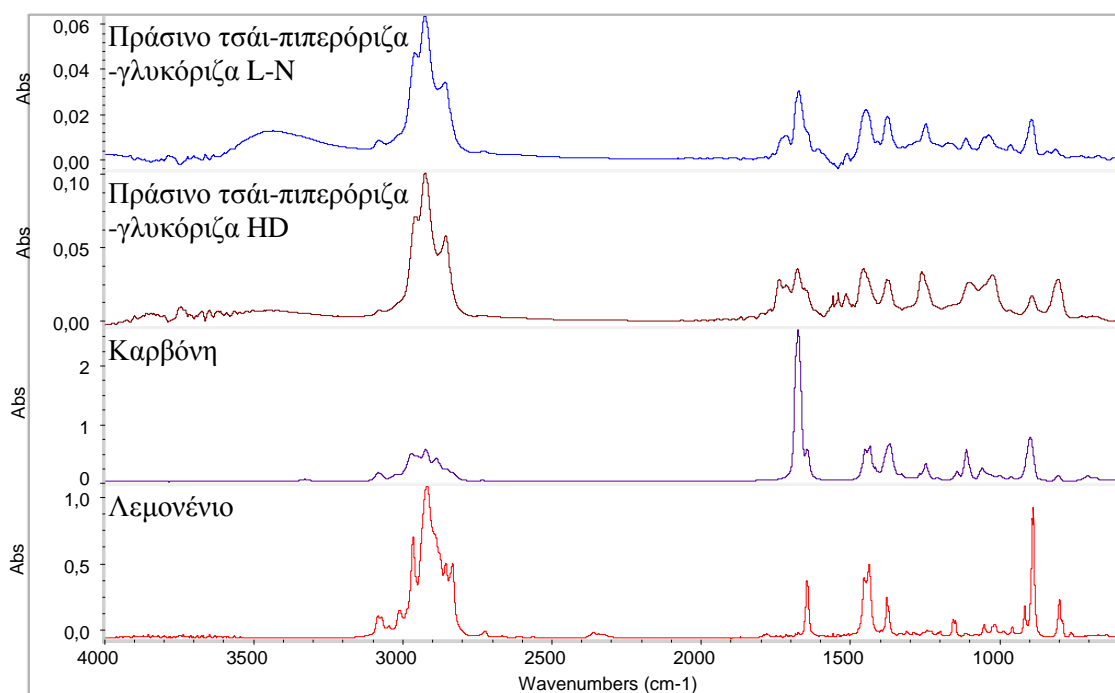


Εικόνα 56. Σύγκριση φάσματος FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Μαύρο τσάι-λεμόνι-δύοσμος» με τις καθαρές ενώσεις καρβόνη και λιναλοόλη.

Στο «Πράσινο τσάι-πιπερόριζα-γλυκόριζα» είναι φανερή η απουσία των κορυφών γύρω από τα  $1500\text{ cm}^{-1}$  στο φάσμα του ελαίου από την ταυτόχρονη εκχύλιση με απόσταξη. Οι κορυφές αυτές πιθανόν να οφείλουν την ύπαρξή τους σε συστατικά της πιπερόριζας τα οποία εμφανίζονται μόνο στο αιθέριο έλαιο της υδροαπόσταξης και κατέχουν μεγάλα ποσοστά στο δείγμα (π.χ ζινγκιμπερένιο, ξανθοριζόλη). Επιπλέον, οι κορυφές του φάσματος του αφειγήματος φαίνεται να αντιστοιχούν στην καρβόνη και το λεμονένιο (Εικόνα 57), που είναι και τα συστατικά με την μεγαλύτερη συγκέντρωση στο αιθέριο έλαιο, ύστερα από σύγκριση με αντίστοιχα φάσματα των πτητικών συστατικών αυτών (Πίνακας 4.6).

Πίνακας 4.6 Χαρακτηριστικές απορροφήσεις.

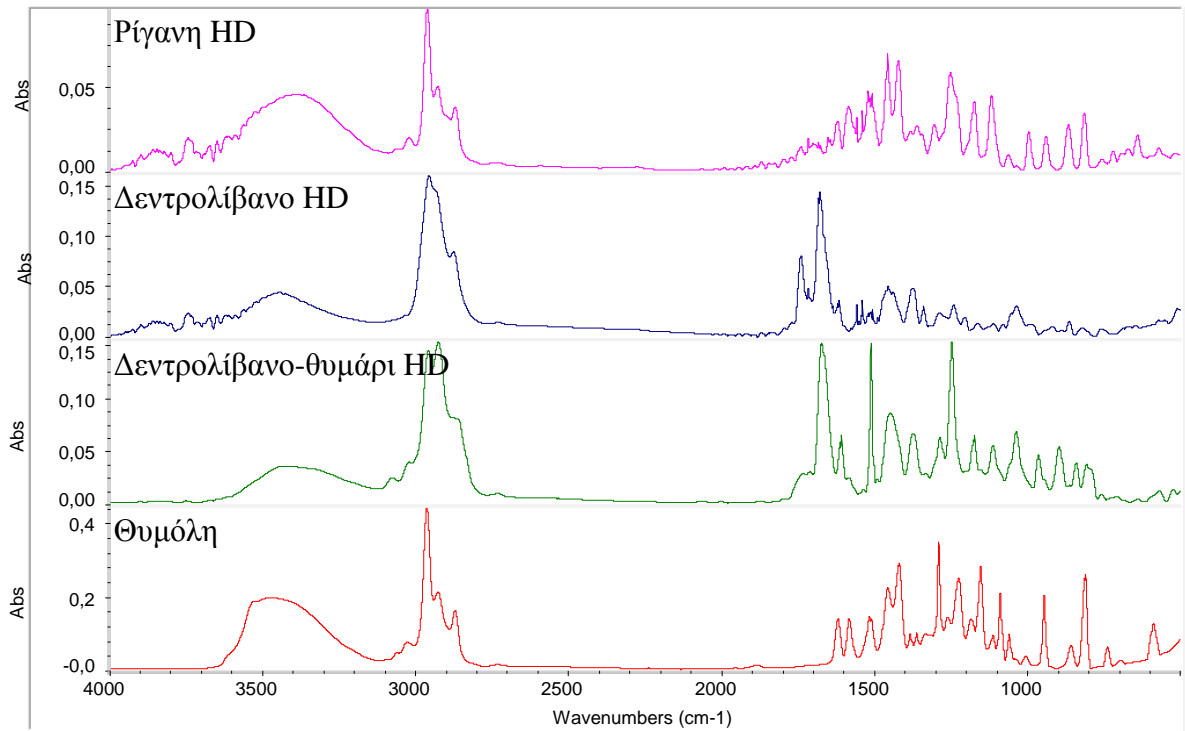
 <b>Λεμονένιο</b>		 <b>Καρβόνη</b>	
<b>cm<sup>-1</sup></b>	<b>δεσμοί</b>	<b>cm<sup>-1</sup></b>	<b>δεσμοί</b>
3000-2800	ν C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> )	3000-2800	ν C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> )
1375,1246,1033	δ C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> )	1678	C=O
		1350, 1247,1110	δ C-H (CH <sub>3</sub> ,CH <sub>2</sub> )
		894	τριϋποκατεστημένος διπλός δεσμός



**Εικόνα 57.** Σύγκριση φάσματος FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Πράσινο τσάι-πιπερόριζα-γλυκόριζα» με τις καθαρές ενώσεις καρβόνη και λεμονένιο.

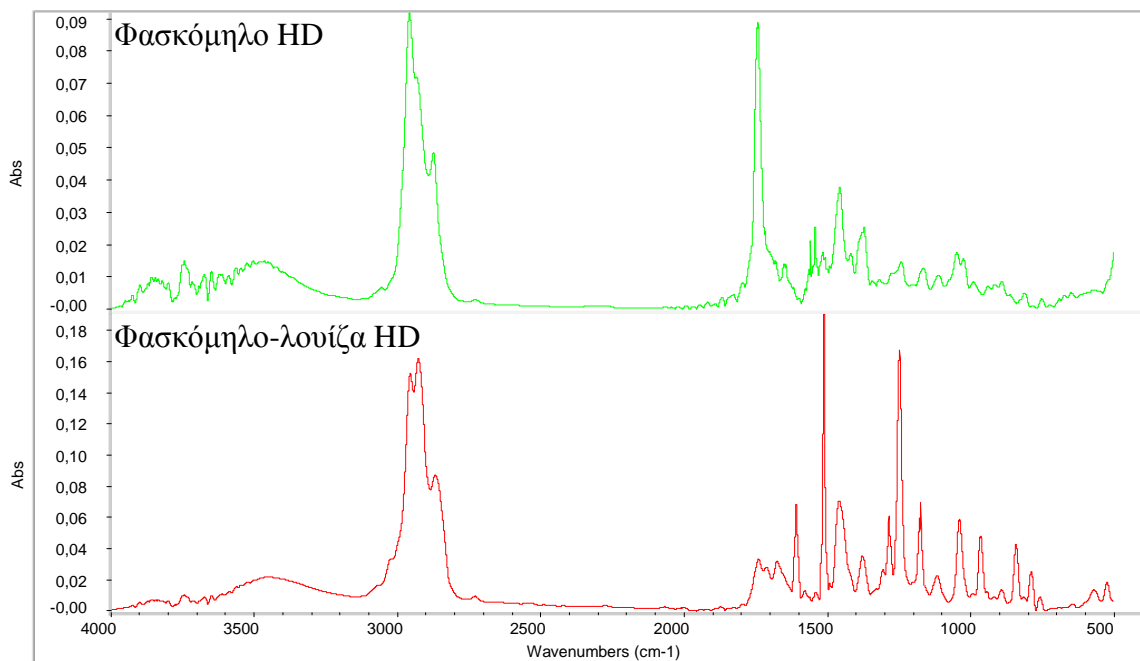
Συγκρίνοντας τα φάσματα του μίγματος «Δεντρολίβανο-θυμάρι» με τα φάσματα του δεντρολίβανου (κύριο φυτό) και της ρίγανης (φυτό βάσης) παρατηρούμε πως το φάσμα του μίγματος παρουσιάζει ομοιότητες και με τα δύο φάσματα (Εικόνα 58). Άρα επαληθεύεται και μέσω της υπέρυθρης φασματοσκοπίας η ύπαρξη των δύο αυτών φυτών στο μίγμα του αφεψήματος.

Ομοιότητα παρουσιάζει το φάσμα της ρίγανης με αυτό της θυμόλης και αυτό οφείλεται στο γεγονός της περιεκτικότητας της ρίγανης σε μεγάλα ποσοστά θυμόλης και καρβακρόλης, δύο συστατικά που έχουν ίδιο συντακτικό τύπο αλλά διαφέρουν στην θέση του υδροξυλίου στον αρωματικό δακτύλιο.



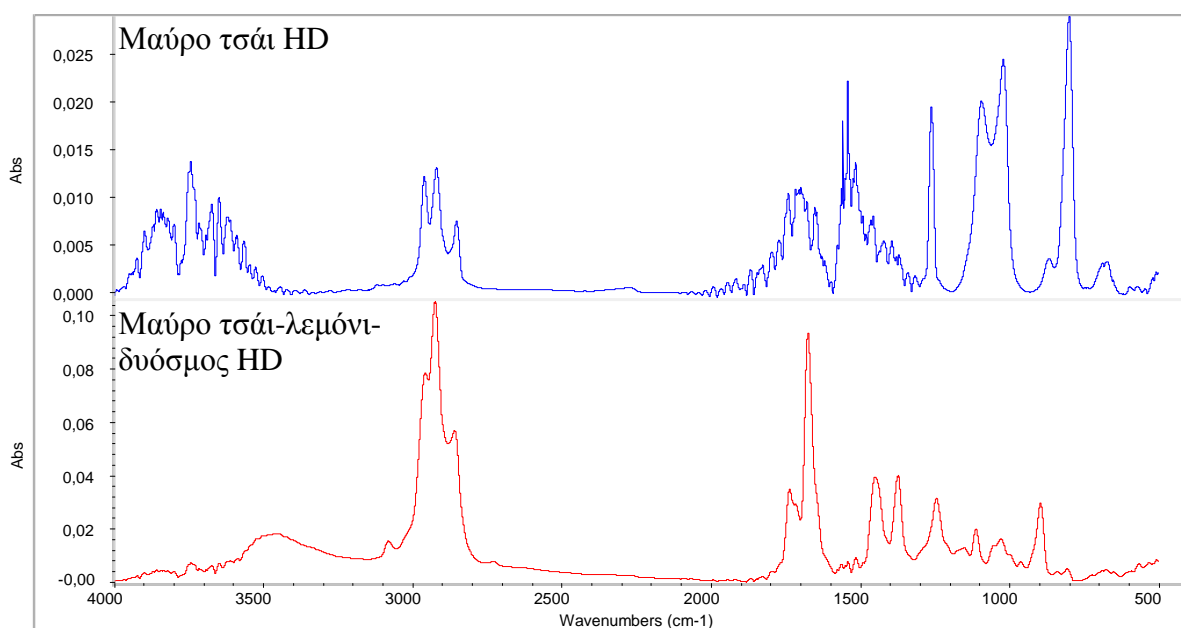
**Εικόνα 58.** Σύγκριση φάσματος FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Δεντρολίβανο-θυμάρι» με το φάσμα της ρίγανης, του δεντρολίβανου και της καθαρής ένωσης της θυμόλης.

Στην περίπτωση του σκέτου φασκόμηλου (Εικόνα 59) φαίνεται πως στην περιοχή πάνω από τα  $2.000\text{ cm}^{-1}$  ελάχιστες ομοιότητες παρουσιάζονται με το φάσμα του αφεψήματος «Φασκόμηλο-λουίζα». Αυτό πιθανότατα συμβαίνει διότι στο μίγμα μεγάλο ποσοστό καταλαμβάνεται από συστατικά που δεν ανήκουν στο φασκόμηλο.



**Εικόνα 59.** Σύγκριση φάσματος FT-IR αιθερίου ελαίου του αφεψήματος «Φασκόμηλο-λουίζα» με το φάσμα του φασκόμηλου.

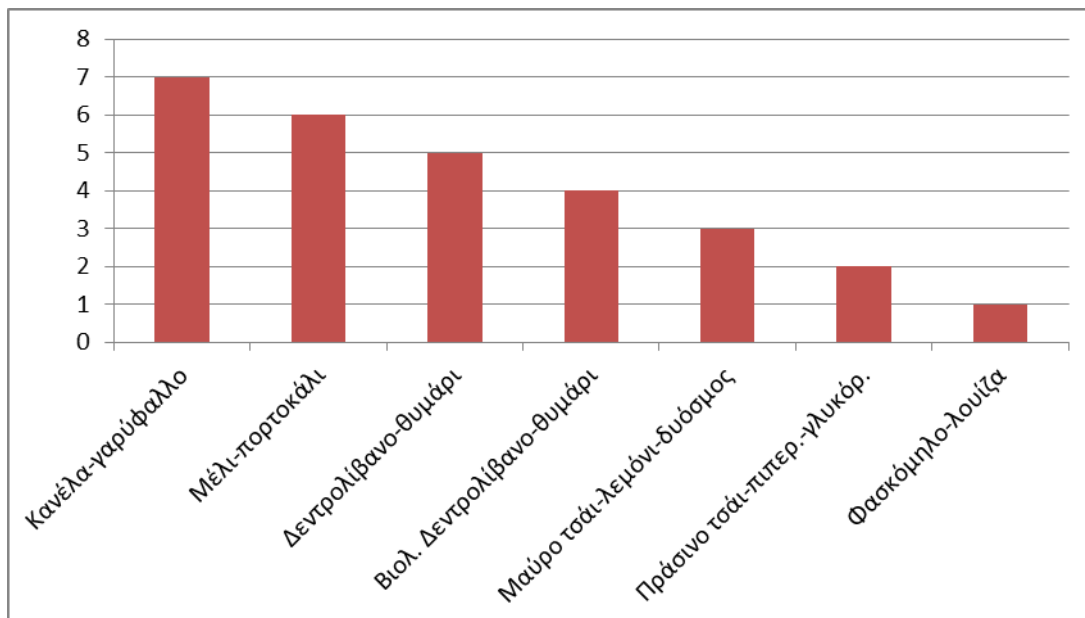
Τέλος, συγκρίνοντας το φάσμα του αφεψήματος «Μαύρο τσάι-λεμόνι-δυσόσμος» με το φάσμα του αφεψήματος του σκέτου μαύρου τσαγιού (Εικόνα 60) φαίνεται ξεκάθαρα πως δεν υπάρχουν ομοιότητες ανάμεσα στα δύο φάσματα και αυτό συμβαίνει λόγω του ότι το αφέψημα «Μαύρο τσάι-λεμόνι-δυσόσμος» δεν συμμετέχει στο αρωματικό προφίλ του αφεψήματος. Επιπλέον, λόγω του ότι στο αρωματικό προφίλ στο αφέψημα εκλούστηκε ο οργανικός διαλύτης (BHT) υποψιαστήκαμε πως ίσως το φάσμα αντιστοιχεί σε αυτόν. Παρόλ' αυτά όμως κάτι τέτοιο δεν ισχύει διότι το ένα φάσμα διαφέρει σημαντικά από το άλλο (Εικόνα 51).



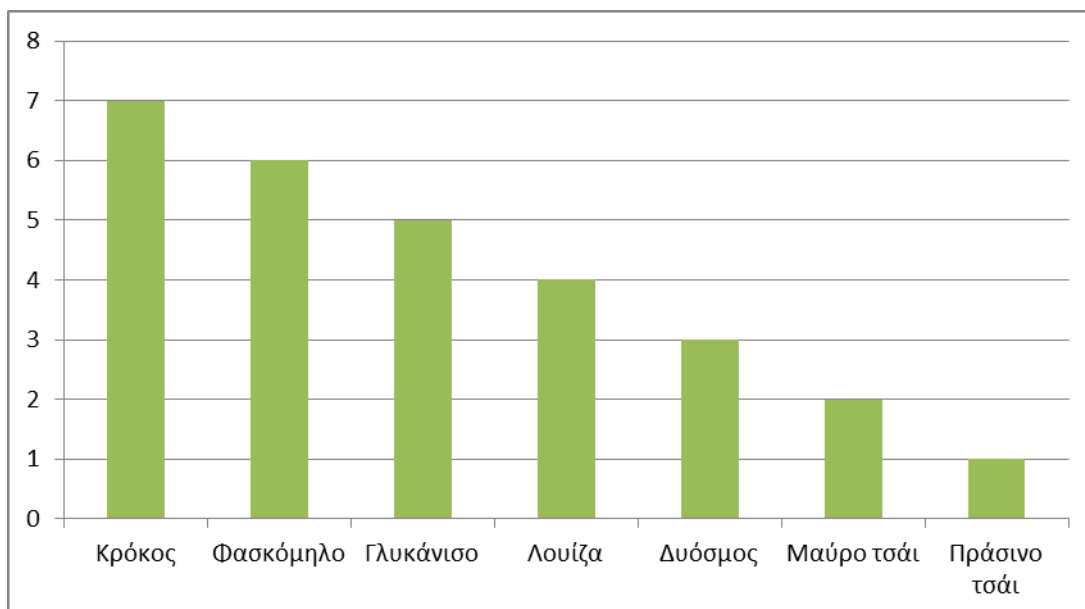
**Εικόνα 60.** Σύγκριση του αφεψήματος «Μαύρο τσάι-λεμόνι-δυσόσμος» με το φάσμα του αφεψήματος του σκέτου μαύρου τσαγιού.

#### 4.6 Μελέτη τοξικότητας ενάντια στο βακτήριο *Vibrio fischeri*.

Από τα μίγματα των αφεψημάτων το αφέψημα «Φασκόμηλο-λουίζα» παρουσίασε την μικρότερη τοξικότητα στον βακτηριακό πληθυσμό, ενώ από τα μεμονωμένα φυτά το πράσινο τσάι όπως φαίνεται και από τα Διαγράμματα 6 και 7.



**Διάγραμμα 6.** Απεικόνιση της τοξικότητας των μιγμάτων από το περισσότερο τοξικό («Κανέλα – γαρύφαλλο») στο λιγότερο τοξικό («Φασκόμηλο-λουίζα»).



**Διάγραμμα 7.** Απεικόνιση της τοξικότητας των μεμονωμένων φυτών από το περισσότερο τοξικό (κρόκος) στο λιγότερο τοξικό (πράσινο τσάι).



Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως τα μίγματα των αφεψημάτων έχουν πολύ μικρότερη τοξικότητα σε σχέση με το αφέψημα του κρόκου ο οποίος αποτελεί το βασικό συστατικό κάθε αφεψήματος. Αυτό αποτελεί μια ένδειξη ότι τα επιμέρους συστατικά που έχουν προστεθεί σε κάθε μίγμα δρουν ανταγωνιστικά με τον κρόκο όσον αφορά την τοξικότητα. Το γεγονός ωστόσο ότι στα συγκεκριμένα αφεψήματα χρησιμοποιείται μόνο 1 % κρόκου μειώνει σημαντικά την τοξικότητά του συστατικού αυτού.

Στο αφέψημα «Δεντρολίβανο – θυμάρι» βιολογικής και συμβατικής καλλιέργειας το γλυκάνισο ανήκει στα φυτά της βάσης του αφεψήματος. Το γλυκάνισο βρέθηκε να παρουσιάζει μικρότερη τοξικότητα από αυτή του μίγματος γεγονός που υποδεικνύει ότι η αύξηση της τοξικότητας οφείλεται στα άλλα συστατικά που έχουν προστεθεί στο μίγμα. Λόγω της αδυναμίας εύρεσης αφεψημάτων θυμάρι και δεντρολίβανο στο εμπόριο δεν ήταν δυνατή η σύγκριση με αυτά τα φυτά.

Τα αφεψήματα φασκόμηλου και λουίζας παρουσίασαν μεγαλύτερη τοξικότητα σε σχέση με το μίγμα τους και μάλιστα το φασκόμηλο φάνηκε να είναι το πιο τοξικό. Το ίδιο ίσχυσε και για την περίπτωση του γλυκάνισου που αποτελεί και εδώ φυτό της βάσης του αφεψήματος. Αυτό το γεγονός υποδεικνύει ότι όταν τα φυτά αυτά δρουν σε μίγμα τα συστατικά τους δρουν ανταγωνιστικά όσον αφορά την τοξικότητα, και κατά συνέπεια η τοξικότητα του μίγματος να είναι κατά πολύ μικρότερη.

Το αφέψημα από σκέτο μαύρο τσάι παρουσίασε χαμηλότερη τοξικότητα σε σχέση με αυτό από δυόσμο. Όταν τα δύο αυτά φυτά συνυπάρχουν σε μίγμα, η τιμή της τοξικότητας του μίγματος βρέθηκε σε παρόμοια επίπεδα με αυτή του μαύρου τσαγιού υποδηλώνοντας ότι τα συστατικά του δυόσμου και μαύρου τσαγιού δρουν ανταγωνιστικά όσον αφορά την τοξικότητα.

Τέλος, το αφέψημα από σκέτο πράσινο τσάι, παρουσίασε μικρότερη τοξικότητα σε σχέση με το μίγμα του. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στην ανταγωνιστική δράση του με τα άλλα συστατικά που αποτελούν το μίγμα του αφεψήματος.

Επιπρόσθετα με τα παραπάνω θα πρέπει να ληφθεί υπόψιν πως τα αφεψήματα «Κανέλα-γαρύφαλλο», «Μέλι-πορτοκάλι» και «Μαύρο τσάι-λεμόνι-δυόσμος» έχουν πρόσθετες αρωματικές ύλες οι οποίες δεν διευκρινίζονται στην συσκευασία και επηρεάζουν με κάποιο τρόπο τα αποτελέσματα της τοξικότητας.

## 5. ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αφεψήματα Krocus Kozanis Products μελετήθηκαν από πολλές πλευρές προσεγγίζοντας πολλές παραμέτρους με σκοπό την διερεύνηση της ποιότητας των προϊόντων αυτών. Και τα επτά μίγματα έδειξαν πολύ καλή αντιοξειδωτική δράση και ικανοποιητική συγκέντρωση φαινολικών συστατικών με τα «Μαύρο τσάι-λεμόνι-δυόσμος» και «Πράσινο τσάι-πιπερόριζα-γλυκόριζα» να έχουν τα καλύτερα αποτελέσματα. Μέσα από την συσχέτιση της αντιοξειδωτικής δράσης με τα φάσματα ATR επιβεβαιώθηκε πως υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ της αντιοξειδωτικής δράσης και των φαινολικών συστατικών. Έτσι, όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση των φαινολικών σε ένα δείγμα τόσο καλύτερη αντιοξειδωτική δράση παρουσιάζει.

Η τεχνική της αέριας χρωματογραφίας αποκάλυψε το αρωματικό προφίλ των αφεψημάτων δίνοντας πτητικά συστατικά των φυτών που περιέχονται στο φακελάκι του αφεψηματος και καταγράφονται στη συσκευασία του προϊόντος. Τα πτητικά που απομονώθηκαν με την τεχνική της ταυτόχρονης απόσταξης και εκχύλισης με οργανικό διαλύτη είναι αυτά που ανταποκρίνονται στο άρωμα το οποίο αναδύεται από την κούπα του καταναλωτή και άρα αυτά που θα προσελκύσουν κάποιον να αγοράσει το προϊόν αφού η ευχάριστη μυρωδιά παίζει σημαντικό ρόλο στην επιλογή ενός αφεψηματος. Εκτός από το «Πράσινο τσάι-πιπερόριζα-γλυκόριζα» στα υπόλοιπα αφεψήματα τα πτητικά που κυριαρχούν είναι εκείνα τα οποία προέρχονται από τα κύρια φυτά του αφεψηματος. Η επιβεβαίωση των πτητικών που κυριαρχούσαν ποσοτικά σε κάθε μίγμα έγινε και μέσω των φασμάτων FT-IR των αφεψημάτων. Στα φάσματα αυτά κυριαρχούν οι κορυφές οι οποίες αποδίδονται στα κύρια συστατικά των αιθερίων ελαίων των αρωματικών φυτών που βρίσκονται μέσα στο μίγμα.

Τέλος, όσο αφορά την τοξικότητα γενικά τα αφεψήματα δεν αποτελούν κίνδυνο για την υγεία του ανθρώπου αρκεί να καταναλώνονται με σύνεση. Ωστόσο, στα πειράματα με το βιοφωτίζον βακτήριο *Vibrio fischeri* φάνηκε πως το αφέψημα «Φασκόμηλο-λουίζα» είναι το λιγότερο τοξικό για το συγκεκριμένο βακτήριο ενώ τη μεγαλύτερη τοξικότητα παρουσίασε το «Κανέλα-γαρύφαλλο».

Αυτά που θα πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω είναι τα παρακάτω:

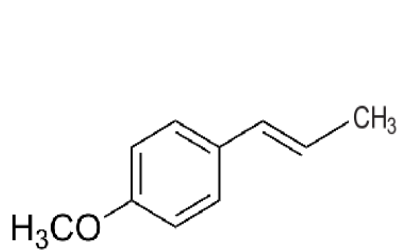
- ο ποσοτικός και ποιοτικός προσδιορισμός των φαινολικών που βρίσκονται μέσα στο αφέψημα μέσω της τεχνικής HPLC.
- πως μεταβολίζονται τα φαινολικά των αφεψημάτων στον ανθρώπινο οργανισμό και κατά πόσο λειτουργούν ως παγίδες της περίσσειας των

ελεύθερων ριζών προστατεύοντας κατά αυτόν τον τρόπο την υγεία του ανθρώπου.

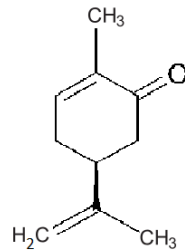
- ο ποσοτικός προσδιορισμός, στα συγκεκριμένα αφεψήματα των πτητικών συστατικών
- να εξηγηθεί ο λόγος και ο τρόπος για τον οποίο τα μίγματα των αφεψημάτων παρουσιάζουν μικρότερη τοξικότητα από τα αντίστοιχα εκχυλίσματα των μεμονωμένων φυτών.

## **6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**

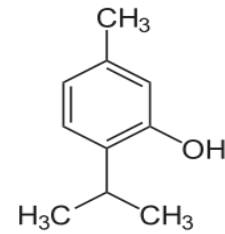
Απεικόνιση των κυριότερων πτητικών συστατικών που περιλαμβάνονται στα  
μύγματα των αφεψημάτων ΚΟΡΡΕ-Σ.Κ.Κ.



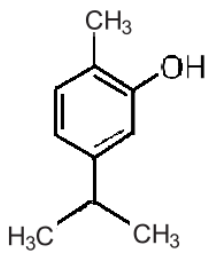
**Ανηθόλη**



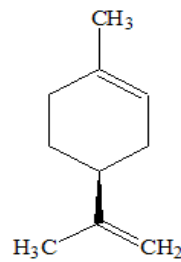
**Καρβόνη**



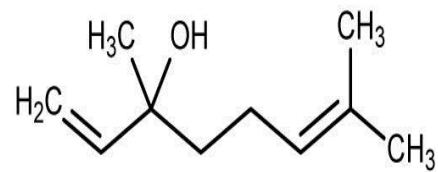
**Θυμόλη**



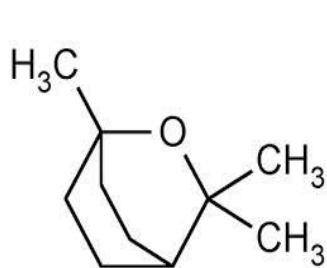
**Καρβακρόλη**



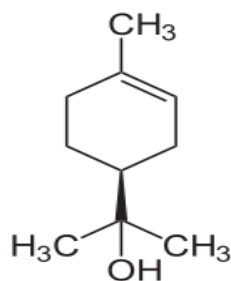
**Λεμονένιο**



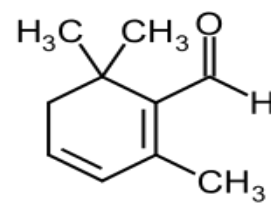
**Λιναλοόλη**



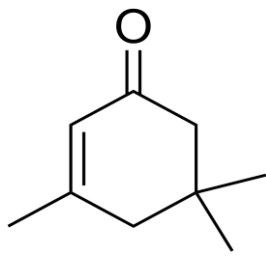
**Ευκαλυπτόλη**



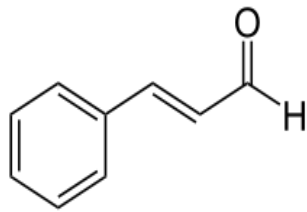
**α-Τερπινεόλη**



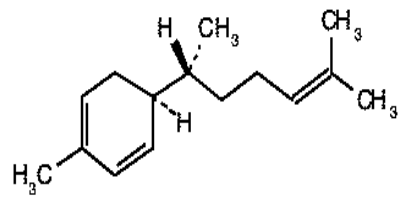
**Σαφρανάλη**



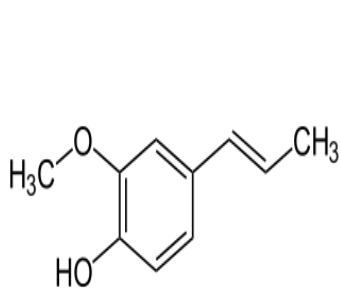
**Ισοφορόνη**



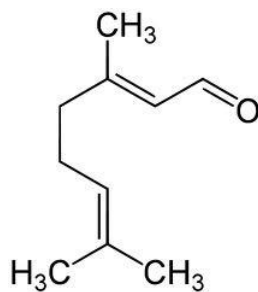
**Κινναμαλδεύδη**



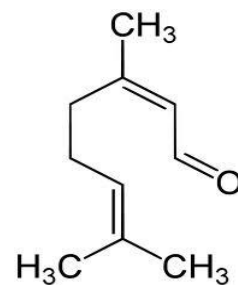
**Ζινγκιπερένιο**



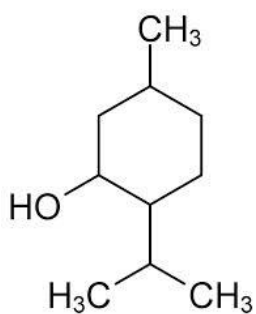
**Ισοευγενόλη**



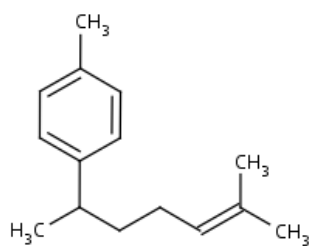
**Γερανιάλη**



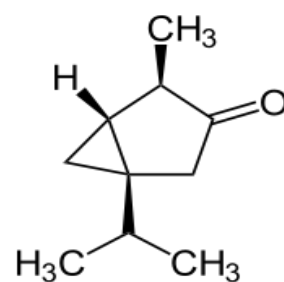
**Νεράλη**



**Μενθόλη**



**α-Κουρκουμένιο**



**Θουγιόνη**

Παρουσίαση των μιγμάτων των αφεψημάτων αλλά και των μεμονωμένων φυτών που αποστάχθηκαν με την τεχνική της υδροαπόσταξης και των % αποδόσεων τους σε αιθέριο έλαιο.

Δείγμα προς απόσταξη	% απόδοση αιθερίου ελαίου
<b>Βιολογικό δεντρολίβανο-θυμάρι</b>	0,64
<b>Δεντρολίβανο-θυμάρι</b>	0,74
<b>Κανέλα-γαρύφαλλο</b>	0,74
<b>Φασκόμηλο-λουίζα</b>	0,55
<b>Μέλι-πορτοκάλι</b>	0,37
<b>Πράσινο τσάι-πιπερόριζα-γλυκύριζα</b>	0,37
<b>Μαύρο τσάι-λεμόνι-δυόσμος</b>	0,37
<b>Μαύρο τσάι Τραπεζούντας</b>	μηδαμινή ποσότητα αιθερίου ελαίου
<b>Ρίγανη Καλαμάτας</b>	8
<b>Ρίγανη Σαμοθράκης</b>	6,92
<b>Ρίγανη Ν. Έβρου-ελληνοβουλγαρικά σύνορα</b>	7
<b>Δεντρολίβανο Ολυμπιακού χωριού Αττικής</b>	1
<b>Φασκόμηλο Γλυφάδας</b>	2

Σύσταση αιθερίου ελαίου *Sideritis erythrantha* [96].

Πτητικό συστατικό	Χρόνος έκλουσης	Ποσοστό % της ουσίας στο δείγμα
<b>1. α-θουγιόνη</b>	8.45	0,92%
<b>2. α-πινένιο</b>	8.73	25,13%
<b>3. καμφένιο</b>	9.24	0,77%
<b>4. σαμπινένιο</b>	10.10	6,79%
<b>5. β-πινένιο</b>	10.25	6,17%
<b>6. μυρκένιο</b>	10.71	2,56%
<b>7. π-κυμένιο</b>	11.89	1,69%
<b>8. ευκαλυπτόλη</b>	12.12	8,83%
<b>9. λιναλοόλη</b>	14.45	7,88%
<b>10. τερπινέν-4-όλη</b>	16.95	2,23%
<b>11. α-τερπινεόλη</b>	17.41	0,99%
<b>12. θυμόλη</b>	20.25	1,26%
<b>13. καρβακρόλη</b>	20.49	4,90%

Principal Component	Concentration Contribution	Full Spectrum Contribution	Analysis Region Contribution
1	100,0000	82,8760	79,7801
2	100,0000	92,3788	93,2818
3	100,0000	95,4213	96,5958
4	100,0000	97,1780	98,5690
5	100,0000	98,8556	99,2508
<b>6</b>	<b>100,0000</b>	<b>99,2892</b>	<b>99,5572</b>
7	100,0000	99,6129	99,7589
8	100,0000	99,7728	99,8487
9	100,0000	99,8801	99,9290

A)

Principal Component	Concentration Contribution	Full Spectrum Contribution	Analysis Region Contribution
1	100,0000	82,8760	80,3597
2	100,0000	92,3788	92,7555
3	100,0000	95,4213	97,1816
4	100,0000	97,1780	98,8480
5	100,0000	98,8556	99,5650
<b>6</b>	<b>100,0000</b>	<b>99,2892</b>	<b>99,7079</b>
7	100,0000	99,6129	99,8439
8	100,0000	99,7728	99,9231
9	100,0000	99,8801	99,9633

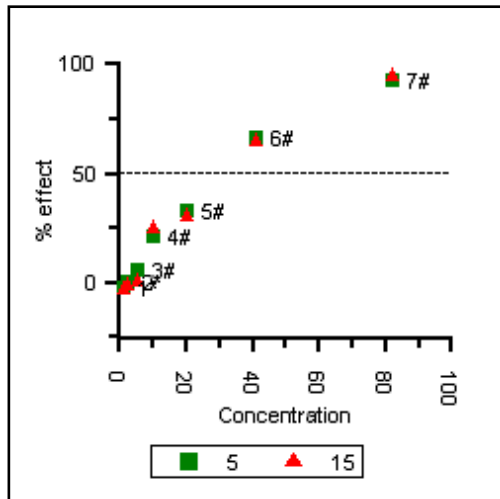
B)

Πίνακας που δίνει το λογισμικό TQ Analyst και δείχνει τι ποσοστό πληροφοριών επεξεργάζεται ανάλογα με τους παράγοντες που λαμβάνει υπόψη. Στην περίπτωση A) του DPPH λαμβάνει υπόψη 4 παράγοντες με αποτέλεσμα να λαμβάνεται το 98,45% των πληροφοριών από όλη την περιοχή του φάσματος και το 98,56% από την περιοχή του φάσματος που έχουμε ορίσει εμείς και B) στην περίπτωση του ABTS λαμβάνει υπόψη 6 παράγοντες με 99,28% και 99,7% των πληροφοριών για τις αντίστοιχες περιοχές.

Στις επόμενες σελίδες που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την μελέτη της τοξικότητας αναλυτικά για το κάθε αφέψημα, δίνοντας τις μετρήσεις για τα 5 και 15 λεπτά.



Βιολογικό δεντρολίβανο-θυμάρι (1)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 27,33%

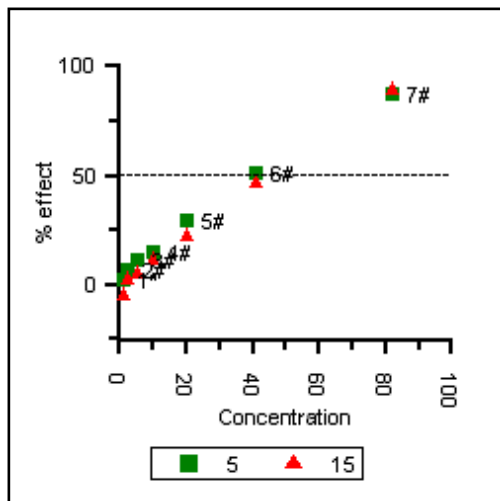
LOG C = 0,4509 x LOG G + 1,437

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 26,76%

LOG C = 0,3681 x LOG G + 1,427

Βιολογικό δεντρολίβανο-θυμάρι (2)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 24,32%

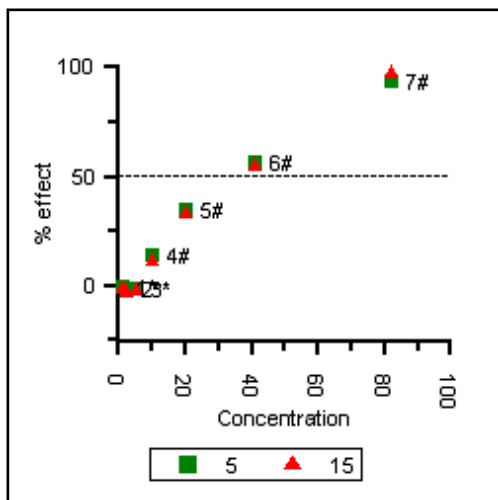
LOG C = 0,5429 x LOG G + 1,386

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 24,29%

LOG C = 0,4653 x LOG G + 1,385

Δεντρολίβανο-θυμάρι (1)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 28,07%

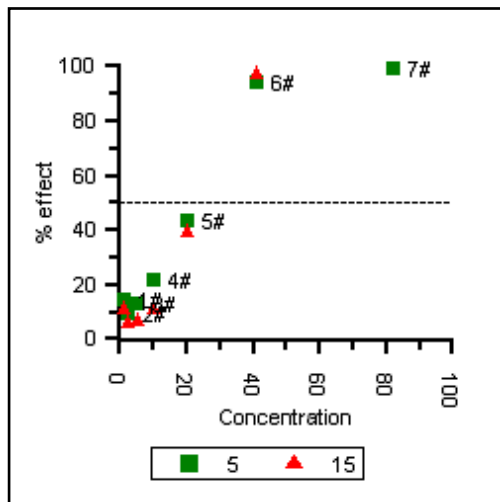
LOG C = 0,7463 x LOG G + 1,448

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 32,36%

LOG C = 0,5443 x LOG G + 1,510

Δεντρολίβανο-θυμάρι (2)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 26,57%

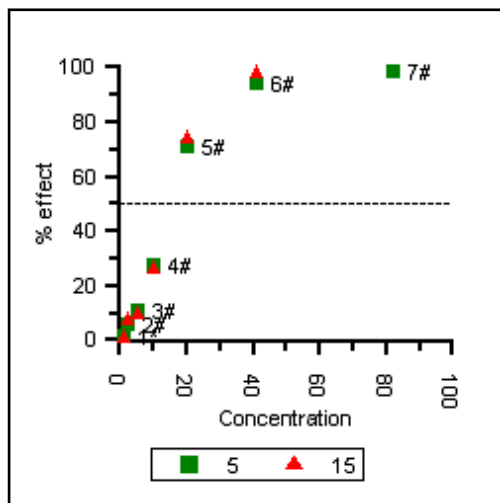
LOG C = 0,6785 x LOG G + 1,424

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 22,99%

LOG C = 0,6886 x LOG G + 1,361

Κανέλα-γαρύφαλλο (1)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 10,38%

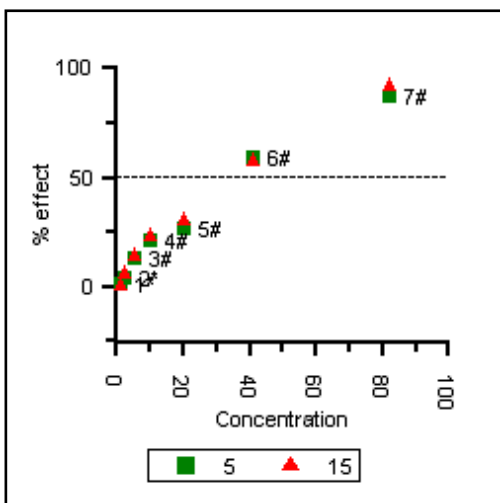
LOG C = 0,5049 x LOG G + 1,016

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 11,34%

LOG C = 0,4197 x LOG G + 1,054

Κανέλα-γαρύφαλλο (2)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 12,41%

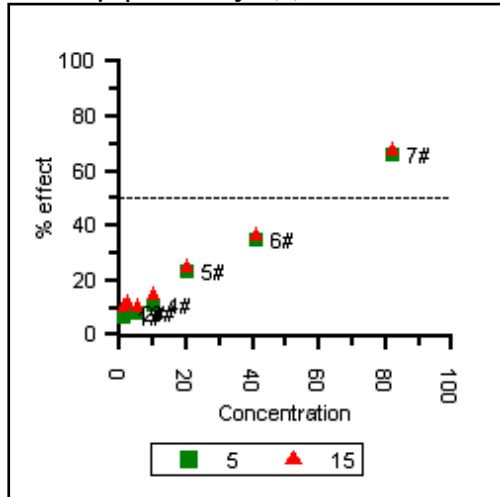
LOG C = 0,4692 x LOG G + 1,094

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 10,95%

LOG C = 0,3841 x LOG G + 1,039

Φασκόμηλο-λουίζα (1)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 38,95%

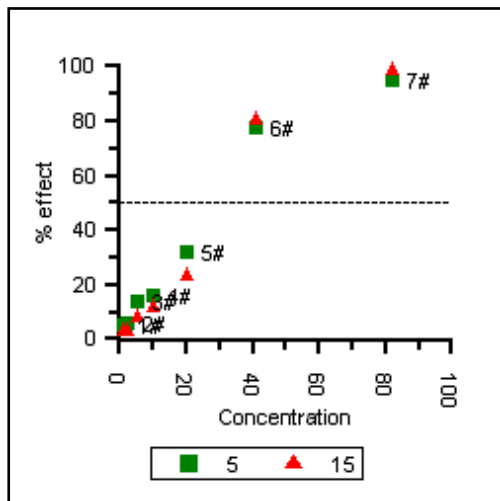
LOG C = 0,8894 x LOG G + 1,590

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 31,89%

LOG C = 0,9969 x LOG G + 1,504

Φασκόμηλο-λουίζα (2)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 59,93%

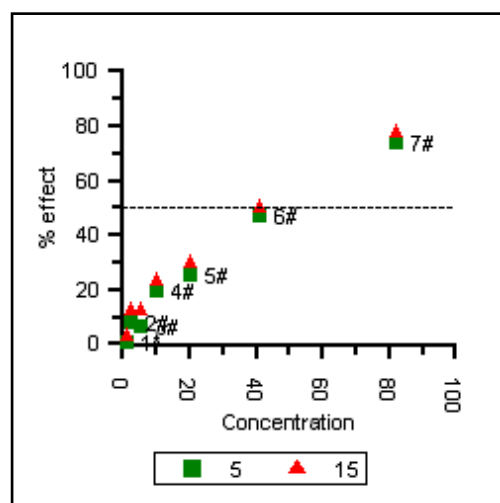
LOG C = 1,145 x LOG G + 1,778

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 52,46%

LOG C = 1,257 x LOG G + 1,720

Μέλι-πορτοκάλι (1)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 17,32%

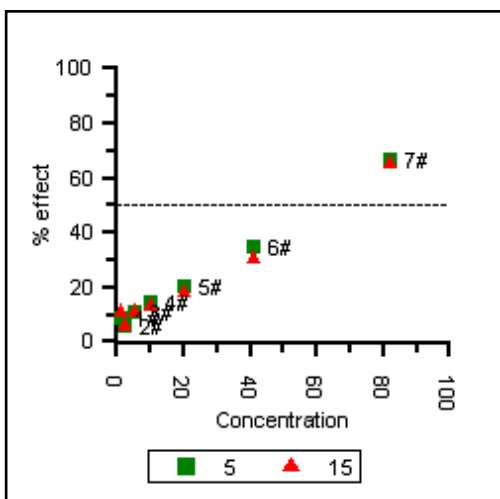
LOG C = 0,6458 x LOG G + 1,238

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 20,69%

LOG C = 0,3809 x LOG G + 1,316

Μέλι-πορτοκάλι (2)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 22,09%

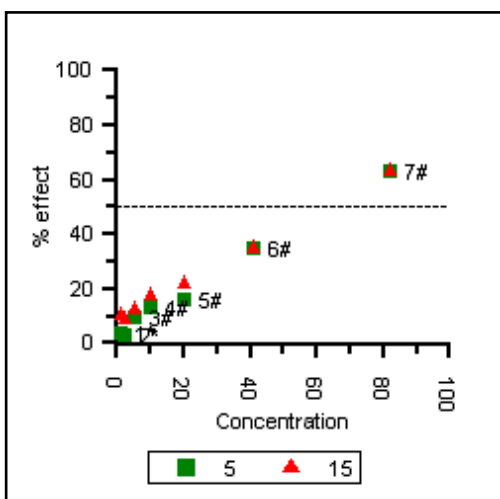
LOG C = 0,5237 x LOG G + 1,344

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 20,13%

LOG C = 0,4299 x LOG G + 1,304

Μαύρο τσάι-λεμόνι-δυσόσμος (1)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 57,18%

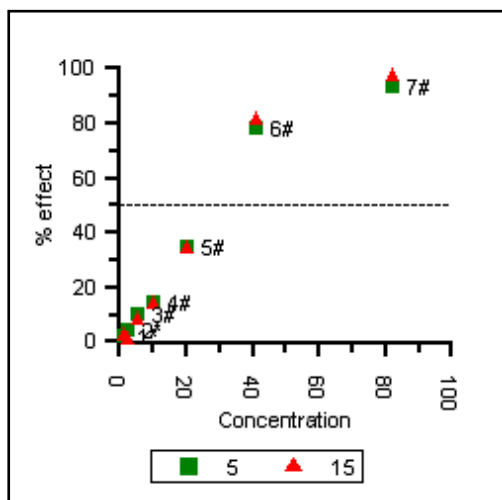
LOG C = 1,174 x LOG G + 1,757

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 59,58%

LOGC = 1,164 x LOGG + 1,775

Μαύρο τσάι-λεμόνι-δυσόσμος (2)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 61,21%

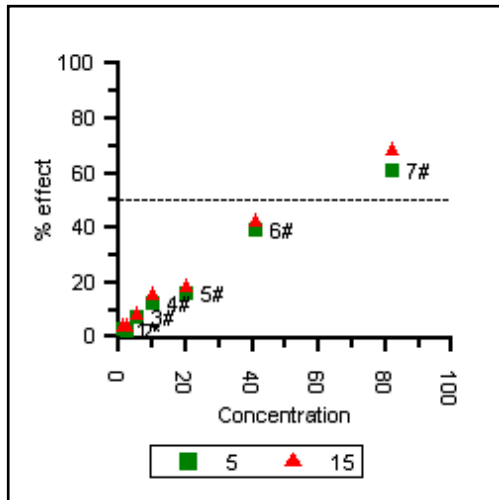
LOG C = 0,9309 x LOG G + 1,787

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 65,94%

LOG C = 1,379 x LOG G + 1,819

Πράσινο τσάι-πιπερόριζα-γλυκόριζα (1)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 63,94%

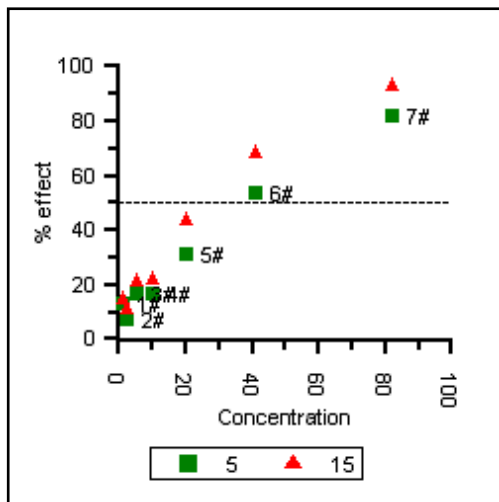
LOG C = 1,039 x LOG G + 1,806

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 52,00%

LOG C = 0,9144 x LOG G + 1,716

Πράσινο τσάι-πιπερόριζα-γλυκόριζα (2)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 60,70%

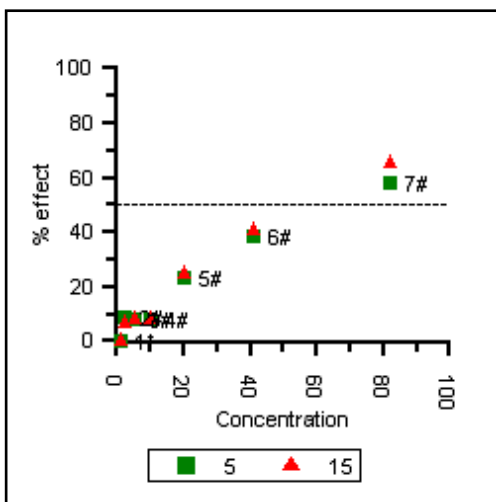
LOG C = 0,8735 x LOG G + 1,783

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 49,51%

LOG C = 0,8471 x LOG G + 1,695

Γλυκάνισο (1)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 26,39%

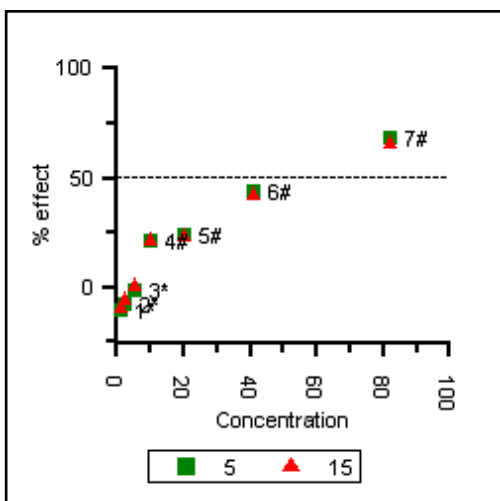
LOG C = 0,9766 x LOG G + 1,422

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 15,28%

LOG C = 0,8277 x LOG G + 1,184

### Γλυκάνισο (2)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 31,39%

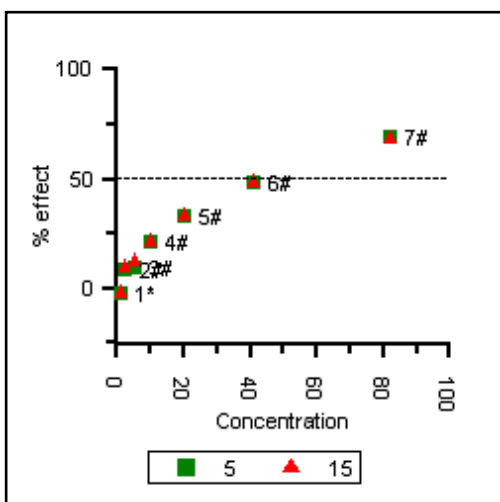
LOG C = 0,6602 x LOG G +1,497

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 20,58%

LOG C = 0,5376 x LOG G +1,314

### Δυόσμος (1)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 45,02%

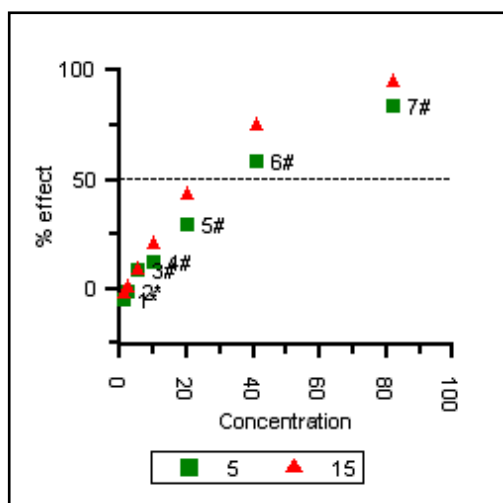
LOG C = 0,8923 x LOG G +1,653

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 48,62%

LOG C = 0,9269 x LOG G +1,687

### Δυόσμος (2)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 39,79%

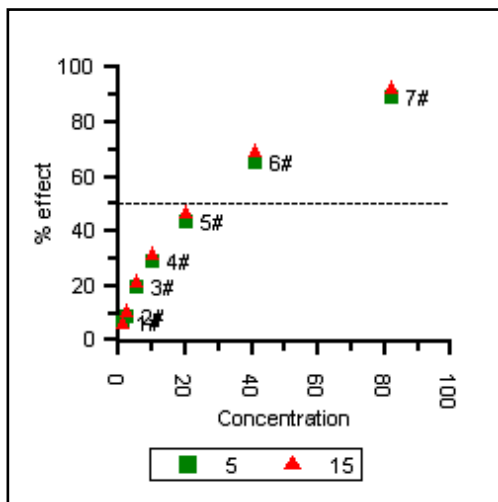
LOG C = 1,013 x LOG G +1,600

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 40,45%

LOG C = 1,109 x LOG G +1,607

Φασκόμηλο (1)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 18,80%

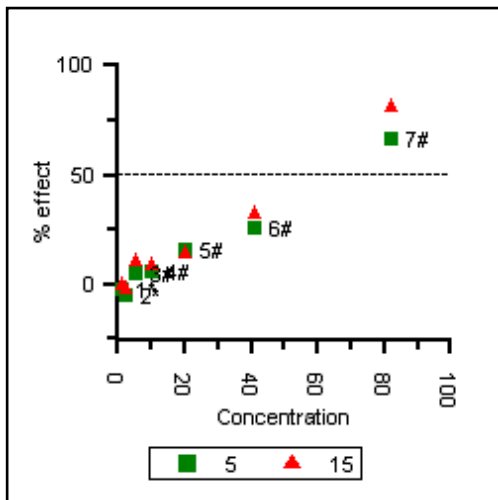
LOG C = 0,7796 x LOG G +1,274

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 16,96%

LOG C = 0,7101 x LOG G +1,230

Φασκόμηλο (2)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 18,94%

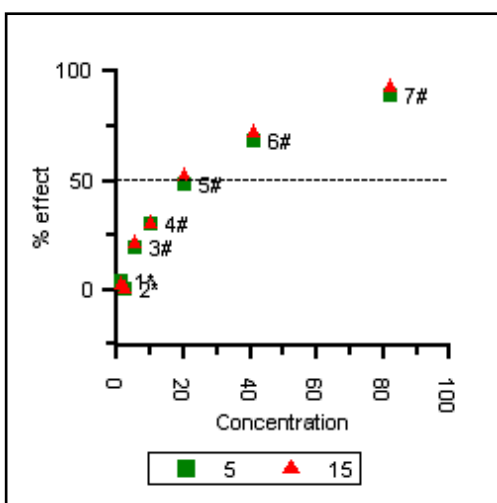
LOGC = 0,8790xLOGG +1,277

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 16,27%

LOG C = 0,8117 x LOG G +1,211

Μαύρο τσάι (1)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 62,01%

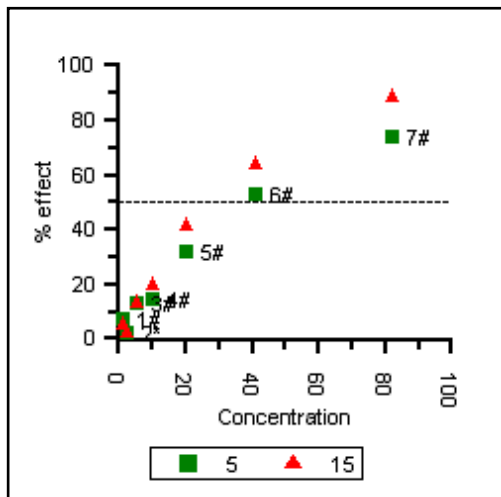
LOG C = 0,7197 x LOG G +1,792

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 41,90%

LOG C = 0,6281 x LOG G +1,622

### Μαύρο τσάι (2)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 60,49%

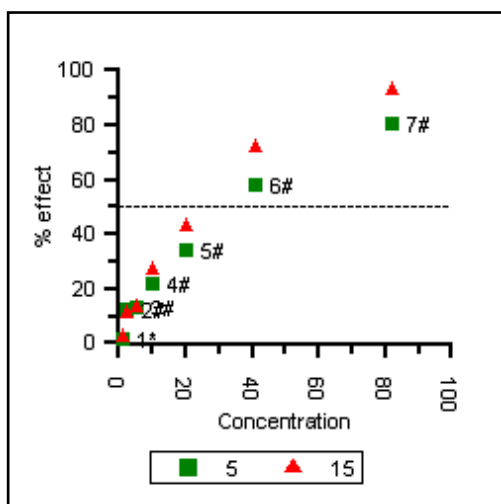
LOGC = 0,6755xLOGG +1,782

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 55,03%

LOG C = 0,8626 x LOG G +1,741

### Πράσινο τσάι (1)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 36,17%

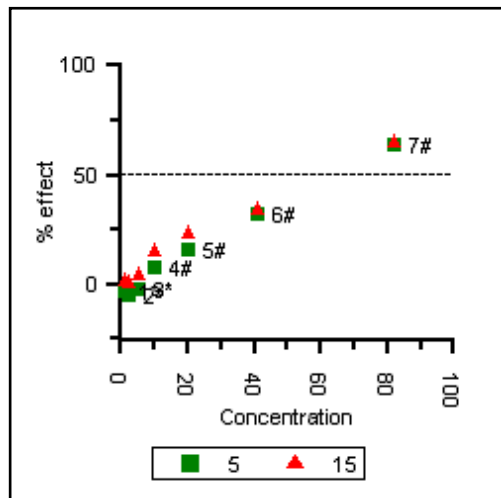
LOG C = 1,046 x LOG G +1,558

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 22,16%

LOG C = 0,8136 x LOG G +1,346

### Πράσινο τσάι (2)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 27,42%

LOG C = 0,9375 x LOG G +1,438

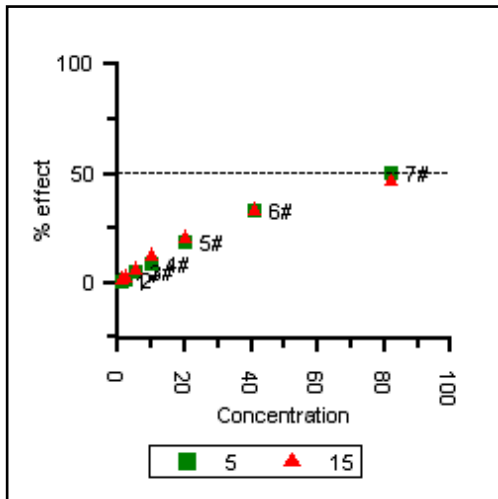
Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 18,01%

LOG C = 0,7096 x LOG G +1,255



### Λούζα (1)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 56,41%

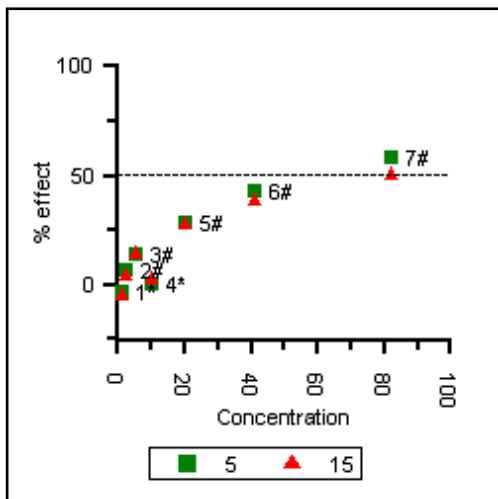
LOG C = 1,210 x LOG G + 1,751

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 83,56%

LOG C = 1,527 x LOG G + 1,922

### Λούζα (2)



Για τα 5':

EC<sub>50</sub> Concentration: 81,79%

LOG C = 0,9286 x LOG G + 1,913

Για τα 15':

EC<sub>50</sub> Concentration: 90,51%

LOG C = 1,061 x LOG G + 1,957

## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] R. Jamshidi, Z. Afzali and D. Afzali (2009), «Chemical Composition of Hydrodistillation Essential Oil of Rosemary in Different Origins in Iran and Comparison with Other Countries», *American-Eurasian J. Agriculture & Environmental Science*, vol. 5 (1), p. 78-81.
- [2] A. K. Geneva, H. Hense, A. Smania Junior, S. M. de Souza (2008), «Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) – a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide», *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas*, vol. 28(2), p. 463-469, abr.-jun..
- [3] Dorling Kindersley (2008), «RHS A-Z encyclopedia of garden plants», United Kingdom, p. 1136.
- [4] M. Grieve, *A Modern Herbal - «Thyme»*, Botanical.com.  
<<http://botanical.com/botanical/mgmh/t/thygar16.html>> 23 Σεπτεμβρίου 2013
- [5] *Thymus Vulgaris*. PDR for Herbal Medicine. Montvale, NJ: Medical Economics Company. p. 1184.
- [6] Pierce, Andrea., 1999. *American Pharmaceutical Association Practical Guide to Natural Medicines*. New York: Stonesong Press. pp: 338-340.
- [7] J. Asghari, B. Ondruschka and M. Mazaheritehrani (2011), «Extraction of bioactive chemical compounds from the medicinal Asian plants by microwave irradiation», *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(4), pp. 495-506.
- [8] P. Ranasinghe, S. Perera, M. Gunatilake, E. Abeywardene, N. Gunapala, S. Premakumara, K. Perera, D. Lokuhetty and P. Katulanda (2012), «Effects of *Cinnamomum zeylanicum* (Ceylon cinnamon) on blood glucose and lipids in a diabetic and healthy rat model», *NCBI, Pharmacognosy Research*, vol. 4(2), p. 73–79.
- [9] Banerjee S, Panda CK, Das S (2006), «Clove (*Syzygium aromaticum* L.), a potential chemopreventive agent for lung cancer», *NCBI*, vol. 27(8), p. 1645-54.
- [10] Malson JL, Lee EM, Murty R, Moolchan ET, Pickworth WB (2003), «Clove cigarette smoking: biochemical, physiological, and subjective effects.», *NCBI*, vol. 74(3), p. 739-45.
- [11] Prashar A, Locke IC, Evans CS (2006), «Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells», *NCBI*, vol. 39(4), p. 241-8.

[12] Prasad RC, Herzog B, Boone B, Sims L, Waltner-Law M. (2005), «An extract of *Syzygium aromaticum* represses genes encoding hepatic gluconeogenic enzymes», NCBI, vol. 96(1-2), p. 295-301.

[13] Plant profiler: *Syzygium aromaticum*, Sigma-Aldrich.

< <http://www.sigmaaldrich.com>>, 25 Σεπτεμβρίου 2013

[14] Guerrera PM., Leporatti ML, Foddai S, Moretto D, Mercantini R., «Antimycotic activity of essential oil of *Lippia citriodora* Kunt (*Aloysia triphylla* Britton)», *Rivista Ital. EPPOS*. 15, p. 23-25, 1995.

[15] L. Funes, L. Carrera-Quintanar, M. Cerdán-Calero, M. D. Ferrer, F. Drobnic, A. Pons, E. Roche, V. Micol (2011), «Effect of lemon verbena supplementation on muscular damage markers, proinflammatory cytokines release and neutrophils' oxidative stress in chronic exercise», Springer Link, *European Journal of Applied Physiology*, Volume 111, Issue 4, pp 695-705.

[16] M. Blumenthal (1998), «The Complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines – Therapeutic Guide to Herbal Medicines», American Botanical Council. Austin, TX., p 109.

[17] R. Eike, A. Schibil, V. Widmer, R. Jorns, E. Wolfram, A. De Batt (2006), "HPTLC methods for identification of green tea and green tea extract", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, Volume 29, Issue 14, p. 2141-2151.

[18] A. G Dulloo, C. Duret, D. Rohrer, L. Girardier, N. Mensi, M. Fathi, P. Chantre, and J. Vandermander (1999), «Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans», *The American Journal of clinical nutrition*, vol. 70 no. 6, p. 1040-1045.

[19] «Benefit of drinking green tea: The proof is in -- drinking tea is healthy, says Harvard Women's Health Watch», Harvard Health Publications, Harvard Medical School.

< [http://www.health.harvard.edu/press\\_releases/](http://www.health.harvard.edu/press_releases/)>, 30 Σεπτεμβρίου 2013.

[20] J. M. T. Hamilton-Miller (1995), «Antimicrobial Properties of Tea (*Camellia sinensis* L.)», *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Vol. 39, No. 11, p. 2375–2377.

[21] K. Adam, A. Sivropoulou, S. Kokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis (1998), «Antifungal Activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* Essential Oils against Human Pathogenic Fungi», *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 46, p. 1739-1745.

- [22] A. Deep, P. Rana, S S Gosal and G. Soni (2013), «Antioxidant potential of tissue cultured *Mentha spicata*», *BioMedRx*, Vol.1, Issue 1, p. 90-96.
- [23] Haksar A, Sharma A, Chawla R, Kumar R, Lahiri SS, Islam F, Arora MP, Sharma RK, Tripathi RP, Arora R. (2008), «Mint oil (*Mentha spicata* Linn.) offers behavioral radioprotection: a radiation-induced conditioned taste aversion study.», *NCBI*, p. 293-6.
- [24] University of Meryland, Medical Center, Complementary and Alternative Medicine Guide : Ginger.  
<<http://umm.edu/health/medical/altmed/herb/ginger>>, 1 Окт. 2013
- [25] I. Stoilova, A. Krastanov, A. Stoyanova, P. Denev, S. Gargova (2006), «Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*)», *Elsevier, Food Chemistry* 102, p. 764–770.
- [26] G.R. Fenwick, J. Lutomski, C. Nieman (1990), «Licorice, *Glycyrrhiza glabra* L.—Composition, uses and analysis», *Elsevier, Food Chemistry*, Volume 38, Issue 2, Pages 119–143.
- [27] Tamir S., Eizenberg M., Somjen D., Izrael S, Vaya J. (2001), «Estrogen-like activity of glabrene and other constituents isolated from licorice root.», *NCBI, Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, vol. 78(3), p. 291-8.
- [28] Pompei R., Flore O., Marccialis MA., Pani A., Loddo B. (1979), «Glycyrrhizic acid inhibits virus growth and inactivates virus particles.», *NCBI*, vol. 281(5733), p. 689-90.
- [29] Ito M, Sato A, Hirabayashi K, Tanabe F, Shigeta S, Baba M, De Clercq E, Nakashima H, Yamamoto N. (1988), «Mechanism of inhibitory effect of glycyrrhizin on replication of human immunodeficiency virus (HIV).», *NCBI*, vol. 10(6), p. 289-98.
- [30] V. K. Guptaa, A. Fatimaa, U. Faridia, A. S. Negib, K. Shankerb, J.K. Kumarb, N. Rahujaa, S. Luqmana, B. S. Sisodiaa, D. Saikiaa, M.P. Darokara, S. P.S. Khanujaa (2008), «Antimicrobial potential of *Glycyrrhiza glabra* roots», *Elsevier, Journal of Ethnopharmacology* 116, p. 377–380.
- [31] E. González-Burgos, M.E. Carretero, M.P. Gómez-Serranillos (2011), «*Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities—A review», *Elsevier, Journal of Ethnopharmacology* 135(2), p. 209-25.

- [32] R. Knörle (2012), «Extracts of *Sideritis scardica* as triple monoamine reuptake inhibitors», SpringerLink, Journal of Neural Transmission, Volume 119, Issue 12, pp 1477-1482.
- [33] A. Aktumsek, G. Zengin, G. O. Guler, Y. S. Cakmak, A. Duran (2013), «Assessment of the antioxidant potential and fatty acid composition of four *Centaurea L. taxa* from Turkey», Elsevier, vol. 141(1), p. 91-7.
- [34] Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. (2004), “Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects.”, US National Library of Medicine National Institutes of Health, PubMed, vol. 52, p. 794-804.
- [35] M. Karpinska, J. Borowski, M. Danowska-Oziewicz (2000), «The use of natural antioxidants in ready-to-serve food», Elsevier, Volume 72, p. 5-9.
- [36] K. Robards, P. D. Prenzler, G. Tucker, Swatsitang, William Glover (1999), «Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits», Elsevier, Volume 66, p. 401-436.
- [37] C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, and G. Paganga (1995), «Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids», Elsevier, Volume 20, Issue 7, Pages 933–956.
- [38] N. Esmaili, H. Ebrahimzadeh, K. Abdi and S. Safarian (2011), «Determination of some phenolic compounds in *Crocus sativus L.* corms and its antioxidant activities study», NCBI, Pharmacognosy Magazine, vol. 7(25), p. 74–80.
- [39] Bai N, He K, Roller M, Lai CS, Shao X, Pan MH, Ho CT (2010), «Flavonoids and phenolic compounds from *Rosmarinus officinalis*.», NCBI, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 58(9), p. 5363-7.
- [40] M. H. H. Roby, M. A. Sarhan, K. A.-H. Selim, K. I. Khalel (2013), «Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris L.*), sage (*Salvia officinalis L.*), and marjoram (*Origanum majorana L.*) extracts», Elsevier, Industrial Crops and Products 43, p. 827– 831.
- [41] J. T. Fishedicka, M. Standiford, D. A. Johnson, J. A. Johnson (2013), «Structure activity relationship of phenolic diterpenes from *Salvia officinalis* as activators of the nuclear factor E2-related factor 2 pathway», Elsevier, Bioorganic & Medicinal Chemistry 21(9), p. 2618-22.

- [42] M. Then, R. Szollosy, K. Vasarhelyi-Peredi, K. Szentmihalyi (2004), “Polyphenol-, Mineral Element Content and Total Antioxidant Power of Sage (*Salvia officinalis* L.) Extracts”, *Future for Medicinal and Aromatic Plants*, p. 123-129.
- [43] R. Quirantes-Piné, L. Funes, V. Micol, A. Segura-Carretero, A. Fernández-Gutiérrez (2009), «High-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray time-of-flight and ion-trap tandem mass spectrometry to identify phenolic compounds from a lemon verbena extract», Elsevier, *Journal of Chromatography A* 1216 (28), p. 5391-5397.
- [44] S. Mathew, T. E. Abraham (2005), «Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models», Elsevier, *Food Chemistry* 94, p. 520-528.
- [45] Tutor vista, “Phenolic Compounds”  
<<http://chemistry.tutorvista.com/organic-chemistry.html>>, 11 Νοεμβρίου 2013
- [46] S. A. Ramalho, N. Nigam, G. B. Oliveira, P. Alves de Oliveira, T. O. M. Silva, A. G. Passos dos Santos, N. Narain (2013), «Effect of infusion time on phenolic compounds and caffeine content in black tea», Elsevier, *Food Research International* 51, p. 155-161.
- [47] K. J. Kemper (1999), «Ginger (*Zingiber officinale*)», The Longwood Herbal Task Force  
<<http://www.longwoodherbal.org/ginger/ginger.pdf>>, 11 Νοεμβρίου 2013
- [48] T. Nomura, T. Fukai and T. Akiyama (2002), «Chemistry of phenolic compounds of licorice (*Glycyrrhiza* species) and their estrogenic and cytotoxic activities», *Pure Appl. Chem.*, Vol. 74, No. 7, pp. 1199–1206.
- [49] A. Gokbulut, E. Şarer (2010), «Simultaneous determination of phenolic compounds in *Mentha spicata* L. subsp. *spicata* by RP-HPLC», *Turk J. Pharm. Sci.* 7 (3), p. 249-254.
- [50] V. Samanidou, A. Tsagiannidis, I. Sarakatsianos (2012), «Simultaneous determination of polyphenols and major purine alkaloids in Greek *Sideritis* species, herbal extracts, green tea, black tea, and coffee by high-performance liquid chromatography-diode array detection», Wiley Online Library, *Journal of Separation Science*, Volume 35, Issue 4, pages 608–615.
- [51] A. Prakash, F. Rigelhof and E. Miller, «Antioxidant Activity», Medallion Labs  
<<http://www.medallionlabs.com/>>

- [52] D. Boskou (2006), «Sources of natural phenolic antioxidants», Elsevier, Volume 17, Issue 9, Pages 505–512.
- [53] D. J. Daferera, B. N. Ziogas, M. G. Polissiou (2002), «The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*», Elsevier, *Crop Protection* 22, p. 39–44.
- [54] M. E. Guynot, A. J. Ramos, L. Setó, P. Purroy, V. Sanchis, S. Marín (2003), «Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products», *Journal of Applied Microbiology*, Volume 94, Issue 5, pages 893–899.
- [55] R. Srivastava, H. Ahmed, R. K. Dixit, Dharamveer, and S. A. Saraf (2010), «*Crocus sativus* L.: A comprehensive review», NCBI, *Pharmacognosy Review* 4(8), p. 200–208.
- [56] P. A. Tarantilis and M. G. Polissiou (1997), «Isolation and Identification of the Aroma Components from Saffron (*Crocus sativus*)», *Journal of agricultural and food chemistry* 45 (2), pp 459–462.
- [57] R. Jamshidi, Z. Afzali and D. Afzali (2009), «Chemical Composition of Hydrodistillation Essential Oil of Rosemary in Different Origins in Iran and Comparison with Other Countries», *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 5 (1), p. 78-81.
- [58] M. Hudaiba, E. Speronib, A. M. Di Pietraa, V. Cavinia (2002), «GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle», *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 29, Issue 4, Pages 691–700.
- [59] H. Boukhebt, A. N. Chaker, H. Belhadj, F. Sahli, M. Ramdhani, H. Laouer and D. Harzallah (2011), «Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils.», *Scholars Research Library* 3 (4), p. 267-275.
- [60] S. Kokkini, R. Karousou, T. Lanaras (1995), “Essential oils of spearmint (Carvone-rich) plants from the island of Crete (Greece)”, *Biochemical Systematics and Ecology*, Volume 23, Issue 4, pp. 425-430.
- [61] M.-L. Lota, D. de Rocca Serra, C. Jacquemond, F. Tomi and J. Casanova (2001), «Chemical variability of peel and leaf essential oils of sour orange», *Flavour and fragrance Journal*, 16, p. 89–96.

- [62] Orav A, Raal A, Arak E. (2008), «Essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. fruits from various European countries.», NCBI, US National Library of Medicine National Institutes of Health 22(3), p. 227-32.
- [63] M. M. Özcan, J. C. Chalchat (2006), «Chemical composition and antifungal effect of anise (*Pimpinella anisum* L.) fruit oil at ripening stage», Springer Link, Annals of Microbiology, Volume 56, Issue 4, pp 353-358.
- [64] Miguel MG, Cruz C, Faleiro L, Simões MT, Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG. (2010), «*Foeniculum vulgare* essential oils: chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities.», NCBI, 5(2), p. 319-28.
- [65] N. García-Jiménez, M. J. Pérez-Alonso, A. Velasco-Negueruela (2000), «Chemical Composition of Fennel Oil, *Foeniculum vulgare* Miller, from Spain», Journal of Essential Oil Research, Volume 12, Issue 2, p. 159-162.
- [66] W. He and B. Huang (2011), «A review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice: *Foeniculum vulgare*», Journal of Medicinal Plants Research, Vol. 5(16), pp. 3595-3600.
- [67] M. Kobaisy, M. R. Tellez, C. L. Webber, F. E. Dayan, K. K. Schrader and D. E. Wedge (2001), «Phytotoxic and Fungitoxic Activities of the Essential Oil of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) Leaves and Its Composition», Journal of agricultural food and chemistry, 49(8), p. 3768-71 .
- [68] N. Aligiannis, E. Kalpoutzakis, S. Mitaku and I. B. Chinou (2001), «Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Origanum* Species», Journal of agricultural and food chemistry, 49 (9), pp 4168–4170.
- [69] M. Russo, G. C. Galletti, P. Bocchini and A. Carnacini (1998), «Essential Oil Chemical Composition of Wild Populations of Italian Oregano Spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): A Preliminary Evaluation of Their Use in Chemotaxonomy by Cluster Analysis. 1. Inflorescences», Journal of agricultural and food chemistry, vol. 46 (9), pp 3741–3746.
- [70] R. S. Verma, R. C. Padalia and A. Chauhan (2011), «Chemical investigation of the volatile components of shade-dried petals of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.)», Arch. Biol. Sci., Belgrade, 63 (4), p. 1111-1115.
- [71] M. Lota , D. de Rocca Serra , F. Tomi , C. Jacquemond , and J. Casanova (2002), «Volatile Components of Peel and Leaf Oils of Lemon and Lime Species», Journal of agricultural and food chemistry, 50(4), p. 796-805.



- [72] T. S. Chamblee, B. C. Clark, Jr., G. B. Brewster, T. Radford and G. A. Iacobucci (1991), «Quantitative Analysis of the Volatile Constituents of Lemon Peel Oil. Effects of Silica Gel Chromatography on the Composition of Its Hydrocarbon and Oxygenated Fractions», *Journal of agricultural and food chemistry* 39 (1), pp 162–169.
- [73] B. Marongiu, A. Pira, S. Porcedda, E. Tuveri, E. Sanjust, M. Meli, F. Sollai, P. Zucca and A. Rescigno (2007), «Supercritical CO<sub>2</sub> Extract of *Cinnamomum zeylanicum*: Chemical Characterization and Antityrosinase Activity», *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (24), pp 10022–10027.
- [74] M. H. Alma, M. Ertas, S. Nitz, H. Kollmannsberger (2007), “Chemical composition and content of essential oil from the bud of cultivated Turkish clove (*Syzygium aromaticum*)», *BioResources* 2(2), p. 265-269.
- [75] G. Nemezc, “Green tea”, *Us Pharmacist*  
<<http://legacy.uspharmacist.com>>, 18 Νοεμβρίου 2013
- [76] J. A. Pino, R. Marbot, A. Rosado & A. Batista (2004), «Chemical Composition of the Essential Oil of *Zingiber officinale* Roscoe L. from Cuba», *Journal of Essential Oil Research*, Volume 16, Issue 3, p. 186-188.
- [77] Chin YW, Jung HA, Liu Y, Su BN, Castoro JA, Keller WJ, Pereira MA, Kinghorn AD (2007), «Anti-oxidant constituents of the roots and stolons of licorice (*Glycyrrhiza glabra*)», *NCBI, Journal of agricultural food and chemistry* 55(12), p. 4691-7.
- [78] Oniga I, Oprean R, Toiu A, Benedec D. (2010), «Chemical composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from Romania.», *NCBI, Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi.*, 114(2), p. 593-5.
- [79] I. H. Sellami, I. B. Rebey, J. Sriti, F. Z. Rahali, F. Limam, B. Marzouk (2012), «Drying Sage (*Salvia officinalis* L.) Plants and Its Effects on Content, Chemical Composition, and Radical Scavenging Activity of the Essential Oil», *Springer Link*, Volume 5, Issue 8, pp 2978-2989.
- [80] A. P. Raina, K. S. Negi and M. Dutta (2013), «Variability in essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) grown under North Western Himalayan Region of India», *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol.7(11) , pp. 683-688.
- [81] A. Khani, F. Basavand, E. Rakhshani (2012), «Chemical composition and insecticide activity of lemon verbena essential oil», *Journal of crop protection*, Volume 1, Issue 4, p. 313-320.

- [82] Gomes, P. C. S., Oliveira, H. R. C., Vicente, A. M. S., Ferreira, M. F. (2006), «Production, transformation and essential oils composition of leaves and stems of lemon verbena [*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton] grown in Portugal», *Rev. Bras. Pl. Med.*, vol. 8, p.130-135.
- [83] J. Scavroni, C. S. F. Boaro, M. O. M. Marques and L. C. Ferreira (2005), “Yield and composition of the essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) grown with biosolid”, *Brazilian Journal Plant Physiology*, 17(4), p. 345-352.
- [84] A. O. SARI, A. CEYLAN (2002), «Yield Characteristics and Essential Oil Composition of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) Grown in the Aegean Region of Turkey», *Turk J Agric For* 26, p. 217-224
- [85] W. R. L. Masamba, J. F. M. Kamanula, E. M. T. Henry, G. K. C. Nyirenda (2003), “Extraction and analysis of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil: An essential oil with potential to control the Larger Grain Borer (*Prostephanus truncates*) in stored products in Malawi”, *Malawi Journal of Agricultural science*, Volume 2, Issue 1, p. 56-64.
- [86] S. Rehman, H. N. Bhatti, Z. Iqbal, U. Rashid (2008), «Essential oil composition of commercial black tea (*Camellia sinensis*)», *International Journal of Food Science & Technology* Volume 43, Issue 2, pages 346–350.
- [87] O. P. Sharma and T. K. Bhat (2009), «DPPH antioxidant assay revisited», *Food Chemistry*, vol. 113 (4), p. 1202-1205.
- [88] S. Surveswaran Y.-Z. Cai, H. Corke, M. Sun (2006), «Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants», Elsevier, *Food Chemistry*, vol. 102 n. 3, p. 938-953.
- [89] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans (1998), «Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay», Elsevier, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 26, pp. 1231–1237.
- [90] V. L. Singleton, R. Orthofer and R. M. Lamuela-Raventos (1999), «Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent», *Methods in Enzymology*, vol. 299, p. 152-178.
- [91] Μ. Γ. Πολυσίου (2001), «Μαθήματα οργανικής στερεοχημείας και ενόργανης ανάλυσης», Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- [92] «Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry» (2001), Thermo Nicolet Corporation.

- [93] S. Parvez, C. Venkataraman, S. Mukherji (2006), «A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals, *Marine Pollution and Ecotoxicology*, Volume 32, Issue 2, Pages 265–268, Elsevier.
- [94] F. Conforti , G. Ioele, G.A. Statti, M. Marrelli, G. Ragno, F. Menichini (2008), «Antiproliferative activity against human tumor cell lines and toxicity test on Mediterranean dietary plants», Elsevier, *Food and Chemical Toxicology* 46 (2008) 3325–3332,.
- [95] Büyükbacı A, El SN. (2008), “Determination of in vitro antidiabetic effects, antioxidant activities and phenol contents of some herbal teas.”, *Plant Foods Hum Nutr.*, 63(1):27-33.
- [96] Xian-Chun Yu and De-Lin Sun (2013), «Microwave and Enzymatic Extraction of Orange Peel Pectin.», *Asian Journal of Chemistry*; Vol. 25, No. 10 (2013), 5333-5336.
- [97] J.-C. Chalchat, Musa Ozcan (2005), “Constituents of the essential oil of *Sideritis erythrantha* Boiss. & Heldr. var. *erythrantha*”, *GEN. APPL. PLANTPHYSIOLOGY*, 31(1-2), 65-70.